

# Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) en relación al uso de la nanotecnología en la industria alimentaria

## Miembros del Comité Científico

Andreu Palou Oliver, Juan José Badiola Díez, Arturo Anadón Navarro, Albert Bosch Navarro, Juan Francisco Cacho Palomar, Ana María Cameán Fernández, Alberto Cepeda Sáez, Lucas Domínguez Rodríguez, Rosaura Farré Rovira, Manuela Juárez Iglesias, Francisco Martín Bermudo, Manuel Martín Esteban, Albert Más Barón, Teresa Ortega Hernández-Agero, Andrés Otero Carballeira, Perfecto Paseiro Losada, Daniel Ramón Vidal, Elías Rodríguez Ferrí, M<sup>a</sup> Carmen Vidal Carou, Gonzalo Zurera Cosano

## Secretario

Jesús Campos Amado

Número de referencia: AESAN-2009-014

Documento aprobado por el Comité Científico en su sesión plenaria de 11 de noviembre de 2009

## Grupo de Trabajo

Ana M<sup>a</sup> Cameán Fernández (Coordinadora)

Juan Francisco Cacho Palomar

Alberto Cepeda Sáez

Rosaura Farré Rovira

M<sup>a</sup> Carmen Vidal Carou

Ángeles Jos Gallego (consultora externa)

Ricardo López Rodríguez (AESAN)

## Resumen

Dado el actual potencial de las aplicaciones de la nanotecnología en la industria alimentaria, este informe hace referencia al uso de los nanomateriales producidos de forma intencionada en el laboratorio o a nivel industrial y denominados manufacturados (*engineered nanomaterials*, ENM), que se introducirán deliberadamente en la cadena alimentaria y, por tanto, pueden ser consumidos.

Existe una gran variedad de ENM, destacando las nanopartículas, nanofibras, nanoemulsiones y nanoarcillas. En la industria alimentaria se han identificado tres grandes áreas en las que se considera que la nanotecnología puede contribuir de forma beneficiosa: la producción primaria, el procesado y el envasado de alimentos.

Debido a su tamaño, los ENM presentan a menudo propiedades físicas y químicas únicas, las cuales difieren significativamente de las correspondientes al mismo material a mayor escala, lo que implica que no es posible inferir su toxicocinética y perfil de toxicidad por extrapolación a partir de datos de sus equivalentes no nanoestructurados. Estos estudios son imprescindibles para una correcta evaluación del riesgo, la cual se puede realizar mediante el modelo convencional, pero teniendo en cuenta las propiedades específicas de los ENM. Son muchas las limitaciones existentes para completar el proceso, destacando la necesidad de disponer de información sobre la caracterización de los ENM, la bioacumulación, los posibles efectos tóxicos tras su ingestión u absorción por otras vías, en particular de forma crónica, sus repercusiones a largo plazo en la salud pública, la aplicación de las técnicas analíticas adecuadas para este tipo de materiales, etc. Además, no se dispone de bases de datos con los ENM de uso en la actualidad y de los productos que los contienen.

Por todo ello, se considera necesario el profundizar en todos estos aspectos con la finalidad de establecer una legislación específica que proteja al consumidor de los riesgos tóxicos derivados de la exposición a ENM.

## Palabras clave

Nanotecnologías, nanociencias, nanomateriales, industria alimentaria, toxicidad, exposición, evaluación de riesgos.

## Report of the Scientific Committee of the Spanish Agency for Food Safety and Nutrition (AESAN) in relation with the use of nanotechnology in the food industry.

## Abstract

In view of the current potential for the application of nanotechnology in the food industry, this report refers to the use of nanomaterials deliberately produced in the laboratory or at an industrial level and known as "engineered nanomaterials" (ENM) for their intentional introduction into the food chain and, therefore, potentially consumed.

There is already a great variety of ENM, in particular nanoparticles, nanofibres, nanoemulsions and nanoclays. In the food industry, three main areas have been identified as having potential for nanotechnology to make a positive contribution: primary production, processing and food packaging.

Due to their size, ENM often present unique physical and chemical properties, significantly different from those corresponding to the same material at a larger scale, implying that it is not possible to infer their toxicokinetics and toxicity profile by extrapolation from data on their non-nanostructured equivalents. These studies are essential for a correct risk assessment, which can be done using the conventional model, but bearing in mind the specific properties of the ENM. There are many limitations on the completion of the process, particularly the need to have information available about the characterization of the ENM, their bioaccumulation, the possible toxic effects after intake or absorption through other routes, in particular chronically, their long-term repercussions on public health, the application of adequate analytical techniques for this kind of material, etc. In addition, there are no databases with information on ENM in current use or the products containing them.

For all these reasons, it is considered necessary to go deeper into all these aspects in order to establish specific legislation to protect consumers from the toxic risks derived from exposure to ENM.

## Key words

Nanotechnologies, nanosciences, nanomaterials, food industry, toxicity, exposure, risk assessment.

## Introducción. Clasificación nanomateriales

La aplicación de la nanotecnología ha sido objeto de un amplio desarrollo principalmente en sectores como las telecomunicaciones, automoción, medicina, industria aeroespacial, etc., y en la actualidad se potencia su uso en la industria alimentaria (FSAI, 2008) (Uriarte y Bald, 2008).

Una de las definiciones de nanotecnología más ampliamente utilizadas es la adoptada por la *Royal Society and the Royal Academy of Engineering* (2004), la cual la define como el diseño, caracterización, producción y aplicación de estructuras, dispositivos y sistemas controlando el tamaño y la forma a escala nanométrica. En este mismo sentido, también ha sido definida por la *International Standard Organization* (ISO) como la comprensión y dominio de la materia y procesos a nanoescala, normalmente, pero no de forma exclusiva, por debajo de los 100 nanómetros en una o más dimensiones (ISO, 2008).

En lo que respecta a los nanomateriales, las definiciones hacen referencia a la síntesis o uso de nanomateriales producidos de forma intencional en el laboratorio o a nivel industrial y denominados manufacturados (*engineered nanomaterials*, ENM), que en el caso concreto que nos ocupa, se introducirán deliberadamente en la cadena alimentaria (alimentos, piensos) y, por tanto, pueden ser ingeridos. Este informe se refiere a materiales en contacto con los alimentos, ingredientes y aditivos, fertilizantes y plaguicidas, etc., sin incluir los presentes de forma natural (partículas biológicas, partículas procedentes de incendios forestales, etc.) ni los producidos de forma no intencionada (EFSA, 2009) (Thomas y Sayre, 2005).

Debido a su tamaño, estos nanomateriales presentan a menudo propiedades físicas y químicas únicas, las cuales difieren significativamente de las habituales a mayor escala. Entre dichas propiedades destacan algunas como el incremento de la actividad óptica y eléctrica, las mejoras en las propiedades magnéticas o en la integridad estructural y, en especial, una elevada reactividad como consecuencia de su gran superficie de contacto. En este sentido, el uso de la nanotecnología puede dar lugar a nuevos intermediarios químicos reactivos en los procesos industriales (Thomas y Sayre, 2005) (INFO-SAN, 2008), siendo por tanto previsible un aumento de la exposición humana a los mismos.

En relación con la industria alimentaria, dentro de la nanotecnología se distinguen por su relevancia las nanopartículas, nanofibras, nanoemulsiones y nanoarcillas (FSAI, 2008):

- **Nanopartículas.** Se clasifican en orgánicas o inorgánicas, en función de sus características químicas, su capacidad para transportar diferentes ingredientes y para reaccionar frente a diferentes condiciones medioambientales. Muchas de las nanopartículas inorgánicas son modificaciones de aditivos alimentarios como, por ejemplo, el dióxido de titanio, colorante alimentario que puede utilizarse como barrera de protección en el envasado de alimentos, o las nanopartículas de plata utilizadas como agentes antimicrobianos en los paneles de los frigoríficos, en los recipientes de almacenamiento, líneas de envasado y otras superficies destinadas a entrar en contacto con los alimentos. Las nanopartículas orgánicas se emplean principalmente para mejorar el valor nutritivo de los alimentos, utilizándose como vehículo para la liberación de vitaminas y otros nutrientes (nanocápsulas).
- **Nanofibras.** Se caracterizan por tener un diámetro de unos 5 nm y longitudes superiores a 15  $\mu\text{m}$ . En el sector agroalimentario se utilizan como agentes espesantes. Muchas proteínas globulares ( $\alpha$ -lactoalbúmina,  $\beta$ -lactoglobulina, etc.) pueden dar lugar a nanofibras cuando se tratan con temperaturas elevadas a bajo pH.

- Nanoemulsiones. Se caracterizan por su pequeño tamaño (50-500 nm) y mono dispersibilidad lo que da lugar a que sus propiedades reológicas, microestructurales y estabilidad termodinámica difieran significativamente de las encontradas en emulsiones obtenidas mediante técnicas estándar. Se utilizan en el encapsulamiento de algunos componentes activos de alimentos funcionales (Weiss et al., 2006), estabilización de ingredientes biológicamente activos o para aumentar la viscosidad a menores concentraciones de la fase oleosa.
- Nanoarcillas. Se utilizan en botellas de plástico, cartones y *films* para el envasado de alimentos, ya que crean barreras impermeables frente a diversos gases como el oxígeno y el dióxido de carbono. Además, permiten obtener plásticos más finos, ligeros, fuertes y resistentes al calentamiento.

Las nuevas propiedades fisicoquímicas que presentan los ENM hacen que no sea posible inferir su toxicocinética y perfil de toxicidad por extrapolación a partir de datos de sus equivalentes no nanoestructurados (EFSA, 2009). Su estudio, que se encuentra en desarrollo, es imprescindible para una correcta evaluación del riesgo, dadas las múltiples incertidumbres existentes como por ejemplo la caracterización de los ENM, realización de ensayos de toxicidad a largo plazo, métodos de determinación, datos reales de exposición humana y de animales, etiquetado que informe al consumidor de su presencia en alimentos, etc.

Actualmente, no se dispone de legislación específica para la nanotecnología y los ENM. Por otro lado, la opinión que tiene el consumidor de algunos países miembros de la Unión Europea (UE) sobre el uso de la nanotecnología en alimentos no es favorable, manifestando los consumidores su interés por una mayor información sobre la presencia de ENM en los alimentos y la necesidad de evaluar su seguridad antes de su puesta en el mercado (BfR, 2008).

## Aplicaciones en la industria alimentaria

Las aplicaciones de la nanotecnología en la agricultura y la industria alimentaria son relativamente recientes, si se compara con otras áreas. No obstante, cabe prever que los avances en el campo de la nanotecnología incidirán en mayor o menor medida en dicha industria. La mayoría de productos alimenticios contienen de forma natural partículas del orden de nanómetros, como por ejemplo proteínas (estructuras globulares de 1-10 nm) o polisacáridos y lípidos polímeros lineales con espesores inferiores a un nanómetro (INFOSAN, 2008).

Según los datos que proporciona el ObservatoryNANO (2009), en la actualidad existen en el mundo más de 400 empresas cuyas investigaciones se centran en el área de la nanotecnología, siendo además esperable que dicho número supere el millar en los próximos 10 años. Por países destacan los EE UU, seguido de Japón y la Unión Europea.

En la producción de alimentos se han identificado cuatro grandes áreas que pueden beneficiarse de la nanotecnología: el desarrollo de nuevos productos funcionales, el procesado de alimentos a micro y nanoescala, el desarrollo de productos y el diseño de instrumentos y métodos para mejorar la seguridad alimentaria y la bioseguridad. Se espera que las aplicaciones de la nanotecnología proporcionen beneficios al sector alimentario, entre ellos, un menor uso de grasas, nuevos sabores y texturas, así como mejoras en la absorción de nutrientes y en el envasado (ObservatoryNANO, 2009). En la Tabla 1 se muestran algunos ejemplos de las aplicaciones de la tecnología en el sector agroalimentario.

<b>Tabla 1.</b> Ejemplos de aplicaciones de la nanotecnología en la industria agroalimentaria	
<b>Campo de aplicación</b>	<b>Potenciales aplicaciones</b>
Producción primaria	<p>Detección de moléculas individuales para la determinación de interacciones enzima/sustrato.</p> <p>Incremento de la absorción de nutrientes por los vegetales.</p> <p>Nanocápsulas: liberación eficiente de pesticidas, fertilizantes, vacunas, etc.</p> <p>Nanosensores: monitorización de las condiciones del suelo y crecimiento de cultivos; detección de patógenos en animales y vegetales.</p> <p>Nanochips: mantenimiento de la identidad y rastreo.</p> <p>Nanopartículas: liberación de ADN en vegetales (ingeniería genética).</p> <p>Nanofibras de óxido de aluminio utilizadas en la filtración de aguas, o nanopartículas de lantano para la absorción de fosfatos.</p>
Procesado de alimentos	<p>Nanocápsulas: mejora de la biodisponibilidad de compuestos activos estándar; de potenciadores del sabor, entre otros. Nanopartículas y nanotubos: agentes gelificantes y espesantes.</p> <p>Nanopartículas: fijación y eliminación selectiva de compuestos químicos o patógenos de los alimentos.</p> <p>Nanopartículas y nanoemulsiones: mejor biodisponibilidad y dispersión de nutrientes.</p> <p>Desarrollo de nanoestructuras de proteínas intrínsecas de los alimentos para su uso como nuevos ingredientes gelificantes o como encapsulantes.</p> <p>Desarrollo de <i>sprays</i> bioluminiscentes ó <i>chips</i> de DNA para detectar microorganismos patógenos.</p>
Envasado de alimentos y materiales de contacto	<p>Anticuerpos unidos a nanopartículas fluorescentes para detectar compuestos químicos o patógenos vehiculados por alimentos.</p> <p>Nanosensores: biodegradables para la monitorización de la temperatura, tiempo y humedad.</p> <p>Nanosensores electroquímicos para detectar etileno.</p> <p>Nanofilms y nanoarcillas como barreras para proteger frente al deterioro y absorción de oxígeno.</p> <p>Recubrimientos de superficie con nanopartículas con propiedades antimicrobianas y antifúngicas.</p> <p><i>Films</i> más ligeros, fuertes y resistentes a los tratamientos térmicos con nanopartículas de silicatos.</p> <p>Materiales poliméricos con permeabilidad selectiva a gases y vapor de agua, adaptables en función de las condiciones ambientales.</p> <p>Nanopolímeros conductores: permiten diseñar e integrar sensores o dispositivos impresos inteligentes en los envases.</p>

**Adaptado y modificado de:** (ObservatoryNANO, 2009) (Sozer y Kokini, 2009) (FSAI, 2008) (Uriarte y Bald, 2008).

No obstante, a pesar de estas múltiples aplicaciones potenciales, se destaca que a corto plazo el uso mayoritario de los nanomateriales se centra fundamentalmente en los materiales en contacto con los alimentos, mientras que a largo plazo el uso de la nanotecnología se dirige a la liberación controlada de ingredientes alimentarios o nutrientes nanoencapsulados (FSAI, 2008).

## 1. Materiales en contacto con alimentos

El uso de la nanotecnología en la fabricación de materiales en contacto con los alimentos permite desarrollar nuevos materiales dotados de propiedades antimicrobianas, barreras gas/UV, láminas reforzadas mecánicamente y frente a la temperatura, etc. Ello permite, a su vez, reducir el espesor y peso de los materiales utilizados manteniendo, o mejorando, sus propiedades. También permite el desarrollo de barreras poliméricas más flexibles, más resistentes y de mayor transparencia óptica con aplicaciones muy diversas (Wang et al., 2009), así como el desarrollo de recubrimientos que repelen la suciedad, mediante el uso de superficies hidrófobas formadas por nanopirámides de cera que repelen el agua, o el desarrollo de vidrios con partículas de dióxido de titanio que se activan por fotocatalisis desprendiendo la suciedad (Uriarte y Bald, 2008).

Los nanosensores permitirán la detección de sustancias químicas contaminantes, virus y bacterias patógenas. Las investigaciones en este campo se centran básicamente en dos áreas: desarrollo de biosensores que permitan una rápida detección de contaminantes en los alimentos y su entorno; incorporación de nanosensores en los materiales para el envasado de alimentos con el objeto, por ejemplo, de detectar una alteración del alimento mediante el cambio de color en la superficie del citado material (FSAI, 2008) (INFOSAN, 2008).

Respecto a los nanomateriales más usuales, se destaca el uso de nanopartículas de metales u óxidos metálicos y las nanoarcillas (ObservatoryNANO, 2009).

### Materiales en contacto con alimentos basados en nanopartículas de metales u óxidos de metales (ObservatoryNANO, 2009)

- Nanopartículas de plata. Utilizadas para inhibir, hasta en un 90%, el crecimiento de microorganismos en los alimentos.
- Nanopartículas de dióxido de titanio. Actúan como agentes antimicrobianos y se utilizan, principalmente, en los sistemas de filtración de frigoríficos y aspiradoras. Estos filtros permiten capturar y eliminar olores y bacterias de alrededor de 5 nm (99% de las partículas).
- Nanopartículas de aluminio. Se usan esencialmente en los envases flexibles para alimentos, debido a su propiedad barrera frente a la humedad o frente a gases como el dióxido de carbono o el oxígeno. También proporcionan protección frente a la radicación ultravioleta.
- Nanopartículas de óxido de zinc. Se caracterizan por sus propiedades antibacterianas y su estabilidad física, que les confieren una serie de ventajas frente a otros materiales utilizados, puesto que no requieren luz ultravioleta para su activación y no se decoloran con el transcurso del tiempo.

### Envasado de alimentos basado en compuestos de nanoarcillas (silicatos en capas)

Las nanoarcillas son nanopartículas de silicatos en capas, cuya estructura se caracteriza por una morfología en forma de plaquetas. Estas plaquetas obligan a los gases a seguir una trayectoria sinuosa a través del polímero ralentizando así su transmisión. De esta forma, las nanoestructuras aumentan la trayectoria de difusión que las moléculas de los gases u otras sustancias penetrantes deben seguir, incrementando así la propiedad barrera del polímero. Dependiendo de su composición y de su morfología, las nanoarcillas se pueden clasificar en: bentonita, caolinita, hectorita, halloysita y montmo-

rillonita. Se pueden preparar *films* de polipropileno y polietileno conteniendo nanoarcillas (Pereira de Abreu et al., 2007).

## 2. Sistemas encapsulados de liberación controlada

Algunos de los sistemas más destacados se basan en el empleo de nanoesferas hidrofóbicas sólidas, compuestas por una mezcla de materiales hidrofóbicos encapsulados en microesferas bioadhesivas sensibles a la humedad o al pH. Dichos sistemas, permiten aumentar la estabilidad y biodisponibilidad de un amplio número de nutrientes y otros ingredientes, controlar su liberación y prolongar el sabor en la boca. Para ello, el uso de nanomateriales permite incrementar la solubilidad de estos sistemas, dado que una baja solubilidad puede afectar al rendimiento y aplicabilidad de los mismos en varios sentidos: limitando la gama de formulaciones disponibles para un compuesto bioactivo y reduciendo su biodisponibilidad, puesto que una vez en el organismo no son solubles en la zona de acción, lo que disminuye su absorción y reduce por tanto la eficacia (ObservatoryNANO, 2009).

Se han descrito, asimismo, otros sistemas basados en la utilización de nanoemulsiones, emulsiones bifásicas, micelas surfactantes, etc., cuyas potenciales funciones son enmascarar sabores desagradables de algunos compuestos activos o aumentar la absorción y biodisponibilidad de nutrientes transportándolos hasta el torrente sanguíneo (facilitando su paso por la pared intestinal). Como una aplicación futura, se destaca la posibilidad de que estos sistemas liberen sustancias (nutrientes, compuestos activos) en función de las condiciones fisiológicas de la persona que las ingiere (ObservatoryNANO, 2009) (Uriarte y Bald, 2008).

Otro aspecto a tener en cuenta, a la hora de evaluar el impacto de la nanotecnología en la industria alimentaria, son las condiciones de almacenamiento y uso de dichos nanomateriales, puesto que algunas nanopartículas pueden utilizarse en productos alimenticios que deben almacenarse a baja temperatura y someterse, posteriormente, a un tratamiento térmico para su consumo, lo que puede afectar a la estabilidad de las nanopartículas en el alimento (FSAI, 2008).

## Evaluación del riesgo de los nanomateriales

La evaluación de los potenciales riesgos de la nanotecnología para los consumidores mediante el modelo convencional (identificación del peligro, caracterización del peligro, evaluación de la exposición y caracterización del riesgo) se considera aceptable según diversos informes de expertos y Comités (SCENIHR, 2007) (SCPP, 2007) (FDA, 2007) (FSAI, 2008). No obstante, el Comité Científico de EFSA considera que el proceso de evaluación de nanomateriales específicos se encuentra en fase de desarrollo y que deben tenerse en cuenta propiedades específicas de los ENM, tales como su pequeño tamaño, gran superficie de contacto, paso a través de las membranas biológicas o sus interacciones con las matrices alimentarias, además de las comunes a sus equivalentes no nanoestructurados (EFSA, 2009).

Son muchas las limitaciones existentes, destacándose la necesidad de disponer de información complementaria precisa sobre la bioacumulación y los posibles efectos tóxicos de la ingestión y/o inhalación de nanomateriales y sus repercusiones a largo plazo en la salud pública. Esto, a su vez, puede plantear nuevos retos en lo concerniente a la evaluación de la exposición, así como a la cuan-

tificación de los mismos en el organismo o en matrices complejas (INFOSAN, 2008). Se incide, además, en que la metodología actual puede no ser adecuada para identificar los riesgos para los humanos, el medioambiente o el bienestar animal por lo que puede ser necesario revisar algunos ensayos de toxicidad y cerciorarse de que la información facilitada para determinar la inocuidad sea pertinente y predictiva (FSAI, 2008) (INFOSAN, 2008) (Uriarte y Bald, 2008).

## **1. Caracterización fisicoquímica y metodologías analíticas (físicas, químicas y biológicas) para la caracterización de nanoparticulas**

La primera etapa para una correcta evaluación del riesgo de los ENM es disponer de una adecuada identificación y caracterización de estos compuestos en los alimentos y piensos y en ello trabajan la OCDE y la ISO (EFSA, 2009).

Se necesita disponer de información sobre la forma en que el material se ingiere, se absorbe y permanece, ya que si bien los ENM suelen encontrarse de forma aglomerada en los alimentos, dichos aglomerados pueden romperse en el propio alimento, el tracto gastrointestinal (GI) y los tejidos biológicos, además de interactuar con biomoléculas (proteínas, lípidos, ácidos nucleicos, etc.). Si no se dispone de información adecuada, se asume que el ENM está presente en el tracto GI.

Es imprescindible desarrollar metodologías analíticas adecuadas para la detección y cuantificación de los ENM. Se dispone de métodos para su determinación en alimentos, piensos y otras muestras biológicas, que generalmente consisten en la combinación de varias técnicas (EFSA, 2009). Existen métodos para analizar una determinada sustancia química en materiales concretos, pero muy a menudo no se puede establecer su presencia como nanoforma; sólo en casos excepcionales se puede detectar y medir un ENM específico. Recientemente se ha publicado una revisión de las diferentes técnicas disponibles para su determinación (Tiede et al., 2008).

## **2. Toxicocinética**

Los estudios de que se dispone actualmente a este respecto son limitados, centrándose mayoritariamente en metales, óxidos de metales y algunos polímeros degradados. En los escasos estudios disponibles, la cuantificación se ha realizado en base a la determinación del elemento en el ENM, sin confirmar que se conserva la nanoestructura (EFSA, 2009).

### **Absorción en el tracto gastrointestinal**

Los nanomateriales pueden llegar al tracto GI por varias vías como son: la ingestión directa de los mismos en los alimentos y el agua, la administración terapéutica de nanomedicamentos o la inhalación. Los escasos estudios existentes sobre la absorción GI indican que, dependiendo del tamaño, las nanopartículas pueden pasar a través del tracto gastrointestinal y ser rápidamente excretadas o, por el contrario, son transportadas a través de la pared intestinal y entran en el torrente sanguíneo donde serán distribuidas a otros órganos (Oberdorster et al., 2005). Además, se ha establecido que, de forma general, las partículas pequeñas se absorben más rápida y fácilmente.

Se señala, además, la posibilidad de que dichos materiales no estén presentes de forma libre en el lumen, e incluso puedan desaparecer total o parcialmente, debido a diversos procesos como reaccio-



nes con componentes del tracto GI, absorciones, aglomeraciones, interacciones con otros componentes de los alimentos, etc. No obstante, en el caso de las nanopartículas orgánicas de alto peso molecular (proteínas, grasas o carbohidratos) se desconoce si se produce una ruptura de las mismas a moléculas de menor peso molecular o si, por el contrario, llegan intactas al tracto gastrointestinal sin sufrir degradación alguna (EFSA, 2009) (FSAI, 2008).

Las partículas pueden atravesar la pared intestinal por distintos procesos. El transporte de los nanomateriales a través del epitelio puede tener lugar por vía paracelular o transcelular, dependiendo de sus propiedades fisicoquímicas (tamaño, superficie, presencia o ausencia de otros ligandos, etc.) y de la fisiología del tracto intestinal (Bouwmeester et al., 2009). En condiciones fisiológicas normales, la vía paracelular es minoritaria y muy limitada (EFSA, 2009) (Des Rieux et al., 2006). En el caso de las nanopartículas inorgánicas insolubles (TiO<sub>2</sub>, oro, etc.) es predecible que, debido a su masa, sean más biodisponibles que sus micro o macroequivalentes (FSAI, 2008).

### Distribución

La distribución, metabolismo y excreción también dependen de las características físico-químicas (solubilidad, tamaño y carga) de los nanomateriales tras su absorción, pueden ser transportados hasta el hígado vía portal o entrar en el sistema linfático el cual, a su vez, los depositará en el torrente sanguíneo a través del conducto torácico (EFSA, 2009).

Los ENM pueden interactuar de forma dinámica con las proteínas, lo que puede favorecer su entrada en las células y afectar, además, a la estructura terciaria y funcionalidad de las proteínas (EFSA, 2009).

Aunque los datos disponibles sobre la distribución de estos nanomateriales son limitados, el hígado y el bazo son los principales órganos de distribución de los ENM metálicos. Sin embargo, para ciertos ENM, todos los órganos son posibles dianas.

La distribución y metabolismo de los nanomateriales liposolubles es rápida y eficiente (FSAI, 2008).

Los nanomateriales de menor tamaño se distribuyen más ampliamente en los tejidos que los de tamaños superiores. En este sentido, tras la administración oral a ratones de nanopartículas de oro de diversos tamaños, las de menor tamaño se encuentran en el hígado, riñón, bazo, sangre y médula, mientras que las de mayor tamaño permanecen preferentemente en el tracto GI (Bouwmeester et al., 2009).

Los ENM pueden llegar al cerebro, según se ha comprobado tras la administración por vía oral de nanopartículas de oro (Hillyer y Albrech, 2001).

Parece que ciertos nanomateriales pueden atravesar la placenta y no existe información sobre su transferencia a través de la leche (EFSA, 2009).

### Metabolismo

Los estudios tras administración oral son muy escasos. No obstante, se ha indicado que el metabolismo de los nanomateriales depende, entre otros, de la composición química de su superficie. En el caso de los poliméricos se destaca la posibilidad de que puedan ser biodegradables, mientras que para los metales o sus óxidos se indica que su lenta disolución puede ser un factor importante en su metabo-

lismo (EFSA, 2009). En el caso de nanomateriales inertes, como las nanopartículas de plata u oro o los nanotubos de carbono, la probabilidad de que sean metabolizados es pequeña. No obstante, existen hipótesis que indican la posibilidad de que se produzca la metabolización de nanopartículas específicas con grupos funcionales (Bouwmeester et al., 2009).

### Excreción

La información sobre la excreción de ENM es muy limitada. Una vez absorbidos, los nanomateriales pueden pasar al hígado y excretarse a través de la bilis al tracto GI o también pueden eliminarse vía renal, siendo esta última, según algunos autores, la vía utilizada para la excreción de fullerenos y nanotubos de carbón SWNT (*Single Wall Carbon Nanotubes*) (Bouwmeester et al., 2009) (Singh et al., 2006). Nefzger et al. (1984) observaron que las nanopartículas de polimetil metacrilato (130 nm), administradas por vía oral a ratas, eran excretadas en un 95% a las dos días de su absorción, y tras ocho días sólo el 0,5% de la dosis permanecía sin eliminar. La absorción de la dosis administrada en este caso fue del 10-15%, y tras ocho días el 5-8% se excretó a través de la bilis y del 4-6% por orina.

Se sugiere que los nanomateriales inorgánicos insolubles (poliestireno,  $\text{TiO}_2$ , etc.) pueden ser retenidos durante largos periodos de tiempo y acumularse en el sistema retículo endotelial del hígado y bazo o ser transportados a otros órganos como el cerebro (EFSA, 2009) (FSAI, 2008).

Los estudios con nanopartículas poliméricas insolubles indican que a largo plazo éstas se degradan y excretan en función de sus características fisicoquímicas (FSAI, 2008).

## 3. Toxicidad

Estudios *in vivo* e *in vitro* recientes han evaluado los efectos de los nanomateriales sobre diversos sistemas biológicos, proporcionando datos de gran utilidad para poder comprender las implicaciones que para la salud tiene la exposición a estos materiales (Thomas y Sayre, 2005) (Stern y McNeil, 2008).

Un factor a tener en cuenta es la interacción de los nanomateriales con otros componentes de los alimentos, puesto que es bien conocido que en la toxicidad de muchos compuestos químicos influye la matriz alimentaria. Es decir, puede ocurrir que los efectos predichos por los estudios, tanto *in vivo* como *in vitro*, no se manifiesten de igual forma cuando el compuesto se ingiera con la dieta.

En general, los datos disponibles de toxicidad por vía oral de los ENM son escasos, la mayor parte de la información procede de estudios *in vitro* y de otros que utilizan distintas vías de exposición.

En la evaluación de los aditivos alimentarios no se ha considerado el tamaño de partícula (INFO-SAN, 2008). En este sentido, el Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA) ha indicado que, de forma general, no se pueden extrapolar a las nanopartículas ni las especificaciones ni las IDA establecidas para los aditivos alimentarios evaluados en otras formas (JECFA, 2007).

### Toxicidad vía oral

Los escasos estudios existentes al respecto se centran básicamente en los metales insolubles y los óxidos metálicos, siendo muy reducido el número de estudios relativos a los ENM. Éstos se indican en la Tabla 2, mencionando los principales órganos afectados. Además, se señala que en muy pocos de ellos se comparan los valores correspondientes a una misma especie química a distintas escalas (nanoma-

terial y micro o macro escala), por lo que los datos son insuficientes para llegar a conclusiones generales. La mayoría son estudios de toxicidad aguda, no existiendo información procedente de estudios de toxicidad a largo plazo (EFSA, 2009).

**Tabla 2.** Estudios de toxicidad *in vivo* de ENM por vía oral

Nanopartícula (NP)	Tamaño de partícula	Evidencia experimental de toxicidad	Referencia
NP, micropartículas (MP) e iones de Cu	23,5 nm y 17 $\mu$ m respectivamente.	DL <sub>50</sub> de Cu-NP= 413 mg/kg y Cu-MP= > 5000 mg/kg Órganos diana: hígado, riñón y bazo. Glomerulitis, degeneración y necrosis del túbulo renal, presencia de líquido proteico en el túbulo renal, esteatosis del tejido hepático, atrofia del bazo, reducción de unidades esplénicas y fibrosis.	Chen et al., 2006
NP y MP de Zn	58 nm y 1,08 $\mu$ m respectivamente.	En algunos aspectos las NP eran más tóxicas (anemia, riñón, corazón) y las MP presentaban mayor hepatotoxicidad.	Wang et al., 2006
ZnO	20 y 120 nm	120 nm ZnO produjo daños patológicos en estómago, hígado, corazón y bazo. Y 20 nm ZnO produjo efectos tóxicos en hígado, bazo y páncreas.	Wang et al., 2008a
TiO <sub>2</sub>	25, 80 y 155 nm	Sin efectos tóxicos observables. Mayor índice hepatosomático en hembras expuestas a 25 y 80 nm Órganos diana: hígado y riñón. Acumulación en estos órganos y en bazo y pulmón.	Wang et al., 2007
	500 nm	Sin patología.	Jani et al., 1994
Ag	60 nm	Leve toxicidad hepática dosis-dependiente, sin efectos a 30 o 300 mg/kg/día.	Kim et al., 2008
NP de Se e iones de selenito sódico	20~60 nm	Mayores efectos tóxicos (estrés oxidativo, daño hepático, retraso en el crecimiento) con selenito.	Zhang et al., 2005
Nanoarcillas de montmorillonita	10-60 nm	Sin toxicidad en las condiciones ensayadas.	Shi et al., 2006
Chitosan	Varios	Sin toxicidad en las condiciones ensayadas.	Yoksan y Chirachanchai, 2008
Nanotubos de carbono de pared múltiple	Hasta 450 $\mu$ m	Sin toxicidad en las condiciones ensayadas.	Carrero-Sánchez et al., 2006

### Toxicidad *in vitro*

Numerosos estudios *in vitro* han demostrado la toxicidad de una amplia gama de ENM en células humanas y animales. En células intestinales humanas se ha demostrado que distintas nanopartículas, como nanotubos de carbono (Jos et al., 2009), de platino (Pelka et al., 2009) o puntos cuánticos de CdSe (Wang et al., 2008b) inducen efectos tóxicos diversos, tales como disminución de la viabilidad, alteración de la integridad del ADN, etc. Los problemas típicos de estos estudios proceden de la administración de dosis no relevantes fisiológicamente, agregación de partículas, exposición directa de las células al nanomaterial, así como la interpretación de los resultados (EFSA, 2009).

### Neurotoxicidad

Se ha establecido experimentalmente una asociación entre la capacidad de los nanomateriales para atravesar la barrera hematoencefálica y ciertas patologías como la hipertensión o la encefalomiелitis alérgica. No obstante, algunos autores indican que este impacto potencial no se ha estudiado suficientemente en el caso del tejido neuronal en humanos.

En algunos casos los efectos sobre este tejido neuronal podría estar relacionado con la generación de radicales libres y hoy día se sabe que tanto el estrés oxidativo como la formación de especies reactivas de oxígeno están implicadas en la patogénesis de ciertas enfermedades neurodegenerativas como el Parkinson o el Alzheimer (Bouwmeester et al., 2009).

Estudios llevados a cabo con fullerenos han mostrado la capacidad de éstos para provocar una peroxidación lipídica en el tejido cerebral de pescados como las lubinas (Oberdorster, 2004). Aunque el mecanismo responsable de este efecto no está claro, se ha indicado que está relacionado con un mecanismo selectivo de transporte desde el nervio olfatorio.

### Mutagenicidad, genotoxicidad y otros efectos

Numerosos estudios han destacado la posible genotoxicidad, tanto directa como indirecta, de diversos nanomateriales como ZnO, SiO<sub>2</sub>, CoCr, TiO<sub>2</sub>, hierro/platino, nanotubos de carbón SWNT (*Single Wall Carbon Nanotubes*), etc. (EFSA, 2009) (González et al., 2008). Estudios *in vitro* adicionales con nanopartículas de plata han destacado la capacidad de las mismas para interferir en la replicación del ADN e incluso unirse a él (Wenjuan et al., 2009).

Se especula si algunas nanopartículas con cargas superficiales activas pueden actuar como transportadoras de sustancias potencialmente tóxicas y extrañas a través de la sangre y órganos diversos (efecto "caballo de Troya"). El uso de sistemas de nanotransportadores para liberar nutrientes y suplementos en alimentos puede igualmente llevar al transporte de otras macromoléculas, por ej. proteínas no digeridas por el tracto GI, afectando, de este modo, a la respuesta inmune y provocando efectos alérgicos no esperados (EFSA, 2009).

Existen indicios de una asociación entre la absorción de nanomateriales y trastornos gastrointestinales. En este sentido, hay estudios que relacionan la ingesta de nanomateriales con inflamaciones gastrointestinales, señalan la presencia de estas partículas en el colon de personas afectadas de colitis ulcerativa e incluso especulan con la posible relación entre su ingesta y la enfermedad de Crohn (EFSA, 2009).

Algunos estudios *in vivo*, también han puesto de manifiesto la existencia de ciertas nanopartículas (óxido de cerio, plata nanocrystalina) con propiedades antiinflamatorias en ratas (Bohl y Schechter, 2007).

### Toxicidad vía inhalatoria y dérmica

Por estas vías, se han observado efectos sobre el sistema inmunitario, inflamatorios en pulmón, hígado, corazón y cerebro. En el caso del sistema cardiovascular, los efectos asociados a la inhalación de algunos nanomateriales incluyen alteraciones del ritmo cardiaco, pro-trombosis e incluso infartos agudos de miocardio (EFSA, 2009) (Borm et al., 2006).

Uno de los nanomateriales más ampliamente estudiados son los nanotubos de carbono, encontrándose evidencias histológicas de inflamación y formación de granulomas en pulmón de roedores. Otros estudios también han puesto de manifiesto la capacidad de ciertas mezclas de nanopartículas de carbón y nanotubos para producir agregación plaquetaria e incrementar la tasa de trombosis arterial en ratas (FSAI, 2008) (Radomski et al., 2005).

### Mecanismos de toxicidad

Para la mayoría de los ENM los mecanismos de toxicidad no han sido totalmente elucidados. Según Lanone y Boczkowski (2006), el principal mecanismo de nanotoxicidad *in vivo* es la inducción de estrés oxidativo mediante la generación de radicales libres. De hecho, Stone y Donaldson (2006) lo sugieren como el indicador adecuado para discriminar los efectos adversos de los distintos ENM a nivel celular y molecular, pudiendo constituir un sistema de comparación de la toxicidad de los mismos (FSAI, 2008) (Xia et al., 2006). En exceso, los radicales libres causan daño a diversos componentes biológicos, mediante la oxidación de lípidos, proteínas y ADN.

En lo que respecta a los estudios *in vitro*, al igual que en los estudios *in vivo*, se ha observado la formación de especies reactivas de oxígeno como tendencia general en todos ellos, e independientemente del nanomaterial estudiado (EFSA, 2009). No obstante, estos efectos sólo se han observado a elevadas concentraciones, por lo que algunos autores señalan la dificultad de establecer la importancia fisiológica de los mismos (Lewinski et al., 2008).

Además, el estrés oxidativo puede jugar un papel en la inducción o el aumento de la inflamación a través de la regulación de factores de transcripción sensibles al estado redox y activando quinasas (Aillon et al., 2009).

En base a los conocimientos actuales, no es posible establecer unas conclusiones generales acerca de las propiedades físico-químicas de los nanomateriales y su toxicidad *in vitro* o *in vivo*. En general, no se puede extrapolar la toxicidad potencial de un nanomaterial a partir de los datos existentes del compuesto disuelto o a micro/macro escala. La experiencia en la evaluación de la toxicidad de ENM *in vivo* es muy limitada y queda por valorar si los indicadores de toxicidad clásicos son adecuados para este tipo de materiales.

Numerosos estudios *in vitro* muestran la capacidad de los nanomateriales para inducir estrés oxidativo a elevadas concentraciones y algunos indican posible genotoxicidad y respuesta inflamatoria.

Además, la EFSA (2009) considera que para una correcta caracterización del peligro de los ENM y

establecer las relaciones dosis respuesta, no sólo se debe considerar la masa como unidad de medida, sino también el número de partículas y el área superficial.

#### **4. Determinación de la exposición a nanomateriales**

La exposición oral a ENM puede ser una ruta relevante, resultante de: la ingestión de alimentos y agua, la deglución de las partículas inhaladas o su transferencia mano-boca (Stern y McNeil, 2008). Además, se pueden usar formulaciones a base de ENM para aumentar la biodisponibilidad de fármacos.

En relación con la exposición dietética, ésta puede tener lugar de forma directa a través de alimentos preparados que contengan ENM e indirecta por migración a los alimentos en cuyo envase se encuentran presentes (INFOSAN, 2008); mediante el consumo de suplementos nutricionales formulados con tales sustancias; a través de la cadena alimentaria al consumir vegetales, carnes o pescados que hayan sido previamente expuestos a ENM debido a prácticas agrícolas o de producción (fertilizantes, piensos, medicamentos veterinarios), o bien por el consumo de animales salvajes procedentes de capturas del propio consumidor (pesca, etc.) (Handy y Shaw, 2007).

Hay que resaltar que no se dispone de una revisión o base de datos de posibles usos de ENM o de los productos alimenticios que los contengan comercializados en el mercado español o en otros mercados europeos.

Un aspecto central de la evaluación de la exposición es determinar la cantidad y el tipo de sustancia presente en el alimento consumido. De forma convencional, la estimación de la exposición humana a través de la dieta se basa en unidades de masa (es decir, por ejemplo, mg/kg de alimento). Sin embargo, en el caso de los ENM debe tenerse en cuenta que además de la concentración se requiere conocer el área superficial (FSAI, 2008) (SCENHIR, 2007). Esto es debido a que las partículas más pequeñas ocupan menos volumen y dan lugar a un mayor número de partículas y, por tanto, a una mayor área superficial por unidad de masa, siendo mayor el potencial de interacción biológica (Oberdörster et al., 2005).

En la actualidad no es posible determinar los ENM en la matriz del alimento o el pienso mediante un análisis de rutina. Con frecuencia las concentraciones son inferiores al límite de detección de la instrumentación o no se dispone de parámetro alguno fácilmente medible. La tendencia a la agregación de los ENM en el medio biológico es una complicación adicional, que hace imposible medir el número de partículas o el área superficial y por tanto estimar las dosis reales de exposición (FSAI, 2008).

Por otro lado, la evaluación de la exposición a sistemas de transporte nanoescalados debe incluir no sólo el sistema de transporte, sino también la cantidad de compuesto activo encapsulado y el compuesto libre en el alimento. Para ello, los procedimientos de aislamiento, detección y caracterización se han de diseñar de forma que cumplan con estos requerimientos (EFSA, 2009).

También se debe tener en cuenta que los ENM pueden modificarse en la cadena de producción del alimento o pienso y durante su procesado o almacenamiento, debido a sus interacciones con las proteínas, lípidos y otras sustancias presentes en la matriz del mismo. Además, hay que valorar los posibles efectos de la digestión de la matriz en las características del ENM. Actualmente no se dispone de información sobre el efecto del procesado.

Todas las limitaciones apuntadas indican las dificultades que presenta la evaluación de la exposición a ENM y la necesidad de desarrollar o adaptar las técnicas analíticas que se utilizan en la actualidad para su aplicación a este tipo de compuestos.

## Conclusiones del Comité Científico

Las aplicaciones actuales y potenciales de la nanotecnología y de los nanomateriales (ENM) en la industria agroalimentaria son múltiples, destacando a corto plazo su uso mayoritario en los materiales en contacto con los alimentos, mientras que a largo plazo el horizonte es el uso de nanoencapsulados para conseguir una liberación controlada de nutrientes o componentes bioactivos de los alimentos.

Es necesario disponer de una base de datos sobre los ENM que actualmente se utilizan y su finalidad de uso, así como de una base de datos de productos alimenticios presentes en los mercados nacional y europeo que contienen ENM e información sobre sus usos.

En base a los conocimientos actuales, no es posible establecer unas conclusiones generales acerca de las propiedades físico-químicas de los nanomateriales y su toxicidad *in vitro* o *in vivo*. En general, no es posible extrapolar la toxicidad potencial de un nanomaterial a partir de los datos existentes del compuesto disuelto o a micro/ macro escala. Los estudios *in vivo* por vía oral son muy limitados, la mayoría corresponden a ensayos de toxicidad aguda y no existe información en cuanto a toxicidad a largo plazo.

Es necesario desarrollar y adaptar las técnicas analíticas actualmente utilizadas, para su aplicación a la determinación de los ENM en alimentos, con la finalidad de valorar la cantidad y tipo de compuestos presentes y evaluar la exposición del consumidor.

La falta de información sobre la caracterización, bioacumulación, posibles efectos tóxicos de los ENM tras su ingestión, en especial de forma crónica, sus repercusiones a largo plazo sobre la salud pública dificultan una correcta evaluación del riesgo, necesaria para establecer una legislación específica que proteja al consumidor frente a los riesgos tóxicos derivados de la exposición a los ENM.

## Referencias

- Aillon, K.L., Xie, Y., El-Gendy, N., Berkland, C.J. y Forrest, M.L. (2009). Effects of nanomaterial physicochemical properties on *in vivo* toxicity. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 61, pp: 457-466.
- BfR (2008). Bundesinstitut für Risikobewertung. Wahrnehmung der Nanotechnologie in der Bevölkerung. Disponible en:  
[http://www.bfr.bund.de/cm/238/wahrnehmung\\_der\\_nanotechnologie\\_in\\_der\\_bevoelkerung.pdf](http://www.bfr.bund.de/cm/238/wahrnehmung_der_nanotechnologie_in_der_bevoelkerung.pdf)
- Bohl, K.C. y Schechter, P.J. (2007). Effects of nanocrystalline silver (NPI 32101) in a rat model of ulcerative colitis. *Digestive diseases and sciences*, 52 (10), pp: 2732-2742.
- Borm, P.J., Robbins, D., Haubold, S., Kuhlbusch, T., Fissan, H., Donaldson, K., Schins, R., Stone, V., Kreyling, W., Lademann, L., Krutmann, J., Warheit, D. y Oberdorster, E. (2006). The potential risks of nanomaterials: a review carried out for ECETOC. *Particle and Fibre Toxicology*, 3, pp: 11.
- Bouwmeester, H., Dekkers, S., Noordam, M., Hagens, W., Bulder, A., de Heer, C., ten Voorde, Wijnhoven, S. y Sips, A. (2009). Health impact of nanotechnologies in food production. Institute of Food safety (RIKILT) y National Institute for Public Health & the Environment (RIVM). Report 2007.014.
- Carrero-Sanchez, J., Elias, A., Mancilla, R., Arrellin, G., Terrones, H., Lacllette, J. y Terrones, M. (2006). Biocompatibility and toxicological studies of carbon nanotubes doped with nitrogen. *NanoLetters*, 6 (8), pp: 1609-1616.

- Chen, H., Meng, H., Xing, G., Chen, C., Zhao, Y., Ji, G., Wang, T., Yuan, H., Ye, C., Zhao, F., Chai, Z., Zhu, C., Fang, X., Ma, B. y Wan, L. (2006). Acute toxicological effects of copper nanoparticles *in vivo*. *Toxicology Letters*, 163, pp: 109-120.
- Des Rieux, A., Fievez, V., Garinot, M., Schanaider, Y.J. y Preat, V. (2006). Nanoparticles as potential oral delivery systems of proteins and vaccines: a mechanistic approach. *Journal of Controlled Release*, 116 (1), pp: 1-27.
- EFSA (2009). European Food Safety Authority. The Potential Risks Arising from Nanoscience and Nanotechnologies on Food and Feed Safety. Question No EFSA-Q-2007-124a. *The EFSA Journal*, 958, pp: 1-39.
- FDA (2007). Food and Drug Administration. Nanotechnology, a Report of the U.S. Food and Drug Administration. Nanotechnology Task Force. Rockville, Maryland. Disponible en: <http://www.fda.gov/nanotechnology/taskforce/report2007.pdf>
- FSAI (2008). Food Safety Authority of Ireland. The Relevance for Food Safety of Applications of Nanotechnology in the Food and Feed Industries. Food Additives, Chemical Contaminants & Residues, Dublin.
- González, L., Lison, D. y Kirsch-Volders, M. (2008). Genotoxicity of engineered nanomaterials: A critical review. *Nanotoxicology*, 2 (4), pp: 252-273.
- Handy, R.D. y Shaw, B.J. (2007). Toxic effects of nanoparticles and nanomaterials: Implications for public health, risk assessment and the public perception of nanotechnology. *Health, Risk & Society*, 9 (2), pp: 125-144.
- Hillyer, J.F. y Albrecht, R.M. (2001). Gastrointestinal persorption and tissue distribution of differently sized colloidal gold nanoparticles. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 90 (12), pp: 1927-1936.
- INFOSAN (2008). Red Internacional de Autoridades en Materia de Inocuidad de los Alimentos. Nanotecnología. Nota informativa N° 1/2008.
- ISO (2008). International Standard Organization. Draft Standard on Nanotechnologies-Terminology and definitions for nanoparticles. ISO TC 229.
- Jani, P., McCarthy, D. y Florence, A.T. (1994). Titanium dioxide (rutile) particle uptake from the rat 1201 GI tract and translocation to systemic organs after oral administration. *International Journal of Pharmaceutics*, 105 (2), pp: 157-168.
- JECFA (2007). Sixty-seven Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Evaluation of certain food additives and contaminants. WHO Technical Report Series 940, Ginebra.
- Jos, A., Pichardo, S., Puerto, M., Sánchez, E., Grilo, A. y Cameán, A.M. (2009). Cytotoxicity of carboxylic acid functionalized single wall carbon nanotubes on the human intestinal cell line Caco-2. *Toxicol in Vitro*. Aceptado. DOI:10.1016/j.tiv.2009.07.001.
- Kim, Y.S., Kim, J.S., Cho, H.S., Rha, D.S., Kim, J.M., Park, J.D., Choi, B.S., Lim, R., Chang, H.K., Chung, Y.H., Kwon, I.H., Jeong, J., Han, B.S. y Yu, I.J. (2008). Twenty-eight-day oral toxicity, genotoxicity, and gender-related tissue distribution of silver nanoparticles in Sprague-Dawley rats. *Inhalation Toxicology*, 20 (6), pp: 575-83.
- Lanone, S. y Boczkowski, J. (2006). Biomedical applications and potential health risks of nanomaterials: molecular mechanisms. *Current Molecular Medicine*, 6, pp: 651-663.
- Lewinski, N., Colvin, V. y Drezek, R. (2008). Cytotoxicity of nanoparticles. *Small*, 4 (1), pp: 26-49.
- Nefzger, M., Kreuter, J., Voges, R., Liehl, E. y Czok, R. (1984). Distribution and elimination of polymethyl methacrylate nanoparticles after peroral administration to rats. *Journal Pharmaceutical Sciences*, 73 (9), pp:1309-1311.
- Oberdorster, E. (2004). Manufactured nanomaterials (fullerenes, C60) induce oxidative stress in the brain of juvenile largemouth bass. *Environmental Health Perspectives*, 112, pp: 1058-1062.
- Oberdorster, G., Oberdorster, E. y Oberdorster, J. (2005). Nanotoxicology: an emerging discipline involving form studies of ultrafine particles. *Environmental Health Perspectives*, 113, pp: 823-839.
- ObservatoryNANO (2009). Nanotechnology in Agrifood sector. Market Report. Prepared by the Technology Centre ASCR. Disponible en: <http://www.observatorynano.eu/project/document/2545/>
- Pelka, J., Gehrke, H., Esselen, M., Türk, M., Crone, M., Bräse, S., Müller, T., Blank, H., Send, W., Zibat, V., Brenner, P., Schneider, R., Gerthsen, D. y Marko, D. (2009). Cellular Uptake of Platinum Nanoparticles in Human Colon Carcinoma Cells and Their Impact on Cellular Redox Systems and DNA Integrity. *Chemical Research in Toxicology*, 22, pp: 649-659.



- Pereira de Abreu, D.A., Paseiro, P., Angulo, I. y Cruz, J.M. (2007) Development of new polyolefin Films with nano-clays for application in food packaging. *Macromolecular Nanotechnology*, 43, pp: 2229-2243.
- Radomski, A., Jurasz, P., Alonso-Escolano, D., Drews, M., Morandi, M., Malinski, T. y Radomski, M.W. (2005). Nanoparticle-induced platelet aggregation and vascular thrombosis. *British Journal of Pharmacology*, 146, pp: 882-893.
- Royal Society and the Royal Academy of Engineering (2004). Nanoscience and Nanotechnologies: Opportunities and Uncertainties. Royal Society and Royal Academy of Engineering, London.
- SCCP (2007). Scientific Committee on Consumer Products. Preliminary Opinion on Safety of Nanomaterials in Cosmetic Products. Disponible en:  
[http://ec.europa.eu/health/ph\\_risk/committees/04\\_sccp/docs/sccp\\_o\\_099.pdf](http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/04_sccp/docs/sccp_o_099.pdf)
- SCENIHR (2007). Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks. Opinion on the appropriateness of the risk assessment methodology in accordance with the Technical Guidance Documents for new and existing substances for assessing the risks of nanomaterials. Disponible en:  
[http://ec.europa.eu/health/ph\\_risk/committees/04\\_scenihr/docs/scenihr\\_o\\_010.pdf](http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/04_scenihr/docs/scenihr_o_010.pdf)
- Shi, Y., Xu, Z., Feng, J. y Wang, C. (2006). Efficacy of modified montmorillonite nanocomposite to reduce the toxicity of aflatoxin in broiler chicks. *Animal Feed Science and Technology*, 129 (1-2), pp: 138-148.
- Singh, R., Pantarotto, D., Lacerdam, L., Pastorin, G., Klumpp, C., Prato, M., Bianco, A. y Kostarelos, K. (2006). Tissue biodistribution and blood clearance rates of intravenously administered carbon nanotube radiotracers. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103 (9), pp: 3357-3362.
- Sozer, N. y Kokini, J.L. (2009). Nanotechnology and its applications in the food sector. *Trends in Biotechnology*, 27 (2), pp: 82-89.
- Stern, S.T. y McNeil, S.E. (2008). Nanotechnology Safety Concerns Revisited. *Toxicological Sciences*, 101 (1), pp: 4-21.
- Stone, V. y Donaldson, K. (2006). Nanotoxicology. Signs of stress. *Nature Nanotechnology*, 1, pp: 23-24.
- Tiede, K., Boxall, A.B.A., Tear, S.P., Lewis, J., David, H. y Hassellöv, M. (2008). Detection and characterization of engineered nanoparticles in food and the environment. *Food Additives and Contaminants*, 25, pp: 795-821.
- Thomas, K. y Sayre, P. (2005). Research Strategies for Safety Evaluation of Nanomaterials, Part I: Evaluating the Human Health Implications of Exposure to Nanoscale Materials. *Toxicological Sciences*, 87 (2), pp: 316-321.
- Uriarte, M. y Bald, C. (2008). Nanotecnología en la industria alimentaria. *Alimentación, equipos y tecnología*, 27 (235), pp: 50-54.
- Wang, H., Keum, J.K., Hiltner, A., Baer, E., Freeman, B., Rozanski, A. y Galeski, A. (2009). Confined Crystallization of Polyethylene Oxide in Nanolayer Assemblies. *Science*, 323, pp: 757-760.
- Wang, B., Feng, W., Wang, M., Wang, T., Gu, Y., Zhu, M., Ouyang, H., Shi, J., Zhang, F., Zhao, Y., Chai, Z., Wang, H. y Wang, J. (2008a). Acute toxicological impact of nano- and submicro-scaled zinc oxide powder on healthy adult mice. *Journal of Nanoparticle Research* 10, pp: 263-276.
- Wang, L., Nagesha, D.K., Selvarasah, S., Dokmeci, M.R. y Carrier, R.L. (2008b). Toxicity of CdSe Nanoparticles in Caco-2 Cell Cultures. *Journal of Nanobiotechnology*, 6, pp: 11.
- Wang, J., Zhou, G., Chen, C., Yu, H., Wang, T., Ma, Y., Jia, G., Gao, Y., Li, B., Sun, J., Li, Y., Jiao, F., Zhao, Y. y Chai, Z. (2007). Acute toxicity and biodistribution of different sized titanium dioxide particles in mice after oral administration. *Toxicology Letters*, 168, pp: 176-185.
- Wang, B., Feng, W., Wang, T., Jia, G., Wang, M., Shi, J., Zhang, F., Zhao, Y. y Chai, Z. (2006). Acute toxicity of nano- and micro-scale zinc powder in healthy adult mice. *Toxicology Letters*, 161, pp: 115-123.
- Weiss, J., Takhistov, P. y McClements, J. (2006). Functional Materials in Food Nanotechnology. *Journal of Food Science*, 71 (9), pp: 107-116.
- Wenjuan, Y., Cenchoo, S., Qiaoli, J., Hongje, A., Jinju, W., Qingdai, L. y Zhizhou, Z. (2009). Food storage material silver nanoparticles interfere with DNA replication fidelity and bind with DNA. *Nanotechnology*, 20, pp: 1-7.
- Xia, T., Kovochich, M., Brant, J., Hotze, M., Sempf, J., Oberley, T., Sioutas, C., Yeh, J.I., Wiesner, M.R. y Nel, A.E. (2006).

- Comparison of the abilities of ambient and manufactured nanoparticles to induce cellular toxicity according to an oxidative stress paradigm. *Nano letters*, 6, pp: 1794-1807.
- Yoksan, R. y Chirachanchai, S. (2008). Amphiphilic chitosan nanosphere: studies on formation, toxicity, and guest molecule incorporation. *Bioorganic and Medical Chemistry*, 16 (5), pp: 2687-2696.
- Zhang, J., Wang, H., Yan, X. y Zhang, L. (2005). Comparison of short-term toxicity between Nano-Se and selenite in mice. *Life Science*, 76 (10), pp: 1099-1109.