

Methoden zur Bestimmung der Chinolizidinalkaloide in *Lupinus mutabilis*

I. Schnellmethoden

Dietrich von Baer, Ernst Hartmut Reimerdes und Walter Feldheim

Lehrstuhl Ernährung, Universität Kiel, und Institut für Chemie der Bundesanstalt für Milchforschung Kiel, Düsternbrooker Weg 17-19, D-2300 Kiel, Bundesrepublik Deutschland

Methods for the Determination of Quinolizidine Alkaloids in *Lupinus mutabilis*

I. Screening Tests

Summary. In this paper rapid procedures for the determination of total alkaloids (photometric, titrimetric) and for the semiquantitative determination of individual alkaloids (TLC) in the seeds of *Lupinus mutabilis* are presented. For all three methods an improved extraction procedure is employed. After transforming the alkaloids into their bases, the resulting material is dried with basic alumina and the alkaloids are extracted with chloroform.

For the photometric determination of total alkaloids bromocresol purple is used as color reagent. The indicator for the titrimetric determination is tetrabromophenolphthalein ethyl ester. The individual alkaloids are evaluated semiquantitatively after separation on TLC-plates and staining with Dragendorff reagent.

All three screening tests are useful for the selection of low alkaloid Lupin strains and for the control of debittering processes.

Zusammenfassung. Es werden Schnellmethoden zur Bestimmung der Gesamtalkaloide (photometrisch, titrimetrisch) und zur semi-quantitativen Bestimmung der Einzelalkaloide (dünnschichtchromatographisch) im Samen von *Lupinus mutabilis* beschrieben. Für die drei Schnellbestimmungsmethoden wird ein verbessertes Extraktionsverfahren dargestellt. Die Alkaloide werden in ihre Basen überführt, das Material wird mit basischem Aluminiumoxyd getrocknet und die Alkaloide mit Chloroform extrahiert.

Bei der photometrischen Bestimmung der Gesamtalkaloide dient Bromkresolpurpur als Farbreagens. Zu ihrer titrimetrischen Bestimmung wird Tetrabromphenolphthaleinäthylester als Indikator benutzt. Die

Einzelalkaloide werden semi-quantitativ, nach ihrer dünnschichtchromatographischen Trennung nach Anfärbung mit Dragendorffs Reagens bestimmt.

Die drei Schnellmethoden sind für die Auslese alkaloidarmer Lupinen und zur Überwachung von technologischen Entbitterungsverfahren geeignet.

Lupinus mutabilis spielt seit Jahrtausenden bei der Proteinversorgung der Andenbewohner eine bedeutende Rolle. Unter europäischem Einfluß und den damit verbundenen Änderungen der Nahrungsgewohnheiten wurde die Lupine immer mehr von den neu eingeführten Kulturpflanzen verdrängt und geriet so langsam in Vergessenheit [1]. Nur bei ärmeren Bevölkerungsgruppen in den Anden ist sie noch Bestandteil der Nahrung.

Zahlreiche Arbeiten über die Nutzung natürlicher Proteinquellen haben das Interesse an der Verwendung der öl- und eiweißreichen Samen dieser lateinamerikanischen Leguminose in der Ernährung und der Tierfütterung erneut geweckt. Die Samen enthalten jedoch neben ca. 40% Protein [1, 2] und 20% Öl [1-3] bis zu 3% Alkaloide. Diese zur Gruppe der Chinolizidinalkaloide gehörenden Substanzen verhindern aufgrund ihrer pharmakologischen Eigenschaften und ihres Bittergeschmacks die direkte Verwertung dieser Lupine. Aus diesem Grund wird sowohl daran gearbeitet, den Alkaloidgehalt züchterisch zu senken [4], als auch nach der Ölgewinnung den Lupinenschrot zu entbittern [5, 6]. In Zusammenhang mit dieser technologischen Entbitterung, beziehungsweise der züchterischen Auslese von alkaloidarmen Sorten von *Lupinus mutabilis* sind Schnellmethoden zur Bestimmung des Gesamt- und des Einzelalkaloidgehalts in den Samen und im entölten Schrot erforderlich.

Die Nachweisgrenze der Methoden muß mindestens bis zu einem Gesamtalkaloidgehalt von 0,03% reichen. Höhere Alkaloidwerte beeinträchtigen die Verwendung als Futtermittel beim Schwein [7]. Bei der Zulassung weißer und blauer Süßlupinensorten

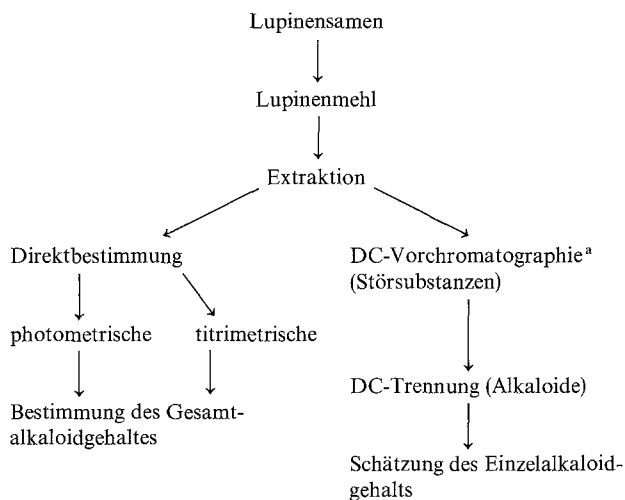


Abb. 1. Allgemeines Arbeitsschema zur Schnellbestimmung der Lupinenalkaloide. ^a DC = Dünnschichtchromatographie

(*Lupinus albus* und *Lupinus angustifolius*) wurde ein Höchstgehalt von 0,04% zugrunde gelegt [8].

Die Überprüfung der zur Routineuntersuchung in Frage kommenden Verfahren [9–13] ergab, daß diese entweder zu arbeitsaufwendig [9, 10] oder nicht genau genug [11–13] sind.

Es werden Schnellmethoden zur Bestimmung der Gesamtalkaloide (photometrisch, titrimetrisch) und zur semi-quantitativen Bestimmung der Einzelalkaloide (dünnschichtchromatographisch) beschrieben. Für die drei Schnellbestimmungsmethoden wird ein verbessertes Extraktionsverfahren verwendet. Das allgemeine Arbeitsschema ist in Abb. 1 dargestellt.

Material und Methoden

Untersuchungsmaterial: Samen von: *Lupinus mutabilis*, bittere Form, weißkörnig (Peru); *Lupinus mutabilis*, bittere Form, schwarzkörnig (Campex, Chile)¹; *Lupinus mutabilis*, alkaloidarmer Stamm, weißkörnig (Campex, Chile); *Lupinus albus*, Sorte Multolupa (Campex, Chile). Die Lupinensamen in einer Condux-Mühle mahlen und durch Sieb Nr. 5 geben.

Extraktion zur photometrischen Bestimmung

Extraktion der Alkaloide mit folgenden Reagentien: Basisches Aluminiumoxyd zur Säulenchromatographie, Aktivitätsstufe I (Baker), 15% ige KOH, Chloroform pro anal.

In einem Mörser (5 cm Durchmesser) 0,10 g Lupinenmehl mit 0,10 ml 15% iger KOH versetzen, 0,30 g basisches Aluminiumoxyd zugeben und fein verreiben, bis ein trockenes Pulver erhalten wird. Dieses in ein Reagensglas überführen und mit 10 ml Chloroform zur Extraktion (30 min) schütteln. Zur Trennung der Phasen die Proben entweder über Nacht im Kühlschrank stehen lassen oder zentrifugieren 30 min bei 1200 × g.

Photometrische Bestimmung der Gesamtalkaloide

Farbreagens zur photometrischen Bestimmung der Gesamtalkaloide nach dem Verfahren von Nowacki [12] herstellen: 1 g Bromkresolpurpur in 100 ml iso-Propanol lösen und 0,1 ml iso-Buttersäure zugeben.

Zur Bestimmung 1 ml des klaren Chloroformextrakts (bei alkaloidarmen Material mehr) in einen 10-ml-Meßkolben geben, mit Chloroform auffüllen, 0,10 ml Farbreagens zugeben, kurz schütteln, 10 min stehen lassen und die Extinktion bei 450 nm (Spalt 0,1 mm) gegen eine Blindlösung messen, die unter identischen Bedingungen mit Sojabohnenmehl hergestellt wird.

Erstellung der Eichkurven: steigende Mengen von Lupaninperchlorat (Koch and Light), Sparteinsulfat (Sigma) und Hydroxylupanin (Roth) zu 0,10 g Sojabohnenmehl zugeben und nach dem gleichen Verfahren bestimmen.

Extraktion zur titrimetrischen Bestimmung der Gesamtalkaloide

Reagentien: Basisches Aluminiumoxyd zur Säulenchromatographie, Aktivitätsstufe I (Baker); 15% ige KOH, Chloroform reinst. In einem Mörser (8,5 cm Durchmesser) 1,00 g Lupinenmehl mit 1 ml 15% iger KOH versetzen, 3 g basisches Aluminiumoxyd zugeben und fein verreiben, bis ein trockenes Pulver erhalten wird, 25 ml Chloroform zugeben und wieder verreiben. Den Extrakt über ein D 4 Filterrohr absaugen und den Rückstand in weiteren 25 ml Chloroform resuspendieren und erneut absaugen. Die vereinigten Extrakte, die keine Trübung enthalten dürfen, bei 30 °C im Rotationsverdampfer einengen und in 0,5 ml Chloroform aufnehmen.

Titrimetrische Bestimmung der Gesamtalkaloide

Indikator: 0,1% iger Tetrabromphenolphthaleinäthylester-Kaliumsalz (Aldrich) in absolutem Äthanol [13]. Zur Titration den Extrakt mit 3 Tropfen Indikator versetzen und mit 0,01 oder 0,02 n p-Toluolsulfonsäure in Chloroform titrieren. Den Gesamtalkaloidgehalt als % Lupanin ausdrücken.

Dünnschichtchromatographie der Lupinenalkaloide

DC-Platten: Kieselgel 60, Schichtdicke 0,25 mm, 20 × 20 cm Fertigplatten (Merck). – Fließmittel I: Chloroform pro anal. – Fließmittel II [14]: Chloroform/Methanol/NH₄OH (25% ig) (9 + 10 + 1). – Nachweisreagens: Dragendorff-Reagens mod. Vagujfalvi [15]; die Stammlösung nach Vagujfalvi [15] ansetzen. Zur Herstellung der eigentlichen Färbelösung 40 ml Stammlösung mit 100 ml Essigsäure und 1380 ml Essigsäureäthylester versetzen. Reagens mehrere Monate haltbar.

Als Referenzsubstanzen die Alkaloidstandards (siehe photometrische Bestimmung) als 0,1% ige Lösungen in Chloroform oder Methanol verwenden.

Extraktion der Alkaloide wie bei der photometrischen oder titrimetrischen Bestimmung. Alkaloidarme Proben im Rotationsverdampfer konzentrieren. Probenvolumen: 10–100 µl, quantitativ auf der DC-Platte auftragen. Störsubstanzen im Rohextrakt durch Vorchromatographie mit Fließmittel I (Laufstrecke 20 cm) abtrennen. Die Alkaloide mit Fließmittel II (Laufstrecke 12 cm) auftrennen. Anschließend die Fließmittelkomponenten – insbesondere NH₃ – mittels Warmluft entfernen. Die Alkaloide sichtbar machen, hierbei die DC-Platten kurz senkrecht in das Nachweisreagens eintauchen.

Zur Identifizierung der Alkaloide die R_F-Werte der Einzelalkaloide der Proben mit denen der Referenzsubstanzen vergleichen. Die Intensität der Färbung und die Fleckengröße zur semi-quantitativen Abschätzung der Alkaloidkonzentrationen im Vergleich mit entsprechenden Konzentrationsreihen der Referenzsubstanzen verwenden.

1 Campex: Campo Experimental, Gorbea, Chile

Ergebnisse und Diskussion

Extraktion der Lupinenalkaloide

Eine einfache und vollständige Extraktion der Lupinenalkaloide aus dem Mehl ist die Voraussetzung für ihre quantitative Schnellbestimmung. Die Chinolizidinalkaloide können entweder in Form ihrer Salze mit hydrophilen Lösungsmitteln (Äthanol, Methanol) in saurem Milieu extrahiert werden oder sie werden in ihre Basen überführt und mit lipophilen Lösungsmitteln (Chloroform, Dichlormethan) extrahiert. Letzteres ist für eine schnelle und vollständige Extraktion am besten geeignet. Ruiz [13] schlägt vor, das Lupinenmehl mit einem Chloroform/Ammoniak-Gemisch zu schütteln. Die Alkaloidausbeute ist jedoch bei diesem Verfahren sehr gering. Grund hierfür ist, daß die Lupinenalkaloide als Basen, mit Ausnahme von Spartein, auch gut in Wasser löslich sind. Daher ist es sinnvoller, das Mehl zu alkalisieren, zu trocknen und dann die Alkaloide mit Chloroform zu extrahieren. Als Trocknungsmittel wurde bisher Kieselgur benutzt [10, 12].

In Vorversuchen mit alkaloidfreiem Leguminosenmehl (Sojamehl) konnte gezeigt werden, daß so ein wesentlicher Anteil an nicht alkaloidartigen mit der Bestimmung interferierenden Substanzen – zum Beispiel Lecithine – mitextrahiert werden. Unter zahlreichen erprobten Trocknungs- und Adsorptionsmitteln erwies sich basisches Aluminiumoxid am geeignetsten. Neben seiner höheren Trocknungskapazität ist es aktiver als Kieselgur, so daß es die Störsubstanzen adsorbiert, aber nicht die als Basen vorliegenden Alkaloide bindet.

Blindversuche mit alkaloidfreiem Leguminosenmehl (Sojamehl) zeigten, daß sich im Rohextrakt, wenn Aluminiumoxid als Trocknungs- und Adsorptionsmittel verwendet wird, keine mit der titrimetrischen oder photometrischen Bestimmung der Gesamtalkaloide interferierenden Substanzen befinden. Die Wiederauffindungsraten der Alkaloide liegen bei einmaliger Extraktion zwischen 93 und 96% (Tabelle 3).

Dieses Extraktionsverfahren entspricht somit den Anforderungen einer Schnellbestimmungsmethode.

Photometrische Bestimmung der Gesamtalkaloide

Zur photometrischen Schnellbestimmung des Gesamtalkaloidgehalts sind saure oder amphotere Indikatorfarbstoffe wegen ihrer hohen Empfindlichkeit besonders geeignet. Bei Methylorange [9], Bromthymolblau [10] oder Eriochromschwarz T [11] muß in einem 2-Phasensystem gearbeitet werden. Bei der Untersuchung von Rohextrakten, die noch Lipide enthalten, kommt es daher zu starker Emulsionsbildung. Das von Nowacki [12] vorgeschlagene Bromkresolpurpur hat als Farbreagens den Vorteil, daß kein Aus-

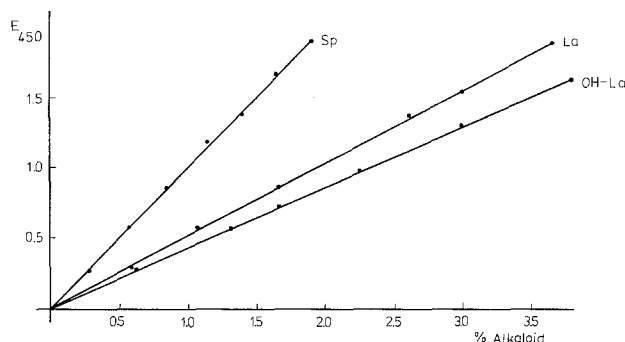


Abb. 2. Photometrische Bestimmung. – ($\lambda = 450$ nm, Spalt = 0,1 mm). – Eichkurven von Spartein (Sp), Lupanin (La) und Hydroxylupanin (OH-La) mit Sojabohnenmehl als alkaloidfreie Samengrundsubstanz

Tabelle 1. Regressionparameter der Eichkurven der Lupinenalkaloide. r = Korrelationskoeffizienten

	a	b	r
Spartein	1,012	–0,001	0,9994
Lupanin	0,509	0,012	0,9989
Hydroxylupanin	0,431	–0,002	0,9988

schütteln erforderlich ist und somit die Störsubstanzen im Extrakt nicht bei der Bestimmung interferieren.

In Abb. 2 sind die Eichgeraden für Spartein-, Lupanin- und Hydroxylupaninzusätze zu alkaloidfreiem Leguminosenmehl (Sojamehl) dargestellt. In Tabelle 1 sind die Werte aus der Regressionsanalyse für diese Geraden wiedergegeben. Aus den Ergebnissen wird deutlich, daß die einzelnen Alkaloide bei gleicher Konzentration nicht die gleiche Extinktion aufweisen. Die Trennung der Einzelalkaloide vor der photometrischen Bestimmung ist jedoch für eine Schnellmethode zu zeitraubend. Daher erweist es sich als sinnvoll, den Gesamtalkaloidgehalt anhand einer einzigen, berechneten Eichgeraden zu ermitteln. Das ist insofern möglich, als die Alkaloide bei einer Lupinenspecies in einem relativ konstanten Verhältnis vorliegen. Die Steigung dieser Eichgeraden (a^*) läßt sich aus den Geraden der Einzelalkaloide folgendermaßen berechnen:

$$a^* = \frac{a_{\text{Sp}} \cdot \% \text{ Sp} + a_{\text{OH-La}} \cdot \% \text{ OH-La} + a_{\text{La}} \cdot (\% \text{ La} + \% \text{ Andere})}{100}$$

Für die nicht identifizierten Alkaloide, die bei *Lupinus mutabilis* weniger als 10% der Gesamtalkaloide darstellen, wird die Steigung der Eichgeraden des Lupanins (a_{La}) eingesetzt. Von dem gas-chromatographisch bestimmten Anteil der Einzelalkaloide in *Lupinus mutabilis* ausgehend, ist für diese Species $a^* = 0,5376$. Dieser Wert wurde für die Bestimmung der Werte von Tabelle 1 angewendet.

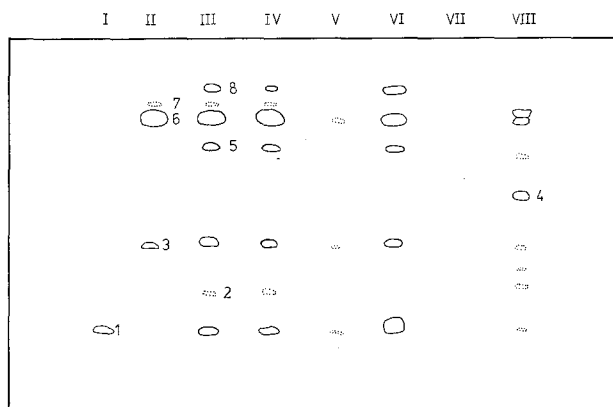


Abb. 3. Dünnschichtchromatogramm der Lupinenalkaloide. – I + II = Alkaloidstandards. – III = *L. mutabilis* bittere Form, Chile, schwarzkörnig. – IV = *L. mutabilis* bittere Form, Peru, weißkörnig. – V = *L. mutabilis*, alkaloidarmer Stamm. – VI = V, jedoch 10fach konzentriert. – VII = *L. albus* Multolupa, Chile. – VIII = VII, jedoch 25fach konzentriert.

1 = Spartein. – 2 = unbekanntes Alkaloid. – 3 = 13-Hydroxylupanine. – 4 = Angustifolin. – 5 = 4-Hydroxylupanine. – 6 = Lupanine. – 7 = α -Isolupanine. – 8 = unbekanntes Alkaloid

Tabelle 2. Gesamtalkaloidgehalt in *Lupinus mutabilis*. – Photometrische Bestimmung

	<i>L. mut.</i> Peru, bitter	<i>L. mut.</i> alkaloidarmer Stamm
% Gesamtalkaloid	3,03 ^a	0,326 ^b
Relative Standardabweichung	4,65%	9,0%

^a Mittelwert von jeweils 8 Bestimmungen

^b Mittelwert von jeweils 6 Bestimmungen

Tabelle 3. Gesamtalkaloidgehalt in *L. mutabilis* bitter, Peru. – Titrimetrische Bestimmung

	Einmalige Extraktion	Zweimalige ^c Extraktion
% Gesamtalkaloid	2,98 ^a	3,02 ^b
Wiederauffindungsrate	93–96%	97–98%
Relative Standardabweichung	1,5%	0,5%

^a Mittelwert von jeweils 8 Bestimmungen

^b Mittelwert von jeweils 6 Bestimmungen

^c Der Extraktionsrückstand wurde ein zweites Mal dem gesamten Extraktionsverfahren unterworfen

Die Abhängigkeit der Ergebnisse der photometrischen Gesamtalkaloidbestimmung vom Anteil der Einzelalkaloide ist bei *Lupinus mutabilis* besonders durch den Sparteinanteil bedingt. Bei anderen Lupinenspecies, die kaum oder kein Spartein enthalten – z. B. *Lupinus albus* (Abb. 3, VIII) – fällt der Sparteinanteil bei der Gesamtalkaloidbestimmung kaum ins Gewicht. Weit größere Fehler können durch eine un-

sachgemäße Extraktion der Alkaloide verursacht werden.

Obwohl die Ergebnisse dieser Schnellmethode vom relativen Anteil der Einzelalkaloide abhängig sind, hat sie den wesentlichen Vorteil, daß nur 100 mg Probenmaterial erforderlich sind und daß der Bedarf an organischen Lösungsmitteln sehr gering ist. Sie ist somit für die Routineuntersuchung von Samen, besonders in der Züchtung alkaloidarmer Sorten, geeignet.

Titrimetrische Bestimmung der Gesamtalkaloide

Als Indikator zur titrimetrischen Bestimmung stickstoffhaltiger Basen in Chloroform kann Dimethylgelb [16] oder Bromkresolgrün [7] verwendet werden. Beide haben den Nachteil, daß sie feuchtigkeitsempfindlich sind [7, 16]. Dieses ist bei dem von Ruiz [13] benutzten Tetrabromphenolphthaleinäthylester nicht der Fall.

Bei dieser Methode bestand jedoch keine lineare Abhängigkeit zwischen verbrauchter Titrationslösung (p-Toluolsulfonsäure) und Alkaloidgehalt [13]. Es wurde festgestellt, daß dieses nicht auf den Indikator, sondern auf ein unzulängliches Extraktionsverfahren zurückzuführen ist. Bei dem modifizierten, hier eingeführten Extraktionsverfahren besteht auch bei geringen Alkaloidmengen eine lineare Abhängigkeit zwischen verbrauchter p-Toluolsulfonsäurelösung und dem Gesamtalkaloidgehalt. Letzteres wurde durch Vermischen steigender Mengen an Bitterlupinenmehl bekannter Alkaloidkonzentration mit alkaloidfreiem Sojabohnenmehl und anschließender Bestimmung festgestellt. Die Nachweisgrenze liegt unter 0,02% Gesamtalkaloidgehalt.

Titrationen der Standardalkaloide mit Tetrabromphenolphthaleinäthylester zeigten, daß sich mit diesem Indikator Lupanine, Spartein und Hydroxylupanine als einsäurige Basen verhalten. Damit sind die Ergebnisse der titrimetrischen Bestimmung von dem relativen Anteil der Einzelalkaloide weitgehend unabhängig. Dieses Verfahren eignet sich somit gut zur Untersuchung von Lupinensamen und entöltem Schrot, wobei mindestens 1 g Probenmaterial erforderlich sind.

Die Ergebnisse der photometrischen und der titrimetrischen Methode stimmen gut überein. Sie wurden mit einer genauen gaschromatographischen Bestimmung über die Einzelalkaloide bestätigt (vgl. Tabellen 2 u. 3).

Dünnschichtchromatographie der Lupinenalkaloide

Um eine gute chromatographische Trennung der Einzelalkaloide, auch bei alkaloidarmen Material zu erzielen, müssen vorher die Ballaststoffe abgetrennt werden.

Eine weitere Reinigung der Proben nach der Extraktion wäre jedoch – besonders für eine Schnellmethode – zu zeitraubend. Daher ist es sinnvoller, die Ballaststoffe direkt auf der DC-Platte abzutrennen. Bei der Vorchromatographie mit Chloroform verbleiben alle Alkaloide am Startpunkt, während ein wesentlicher Anteil der Störsubstanzen bis kurz vor die Plattenfront wandert. Dadurch ist es möglich, alkaloidarme Proben ohne besondere Vorreinigung und Anreicherung direkt mittels Dünnschichtchromatographie zu untersuchen.

Zur DC-Trennung der Alkaloide von *Lupinus mutabilis* auf Kieselgelpplatten wurden folgende Fließmittelgemische erprobt: Cyclohexan/Diäthylamin (70+30) [17], Chloroform/Methanol (80+20) [18], Benzol / Äther / Methylenchlorid / Diäthylamin (5+5+5+2) [19], Chloroform/Methanol/NH₄OH (25% ig) (95+4+1-85+14+1) [14]. Mit dem Fließmittelgemisch Chloroform / Methanol / NH₄OH (89+10+1) lassen sich die Alkaloide von *Lupinus mutabilis* in einem Lauf am besten trennen. Auf Aluminiumoxid- oder Celluloseplatten [14] bzw. Papier [10, 12] wird dagegen im eindimensionalen Verfahren keine gute Trennung der Alkaloide von *Lupinus mutabilis* erzielt.

Abbildung 3 zeigt ein Dünnschichtchromatogramm der Rohextrakte verschiedener Lupinenproben. Die Verteilung der Einzelalkaloide ist in den beiden Proben von bitteren *Lupinus mutabilis* (III und IV) ähnlich. Auch beim alkaloidarmen Stamm (V und VI) ist Lupanin das Hauptalkaloid und die anderen Alkaloide, außer Spartein, sind in der gleichen Proportion vorhanden. Wie zu erwarten, hat die Süßlupinensorte *Multolupa* (VIII), da es sich um eine andere Species handelt, ein ganz anderes Alkaloidspektrum, aber auch bei dieser Süßlupine sind die einzelnen Bitterstoffe noch gut nachweisbar. Die absolute Nachweisgrenze liegt bei allen Lupinenalkaloiden unter 10 µg. Das bedeutet, daß man in 100 mg Samen noch 0,01% Alkaloid nachweisen kann.

Diese Methode stellt somit eine wertvolle Ergänzung zur Bestimmung der Gesamtalkaloide dar und gibt sehr schnell und mit minimalem apparativen Aufwand ein qualitatives Bild vom Alkaloidspektrum der Proben. Außerdem ermöglicht dieses Verfahren eine schnelle semiquantitative Abschätzung des relativen Anteils an Einzelalkaloiden. Zur genauen quanti-

tativen Bestimmung der Einzelalkaloide wurde die Absorption der Alkaloidflecken densitometrisch direkt auf der DC-Platte gemessen. Die Instabilität der Farbkomplexe der Alkaloide mit dem verwendeten Dragendorff-Reagens beeinträchtigte – auch bei standardisierten Arbeitsbedingungen – die Reproduzierbarkeit der Meßwerte von Platte zu Platte. Versuche zur Kombination der direkten fluorodensitometrischen Bestimmung der Einzelalkaloide [19] auf der DC-Platte werden zur Zeit durchgeführt. Dabei soll die wesentlich vereinfachte Probenvorbereitung ausgenutzt werden.

Alle drei hier beschriebenen Methoden werden den Anforderungen einer Schnellmethode gerecht und sind mit kleinen Änderungen auf andere Alkaloide anwendbar. Über ein vereinfachtes gaschromatographisches Verfahren zur genauen Bestimmung der Einzelalkaloide wird in Kürze berichtet.

Der Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit (GTZ) und dem Deutschen Akademischen Austauschdienst (DAAD) danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit.

Literatur

- Gross, R., Baer, E. von: Z. Ernährungswiss. **14**, 224 (1975)
- Hudson, B.J.F., Fleetwood, J.G., Zand-Moghadam, A.: Plant Foods Man **2**, 81 (1976)
- Eckart, W.R., Feldheim, W.: Z. Lebensm. Unters. Forsch. **155**, 92 (1974)
- Baer, E. von, Gross, R.: Z. Pflanzenzchtg. **79**, 52 (1977)
- Gross, R., Baer, E. von: Arch. Latinoam. Nutr. **27**, 451 (1977)
- Aguilera, J.M., Trier, A.: Food Technol. (Chicago) **32**, 70 (1978)
- Ruiz, L.P., White, S.F., Hove, E.: Anim. Feed. Sci. Technol. **2**, 59 (1977)
- Richter, K., Schiller, K.: Züchter **26**, 239 (1956)
- Reifer, I., Niziolek, S.: Acta Biochem. Polon. **4**, 165 (1957)
- Wiewiorowski, M., Skolik, J.: Roczn. Chem. **3**, 461 (1959)
- Lipfert, R., Honerlagen, H.: Deut. Apotheker-Ztg. **109**, 173 (1969)
- Nowacki, E., Nowacka, D., Weznikas, T.: Hod. Rosl. Aklim. i. Nasion **16**, 59 (1972)
- Ruiz, L.P.: N.Z.J. Agr. Res. **20**, 51 (1977)
- Cho, Y.D., Martin, R.O.: Anal. Biochem. **44**, 49 (1971)
- Vágujfalvi, D.: Planta med. **8**, 34 (1960)
- Gyenes, I.: Titrationen in nichtwäßrigen Medien. S. 515. Stuttgart: F. Enke 1970
- Gill, S.: Acta Polon. Pharm. **21**, 379 (1964)
- Gill, S., Steinegger, E.: Pharm. Acta Helv. **39**, 508 (1964)
- Karlsson, E.M., Peter, H.W.: J. Chromatog. **155**, 218 (1978)

Eingegangen am 26. Februar 1979