

## Originalarbeiten

### Chemische und toxikologische Untersuchungen über Mutterkorn in Mehl und Brot

J. Wolff<sup>1)</sup>, Ch. Neudecker<sup>2)</sup>, Ch. Klug<sup>3)</sup> und R. Weber<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup> Bundesforschungsanstalt für Getreide- und Kartoffelverarbeitung, Detmold

<sup>2)</sup> Bundesforschungsanstalt für Ernährung, Karlsruhe

<sup>3)</sup> Institut für Lebensmittelchemie der Technischen Universität Berlin, seit 1985 Abt. Lebensmitteltechnik der Hoechst AG, Frankfurt

<sup>4)</sup> Max-von-Pettenkofer-Institut des Bundesgesundheitsamtes, Berlin

**Zusammenfassung:** Durch den Backprozeß tritt eine Verminderung des Gesamtalkaloidgehaltes um ca. 50 % ein, wobei die pharmakologisch wirksame „-in-Form“ stärker reduziert wird als die „-inin-Form“ der Alkaloide. Die berechneten Gesamtalkaloidmengen aus den HPLC-Chromatogrammen als Ergotamin und Ergokryptin zeigen eine gute Übereinstimmung mit dem aufgrund von 13 Einzelalkaloiden ermittelten Gesamtgehalt. Die Änderungen des Alkaloidspektrums durch das Pelletieren werden aufgezeigt.

In Fütterungsversuchen wurden Diäten mit 0 %, 1 % und 2 % unverbackenem (MM) oder zu Brot verbackenem (MB) Mutterkorn an wachsenden, trächtigen und laktierenden Mäusen hinsichtlich reproduktionstoxischer Effekte geprüft und mit ad libitum oder paargefütterten Kontrolltieren verglichen. Im Bereich einer maternaltoxischen Ergotalkaloid-Aufnahme von durchschnittlich 3,6 mg/kg Körpergewicht/Tag (MM 2 %) wurde die Konzeptions- und Implantationsrate gehemmt. Während der Trächtigkeit aufgenommene Mengen von 1,3 bzw. 1,6 mg/kg KG/Tag (MM 1 %) und MB 2 %) ergaben keine eindeutigen embryo- und fetotoxischen Effekte, verlängerten aber die Gestationsdauer um ca. 10 Stunden. In der Laktation aufgenommene Konzentrationen von 2,9 und 3,0 mg/kg KG/Tag (MM 1 % bzw. MB 2 %) führten zu einer deutlichen Wachstumsdepression (bis zu 50 %) bei den Jungtieren im Vergleich zu den ad libitum gefütterten Kontrolltieren. Sowohl die Bestimmung der Gesamtalkaloidgehalte als auch die Ergebnisse des Tierversuches weisen auf eine Reduzierung und damit Detoxifizierung der Mutterkornalkaloide auf ca. 40–50 % des Ausgangsmaterials bei der Brotherstellung hin.

**Summary:** During the bread-baking process, total alkaloid content is reduced by about 50 %, the pharmacologically active alkaloids (the ‘-in’ types) being reduced to a much greater extent than the less active type (‘-inin’ type). Using ergotamin and ergokryptin as a basis, total alkaloid levels were calculated from the HPLC data; these results were in a good agreement with the total alkaloid content calculated from 13 individual ergot alkaloids. The changes in the alkaloid spectrum caused by pelletin are shown.

In feeding experiments with growing, pregnant, and lactating mice, diets with 0 %, 1 % and 2 % unbaked (MM) or baked (MB) rye ergot were compared for possible toxic effects on reproduction, using animals fed ad libitum or pair-fed controls. A mean ingestion of 3.6 mg of alkaloids/kg body weight per day (MM 2 %) was

maternally toxic and caused inhibition of conception and implantation. Feeding with 1.3 or 1.6 mg of alkaloids/kg body weight per day (MM 1 % and MB 2 %) during pregnancy had no significant toxic effect on the embryo or fetus, but resulted in gestation time being prolonged to about 10 h. During lactation, an intake of 2.9 and 3.0 mg of alkaloids/kg body weight per day (MM 1 % and MB 2 %) led to a considerable reduction in growth (up to 50 %) in the young mice compared to the control animals fed ad libitum.

Both the determination of total ergot alkaloid content and the feeding experiment indicate that the bread-baking process causes a reduction and consequently a detoxification of ergot alkaloids of about 50 %.

**Schlüsselwörter:** Mutterkorn, Backprozeß, Toxizität, Alkaloide

**Key words:** ergot alkaloids; bread-baking process; toxic effects on reproduction

## 1 Einleitung

Der Schlauchpilz *Claviceps purpurea* befällt neben einer Vielzahl von Wildgräsern (32) vornehmlich Roggen, aber auch Weizen, Triticale, Gerste, Hafer, Hirse und Mais. Das verfestigte Myzel – das sogenannte Sklerotium – wird überwiegend als Mutterkorn (2, 32) bezeichnet. Die Sklerotien weisen zahlreiche, z. T. pharmakologisch hochwirksame Alkaloide auf; Gehalte und Zusammensetzung sind sehr variabel (5, 27, 38, 39, 40).

Analytisch sind mit modernen Methoden Mutterkornalkaloide im einzelnen qualitativ und quantitativ erfaßt (15, 33, 36), doch ist eine Abschätzung des ursprünglich im Getreide vorhandenen prozentualen Mutterkorngehaltes damit allein nicht möglich. Bei fehlender Reinigung des Getreides kann es zu schweren Vergiftungen kommen. So erkrankten in Frankreich 1951 mehr als 200 Menschen (9); in Äthiopien wurden 1977 93 Vergiftungsfälle registriert, von denen 47 tödlich verliefen (6), und in der Bundesrepublik Deutschland wurde 1985 eine chronische Mutterkornvergiftung bekannt (25). Die Wirkungen von frischem, unverbackenem Mutterkorn und von einzelnen Alkaloiden sind in zahlreichen Tierversuchen nachgewiesen (12, 20, 21, 37, 41). Bei der Vermahlung von mutterkornhaltigem Getreide wird der Alkaloidgehalt in Abhängigkeit vom Ausmahlungsgrad reduziert (34); eine weitere Verminderung tritt durch den Backprozeß ein (3, 29, 35), wobei aber nicht auf eine entsprechende Minderung der Giftigkeit geschlossen werden kann (24). Die Auswirkungen durch den Verzehr alkaloidhaltigen Brotes im Verhältnis zu unverbackenem mutterkornhaltigem Mehl und eine analytische Methode zur Abschätzung des Gesamtalkaloidgehaltes sind Gegenstand dieser Arbeit.

## 2 Vorkommen, Gehalte

Mutterkorn tritt immer wieder im Getreide auf, wobei das Auftreten von den Witterungsbedingungen, der Fruchtfolge, den Kulturmaßnahmen (Tiefe des Pflugs, Behandlung der Randstreifen) und der Bestände an als Zwischenwirte dienenden Ungräsern in der Nachbarschaft abhängig ist (13, 31, 32).

So wurde über einen Befall von 0,4 bis über 1,7 % in einzelnen Regionen Hessens 1985 berichtet (13). Die Ausbildung der Sklerotien hängt nicht

nur von der Spezies des Pilzes ab, sondern auch von der Getreideart, auf der sie gebildet werden. Während das Mutterkorn, das auf Roggen entstanden ist, relativ lang und groß wird (Verhältnis Länge:Durchmesser =  $<4$ ), weisen Sklerotien von Dinkel, Triticale, Weizen und Durum eine gedrungene Form auf (=  $>4$ ). Wenn die Sklerotien in bezug auf Gewicht und Größe den Getreidekörnern sehr ähnlich sind, ist eine Reinigung über Siebe unbefriedigend und nur noch über Tischausleser möglich, was mit einem höheren Arbeits- und Kostenaufwand verbunden ist (13).

### 3 Toxizität Mensch – Tier

Akute Vergiftungen mit Mutterkorn äußern sich in Übelkeit, Kopfschmerzen, Krämpfen, Parästhesien und unter Umständen in Gangrän an Teilen der Extremitäten. Bei der chronischen Vergiftung unterscheidet man zwei Verlaufsformen: den Ergotismus gangraenosus und den Ergotismus convulsivus. Bei der gangränösen Form kommt es zu Gefäßspasmen und Nekrosen, im Endstadium sogar zum Abstoßen einzelner Glieder (Zehen, Finger). Konvulsiver Ergotismus äußert sich durch Kopfschmerzen, Übelkeit, Krämpfe und Psychosen (19, 27).

Erste Krankheitssymptome bei Menschen können bei der Ingestion von Getreideprodukten auftreten, die mit 1 % Mutterkorn kontaminiert sind. Anteile von 7 % Mutterkorn können tödliche Folgen haben (20). Bei der Aufnahme von 5–10 g frischen Mutterkorns muß mit dem Tode gerechnet werden (8).

Auch beim Tier sind zahlreiche pharmakologische und toxische Wirkungen durch Mutterkornalkaloide beschrieben worden (12, 20, 21, 41). Die meisten der im Tierversuch festgestellten Effekte treten auch beim Menschen auf (27).

Bisher fehlen aber vollständige Informationen über Bioverfügbarkeit, Resorption, Verteilung, Stoffwechsel und Ausscheidung der Ergotalkaloide, im wesentlichen wegen ihrer komplexen Chemie, ihrer hohen Wirkung auf das zentrale Nervensystem und den Blutkreislauf (4).

Unerwünschte Effekte bei der Tierernährung wurden bereits bei 0,1 % Mutterkorn (Gesamtalkaloidgehalt des Mutterkorns: 0,29 %) im Gesamtfutter bei wachsenden Schweinen festgestellt (7). Verminderte Futteraufnahme und reduziertes Wachstum sind häufig die ersten Anzeichen einer Vergiftung, gefolgt von Beeinträchtigungen des allgemeinen Befindens und des Gesundheitszustandes, wobei Tierart, Fütterungsdauer, Zusammensetzung der Alkaloide und ihre Einzelkonzentrationen eine gewisse Rolle spielen.

In fast allen Fällen besteht die Hauptwirkung der Ergotalkaloide in einer Ischämie im Organismus, die bei verschiedenen Tierarten zu Gangrän und Reproduktionsstörungen führen kann. Eine Verminderung der Milchproduktion (Hypogalaktie) während der Laktation wurde bei Verfütterung von Mutterkorn bei Schafen, Kühen, Schweinen, Ratten und Mäusen, aber nicht bei Meerschweinchen festgestellt (12, 37).

Die verschiedenen Mutterkornalkaloide wirken auch unterschiedlich embryo- und fetotoxisch, zeigen aber weder teratogene noch mutagene Eigenschaften (12, 22, 27).

#### 4 Alkaloidverluste durch Be- und Verarbeitung

Ein vermehrtes Vorkommen von Mutterkorn im Getreide und damit eine mögliche Gesundheitsgefährdung durch nahrungsmittelbedingten Ergotismus ist vor allem für Verbraucher relevant, die „naturbelassenes“, ungereinigtes Getreide in Form von Grütze, Müsli oder selbstgebackenem Brot konsumieren (2, 24, 25, 28, 30).

Mit der Reduzierung des Alkaloidgehaltes bei der Verarbeitung von Brotgetreide, insbesondere durch das Backen, haben sich nur wenige Arbeiten beschäftigt.

Im Backversuch wurden, je nach Alkaloid, unterschiedliche Alkaloidverluste festgestellt. Scott und Lawrence (29) ermittelten eine Reduzierung beim Weizenbrot bis zu 100 % und beim Roggenbrot bis zu 85 %. Wolff und Ocker (35) fanden Ergometrinverluste von 45–60 %. Baumann und Mitarbeiter (3) stellten bei der Roggenbrotherstellung Verluste an Einzelalkaloiden zwischen 20 und 74 % fest. Durch Hitzebehandlung intakter Mutterkornsklerotien von Weizen bei 150–200 °C konnte innerhalb einiger Stunden eine temperaturabhängige Abnahme des Gesamtalkaloidgehaltes um 90 % erreicht werden (42).

Für 30 min bei 121 °C autoklavierte, vermahlene Sklerotien ergaben einen Alkaloidverlust von 24,6 %. Eine anschließende Prüfung im Hühner-Wachstumstest zeigte eine dem Alkaloidverlust direkt proportionale, verbesserte Futteraufnahme und Gewichtszunahme sowie einen verbesserten Futteraufwandindex (42).

Da entsprechende Fütterungsversuche an anderen Tierarten nicht bekannt sind, bleibt die Frage offen, ob die Ergotalkaloide durch das Backen eine im Tierversuch nachweisbare Detoxifizierung erfahren.

#### 5 Material

##### 5.1 Mutterkorn und Diäten

Das Mutterkorn stammte von der Roggenernte 1984 aus einem Anbaugbiet im Kraichgau (Süddeutschland). Es wurde von einer Mühle bezogen, die das Mutterkorn vom Roggen durch müllereitechnische Reinigungsverfahren getrennt hatte. Aus 60 kg mutterkornhaltigem Roggen wurden 1,8 kg Mutterkorn handverlesen und bis zur weiteren Verarbeitung für 2 Monate bei +4 °C im Dunkeln gelagert.

##### Diäten

Das Mutterkorn (1410 g) wurde fein gemahlen, in einem Wirbelstrommischer (Fa. Lüdige, 4790 Paderborn) mit Roggenmehl der Type 1150 (14 kg) zu einer Mehlausgangprobe mit 10 % Mutterkornanteil homogen verteilt. Die mutterkornfreien und mutterkornhaltigen Mehle wurden je zur Hälfte zu salzfreien Broten verbacken. Die Backzeit betrug 60 min bei 250/210 °C. Die Brote wurden erst in Scheiben, dann in Würfel geschnitten, gefriergetrocknet und mit einer wassergekühlten Mühle (Ika-Mühle M20) vermahlen, gemischt und mit einer modifizierten semisynthetischen Diät (C 1000, Altromin, 4937 Lage) vom Hersteller in einem schonenden Pelletierverfahren

Tab. 1. Zusammensetzung der Diäten (%) Mutterkorn unverbacken (MM) oder mit 10 % Mutterkornanteil im Mehl zu Brot verbacken (MB).

Diäten		Kontrolle	Mutterkorn			
			MM 1 %	2 %	MB 1 %	2 %
Basisdiät C 1000 <sup>1)</sup> , modifiziert	(%)	60	60	60	60	60
Roggenmehl	(%)	20	10	—	20	20
Roggenmehl + 10 % Mutterkorn	(%)	—	10	20	—	—
Roggenbrot	(%)	20	20	20	10	—
Roggenbrot mit 10 % Mutterkorn	(%)	—	—	—	10	20

<sup>1)</sup> C 1000 (Altromin) mit 22 % Casein, 13 % Maisstärke, 10 % Saccharose, 3 % Sojaöl (raffiniert), 4 % Cellulose, 6 % Mineralstoff- und Spurenelementvormischung (C 1000), 2 % Vitaminvormischung (C 1000).

ren zu fünf Versuchsdiäten mit 0 %, 1 % und 2 % Mutterkornanteil verarbeitet (Tab. 1).

Die Diäten mit unverbackenem Mutterkorn wurden mit MM bezeichnet, die mit verbackenem Mutterkorn mit MB. Nach Herstellerangaben betrug in den Diäten der Rohproteingehalt 23,4–24 %, Rohfett 3,5–4,1 %, Rohfaser 1,9–2,6 %, Rohasche 5,1–5,4 % und Wasser 8,9–10,2 %. Der Gesamtalkaloidgehalt wurde nach den angegebenen Methoden ermittelt.

## 5.2 Versuchstiere

In zwei zeitversetzten Fütterungsversuchen wurden insgesamt 156 junge, weibliche NMRI-Mäuse (Charles River-Wiga, 8741 Sulzfeld) im Absetzalter (3 Wochen alt, 12–15 g) und 32 männliche NMRI-Mäuse (10 Wochen alt, 30–34 g) verwendet.

## 6 Methoden

### 6.1 Analytik

Die Extraktions- und Bestimmungsmethoden der Mutterkornalkaloide sind hauptsächlich für die Analyse von Sklerotien oder pharmazeutischen Präparaten entwickelt worden. Dabei kam es auf den möglichen Gesamtalkaloidgehalt (Ausbeute an Alkaloiden) oder auf den gezielten Nachweis einzelner Alkaloide bzw. deren derivatisierter Form an. Im Gegensatz zu diesen Materialien ist bei der Untersuchung von Lebensmitteln mit einer weitaus stärkeren Matrixbelastung zu rechnen, bei der die Extraktion der geringen Alkaloidmengen möglichst vollständig zu erfolgen hat. In der Literatur werden sowohl basische als auch saure Extraktionslösungen angegeben. Die weitere Reinigung des Rohextraktes erfolgt meist nach einem für die Isolierung von Alkaloiden üblichen Prinzip, bei dem die Eigenschaft der Alkaloide zur Salzbildung genutzt wird. Danach sind mit geeigneten Methoden weitere Matrixbestandteile abzutrennen, um einen Nachweis der geringen Alkaloidmenge möglichst störungsfrei zu ermöglichen.

### 6.1.1 Geräte, Reagenzien

Im folgenden Abschnitt wird eine Methode zur Bestimmung von Mutterkornalkaloiden beschrieben, die von Klug (15) am Max-von-Pettenkofer-Institut des Bundesgesundheitsamtes in Berlin entwickelt (Methode a) und von Wolff am Institut für Biochemie und Analytik der Bundesforschungsanstalt für Getreide und Kartoffelverarbeitung in Detmold modifiziert wurde (Methode b).

a) Glasfaserfilter (Satorius S-13400)

Extrelut-20-Säulen (Merck)

Membranfilter (0,45 µm, Satorius, N11 606)

Liquid-Chromatograph (Varian 5000 Vorsäule, Shandon, 3 µm, 30 × 4,6)

Trennsäule, Shandon-Hypersil ods, 5 µm, 250 × 4,6

Fluoreszenz-Spektralphotometer (Perkin-Elmer 650-10 LC)

Labordaten-System (Hewlett-Packard, 3345)

b) Schüttelmaschine (Janke & Kunkel, Typ HS 500)

Glasfaserfilter (Schleicher & Schüll, Nr. 6 370007)

Extrelut-3-Säulen (Merck Nr. 15372)

Sep-Pack C-18-Kartuschen (Waters Nr. 51910)

Pumpe (Gynkotek 300 B), Degasser (ERC 3510 Erna Optical Works)

Säule Licrocart, Licrosphere 100 CH-18 Super, 250 × 4 (Merck, Nr. 16056)

Säulenofen (Spectra Physics), Fluoreszenzdetektor (Kratos FS 900)

Labor-Datensystem, Anacomp 220 (Kontron) mit Printer Plotter 800

### Reagenzien

Analysenreine Chemikalien: Riedel, Merck

Alkaloide: Sandoz, Sigma

### 6.1.2 Extraktion, Aufarbeitung und HPLC-Trennung

Für die Bestimmung der Alkaloide wurden 25 g (a: 50 g) feingemahlene(n) Materials 30 min im gut verschlossenen Erlenmeyer mit 100 ml (200 ml) des Extraktionsgemisches Dichlormethan/Essigsäureethylester/Methanol/konz. Ammoniak = 50:25:5:1 (v/v/v/v) durch Schütteln mit dem gleichen Gemisch zweimal extrahiert. Die vereinigten blanken Filtrate werden bei 35°C bis zur Trockne eingengt. Dieser 0-Extrakt wird in 2 ml Toluol/Methanol = 49:1 (v/v) aufgenommen (Ultraschallbad) und mit 18 ml n-Hexan versetzt. Diese Lösung wird in kleinen Portionen auf eine 15 min zuvor mit 10 ml (20 ml) einer 2%igen Weinsäurelösung belegte Extrelut-3-Säule (Extrelut-20-Säule) gegeben, mit 1 ml Toluol/Methanol nachgewaschen und nach Zugabe von 9 ml n-Hexan wie oben auf die Extrelut-Säule gegeben. Danach wird mit 40 ml (75 ml) Di-Isopropylether/n-Hexan = 1:1 (v/v) eluiert. Das Eluat wird verworfen. Das restliche Elutionsgemisch auf der Extrelut-Säule wird mit Hilfe einer Wasserstrahlpumpe abgesaugt. Über die vom Elutionsmittel befreite Säule wird über eine Gaswaschflasche mit konz. Ammoniak/Wasser = 1:1 (v/v) durch einen mäßigen Stickstoffstrom gasförmiges Ammoniak geleitet, bis am Säulenkopf pH-Papier alkalisch reagiert. Die Elution der Alkaloide erfolgt danach mit 40 ml (75 ml) Dichlormethan. Das Eluat wird auf bis ca. 1 ml eingengt, der trübe Rückstand in 8 ml Acetonitril/bi-dist. Wasser 47:53 (v/v) aufgenommen, wobei im Ultraschallbad an der Kolbenwandung haftende Teile abgelöst

werden. Nach Überführen in einen 20-ml-Meßkolben wird noch zweimal mit je 6 ml Acetonitril/Wassergemisch gespült und zur Marke aufgefüllt. Diese Lösung wird zur Chromatographie durch einen 0,45 µm Membranfilter aus regenerierter Cellulose blank filtriert (a) bzw. über eine Sep-Pack-Kartusche (Fa. Waters) gegeben (b).

Zur HPLC-Trennung werden 20 µl aufgegeben. Die Trennung erfolgt unter den Bedingungen:

a) mobile Phase: Acetonitril:Wasser = 47:53 (v/v) + 0,1 g/l Ammoniumcarbonat, Säulentemperatur: Raumtemperatur, Fließrate: 1,1 ml/min; Detektion: fluoreszenzspektralphotometrisch, Anregungswellenlänge: 327 nm, Emissionswellenlänge: 398 nm.

b) mobile Phase: Acetonitril:Wasser = 47:53 (v/v) + 0,1 g/l Ammoniumcarbonat, Fließrate: 0,8 ml/min, Säulentemperatur 80°C; Detektion: fluoreszenzspektralphotometrisch, Anregungswellenlänge: 245 nm, Emissionswellenlänge: über 418 nm (Kantenfilter).

## 6.2 Versuchstierhaltung und Fütterung

Die Tierversuche wurden an der Bundesforschungsanstalt für Ernährung durchgeführt. Die Tierhaltung erfolgte unter Standardbedingungen (22°C,  $60 \pm 5\%$  relative Luftfeuchtigkeit, 12 Std. Licht-Dunkel-Zyklus, Dunkelphase 20.00–8.00 Uhr). Trinkwasser und Futter wurden den Tieren ad libitum gegeben. Einige Kontrollgruppen wurden paargefüttert. Die Versuche starteten mit einer 3tägigen Adaptionsrate, in der eine mutterkornfreie Kontrolldiät an alle Versuchsgruppen gefüttert wurde. Im ersten Ansatz (Versuchsdauer 9 Wochen, Wachstumsphase und Gestation) wurde auf weibliche Fertilität, Embryotoxizität und Teratogenität geprüft, der zweite Ansatz (Versuchsdauer 12 Wochen, Wachstumsphase, Gestation, Laktation) diente der Erfassung von peri- und postnatalen Wirkungen.

### Versuch 1

Im ersten Versuchsansatz wurden 96 Weibchen in 6 gewichtsgleiche Gruppen (N = 16) eingeteilt und einzeln in Makrolonkäfige (Typ 2) gesetzt, die mit Zellstoff als Einstreu ausgelegt waren. Folgende Versuchsgruppen wurden miteinander verglichen: Gruppe 1 erhielt die Kontrolldiät ad libitum (AL), die Gruppen 3–6 erhielten mutterkornhaltige Diäten: 3 (MM 1 %), 4 (MB 1 %), 5 (MM 2 %), 6 (MB 2 %). Die Gruppe 2 wurde entsprechend dem individuellen Futterverbrauch der Gruppe 5 (MM 2 %) mit der Kontrolldiät paargefüttert (PF).

Nach einer sechswöchigen Fütterungsperiode wurden je 4 Weibchen zu einem unbehandelten Männchen in Makrolonkäfige (Typ 3) gesetzt, die ein Trenngitter enthielten, das eine gleichzeitige, aber getrennte Haltung von Weibchen und Männchen bei unterschiedlicher Fütterungsweise erlaubte. Die Männchen erhielten eine Standarddiät (Herilan/Eggersmann, 3260 Rinteln), während bei den Weibchen die Fütterung der Versuchsdiäten beibehalten wurde. Nach einer 4tägigen Zyklussynchronisation der Weibchen in diesen Spezialkäfigen wurden die Weibchen in denselben Käfigen zweimal an fünf aufeinanderfolgenden Tagen für 2 Stunden (9–11 Uhr) mit den Männchen im Verhältnis 1:4 verpaart. Während der Paarung wurde den Tieren der Zugang zum Futter verwehrt. Weibchen der Versuchsgruppe 2 wurden während der Synchronisations- und Paarphase nicht mehr paargefüttert, aber weiterhin restriktiv mit durchschnittlich 3,2 g/Tag Kontrolldiät (ca. 5 g/Tag)

während der Zyklussynchronisation), um eine Hyperphagie nach der Paarfütterung zu vermeiden. Nach der Paarung wurden Weibchen mit Paarungspfpopf (Gestationstag 0) wieder in Einzelhaltung gehalten und die Versuchsfütterung wurde fortgeführt. Gruppe 1 (Kontrolle) wurde ab 7. Tag der Gestation zur Gruppe 3 (MM 1 %) paargefüttert.

Während der Wachstumsperiode wurden Futterverbrauch und Körpergewicht bei den Gruppen 1, 2, 5 und 6 täglich, bei den Gruppen 3 und 4 zweimal wöchentlich bestimmt. Während der Synchronisations- und Paarungsphase wurde keine Futterverbrauchsbestimmung durchgeführt. Während der Gestation wurden Futterverbrauch und Körpergewicht täglich (Gruppe 1, 2, 5) oder an den Tagen 0, 6, 12 und 18 (Gruppe 3, 4, 6) bestimmt.

Am Tag 18 der Gestation wurden die Weibchen durch CO<sub>2</sub>-Asphyxie getötet, gewogen und makroskopisch auf Organschäden untersucht. Der Uterusinhalt wurde auf früh- und spätabgestorbene Implantate (Resorptionen) bzw. lebende und mißgebildete Feten untersucht. Von den Feten wurde das individuelle Körpergewicht ermittelt und das Geschlecht bestimmt. Etwa ⅓ der Feten eines Muttertieres wurden zufällig ausgewählt, fixiert, mazeriert, gefärbt mit Alizarin-Rot und die Skelette geprüft. Die restlichen Feten wurden in einem Alkohol-Formaldehyd-Eisessig-Gemisch fixiert und nach der Wilson-Methode auf viszerale Anomalien untersucht.

## Versuch 2

60 Weibchen wurden zunächst auf drei gewichtsgleiche Gruppen (7, 8, 9) aufgeteilt und zu viert in Makrolonkäfige (Typ 3) mit Zellstoffeinlage gesetzt. Mit Versuchsbeginn erhielt die Gruppe 7 (N = 12) eine Kontrolldiät, die Gruppen 8 und 9 (N = 24) bekamen mutterkornhaltige Diäten (MM 1 %) bzw. (MB 1 %) ad libitum. Nach einer 6wöchigen Fütterungsperiode, in der zweimal wöchentlich Futterverbrauchs- und Körpergewichtsbestimmungen durchgeführt wurden, wurden die Weibchen zyklussynchronisiert und mit den Männchen der Versuchsserie 1 im Verhältnis 1:4 an zweimal 5 aufeinanderfolgenden Tagen für 2 Stunden und an fünf weiteren Tagen über Nacht verpaart. Weibchen mit Paarungspfpopf (Gestationstag 0) wurden einzeln in Käfige gesetzt und konnten ihre Jungen spontan zur Welt bringen.

Die Versuchsfütterung der Diäten (Kontrolle, MM 1 %, MB 1 %) wurde während der Gestation zunächst beibehalten. Am Tag 13 der Gestation wurde ein Diätwechsel von MB 1 % nach MB 2 % vorgenommen, um den Einfluß von verbackenem Mutterkorn bei einer höheren Dosierungsstufe während der Laktation zu prüfen. Am Wurftag (Laktationstag 0) wurden bei den mit Mutterkorn gefütterten Gruppen je zwei Untergruppen gebildet und die Gruppen 8b und 9b für 3 Wochen mit der Kontrolldiät im Vergleich zu 8a (MM 1 %) bzw. 9a (MB 2 %) paargefüttert.

Untersucht wurden Gestationsdauer, Futterverbrauch und Körpergewichtsveränderungen während der Gestation (Tage 0, 6, 12, 18) und Laktation (täglich) sowie Mortalität (täglich) und Körpergewichtsentwicklung der Jungtiere. Zur Bestimmung der Gestationsdauer wurden über 14 Nächte lang und am Tage in 4stündigen Intervallen die Geburtstermine ermittelt. Am Wurftag wurden die Wurfgroße bestimmt und die Würfe in 8 Jungtiere (möglichst 4 Männchen und 4 Weibchen) normiert. Die Körpergewichtsbestimmung der Jungtiere erfolgte an den Laktationstagen 0, 3, 7, 11, 14 und 21 (Absetztag). Der Versuch wurde eine Woche nach dem Absetzen der Jungtiere mit der Tötung und Sektion der Muttertiere abgeschlossen, die Muttertiere makroskopisch auf pathologische Veränderungen (Organe, Zähne) untersucht und verschiedene Organgewichte (Thymus, Herz, Leber, Milz, Nieren, Nebennieren, perirenales Fett) ermittelt.

Die statistische Auswertung der Ergebnisse erfolgte mit Hilfe der einfachen Varianzanalyse und des Scheffe-Tests. Nicht normalverteilte Daten und Häufig-



Tab. 2. Alkaloidgehalte der Ausgangsproben und der Versuchsdiäten. MK: Mutterkorn, MM: Mehl, MB: Brot, Gehalte in mg/kg.

	Mehl <sup>1)</sup>	Versuchsdiäten								Kontr.- Diät <sup>1)</sup>
		10 % MK		2 % MK		1 % MK		1 % MK		
		MM	MB	MM	MB	MM	MB	MM	MB	
Ergometrin	-	8,15	2,9	1,9	0,88	0,69	0,34	0,34	7,9	
Ergometrinin	-	1,22	1,89	0,47	0,38	0,16	0,21	0,21	1,6	
Ergosin	36,4	11,0	4,6	1,9	0,85	0,7	0,37	0,37	6,0	
Ergotamin	20,3	28,4	11,3	4,65	2,0	2,0	0,83	0,83	15,9	
Ergocornin	5,3	6,85	2,7	1,15	0,47	0,42	0,17	0,17	3,6	
$\alpha$ -Ergokryptin	3,1	4,55	1,39	0,75	0,33	0,29	0,13	0,13	3,1	
$\beta$ -Ergokryptin	1,26	3,1	1,14	0,49	0,2	0,19	0,09	0,09	0,66	
Ergocristin	11,2	35,3	13,1	4,95	2,35	2,15	0,86	0,86	28,4	
Ergosinin	6,4	3,0	2,5	1,3	0,44	0,32	0,19	0,19	8,7	
Ergotaminin	2,4	6,65	5,1	3,0	0,98	0,72	0,43	0,43	14,4	
Ergocorninin	2,3	2,9	2,1	1,1	0,44	0,31	0,23	0,23	4,8	
$\alpha$ - und $\beta$ -Ergokryptinin	-	2,65	2,4	1,05	0,42	0,31	0,25	0,25	-	
Ergocristinin	16,2	10,05	11,0	4,4	2,05	1,3	1,05	1,05	17,1	
Gesamtalkaloidgehalt	104,86	123,8	62,12	27,11	11,79	9,56	5,15	5,15	112,16	

<sup>1)</sup> Gehalte in  $\mu\text{g/kg}$

keitsverteilungen wurden mit dem Chi-Quadrat-Test, dem U-Test nach Mann-Whitney oder mit dem Welch-Test (Gestationsdauer) geprüft.

## 7 Ergebnisse

### 7.1 Bestimmung und Berechnung des Gesamtalkaloidgehalts

Die Einzel- und Gesamtalkaloidgehalte der Ausgangsmaterialien und der Diäten sind in der Tabelle 2 zusammengefaßt. Das Ausgangsgetreide wies bei der Anlieferung 0,03 % Mutterkorn auf und wurde einer Mühlenreinigung unterzogen, so daß kein Mutterkorn mehr gefunden wurde. Trotzdem blieb ein Alkaloidgehalt von 0,11 mg/kg nachweisbar, was einem Mutterkorngehalt von 0,005 % entspräche.

Der durch Verordnung für den EG-Bereich festgelegte Höchstwert von 0,05 % Mutterkorn ist im Getreide durch Ermitteln des Gewichtsanteils in einer Probe durch Handverlesen bestimmbar. Sobald es sich um ein Getreideprodukt handelt, ist der wahrscheinliche ursprüngliche Mutterkornanteil nur über eine chemische Analyse des Gesamtalkaloidgehalts möglich. Eine Abschätzung des Mutterkornanteils aufgrund des ermittelten Gesamtalkaloidgehalts eines Lebensmittels ist zwar nicht exakt, erlaubt jedoch eine ungefähre Angabe über den Kontaminationsgrad, was für eine Abschätzung des gesundheitlichen Risikos und eine lebensmittelgerechte Beurteilung bedeutsam ist.

Geht man davon aus, daß zentraleuropäisches Mutterkorn ca. 0,2 % Gesamtalkaloid enthält, ist bei einem Höchstwert von 0,05 % Mutterkorn im Getreide mit ca. 1 ppm Alkaloid zu rechnen. Durch die Teigbereitung und den Backprozeß wird der Alkaloidgehalt verringert, die Abnahme des Gesamtalkaloidgehalts um 50 % konnte bestätigt werden (3, 35), wobei die „-inin-Form“ der Alkaloide gegenüber der „-in-Form“ bedeutend weniger reduziert bzw. deren Gehalte nicht erhöht wurden (Tab. 2).

Die Summation der Einzelalkaloidgehalte nach spezifischer Aufarbeitung und HPCL-Trennung führt zum Gesamtalkaloidgehalt. Für diese Ermittlung werden die Einzelalkaloide in reiner Form benötigt. Über den Chemikalienhandel sind jedoch nur wenige zu beziehen (Ergotamin, Ergokryptin, Ergometrin). Addiert man nach entsprechender Trennung die Peakhöhen der Einzelalkaloide in einem Chromatogramm und berechnet den Gesamtgehalt als Ergotamin und Ergokryptin, führt diese Berechnung zu einem Gesamtalkaloidgehalt, der gegenüber dem aus Einzelalkaloiden berechneten einen effektiven Fehler von 9 % aufweist, wenn mit den angegebenen Wellenlängen gemessen wird. Wie ein Vergleich des mit

Tab. 3. Gesamtalkaloidgehalte der Versuchsdiäten. MK: Mutterkorn (10 %: Ausgangsproben; 2 % und 1 %: Versuchsdiäten), MM: Mehl, MB: Brot, Gehalte in mg/kg.

	10 % MK MM	10 % MK MB	2 % MK MM	2 % MK MB	1 % MK MM	1 % MK MB
Gesamtalk.-Geh. der Einzelalk.	123,8	62,12	27,11	11,79	9,56	5,15
Gesamtalk.-Geh. berechnet	105,3	60,25	20,96	10,74	9,41	5,53

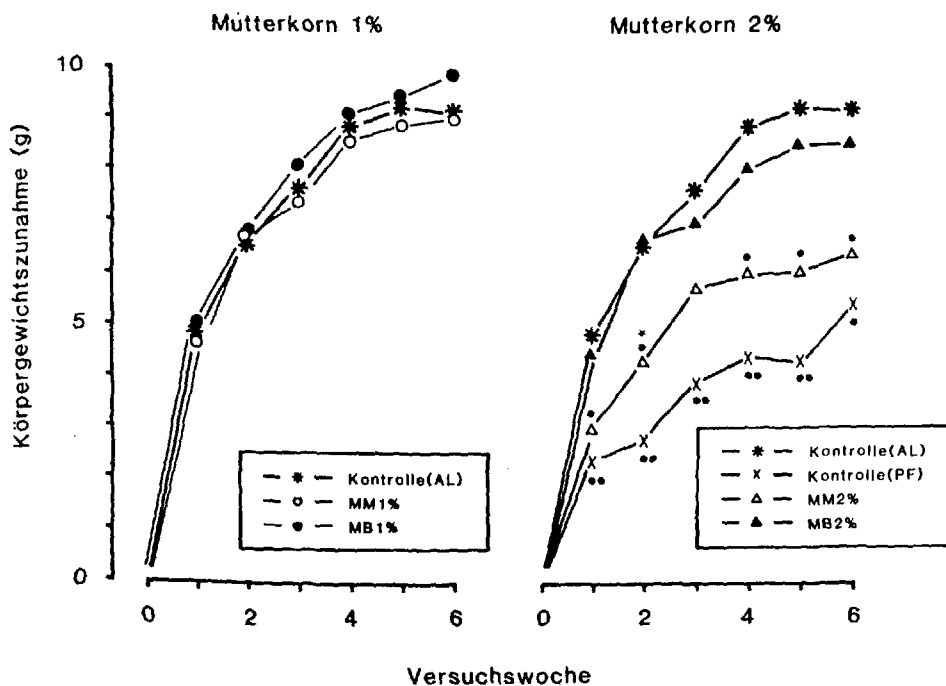


Abb. 1. Der Einfluß von unverbackenem (MM) und verbackenem (MB) Mutterkorn auf die Körpergewichtszunahme bei Mäusen während der Wachstumsperiode. Kontrolldiät ad libitum (AL), Paarfütterung (PF) zu MM 2%,  $n = 12-16$  Tiere/Gruppe; signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwerten zur Kontrolle (AL) ● ( $p < 0,05$ ), ●● ( $p < 0,001$ ), MM 2% versus MB 2%\* ( $p < 0,05$ ), MM 2% versus Kontrolle (PF) nicht signifikant (einfache Varianzanalyse/Scheffe-Test).

13 Alkaloidstandards ermittelten Gehaltes gegenüber dem berechneten zeigt, bietet sich diese Vorgehensweise für Überwachungszwecke als Screening an (Tab. 3).

Fehler durch sich rasch verändernde Eichlösungen, Gleichgewicht zwischen „in-“ und „inin-Formen“, ungenügende Trennung einzelner Alkaloide (alpha-, beta- Ergokryptin und -kryptinin) und durch das Nichterfassen seltener und nicht geeichter Alkaloide werden vermieden.

Gegenüber anderen Methoden der Gesamtalkaloidbestimmung (26) ist durch die Auftrennung in Einzelalkaloide bei vorliegendem Chromatogramm zu entscheiden, ob es sich tatsächlich um Mutterkorn handelt. Wenn auch die Zusammensetzung und der Gehalt an Einzelalkaloiden sehr stark variiert, tritt doch nicht nur ein einzelnes Alkaloid im Chromatogramm auf.

## 7.2 Tierversuche

### Versuch 1

Während des Versuchs verendete in Gruppe 5 (MM 2%) ein Weibchen zu Beginn der dritten Paarungsphase, ein weiteres Weibchen wurde im moribunden Zustand (Tremor, Kachexie) nach 8 Versuchswochen getötet. Beim verendeten Tier wurden

Tab. 4. Einfluß von Diäten mit unverbackenem (MM) und verbackenem (MB) Mutterkorn auf Futterverbrauch, Körpergewichtszunahme und Futtereffizienz bei Mäusen während der Wachstumsperiode. Kontrolldiät ad libitum (AL) gefüttert bzw. paargefüttert (PF) zur Versuchsgruppe 5; <sup>1)</sup> Quotient aus Körpergewichtszunahme und Futterverbrauch  $\times 100$  in 6 Wochen; Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung (n) für 6 Wochen berechnet; Mittelwerte in der gleichen Spalte mit unterschiedlichen Buchstaben weisen statistisch signifikante Unterschiede auf ( $p < 0,05$ ).

Versuchsgruppen	Futterverbrauch (g/Maus/Tag)	Körpergewichtszunahme (g)	Futtereffizienz <sup>1)</sup>
1 Kontrolle (AL)	$3,75 \pm 0,16^a$ (100 %)	$9,1 \pm 2,3^a$ (100 %)	$5,8 \pm 1,3^{ab}$ (100 %)
2 Kontrolle (PF)	$3,17 \pm 0,26^b$ (84,5 %)	$5,3 \pm 0,7^b$ (57,5 %)	$4,3 \pm 0,9^b$ (73,5 %)
3 MM 1 %	$3,69 \pm 0,16^a$ (98,4 %)	$9,1 \pm 2,2^a$ (99,8 %)	$5,9 \pm 1,2^a$ (101,4 %)
4 MB 1 %	$3,81 \pm 0,21^a$ (101,6 %)	$9,8 \pm 2,3^a$ (107,7 %)	$6,1 \pm 1,3^a$ (105,2 %)
5 MM 2 %	$3,19 \pm 0,30^b$ (85,1 %)	$6,4 \pm 2,2^{bc}$ (70,4 %)	$5,0 \pm 1,2^{ab}$ (86,1 %)
6 MB 2 %	$3,72 \pm 0,22^a$ (99,2 %)	$8,5 \pm 2,7^{ac}$ (93,5 %)	$5,5 \pm 1,6^{ab}$ (93,8 %)

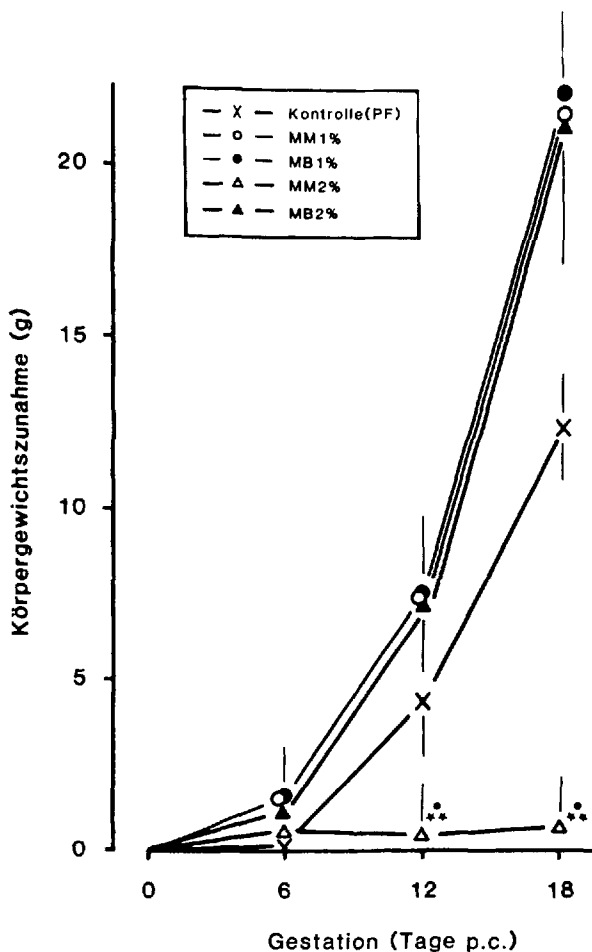


Abb. 2. Der Einfluß von unverbackenem (MM) und verbackenem (MB) Mutterkorn auf die Körpergewichtszunahme während der Gestation. Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung ( $n = 10-14$ , bei PF  $n = 3$ ); signifikante Unterschiede (einfache Varianzanalyse) zwischen den Mittelwerten von MM 2 % und MB 2 %\*\* ( $p < 0,001$ ), MM 2 % versus Kontrolle (PF) ● ( $p < 0,05$ ).

bis auf eine perikardiale Blutung keine pathologischen Veränderungen (beginnende Autolyse) festgestellt. Beim moribunden Tier war der Dünndarm durch Flüssigkeitsansammlung stark erweitert und wies entzündliche Rötungen auf.

Futtermittelverbrauch und Körpergewichtszunahme während der 6wöchigen Wachstumsperiode waren nur in der mit der höchsten unverbackenen Mutterkorndosis gefütterten Gruppe (MM 2 %) statistisch signifikant ( $p < 0,05$ ) vermindert (Abb. 1). Die Reduktion des Futtermittelverbrauchs betrug gegenüber der Kontrolle (AL) 85 %, die der Körpergewichtszunahme 70 %. Paargefütterte Kontrollweibchen hatten eine noch geringere Körpergewichtszunahme (58 %) im Vergleich zur Kontrolle (AL). Die mit Mutterkorn gefütterten Weibchen unterschieden sich in der Futtereffizienz nicht von der Kontrollgruppe (AL). Bei paargefütterten Kontrollweibchen war die Futtereffizienz ( $p < 0,05$ ) herabgesetzt (Tab. 4).

Tab. 5. Beeinflussung von Implantation und Embryonalentwicklung durch Mutterkorn. Anzahl gepaarter Weibchen (n = 16/Gruppe); Kontrolldiät bis Tag 6 der Gestation ad libitum gefüttert, dann paargefüttert zu MM 1 %; <sup>2)</sup> Prozentsatz resorbierter Implantate ohne Totalresorptionen von Würfen; <sup>3)</sup> Anzahl lebender Feten/Wurf; <sup>4)</sup> durchschnittliches Fetengewicht/Wurf; Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung (keine signifikanten Unterschiede, Varianzanalyse); \* p < 0,05, Chi-Quadrat-Test (MM 2 % vs. MB 2 %).

Versuchsgruppen	Anzahl der Weibchen mit					Resorptionsrate <sup>2)</sup>	Wurfgröße <sup>3)</sup>	Fetengewicht <sup>4)</sup> (g)
	Implantationen (Gestationsrate)	lebenden Feten	Resorptionen (total)					
1 Kontrolle (AL) <sup>1)</sup>	13 (81,3 %)	12 (75,0 %)	1 (7,7 %)			11,1 %	10,2	0,97 $\pm$ 0,1
2 Kontrolle (PF)	4 (25,0 %)	3 (18,8 %)	1 (25,0 %)			17,1 %	9,7	0,95 $\pm$ 0,1
3 MM 1 %	12 (75,0 %)	12 (75,0 %)	0			17,0 %	10,2	1,03 $\pm$ 0,1
4 MB 1 %	14 (87,5 %)	14 (87,5 %)	0			14,6 %	9,6	1,06 $\pm$ 0,1
5 MM 2 %	2 (12,5 %)*	0*	2 (100 %)			—	—	—
6 MB 2 %	13 (81,3 %)	12 (75,0 %)	1 (7,7 %)			12,5 %	10,2	1,02 $\pm$ 0,1

Tab. 6. Embryotoxische Effekte und Mißbildungen bei Mäusefeten nach Fütterung von mutterkornhaltigen Diäten an die Mütter.

Versuchsgruppen	1 Kontrolle (AL) <sup>1)</sup>	2 Kontrolle (PF)	3 MM 1 %	4 MB 1 %	6 MB 2 %
äußere Inspektion					
Anzahl der untersuchten Feten (Würfe)	112 (11)	29 (3)	122 (12)	135 (14)	112 (11)
retardierte Feten <sup>2)</sup>	6,3 %	6,9 %	6,6 %	2,2 %	6,3 %
mißgebildete Feten (Würfe)					
Exenzephalie	0	0	0	1 (1)	0
Hypognathie	0	0	10 (1)	0	0
Gaumenspalte	5 (2)	1 (1)	11 (2)	1 (1)	3 (3)
Extremitätendefekte	0	0	6 (1)	0	0
Zwergwuchs <sup>4)</sup>	0	0	3 (3)	1 (1)	4 (4)
mißgebildete Feten (Würfe)	5 (2) (4,5 %)	1 (1) (3,1 %)	13 (4) (10,7 %)	3 (2) (2,2 %)	6 (5) (5,4 %)
Knochenskelett					
Anzahl der untersuchten Feten (Würfe)	78 (11)	20 (3)	86 (12)	94 (14)	81 (11)
mißgebildete Feten (Würfe)					
WS-Defekte <sup>5)</sup>	0	0	0	2 (1)	2 (2)
Rippen <sup>6)</sup>	0	0	0	0	4 (2)
Sternum <sup>5)</sup>	11 (7)	3 (1)	7 (6)	11 (8)	8 (7)
Extremitäten <sup>5)</sup>	0	0	1 (1)	0	4 (2)
andere Defekte <sup>7)</sup>	4 (2)	1 (1)	8 (2)	3 (2)	8 (6)
mißgebildete Feten (Würfe)	4 (2) (5,1 %)	1 (1) (5,0 %)	8 (2) (9,3 %)	5 (2) (5,3 %)	11 (6) (13,6 %)

<sup>1)</sup> Erläuterungen siehe Tabelle 5; <sup>2)</sup> Feten < 0,8 g; <sup>3)</sup> Feten mit Fehlstellungen der Extremitäten; <sup>5)</sup> fehlend, deformiert, verwachsen oder reduziert; <sup>6)</sup> gewellt oder verwachsen; <sup>7)</sup> Feten mit Exenzephalie und/oder Gaumenspalte, Hypognathie, Zwergwuchs; <sup>4)</sup> Zwergwuchs klassifiziert als < 75 % des durchschnittlichen Körpergewichtes der Wurfgeschwister.

Die Futteraufnahme der graviden Weibchen nahm im Verlauf der Gestation zu und war in allen ad libitum gefütterten Gruppen gleich. Abbildung 2 zeigt die Körpergewichtsentwicklung der Weibchen während der Gestation. Im Gegensatz zur Gruppe MM 2 %, die keine Würfe mit lebenden Feten aufwies, hatten aber drei Weibchen (18,8 %) bei Schnittentbindung lebende Feten. Die Beeinflussung von Implantation und Embryonalentwicklung ist in Tabelle 5 zusammengefaßt. Durch die mutterkornhaltige Mehldiät MM 2 % wurde die Trächtigkeitsrate (12,5 %) stark vermindert ( $p < 0,05$ ), nicht jedoch durch die Brotdiät MB 2 %. Auch die paargefütterte Kontrolle zeigte eine deutlich verringerte Gestationsrate (25 %). Die Resorptionsrate (berechnet ohne die beobachteten Totalresorptionen von Würfen), Wurfgröße und durchschnittliches Fetengewicht waren im Vergleich aller Gruppen nicht unterschiedlich.

Tabelle 6 gibt eine Zusammenstellung über die embryotoxischen Effekte und die beobachteten Mißbildungshäufigkeiten. Hinsichtlich des Auftretens von in der Körpergewichtsentwicklung zurückgebliebenen Feten und der Anzahl mißgebildeter Feten wurden keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen festgestellt. Eine Tendenz zu einer leicht erhöhten Mißbildungsrate bei MM 1 % wurde durch einen einzigen Wurf bedingt, in dem fast alle Feten Gaumenspalten, Hypognathie und eine leichte Fehlstellung der Extremitäten aufwiesen. Bei den Versuchsgruppen MB 1 % und MB 2 % wurden bei je zwei Feten Wirbelsäulendefekte beobachtet, die in den anderen Versuchsgruppen nicht auftraten. Ferner hatten 4 Feten der Versuchsgruppe MB 2 % deformierte Extremitätenknochen (u. a. Humerus, Femur) und mißgebildete Rippen. Mit der Wilson-Methode wurden keine auffälligen Organanomalien festgestellt.

Bei der makroskopischen Beurteilung der Muttertiere wurden keine Anzeichen von Ergotismus (Nekrosen an Schwanzspitze, Ohren oder Zehen) beobachtet. Jedoch hatten in der Gruppe MM 2 % etwa 60 % der Tiere einen durch Flüssigkeitsansammlung erweiterten und teilweise leicht entzündlich geröteten Dünndarm sowie fast alle Tiere (93 %) eine von der Norm abweichende, fehlende gelbliche Pigmentierung des Zahnschmelzes der oberen und unten Incisivi (kalkweiß erscheinende Schneidezähne).

## Versuch 2

Während der ganzen Versuchsdauer traten bei den Tieren weder Krankheitszeichen noch Todesfälle auf. Futteraufnahme und Körpergewichtszunahme verliefen während der Wachstumsphase und der Gestation bei den Kontrolltieren und den mit mutterkornhaltigen Diäten gefütterten Tieren in gleicher Weise. Es wurde eine um ca. 10 Stunden verlängerte Gestationsdauer ( $p < 0,05$ ) nach Fütterung mit mutterkornhaltigen Diäten festgestellt (Kontrolle:  $18,9 \pm 0,2$  Tage, MM 1 % :  $19,3 \pm 0,4$  Tage, MB 1-2 % :  $19,2 \pm 0,3$  Tage). Die Geburtsgewichte der Jungen waren mit 1,4–1,5 g für alle Gruppen gleich und unterschieden sich nicht von der Kontrollgruppe.

Während der Laktation war der Futterverbrauch der mit Mutterkorn (MM 1 % bzw. MB 2 %) gefütterten Tiere statistisch signifikant ( $p < 0,05$ ) gegenüber der Kontrolle (AL) vermindert, besonders bei den Müttern, die verbackenes Mutterkorn (MB 2 %) erhielten (Tab. 7). Die damit verbundenen Körpergewichtsveränderungen der Mütter waren bei den mutterkornhaltigen Diätgruppen gering, bei den paargefütterten Kontrollen deutlich ausgeprägt. Die Abnahme der maternalen Körpergewichte seit Laktationsbeginn betrugen nach zwei Wochen etwa 93 % und 86 % für die Gruppen 8b bzw. 9b.

Die Jungtiermortalität lag bei allen Versuchsgruppen mit unter 10 % in der Norm. Bei den Jungtieren der mit unverbackenem oder verbackenem Mutterkorn gefütterten Mütter wurde eine starke Wachstumsdepression beobachtet, vor allem bei der Gruppe 9a (MB 2 %). Paargefütterte Kontrollen hatten die gleiche Entwicklungsverzögerung wie die mit Mutterkorn gefütterten Versuchsgruppen. Bei der Sektion der Muttertiere wurden keine auffälligen pathologischen Veränderungen oder unterschiedlichen Organgewichte festgestellt.

## 8 Diskussion

In der vorliegenden Arbeit mit mutterkornhaltigem Mehl wurde der Versuch unternommen, den beim Verbacken zu Brot auftretenden Alkaloidverlust zu ermitteln und in zwei kontrollierten Fütterungsstudien eine mögliche toxische Wirkung von unverbackenem Brot oder zu Brot ver-



Tab. 7. Einfluß von Diäten mit unverbackenem (MM) und verbackenem (MB) Mutterkorn auf Futterverbrauch und Körpergewichtsänderung bei laktierenden Muttertieren und auf die Körpergewichtsentwicklung der Jungtiere. Kontrolldiät ab Wurftag bei den Gruppen 8b und 9b paargefüttert (PF) zu den Versuchsgruppen 8a bzw. 9a.

Versuchsgruppen	N <sup>1)</sup>	Muttertiere			Jungtiere		
		Futterverbrauch (g/Tag)	Körpergewichts- änderung (g)	Jungtier- mortalität	Körpergewicht (g)	Laktationstage	21
		0-14	14-21	(%)	0	14	21
7 Kontrolle (AL)	10	12,1 <sup>a</sup> ± 0,7	18,9 <sup>a</sup> ± 1,0	+ 1,8 <sup>a</sup> ± 3,0	2/80 <sup>2)</sup> (2,5 %)	1,5 ± 0,1	8,1 <sup>a</sup> ± 0,5
8a MM 1 %	7	10,4 <sup>b</sup> ± 1,0	14,4 <sup>b</sup> ± 1,1	+ 0,9 <sup>ab</sup> ± 1,3	0/56	1,4 ± 0,1	6,2 <sup>bc</sup> ± 0,6
8b MM 1 % (PF)	8	10,3 <sup>b</sup> ± 1,1	14,0 <sup>b</sup> ± 1,3	- 2,5 <sup>bc</sup> ± 2,0	4/64 (6,3 %)	1,5 ± 0,1	6,8 <sup>b</sup> ± 1,2
9a MB 1-2 %	10	8,8 <sup>c</sup> ± 0,9	10,9 <sup>c</sup> ± 2,9	- 0,5 <sup>ab</sup> ± 1,7	6/80 (7,5 %)	1,4 ± 0,1	5,0 <sup>c</sup> ± 0,9
9b MB 1-2 % (PF)	10	8,9 <sup>c</sup> ± 0,9	11,4 <sup>c</sup> ± 1,9	- 5,5 <sup>c</sup> ± 3,4	7/80 (8,8 %)	1,4 ± 0,1	5,5 <sup>c</sup> ± 0,7

<sup>1)</sup> Anzahl der ausgewerteten Muttertiere bzw. Würfe; <sup>2)</sup> 1 Wurf von der Auswertung ausgeschlossen (am Wurftag Kannibalismus der Mutter); Mittelwerte ± Standardabweichung; Mittelwerte in der gleichen Spalte mit unterschiedlichen Buchstaben weisen statistisch signifikante Unterschiede auf ( $p < 0,05$ ).

Tab. 8. Einfluß des Pelletierens auf die Gesamtalkaloidgehalte und deren isomere Form. MM: Mutterkorn im Mehl, MB: Mutterkorn im Brot, Gehalte in mg/kg.

	vor dem Pelletieren			nach dem Pelletieren (Diäten)		
	Ges.-Alk.- Geh.	„-in- Form“ <sup>(1)</sup>	„-inin- Form“ <sup>(2)</sup>	Ges.-Alk.- Geh.	„-in- Form“ <sup>(1)</sup>	„-inin- Form“ <sup>(2)</sup>
2 % MM	24,76	19,47	5,29	27,11	15,79	11,32
2 % MB	12,40	7,41	4,99	11,79	7,08	4,71
1 % MM	12,38	9,74	2,64	9,56	6,44	3,12
1 % MB	6,20	3,71	2,49	5,15	2,79	2,36

<sup>1)</sup> Ergometrin, Ergosin, Ergotamin, Ergocornin,  $\alpha$ - und  $\beta$ -Ergokryptin, Ergocristin

<sup>2)</sup> Ergometrinin, Ergosinin, Ergotaminin, Ergocorninin,  $\alpha$ - und  $\beta$ -Ergokryptinin, Ergocristinin.

backenem Mutterkorn auf Wachstum, Reproduktion und Laktation bei weiblichen Mäusen zu vergleichen. Der Gesamtalkaloidgehalt wurde sowohl durch Bestimmung des Gehaltes von dreizehn einzelnen Alkaloiden als auch nach ebenfalls chromatographischer Trennung rechnerisch ermittelt. Auch wenn hier kein Brot im üblichen Sinne gebacken wurde (salzfrei, 10 % Mutterkorn), ergaben sich doch Alkaloidverluste, wie sie durch frühere Versuche an Broten ermittelt wurden (27, 35). Durch das Pelletieren tritt neben einer Minderung des Gesamtalkaloidgehaltes (42) auch eine Verschiebung des Verhältnisses von Alkaloiden zu ihrer isomeren „-inin-Form“ auf.

Diese Änderungen werden besonders bei unverbackenem Mutterkorn deutlich, so daß das Spektrum an Alkaloiden bei verbackenem und unverbackenem Mutterkorn nicht identisch ist. Beim nicht verbackenen Mutterkorn tritt eine zum Teil beträchtliche Zunahme der isomeren „-inin-Form“ bei gleichzeitiger Abnahme der „-in-Form“ der Alkaloide auf, während beim verbackenen Mutterkorn beide Alkaloidformen abnehmen, wobei die Abnahme der isomeren „-inin-Form“ hier relativ gering ist.

Nach Zusatz von 10 % Mutterkorn zu Mehl wurde ein Alkaloidgehalt von 0,124 % bestimmt. Bei der Verarbeitung von Mehl zu Brot betrug der

Tab. 9. Durchschnittliche tägliche Gesamtalkaloidaufnahme bei wachsenden, trächtigen und laktierenden Mäusen nach Verfütterung von mutterkornhaltigen Diäten.

Diäten	Gesamtalkaloidaufnahme (mg/kg Körpergewicht/Tag)		
	Wachstum <sup>1)</sup>	Gestation <sup>2)</sup>	Laktation <sup>3)</sup>
MM 1 %	1,4	1,3	2,9
MB 1 %	0,7	0,7	—
MM 2 %	3,6	—	—
MB 2 %	1,7	1,6	3,0

Durchschnittliche Alkaloid-Aufnahme: <sup>1)</sup> in 6 Wochen/kg Körpergewicht am Ende der 3. Versuchswoche (Versuch 1); <sup>2)</sup> während der Gestationstage 0–18/kg Körpergewicht am Tag 12 post coitum (Versuch 1); <sup>3)</sup> während der Laktationstage 0–14/kg Körpergewicht am Tag 7 post partum (Versuch 2).

Alkaloidverlust im Mittel ca. 50 %. Unter Berücksichtigung der bei der Diätherstellung auftretenden Alkaloidverluste und aufgrund der für Wachstum, Gestation und Laktation unterschiedlichen Futteraufnahme errechnete sich eine ähnliche durchschnittliche Tagesdosis in der Gesamt-Alkaloidaufnahme der Versuchstiere für die Diätgruppen MM 1 % und MB 2 % (Tab. 9).

Mutterkornalkaloide können vielfältige Störungen der Reproduktion bei Mensch und Tier bewirken (12, 37). Die wiederholte Behandlung trächtiger Mäuse, Ratten und Kaninchen mit peroralen, maternaltoxischen Ergotamingaben, die eine verminderte Körpergewichtszunahme der Muttertiere zur Folge hatten, führte bei allen drei Spezies zum vermehrten Auftreten retardierter Feten und bei Ratten außerdem zu Fetalresorptionen (11). Diese indirekte embryotoxische Wirkung wird durch eine Verminderung der uteroplazentalen Blutzufuhr infolge der vasokonstriktischen Wirkung von Ergotamin hervorgerufen (10, 17). In ähnlicher Weise wirkt ein vorübergehendes Abklemmen der zuführenden uterinen Blutgefäße bei trächtigen Ratten am Tag 14 post coitum, wobei auch Ödeme, Gaumenspalten und Mißbildungen der Extremitäten erzeugt wurden (16, 18, 28).

In reproduktionstoxikologischen Studien können signifikante Reduktionen des maternalen Körpergewichtes, klinische Toxizitätssymptome oder Tod zur Beurteilung einer maternalen Toxizität herangezogen werden (14). In der vorliegenden Untersuchung wurden Anzeichen von maternaler Toxizität nur nach chronischer Gabe von 2 % unverbackenem Mutterkorn beobachtet: Mortalität in einem Fall, Enteritis und eine fehlende gelbliche Pigmentierung des Zahnschmelzes der Schneidezähne bei den meisten Tieren. Die Verfütterung von 2 % unverbackenem Mutterkorn bewirkte, im Gegensatz zu allen anderen mutterkornhaltigen Diäten (MM 1 %, MB 1 % und 2 %), eine Reduzierung der Futteraufnahme und der Körpergewichtszunahme während der Wachstumsphase, eine Beeinträchtigung der Gestationsrate und Embryotoxizität (Totalresorptionen). Allerdings war die Konzeptionsrate von zu MM 2 % paargefütterten Kontrolltieren ebenfalls herabgesetzt, nicht aber bei den Kontrolltieren der Gruppe 1, die ab Tag 6 der Gestation zu MM 1 % paargefüttert wurden. Chronische Futterrestriktionen zu 50 % oder 40 % der Ad-libitum-Fütterung während der Wachstumsphase reduzierte die Konzeptionsrate auch bei jungen Ratten (42).

Im Versuch 2 führten schon niedrige Gaben an unverbackenem und verbackenem Mutterkorn (MM 1 % bzw. MB 1–2 %) zu Effekten. So stellten wir eine geringfügige, aber signifikante Verzögerung der Gestationsdauer fest. Barnikol et al. (1) beobachteten eine bis zu 5 Tagen verkürzte Trächtigkeit bei Sauen. Während der Verfütterung der Diäten MM 1 % und MB 2 % in der Wachstumsphase und der Trächtigkeit ohne Einfluß auf den Futterverbrauch und die Körpergewichtsentwicklung der so behandelten Mäuse blieb, reduzierten beide Diäten in der Laktation sehr deutlich die Futteraufnahme der Muttertiere. Dies hat zwar keine signifikanten Veränderungen der mütterlichen Körpergewichte, aber eine starke Wachstumsdepression (bis zu 50 %) bei den Jungtieren zur Folge. Da mit der Paarfütterung bei den Kontrollen eine ähnliche Reduktion der Jungtier-Körpergewichte erreicht wurde, ist der Schluß zu ziehen, daß die

Wachstumsdepression primär durch die verminderte Futteraufnahme der laktierenden Muttertiere verursacht wurde. Es ist bekannt, daß Futterrestriktion auf das endokrine System wirkt und dabei die Prolaktinausschüttung bei verschiedenen Tieren hemmt (23), was dann in der Laktation zu Hypogalaktie oder in schweren Fällen zu Agalaktie führen kann (37, 43).

Zusammenfassend betrachtet, zeigen die Ergebnisse dieser Untersuchung, daß durch den Backprozeß die physiologische und toxische Wirkung der Mutterkornalkaloide wesentlich abgeschwächt wird. Die Daten reichen aber zur Abschätzung des Risikos einer gesundheitlichen Gefährdung nicht aus. Ein „no-toxic-effect-level“ wird mit 0,1 mg Ergotalkaloide/kg Körpergewicht/Tag angegeben (27). Toxische Wirkungen wurden in der vorliegenden Arbeit bei der 30fachen Menge des „no-toxic-effect-level“ festgestellt.

#### *Danksagung*

Für die sorgfältige Durchführung der analytischen Arbeiten danken wir Frau Lippert und für die zuverlässige Mitarbeit bei den Tierversuchen Frau Lambertz und Frau Mathony-Holschuh.

#### *Literatur*

1. Barnikol H, Gruber S, Thalmann A, Schmidt HL (1982) Mutterkornvergiftung beim Schwein. *Tierärztliche Umschau* 37 (5):324–332
2. Barnikol H, Thalmann A (1986) Neuerliche Ausbreitung von Mutterkorn, eine wachsende Gefahr für Mensch und Tier? *Tierärztliche Umschau* 41 (3):178–185
3. Baumann U, Hunziker HR, Zimmerli B (1985) Mutterkornalkaloide in schweizerischen Getreideprodukten. *Mitt Gebiete Lebensm Hyg* 76:609–630
4. Berde B, Schild HO, Weil C (1980) *Pharmakologie und klinische Pharmakologie von Hydergin®*. Springer, Berlin Heidelberg New York
5. Bhat RV, Roy DN, Tulpule PG (1976) The nature of alkaloids of ergoty pearl millet of bajra and its comparison with alkaloids of ergoty rye and ergoty wheat. *Toxikol Appl Pharmacol* 36:11–17
6. Demeke T, Kidane Y, Wuhib E (1979) Ergotism – a report on an epidemic 1977–78. *Ethiop med J* 17:107–113
7. Friend DW, MacIntyre TM (1970) Effect of rye ergot on growth and N-retention in growing pigs. *Can J comp Med* 34:198–202
8. Frohne D, Pfänder HJ (1987) *Giftpflanzen. Ein Handbuch für Apotheker, Ärzte, Toxikologen und Biologen*. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart, S194
9. Gabbai D, Lisbonne D, Porquier D (1951) Ergot poisoning at Pont St. Esprit. *Brit Med J* 2:650–651
10. Grauwiler J, Leist KH (1973) Impairment of uteroplacental blood supply by ergotamine as a cause of embryotoxicity in rats. *Teratology* 7:A–16
11. Grauwiler J, Schön H (1973) Teratological experiments with ergotamine in mice, rats, and rabbits. *Teratology* 7:227–236
12. Griffith RW, Grauwiler J, Hodel C, Leist KH, Matter B (1978) Toxicologic considerations. In: Berde B, Schild HO (eds) *Handbook of Experimental Pharmacology*, Vol 49: Ergot alkaloids and related compounds. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York, pp 805–851

13. Jank B (1986) Mutterkorn – ein Problem in Durumweizen im Jahre 1985. *Gesunde Pflanzen* 38 (5):219–221
14. Khera KS (1984) Maternal toxicity – a possible factor in fetal malformations in mice. *Teratology* 29:411–416
15. Klug C (1986) Bestimmung von Mutterkornalkaloiden in Lebensmitteln. Dissertation, Berlin, D 83, FB 13, MvP-Heft 2 des Bundesgesundheitsamtes, Berlin
16. Leist KH, Grauwliler J (1973) Influence of the developmental stage on embryo-toxicity following uterine vessel clamping in the rat. In: *Proceeding of the 2nd Conference of European Teratology Society, Acta Univ Carol Med – Monographia LVI–LVII (Part 1)*, Prag:173–176
17. Leist KH, Grauwliler J (1974a) Fetal pathology in rats following uterine-vessel clamping on day 14 of gestation. *Teratology* 10:55–68
18. Leist KH, Grauwliler J (1974b) Ergometrine and uteroplacental blood supply in pregnant rats. *Teratology* 10:316
19. Lindner E (1986) *Toxikologie der Nahrungsmittel*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart New York, 118–120
20. Lorenz K (1979) Ergot on cereal grains. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 11:311–354
21. Mantle PG (1978) Ergotism in cattle, horses, sheep, swine and poultry. In: Wyllie TD, Morehouse LG (eds) *Mycotoxic fungi, mycotoxins, mycotoxicoses*. Vol II, Marcel Dekker Inc, Basel New York, pp 145–151, 185, 207–213, 273–275, 307–308
22. Matter BE (1982) Heritable translocation test in mice with triethylenemelamine (TEM) and ergotamine. *Mutation Res* 104:177–182
23. Nakanishi Y, Mori J, Nagasawa H (1976) Recovery of pituitary secretion of gonadotrophins and prolactin during re-feeding after chronic restricted feeding in female rats. *J Endocr* 69:329–339
24. Opitz K (1984) Der Ergotismus und seine heutige Bedeutung. *Getreide, Mehl und Brot* 38 (9):281–284
25. Pfänder HJ, Seiler KU, Ziegler A (1985) Morgendliche „Müsli“-Mahlzeit als Ursache einer chronischen Vergiftung mit Secale-Alkaloiden. *Deutsches Ärzteblatt*, Ausgabe A, 82 (27):2013–2016
26. Prosek M, Kucan E, Katić M, Bano M (1977) The total assay of the alkaloids. *Chromatographia* 10 (3):147–150
27. Schoch U, Schlatter CH (1985) Gesundheitsrisiken durch Mutterkorn aus Getreide. *Mitt Gebiete Lebensm Hyg* 76:631–644
28. Schön H, Leist KH, Grauwliler J (1975) Single-day treatment of pregnant rats with ergotamine. *Teratology* 11:32 A
29. Scott PM, Lawrence GA (1982) Losses of ergot alkaloids during making bread and pancakes. *J Agric Food Chem* 30:445–450
30. Seibel W (1983) Getreidetechnologische Rohstoffreinigung und Verarbeitung von alternativem Brotgetreide. In: *Wie sicher sind unsere Lebensmittel? – Wissenschaftler antworten – BLL Schriftenreihe, Heft 102*, Behr's Verlag Hamburg, 273–277
31. Shaw S (1986) Untersuchungen über die Bekämpfung von Mutterkornverunreinigungen im Getreidesaatgut mit Baytan. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer* 39 (1):47–72
32. Teuteburg A (1987) Mutterkorn an Kultur- und Wildgräsern. *Gesunde Pflanzen* 39 (4):145–150
33. Ware GM, Carman AS, Francis OJ, Kuan SS (1986) Liquid chromatography determination of ergot alkaloids in wheat. *J Assoc Off Anal Chem* 69 (4):697–699
34. Wolff J, Ocker HD, Zwingelberg H (1983) Bestimmung von Mutterkornalkaloiden in Getreide und Mahlprodukten durch HPLC. *Getreide, Mehl und Brot* 37 (11): 331–335
35. Wolff J, Ocker HD (1985) Einfluß des Backprozesses auf den Gehalt des Mutterkornalkaloids Ergometrin. *Getreide, Mehl und Brot* 39 (4):110–113

36. Wurst M, Flieger M, Rehacek Z (1979) Analysis of ergot alkaloids by High-performance liquid chromatography, II. Cyclol alkaloids (ergopeptines). *J Chromatography* 174:401-407
37. Young JC (1979) Ergot contamination of feedstuffs. *Feedstuffs* 51:23-33
38. Young JC (1981) Variability in the content and composition of alkaloids found in Canadian ergot. I. Rye. *J. Environ Sci Health* 16 (1):83-111
39. Young JC (1981) Variability in the content and composition of alkaloids found in Canadian ergot. II. Wheat. *J Environ Sci Health* 16 (4):381-393
40. Young JC (1982) Variability in the content and composition of alkaloids found in Canadian ergot. III. Triticale and Barley. *J Environ Sci Health* 17 (2):93-107
41. Young JC, Marquardt RR (1982) Effects of ergotamine tartrate on growing chickens. *Can J Anim Sci* 62:1182-1191
42. Young JC, Chen Z, Marquardt RR (1983) Reduction in alkaloid content of ergot sclerotia by chemical and physical treatment. *J Agric Food Chem* 31:413-415
43. Young CM, Rasmussen KM (1985) Effects of varying degrees of chronic dietary restriction in rat dams on reproductive and lactational performance and body composition in dams and their pups. *Am J Clin Nutr* 41:979-987

Eingegangen 21. Dezember 1987

Für die Verfasser:

Dr.-Ing. J. Wolff, Institut für Biochemie und Analytik, Bundesforschungsanstalt für Getreide- und Kartoffelverarbeitung, Schützenberg 12, 4930 Detmold