פיתוח שיטות כימיות, ביוכימיות ומולקולריות גרם לעלייה גדולה בהיקף בדיקות המזון לנוכחות חומרים רעילים. מאמר זה יסקור את התפתחות המגמה ואת השיטות המשמשות כיום לביסוסה

שיטות לזיהוי רעלנים וחומרים מזהמים ורעילים במזון

ד"ר מרים אלטשטיין, מְנהל המחקר החקלאי, מכון וולקני, בית דגן

בשנים האחרונות גוברת המודעות לצריכת מזון בריא, דהינו מזון בעל ערך תזונתי גבוה ונקי מזיהומים ומחומרים רעילים. מזון עשוי להכיל חומרים רעילים טבעיים שמקורם במזון עצמו (פיתוטוקסינים), או חומרים רעילים סינתטיים שמקורם במזהמים ממקורות שונים, כגון: polychlorinated biphenyls, דיאוקסינים, מתכות כבדות, חומרי הדברה או מזהמים ממקור מיקרוביאלי, חומרים שנוצרים או מתווספים בתהליך הייצור, כתוספי מזון, צבעי מאכל וחומרי שימור. חשיפה למזון מזוהם במינונים נמוכים לאורך זמן ממושך (בדומה לחשיפה חד פעמית למינון גבוה) עשויה לגרום לנזקי בריאות קשים, לשיבוש המאזן ההורמונלי ולמחלות כרוניות, כולל גידולים סרטניים. גם ההנחה כי מזון טבעי הוא בטוח איננה מדויקת, והמגמה כיום היא בדיקה מחודשת של חומרי מזון שנבדקו בעבר, כדי לקבוע אם הם יכולים להיחשב כ – GRAS (Generally Regarded As Safe).

הידע הרב שנצבר ברבות השנים על הקשר בין מחלות לחומרים רעילים, טבעיים או סינתטיים, המצויים במזון, כמו גם התפתחות שיטות כימיות, ביוכימיות ומולקולריות שאפשרו את אפיונם הכימי של החומרים, הכימות שלהם והבנת מנגנוני פעולתם, גרמו לעלייה גדולה בהיקף בדיקות המזון לנוכחות חומרים רעילים. בסקירה זו נציג את התפתחות מגמה זו, ואת השיטות המשמשות כיום לביסוסה.

סקירה בראי הזמן

המודעות לקשר בין מזון לבריאות הציבור החלה בתחילת המאה הקודמת והביאה לקביעת סטנדרטים מותרים לשימוש ולתחיקה בנושא. חוק בטיחות המזון (Food and Drug Law) שהיה הבסיס להקמת ה–Food and Drug Administration(US)FDA, שתפקידו הוגדר, בין היתר, כגוף המפקח על המזון – נחקק בשנת 1906. ברבות השנים התווספו גופים מפקחים נוספים, כגון: ה–USDA(US Department of Agriculture), המפקח על מזון מהחי והצומח; בשנת 1970 הוקם ה– EPA (US Environmental Protection Agency), האחראי על קביעת ריכוזים מותרים של חומרי הדברה ומזהמים סביבתיים במזון; מאוחר יותר חברו לגופים אלה ארגונים גלובליים, כדוגמת ה–WHO (World Health Organization), וגופים אירופיים (European Scientific Committee on Food - SCF; Food Safety Authority - EFSA), המפקחים על איכות המזון הטרי והמעובד.

בנוסף, ובמקביל לחוקים ולתקינות שהוציאו גופים אלה, הלכו והתפתחו דיסציפלינות מחקריות שונות של הערכת סיכונים (risk assessment)[1], שיטות כימיות אנליטיות[2], ומבחנים לבדיקת מוטגניות וקרצינוגניות[3] שבאמצעותם ניתן היה להעריך את איכות המזון, לקבוע נוכחות וכמות חומרים רעילים במזונות שונים, ולשקלל את הסיכון שעשוי להיגרם מצריכתו.

כיום מקובל לבדוק מרכיבי מזון "חדשים" או כאלה הנחשדים לנוכחות חומרים רעילים,בתהליך הקרוי "Decision Tree", שהוצע על ידי הוועדה המדעית של המועצה האמריקנית לבטיחות מזון (US Food Safety Council). התהליך כולל דיגום המזון, ניקוי, זיהוי וכימות הגורם המזהם, ובדיקת רעילותו האקוטית והכרונית ויכולתו המוטגנית, הקרצינוגנית והטרטוגנית.

השלבים הקשורים לניקוי החומר הרעיל ממזון נתון, כמו גם הזיהוי והכימות שלו, הם שלבים מרכזיים בתהליך כולו, ומאמצים רבים הושקעו בפיתוח שיטות אלה תוך שימת דגש על יעילות, רגישות והדירות גבוהה, כך שניתן יהיה לבחון דגימות רבות ככל האפשר במהירות, ביעילות, ובעלות סבירה. להלן השיטות השונות בהן משתמשים כיום לאנליזה של מזון, עם מבט על טכנולוגיות עתידיות המבוססות על שיטות נגו –ביו – טכנולוגיות מתקדמות.

שיטות כימיות אנליטיות לבדיקת רעלים במזון

השיטות הכימיות אנליטיות המקובלות היום בתחום בדיקות המזון משלבות כרומטוגרפיה נוזלית (LC - liquid chromatography) או גזית (GC-gas chromatography) עם מס ספקטרומטריה (mass spectrometry – MS). שיטות כימיות אלה (GC-MS-MS או – LC-MS MS) עונות על רוב הדרישות של שיטה אנליטית מדויקת ומהימנה, המאפשרת אף זיהוי בו זמני של כמויות קטנות ביותר (פחות מחלקי ביליון ppb), ובשל כך הן משמשות כשיטות מקובלות ומאושרות על ידי הרשויות לבחינת איכות המזון. אולם, בצד היתרונות ישנם חסרונות המגבילים את השימוש בהן לבדיקת דגימות מזון, נובעים בעיקר מהעובדה שהדגימות הנבדקות חייבות לעבור טיפול מקדים ולהיות ברמת ניקיון גבוהה ביותר. זאת משום שנוכחות מרכיבים נוספים על אלה הנבדקים משפיעה על יכולת הפרדתו של החומר, זיהויו וכימותו המדויק. דגימות מזון (בניגוד לדגימות ביולוגיות, כגון שתן ודם) הן מגוונות מאד, שונות זו מזו במרכיביהן, מראות במקרים רבים שונות גם בין דגימות שונות של אותו סוג מזון, ומכילות גורמים המפריעים לאנליזה (matrix interference).

זוהי בעיה מרכזית, שכן בדיקת הדגימות איננה מתאפשרת מבלי שתעבורנה ניקוי רב שלבי להרחקת כל המרכיבים המפריעים. עובדה זו גורמת בעקבותיה את הצורך להשתמש בשיטות מיצוי מורכבות, בממסים יקרים ולפעמים רעילים (המזיקים לסביבה), וזאת בנוסף לעובדה שהשיטות הכימיות-אנליטיות מצריכות שימוש בציוד מעבדתי יקר הדורש מיומנות רבה בהפעלה, דבר הגורם לעלות גבוהה של הבדיקה, אינו מאפשר שימוש בהיקף נרחב (סריקה רחבת ממדים high

throughput screening), וגם לא בדיקות חוץ מעבדתיות (בבית אריזה, במפעל מזון, במרכזי הפצת מזון, וכד') במידה ונדרשות כאלה.

שיטות אימונוכימיות לבדיקת חומרים במזון

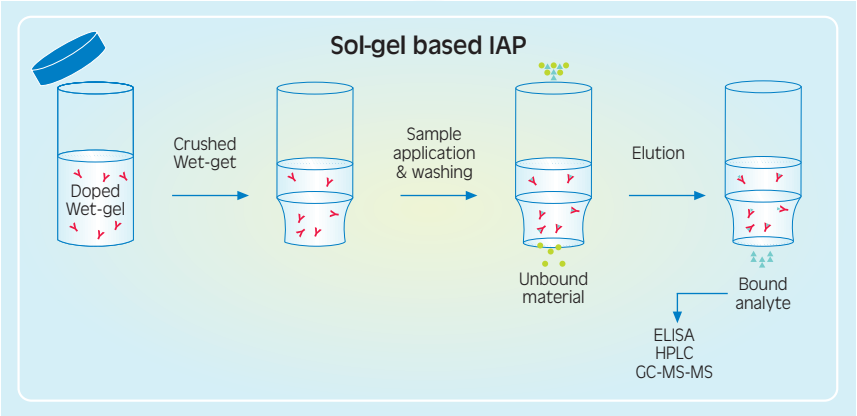
על מנת להרחיב את היקף הניטור הקיים ולפתור את בעיית הפרעת המיצויים, יש צורך בפיתוח שיטות חדשות, פשוטות וזולות שתתגברנה על המגבלות המוזכרות לעיל. אחד האמצעים המבטיחים ביותר לפתרון הבעיות הנ"ל הוא שימוש בשיטות אימונוכימיות שמבוססות על שימוש בנוגדנים המזהים באופן ספציפי וסלקטיבי את החומר הנבדק, וניתנות ליישום הן לפיתוחה של שיטה דיאגנוסטית והן כשיטה לריכוז ולניקוי דגימות לפני הבדיקה.

שיטות דיאגנוסטיות: שיטות אימונוכימיות כמו שיטות ה – ELISA (enzyme linked immunosorbent assay), המשמשות בהצלחה, מזה זמן רב, לזיהוי ולכימות מולקולות קטנות בתחום הרפואי, הן מדויקות, רגישות, מהירות, זולות ופשוטות ליישום, ומאפשרות בדיקה בו זמנית של מספר רב של דגימות בתוך המעבדה ומחוצה לה בפרקי זמן קצרים ובאופן פשוט שאינו דורש מיומנות מקצועית. שיטה זו ניתן להפוך בקלות לשיטה לסריקה רחבת ממדים ו/או לערכות פשוטות ונוחות לשימוש איכותי או כמותי.

השימוש בשיטות דיאגנוסטיות על בסיס אימונוכימי לקביעת נוכחות חומרים רעילים במזון התרחב בשנים האחרונות, וכיום אפשר למצוא מבחני ELISA רבים ומבחנים אימונוכימיים בפורמטים שונים (אלקטרודות, ביוסנסורים, שבבים), כולל ערכות שונות לבדיקת חומרים שונים במזון טרי ומעובד[4] רעלנים מפטריות תפטיר, כגון אפלאטוקסין, מזהמי סביבה כמתכות כבדות, חומרים מעוררי אלרגיה, וחומרים מסוכנים לבעלי פגמים גנטיים כגון גלוטן, וכד'. במעבדתנו פותחו לאחרונה מספר מבחני ELISA כאלה ונבחנו על מיצויי פירות וירקות[5]. הפוטנציאל הרב הטמון בשיטות אלה עודד השקעות רבות במחקרים בתחום, בארצות הברית ובאירופה, המתמקדים בפיתוח מבחנים אימונוכימיים נוספים, רגישים והדירים יותר, ובעלי יכולת לזיהוי רב מרכיבי (multi residue analysis) של רעלים במזון.

ניקוי זיקה: שיטה אימונוכימית נוספת, שיטת ניקוי הזיקה (immunoaffinity purification-IAP), המבוססת על ניקוי חומר על בסיס זיקתו לנוגדן ספוח למצע מוצק, מציגה אף היא פוטנציאל רב בתחום האנליזה של רעלנים במזון. השיטה מספקת פתרון לבעיות הפרעות הדגימה לאנליזה, ומאפשרת ניקויו וריכוזו של החומר הנבדק (analyte), והמשך בדיקתו בשיטות אימונוכימיות ו/או כימיות-אנליטיות כאחת. השימוש בניקוי זיקה אימונוכימי נפוץ במחקר הרפואי ופחות באנליזה של מזון, בעיקר בשל הבעיות הקיימות בשימוש בשיטות ה-IAP הקלאסיות, המבוססות על קישור נוגדנים למצע מוצק באמצעות החלבון החיידקי protein A[6]. עיקר הבעיה נובע מעלות גבוהה של חומרים המשמשים לבדיקה, ומזמן הכנה ארוך. בשנים האחרונות פותחה במעבדתנו שיטה חדשנית לניקוי זיקה המבוססת על כליאה של נוגדנים במטריצה קרמית מסוג סול ג'ל, המספקת פתרונות לבעיות שצוינו לעיל. פירוט קצר של השיטה ושימושה מתוארים להלן.

ניקוי זיקה על בסיס סול ג'ל: סול ג'ל הוא תהליך יצירה של פולימר (מולקולה הבנויה ממספר רב של יחידות בנין זהות) ממולקולות מונומר (בדרך כלל סיליקה אוקסיד SiO_2) המתקשרות אחת לשנייה בתהליך כימי[7]. הפילמור מתרחש בטמפרטורת החדר במהירות (מספר דקות) ויוצר חומר נקבובי בעל שטח פנים גבוה (מאות מ^2 לגרם חומר), אינרטי, בעל יציבות גבוהה לטמפ' ולגורמים כימיים ואלקטרוכימיים שונים, ושקיפות אופטית המאפשרת מעבר אור באורכי גל רבים כולל UV. את הפולימר (המכונה אף הוא סול ג'ל) ניתן ליצור בצורות שונות (שכבות דקות, גלילים, אלקטרודות, כדורים, וננו-חלקיקים), בהרכבים כימיים שונים (תלוי במונומר בו משתמשים ליצירת הפולימר), ואפשר לצפות בו משטחים רבים ומגוונים, ולשלוט בשטח הפנים ובדרגת נקבוביותו של החומר. במשך שנים רבות שימשה הטכנולוגיה לכליאה של מולקולות אנאורגניות שונות, ורק בתחילת שנות ה-90 של המאה הקודמת נמצא כי בשל העובדה שתהליך הפילמור מתבצע בטמפ' החדר, ניתן לכלוא בפולימר גם ביומולקולות מבלי לפגוע בפעילותן. תהליך הסול ג'ל יושם לכליאה של מספר רב של ביומולקולות (אנזימים, RNA, DNA, קולטנים), ותאים (ממקור בקטריאלי, צמחי ואנימלי) המשמשים גלאים למגוון שימושים. בשנת 1994 נבחן הסול ג'ל לראשונה במעבדתנו ליכולתו לכלוא נוגדנים ליישום של IAP. השיטה נבחנה על מספר נוגדנים מונוקלונליים ופוליקלונליים: (שהוכנו כנגד קוטלי חרקים מקבוצת הפריתרואידים, חומרים מקבוצת הניטרוארומטים, אנלוגים של הורמונים סטרואידיים, ותרופות נוגדות דלקת מקבוצת ה – NSAIDs (Non Steroid Anti Inflammatory Drugs)– והוכיחה את יעילותה. הניסיונות הראו כי הנוגדנים הכלואים בסול ג'ל שומרים על תכונותיהם, מסוגלים לזהות ולקשור אנטיגנים מתמיסות מימיות בקינטיקה הדומה לזו שבתמיסה, וכי ניתן לשחרר את האנטיגן הקשור בשיטות פשוטות ומהירות ביעילות רבה. עוד נמצא כי סול ג'ל מקנה יציבות רבה לנוגדנים ומאריך את חיי המדף שלהם, דבר המאפשר לאחסן את העמודה למשך חודשים רבים בטמפ' החדר (עובדה המקלה על אחסון העמודה באתרים חוץ-מעבדתיים), ולנקות דגימות שהוכנו בתמיסות בערכי גבה חומציים או בסיסיים, או כאלה המכילות ריכוזי מלח גבוהים. ניצולת השיטה נמצאה גבוהה ביותר, הפרעות המיצויים הורחקו באופן מלא, והדגימות שעברו ניקוי נמצאו מתאימות לאנליזה כימית ו/או אימונוכימית. היתרונות הרבים של הסול ג'ל הנגזרים מתכונותיו הכימיות והפיסיקליות של החומר, מהעלות הנמוכה של השיטה, מהיכולת להשתמש באותן עמודות מספר רב של פעמים ובעיקר מהיכולת לבדוק את הדגימות גם באנליזה כימית (שבמקרים רבים רגישה יותר ומאפשרת זיהוי בו זמני של מספר חומרים), הופכים שיטה זו לבעלת פוטנציאל מחקרי ויישומי רב בתחום הכנת דגימות מזון לאנליזה של חומרים רעילים ואחרים. שיטה שפותחה על ידינו על בסיס טכנולוגיה זו לניקוי קוטל חרקים מקבוצת הפריתרואידים מפירות ומירקות משמשת כ – Standard SOP (US EPA ב-Operating Procedure). סקירה רחבה על יישומי השיטה פורסמה לאחרונה על ידינו[7].



תרשים מס' 1: הכנת עמודה לניקוי זיקה על בסיס נוגדים (IAP)

לסיכום

תודות לערנות ולמודעות לנושא "מזון בטוח", ביחד עם שיתוף פעולה מצד הרשויות הממונות על האכיפה וההתקדמות הטכנולוגית הניתנת להטמעה בתחום הדיאגנוסטיקה של המזון, אנו עדים כיום לפחיתה משמעותית (ובמקרים רבים אף להיעלמות כמעט מוחלטת) של מחלות הנובעות מאכילת מזון המכיל חומרים רעילים. כיום ניתן לזהות ביתר קלות את גורמי המחלה ואת היקפי נזקיהם, וליידע את ציבור הצרכנים לגבי סיכונים אפשריים, מינונים מומלצים ושילובים נכונים בכל הקשור לצריכת מזון ולהרגלי אכילה נכונים. עיקר הדגש מושם כיום על בחינה של מזונות חדשים, בחינה מחודשת של מספר מזונות שהוכרזו בעבר כבטוחים לשימוש, ועם כניסתם העתידית של מזונות מהונדסים גנטית (GMOs) יגדל אף הצורך לפיתוח שיטות לבדיקה מדוקדקת של מרכיבי המזון שאנו אוכלים, וזאת בשל הצורך לבדוק שינויים אפשריים בביטוי חלבונים באורגניזם המהונדס גנטית כתוצאה מהחדרת הטרנסגן (הגן הזר). בד בבד עם שיפור השיטות שהוזכרו לעיל, מתפתחות כיום טכנולוגיות שבביות (chip based microarray) המתבססות על תחומי הגנומיקה, הפרוטיאומיקה והמטבולומיקה (חקר מטבוליטים בתא), באמצעותן ניתן יהיה להתאים מזונות לאנשים על פי פרופילים גנטיים ספציפיים. הצפי הוא כי הטכנולוגיות העתידיות, ביחד עם הפיתוחים הקיימים, ישפרו במידה ניכרת את איכות המזון הנצרך, יקטינו את תופעות הרעילות ממזון, וישפרו את אריכות החיים, איכות החיים, ובריאות הציבור.

לרשימת המקורות המלאה היכנסו לאתר