

COMPORTAMIENTO DE EXTRACTOS DE DIVERSAS ESPECIES DEL GENERO *AMANITA*, FRENTE A LA REACCION DE LAS AMANITO - TOXINAS

J. M. LOSA QUINTANA *

RESUMEN:

La identificación química y cromatográfica de las amanito-toxinas fue puesta a punto por Sullivan y cols. 1965. Su técnica ha sido aplicada para demostrar la presencia de dichas sustancias en extractos de diversas especies del género *Amanita*. Como método se han situado en la misma placa extractos de dichas especies y se han contrastado con extractos de *Amanita phalloides*, para así diferenciar los correspondientes desarrollos. Fueron analizadas: *A. aspera*; *A. muscaria*; *A. pantherina* y *Paxillus involutus*. La presencia de amanito-toxinas a y b sólo se evidenció en los extractos de *A. phalloides*.

SUMMARY:

The chemical and chromatographical identification of amanito-toxins was started by Sullivan & all. 1965. I applied that methode with extracts of some species of *Amanita* genus to test inf there were that toxins in them. The methode used was to put in the same plate extracts of some species of this genus and confront with *Amanita phalloides* stracts, to show the differences. Amanito-toxins were detected in *A. phalloides* only.

INTRODUCCION

La identificación química de las amanito-toxinas fue propuesta por Block y colaboradores en 1955. Posteriormente Sullivan y otros aplican dicho método a técnicas de cromatografía en capa fina.

Este método he querido aplicarlo situando en la misma placa diversos extractos de especies del género *Amanita* para observar su comportamiento.

(*) Departamento de Botánica. Facultad de Biología. Universidad de León.
Comunicación presentada al III Simposio Nacional de Botánica Criptogámica. Málaga, 1978.

MATERIAL Y METODO

Se han utilizado extractos de diversas especies de *Amanita* en especial *Amanita aspera*, *A. muscaria*, *A. pantherina*, y también *Paxillus involutus*, para observar su reacción ante la reacción propia de las amanito-toxinas que fue descrita a partir de la *A. phalloides* que se toma como testigo en todas las placas realizadas.

Para la obtención del extracto se ha partido de carpóforos recientemente recolectados a los que se ha sometido a una relativa desecación, para poder proceder a su trituración.

El peso de los cuerpos fructíferos de cada una de las especies que se tomó como partida fue de 450 gr.

Después de ser triturados se sometieron a una extracción con metanol en soxlet y un concentrado de dicha extracción en rotavapor hasta una concentración de 5 c.c. Estos concentrados sirvieron como punto de partida para las cromatografías que fueron realizadas.

La preparación de las placas fue utilizando 30 grs. de Sílicagel por 60 ml. de agua bidestilada, activando las placas a 105° durante 30 minutos.

Con la micropipeta se sitúan cantidades iguales de cada uno de los extractos de las especies de *Amanita* en la placa, utilizando diversos desarrollantes para apreciar posibles diferencias.

Una vez alcanzado el desarrollo en el eluyente empleado, fueron observadas a los rayos de luz U.V. revelando posteriormente con cinamaldehído al 1% en metanol, pulverizando en las placas, que son expuestas posteriormente a la acción de los vapores de ácido clorhídrico durante 10 minutos.

RESULTADOS

Solamente se dan aquellos que disponemos de documentación gráfica para poder ponerlos en evidencia.

Placa n.º 1: Se utiliza como testigo *Amanita phalloides* y se contrasta su comportamiento con el de los extractos de *A. aspera*, *A. muscaria*, y *A. pantherina*. Se emplea como desarrollante una mezcla 1:1 de Metanol y Metil-etil-cetona. La única que muestra fluorescencia a la luz U.V. es el extracto de *Amanita phalloides*. En el desarrollo de su extracto aparece claramente una mancha con un Rf de 0,25 a 0,34, no mostrando las restantes especies ninguna característica comparable.

Placa n.º 2: Se contrasta frente al comportamiento de la *A. phalloides* las especies *A. aspera*, *A. muscaria* y *Paxillus involutus*.

Se emplea para desarrollante la mezcla: N-butanol, ácido acético y agua a las proporciones 4:1:1; a la luz U.V. sólo se aprecia fluorescencia en el extracto de *A. phalloides*. Después del revelado en el recorrido de la *A. phalloides* aparece una primera mancha cuyo Rf va de 0,16 a 0,37, que corresponde a la beta-amanitina, una

segunda mancha muestra una Rf que va de 0,5 a 0,66 que corresponde a la alfa-amanitina. En los extractos de las demás especies no se observa ninguna característica destacable.

La cromatografía en papel de filtro Watman n.º 1, no mostró resultados positivos destacables.

CONCLUSIONES

La técnica de identificación de las amanitinas a partir de extractos de cuerpos fructíferos de estas especies muestra que únicamente están presentes estas sustancias en la *Amanita phalloides*.

La extracción de las amanitinas con metanol y posterior concentración del extracto, es la técnica que permite realizar el desarrollo sobre placas de silicagel en capa fina.

El desarrollo con metano –metil-etil-cetona (1:1) es un buen método para identificar la beta-amanitina con un Rf de 0,30.

El desarrollo con N-butanol, ácido acético y agua (4:1:1) muestra la presencia de beta-amanitina para un Rf de 0,26 y de la alfa-amanitina para un Rf de 0,58.

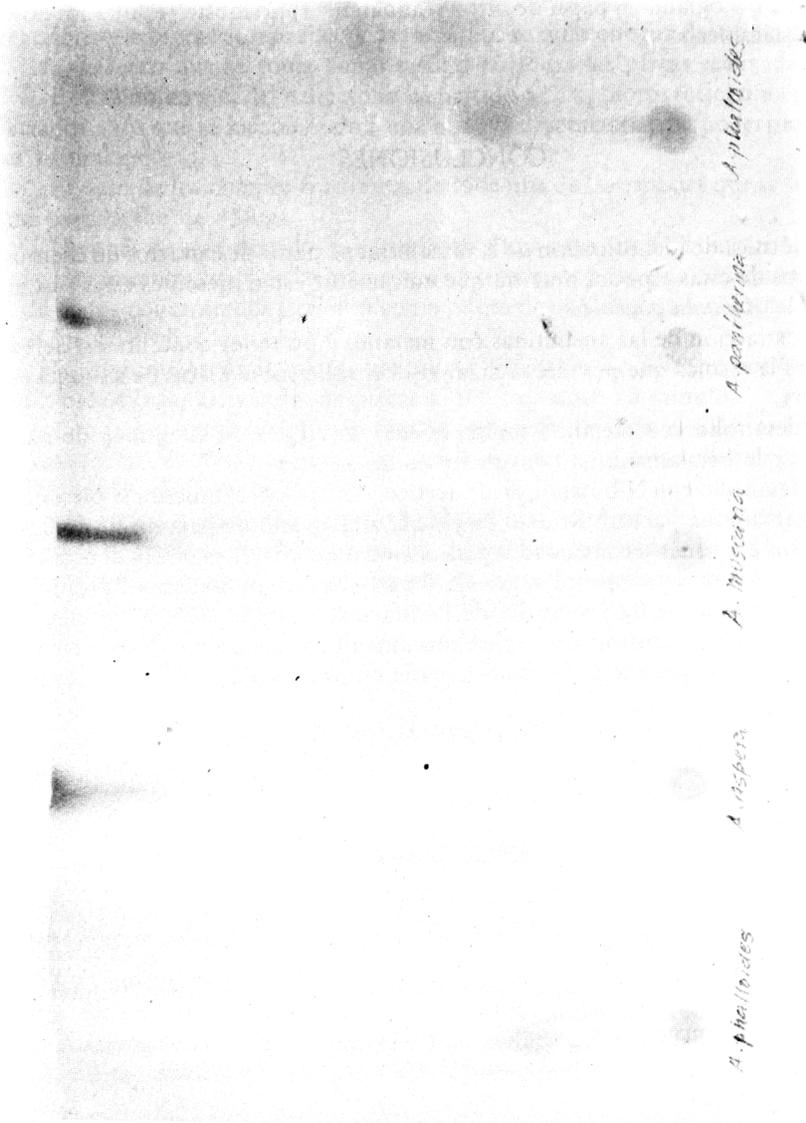
De los eluyentes recomendados para la cromatografía de péptidos el más adecuado resultó ser N–propanol –agua (7:3) para el que se obtuvo un Rf propio de la beta-amanitina de 0,63 y un Rf de la alfa-amanitina de 0,73.

En todos los cromatogramas que había amanitinas se observó fluorescencia a la luz U.V. Las experiencias de cromatografía en papel no dieron buenos resultados.

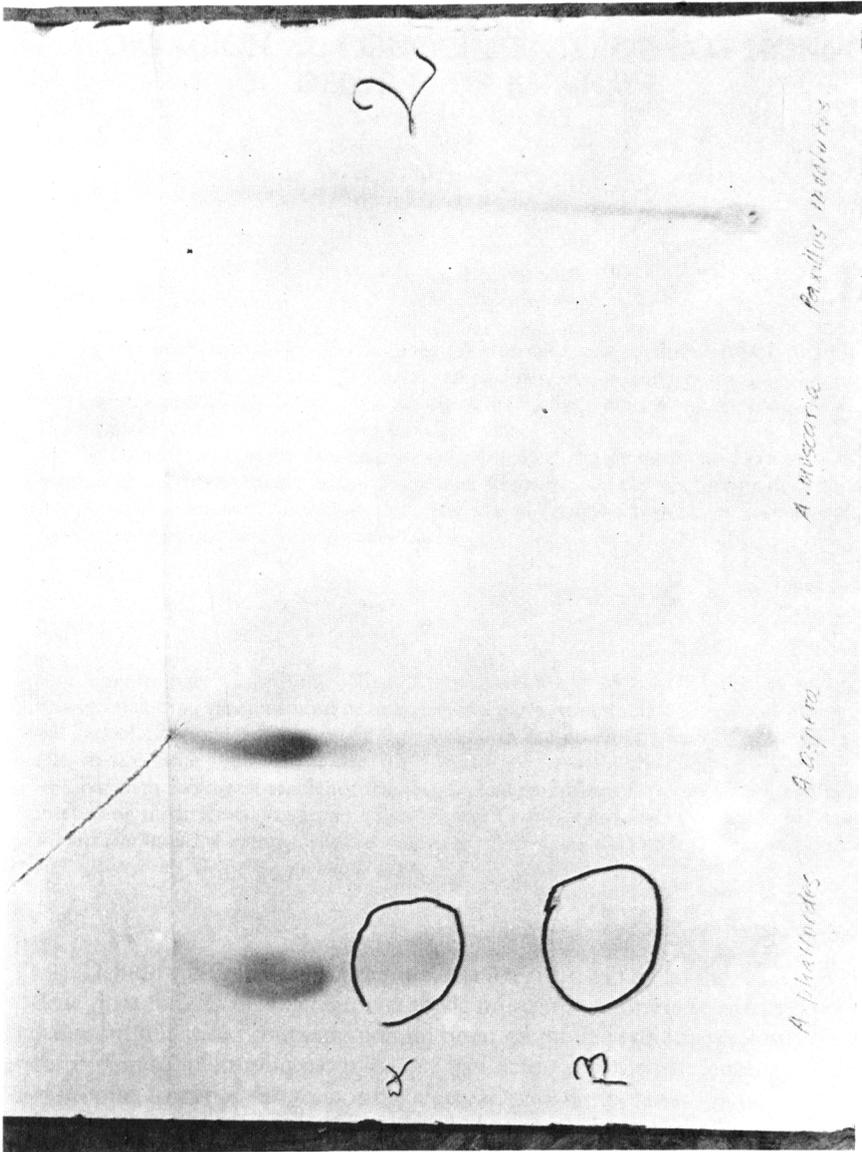
BIBLIOGRAFIA

- BLOCK, S.S. & STEPHENS, R.L. 1955: Chemical identification of Amanita toxin in Mushrooms *Science* 1: 505-506.
- SULLIVAN, G. & otros. 1965: Identification of a and b Amanitin by thin layer Chromatography. *J. Pharm. Sci.* 54 (6): 921-922.
- TYLER, V.E.; BENEDICT, & ROBBERS, J. E. 1966 Ocurrance of amanito toxins in American Collections of Deadly Amanitas *J. Pharm. Sci.* 55 (6): 590-593.

(Recibido el 15 de abril de 1979)



Fotografía de la placa nº 1.



Fotografía de la placa nº 2.

