

Antimikrobna pakovanja u industriji hrane

Velebit Branko¹, Petrović Zoran¹

S a d r Ź a j: Naučna i stručna zajednica već duži niz godina pokušava da iskoristi barijerne filmove kao rezervoar za antimikrobna pakovanja. Antimikrobni filmovi dele se u dve grupe: one koji sadrže antimikrobne agense koji migriraju ka površini filma i tako dolaze u kontakt sa hranom i agense koji sprečavaju rast mikroorganizama na površini hrane bez migracije. U industriji hrane najčešće se koriste sledeće supstance sa antimikrobnim delovanjem: organske kiseline, bakteriocini, ekstrakti začina, tiosulfinati, različiti enzimi, peptidi i proteini, izotiocijanati, antibiotici, fungicidi, helatori, metali, parabeni, prirodni aminopolisaharidi. Antimikrobna pakovanja su obećavajući oblik aktivnih pakovanja hrane. Iako je većina hrane termički tretirana, ili poseduju sopstvenu samozaštitu, mikrobiološka kontaminacija se može pojaviti na površini hrane ili njenom delu oštećenom tokom manipulacije pakovanjem. Antimikrobne supstance inkorporisane u materijal za pakovanja mogu kontrolisati mikrobiološku kontaminaciju redukovanjem intenziteta rasta mikroorganizama ili maksimalnim produžavanjem lag faze rasta. U radu je dat kritički osvrt na najčešće supstance koje suzbijaju rast mikroorganizama, a koriste se u industrijskom pakovanju hrane.

Ključne reči: antimikrobna pakovanja, industrija hrane.

Uvod

Aktivno pakovanje, poznato kao interaktivno ili „smart“ pakovanje, namenjeno je produženju održivosti i poboljšanju bezbednosti upakovanog proizvoda. Ove aktivnosti ostvaruju se putem detekcije internih ili eksternih promena sredine u kojoj se upakovani proizvod čuva, ali i stvaranjem odgovora na te promene, tako da samo pakovanje menja sopstvene osobine ili attribute.

Aktivno pakovanje prvi put se pominje pre nekoliko decenija, kada je započela masovna upotreba desikanata za pakovanje suvih proizvoda. Desikant se nalazi u hidro-poroznoj kesici, upija vodu paru iz proizvoda putem transmisije kroz strukturu pakovanja. Ovo pakovanje koristi se za pakovanje osetljivih aparata i metalne robe.

Najpoznatija i najčešće korišćena tehnologija aktivnih pakovanja u industriji hrane su specijalna pakovanja koja služe za eliminaciju kiseonika iz unutrašnjosti pakovanja (*oxygen scavenger*). *Oxygen scavengeri* su gas-propustljive, fleksibilne kesice koje sadrže čestice redukovane gvožđe, tj. gvožđe u delimično oksidisanom stanju, koje se u pakovanje stavljaju nakon vakuumiranja proizvoda, ili nakon ispunjavanja smešom gasova za stvaranje

modifikovane atmosfere (Radetić i dr., 2007; Milijaševići dr., 2008; Milijašević i dr., 2010; Velebit i dr., 2010; Velebit i dr., 2011). Cilj ovih pakovanja je da se spreče, ili u najvećoj mogućoj meri redukuju, oksidacioni procesi, što uključuje i druge mere za sprečavanje naknadnog ulaska kiseonika u pakovanje, kao što su upotreba filmova sa dobrim barijernim svojstvima, tehnika dobrih šavova itd. Kiseonik, svakako, nije jedini vektor koji utiče na kvalitet upakovane hrane. I drugi faktori značajno utiču na pogoršanje održivosti proizvoda, naročito porast ili smanjenje vlage, izloženost svetlosti, mikrobiološki status, enzimska aktivnost samog proizvoda, itd. Kako tehnologija odmiče sa razvojem, na tržištu dominira nekoliko dobrih rešenja za pakovanje hrane. Za velike pošiljke se koriste pakovanja sa povećanim sadržajem ugljen-dioksida, koji, rastvaranjem u vodenoj fazi proizvoda (mesa), obezbeđuje inhibiciju rasta mikroorganizama, zatim korišćenje etilenskih, visoko permeabilnih filmova za sveže povrće, itd.

Poslednjih godina radi se na razvoju pakovanja koja uklanjaju neugodan miris, ali i pakovanja sa antioksidantnim i kiseoničkim interceptorima impregniranim u pakovanje (najčešće vitamin E). Tokoferoli nisu isparljive supstance, pa još uvek ne mogu istisnu-

Napomena: Rad je proistekao iz projekta III 46009, koji u periodu 2010–2014. godine finansira Ministarstvo prosvete i nauke Republike Srbije.

¹Institut za higijenu i tehnologiju mesa, Kaćanskog 13, 11000 Beograd, Republika Srbija.

ti iz upotrebe butilovane hidroksianizole i hidrokistoluen (BHA/BHT), koji migriraju iz pakovanja u hranu i stvaraju površinski antioksidativni efekat.

Slično antioksidansima, naučna i stručna zajednica već duži niz godina pokušava da iskoristi barijerne filmove kao rezervoar za antimikrobna pakovanja. Do sada se često koristio vitamin C za sprečavanje rasta plesni kod upakovane suve hrane. Međutim, usled toksičnosti pojedinih novosintetisanih jedinjenja penetracija ovih pakovanja na tržište je veoma usporena, osim u Japanu gde je ova grana tehnologije, koja se bavi inkorporacijom bakteriostatskih i baktericidnih materija i fuzionisanjem sa plastičnim materijalima za pakovanje, veoma dinamična. Bez obzira na najbolje barijerne materijale i kontrolisanu procesnu tehnologiju, hrana je veoma osetljiva na biokemijske promene i druge oblike kvara. Na primer, za vreme čuvanja i distribucije, termički stabilisana hrana u hermetičkom pakovanju pod ambijentalnim uslovima podleže i oksidativnim i neoksidativnim promenama. Reziidualni kiseonik unutar hrane i „headspace“ (slobodni prostor) hermetički zatvorenog pakovanja uzrokuju primarnu oksidaciju sastojaka hrane. Istovremeno, neoksidativne reakcije, koje se manifestuju promenom izgleda, ukusa, mirisa, ubrzavaju se porastom temperature i vremena i ugrožavaju senzorski doživljaj hrane (osim za vina i sireve).

U ekstremnim uslovima, čak i u komercijalno sterilnim pakovanjima, termofilni mikroorganizmi, koji su obično beznačajni na sobnoj temperaturi, indukuju kvar hrane pri temperaturama preko 49°C. Ovo naročito važi za fakultativno anaerobne mikro-

organizme, tako da uklanjanje kiseonika ili korišćenje visokobarijernih filmova ne igra odlučujuću ulogu u zaštiti hrane.

Kod većine čvrste ili polučvrste hrane, rast mikroorganizama primarno se odvija na površini hrane, dok je kod mešane hrane rast moguć u bilo kojoj tački mase. Antimikrobni filmovi dele se u dve grupe: one koji sadrže antimikrobne agense, koji migriraju ka površini filma i tako dolaze u kontakt sa hranom i one koji sprečavaju rast mikroorganizama na površini hrane bez migracije. U tabeli 1 prikazani su najčešće korišćene antimikrobne supstance u pakovnju hrane.

Za dobar odabir filmova za pakovanje treba odgovoriti na sledeća pitanja:

- Koji je spektar mikroorganizama na koje pakovanje ispoljava dejstvo?
- Koji su efekti antimikrobnog aditiva na mehanička i fizička svojstva plastičnog materijala?
- Da li se antimikrobna aktivnost pakovanja manifestuje redukcijom rasta mikroorganizama ili uzrokuje ćelijsku smrt?
- U kom stepenu antimikrobni agens difunduje u hranu i ima li toksikoloških podataka o uticaju agensa na zdravlje ljudi?
- Da li ima efekta na sastav proizvoda? Neki agensi su efektivni pri npr. niskom pH, dok drugi zahtevaju posebne uslove za ispoljavanje maksimalnog efekta (a_w , sadržaj proteina, glukoza).

Tabela 1. Najčešće korišćene antimikrobne supstance u pakovanju hrane

Table 1. Antimicrobial substances most used in food packaging

Klasa/Class	Primeri/Examples
Organske kiseline/Organic acids	Propionska, benzojeva, sorbatna/Propionic, benzoic, sorbat
Bakteriocini/Bacteriocines	Nizin/Nysine
Ekstrakti začina/Spice extracts	Timol, p-cymen/ Thymol, p-cymene
Tiosulfinati/Thiosulphinates	Alicin/Allicin
Enzimi/Enzymes	Peroksidaza, lizozim/Peroxydase, lysozyme
Proteini/Proteins	Konalbumin/Conalbumine
Izotiocijanati/Isothyocyanates	Alil-tioizocijanat/Allyl-thyioisocyanate
Antibiotici/Antibiotics	Imazalil
Fungicidi/Fungicides	Benomyl
Helatori/Chelators	EDTA
Metali/metals	Srebro/Silver
Parabeni/Parabens	Heptilparaben/Heptyl paraben
Prirodni aminopolisaharidi/ Natural amino-polysaccharides	Hitin, hitozan/Chitin, hitosan

Anhidridi kiselina kao antimikrobni agensi

Propionska kiselina u slobodnom obliku ispoljava jako antimikotično delovanje, ali kuplova-na sa poliolefinim filmovima antimikotična aktivnost opada. Direktna adicija propionske kiseline, ali i benzojeve i askorbinske kiseline, na polimere kao što je LDPE nije efikasna zato što nema kompatibilnosti između polarne kiseline i nepolarnog filma. Ovaj problem je rešen tako što je prethodno sintetisan anhidrid organske kiseline, koji uklanja jonizovane grupe, a istovremeno smanjuje polarnost molekula. Anhidridi kiselina su stabilni u suvom stanju i relativno su termostabilni, ali hidrolizuju u vodenim sredinama, pogotovo ako meso ispušta veće količine mesnog soka. Hidroliza dovodi do stvaranja slobodne kiseline, koja, zauzvrat, migrira sa površine polimera u hranu gde ispoljava svoju antimikotičnu funkciju. U svom istraživanju *Hotchkiss* (1995) je koristio filmove sa integriranim anhidridima benzojeve kiseline za produženje održivosti sira. Anhidridi su se hidrolizovali nakon 5 sati i detektovani su kao kiselina u Saburo-maltoznom agaru. LDPE filmovi, u koje je inkorporisan 1% anhidrid benzojeve kiseline, u potpunosti su inhibirali rast *Aspergillus toxicarius*, *Penicillium* spp. i *Rhizopus stolonifer*. Niže koncentracije su parcijalno usporavale rast, produžavanjem lag faze rasta, ili smanjenjem brzine rasta. Filmovi sa anhidridima u koncentraciji od 0,5–2% značajno su usporavali pojavu rasta plesni na sirevima. Ovo je tipični primer „aktivnog“ pakovanja; aktivna supstanca se nalazi u filmu sve dok ne dođe u kontakt sa hranom, kada vlaga iz hrane inicira aktivnost zaštitne supstance.

Joni srebra

Antimikrobni agensi sa najvećim potencijalom za zaštitu hrane su rastvorljive soli srebra i bakra. Njihov efekat odvija se posredstvom oslobađanja malih količina jona. Ovi joni zamenjuju i istiskuju druge jone metala koji služe kao katalizatori enzimskih reakcija u metabolizmu mikroorganizama, remete prirodne biohemijske procese i dovode do uništavanja mikroorganizama. Joni bakra su veoma efiksani u uništavanju bakterija i virusa. Bakar se ne akumulira značajno u tkivima životinja, pa su toksični efekti veoma mali. Međutim, bakar postaje toksičan u kontaktu sa hranom, prvenstveno jer deluje kao oksidativni katalizator i na taj način rapidno ubrzava procese biohemijskog raspada hrane.

Srebro ima najjači antimikrobni efekat od svih metala. Elementarno srebro ne ispušta lako jone u poređenju sa bakrom, tako da u jonskom obliku nije

efikasan za uništavanje mikroorganizama kao u elementarnom metalnom stanju. Srebro je bezbedno i relativno je inertno i često se koristi za izradu predmeta koji dolaze u kontakt sa ljudskom kožom i sluzokožom (tanjiri, kašike, viljuške, noževi, amalgamski ispuni itd.). Koristi se i kao antimikrobni agens u obliku lekova i hidrosolubilnih jedinjenja. Joni srebra lako disosuju u vodi, ali i lako gube aktivnost u kontaktu sa halogenim elementima, zbog čega je i distribucija srebra u prirodi ograničena. Magnezijum-oksidi, glina i organski molekuli veoma jako apsorbuju srebro. U tabeli 2 prikazane su minimalne inhibitorne koncentracije jona metala i nemetala na rast *Salmonella* Typhi.

Tabela 2. Minimalne inhibitorne koncentracije jona na rast *Salmonella* Typhi pri temperaturi od 37°C (*Brody i dr.*, 2001)

Table 2. Minimum inhibitory ion concentrations on growth of *Salmonella* Typhi at temperature of 37°C (*Brody et al.*, 2001)

Na ⁺	1,0%
K ⁺	1,0
NH ₄ ⁺	1,0
Li ⁺	0,5
Sr ⁺⁺	0,5
Ca ⁺⁺	0,5
Mg ⁺⁺	0,25
Ba ⁺⁺	0,25
Mn ⁺⁺	0,12
Zn ⁺⁺	0,001
Al ⁺⁺⁺	0,001
Fe ⁺⁺	0,001
Pb ⁺⁺	5,0 × 10 ⁻⁴
Ni ⁺⁺	1,2 × 10 ⁻⁴
Co ⁺⁺	1,2 × 10 ⁻⁴
Au ⁺⁺	1,2 × 10 ⁻⁴
Cd ⁺⁺	6,0 × 10 ⁻⁵
Cu ⁺⁺	1,5 × 10 ⁻⁵
Ag ⁺⁺	2 × 10 ⁻⁴

Podaci o mutagenosti i karcinogenosti srebra još uvek ne postoje. U SAD, maksimalno dozvoljena količina srebra u vodi za piće iznosi 50 µg/kg. Ova koncentracija utvrđena je na osnovu primene lekova koji sadrže srebro i pri toj koncentraciji uzrokuje *anginu pectoris* (*Gulbranson i dr.*, 2000).

Srebro se najčešće koristi u obliku soli, kao srebro-nitrat. Osim baktericidnog efekta, joni srebra, pri niskim koncentracijama, dovode i do denaturacije proteina, zbog čega se i dugi niz godina u bolničkom lečenju koristilo kao antiseptik. Glavni mehanizam antimikrobnog delovanja srebra je interferencija sa metaboličkim funkcijama ćelijskog disanja i transporta elektrona u bakterijskim ćelijama, kao i masovan influx kroz njihove ćelijske membrane. U istraživanjima *Appia-Ayne i dr.* (1999), bakterija *Thiobacillus ferrooxidans* je izložena različitim koncentracijama srebro-nitrata. Pri koncentraciji od 0,1 mg/kg rast je bio blago smanjen, ali je pri koncentraciji od 1 mg/kg rast ovog mikroorganizma bio potpuno inhibiran. Joni srebra su se prvo adsorbovali na površinu bakterije, a zatim inkorporirali unutar bakterijske ćelije. Nakon inkorporacije, interakcijom sa proteinima, joni su inhibirali enzime uključene u metabolizam. Ogledima je dokazano da je ovaj efekat nezavisan od prisustva kiseonika; dakle antimikrobna aktivnost srebra prisutna je i u anaerobnim uslovima. Sem toga, dokazano je da izlaganje svetlosti ne utiče na intenzitet antimikrobnog efekta srebra.

Iako je zaštitni efekat srebra veliki i pokriva širok spektar mikroorganizama, u skorije vreme je utvrđeno da postoje i bakterije rezistentne na srebro jer ga akumuliraju bez poremećaja ćelijske funkcije.

Zeoliti

U svojoj kristalnoj strukturi mineralni zeoliti sadrže jon natrijuma koji se može zameniti nekim drugim jonom. Da bi se dobio Ag-zeolit, najčešće se koristi srebro. U komercijalnoj upotrebi najviše se koristi sintetički zeolit.

Što je niža koncentracija hranljivih materija u podlozi, za ispoljavanje antimikrobne aktivnosti, neophodna je niža koncentracija jona srebra. Ta aktivnost je uočena i pri koncentracijama od 0,02–0,05 mg/kg jona srebra.

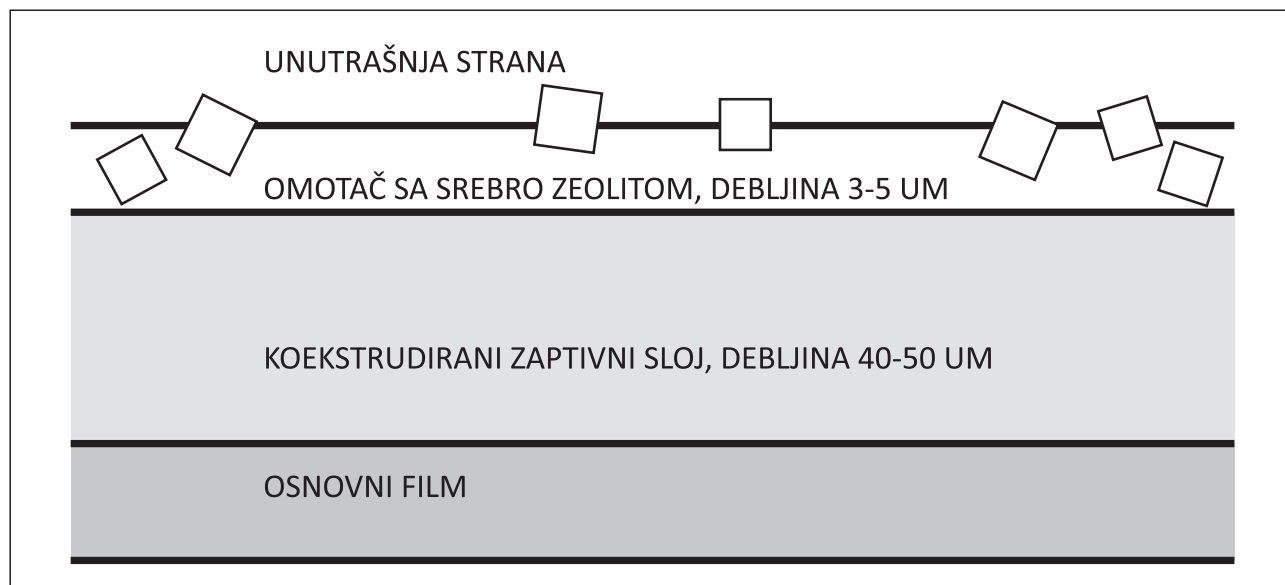
U čistoj vodi nema oslobađanja jona srebra iz zeolita, ali kada se zeolit nađe u hranljivoj podlozi, ili hrani oslobađanje jona je skoro 100%. Nemaju svi joni efektivan učinak, jer se deo jona veže za sumporne grupe iz podloge ili hrane. U Ag-zeolitu, koji efektivno sadrži 2,25 mg/kg srebra, antimikrobni efekat se postiže pri maksimalnoj koncentraciji od 1,5–3,5 mg/kg. Efekti koncentracija srebro zeolita i stepena razređenja na rast *Saharmyces cerevisiae* prikazani su u tabeli 3.

Jedinstvena osobina Ag-zeolita je širok antimikrobni spektar, tj. mala specifičnost bakterijskih rodova. Srebro zeolit je podjednako efikasan prema bakterijama, plesnima i kvascima. Ovo ukazuje da joni srebra deluju na metaboličke funkcije koje su zajedničke za različite mikroorganizme. Nažalost, Ag-zeolit ne ispoljava aktivnost prema sporama termorezistentnih bakterija. To predstavlja ograničavajući faktor kada su npr. klostridije faktor rizika u određenoj vrsti hrane. Još jedna osobina Ag-zeolita je da svoju aktivnost zadržava samo ako su joni srebra unutar skeleta zeolita, tj. sam zeolit nema nikakvu antimikrobnu funkciju, već služi kao nosač aktivnih jona. Aktivnost Ag-zeolita se gubi u hrani, kad se izeluiraju svi joni srebra, ili kada se veći deo jona inaktivnije reagovanjem sa sulfatima i vodonik-sulfidima iz hrane, jer nastaju inertna jedinjenja. Srebro, supstituisano u zeolitu, može se eluirati u prisustvu pojedinih aminokiselina iz hrane, a efekat zavisi od vrste aminokiselina. Aminokiseline glicinskog tipa stimulišu eluciju srebra iz zeolita. Lizin ispoljava jaču inhibi-

Tabela 3. Efekti koncentracija Ag-zeolita i stepena razređenja na rast *Saharmyces cerevisiae* (*Anonymus*, 1991)

Table 3. Effects of Ag-zeolite concentrations and degree of dilution on growth of *Saharmyces cerevisiae* (*Anonymus*, 1991)

Ag-zeolit (ppm)	CFU/G PRI RAZREĐENJU			
	1000	100	10	1
0	$2,8 \times 10^3$	$1,0 \times 10^6$	$2,1 \times 10^7$	
1	$2,9 \times 10^3$			$1,7 \times 10^8$
5	$4,0 \times 10^2$	$1,2 \times 10^4$		
10	BEZ RASTA	$3,0 \times 10^3$	$1,4 \times 10^7$	
100	BEZ RASTA	BEZ RASTA	BEZ RASTA	$9,8 \times 10^7$
1,000			BEZ RASTA	BEZ RASTA
5,000				BEZ RASTA



Slika 1. Struktura laminiranog filma sa srebro zeolitom (Vermeiren, 2000)

Figure 1. Structure of laminated film with Ag-zeolite (Vermeiren, 2000)

ciju antimikrobnog efekta srebra, dok su aminokiselinske cisteinskog tipa najpotentniji inhibitori.

Razvijeno je više vrsta materijala za pakovanje sa antimikrobnim delovanjem, u kojima je Ag-zeolit inkorporisan u plastičnu fazu. S obzirom na to da je veoma skup, debljina zeolita u filmu iznosi tek oko 3–6 μm. Lamina sa Ag-zeolitom okrenuta je ka hrani, tako da deblji filmovi ne uti-

ču na količinu oslobođenog srebra. Obično se dodaje od 1–5% srebra.

Na slici 1 prikazana je struktura laminarnog filma sa srebro zeolitom.

U tabeli 4 prikazan je efekat plastičnog filma koji sadrži srebro zeolit. Prisustvo 1% srebro-zeolita u polietilenskom filmu dovoljno je da redukuje broj mikroorganizama na površini filma sa 10^5 i 10^6 na 10 cfu/mL (CFU/g – broj kolonija po g), nakon 24 h.

Tabela 4. Antimikrobni efekat plastičnog filma koji sadrži srebro zeolit

Table 4. Antimicrobial effect of the plastic film containing Ag-zeolite

BAKTERIJA	CFU/G NAKON		
	Film ¹	0 ČASOVA	24 ČASA
<i>Escherichia coli</i>	1	$7,5 \times 10^5$	$1,3 \times 10^6$
	2	$7,5 \times 10^5$	<10
	ref.	$7,5 \times 10^5$	$1,5 \times 10^5$
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	$5,8 \times 10^5$	$6,7 \times 10^5$
	2	$5,8 \times 10^5$	<10
	ref.	$5,8 \times 10^5$	$1,5 \times 10^5$
<i>Salmonella gallinarum</i>	1	$5,8 \times 10^5$	$1,5 \times 10^5$
	2	$3,6 \times 10^5$	<10
	ref.	$3,6 \times 10^5$	$4,6 \times 10^6$
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	1	$1,8 \times 10^5$	$7,0 \times 10^5$
	2	$1,8 \times 10^5$	<10
	ref.	$1,8 \times 10^5$	$5,8 \times 10^5$

Legenda/Legend:

1 – PE/PE (polietilen) (25 μm/5 μm) / 1 – PE/PE (poly etilene) (25 μm/5 μm)

2 – PE/PE (polietilen) (25 μm/5 μm) sa 1% srebro zeolitom / 2 – PE/PE (poly etilene) (25 μm/5 μm) with 1% Ag-zeolite

REF (referentni film) – PE (polietilen) (30 μm) / REF (reference film) – PE (poly etilene) (30 μm)

CFU/g – broj kolonija po g / CFU/g – colony count per g

Microban

Microban je antimikrobni agens koji sadrži triklozan (5-hloro-2-(2,4 dihlorofenoksi) fenol). Najčešće se koristi u Velikoj Britaniji, u kombinaciji sa poleolefinima, za pakovanje delikatesa i hrane koja se može podgrevati. Ova supstanca je prvobitno razvijena za upotrebu u medicini, ali danas se koristi, uglavnom, za sanitaciju u hotelima, restoranima i za obradu i pakovanje hrane.

Triklozan se koristi u polimerskim materijalima, tako što se ubacuje u intersticijalne prostore polimernog matriksa (fleksibilni filmovi i rigidna pakovanja) u submikronskim količinama, koje penetriraju u ćelijske membrane bakterija, kvasaca i pljesni i, na taj način, narušavaju njihov rast, respiraciju i reprodukciju. Deluje podjednako i na Gram-pozitivne (*Staphylococcus aureus*) i na Gram-negativne bakterije (*Escherichia coli*). Na ćelije sisara ne deluje, zbog debljine ćelijske membrane, pa se smatra da nije toksičan za ljude.

Benomyl

Benomyl je jedan od najčešće korišćenih sistemskih fungicida, a njegov proizvod razgradnje, metil-2-benzimidazolkarbamat, je takođe fungicidan. Koristi se, prvenstveno, u Japanu, u obliku jonomernog filma. Amino grupe Benomyl-a se hemijski vezuju za karboksilne slobodne lance polimera namenjenog pakovanju hrane (termoplastična smola). Na taj način, aktivna supstanca čuva svoju aktivnost. Pored benzimidazola, koriste se i ftalimidi i sulfamidi kao aktivni sastojci. Efikasno suzbija rast *Aspergillus flavus* i *Penicillium notatum*. Nažalost, zbog prisustva vezujućeg agensa, dicikloheksilkarbodimida, ovo aktivno pakovanje nije dozvoljeno za korišćenje u Evropi i SAD.

Sorbatna kiselina

Sorbatna kiselina se godinama koristi kao antimikotički, odnosno mikostatski agens za hranu. Najčešće se koristi kao vodena suspenzija, u kombinaciji sa karboksimetil celulozom, za proizvodnju zaštitnih pakovanja za hleb. Kao polimer se koriste biaksijalno orjentisani PET (polietilentetraftalat), kao i polietilen i polipropilen niske ili visoke gustine. Celuloza je vezujući reagens, koji sprečava raspadanje kristala sorbatne kiseline i njen gubitak sa površine papira. Veličina partikula sorbata je oko 20 µm, a procenat celuloze od 5–15%. Ispitivanjima na Purdue univerzitetu utvrđeno je da kalijum sorbat difunduje kroz

polimerne filmove nezavisno od njegove količine u samom filmu, i to po zakonu Fikijanove distribucije (Floros i dr., 1997). Pri ovim koncentracijama, omogućeno je očuvanje mikrobiološke bezbednosti hleba u toku 6–8 meseci. Međutim, senzorne osobine hleba bile su neprihvatljive posle jednog meseca, odnosno posle tri meseca kod sendviča. Ovo pakovanje ne može da se koristi za čuvanje sira, jer uzrokuje pojavu gorčine, ili smeđih diskoloracija. Danas se radi na povećanju bezbednosti pakovanja sa sorbatnom kiselinom, i to tako što se razvijaju zeolitni filmovi koji mogu da apsorbuju sorbatnu kiselinu.

Prirodni antimikrobni agensi

Antimikrobni agensi koji se pojavljuju u prirodi, uglavnom su izolovani iz biljnih ili životinjskih izvora. Agensi biljnog porekla uključuju ekstrakte začina kao što su cimet, timijan, detelina, ruzmarin i origano. Ekstrakti pojedinih biljaka (crveni i beli luk, slačica, rotkvica, itd.), takođe, ispoljavaju potentno antimikrobno dejstvo. Ostali antimikrobni agensi potiču od samih mikroorganizama (bakterija i gljivica) koji se nalaze u hrani. Najčešće se pominje polipeptid nizin, a pored njega izolovani su i natamicin, pediocin i druge vrste bakteriocina (Nicholson, 1997). Iako bakteriocini nemaju univerzalnu antimikrobnu aktivnost (njih proizvode različiti sojevi bakterija mlečne kiseline) i predstavljaju samo prirodnu prepreku za rast opšte bakterijske populacije.

Upotreba prirodnih antimikrobnih agenasa u aktivnim pakovanjima može biti usmerena u dva pravca: ka suzbijanju rasta patogenih mikroorganizama i ka suzbijanju rasta mikroorganizama kvara hrane (bakterije mlečne kiseline i *Pseudomonas* spp.). Međutim, upotreba bakteriocina za zaštitu sirovog mesa nema značajan efekat. Naime, proteaze iz mišićnih ćelija uništavaju bakteriocinske kompleksne polipeptide, pre nego što oni ispolje antimikrobni efekat.

Japanska kompanija „Sekisui Juši“ proizvodi antibakterijsko pakovanje koje sadrži ekstrakt iz japanske sorte rotkvice-wasabi. To jedinjenje je, po hemijskom sastavu, alil-izotiocijanat (AIT), a u komercijalnom obliku je inkapsulirano u omotač od cikličnog oligosaharida, koji se aplikuje na polietilenski barijerni film. U Japanu se koriste „šilte“ (paketići) sa ovim jedinjenjem koje se stavljaju između slojeva hrane i, na taj način, se povećava održivost „lunch box“ (lanč paketi) ili „Ready to Eat“ proizvoda (hrana spremna za korišćenje). Osnovni problem kod ovih pakovanja je indukcija jakog iritantnog mirisa („off-odour“) i akridnog ukusa. U toku su pokušaji da se AIT koristi u gasovitom

obliku, umesto kao uljni film koji dolazi u direktan kontakt sa hranom.

Hlor-dioksid

Hlor-dioksid se koristi još od 50-ih i 60-ih godina 20. veka za kontrolu rasta bakterija, plesni i virusa. Upotrebljava se, primarno, za zaštitu voća i povrća. Njegova prednost je brzo delovanje, nedostatak iritantnog efekta na sisare, kao i netoksičnost, ukoliko se koncentracija održava u propisanim granicama. Značajno je i da ne stvara trihalometane niti dioksine. S obzirom da je njegov mehanizam delovanja oksidativan, a ne halogeni, hlor-dioksid aktivno napada ćelijske membrane i fundamentalne mikrobiološke metaboličke procese, a istovremeno ne stvara rezistentnost kod mikroorganizama.

Optimalna koncentracija hlor-dioksida je 0,5–1 mg/kg, ili viša. Sve koncentracije ispod 10 mg/kg ne indukuju pojavu mirisa na hlor. U idealnim pakovanjima gas bi trebalo da se povremeno otpušta iz svog „generatora“, najbolje u časovnim intervalima. Postoji više načina za aplikaciju ovog gasa. Sistem se može ekstrudirati direktno u polimer, ili se može vezati za film. Polimer se, takođe, može naneti u vidu spreja, ili se može laminirati toplotom na kontejner. Alternativni način uključuje adhezenciju „kuponu“ ili „etiketu“ unutar samog pakovanja, tako da se gas lako oslobađa i difunduje u sam proizvod.

Fotonski aktivirani najlon film

U poslednjih 15 godina radi se na razvoju pakovanja koje ne uzrokuje emitovanje aktivnog sadržaja u samu hranu. Najbolji rezultati, do sada, postignuti su upotrebom najlonskih filmova koji su tretirani sa ultraljubičastim zračenjem, u cilju povećanja broja aktivnih aminskih mesta na filmu. Ova mesta imaju funkciju površinski aktivnih antimikrobnih mesta. *Hagelstein i dr.* je (1995) su izveli ispitivanja sa ovim filmovima i utvrdili da su izuzetno efikasni protiv *S. aureus*, odnosno da je za 6 sati broj *S. aureus* pao za tri decimalne log vrednosti, od početne vrednosti 8×10^3 cfu/mL. Nažalost, efikasnost prema *E. faecalis* i *P. aeruginosa* bila je manja. Optimalna temperatura za inaktivaciju površinski aktivnih antimikrobnih mesta je bila 37°C. Korišćen je poliamidni najlon 6,6 film ekscitovan fotonima pri 193 nm i energijom od 200 kW/cm² tokom 16 nanosekundi. Kao posledica delovanja fotona, 99% svih amidnih grupa konvertovalo se u aminske aktivne grupe.

Etanol

Etanol se dugo godina koristi kao agens za sterilizaciju u medicini i farmaciji, a kao isparljivo jedinjenje koristi se poslednjih 100 godina za očuvanje roka održivosti hleba i pekarskih proizvoda. Etanol se inkapsulira, a njegove pare sprečavaju mikrobiološki kvar vlažne hrane, sireva i ostalih proizvoda.

Najveći napredak na polju korišćenja mikroinkapsuliranog etanola je ostvaren u Japanu gde je razvijena kapsula koja sadrži etanol vezan za sicilijumski prah. Sadržaj etanola je 55 vol% i poznat je kao *Ethicap* ili *Antimold 102*. Kada se hrana zapakuje, apsorbuje se vlaga iz nje, a zatim dolazi do otpuštanja etanolnih para koje ispunjavaju slobodan prostor („headspace“) pakovanja, a donekle i difunduju u proizvod. Na ovaj način, proizvod se može očuvati, od nekoliko nedelja do nekoliko meseci. Pored toga, mogu se dodati i posebne arome, koje će blokirati miris etanola iz pakovanja. Najbolji efekat prezervacije ostvaren je kod hrane sa aktivnošću vode od 0,7–0,9.

Pare etanola su efektivne protiv plesni, uključujući *Aspergillus* i *Penicillium*, bakterija, uključujući rodove *Salmonella*, *Staphylococcus* i *Escherichia*, kao i tri vrste kvasaca, uzorkovača kvara.

Istraživanja su pokazala da se deo para etanola gubi i kroz sam barijerni film. Tipični film, kao što je polietilen niske gustine, ima etanolnu permeabilnost od 20–30 g/m², po danu, pri temperaturi od 30°C. PVC-PP-PE (polivinil hlorid-polipropilen polietilen) laminati poseduju permeabilnost koja je 20 puta manja od PE. Daljim eksperimentima utvrđeno je da je rast *S. cerevisiae*, glavnog mikroorganizma uzrokovaca kvara kod voća, u potpunosti inhibiran pri a_w vrednosti 0,90 i „headspace“ koncentraciji etanola od 1,52%. Da bi se efikasno suzbio miris etanola dovoljno je pakovanje zagrevati tokom nekoliko minuta pri temperaturi od 190°C.

Danas postoje brojne varijante aplikacije etanola: u Holandiji se proizvodi specijalni etanolni gel, koji ispunjava „headspace“. „Micubiši“ je patentirao kesice sa etanolom koje sadrže glukozu, vitamin C, soli gvožđa i fenolno jedinjenje, a ovo pakovanje istovremeno izvlači kiseonik i zamenjuje ga parom etanola. „Ašahi-Denka“ proizvodi ciklodekstrinske mikrokapsule sa etanolom, itd.

Hitin i hitozan

Hitin je prirodni materijal koji je, po sastavu, acetilovani aminopolisaharid. On formira spoljnu stranu oklopa kod *Crustacea* i insekata i kovalentno se vezuje za proteine i dihidroksi fenilalanine, kao i za neke metale. Hitozan je njegov deacetilova-

ni oblik, koji ima strukturu polikatjionskog polimera sa prirodnim afinitetom za vezivanje za negativno naelektrisane ćelijske membrane.

Osnovna komercijalna namena ovih supstanci je smanjivanje telesne mase kod gojaznih osoba. Međutim, utvrđeno je da hitozanski barijerni filmovi imaju nisku propustljivost za kiseonik (Mayer i dr., 1989), a kombinovani sa lauratima poseduju dobru barijernost za vodenu paru. Pored toga, imaju i odličnu antibakterijsku aktivnost prema nekim vrstama bakterija i plesni (Knorr, 1991; Popper i Knorr, 1990). Smatra se da je mehanizam antimikrobnog delovanja zasnovan na helaciji hitina/hitozana bakterijama preko potrebnog cinka, ali i u aglomeraciji anjonskih fragmenata bakterijskih ćelija.

Hitozan se, naročito, mnogo koristi u američkoj armiji, i to za prezervaciju duboko zamrznutog sirovog mleka, mlečnih kremova, kao i za blanširani surimi. U svakom slučaju, teži se da se dubokim zamrzavanjem razbije masna globula i autooksidabilno mleko izloži delovanju jona metala, ili enzima. Po svojim antioksidativnim svojstvima, hitozan je uporediv sa propil galatom, koji se koristi u pripremi mleka u prahu za posebne namene.

Antimikrobni efekat hitozana ispitan je panelnim esejom od 32 mikroorganizma, tako što je pulverizovani hitozan rastvoren u 0,1% sirćetnoj kiselini i, sa izuzetkom psihrofilnih mikroorganizma, koji se inkubiraju pri temperaturi od 30°C, inkubiran je sa mikroorganizmima pri temperaturi od 37°C. Najbolji inhibicioni efekat postignut je prema rodovima *Bacillus*, *Listeria*, *Shigella*, *Proteus* i *Yersinia*; jak efekat ustanovljen je prema rodovima *Pseudomonas* i *Citrobacter*, a delimični antibakterijski efekat ispoljavan je prema bakterijama roda *Salmonella* (Porter i dr., 1995).

Literatura

- Anonymous, 1991a.** „Antimicrobial Zeomic.“ Shinagawa Fuel Co., Ltd.
- Appia-Ayne C., Giuliani N., Ratouchniak J., Bonnefoy V., 1999.** Characterization of an operon encoding two c-type cytochrome, an aa3-Type cytochrome oxidase, and rusticyanin in *Thioabacillus ferrooxidans* ATCC 33020. *Apply Environment Microbiology*, 65, 4781–4787.
- Brody A. L., Budny J. A. 1995.** Enzymes as Active Packaging Agents, in: M. L. Rooney (ed.), *Active Food Packaging*. Glasgow, UK, Blackie Academic & Professional, 174–192.
- Brody A. L., Strupinsky E., Kline L., 2001.** Active packaging for food applications. CRC press Washington.
- Floros J. D., Dock L. L., Han J. H., 1997.** Active Packaging Technologies and Applications. *Food, Cosmetic & Drug Packaging*, 20, 1, 10–17.
- Gulbranson S.H., Hud J.A. Jr, Hansen R. C., 2000.** Argiria Following the Use of Dietary Supplements Containing Colloidal Silver Protein. *Cutis*, 2000, 66, 373–376.
- Hagelstein A. E., Hoover D. G., Paik J. S., Kelley M. H., 1995.** Potential of Antimicrobial Nylon as a Food Package. Presented at the annual meeting of Institute of Food Technologists, Anaheim, California, June 3–7.
- Hotchkiss J. W., 1995.** „Influence of New Packaging Technologies on the Microbial Safety of Muscle Foods“. The annual meeting of Institute of Food Technologists, Anaheim, California, June 3–7.
- Knorr D., 1991.** Recovery and Utilization of Chitin and Chitosan in Food Processing Waste Management. Metals adsorption table. *Food Technology*, 45, 1, 114–122.

Zaključak

Antimikrobna pakovanja su obećavajući oblik aktivnih pakovanja hrane. Iako je većina hrane termički tretirana, ili poseduje sopstvenu samozaštitu, mikrobiološka kontaminacija se može pojaviti na površini hrane, ili oštećenom delu tokom manipulacije pakovanjem. Antimikrobne supstance, inkorporisane u materijal za pakovanja, mogu kontrolisati mikrobiološku kontaminaciju redukovanjem intenziteta rasta mikroorganizama, ili maksimalnim produžavanjem lag faze rasta.

Osim u Japanu, antimikrobna pakovanja još nisu doživela punu komercijalizaciju, prvenstveno zbog dugih ispitivanja eventualno toksičnog efekta jona srebra u zeolitu, alil-izotiocijanata iz rotkvice ili slačice itd. Publikovani rezultati ukazuju na visoku efikasnost ovih jedinjenja i zahtevaju dalja ispitivanja, da bi se potvrdili antimikrobni efekti, kao i da bi se otkrili eventualni sporedni efekti primene. Sadašnji izazov je suzbijanje perzistentnih mirisa koji odvrćaju potencijalne potrošače.

Najbolje efekte u suzbijanju površinske kontaminacije pokazali su materijali koji sadrže soli srebra. Drugi materijali ispoljavaju dubinske efekte, isparavanjem i difundovanjem u vodene ili masne komponente hrane. Hlor-dioksid ima izvrsna svojstva u pogledu antimikrobne zaštite voća i povrća, ali širu primenu ograničavaju zakonski propisi. Etanolna jedinjenja su izvrsna za očuvanje pekarskih proizvoda sa srednjim sadržajem vlage, ali tehnološki izazov predstavlja istovremena primena kontra aroma, koje bi suzbile jak „off-odour“ para etanola.

- Mayer J. M., Wiley B., Henderson K., Kaplan D., 1989.** Physical Properties of Films Produced from the Biopolymers Pullulan and Chitosan Produced by *Aureobasidium pullulans* and *Mucor rouxii*: Oxygen Permeability, Tensile Strength, etc. Abstracts, Annual Meeting. American Society of Microbiologists.
- Milijašević M., Velebit B., Turubatović L., Jovanović J., Babić J., 2008.** Uticaj različitih smeša gasova na održivost svežeg junećeg mesa. *Tehnologija mesa*, 49, 5–6, 161–164.
- Milijašević M., Babić J., Baltić M., Spirić A., Velebit B., Borović B., Spirić D., 2010.** Uticaj različitih smeša gasova na promene nekih mikrobioloških i hemijskih parametara u odrescima šarana (*Cyprinus carpio*) upakovanih u modifikovanu atmosferu. *Tehnologija mesa*, 51, 1, 66–77.
- Nicholson M. D., 1997.** The Role of Natural Antimicrobials in Food/Packaging Preservation. Proceedings of Future Pack '97. George O. Schroeder Associates, Inc., Appleton, Wisconsin.
- Popper L., Knorr D., 1990.** Applications of High-Pressure Homogenization for Food Preservation. *Food Technology*, 44, 7, 84–89.
- Porter W. L., Karen R., Conca R., Lachica V., Mayer J. M., Pariser R. E., 1995.** Chitin and Chitosan as Navel Protective Food Ingredients. Research and Development Associates Annual Meeting, 48, 1.
- Radetić P., Milijašević M., Jovanović J., Velebit B., 2007.** Pakovanje svežeg mesa u modifikovanoj atmosferi – trend koji traje! Međunarodno 54. savetovanje industrije mesa, Vrnjačka Banja, 2007. godine, *Tehnologija mesa*, 48, 1–2, 99–108.
- Velebit B., Lilić S., Borović B., 2010.** Ispitivanje rezistentnosti bakterija *Salmonella* spp. izolovanih sa trupova goveda prema antimikrobnim supstancama. *Tehnologija mesa* 51, 2, 154–158.
- Velebit B., Teodorović V., Borović B., 2011.** Recent advances in understanding the virulence of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* in food. *Tehnologija mesa*, 52,1, 52–60.
- Vermeiren L., 2000.** Potential Applications of Antimicrobial Films for Food Packaging. Proceedings, International Conference on Active and Intelligent Packaging. Camden & Chorleywood Food Research Association, U.K.

Antimicrobial packaging in food industry

Velebit Branko, Petrović Zoran

S u m m a r y: Scientific and technological community has been trying for several years to use barrier films as a reservoir for antimicrobial packaging. Antimicrobial films are divided into two groups: those which contain antimicrobial agents which migrate to the surface of the film coming in contact with food and those which prevent microbiological growth in a gaseous form, i.e. without direct contact. The following substances have been most frequently used in food industry: organic acids, bacteriocines, extract of spices, thiosulphinates, different enzymes, peptides and proteins, isothiocyanates, antibiotics, fungicides, chelators, metals, parabens, natural aminopolysaccharides. Antimicrobial packagings are promising new form of active food packagings. Although most of the foods are thermally treated prior to use, or do possess their own self protection, microbiological contamination can occur on the surface of the food or its part damaged by improper handling during packaging. Antimicrobial substances incorporated into packaging material can effectively control microbial contamination, either by reducing growth rate, or by maximum elongation of the lag growth phase. This paper reviews in critical manner the most common antimicrobial substances being used in food packaging industry.

Key words: antimicrobial packaging, food industry

Rad primljen: 12.03.2012.

Rad prihvaćen: 29.03.2012.