

PRESENCIA DE ACTIVIDAD MUTAGENICA EN FRIJOLES (*PHASEOLUS VULGARIS* L) SIN NITROSAR

Caterina Guzmán- Verri,¹ Fernando García¹ y Manuel F. Sigarán.^{2,3}

RESUMEN

Extractos acuosos de trece muestras de frijoles (*Phaseolus vulgaris* L) adquiridos en el mercado local fueron analizados por el método de Ames utilizando la cepa *Salmonella typhimurium* LT2 TA102. Cinco de las muestras mostraron actividad mutagénica (tasa de reversión mayor a 1,5). A diferencia de estudios anteriores, no se observó efecto sinérgico entre la sal y la nitrosación, individual o conjuntamente, sobre la actividad mutagénica detectada. (Rev. Cost. Cienc. Méd. 1993; 14(3, 4): 51-54).

Key words: Ames test, *Phaseolus vulgaris* L, mutagenic activity, *Salmonella typhimurium*.

INTRODUCCION

El cáncer gástrico posee la mayor tasa de incidencia mundial en comparación con otros tipos de cáncer, con 670 000 casos por año según un informe publicado en 1988 (1). En este contexto, Costa Rica ocupa el segundo lugar en incidencia, superada solamente por Japón (2). El desarrollo del cáncer de estómago está relacionado con muchos factores, incluyendo los de tipo ambiental. Entre

estos últimos, la dieta ha sido el más implicado (3). Uno de los componentes básicos de la dieta del costarricense son los frijoles (*Phaseolus vulgaris* L) (4). Los estudios previos han demostrado la presencia de sustancias mutagénicas en este tipo grano generadas por nitrosación (5, 6, 7). El propósito de este estudio fue analizar la presencia de actividad mutagénica en frijoles sin nitrosar. Asimismo, se evaluó el efecto de la sal y la nitrosación, individual y conjuntamente, sobre esta actividad.

MATERIALES Y METODOS

Se adquirieron trece muestras de frijoles (*P. vulgaris* L) en el mercado local costarricense de manera aleatoria. Ocho muestras (muestras 1 a 8) procedían del comercio de Cartago. La muestra 9 fue obtenida en la Sección de Nutrición del Hospital México. Las cuatro muestras restantes (muestras 10 a 13) fueron recolectadas en San Miguel de Naranjo, a las cuales se les aplicó insecticida Counter y abono N15 P15 K15 durante su cultivo. Tanto la preparación de los extractos como la nitrosación de los mismos se llevó a cabo siguiendo la metodología descrita previamente (6). Luego de los diferentes tratamientos, las muestras se esterilizaron por filtración utilizando filtros Swinex, 0,22 μ m. La actividad mutagénica se analizó por triplicado para cada muestra, según el método de Ames por incorporación al plato (8). La cepa *Salmonella typhimurium* LT2 TA102

1 Facultad de Microbiología.

2 Escuela de Medicina. Universidad de Costa Rica.

3 Departamento de Patología. Hospital México.

fue gentilmente suministrada por el Dr. Bruce N. Ames de la Universidad de California, Estados Unidos. La metodología utilizada para la confirmación del genotipo y la tasa de reversión espontánea de la cepa TA 102 fue descrita anteriormente (7). Como mutágenos control se utilizaron N-metil-N-nitro-Nnitrosoguanidina (MNNG, Sigma Co.) y mitomicina C (Bristol Caribbean Inc.). El número de colonias revertantes se determinó manualmente con un contador de colonias (Darkfield Quebec Colony Counter, modelo 3327, American Optical) y para cada muestra se calculó el promedio de revertantes, la desviación estándar y la tasa de reversión (8). Los datos se analizaron siguiendo el criterio de Kamiyama y Michioka para determinar la tasa de reversión: si ésta fue mayor de 3,0 se considera que la muestra presenta actividad mutagénica; entre 3,0 y 1,5 se considera una mutagenicidad probable y valores menores de 1,5, no se considera que exista actividad mutagénica (9). Para comparar las diferentes muestras en un mismo ensayo se utilizó la prueba estadística de t de Student con un 95% de confianza.

RESULTADOS

Cinco de las trece muestras analizadas mostraron una tasa de reversión mayor de 1,5. De éstas, dos muestras mostraron resultados francamente positivos (muestras 2 y 5; ver Cuadro 1) mientras que en las otras tres la tasa de reversión fue ligeramente superior a 1,5 (muestras 6, 7 y 8). El resto de las muestras exhibieron una tasa de reversión de cerca de 1,0.

La adición de sal a los extractos no produjo un aumento significativo de las tasas de reversión con respecto al extracto control. En algunos casos se apreció más bien una disminución significativa de la tasa de reversión.

El efecto de la nitrosación sobre las diferentes muestras es variable. Solamente en un caso se observó un ligero aumento en la tasa de reversión (muestra 1). Sin embargo, este aumento no fue estadísticamente significativo ($p > 0,05$) y la tasa de reversión no

llegó a 1,5. En seis muestras se apreció una disminución en la tasa de reversión (muestras 2, 5, 6, 7, 8 y 9), mientras que en el resto de las muestras la tasa de reversión no se vio alterada.

La combinación de nitrito y sal con un mismo extracto tuvo también efectos variables en la tasa de reversión. En dos muestras (muestras 4 y 5) se encontró una diferencia significativa ($p < 0,05$) entre el tratamiento sólo con nitrito y el tratamiento con nitrito y sal. Solamente en una de estas muestras (muestra 4) se observó una tasa de reversión mayor a 1,5.

DISCUSION

La presencia de sustancias mutagénicas en los alimentos es uno de los factores más importantes a considerar en la etiología del cáncer gástrico. En el presente trabajo se investigó la presencia de sustancias con actividad mutagénica en frijoles (*Phaseolus vulgaris* L) en Costa Rica. El hallazgo más importante de esta investigación fue la detección de actividad mutagénica en cinco de las muestras sin tratamiento. A diferencia de estudios anteriores (5, 6, 7), en este trabajo se observa que la presencia de sustancias mutagénicas en algunas muestras de frijoles es independiente de la nitrosación.

La nitrosación de las muestras no incrementó la tasa de reversión, sino que se observó, por el contrario, una disminución estadísticamente significativa. Las muestras, cuyas tasas de reversión fueron superiores a 1,5 sin ningún tratamiento, experimentaron una disminución en su tasa de reversión al ser acidificadas, y luego tratadas con nitrito. De la misma manera, no se demostró efecto sinérgico alguno de la sal sobre la nitrosación y viceversa, excepto en un caso (muestra 4). La gran variabilidad de las muestras utilizadas en los distintos estudios puede ser uno de los factores más importantes que explican las diferencias observadas. Incluso, cultivos controlados de frijoles muestran diferencias significativas con respecto a la presencia de sustancias con actividad mutagénica (5). Por otra parte, se desconoce la

CUADRO 1

TASA DE REVERSION DE LOS EXTRACTOS ACUOSOS DE FRIJOLES (*PHASEOLUS VULGARIS* L) UTILIZANDO LA CEPA *S. TYPHIMURIUM* LT2 TA102

Muestra	Tasa de reversión ^a	
	Sin NO ₂	Con NO ₂
1	0,96 (0,20)	1,21 (0,25)
2	5,71 (2,50)	0,19 (0,07)
3	1,05 (0,20)	1,09 (0,23)
4	0,97 (0,20)	1,00 (0,19)
5	5,59 (2,50)	0,18 (0,06)
6	1,56 (0,63)	0,86 (0,16)
7	1,63 (0,80)	1,34 (0,48)
8	1,52 (0,26)	1,44 (0,59)
9	1,12 (0,05)	1,01 (0,11)
10 ^b	N. D. ^c	1,16 (0,13)
11	1,08 (0,14)	1,08 (0,11)
12	1,12 (0,20)	N. D.
13	1,10 (0,60)	N. D.

a. Valores entre paréntesis indican desviación estándar (p<0,05).

b. Las tasas de reversión para la muestra 10 se determinaron con base en el valor de los revertantes espontáneos con agua destilada.

c. N. D., no determinado.

composición química de la(s) sustancia(s) presente(s) en los frijoles que inducen las altas tasas de reversión. Estas sustancias podrían encontrarse naturalmente en los frijoles o en los diferentes aditivos utilizados en los cultivos, lo cual debe ser investigado en futuros estudios.

Debido a la complejidad del problema los estudios en animales de laboratorio no pueden ser considerados como concluyentes en este tipo de investigaciones (10). El uso de un ensayo bacteriano como el utilizado en la presente investigación es un método válido como prueba de tamizaje en el análisis de mezclas complejas para la detección de sustancias mutagénicas (11).

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean agradecer a Norman Rojas por su colaboración en el trabajo.

Este proyecto fue financiado por la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica (Proyecto No. 422-88-419).

ABSTRACT

Aqueous extracts of thirteen samples of beans (*Phaseolus vulgaris* L) from the local Costa Rican market were analyzed by the Ames Test, using the strain *Salmonella typhimurium* TA 102. Five of them showed mutagenic activity (reversion ratio more than 1.5). Neither a synergic effect of the commercial salt nor nitrosation, individually or jointly, on the mutagenic activity of the beans was observed.

BIBLIOGRAFIA

1. Parkin, D. M.; Laara, E.; Muir, C. S.: Estimates of the worldwide frequency of sixteen major cancers in 1980. *Inf. J. Cancer*. 1988; 41: 184-197.
2. Sierra, R.; Maxwell, D.; Muñoz, G.: Cancer in Costa Rica. *Cancer Res*. 1989; 49:717-724.
3. Correa, P.: Diet and gastric cancer. *Seminars in Oncology*. 1985; 12:2-10.
4. Arauz, A. G.; Monge, R. A.; Muñoz, L.; Rojas, M. T.: La dieta como factor de riesgo de la enfermedad cardiovascular en habitantes del área metropolitana, San José, Costa Rica. *Arch. Lat. Nutr*. 1991; 41: 350-361.
5. Van der Hoeven, J. C. M.; Lagerweij, W. J.; Van Gastel, A.; Huitink, J.; De Dreu, R.; Van Broekhoven, L. W.: Intercultivar differences with respect to mutagenicity of *Fava* beans (*Vicia faba* L) after incubation with nitrite. *Mutat. Res*. 1984; 130: 391-394.
6. Rojas, N.; Sigarón, M.; Bravo, A.; Jiménez, F.: Salt enhances the mutagenicity of nitrosated black beans. *Nutr. Cancer*. 1990; 14: 1-3.
7. Rojas, N.: Detección de actividad mutagénica en frijoles (*Phaseolus vulgaris* L) y tapas de dulce tratadas con nitrito usando *Salmonella typhimurium*. Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica, 1988.
8. Maron, D.; Ames, B. N.: Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutat. Res*. 1983; 113: 173-215.
9. Kamiyama, S., Michioka, O.: Mutagenic components of diets in high and low risk areas for stomach cancer. In: Stich, H. F.: *Carcinogens and Mutagens in the Environment*. Vol. 3, CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, 1983; 29-42.
10. Natarajan, A.; Obe, G.: How do *in vivo* mammalian assays compare to *in vitro* assays in their ability to detect mutagens? *Mutat. Res*. 1986; 167: 189-201.
11. Ames, B. N.: Carcinogenesis mechanisms: the debate continues. *Science*. 1991; 252:902.