

ACTAS DE LAS VI JORNADAS DE FORMACIÓN EN TOXICOLOGÍA, VALENCIA 2018

Comité Científico: Dra. Mónica Fernández-Franzón. Dra. Guillermina Font. Dra. María José Ruiz, Dra. Houda Berrada, Dra. Emilia Ferrer, Dra. Ana Juan-García, Dra. Cristina Juan y Dr. Giuseppe Meca.

Comité Organizador: Dra. Lara Manyes, Dra. Laura Escrivá, Juan Manuel Quiles, Noelia Pallarés, Jorge Calpe Ruano, Carlos Luz Mínguez, Dionisia Carballo y Raquel Torrijos.

Organizadas por la Asociación Española de Toxicología (AETOX) el 19 de Abril de 2018 en el Salón de Grados de la Facultat de Farmàcia. Universitat de València. Colocación de carteles en el Hall de la Facultat de Farmàcia

CONFERENCIA

EL MODELO ANIMAL EN INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA. ALTERNATIVAS

Dra. Rosario Moyano Salvago

Catedrática de Toxicología. Departamento de Farmacología, Toxicología y, Medicina legal y Forense. Facultad de Veterinaria. Universidad de Córdoba

En la investigación básica y aplicada se requiere de la elección de un buen modelo y un adecuado diseño experimental para dar una respuesta fiable y reproducible.

La elección de los modelos animales adecuados en la investigación biomédica es fundamental a la hora de obtener datos predictivos para los humanos. Son herramienta fundamental para la investigación de las bases etiopatogénicas de una enfermedad y/o para el desarrollo de nuevas dianas terapéuticas biológicas que permitan nuevas estrategias de tratamiento de enfermedades.

Por otro lado, se requiere la máxima seguridad de los productos de consumo (alimentos, fármacos,...) y por tanto es necesaria la evaluación del riesgo para proteger la salud de la población. Pues bien, todos estos procesos conllevan estudios in vivo, y es esencial la elección de modelos animales adecuados.

En toxicología experimental con fines reguladores, existen normativas muy rígidas que deben ser seguidas, que exigen la evaluación de sustancias con diferentes requerimientos según su uso previsto, aplicando protocolos de ensayo estandarizados (OCDE,...). Así las autoridades en materia de seguridad alimentaria (Efsa, Aecosan) establecen para la autorización de nuevos alimentos una directrices de estudios y datos relativos a la inocuidad (ensayos de toxicidad de 28 días en roedores, toxicidad subcrónica de 90 días,...). La ciencia de los animales de laboratorio ha alcanzado un alto nivel de desarrollo con el fin de lograr un trato humanitario a los animales y mejorar la calidad de las investigaciones. El diseño de los experimentos exige la definición detallada de las características genético-sanitarias y ambientales, así como una actitud ética y en la búsqueda de alternativas. Solo de esta manera se podrán obtener en las investigaciones resultados válidos, confiables, reproducibles y comparables.

En todos los casos, estos procedimientos con animales debe hacerse cumpliendo las normativas de protección de los animales de experimentación, deben ser autorizados por la autoridad competente (Directiva 2010/63/UE; R.D. 53/2013) y basándose en el principio de la 3Rs (reemplazo (métodos alternativos), refinamiento y reducción).

COMUNICACIONES ORALES

Moderadoras: Dra. Houda Berrada Ramdani y Dra. Emilia Ferrer García.

O1) HERRAMIENTAS COMPUTACIONALES PARA LA EVALUACIÓN DE LA ECOTOXICIDAD DE BIOCIDAS

Tolosa, J.^{1,2}, Goya, E.¹, Gozalbes, R.¹, de Julián-Ortiz, JV.²

¹ ProtoQSAR SL. CEEI Valencia. Avenida Benjamin Franklin, 12. Parque Tecnológico, 46980, Paterna, Valencia.

² Departamento de Medicina Preventiva y Toxicología, Facultad de Farmacia, Universidad de Valencia, Avenida Vicent Andrés Estellés s/n, 46100, Burjassot, España.

³ Departamento de Química-Física, Facultad de Farmacia, Universidad de Valencia, Avenida Vicent Andrés Estellés s/n, 46100, Burjassot, España.

La predicción del riesgo de diferentes sustancias químicas, como son aquellas con actividad biocida, es un aspecto esencial en la evaluación del riesgo por exposición a estas sustancias. Entre los distintos métodos predictivos conocidos destacan los métodos computacionales, los cuales presentan numerosas ventajas frente a ensayos de laboratorio, permitiendo reducir el número de ensayos con animales de experimentación, o incluso reemplazarlos, siendo completamente válidos a nivel regulatorio. La técnica computacional más utilizada consiste en el desarrollo y aplicación de los llamados modelos de relación cuantitativa estructura-actividad ("Quantitative Structure-Activity Relationship", QSAR), los cuales permiten predecir diversos parámetros biológicos y ambientales partiendo de la estructura química de la sustancia (Gozalbes et al., 2014). Estos métodos están siendo actualmente desarrollados en ProtoQSAR para su aplicación dentro del proyecto europeo COMBASE ("Computational tool for the assessment and substitution of biocidal active substances of ecotoxicological concern"), cuyo objetivo principal se centra en el desarrollo de una herramienta basada en la toxicología computacional que integrará modelos predictivos de la toxicidad acuática asociada a sustancias biocidas para cuatro niveles tróficos: bacteria, alga, crustáceo y pez. Esta herramienta permitirá predecir también los metabolitos, productos de degradación y de reacción generados durante el ciclo de vida de las sustancias activas, así como sus efectos ecotoxicológicos. De esta manera, COMBASE tendrá un carácter altamente innovador, y será la primera vez en Europa que se integrará una base de datos con información ecotoxicológica específica centrada en biocidas, y un conjunto de modelos computacionales que serán objeto de una validación experimental que confirme su eficacia y les otorgue validez regulatoria.

Palabras clave: QSAR; ecotoxicidad; BPR; evaluación del riesgo.

Agradecimientos: Programa LIFE+ de la Comisión Europea.

Referencias: Gozalbes R, de Julián-Ortiz JV, Fito-López C. Métodos computacionales en toxicología predictiva: aplicación a la reducción de ensayos con animales en el contexto de la legislación comunitaria REACH. Rev. Toxicol. 2014, 31, 157-167.

O2) EVALUACIÓN DE LA PRESENCIA DE MICOTOXINAS EN ZUMOS DE FRUTAS POR CROMATOLOGRAFIA LIQUIDA (LC-MS/MS)

Carballo, D.¹, Berrada, H.², Font, G.², Ferrer E.²

¹Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Asunción-Paraguay.

²Laboratorio de Bromatología y Toxicología, Facultad de Farmacia, Universidad de Valencia, España.

Las micotoxinas son metabolitos secundarios producidos por muchas especies fúngicas filamentosas y son consideradas como uno de los mayores contaminantes de productos alimenticios. Las micotoxinas causan efectos adversos tales como hepatotoxicidad, nefrototoxicidad, actividad inmunosupresora, mutagenicidad, teratogenicidad, y carcinogenicidad. Debido a su toxicidad, la Comisión Europea ha establecido unos niveles máximos de contenidos en alimentos (Comisión Europea, 1881/2006). Las micotoxinas están presentes en diferentes alimentos como cereales, frutas, leche y bebidas alcohólicas y no alcohólicas y son a menudo moléculas muy estables, por lo tanto, podrían resistir a diferentes tratamientos térmicos aplicados a la elaboración de productos alimenticios (Kabak, 2009). El objetivo de este estudio es evaluar la presencia de 16 micotoxinas (AOH, AME, TENT, AFB1, AFB2, AFG1, AFG2, FB1, FB2, OTA, ENA, ENA1, ENB, ENB1, BEA y STG) en zumo de piña, melocotón, naranja, manzana y mix de frutas por Micro-extracción Líquida-Líquida Dispersiva y su determinación por Cromatografía Líquida acoplada a espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS-IT). La precisión del método fue evaluado por ensayos de recuperación a tres niveles,

expresados como desviación estándar relativa (RSD%) intra-día e inter-día. Se alcanzaron valores óptimos en términos recuperación (63-113%), reproducibilidad (RSDs <15%) y repetibilidad (RSDs>20%). Además, límites de detección (0.5-2.5) y cuantificación (1-5 µg/L) logrados fueron menores a los límites legislados. Se evaluó el efecto de matriz y se usaron curvas de calibración con la matriz para la cuantificación.

El método validado se aplicó con éxito al análisis de 30 muestras de zumos de frutas. Los resultados mostraron la presencia de al menos una micotoxina en 53% de todas las muestras. Las concentraciones medias detectadas en el zumo de piña fueron AOH y AME (3.23 y 9.07µg/L), en zumo de melocotón AOH (2.14 µg/L), AME (2.47 µg/L), ENB(1.28 µg/L), ENB₁ (1.78 µg/L), ENA y ANA₁ (<LOQ), en zumo de naranja AOH (3.59 µg/L) AME (9.54 µg/L), AFB₁ (7.7 µg/L) AFB₂ (4.49), AFG₂ (2.75) and OTA (6.25µg/L). La multi-contaminación por al menos dos micotoxinas fue observado en el 6% de las muestras analizadas.

Palabras claves: micotoxinas, zumos, LC-MS/MS

O3) ANÁLISIS DE LA CAPACIDAD ANTIFÚNGICA DEL AITC SOBRE *A. FLAVUS IN VITRO* A NIVEL TRANSCRIPTÓMICO

Alonso-Garrido, M., Quiles, J., Manyes, L., Meca, G.

Laboratorio de Toxicología y Ciencias de la Alimentación. Avda. Vicent Andrés Estellés s/n, 46100, Burjassot.

El alil isotiocianato (AITC) es un antifúngico volátil que provoca reducción del crecimiento fúngico y por tanto, disminuye la producción de micotoxinas. Además, su volatilidad le hace ser inocuo para la salud humana. El objetivo de este estudio es desarrollar una metodología que permita relacionar a nivel transcriptómico el tratamiento de *Aspergillus flavus* con AITC, a través del análisis de la expresión génica del grupo de genes responsables de la producción de micotoxinas. El diseño consiste en un experimento *in vitro* con tres concentraciones de *A. Flavus* fijas (10³, 10⁴, 10⁵ ufc/placa) tratadas con un gradiente de concentración de AITC (0.25 y 0.75 uL/L) para determinar su eficacia en comparando con el control que no contiene AITC. El hongo crece a temperatura ambiente durante una semana, extrayendo posteriormente el ARN de cada una de las concentraciones de *A. Flavus* mediante un protocolo interno desarrollado en el laboratorio específicamente para esta aproximación. Se analizó la calidad y especificidad del ARN mediante espectrofotometría en Nanodrop 2000 (Thermo Fisher). A partir del ARN de las diferentes condiciones anteriormente mencionadas, se sintetizan las hebras de cDNA correspondiente mediante PCR con enzima retro transcriptasa inversa. Finalmente, se analizará la expresión génica para las diversas condiciones y se relacionará con la actividad del AITC y la producción de aflatoxina B₁.

Palabras clave: AITC, aflatoxina B₁, *Aspergillus flavus*, PCR.

O4) EMPLEO DE LA HARINA DE MOSTAZA AMARILLA COMO CONSERVANTE NATURAL DEL PAN DE MOLDE FRENTE A HONGOS MICOTOXIGÉNICOS

Torrijos, R., Quiles JM., Luz, C., Meca G.

Laboratorio de Toxicología. Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública. Facultad de Farmacia. Universidad de Valencia. Av Vicente Andrés Estellés s/n 46100 Burjassot.

El deterioro de los productos panarios representa una gran pérdida económica para la industria, además de suponer un riesgo para los consumidores debido a la producción de micotoxinas por parte de determinadas especies fúngicas. Los mohos se encuentran ampliamente distribuidos en el ambiente, por lo que es de gran dificultad prevenir su contaminación. Tradicionalmente en los productos de panadería se han empleado aditivos sintéticos como propionatos y sorbatos, sin embargo, la tendencia actual busca alternativas naturales que permitan su sustitución. En el presente estudio se evaluó cualitativamente la actividad antifúngica de extractos de harina de mostaza frente a cepas toxigénicas de los géneros *Penicillium* y *Aspergillus* y se determinó cuantitativamente

la Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) y la Concentración Fungicida Mínima (MFC). Los extractos de harina de mostaza amarilla no autoclavada liofilizada presentaron actividad antifúngica frente a todas las cepas ensayadas. Asimismo, se evaluó el uso de la harina de mostaza amarilla (YMF) como ingrediente en el pan de molde para inhibir el crecimiento de los hongos micotoxigénicos *Aspergillus flavus* ISPA 8111 y *Penicillium nordicum* CECT 2320, así como la biosíntesis de aflatoxinas en el pan contaminado con *A. flavus*. Se observó una reducción del crecimiento fúngico empleando dosis de 6 g/kg y 8 g/kg de harina de mostaza amarilla en los panes contaminados con *A. flavus* y *P. nordicum*. Tras 7 días de almacenaje, no se evidenció crecimiento fúngico de *A. flavus* y *P. nordicum* a la dosis de 8 g/kg, permitiendo alargar la vida útil del producto en comparación con el pan control. Además, se logró una reducción del 78% de AFB₁ en los panes elaborados con 6 g/kg de YMF, mientras que con el uso de 8 g/kg no se observó producción de AFB₁ en el producto.

Palabras clave: Aflatoxina, harina de mostaza, vida útil, pan, LC-MS/MS

O5) ESTRATEGIAS DIETARIAS PARA LA REDUCCIÓN DE LA EXPOSICIÓN A ARSÉNICO INORGÁNICO

Címbalo A, Clemente, MJ, Vélez D, Devesa V.

Laboratorio de Elementos Traza. Instituto de Agroquímica y Tecnología de los Alimentos (IATA-CSIC). Calle Agustín Escardino, 7, 46890 Paterna (Valencia).

La exposición crónica a arsénico (As) inorgánico aumenta la incidencia de diferentes tipos de cáncer, enfermedades cardiovasculares y respiratorias, y diabetes tipo II. Los datos epidemiológicos proceden principalmente de poblaciones crónicamente expuestas al metaloide debido al consumo de agua contaminada y de alimentos cocinados con esta agua. Además de estas situaciones crónicas, se han descrito ingestas elevadas debido a un consumo frecuente de determinados productos alimentarios.

La Agencia Europea de Seguridad Alimentaria recomienda disminuir la exposición dietaria a As inorgánico (EFSA, 2009). Esta reducción puede abordarse disminuyendo el consumo de los productos con elevados contenidos; sin embargo, en zonas donde es el agua la principal fuente de exposición resulta inviable. También puede plantearse la disminución del contenido de As en los alimentos, estrategia sencilla para el agua pero compleja en muestras sólidas. Otra alternativa, que ha mostrado eficacia en otros tóxicos, consiste en disminuir la entrada del contaminante a la circulación sistémica (biodisponibilidad). Se ha evidenciado que la biodisponibilidad de As es menor en productos vegetales que en disoluciones acuosas, indicativo de que algún componente de la matriz alimentaria reduce la cantidad de As que llega al torrente sanguíneo (Juhasz *et al.*, 2008). El hecho de que componentes de la dieta puedan modular la absorción intestinal de las formas arsenicales podría constituir una línea de actuación para reducir la exposición a As.

El objetivo de este estudio es la búsqueda de componentes alimentarios capaces de reducir la biodisponibilidad de As inorgánico. Para ello se han empleado aproximaciones *in vitro* e *in vivo*, que han permitido identificar compuestos de la dieta que pueden ser buenos candidatos para su futuro empleo en intervenciones poblacionales.

Palabras clave: arsénico inorgánico, biodisponibilidad, exposición, estrategias dietarias.

Referencias: [1]EFSA, European Food Safety Authority. (2009). [2]EFSA Journal, 7(10):1351, 1–199. Juhasz *et al.* Chemosphere, 2008, 71, 1963-1969.

O6) ESTUDIO DE EXPRESIÓN GÉNICA MITOCONDRIAL TRAS LA EXPOSICIÓN SIMULTÁNEA A BEAUVERICINA Y ENIATINA B EN CÉLULAS JURKAT

Escrivá, L., Alonso-Garrido, M., Font, G., Manyes, L.

Laboratorio de Toxicología, Facultat de Farmàcia, Universitat de València. Av. Vicent Andrés Estellés s/n, 46100 Burjassot, Spain.

Beauvericina (BEA) y Eniatina B (EN B) son compuestos lipófilos e ionóforos que han demostrado citotoxicidad en varias líneas celulares

humanas (Mallebrera et al. 2018), así como alteración de la expresión del genoma humano en células Jurkat mediante técnicas de secuenciación masiva (NGS) con principal afección de las vías de fosforilación oxidativa y cadena de transporte de electrones (Escrivá et al. 2018; Alonso-Garrido et al. 2018). El objetivo de este estudio es evaluar los efectos a nivel de transcriptoma originados por la exposición simultánea a BEA y EN B (0.1, 0.5 y 1.5 μ M) en células Jurkat mediante PCR cuantitativa a tiempo real (RT-qPCR). El ARN de células control y tratadas fue extraído (Direct-zol™ RNA MicroPrep) y cuantificado (Agilent 2100 Bioanalyzer). Cuatro genes mitocondriales (MT-ND2, MT-ND4, MT-ND5, MT-CO3) fueron seleccionados en base a datos previos de NGS. Se diseñaron oligos específicos para cada gen (Primer-BLAST) cuyas condiciones para RT-qPCR (StepOne Plus Applied Biosystems) fueron optimizadas obteniendo productos únicos de amplificación para todos genes. La eficiencia de amplificación (E=125-152%) se determinó mediante triplicados de curvas estándar por diluciones seriadas del ADNc, obteniendo linealidad óptima ($r^2 > 0.991$). Las pruebas de RT-qPCR se realizaron por triplicado mediante el reactivo Fast SYBR Green observándose supresión de la expresión de los genes de estudio en consonancia con datos previos de NGS. Se confirma la alteración en la transcripción del genoma mitocondrial en células Jurkat tras la exposición a bajos niveles de BEA y EN B.

Palabras clave: Beauvericina, Eniatina B, Jurkat, Transcriptómica, RT-qPCR.

Agradecimientos: este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad (AGL2013-43194-P; BES-2014-068039)

Referencias: [1]Mallebrera B, Prosperini A, Font G, Ruiz MJ (2018) *Food Chem. Toxicol.* 111 537-545. [2]Alonso-Garrido M, Escrivá L, Ruiz MJ, Manyes, L (2018) *Food Chem. Toxicol.* (under review). [3]Escrivá L, Jennen D, Caiment F, Manyes L (2018) *Toxicol. Lett.* 284, 213-221.

COMUNICACIONES TIPO CARTEL

C1) LOS ESTEROLES VEGETALES INCREMENTAN EL EFECTO ANTICANCERÍGENO DEL FÁRMACO 5-FLUOROURACILO EN CÉLULAS DE CÁNCER DE COLON

Álvarez-Sala, A¹., Ávila-Gálvez, MA²., Cilla, A¹., Barberá, R¹., García Llatas, G¹., Espín, JC²., González-Sarrías, A².

¹Área de Nutrición y Bromatología, Facultad de Farmacia, Universidad de Valencia, Valencia, España.

²Laboratorio de Alimentación y Salud. Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, CEBAS-CSIC. Campus de Espinardo, Murcia, España.

El cáncer colorrectal es el tercer cáncer más común en el mundo. Los efectos secundarios adversos, así como la resistencia adquirida a agentes quimioterapéuticos como el 5-fluorouracilo (5-FU) son relativamente frecuentes, por lo que el desarrollo de nuevas estrategias representa un gran desafío para reducir su uso sin mermar su eficacia[1]. En este sentido, los esteroides vegetales (EV), debido a su efecto anticancerígeno, podrían considerarse como una posible opción como adyuvantes en la quimioterapia[2]. El objetivo del estudio fue evaluar si los EV (β -sitosterol, campesterol y/o estigmasterol), a concentraciones colónicas estimadas tras ingerir una bebida enriquecida con EV, mejoran el efecto anticancerígeno del 5-FU en un modelo de células de cáncer de colon (Caco-2). Para ello, se evaluó, tras 72 h de incubación, la proliferación celular, el efecto sobre el ciclo celular e inducción de apoptosis, la activación de caspasas 3, 8 y 9, la producción de ROS y el efecto sobre el potencial de membrana mitocondrial ($\Delta\Psi_m$)[3,4]. El co-tratamiento de los EV con 5-FU produjo un efecto antiproliferativo aditivo (79-85%) frente al tratamiento con 5-FU solo (59%). Además, se observó que la co-incubación de EV y 5-FU ejerció un mayor bloqueo en la fase S del ciclo celular y una mayor inducción de la apoptosis (temprana y tardía) con un aumento concomitante en la activación de caspasas vs. 5-FU solo. Sin embargo, los niveles de ROS y del $\Delta\Psi_m$ no se vieron afectados. Concluimos que los EV

podrían actuar como coadyuvantes del 5-FU en quimioterapia frente al cáncer de colon, aunque son necesarios estudios *in vivo* para confirmar este efecto beneficioso.

Palabras clave: Apoptosis;Cáncer de colon;Caco-2;Fitoesteroides;5-Fluorouracilo.

Agradecimientos: Andrea Álvarez-Sala es becaria predoctoral (ACIF/2015/251) y de una estancia de investigación (BEFPI/2017/048) de la Generalitat Valenciana (España).

Referencias: [1]Longley et al. 2003. *Nat Rev Cancer*, 3, 330-338. [2]Bradford & Awad, 2010. *BioFactors*, 36, 241-247. [3]González-Sarrías et al. 2015. *Food Funct*, 6, 1460-1469. [4]López-García et al. 2017. *J. Funct. Foods* 3 9, 84-90.

C2) SEGURIDAD Y CALIDAD ALIMENTARIA EN EL PROCESADO Y ENVASADO DE CERVEZA: CONTROLES DE RUTINA.

Dasí-Navarro, N., Juan-García, A.

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

La cerveza se obtiene a partir de la fermentación con levaduras, de un mosto elaborado principalmente con agua, malta y lúpulo. El consumo de cerveza está muy extendido en la sociedad y supone un producto de gran relevancia socio-cultural.

La industria cervecera se encarga de realizar controles rutinarios en el procesado, envasado y producto final que garantizan los requisitos de seguridad y calidad alimentaria de la cerveza. Se realizan controles en la materia prima (en los cereales) mediante medidas de friabilidad y granulometría; así como análisis químicos durante el procesado mediante la determinación de SO₂, α -amino-nitrógeno libre, sustancias amargas, y compuestos volátiles. Durante el envasado, se comprueban los sistemas de cierre de las latas y botellines, medidores en línea de CO₂, grado alcohólico y volumen de llenado, así como controles de peso. Finalmente, en el producto final, la cerveza, se realizan análisis microbiológicos, y de turbidez y estabilidad de la espuma.

Además de estos controles, una parte fundamental en seguridad alimentaria es la trazabilidad, y para ello se realizan los registros correspondientes de cada muestra analizada, con el fin de garantizar la posibilidad de seguimiento de todos los productos ante cualquier situación de alerta. Todos los controles rutinarios en la elaboración de cerveza permiten su caracterización organoléptica, obtener productos seguros y el cumplimiento de la legislación específica de la cerveza.

Palabras clave: cerveza, malta, industria alimentaria, calidad, seguridad.

C3) VALIDATION OF A QuEChERS EXTRACTION OF TEN MYCOTOXINS IN TIGERNUTS AND OAT BEVERAGE AND ANALYSIS BY LIQUID CHROMATOGRAPHY WITH TANDEM MASS SPECTROMETRY

González, B., Cisternino, C., Mañes, J., Juan, C.

Laboratory of Food Chemistry and Toxicology, Faculty of Pharmacy, University of Valencia. Av. Vicent Andrés Estellés s/n, 46100, Burjassot, València, Spain.

Nowadays, the consumption of vegetal beverages has increased as alternative of the consumption of milk. Oat beverage refers to a derived food from *Avena Sativa L.* seeds. Tigernuts beverage is made from the tuber *Cyperus esculentus*, which highest consumption in Europe is in the Valencian region of Spain. Although, both raw material have been not nearly as susceptible to Fusarotoxins contamination as wheat, barley and corn (Hamed et al., 2017), furthermore the increase consumptions among different season could be an important factor of diet exposure. The aim of the study was to validate a QuEChERS multimycotoxin analysis method (3-acetyldeoxynivalenol: 3ADON; 15-acetyldeoxynivalenol: 15ADON; toxin T-2 and HT-2; zearalenone: ZEA, enniatins: ENA, A1, B, B1 and beauvericine: BEA) in tigernuts and oat drink using a liquid chromatography/tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). The method was validated according to the European Commission

Decisions regarding analytical methods (2002/657/EC; 2006/401/EC) and acceptable values were observed for each studied parameter. The repeatability and reproducibility study (n=3) were performed spiking blank samples of both matrices at three levels (750 to 3.75 ng/mL). Accuracy expressed by percentage were 135-71% and 138-70% for tigernuts (ENB and ZEA) and oat (T-2 and ENB1) beverage, respectively. Matrix-matched linearity ranged from 0.92 to 0.999 for both matrices. A good intra-day precision (overall RSD <21%) was archived for tigernuts beverage and similar to the intra-day precision for oat beverage (overall SD < 24%). Limits of quantification for tigernuts and oat beverage ranged between 0.17 and 22 ng/MI (ENB and 3ADON, respectively) and 0.7 and 22 ng/mL (ENB and ZEA, respectively). Ion suppression due to the co-eluting matrix components was observed in both matrices being lower than 36% for all the mycotoxins excepting 15ADON that presented ion enhancement in tigernuts (24%) and suppression in oat beverage (33%).

Keywords: Mycotoxins; Oat beverage; Tigernuts beverage; QuEChERS; LC-MS/MS.

Acknowledgments: AGL2016-77610-R.

References: Hamed A.H., Manzanera N., García-Campaña A.M., Gámiz-García L. Determination of *Fusarium* toxins in functional vegetable milks applying salting out assisted liquid-liquid extraction combined with ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Food Additives & Contaminants. Part A.* (2017); 34:11, 2033-2041.

C4) MATERIA DE BIENESTAR ANIMAL EN EL GRADO DE VETERINARIA

Ares, I¹, Martínez, M¹, Martínez, MA¹.

¹ Departamento de Farmacología y Toxicología, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid, 28040 Madrid, España.

La normativa en materia de “Bienestar Animal”, aprobada por las instituciones comunitarias, es muy amplia, dado que toda la normativa sobre “Sanidad Animal” podría verse incluida en una guía sobre “Bienestar Animal”, además también se deberían incluir otros ámbitos: las tres etapas del ciclo vital que son mantenimiento en la granja, transporte y sacrificio, el uso de animales en experimentación científica, la protección de pájaros en estado salvaje, el comercio de especies amenazadas y de sus productos, la limitación de las formas de pesca extractiva, y la limitación del uso de cepos o mantenimiento de animales salvajes en los parques zoológicos, entre otros. Por todo ello, para cumplir con los objetivos formativos sobre “Bienestar Animal” en el Grado de Veterinaria, se aborda la materia estructurada en dos criterios: el temático y el cronológico, que incluyen diversos capítulos, entre ellos se destacan: (1) aspectos legislativos básicos y cómo se controla la aplicación de esta normativa por parte de los diferentes Estados Miembros, la Comisión Europea y el Tribunal de Justicia; (2) la investigación científica en la conformación de la legislación sobre “Bienestar Animal” por parte del Consejo de Europa y por las instituciones comunitarias; (3) la investigación científica asumiendo las ‘tres erres’ (3R) reemplazo, reducción y refinamiento, como principios rectores del uso de animales en experimentación, considerando el principio de las 5 libertades como marco de referencia para garantizar buenos niveles de bienestar; (4) normativa de la Comisión Europea sobre el mantenimiento de los animales en las explotaciones, incluyendo debates del Parlamento Europeo relativos al transporte de los animales a larga distancia, forma de cría y sacrificio en el país de destino, bien en un ámbito veterinario más amplio o general (como la realizada con motivo del objetivo del mercado único); (5) por último se aborda la producción ecológica y la gestión de mercados.

Palabras clave: bienestar animal, biomarcadores, normativa.

C5) MYCOTOXINS OCCURRENCE IN TUNISIAN RABBIT AND POULTRY FEED

Ben Youssef, A¹, Oueslati, S^{2,3}, Berrada, H¹, Juan, C¹.

¹ Laboratory of Food Chemistry and Toxicology, Faculty of

Pharmacy, University of Valencia. Av. Vicent Andrés Estellés s/n, 46100, Burjassot, València, Spain.

² Regional Field Crop Research Center of Beja (CRRGC).

³ Laboratoire Matériaux, Molécules et Applications (LMMA), Institut Préparatoire aux Etudes Scientifiques et Techniques (IPEST), Tunisia.

Mycotoxins exposure in rabbit and poultry feeds are linked by contamination levels of the raw materials with different diet formulations, to highlight the important role of the stage of production and quality of raw materials used on mycotoxins levels. The European Union (EU) has established guidelines on raw materials and diets with differences linked to age of animal and stage of production (2003/100/EC; 2013/165/EC; 2013/165/EC). The Food Drug Administration (FDA) also established regulatory guidance that varies with the raw material, diet, effect of age and intended use, some of which sometimes differ from EU regulations (FDA, 2011). Our analysis focuses on mycotoxins for which maximum tolerated levels or regulatory guidelines exist, and for which sufficient contamination data on raw material are available (ENs, BEA, AFBs, OTA, AME, AOH, TENT, ZON, DON, 3ADON, 15ADON, NIV, NEO, DAS, T-2 and HT-2 toxin). Raw materials used in feed formulation vary considerably depending on the species of animal, and the stage of production. A validated method with QuEChERS extraction and chromatographic methods coupled to tandem mass spectrometry (LC-MS/MS and GC-MS/MS) was used for analyze twenty-two mycotoxins on 12 and 43 Tunisian rabbit and poultry feed samples, respectively.

All the analyzed feed were positive for at least one mycotoxin. *Fusarium* mycotoxins were the most prevalent led by DON (n=47), BEA (n=44) and ENB (n=46) and their values ranged between 58.9-249, 2.3-29 and 9.7-39 ng g⁻¹, respectively. None of the analyzed mycotoxins exceeded the maximal amounts set by EU legislations for animal feed (2003/100/EC; 2013/165/EC; 2013/165/EC). Rabbit and poultry feed samples were co-contaminated by more than one mycotoxin, 100% and 97.6%, respectively. Both feeds were co-contaminated with more than four different mycotoxins combinations. Overall, *Fusarium* emerging toxins were associated with the majority of the co-contamination, followed by DON and 3ADON. Mycotoxins contamination of Tunisian poultry feed and their co-occurrence were revealed for the first time in this preliminary study.

Keywords: Mycotoxins, poultry feed, co-occurrence, LC-MS/MS, GC-MS/MS.

Acknowledgments: AGL2016-77610-R.

References: [1]Commission Directive 2003/100/EC. Off. J. L. 2003;285:33-37. [2]Commission Recommendation 2006/576/EC. Off. J. L. 2006;229:7-9. [3]Commission Recommendation 2013/165/EC Off. J. L. 2013;91:12-15. [4]FDA, Food and Drug Administration U.S. Mycotoxin Regulatory Guidance, August 2011. Available: <https://www.fda.gov/food/guidanceregulation/ucm077969.htm> (accessed on 09 April 2018).

C6) IMPLICATIONS OF OCHRATOXIN A AND BEAUVERICIN MYCOTOXINS IN Deregulation OF GLUTATHIONE CYCLE IN IN VITRO CELLULAR BASED ASSAYS: A REVIEW.

Juan-García, A¹, Ben Mahmoud, M².

¹Laboratory of Food Chemistry and Toxicology, Faculty of Pharmacy, University of Valencia.

² Department of Biology, Private Polytechnic Superior Institute, Université Libre de Tunis.

Ochratoxin A (OTA) and Beauvericin (BEA) are mycotoxins produced respectively by *Aspergillus*, *Penicillium* and *Fusarium* fungus stains as secondary metabolites. Both contaminate food and feed stuffs and can be hazardous for human health by causing genotoxicity, cytotoxicity, hepatotoxicity, nephrotoxicity and immunotoxicity among others.

Glutathione is a tripeptide water-soluble molecule found in

micromolar concentrations in many tissues and cells. It is an antioxidant responsible of cellular homeostasis and maintenance of redox balance. It exists on oxidized (GSSH) and reduced form (GSH). GSH/GSSH ratio is the result of enzymatic activity mainly: glutathione peroxidase (GPx) and glutathione reductase (GR). Amounts of the oxidation reduction cycle can indicate cellular redox status as well as a biomarker of oxidative damage; however, its deregulation can lead to cell death.

This review, is focused on the cytotoxic effect of OTA and BEA through the alteration of GSH/GSSH ratio and the enzymatic activity that modulate the formation of the two forms of intracellular GSH *in vitro* assays by: photometric determination, colorimetric analysis spectrophotometry assay and kinetic assays.

Keywords: OTA, BEA, glutathione, *in vitro*, review.

Acknowledgements: This work was supported by the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness (AGL2016-77610-R).

References: [1]Boesch-Saadatmandi, C., Loboda, A., Jozkowicz, A., Huebbe, P., Blank, R., Wolfram, S., Rimbach, G. (2008). *Food and Chemical Toxicology*, 46, 2665–2671. [2]Forman, H. J., Zhang, H., & Rinna, A. (2009). *Molecular Aspects of Medicine*, 30, 1–12. [3]Klarić, M. Š., Daraboš, D., Rozgaj, R., Kašuba, V., & Pepeljnjak, S. (2010). *Archives of Toxicology*, 84, 641–650. [4]Klarić, M. Š., Pepeljnjak, S., Domijan, A. M., & Petrik, J. (2007). *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology*, 100, 157–164.

C7) EMPLEO DEL SUERO DE LECHE FERMENTADO POR BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS COMO CONSERVANTE NATURAL CON PROPIEDADES ANTIFÚNGICAS EN LA ELABORACIÓN DE PAN DE PITA

Luz, C¹., Izzo, L²., Llatas, A¹., Mañes, J¹., Meca, G¹.

¹Laboratorio de Química de los Alimentos y Toxicología. Facultat de Farmàcia. Universitat de València. España.

²Laboratory of Food Chemistry, Department of Pharmacy, University of Naples "Federico II" Italy.

El objetivo del trabajo reportado es estudiar la propiedad antifúngica del suero de leche (WM) fermentado con Bacterias Ácido Lácticas (BAL) sobre diferentes cepas de hongos toxigénicos y la posible aplicación de este como ingrediente natural para aumentar la vida útil del pan de pita [1]. Cuatro cepas de BAL obtenida de la Colección Española de Cultivos Tipo (CECT), se emplearon para fermentar WM de cabra durante 72 h a 37 °C. A continuación, se realizó un estudio de actividad antifúngica de los WM fermentados en medio sólido frente a un grupo formado por treinta hongos toxigénicos pertenecientes a los géneros *Fusarium*, *Penicillium* y *Aspergillus*. También se determinaron en medio líquido la Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) y la Concentración Mínima Fungicida (MFC) de cada uno de los WM fermentados. Los estudios de actividad antifúngica evidencian que los WM fermentados por BAL provocan una inhibición del crecimiento fúngico en medio sólido frente a las diferentes especies de hongos, y presentaron en medio líquido un rango de MIC y MFC de 2-250 mg WM fermentado/mL. Los panes elaborados sustituyendo el 100 % del agua por WM fermentado con mayor actividad antifúngica, e inoculados con *P. expansum* presentaron una reducción del recuento fúngico de 3.8-4.2 log UFC/g y un alargamiento de la vida útil de 5-6 días respecto al control sin aditivos. El empleo de ingredientes naturales, obtenidos a partir de subproductos de la industria láctea y el uso de BAL pueden ser una buena herramienta para promover la seguridad alimentaria y reducir el uso masivo de aditivos de síntesis.

Palabras clave: Bacterias ácido lácticas, actividad antifúngica, suero de leche, pan.

Agradecimientos: Esta investigación ha sido financiada por el Ministerio de Economía y Competitividad (AGL2016-77610R), el Proyecto Europeo (H2020) MycoKey (GA 678781) y por el programa Atracció de Talent de la Universitat de València.

Referencias: Crowley S, Mahony J, van Sinderen D. Current perspectives on antifungal lactic acid bacteria as natural bio-preservatives. *Trends in Food Science & Technology* 2013, 33, 93-109.

C8) USE OF CINNAMALDEHYDE AS ANTIFUNGAL COMPOUND IN FOOD

Nazareth, T.M., Mañes, J., Meca, G.

Laboratorio de Química de los Alimentos y Toxicología. Facultat de Farmàcia. Universitat de València. España.

Filamentous fungi are important contaminants responsible for plants diseases and postharvest losses of fresh product like cereals, fruits, vegetables and their derivatives. Many of these fungi are mycotoxin producers such as genus *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium*. The mycotoxins are toxic secondary metabolites with deleterious effects for animal and human health. Effectively, the use of chemicals fungicides has been restricted because of their high residual toxicity, resistance and environmental risks. Recently, natural antifungal agents have been studied as an effective method for prevent or eliminate foodborne pathogens. Among these natural sources, the essential oils components have demonstrated a potential fungicide effect against a broad range of fungi as safer alternatives to reduce chemical fungicide application. Cinnamaldehyde (CM) is the main component of cinnamon oil that was certified by the Food and Agriculture Organization (World Health Organization) for use as a food-flavoring agent. Moreover, CM have been studied as antifungal compound to prevent spoilage in different kinds of aliments like fruit, grains and milk. In this review, we summarize the *in vitro* and on food antifungal activity of cinnamaldehyde as well as the new techniques for their application.

Keywords: Cinnamaldehyde, Safe Food Additive, Natural Antifungal, Essential Oil.

References: [1]Cava, R., Nowak, E., Taboada, a, Marin-Iniesta, F., 2007. Antimicrobial activity of clove and cinnamon essential oils against *Listeria monocytogenes* in pasteurized milk. *J. Food Prot.* 70, 2757–63. [2]Tarazona, A., Gómez, J. V., Gavara, R., Mateo-Castro, R., Gimeno-Adelantado, J. V., Jiménez, M., Mateo, E.M., 2018. Risk management of ochratoxigenic fungi and ochratoxin A in maize grains by bioactive EVOH films containing individual components of some essential oils. *Int. J. Food Microbiol.* 269, 107–119.

C9) ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DEL ALIL ISOTIOCIANATO FRENTE A ASPERGILLUS FLAVUS Y PENICILLIUM VERRUCOSUM EN MAÍZ, TRIGO Y CEBADA

Quiles, J.M., Torrijos, R., Nazareth, T., Mañes, J., Meca, G.
Laboratorio de toxicología. Departamento de Medicina Preventiva i Salut Pública, Ciències de la Alimentació, Toxicologia y Medicina Legal. Facultat de Farmàcia, Universitat de València.

Los isotiocianatos (ITC) son sustancias bioactivas características de las plantas de la familia *Brassicaceae*. Su actividad antifúngica se debe a sus fuertes propiedades electrofílicas que pueden reaccionar fácilmente con elementos nucleófilos así como con varios grupos funcionales de muchas micotoxinas.

Los objetivos de este estudio fueron evaluar las propiedades antifúngicas del compuesto bioactivo alil isotiocianato (AITC) contra el hongo productor de aflatoxinas (AFs) *Aspergillus flavus* (8111 ISPA) y el productor de ocratoxina A (OTA) *Penicillium verrucosum* (D-01847 VTT) en muestras de maíz, cebada y trigo.

Los experimentos se llevaron a cabo en un sistema de silo simulado para escala de laboratorio que estaba compuesto por frascos de vidrio que contenían 300 g de cereales. La cebada y el trigo fueron contaminados con 1×10^4 esporas/g de *P. verrucosum* y el maíz con 1×10^4 esporas/g *A. flavus*. Los cereales se trataron con un disco de gel de hidroxietil celulosa al 12% al cual se añadieron 500 uL de AITC y se cerraron y se incubaron durante 30 días a 21 °C. El grupo de control de cereales no recibió ningún tratamiento. Se determinó la concentración de AITC en el espacio de cabeza, el crecimiento fúngico de los hongos inoculados, la reducción en la formación de AFs y OTA y la absorción del AITC en los cereales.

Los resultados mostraron una completa inhibición del crecimiento fúngico a los 30 días. En maíz contaminado con *A. flavus*, la cantidad de AFB1 detectada en los controles y las muestras tratadas fue de 8.07 y 0.12 ppb, respectivamente. Asimismo, en la cebada contaminada

con *P. verrucosum*, la cantidad de OTA presente en los controles y las muestras tratadas fue de 0.28 y 0.09 ppb, respectivamente. Las muestras de trigo contaminadas con *P. verrucosum* no mostraron una reducción significativa en la presencia de OTA.

Palabras clave: Alil isotiocianato, *Aspergillus*, cereales, micotoxinas, *Penicillium*.

Agradecimientos: Esta investigación ha sido financiada por el Ministerio de Economía y Competitividad (AGL2016-77610R), el Proyecto Europeo (H2020) MycoKey (GA 678781) y por el programa Atracció de Talent de la Universidad de Valencia.

C10) DETECCIÓN DE ENIATINA B Y SUS PRODUCTOS DE BIOTRANSFORMACIÓN EN ORINAS DE NIÑOS Y ADOLESCENTES

Rodríguez-Carrasco, Y¹, Izzo, L², Piemonte, C², Gaspari, A², Graziani, G², Mañes, J¹, Ritieni, A².

¹Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública, Facultad de Farmacia, Universitat de València. España.

²Dipartimento di Farmacia, Università degli studi di Napoli Federico II. Italia.

Las eniatinas (Enns) son micotoxinas producidas por *Fusarium spp.* y son contaminantes ampliamente distribuidos en cereales y productos derivados. Entre las diferentes enniatinas identificadas, la Enn B es el análogo más relevante en cereales en Europa. Actualmente hay pocos datos sobre la detección de enniatinas y sus productos de biotransformación en tejidos y fluidos biológicos, lo que complica la evaluación del riesgo potencial relacionado con la exposición a enniatinas. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue investigar por primera vez la presencia de metabolitos de Enn B y sus productos de biotransformación (metabolitos de fase I) en muestras de orina de 36 niños y adolescentes italianos (intervalo de edad: 3-20 años) a través de un método analítico basado en espectrometría de masas de alta resolución (UHPLC-Q-Orbitrap HRMS). Los resultados mostraron presencia de enniatina B en el 80.5% de las muestras de orina analizadas en una concentración promedio de 0.0014 ng/mL. En línea con las observaciones *in vitro* con microsomas hepáticos humanos reportadas en la literatura científica, se detectaron tentativamente metabolitos de fase I pertenecientes a los grupos monooxigenados, *N*-desmetilados y dioxigenados en el 77.8%, 94.4% y 5.5% de las muestras analizadas aquí. Las concentraciones medias fueron 0.029 ng/mL para el grupo de metabolitos de la Enn B monooxigenados, 0.020 ng/mL para el grupo de *N*-desmetilados y 0.004 ng/mL para el grupo de dioxigenados. Los datos de este estudio piloto de biomonitoring indican una ingesta frecuente de enniatinas en Italia, lo que respalda nuevos estudios toxicológicos para proporcionar una mejor base para comprender sus posibles efectos tóxicos en los seres humanos.

Palabras clave: enniatina B, metabolitos, fase I, orina, HRMS, niños.

Agradecimientos: Y. Rodríguez-Carrasco agradece a la Universitat de València el contrato post-doctoral "Atracció de Talent"

C11) PRESENCIA DE ZEARELENONA (ZEA) EN CÁPSULAS DE PLANTAS MEDICINALES

Pallarés, N., Nacher, R., Sureda, L., Font, G., Ferrer, E.

Laboratorio de Toxicología. Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública, Ciencias de la Alimentación, Toxicología y Medicina Legal. Facultad de Farmacia. Universidad de Valencia. Av Vicente Andrés Estellés s/n 46100 Burjassot.

El término micotoxina designa a compuestos altamente tóxicos resultado del metabolismo secundario de origen fúngico. Los géneros responsables de la producción de micotoxinas son principalmente *Fusarium*, *Aspergillus* y *Penicillium*. *Fusarium* es el responsable de la producción de Zearalenona (ZEA) (Marín et al., 2013). La ZEA es un tipo de micotoxina que puede unirse a los receptores de estrógeno y puede causar alteraciones del tracto reproductivo dando lugar a trastornos reproductivos graves, infertilidad y cambios en los niveles séricos de progesterona (Tatay et al., 2014). Según la OMS por "planta medicinal" se entiende cualquier planta salvaje o cultivada usada con un fin terapéutico.

Actualmente está aumentando el interés en el uso de cápsulas de plantas medicinales debido a sus propiedades terapéuticas y a que se trata de productos naturales. No obstante, su seguridad puede verse comprometida, debido a que pueden suponer un sustrato para el crecimiento de hongos micotoxigénicos, que pueden dar lugar a la producción de micotoxinas durante el cultivo, la cosecha, el almacenamiento y la distribución (Ashiq et al., 2013). La información acerca de la presencia de ZEA en suplementos de plantas medicinales, forma a la que el consumidor está expuesto directamente, es limitada. Veprikova et al. (2015) encontraron presencia de ZEA en suplementos de cardo mariano mayoritariamente con una incidencia del 78%. En este contexto, el objeto de este estudio es el análisis de la presencia de ZEA en 66 muestras de cápsulas de plantas medicinales (cardo mariano, valeriana, ginkgo, boldo, fucus, melisa, jengibre etc.). La extracción se llevó a cabo mediante el método QuEChERS y la determinación por Cromatografía Líquida acoplada a Espectrometría de masas en tándem con trampa de iones (LC-MS/MS-IT). Los resultados mostraron que ZEA fue detectada en las muestras con una incidencia del 11 % y contenidos que oscilaban desde 117 µg/kg hasta 3850 µg/kg.

Palabras clave: Zearalenona; cápsulas plantas medicinales; QuEChERS; LC-MS/MS-IT.

Agradecimientos: este trabajo forma parte de un proyecto de investigación financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad AGL 2016-77610R y por el programa de formación de personal investigador de carácter pre-doctoral: "Atracció de Talent" de la Universidad de Valencia.

C12) ESTUDIO DEL TRASPASO DE MICOTOXINAS A TRAVÉS DE LA BARRERA HEMATOENCEFÁLICA IN VITRO

Pallarés, N., Essid, N., Stampolidou, A., Ferrer, E., Manyes, L.

Laboratorio de Toxicología. Facultad de Farmacia. Universitat de València. Avda. Vicente Andrés Estellés s/n 46100 Burjassot.

Las micotoxinas son compuestos tóxicos resultado del metabolismo secundario de origen fúngico. La beauvericina (BEA), las enniatinas (ENNs) y la zearalenona (ZEN) son micotoxinas producidas por *Fusarium*. Las dos primeras clases son compuestos citotóxicos, con capacidad de penetrar en las células y alterar la homeostasis iónica intracelular y la última está relacionada con alteraciones del sistema reproductivo. Por otra parte, las aflatoxinas (AFs) son micotoxinas producidas por el género *Aspergillus* están clasificadas como carcinógenos humanos (grupo 1, IARC) y sus efectos tóxicos comprenden genotoxicidad, teratogenicidad y actividad inmunosupresora. La lipofiliencia de estas micotoxinas las convierte en candidatas a atravesar la barrera hematoencefálica (BHE), la cual consiste en una barrera de permeabilidad selectiva cuya función es separar la sangre circulante del fluido extracelular cerebral. El objetivo del presente trabajo es el estudio del posible traspaso de las micotoxinas (BEA, ENNs, AFs, ZEN) a través de la BHE. Para ello, se ensayó un modelo celular *in vitro* con células ECV304 (epiteliales) y C6 (gliales). Las células C6 se sembraron en placas de 24 pocillos a una densidad de 50.000 cel/mL, las células ECV304 se sembraron a la misma densidad sobre unos insertos con membrana que se colocaron sobre la placa de 24 pocillos, de este modo se cocultivaron los dos tipos celulares a través de la membrana simulando así la BHE. La resistencia eléctrica transendotelial se midió a diario después del cuarto día de cocultivo para asegurarse de la integridad de BHE. Alrededor del día 10 de cocultivo, coincidiendo con la mayor integridad de la barrera se llevó a cabo el experimento usando las concentraciones de micotoxinas 0,1 y 0,01 µM y evaluando el porcentaje de traspaso tras 2 horas de incubación. En los primeros ensayos preliminares, tras la inyección en HPLC-MS/MS se observó el traspaso de las micotoxinas desde el compartimiento apical hasta el basal, alcanzado un porcentaje de hasta el 40%.

Palabras clave: Micotoxinas; *in vitro*; HPLC-MS/MS; C6, ECV304, cocultivo.

Agradecimientos: este trabajo forma parte de un proyecto de investigación financiado por el Ministerio de Economía y

Competitividad AGL 2016-77610R y por el programa de formación de personal investigador de carácter pre-doctoral: "Atracció de Talent" de la Universidad de Valencia.

C13) CYTOTOXICITY OF NIVALENOL IN CELL CULTURE. A REVIEW

Fedeli, C¹, Ruiz, M.J².

¹Department of Pharmaceutical Sciences, University of Perugia, Italy.

²Department of Preventive Medicine and Public Health, Food Sciences, Forensic Medicine and Toxicology, Faculty of Pharmacy, University of Valencia, Spain.

Nivalenol is a type of B trichothecene mycotoxin produced by *Fusarium* fungi. This mycotoxin is commonly found in contaminated foods and feeds like cereal crops (wheat, maize, barley, oats, and rye) and processed grains (malt, beer and bread). Thus, Nivalenol represents a wide problem for human health. Indeed, several studies *in vitro* have shown its powerful cytotoxic activity, tested individually and in combination with other mycotoxins. The aim of this study is to summarize the data about the cytotoxic activity of NIV, performed with different cell lines, different exposure times and different assay.

Types of cells, chosen to determinate NIV cytotoxicity, are human (16HBE14o-, A204, A549, Caco-2, GES-1, hAECB, hAECN, Hep-2, HepaRG, HepG-2, HL-60, HUVEC, K562, Jurkat, RPMI 8826, TPH-1, U937), porcine (IPEC-1, IPEC-J2) and murine (3T3). Data show that the most studied cell line is Caco-2. From literature, we have found the IC₅₀ values obtained after 24, 48 and 72 h of NIV exposure. The IC₅₀ range at 24 h of exposure was from 0.4 µM in Jurkat human T lymphocytes cell line to 2.11 ± 0.87 µM in IPEC-1 intestinal porcine epithelial cell line-1. At 48 h of NIV exposure the IC₅₀ range was from 0.2 µM in RPMI 8226 human myeloma cell line to 2.84 ± 0.05 µM in HepaRG human hepatoma cell line. At 72 h of NIV exposure the IC₅₀ range was from 0.5 µM in Caco-2 colon carcinoma cell line to 1.8 µM in HUVEC human umbilical vein endothelial cells. In conclusion, cytotoxicity of NIV varies depending on the three parameters evaluated. According to the data, the cytotoxicity effect of NIV was higher in RPMI 8226 (0.2 µM) at 48 hours of exposure.

Keywords: nivalenol, cytotoxicity, IC₅₀.

Acknowledgment: Spanish Department of Economy and Competitiveness (AGL2016-77610-R).

C14) PRESENCIA, TOXICIDAD Y ESTRATEGIAS DE MITIGACIÓN DE LAS MICOTOXINAS

Ana Bolea Lacueva, AB¹., El Ouardi, M^{1*}., María José Ruiz, M.J².

¹Estudiantes del Grado de Farmacia de la UV.

²Departamento de Medicina Preventiva, Facultad de Farmacia, Universitat de València.

La contaminación de alimentos es uno de los principales retos de Salud Pública, y las micotoxinas, como metabolitos secundarios que producen algunos hongos, constituyen una fuente de riesgo en diferentes etapas de la cadena alimentaria y nuestro papel como profesionales sanitarios es prevenir y controlar la presencia de dichas sustancias en los alimentos. Este trabajo es una revisión bibliográfica sobre las micotoxinas más frecuentes: aflatoxinas, fumonisinas, ocratoxinas, patulina, citrinina, zearalenona y tricotecenos. Para la búsqueda bibliográfica se han consultado web oficiales como AECOSAN, IARC o EFSA. Los resultados obtenidos han sido que estas sustancias causan micotoxicosis por mecanismos como la inhibición de la síntesis de proteínas y de ARN y ADN, y la alteración de la membrana celular. Dentro de la toxicidad aguda, se han detectado micotoxinas que pueden producir hemorragias y afectación a nivel gastrointestinal, renal, inmunológico, neurológico y/o hepático o infertilidad como la producida por la zearalenona. Sin embargo, es más relevante la toxicidad crónica, ya que pueden originar carcinogénesis, teratogénesis, genotoxicidad y toxicidad a otros niveles. La IARC clasifica las diferentes micotoxinas según su posible carcinogenicidad, siendo las aflatoxinas carcinógenas para

el hombre (grupo 1 de la IARC). Por otra parte, en orden de reducir su ingesta a través de los alimentos, se han establecido Ingestas Diarias Tolerables (IDT) para algunas micotoxinas. En resumen, se puede concluir que las aflatoxinas son las más tóxicas, puesto que han demostrado ser carcinógenas para el ser humano. Aplicando el principio de buenas prácticas de higiene, así como la detoxificación, mediante técnicas físicas, químicas o biológicas se puede prevenir la contaminación con las micotoxinas en los alimentos y los efectos adversos de éstas sobre la salud humana y animal.

C15) INTOXICACIONES ALIMENTARIAS DE ORIGEN MARINO

Montañés, S., Ruiz, M.J.

Àrea de Toxicologia. Departament de Medicina Preventiva i Salut Pública, Ciències de l'Alimentació, Toxicologia i Medicina Legal. Facultat de Farmàcia. Universitat de València. Av. Vicent Andrés Estellés s/n, 46100 Burjassot, València, España.

En la actualidad, la incorporación de la gastronomía asiática en el mundo occidental, ha contribuido al incremento del número de casos de intoxicaciones debido a la ingesta de determinados pescados, así como la ingesta de moluscos crudos, no tratados correctamente o de procedencia desconocida. Este trabajo recoge información sobre las toxinas que más muertes causan a nivel mundial debido al consumo de animales marinos que las producen/contienen. Entre dichas toxinas se incluyen la tetrodotoxina, la ciguatoxina y la saxitoxina. La tetrodotoxina se encuentra en el pez globo (familia Tetraodontidae), proviene de bacterias que ha ingerido y con las que mantiene una relación endosimbionte. La ciguatoxina y la saxitoxina, ambas presentes en moluscos marinos, provienen de la acumulación de dinoflagelados tras las mareas rojas. Todas estas toxinas tienen gran afinidad por los canales de sodio dependientes de voltaje de las membranas de las células nerviosas y musculares, y son capaces de producir la muerte a concentraciones del orden de microgramos. Por otra parte, también se ha observado un aumento de intoxicaciones por consumo de alimentos marinos con problemas gastrointestinales debido a su inadecuada manipulación durante el cocinado. Así, la gempilotoxina es un éster ceroso para el cual el ser humano no dispone de enzimas idóneas para su digestión, causando síntomas digestivos, como la denominada keriorrea. La gempilotoxina se encuentra en el pez escolar (*Ruvettus pretiosus* y *Lepidocybium flavobrunneum*) y puede encontrarse en el sushi. En conclusión, el incremento de las intoxicaciones por consumo de alimentos marinos en los últimos años pone de manifiesto la necesidad de un mayor conocimiento de estas toxinas, una mejor manipulación culinaria dependiendo del alimento y un mayor control en este tipo de alimentos para disminuir el riesgo del consumidor.

Palabras clave: tetrodotoxina, ciguatoxina, saxitoxina, gempilotoxina, intoxicación alimentaria.

Agradecimientos: a mis compañeros Salva, Silvia y Teresa, por su gran aportación.

C16) CONTROVERSIA POR EL USO DEL ACEITE DE PALMA EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA

Buendía S., Colorado I., Ramón P., Scantamburlo S., Fernandez-Franzón, M.

Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública, Ciencias de la Alimentación, Toxicología i Medicina Legal, Facultat de Farmàcia, Universitat de València.

El aceite de palma ha desplazando a las grasas hidrogenadas en la elaboración de numerosos alimentos procesados. Al ser sólido a temperatura ambiente aporta solidez al alimento. Además, su punto de fusión cercano a la temperatura corporal, logra el efecto de deshacerse en la boca, por lo que ha sido ampliamente utilizado en la industria alimentaria. En el siguiente trabajo se revisa la composición nutricional del aceite de palma crudo, y después de ser refinado, junto a las consecuencias sobre la salud de los consumidores, además del impacto ambiental que supone su cultivo. Por lo que concierne a la composición es un aceite vegetal, contiene casi un 50% de ácidos grasos saturados, sobre todo ácido palmítico. Los beneficios

nutricionales atribuibles a este aceite radican en el aporte de Vit. E y carotenos; pero, debido a los procesos físicos de refinación, gran parte de los tocoferoles y la totalidad de los carotenos son eliminados en el proceso. El aceite de palma crudo es rojo y además tiene un grado de acidez de aproximadamente 3.5%, por este motivo es necesario realizar a un proceso de refinado previo a su utilización. Durante este proceso se generan como contaminantes el 3-MCPD (monocloropanodiol), glicidol y sus esteres, son compuestos tóxicos para la salud humana y se han clasificado como posibles carcinógenos y mutágenos. Otro tema controvertido es el impacto ambiental que supone el cultivo extensivo de este aceite. Debido a sus propiedades tecnológicas existe una gran demanda de aceite de palma por parte de grandes corporaciones alimentarias, cosméticas y de agrocombustibles, que impulsa la destrucción a gran escala de turberas y selvas tropicales.

Referencias: Mancini, A.; Imperlini, E.; Nigro, E.; Montagnese, C.; Daniele, A.; Orrù, S.; Buono, P. Biological and Nutritional Properties of Palm Oil and Palmitic Acid: Effects on Health. *Molecules* 2015, 20, 17339-17361.