

DOI 10.17590/20170327-102936

## Risikobewertung des Alkaloidvorkommens in Lupinensamen

Stellungnahme 003/2017 des BfR vom 27. März 2017

Seit einigen Jahren wird Lupinenmehl in Back- und Teigwaren, Milch- und Sojaersatzerzeugnissen, diätetischen Produkten, Saucen und als Zusatz zu Weizenmehl verwendet. In manchen europäischen und nordafrikanischen Ländern werden die Samen der Lupinen auch als Knabberartikel konsumiert.

Lupinensamen können toxikologisch relevante bittere Chinolizidinalkaloide enthalten. Diese Alkaloide rufen beim Menschen Vergiftungssymptome hervor, die das Nerven-, Kreislauf und Verdauungssystem betreffen. Typische Vergiftungssymptome für Lupinenalkaloide sind Schwindel, Konfusion, Herzrasen, Übelkeit, Mundtrockenheit, motorischer Kontrollverlust und in hohen Dosen Herzstillstand und Atemlähmung.

Der Gehalt an Chinolizidinalkaloiden in Lupinensamen variiert je nach botanischem und geographischem Ursprung der Lupinenart, von der sie abstammen. „Bitterlupinen“ liefern Lupinensamen, die aufgrund ihrer höheren Gehalte an Chinolizidinalkaloiden einen bitteren Geschmack aufweisen. Bitterlupinensamen sind ohne geeignete Vorbehandlung („Entbitterung“) zum Verzehr durch den Menschen nicht geeignet. Lupinenvarietäten, die Samen mit niedrigen Alkaloidgehalten liefern und durch gezielte Züchtung erhalten wurden, werden als „Süßlupinen“ bezeichnet. Süßlupinensamen sind auch ohne Entbitterung für den Verzehr durch den Menschen geeignet. Für den Verbraucher ist es meist nur schwer erkennbar, ob es sich bei angebotenen Lupinensamen um Bitter- oder Süßlupinensamen handelt. In der Vergangenheit wurde in Deutschland daher vereinzelt über Vergiftungsunfälle, ausgelöst durch Bitterlupinensamen, berichtet.

Herstellern von Lupinensamen-haltigen Lebensmitteln empfiehlt das BfR, nur ganze, unzerkleinerte Lupinensamen in den Verkehr zu bringen, die ohne weitere küchentechnische Entbitterungsprozesse verzehrfähig sind. Dies können Süßlupinensamen sein, die von sich aus niedrige Alkaloidgehalte aufweisen, oder auch Bitterlupinensamen, die vom Hersteller bereits ausreichend entbittert wurden. Bei Mehl aus Lupinensamen zur Abgabe an Verbraucherinnen und Verbraucher sollte von Herstellerseite sichergestellt sein, dass es aus Lupinensamen hergestellt wurde, die alkaloidarm sind bzw. ausreichend entbittert wurden.

Verbraucherinnen und Verbrauchern, die über keine eigene Sachkunde verfügen, empfiehlt das BfR, auf den Verzehr von nicht von Herstellerseite entbitterten Bitterlupinensamen vorsichtshalber zu verzichten, da empfohlene Prozeduren zur Entbitterung nicht mit Sicherheit zu einer ausreichenden Reduktion vorliegender Gehalte an gesundheitsschädlichen Alkaloiden führen. Ein bitterer Geschmack von Lupinensamen oder den aus ihnen hergestellten Erzeugnissen kann ein Indikator für die Anwesenheit von gesundheitlich unerwünschten Lupinenalkaloiden sein. Das bitter schmeckende Einweichwasser von Lupinensamen sollte in keinem Fall verzehrt bzw. zur Zubereitung von Speisen verwendet werden.

		BfR-Risikoprofil: Alkaloidvorkommen in Lupinsamen (Stellungnahme Nr. 003/2017)			
<b>A</b> Betroffen sind	Vielverzehrter von Lupinsamen 				
<b>B</b> Wahrscheinlichkeit einer gesundheitlichen Beeinträchtigung bei Vielverzehrter von Lupinsamen	Praktisch ausgeschlossen	Unwahrscheinlich	<b>Möglich</b>	Wahrscheinlich	Gesichert
<b>C</b> Schwere der gesundheitlichen Beeinträchtigung bei Vielverzehrter von Lupinsamen	Die Schwere der Beeinträchtigung kann variieren				
<b>D</b> Aussagekraft der vorliegenden Daten	Hoch: Die wichtigsten Daten liegen vor und sind widerspruchsfrei	<b>Mittel: Einige wichtige Daten fehlen</b>	Gering: Zahlreiche wichtige Daten fehlen oder sind widersprüchlich		
<b>E</b> Kontrollierbarkeit durch Verbraucher	Kontrolle nicht notwendig	<b>Kontrollierbar durch Vorsichtsmaßnahmen</b>	Kontrollierbar durch Verzicht	Nicht kontrollierbar	

Dunkelblau hinterlegte Felder kennzeichnen die Eigenschaften des in dieser Stellungnahme bewerteten Risikos (nähere Angaben dazu im Text der Stellungnahme Nr. 003/2017 des BfR vom 27. März 2017).

**Erläuterungen**

Das Risikoprofil soll das in der BfR-Stellungnahme beschriebene Risiko visualisieren. Es ist nicht dazu gedacht, Risikovergleiche anzustellen. Das Risikoprofil sollte nur im Zusammenhang mit der Stellungnahme gelesen werden.

**Zeile E - Kontrollierbarkeit durch Verbraucher**

Die Angaben in der Zeile „Kontrollierbarkeit durch Verbraucher“ sollen keine Empfehlung des BfR sein, sondern haben beschreibenden Charakter. Das BfR hat in seiner Stellungnahme Handlungsempfehlungen abgegeben: Verzicht auf nicht von Herstellerseite entbitterte Bitterlupinensamen

BUNDESINSTITUT FÜR RISIKOBEWERTUNG (BfR)

**1 Gegenstand der Bewertung**

Das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) hat das gesundheitliche Risiko von Lupinensamen bewertet. Die vorliegende Stellungnahme bezieht sich auf Risiken, die mit dem Alkaloidgehalt von Samen von Lupinenarten und -varietäten assoziiert sind, bei denen ein bestimmungsgemäßer Verzehr als Lebensmittel in Betracht zu ziehen ist, nämlich *Lupinus albus* L. (Weiße Lupine), *Lupinus angustifolius* L. (Blaue Lupine) und *Lupinus luteus* L. (Gelbe Lupine) und *Lupinus mutabilis* SWEET (Andenlupine) (vgl. 3.1.1). Das allergene Potenzial von in Lupinensamen vorkommenden Proteinen (BfR 2011; EFSA 2005, 2014) sowie eine mögliche Kontamination von Lupinensamen mit Mykotoxinen, insbesondere Phomopsinen, und damit zusammenhängende mögliche Gesundheitsrisiken (z. B. (Dirksen 2006; EFSA 2012b)) sind nicht Gegenstand dieser Stellungnahme.

**2 Ergebnis**

- In den für die Herstellung von Lebensmitteln verwendeten Samen von *L. albus* L. (Weiße Lupine), *L. angustifolius* L. (Blaue Lupine), *L. luteus* L. (Gelbe Lupine) und *L. mutabilis* werden als Hauptalkaloide, Lupanin, Lupinin, und Spartein beschrieben. Diese Chinolizidinalkaloide rufen beim Menschen typische Vergiftungssymptome hervor, die das Nerven-, Kreislauf und Verdauungssystem betreffen.

- Es sind nur wenige analytische Methoden beschrieben worden, mit denen die unterschiedlichen Alkaloide quantifiziert werden können. Keine der Methoden ist in einer Methodvalidierungsstudie überprüft worden.
- Dem BfR liegen derzeit keine Analysendaten zu Alkaloidgehalten von Lupinensamen und aus ihnen hergestellten Erzeugnissen vor, die als Lebensmittel in Deutschland im Handel sind. Es muss aber davon ausgegangen werden, dass Bitterlupinensamen im Verkehr sein könnten, deren Verzehr nach ungenügender Entbitterung möglicherweise zu den mehrfach beschriebenen akuten Vergiftungen mit Lupinenalkaloiden führen, für die das anticholinerge Syndrom typisch ist und die durch Atemlähmung tödlich verlaufen können.
- Für eine Expositionsbeurteilung fehlten bislang Verzehrdaten zu Lebensmitteln in Deutschland, die Lupinensamen oder eine verarbeitete Form von Lupinensamen (z. B. Lupinenmehl) enthalten. Um aktuelle Daten zu erhalten, wurde daher im Januar/Februar 2016 eine deutschlandweite, repräsentative „Verbraucherbefragung zum Verzehr von Lupinensamen“ im Auftrag des BfR durchgeführt, deren Ergebnis bei der Expositionsbeurteilung zugrunde gelegt wurde.
- Bei der akuten Expositionsschätzung geht das BfR von einem Alkaloidgehalt von 200 mg/kg Samen aus. Dies ergibt für Lupinensamen-haltige Lebensmittel die höchsten Alkaloidaufnahmewerte in den Kategorien „Lupinensamen als Snack“ (0,286 mg/kg Körpergewicht (KG) pro Tag ) und „Bratlinge“ (0,229 mg/kg KG/Tag). Die Aufnahme über Lebensmittel aus den übrigen Kategorien liegt im Bereich von 0,003 bis 0,057 mg/kg KG/Tag.
- Bei der Risikobeurteilung werden die Alkaloidaufnahmen mit der für Spartein beschriebenen pharmakologischen Schwellendosis von 0,2 mg/kg KG als Referenzwert verglichen. Der Sicherheitsabstand (Margin of Safety, MOS) zu der Schwellendosis sollte der unsicheren Datenlage zur Toxikologie und insbesondere einer möglichen höheren Empfindlichkeit von Kindern, Schwangeren und Nichtmetabolisierern Rechnung tragen und mehr als 1 betragen. Der für die erstgenannten zwei Lebensmittelkategorien resultierende Margin of Safety (MOS) von 1 wird als nicht ausreichend angesehen. Für die übrigen Kategorien liegt der MOS zwischen 4 und 70.
- In der Literatur werden Forschungsergebnisse zur industriellen Entbitterung von Lupinensamen beschrieben. Diese Verfahren sind nicht Gegenstand dieser Stellungnahme.
- Was haushaltstechnische Entbitterungsprozesse angeht, sind ebenfalls variierende Methoden beschrieben worden, die meist Kochen und mehrtägiges Einweichen der Samen mit mehrfachem Wasserwechsel vorsehen. Da aber keine systematischen und validierten Untersuchungen zur Qualität dieser Methoden vorliegen, deren Erfolg auch vom variablen Anfangsgehalt der Lupinenalkaloide in den Samen abhängt, und Vergiftungsfälle wiederholt auf ungenügende küchentechnische Entbitterung von Bitterlupinensamen zurückzuführen waren, kann hierzu vom BfR keine generelle Empfehlung ausgesprochen werden.

Auf der Basis der durchgeführten Risikobewertung spricht das BfR eine Anzahl detaillierter Empfehlungen aus, die sich an Hersteller, Verbraucher, Risikomanagement und Forschungsinstitutionen richten:

- Den Herstellern empfiehlt das BfR insbesondere, für die direkte Verarbeitung bzw. den direkten Verzehr (Knabberware) durch den Verbraucher nur solche ganze, unzerkleinerte Lupinensamen in den Verkehr zu bringen, die ohne küchentechnische Entbitterungsprozesse verzehrfähig sind. Dies können Süßlupinensamen sein, die von sich aus niedrige Alkaloidgehalte aufweisen, oder auch Bitterlupinensamen, die vom Hersteller bereits ausreichend entbittert wurden. Bei Mehl aus Lupinensamen zur Abgabe an Verbraucher sollte von Herstellerseite sichergestellt sein, dass es aus Lupinensamen hergestellt wurde, die alkaloidarm sind bzw. ausreichend entbittert wurden.
- Den Verbraucherinnen und Verbrauchern empfiehlt das BfR, auf den Verzehr von nicht von Herstellerseite entbitterten Bitterlupinensamen vorsichtshalber zu verzichten, da empfohlene Prozeduren zur Entbitterung nicht mit Sicherheit zu einer ausreichenden Reduktion vorliegender Gehalte an gesundheitsschädlichen Alkaloiden führen. Verbraucherinnen und Verbraucher werden darauf aufmerksam gemacht, dass ein bitterer Geschmack von Lupinensamen und aus ihnen hergestellten Erzeugnissen ein Indikator für die Anwesenheit von gesundheitlich unerwünschten Lupinenalkaloiden ist. Das bitter schmeckende Einweichwasser von Lupinensamen sollte in keinem Fall verzehrt bzw. zur Zubereitung von Speisen verwendet werden.

### 3 Begründung

#### 3.1 Risikobewertung

##### 3.1.1 Agens

###### 3.1.1.1 Botanische Herkunft

Die Gattung *Lupinus* L. umfasst zahlreiche Spezies mit insgesamt über 500 Taxa. Sie gehört zur Familie der Leguminosae. Lupinen werden zur Gründüngung, als Zierpflanzen, als Futterpflanzen und zur Nahrungsgewinnung angebaut. Als wirtschaftlich relevant für die Herstellung von Lebensmitteln werden die Samen von *Lupinus albus* L. (Weiße Lupine) und darüber hinaus auch *Lupinus angustifolius* L. (Blaue Lupine) und *Lupinus luteus* L. (Gelbe Lupine) beschrieben. Eine weitere Kulturlupine von geringerer Bedeutung ist *Lupinus mutabilis* SWEET (Andenlupine), deren Samen ebenfalls zur Herstellung von Lebensmitteln genutzt werden (Blaschek *et al.* 2016; Frohne & Pfänder 2004; Ternes *et al.* 2007). Als Lebensmittel haben dabei nur die proteinreichen Samen bestimmter Lupinenvarietäten und die aus ihnen hergestellten Mehle Bedeutung. Lupinensamen werden in manchen europäischen und nordafrikanischen Ländern als Knabberartikel konsumiert und dienen geröstet als Kaffeeersatz (Blaschek *et al.* 2016; Ternes *et al.* 2007). Es wird auch berichtet, dass Lupinenmehl seit einigen Jahren zunehmend in Back- und Teigwaren, Milch- und Sojaersatzprodukten, diätetischen Produkten, Saucen und als Zusatz zu Weizenmehl verwendet wird, z. T. nach Fermentierung (EFSA 2005; Kohajdová *et al.* 2011). Lupinensamen enthalten in den Samen aber auch im Kraut die toxikologisch relevanten bitteren Chinolizidinalkaloide, wobei deren Gehalte u. a. von der botanischen und geographischen Herkunft sowie der Bodenzusammensetzung und dem Klima abhängen und stark variieren (Gremigni *et al.* 2001; Jansen *et al.* 2009). In der einschlägigen Literatur wird beschrieben, dass Lupinensamen mit höheren Gehalten an bitteren Chinolizidinalkaloiden ohne Vorbehandlung (Entbitterung) zum Verzehr durch den Menschen und als Tierfutter ungeeignet sind (Blaschek *et al.* 2016; Gessner & Orzechowski 1974). Beispielsweise werden die Samen von *L. albus* in Südeuropa und von *L.*

*mutabilis* von den peruanischen Indios erst nach tagelanger Entbitterung für die menschliche Ernährung verwendet (ANZFA 2001; Ternes *et al.* 2007).

Lupinensorten, die Samen mit niedrigen Alkaloidgehalten liefern und durch gezielte Züchtung erhalten wurden, werden als „Süßlupinen“ bezeichnet, solche deren Samen aufgrund höherer Alkaloidgehalte bitter schmecken, als „Bitterlupinen“ (ANZFA 2001; Gessner & Orzechowski 1974; Ternes *et al.* 2007). Dabei werden die Alkaloidgehalte von Süßlupinensamen mit einem Bereich von 0,01 - 0,08 % (100 - 800 mg/kg) (Gessner & Orzechowski 1974) angegeben. Andere Autoren definieren, dass die Alkaloidgehalte in den Samen der Süßlupinen-Varietäten  $\leq 500$  mg/kg Trockenmasse und in denen der Bitterlupinen-Varietäten  $\geq 10\,000$  mg/kg Trockenmasse betragen. Die Australia New Zealand Food Authority geht bei Süßlupinensamen von Durchschnittsgehalten von 130 - 150 mg/kg Alkaloiden aus (ANZFA 2001).

Es sind zahlreiche ertragreiche sogenannte Süßlupinen-Varietäten von *L. albus*, *L. angustifolius*, *L. luteus* und *L. mutabilis* bekannt, die weltweit angebaut werden, z. B. in Frankreich, Spanien, Portugal, Italien, Deutschland, Polen, Rußland, Südafrika, Nord- und Südamerika, Australien (Blaschek *et al.* 2016). Ternes *et al.* geben an, dass von *L. albus* und von *L. luteus* zahlreiche „alkaloidfreie“ Sorten existieren (Ternes *et al.* 2007).

Bei den Süßlupinen werden folgende Handelssorten beschrieben:

- *L. albus* var. Lublanc, Lucky, Lutop, Multolupa, Amiga, WAT, Kiew, Ultra, Kaly, Estoril, Neutra, Golf, Achat, Ida, Ares und Llama (Blaschek *et al.* 2016).
- *L. angustifolius* var. Unicrop, Wandoo, Chittick, Maresa (Blaschek *et al.* 2016).
- *L. luteus* var. Barpine, Topaz, Aurea, Barfin, Aga, Reda, Bornova, Borsaja, Borselva, Schwako, Refusa, Baltyk (Blaschek *et al.* 2016).
- *L. mutabilis* var. INTI (Blaschek *et al.* 2016).

Von *L. albus*, *L. angustifolius*, *L. luteus* und *L. mutabilis* werden aber auch alkaloidreiche Samensorten angeboten (*L. albus* var. Blanka, Kalina, Pop 1, Semu; *L. angustifolius* var. New Zealand Bitter Blue, Kubesa Turkus, Stevens, Mirela) (Blaschek *et al.* 2016).

Zu bestimmten wildwachsenden Lupinenarten, die im Einzelnen hier nicht beurteilt werden, liegen Berichte über toxische Wirkungen und Vergiftungsfälle insbesondere bei Nutztieren vor. So wird das Auftreten von Missbildungen bei Kälbern (Crooked Calf Syndrome) in den USA, Kanada und Australien z. B. mit der Aufnahme von *L. sericus*, *L. caudatus*, *L. nootkatensis*, *L. laxiflorus* Lindl, *L. formosus* durch die Muttertiere beim Weiden oder durch das Grünfütter in Zusammenhang gesehen. Hierbei werden das neuropathogene  $\alpha$ -Pyridonalkaloid Anagyrin aber auch Piperidinalkaloide (z. B. Ammodendrin), die in diesen Lupinenarten z. T. die Hauptalkaloide darstellen, als Ursache vermutet (Blaschek *et al.* 2016; Dirksen 2006). Aufgefallen war auch, dass bei Lämmern, deren Muttertiere *L. consentinii* beim Weiden aufgenommen hatten, gehäuft Fälle von Hemimelie auftraten, wobei ein Zusammenhang mit dem Gehalt von Multiflorin in dieser Lupinenart vermutet wurde (Allen *et al.* 1983).

### 3.1.1.2 Zusammensetzung von Lupinensamen

Je nach Spezies bzw. Varietät variiert der Gehalt von Lupinensamen an Speicherproteinen (35 - 55 %), Lipiden (4 - 20 %), Oligosacchariden und sekundären Pflanzenstoffen, wie Saponinen und insbesondere Alkaloiden. Typisch für die meisten Lupinenarten ist das Vorkommen von Chinolizidinalkaloiden wie Lupanin<sup>1</sup>, Lupinin<sup>2</sup> und Spartein<sup>3</sup> (Blaschek *et al.* 2016; O'Neil 2006; Wood & Wrigglesworth 2008). In den Samen von *L. albus* und *L. angustifolius* bildet Lupanin das Hauptalkaloid. In den Samen von *L. luteus* dominieren Lupinin und in denen von *L. mutabilis* Lupanin jeweils gemeinsam mit Spartein als Hauptalkaloide (Blaschek *et al.* 2016; Boschin *et al.* 2008; de Cortes Sánchez *et al.* 2005; Kamel *et al.* 2015; Lee *et al.* 2007; Lubowicki *et al.* 2005; Reinhard *et al.* 2006; Resta *et al.* 2008b).

Dem BfR liegen keine Analysendaten zu Alkaloidgehalten von Lupinensamen und aus ihnen hergestellten Erzeugnissen vor, die als Lebensmittel in Deutschland im Verkehr sind. Nachfolgende Angaben stützen sich auf die Ergebnisse von Literaturrecherchen.

- Alkaloidgehalte der Samen von *L. albus*:  
Hauptalkaloide der Samen sind Lupanin (55 - 75 % der Gesamtalkaloide), Albin (6 - 15 %), Multiflorin (3 - 14 %), 13-Hydroxylupanin (4 bis 12 %), 13-Angeloyloxylupanin (1 - 3 %). Nebenalkaloide der Samen sind: Ammodendrin, Angustifolin, 5,6-Dehydrolupanin, Isoangustifolin,  $\alpha$ -Isolupanin, 17-Oxolupanin, 11,12-Seco-12,13-didehydromultiflorin (früher N-Methylalbin), Spartein, Tetrahydrocytisin, Tetrahydro-rhombifolin, verschiedene Ester des 13-Hydroxylupanins und 13-Hydroxymultiflorins, 5,6-Dehydromultiflorin, Lupanin-N-oxid und 13 $\alpha$ -Hydroxy-5-dehydromultiflorin (Blaschek *et al.* 2016). Samen von Süßlupinenvarietäten von *L. albus* weisen Alkaloidgehalte unter 0,05 % auf; einige Sorten erreichen 50 Mikrogramm pro Gramm ( $\mu\text{g/g}$ ) Trockengewicht (0,005 %). Bei Samen von Bitterlupinen der Spezies *L. albus* vom Wildstandort können die Alkaloidgehalte bis zu 8 % erreichen (Blaschek *et al.* 2016).
- Alkaloidgehalte der Samen von *L. angustifolius*:  
Hauptalkaloide der Samen sind: Lupanin (65 - 75 % der Gesamtalkaloide), Angustifolin (10 - 15 %) und 13-Hydroxylupanin (10 - 15 %). Nebenalkaloide der Samen sind: Isoangustifolin, Isolupanin, 17-Oxolupanin, Spartein und Tetrahydro-rhombifolin (Blaschek *et al.* 2016). Samen von Süßlupinenvarietäten von *L. angustifolius* weisen Alkaloidgehalte unter 0,05 % auf. Bei Samen von Bitterlupinen der Spezies *L. angustifolius* liegen die Alkaloidgehalte zwischen 1,5 und 4 % (Blaschek *et al.* 2016).
- Alkaloidgehalte der Samen von *L. luteus*:  
Hauptalkaloide der Samen sind: Lupinin (60% der Gesamtalkaloide) und Spartein (30 %). Nebenalkaloide der Samen sind: Ammodendrin, Feruloyllupinin,  $\beta$ -Isospartein, Lupanin, 17-Oxospartein und Tetrahydro-rhombifolin (Blaschek *et al.* 2016). Samen von Süßlupinenvarietäten von *L. luteus* weisen Alkaloidgehalte unter

<sup>1</sup> In *L. angustifolius* wurde (+)-Lupanin nachgewiesen, in *L. albus* wurde racemisches Lupanin gefunden (O'Neil 2006). Die Stereochemie für Lupanin (s. auch Wood & Wrigglesworth 2008) wird in der Stellungnahme nur angegeben, soweit entsprechende Informationen in der zitierten Literatur enthalten waren.

<sup>2</sup> In *L. luteus* und anderen Lupinenarten wurde (-)-Lupinin nachgewiesen (O'Neil 2006). Die Stereochemie für Lupinin (s. auch Wood & Wrigglesworth 2008) wird in der Stellungnahme nur angegeben, soweit entsprechende Informationen in der zitierten Literatur enthalten waren.

<sup>3</sup> In *L. luteus* und anderen Lupinenarten wurde (-)-Spartein nachgewiesen (O'Neil 2006; Blaschek 2016). Die Stereochemie für Spartein (s. auch Wood & Wrigglesworth 2008) wird in der Stellungnahme nur angegeben, soweit entsprechende Informationen in der zitierten Literatur enthalten waren.

0,1 % auf. Bei Samen von Bitterlupinen der Spezies *L. luteus* liegen die Alkaloidgehalte zwischen 0,5 und 2 % (Blaschek et al. 2016).

- Alkaloidgehalte der Samen von *L. mutabilis*:  
Hauptalkaloide der Samen sind: Lupanin (37 bis 75 %), 3 $\beta$ -Hydroxylupanin (4 bis 22 %), 13 $\alpha$ -Hydroxylupanin (4 bis 20 %), Spartein (3 bis 20 %), Tetrahydrohombifolin (0,1 bis 4 %). Nebenalkaloide der Samen sind: Nebenalkaloide sind Ammodendrin, 13-Angeloyloxylupanin, Angustifolin, 11,12-Dehydrospartein, 3,13-Dihydroxylupanin,  $\alpha$ -Isolupanin, Multiflorin, 17-Oxospartein, 13-Tigloyloxylupanin und verschiedene Ester des 13-Hydroxylupanins, 3-Hydroxylupanins und 3,13-Dihydroxylupanins (Blaschek et al. 2016). Samen von Süßlupinensorten von *L. mutabilis* weisen Alkaloidgehalte unter 0,1 % (minimal 0,001 %) auf. Bei Samen von Bitterlupinen der Spezies *L. mutabilis* liegen die Alkaloidgehalte zwischen 1 bis 4 % (Blaschek et al. 2016).

### 3.1.1.3 Einfluss von Verfahren der Nahrungszubereitung auf die Zusammensetzung (Entbitterung)

In der Literatur werden Forschungsergebnisse zur industriellen Entbitterung von Lupinensamen beschrieben (Carvajal-Larenas et al. 2013; Ertas & Bilgicli 2014; Haddad et al. 2006), die auf der Wasserlöslichkeit der Chinolizidinalkaloide beruhen und z. T. auch Fermentationsprozesse einschließen (Jiménez-Martínez et al. 2007; Ortega-David & Rodríguez-Stouvenel 2013). Diese Verfahren sind nicht Gegenstand dieser Stellungnahme.

Was haushaltstechnische Entbitterungsprozesse angeht, sind ebenfalls Methoden beschrieben worden, die größtenteils auf der Kombination von Vorgängen des Kochens und mehrtägigen Einweichens mit mehrfachem Wasserwechsel beruhen (Bleitgen et al. 1979; Ertas & Bilgicli 2014; Fudiyansyah et al. 1995; Lowen et al. 1995; Pilegaard & Gry 2008; Smith 1987).

Eine typische von verschiedenen Autoren beschriebene Entbitterungsmethode beruht auf folgender Anweisung (Lowen et al. 1995; Smith 1987):

- (1) Für jedes Volumenteil Lupinensamen werden 6 Volumenteile kaltes Wasser zugesetzt. Es folgt eine 24stündige Einweichzeit.
- (2) Abgießen des Einweichwassers und Spülen der Lupinensamen
- (3) Die Lupinensamen werden mit dem gleichen Volumen an Wasser wie unter 1. versetzt, zum Kochen gebracht und 7 - 10 min gekocht.
- (4) Abgießen des Kochwassers und Spülen der Lupinensamen
- (5) Die Schritte 1. und 2. werden für 5 - 7 Tage unter dreimaligem Wasserwechsel/Tag wiederholt bis die Lupinensamen nicht mehr bitter schmecken.

Smith analysierte die Alkaloidabnahme während der einzelnen Entbitterungsschritte und stellte fest, dass noch beim Einweichen am 6. Tag Alkaloide ins Einweichwasser übergangen. Der Alkaloidübergang in das Wasser war beim Kochen und dem Einweichen an den beiden darauf folgenden Tagen jeweils deutlich höher als bei den anderen Entbitterungsschritten.

Bleitgen et al. führte Versuche zur Entbitterung von Samen von *L. mutabilis* var. H 1 und *L. albus* var. Astra unter Anwendung sensorischer Tests durch (Bleitgen et al. 1979). Sie stellten fest, dass für die Entbitterung u. a. die Quellgeschwindigkeit und das Quellvermögen der Lupinensamen von Bedeutung sind und dass der Kochprozess die Alkaloidauswaschung aus den Samen erhöht. Auf der Basis ihrer Ergebnisse empfahlen die Autoren zur häuslichen Entbitterung, die ganzen Lupinensamen eine halbe Stunde zu kochen und drei Tage in fließendem Wasser zu entbittern. Die Ergebnisse zeigten auch, dass sich der bittere Ge-

schmack von Lupinenalkaloiden im Wasser im Falle von Spartein noch im ppm-Bereich (Millionstel-Bereich) sensorisch nachweisen ließ. Die Lupinenalkaloide unterschieden sich in ihrem Bitterkeitsgrad stark. Dieser nahm über D-Lupanin-Perchlorat, Lupinin, Isolupanin, zu Hydroxylupanin ab. Die Quellfähigkeit von Lupinensamen hatte artenunterschiedliche Charakteristika. Die Quellgeschwindigkeit war bei Samen von *L. albus* geringer als bei Samen von *L. mutabilis*.

Insgesamt lässt sich jedoch feststellen, dass keine systematischen und validierten Untersuchungen zur Qualität küchentechnischer Entbitterungsmethoden vorliegen. Es wird davon ausgegangen, dass der Erfolg von Entbitterungsmaßnahmen von verschiedenen Parametern und u. a. auch von dem variablen Anfangsgehalt der Lupinenalkaloide in den Samen abhängt. Vergiftungsfälle wurden wiederholt auf ungenügende küchentechnische Entbitterung von Bitterlupinensamen zurückgeführt. (vgl. 3.1.2.3.2). Dies verdeutlicht, dass die vom Verbraucher bei Bitterlupinensamen durchzuführende Entbitterung ein kritischer Schritt ist, von der die gesundheitliche Unbedenklichkeit als Lebensmittel abhängt. Bei dem derzeitigen ungenügenden Kenntnisstand können vom BfR keine generellen Empfehlungen zu küchentechnischer Entbitterungsmethoden von Bitterlupinensamen ausgesprochen werden.

### 3.1.2 Gefährdungspotenzial

Im Folgenden werden bewertungsrelevante Daten zur Toxikologie von Samen von *L. albus*, *L. angustifolius*, *L. luteus* und *L. mutabilis* nach oraler/peroraler Exposition zusammengestellt.

#### 3.1.2.1 Stellungnahmen zu Alkaloidgehalten von Lupinensamen von nationalen und internationalen Institutionen

Das Advisory Committee on Novel Food and Processes (ACNFP) in Großbritannien publizierte im Jahr 1996 eine gesundheitliche Bewertung der Samen von *L. angustifolius* (FSA 1996). Das Gremium kam zu dem Schluss, „...that seeds from *L. angustifolius* are safe for use in the production of foods for human consumption provided that the level of lupin alkaloids in the seeds or derived lupin products does not exceed 200 mg/kg...“. Dies entsprach dem in Australien bereits erlaubten Höchstwert (MPC, Maximum Permitted Concentrations) (ANZFA 2001) In Frankreich wurde im Jahr 1998 der Einsatz von bis zu 10 % Lupinenmehl, das von den Samen einer alkaloidarmen Varietät von *L. albus* (ARES) stammt, akzeptiert, vorausgesetzt, dass der Alkaloidgehalt 200 mg/kg nicht übersteigt (Santé) 1998).

Die Australia New Zealand Food Authority (ANZFA) folgerte im Rahmen ihrer gesundheitlichen Bewertung (ANZFA 2001):

*„Die einzigen verfügbaren Daten zur chronischer Toxizität für den Menschen stellen die Berichte des herkömmlichen Gebrauchs von Lupinensamen in Europa dar. Diese weisen darauf hin, dass Erwachsene eine Tagesdosis von 0,35 mg/kg ohne unerwünschte Wirkungen tolerieren können. Infolge der begrenzten Datenlage kann diese Aufnahmemenge jedoch nicht als „sichere Dosis“ für alle Personen der Bevölkerung betrachtet werden. Die einzig verfügbaren Daten zu Gehalten von Alkaloiden in Lupinensamen liegen in Form von Einzelberichten vor – keine veröffentlichten Informationen scheinen verfügbar zu sein. Außerdem beziehen sich die Informationen ausschließlich auf Erwachsene und nicht auf Kinder, wobei anzunehmen ist, dass der erwachsene Teil der Bevölkerung eine gewissen Grad an Toleranz gegenüber diesen Alkaloiden entwickelt hat. Die verfügbaren spärlichen Stoffwechseldaten lassen jedoch darauf schließen, dass die Alkaloide rasch und unverändert ausgeschieden werden, was die Wahrscheinlichkeit chronischer Toxizität vermindern würde. Wird im Hin-*

*blick auf die Unsicherheiten in der Datenlage, insbesondere wahrscheinliche Unterschiede beim Menschen betreffend, ein Sicherheitsfaktor von 10 angenommen, so errechnet sich eine vorläufige maximal tolerierbare tägliche Aufnahme (provisional tolerable daily intake, PTDI) von 0,035 mg/kg/Tag bzw. 35 µg/kg/Tag.<sup>4</sup>*

Auch informiert ANZFA über mittlere Alkaloidgehalte der Lupinensamen auf dem australischen Markt und Entwicklungen zur Züchtung von Lupinenarten mit niedrigen Alkaloidgehalten (ANZFA 2001):

*„Die Daten lassen darauf schließen, dass der mittlere Alkaloidgehalt von absatzfähigen süßen Lupinensamen durchschnittlich 130 - 150 mg/kg beträgt.“*

*„In Australien lag der Schwerpunkt von Pflanzenzuchtprogrammen bislang auf der Ertragsoptimierung von Arten, die natürlicherweise niedrige Gehalte an Alkaloiden aufweisen, sowie auf der Hybridisierung von Arten mit naturgemäß niedrigen Alkaloidgehalten. Sorten mit niedrigem Alkaloidgehalt sind seit einigen Jahren erhältlich, einschließlich *L. albus*, *L. augustifolius*, and *L. luteus cultivars* (*L. luteus* ist eine bekannte Quelle von Spartein).“*

Hingewiesen wird auf eine Publikation vom Nordic Council of Ministers, die eine Übersicht zum Vorkommen von Alkaloiden in essbaren Lupinensamen gibt (Pilegaard & Gry 2008).

### 3.1.2.2 Daten zur Toxizität

#### 3.1.2.2.1 Wirkmechanismus

Lupinenalkaloide zeigten *in vitro* inhibitorische Wirkung an nicotinischen und muscarinischen Acetylcholin-Rezeptoren aus dem Schweinehirn (Blaschek *et al.* 2016). Folgende halbmaximale Hemmkonzentrationen (IC<sub>50</sub> –Werte) wurden an nicotinischen Acetylcholin-Rezeptoren ermittelt: Lupanin 5 Mikromolar (µM), 3-Hydroxylupanin 190 µM, Albin 193 µM, Tetrahydro-rhombifolin 310 µM, Spartein 331 µM, Lupinin, Multiflorin über 500 µM (Blaschek *et al.* 2016). Folgende halbmaximale Hemmkonzentrationen (IC<sub>50</sub> –Werte) wurden an muscarinischen Acetylcholin-Rezeptoren ermittelt: Spartein 21 µM, Albin 33 µM, Multiflorin 47 µM, 3-Hydroxylupanin 74 µM, Lupanin 114 µM, 13α-Hydroxylupanin 140 µM, Lupinin 190 µM (Blaschek *et al.* 2016).

Zu muscarinischen Acetylcholin-Rezeptoren aus dem Rattenhirn zeigten Spartein und Lupanin sehr schwache Affinitäten (Die KI (inhibition constant) betrug 7 000 Nanomolar (nM) für Spartein und 11 000 nM für Lupanin; im Vergleich hierzu beträgt die KI für Atropin 0,16 nM. Die Autoren merken an, dass dieses Resultat nicht vereinbar ist mit der *in vivo* beobachteten pharmakodynamischen Aktivität. Zu nicotinischen Acetylcholin-Rezeptoren aus dem Rattenhirn wiesen Spartein und Lupanin ähnliche Affinitäten auf mit einer KI von 400 nM bzw. 500 nM. Die Affinitäten waren damit relativ hoch und nur etwa fünffach niedriger als bei Nicotin (KI = 90 nM). Insgesamt kamen die Autoren unter Einbeziehung von *in vivo* Daten zur Toxikologie und Pharmakologie zu dem Schluss, dass die pharmakologischen Eigenschaften von Spartein und Lupanin ähnlich sind aber quantitative Unterschiede bestehen (siehe auch 3.1.2.23.1 (a))(Yovo *et al.* 1984).

Spartein blockiert Na<sup>+</sup>-Kanäle und reduziert die K<sup>+</sup>-Permeabilität von Nerven- und Pankreaszellen. Auch konnte gezeigt werden, daß Spartein und Lupanin (jeweils 300 µM) an Natrium-

<sup>4</sup> Die Dosiangaben beziehen sich auf Lupinenalkaloide. Bei der vorliegenden deutschen Fassung des Textes handelt es sich um eine Eigenübersetzung aus dem Englischen, welche als die offizielle Version anzusehen ist.

und Kaliumkanälen isolierter Froschmuskelzellen (*Xenopus laevis*) hemmend wirken (Blaschek *et al.* 2016).

Lupinenalkaloide wirkten in *vitro* uteruskontrahierend. Am isolierten Kaninchenuterus wirkt Lupinin nur  $1/5$ , Lupanindihydrochlorid nur  $1/15$  so stark wie Sparteindisulfat (Gessner & Orzechowski 1974; Ligon 1941). Lupinenalkaloide wirken am isolierten Herzen antiarrhythmisch, in dem sie Vorhof- und Kammerflattern durch Verlangsamung der Reizleitung beseitigen. Die antiarrhythmische Wirkung nimmt von Spartein über Lupanin zu 13-Hydroxylupanin ab (Blaschek *et al.* 2016).

### 3.1.2.2.2 Toxikokinetik

**Sparte.** Beim Menschen wurde nach peroraler Gabe einer Dosis von 200 mg Sparteinsulfat die Substanz zu 70 % aus dem Magen-Darm-Trakt resorbiert, wobei nach 45 Minuten Plasmaspitzenwerte erreicht werden. Die Eliminationshalbwertszeit beträgt 117 min. Nach i. v. Gabe von Sparteinsulfat werden 34 % der Substanz als unverändertes Spartein innerhalb von 24 Stunden mit dem Urin ausgeschieden. Ungefähr 50 % des Sparteins ist an Plasmaprotein gebunden. Spartein wird durch *N*-Oxidasen metabolisiert. Der erste Metabolit *N*-1-Oxid ist chemisch instabil. Durch die Dehydratation entstehen 2-Dehydro- und 5-Dehydrospartein. Diese beiden Metaboliten können von 5 % der Bevölkerung, die aufgrund eines genetischen Polymorphismus das Cytochrom P-450-Isoenzym CYP2D6 nicht besitzen, nicht gebildet werden. Diese Nichtmetabolisierer, die höhere Sparteinplasmaspiegel als die Normalbevölkerung aufweisen und mehr als 95 % der peroral verabreichten Dosis als unverändertes Spartein mit dem Urin ausscheiden, sind für unerwünschte Sparteinwirkungen (z. B. Akkomodationsstörungen am Auge) empfindlicher als Individuen mit Cytochrom P-450-Metabolismus (Aktories *et al.* 2009; Blaschek *et al.* 2006; Eichelbaum *et al.* 1979; Schomerus *et al.* 1978; Thies 1986).

**Lupanin.** Ratten wurde Lupaninhydrochlorid mit dem Futter verabreicht. Aufgenommenes Lupanin wurde zu 70 - 80 % wieder ausgeschieden, wobei 50 - 70 % im Urin ausgeschieden und nur 10 - 14 % über den Kot eliminiert werden. Von dem aufgenommenem Lupanin wurden 30 - 40 % als hydroxyliertes Lupanin und etwa der gleiche Anteil unverändert mit Harn oder Kot ausgeschieden (Wittenburg & Nehring 1965). An 11 Probanden, zu denen 7 "extensive metabolizers" (EM) und 4 "poor metabolizers" (PM) bezüglich der Ausstattung mit Cytochrome P4502D6 (CYP2D6) gehörten, wurden 10 mg Lupanin oder 10 mg 13-Hydroxylupanin in einem randomisierten Cross-over design mit zweiwöchiger Auswaschphase oral verabreicht. Für Lupanin betragen die Halbwertszeiten  $6,2 \pm 0,5$  h (EM) bzw.  $6,5 \pm 0,9$  h (PM), wobei die Wiederfindung der unveränderten Substanz im Urin innerhalb von 72 h  $95,5 \pm 6,0$  % bzw.  $89,9 \pm 4,5$  % betrug. Für 13-Hydroxylupanin betragen die Halbwertszeiten  $6,8 \pm 1,0$  h (EM) bzw.  $5,9 \pm 1,6$  h (PM), wobei die Wiederfindung der unveränderten Substanz im Urin innerhalb von 72 h  $100,5 \pm 5,3$  % bzw.  $102,5 \pm 4,8$  % betrug. Bei der verabreichten Dosis zeigten die Halbwertszeiten der EM- bzw. PM-Individuen keine signifikanten Unterschiede. In einem der EM- und einem der PM-Individuen wurden 14 % bzw. 34 % des verabreichten 13-Hydroxylupanins zu Lupanin dehydroxyliert. Bei keinem der Probanden wurden adverse Effekte festgestellt. Die Herzfrequenz und der Blutdruck blieben unbeeinflusst (Petterson *et al.* 1994).

### 3.1.2.2.3 Daten zur akuten Toxizität

**Samen von *L. angustifolius* und *L. albus*.** In männlichen Wistar Ratten betrug die orale  $LD_{50}$  eines Extraktes aus Samen aus *L. angustifolius*, das 49 % Lupanin, 39 % 13-

Hydroxylupanin, 10 % Angustifolin und 0,7 %  $\alpha$ -Isolupanine enthielt, 2279 mg/kg KG (Tiere vor der Behandlung gefüttert) und 2401 mg/kg KG (Tiere 16 - 18 Stunden vor der Behandlung ungefüttert). 1 - 16 Minuten nach der Verabreichung reagierten die Tiere mit nervalen Symptomen wie Tremor, gefolgt von Konvulsionen, Zyanose, Kollaps und Tod. Ratten, die die Behandlung überlebt hatten, zeigten keine Zeichen klinischer Toxizität. Die niedrigste tödliche Dosis betrug 2 000 mg/kg KG (Tiere vor der Behandlung gefüttert) bzw. 2600 mg/kg KG (Tiere 16 - 18 Stunden vor der Behandlung ungefüttert) (Pettersson *et al.* 1987). Bei Verabreichung von Extrakten aus Samen von *L. angustifolius* and *L. albus* per Schlundsonde an männliche und weibliche AoBoy/liw Mäuse wurde eine mittlere letale Dosis (LD<sub>50</sub>) > 4 000 mg/kg KG festgestellt. Die Extrakte beider Lupinenspezies enthielten 10 % Alkaloide. Für mit verschiedenen Lösemitteln aus dem Extrakt der Samen von *L. angustifolius* hergestellte Fraktionen wurden LD<sub>50</sub>-Werte im Bereich von 750-4 000 mg/kg KG ermittelt (Stobiecki *et al.* 1993).

### **Lupanin und Spartein**

Die LD<sub>50</sub> bei peroraler Gabe wird für männliche EOPS Swiss Mäuse mit 410 mg Lupanin/kg KG angegeben. Als Symptome traten Tremor und tonisch-klonische Krämpfe auf. Der Tod erfolgte durch Atemlähmung (Yovo *et al.* 1984). Die LD<sub>50</sub> für männliche EOPS Swiss Mäuse bei peroraler Gabe wird angegeben mit 220 mg Spartein/kg KG. Als Symptome traten Tremor und tonisch-klonische Krämpfe auf. Der Tod erfolgte durch Atemlähmung (Yovo *et al.* 1984). Yovo *et al.* kamen zu dem Schluss, dass die pharmakologischen Eigenschaften von Spartein und Lupanin ähnlich sind aber quantitative Unterschiede bestehen (siehe auch 3.1.2.2(a)).

Die LD<sub>50</sub> bei peroraler Gabe lag bei ungefütterten Wistar Ratten bei 1664 mg Lupanin/kg KG. Die Autoren weisen darauf hin, dass die LD<sub>50</sub> von Lupanin somit niedriger ist als die von dem unter ähnlichen Bedingungen untersuchten Extrakt aus Samen aus *L. angustifolius*, (s.o.). Dies deutet darauf hin, dass die anderen Komponenten in dem Extrakt eine niedrigere akute Toxizität als Lupanin besaßen oder seine Toxizität durch Interaktionen abschwächten. Die niedrigste tödliche Dosis betrug 1538 mg Lupanin/kg KG (Pettersson *et al.* 1987).

#### 3.1.2.2.4 Daten zur subakuten und subchronischen Toxizität

### **Samen von *L. angustifolius* *L. albus* und *L. mutabilis***

In einer Studie von Ballester *et al.* (Ballester *et al.* 1980), erhielten drei Gruppen von je zwölf 21- bis 23-Tage-alten Charles River Ratten für 112 Tage Futter das a) zu 58,1 % aus *L. albus*<sup>5</sup> (Alkaloidgehalt der Süßlupinen: 0,051 %; geschätzte Alkaloidaufnahme: 26,6 mg Alkaloide/kg KG/Tag (EFSA 2012a)) bestand, b) zu 51,3 % aus *L. luteus*<sup>6</sup> (Alkaloidgehalt der Süßlupinen 0,091 % geschätzte Alkaloidaufnahme: 42,3 mg Alkaloide/kg KG/Tag (EFSA 2012a)) bestand, c) keinen Zusatz von Lupinen enthielt. Die Behandlungsgruppen wiesen für keinen der Untersuchungsparameter, die Futteraufnahme, Körpergewichtsentwicklung, Organengewichte, sowie makroskopische und mikroskopische Organuntersuchungen einschlossen, signifikante Unterschiede auf. Der „No observed adverse effect level“ (NOAEL) ist somit die höchste getestete Dosis, entsprechend 26,6 mg *L. albus*-Alkaloide/kg KG/Tag bzw. 42,3 mg *L. luteus*-Alkaloid/kg KG/Tag.

<sup>5</sup> Keine Angabe, welche Pflanzenteile eingesetzt wurden, vermutlich die Samen

<sup>6</sup> Keine Angabe, welche Pflanzenteile eingesetzt wurden, vermutlich die Samen

In einer neunmonatigen Studie wurde Wistar-Ratten in Gruppen von je 20 männlichen und weiblichen Tieren Futter, das zu 51,8 % aus Mehl, das von Samen von *L. albus* (cultivar: Multolopa) stammt, bestand (Lupaningehalt des Lupinenmehls: 0,025 %; geschätzte Lupinenaufnahme: 11,7 mg Lupanin/kg KG/Tag (EFSA 2012a); keine Angabe zu den Gehalten an weiteren Alkaloiden) verabreicht. Im Vergleich zur Kontrollgruppe wies die Behandlungsgruppe signifikant verminderte relative Lebergewichte auf, weitere adverse Effekte wurden nicht gesehen. Ein NOAEL für die Gesamtheit vorhandener Alkaloide kann nicht abgeleitet werden (Ballester *et al.* 1982).

In einer Studie von Butler *et al.* (Butler *et al.* 1996) erhielten Sprague-Dawley Ratten in vier Gruppen mit je 20 männlichen und 20 weiblichen Tieren Futter, das aufgrund seines Gehaltes an Mehl, das von Samen von *L. angustifolius* abstammte, ungefähr 2,9 - 6,6 mg Lupinenalkaloide/kg KG /Tag an mindestens 90 bis 98 Tagen. Eine der Gruppen diente als Kontrollgruppe. Bei den anderen drei Gruppen (Dosisgruppen) wurde dem Futter zusätzlich 250, 1050 oder 5050 mg Lupinenalkaloide/kg Futter zugesetzt (entsprechend 22,5; 95 oder 455 mg/kg KG/Tag (EFSA 2012a)). Die relativen Lebergewichte von weiblichen Tieren der höchsten Dosisgruppe zeigten eine dosisabhängige Erhöhung im Vergleich zu denen der Kontrollgruppe. Veränderte Foci von Leberparenchymzellen wurden in 5 Weibchen der Höchstdosisgruppe und einem Weibchen der Niedrigdosisgruppe gesehen sowie in je einem Männchen der Mittel- und der Niedrigdosisgruppe. Es wurden am 45. Behandlungstag hämatologische Veränderungen festgestellt. So waren die Anzahl von Erythrozyten und die Hämatokrit-Werte bei Tieren beiderlei Geschlechtes und die MCV(mittleres korpuskuläres Volumen)-Werte bei den männlichen Tieren vermindert. Die Autoren kamen bezüglich dieser Ergebnisse zu folgendem Schluss *“The changes in the haematological parameters in both sexes were small and the lack of a consistent and persistent dose-related response from the interim period to terminal kill suggests that these findings are not of biological significance.”*

In einer 90-Tage-Studie von Robbins *et al.* (Robbins *et al.* 1996), bei der Ratten ähnliche Dosen an Lupinalkaloiden in Form eines Extraktes aus Samen von *L. angustifolius* mit dem Futter verabreicht wurden wie in der Studie von Butler *et al.*, wurden keine hämatologischen Veränderungen gesehen. Sprague-Dawley Ratten hatten in vier Gruppen mit je 20 männlichen und 20 weiblichen Tieren Futter mit 0, 100, 330, 1 000 oder 5 000 mg Lupinenalkaloide/kg Futter erhalten (gemäß Angaben der Autoren entsprechend etwa 0, 10, 30, 100 oder 500 mg/kg KG/Tag. Die Autoren beschreiben eine Körpergewichtsverminderung in den beiden oberen Dosisgruppen und leiten darauf bezogen einen NOAEL von 30 mg/kg KG/Tag ab. Da die Körpergewichtsreduktion einzig durch die verminderte Futtermittelaufnahme infolge des bitteren Geschmackes der Lupinenalkaloide bedingt sein könnte, diskutieren die Autoren, ob ein NOAEL von 100 mg/kg KG/Tag adäquater sei. In der Höchstdosisgruppe wurde für beide Geschlechter und in der niedrigsten Dosisgruppe für die Männchen signifikant erhöhte relative Lebergewichte festgestellt.

In einer zwölfwöchigen Fütterungsstudie an Sprague-Dawley Ratten, in der entbitterte Samen von *L. mutabilis* als einzige Proteinquelle dienten, wurden keine adversen Effekte festgestellt (Schoeneberger *et al.* 1987).

Die Befunde der subchronischen Studien sind hinsichtlich der beobachteten Leberveränderungen (Erniedrigung oder Erhöhung der relativen Lebergewichte, keine Bestätigung der in einer Studie beobachteten Induktion von Leberfoci durch die Ergebnisse anderer Studien) und der hämatologischen Veränderungen uneinheitlich und z. T. widersprüchlich. Sie werden nicht als geeignete Basis für eine Risikobewertung betrachtet.

#### 3.1.2.2.5 Daten zur chronischen Toxizität

Es wurden Langzeitfütterungsuntersuchungen an Tieren, insbesondere Nagern, durchgeführt mit dem Hauptziel, den ernährungsphysiologischen Nutzen von Samen von *L. angustifolius* und *L. albus* zu untersuchen (Grant *et al.* 1995; Grant *et al.* 1993; Jecsai *et al.* 1986; Rahman 2000). Vielfach wurde in diesen Studien der Alkaloidgehalt der verabreichten Samen nicht angegeben. Diese Studien sind bezüglich ihres Studiendesigns zur Beurteilung einer möglichen chronischen Toxizität oder Kanzerogenität nicht geeignet.

#### 3.1.2.2.6 Daten zur Entwicklungs- und Reproduktionstoxizität

Wistar-Ratten in den F<sub>1</sub> und F<sub>2</sub>-Generationen (Gruppen von je 20 männlichen und weiblichen Tieren), die von der Elterngeneration F<sub>0</sub> der oben beschriebenen subchronischen Studie abstammen (Ballester *et al.* 1982), erhielten Futter, das zu 51,8 % aus Mehl, das von Samen von *L. albus* (cultivar: Multolopa) stammt, bestand (Lupaningehalt des Lupinenmehls: 0,025 %; geschätzte Lupaninaufnahme: 11,7 mg Lupanin/kg KG/Tag (EFSA 2012a) keine Angabe zu den Gehalten an weiteren Alkaloiden). Als einziger Unterschied zwischen den behandelten männlichen und weiblichen Tieren und den Kontrolltieren wurde eine signifikante Reduktion der relativen Lebergewichte beschrieben (Ballester *et al.* 1984).

Forschungsbedarf wird bezüglich der möglichen entwicklungstoxischen Wirkung bestimmter Lupinenalkaloide, wie z. B. Ammodendrin und Multiflorin und ihrer Derivate, gesehen, die vornehmlich in Wildlupinen vorkommen, in Spuren aber auch in Lupinensamen, die der menschlichen Ernährung dienen (vgl. 3.1.1. (a)).

#### 3.1.2.2.7 Daten zur Genotoxizität

In einem Übersichtsartikel (Pettersson 1998) wird erwähnt, dass die Testung einer Alkaloidpräparation aus *L. angustifolius* an *Salmonella typhimurium* mit und ohne metabolische Aktivierung negativ verlief (Originalprüfbericht und nähere Angaben nicht verfügbar).

### 3.1.2.3 Humandaten

#### 3.1.2.3.1 Pharmakologische und toxikologische Wirkungen

**Lupinensamen.** In der Standardliteratur finden sich die Angaben, dass die Symptome bei Vergiftungen durch Lupinensamen 20 min nach Verzehr der Samen einsetzen und nach 4 - 5 Stunden die maximale Alkaloidwirkung erfolgt. Leichtere Vergiftungen äußern sich durch Akkomodationsstörungen, Erbrechen, Bauchschmerzen, Durchfall und Herzbeschwerden. Schwere Vergiftungen gehen mit auffälliger Müdigkeit einher, begleitet von curareähnlichen Lähmungen und Krämpfen nach 2 - 3 Stunden. Es wird beschrieben, dass der Tod durch Ersticken bei noch gut schlagendem Herzen erfolgen kann. Die Lähmungen können aber auch von Tachyarrhythmie und Herzstillstand begleitet sein (Blaschek *et al.* 2006; Forrester 2006; Schmidlin-Mészáros 1973). Weitere Angaben sind den Fallbeschreibungen in den folgenden Kapiteln zu entnehmen.

## **Spartein**

Spartein wurde als Sparteinsulfat bereits seit 1873 klinisch zur Behandlung von Herzrhythmusstörungen eingesetzt, da es chinidinartig die Erregungsbildung und -leitung am Herzen hemmt. Es wurden in einer oralen Dosierung von 20 mg Sparteinsulfat (entsprechend 0,29 mg/kg KG bei einem Körpergewicht von 70 kg) über antifibrillatorische Eigenschaften berichtet. Die therapeutische Dosis von Sparteinsulfat wurde mit maximal 4 mg/kg KG angegeben (Blaschek *et al.* 2006; Thies 1986). Sparteinsulfat wurde Ende der sechziger Jahre in der Bundesrepublik in höheren Einzeldosen, nämlich 100 mg/Tablette oder Ampulle (Handelsname: Depasan<sup>R</sup>) als Klasse I-Antiarrhythmicum (Natriumkanalblocker), gegen tachycarde Rhythmusstörungen eingesetzt. Erfahrungen zeigten jedoch, dass auch die 100 mg-Dosis (entsprechend 1,4 mg/kg KG bei einem Körpergewicht von 70 kg) noch eine untere Schwellendosis darstellt und ein sicherer Behandlungserfolg erst bei oralen Dosen von 150 -200 mg (entsprechend 2,1 bis 2,9 mg/kg KG bei einem Körpergewicht von 70 kg) erzielt wurde. Bei dieser höheren Dosierung werden Nichtmetabolisierer allerdings als neue Risikogruppe beschrieben. Die Empfehlung zum Einsatz höherer Dosen bezog sich daher nur auf Patienten mit normaler Metabolisierungsfähigkeit (Thies 1986).

Als unerwünschte Wirkungen werden zentral nervöse Störungen, negative Inotropie (schwach ausgeprägt im therapeutischen Bereich), Bradycardie, Hypertonie, Blutbildveränderungen und Störungen der Leberenzyme genannt. Die Anwendung in der Schwangerschaft ist kontraindiziert (Aktories *et al.* 2009; Blaschek *et al.* 2006; Thies 1986).

Spartein zeigt außerdem eine oxytozische Wirkung, d. h. es erzeugt am virginellen, puerperalen und graviden Uterus eine Erregung der Muskulatur. In der Austreibungsphase der Geburt erzeugt Spartein rhythmische Uteruskontraktionen (Thies 1986). Intramuskulär (i.m.) injiziert, wurde Sparteinsulfat daher als zuverlässiges Arzneimittel zur Wehenverstärkung eingesetzt, wobei es in Einzeldosen von 100 bis 150 mg (entsprechend 1,1 bis 2,1 mg/kg KG bei einem Körpergewicht von 70 kg) verabreicht wurde (Gessner & Orzechowski 1974). Auch in den USA wurde Sparteinsulfat einige Jahre zur Geburtseinleitung benutzt (Newton *et al.* 1966; Schulman & Ledger 1965), bevor seine Verwendung als "a potent oxytocic" wegen unvorhersehbar auftretender und nicht beeinflussbarer Uterustetanien von der FDA untersagt wurde (FDA 1979; Thies 1986). In der Literatur wird diskutiert, ob die mit einer Uterustetanie reagierenden Frauen "Nichtmetabolisiererinnen" gewesen sein könnten (Thies 1986). Die Wirkung von Sparteinsulfat auf den Uterus bei oraler Gabe wurde von Dipont untersucht (Dipont 1971). Sparteinsulfat wurde in Dosen von 100 - 150 mg in der ersten Phase der Geburt verabreicht, wobei die Gabe, wenn notwendig, stündlich wiederholt wurde. Durch die Behandlung wurde im Vergleich zur Kontrollgruppe eine statistisch signifikante Verkürzung der ersten Phase der Geburt erreicht. Die durchschnittlich verabreichte Dosis an Sparteinsulfat betrug 402,5 mg (Dipont 1971).

In der Standardliteratur wird auf Vergiftungen durch Spartein-haltige Arzneimittel hingewiesen und angenommen, dass sie besonders bei Individuen beobachtet wurden, die nicht in der Lage waren, Spartein zu metabolisieren (siehe 3.1.2.2) (Aktories *et al.* 2009). Vergiftungen mit Spartein verliefen teilweise tödlich. Spartein entfaltet peripher eine curareähnliche Wirkung, was zunächst zum Atemstillstand durch Lähmung der Phrenicusendungen führt. Größere Dosen lähmen das Atemzentrum (Schmidt 1961). Spartein soll beim Menschen ab 40 mg/kg KG zur Atemlähmung und ab 90 mg/kg KG zum Herzstillstand führen (Blaschek *et al.* 2006; Thies 1986). Über den Todesfall eines Kindes nach Aufnahme von 30 mg Spartein/kg KG wird unter (c) berichtet. Vergiftungssymptome sind Schläfrigkeit, Schwindel, Kopfschmerzen, Schweißausbruch, Mydriasis, Muskelschwäche. In hohen Dosen setzt Bradycardie ein. Der Tod erfolgt durch Atemlähmung (Aktories *et al.* 2009).

### 3.1.2.3.2 Falldaten

In der BfR-Falldatenbank wurden zwei miteinander verbundene ärztliche Meldungen (nach ChemG § 16e (2)) zum Stichwort „Lupine“ aus dem Jahr 1997 gefunden:

- Ein 4jähriges Mädchen hatte im Kindergarten fraglich maximal 22 Lupinensamen oral aufgenommen, wurde stationär überwacht. Symptome sind nicht aufgetreten.
- Ein 3jähriges Mädchen hatte im Kindergarten fraglich maximal 22 Lupinensamen oral aufgenommen, wurde stationär überwacht. Symptome sind nicht aufgetreten.

Das BfR hat sich außerdem mit einer Umfrage an die 8 deutschen Giftinformationszentren (GIZ) gewandt, um orale Human-Expositionen mit Lupine und daraus resultierende Erkrankungen zu erfassen. Die Auswertung der Umfrage, an der sich alle 8 GIZ beteiligten, zeigte, dass im Zeitraum 2010 - 2015 zu dieser Thematik 130 Anfragen, davon 124 mit oraler Exposition vorlagen. Die aggregierten Umfrageergebnisse sind im Anhang 1 dargestellt. Von den 124 Anfragen mit oraler Exposition bezogen sich 106 (85,5 %) auf die Aufnahme von Pflanzenteilen oder Lebensmittel. Davon handelte es sich in 97 (91,5 %) Fällen um Expositionen mit Pflanzenteilen (Samen, Schoten, Pflanzenmilch, Blüten) und in 6 (5,7 %) Fällen um Expositionen mit Lebens- und Genussmitteln (Tee/Sud aus Pflanzenblättern, Lupinensamenmehl, Milchshake). Für 3 (2,8 %) orale Expositionen war die Noxe nicht bekannt.

Für 92 (73,6 %) Anfragen zu oralen Human-Expositionen ist der Schweregrad bekannt. Davon sind 70 (76 %) asymptomatisch und 22 (24 %) leichte Fälle.

Bei einer Frau traten nach dem Genuss von Sud aus „Andenlupine“ Mydriasis, Tachykardie, Übelkeit, verwaschene Sprache auf, die vom meldenden GIZ als leichte Symptomatik bewertet wurden (nach Poisoning Severity Score (Persson *et al.* 1998)). Dies ist der einzige Fall, für den eine (leichte) anticholinerge Symptomatik mitgeteilt wurde. Angaben dazu, welche Teile der Andenlupine (*Lupinus mutabilis*) zur Bereitung des Suds benutzt wurde, liegen nicht vor, sodass der Befund als nicht aussagekräftig für die vorliegende Fragestellung angesehen wird.

Das GIZ-Nord (Göttingen) berichtet detailliert über den Anteil von Expositionen mit Lupinensamen bzw. Lupinenschoten bei 28 von 34 Anfragen (82,5 %). Davon hatten 2 Personen (7 %) leichte Symptome (ein 9-jähriges Mädchen hatte 5 Samen verzehrt, ein 2-jähriger Junge eine unbekannte Menge Lupinenschoten zu sich genommen).

Das GIZ-Freiburg meldet leichte Symptome bei 2 Erwachsenen nach dem Genuss von Sud aus Blättern bzw. nach dem Rauchen von Blättern.

Weitere Angaben der GIZ zu ausgewählten Einzelfällen in Bezug auf Noxe und Symptome sind in Anhang 2 dargestellt.

Insgesamt lässt sich zusammenfassen, dass die hier durchgeführte Beurteilung auf Vergiftungsfällen nach oraler Aufnahme von Lupinensamen, -schoten, oder -mehl basiert. Grundsätzlich erlauben die dem BfR vorgelegten Daten keine Aussage, ob die beobachteten Symptome mit dem Verzehr von Lupinensamen, -schoten, oder -mehl in einem kausalen Zusammenhang stehen. Weder dem BfR noch den deutschen Giftinformationszentren wurden Vergiftungsfälle mit mittlerem oder schwerem Verlauf nach dem Verzehr von Lupinensamen, -schoten, oder -mehl gemeldet. Nach derartigem Verzehr wurde der Gesundheitszu-

stand lediglich als „asymptomatisch“ oder die beobachteten Symptome als leicht beschrieben.

Im Folgenden wird weiterhin eine Auswahl publizierter Vergiftungsfälle vorgestellt, wobei der Fokus auf solche Berichte gelegt wird, die eine Beziehung zwischen der aufgenommenen Alkaloiddosis und beobachteten Vergiftungssymptomen, insbesondere im Niedrigdosisbereich, beschreiben. Außerdem werden einige Fälle mit typischer Symptomatik präsentiert. In einigen Fallberichten bleibt die botanische Abstammung der Lupinensamen unklar. Als Spezies, deren Samen zu Vergiftungen führten, werden *L. albus* und *L. flavus* genannt (Awada *et al.* 2011; Schmidlin-Mészáros 1973).

Aus der verfügbaren Literatur wird deutlich, dass Vergiftungsfälle wiederholt auf ungenügende küchentechnische Entbitterung von Bitterlupinensamen zurückgeführt wurden (Awada *et al.* 2011; Daverio *et al.* 2014; Jamali 2011; Kurzbaum *et al.* 2008; Litkey & Dailey 2007; Lowen *et al.* 1995; Smith 1987). In einem Fall wurde die Vergiftung sogar durch den Konsum des zur Entbitterung verwendeten Einweichwassers bedingt (Luque Marquez *et al.* 1991).

#### *Samen von Bitterlupinen*

Es werden drei Vergiftungsfälle von Kindern mit tödlichem Verlauf nach Aufnahme von Lupinensamen beschrieben. Das Vergiftungsbild eines zehnjährigen Jungen (KG: ca. 30 kg), der eine unbestimmte Anzahl stark bitterer Samen von *L. albus* (ca. 25 - 30 g, vermutet Alkaloiddosis: ca. 17 bis 20 mg/kg KG) verzehrt hatte, ist typisch: Er entwickelte gastrische Symptome, Mydriasis, klonische Krämpfe, Dyspnoe und Cyanose. Nach 3 Stunden trat der Tod unter Krämpfen ein. Weiterhin wird der Tod eines eineinhalbjährigen Kind (KG: ca. 9 kg) nach Aufnahme von sechs Samen von *L. albus* berichtet (vermutet Alkaloiddosis: ca. 11 - 22 mg/kg KG). Ein 17 Monate altes Kind (KG: ca. 8 kg) starb unter Lähmungserscheinungen, nachdem es einige Lupinensamen (unbekannte botanische Herkunft) (5 - 10 g) gegessen hatte, in denen über 1 % Spartein und Lupinin enthalten war. Die mit den Samen aufgenommene Alkaloiddosis wurde auf 12 - 25 mg/kg KG geschätzt (Schmidlin-Mészáros 1973; Schmidt 1961).

Bei einer erwachsenen Frau (KG: ca. 55 kg) führte der Verzehr von 70 - 80 g ungekochten trockenen Samen von *L. albus* (vermutet Alkaloiddosis: ca. 25 - 29 mg/kg KG), die in Wasser eingelegt worden waren, zu einer Vergiftung mit starken Magenschmerzen, Erbrechen, starken Sehstörungen, starker Mydriasis, trockenem Hals, nicht wahrnehmbarem Puls, Aufregung und Disпноea (Schmidlin-Mészáros 1973). Ein erwachsener Mann (KG: ca. 65 kg) zeigte nach Aufnahme von 100 - 150 g ungekochten, trockenen Lupinensamen (vermutet Dosis: ca. 31 - 46 mg Gesamtalkaloide/kg KG davon ca. 23 - 34 mg Lupanin/kg KG) eine Vergiftung mit Übelkeit, Mydriasis und vorübergehendem Coma (Schmidlin-Mészáros 1973).

#### *Spartein*

Ein knapp zweieinhalbjähriges Kind starb 3 Stunden nach Aufnahme von 413 mg Spartein (in Form eines Fertigarzneimittels), entsprechend etwa 30 mg Spartein/kg KG. Das Kind war zunächst auffallend müde geworden, erlitt sodann eine zunehmende Atemlähmung bei gleichzeitiger hochgradiger Pulsbeschleunigung. Vor dem Einsetzen des Todes traten Krämpfe tonischer Art hinzu (Schmidt 1961).

Aus den dargestellten Falldaten lässt sich folgern, dass Vergiftungen durch Lupinensamen nicht häufig vorkommen. Sie stellen aber dennoch ernsthafte Gefahren für den betroffenen Menschen, insbesondere Kleinkinder dar, bei denen tödliche Vergiftungsverläufe beschrie-

ben wurden. Vergiftungsfälle wurden wiederholt auf ungenügende küchentechnische Entbitterung von Bitterlupinensamen zurückgeführt (Awada *et al.* 2011; Daverio *et al.* 2014; Jamali 2011; Kurzbaum *et al.* 2008; Litkey & Dailey 2007; Lowen *et al.* 1995; Smith 1987). Hinweise, dass der Verzehr industriell gefertigter Lebensmittel auf der Basis von Lupinensamen mit Vergiftungen assoziiert war, liegen nicht vor.

#### 3.1.2.4 Ausgangsbasis für die Charakterisierung des Gefährdungspotenzials

Die Datenlage zu den Wirkungen und insbesondere zu Dosis-Wirkungsbeziehungen der einzelnen Alkaloide und zu ihren Interaktionen ist lückenhaft und für eine Ableitung von gesundheitsbezogenen Richtwerten (Health Based Guidance Values, HBGV), *bei deren Einhal tung nicht mehr mit dem Auftreten gesundheitlicher akuter bzw. chronischer Schädigungen zu rechnen wäre, unzureichend*. Im Hinblick auf die akute Toxizität fehlen insbesondere Daten zum No-Effect-Level der Chinolizidinalkaloide bezüglich der Induktion von Uteruskontrak tionen bei oraler Exposition. Was längerfristige Expositionen anbetrifft fehlen Informationen zur chronischen, entwicklungstoxischen, reproduktionstoxischen und genotoxischen Wir kung.

Vergleicht man die Humandaten aus Vergiftungsfällen mit den tierexperimentellen Befunden zur akuten und längerfristigen Toxizität, wird deutlich, dass der Mensch offensichtlich empfindlicher als Labornagetiere auf Chinolizidinalkaloide reagiert. So wird beispielsweise für Spartein die LD<sub>50</sub> für männliche EOPS Swiss Mäuse bei peroraler Gabe mit 220 mg/kg KG angegeben, während Spartein bei einem Kleinkind bereits in Dosen von etwa 30 mg/kg KG tödlich war.

Als eine Basis für Abschätzungen, welche Aufnahmemengen an Chinolizidinalkaloiden hinsichtlich der Vermeidung toxischer Wirkungen tolerierbar sind, kommen daher weniger Befunde tierexperimentelle Daten als Humandaten in Frage. Diese liegen aus früheren phar mazeutischen Nutzungen für Spartein vor, das nach bestehenden Erkenntnissen den beiden anderen Hauptalkaloiden Lupanin und Lupinin in der pharmakologischen Wirkung als anti cholinerge Substanz qualitativ ähnelt, quantitativ aber eine höhere Wirkpotenz besitzt. So zeigt es eine höhere tierexperimentelle akute Toxizität (vgl. 3.1.2.3.1a) und höhere Wirkpo tenziale am isolierten Herzen und am isolierten Uterus (vgl. 3.1.2.2a). Damit ist ein konserva tiver Bewertungsansatz gewährleistet, wobei Spartein in den Samen von allen vier Kulturlu pinenarten *L. luteus*, *L. mutabilis*, *L. albus* und *L. angustifolius* als Komponente beschrieben wird, aber nur in den beiden erst genannten als Hauptalkaloid.

Als niedrigste pharmakologisch wirksame (antifibrillatorische) orale Einzeldosis zur Behand lung von Herzrhythmusstörungen werden 20 mg Sparteinsulfat (entsprechend 0,29 mg Spar teinsulfat /kg KG bei einem Körpergewicht von 70 kg) genannt. Spätere Erfahrung zeigten jedoch, dass ein sicherer Behandlungserfolg erst bei oralen Dosen von 150 - 200 mg (ent sprechend 2,1 - 2,9 mg/kg KG bei einem Körpergewicht von 70 kg) erzielt wurde, bei dieser Dosierung jedoch für Nichtmetabolisierer Risiken für unerwünschte Wirkungen bestanden (Blaschek *et al.* 2006; Thies 1986).

Als Ausgangspunkt (point of departure) für die Charakterisierung des akuten Gefährdungs potenzials wird daher die Dosis von 0,29 mg Sparteinsulfat/kg KG, entsprechend 0,20 mg Spartein/kg KG gewählt, die in der älteren Literatur als niedrigste pharmakologische Wirkdo sis beschrieben und als Schwellendosis angesehen wird. Bei der durchzuführenden Risiko bewertung wird in Form einer Margin of Safety (MOS)-Betrachtung auf diese Dosis als Referenzwert Bezug genommen. Hierbei sollte der anzustrebende MOS der unsicheren Datenla-

ge und insbesondere einer möglichen höheren Empfindlichkeit von Kindern, Schwangeren und Nichtmetabolisierern Rechnung tragen.

Ein toxikologischer Referenzwert, der für die Abschätzung der Risiken bei längerfristiger Exposition herangezogen werden könnte, kann beim gegenwärtigen Kenntnisstand nicht abgeleitet werden.

### 3.1.3 Analytik

Lupine und Lupinenerzeugnisse sind in die Gruppe der kennzeichnungspflichtigen Allergene in der Richtlinie 2006/142/EG zur Änderung des Anhangs III a der Richtlinie 2000/13/EG aufgenommen und Methoden zur Überprüfung dieser Kennzeichnungspflicht sind erhältlich und auch unter DIN EN ISO 17025 akkreditiert. Bei diesen Methoden handelt es sich vor allem um den Nachweis der Lupinenproteine mittels ELISA und den DNA Nachweis mittels PCR.

Die in Lupinen enthaltenen sekundären Pflanzeninhaltsstoffe gehören hauptsächlich zur Gruppe der Chinolizidin-Alkaloide. Die Hauptvertreter der nachgewiesenen Chinolizidin-Alkaloide sind: Lupinin, Lupanin, Spartein,  $\alpha$ -Isolupanin, 13-Hydroxylupanin, Angustifolin, Albin, 13 $\alpha$ -tigloyloxylupanin, Multiflorin, Tetrahydrorhombifolin.

Weitere Alkaloide, die in Lupinen vorkommen können, sind u. a. vom Piperidin-Typ (Ammodendrine).

Die Profile der in Lupinen enthaltenen Alkaloide sind unter anderem von der Sorte, dem untersuchten Pflanzenteil, dem Entwicklungsstadium, dem geographischen Ursprung und von Stressfaktoren abhängig (Boschin *et al.* 2008; Chludil *et al.* 2009).

Die meisten in der Literatur beschriebenen Methoden dienen der Identifizierung der verschiedenen Alkaloide in den unterschiedlichen Lupinen Sorten. Die Identifizierung erfolgt vor allem über die mit GC-MS erstellten Massenspektren und einen Vergleich mit einer Massenspektren-Bibliothek-Datenbank. Anhand der Massenspektren kann der prozentuale Anteil der einzelnen Alkaloide in den Proben abgeschätzt werden. Diese semiquantitative Bestimmung wurde vor allem für Samen und verschiedene Pflanzen und Pflanzenteile durchgeführt (Boschin *et al.* 2008; Chludil *et al.* 2009; Resta *et al.* 2008a; Wink *et al.* 1995).

In der Literatur sind wenige Methoden zur Quantifizierung der Alkaloide in Lupinen und in aus Lupinen hergestellten Lebensmitteln beschrieben. Diese Verfahren beruhen hauptsächlich auf GC-MS (Boschin *et al.* 2008; Reinhard *et al.* 2006; Resta *et al.* 2008a). Auch eine Kapillarelektrophorese-MS Methode für Lebensmittel ist beschrieben (Ganzer *et al.* 2010). Zur Untersuchung von möglichen Vergiftungen beim Menschen durch Pflanzen wurde eine LC-MS/MS Multimethode, die unter anderem die Alkaloide Spartein und Lupanin in Blut nachweist, entwickelt (Carlier *et al.* 2015). Das Prinzip der Aufreinigung ist bei allen Methoden und für die verschiedenen Matrices ähnlich. Nach einer sauren Extraktion werden die Extrakte alkalisiert und weiter mit flüssig-flüssig Extraktion oder Festphasenextraktion gereinigt. Anschließend erfolgt die Analyse mit den entsprechenden Verfahren.

Untersucht wurde der Gehalt in Lupinensamen und in aus Lupinen hergestellten Lebensmitteln, wie Mehl, Backwaren, Tofu und Kaffee. Die Quantifizierung der verschiedenen Alkaloide ist problematisch, da nur einige der Substanzen als Standards und auch keine isotope markierten internen Standards erhältlich sind. In einigen der beschriebenen Verfahren wurden

verschiedene Alkaloide aus den Pflanzen isoliert, aufgereinigt und dann als Standard zur Quantifizierung verwendet.

Die in der Literatur aufgeführten Nachweis- und Bestimmungsgrenzen der Methoden sind in Abhängigkeit vom Anwendungsgebiet, der angewendeten Methode und dem Analyten sehr unterschiedlich. Sie reichen von einer Nachweisgrenze von 0,1 Mikrogramm/Liter ( $\mu\text{g/l}$ ) für Lupanin in Blut und Analyse mit LC-MS/MS bis zu 30 mg/kg für Spartein in Lupinensamen und Analyse mit Kapillarelektrophorese. Die erreichten Wiederfindungen liegen für alle Methoden im Bereich von 90 % bis 110 % mit einem Variationskoeffizient unter 10 % als Maß für die Wiederholbarkeit. Von den beschriebenen Methoden sind einige vom BfR validiert, aber keine der Methoden wurde in einer Methodvalidierungsstudie mit mehreren Laboren validiert.

Fazit:

- Es sind nur wenige Methoden beschrieben, die die unterschiedlichen Alkaloide quantifizieren.
- Die Verfügbarkeit der Standardsubstanzen ist eingeschränkt und isotope-markierte Standards sind nach Recherchen des BfR bislang nicht verfügbar. Dies schränkt die Zuverlässigkeit der Quantifizierung, insbesondere bei GC-MS Methoden ein.
- Nur wenige Methoden sind laborintern validiert und keine der Methoden ist in einer Methodvalidierungsstudie überprüft worden. Bislang ist auch nach Recherchen des BfR keine der Methoden nach DIN EN ISO 17025 akkreditiert.

### 3.1.4 Exposition

#### 3.1.4.1 Verzehr von Lebensmitteln mit Lupinensamen

Bislang fehlten Verzehrdaten zu Lebensmitteln in Deutschland, die Lupinensamen oder eine verarbeitete Form von Lupinensamen (z. B. Lupinenmehl) enthalten. Um aktuelle Daten zu erhalten, wurde im Januar/Februar 2016 eine deutschlandweite, repräsentative „Verbraucherbefragung zum Verzehr von Lupinensamen“ im Auftrag des BfR durchgeführt. Von den 2 022 Studienteilnehmern waren 1 021 Männer und 1 001 Frauen. Befragt wurde die bundesdeutsche Wohnbevölkerung ab 14 Jahren.

Eine der Befragung vorangegangene Analyse des Angebots an Lupinensamen-haltigen Lebensmitteln wurde mit Hilfe der MINTEL-Datenbank (MINTEL 2016 ) durchgeführt. Diese Datenbank beinhaltet unter anderem Informationen über Lebensmittel und ihre Inhaltsstoffe entsprechend der Verpackungsangaben. Eine Recherche zu Produkten, in deren Zutatenlisten „Lupin\*“ zu finden ist, ergab, dass in den Jahren 2005 - 2015 insgesamt 278 solcher Lebensmittel mit Lupinensamen/-mehl in der Zutatenliste auf den deutschen Markt gebracht wurden. Diese Lebensmittel finden sich hauptsächlich in den Kategorien „Süßes Gebäck/Kekse“, „Brot & Backwaren“ und „Kuchen & Süßwaren“. Unter Berücksichtigung dieser Informationen wurden die Kategorien für die „Befragung zum Verzehr von Lupinensamen“ gebildet. Die Ergebnisse der Befragung zeigen, wie häufig Lebensmittel mit Lupinensamen aus folgenden Kategorien in den letzten 12 Monaten verzehrt wurden (Tabelle 1).

**Tabelle 1: Lebensmittelkategorien, über die Lebensmittel mit Lupinensamen aufgenommen werden und Häufigkeiten des Verzehrs Lupinensamenhaltiger Lebensmittel in den einzelnen Kategorien**

Lebensmittelkategorie	n (% von 2 022)	Häufigkeiten in %				
		mehrmals pro Woche	Einmal pro Woche	Alle 14 Tage	Etwa 1x pro Monat	Seltener als 1x im Monat, aber mindestens 1x im vergangenen Jahr
Lupinensamen als Snack	51 (2,5)	9,8	3,9	7,8	13,7	64,7
Süßwaren	28 (1,4)	3,4	6,9	0,0	20,7	69,0
Bratlinge/Fleischersatz	51 (2,5)	0,0	12,0	4,0	22,0	62,0
Müsli/Frühstücksbrei	23 (1,1)	16,0	24,0	8,0	16,0	36,0
Kekse	42 (2,1)	0,0	16,7	7,1	9,5	66,7
Kuchen	42 (2,1)	0,0	16,7	7,1	9,5	66,7
Brot	61 (3,0)	6,6	14,8	6,6	19,7	52,5
Brotaufstrich	21 (1,0)	4,5	9,1	4,5	18,2	63,6
Smoothie/Shake	15 (0,7)	0,0	14,3	7,1	14,3	64,3
Eis/Dessert auf Lupinenbasis	21 (1,0)	9,5	9,5	0,0	19,0	61,9
Nahrungsergänzungsmittel (NEM)	22 (1,1)	13,0	8,7	21,7	26,1	30,4

n – Anzahl der Befragten, die Lebensmittel mit Lupinensamen in dieser Kategorie mindestens einmal in den letzten 12 Monaten gegessen haben

Zusätzlich zu den in Tabelle 1 aufgeführten Befragten gaben 75 Teilnehmerinnen und Teilnehmer (als Summe aller Kategorien) an, „nicht in den letzten zwölf Monaten“ ein Lebensmittel mit Lupinensamen aus den vorliegenden Kategorien verzehrt zu haben und 29 konnten dazu keine Angabe machen.

Die in der Befragung enthaltenen Kategorien "nicht in den letzten 12 Monaten" und "keine Angabe" sind in der Tabelle nicht aufgeführt, weil in der vorliegenden Betrachtung nur die letzten 12 Monate berücksichtigt werden.

Von den Studienteilnehmerinnen und -teilnehmern, denen die Essbarkeit von Lupinensamen bekannt war (19 % aller Befragten), hatten 46 % schon einmal bewusst ein industriell hergestelltes oder selbstzubereitetes Lupinensamen-haltiges Lebensmittel aus einer der gefragten Lebensmittelkategorien gegessen. Tabelle 1 zeigt welche Lebensmittelkategorien abgefragt wurden und die Anzahl der Studienteilnehmerinnen und -teilnehmer, die bereits Lebensmittel mit Lupinensamen aus den einzelnen Kategorien verzehrt haben. Es wird deutlich, dass die Häufigkeiten, mit denen Produkte aus den genannten Lebensmittelkategorien verzehrt werden, meist im Bereich „seltener als 1x im Monat, aber mindestens 1x im vergangenen Jahr“ liegen. Lebensmittel mit Lupinensamen werden demzufolge aktuell nur gelegentlich verzehrt.

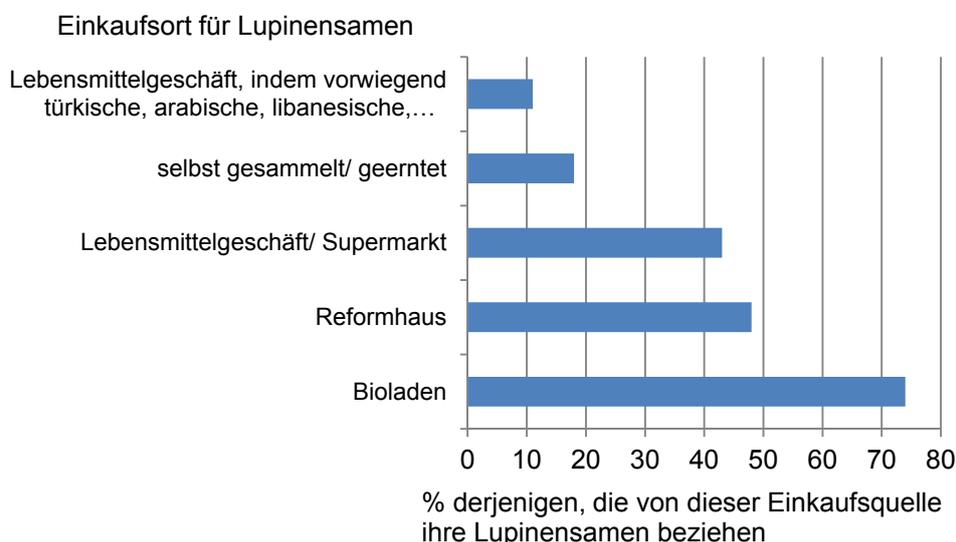
Die Ergebnisse der Befragung bestätigen die Annahme, dass der Anteil der Befragten, die überhaupt schon einmal Lebensmittel mit Lupinensamen bewusst gegessen haben, gering ist (9,2 % der Befragten). 6,7 % der Befragten hatten in den letzten 12 Monaten mindestens einmal ein Lebensmittel mit Lupinensamen verzehrt. Der Anteil derjenigen, die dafür Lupi-

nensamen an sich kaufen (und zubereiten), und nicht auf ein verarbeitetes Produkt oder Lupinmehl zurückgreifen, ist sehr gering (1,2 % der Befragten).

Die Abfrage bzgl. der Einkaufsquelle der Lupinensamen an sich, bei der auch Mehrfachangaben möglich waren, zeigte, dass 74 % diese im Bioladen kaufen, 48 % im Reformhaus, 43 % in einem Lebensmittelgeschäft/Supermarkt, 18 % sammeln sie selbst oder ernten sie selbst und 11 % kaufen sie in einem Lebensmittelgeschäft, in dem vorwiegend türkische, arabische, libanesische, mediterrane oder asiatische Lebensmittel verkauft werden. (Abb.1) Befragt wurden nur diejenigen, die Lebensmittel mit Lupinensamen selbst zubereiten und dafür Lupinensamen an sich und nicht Lupinmehl o. ä. verwenden (n = 7).

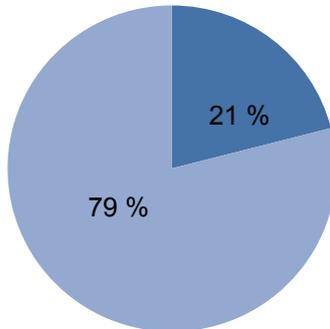
Von den 397 Befragten, denen Lupinensamen bekannt waren, kannten nur 21 % die Unterscheidung in Süß- und Bitterlupinensamen.

**Abbildung 1 Einkaufsort für Lupinensamen**



**Abbildung 2 Kenntnisstand der Befragten bzgl. der Unterscheidung in Süß- und Bitterlupinen**

21 % kennen die Unterscheidung in Süß- und Bitterlupine



79 % kennen die Unterscheidung in Süß- und Bitterlupine nicht

#### 3.1.4.2 Gehaltsdaten

Auf folgende Gehaltsdaten wird bezüglich der Expositionsabschätzung Bezug genommen (vgl. auch 3.1.1 und 3.1.2.1):

Der Alkaloidgehalt in Süßlupinensamen beträgt laut der Australisch-Neuseeländischen Lebensmittelbehörde durchschnittlich 130 - 150 mg/kg Lupinensamen (ANZFA 2001).

Die Australische, Neuseeländische, Britische und Französische Lebensmittelbehörde haben für den Alkaloidgehalt in Lupinensamen und daraus hergestellten Lupinenprodukten einen Maximalwert von 200 mg/kg festgelegt (Resta *et al.* 2008a) (vgl. 3.1.2.1).

In Bitterlupinensamen finden sich Gehalte von bis zu 500 mg/kg (Pilegaard & Gry 2008). In einer schwedischen Probe, die eine Meldung im Europäischen Schnellwarnsystem für Lebensmittel und Futtermittel (RASFF-Meldung) auslöste, fand sich ein Lupaningehalt von 20 000 mg/kg Samen.

Eine italienische Forschergruppe um Donatella Resta untersuchte u. a. kommerzielle Produkte auf Lupinenbasis und fand in den Lebensmitteln nur Alkaloidgehalte unter 60 mg/kg (keine Angaben zu dem Anteil der Lupinensamen in den einzelnen Lebensmitteln) (Resta *et al.* 2008a).

#### 3.1.4.3 Berechnung der chronischen Alkaloidaufnahme über Lebensmittel auf Lupinenbasis

Die Berechnung der Alkaloidaufnahme für die Erwachsene Bevölkerung erfolgte auf Basis der Variablen Portionsgröße, Lupinensamenanteil im Lebensmittel, Verzehrshäufigkeit und Alkaloidgehalt im Lebensmittel. Für die Berechnung des Lupinensamenanteils im Lebensmittel und die Portionsgrößen wurde auf den Bundeslebensmittelschlüssel (BLS) bzw. wenn vorhanden, auf Herstellerangaben und Verpackungsinformationen zurückgegriffen. Bei unterschiedlichen Portionsgrößen bzw. Lupinensamenanteilen in einer Lebensmittelkategorie wurde dem konservativen Ansatz folgend die größere Angabe für die Expositionsschätzung verwendet. Eine Übersicht ermöglicht Tabelle 2.

**Tabelle 2: Portionsgrößen und Anteil Lupinensamen im Lebensmittel für die ausgewählten Lebensmittelkategorien**

LM mit Lupinen	recherchierte		Quelle		für die Expositionsschätzung	
	Portionsgröße	Anteil Lupine im LM in %	der Portionsgröße	des Lupinen-Anteils	verwendete Portionsgröße in g	verwendeter Anteil Lupine im LM in %
Lupinensamen als Snack	100 g	100	BLS	Herstellerangaben	100	100
Süßwaren	50 g	2	BLS	Herstellerangaben	50	2
Bratlinge	200 g	10 - 40	BLS	Herstellerangaben (alberts)	200	40
Müsli	30 - 40 g bzw. 80 - 85 g	10 - 18	Packungsangaben Portionsbecher to go	Herstellerangaben (alvito Basenzeit, Rapunzel Sportlerbrei)	100	18
Kekse	50 g	2	BLS	Herstellerangaben (alnavit)	50	2
Kuchen	150 g (1 Stück)	5 - 10	BLS	Herstellerangaben	150	10
Brot	45 - 60 g 2 Scheiben (1 Brötchen)	3 - 9	BLS	Herstellerangaben Mintel DB	60	10
Brotaufstrich	30 g	30	BLS	Herstellerangaben (Zwergenwiese)	30	30
Smoothie/ Shake	250 ml Flüssigkeit + 20 g Lupinensamen Pulver	8	Packungsangabe, Herstellerangaben (Raab Vitalfoods)	Herstellerangaben (Raab Vitalfoods)	250	8
Eis/Dessert	Dessert: 150 g (1 Kugel Eis = 60 g)	1,5-2,7	Packungsangabe	Herstellerangabe	150	3
NEM	20 g bzw. 8 - 12 g (entspricht 2 - 3 TL Pulver)	100	Herstellerangaben (Raab Vitalfoods , effective nature))	Herstellerangaben	20	100

Die Häufigkeiten des Verzehrs der verschiedenen Lebensmittel mit Lupinensamen aus der Bevölkerungsbefragung wurden für die Expositionsschätzung in eine Aufnahmewahrscheinlichkeit pro Tag umgerechnet (Tabelle 3). Dabei wurde die Annahme getroffen, dass „mehrmals die Woche“ einem Verzehr an fünf Tagen entspricht. Ferner liegt dem Faktor für „seltener als 1x im Monat, aber mindestens 1x pro Jahr“ ein Verzehr an sechs Tagen zugrunde.

**Tabelle 3: Faktoren für die Häufigkeiten**

Angabe der Häufigkeit	Faktor für die Expositionsschätzung
mehrmals die Woche	5 / 7 (260/365)
etwa einmal pro Woche	1 / 7 (52/365)
etwa alle 14 Tage	1 / 14 (26/365)
etwa 1x im Monat	1 / 30 (12/365)
seltener als 1x im Monat, aber mindestens 1x pro Jahr	6 / 365

Für die chronische Alkaloidaufnahme erfolgt die Expositionsschätzung auf Basis der Verzehrer und unter Verwendung der Portionsgrößen, des Anteils Lupinensamen im Lebensmittel, der Verzehrshäufigkeiten und des Alkaloidgehalts der Lupinensamen im Lebensmittel von 60 mg/kg.

**Tabelle 4: Chronische Alkaloidaufnahme in den einzelnen Lebensmittelkategorien**

Lebensmittelkategorie	Verzehrer in % (n)	Median in mg/kg KG/Tag
Lupinensamen als Snack	2,5 (51)	0,00705
Süßwaren	1,4 (28)	0,00007
Bratlinge	2,5 (51)	0,00564
Müsli	1,1 (23)	0,00221
Kekse	2,1 (42)	0,00007
Kuchen	2,1 (42)	0,00106
Brot	3,0 (61)	0,00042
Brotaufstrich	1,0 (21)	0,00063
Shake	0,7 (15)	0,00141
Dessert/ Eis	1,0 (21)	0,00032
NEM	1,1 (22)	0,00229

Da die Anzahl der Verzehrer der einzelnen Lebensmittel sehr unterschiedlich ist, würde die Berechnung der Gesamtaufnahme über alle Lebensmittelkategorien und alle Verzehrer zu einem verzerrten Bild führen. Deshalb wurde für die Verzehrer der zwei Lebensmittelgruppen mit dem höchsten Alkaloideintrag die Gesamtaufnahme ermittelt. Tabelle 4 zeigt, dass die Alkaloidaufnahme in den Lebensmittelkategorien „Lupinensamen als Snack“ und „Bratlinge“ am höchsten und auch die Anzahl Verzehrer hier größer ist als in den anderen Kategorien (außer Brot). Die Verzehrer von Lebensmitteln aus diesen beiden Lebensmittelkategorien stellen die Berechnungsbasis der folgenden Expositionsschätzung dar. Die chronische Gesamtaufnahme von Lupinenalkaloid für die Verzehrer von „Lupinensamen als Snack“ und für die Verzehrer von „Bratlingen“ ist identisch und beträgt 0,013 mg/kg KG/Tag (Median). Da von den 2022 Befragten nur 6,7 % in den letzten 12 Monaten ein Lebensmittel auf Lupinenbasis verzehrt haben, sind mit der Betrachtung des Medians der Verzehrer bereits mehr als 90 % der Gesamtbevölkerung gedeckt und folglich wird hier kein zusätzliches 95. Perzentil angegeben.

#### 3.1.4.4 Berechnung der akuten Alkaloidaufnahme über Lebensmittel auf Lupinenbasis

Die akute Exposition wurde auf Basis der Portionsgrößen, des Lupinensamenanteils im Lebensmittel und unter Annahme eines Alkaloidgehaltes von 200 mg/kg Lupinensamen im Lebensmittel berechnet (Tabelle 5). Es wurde von einem Standardkörpergewicht für Erwachsene von 70 kg ausgegangen (EFSA 2012a).

**Tabelle 5: Lebensmittelkategorien, Portionsgrößen, Lupinensamenanteil im Lebensmittel und berechnete akute Alkaloidaufnahme**

Lebensmittelkategorie	Portionsgröße in g	Lupinensamenanteil im Lebensmittel in %	Alkaloidaufnahme in mg/kg KG/Tag	Margin of Safety (MOS)
Lupinensamen als Snack	100	100	0,286	1
Süßwaren	50	2	0,003	70
Bratlinge	200	40	0,229	1
Müsli	100	18	0,051	4
Kekse	50	2	0,003	70
Kuchen	150	10	0,043	5
Brot	60	10	0,017	12
Brotaufstrich	30	30	0,026	8
Smoothie/Shake	250	8	0,057	4
Eis/Dessert auf Lupinenbasis	150	3	0,013	16
Nahrungsergänzungsmittel (NEM)	20	100	0,057	4

Lupinensamenhaltige Lebensmittel aus den Kategorien „Bratlinge“ und „Lupinensamen als Snack“ zeigen die höchsten Werte bzgl. der Alkaloidaufnahme. Die akute Exposition über „Lupinensamen als Snack“ liegt bei 0,286 mg/kg KG/Tag und über „Bratlinge“ bei 0,229 mg/kg KG/Tag. Die Aufnahme über Lebensmittel aus den übrigen Kategorien liegt im Bereich von 0,003 - 0,057 mg/kg KG/Tag. Die Berechnung des Margin of safety (MOS) zur für Spartein beschriebenen pharmakologischen Schwellendosis von 0,2 mg/kg KG liefert für die Kategorien „Bratlinge“ und „Lupinensamen als Snack“ einen Wert von 1. In den übrigen Kategorien liegt der MOS-Wert zwischen 4 und 70.

Bei der Bewertung der Ergebnisse ist zu berücksichtigen, dass von den 2 022 Befragten nur 136 mindestens eins der lupinensamenhaltigen Lebensmittel, mindestens einmal in den letzten 12 Monaten verzehrt haben. Das entspricht 6,7 % der Befragten und zeigt, dass Lupinensamen und daraus hergestellte Produkte nur von einem kleinen Teil der Bevölkerung bewusst verzehrt werden. Die Häufigkeitsangaben (Tabelle 1) unterstreichen darüber hinaus, dass Lupinensamen und daraus hergestellte Produkte zu den selten verzehrten Lebensmitteln gehören. Diejenigen, die Lebensmittel auf Lupinenbasis selbst zubereiten, verwenden dazu zu 70 % bereits aufbereitete Produkte (z. B. Lupinenmehl). Diejenigen, die Lupinensamen an sich kaufen, beziehen diese zu 74 % in Bioläden und zu 11 % in einem Lebensmittelgeschäft, in dem vorwiegend türkische, arabische, libanesisische, mediterrane oder asiatische Lebensmittel verkauft werden.

Die chronische Alkaloidaufnahme von 0,013 mg/kg KG/Tag wurde sehr konservativ berechnet. Bei Vorliegen mehrerer Angaben bzgl. Portionsgröße oder Lupinensamenanteil im Lebensmittel wurde stets die größere Angabe verwendet. Des Weiteren wurde nicht die Gesamtaufnahme über alle Verzehrer berechnet, sondern über die Verzehrer der Lebensmittel, über die die höchste Alkaloidaufnahme erkennbar war. Für die chronische Aufnahme wurde ein Alkaloidgehalt der Lupinensamen von 60 mg/kg im Lupinensamenhaltigen Erzeugnis angenommen, da die Wahrscheinlichkeit, dass über ein Jahr verteilt immer Produkte mit Gehalten von 200 mg/kg verzehrt werden, als gering anzusehen ist.

Die akute Expositionsschätzung liefert in zwei der 11 dargestellten Lebensmittelgruppen Werte größer als 0,2 mg/kg KG/Tag. Die Aufnahme über Lebensmittel aus den übrigen Kategorien liegt im Bereich von 0,003 - 0,057 mg/kg KG/Tag. Der MOS für die Kategorien „Bratlinge“ und „Lupinensamen als Snack“ liegt bei 1 und ist damit ungenügend (vgl. 3.1.2.3). Für die übrigen Kategorien liegt der MOS Wert zwischen 4 und 70. Für die akute Schätzung wurde Alkaloidgehalte von 200 mg/kg angenommen, da dies der im Ausland für Süßlupinensamen geltende Höchstwert ist (vgl. 3.1.2.1).

Die Anzahl der Befragten, die aus Lupinensamen selbst Lebensmittel zubereiten, ist zu gering, als dass eine Abschätzung der Alkaloidaufnahmemengen durch vom Verbraucher selbst aus Lupinensamen hergestellte Lebensmittel möglich ist. Ein Vergleich mit Daten aus der Literatur ist schwierig, da die Berechnungsgrundlagen sehr unterschiedlich sind. Die Expositionsschätzung der ANZFA ergibt eine Alkaloidaufnahme von 0,002 mg/kg/Tag für Erzeugnisse auf Basis von Lupinensamenmehl. Für vom Verbraucher selbst aus Lupinensamen hergestellte Lebensmittel werden wegen der Schwierigkeit der Abschätzung keine konkreten Alkaloidaufnahmemengen genannt (ANZFA 2001). Die Expositionsschätzung im Rahmen eines Projektes des Nordic Council of Ministers liefert Werte von 0,32 - 0,79 mg/kg/Tag für Erwachsene und 0,57 - 1,4 mg/kg/Tag für Kinder (Kusuhara *et al.* 2007; Pilegaard & Gry 2008). Der für Deutschland berechnete chronische und auch der akute Alkaloidaufnahme-Wert liegt zwischen den beiden Literaturangaben.

Für die Risikocharakterisierung von Interesse ist außerdem die Erkenntnis aus der Befragung, dass von den Verbraucherinnen und Verbrauchern, denen Lupinensamen bekannt sind, nur 21 % die Unterscheidung in Süß- und Bitterlupinen kennen. Alle Befragten, denen der Unterschied von Süß- und Bitterlupine bekannt ist und die Süßlupinenprodukte selbst zubereiten, gaben an, für ihre Zubereitungen nur Süßlupinensamen zu verwenden (n=4). Berücksichtigt werden sollte dabei auch, dass für die tierische und menschliche Ernährung in Deutschland seit den 1930er Jahren alkaloidarme Sorten gezüchtet und verarbeitet werden (GFL 2007). Aus deutschen Rohstoffen hergestellte Lebensmittel auf Basis von Lupinensamen bestehen aus diesen Alkaloid-armen Süßlupinensamen. Bei einem Großteil der Lupinensamen-haltigen verarbeiteten Lebensmittel ist direkt auf der Verpackung die Bezeichnung Süßlupinensamen, Süßlupinenmehl oder Süßlupinenprotein zu finden (MINTEL 2016).

Auch wenn die Marktbedeutung von Lupinensamen in der menschlichen Ernährung scheinbar zunimmt, ist die Bekanntheit von Lupinensamen unter den Befragten sehr gering und die Verzehrdaten sind dementsprechend vorsichtig zu bewerten. Es fehlen Analysewerte zum Alkaloidgehalt kommerzieller Lupinensamenprodukte. Der Anteil der Lupinensamen in den betrachteten Lebensmittelgruppen ist eine auf Herstellerangaben basierende, durchschnittliche Prozentangabe, die abhängig vom Lebensmittel und der Marke höher oder niedriger ausfallen kann. Die akute Expositionsschätzung basiert zudem auf durchschnittlichen Portionsgrößen und unter Annahme eines hohen Alkaloidgehalts der verwendeten Lupinensamen.

Aufgrund der schlechten Datenlage zu Lupinensamen mussten zahlreiche Annahmen zur Berechnung der Exposition getroffen werden, weshalb die vorliegende Expositionsschätzung mit vergleichsweise hohen Unsicherheiten behaftet ist.

### 3.1.5 Risikocharakterisierung

In den für die Herstellung von Lebensmitteln verwendeten Samen von *L. albus* L. (Weiße Lupine), *L. angustifolius* L. (Blaue Lupine), *L. luteus* L. (Gelbe Lupine) und *L. mutabilis* wer-

den als Hauptalkaloide Lupanin, Lupinin, und Spartein beschrieben. Der Gehalt an diesen zu den Chinolizidinalkaloiden gehörenden Verbindungen variiert in Abhängigkeit von Spezies und Sorte. Lupanin, Lupinin, und Spartein schmecken bitter, wobei Spartein die höchste Bitterkeit besitzt.

Dem BfR liegen derzeit keine Analysendaten zu Alkaloidgehalten von Lupinensamen und aus ihnen hergestellten Erzeugnissen vor, die als Lebensmittel in Deutschland im Handel sind. In Italien untersuchte kommerzielle lupinensamenhaltige Lebensmittel wiesen Alkaloidgehalte kleiner als 60 mg/kg auf (Resta *et al.* 2008a).

Es muss aber davon ausgegangen werden, dass neben Süßlupinensamen Bitterlupinensamen im Verkehr sein könnten, deren Verzehr nach ungenügender Entbitterung zu den mehrfach beschriebenen akuten Vergiftungen mit Lupinenalkaloiden führen könnte, für die das anticholinerge Syndrom typisch ist und die durch Atemlähmung tödlich verlaufen können. Die niedrigste Dosis, die nach Verzehr von Lupinensamen, in denen über 1 % Spartein und Lupinin enthalten war, bei einem Kind zum Tode führte, wurde auf 11 bis 22 mg Lupinenalkaloide/kg KG geschätzt (Schmidlin-Mészáros 1973; Schmidt 1961).

Eine Analyse der vorliegenden Berichte über Fälle von Vergiftungen mit Lupinensamen ergab, dass sie wiederholt auf ungenügende küchentechnische Entbitterung von Bitterlupinensamen zurückgeführt wurden (Awada *et al.* 2011; Daverio *et al.* 2014; Jamali 2011; Kurzbaum *et al.* 2008; Litkey & Dailey 2007; Lowen *et al.* 1995; Smith 1987). Hinweise, dass der Verzehr industriell gefertigter Lebensmittel auf der Basis von Lupinensamen mit Vergiftungen assoziiert war, liegen nicht vor.

Typische Vergiftungssymptome für Lupinenalkaloide sind neurologischer Natur und/oder manifestieren sich am Herz-Kreislauf und Verdauungssystem. So treten Schwindel, Konfusion, Tachycardie, gastrointestinale Beschwerden, Übelkeit, Mydriasis, Mundtrockenheit, motorischer Kontrollverlust und in hohen Dosen Bradycardie, Atemlähmung und Herzstillstand auf.

Den drei Hauptalkaloiden Lupanin, Lupinin und Spartein, kommt die für die Risikobewertung relevante pharmakologische und toxikologische Wirkung zu. So entfalten sie inhibitorische Wirkungen an nicotinischen und muscarinischen Acetylcholin-Rezeptoren, beeinträchtigen die Funktion von Natrium- und Kaliumkanälen, wirken uteruskontrahierend und beeinflussen die Reizleitung am Herzen. Hierbei ähneln sich Lupanin, Lupinin und Spartein qualitativ in ihrer Wirkung, unterscheiden sich aber in ihrem Wirkpotenzial, das bei Spartein am ausgeprägtesten ist. Es ist davon auszugehen, dass sie sich gegenseitig in ihrer Wirkung verstärken,

Bei den Lupinensamen, die zu Vergiftungsfällen führten, fehlen neben einer ausreichenden Charakterisierung hinsichtlich botanischer Abstammung (Varietät, Sorte) vor allem Kenntnisse zur chemischen Zusammensetzung. Daher ist es unmöglich, die im Einzelfall beschriebene Vergiftungssymptomatik der aufgenommenen Dosis eines bestimmten Alkaloids oder einem bestimmten Alkaloidmuster zuzuordnen. Auch liegen keine Befunde vor, die eine Ableitung einer Dosis ohne Wirkung für die wichtigsten Lupinenalkaloide beim Menschen erlauben.

Die Datenlage zu den Wirkungen und insbesondere zu Dosis-Wirkungsbeziehungen der einzelnen Alkaloide und zu ihren Interaktionen ist lückenhaft und für eine Ableitung von gesundheitsbezogenen Richtwerten (Health Based Guidance Values, HBGV), *bei deren Einhaltung nicht mehr mit dem Auftreten gesundheitlicher akuter bzw. chronischer Schädigungen zu rechnen wäre, unzureichend.* Im Hinblick auf die akute Toxizität fehlen insbesondere Da-

ten zum No-Effect-Level der Chinolizidinalkaloide bezüglich der Induktion von Uteruskontraktionen bei oraler Exposition. Was längerfristige Expositionen anbetrifft fehlen Informationen zur chronischen, entwicklungstoxischen, reproduktionstoxischen und genotoxischen Wirkung.

Vergleicht man die Humandaten aus Vergiftungsfällen mit den tierexperimentellen Befunden zur akuten und längerfristigen Toxizität, wird deutlich, dass der Mensch offensichtlich empfindlicher als Labornagetiere auf Chinolizidinalkaloide reagiert. So wird beispielsweise für Spartein die LD<sub>50</sub> für männliche EOPS Swiss Mäuse bei peroraler Gabe mit 220 mg/kg KG angegeben, während Spartein bei einem Kleinkind bereits in Dosen von etwa 30 mg/kg KG tödlich war. Insgesamt erscheint die Aussagekraft der vorliegenden Rattenstudien auch unter längerfristiger Verabreichung für die Toxizität beim Menschen fraglich.

Als Ausgangspunkt (point of departure) für die Charakterisierung des akuten Gefährdungspotenzials wird die Dosis von 0,29 mg Sparteinsulfat /kg KG, entsprechend 0,20 mg Spartein/kg KG gewählt, die in der älteren Literatur als niedrigste pharmakologische Wirkdosis beschrieben und als Schwellendosis angesehen wird. Bei der durchzuführenden Risikobewertung wird in Form einer Margin of Safety (MOS)-Betrachtung auf diese Dosis als Referenzwert Bezug genommen. Das BfR empfiehlt, dass die mit Lupinensamen und aus ihnen hergestellten Lebensmitteln mit einer Mahlzeit oder über den Tag verteilt aufgenommenen Dosis an Chinolizidinalkaloiden deutlich unter der für Spartein beschriebenen pharmakologischen Schwellendosis von 0,2 mg pro kg KG liegen sollte. Der Sicherheitsabstand (Margin of Safety, MOS) zu der Schwellendosis sollte der unsicheren toxikologischen Datenlage und insbesondere einer möglichen höheren Empfindlichkeit von Kindern, Schwangeren und Nichtmetabolisierern Rechnung tragen und mehr als 1 betragen.

Wie in Tabelle 5 dargestellt, errechnen sich für die akute Exposition MOS-Werte von 1 - 70. Es wird deutlich, dass mit den Lebensmittelkategorien „Lupinensamen als Snack“ und „Bratlinge“ bei einem angenommenen Gehalt von 200 mg Chinolizidinalkaloiden/kg Lupinensamen, die Chinolizidinalkaloidaufnahme die für Spartein angenommene Schwellendosis von 0,20 mg/kg KG überschritten wird. Hingegen ergibt sich bei den anderen Lebensmittelkategorien ein MOS im Bereich von 4 bis 70. Es bleibt aber zu berücksichtigen, dass die höchsten, in kommerziellen Produkten gemessenen Alkaloidgehalte bei 60 mg/kg Lupinensamen lagen, was zu einer Verdreifachung der MOS-Werte führen würde.

Die chronische Gesamtaufnahme von Lupinenalkaloid für die Verzehrer von „Lupinensamen als Snack“ und „Bratlingen“ liegt bei 0,013 mg/kg KG. Ein toxikologischer Referenzwert, der für die Abschätzung der Risiken bei längerfristiger Exposition herangezogen werden könnte, kann beim gegenwärtigen Kenntnisstand allerdings nicht abgeleitet werden.

Aus der vom BfR veranlassten „Verbraucherbefragung zum Verzehr von Lupinensamen“ geht hervor, dass der Anteil der Befragten, die überhaupt schon einmal Lebensmittel mit Lupinensamen bewusst gegessen haben, gering ist (9,2 % der Befragten). Der Anteil derjenigen, die dafür Lupinensamen an sich kaufen (und zubereiten), und nicht auf ein verarbeitetes Produkt oder Lupinenmehl zurückgreifen, ist sehr gering (1,2 % der Befragten). Von den 397 Befragten, denen Lupinensamen bekannt waren, kannten nur 21 % die Unterscheidung in Süß- und Bitterlupinensamen.

Bemerkenswert ist, dass in der Literatur berichtet wird, dass von *L. albus* und von *L. luteus* zahlreiche „alkaloidfreie“ Sorten existieren (Ternes *et al.* 2007). So weisen z.B. Samen der Süßlupinensorten von *L. albus* heute Alkaloidgehalte unter 0,05 % auf, wobei die besten Sorten 50 µg/g Trockengewicht ( $\pm$  0,005 %) erreichen. Bei Samen von Süßlupinensorten

von *L. mutabilis* lassen sich die Alkaloidgehalte bis auf 0,001 % reduzieren (Blaschek *et al.* 2016). Auch gemäß den in anderen Ländern geltenden Bestimmungen ist anzunehmen, dass bei Süßlupinensamen vergleichsweise niedrige Alkaloidgehalte, die 200 mg/kg Samen, entsprechend einem Alkaloidgehalt von 0,02 %, nicht überschreiten, einhaltbar sind (ANZFA 2001; FSA 1996; Santé) 1998).

## 3.2 Schlussfolgerungen und Empfehlungen

### 3.2.1 Schlussfolgerungen

#### ➤ *Mögliche gesundheitliche Risiken*

In den für die Herstellung von Lebensmitteln verwendeten Samen von *L. albus* L. (Weiße Lupine), *L. angustifolius* L. (Blaue Lupine), *L. luteus* L. (Gelbe Lupine) und *L. mutabilis* werden als Hauptalkaloide Lupanin, Lupinin, und Spartein beschrieben. Der Gehalt kann in Abhängigkeit von Spezies und Sorte variieren.

Die Chinolizidinalkaloide rufen beim Menschen typische Vergiftungssymptome hervor, die das Nerven-, Kreislauf und Verdauungssystem betreffen. Typische Vergiftungssymptome für Lupinenalkaloide sind Schwindel, Konfusion, Tachycardie, gastrointestinale Beschwerden, Übelkeit, Mydriasis, Mundtrockenheit, motorischer Kontrollverlust und in hohen Dosen Bradycardie, Herzstillstand und Atemlähmung.

Die mit Lupinensamen und aus ihnen hergestellten Lebensmitteln mit einer Mahlzeit oder über den Tag verteilte aufgenommene Dosis an Chinolizidinalkaloiden sollte deutlich unter der für Spartein beschriebenen pharmakologischen Schwellendosis von 0,2 mg/kg KG liegen. Der MOS sollte der unsicheren Datenlage und insbesondere einer möglichen höheren Empfindlichkeit von Kindern, Schwangeren und Nichtmetabolisierern Rechnung tragen. Insgesamt wird ein Sicherheitsabstand (Margin of Safety, MOS) von 1 als nicht ausreichend angesehen.

Eine Analyse der vorliegenden Berichte über Vergiftungsfälle mit Lupinensamen ergab keine Hinweise auf eine Assoziation mit der Aufnahme eines industriell gefertigten Lebensmittels auf der Basis von Lupinensamen. Es wurden aber wiederholt Zusammenhänge von Vergiftungen mit dem Verzehr von vom Verbraucher selbst aus Lupinensamen hergestellten Lebensmitteln infolge inadäquater Verarbeitung der Lupinensamen (ungenügende Entbitterung) gesehen.

#### ➤ *Analytik von Alkaloidgehalten in Lupinensamen*

Es sind nur wenige analytische Methoden beschrieben worden, mit denen die unterschiedlichen Alkaloide quantifiziert werden können. Keine der Methoden ist in einer Methodvalidierungsstudie überprüft worden.

Dem BfR liegen daher derzeit keine Analysendaten zu Alkaloidgehalten von Lupinensamen und aus ihnen hergestellten Erzeugnissen vor, die als Lebensmittel in Deutschland im Handel sind. Es muss aber davon ausgegangen werden, dass Bitterlupinensamen im Verkehr sein könnten, deren Verzehr nach ungenügender Entbitterung zu den beschriebenen akuten Vergiftungen mit Lupinenalkaloiden führen könnte.

#### ➤ *Daten zur Verbraucherexposition*

Die akute Expositionsschätzung geht von einem Alkaloidgehalt von 200 mg/kg Samen aus. Sie liefert für Lupinensamen-haltige Lebensmittel die höchsten Alkaloidaufnahme-

werte in den Kategorien „Lupinensamen als Snack“ (0,286 mg/kg KG/Tag) und „Bratlinge“ (0,229 mg/kg KG/Tag). Die Aufnahme über Lebensmittel aus den übrigen Kategorien liegt im Bereich von 0,003 - 0,057 mg/kg KG/Tag. Bei der Risikobeurteilung werden diese Alkaloidaufnahmen mit der für Spartein beschriebenen pharmakologischen Schwellendosis von 0,2 mg/kg KG als Referenzwert verglichen. Der Sicherheitsabstand (Margin of Safety, MOS) zu der Schwellendosis sollte der unsicheren Datenlage und insbesondere einer möglichen höheren Empfindlichkeit von Kindern, Schwangeren und Nichtmetabolisierern Rechnung tragen und mehr als 1 betragen. Der für die erstgenannten zwei Kategorien resultierende Margin of Safety (MOS) von 1 wird als nicht ausreichend angesehen. Für die übrigen Kategorien liegt der MOS zwischen 4 und 70.

Die chronische Expositionsschätzung geht von einem Alkaloidgehalt von 60 mg/kg Samen aus. Auch hier zeigt sich, dass Lebensmittel aus den Kategorien „Lupinensamen als Snack“ und „Bratlinge“ zur höchsten Alkaloidaufnahme führen. Für die Verzehrer von Lebensmitteln aus diesen beiden Gruppen ist die chronische Gesamtalkaloidaufnahme identisch und beträgt 0,013 mg/kg KG/Tag. Ein toxikologischer Referenzwert, der für die Abschätzung der Risiken bei längerfristiger Exposition herangezogen werden könnte, kann beim gegenwärtigen Kenntnisstand nicht abgeleitet werden.

Es ist zu berücksichtigen, dass gemäß der vom BfR veranlassten „Verbraucherbefragung zum Verzehr von Lupinensamen“ der bewusste Konsum von Lupinensamen in Deutschland vergleichsweise gering ist. Es kann daher in der Verbraucherschaft kein ausreichender Kenntnisstand zu Unterschieden von Süß- und Bitterlupinen und in deren Zubereitungsarten, wie z. B. der notwendigen speziellen Prozesse zur Entbitterung (Alkaloidentfernung) bei Bitterlupinensamen vorausgesetzt werden.

Was haushaltstechnische Entbitterungsprozesse angeht, sind ebenfalls variierende Methoden beschrieben worden, die meist Kochen und mehrtägiges Einweichen der Samen mit mehrfachem Wasserwechsel vorsehen. Da aber keine systematischen und validierten Untersuchungen zur Qualität dieser Methoden vorliegen, deren Erfolg auch vom variablen Anfangsgehalt der Lupinenalkaloide in den Samen abhängt, und Vergiftungsfälle wiederholt auf ungenügende küchentechnische Entbitterung von Bitterlupinensamen zurückzuführen waren, kann hierzu vom BfR keine generelle Empfehlung ausgesprochen werden. In der Literatur werden Forschungsergebnisse zur industriellen Entbitterung von Lupinensamen beschrieben. Diese Verfahren sind nicht Gegenstand dieser Stellungnahme.

### 3.2.2 Empfehlungen

Aus der ausführlich dargestellten Datenlage ergeben sich aus Sicht des BfR folgende Empfehlungen:

- *Empfehlungen im Zusammenhang mit der Toxikologie, Analytik und Exposition*  
Eine umfassende chemische und toxikologische Charakterisierung der als Lebensmittel angebotenen Lupinensamen unterschiedlicher botanischer Provenienz wird für notwendig gehalten.

Zu den anticholinergen Effekten der Chinolizidinalkaloide sind die aktuellen Kenntnisse zu Dosen ohne Wirkungen beim Menschen unzureichend. Forschungsbedarf wird insbesondere gesehen bezüglich bestehender Dosis-Wirkungszusammenhänge der potenziellen uteruskontrahierenden Wirkung von Lupanin, Lupinin und Spartein nach ora-

ler Gabe und bezüglich der potenziellen entwicklungstoxischen Wirkung bestimmter Lupinenalkaloide, wie z. B. Ammodendrin und Multiflorin und ihrer Derivate, die vornehmlich in Wildlupinen vorkommen, und deren Auftreten in Lupinensamen, die der menschlichen Ernährung dienen, unerwünscht ist.

Für die Charakterisierung der als Lebensmittel angebotenen Lupinensamen unterschiedlicher botanischer Provenienz sollte die Erarbeitung des Alkaloidprofils der im Lebensmittelbereich eingesetzten Sorten einschließen und auch Lupinenalkaloide, wie z. B. Anagyrin, Ammodendrin und Multiflorin und ihrer Derivate, einbeziehen, bei denen aufgrund von Vergiftungen bei Tieren ein entwicklungstoxisches Potenzial vermutete wird (3.1.1 (a)).

Hierzu wird die Erarbeitung adäquater analytischer Methoden zur Alkaloidbestimmung (In-House -Validierung) und das Verfügbarmachen geeigneten zertifizierten Referenzmaterials als notwendig angesehen. Die Methoden sollten nach DIN EN ISO 17025 akkreditiert werden.

Für die Expositionsschätzung sollten Daten zu Alkaloidgehalten in industriell hergestellten Lupinensamen-Produkten erhoben werden. Für die Expositionsschätzung empfiehlt das BfR die Anregung einer EU-einheitlichen europäischen Vorgehensweise, bei der unterschiedlichen Verzehrsgewohnheiten in den EU-Mitgliedsstaaten Rechnung getragen werden kann.

➤ *Empfehlungen im Zusammenhang mit dem Inverkehrbringen*

Bei dem Inverkehrbringen von ganzen, unzerkleinerten, zur Abgabe an Verbraucher gedachten Lupinensamen wird empfohlen für die direkte Verarbeitung bzw. den direkten Verzehr (Knabberware) durch den Verbraucher nur solche ganze, unzerkleinerte Lupinensamen in den Verkehr zu bringen, die ohne küchentechnische Entbitterungsprozesse verzehrfähig sind. Dies können Süßlupinensamen sein, die von sich aus niedrige Alkaloidgehalte aufweise, oder auch Bitterlupinensamen, die vor dem Inverkehrbringen bereits ausreichend entbittert wurden.

Angesichts der möglichen durch Lupinenalkaloide hervorgerufenen toxischen Wirkungen erscheint es aus toxikologischer Sicht wichtig hervorzuheben, dass beim Inverkehrbringen von zur Abgabe an Verbraucher gedachten Mehl aus Lupinensamen sichergestellt ist, dass es aus Lupinensamen hergestellt wurde, die alkaloidarm sind bzw. ausreichend entbittert wurden.

Für Lupinensamen und aus ihnen hergestellte Erzeugnisse, die von Herstellern zur industriellen Weiterverarbeitung bei der Lebensmittelfertigung eingesetzt werden, sollte sichergestellt sein, dass sie alkaloidarm sind bzw. ausreichend entbittert wurden.

➤ *Empfehlungen an Verbraucherinnen und Verbraucher*

Ein bitterer Geschmack von Lupinensamen und aus ihnen hergestellten Erzeugnissen ist ein Indikator für die Anwesenheit von gesundheitlich unerwünschten Lupinenalkaloiden. Das bitter schmeckende Einweichwasser von Lupinensamen sollte in keinem Fall verzehrt bzw. zur Zubereitung von Speisen verwendet werden.

Auf den Verzehr von nicht von Herstellerseite entbitterten Bitterlupinensamen sollte vorsichtshalber verzichtet werden, da empfohlene Prozeduren zur Entbitterung nicht mit Sicherheit zu einer ausreichenden Reduktion vorliegender Gehalte an gesundheitsschädlichen Alkaloiden führen könnten.

**Weitere Informationen auf der BfR-Website zum Thema Lupinensamen:**

BfR-Stellungnahme „Allergie durch Lupineneiweiß in Lebensmitteln“:

<http://www.bfr.bund.de/cm/343/allergie-durch-lupineneiweiss-in-lebensmitteln.pdf>

BfR-Broschüre „Risiko Pflanze – Einschätzung und Hinweise“:

<http://www.bfr.bund.de/cm/350/risiko-pflanze-einschaetzung-und-hinweise.pdf>

BfR-Broschüre „Risiko – Vergiftungsunfälle bei Kindern“

<http://www.bfr.bund.de/cm/350/risiko-vergiftungsunfaelle-bei-kindern.pdf>

**4 Referenzen**

- [1] Aktories K., Förstermann U., Hofmann F.B., Starke K. (2009). *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie. Begründet von W. Forth, D. Henschler, W. Rummel*, München: Elsevier GmbH.
- [2] Allen J. G., Fenny R. E., Buckman P. G., Hunt B. R., Morcombe P. W. (1983). Hemimelia in lambs. *Aust Vet J* **60**: 283-284.
- [3] ANZFA (Australia New Zealand Food Authority) (2001). Lupin alkaloids in food - a toxicological review and risk assessment. *Technical Report Series No 3*.
- [4] Awada A., Atallah D., Zoghbi A. (2011). Syndrome anticholinergique après intoxication par des graines de lupin (Tourmos). *Journal Médical Libanais* **59**: 233-234.
- [5] Ballester D. R., Brunser O., Saitua M. T., Egana J. I., Yanez E. O., Owen D. F. (1984). Safety evaluation of sweet lupine (*Lupinus albus* cv. *Multolupa*). II. Nine-month feeding and multigeneration study in rats. *Food Chem Toxicol* **22**: 45-48.
- [6] Ballester D., Saitúa M. T., Brunser O., Egana J. I., Owen D. F., Yáñez E. (1982). Evaluación toxicológica del *Lupino dulce*. I. Estudio en ratas alimentadas durante 9 meses con *Lupinus albus* var. *Multolupa*. *Rev chil nutr* **10**: 177-179.
- [7] Ballester D., Yáñez E., García R., Erazo S., López F., Haardt E., Cornejo S., López A., Pokniak J., Chichester C. O. (1980). Chemical composition, nutritive value, and toxicological evaluation of two species of sweet Lupine (*Lupinus albus* and *Lupinus luteus*). *J Agric Food Chem* **28**: 402-405.
- [8] BfR (Bundesinstitut für Risikobewertung). (2011). Allergie durch Lupineneiweiß in Lebensmitteln. *Aktualisierte Stellungnahme Nr. 039/2011 des BfR vom 26. August 2011*.
- [9] Blaschek W., Ebel S., Hilgenfeldt U., Holzgrabe U., Reichling J., Schulz V., Barthlott W., Höltje H.-D. (2016). Hagers Enzyklopädie der Arzneistoffe und Drogen. **online abgerufen am 15.01.2016.**
- [10] Blaschek W., Ebel S., Hackenthal E., Holzgrabe U., Keller K., Reichling J., Schulz V. (2006). *HagerROM 2006. Hagers Handbuch der Drogen und Arzneistoffe.*, Berlin Heidelberg: Springer-Verlag.
- [11] Bleitgen R., Gross R., Gross U. (1979). Die Lupine - ein Beitrag zur Nahrungsversorgung in den Anden - 5. Einige Beobachtungen zur traditionellen Entbitterung von Lupinen im Wasser. *Zeitschrift für Ernährungswissenschaft* **18**: 104-111.

- [12] Boschin G., Annicchiarico P., Resta D., D'Agostina A., Arnoldi A. (2008). Quinolizidine alkaloids in seeds of lupin genotypes of different origins. *J Agric Food Chem* **56**: 3657-3663.
- [13] Butler W. H., Ford G. P., Creasy D. M. (1996). A 90-day feeding study of lupin (*Lupinus angustifolius*) flour spiked with lupin alkaloids in the rat. *Food Chem Toxicol* **34**: 531-536.
- [14] Carlier J., Guitton J., Romeuf L., Bevalot F., Boyer B., Fanton L., Gaillard Y. (2015). Screening approach by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the blood quantification of thirty-four toxic principles of plant origin. Application to forensic toxicology. *J Chromatogr B Anal Technol Biomed Life Sci* **975**: 65-76.
- [15] Carvajal-Larenas F. E., Nout M. J. R., van Boekel M. A. J. S., Koziol M., Linnemann A. R. (2013). Modelling of the aqueous debittering process of *Lupinus mutabilis* Sweet. *LWT - Food Science and Technology* **53**: 507-516.
- [16] Chludil H. D., Vilarino Mdel P., Franco M. L., Leicach S. R. (2009). Changes in *Lupinus albus* and *Lupinus angustifolius* alkaloid profiles in response to mechanical damage. *J Agric Food Chem* **57**: 6107-6113.
- [17] Daverio M., Cavicchiolo M. E., Grotto P., Lonati D., Cananzi M., Da Dalt L. (2014). Bitter lupine beans ingestion in a child: a disregarded cause of acute anticholinergic toxicity. *Eur J Pediatr* **173**: 1549-1551.
- [18] de Cortes Sánchez M., Altares P., Pedrosa M. M., Burbano C., Cuadrado C., Goyoaga C., Muzquiz M., Jiménez-Martínez C., Dávila-Ortiz G. (2005). Alkaloid variation during germination in different lupin species. *Food Chemistry* **90**: 347-355.
- [19] Dipont M. (1971). Effects of sparteine on uterus contractility during labor. *Ginekol Pol* **42**: 657-663.
- [20] Dirksen G. (2006). *Innere Medizin und Chirurgie des Rindes*, Vol. 5. Auflage, Stuttgart: Parey.
- [21] EFSA (European Food Safety Authority: Scientific Committee) (2012a). Guidance on selected default values to be used by the EFSA Scientific Committee, Scientific Panels and Units in the absence of actual measured data. *EFSA Journal* **10(3)**: 2579.
- [22] EFSA (European Food Safety Authority: Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM)) (2012b). Scientific Opinion on the risks for animal and public health related to the presence of phomopsins in feed and food. *EFSA Journal* **10(2)**: 2567.
- [23] EFSA (European Food Safety Authority: Scientific Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA)) (2005). Opinion of the Scientific Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies on a request from the Commission related to the evaluation of lupin for labelling purposes (Request N° EFSA-Q-2005-086) (adopted on 6 December 2005). *EFSA Journal* **302**, 1-11.
- [24] EFSA (European Food Safety Authority: Scientific Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA)) (2014). Scientific Opinion on the evaluation of allergenic foods and food ingredients for labelling purposes EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). *EFSA Journal* **12(11)**:3894.
- [25] Eichelbaum M., Spannbrucker N., Steincke B., Dengler H. J. (1979). Defective N-oxidation of sparteine in man: a new pharmacogenetic defect. *European journal of clinical pharmacology* **16**: 183-187.
- [26] Ertas N. & Bilgili N. (2014). Effect of different debittering processes on mineral and phytic acid content of lupin (*Lupinus albus* L.) seeds. *J Food Sci Technol* **51**: 3348-3354.
- [27] FDA (U.S. Food and Drug Administration) (1979). Sparteine Sulfate Intramuscular Injection and Oxytocin Citrate Succal Tablets. *Federal Register* Vol. **44**: 46316-46317.

- [28] Forrester M. B. (2006). Lupine calls to Texas poison control centers, 1998–2005. *Toxicological & Environmental Chemistry* **88**: 739-743.
- [29] Frohne D. & Pfänder H.J. (2004). *Giftpflanzen. Ein Handbuch für Apotheker, Ärzte, Toxikologen und Biologen* Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH.
- [30] FSA (Food Standards Agency: Advisory Committee on Novel Foods and Processes (ACNFP)) (1996). Annual Report. Appendix IX. ACNFP report on seeds from the narrow leaved lupin (*Lupinus angustifolius*). .
- [31] Fudiyansyah N., Petterson D. S., Bell R. R., Fairbrother A. H. (1995). A nutritional, chemical and sensory evaluation of lupin (*L. angustifolius*) tempe. *International Journal of Food Science & Technology* **30**: 297-305.
- [32] Ganzera M., Krüger A., Wink M. (2010). Determination of quinolizidine alkaloids in different *Lupinus* species by NACE using UV and MS detection. *J Pharm Biomed Anal* **53**: 1231-1235.
- [33] Gessner O. & Orzechowski G. (1974). *Gift- und Arzneipflanzen von Mitteleuropa*, Heidelberg: Universitätsverlag Winter.
- [34] GFL (Gesellschaft zur Förderung der Lupine e. V.) (2007 ). Lupinen - Verwertung und Anbau. *Lupinenbroschüre 5. Auflage*.
- [35] Grant G., Dorward P. M., Buchan W. C., Armour J. C., Pusztai A. (1995). Consumption of diets containing raw soya beans (*Glycine max*), kidney beans (*Phaseolus vulgaris*), cowpeas (*Vigna unguiculata*) or lupin seeds (*Lupinus angustifolius*) by rats for up to 700 days: effects on body composition and organ weights. *Br J Nutr* **73**: 17-29.
- [36] Grant G., Dorward P. M., Pusztai A. (1993). Pancreatic enlargement is evident in rats fed diets containing raw soybeans (*Glycine max*) or cowpeas (*Vigna unguiculata*) for 800 days but not in those fed diets based on kidney beans (*Phaseolus vulgaris*) or lupinseed (*Lupinus angustifolius*). *J Nutr* **123**: 2207-2215.
- [37] Gremigni P., Wong M. T. F., Edwards N. K., Harris D., Hamblin J. (2001). Potassium nutrition effects on seed alkaloid concentrations, yield and mineral content of lupins (*Lupinus angustifolius*). *Plant and Soil* **234**: 131-142.
- [38] Haddad J., Muzquiz M., Allaf K. (2006). Treatment of lupin seed using the instantaneous controlled pressure drop technology to reduce alkaloid content. *Food Science and Technology International* **12**: 365-370.
- [39] Jamali S. (2011). Dilated pupils, dry mouth and dizziness - a case study. *Aust Fam Physician* **40**: 789-790.
- [40] Jansen G., Jürgens H. U., Ordon F. (2009). Effects of temperature on the alkaloid content of seeds of *Lupinus angustifolius* cultivars. *Journal of Agronomy and Crop Science* **195**: 172-177.
- [41] Jecsai J., Szelenyi-Galantai M., Juhasz B. (1986). Antinutritive effect of different lupin (*Lupinus*) species on the protein metabolism of rats. *Acta Vet Hung* **34**: 19-27.
- [42] Jiménez-Martínez C., Hernández-Sánchez H., Dávila-Ortiz G. (2007). Diminution of quinolizidine alkaloids, oligosaccharides and phenolic compounds from two species of *Lupinus* and soybean seeds by the effect of *Rhizopus oligosporus*. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **87**: 1315-1322.
- [43] Kamel K. A., Święcicki W., Kaczmarek Z., Barzyk P. (2015). Quantitative and qualitative content of alkaloids in seeds of a narrow-leaved lupin (*Lupinus angustifolius* L.) collection. *Genetic Resources and Crop Evolution* **63**: 711-719.
- [44] Kohajdová Z., Karovičová J., Schmidt Š. (2011). Lupin composition and possible use in bakery - a review. *Czech Journal of Food Sciences* **29**: 203-211.
- [45] Kurzbaum A., Safori G., Monir M., Simsolo C. (2008). Anticholinergic syndrome in response to lupin seed toxicity. *Israeli Journal of Emergency Medicine* **8**: 20-22.

- [46] Kusuhara K., Madsen K., Jensen L., Hellsten Y., Pilegaard H. (2007). Calcium signalling in the regulation of PGC-1alpha, PDK4 and HKII mRNA expression. *Biol Chem* **388**: 481-488.
- [47] Lee M. J., Pate J. S., Harris D. J., Atkins C. A. (2007). Synthesis, transport and accumulation of quinolizidine alkaloids in *Lupinus albus* L. and *L. angustifolius* L. *J Exp Bot* **58**: 935-946.
- [48] Ligon E. W. (1941). The action of lupine alkaloids on the motility of the isolated rabbit uterus. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **73**: 151-158.
- [49] Litkey J. & Dailey M. W. (2007). Anticholinergic toxicity associated with the ingestion of lupini beans. *Am J Emerg Med* **25**: 215-217.
- [50] Lowen R. J., Alam F. K., Edgar J. A. (1995). Lupin bean toxicity. *Med J Aust* **162**: 256-257.
- [51] Lubowicki R., Kotlarz A., Jaskowska I. (2005). Effect of cultivar and harvest year on the composition of yellow lupin seeds. *Journal of Animal and Feed Sciences* **14**: 373-376.
- [52] Luque Marquez R., Gutierrez-Rave M., Infante Miranda F. (1991). Acute poisoning by lupine seed debittering water. *Vet Hum Toxicol* **33**: 265-267.
- [53] MINTEL. (2016 ). Mintel GNPD: Global New Products Database. Mintel Group Ltd, 11 Pilgrim Street, London, UK EC4V 6RN .
- [54] Newton B. W., Benson R. C., McCorriston C. C. (1966). Sparteine sulfate: a potent, capricious oxytocic. *Am J Obstet Gynecol* **94**: 234-241.
- [55] O'Neil M. J. (2006). *The Merck Index: An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals, 14th Edition*, A Wiley Company: Wiley Subscription Services, Inc..
- [56] Ortega-David E. & Rodriguez-Stouvenel A. (2013). Degradation of quinolizidine alkaloids of lupin by *Rhizopus oligosporus*. *Appl Microbiol Biotechnol* **97**: 4799-4810.
- [57] Persson H. E., Sjöberg G. K., Haines J. A., De Garbino J. P. (1998). Poisoning severity score. Grading of acute poisoning. *J Toxicol Clin Toxicol* **36**: 205-213.
- [58] Petterson D. S. (1998). Composition and food uses of lupins (Book Chapter). *Lupins as Crop Plants: Biology, Production and Utilization* Editors: Gladstones, J. S., Atkins, C.A., Hamblin, J., pp. 353-383.
- [59] Petterson D. S., Greirson B. N., Allen D. G., Harris D. J., Power B. M., Dusci L. J., Ilett K. F. (1994). Disposition of lupanine and 13-hydroxylupanine in man. *Xenobiotica* **24**: 933-941.
- [60] Petterson D.S., Ellis Z.L., Harris D.J., Spadek Z.E. (1987). Acute toxicity of the major alkaloids of cultivated *Lupinus angustifolius* seeds to rats. *J Appl Toxicol* **7**: 51-53.
- [61] Pilegaard K. & Gry J. (2008). Alkaloids in edible lupin seeds. A toxicological review and recommendations. In Ministers NCo (ed.), Copenhagen, pp. 1-71.
- [62] Rahman M.H. (2000). The nutritional toxicity of sweet lupin (*Lupinus angustifolius*) seed proteins. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **80**: 72-78.
- [63] Reinhard H., Rupp H., Sager F., Streule M., Zoller O. (2006). Quinolizidine alkaloids and phomopsins in lupin seeds and lupin containing food. *J Chromatogr A* **1112**: 353-360.
- [64] Resta D., Boschin G., D'Agostina A., Arnoldi A. (2008a). Evaluation of total quinolizidine alkaloids content in lupin flours, lupin-based ingredients, and foods. *Mol Nutr Food Res* **52**: 490-495.
- [65] Resta D., Boschin G., D'Agostina A., Arnoldi A. (2008b). Quantification of quinolizidine alkaloids in lupin seeds, lupin-based ingredients and foods. *Proceedings of the 12th International Lupin Conference, 14-18 September 2008, Fremantle, Western Australia*: 533-535.
- [66] Robbins M. C., Petterson D. S., Brantom P. G. (1996). A 90-day feeding study of the alkaloids of *Lupinus angustifolius* in the rat. *Food Chem Toxicol* **34**: 679-686.

- [67] Santé EU Commission (Direction Générale de la. (1998). Avis du 17 mars 1998 du Conseil supérieur d'hygiène publique de France (section de l'alimentation et de la nutrition) relatif à l'emploi de farine de lupin en alimentation humaine. *Bulletin Officiel n°98/27*.
- [68] Schmidlin-Mészáros J. (1973). Eine Nahrungsmittelvergiftung mit Lupinenbohnen. *Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene* **64**: 194-205.
- [69] Schmidt G. (1961). Zur Frage des Nachweises und der Ausscheidung von Spartein. *Archiv für Toxikologie* **19**: 244-253.
- [70] Schoeneberger H. , Morón S., Gross R. (1987). Safety evaluation of water debittered Andean lupins (*Lupinus mutabilis*): 12-week rat feeding study. *Plant Foods for Human Nutrition* **37**: 169-182.
- [71] Schomerus M., Eichelbaum F.M., Dengler H.J. (1978). Pharmakokinetik von Spartein und Verapamil. Stuttgart: Schattauer.
- [72] Schulman H. & Ledger W. (1965). Sparteine sulfate: a clinical study of 711 patients. *Obstet Gynecol* **25**: 542-547.
- [73] Smith R.A. (1987). Potential edible lupine poisonings in humans. *Vet Hum Toxicol* **29**: 444-445.
- [74] Stobiecki M., Blaszczyk B., Kowalczyk-Bronisz S. H., Gulewicz K. (1993). The toxicity of seed extracts and their fractions from *Lupinus angustifolius* L. and *Lupinus albus* L. *J Appl Toxicol* **13**: 347-352.
- [75] Ternes W., Täufel A., Tunger L., Zobel M. (2007). *Lexikon der Lebensmittel und der Lebensmittelchemie*, Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft.
- [76] Thies P. W. (1986). Spartium und Spartein. Vom Besenginster zum Antiarrhythmicum. *Pharmazie in unserer Zeit* **15**: 172-176.
- [77] Wink M., Meissner C., Witte L. (1995). Patterns of quinolizidine alkaloids in 56 species of the genus *Lupinus*. *Phytochemistry* **38**: 139-153.
- [78] Wittenburg H. & Nehring K. (1965). Untersuchungen über die Wirkung reiner Lupinalkaloide auf den tierischen Organismus. Die Wirkung von Lupanin auf Ratten. *Die Pharmazie* **20**: 156-158.
- [79] Wood H.C.S. & Wrigglesworth R. (2008). Lupinane and quinolizidine alkaloids. *Rodd's Chemistry of Carbon Compounds: A Modern Comprehensive Treatise: Second Edition* **Chapter 38**: 285-342.
- [80] Yovo K., Huguet F., Pothier J., Durand M., Breteau M., Narcisse G. (1984). Comparative pharmacological study of sparteine and its ketonic derivative lupanine from seeds of *Lupinus albus*. *Planta Med* **50**: 420-424.

## Über das BfR

Das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) ist eine wissenschaftlich unabhängige Einrichtung im Geschäftsbereich des Bundesministeriums für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL). Es berät die Bundesregierung und die Bundesländer zu Fragen der Lebensmittel-, Chemikalien- und Produktsicherheit. Das BfR betreibt eigene Forschung zu Themen, die in engem Zusammenhang mit seinen Bewertungsaufgaben stehen.