



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO**  
**FACULTAD DE QUÍMICA**  
**PROGRAMA DE POSGRADO EN ALIMENTOS DEL**  
**CENTRO DE LA REPÚBLICA (PROPAC)**

**EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIMUTAGÉNICA DEL**  
**EXTRACTO DE TEPAME (*Acacia pennatula*)**

**Presenta**

**Trenado Uribe Miriam Blanca**

**Dirigido por**

**Loarca Piña María Guadalupe Flavia**

**Santiago de Querétaro, Querétaro a Julio 2010**

# EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIMUTAGÉNICA DE TEPAME

(*Acacia pennatula*)

Trenado Uribe, M.B.<sup>1</sup>; Loarca Piña, M.G.F.<sup>2</sup>; Guevara-González R.G.<sup>3</sup>; Feregrin-Pérez A. A.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Facultad de Química/ Licenciatura en biotecnología

<sup>2</sup> Facultad de Química/Programa de Posgrado en Alimentos del Centro de la República (PROPAC)

<sup>3</sup> Facultad de Ingeniería

Universidad Autónoma de Querétaro.

## RESUMEN

México presenta una gran biodiversidad lo que le confiere un campo de estudio muy importante, por lo que resulta ser interesante e indispensable conocer entre otras cosas la composición química de las plantas presentes en México, para un mejor manejo de estas especies y explotación de sus componentes químicos. Por lo que el objetivo de este estudio fue evaluar la capacidad antimutagénica del extracto metanólico de Tepame (*Acacia pennatula*), mediante el ensayo de microsuspensión, empleando las cepas de prueba de TA98 y TA100 *Salmonella typhimurium*. Este árbol representa una importancia a nivel ecológico y socioeconómico por su uso como leña, materia de construcción, medicina tradicional, para herramientas, corteza para curtiembres, alimento para ganado en Centroamérica, se distribuye muy ampliamente desde México hasta Nicaragua.

El extracto metanólico de Tepame evaluado presentó una concentración de compuestos fenólicos totales de 76.41 mg eq./g de muestra, extracto que presentó actividad antimutagénica en el intervalo de 69 % a 84 % para la cepa de prueba TA98 y de 56 % a 82 % TA100. Los resultados sugieren que el "Tepame" es una fuente importante de compuestos fenólicos con propiedad antimutagénica. Lo que le confiere valor agregado a esta planta ya que su extracto metanólico puede ser empleado en la industria.

**Palabras clave:** Tepame (*Acacia pennatula*), antimutagenicidad, microsuspensión.

## ANTECEDENTES

México ocupa el cuarto lugar a nivel mundial en diversidad de plantas vasculares con aproximadamente 26 000 especies, siendo aproximadamente la mitad de estas, endémicas de México (CONABIO, 1998). En contraste, el estudio de estas plantas es bajo, de tal manera resulta ser indispensable conocer entre otras cosas su composición química para un mejor manejo de estas especies (Román y col, 2008), debido a que contienen diversos compuestos con actividad biológica, dentro de los que destacan los compuestos fenólicos productos del metabolismo secundario de las plantas, las cuales se les han atribuido actividad antioxidante y antimutagénica. Propiedades que se les han relacionado con la protección de la célula a daños ocasionados por agentes externos o bien radicales libres provenientes de su propio metabolismo (Veloz-García *et al.*, 2004).

Las especies arbóreas en los trópicos son fuente importante de alimento para el ganado y la fauna silvestre, principalmente durante la época seca (Baumer M., 1992), como ejemplo se encuentra el Tepame (*Acacia pennatula*) de la familia *Leguminosae* que se extiende de Sonora a Tamaulipas en el norte de México hasta Oaxaca y Chiapas en el sur, llegando hasta Nicaragua. Debido a sus usos múltiples representa importancia ecológica y socioeconómica, empleándose como leña, materia de construcción, sustancia medicinal,

para herramientas, corteza para curtiembres, alimento para ganado en pastoreo o recolectándose la vaina (contiene de 15 a 26% de proteína) para integrarlo en dietas para el ganado, además de ser un componente ecológico para la recuperación y protección de suelos, conservación de fauna, del paisaje y sombra (Nieto-Villalobos, 2000; Martínez-Ojeda, 2004).

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL**

Evaluar la capacidad antimutagénica del extracto de Tepame (*Acacia pennatula*) en las cepas de prueba TA98 y TA100 de *Salmonella typhimurium*, mediante el ensayo de microsuspensión

### **OBJETIVOS PARTICULARES**

1. Elaborar la curva dosis respuesta de 4-fenilbenzidina en la cepa de prueba TA98 *Salmonella typhimurium* mediante el ensayo de microsuspensión
2. Elaborar la curva dosis respuesta de azida de sodio en la cepa de prueba TA100 *Salmonella typhimurium* mediante el ensayo de microsuspensión
3. Evaluar la capacidad antimutagénica del extracto metanólico de Tepame (*Acacia pennatula*) sobre las cepas de prueba TA98 y TA100 *Salmonella typhimurium*

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

### **MATERIALES**

#### **Compuestos químicos**

Todos los reactivos utilizados serán marca Sigma y T. J. Baker

#### **Material biológico**

Las cepas *Salmonella typhimurium* TA100 y TA98 se obtuvieron de Molecular Toxicology Inc. (MolTox).

### **MÉTODOS**

El ensayo de mutagenicidad y antimutagenicidad se llevó a cabo por el método descrito por Kado y col (1983 y 1986). Brevemente las cepas de prueba TA98 y TA100 se crecieron en caldo nutritivo No. 2 por 16 horas a 37 °C en agitación, hasta obtener una concentración de  $1 \times 10^9$  células/ml, posteriormente estas se concentraron a  $1 \times 10^{10}$  células/ml.

Para la curva dosis-respuestas de mutágenos; en tubos estériles se adicionan 0.1 ml de la suspensión de bacteria más 0.01 ml de 4-fenilbenzidina para TA98 y azida de sodio para TA100. Los tubos se incubaron a 37°C por 90 min en agitación, al término de la incubación se adicionó a cada tubo 2 ml de agar de superficie, se agito y se vertió en cajas de medio mínimo de Vogel-Bonner, e incubaron a 37°C durante 48 horas, al término de la incubación se contaron el número de colonias revertantes por caja.

La antimutagenicidad del extracto de Tepame se evaluó colocando en tubos estériles 0.1 ml de la suspensión de bacteria más 0.01 ml del extracto de Tepame (0.077, 0.155, 0.31, 0.0.625, 1.25, 2.5, 5.0 mg/ml), las incubaciones subsecuentes se realizaron como se describe anteriormente. Siempre se corrió un control negativo con DMSO para TA98 y

NaCl 0.9% para TA100. Se llevaron a cabo tres experimentos independientes con dos repeticiones.

## RESULTADOS

La capacidad antimutagénica del extracto metanólico de "Tepame" se muestra en el Cuadro, extracto que presentó actividad antimutagénica en el intervalo de 69 % a 84 % para la cepa de prueba TA98 y de 56 % a 82 % TA100, habiendo diferencia estadística solo a las concentraciones mayores evaluadas. Cabe destacar que estos son los primeros estudios de la capacidad antimutagénica de extractos de este tipo de árboles. Sin embargo, Veloz- García y col. (2004), reportaron porcentajes de inhibición de manera dosis-dependiente para un extracto agua:metanol:acetona (8:1:1 v/v/v) de la semilla de cascalote (*Caesalpinia cacalaco*) empleada en la industria de la curtiduría, obteniendo una inhibición mayor de 64% a la máxima dosis probada (0.78 mg eq. de ácido gálico/ml) utilizando el mismo ensayo de microsuspensión. Lo que sugiere que el extracto metanólico del Tepame presenta mayor potencial antimutagénico.

**Cuadro. Actividad antimutagénica del extracto metanólico de Tepame (*Acacia pennatula*) en las cepas de prueba TA98 y TA100 (*S. typhimurium*)**

	Flavonoides (mg eq. de Ácido gálico/g extracto)	No. Colonias Revertantes	Inhibición (%)
<b>TA98</b>			
<b>4-Nitro</b>	-----	651 ± 33.06	
<b>Fenilbenzidina</b>			
<b>0.077</b>	0.0059	188.5 ± 3.5 <sup>a</sup>	<b>71.0</b>
<b>0.155</b>	0.0118	203.5 ± 3.3 <sup>a</sup>	<b>69.0</b>
<b>0.31</b>	0.024	190.5 ± 7.54 <sup>a</sup>	<b>71.0</b>
<b>TEPAME 0.625</b>	0.048	196.25 ± 3.76 <sup>a</sup>	<b>70.0</b>
<b>1.25</b>	0.096	140.5 ± 4.97 <sup>b</sup>	<b>78.0</b>
<b>2.5</b>	0.191	118.66 ± 15.69 <sup>bc</sup>	<b>82.0</b>
<b>5.0</b>	0.382	105.33 ± 19.13 <sup>c</sup>	<b>84.0</b>
<b>TA100</b>			
<b>Azida de Sodio</b>	-----	761 ± 6.34	
<b>0.077</b>	0.0059	334.0 ± 6.73 <sup>a</sup>	<b>56.0</b>
<b>0.155</b>	0.0118	335.25 ± 2.75 <sup>a</sup>	<b>56.0</b>
<b>TEPAME 0.31</b>	0.024	336.0 ± 6.37 <sup>a</sup>	<b>56.0</b>
<b>0.625</b>	0.048	329.75 ± 10.35 <sup>a</sup>	<b>57.0</b>
<b>1.25</b>	0.096	246 ± 4.32 <sup>b</sup>	<b>68.0</b>
<b>2.5</b>	0.191	146 ± 9.53 <sup>c</sup>	<b>81.0</b>
<b>5.0</b>	0.382	135.25 ± 6.14 <sup>c</sup>	<b>82.0</b>

Los valores representan el promedio ± error estándar de tres experimentos independientes por duplicado. Las letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativa ( $\alpha=0.05$ ).

\* mg de extracto metanólico/ ml.

El extracto metanólico a las concentraciones evaluadas no fue ni mutagénico ni tóxico para las cepas de prueba TA98 y TA100 ya que el número de colonias revertantes fue similar que el control negativo de DMSO ( $100 \pm 4$  colonias revertantes/caja) para TA98 y de NaCl 0.9% ( $162 \pm 17.0$  colonias revertantes/caja) para TA100.

## CONCLUSIONES

El extracto metanólico de Tepame (*Acacia pennatula*) presento actividad antimutagénica en las dos cepas de prueba (TA98 y TA100) de *Salmonella typhimurium*, lo cual sugiere que el Tepame es una fuente importante de compuestos fenólicos con propiedad antimutagénica. Lo que le confiere valor agregado a esta planta ya que su extracto metanólico puede ser empleado en la industria. Propiciando con ello motivar a la propagación de este árbol que tiene una amplia extensión en el país y que actualmente es considerado en peligro de extinción.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Baumer, M., "Legume trees and other fodder trees as protein sources for livestock", FAO Animal production and health paper. 1-10, Roma, Italia, **1992**.

CONABIO (Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad), "La diversidad biológica de México: Estudio de País", **1998**

Kado, N. Y., Langley, D., and Eisenstadt, E. "A simple modification of the *Salmonella* liquid incubation assay, Increased sensitivity for detecting mutagens in human urine". Mutat Res., 121, 25-32, **1983**.

Kado, N. Y., Guirguis, G. N., Flessel, C. P., Chan, R. C., Chang, K., and Wesolowski, J. J. "Diurnal variation in community air determined by a *Salmonella* micro preincubation (microsuspension) procedure". Environmental Mutagenesis, 8, 53-66, **1986**

Martínez-Ojeda, E., "Recursos naturales de la zona arqueológica de Monte Albán", CONACULTA, México, **2004**.

Nieto-Villalobos, H., "Contribución de *Acacia pennatula* (carbón) a la productividad agroforestal sostenible de la Reserva Natural Miraflor-Moropotente, Estelí, Nicaragua", Centro agronómico de investigación y enseñanza, Tesis de Maestría en Ciencias, Costa Rica, **2000**.

Román, M. L., Palma, J. M., Zorrilla, J., Mora A. y Gallegos, A., "Degradabilidad *in situ* de la materia seca de la harina del fruto de guacima, *Guazuma ulmifolia*, con dietas de frutos de especies arbóreas", Universidad de Guadalajara., 26(3), 227-230, **2008**.

Veloz-García, R.A., Marín-Martínez, R., Veloz Rodríguez, R., Muñoz-Sánchez, C., Guevara Olvera, L., Miranda-López, R., González-Chavira, M. M., Torres-Pacheco, I., Guzman-Maldonado, S. H., Cardador Martínez, A., Loarca-Piña, M. G. F., Guevara-Gl, R., "Antimutagenic and antioxidant activities of cascalote (*Caesalpinia cacalaco*) phenolics", J Sci Food and agricultura 84:13, 1632-1638, **2004**.