

Evaluación de la genotoxicidad del benzoato de sodio y sorbato potasio por el ensayo cometa *ex vivo* en eritrocitos de *Oreochromis niloticus* "tilapia"

Evaluation of the genotoxicity of sodium benzoate and potassium sorbate using the *ex vivo* comet assay in erythrocytes from *Oreochromis niloticus* "tilapia"

Jan Pier Crespo Moreno¹
jcrespo@unitru.edu.pe

David Salirrosas¹
<https://orcid.org/0000-0003-2640-9376>
rsalirrosas@unitru.edu.pe

Luz Argomedo¹
<https://orcid.org/0000-0003-1716-9710>
largomedo@unitru.edu.pe

Zulita Adriana Prieto¹ 
<https://orcid.org/0000-0002-9782-1782>
zprieto@unitru.edu.pe

¹ Departamento de Ciencias Biológicas.
Universidad Nacional de Trujillo, Av. Juan Pablo
II, Trujillo, PERÚ.

Resumen: El estudio evaluó la genotoxicidad del benzoato de sodio y el sorbato de potasio mediante el ensayo cometa, empleando eritrocitos de *Oreochromis niloticus* (tilapia) como modelo biológico *ex vivo*. Este modelo es una alternativa viable debido a su homogeneidad genética, presencia de núcleos en los eritrocitos y bajo costo. Se realizaron tratamientos con concentraciones de 40, 65 y 90 mg/ml de ambos conservantes y se compararon con controles positivo (ciclofosfamida) y negativo (suero bovino fetal). Los resultados mostraron que el sorbato de potasio tiene un efecto genotóxico mayor que el benzoato de sodio, con una relación dosis-respuesta evidente en la fragmentación del ADN. A partir de 40 mg/ml, el sorbato mostró un incremento significativo en el daño al ADN, y a 90 mg/ml, el daño fue comparable al control positivo. El benzoato de sodio presentó un efecto menos severo, manteniendo una alta viabilidad celular en concentraciones de 40 y 65 mg/ml, mientras que el sorbato redujo la viabilidad a concentraciones mayores, con una DL50 de 163 mg/ml. Parámetros como el porcentaje de ADN en la cola y el momento de la cola de oliva reflejaron un aumento en el daño genético inducido por el sorbato. Estos hallazgos demuestran que los eritrocitos de tilapia son un modelo efectivo para evaluar la citotoxicidad y genotoxicidad, subrayando la necesidad de regular las concentraciones de conservantes alimentarios para proteger la integridad genética y la seguridad de los consumidores.

Palabras clave: Eritrocitos, *Oreochromis niloticus*, sorbato de potasio, benzoato de sodio, genotoxicidad, ensayo cometa.

Abstract: The study evaluated the genotoxicity of sodium benzoate and potassium sorbate using the comet assay, employing erythrocytes of *Oreochromis niloticus* (tilapia) as an *ex vivo* biological model. This model is a viable alternative due to its genetic homogeneity, nucleated cells, and low cost. Treatments were conducted with concentrations of 40, 65, and 90 mg/ml of both preservatives and were compared with positive (cyclophosphamide) and negative (fetal bovine serum) controls. The results showed that potassium sorbate has a greater genotoxic effect than sodium benzoate, with a clear dose-response relationship in DNA fragmentation. From 40 mg/ml, sorbate showed a significant increase in DNA damage, and at 90 mg/ml, the damage was comparable to the positive control. Sodium benzoate presented a less severe effect, maintaining high cell viability at concentrations of 40 and 65 mg/ml, while sorbate reduced viability at higher concentrations, with an LD50 of 163 mg/ml. Parameters such as the percentage of tail DNA and olive tail moment reflected an increase in genetic damage induced by sorbate. These findings demonstrate that tilapia erythrocytes are an effective model for evaluating cytotoxicity and genotoxicity, highlighting the need to regulate the concentrations of food preservatives to protect genetic integrity and consumer safety.

Keywords: Erythrocytes, *Oreochromis niloticus*, potassium sorbate, sodium benzoate, genotoxicity, comet assay

Recibido: 07.11.2024

Aceptado: 05.03.2025

Publicado (en línea): 20.01.2026

Citación: Crespo, J.; D. Salirrosas; L. Argomedo & Z. Prieto. 2024. Evaluación de la genotoxicidad del benzoato de sodio y sorbato potasio por el ensayo cometa *ex vivo* en eritrocitos de *Oreochromis niloticus* "tilapia". *Arnaldoa* 31(3): 339 - 347.
<http://doi.org/10.22497/arnaldoa.313.31303>



INTRODUCCIÓN

Para evaluar el daño al ADN causado por agentes químicos o físicos, el ensayo cometa se destaca por su alta sensibilidad en sistemas biológicos *in vivo*, *in vitro* y *ex vivo* (Mišík *et al.*, 2023; Sánchez-Alarcón *et al.*, 2021). Las pruebas de genotoxicidad *in vivo* enfrentan restricciones cada vez más estrictas en Europa respecto al uso de animales de laboratorio (Bas *et al.*, 2021). Por otro lado, los sistemas *in vitro* requieren un presupuesto elevado y un manejo complejo (Hockney *et al.*, 2023), y en las pruebas *ex vivo* es usual el uso de muestras de sangre periférica de donadores humanos, sin embargo, la variabilidad genética no controlada incrementa los costos por el número de repeticiones en las pruebas de genotoxicidad (Mamur *et al.*, 2010; Stice *et al.*, 2019).

En este contexto, los eritrocitos de *Oreochromis niloticus* (tilapia) emergen como una alternativa viable para ensayos de citotoxicidad y genotoxicidad, dadas sus características: la disponibilidad de líneas con alta homogeneidad genética, la presencia de eritrocitos nucleados, la posibilidad de realizar múltiples ensayos con una cantidad mínima de muestra, sin causar la muerte del individuo, y un bajo costo asociado (Prieto *et al.*, 2008). Los estudios previos han demostrado la viabilidad de utilizar eritrocitos de tilapia en este tipo de análisis, lo que permitiría evitar el uso de animales completos y obtener resultados confiables sin comprometer su bienestar (Cavas y Konen, 2008).

El uso de células sanguíneas de peces ha sido explorado en diversos estudios de genotoxicidad, con algunos enfoques en sangre completa (Witeska *et al.*, 2023), linfocitos (Orozco-Hernández *et al.*, 2019) y eritrocitos (Sharma *et al.*, 2022). En el caso de la tilapia, estudios han evaluado la genotoxicidad utilizando eritrocitos y han resaltado la necesidad de estandarizar procedimientos desde la cría de los animales hasta la toma de muestras y la ejecución del ensayo cometa para detectar daños en el ADN causados por productos químicos como el benzoato de sodio y el sorbato de potasio.

La seguridad de estos conservantes ha sido objeto de debate. Algunos estudios consideran al benzoato de sodio seguro para el consumo humano (Hejazi *et al.*, 2024; Olofinnade *et al.*, 2021) aunque se han reportado efectos genotóxicos a bajas concentraciones en ciertos modelos (Alsenosy *et al.*, 2024; Pongsavee, 2015). El sorbato de potasio, aunque también se considera seguro (Dehghan, 2018), ha mostrado potencial genotóxico a concentraciones bajas (Chaleshtori *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2024).

Por lo tanto, este estudio tiene como objetivo utilizar eritrocitos de tilapia como un modelo *ex vivo* para evaluar el efecto genotóxico del benzoato de sodio y el sorbato de potasio mediante el ensayo cometa, contribuyendo a la búsqueda de alternativas que reduzcan el uso de animales en la experimentación y proporcionando nuevos datos que podrían ser útiles para futuras investigaciones sobre la seguridad de estos conservantes.

MATERIAL Y MÉTODOS

2.1 Producto químico en estudio

El sorbato de potasio (CAS: 24634-61-5; Emprove® Expert)

y el benzoato de sodio (CAS: 532-32-1; Emprove® Expert) se adquirieron en Perú MERCK.

2.2 Cría y manejo de peces

Los especímenes de prueba, *Oreochromis niloticus*, se adquirieron en el Centro Experimental de Genética de la Universidad Nacional de Trujillo. Los peces se criaron en piscinas de PVC de 4800 L durante dos semanas antes de la experimentación. Los peces de prueba se alimentaron dos veces al día con alimento comercial de 40% de proteína (1 % del peso corporal del pez en cada alimentación). El agua se cambió cada dos días y se eliminaron las heces. La temperatura del agua, el oxígeno disuelto fueron 24 ± 1 °C, $4 \pm 0,5$ mg/L, respectivamente.

2.3 Obtención del biomaterial

Para la obtención de las muestras, se empleó una jeringa de 1 ml previamente heparinizada, con la cual se extrajo aproximadamente 0,1 ml de sangre de la vena ventral, ubicada cerca de la aleta caudal. Se seleccionó esta área debido a que no está directamente expuesta al medio externo, a diferencia de las branquias, que inicialmente se considerarán como sitio de extracción. No fue necesaria la separación de células, ya que aproximadamente el 98% de las células presentes son eritrocitos (Cavas y Konen, 2008).

2.4 Prueba de viabilidad

La prueba de viabilidad celular se realizó para determinar la curva de regresión y la dosis letal media (DL50), por triplicado mediante el método de tinción con yoduro de propidio (IP). La viabilidad celular se analizó antes y después de cada tratamiento, promediando los resultados obtenidos. Las pruebas se realizaron en condiciones de oscuridad y temperatura ambiente. Al finalizar la hora de tratamiento, se tomaron muestras de 20 µl, que se mezclaron con IP y se analizaron en un microscopio de fluorescencia (Olympus-BX50, Japón) a 400 aumentos, usando un filtro de excitación de 510-550 nm (Lee *et al.*, 2009). Los eritrocitos teñidos de rojo indicaron células no viables, y el análisis de imágenes se realizó con el software ImageJ versión 1.8 para cuantificar los resultados.

2.5 Suspensión celular

Manteniendo una proporción de 2:500 (4µl, la muestra de sangre se mezcló con medio de Suero Bovino Fetal (SBF) y se pipeteó suavemente hasta lograr una suspensión homogénea de los eritrocitos en el medio. De esta suspensión celular, se tomó una alícuota de 50 µl y se colocó en 10 viales de 1.5ml para realizar los tratamientos posteriores. Se ha demostrado que el medio SBF preserva la integridad celular y del ADN en eritrocitos de peces de manera más efectiva que otros medios (Ramsdorf *et al.*, 2009).

2.6 Tratamientos

Se emplearon tres concentraciones de benzoato de sodio y sorbato de potasio (40, 65 y 90 mg/ml) para los tratamientos, junto con un control positivo de ciclofosfamida (5 mg/ml) y un control negativo con suero bovino fetal (SBF). A cada vial con 50 µl de suspensión celular se agregaron 10 µl de cada concentración y de los controles, manteniéndolos durante

una hora a 22°C para minimizar la acción de los mecanismos de reparación celular.

2.7 Ensayo Cometa

El ensayo cometa se realizó evitando la exposición a luz artificial y solar directa, siguiendo recomendaciones para prevenir efectos indeseados. Primero, las láminas limpias y demarcadas se sumergieron en agarosa de punto de fusión normal (1%) en un vaso de precipitación de 50 ml por 2 minutos, se eliminó el excedente y se dejaron secar a temperatura ambiente, formando una primera capa como base. Al día siguiente, se fijó una segunda capa mezclando agar LMP (1%) con suspensión celular, obteniendo una concentración final de 0,7%; se depositó en las láminas y se refrigeró a 4°C por 15 minutos. Enseguida, las láminas fueron tratadas con una solución de lisis (NaCl 2.5M, EDTA 0.1M, Tris 0.01M ajustada a pH 10 con LiOH, suplementado con 1% Tritón y 1% DMSO) a 4°C durante una hora, luego se enjuagaron con agua destilada para remover sales. Para el desenrollamiento del ADN, se sumergieron en una cámara de electroforesis con solución amortiguadora (EDTA 200mM, NaOH 10N, pH >13) a 4°C durante 25 minutos y, acto seguido, se realizó la electroforesis a 25V y 300mA por 25 minutos. Las láminas se neutralizaron en buffer por 7 minutos, se enjuagaron y secaron a temperatura ambiente (Crespo, 2021; Sánchez-Tuesta *et al.*, 2021). Finalmente, se tiñeron con SYBR Gold y fueron observadas en un microscopio de fluorescencia (Olympus BX51) a 400 aumentos, capturando imágenes aleatorias en la parte central para análisis en el software TriTek Comet Score 2.0

Análisis de cometas mediante el método visual:

Análisis visual de cometas tomando como referente a Caffetti *et al.* (2014).

Clase 0: Sin cola de cometa (sin daño)

Clase 1: Tamaño de la cola menor o igual que cabeza

Clase 2: Cabeza < tamaño de la cola ≤ doble de la cabeza

Clase 3: Tamaño de la cola > doble de la cabeza

Luego se reemplaza en la siguiente fórmula:

$$UA = 0 \cdot TCG0 + 1 \cdot TCG1 + 2 \cdot TCG2 + 3 \cdot TCG3$$

UA: Unidades arbitrarias

TCC0: total de células de clase 0

TCC1: total de células de clase 1

TCC2: total de células de clase 2

TCC3: total de células de clase 3

2.8 Toma de parámetros y análisis estadístico:

Con el software TriTek CometScore 2.0, se ajustaron las imágenes para leer solo los cometas en su color original, recolectando datos de 50 cometas al azar por réplica, con tres repeticiones (n=150). Se midieron los parámetros: porcentaje de ADN en la cola (Tail DNA%), momento de la cola (TM) y momento de la cola de oliva (OTM). Los datos se analizaron en Excel y OriginLab Pro 2020, aplicando una prueba de Kolmogorov-Smirnov para verificar la normalidad y un

ANOVA de una vía para identificar diferencias significativas entre tratamientos, seguido de la prueba HSD de Tukey para comparaciones múltiples. También se validaron parámetros de viabilidad celular y genotoxicidad para asegurar precisión y reproducibilidad, realizando análisis estadísticos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados del ensayo cometa evidencian diferencias claras en la citotoxicidad y genotoxicidad del benzoato de sodio y el sorbato de potasio en eritrocitos de *Oreochromis niloticus*. Como se observa en la Tabla 1 y figura 1, la viabilidad celular de los eritrocitos expuestos a benzoato de sodio se mantuvo alta (>80%) a concentraciones de 40 y 65 mg/ml, mientras que el sorbato de potasio mostró una disminución significativa de la viabilidad a concentraciones superiores a 120 mg/ml, alcanzando una dosis letal media (DL50) de 163 mg/ml. Esto indica una toxicidad superior del sorbato de potasio en comparación con el benzoato de sodio, hallazgo que concuerda con estudios previos que reportan la citotoxicidad del sorbato en linfocitos humanos (Pongsavee & Mishra, 2021), así como en células humanas de la línea Jurkat, donde se observaron efectos tóxicos a dosis menores (Softić *et al.*, 2022), y en *Drosophila melanogaster*, demostrando un patrón similar de toxicidad (Zhang *et al.*, 2024).

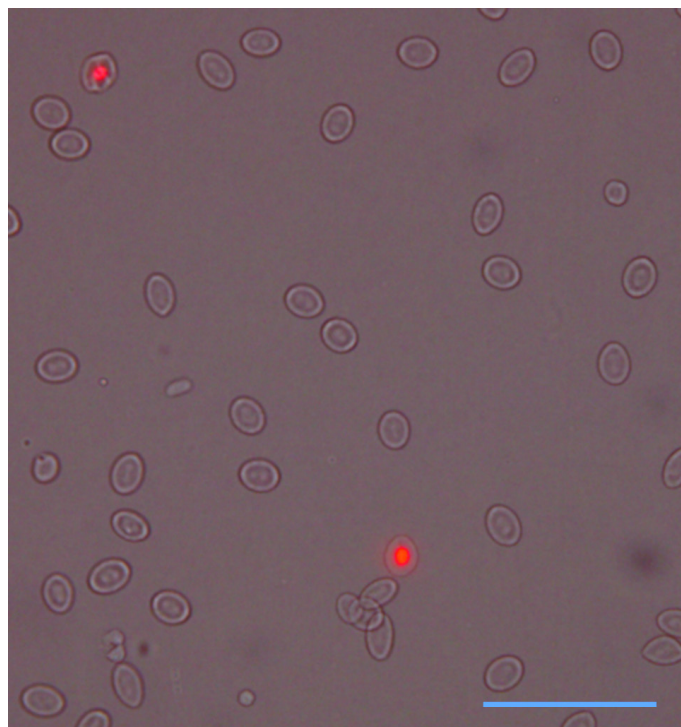


Figura 1. Coloración de eritrocitos de sangre periférica de la vena caudal de *Oreochromis niloticus* con ioduro de propidio (IP), observados al microscopio de fluorescencia a 400 aumentos. Barra 50 µm.

Tabla 1. Porcentaje de viabilidad (promedio $\pm$ SD) de eritrocitos de *Oreochromis niloticus* expuestos a ciclofosfamida, sorbato de potasio, benzoato de sodio y control negativo (suero bovino fetal 83.3%). n= 2000 células. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

Tratamientos	n	Porcentaje de viabilidad
Benzoato de sodio 90 mg/ml	3	82,37 $\pm$ 0,23 cd
Benzoato de sodio 80 mg/ml	3	88,56 $\pm$ 1,33 bc
Benzoato de sodio 65 mg/ml	3	95,88 $\pm$ 0,52 ab
Benzoato de sodio 40 mg/ml	3	98,47 $\pm$ 0,27 a
Sorbato de potasio 200 mg/ml	3	16,36 $\pm$ 3,91 f
Sorbato de potasio 170 mg/ml	3	47,57 $\pm$ 2,33 e
Sorbato de potasio 140 mg/ml	3	76,94 $\pm$ 4,23 d
Sorbato de potasio 120 mg/ml	3	85,18 $\pm$ 4,72 c
Sorbato de potasio 90 mg/ml	3	89,20 $\pm$ 1,93 bc
Sorbato de potasio 80 mg/ml	3	96,21 $\pm$ 0,84 ab
Sorbato de potasio 65 mg/ml	3	95,34 $\pm$ 0,34 a
Ciclofosfamida 10 mg/ml	3	96,96 $\pm$ 0,52 a
Ciclofosfamida 5 mg/ml	3	97,68 $\pm$ 1,67 a
Ciclofosfamida 2.5 mg/ml	3	97,65 $\pm$ 0,56 a
Ciclofosfamida 1.83 mg/ml	3	98,12 $\pm$ 1,11 a
Control negativo	3	98,23 $\pm$ 0,74 a

La Figura 2 presenta las curvas de viabilidad para ambos compuestos y muestra la tendencia de disminución en la viabilidad de los eritrocitos a medida que se incrementan las concentraciones de sorbato de potasio, siendo esta tendencia menos pronunciada en los tratamientos con benzoato de sodio. Este hallazgo sugiere que los eritrocitos de *O. niloticus* son más resistentes al benzoato de sodio, lo cual podría estar relacionado con el menor impacto de este conservante en la integridad de la membrana celular en comparación con el sorbato. Además, la toxicidad observada podría estar asociada a la capacidad del sorbato de potasio para generar especies reactivas de oxígeno (ROS), lo cual ha sido reportado en estudios con otros modelos celulares (Hasegawa *et al.*, 1984; Qu *et al.*, 2019).

Respecto al análisis de genotoxicidad, el porcentaje de ADN en la cola, el momento de la cola (TM) y el momento de la cola oliva (OTM) proporcionan una evaluación precisa del daño en el ADN (Tabla 2). El sorbato de potasio a concentraciones de 40 mg/ml o superiores mostró una notable fragmentación del

ADN en comparación con el control negativo y el benzoato de sodio, lo cual respalda una relación dosis-respuesta en términos de daño genético, lo que es consistente con el aumento de genotoxicidad observada en linfocitos humanos expuestos a concentraciones similares de este compuesto (Mamur *et al.*, 2010; Pongsavee *et al.*, 2021).

La Figura 3 ilustra el porcentaje de ADN en la cola para cada tratamiento, destacando que, a 90 mg/ml, el sorbato de potasio provoca un daño significativamente mayor en comparación con el benzoato de sodio y el control negativo, siendo la fragmentación del ADN comparable a la inducida por el control positivo (ciclofosfamida). Este patrón de daño refuerza la idea de que el sorbato de potasio tiene una mayor capacidad genotóxica y su efecto depende de la concentración y tiempo de exposición. Estos resultados coinciden con investigaciones en larvas de pez cebra y en linfocitos humanos, donde se observaron efectos tóxicos similares tras la exposición a conservantes (El-Shennawy *et al.*, 2020; Zengin *et al.*, 2011).

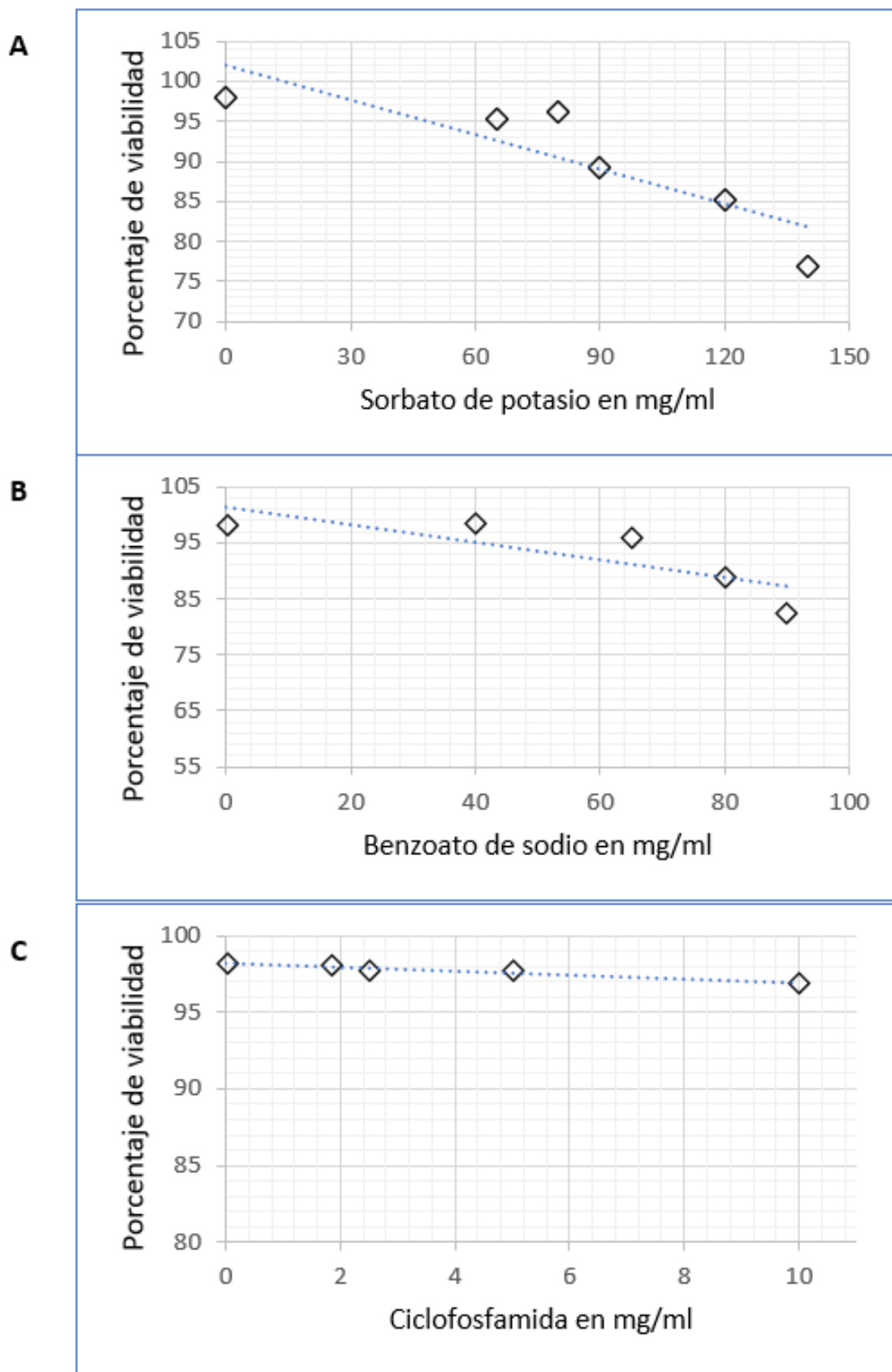


Figura 2. Porcentaje de viabilidad de los eritrocitos de *Oreochromis niloticus* en función de la concentración de benzoato de sodio (A), sorbato de potasio (B), ciclofosfamida (C), b = coeficiente de regresión, $\alpha = 0,05$).

Tabla 2. Promedios y desviación estándar del porcentaje de DNA en la cola (Tail DNA%), momento de la cola (TM) y momento de la cola de oliva (OTM) en eritrocitos de *O. niloticus* expuestos a las concentraciones de benzoato de sodio (40, 65 y 90 mg/ml), sorbato de potasio (15, 40, 65 y 90 mg/ml), un grupo control (ciclofosfamida) y un control negativo (suero bovino fetal 83.3%).

Tratamiento	n	Tail DNA %	TM	TOM
Control positivo	3	59,28 ± 20,09 ^a	59,06 ± 41,52 ^a	34,77 ± 23,87 ^a
Control negativo	3	27,76 ± 12,85 ^d	13,97 ± 13,05 ^{de}	10,16 ± 06,12 ^{de}
BS 90 mg/ml	3	34,99 ± 12,69 ^c	20,14 ± 15,61 ^d	14,73 ± 07,61 ^d
BS 65 mg/ml	3	28,77 ± 11,08 ^d	18,36 ± 14,52 ^d	15,13 ± 08,70 ^d
BS 40 mg/ml	3	25,98 ± 08,86 ^d	09,77 ± 07,55 ^e	10,51 ± 04,42 ^e
SP 90mg/ml	3	49,26 ± 15,68 ^b	42,91 ± 32,02 ^b	25,58 ± 16,21 ^b
SP 65mg/ml	3	44,69 ± 09,49 ^b	38,49 ± 15,11 ^{bc}	21,34 ± 06,97 ^c
SP 40mg/ml	3	38,98 ± 13,43 ^c	33,83 ± 24,63 ^c	20,51 ± 11,16 ^c
SP 15mg/ml	3	34,45 ± 11,91 ^c	19,15 ± 15,71 ^d	13,47 ± 06,37 ^{de}

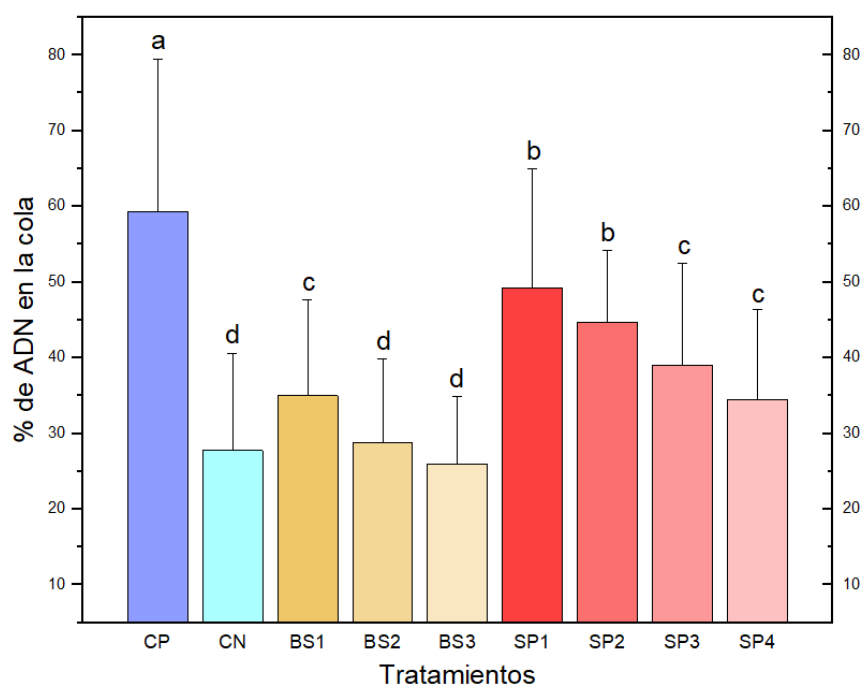


Figura 3 Promedios del daño al ADN nuclear de eritrocitos de *Oreochromis niloticus* expresados en porcentaje de ADN en la cola expuestos a dos conservantes alimentarios, incluyendo un control positivo y uno negativo.

CP: Control positivo (ciclofosfamida 5mg/ml), CN: Control negativo (suero bovino fetal 83.3%), BS1, BS2 y BS3: Benzoato de sodio 90, 65 y 40mg/ml, SP1, SP2, SP3 y SP4: Sorbato de potasio 90, 65, 40 y 15mg/ml.

La evaluación visual del daño en los cometas, representada en la Figura 4, clasifica el daño en cuatro niveles (clases 0 a 3). A concentraciones de 90 mg/ml, el sorbato de potasio induce predominantemente cometas con daño en clases 2 y 3, mientras que el benzoato de sodio, a la misma concentración, presenta mayor frecuencia de cometas en clases 0 y 1, sugiriendo un daño leve. La Tabla 3 cuantifica esta clasificación en términos de unidades arbitrarias (UA), mostrando que el sorbato de potasio alcanzó un promedio de 243.34 UA en cometas de clase 3, en comparación con 157.67 UA para el benzoato de sodio. Esta diferencia en UA respalda la mayor capacidad genotóxica del sorbato de potasio, probablemente vinculada a su potencial para inducir estrés oxidativo en las células, como ha sido reportado en estudios que vinculan este conservante con la producción de ROS que fragmentan el ADN (Acar *et al.*, 2021; Mamur *et al.*, 2010).

Este análisis visual y cuantitativo en UA también respalda los hallazgos de estudios previos en los que el sorbato de potasio mostró un daño acumulativo en el ADN a dosis elevadas en diversos modelos celulares, incluyendo linfocitos humanos, donde se observaron efectos significativos en la estabilidad del ADN, independientemente de los mecanismos naturales de reparación celular (Mohiuddin *et al.*, 2021; Hasegawa *et al.*, 1984). Estos resultados sugieren que, aunque el sorbato de potasio es un conservante común, puede presentar riesgos genotóxicos a concentraciones elevadas. Esto subraya la necesidad de limitar su uso en aplicaciones que impliquen contacto prolongado o acumulación en tejidos biológicos, para evitar un impacto potencial en la integridad genética de las células expuestas.

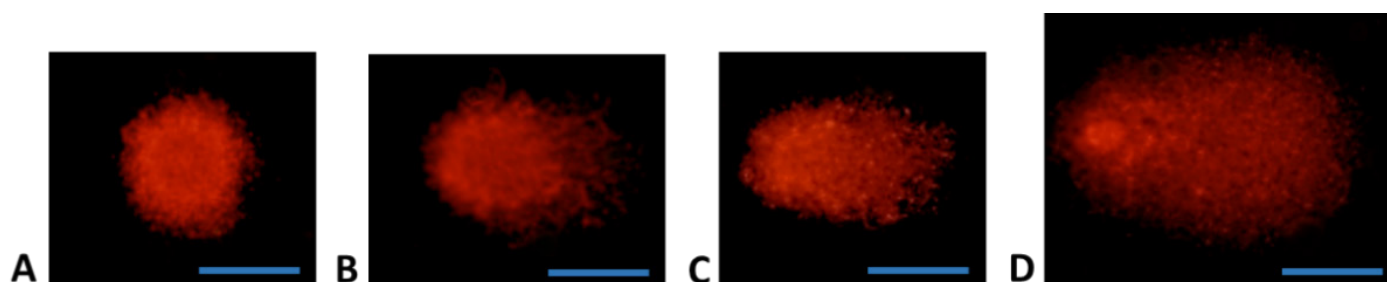


Figura 4. Representación de niveles de daño al ADN nuclear que se presentan después de realizar la electroforesis, según Caffetti *et al.* (2018); Souza *et al.*, (2019).

Tabla 3. Promedio y desviación estándar de los grados de daño del ADN nuclear como respuesta a los tratamientos. UA: unidades arbitrarias. C. Positivo: ciclofosfamida 5mg/ml, C. Negativo (suero bovino fetal 83.3%).

	GRADO 0	GRADO 1	GRADO 2	GRADO 3	U.A.
C. Positivo	02,67 ± 3.06 ^b	05.34 ± 01,53 ^e	23,67 ± 01,53 ^{cd}	68,34 ± 03,52 ^a	257,67 ^a
C. Negativo	34,34 ± 4.05 ^a	48,00 ± 03,00 ^a	12,34 ± 05,51 ^f	05,34 ± 01,53 ^{fg}	088,67 ^{ef}
BS 90 mg/ml	08,67 ± 2.09 ^b	40,67 ± 04,05 ^a	35,00 ± 05,20 ^{bc}	15,67 ± 01,53 ^{ef}	157,67 ^d
BS 65 mg/ml	30,34 ± 4.17 ^a	41,67 ± 02,09 ^a	19,00 ± 05,20 ^{de}	09,00 ± 02,00 ^{fg}	106,67 ^e
BS 40 mg/ml	38,34 ± 8.09 ^a	48,00 ± 03,00 ^a	10,34 ± 04,05 ^f	03,34 ± 01,16 ^g	078,67 ^f
SP 90 mg/ml	01,34 ± 2.31 ^b	11,00 ± 02,65 ^{de}	30,67 ± 04,05 ^{bc}	57,00 ± 05,57 ^b	243,34 ^{ab}
SP 65 mg/ml	01,67 ± 0.58 ^b	15,00 ± 01,74 ^{cd}	43,67 ± 02,89 ^a	39,67 ± 02,52 ^c	221,34 ^b
SP 40 mg/ml	05,34 ± 3.52 ^b	23,00 ± 04,59 ^{bc}	47,67 ± 02,52 ^a	24,00 ± 04,00 ^{de}	190,34 ^c
SP 15 mg/ml	10,34 ± 2.89 ^b	30,67 ± 04,51 ^b	30,34 ± 04,94 ^{bc}	28,67 ± 06,51 ^d	177,34 ^{cd}

CONCLUSIONES

En conclusión, los eritrocitos de *Oreochromis niloticus* demostraron ser un modelo biológico *ex vivo* efectivo para evaluar la citotoxicidad y genotoxicidad del benzoato de sodio y sorbato de potasio mediante el ensayo cometa. Los resultados indicaron que el sorbato de potasio presenta un mayor potencial genotóxico en comparación con el benzoato de sodio, mostrando una relación dosis-respuesta significativa en cuanto al daño en el ADN, medido en unidades arbitrarias (UA), con un mayor porcentaje de ADN en la cola y momentos de cola de oliva (TM y TOM).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acar, A.** 2021. Therapeutic effects of royal jelly against sodium benzoate-induced toxicity: cytotoxic, genotoxic, and biochemical assessment. *Environmental Science and Pollution Research* 28(26): 34410-34425. Doi: <https://doi.org/10.1007/s11356-021-13172-6>
- Al-senousy, N. K.; Al-Dalain, S. Y.; El-DougDoug, K. A. & El Nady, G. H.** 2024. Potassium Benzoate Induced Cytotoxicity via Alteration of Gene Expression-Associated Apoptosis and Cell Cycle Genes in Tumor Cell Lines. *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences. C, Physiology and Molecular Biology* 16(2): 211-222. Disponible en: [10.21608/EAJBSC.2024.386696](https://doi.org/10.21608/EAJBSC.2024.386696)
- Caffetti, J. D.** 2014. Estudio del potencial genotóxico de aguas del río Paraná mediante ensayo cometa y micronúcleos in vivo e in vitro (Tesis de postgrado). Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina. Disponible en: <https://core.ac.uk/download/pdf/199454528.pdf>
- Çavaş, T. & Könen, S.** 2008. In vivo genotoxicity testing of the amnesic shellfish poison (domoic acid) in piscine erythrocytes using the micronucleus test and the comet assay. *Aquatic Toxicology* 90(2): 154-159. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2008.08.011>
- Chaleshtori, F. S.; Arian, A.; Chaleshtori, R. S.** 2018. Assessment of sodium benzoate and potassium sorbate preservatives in some products in Kashan, Iran with estimation of human health risk. *Food and Chemical Toxicology* 120: 634-638. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.08.010>
- Crespo, M. J. P.** 2021. Determinación de la utilidad de eritrocitos de *Oreochromis niloticus* "tilapia" en la evaluación de genotoxicidad *ex vivo* del benzoato de sodio y sorbato de potasio por el ensayo cometa. Tesis para optar el Título de Biólogo. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo, Perú. Disponible en: <https://repositorioslatinoamericanos.uchile.cl/handle/2250/4759032>
- Dehghan, P.; Mohammadi, A.; Mohammadzadeh-Aghdash, H.; Dolatabadi, J. E.** 2018. Pharmacokinetic and toxicological aspects of potassium sorbate food additive and its constituents. *Trends in Food Science & Technology* 80 (1): 123-130. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.07.012>
- Hasegawa, M. M.; Nishi, Y.; Ohkawa, Y.; Inui, N.** 1984. Effects of sorbic acid and its salts on chromosome aberrations, sister chromatid exchanges and gene mutations in cultured Chinese hamster cells. *Food and chemical toxicology* 22(7): 501-507. Doi: [https://doi.org/10.1016/0278-6915\(84\)90219-9](https://doi.org/10.1016/0278-6915(84)90219-9)
- Hockney, S.; Parker, J.; Turner, J. E.; Todd, X.; Todryk, S.; Gieling, R. G.; ... & Pal, D.** 2023. Next generation organoid engineering to replace animals in cancer drug testing. *Biochemical Pharmacology* 213: 115586. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2023.115586>
- Mamur, S.; Yuzbasiglu, D.; Unal, F.; Yilmaz, S.** 2010. Does potassium sorbate induce genotoxic or mutagenic effects in lymphocytes? *Toxicology in vitro*, 24(3): 790-794. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2009.12.021>
- Mehra, S. & Chadha, P. (2021).** Naphthalene-2-sulfonate induced toxicity in blood cells of freshwater fish *Channa punctatus* using comet assay, micronucleus assay and ATIR-FTIR approach. *Chemosphere* 265: 129147. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.129147>
- Mišík, M.; Kundi, M.; Worel, N.; Ferk, F.; Hutter, H. P.; Grusch, M.; ... & Knasmueller, S.** 2023. Impact of mobile phone-specific electromagnetic fields on DNA damage caused by occupationally relevant exposures: results of *ex vivo* experiment with peripheral blood mononuclear cells from different demographic groups. *Mutagenesis* 38(4): 227-237. Doi: <https://doi.org/10.1093/mutage/thead022>
- Lee, H. L.; Kim, S. H.; Ji, D. B.; Kim, Y. J.** 2009. A comparative study of Sephadex, glass wool and Percoll separation techniques on sperm quality and IVF results for cryopreserved bovine semen. *Journal of veterinary science* 10(3): 249-255. Doi: <https://doi.org/10.4142/jvs.2009.10.3.249>
- Olofinnade, A. T.; Onaolapo, A. Y.; Onaolapo, O. J. & Olowe, O. A.** 2021. The potential toxicity of food-added sodium benzoate in mice is concentration-dependent. *Toxicology Research* 10(3), 561-569. Doi: <https://doi.org/10.1093/toxres/tfab024>
- Orozco-Hernández, J. M.; Oliván, L. M. G.; Heredia-García, G.; Luja-Mondragón, M.; Islas-Flores, H.; SanJuan-Reyes, N.; ... & Dublán-García, O.** 2019. Genotoxic and cytotoxic alterations induced by environmentally-relevant concentrations of amoxicillin in blood cells of *Cyprinus carpio*. *Chemosphere*, 236, 124323. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.07.054>
- Prieto, Z.; León-Incio, J.; Quijano-Jara, C.; Fernández, R.; Polo-Benites, E.; Vallejo-Rodríguez, R. & Villegas-Sanchez, L.** 2008. Efecto Genotóxico del Dicromato de Potasio en Eritrocitos de sangre periférica de *Oreochromis Niloticus* (Tilapia). *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública* 25(1), 51-58. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=36311619008>
- Pongsavee, M.** 2015. Effect of sodium benzoate preservative on micronucleus induction, chromosome break, and Ala40Thr superoxide dismutase gene mutation in lymphocytes. *BioMed research international* 1(1):1-5. Doi: <https://doi.org/10.1155/2015/103512>

- Pongsavee, M. & Mishra, R.** 2021. Potassium Sorbate Induces Oxidative Stress and Genotoxicity in Human Lymphocytes. *Indian Journal of Forensic Medicine & Toxicology* 15(2): 2795. Doi: <http://dx.doi.org/10.37506/ijfmt.v15i2.14795>
- Qu, D.; Jiang, M.; Huang, D.; Zhang, H.; Feng, L.; Chen, Y.; ... & Han, J.** 2019. Synergistic effects of the enhancements to mitochondrial ROS, p53 activation and apoptosis generated by aspartame and potassium sorbate in HepG2 cells. *Molecules* 24(3): 457. Doi: <https://doi.org/10.3390/molecules24030457>
- Sánchez-Alarcón, J.; Milić, M.; Bustamante-Montes, L. P.; Isaac-Olivé, K.; Valencia-Quintana, R. & Ramírez-Durán, N.** 2021. Genotoxicity of mercury and its derivatives demonstrated in vitro and in vivo in human populations studies. Systematic review. *Toxics* 9(12): 326. Doi: <https://doi.org/10.3390/toxics9120326>
- Sánchez-Tuesta, L.; Reátegui-Pinedo, N.; Salirrosas, D.; Morocho-Jácome, A. L.; Sarruf, F. D.; Martinez, R. M.; ... & Prieto, Z. A.** 2021. Preliminary safety evaluation of n-butanol from the collagen extraction process and of collagen extract from *Oreochromis niloticus* (tilapia) skin oriented for dermocosmetics. *Biomed. Pharm. Res* 18: 1-16. Doi: [10.19277/bbr.18.1.256](https://doi.org/10.19277/bbr.18.1.256)
- Ramsdorf, W. A.; de SF Guimaraes, F.; Ferraro, M. V.; Gabardo, J.; da Silva Trindade, E.; Cestari, M. M.** 2009. Establishment of experimental conditions for preserving samples of fish blood for analysis with both comet assay and flow cytometry. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 673(1): 78-81. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2008.11.010>
- Sharma, R. & Jindal, R.** 2022. In vivo genotoxic effects of commercial grade cypermethrin on fish peripheral erythrocytes. *Environmental and molecular mutagenesis* 63(4): 204-214. Doi: <https://doi.org/10.1002/em.22484>
- Softić, A.; Srabović, N.; Smajlović, A.; Husejnović, M. Š.; Lelić, M.; Dautović, E. & Halilčević, D.** 2022. Cytotoxicity and genotoxicity of sunset yellow and potassium sorbate in jurkat cell line. *International Journal of Biochemistry Research & Review* 31(2):1-9. Doi: <https://doi.org/10.9734/ijbcurr/2022/v31i230301>
- Stice, S. A.; Beedanagari, S. R.; Vulimiri, S. V.; Bhatia, S. P. & Mahadevan, B.** (2019). Genotoxicity biomarkers: Molecular basis of genetic variability and susceptibility. In *Biomarkers in Toxicology*. Academic Press 807-821. Doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814655-2.00044-X>
- Witeska, M.; Kondera, E. & Bojarski, B.** 2023. Hematological and hematopoietic analysis in fish toxicology—a review. *Animals* 13(16): 2625. Doi: <https://doi.org/10.3390/ani13162625>
- Zengin, N.; Yuzbaşıoglu, D.; Unal, F. A.; Yilmaz, S.; Aksoy, H.** 2011. The evaluation of the genotoxicity of two food preservatives: sodium benzoate and potassium benzoate. *Food and Chemical Toxicology* 49(4): 763-769. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.11.040>
- Zhang, X.; Zhang, Q.; Song, X.; Yang, W.; Cheng, A.; Zhang, J. & Dong, W.** 2024. Toxicity Evaluation of Potassium Sorbate In Vivo with *Drosophila Melanogaster*. *Insects* 15(9): 703. Doi: <https://doi.org/10.3390/insects15090703>