Zeitschrift: Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène

Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit

Band: 65 (1974)

Heft: 4

Artikel: Gyromitrin in Trockenlorcheln (Gyromitra esculenta sicc.)

Autor: Schmidlin-Mészáros, Jolanda

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-983700

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 15.07.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. **65**, 453—465 (1974)
Eingegangen 14. Juni 1974. Angenommen 22. Oktober 1974.

Gyromitrin in Trockenlorcheln *(Gyromitra esculenta sicc.)*

Jolanda Schmidlin-Mészáros
Kantonales Laboratorium, Zürich

Einleitung

Die guten Pilzbücher weisen darauf hin, daß frische Lorcheln Giftpilze sind, die nur nach spezieller Vorbehandlung zu genießen seien. Es folgt meistens der Hinweis, daß getrocknete Lorcheln eßbar sind. Auch das Schweizerische Lebensmittelbuch 1970 (1) reiht *Gyromitra esculenta* unter die zum Trocknen geeigneten Pilze ein, mit der Bemerkung, daß sie nur gedörrt eßbar sind. In der neuesten Verordnung über den Verkehr mit Speisepilzen und daraus hergestellten Pilzerzeugnissen in Deutschland sind sie jedoch nicht mehr aufgeführt (2).

Der Schweizer Arzt *Jonquière* erlitt mehrmals Vergiftungen durch Trockenlorcheln schon vor fast 100 Jahren (3). *Reif* fand gute Reaktionen für das unbekannte Gift, welches für lange Zeit in Trockenlorcheln haltbar ist (4, 5).

Franke, Freimuth und *List* (6) zeigten, daß Helvellasäure, das vermeintliche Gift, nur eine ungiftige Mischung von organischen Säuren ist. Gyromitrin, das wahre Gift, wurde von *List* und *Luft* (7, 8) isoliert und synthetisiert. Mit der Bruttoformel $C_4H_8N_2O$ erwies es sich als das N-Methyl-N-formylhydrazon des Acetaldehyds. Es wurde charakteristiert als eine flüchtige, säure- und basenempfindliche, autoxydable Substanz mit Smp. 5 °C, welche sowohl wasser- wie lipoidlöslich ist und somit Tensidcharakter besitzt. Oberhalb 60 °C wird sie bräunlich und zersetzt sich zum Teil.

Wir erhielten gefriergetrocknete Lorcheln aus einer schweizerischen privaten Versuchsanlage zur Untersuchung auf den Giftgehalt. Die Gefrier- oder Sublimationstrocknung, welche eine relativ neue Konservierungsart ist, wird wegen ihrer Vorzüge, der Erhaltung von Aroma, Farbe und Form der frischen Ware, gerühmt (9). Im Falle der Lorcheln rückte plötzlich eine bisher noch nie beachtete Eigenschaft ins Licht, nämlich die Bekömmlichkeit bzw. die Unschädlichkeit. Der Nachweis und die Bestimmung des Gyromitrins (I. Teil) sind aus dem Blickwinkel der Toxikologie (II. Teil) entscheidende lebensmittelchemische Aufgaben. Ihre Aussage dient sowohl dem Hersteller wie auch dem Konsumenten. Solche vielschichtigen Aufgaben lassen Querverbindungen mit anderen Wissensgebieten erkennen.

Material

Es wurden zwei kleine Proben von gefriergetrockneten Lorcheln eingesandt. Am hellbraunen Hut waren die krausgewundenen Wülste, welche wie Darm- oder Gehirnwindungen aussahen, gut erkennbar. Sie waren leicht, sehr voluminös und von aminartigem Geruch, etwas an Mäuse bzw. an Mäuseurin erinnernd. Pilzgeruch kam erst als zweitrangiges Charakteristikum. Für unsere Giftuntersuchungen wurden als Vergleichsmaterial noch weitere zehn Proben in Detailgeschäften eingekauft. Diese Pilze waren durchwegs kleiner, mit fruchtigem Pilzduft, manchmal auch mit Rauchgeschmack. Drei große Proben von je 1 kg aus einer Sendung von 300 kg aus Polen wurden beim Importeur durch den zuständigen Lebensmittelinspektor erhoben. Diese Pilze waren groß, mit dunklem Hut und fruchtigem Kakao-Geruch als erstem Duft, später Pilzfond, anhaltend. Die Giftuntersuchung lehnt sich an die Publikationen von *List* und *Luft* (7, 8, 10) an. Eine Probe Gyromitrin-Reinsubstanz erhielten wir von Herrn Prof. *P. H. List*. Weitere Mengen wurden nach seiner Methode synthetisiert (8).

Extraktionen

Von den gefriergetrockneten Proben wurden 0,5—1 g, von den gewöhnlich getrockneten 5—10 g eingewogen. Die lyophilisierten Pilze ließen sich leicht und sehr fein im Turmix pulverisieren. Die gewöhnlich getrockneten waren zäher, ihre Pulver waren weniger fein und einheitlich, die Faserstruktur blieb in gröberen Stückchen erhalten. Es wurden immer vergleichende Extraktionsversuche ausgeführt mit den Pilzen der zwei differierenden Trocknungsarten. Frische Lorcheln standen uns nie zur Verfügung. Extrahiert wurde das Pulver direkt oder erst sein Wasserdampfdestillat. Als Lösungsmittel dienten: Peroxidfreier, wassergesättigter Aether, Pentan, Chloroform, Alkohol. Extraktionsart: Ausschüttelungen in der Kälte oder Auszug im Soxhletapparat. Die Rückstände dieser Extraktionen untersuchten wir nach allen uns zur Verfügung stehenden Mikromethoden (11). Der Trockenpilz gibt das Gift nicht leicht frei. Eine 16stündige Extraktion im Soxhletapparat mit wassergesättigtem Aether konnte max. 90 % des Gyromitrins herauslösen. Das weitere Gyromitrin wurde mit der darauffolgenden Pentanextraktion während weiteren 8 Stunden herausgelöst. Dieser Pentanextrakt war für die direkte gaschromatographische Identifizierung des Gyromitrins vorzüglich geeignet.

Dünnschichtchromatographie

Sie gab die besten Auskünfte über die Extraktionsausbeute. Auf Fertigplatten mit Kieselgel 60 F_{254} (Merck) mit der Laufmittelmischung Methylenchlorid: Methanol (9 : 1) zeigten sich in allen Rückständen im UV betrachtet rund 20 Flecken. Neben den allgemeinen Entwicklern waren die substanzspezifischen Mikrofarbreaktionen nach *Feigl* (12) die aufschlußreichsten. Diese auf die Papier- und Dünnschichtchromatogoraphie (DC) übertragen, halfen uns immer, mikroanalytische Probleme zu lösen (13).

Glutaconaldehydreaktion: Der unbeständige Glutaconaldehyd wird aus Pyridinpyridiniumchlorid mit NaOH nach *Anger* und *Ofri* (14) hergestellt. Spray:

1%ige Lösung von Pyridinpyridiniumchlorid in 1-*n* NaOH wird zuerst aufgesprüht und mit dem Föhn getrocknet. Nachher wird mit konz. HCl gesprüht und wiederum getrocknet bzw. HCl-frei gemacht. Rote bis braunrote und orangegelbe Farben werden für Hydrazinderivate als typisch befunden. Gyromitrin (Rf 0,75) zeigt sich mit rotbrauner Farbe als Hauptfleck. Im Rf-Bereich 0,3—0,4 ist Methylformylhydrazin markiert mit gleicher braunroter Nuance, sowohl in den Lorchelexrakten wie auch in der Kolonne der Vergleichssubstanz. Hydrazin bleibt am Auftrageort und Methylhydrazin weist einen Rf-Wert von 0,1 auf, gelblich nuanciert. Diese Entwicklung erreicht nicht die große Empfindlichkeit der Tüpfelreaktion nach Feigl, erlaubt jedoch eine qualitative und semiquantitative Erfassung des Gyromitrins in Mengen von 10—200 µg.

Die Entwicklung mit *seleniger Säure* konnte auch mit Erfolg auf DC übertragen werden. Diese Reaktion ist von großem qualitativem Wert (4). Als Mikrofarbreagens nach *Mecke* wird sie bei Alkaloiduntersuchungen verwendet (15). *Feigl* empfiehlt, das entstandene Diazoniumsalz zu Azofarbstoffen zu kuppeln. Die Hydrazinoxidation durch selenige Säure zum Diazoniumsalz zeigt die Möglichkeit, daß Hydrazinderivate durch Oxydation zu Azo-Nitroso-Nitro-Verbindungen verwandelt werden können, welche krebserzeugend wirken können. Spray: DC-Platte zuerst mit HCl 1 : 1 besprühen und leicht trocknen. Dann mit 5%iger seleniger Säure in 5-*n* HCl besprühen und wieder mit Föhn trocknen. Es zeigen sich orangerote Flecken (Selen) bei Gyromitrin und bei Methylformylhydrazin. Das nachträgliche Aufsprühen von 3%igem Naphthylamin fanden wir nicht so günstig für Gyromitrin, wie *Feigl* für andere Hydrazinverbindungen empfohlen hat. Alle Lorchelextrakte zeigten sich reich an Carbonylverbindungen mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin.

Indol in konz. HCl gibt einen sehr empfindlichen Aldehydnachweis nach *Anger* und *Fischer* (16). Spray: Einige Plättchen Indol werden in konz. HCl gelöst. Nach dem Besprühen wird die DC-Platte mit Föhn erhitzt. Fast alle rund 20 Flecken der Lorchelextrakte, welche sich im UV-Licht markieren lassen, zeigen diverse Nuancierungen mit Indol. Sowohl Gyromitrin wie sein Zersetzungsprodukt wird rosarot.

Zimtaldehyd 0,5%ig in HCl reagiert mit Gyromitrin zuerst mit fleischroter, dann mit braunroter Farbe (17) und (12).

Da Hydrazinderivate stabile Metallkomplexe bilden (18), ist vielleicht auch die Komplexierungskapazität des Milieus von Bedeutung. Nach dieser Studie ist das Diimin die hydrierte Spezies bei allen Hydrazinderivaten. Weitere Reaktionen, welche das freie Formaldehydende des Giftmoleküls erfassen, zeigten sich zu wenig spezifisch auf Gyromitrin. Die jodometrische Methode (10) lieferte immer zu hohe Werte (als Gyromitrin berechnet).

Spektroskopische Identifizierung

Die *Massenspektren* sind in der Abbildung 1 dargestellt (a = synthetisches Gyromitrin, b = Substanz X des Lorchelextraktes nach mehrfacher Reinigung). Man sieht, daß die Spektren identisch sind. Der Molekularionenpeak befindet

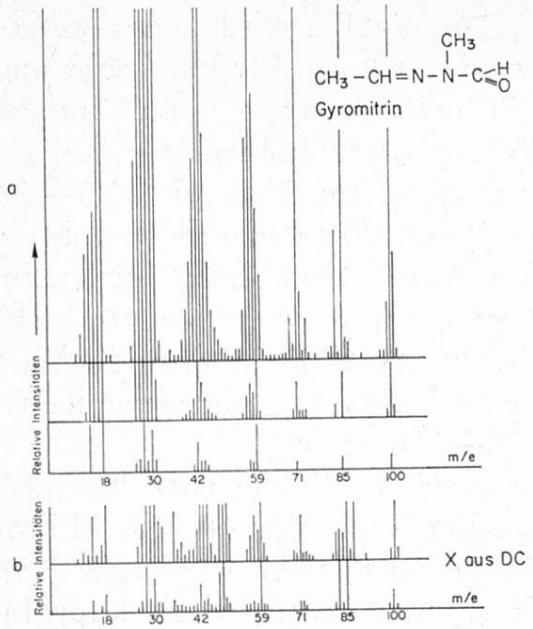

Abb. 1. Massenspektren:
a = Gyromitrin Reinsubstanz
b = Substanz X aus Lorchelextrakt

sich bei 100 m/e. Die Fragmente entsprechen den chemisch sinnvollen Massendifferenzen (19). Die erste Abspaltung scheint die CH_3-Gruppe zu sein, da das erste Fragment bei 85 m/e zu sehen ist. Das Signal bei 71 m/e spricht für den Verlust von 29 m/e, welcher der Formylgruppe zuzuschreiben ist. Der Basispeak ist bei 59 m/e zu sehen, wo die Aufspaltung der N-N-Bindung deutbar ist, abzüglich 41 m/e, der Acetaldehydhydrazon-Hälfte des Gyromitrins. Für die Zahl 30 m/e sind mehrere Atomanordnungen denkbar: CH_3NH, das instabile Diimin $NH = NH$ oder H_2N oder ein stabiles Ion $CH_2 = NH^+_2$. Apparat: Massenspektrometer der Firmen Hitachi-Perkin-Elmer AG, Modell RMU 7. Verwendet wurde das Direkteinlaß-System bei 10^{-7} Torr Vakuum und Temperaturen von 80—90 ° C, wie auch die indirekte Einführung bei 200 ° C. Die Elektronenenergie betrug 70 eV. Das Registrieren erfolgte immer mehrspurig mit verschiedenen Empfindlichkeiten, gemäß Darstellung a. Bei b ist die Wiedergabe der zwei unteren Aufnahmen schon von genügend hohem vergleichbarem Wert. Die Massenspektrometrie sicherte nur bei genügend reinen Substanzen den qualitativen Mikronachweis des Gyromitrins. Sonst häuften sich Signale auch oberhalb 100 m/e. Die Deutlichkeit des Molekularionenpeaks des Gyromitrins, trotz hoher Einleit-Temperatur von 200 ° C, ermutigte uns zu einer zusätzlichen gaschromatographischen Studie.

Das *Infrarot-Spektrum* des reinen Gyromitrins ist von der Carbonylbande eines tertiären Amids bei 1675 cm^{-1} beherrscht. Diese und die anschließende Bande bei 1630 cm^{-1}, welche der $C = N$-Valenzschwingung zuzuschreiben ist, sind auch informativ für reines Gyromitrin in Chloroform. Sie verschiebt sich jedoch sowohl in den gereinigten Lorchelextrakten wie auch in den DC-Extrakten mit Aether, Chloroform und Alkohol. Sie tritt dann regelmäßig bei 1710 cm^{-1}, mit einer kleinen Schulter bei 1760 cm^{-1} auf. So charakterisierten auch *Franke* und Mitarbeiter (6) das Gift, als seine chemische Struktur noch nicht restlos aufgeklärt war. In reinem Gyromitrin sind weitere, relativ scharfe Banden bei 1410, 1370 und bei 1375 cm^{-1}, weniger starke bei 1470 und 1410 cm^{-1} zu sehen. Die

IR-Spektren wurden in unserem Laboratorium in reinem Chloroform mit dem IR-Spektrophotometer der Firma Perkin-Elmer, Modell 157 G aufgenommen.

Die *UV-Spektrophotometrie* ist nur für Gyromitrin als Reinsubstanz eine empfindliche mikroanalytische Nachweismethode. Das Spektrum zeigt sowohl in Alkohol wie in Pentan bei 226 nm ein relativ stumpfes Maximum ohne Feinstruktur. Das Minimum liegt bei 207—208 nm. Eine kleine Schulter bei 210 nm stammt möglicherweise von Methylformylhydrazin, welches bei 210—212 nm ein Maximum hat. Unsere Messungen, unterstützt von der Fachliteratur, lassen vermuten, daß mit unterhalb 200 nm arbeitenden Apparaten bessere UV-spekrophotometrische Charakteristika für Gyromitrin und verwandte Hydrazinderivate erarbeitet werden könnten. Obwohl die Konzentrationsbereiche (ppm) diejenigen der Gaschromatographie erreichen könnten, fanden wir auch in gereinigten Lorchelextrakten immer zu hohe Blindwerte. Apparat: Beckmann UV-Spektrophotometer Modell DB.

Die *Mikrosublimation im Vakuum* war bei allen unseren bisherigen Aufgaben eine eminente Reinigungsstufe bzw. Isolierungsmethode (13, 20). Hier erhielten wir erst im Hochvakuum aus an Gyromitrin angereicherten Extrakten winzige Gyromitrin-Nadeln. Diese sind die besten Objekte für die weiteren mikroanalytischen Nachweismethoden, da Gyromitrin nach der Tieftemperatursublimation in reiner Form vorliegt.

Gaschromatographie

Die Gaschromatographie führte zum empfindlichsten Gyromitrin-Nachweis. Mit dem Fractovap Gl von der Firma Carlo Erba, mit FID, ließ sich Gyromitrin sowohl an kurzen vorgepackten Glaskolonnen isotherm wie auch an 40 m langen Glasdünnfilmkapillarkolonnen (FFAP) temperaturprogrammiert scharf registrieren. Nach diesen Voruntersuchungen verwendeten wir in unserem Laboratorium im neuen Fractovap 2101 von Carlo Erba eine Glasdünnfilmkapillarkolonne von 20 m Länge und 0,32 mm Durchmesser beschichtet mit UCON HB 5700 (Polypropylenglycoläther). UCON HB 5700 ist von mäßiger Polarität und vorzüglich für Temperaturen unterhalb von 170 ° C geeignet. Lieferant dieser Säule war H. Jaeggi, Labor für Gaschromatographie, Trogen.

Versuchsbedingungen: Säule: Glasdünnfilmkapillarkolonne mit UCON HB 5700 Trägergas: Wasserstoff von 0,3 Atü. Für FID: Wasserstoff von 0,3 Atü, Sauerstoff von 0,7 Atü. Einspritzblocktemperatur: 130 ° C. Nach Abklingen des Lösungsmittelpeaks Temperaturprogramm mit 4 ° C/Minute. Papiergeschwindigkeit 0,5 cm/Minute. Die Einspritzung erfolgte immer 20 Sec. splitlos. Der Gasprobeneinlaß ist mit einer Gas-Rückspülvorrichtung versehen. Bei einer Empfindlichkeit von 1/16 konnte Gyromitrin nach 18 Minuten Retentionszeit bei 74 ° C scharf registriert werden. Abbildung 2a zeigt Gyromitrin-Reinsubstanz in Pentan 1/100 000 verdünnt. Einspritzmenge 1 µl. Die mit dem Integrator gemessenen Flächen sind den eingespritzten Gyromitrinmengen im Konzentrationsbereich ppm und darunter proportional. Die beiden ungleich großen Peaks bei 125 ° C und bei 132 ° C mit Retentionszeiten von ca. 46 und 50 Minuten sind so charakteristisch, daß sie zur gaschromatographischen Identifizierung des Gyromitrins gehören. Sie entsprechen Zersetzungsprodukten, welche sich auch dünnschichtchromatographisch im

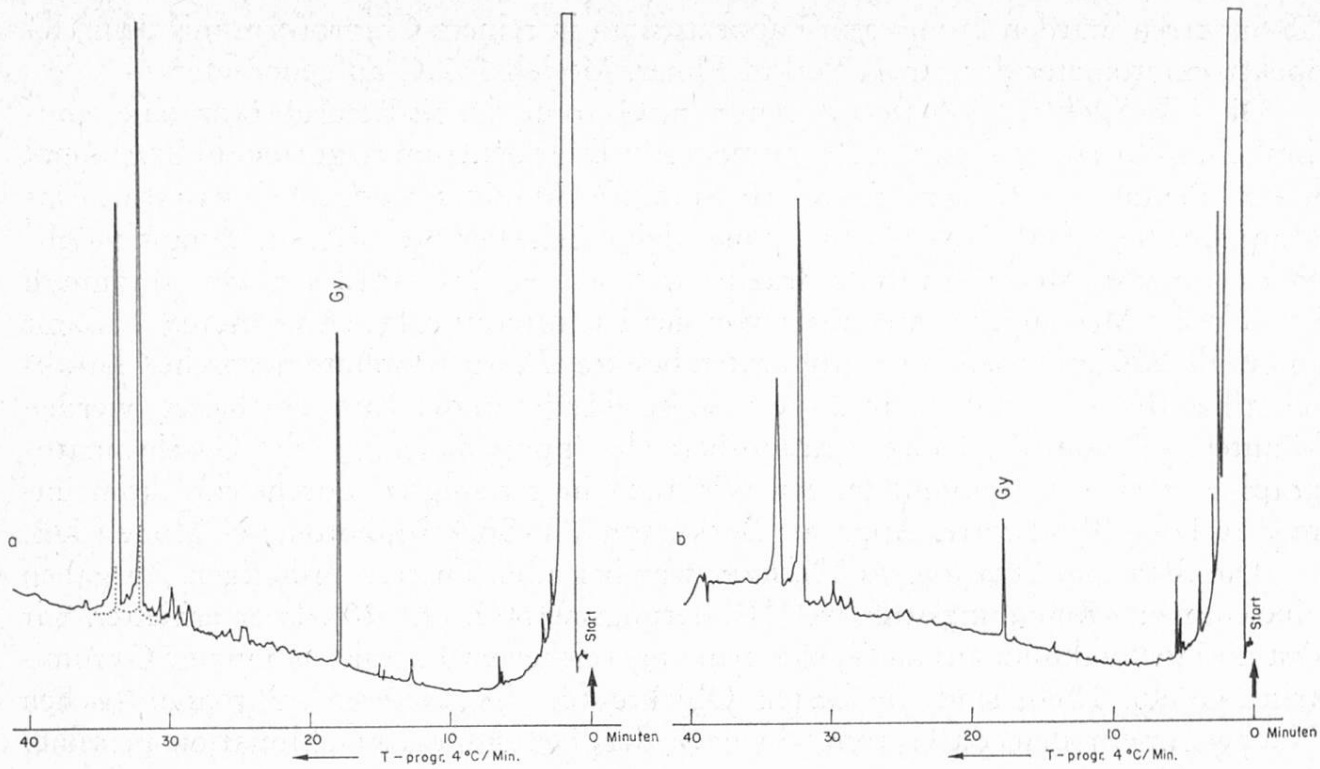

Abb. 2. Gaschromatogrammen an Glasdünnfilmkapillarkolonnen:
a = Gyromitrin-Reinsubstanz in Pentan, 1/100 000.
b = Pentanextrakt von Trockenlorcheln, Import aus Polen.

Rf-Bereich von 0,3—0,4 zeigen. Sie stammen von Methylformylhydrazin, welche Verbindung auch der Hauptbaustein des Gyromitrins ist und sich unterhalb — 15 ° C in guter Ausbeute mit Acetaldehyd zu Gyromitrin verbindet. Die punktierte Linie zeigt die kleinste Stufe der thermischen Spaltung an. Sie ist aber immer da, mehr oder weniger scharf. Bei Erhöhung der Einspritzblocktemperatur erhöhen sich auch die beiden Peaks. Da das Trägergas Wasserstoff ist (O_2-frei), ist die Abspaltung temperaturabhängig. Das Gaschromatogramm wird gleichzeitig ein Thermofraktogramm. Ob hier auch Isomere eine Rolle spielen, wurde nicht abgeklärt. *List* und *Luft* (8) fanden keine optische Aktivität für Gyromitrin.

Abbildung 2b stellt das Gaschromatogramm eines aliquoten Teils des Pentanextraktes einer unlängst in die Schweiz eingeführten Sendung Trockenlorcheln dar. (Siehe Tabelle 1, Import aus Polen, erhoben aus 300 kg.) Das Gyromitrin ist wiederum bei 74 ° C nach 18 Minuten Retentionszeit erkennbar. Seine typischen Zersetzungsprodukte bei 125 und 132 ° C nach 46 und 50 Minuten ebenfalls. Der Verlauf der Kurven a und b ist identisch. Man kann von einem hochspezifischen gaschromatographischen «Fingerprint» sprechen. Die temperaturprogrammierte Gaschromatographie an Glasdünnfilmkapillarkolonne von Rohextrakten der Trockenlorcheln zeigt mindestens 150 Peaks. Auch die gereinigten Fraktionen, Wasserdampfdestillate und die aus DC herausgelösten Zonen sind peakreich. Die erschreckende Fülle von flüchtigen Substanzen in den Lorchelextrakten zwang uns zur Auswahl einer Methode, die spezifisch auf Gyromitrin gerichtet war. Nach zahlreichen Extraktionsversuchen zeigte sich die Kombination von Dünnschichtchromatographie und Gaschromatographie als die günstigste. Rohextrakte

Tabelle 1. Giftgehalt von Trockenlorcheln (Gyromitra esculenta sicc.) *Dünnschichtchromatographische Ermittlung*

Art der Probe	Gyromitrin in %	Methylformyl-hydrazin in %
Lyophilisiert, eingesandt aus privater Versuchsanlage	0,3	0,05
Käufliche Trockenlorchel aus dem Detailhandel (Durchschnittswert)	0,1	0,025
Import aus Polen, erhoben aus 300 kg (Durchschnittswert)	0,125	0,03
Import aus Polen, erhoben Kleinbruch aus 300 kg	0,21	0,06
Gewöhnlich getrocknet, eingesandt aus privater Trocknungsanlage	0,3	0,05
Lyophilisiert, eingesandt aus privater Trocknungsanlage	0,05	Spuren

ließen sich mit DC gut auftrennen und das Gift qualitativ und semiquantitativ bestimmen. Für die gaschromatographische Identifizierung war nur der zweite Nachextrakt mit Pentan, dem eine erschöpfende Aetherextraktion vorangegangen war, genügend rein.

Resultate

Die Dünnschichtchromatographie erlaubte eine semiquantitative Gehaltsbestimmung von Gyromitrin in Trockenlorcheln. Aus der Tabelle 1 geht hervor, daß der Höchstgehalt von 0,3 % Gyromitrin sowohl in den lyophilisierten wie auch in den gewöhnlich getrockneten Lorcheln vorkommen kann. Beide Proben stammten aus der erwähnten privaten Trocknungsanlage. Der Import aus Polen wies durchschnittlich in ganzen Pilzen 0,125 % Gyromitrin auf, während im Kleinbruch der gleichen Sendung nahezu verdoppelte Werte anzutreffen waren. Möglicherweise ist die Verteilung des Giftes im Pilzkörper nicht regelmäßig. In der zweiten lyophilisierten Lorchelprobe war der Giftgehalt stark reduziert. Die Firma wandte mit Erfolg eine Entgiftungsprozedur an. Dadurch kann eine vollständige Entgiftung angestrebt werden, welche die Bekömmlichkeit und volle Unschädlichkeit sichert und damit auch allein den hohen Preis rechtfertigt. Der Mindestgehalt des Frischpilzes an Gyromitrin ist 0,12 % nach *List* und *Luft* (10). Während des Trocknens steigt die Trockensubstanz auf rund das 5fache. Der Gyromitringehalt erhöhte sich auch, aber nicht im gleichen Maße wie die Trok-

kensubstanz. Bis zu 50 % des Giftes bleiben erhalten. Methylformylhydrazin, das Hauptzersetzungsprodukt des Gyromitrins, war auch in allen Proben anzutreffen bis zu rund 25 % des Gyromitringehaltes (siehe Tab. 1). Methylhydrazin und Hydrazin, sind in Spuren mit mehr oder weniger Sicherheit nachweisbar.

II. Teil — **Diskussion aus toxikologischer Sicht**

Unsere analytischen Arbeiten mit DC und GC, ergänzt mit weiteren Mikromethoden, veranschaulichen die Anwesenheit und die Zersetzlichkeit des Gyromitrins in Trockenlorcheln während der Lagerung, dem Erhitzen, Lösen und sonstigen Manipulationen. Sie zeigen aber auch die mögliche Rückbildung in der Kälte aus den Spaltprodukten. Seine Stabilität in der Kälte und beim Ausschluß von Sauerstoff ist erstaunlich. Der Träger der Reaktionsfähigkeit, sowohl beim Aufbau wie beim Abbau, ist der Hydrazinkern. Er ist auch der Hauptträger der Giftigkeit. Das Trocknen der Lorcheln reduziert die akute Vergiftungsgefahr mäßig bis stark, schließt aber eine chronische, schleichende und additive Giftwirkung nicht aus. Die Forschergruppe *Franke* und Mitarbeiter (6) stellt die Chronologie der Lorchelvergiftungen in tabellarischer Form dar. Sie belegen die hohe Humantoxizität des Gyromitrins (6, 8, 10, 21). Durch die geobotanische Verteilung dieses Giftpilzes scheint die Schweiz nicht so arg in Gefahr zu sein. *Möschlin* findet ihn die zweitgefährlichste Pilzsorte und warnt vor wiederholtem, kurz nacheinander erfolgendem Genuß (22). In den Nachbarländern sind möglicherweise die Dunkelziffern dort größer, wo die Pilzkontrolle mit ihrer Aufklärung weniger ausgebaut ist als in unserem Lande (23, 24, 25, 26). Gestützt auf den Gyromitringehalt von 0,12—0,16 % im Frischpilz nach *List* und *Luft* (10), läßt sich aus Mengenangaben der verabreichten Lorcheln (6) bzw. vermutlichen Portionen und aus dem Alter entsprechenden Durchschnittsköpergewichten, die Dosis letalis berechnen. Diese Abschätzung ergibt:

ca. 10—30 mg Gyromitrin/kg Körpergewicht bei Kindern,
ca. 20—50 mg Gyromitrin/kg Körpergewicht bei Erwachsenen.

Die Symptome beginnen erst 5—8 Stunden nach Lorchelgenuß, gelegentlich auch später (6). *Möschlin* beschreibt auch die subakuten und leichteren Fälle. Hervorzuheben sei Ikterus, gelbe Leberathrophie. Gelegentlich wurde Haemosiderose und auch Haemolyse (27, 28) beobachtet. Das Vorkommen von Haemolysinen scheint für höhere Pilze ein neuer Parameter zu sein (29, 30). Erwähnenswert ist die Erkrankung der Hersteller der Pilzspeisen, ohne von den Mahlzeiten gegessen zu haben (6, 27). In Kenntnis der Haupteigenschaften des Gyromitrins, wie Flüchtigkeit und Zersetzlichkeit zu weiteren giftigen Produkten, ist diese durchaus erklärbar. Das Auftreten von weiteren, giftigen Pyrolyseprodukten ist vorstellbar (31).

Bei *chronischen Gyromitrinvergiftungen* dominieren Schleimhautentzündungen (6) und Hypoxemia, wie beim Lungenbefund der Pilzarbeiter (32) und der Kurzstreckenflieger (33). Hydrazinderivate als Treibstoffzusatz tragen möglicher-

weise dazu bei. Für die chronische Giftwirkung des Gyromitrins fehlen die Tierversuche. Diese Tatsache und die chemischen Eigenschaften des Gyromitrins zwingen uns, zu toxikologischen Parallelen zu greifen.

Die *Hydrazinderivate* sind aktuelle Forschungsobjekte. Hochinteressant sind die morphologischen und histochemischen Studien von *Toth* (34) an Goldhamstern und an Mäusen. 1,2-Dimethylhydrazin verursacht Angiosarkoma. Methylhydrazin, ein Zersetzungsprodukt des Gyromitrins, erwies sich auch als tumorerzeugend (35, 54). Die große Reduktionsfähigkeit der Hydrazinderivate können lokale Anoxia bewirken, welche eine biologische Praedisposition für die Krebsentstehung und Virulenz sein kann (36). Die freie Formylgruppe des Gyromitrins kann Eiweiße und Aminosäuren verändern (37, 38). *Druckrey* und Mitarbeiter induzierten Darmkrebs an Ratten (39). Obwohl alle toxischen Wirkungen dosisabhängig sind (40, 41), können schon sehr kleine Mengen von substituierten Hydrazinderivaten cytopathologische Effekte hervorrufen (42, 43), unabhängig von der Applikationsart (44, 45, 46). LD 50-Werte für Dimethylhydrazin sind: 30—50 mg/kg Körpergewicht an Ratten (47).

Alle analytischen und toxikologischen Studien über Hydrazinderivate erhalten eine neue Aktualität dadurch, daß fast alle Tabakpflanzen in den USA mit Maleinsäurehydrazid behandelt werden (48, 48a). Seine Anwendung als Keimungs- und Wuchshemmstoff breitet sich aus. Seine Toxizität wurde auch geprüft (49, 50, 51) und seine Pyrolyseprodukte analysiert (31). Ein weiteres Hydrazid, das Negamycin, beschäftigt Forscher auf molekularbiologischer Ebene (52).

Tyler (53) teilt das Lorchelgift zu den Protoplasma-Giften ein. Die Biochemie lehrt schon lange, daß Hydrazinderivate auch ins Nervensystem eingreifen. Es sei noch am Rande auf die Häufigkeit der Leberschädigungen durch das in der Humanmedizin eingesetzte Isoniazid hingewiesen.

Schlußfolgerung

Die Bekömmlichkeit der getrockneten Lorcheln ist fraglich, weil sie noch Gyromitrin bis zu 50 % der in Frischpilzen enthaltenen Menge aufweisen können, je nach Trocknungsart und Lagerungszeit. Die akute Vergiftungsgefahr durch diese Mengen ist mäßig bis stark reduziert, nicht aber die schleichende, additive, vermutlich praecancerogene oder cancerogene Wirkung eines substituierten Hydrazins. Gyromitrin wird gegenwärtig von einer Forschergruppe in dieser Hinsicht geprüft (34, 35 54).

Unsere Vorschläge für präventive Maßnahmen der Lebensmitteltoxikologie: Intensivierte Aufklärung der Pilzsammler über die Giftigkeit und fatale Verwechslungsmöglichkeit der Lorcheln (8, 22, 24, 27). Kommerzielle Faktoren sind zum Teil an der Aufrechterhaltung von irreführenden Bezeichnungen beteiligt. Ein Lebensmittelinspektor des Kantons Zürich fand in Restaurants Trockenlorcheln, die als «Rundmorcheln» geliefert und fakturiert wurden. Lorcheln dürfen auf keinen Fall als Morcheln in Verkehr gebracht werden. Morcheln enthalten nie Gyromitrin.

Laut Lebensmittelverordnung sind Einfuhr und Verkauf von frischen Lorcheln verboten, nicht jedoch von getrockneten. Die Kontrolle des Giftgehaltes der Trockenlorcheln sollte bei der Einfuhr geschehen. Eine Freigabe ist nur bei minimalen Gyromitringehalten und nur in Kleinpackungen von 5—10 g empfehlenswert. Diese sollten *immer* Zubereitungsvorschriften im Sinne einer weiteren Entgiftung enthalten, auch wenn damit Aromastoffe verloren gehen.

Dank

Die Autorin dankt:

Herrn Prof. Dr. *P. H. List* für das Vergleichsmuster von Gyromitrin, Herrn Prof. Dr. *J. Seibl* und Frau *L. Golgowsky,* ETH, für die Massenspektren, Herrn *K. Grob,* stud. chem., für wertvolle Ratschäge und technische Assistenz bei der Gaschromatographie, Herrn *H. P. Neukom* für die technische Assistenz bei der Aufnahme der IR-Spektren, Herrn *B. Cloetta,* Lebensmittelinspektor, für verschiedene Probenerhebungen und Herrn Dr. *E. Romann,* Kantonschemiker, Leiter des kantonalen Laboratoriums Zürich, für die Ermöglichung dieser Studie.

Zusammenfassung

Trockenlorcheln (Gyromitra esculenta sicc) wurden auf ihren Giftgehalt untersucht. Das Pilzpulver wurde kontinuierlich mit peroxidfreiem, wassergesättigtem Aether während 16 Stunden, dann mit Pentan während weiteren 8 Stunden im Soxhlet-Apparat extrahiert. Der Gehalt von 0,1—0,3 % Gyromitrin wurde dünnschichtchromatographisch ermittelt. Die Anwesenheit des Lorchelgiftes wurde mit mehreren Mikromethoden sichergesellt. Die Gaschromatographie an Glas-Dünnfilmkapillarkolonne erwies sich als die empfindlichste. Die Resultate wurden im Lichte der toxikologischen Fachliteratur diskutiert.

Résumé

Des fausses morilles séchées (Gyromitra esculenta sicc.) ont été analysées quant à leur contenu en substance vénéneuse. Les champignons pulvérisés sont extraits à l'éther exempt de peroxyde et saturé d'eau durant 16 heures, puis au pentan durant 8 heures, dans un appareil de Soxhlet. Une teneur de 0,1—0,3 % en gyromitrine a été mise en évidence par chromatographie sur couche mince. Plusieurs méthodes microchimiques ont permis de confirmer la présence de la gyromitrine; parmi elles, la chromatographie en phase gazeuse avec colonne capillaire de verre s'est montrée la plus sensible. Les résultats sont discutés à la lumière des données toxicologiques publiées dans la bibliographie.

Summary

Dried false morels (Gyromitra esculenta sicc.) were examined for their poison content. The mushroom powder was extracted with ether, peroxidefree and water-saturated, for 16 hours, then with pentane for 8 hours continuously in a Soxhlet apparatus. The content of 0,1—0,3 % gyromitrin was detected by thin layer chromatography. The identification of the poison gyromitrin was done by microanalytical multidetermination. The most sensitive method turned out to be gaschromatography on glass-capillary colums. The results are discussed with respect to the toxicological literature.

Literatur

1. Schweizerisches Lebensmittelbuch, Kapitel 26 B: Trockenpilze. 5. Auflage, Band **2**, S. 18—19. Eidg. Drucksachen- und Materialzentrale, Bern 1970.
2. Deut. Lebensm. Rundschau, Gesetze, Verordnungen **70**, 154—156 (1974).
3. *Jonquière, G., Studer, B., Demme, R.* und *Berlinerblau, J.:* Vergiftung durch die Speiselorchel (Helvella esculenta). Mitt. naturforsch. Ges. Bern 102—134 (1888).
4. *Reif, G.:* Eine neuartige Reaktion der Lorchel. Z. Unters. Lebensm. **69**, 585—586 (1935).
5. *Reif, G.:* Reaktionen der Lorchel. Z. Unters. Lebensm. **76**, 30—36 (1938).
6. *Franke, S., Freimuth, U.* und *List, P. H.:* Ueber die Giftigkeit der Frühjahrslorchel, Gyromitra (Helvella) esculenta Fr. Arch. Toxikol. **22**, 293—332 (1967).
7. *List, P. H.* und *Luft, P.:* Gyromitrin, das Gift der Frühjahrslorchel, Gyromitra (Helvella) esculenta Fr. Tetrahedron Letters **20**, 1893—1894 (1967).
8. *List, P. H.* und *Luft, P.:* Gyromitrin, das Gift der Frühjahrslorchel. Arch. Pharm. **301**, 294—305 (1968).
9. *Gál, S.:* Die Gefriertrocknung in der Lebensmittelindustrie. Chimia **27**, 591—595 (1973).
10. *List, P. H.* und *Luft, P.:* Nachweis und Gehaltsbestimmung von Gyromitrin in frischen Lorcheln. Arch. Pharm. **302**, 143—146 (1969).
11. *Schmidlin-Mészáros, J.:* Probleme im Gebiet der Lebensmittelzusatzstoffe: Ermittlung des p-Hydroxyphenylbutanon-(3), des Himbeerketons. Alimenta **10**, 39—48 (1971).
12. *Feigl, F.:* Spot tests in organic analysis. Elsevier, Amsterdam, London 1966.
13. *Schmidlin-Mészáros, J.:* Erfahrungen mit der Papierchromatographie bei toxikologischen Untersuchungen. Chimia **12**, 255—261 (1958).
14. *Anger, V.* und *Ofri, S.:* Glutaconaldehyd als Tüpfelreagens. Farbreaktionen mit Hydrazin und dessen Derivaten. Microchim. Acta, 626—630 (1964) und 2. Mitt. Nachweis von sec. Aryl und Vinylaminen und von Indolderivaten. Ebenda 770—773.
15. *Farmilo, Ch. C.* and *Genest, K.:* Alkaloids and related bases identification. Tab. 57 p. 514 in Buch *Stewart, P. C.* und *Stolman A.:* Toxicology, Mechanism and Analytical Methods. Vol. 2. Academic Press, New York 1961.
16. *Anger, V.* und *Fischer, G.:* Eine neue Tüpfelreaktion auf Aldehyde. Microchim. Acta 592—596 (1960).
17. *Humbel, R.:* An improved method for the estimation of urinary 5-hydroxy-indoleacetic acid and its application to diagnosis of carcinoidosis. Clin. Chim. Acta. **43**, 453—455 (1973).
18. *Sellmann, D.:* Diimin und seine Derivate. Chemie in unserer Zeit. **7** 163—170 (1973).
19. *Seibl, J.:* Massenspektrometrie. Akademische Verlagsgesellschaft, Frankfurt a. M. 1970.

20. *Schmidlin-Mészáros, J.* und *Romann, E.*: Eine accidentelle Vergiftung von Kühen mit Endosulfan (Thiodan). Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. **62**, 110—122 (1971).
21. *Alder, A. E.:* Die Pilzvergiftungen in der Schweiz während 40 Jahren. Schweiz. Pilzkunde **38**, 65—73 (1960).
22. *Möschlin, S.:* Klinik und Therapie der Vergiftungen, 4. Aufl. S. 630. Georg Thieme, Stuttgart 1964.
23. *Beani, L., Pepeu, G.* und *Mannaioni, P. F.:* Bericht über die Tätigkeit der toxikologischen Klinik der Universität Florenz während der Jahre 1956—1958. Arch. Toxikol. **18**, 300—315 (1960).
24. *Faure, J., Beaudoing, A.* et *Cau, G.:* A propos d'une intoxication mortelle par les fausses morilles (Gyromitra esculenta). Bull. méd. lég. tox. Méd. **8**, 83—85 (1965).
25. *Melendro, J. C.:* Vergiftung mit Helvella esculenta. Med. Clin. (Barcelona) **29**, 88 (1967).
26. *Melendro, J. C.* und *Granados, P. S.:* Vergiftungen mit Helvella esculenta. Med. Clin. (Barcelona) **29**, 296 (1957).
27. *Stuhlfauth, K.* und *Jung, F.:* Vergiftung mit Lorcheln (Helvella esculenta). Führer-Wielands Sammlung von Vergiftungsfällen. Arch. Toxikol. **14**, 86—92 (1952/54).
28. *Breuer, E.* und *Stahler, O.:* Hämolytischer Ikterus bei Lorchelvergiftung. Med. Welt. 1013—1018 (1966).
29. *Seeger, R.* und *Wiedmann, R.:* Zum Vorkommen von Haemolysininen und Agglutininen in höheren Pilzen (Basidiomyceten). Arch. Toxikol. **29**, 189—217 (1972).
30. *Seeger, R., Scharrer, H.* und *Haupt, M.:* Phallolysin, ein hochmolekulares Toxin aus Amanita Phalloides. Experientia **29**, 829 (1973).
31. *Harke, H. P., Schüller, D.* und *Drews, C. J.:* Pyrolyse von Maleinsäurehydrazid und Hydrazin. Z. Lebensm. Unters. -Forsch. **153**, 163—169 (1973).
32. *Bringhurst, L. S., Birne, R. N.* and *Gershon-Cohen, J.:* Respiratory disease of mushroom workers. J.A.M.A. **171**, 15—18 (1959).
33. *Chan-Yeung, M., Grzybowsky, S.* and *Schonell, M. E.:* Mushroom worker's lung. Am. Rev. Resp. Disease **105**, 819—822 (1972).
34. *Thoth, B.:* Morphological studies of angiosarcomas induced by 1,2-Dimethylhydrazine dihydrochloride in Syrian Golden Hamsters. Cancer Research **32**, 2818—2827 (1972).
35. *Thoth, B.* and *Hidesuke, Shimizu:* Methylhydrazine tumorigenesis in Syrian Golden Hamsters and the morphology of malignant histiocytomas. Cancer Research **33**, 2744—2753 (1973).
36. *Schmidlin, J., Lawrence, J. H., Sillesen, K., Welch, G.* and *Lyman, J.:* Effect of heavy particles on the proliferative capacity of ascites tumor cells (Lymphoma) grown *in vivo*. Semi ann. Rep. Biol. Med. Donner Lab. Lawrence Rad. Lab. UCRL-11833 Fall 1964, p. 80—94.
37. *Läuppi, E.* und *Schmidlin-Mészáros, J.:* Studie über Veränderungen von Eiweißkörpern und Aminosäuren im menschlichen Serum durch Formaldehyd. Bull. schweiz. Akad. Med. Wiss. **12**, 261—264 (1956).
38. *Läuppi, E.* und *Schmidlin-Mészáros, J.:* Papierelekrophoretische und papierchromatographische Untersuchungen über das Verhalten der Eiweißstoffe und Aminosäuren im Serum und Leber bei der akuten Methanolvergiftung (Experimente an Ratten). Bull. schweiz. Akad. Med. Wiss. **12**, 265—272 (1956).
39. *Druckrey, H., Preussmann, R., Matzkies, F.* und *Ivanovic, S.:* Erzeugung von Darmkrebs bei Ratten durch 1,2-Dimethylhydrazin. Naturwissenschaften **54**, 385—386 (1967).

40. *Springer, P., Springer, J.* und *Oehlert, W.:* Die Vorstufen des 1,2-Dimethylhydrazin-induzierten Dick- und Dünndarmcarcinoms der Ratte. Z. Krebsforsch. **71**, 236—240 (1970).
41. *Frohberg, H.* and *Schulze-Schenking, M.:* Recent findings concerning dose response relationschip in mutagenicity of chemicals. Arch. Toxicol **32**, 1—17 (1974).
42. *Simpson, Ch. F.* and *Barrow, M. V.:* Toxicity of a substituted hydrazine for turkeys. Arch. Environ. Health. **25**, 349—353 (1972).
43. *Petersen, P., Bredahl, E., Lauritsen, D.* and *Laursen, T.:* Examination of the liver in personnel working with liquid rocket propellant. Brit. J. Ind. Med. **27**, 141—146 (1970).
44. *Comstock, Ch. C., Lawson, L. H., Greene, E. A.* and *Oberst, F. W.:* Inhalation toxicity of hydrazine vapor. Arch. Ind. Hyg. Occupational Med. **10**, 476—490 (1954).
45. *Roe, F. J. C., Grant, G. A.* and *Millican, D. M.:* Carcinogenicity of hydrazine and 1,1-Dimethylhydrazine for mouse lung. Nature **216**, 375—376 (1967).
46. *Smith, E. B.* and *Clark. D. A.:* Absorption of Hydrazine through canine skin. Toxicol. Appl. Pharmacol. **21**, 186—193 (1972).
47. *Cornish, H. H.* and *Hartung, R.:* The subacute toxicity of 1,1-Dimethylhydrazine. Toxicol. Appl. Pharmacol. **15**, 62—68 (1969).
48. *Yu-Ying Liu* and *Hoffmann, D.:* Quantitative chromatographic determination of maleic hydrazide in cigarette smoke. Anal. Chem. **45**, 2270—2273 (1973).
48a. *Yu-Ying, Liu, Schmeltz, I.* and *Hoffmann, D.:* Chemical studies on tobacco smoke. Anal. Chem. **46**, 885—889 (1974).
49. *Gleason, M. N., Gosselin, R. C., Hodge, H. C.* and *Smith, H. P.:* Clinical toxicology of commercial products, 3. Edit. Williams & Wikins Co., Baltimore, 1969.
50. *Uniroyal Chemical* Naugatuck/Conn. USA: Broshure.
51. *Epstein, S.* and *Mantel, N.:* Hepatocarcinogenicity of the herbicide maleic hydrazide following parenteral administration to infant Swiss mice. Intern. J. Cancer **3**, 325—335 (1968).
52. *Yoshimasa, Uehara, Shinichi, Kondo, Hamao, Umezawa, Kayoko, Suzukake* and *Makoto, Hori:* Negamycin, a miscoding antibiotic with a unique structure. J. Antibiotics **25**, 685—688 (1972).
53. *Tyler, V. E. Jr.:* Poisonous mushrooms, in *Stolman, A.:* Progress in chemical toxicology, Vol. 1. Academic Press, New York, London 1963.
54. *Toth, B.:* Prof. Dr., Eppley Inst. for Research in Cancer, Omaha, Nebraska USA: Persönliche Mitteilung.

Dr. Jolanda Schmidlin-Mészáros
wissenschaftliche Mitarbeiterin
Kantonales Laboratorium
Fehrenstraße 15
CH-8030 Zürich