

INDOL ALS HAUPTKOMPONENTE DES GERUCHES EINIGER TRICHOLOMA—ARTEN UND VON LEPIOTA BUCKNALLII.

Von O. Hilber.

Der Geruch eines Pilzes wird oft zur Unterscheidung von Pilzarten verwendet. Doch ist die Geruchsbezeichnung unter den Bestimmern ebenso verschieden wie die Charakterisierung von Farben. Ein Fischgeruch wird von anderen als tranartig, ein Mehlgeruch als Gurkengeruch definiert: Als Beispiel diene *Inocybe bongardii* (Weinm.) Quel., bei der die einen behaupten, sie habe Obstgeruch, andere diesen Geruch als äußerst unangenehm bezeichnen.

Welche Substanz für den Geruch verantwortlich ist, wurde bis jetzt nur bei wenigen Pilzen untersucht, wie etwa beim Heringstäubling, dessen Fischgeruch von Trimethylamin herrührt, oder bei der Stinkmorchel, deren Geruch sich hauptsächlich aus Di- und Trimethylamin zusammensetzt.

Unbekannt war bisher die chemische Natur des leuchtgasähnlichen Geruches von *Tricholoma bufonium* (Pers. ex Fr.) Gill., *Tr. inamoenum* (Fr.) Quel., *Tr. lascivum* (Fr.) Gill., *Tr. sulphureum* (Bull. ex Fr.) Kummer wie von *Lepiota bucknallii* (Bk. & Br.) Sacc.

Die vorliegende Arbeit galt der Identifizierung der Geruchskomponenten bei den genannten Arten.

METHODIK:

Die gesammelten Fruchtkörper der entsprechenden Arten wurden zerkleinert. Das zerkleinerte Material wurde mit Essigsäureäthylester extrahiert, weil sich Indolsubstanzen in diesem sehr leicht lösen. Da es sich, wie sich später herausstellte, bei dem Geruchsstoff um sehr flüchtige Substanzen handelt, sollte die Extraktion so bald als möglich nach dem Sammeln der betreffenden Pilze erfolgen.

Um feststellen zu können, welcher Teil des Fruchtkörpers hauptsächlich die Geruchsstoffe enthält, wurden Huttrama, Lamellen und Stiel getrennt aufgearbeitet und extrahiert.

Der Extrakt wurde hauptsächlich der aufsteigenden wie der absteigenden Papierchromatographie unterworfen, wobei in der Regel 120 μ l aufgetragen wurden. Als Laufmittel diente Isopropylalkohol-Ammoniak-Wasser im Verhältnis 10:1:1.

Auch der Dünnschichtchromatographie auf Kieselgelplatten bediente ich mich. Hierbei wurde eine Extraktmenge zwischen 20 und 60 μ l aufgetragen. Als Laufmittel verwendete ich Hexan-Butanon im Verhältnis 35:65 und Chloroform-Essigsäure im Verhältnis 95:5.

Um Indolverbindungen sichtbar zu machen, wurden die Chromatogramme mit dem Ehrlichreagens (2g p-Dimethylaminobenzaldehyd in 100cm³ 1,2n HCl), dem Nitrosereagens (1g KNO₂ in 20cm³ HNO₃ + 80ml CH₃CH₂OH) oder dem Salkowsky-Reagens (100ml 5% HClO₄ + 2ml 0,05mFeCl₃ + gleiches Volumen CH₃CH₂OH) besprüht. Alle 3 Reagentien sind sehr spezifisch für den Nachweis von Indolkörpern.

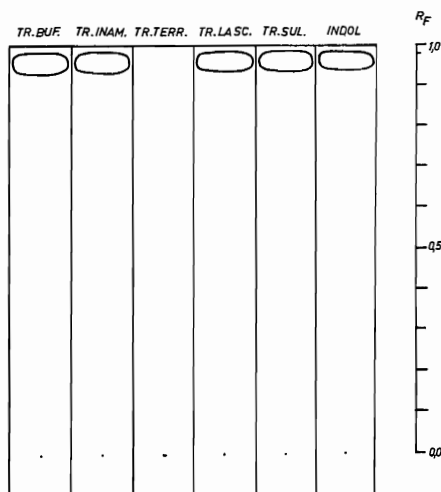


Abb. 1: Papierchromatographischer Nachweis von Indol bei *Tricholoma bufonium*, *inamoenum*, *lascivum*, *sulphureum* (Fehlen bei *Trich. terreum*).

Ergebnisse:

Bei allen genannten Arten war bei einem R_f von 0,96–0,98, selten bis 1,00 mit Ehrlichs-Reagens ein lila Fleck zu beobachten. (Abb. 1). Dieser Fleck fehlt bei anderen Tricholomaarten, so u.a. bei *Tr. aurantium* (Schff. ex Fr.) Ricken, *imbricatum* (Fr. ex Fr.) Kummer, *psammopus* (Kalchbr.) Quel. *terreum* (Schff. ex Fr.) Kummer und *vaccinum* (Pers. ex Fr.) Kummer.

Mit dem Nitrosereagens und dem Salkowsky-Reagens wurde bei gleichem R_f ein roter bzw. ein orangeroter Fleck entwickelt.

Läßt man synthetisches Indol auf dem Chromatogramm mitlaufen, so sieht man an Hand des gleichen R_f und an den gleichen Farbreaktionen mit den 3 Reagentien, daß es sich bei dem Geruchsstoff hauptsächlich um Indol handeln muß.

Ein weiterer Beweis für den Indolcharakter dieser Verbindung konnte wie folgt erbracht werden: Trägt man etwa 2 ml eines "sulphureum"-Extraktes auf einen Bogen auf, chromatographiert und eluiert dann diese Substanz bei einem R_f von 0,96–0,98 mit Essigsäureäthylester, so weist die erhaltene kristalline Substanz einen feinaromatischen Duft auf - wie reines Indol - das bei niederen Konzentrationen einen blütenartigen Duft haben sollte.

Bei *Tricholoma lascivum* wie bei einigen Stämmen von *Tricholoma inamoenum* und *sulphureum* ging der Fleck bei dem R_f von 0,96–0,98 eher in das Violette, was von einem darunterliegenden blauen Fleck mit ziemlich gleichem R_f -Wert herrührte. (Abb. 2).

Bei dieser Substanz konnte ich mittels gleichen R_f -Wertes und gleichen Farbreaktionen, nämlich blau mit Ehrlichs, gelb mit dem Nitrose- und rotbraun mit dem Salkowsky-Reagens, eine Identität mit mitgelaufenem synthetischem Skatol feststellen.

Bei einigen Stämmen von *Tr. inamoenum* und *Tr. sulphureum* wurde bei einem R_f von 0,75 ein weiteres Indolderivat entdeckt, das sich mit Ehrlichs-Reagens himmelblau färbt. Hierbei dürfte es sich um eine Indolhydroxycarbonsäure handeln, die sich nicht für den Geruch verantwortlich zeigt.

Mittels Dünnschichtchromatographie versuchte ich ein deutlicheres Ergebnis zu bekommen:

Frischmaterial von *Tr. inamoenum* auf diese Weise chromatographiert, ergab bei dem Laufmittel Chloroform-Essigsäure (95:5) mit Ehrlichs-Reagens 2 Flecken, nämlich einen rosalila Fleck bei einem R_f von 0,90–0,92 und einen blauvioletten Fleck bei einem R_f von 0,85. Die gleichen Flecken erhielt ich bei einigen Stämmen von *Tr. bufonium* und *sulphureum*, andere wiesen, wie auch *Lepiota bucknallii* wiederum nur den rosalila Fleck bei dem R_f von 0,90 bis 0,92 auf. Dieser konnte an Hand gleichen R_f Wertes und gleicher Farbreaktionen eindeutig als Indol identifiziert werden.

Bei *Tr. lascivum* hingegen sind in dem durch Papierchromatographie erhaltenen violettblauen Fleck 6–7 Komponenten enthalten, nämlich 2 durch Ehrlichs-Reagens blauviolette Doppelflecke bei einem R_f von 0,72/0,74 bzw. 0,82/0,85, außerdem ein Indolfleck bei einem R_f von 0,92, ein grünblauer Skatolfleck bei 0,98 und ein lila 2-Methylindol-Fleck bei 0,96–0,97. (Abb. 3).

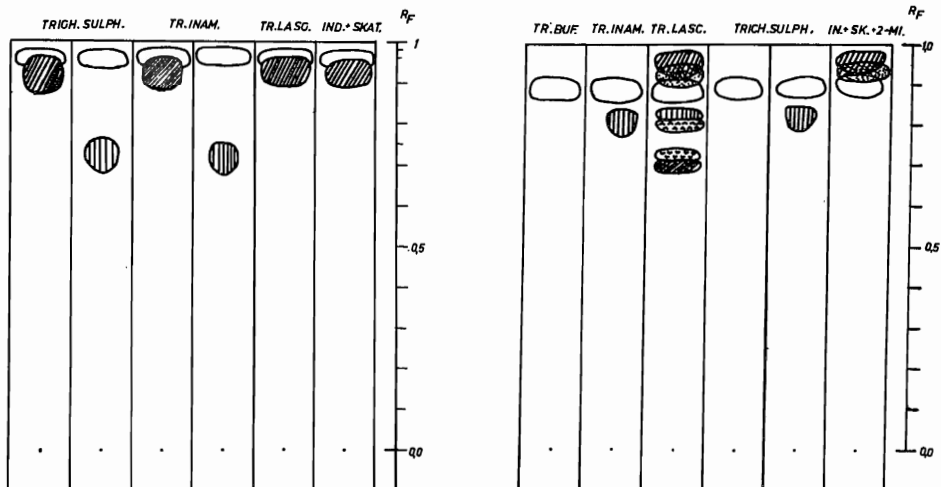
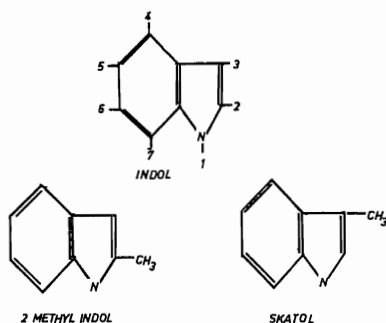


Abb. 2: Papierchromatographischer Nachweis von Indol und Skatol (schräg schraffiert) und einer unbekanntem Indolverbindung (Indolhydroxycarbonsäure) bei einigen Stämmen von *Trich. sulphureum*, *inamoenum* und *lascivum*.

Abb. 3: Nachweis von Indol, Skatol und 2-Methylindol mittels Kieselgel-Dünnschichtchromatographie bei 4 Tricholomaarten (2-Methylindol punktiert, Skatol schräg schraffiert, übrige unbekannt).



Kurz sei auf die chemische Natur der drei letzten Substanzen eingegangen: (Abb. 4).

Die Grundstruktur aller 3 weist einen Pyrrolring auf, der mit einem Benzolring verknüpft ist. Dabei ist beim 2-Methylindol der Wasserstoff des der Iminogruppe benachbarten Kohlenstoffatoms, beim Skatol der Wasserstoff des 3-er Kohlenstoffatoms durch eine Methylgruppe ersetzt.

Leider stand mir bei *Tr. lascivum* kein Extrakt von Frischmaterial für die Dünnschichtchromatographie zur Verfügung, so daß ich eher vermute, daß es sich bei den zahlreichen Flecken um Indolderivate handelt, wie sie auch in alten Fruchtkörpern als Folge des Proteinabbaues zu den einzelnen Amino-

säuren und nachfolgender Desaminierung vorkommen dürften. U.a. konnte ich an Frischmaterial nachweisen, daß der Skatolgehalt mit dem Alter der Fruchtkörper zunimmt.

Wie verteilt sich der Gehalt an Indol auf Huttrama, Lamellen und Stiel? Am wenigsten Indol, bzw. gar keines enthält der Stiel, am meisten aber die Lamellen.

Welche Bedeutung dürfte dem Indol- bzw. Skatolgeruch bei den genannten *Tricholoma*arten zukommen?

Bei höheren Pflanzen finden wir Indol als Bestandteil ätherischer Öle so unter anderem bei Robinie, Linde und bei Citrusarten.

Skatol wiederum gibt dem im Dienst der Anlockung von Insekten stehenden Geruch der sogenannten Kot- und Aasblumen das Gepräge, zu denen besonders die Blüten der Stapelien und von *Aristolochia*arten, sowie die Infloreszenzen vieler *Araceen* gehören.

Man kann daher vermuten, daß Indol und Skatol auch bei den 4 geschilderten *Tricholoma*arten, wie bei *Lepiota bucknallii* gewisse Insekten anlocken, die mit Vorliebe diese Pilze fressen und so für eine unfreiwillige Verbreitung der Arten sorgen.

Zusammenfassung:

Tricholoma bufonium, *inamoenum*, *lascivum*, *sulphureum* (auch gewisse Stämme von *Tricholoma orirubens* weisen den leuchtgasähnlichen Geruch auf, doch wurde bei dieser Art noch kein Indoltest durchgeführt), wie *Lepiota bucknallii* enthalten Indol. Dies konnte mittels Papier- und Dünnschichtchromatographie und mit den Farbreaktionen mittels verschiedener Reagentien nachgewiesen werden.

Der Skatolgehalt scheint bei jungen Exemplaren stammspezifisch zu sein, mit zunehmendem Alter der Pilze findet sich Skatol bei allen untersuchten Stämmen.

Am meisten Indol enthalten die Lamellen, am wenigsten findet sich im Stiel.

Indol und Skatol dürften auch bei diesen Pilzen als Lockstoff für gewisse Insekten dienen und so für die Verbreitung sorgen.

Herrn Univ. Prof. Dr. Meinhard Moser gilt für seine wertvollen Anregungen mein aufrichtiger Dank.

Literatur

Caldewey, H., (1967) in Stahl, Dünnschichtchromatographie. Springer-Verlag, Berlin—Göttingen—Heidelberg.

Sen, S.P., (1959) in Linskens, Papierchromatographie in der Botanik. S. 248—81. Springer Verlag.

Troll, W., (1959) Allgemeine Botanik. F. Enke Verlag.