

importante para la salud.

Palabras clave: patulina, micotoxinas, purés de manzana, alimentos ecológicos, evaluación del riesgo

#### CP.029- EFECTOS PROTECTORES DE LA L-CARNITINA EN LA ACTIVIDAD Y TRANSCRIPCIÓN DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES EN TILAPIAS EXPUESTAS A CILINDROSPERMOPSINA

Guzmán-Guillén R<sup>1</sup>, Puerto M<sup>1</sup>, Prieto AI<sup>1</sup>, Vasconcelos VM<sup>2,3</sup>, Jos A<sup>1</sup>, Camean AM<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Área de Toxicología, Dpto. de Nutrición y Bromatología, Toxicología y Medicina Legal, Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla. Sevilla. <sup>2</sup>Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Oporto. Rua Campo Alegre, Oporto, 4169-007, Portugal. <sup>3</sup>Centro de Investigación Marina y Ambiental (CIIMAR/CIMAR), Universidad de Oporto, Rua dos Bragas, m289, 4050-123 Porto, Portugal.

El aumento de las cianobacterias productoras de cilindropermopsina (CYN) se está convirtiendo en una preocupación debido a una posible contaminación del agua de bebida así como recreativas, pudiendo afectar a la salud de los organismos acuáticos y a los seres humanos. Diversos estudios han demostrado efectos tóxicos, carcinogénicos y mutagénicos de la CYN tanto *in vitro* como *in vivo*. El presente trabajo investiga los efectos de la L-carnitina (LC, β-hidroxi-γ-N-trimetilamonio-butirato) sustancia con propiedades antioxidantes, en el estrés oxidativo inducido por CYN pura o células liofilizadas de *A. ovalisporum*, que contiene dicha toxina, por vía oral en tilapias (*Oreochromis niloticus*). Se evaluó la actividad y la expresión génica relativa por técnicas de RT-PCR de las enzimas glutatión peroxidasa (GPx) y glutatión-S-transferasa (GSTs) en peces con y sin pretratamiento de LC (400 o 880 mg LC / kg de pescado / día durante un período de 21 días) antes de la intoxicación con CYN. En general, la actividad GSTs mostró un mayor cambio en el riñón que en el hígado de peces pretratados con ambas dosis de LC y expuestos a CYN pura. Con respecto a la expresión génica de GPx y GSTs, se observaron alteraciones significativas en hígados de peces pretratados principalmente con 400 mg LC / kg y expuestos CYN pura y a células liofilizadas de *A. ovalisporum*. En conclusión, los resultados sugieren que ambas dosis de LC inducen cambios significativos en marcadores de estrés oxidativo a nivel bioquímico y molecular. Por lo tanto, se puede considerar a la LC un quimioprotector útil en la profilaxis y prevención de daños en peces expuestos a CYN.

Agradecimientos: Al Ministerio Español de Ciencia e Innovación (CICYT, AGL2009-10026AL1) y a la Junta de Andalucía (P09-AGR-4672) y por la beca FPU concedida a Remedios Guzmán-Guillén.

Palabras clave: Cilindropermopsina, estrés oxidativo, expresión génica, L-carnitina.

#### CP.030- PAPEL PREVENTIVO DE LA L-CARNITINA FRENTE A LAS ALTERACIONES HISTOPATOLÓGICAS PRODUCIDAS POR CILINDROSPERMOPSINA EN TILAPIAS (*Oreochromis niloticus*)

Guzmán-Guillén R<sup>1</sup>, Rivalde MA<sup>2</sup>, Prieto AI<sup>1</sup>, Vázquez CM<sup>3</sup>, Moyano MR<sup>4</sup>, Blanco A<sup>2</sup>, Cameán AM<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Área de Toxicología. Departamento de Nutrición y Bromatología, Toxicología y Medicina Legal. Universidad de Sevilla. <sup>2</sup>Departamento de Anatomía y Anatomía y Patología comparativa. Universidad de Córdoba. <sup>3</sup>Departamento de Fisiología, Universidad de Sevilla. <sup>4</sup>Departamento de Farmacología, Toxicología y Medicina Legal. Universidad de Córdoba.

La Cilindropermopsina (CYN) es una de las cianotoxinas más

importantes en términos de salud humana y calidad ambiental. Esta toxina es producida por varias especies de cianobacterias entre las que se encuentra *Aphanizomenon ovalisporum*. En los últimos años, el potencial de acumulación de estas toxinas en distintas especies de animales acuáticos ha despertado especial interés desde el punto de vista de la seguridad alimentaria. Asimismo, se han descrito alteraciones histopatológicas en diferentes órganos de peces expuestos a CYN. En el presente trabajo nos interesó estudiar el posible efecto preventivo de la L-carnitina (LC) frente a las lesiones histopatológicas producidas por CYN en hígado y riñón de tilapias, así como una posible disminución de su distribución en los distintos órganos, utilizando técnicas de inmunohistoquímica. Para ello, se formaron nueve grupos con ocho tilapias cada uno, que fueron alimentados con una mezcla de diferentes componentes según tratamiento: pienso para peces, 400 ó 880 mg de LC / kg de pez administrada como pretratamiento durante 21 días y una dosis de 400 µg CYN/kg procedente de estándar puro o de células liofilizadas de *A. ovalisporum*. Los peces fueron sacrificados tras 24 horas desde la intoxicación y los órganos se extrajeron y conservaron para su posterior análisis por microscopía óptica, microscopía electrónica y el análisis inmunohistoquímico. Las Tilapias pretratadas con LC mostraron una disminución y/o desaparición de las lesiones producidas por CYN: degeneración hepática, gotas de grasa en hígado, glomerulopatía, dilatación de la capsula de Bowman y tumefacción renal. Además, se observó disminución de la presencia de CYN a nivel tubular y glomerular en riñón de peces pretratados con LC.

Agradecimientos: al CICYT (AGL2009-10026) y a la Junta de Andalucía (P09-AGR-4672) por la financiación del presente estudio y por la beca FPU concedida a Remedios Guzmán-Guillén.

Palabras clave: Cilindropermopsina, tilapias, L-carnitina, histopatología, inmunohistoquímica.

#### CP.031- ESTUDIO *IN VITRO* DE COMPUESTOS SULFURADOS DEL ACEITE ESENCIAL DE AJO PARA SU POTENCIAL USO EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA

Llana M<sup>1</sup>, Gutiérrez-Praena D<sup>1</sup>, Pichardo S<sup>1</sup>, Puerto M<sup>1</sup>, Bermúdez JM<sup>2</sup>, Aucejo S<sup>2</sup>, Cameán AM<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Área de Toxicología. Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla. España. <sup>2</sup>Área de Materiales y Sistemas de Envasado. Línea de desarrollo de nuevos materiales. ITENE. Paterna (Valencia), España.

La industria alimentaria ha comenzado a utilizar aceites ricos en compuestos sulfurados con propiedades antioxidantes y antibacterianas, como es el caso del aceite esencial de ajo, para desarrollar nuevos sistemas de envasado. La incorporación de este aceite a polímeros seleccionados da lugar a nuevos envases con propiedades que permiten aumentar la vida útil de los alimentos perecederos. En este sentido, se hace necesario evaluar la seguridad del uso de estas sustancias. El objetivo del presente estudio fue determinar la citotoxicidad basal producida por dipropil sulfuro (dPS) y dipropil disulfuro (dPdS), dos de los componentes del aceite esencial de ajo, así como por su mezcla (proporción 1:30 dPS:dPdS) en la línea celular Caco-2. Los biomarcadores ensayados fueron la captación de rojo neutro, el contenido total de proteínas y la reducción de la sal de tetrazolio MTS. Las células fueron expuestas durante 24 y 48 h a concentraciones comprendidas entre 0 y 200 µM de cada uno de los sulfurados, así como de su mezcla. Los resultados no mostraron diferencias significativas frente al control para ninguno de los tres marcadores.

Agradecimientos: los autores agradecen al Ministerio de Ciencia e Innovación (AGL2012-38357-C02-01) la financiación de este

proyecto y al Servicio de Biología del CITIUS por la asistencia técnica ofrecida.

Palabras clave: aceite esencial de ajo, citotoxicidad, dipropil sulfuro, dipropil disulfuro, Caco-2

### CP.032- CITOTOXICIDAD Y MECANISMOS DE ACCIÓN TÓXICA EN LA LÍNEA CELULAR HEPÁTICA HUMANA HEPG2 EXPUESTA A ARCILLAS MODIFICADAS

Maisanaba S<sup>1</sup>, Puerto M<sup>1</sup>, Pichardo S<sup>1</sup>, Jordá M<sup>2</sup>, Aucejo S<sup>2</sup>, Jos A<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Área de Toxicología, Dpto. de Nutrición y Bromatología, Toxicología y Medicina Legal, Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla. Sevilla. (angelesjos@us.es). <sup>2</sup>Área de Materiales y Sistemas de Envasado. Línea de Desarrollo de Nuevos Materiales. ITENE. Valencia.

Uno de los principales objetivos del uso de la nanotecnología en la industria alimentaria es aumentar la vida comercial de los productos. Para ello, ITENE ha desarrollado dos arcillas modificadas basadas en la montmorillonita, Clay 1 y Clay 2, con sales cuaternarias de amonio, hexadeciltrimetilamonio (HDTA) y HDTA+Acetilcolina (ACO), respectivamente. La incorporación de estas arcillas al polímero da lugar a materiales nanocompuestos con propiedades barreras mejoradas, entre otras. Sin embargo, la información existente sobre el riesgo que suponen para el consumidor es limitada, siendo necesaria su evaluación toxicológica. Por ello, se realizaron diferentes ensayos de citotoxicidad basal con Clay 1 y Clay 2 en la línea celular humana hepática HepG2 durante 24 y 48 h. Los biomarcadores ensayados fueron el contenido proteico total (PT) y la metabolización de la sal tetrazolio MTS. Tras la exposición de Clay 1 (0-8 µg/mL) no se observaron daños celulares tras 24 y 48 h. Sin embargo, en el caso de Clay 2 (0-125 µg/mL), se obtuvieron efectos citotóxicos para ambos biomarcadores. Para MTS se observaron daños en la concentración ensayada más elevada después de 24 h y desde 40-125 µg/mL a 48 h, resultando ser el biomarcador más sensible (EC50=88 µg/mL). En el caso de PT, se obtuvieron diferencias con respecto al control en las concentraciones 75 y 125 µg/mL tras ambos tiempos de exposición. Con el objetivo de determinar los posibles mecanismos de acción tóxica de Clay 2, se ensayaron biomarcadores de estrés oxidativo como el contenido de glutatión reducido (GSH) y generación de especies reactivas de oxígeno (ERO), así como el ensayo Cometa para valorar daño genotóxico. Se obtuvieron diferencias significativas en el contenido de GSH así como daños en el ADN, quedando excluida la generación de ERO. Por tanto, el modificador de Clay 2 podría estar directamente relacionado con la toxicidad observada, ya que con Clay 1 no se producen efectos tóxicos.

Agradecimientos: Junta de Andalucía (AGR5969) y Ministerio de Ciencia e Innovación (AGL2010-21210) por la financiación de este proyecto y al Servicio de Biología y Microscopía del CITIUS por la asistencia técnica ofrecida.

Palabras clave: arcillas modificadas, citotoxicidad, seguridad alimentaria, genotoxicidad, ROS.

### CP.033- DETERMINACIÓN DE MICOTOXINAS EN ROSQUILLETAS, UN TIPO DE PAN ESPECIAL TÍPICO DE LA COMUNIDAD VALENCIANA.

Rodríguez-Carrasco Y, Faus E, Font G, Berrada H

Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública, Ciencias de la Alimentación, Toxicología y Medicina Legal. Facultad de Farmacia (Universidad de Valencia).

La Reglamentación Técnico-Sanitaria para la fabricación, circulación y comercio de pan y panes especiales, aprobada por el Real Decreto 1137/1984, define como pan especial el pan, distinto del pan común, que cumple una serie de características,

entre las que destacan la adición de aditivos y/o coadyuvantes tecnológicos para prolongar su vida útil, y/o la adición de cualquier otro ingrediente alimentario. Las rosquilletas son un tipo de pan especial de habitual consumo, que se elabora de forma tradicional en la Comunidad Valenciana. Su ingrediente principal es el trigo que, como todos los cereales, puede estar contaminado por hongos filamentosos productores de micotoxinas, como los pertenecientes al Género *Fusarium*. El Reglamento 1881/2006 establece el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios, y fija el límite máximo para el deoxinivalenol en pan y productos de panadería en 500 µg/kg. En este trabajo se desarrolla un nuevo método analítico que permite la determinación de varias micotoxinas del Género *Fusarium* de forma simultánea, como nivalenol (NIV), fusarenon-X (FUS-X), diacetoxiscirpenol (DAS), 3-acetil-deoxinivalenol (3Ac-DON), neosolaniol (NEO), deoxinivalenol (DON), T-2 y HT-2, por medio de la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas en tándem. El método se basa en una extracción y purificación con el método QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe), empleado frecuentemente para análisis multi-residuo y optimizado para la citada matriz. El método desarrollado permite la determinación de todas las micotoxinas seleccionadas, obteniéndose unos resultados analíticos, tanto de precisión como de exactitud, satisfactorios. Se analizan 61 muestras de rosquilletas adquiridas en la provincia de Valencia, detectándose en la mayoría niveles de DON inferiores al límite máximo legislado.

Agradecimientos: Trabajo financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación (AGL2010-17024/ALI) y por el Ministerio de Educación (beca F.P.U. AP2010-2940).

Palabras clave: Panes especiales, rosquilletas, micotoxinas, QuEChERS, GC-MS/MS

### CP.034- DETERMINACIÓN DE ENIATINAS EN DIFERENTES TIPOS DE PASTA DURANTE EL PROCESO DE COCCIÓN

Serrano AB, Font G, Mañes J, Ferrer E

Laboratorio de Toxicología. Facultad de Farmacia. Universidad de Valencia. Avda. Vicent Andrés Estelles s/n, 46100 Burjassot-Valencia (España).

Las eniatinas (ENs) son micotoxinas caracterizadas por sus efectos tóxicos y por los elevados niveles de concentración detectados en diferentes alimentos, existiendo un riesgo potencial para la salud del consumidor. Sin embargo, muchos de estos alimentos están sometidos a tratamientos que provocan alteraciones en la estructura de estas micotoxinas. El objeto del presente trabajo fue el estudio de la influencia de la temperatura y el pH en el contenido de las eniatinas A, A1, B y B1 (ENA, ENA1, ENB y ENB1) durante el cocinado de la pasta.

Un total de cuatro tipos de pasta (con huevo, sin huevo, con bajo contenido en fibra y con alto contenido en fibra) se prepararon en el laboratorio a partir de trigo contaminado por ENs. La pasta (10 g) se hirvió con 100 mL de agua durante 10 minutos. Este proceso se repitió con agua en medio ácido y básico. El análisis de las ENs se realizó mediante extracción con acetonitrilo y determinación por cromatografía líquida-espectrometría de masas en tándem (CL-EM/EM). Los resultados mostraron que las ENA, ENA1 y ENB se comportan de forma similar (porcentajes de degradación del 71.0-79.9%, 61.7-79.1% y 60.8-74.7%, respectivamente) no observándose diferencias significativas entre los diferentes tipos de pasta, aunque los porcentajes de reducción fueron superiores durante la cocción en medio neutro y básico. Por el contrario, los porcentajes de reducción de la ENB fueron ligeramente inferiores a los de las otras ENs (59.1-67.3%), sin dependencia del tipo de muestra ni del pH aplicado. Por tanto, el proceso de cocinado de la pasta da lugar a una disminución importante del contenido de