NACIONALNI INŠTITUT ZA BIOLOGIJO

Uporaba nanotehnologij v živilstvu - možni vplivi na varnost živil

prof. dr. Metka Filipič
Nacionalni inštitut za biologijo
Oddelek za genetsko toksikologijo in biologijo raka

Nanotehnologija in nanomateriali

- Nanotehnologija je opredeljena kot proizvodnja, predelava in uporaba materialov, ki imajo **eno ali več dimenzij enako ali manjšo od 100 nm.**
- Normalni fizikalno kemijski zakoni na nano ravni niso uporabni:

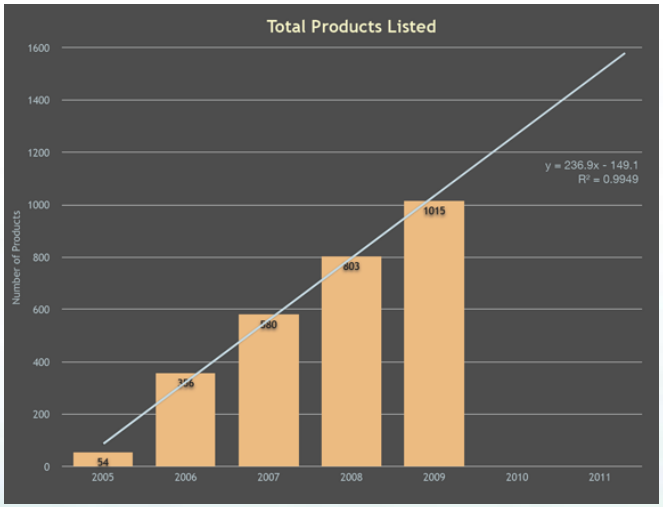
  - Nanomateriali se obnašajo drugače kot “izhodni” materiali
  - Ekstremna majhnost → velika površina →

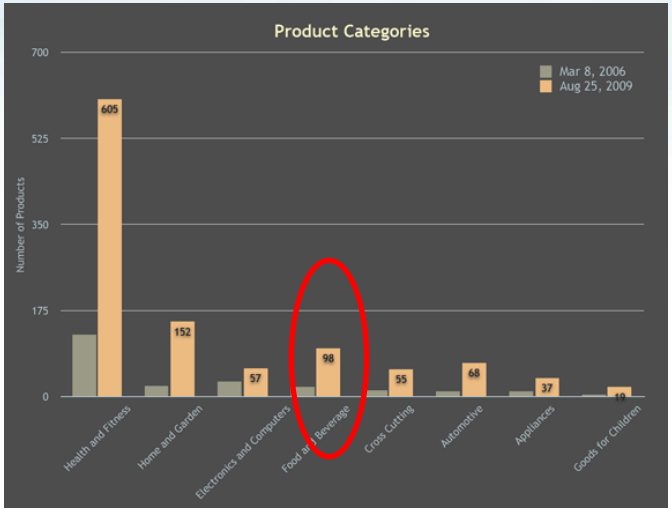
    → Nove lastnosti materialov → novi proizvodi
  - **Nove lastnosti materialov → drugačna tveganja ???**

“Nano” na tržišču

- Kozmetika in proizvodi za osebno nego
- Barve in premazi
- Katalizatorji in maziva
- Tekstil in športna oprema
- Medicina in varovanje zdravja
- **Živila in prehranski dodatki**
- **Embalaža za živila**
- Kmetijske kemikalije
- Veterinarska medicina
- Onesnaženje voda
- Gradbeni materiali
- Elektrika in elektronika
- Baterije
- Proizvodnja papirja
- Orožje in razstreliva

cca 10 %





http://www.nanotechproject.org/

Stanje na področju uporabe v živilstvu

- Hitro povečevanje R&D in uporabe nanotehnologij v živilstvu in sorodnih področjih.
- Pričakuje se vpliv na pridelavo rastlinske in živalske hrane, predelavo živil, skladiščenje, transport in potrošnjo.
- Večinoma se uporablja izven Evrope, le nekaj prehranskih dodatkov in embalažnih materialov je trenutno na razpolago tudi v EU.
- Globalna ocena uporabe nanotehnologije v živilstvu (vključno z embalažo) je bila 4 miliarde US$ v letu 2006, in naj bi narasla na 8 miliard US$ v letu 2010 in > 20 miliard US$ do leta 2012.

Kaj je nanoživilo (angl. nanoživilo)

Z izrazom nanoživilo označujemo živila, ki so bila pridelana, predelana ali pakirana s pomočjo nanotehnologije ali v katera so primešani nanomateriali.

Možnosti in prednosti:

- Novi okusi arome in teksture živil
- Manj maščobe, soli, sladkorja in konzervansov
- Povečan vnos in biološka dostopnost hranil in dodatkov
- Povečanje prehranske vrednosti
- Ohranjanje svežine in kvalitete živil
- “Izboljšana”,” Aktivna”, in “Pametna” embalaža
- Boljša sledljivost in varnost živil

Uporaba nanotehnologij v živilstvu

Klasifikacija (EFSA – European Food Safety Administration):

1. Kjer se nanotehnološki postopki in materiali uporabljajo za razvoj materialov, ki pridejo v stik s hrano. Sem spadajo z nanomateriali ojačeni materiali za embalažo živil ter prevleke na osnovi nanomaterialov.
2. Kjer se sestavine hrane obdelajo ali formulirajo tako, da nastanejo nanostrukture. Namen :izboljšanje teksture, okusa in konzistence.
3. Kjer se proizvedeni ND ali nano-kapsulirane sestavine dodajajo živilom. Sem spadajo aditivi (barvila, arome, konzervansi) , bioaktivni dodatki (vitamini, flavonoidi, Q-10…) ter tehnološki dodatki (npr. nanokapsulirani encimi) za različne uporabe.
4. Biosenzorji za spremljanje stanja živil tekom skladiščenja in transporta. Sem spada tudi pametna embalaža.
5. Druge posredne uporabe nanotehnologij, kot so razvoj nano kmetijskih kemikalij (pesticidi, gnojila…) ali veterinarski proizvodi.

Nano sestavine

Tehnologija:

- Sestavine hrane so obdelane ali formulirane tako, da nastanejo nano nanostrukture (nanoemulzije, micele…)

Korisiti:

- Izboljšana tekstura, aroma, okus
- Zmanjšanje količine soli, maščobe, sladkorja in drugih aditivov
- Boljša biološka razpoložljivost/korist za zdravje

Primeri:

- Nano aditivi (barvila,arome, konzervansi, antioksidanti)
- Likopen, Nano-sol, WOW majoneza

Možna tveganja:

- Zagotovljeno mora biti, da se nanostrukture v črevesu raztopijo/razgradijo - npr. da ne prenesejo netopnih biološko nerazgradljivih materialov v krvni obtok (“Trojanski konj”)

Dostavni sistemi za prehranske dodatke/nutricevtike

Tehnologija:

- Nanokapsuliranje sestavin, aditivov in prehranskih dodatkov
- Temeljijo na micelah in liposomih

Koristi:

- Prikritje okusa, zaščita pred razgradnjo med predelavo
- Povečana biološka razpoložljivost hranil/dodatkov
- Korist za zdravje

NSSL Supplements

Primeri:

- Aditivi (benzojeva k., citronska k., askorbinska k.), prehranski dodatki (vitamini A, E, izoflavoni, β-karoten, lutein, ω-3-maščobne k., konecim Q10)

Možna tveganja:

- Zagotovljeno mora biti, da večja biološka razpoložljivost ne privede do večjega zdravstvenega tveganja (predoziranje)
- Da ni porazdelitev po tkivih drugačna, kot pri konvencionalnih oblikah.

Nano aditivi

Tehnologija:

- Proizvedene nano oblike aditivov in prehranskih dodatkov

Koristi:

- Povečana biološka razpoložljivost hranil/dodatkov
- Antimikrobno in drugo za zdravje koristno delovanje.

Primeri:

- Mineralni prehranski dodatki (kalcij, magnezij, železo, cink, diatomejska zemlja, srebro, zlato)
- Nano-čaj, “slim-shake chocolate”

Možna tveganja:

- Možni neželeni učinki zaradi izpostavljenost netopnim prostim ND v in izven črevesa.
- Toksikološke lastnosti večine ND niso poznane.

Uporaba za materiale, ki so v stiku z živili

Izboljšani nano-kompoziti:

- Polimeri, ki jih sestavljajo nanomateriali za izboljšanje elastičnosti, vzdržljivosti, odpornosti na temperaturo in vlago ter nepropustnosti.

“Aktivni” nano-lompoziti:

- Plastični polimeri z vgrajenimi nanomateriali s protimikrobnimi lastnostmi (npr. nano-srebro)

“Inteligentna” in “pametna” embalaža

- Embalaža z nanosenzorji za spremljanje stanja živila

(temperatura, patogeni, svežost, vlaga, neoporečnost)

  - Intiligentno črnilo, reaktivne nanoplasti, prepoznava analita na nano ravni

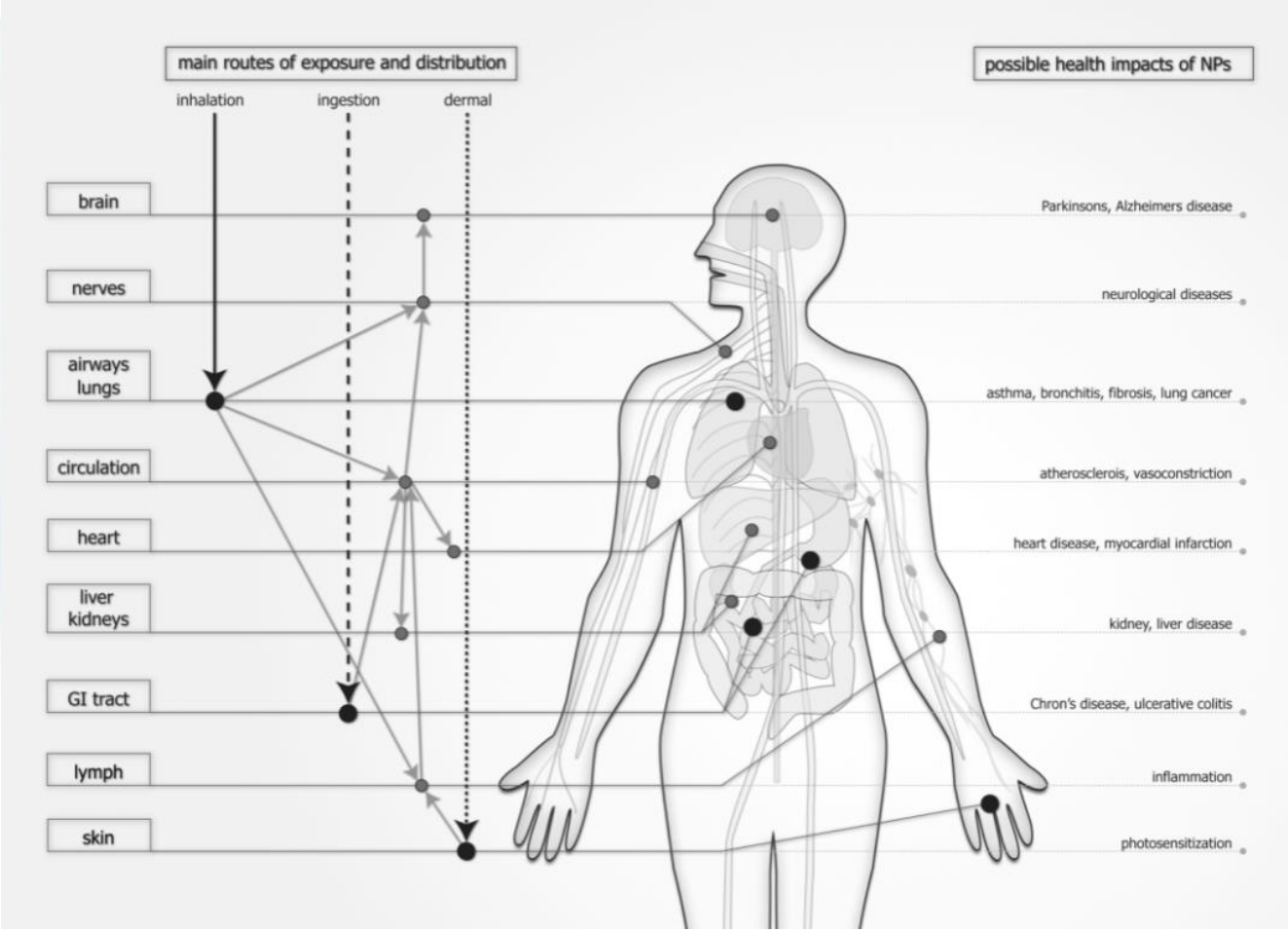
Možna tveganja:

- Migracija ND v hrano in pijačo

Nanostrukture v živilih niso nekaj novega

- Globularne beljakovine: 10 - 100 nm
- Polisaharidi & lipidi: linearni polimeri < 2 nm debeline
- Pene & emulzije: dvodimenzionalne nano-plasti
- Želiranje & dodajanje polimerov za konsistenco: tridimenzionalne nanostrukture (vlaknate mreže)
- Segrevanje škroba (skorja): 3D kristali debeline 10 nm.

Kaj pa varnost?

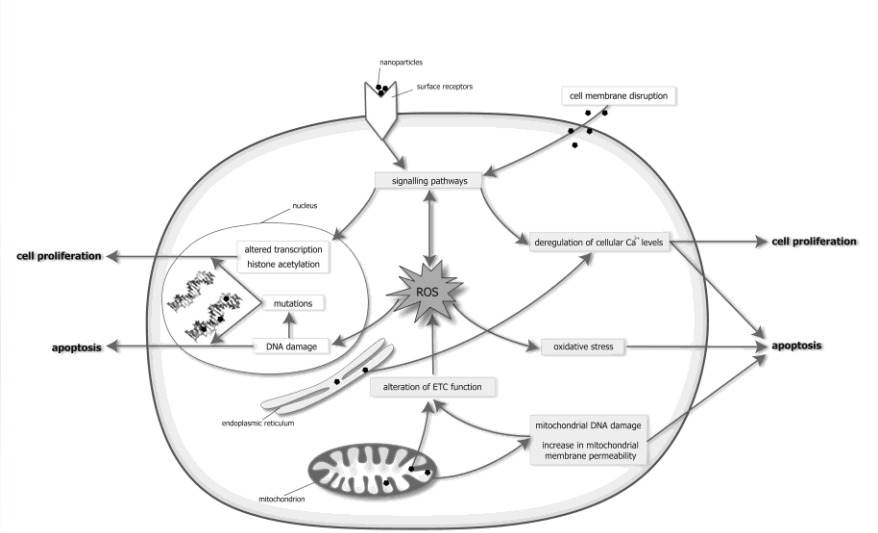


Lastnosti ND so zelo različne od lastnosti “normalnih” oblik:

- Prosti ND lahko prehajajo prek celičnih barier ter dosežejo tkiva in organe, katerih večji delci enake sestave ne dosežejo

Toksičnost – *in vitro* raziskave

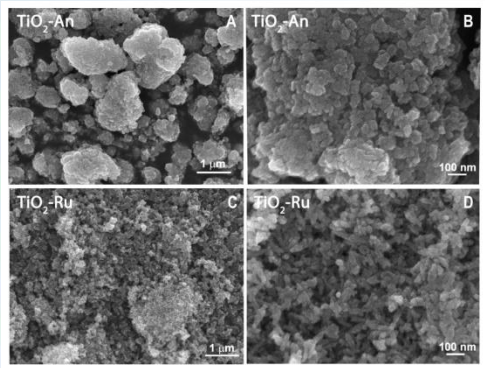
- Tvorba prostih kisikovih zvrsti (ROS) → poškodbe:
  - DNA,
  - lipidnih membran
  - proteinov

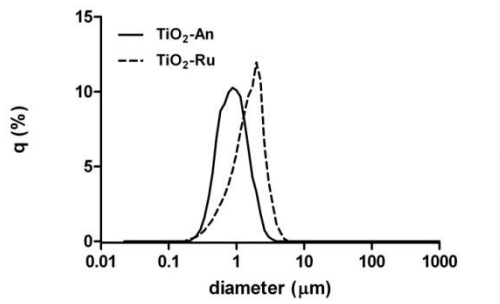


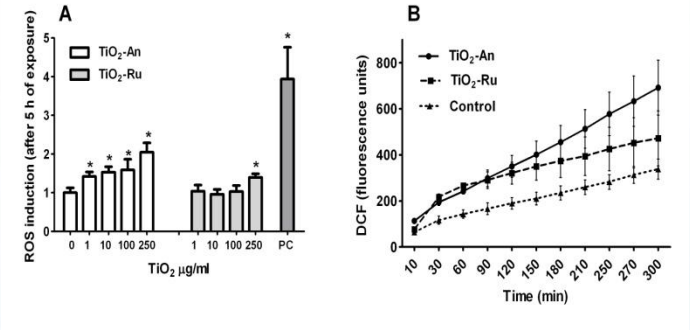
- Drugi *in vitro* učinki :
  - blokade ionskih kanalčkov,
  - tvorba por in
  - fizikalne poškodbe.

- Nekateri ND so genotoksični:
  - Fe/Pt, Co/Cr, ZnO, TiO_2, črne saje, ogljikove cevke.
  - ND (TiO_2, črne saje in Co) < 20 nm → poškodbe DNA,
    > 200 nm → ni poškodb DNA.

Nano TiO_2 : 25 nm anatazni vs. 10x40 nm rutilni

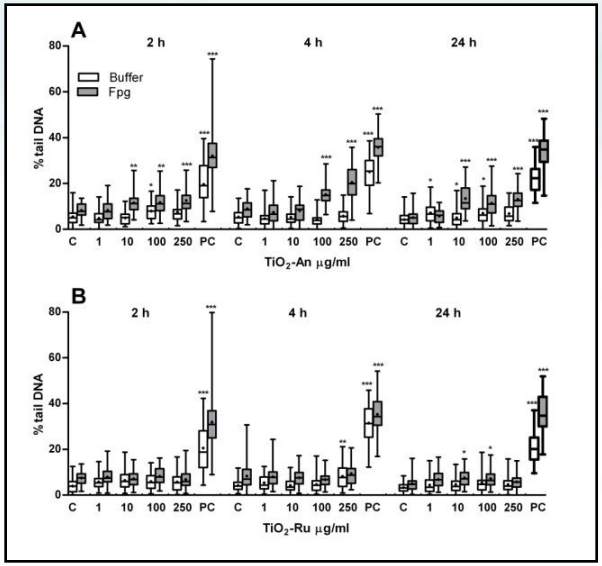




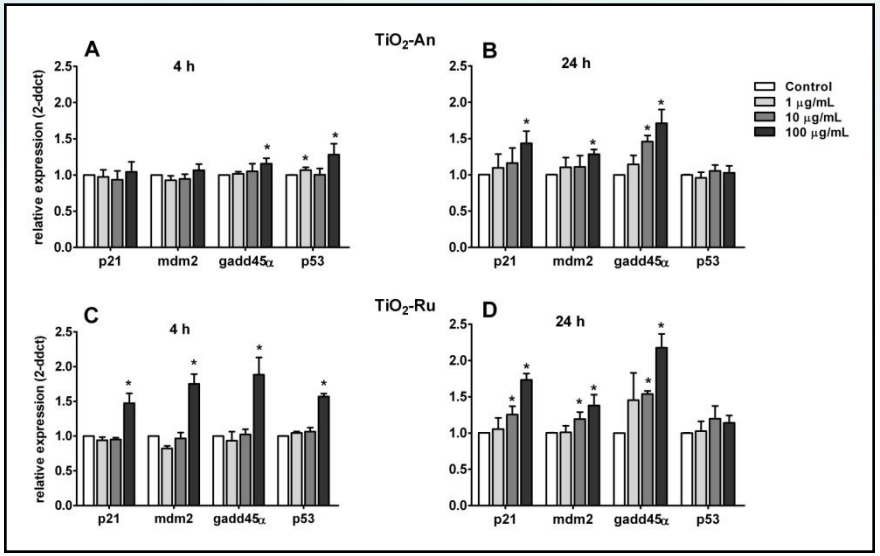


Delci so agregirani in aglomerirani, velikost v območju 1000 nm

V HepG2 celicaj anatazni TiO2 NP močneje inducirajo tvorbo ROS kot rutilni



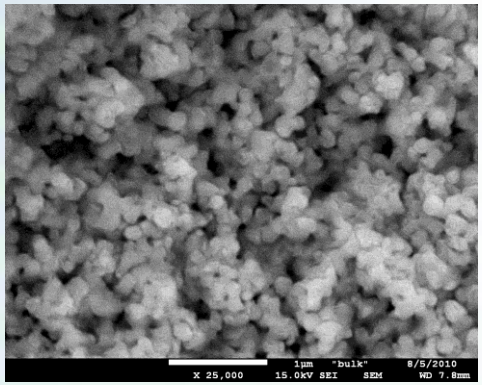
V HepG2 celicah anatazni TiO2 NP povzročajo več oksidativnih poškodb DNA kot rutilni

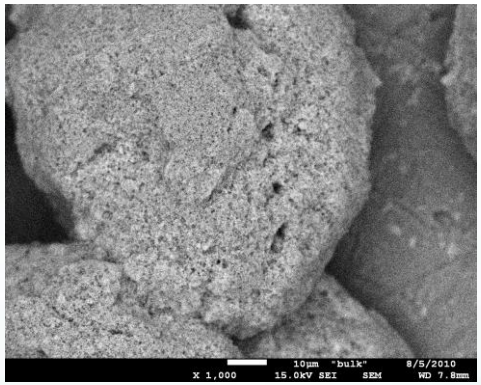


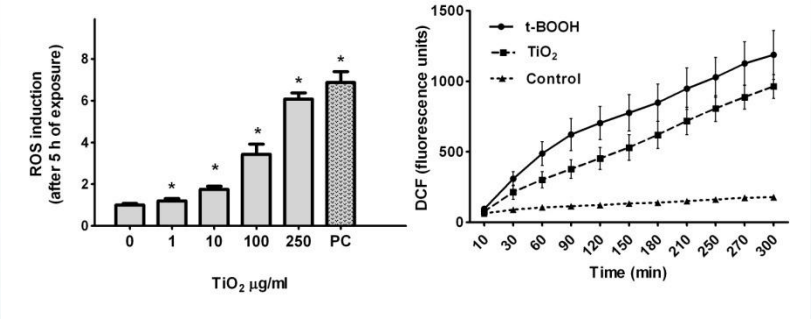
V HepG2 celicah rutilniTiO2 NP bolj povečajo izražanje genov, ki se odzovejo na poškodbe DNA kot anatazni

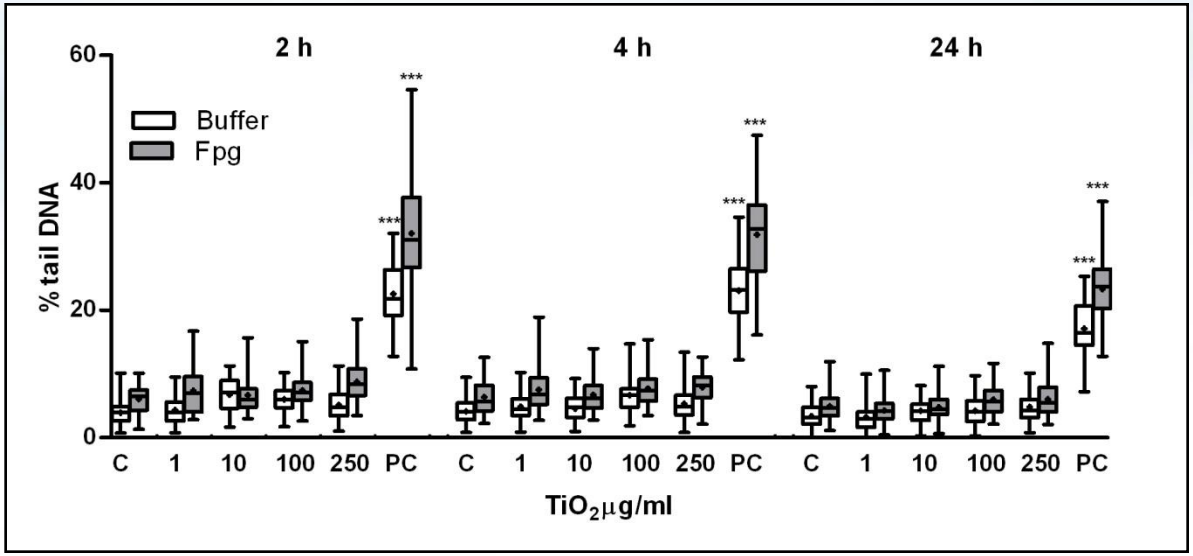
Petković in sod., Nanotoxicology 2010, v tisku

“Bulk” TiO_2









Ne povzroča prelomov DNA in oksidativnih poškodb DNA pri HepG2 celicah

efsa
European Food Safety Authority
The EFSA Journal (2009) 958, 1-39

SCIENTIFIC OPINION

The Potential Risks Arising from Nanoscience and Nanotechnologies on Food and Feed Safety[1]

Scientific Opinion of the Scientific Committee

(Question No EFSA-Q-2007-124a)

Adopted on 10 February 2009

Mnenje EFSA

EC ja EFSA zadolžila da:

- da poda znanstveno mnenje ali so potrebni posebni pristopi k oceni tveganja zaradi uporabe nanoznanosti in nanotehnologij na področju živil in krmil.

- da ugotovi naravo možnih nevarnosti povezanih z dejansko in predvideno prihodnjo uporabo nanotehnologij na področju hrane in krme in poda splošna navodila o potrebnih podatkih za oceno tveganj.

Stebri ocene tveganja

IDENTIFIKACIJA IN KARAKTERIZACIJA NEVARNOSTI

ADME, akutna, subkronična & kronična toksičnost
Genotoks., reprotoks.,immunotoks., raziskave pri ljudeh
način/mehanizem delovanja,
Odziv na odmerek, Izbira kritičnih podatkov, ARfD, NOAEL,
TDI, matematično modeliranje(BMD)

OCENA IZPOSTAVLJENOSTI

Konc. v hrani, izpostavljenost prek hrane, skupine z večjim tveganjem, relevantne skupine živil, neprehranski viri, časovni trendi

KARAKTERIZACIJA TVEGANJA

Primerjava TDI in izpostavljenosti: relevantnost za zdravje ljudi
Meja izpostavljenosti (MOE)

Ranljive skupine (otroci – visoka raven vnosa)

Podatki za oceno tveganja zaradi NT in ND v živilih so skrajno pomanjkljivi

- Pomanjkanje podatkov o toksikokinetiki (ADME) pri oralni izpostavljenosti
- Pomanjkanje toksikoloških podatkov pri oralni izpostavljenosti
- Ne vemo koliko in v katerih živilih so ND, ne vemo kako se ND obnašajo v živilu (razen za dostavne sisteme ali enkapsulirane sestavine),
- Otežena karakterizacija, detekcija in merjenje nanodelcev v živilih in bioloških tkivih
- Pomanjkanje podatkov o obsegu uporabe in (verjetnosti) izpostavljenosti zaradi njihove uporabe na področju prehrane.

Pomembne karakteristike nanodelcev s toksikološkega vidika

- Velikost,
- oblika (vključno z razmerji debelina dolžina),
- morfološke podstrukture;
- Kemijska sestava,
- topnost,
- velikost površine
- koncentracija delcev
- lastnosti površine (npr. sestava, naboj absorbiranih molekul),
- prisotnosti nečistoč
- Lipofilnost/hidrofilnost (porazdelitev v tkivih),
- biološka razgradljivost in
- biološka perzistenca (akumulacija, kasnejši učinki)

Lastnosti nanodelcev v živilih in bioloških tkivih

- V živilih so verjetno v aglomerirani obliki, ki pa lahko v prebavnem traktu in tkivih razpadejo.
- V živilih in tkivih lahko reagirajo z proteini (npr. korona), lipidi, nukleinskimi kislinami, ioni, minerali in vodo.
- Interakcije nanodelcev s specifičnimi molekulami v živilu lahko po zaužitju vplivajo na vnos in porazdelitev nanodelcev.
- Za oceno biološkega vpliva je treba ND karakterizirati v relevantnem biološkem okolju

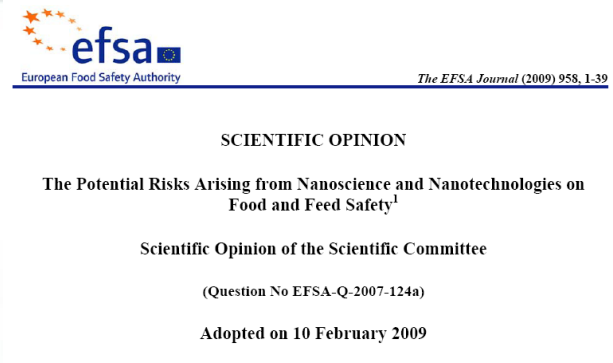
Metode za detekcijo, kvantifikacijo in karakterizacijo nanodelcev v živilih

- Elektronska mikroskopija (zelo zahtevna, pogosto ni možno ločevanje proizvedenih nanodelcev od naravnih variant istega materiala)
- Določanje kemijske zgradbe nanodelcev z npr. ICP-MS (inductively-coupled plasma massspectrometry), radio-analizo po nevtronskem obsevanju, ipd (ne dobimo podatka o obliki).
- Z današnjimi metodami je le redko možno oboje, detekcija in karakterizacija določenega nanomateriala v živilu.

Možni viri izpostavljenost

- Nanodelci, ki bi migrirali iz embalaže (ni dokazov).
- Migracija iz proizvodne opreme prevlečene z nanomateriali (ni podatkov)
- Ostanki ND zaradi postopkov (npr. nanofiltracije) pri proizvodnji živil (ni podatkov)
- Ni raziskav izpostavljenosti nanodelcem iz živil z nano- ali nanokapsuliranimi sestavinami ali nano prehranskim dodatkom.
- Ni podatkov o izpostavljenosti zaradi uporabe nanoizdelkov v veterini ali kmetijstvu.
- Teoretično je možna kontaminacija živil prek onesnaženja okolja (npr. prek blata iz čistilnih naprav, ki se uporablja na kmetijskih zemljiščih).
- V Evropi za sedaj ni verjetno, da bi bila izpostavljenost nanodelcem v živilh velika, čeprav je možna izpostavljenost nano frakcijam obstoječih mikro/makro sestavin in dovoljenih dodatkov (npr. TiO_2).
- Proizvodi na osnovi nanotehnologij so na voljo prek Interneta, vendar ni možno oceniti izpostavljenosti uporabnikov.

Menje EFSA


European Food Safety Authority

The EFSA Journal (2009) 958, 1-39

SCIENTIFIC OPINION

The Potential Risks Arising from Nanoscience and Nanotechnologies on Food and Feed Safety[1]

Scientific Opinion of the Scientific Committee

(Question No EFSA-Q-2007-124a)

Adopted on 10 February 2009

- Obstoječi modeli za ocenjevanje tveganj so primerni, vendar bodo potrebne določene prilagoditve pri metodah testiranja
- Znanje je pomanjkljivo predvsem glede:
  - Absorbcije, porazdelitve, presnove, izločanja in toksičnosti
  - Doznih enot za oceno nevarnosti in izpostavljenosti
  - Zanesljivih in validiranih metod za merjenje in karakterizacijo ND v kompleksnih matriksih živil in v tkivih
- Ocene tveganja za zdravje ljudi zaradi izpostavljenosti ND v živilih ni mogoče podati.

Zakonodaja na področju živil-ni določb za NT

- **Splošna živilska zakonodaja** (Uredba 178/2002) določa splošna načela in zahteve živilske zakonodaje, **ustanovitev EFSA** in postopke, ki zadevajo varnost hrane vključno z zahtevo **- Živila, ki niso varna, se ne smejo dajati v promet.**
- **Aditivi za živila** (Direktiva Sveta 89/107) in podzakonski akti **– Le dovoljeni aditivi se smejo uporabljati za živila.**
- **Nova živila** in nove živilske sestavine (Regulativa 258/97):
  - Člen 1 definira nova živila kot živila in živilske sestavine, ki se do sedaj še niso v pomembnem obsegu uporabljale za prehrano ljudi v Skupnosti in se razvrščajo v naslednje skupine: npr.
  - živila in živilske sestavine, za katere se je uporabil proizvodni postopek, ki se do zdaj še ni uporabljal in, kjer je navedeni postopek povzročil pomembne spremembe v sestavi ali strukturi živil ali živilskih sestavin, ki vplivajo na njihovo prehransko vrednost, metabolizem ali raven neželenih snovi (Člen 1f).

Novi zakonodajni predlogi

Aditivi v živilih:

- Predlog zamenjave Direktive Sveta za Aditive v živilih s skupnim sistemom avtorizacije za vzpostavitev osnove za skupni nadzor nad aditivi v živilih (Regulativa EC7/2008), encimi za živila (Regulativa EC8/2008) in aromami v živilih (Regulativa 9/2008)

- Najbolj relevantno za nano-aditive je: ponovna ocena varnosti, ki bo zagotovila, da bodo odobreni aditiv pod stalnim nadzorom in ponovnim ocenjevanjem varnosti.

Novi zakonodajni predlogi

Nova živila:

- Predlog Evropskega Parlamenta za novo Regulativo za nova živila (2008/0002 (COD)), ki bo nadomestila Regulativo 258/97 vsebuje preambulo "Nova živila morajo zato vsebovati živila iz rastlin in živali, proizvedenih z netradicionalnimi tehnikami gojenja in živila spremenjena z novimi proizvodnimi postopki, **ko sta nanotehnologija in nanoznanost**, ki lahko vplivata na živila".

- Julija 2010 je Evropski Parlament pri drugem branju zakonodaje za nova živila izglasoval, da je obvezno označevanje vseh proizvodov, ki vsebujejo nano sestavine in potrdil, da so potrebne nove metode za testiranje varnosti teh materialov.
- Odločil se je za princip previdnosti: dokler teh metod ni, naj živila, ki vsebujejo nanomateriale ne bi vstopila na EU trg.

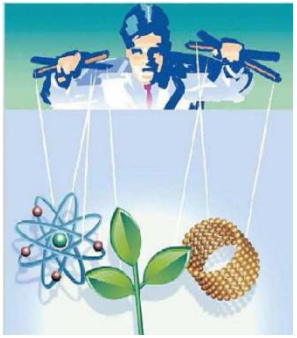
Kako naprej

Industrija si mora bolj prizadevati, da:

- Prikaže jasne prednosti uporabe nanotehnologij v primerjavi z drugimi razpoložljivimi tehnologijami
- Prikaže, da je korist večja od tveganj in da so tveganja sprejemljiva
- Zagotovi kakovost proizvodov
- Spodbuja raziskave, ki bodo zapolnile pomanjkanje znanja,
- Zagotovi skladnost z zakonodajo
- Oceni potencialna tveganja za vsak primer posebej
- Informira potrošnike glede koristi in možnih tveganj

Zaključki

- **Nanotehnologija v živilstvu je na pohodu:**
  - Veliko proizvodov je v fazi R&D in bodo kmalu na voljo.
- **Potencialne koristi:**
  - Ohranjanje kakovosti, izboljšani okusi, arome, teksture, prehranske vrednosti, obstojnost, sledljivost in varnost, manjša uporaba aditivov, izboljšana prehrana in zdravje živali.
- **Varnost:**
  - Zaskrbljenost zaradi potencialnih negativnih zdravstvenih učinkov živilskih proizvodov, ki lahko vsebujejo netopne, neprebavljive in biološko obstojne ND.
- **Obveščenost potrošnikov:**
  - Potrošniki morajo biti obveščeni in vključeni v odločanje.



"If you increase the magnification another million times you can see the safety regulations."

Hvala za vašo pozornost!