

Wykrywanie leków psychoaktywnych w rozwojowych stadiach grzybów

(*Detecting Psychoactive Drugs in the Developmental Stages of Mushrooms*)

by

Susan T. Gross¹

J Forensic Sci 2000;45(3): 527-537

Otrzymane 26 lutego 1999; a w formie przejranej 12 maja 1999; zaakceptowane 23 sierpień 1999.

wersja ang. www.en.psilosophy.info/ebgtsayoahhoajkcladbqhp

original report: <http://chemistry.mdma.ch/hiveboard/rhodium/pdf/alkaloids.in.developing.shrooms2.pdf>

backup source: <http://www.psilosophy.info/resources/alkaloids.in.developing.shrooms2.pdf>

[tłumaczenie: cjuchu]

¹ Forensic Scientist, Minnesota Forensic Science Laboratory, 1246 University Ave, St. Paul, Minnesota

Projekt ten został wsparty przez Federalne Biuro Śledcze (FBI), Minneapolis Field Office.

Spis Treści:

Streszczenie

Metody

Przygotowanie próbek

Chromatografia cienkowarstwowa

Chromatograf gazowy/spektrometr masowy

Dolny limit detekcji

Wyniki i omówienie

Wnioski

Podziękowania

Odnosiniki

Streszczenie

Podniesiono następujące kwestie odnośnie wykrywania leków psychoaktywnych w grzybach: Na jakim etapie rozwoju grzyba mogą zostać zidentyfikowane leki psychoaktywne psylocyna i psilocybina, oraz jaki wpływ ma światło na wzrost tych grzybów. By odpowiedzieć na te pytania, w kontrolowanych warunkach wyhodowano z zarodników grzyby *Psilocybe cyanescens* Wakefield. W różnych momentach ich rozwoju pobrano próbki i przeanalizowano na obecność psylocyny i psilocybiny. Znajomość na jakim etapie rozwoju mogą zostać zidentyfikowane leki psychoaktywne może być użyteczna dla personelu od narzucania prawa i dla chemików sądowych. Ekstrakty metanolowe z różnych próbek przeanalizowano za pomocą TLC i GC/MS. Ustalono, że grzyb na etapie węzełków grzybni był najwcześniejszym stadium, na którym mogły zostać wykryte leki psychoaktywne. Zauważono, że światło wpłynęło na czas rozwoju i wygląd tych grzybów.

Słowa kluczowe: nauka sądowa, psylocyna, psilocybina, grzyby psychotropowe

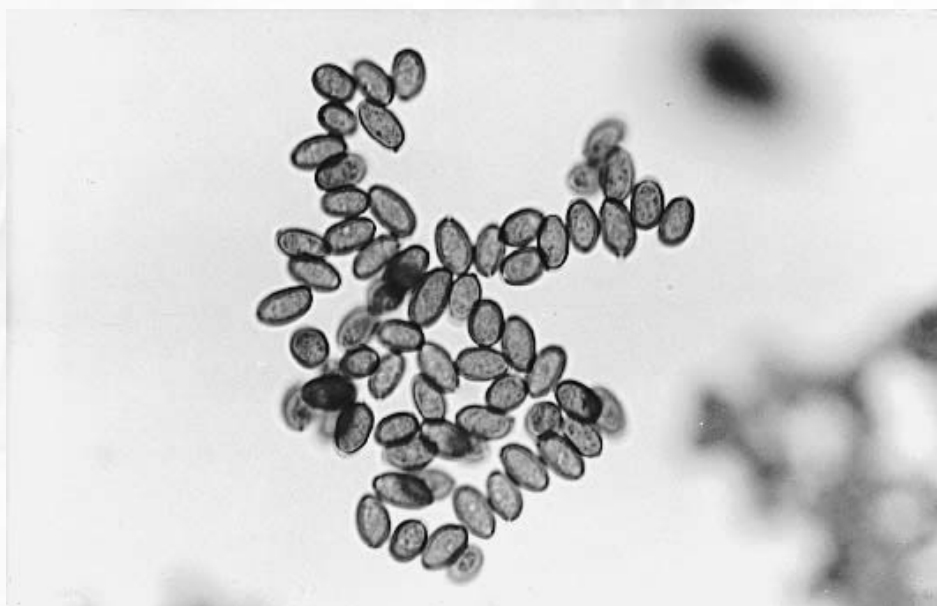
Agencje od narzucania prawa w Minnesocie zaczynają dostrzegać wzrastającą ilość operacji dotyczących upraw grzybowych. Poznanie na jakim etapie rozwoju mogą zostać zidentyfikowane leki psychoaktywne może być użyteczne dla personelu od narzucania prawa i dla chemików sądowych. Informacja ta jest ważna, ponieważ w stanie Minnesota nielegalne jest posiadanie jakichkolwiek materiałów, związków, mieszanek lub przetworów zawierających jakiegokolwiek ilości psylocyny i/lub psilocybiny¹.

Słowo grzyb jest generalnym określeniem stosowanym na opisanie względnie dużych i mięsistych owocników

grzybów, zwłaszcza wszystkich grzybów blaszkowych. Grzyby różnią się od roślin tym, że nie mają korzeni, łodyg, liści, kwiatów, nasion i chlorofilu. Ponieważ grzybom brak chlorofilu, ich składniki odżywcze zależą od otaczającego podłoża. Wegetatywna część fungusa akumuluje rezerwę pokarmową z najbliższej okolicy w celu wykształcenia owocników²⁻³.

Grzyby są kategoryzowane następująco: królestwo, gromada, klasa, rząd, rodzina, rodzaj, i gatunek. Grzyby zawierające leki psychotropowe są zaklasyfikowane do królestwa Grzyby, gromady, Podstawczaki, klasy Hymenomycetes (Grzyby hymenoforowe), i rządu Pieczarkowce. Istnieją cztery rodziny grzybów, Pierścieniakowate (*Strophariaceae*), Gnojankowate (*Bolbitiaceae*), Czernidłakowate (*Coprinaceae*), oraz Zastłonakowate (*Cortinariaceae*), zawierające psilocybinę, psylocynę, lub pokrewne alkaloidy z rdzeniem indolowym. Rodzaj i gatunek grzybów Psilocybe, które wyhodowano, został zidentyfikowany jako *Psilocybe cyanescens*. Rozmiary pleurocystyd odnotowane w kluczach opisujących grzyb *Psilocybe cyanescens* różniły się nieco od grzybów wyhodowanych. Może to wskazywać na odmianę tego gatunku (komunikacja z dr. Davidem McLaughlin, Wydział Biologii Roślinnej na Uniwersytecie Minnesota)^{2,4,5-8}.

Czterema etapami składającymi się na cykl życiowy grzyba są zarodniki, grzybnia, primordia, i dorosłe owocniki. Zarodniki są komórkami reprodukcyjnymi lub "nasionami" grzybów (Ryc. 1).



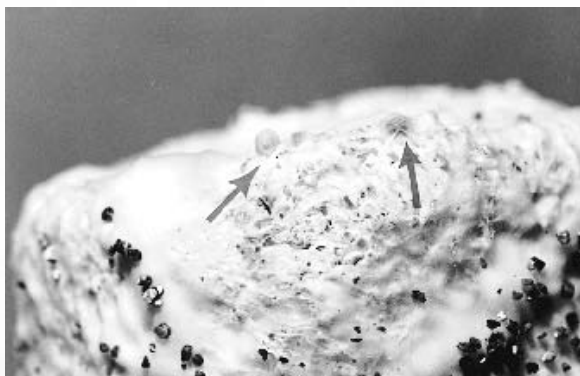
Ryc. 1 - Wodny roztwór zarodników oglądany w powiększeniu mikroskopowym 1250x. Zarodniki są pierwszym etapem cyklu życiowego grzyba. Jeden mililitr roztworu zarodników został wykorzystany do zaszczepienia każdego 250 ml słoika.

Kielkowanie zarodników zachodzi gdy obecny jest odpowiedni substrat i właściwe warunki środowiskowe. Zarodniki wyrastają w poszukiwaniu substancji odżywczych i rozgałęziają się tworząc złożony "pajęczynowy" układ. Ten "pajęczynowy" układ jest wegetatywną częścią grzyba, zwaną grzybnią (Ryc. 2).



Ryc. 2 - Wegetatywna część grzyba nazywa się grzybnią. Jest to drugi etap cyklu życiowego grzyba. Pierwsza oznaka rozwoju grzybni pojawia się 4 do 6 dni po zaszczepianiu.

Grzybnia wchłania wodę i związki odżywcze z substratu, który jest wykorzystywany do wytworzenia owocników. Zdolność grzyba do rozpoczęcia owocnikowania jest uzależniona od właściwości genetycznych i różnych czynników środowiskowych, wliczając wilgotność, temperaturę, światło oraz napowietrzenie. Zapoczątkowanie i rozwój owocników znany jest jako primordium i zwany jest "węzełkami grzybni" i "pinami". "Węzełek grzybni" odnosi się do zainicjowania owocnika, który formuje się gdy grzybnia zbija się ze sobą i zdaje się tworzyć "węzełek" (Ryc. 3).



Ryc. 3 - Trzecim etapem cyklu życiowego grzyba są primordia zwane "węzełkami grzybni" i "pinami". Węzełki grzybni są zainicjowaniem owocnika, który tworzy się gdy grzybnia zbija się ze sobą i zdaje się tworzyć "węzełek".

Węzełek ten wyrasta ostatecznie w "pin", pulchną narośl o żółtym kolorze i z brązowym wierzchołkiem (Ryc. 4).



Ryc. 4 - Trzecim etapem cyklu życiowego grzyba są primordia zwane "węzełkami grzybni" i "pinami". Piny są pulchnymi naroślami w żółtym kolorze i z brązowym wierzchołkiem.

Owocnik jest uważany za dojrzały gdy zdolny jest do rozrzucenia zarodników i do rozpoczęcia tego cyklu życiowego od nowa (Ryc. 5-6)^{2,9}.



Ryc. 5 - Czwartym etapem cyklu życiowego grzyba jest dojrzały owocnik. Grzyby uważa się za dojrzałe gdy tylko są w stanie rozrzucić zarodniki i rozpocząć cykl życiowy na nowo. Dojrzałe grzyby *Psilocybe cyanescens* Wakefield.



Ryc. 6 - Czwartym etapem cyklu życiowego grzyba jest dojrzały owocnik. Grzyby uważa się za dojrzałe gdy tylko są w stanie rozrzucić zarodniki i rozpocząć cykl życiowy na nowo. Dojrzałe grzyby *Psilocybe cyanescens* Wakefield.

Metody

Zarodniki wykorzystane w tym eksperymencie zostały uzyskane legalnie poprzez ogłoszenie w High Times Magazine od *Psilocybe Fanaticus* (PFTek Seattle, WA). Zarodniki otrzymano w 10 ml strzykawkach w roztworze wodnym. Każdy roztwór zarodnikowy został obejrzany pod mikroskopem przy powiększeniu 1250x.

Wytyczne do przygotowania podłoża do hodowli otrzymano razem z zarodnikami. Materiałami wykorzystanymi na podłoże do hodowli były ćwierćlitrowe słoiki szerokowlotowe (KerrGroup, Inc. Jackson, TN), wermikulit ogrodniczy (Schultz, St. Louis MO), mąka z brązowego ryżu i woda destylowana. Przed dodaniem mieszanki do słoików przygotowano wieczka do weków. Guma uszczelniająca krawędź wieczek wekowych została skierowana ku górze i wokół zewnętrznej krawędzi symetrycznie wybito cztery otwory. Na każdy ćwierćlitrowy słoik przygotowana została mieszanka z 1/4 kubka mąki z brązowego ryżu, 1/2 kubka wermikulitu i 1/4 kubka wody destylowanej. Mieszanka ta została umieszczona w słoikach i przykryta suchym wermikulitem. Nakręcono ciasno wieczka i wykorzystano folię aluminiową by zakryć pokrywki w celu uchronienia przed dostaniem się dodatkowej wody do słoików podczas sterylizacji.

Jako że podłoże wzrostu jest podatne na zakażenie, zastosowano górną warstwę wermikulitu by uchroniła mokry substrat przed zakażeniami powietrzonośnymi i by chłonięła i regulowała parowanie i skraplanie wilgoci¹⁰. Słoiki z mieszanką podłoża wzrostu sterylizowano przez 20 minut w 120°C. Słoiki przed zaszczepianiem ostygły. Wykryto zakażenia w różnych kolorach, od pastelowych do czarnych. Podłoże wzrostu, które się zakaziło było obserwowane lecz nie zostało przeanalizowane.

Tygodniowo zaszczepiano osiem słoików przy pomocy 10 ml roztworu zarodników. Robiono to przez 9 tygodni z całkowitą ilością 72 zaszczepień. Oprócz ośmiu słoików zaszczepianych co tydzień, jednego słoika nie zaszczepiono i wykorzystano go jako czysty kontrolny. Podczas pierwszych czterech tygodni, wszystkim próbkom pozwolono rosnąć przy świetle pośrednim. Ostatnie pięć tygodni, połowie próbek pozwolono rosnąć przy świetle pośrednim a druga połowa była trzymana w ciemności. Słoiki trzymane w ciemności były wystawiane na światło tylko przy pobieraniu próbek. Każdy słoik po zaszczepieniu pokryto parafilmem by uchronić go przed zakażeniami powietrzonośnymi.

Próbki zostały przeniesione do terrariów gdy piny stały się za duże dla słoików, w których rosły. Do eksperymentu tego zastosowano dwa różne terraria. Pierwsze składało się ze styropianowej chłodziarki z kawałkiem pleksiglasu wewnątrz. Drugie terrarium składało się z dwulitrowej plastikowej butelki z wyciętą częścią środkową. By utrzymać wysoki poziom wilgotności, oba terraria były spryskiwane wodą destylowaną, dwa do czterech razy dziennie. Wachlowanie komory pokrywami, dwa do czterech razy dziennie utrzymywało terraria dobrze przewietrzonymi.

Wzrost i kolonizacja były monitorowane dla próbek rosnących w świetle niebezpośrednim. Próbki grzybni pobrano 13 dni po zaszczepianiu. Próbki zostały także pobrane z każdego słoika na różnych etapach rozwoju grzybni, primordii i dojrzałych owocników. Wzrost grzybni, primordii i dojrzałych owocników był monitorowany i porównywany z próbkami rosnącymi jednocześnie w świetle niebezpośrednim i w ciemności.

Przygotowanie próbki

Próbki pozostawiono do moczenia w metanolu przez noc. Metanol został zdekantowany do fiolki typu shell-vial, a następnie skondensowany prawie do suchości (<1/2 ml) stosując strumień powietrza. Alikwot został pobrany do chromatografii cienkowarstwowej (TLC). Próbki węzełków grzybni przeanalizowano przy pomocy TLC i chromatografii gazowej w spektrometrze masowym (GC/MS) w tym stanie ekstraktu metanolowego bez żadnego oczyszczania.

Ekstrakty zostały oczyszczone kwaśnym roztworem do analizy GC/MS. Roztwór 0,2 N kwasu siarkowego został wykorzystany by ponownie zawiesić i zakwasić ekstrakt. Roztwór ten został dwukrotnie przepłukany chloroformem by usunąć neutralne związki organiczne. Próbki zalkalizowano wodorowęglanem sodowym a psychoaktywne leki zostały dwukrotnie wyekstrahowane chloroformem. Chloroform został odparowany a próbka została rozpuszczona w metanolu do analizy GC/MS.

Chromatografia cienkowarstwowa

TLC przeprowadzono na płytkach żelu krzemionkowego o wymiarach 5 x 10 cm (Analtech Newar, DE). Na każdej płytce z próbnymi ekstraktami dostrzeżono standardy psylocyny (Alltech State College, PA) i psilocybiny (Alltech State College, PA). Płytki zostały wywołane na 6 cm w temperaturze pokojowej w przykrytym pojemniku do wywoływania przy pomocy roztworu chloroformu/metanolu w stosunku 9:1. Zlewka zawierająca 3 ml wodorotlenku amonowego została umieszczona w zbiorniku by towarzyszyć wywoływaniu. Płytki zostały wysuszone w niskiej temperaturze i zwizualizowane przy pomocy odczynnika para-dimetyloaminobenzaldehydu (p-DMAB) w spreju. (Odczynnik p-DMAB składał się z 2g p-DMAB w 50 ml etanolu i 50 ml kwasu solnego.) Względna wartość R_f psilocybiny wynosi 0,00 a względna wartość R_f psylocyny wynosi 0,85.

Dolna granica wykrywalności została określona kolejnymi rozcieńczeniami standardu psylocyny i dostrzeganiem/wywoływaniem go aż plamka związana ze standardem została zauważona. Dolna granica wykrywalności dla metody TLC została określona na około 0,03 mg/ml.

Chromatograf gazowy/spektrometr masowy

Do detekcji analitów wykorzystany został chromatograf gazowy Hewlett Packard 5890 Serii II sprzęgnięty z selektywnym detektorem masowym (MSD) Hewlett Packard 5970 i systemem detektora chromatografu gazowego (GCD) Hewlett Packard G1800A. Te dwa przyrządy są swoimi odpowiednikami i próbki przepuszczano na konkretnych przyrządach w zależności od ich dostępności. Kolumna HP-1 12 m (grubość filmu 0,33 μm , id kolumny 0,2 mm) została zastosowana do chromatografii gazowej (GC). Parametry dla GCD były następujące: port iniekcji 250°C i temperatura detektora 280°C. *Metoda SCAN70* - Niska masa 35, wysoka masa 425, temperatura początkowa 70°C, wzrost prędkości 25°C/min a temperatura końcowa 300°C utrzymywana przez 3,0 minuty. Parametry dla MSD były następujące: port iniekcji 265°C i temperatura detektora 280°C. *Metoda SCN90* - Niska masa 35, wysoka masa 400, temperatura wstępna 90°C, wzrost prędkości 25°C/min, a temperatura końcowa 300°C utrzymywana przez 4,0 minuty. Objętość próbki wynosiła w przybliżeniu 3 μl przy współczynniku rozdziału 30:1.

Dolny limit detekcji

Dolny limit detekcji dla obu przyrządów został określony kolejnymi rozcieńczeniami standardu psylocyny i analizowaniem go aż szczyt przy odpowiednim czasie retencji zawierający widoczne jony 44, 58, 77, 159 i 204 nie był wykrywany. Dolny limit detekcji został określony w przybliżeniu na 0,1 mg/ml dla obu przyrządów.

Wyniki i omówienie

Identyfikację grzybów wyhodowanych w tym projekcie przeprowadzono poprzez przebadanie zarodników, owocników i dojrzałego grzyba. Zarodniki zostały przebadane pod względem koloru, kształtu, i rozmiaru. Zarodniki miały kolor purpurowy do brązowego i kształt eliptyczny do podłużnie eliptycznego. Rozmiarem wahały się od 6,7-8,2 μm na 12,6-15,0 μm . Owocniki przebadano głównie pod względem koloru. Dojrzały grzyb został przebadany pod względem kształtu, rozmiaru, koloru, faktury, cech blaszek, oraz wyglądu ogólnego.

Pierwotne roztwory zarodnikowe zostały przeanalizowane przy pomocy TLC i GC/MS. W żadnym roztworze zarodników nie wykryto psylocyny lub psilocybiny.

Wzrost grzybni był obserwowany od 4 do 6 dnia. Owocniki były obserwowane od 24 do 28 dnia. Przeciętna ilość czasu na pojawienie się primordii wynosiła 32 dni. Próbki grzybni zostały pobrane po 13 dniach rozwoju, 20 dniach rozwoju, i w różnych innych dniach rozwoju. Łącznie przeanalizowano 29 próbek białej grzybni. W żadnej z tych 29 próbek nie wykryto psylocyny lub psilocybiny. Dziewięć z 29 próbek potwierdzono przy pomocy GC/MS, i ponownie nie wykryto żadnej psylocyny.

Próbki zostały przeanalizowane po pierwszych oznakach rozwoju węzłków grzybni. Łącznie, przy pomocy TLC przeanalizowano 22 próbki węzłków grzybni. Uważano, że próbki były zgodne ze standardem jeśli ich względna wartość R_f i ich kolor pasowały do standardu również nakropionego na płytkę. Uważano, że próbki wskazują standard jeśli ich względna wartość R_f pasowała do standardu lecz kolor nie był tak ciemny jak nakropiony standard. Z 22 próbek węzłków grzybni, 17 było zgodnych z psylocyną. Z tych 17 próbek, 8 było także zgodnych z psilocybiną a 1 wykazała, że w próbce była psilocybina. Cztery próbki były zgodne ze standardem psilocybinowym nakropionym na płytkę TLC, a jedna z tych próbek wskazywała również, że była w niej psylocyna. W jednej z próbek nie wykryto leków psychoaktywnych.

Próbki zostały przeanalizowane po zaobserwowaniu pierwszych pinów owocników. Przy pomocy TLC przeanalizowano łącznie 25 próbek pinów. Wszystkie 25 próbek miało nakropiony na płytkę TLC standard psylocyny. Z tych 25 próbek, 3 miały również nakropiony standard psilocybiny a 3 wykazały, że w próbce była psilocybina (Tabela 1).

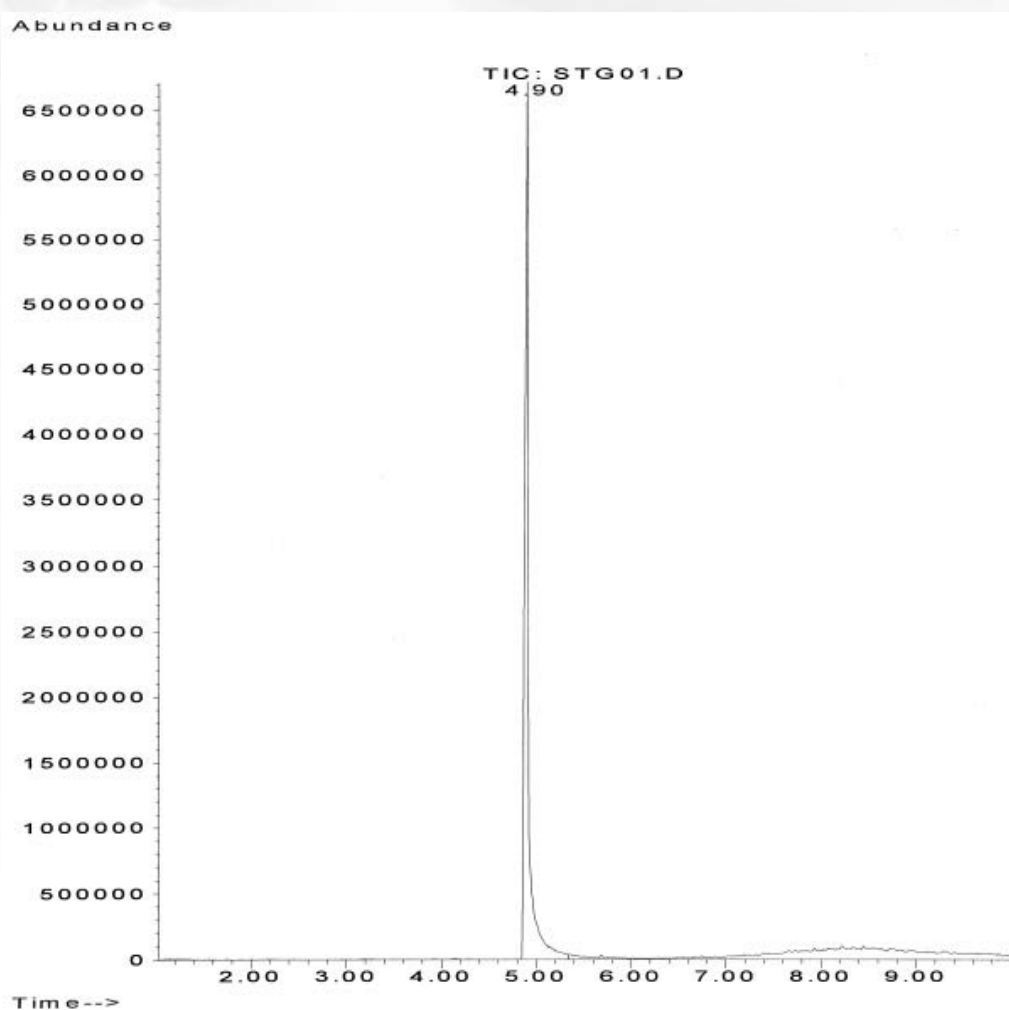
22 próbki węzłków grzybni zostały także przeanalizowane GC/MS. W układzie wlotowym chromatografu gazowego, następowała termiczna defosforylacja psilocybiny. W wyniku tego rozpadu psilocybiny do psylocyny nie da się ich odróżnić przy pomocy GC/MS. Przez tę niemożność odróżnienia psylocyny i psilocybiny, nie wiadomo czy materiał wyjściowy zawiera psylocynę, psilocybinę, czy mieszanekę obu tych leków. Dla tego projektu, jedynie standard psylocyny został przeanalizowany GC/MS (Ryc. 7-9). Próbki uważano za zgodne z

psylocyną jeśli ich czas retencji i wzorzec fragmentacji masy spektralnej pasowały do standardu psylocynowego. Uważano, że próbki wskazują psylocynę jeśli ich czas retencji był zgodny ze standardem psylocyny i zawierał widoczne jony, lecz brakowało mu jonów w całkowitym wzorcu fragmentacji. Z tych 22 próbek węzłków grzybni, 12 było zgodne ze standardem psylocyny. Stwierdzono, że siedem próbek wskazuje psylocynę, i były trzy próbki gdzie psylocyna nie została wykryta.

Tabela 1 - Wyniki chromatografii cienkowarstwowej (TLC).*

Typy próbek	Łącznie przeanalizowane próbki	zg. z Psylocyną i zg. z Psilocybiną	zg. z Psylocyną i wskazujące Psilocybinę	zg. tylko z Psylocyną	zg. tylko z Psilocybiną	zg. z Psilocybiną i wskazujące Psylocynę	Nie wykryto
Zarodniki	4						4
Grzybnia	29						29
Węzłki grzybni	22	8	8	1	3	1	1
Piny	25	19	3	3			
Grzyby	11	9	2				

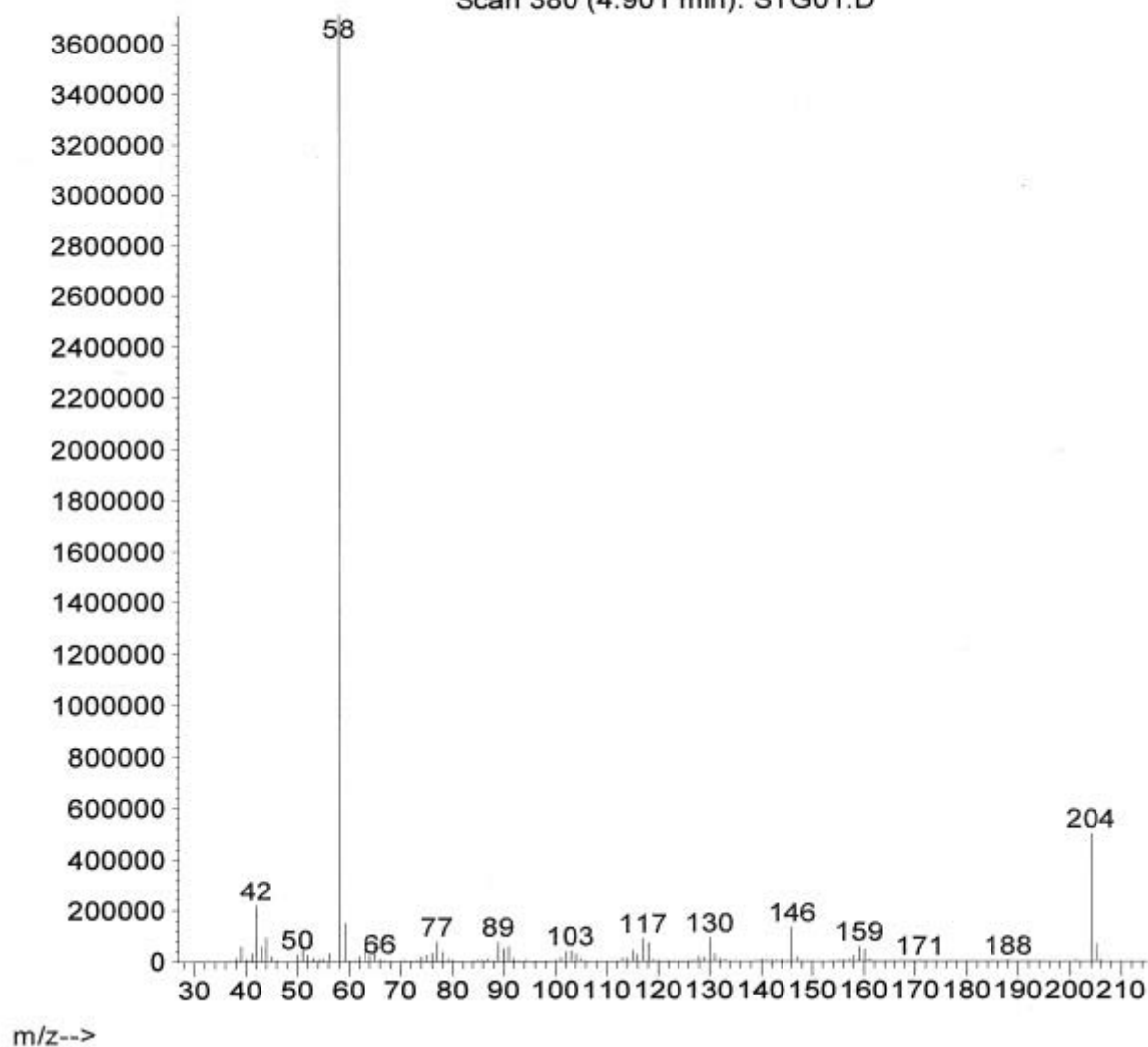
* Wyniki chromatografii cienkowarstwowej (TLC) na różnych etapach rozwoju grzyba *Psilocybe cyanescens*. TLC został wykonany na płytkach żelu krzemionkowego 5 x 10 cm i wywołany w roztworze chloroform/metanol 9:1. Płytki zostały zwizualizowane przy pomocy odczynnika p-DMAB w spreju. Próbki uważano za zgodne ze (zg. z) standardem jeśli względna wartość R_f i ich kolor pasowały do standardu także nakropionego na płytkę. Uważano, że próbki wskazują na standard jeśli ich wartość R_f pasowała do standardu, lecz kolor nie był tak ciemny jak nakropiony standard.



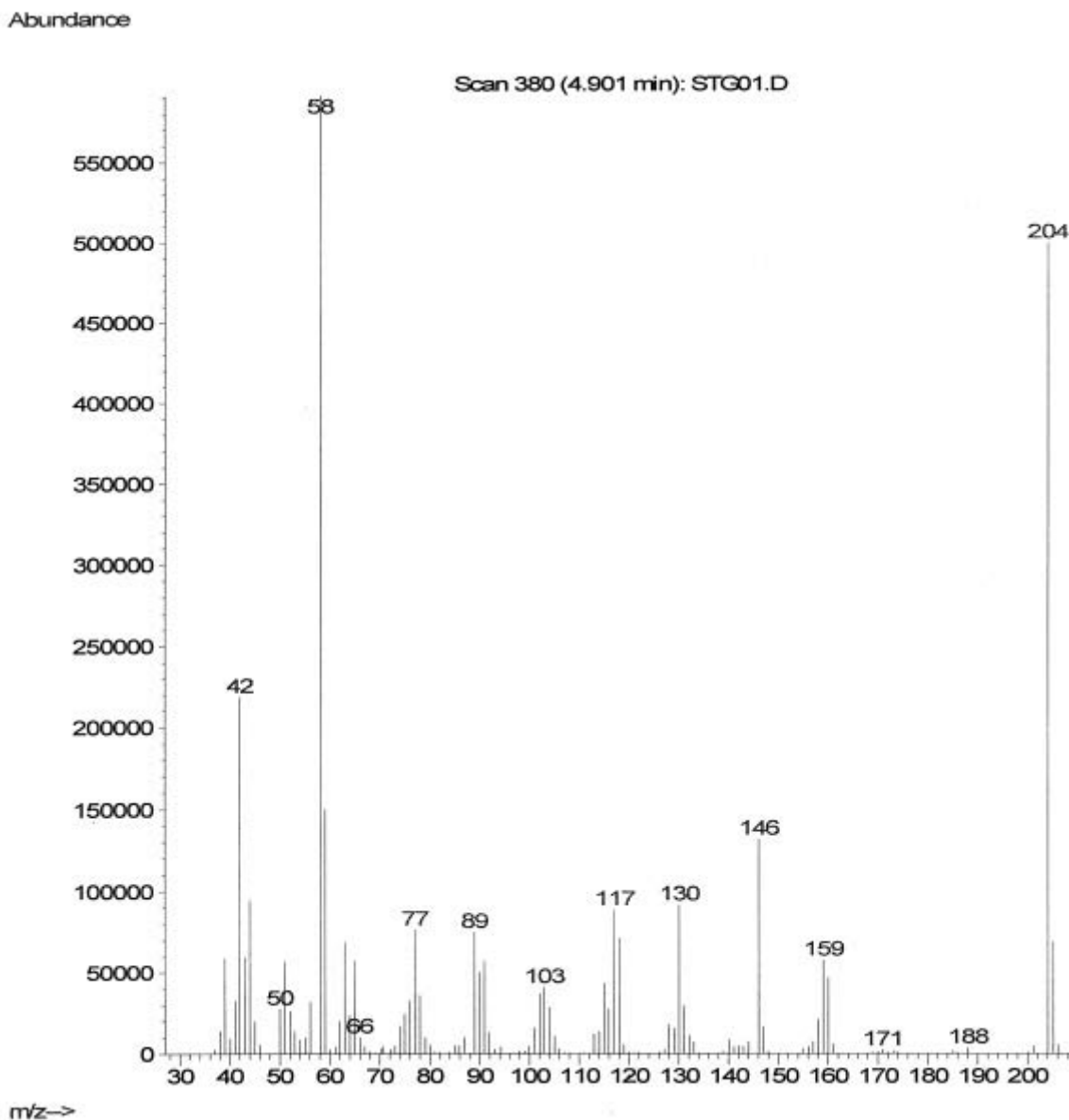
Ryc. 7 - Chromatogram sumy jonów standardu psylocyny przeanalizowanego na selektywnym detektorze masowym (MSD) z serii Hewlett Packard 5970 z następującymi parametrami: port iniekcji 265°C i temperatura detektora 280°C. Temperatura początkowa 90°C, wzrost prędkości 25°C/min i temperatura końcowa 300°C z utrzymaniem przez 4 minuty.

Abundance

Scan 380 (4.901 min): STG01.D



Ryc. 8 - Spektrogram masy standardu psylocyny przeanalizowanego na selektywnym detektorze masowym (MSD) z serii Hewlett Packard 5970 z następującymi parametrami: port iniekcji 265°C i temperatura detektora 280°C. Temperatura początkowa 90°C, wzrost prędkości 25°C/min i temperatura końcowa 300°C z utrzymaniem przez 4 minuty.



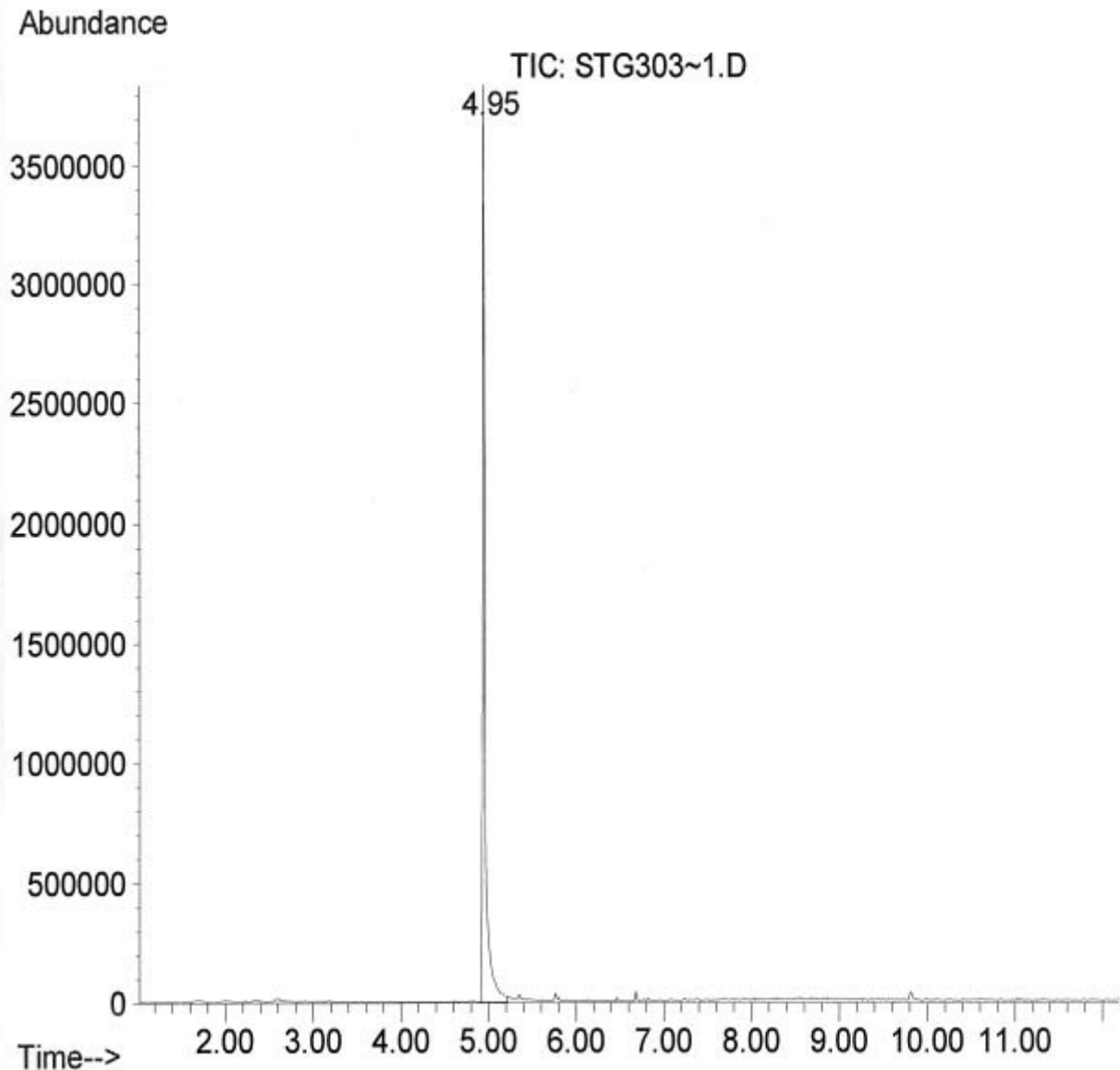
Ryc. 9 - Poszerzone spektrum masy standardu psylocyny przeanalizowanego na selektywnym detektorze masowym (MSD) z serii Hewlett Packard 5970 z następującymi parametrami: port iniekcji 265°C i temperatura detektora 280°C. Temperatura początkowa 90°C, wzrost prędkości 25°C/min i temperatura końcowa 300°C z utrzymaniem przez 4 minuty.

25 próbek "pinów" także przeanalizowano GC/MS. Z tych 25 próbek, 19 było zgodnych z czasem retencji i wzorcem fragmentacji masy spektralnej psylocybiny. W trzech próbkach nie stwierdzono, psylocyny i psylocybiny (Tabela 2).

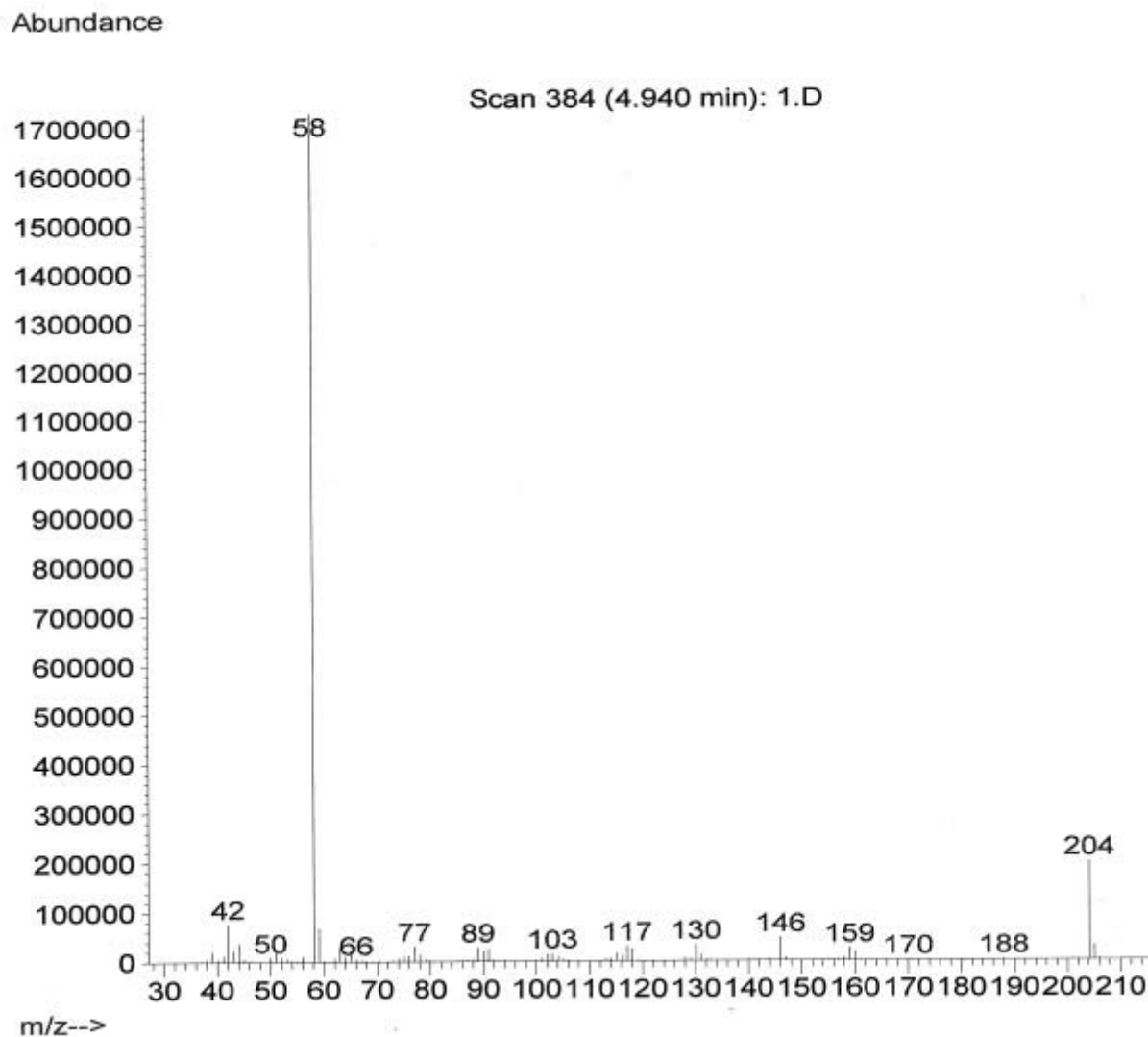
Tabela 2 - Wyniki chromatografii gazowej/spektrometru masowego (GC/MS).*				
Rodzaje próbek	Łączna ilość przeanalizowanych próbek	zg. z Psylocyną	Wskazuje Psylocybina	Nie wykryto
Zarodniki	4			4
Grzybnia	9			9
Węzółki grzybni	22	12	7	3
Piny	25	19	3	3
Grzyby	11	11		

* Wyniki chromatografii gazowej/spektrometru masowego (GC/MS) na różnych etapach rozwoju grzybów *Psilocybe cyanescens*. Próbkę zostały przeanalizowane na chromatografii gazowej Hewlett Packard 5890 Serii II sprzęgniętej z selektywnym detektorem masowym (MSD) Hewlett Packard 5970 i systemem detektora chromatografu gazowego (GCD) Hewlett Packard G1800A. Próbkę uważano za zgodne z (zg. z) psylocyną jeśli ich czas retencji i wzorzec fragmentacji masy spektralnej pasowały do standardu psylocyny. Uważano, że próbki wskazują psylocynę jeśli ich czas retencji był zgodny ze standardem psylocyny i zawierał widoczne jony, lecz brakowało mu jonów w całkowitym wzorcu fragmentacji.

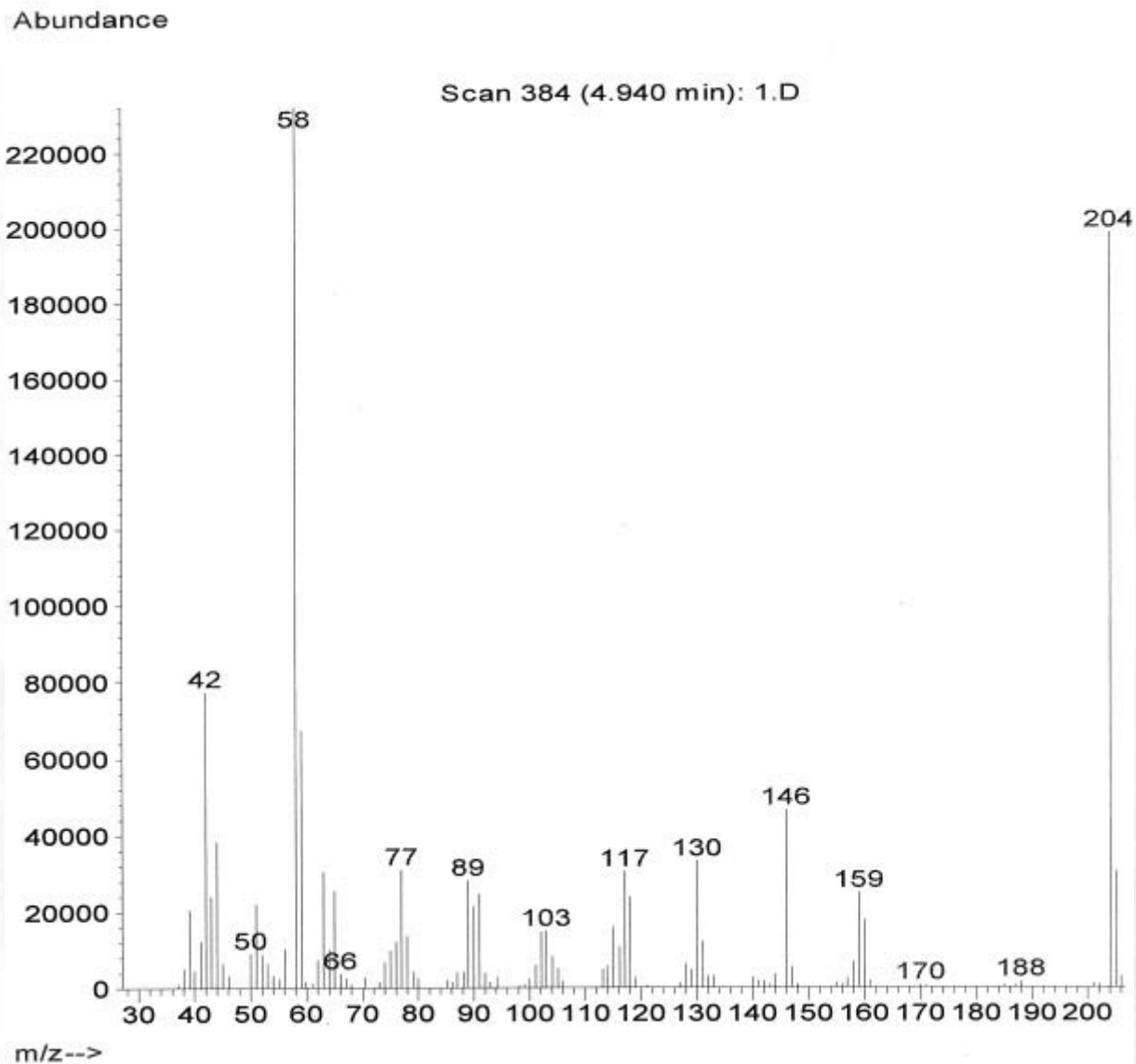
Przeanalizowano także próbki dojrzałego grzyba. Przy pomocy TLC i GC/MS przeanalizowano jedenaście próbek. Wszystkie jedenaście próbek było zgodne ze standardem psylocynowym nakropionym na płytkę TLC. Z tych 11 próbek, 2 wskazywały również na psilocybinę w próbce. Wszystkie 11 próbek przeanalizowanych na GC/MS było zgodnych ze standardem psylocynowym (Ryc. 10-12).



Ryc. 10 - Chromatogram sumy jonów próbki grzybowej przeanalizowanej na selektywnym detektorze masowym (MSD) z serii Hewlett Packard 5970 z następującymi parametrami: port iniekcji 265°C i temperatura detektora 280°C. Temperatura początkowa 90°C, wzrost prędkości 25°C/min i temperatura końcowa 300°C z utrzymaniem przez 4 minuty.



Ryc. 11 - Spektrum masy próbki grzybowej przeanalizowanej na selektywnym detektorze masowym (MSD) z serii Hewlett Packard 5970 z następującymi parametrami: port iniekcji 265°C i temperatura detektora 280°C. Temperatura początkowa 90°C, wzrost prędkości 25°C/min i temperatura końcowa 300°C z utrzymaniem przez 4 minuty.



Ryc. 12 - Poszerzone spektrum masy próbki grzybowej przeanalizowanej na selektywnym detektorze masowym (MSD) z serii Hewlett Packard 5970 z następującymi parametrami: port iniekcji 265°C i temperatura detektora 280°C. Temperatura początkowa 90°C, wzrost prędkości 25°C/min i temperatura końcowa 300°C z utrzymaniem przez 4 minuty.

Było kilka zauważalnych różnic w próbkach wyhodowanych przy świetle niebezpośrednim w porównaniu z próbkami wyhodowanymi w ciemności. Wszystkie próbki zaczęły ukazywać rozwój grzybni po 4 dniach. Pierwsze oznaki owocników zaobserwowano od 19 do 25 dnia w próbkach, które były uprawiane przy świetle niebezpośrednim, ze średnią wynoszącą 21 dni. Pierwsze oznaki owocników zaobserwowano od 23 do 45 dnia dla próbek, które były uprawiane w ciemności, ze średnią wynoszącą 26 dni. Próbki, które były uprawiane w świetle niebezpośrednim miały primordia, które rosły szybciej i były większe. Były pulchne, o żółtym kolorze z brązowymi główkami. Próbki, które były uprawiane w ciemności miały małe białe primordia, które były cienkie i długie. Zabarwienie było białawe jedynie u kilku mających ciemnobrązowe główki. Grzyby, które były uprawiane w świetle niebezpośrednim miały grube trzony z kapeluszami w kolorze od żółtawego do kasztanowego. Grzyby, które były uprawiane w ciemności miały jaśniejsze trzony, które były o wiele cieńsze niż grzyby uprawiane w świetle. Kapelusze grzybów uprawianych w ciemności miały także jaśniejszy kolor niż grzybów uprawianych przy niebezpośrednim świetle. Psylocyna i/lub psilocybina zostały wykryte w węzłkach grzybni, w pinach oraz w dojrzałych grzybach ze wszystkich próbek wyhodowanych zarówno w ciemności jak i przy świetle.

Wnioski

Leki psychoaktywne psylocyna i psilocybina nie zostały wykryte w grzybni, najwcześniejszym stadium rozwoju grzyba. Leki te zostały zidentyfikowane w węzełkach grzybni, najwcześniejszych stadiach owocnika grzyba.

Światło wpływa na wzrost grzyba *Psilocybe cyanescens*. Wpływ ten jest widoczny w czasie rozwoju i pojawiania się grzyba. Światło wpływało na kolor i rozmiar zarówno owocników jak i dojrzałego grzyba. Światło nie wpłynęło na obecność psylocyny lub psilocybiny we wczesnych stadiach primordii lub dojrzałych grzybów, ani nie wpłynęło na możliwość wykrycia tych leków psychotropowych. Wygląda na to, że grzyby *Psilocybe cyanescens* nie są fotosyntetyczne, lecz są światłoczułe.

Podziękowania

Autor pragnie podziękować dr Davidowi McLaughlin, z Wydziału Biologii Roślinnej, Uniwersytetu Minnesota za jego czas i pomoc w zidentyfikowaniu grzyba, oraz w wyjaśnieniach odnośnie klasyfikacji grzybów i rozwoju grzyba. Projekt ten został wsparty przez Federalne Biuro Śledcze, Gabinet Minneapolis, które wspólnie zapewniło dostawy.

Odnośniki

1. Minnesota Statutes Chapter 152.02. Wykazy substancji kontrolowanych; Poddział 2, Wykaz I. Następujące pozycje wymienione są w Wykazie I: (3) Każdy materiał, związek, mieszanka lub preparat, który zawiera jakąkolwiek ilość następujących substancji halucynogennych, ich soli, izomerów i soli izomerów, jeżeli nie wyraźnie wykluczonych, ilekroć istnienie takich soli, izomerów, i soli izomerów jest możliwe w konkretnej nazwie chemicznej: 3,4-metylenedioksyamfetamina; 4-bromo-2,5-dimetoksyamfetamina; 2,5-dimetoksyamfetamina; 4-metoksyamfetamina; 5-metoksy-3,4-metylenedioksyamfetamina; Bufotenina; Dietylotryptamina; Dimetylotryptamina; 3,4,5-trimetoksyamfetamina; 4-metylo-2,5-dimetoksyamfetamina; Ibogaina; Dietyloamid kwasu lizergowego; Marihuana; Meskalina; Benzylat n-etylo-3-piperydylu; Benzylat n-metylo-3-piperydylu; Psilocybina; Psylocyna; Tetrahydrokanabinole; 1-(1-(2-tienylo) cykloheksylo) piperydyna; N-etylo-1-fenylo-cykloheksyloamina; 1(1-fenylocykloheksylo) pirolidyna.
2. Kaul TN. Introduction to mushroom science. Enfield, New Hampshire: Science Publishers, Inc., 1997.
3. McKnight KH and McKnight VB. A field guide to mushrooms. Boston: Houghton Mifflin Company, 1987.
4. Rumack BH and Salzman E. Mushroom poisoning: diagnosis and treatment. West Palm Beach, Florida: CRC Press, Inc., 1978.
5. Ammirati JF, Traquair JA. and Horgen PA. Poisonous mushrooms of the Northern United States and Canada. Minneapolis: University of Minnesota Press, 1985.
6. Guzman G. The genus *Psilocybe*. Nova Hedwigia: Beih, 1983;74:1-439.
7. Guzman G. Supplement to the monograph of the genus *Psilocybe*. In: Petrini O and Horak E, eds., Taxonomic monographs of Agaricales. Bibliotheca Mycologica 1995;159:91-141.
8. Singer R and Smith AH. Mycological investigations on teonanacatl, the Mexican hallucinogenic mushroom: Part II. A taxonomic monograph of *Psilocybe*, section *Caerulescentes*. Mycologia 1958;50:262-303.
9. Stamets P and Chilton JS. The mushroom cultivator. Olympia, Washington: Agarikon Press, 1983.
10. *Psilocybe Fanaticus* (PFtek), 1996.

[tłumaczenie: cjuchu]