

## Evaluación toxicológica de materiales mediante el organismo modelo *Caenorhabditis elegans*

Cristina Fuentes<sup>a,c</sup>, Samuel Verdú<sup>a</sup>, Ana Fuentes<sup>a</sup>, María José Ruiz<sup>b,c</sup>, José Manuel Barat<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Instituto Universitario de Ingeniería de Alimentos (FoodUPV), Universitat Politècnica de València, España; <sup>b</sup>Laboratorio de Química de los Alimentos y Toxicología, Facultad de Farmacia y Ciencias de la Alimentación, Universitat de València, España; <sup>c</sup>Grupo de investigación en Métodos alternativos para determinar efectos tóxicos y evaluación del riesgo de contaminantes y mezclas (RiskTox).  
[crifuelp@upvnet.upv.es](mailto:crifuelp@upvnet.upv.es)

El rechazo de los consumidores al uso de aditivos sintéticos en alimentos ha llevado a la industria agroalimentaria a la búsqueda de compuestos alternativos para alargar la vida útil de sus productos. Entre estos, los aceites esenciales, así como algunos de sus principales componentes bioactivos, han demostrado ser potentes antioxidantes y presentar una elevada actividad antimicrobiana frente a una amplia variedad de microorganismos. Sin embargo, la aplicación de estos compuestos en alimentos presenta importantes limitaciones debido a su alta volatilidad, su baja solubilidad en soluciones acuosas o sus marcadas propiedades sensoriales. En este contexto, la inmovilización de componentes de aceites esenciales en partículas de sílice mediante la unión covalente a su superficie ha surgido como una estrategia útil para mejorar la actividad antimicrobiana y la estabilidad de estos compuestos de origen natural. Estas partículas funcionalizadas han demostrado ser conservantes eficaces al ser añadidas a diferentes matrices alimentarias (Ribes et al., 2019, 2017) o al ser utilizadas como materiales filtrantes para la pasteurización en frío de bebidas como vino (García-Ríos et al., 2018), agua potable (Peña-Gómez et al., 2019b), zumo de manzana (Peña-Gómez et al., 2019a) o cerveza artesana (Peña-Gómez et al., 2020).

Las partículas de sílice amorfa son utilizadas como aditivo alimentario (E-551) en la Unión Europea y están clasificadas como sustancia GRAS (*Generalmente reconocidos como seguros*) por la FDA. A pesar de ser un material estable, biocompatible y de baja toxicidad, su funcionalización mediante la unión covalente de moléculas orgánicas a su superficie modifica las características fisicoquímicas de estos materiales, lo que puede alterar su comportamiento biológico y propiedades toxicológicas. Es por ello, que es necesario realizar ensayos toxicológicos que permitan identificar y caracterizar los peligros potenciales derivados de la exposición humana a estos nuevos materiales a través de aplicaciones alimentarias.

En la Unión Europea, todos los sectores industriales, incluida la industria agroalimentaria, están obligados a aplicar los métodos disponibles para garantizar los principios de las 3R (Reemplazo, Reducción y Refinamiento) durante la evaluación de la seguridad de sus productos.

Como parte de esta estrategia de las 3R se busca el reemplazo parcial o total de los animales de investigación por sistemas menos sensibles, incluyendo modelos animales no mamíferos.

*Caenorhabditis elegans* es un nemátodo de 1 mm de longitud que se ha convertido en uno de los organismos modelo más utilizados en varios campos de investigación gracias a sus numerosas ventajas, como son su pequeño tamaño, cuerpo transparente, anatomía simple, alta tasa de reproducción, ciclo de vida corto y genoma completamente anotado. Además, su sistema digestivo conservado y metabólicamente activo permite evaluar la toxicidad derivada de la exposición oral a los compuestos.

En este trabajo, se evaluaron las propiedades toxicológicas de diferentes partículas de sílice funcionalizadas con componentes de aceites esenciales utilizando el modelo *in vivo* *C. elegans*. En concreto, se analizó el efecto de la exposición aguda y prolongada a tres tipos de partículas de sílice (SAS, MCM-41 micro, MCM-41 nano), sin funcionalizar o funcionalizadas con eugenol o vainillina, sobre diferentes parámetros biológicos de los nemátodos, como la supervivencia, el crecimiento, la reproducción, o el comportamiento locomotor.

Los resultados obtenidos mostraron que la exposición aguda a los diferentes tipos de partícula no afectó a la supervivencia de los nemátodos, ni redujo el número de crías o el comportamiento locomotor a ninguna de las concentraciones ensayadas. Sin embargo, todos los materiales redujeron el tamaño de las crías, a excepción de las nanopartículas MCM-41 funcionalizadas con vainillina. Por otro lado, la exposición prolongada a las distintas partículas provocó una fuerte inhibición del crecimiento y la reproducción de los nemátodos. En términos generales, los mayores efectos se observaron tras la exposición a las partículas funcionalizadas con eugenol, mientras que los materiales funcionalizados con vainillina presentaron efectos toxicológicos agudos más leves. Además, el análisis estadístico multivariante demostró que el tipo de funcionalización, el valor de potencial zeta y la concentración, fueron los factores que más afectaron a la toxicidad de estos materiales. Mientras que parámetros como el tipo de partícula utilizado o su tamaño no presentaron ningún efecto sobre los parámetros biológicos. Los resultados obtenidos empleando como modelo *in vivo* *C. elegans* permiten anticipar los posibles efectos toxicológicos para la salud humana derivados de la exposición a estos nuevos materiales susceptibles de ser empleados por la industria alimentaria.

## Referencias

García-Ríos, E., Ruiz-Rico, M., Guillamón, J.M., Pérez-Esteve, É., Barat, J.M., 2018. Improved antimicrobial activity of immobilised essential oil components against representative spoilage wine

- microorganisms. *Food Control* 94, 177–186. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.07.005>
- Peña-Gómez, N., Ruiz-Rico, M., Fernández-Segovia, I., Barat, J.M., 2019a. Study of apple juice preservation by filtration through silica microparticles functionalised with essential oil components. *Food Control* 106, 106749. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106749>
- Peña-Gómez, N., Ruiz-Rico, M., Pérez-Esteve, É., Fernández-Segovia, I., Barat, J.M., 2019b. Novel antimicrobial filtering materials based on carvacrol, eugenol, thymol and vanillin immobilized on silica microparticles for water treatment. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 58, 102228. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2019.102228>
- Peña-Gómez, N., Ruiz-Rico, M., Pérez-Esteve, É., Fernández-Segovia, I., Barat, J.M., 2020. Microbial stabilization of craft beer by filtration through silica supports functionalized with essential oil components. *LWT* 117, 108626. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108626>
- Ribes, S., Ruiz-Rico, M., Pérez-Esteve, É., Fuentes, A., Talens, P., Martínez-Máñez, R., Barat, J.M., 2017. Eugenol and thymol immobilised on mesoporous silica-based material as an innovative antifungal system: Application in strawberry jam. *Food Control* 81, 181–188. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCONT.2017.06.006>
- Ribes, S., Ruiz-Rico, M., Pérez-Esteve, É., Fuentes, A., Barat, J.M., 2019. Enhancing the antimicrobial activity of eugenol, carvacrol and vanillin immobilised on silica supports against *Escherichia coli* or *Zygosaccharomyces rouxii* in fruit juices by their binary combinations. *LWT* 113, 108326. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108326>