



## Zastosowania opakowań jadalnych o aktywności przeciwdrobnoustrojowej w utrwalaniu żywności

Małgorzata Gniewosz, Alicja Synowiec, Marta Dyrda  
Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Oceny Żywności,  
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, Warszawa

### Application of edible coatings with antimicrobial activity for food preservation

#### Summary

The manuscript elaborates on types, properties and functions of films and edible coatings as well as on benefits that result from the possibility of incorporating into their structures antimicrobial agents in the form of organic acids, natural substances, i.e. bacteriocins, antimicrobial enzymes and also plant oils. In addition, it describes methods for inserting those antimicrobial compounds into edible packages and for their release from the matrix.

#### Key words:

edible coating, film, antimicrobial agent, packaging.

### 1. Wprowadzenie

Opakowania aktywne stanowią nowoczesną generację materiałów wykorzystywanych w utrwalaniu żywności. Jednym z nich są opakowania emitujące substancje hamujące wzrost niepożądaną mikroflory. Substancje wprowadzone do matrycy mają za zadanie pozytywnie wpływać na jakość zapakowanego produktu, zabezpieczając przed jego psuciem. Duże zainteresowanie jadalnymi opakowaniami w głównej mierze wynika z wymagań stawianych produktom spożywczym przez konsumentów, którzy oczekują żywności o wysokiej jakości, nie zawierającej chemicznych środków konserwujących.

#### Adres do korespondencji

Małgorzata Gniewosz,  
Katedra Biotechnologii,  
Mikrobiologii  
i Oceny Żywności,  
Szkoła Główna  
Gospodarstwa Wiejskiego,  
ul. Nowoursynowska 159C,  
02-776 Warszawa;  
e-mail:  
małgorzata.gniewosz@sggw.pl

## 2. Opakowania jadalne

Powłoki i filmy jadalne stanowią rodzaj aktywnego systemu pakowania żywności występującej zwłaszcza w formie nieprzetworzonej bądź minimalnie przetworzonej, zarówno pochodzenia roślinnego i zwierzęcego (1-3). Jest to technologia zapewniająca ścisły kontakt pomiędzy stosowanym opakowaniem, zapakowanym produktem a otaczającym środowiskiem. Opakowanie naniesione na produkt stanowi jego integralną część. Występuje ukierunkowane oddziaływanie pomiędzy tymi trzema czynnikami, mające na celu zachowanie wysokiej jakości produktu oraz przedłużenie okresu przydatności do spożycia (4).

Powłoka jadalna to struktura wytworzona bezpośrednio na powierzchni żywności (1,3,5). Film jadalny różni się od powłoki tym, że jest formowany w osobnym procesie, np. na szklanej lub akrylowej płycie (6-8), a następnie zdejmowany i nakładany na żywność lub umieszczany pomiędzy składnikami wewnątrz produktu spożywczego. Opakowania jadalne wykazują szereg zalet w stosunku do konwencjonalnych opakowań. Przede wszystkim są prostsze w użyciu; można je spożyć wraz z opakowanym produktem, ewentualnie usunąć w czasie mycia czy gotowania. Zastosowanie ich w miejsce tradycyjnych opakowań przyczyni się do zmniejszenia zanieczyszczenia środowiska (nawet jeśli nie zostaną spożyte) ze względu na ich biodegradowalny charakter (3,9-13). Biorąc pod uwagę te cechy wraz z coraz bardziej rygorystycznymi światowymi przepisami dotyczącymi bezpieczeństwa żywności prognozuje się, że w przyszłości zastąpią częściowo lub całkowicie konwencjonalne opakowania (9).

Koncepcja zastosowania jadalnych opakowań do przedłużania trwałości żywności nie jest nowa. Pierwsze doniesienia na ten temat pochodzą już z XII w. n.e., kiedy to Chińczycy po raz pierwszy zastosowali wosk do powlekania pomarańczy i cytryn. Dzięki temu owoce można było przechowywać dłużej. Pierwsze patenty pochodzą z lat 50. ubiegłego wieku i dotyczą wykorzystania m.in. alginianów, tłuszczów i gum do powlekania mrożonego mięsa, drobiu i owoców morza. Pierwszą komercyjną powłokę do owoców i warzyw zwaną „TAL Pro-long” lub „Semperfresh” zastosowano w latach 80. ub. wieku. W jej skład wchodziły estry sacharozy i kwasów tłuszczowych (SFAE), sól sodowa karboksymetylocelulozy oraz mono- i diglicerydy (11,14). Od tej pory dokonał się wielki postęp naukowy i technologiczny w tej dziedzinie.

### 2.1. Funkcje i cechy opakowań jadalnych

Opakowania jadalne spełniają kilka funkcji: zapewniają powolną, ale kontrolowaną wymianę gazową uwzględniającą oddychanie produktu, wybiórczą przenikalność w stosunku do pary wodnej, O<sub>2</sub> i CO<sub>2</sub>, wzmacniają cechy wizualne żywności oraz pełnią rolę nośnika aktywnych substancji, działających na powierzchni produktu.

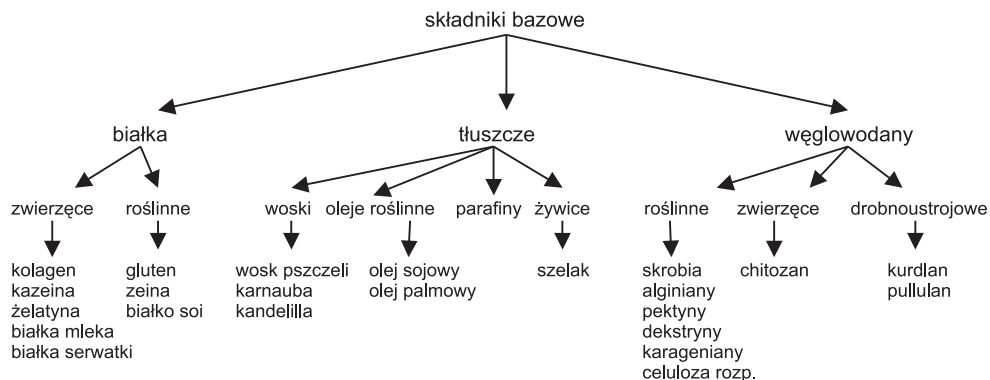
Podstawową rolą opakowań jadalnych jest wytworzenie bariery wokół produktu lub oddzielenie jego poszczególnych warstw w celu ograniczenia przemian fizykochemicznych oraz biologicznych w czasie przechowywania łatwo psujących się surowców i produktów żywnościowych (15). Bariera ta wydatnie opóźnia migrację pary wodnej i innych lotnych składników z wnętrza produktu do otaczającego środowiska (12). W licznych badaniach potwierdzono zmniejszenie strat masy w przechowywanych powleczonych owocach: jabłkach, malinach, truskawkach (16-18), śliwkach (19), bananach i mango (20), co wpływało na poprawę ich jędrności. Han i wsp. (21) stwierdzili także znaczne zmniejszenie wycieku w rozmrożonych truskawkach powleczonych powłoką chitozanową w stosunku do truskawek niepowleczonych.

Tlen przyspiesza nieodwracalne procesy degradacji większości barwników i witamin, a także jest jedną z przyczyn autooksydacji nienasyconych lipidów (13,22,23). Powłoki i filmy jadalne chronią składniki żywności przed dostępem tlenu atmosferycznego (15). Yaman i Boyundurli (24) stwierdzili znaczne zmniejszenie strat zawartości witaminy C w powleczonych wiśniach w stosunku do owoców kontrolnych.

Opakowania jadalne często spełniają funkcję nośnika różnych dodatków funkcjonalnych żywności (przeciwutleniaczy, barwników, przypraw, nutraceutyków i czynników przeciwdrobnoustrojowych), dlatego też stawia się im określone wymagania (3,4,10,25-28). Przede wszystkim powinny cechować się odpowiednimi właściwościami sensorycznymi, tj. być bezsmakowe i bezwonne (12). Opakowania jadalne powinny stanowić strukturę charakteryzującą się dużą wytrzymałością mechaniczną; nie powinny ulegać kruszeniu, pękaniu czy łuszczeniu. Najczęściej badanymi parametrami określającymi właściwości mechaniczne są: siła zerwania powłoki i wydłużenie względne. Siła zerwania określa maksymalną siłę potrzebną do zerwania powłoki, natomiast wydłużenie względne (wyrażone w procentach) informuje, na jaką odległość można powłokę rozciągnąć biorąc pod uwagę stałą odległość między elementami przytrzymującymi materiał (29,30). W licznych badaniach cech mechanicznych filmów jadalnych wykazano, że powłoki białkowe (np. z serwatki,  $\kappa$ -karagenu, soi) charakteryzują się najlepszymi właściwościami mechanicznymi i pod tym względem są porównywalne do syntetycznych polimerowych filmów komercyjnie dostępnych, np. polietylenowych (7,31). Dodatkową zaletą opakowań jadalnych jest możliwość tworzenia ich z surowców, które są powszechnie dostępne i tanie (4,11,32).

## **2.2. Składniki bazowe opakowań jadalnych**

Wymogiem, który musi być spełniony w celu otrzymania jadalnych filmów lub powłok jest występowanie co najmniej jednego składnika zdolnego uformować matrycę, która charakteryzuje się odpowiednią przyczepnością (4,32). Wymóg ten spełniają liczne białka, lipidy i polisacharydy, które wykorzystuje się jako tzw. składniki bazowe (rys. 1).



Rys. 1. Przykłady bazowych składników opakowań jadalnych.

Stosowane są zarówno białka zwierzęce: kolagen, kazeina, żelatyna, białka mleka i serwatki, jak również białka roślinne: gluten, białko kukurydzy i soi (9,19,33). Stwierdzono, że białka zdolne są do tworzenia uporządkowanej struktury sieciowej podtrzymywanej wiązaniami wodorowymi. Dzięki temu filmy białkowe charakteryzują się dobrą barierowością w stosunku do tlenu. Z kolei wadą tych filmów jest duża przepuszczalność wilgoci i pary wodnej, co jest tłumaczone dużym powinowactwem hydrofilowych białek do wody ułatwiających przemieszczanie się jej przez matrycę (32,34). Przykładem powszechnego stosowania białka w formie osłonek jest kolagen, który znalazł zastosowanie do powlekania produktów mięsnych (12,32).

Do lipidowych komponentów powłok należą: woski (pszczeli, oraz roślinne: karnauba i kandelilla), oleje roślinne, parafiny, żywice (szelak), kwasy tłuszczowe, monoacylglicerole i triacyloglicerole (36). Lipidy są najskuteczniejszą ochroną przed utratą wody z produktu. Przepuszczalność pary wodnej jest zróżnicowana i zależy od rodzaju użytego lipidu, tj. jego hydrofobowości i struktury. Parafiny są bardziej hydrofobowe i odznaczają się większą efektywnością w zatrzymywaniu pary wodnej w porównaniu do kwasów tłuszczowych i monoacylgliceroli (4). Duże znaczenie przypisuje się strukturze krystalicznej lipidów. Niektórzy autorzy podają, że kryształy lipidowe o ortorombowej strukturze (np. wosk pszczele i parafiny) wykazują lepszą barierowość pary wodnej niż heksagonalne kryształy monoacylgliceroli i triacylogliceroli. Przyczyną tego zjawiska jest większa ścisłość struktury kryształów ortorombowych, z mniejszą wolną przestrzenią, przez którą mogą migrować cząsteczki wody (17,37). Wadą lipidowych filmów jest ich relatywnie mała elastyczność, stabilność (skłonność do jełczenia) i woskowaty posmak (38). Tłuszcze znalazły zastosowanie głównie jako powłoki pokrywające produkty mięsne: drób, paszteciki mięsne i kiełbaski (32,39).

Polisacharydy ze względu na swoje właściwości są najczęściej badaną grupą polimerów. Do tworzenia powłok wykorzystywane są polisacharydy zapasowe lub

strukturalne występujące w roślinach, tj. skrobia, alginiany, pektyny, dekstryny, kageniany, rozpuszczalne pochodne celulozy, agar, wytwarzane przez zwierzęta lub grzyby strzępkowe np. chitozan oraz przez drobnoustroje: kurdlan i pullulan (32,40-48). Nierozpuszczalność filmów i powłok po nałożeniu na żywność uzyskuje się w rezultacie reakcji sieciowania. Polisacharydy stanowią słabą barierę dla wody ze względu na swój hydrofilowy charakter. Zaletą tych powłok jest mała przepuszczalność tlenu, dlatego skutecznie ograniczają reakcje oksydacyjne w chronionej żywności (4). W praktyce powłoki polisacharydowe stosowane są od wielu lat do pokrywania produktów mięsnych (32).

Powłoki jadalne składające się z wielu komponentów są tematem licznych prac naukowych. Badania te dotyczą głównie opracowania modelu łączącego wszystkie cechy funkcjonalne poszczególnych składników. Najczęściej łączy się hydrokoloidy (białka, polisacharydy) tworzące usieciowaną, ciągłą i spójną matrycę z hydrofobowymi związkami (lipidami) poprawiającymi głównie barierowość filmu w stosunku do pary wodnej (49). Shin (49) wykazał, że film utworzony z koncentratu białka ryżowego i pullulanu zmieszanych w stosunku 1:1 charakteryzował się lepszymi właściwościami mechanicznymi (m.in. miał większą siłę zerwania) w stosunku do filmów sporządzonych z pojedynczych składników. Dodatek do tego filmu małej ilości poliglikolidu (PGA) spowodował dalsze poprawienie wytrzymałości na rozciąganie i ograniczenie parowania wody. PGA wykazuje interakcje zarówno z aminokwasami białka, jak i grupami hydroksylowymi pullulanu, co w rezultacie poprawiło usieciowaną matrycę filmu.

Mechanizm zmniejszenia przepuszczalności pary wodnej w filmach kilkuskładnikowych, zawierających zarówno substancje hydrofobowe, jak i hydrofilowe próbuje się wyjaśnić na podstawie zaproponowanego przez Krochtę (48) „modelu mikroluk” (ang. *model microvoid*), tłumaczący transfer gazów i pary wodnej przez zemułgowany film. Mikroluki (wielkości kilku mikrometrów) formowane są między cząsteczkami substancji hydrofobowej a hydrofilową matrycą podczas suszenia filmu. Są one kręte i mogą tworzyć w matrycy istny labirynt, utrudniający swobodne przemieszczanie się pary wodnej i dyfuzję gazów. Film otrzymany ze zemułgowanej mieszaniny metylocelulozy i lipidu (wybrane parafiny lub triacyloglicerole) oraz powłoka trójskładnikowa, zawierająca koncentrat białka sojowego, pullulan i glicerol są przykładami opakowań jadalnych, w których uzyskano dużą barierowość w stosunku do pary wodnej i tlenu (48,50). Xu i wsp. (48) podają, że im większy był dodatek pullulanu do powłoki białkowej, tym obserwowano mniejszą przepuszczalność tlenu, co tłumaczy się zmniejszeniem średnic mikroluk wewnątrz matrycy.

### **2.3. Formowanie opakowań jadalnych**

W praktyce stosuje się kilka technik przygotowania filmów. Najbardziej powszechną techniką stosowaną do uzyskania filmów hydrokoloidowych jest rozpuszczenie matrycy w odpowiednim rozpuszczalniku (np. wodzie) w celu wytworzenia

fazy ciągłej, a następnie odparowanie rozpuszczalnika. Roztwór w postaci cienkiej warstwy jest rozprowadzany po gładkiej powierzchni i suszony. W razie konieczności stosowany jest także dodatek plastyfikatora poprawiający elastyczność filmów i powłok. Z reguły stosowane są alkohole polihydroksylowe (np. glicerol, sorbitol), które redukują liczbę wewnętrznych wiązań wodorowych między łańcuchami polimeru, przez co zwiększa się międzycząsteczkowa wolna przestrzeń w matrycy (11,51).

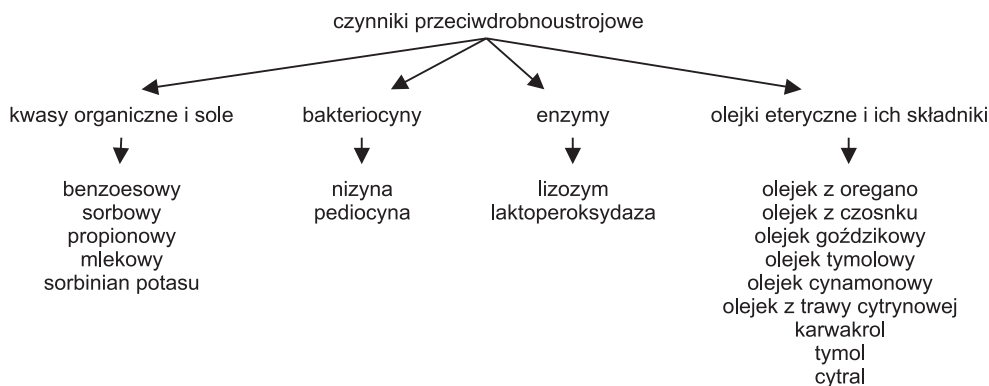
Drugą techniką jest żelowanie matrycy przy zastosowaniu wysokiej temperatury. Metodę stosuje się w przypadku roztworów białkowych. Działanie wysokiej temperatury powoduje denaturację białka, w wyniku czego dochodzi do zniszczenia jego drugo- i trzeciorzędowej struktury. W dalszym etapie następuje agregacja pomiędzy molekułami zdenaturowanych cząsteczek i wytworzenie sieci połączeń. Efektem tego jest wzrost lepkości uzyskanego roztworu i utworzenie żelu (10,39,52).

Powlekanie żywności uzyskuje się najczęściej przez zanurzanie, natryskiwanie lub zalewanie przygotowanym roztworem, a następnie suszenie w celu uzyskania cienkiej powłoki na powierzchni produktu (53).

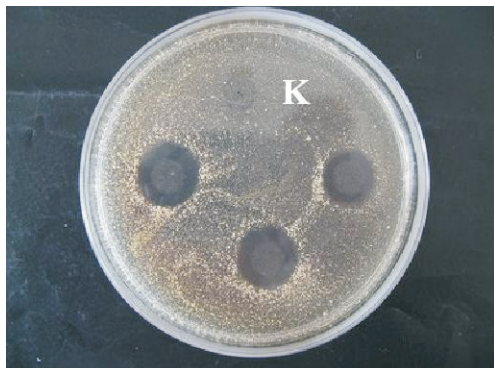
### 3. Aktywne opakowania z dodatkami przeciwdrobnoustrojowymi

Wśród substancji wprowadzonych do jadalnych opakowań o charakterze przeciwdrobnoustrojowym można wymienić kwasy organiczne i ich sole, substancje naturalne: bakteriocynty, przeciwbakteryjne enzymy, ekstrakt z pestek winogron i olejki eteryczne z roślin przyprawowych (3,10,54,55).

Czynniki przeciwdrobnoustrojowe, np. kwasy organiczne i ich sole, olejki eteryczne najczęściej bezpośrednio włączane są do materiału, z którego zrobione są opakowania (56,57). Niekiedy stosuje się inny sposób polegający na utworzeniu dwuwarstwy. Przykładem tego typu rozwiązania może być powłoka celulozowa, po



Rys. 2. Przykłady czynników przeciwdrobnoustrojowych włączanych do jadalnych opakowań.



Rys. 3. Dyfuzja tymolu włączonego do filmu pullulanowego i jego hamujące działanie na wzrost *Tetracoccus* sp.; K – film pullulanowy bez dodatku tymolu (autorzy: Dyrda M., Gniewosz M.).

wytworzeniu której na powierzchni rozprowadzono roztwór pediocyny, w celu otrzymania dwuwarstwy. Działanie takie ma zabezpieczyć przed inaktywacją wrażliwe na podwyższoną temperaturę bakteriocyny (58).

Uwalnianie czynnika przeciwdrobnoustrojowego zawartego w matrycy odbywa się głównie w wyniku dyfuzji, która powinna zachodzić powoli z matrycy do wnętrza produktu, aby zmniejszyć ryzyko przedostania się czynnika do głębszych warstw produktu (12).

### 3.1. Zastosowanie kwasów organicznych w opakowaniach jadalnych

Komercyjnie stosowane w żywności jako środki konserwujące są kwasy organiczne, np. benzoesowy, sorbowy, propionowy, mlekowy, oraz ich sole. Charakteryzują się one bardzo szerokim spektrum działania. Hamują wzrost pleśni, drożdży oraz bakterii saprofitycznych i patogennych (10,39). Aktywność biologiczna tych związków zależy od wartości pH. Największą efektywność uzyskują przy niskim pH, występując w formie niezdysonowanej. W związku z tym nośnikiem dla kwasów i ich soli są powłoki o niskiej wartości pH np. z chitozanu, kolagenu, alginianów (27).

Cargi i wsp. (10) włączyli do filmu z białek serwatki kwas p-aminobenzoowy oraz sorbowy. Filmy zawierające 1,5% dodatek tych kwasów wykazywały silnie hamujące działanie w stosunku do *L. monocytogenes*, *E. coli* O157:H7 i *Salmonella typhimurium* DT104. Sprawdzono także wpływ dodatku kwasów na cechy mechaniczne filmów i stwierdzono istotny wzrost wydłużenia względnego i przepuszczalności pary wodnej filmów oraz spadek siły zerwania w stosunku do filmów sporządzonych z samego białka serwatki.

W badaniach pokazano, że 1% dodatek kwasów w powłoce chitozanowej powoduje zahamowanie wzrostu *L. monocytogenes* na podłożu modelowym i *L. innocua* w próbkach właściwych. Próbkę sera pokryte powłoką chitozanową zawierały 10-krotnie mniejszą liczbę komórek *L. innocua* niż próbki nie pokryte powłoką (39).

Kwasy organiczne i ich sole znalazły zastosowanie jako dodatki do powłok pokrywających produkty kwaśne (sery, mięsa) (10).

### 3.2. Zastosowanie enzymów w opakowaniach jadalnych

Substancją naturalną o działaniu przeciwbakteryjnym, która jest tematem wielu prac badawczych jest lizozym. Głównym źródłem tego enzymu jest białko jaja kurzego, ale jego obecność stwierdzono także w mleku i surowicy. Lizozym wykazuje aktywność głównie przeciwko bakteriom Gram(+) (43,59). Mechanizm działania lizozymu polega na hydrolizie wiązań  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4)-glikozydowych pomiędzy kwasem *N*-acetylmuraminowym a *N*-acetyloglukozoaminą peptydoglikanu (mureiny), będącego składnikiem ściany komórkowej bakterii (12). Stosowany pojedynczo nie wykazuje aktywności przeciw bakteriom Gram(-), w ścianie komórkowej których występująca zewnętrzna membrana, oddziela i chroni warstwę mureinową od środowiska. Spektrum działania lizozymu znacząco wzrasta dopiero w połączeniu z czynnikiem chelatującym EDTA, na skutek destabilizacyjnej działalności tego czynnika na zewnętrzne membrany bakterii Gram(-) (59).

Częściowo oczyszczony lizozym z białka jaja kurzego włączono do filmu sporządzonego z zeiny. W badaniach modelowych film hamował wzrost bakterii Gram(+), np. *Bacillus subtilis*, a po dodaniu EDTA do filmu także *E. coli*. Równocześnie zauważono, że wzrost stężenia lizozymu w filmach z zeiny nie powodował intensyfikacji aktywności przeciwbakteryjnej, a wręcz przeciwnie – znaczne pogorszenie. Przyczyną tego zjawiska było tworzenie się licznych i dużych agregatów częściowo oczyszczonego lizozymu, których rozmieszczenie w matrycy filmu stało się niehomogenne (59). Kandemir i wsp. (43) badali powłoki pullulanowe, zawierające 100-780  $\mu\text{g}$  lizozymu/ $\text{cm}^2$  filmu o aktywności enzymu od 23 do 70% oraz EDTA $\cdot$ 2H $_2$ O. Najlepszy efekt hamujący wzrost *Escherichia coli* uzyskano stosując powłokę zawierającą kombinację lizozymu (780  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) z EDTA $\cdot$ 2H $_2$ O o zawartości 520  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  filmu.

Kolejnym składnikiem włączanym do aktywnych opakowań jest enzym laktope-roksydaza (LPO), który jest naturalnym przeciwbakteryjnym enzymem występującym w ludzkich wydzielinach, tj. ślina, łzy czy mleko. Sam enzym nie wykazuje właściwości przeciwbakteryjnych, ale w połączeniu z H $_2$ O $_2$  i jonem rodanowym (SCN $^-$ ) tworzą naturalny przeciwbakteryjny kompleks, nazwany systemem laktope-roksydazy (LPOS). Mechanizm działania LPOS polega na katalizowaniu (w obecności nadtlenku wodoru) utleniania jonu rodanowego. Efektem tej reakcji jest wytworzenie jonu hipotiocyanowego (OSCN $^-$ ) i kwasu hipotiocyanowego (HOSCN), które wykazują zdolność utleniania grup sulfhydrylowych w białkach komórkowych, czego wynikiem jest zahamowanie wzrostu lub śmierć komórki (60-62). Rodanek jest powszechnie wydzielany przez zwierzęce i ludzkie tkanki oraz płyny ustrojowe i podobnie jak LPO występuje m.in. w ślinie. System ten wykazuje działanie bakteriobój-



cze głównie na bakterie Gram(-) oraz bakteriostatyczne na bakterie Gram(+) (63). Mecitoğlu i Yemenicioğlu (64) badali kinetyczne właściwości filmu utworzonego na bazie alginianu, do którego włączono częściowo oczyszczoną LPO pochodzącą z serwatki. Stwierdzono unieruchomienie znacznej części enzymu w usieciowanym filmie. W badaniach wykazano dużą stabilność aktywności enzymu w przedziale temperaturowym 16-30°C, pH od 4,0 do 6,0 oraz wysoką aktywność LPO w obecności niewielkiego stężenia H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

W doświadczeniu przeprowadzonym przez Min i wsp. (65) jako czynnik przeciwbakteryjny w powłoce zastosowany został LPOS o następującym składzie: enzym LPO, tiocyjanian potasu, nadtlenek wodoru, oksydaza glukozowa oraz glukoza. Oksydaza glukozowa katalizuje utlenianie tlenem atmosferycznym glukozy, w wyniku czego powstaje kwas glukonowy i nadtlenek wodoru. W przeprowadzonym badaniu uzyskano całkowite zabicie komórek szczepów: *Salmonella enterica* i *Escherichia coli* O157:H7.

### 3.3. Zastosowanie bakteriocyn w opakowaniach jadalnych

Najczęściej stosowaną bakteriocyną wprowadzaną do powłok jest nizyna, głównie ze względu na niską cenę (jest produkowana w skali przemysłowej) oraz powszechne jej użycie, jako naturalny i bezpieczny konserwant w przemyśle mleczarskim, mięsnym oraz owocowo-warzywnym (66). Nizyna to przeciwdrobnoustrojowy peptyd produkowany przez niektóre szczepy paciorkowców mlekowych *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* (67). Została powszechnie uznana za bezpieczną (uzyskała status GRAS, ang. *Generally Recognized As Safe*) przez WHO w 1968 r. W Unii Europejskiej została dopuszczona do konserwowania żywności w 1995 r. Bakteriocyna ta charakteryzuje się szerokim spektrum bakteriobójczego działania. Hamuje rozwój bakterii Gram(+), m.in. *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Micrococcus*, *Lactococcus*, *Lactobacillus*, a także zapobiega rozwojowi przetrwalników i hamuje rozwój komórek wegetatywnych rodzajów *Bacillus* oraz *Clostridium*. Mechanizm działania tej substancji przeciwbakteryjnej jest złożony. Po pierwsze, hamuje biosyntezę mureiny, na skutek wiązania się z lipidem II (C55-PPGlcNAc-MurNAc-pentapeptydem) – prekursorem mureiny, uniemożliwiając jego translokację przez błonę cytoplazmatyczną. Po drugie, formowane są przejściowe kompleksy między fragmentami cząsteczek bakteriocyny a lipidami znajdującymi się w błonie cytoplazmatycznej, co powoduje wytworzenie porów w błonie wrażliwych komórek. Przez utworzone pory wypływają w sposób niekontrolowany jony, aminokwasy i cząsteczki ATP. Następuje zaburzenie potencjału membranowego oraz gradientu pH, w konsekwencji dochodzi do hamowania syntezy DNA, RNA, białek i polisacharydów; rozwój komórek zostaje zahamowany (68-70). Nizyna nie działa antagonistycznie na komórki bakterii Gram(-), ze względu na obecność w ich ścianie komórkowej nieprzepuszczalnej dla nizyny dwuwarstwowej błony zewnętrznej (71).

Cooksey (72) wprowadził do powłoki chitozanowej nizynę w celu zahamowania wzrostu *L. monocytogenes*. Stosując metodę płytkowo-dyfuzyjną wykazał, że powłoka skutecznie hamowała wzrost patogenu. Podobne efekty osiągnęli Hoffman i wsp. (73), którzy zastosowali powłokę utworzoną z białka kukurydzy z dodatkiem nizyny. Powłoka z bakteriocyną wykazywała silne działanie przeciwko *L. monocytogenes* i *Salmonella enteritidis* redukując liczbę komórek o 4 cykle logarytmiczne w ciągu 48 h inkubacji.

Działanie nizyny może być wspomagane przez dodatek innych czynników przeciwbakteryjnych, np. lizozymu z EDTA. Cha i wsp. (7) wykazali, że film sporządzony z alginianu sodu zawierający nizynę, lizozym w połączeniu z EDTA skutecznie hamował wzrost bakterii chorobotwórczych, tj. *Listeria innocua*, *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli* i *Staphylococcus aureus*.

Kolejną bakteriocyną włączaną do filmów i powłok jest pediocyna, produkowana przez bakterie z gatunku *Pediococcus acidilactici*. Dokładnie przebadano działanie przeciwdrobnoustrojowe trzech pediocyn: ACh (wytwarzanej przez *Pediococcus acidilactici* H), PA-1 (produkowanej przez *Pediococcus acidilactici* PA1.0) oraz pediocyny A (wytwarzanej przez *Pediococcus pentosaceus* FBB61) (74,75). Pediocyna ACh, poza przeciwbakteryjnym oddziaływaniem wobec bakterii z rodzaju *Lactobacillus* i *Lactococcus*, jest bakteriobójcza w stosunku do *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Listeria monocytogenes* i *Pseudomonas putida* (74). Z kolei pediocyna PA-1 jest aktywna wobec szczepów z rodzaju *Pediococcus*, *Lactobacillus* oraz *Leuconostoc mesenteroides* i *Listeria monocytogenes* (75,76). Bakteriami wrażliwymi na działanie pediocyny A są *Pediococcus* spp., *Lactobacillus* spp., *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens* i *Clostridium botulinum*. W przeciwieństwie do nizyny pediocyna ACh wykazuje aktywność w szerokim zakresie pH 2,5-9,0 (76). Oddziaływanie pediocyn wobec wrażliwych bakterii indukuje głównie permeabilizację błony cytoplazmatycznej i wyciek składników z komórki. Ming i wsp. (58) uzyskali powłokę celulozową z dodatkiem pediocyny, która skutecznie zahamowała wzrost *L. monocytogenes* na podłożu modelowym. Dodatkowo wykonano doświadczenie, w którym zaszczepione próbki mięsa (piersi indyjskie, szynkę i świeże mięso wołowe) populacją *L. monocytogenes* zapakowano próżniowo, stosując komercyjne opakowanie celulozowe (ClearTite™) pokryte od wewnętrznej strony sproszkowanym preparatem pediocyny. Próbki przechowywano w warunkach chłodniczych przez 12 tygodni. Stwierdzono zmniejszenie liczby komórek *L. monocytogenes* o jeden cykl logarytmiczny w próbkach wołowiny. W próbkach szynki i piersi indyka liczba bakterii utrzymywała się na stałym poziomie przez cały okres przechowywania w stosunku do próbek kontrolnych, w których obserwowano wzrost liczby komórek o dwa cykle logarytmiczne. Na podstawie uzyskanych wyników potwierdzono hamujący wpływ opakowań z dodatkiem pediocyny na wzrost *L. monocytogenes*, wskazując jednocześnie na możliwość zastosowania pediocyny w opakowaniach stosowanych do produktów mięsnych.

### 3.4. Zastosowanie substancji roślinnych w opakowaniach jadalnych

Od dawna w kręgu zainteresowania naukowców są substancje roślinne w postaci olejków eterycznych lub ekstraktów ze względu na ich różnorodne właściwości lecznicze, w tym przeciwdrobnoustrojowe. Szczególnie silne działanie przypisuje się niektórym olejkom eterycznym. Podstawowe składniki olejków m.in. karwakrol, tymol, eugenol mają właściwości lipofilowe, co umożliwia im łatwe łączenie się z lipidami występującymi w błonie cytoplazmatycznej i mitochondriach. Powoduje to zniszczenie błony cytoplazmatycznej drobnoustrojów oraz zahamowanie syntezy kwasów nukleinowych, białek (strukturalnych, enzymatycznych) i sacharydów (77, 78). Za przykład mogą posłużyć olejki, tj. tymiankowy, cynamonowy, wawrzynowy, goździkowy, lubczykowy, majerankowy, geraniowy, werbenowy i z mięty pieprzowej silnie hamujące wzrost zarówno bakterii Gram(-), jak i Gram(+). Z kolei wzrost grzybów strzępkowych hamowany był przez takie olejki, jak anyżowy, cynamonowy, cytronellowy, kminkowy i komosowy (79).

Wprowadzenie olejków roślinnych do opakowań jadalnych stało się nowym tematem badań. Seydim i Sarikus (80) do filmu z białka serwatkowego wprowadzili od 1,0 do 4,0% olejków z oregano, rozmarynu i czosnku. Najsilniejsze działanie wykazywał film z 2% dodatkiem olejku z oregano, powodując zahamowanie wzrostu *S. aureus* (ATCC 43300), *S. enteritidis* (ATCC 13076), *L. monocytogenes* (NCTC 2167) i *E. coli* O157:H7 (ATCC 35218). Podobne działanie na badane bakterie wywierał film z 3 i 4% dodatkiem olejku z czosnku. Z kolei nie zaobserwowano działania przeciwbakteryjnego w przypadku filmu z olejkiem rozmarynowym w stężeniach zastosowanych w badaniu. Pranato i wsp. (27) także stwierdzili korzystny wpływ włączenia olejku z czosnku do filmu z chitozanu na jego działanie przeciwbakteryjne. Film silnie zahamował wzrost *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *B. cereus* oraz słabiej *E. coli* i *S. typhimurium*. Podobne rezultaty otrzymali inni autorzy badający filmy sporządzone z chitozanu z 0,5-1,5% dodatkiem olejku tymolowego i goździkowego (81).

Rojas-Graü i wsp. (25) porównali działanie przeciwbakteryjne filmów zawierających w swym składzie 0,1-0,5% olejków eterycznych lub jeden z czystych składników tych olejków. Sprawdzone przeciwbakteryjne właściwości filmów zawierających: olejek pochodzący z oregano, karwakrol, olejek cynamonowy, aldehyd cynamonowy, olejek z trawy cytrynowej oraz cytral. Stwierdzono, że film z karwakrolem wykazywał najsilniejsze działanie hamujące wobec *E. coli* O157:H7. Aktywność przeciwbakteryjna pozostałych filmów układała się w następującym porządku: olejek z oregano > cytral > olejek z trawy cytrynowej > aldehyd cynamonowy > olejek cynamonowy.

Cha i wsp. (82) donieśli, że ekstrakt z pestek winogron zastosowany jako dodatek do filmów polisacharydowych w połączeniu z czynnikiem chelatującym EDTA skutecznie hamował wzrost bakterii testowych *Micrococcus luteus*, *Listeria innocua*, *Salmonella enteritidis*, *E. coli* i *S. aureus*.

Jedynym ograniczeniem w zastosowaniu substancji roślinnych jako dodatku do powłok jest ich silny smak i zapach, który może wpływać na odbiór cech sensorycz-

nych przez konsumenta (27,81,83). Poprzez zastosowanie substancji roślinnych w połączeniu z innymi związkami przeciwdrobnoustrojowymi istnieje możliwość zmniejszenia tego negatywnego wpływu (84).

#### 4. Perspektywy zastosowań opakowań jadalnych w utrwalaniu żywności

Opakowania jadalne o właściwościach przeciwdrobnoustrojowych zyskują coraz większe zainteresowanie producentów żywności i naukowców, ze względu na potencjalne korzyści ich zastosowania. Główną rolą takich opakowań jest zmniejszenie ryzyka zanieczyszczenia żywności patogenami, jak również przedłużenie okresu trwałości żywności, co w rezultacie prowadzi do podwyższenia jakości i bezpieczeństwa żywności. Zgodnie z tendencją światową kładzie się duży nacisk na użycie substancji naturalnych charakteryzujących się z jednej strony szerokim spektrum działania przeciwdrobnoustrojowego w niskich stężeniach, a z drugiej wysokim stopniem biodegradacji i stosunkowo niską toksycznością. Wprowadzenie opakowania zawierającego aktywny składnik do powszechnego użycia, wiąże się z wykonaniem szeregu testów i badań dotyczących bezpieczeństwa zdrowotnego. Odnosi się to zarówno do substancji wprowadzanej do powłoki, samej powłoki oraz całego układu złożonego z matrycy oraz zastosowanego dodatku.

#### Literatura

1. Durango A. M., Soares N. F. F., Andrade N. J., (2006), *Food Control*, 17, 336-341.
2. Olivas G. I., Barbosa-Cánovas G. V., (2005), *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 45, 657-670.
3. Del-Valle V., Hernández-Munñoz P., Guarda A., Galotto M. J., (2005), *Food Chem.*, 91, 751-756.
4. Kester J. J., Fennema O., (1989), *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 66, 1147-1153.
5. Durango A. M., Soares N. F. F., Andrade N. J., (2006), *Food Control*, 17, 336-341.
6. Debeaufort F., Quezada-Gallo J.-A., Voilley A., (1998), *Crit. Rev. Food Sci.*, 38(4), 299-313.
7. Cha D. S., Choi J. H., Chinnan S. M., Park H. J., (2002), *Lebensm. Wiss. U-Technol.*, 35(8), 715-719.
8. Garcia M. A., Ferrero C., Bértola N., Martino M., Zaritzky N., (2002), *Innov. Food Sci. Emer. Technol.*, 3, 391-397.
9. Krochta J. M., de Mulder-Johnston C., (1997), *Food Technol.*, 51, 61-74.
10. Cagri A., Ustunol Z., Ryser E. T., (2004), *J. Food Protection.*, 67, 833-848.
11. Guilbert S., Gontard N., Gorris L. G. M., (1996), *Lebensm.-Wiss.-U-Technol.*, 29, 10-17.
12. Gennadios A., (2000), *Protein-based film and coatings*, Boca Raton, Florida: CRC Press, 485-498.
13. Lisińska-Kuśnierz M., Ucherek M., (2003), *Współczesne opakowania*, Wyd. Nauk. PTTŻ, Kraków, 124-125, 230, 235-236.
14. Park H. J., (1999), *Trends Food Sci. & Technol.*, 10, 254-260.
15. Miller K. S., Krochta J. M., (1997), *Tests Food Sci. Technol.*, 8, 228-236.
16. Ayranci E., Tunc S., (1997), *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -forschung A*, 205, 6, 470-473.
17. Debeaufort F., Quezada-Gallo J. A., Delporte B., Voilley A., (2000), *J. Membrane Sci.*, 180, 47-55.
18. Geraldine R. M., Soares N. F., Botrel D. A., Goncalves L. A., (2008), *Carboh. Polym.*, 72, 403-409.
19. Reinoso E., Mittal G. S., Lim L. T., (2008), *Food Bioproc. Technol.*, 1, 314-325.
20. Kittur F. S., Saroja N., Habibunnisa N., Tharanathan R. N., (2001), *Eur. Food Res. Technol.*, 213, 306-311.

21. Han J. H., (2000), *Food Technol.*, 54, 56-65.
22. Ayranci E., Tunc S., (2004), *Food Chem.*, 87, 339-342.
23. Lee J. Y., Park H. J., Lee C. Y., Choi W. Y., (2003), *Lebensm.-Wiss. U.-Technol.*, 36, 323-329.
24. Yaman O., Boyoundurli L., (2002), *Lebensm.-Wiss. U.-Technol.*, 35, 146-150.
25. Rojas-Graü M. A., Avena-Bustillos R. J., Olsen C., Friedman M., Henika P. R., Martín-Belloso O., Pan Z., McHugh T. H., (2007), *J. Food Eng.*, 81, 634-641.
26. Martín-Belloso O., (2007), *Food Hydrocolloids*, 21, 118-127.
27. Pranoto Y., Rakshit S. K., Salokhe V. M., (2005), *Lebensm.Wiss. U.-Technol.*, 38, 859-865.
28. Mei Y., Zhao Y., (2003), *J. Agricultural Food Chem.*, 51, 1914-1918.
29. Kokoszka S., Lenart A., (2007), *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 57, 4, 399-404.
30. Garcia M. A., Pinotti A., Martino M. N., Zaritzky N. E., (2004), *Carboh. Polym.*, 56, 339-345.
31. Lee J. W., Son S. M., Hong S. I., (2008), *J. Food Engin.*, 86, 484-493.
32. Cutter C. N., (2006), *Meat Sci.*, 74, 131-142.
33. Krochta J. M., Franssen L. R., (2002), *Proceedings of the Institute of Food Technologists Annual Meeting*, Anaheim, California, 6, 131-156.
34. McHugh T. H., Krochta J. M., (1994), *Food Technol.*, 48(2), 97-103.
35. Shih F. F., (1996), *Cer. Chem.*, 73, 406-409.
36. Krochta J. M., Baldwin E. A., Nisperos-Carriedo M., (1994), Lancaster, PA: Technomic Publishing Company, 279-303.
37. Kester D. M., Fennema O. R., (1989), *J. Food Sci.*, 54, 1383-1389.
38. Gallo J. A. Q., Debeaufort F., Callegarin F., Voilley A., (2000), *J. Membrane Sci.*, 180, 37-46.
39. Coma V., Sebti I., Pardon P., Deschaps A., Pichavant F. H., (2001), *J. Food Protec.*, 64, 470-475.
40. Li B., Kennedy J. F., Peng J. L., Yie X., Xie B. J., (2006), *Carboh. Polym.*, 65, 488-494.
41. Chlebowska-Śmigiel A., Gniewosz M., Gąszewska M., (2008), *Polish J. Food Nutr. Sci.*, 58, 79-84.
42. Gniewosz M., Duszkiewicz-Reinhard W., (2008), *Carboh. Polym.*, 72, 431-438.
43. Kandemir N., Yemenicioğlu A., Mecitoglu C., Elmaci Z. S., Arslanoglu A., Goksungur Y., (2005), *Food Technol. Biotechnol.*, 43, 343-350.
44. Diab T., Biliaderis C. G., Gerasopoulos D., Sfakiotakis E., (2001), *J. Sci. Food Agric.*, 81, 988-1000.
45. Khan T., Park J. K., Kwon J-H., (2007), *Korean J. Chem. Eng.*, 24, 816-826.
46. Jeong Y. J., Kamil J. Y. V. A., Shahidi F., (2002), *J. Agric. Food Chem.*, 50, 5167-5178.
47. Roller S., Sagoo S., Board R., O'Mahony T., Caplice E., Fitzgerald G., Fogden M., Owen M., Fletcher H., (2002), *Meat Sci.*, 62, 165-177.
48. Xu S., Chen X., Sun D.-W., (2001), *J. Food Eng.*, 50, 211-216.
49. Shih F. F., (1996), *Cereal Chem.*, 73(3), 406-409.
50. Gallo J.-A.Q., Debeaufort F., Callegarin F., Voilley A., (2000), *J. Membrane Sci.*, 180, 37-46.
51. Rojas-Grau M. A., Tapia M. S., Martín-Belloso O., (2008), *LWT Food Sci. Technol.*, 41, 139-147.
52. Park S. I., Daeschel M. A., Zhao Y., (2004), *J. Food Sci.*, 69, 215-221.
53. Nussinovitch A., Lurie S., (1995), *Postharvest News Inform.*, 6, 4, 53N-57N.
54. Labuza T. P., Breene W. M., (1989), *J. Food Proces. Preserv.*, 13, 1-69.
55. Suppakul P., Miltz J., Sonneveld K, Bigger S., (2003), *J. Food Sci.*, 68(2), 408-420.
56. Appendini P., Hotchkiss J. H., (2002), *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 3, 113-126.
57. Padgett T., Han I. Y., Dawson P. L., (1998), *J. Food Protect.*, 61, 1330-1335.
58. Ming X., Weber G. H., Ayres J. W., Sandine W. E., (1997), *J. Food Sci.*, 62, 413-415.
59. Mecitoglu Ç., Yemenicioğlu A., Arslanoglu A., Eleaci Z. S., Korel F., Çetin A. E., (2006), *Food Res. Int.*, 39, 12-21.
60. Earnshaw R. G., Banks J. G., Francotte C., Defrise D., (1990), *J. Food Protect.*, 53, 170-172.
61. Davidson P. M., Parish M. E., (1989), *Food Technol.*, 148-155.
62. Russell N. J., Gould G. W., (2003), *Food Preservatives*, Springer. New York, ed. 2, 146, 149.
63. Seifu E., Buys E. M., Donkin E. F., (2005), *Trends Food Sci. Technol.*, 16, 1-18.
64. Mecitoglu C., Yemenicioğlu A., (2007), *Food Chem.*, 104, 726-733.
65. Min S., Harris L. J., Krochta J. M., (2005), *J. Food Sci.*, 70, 332-338.
66. *Dziennik Urzędowy UE*, (2006), *Dyrektywa 2006/52/WE*.

67. de Vuyst L., (1994), *Biotechnol. Lett.*, 16, 287-292.
68. Bednarski W., Reys A. (red.), (2003), *Biotechnologia żywności*, WNT, Warszawa, wyd. 2, 268-269, 280-282.
69. Baj J., Markiewicz Z., (2006), *Biologia molekularna bakterii*, Wyd. Nauk. PWN, Warszawa, 69.
70. Błaszczuk U., (2008), *Laboratorium Przem.*, 10/2008, 28-32.
71. Ratnam P., Barefoot S., Prince L., Bodine A., McCaskill L. H., (1999), *Lait.*, 79, 125-136.
72. Cooksey K., (2005), *Food Addit. Contam.*, 22, 980-987.
73. Hoffman K. L., Han I. Y., Dawson P. L., (2001), *J. Food Protect.*, 64, 885-889.
74. Bhunia A. K., Johnson M. C., Ray B., Kalchayanad, (1991), *J. Appl. Bacteriol.*, 70, 25-30.
75. Lozano J. C., Meyer J., Sletten K., Pelaz C., Nes I. F., (1992), *J. Gen. Microbiol.*, 138, 1985-1990.
76. Gwiazdowska D., Trojanowska K., (2005), *Biotechnologia*, 68, 114-130.
77. Góra J., (1997), *Wiadomości Zielarskie*, 39, 3, 13-15.
78. Burt S., (2004), *Int. J. Food Microbiol.*, 94, 223-253.
79. Holderna-Kędzia E., Kędzia B., Ostrowski-Meissner H., (2006), *Post. Fitoterapii*, 4, 188-194.
80. Seydim A. C., Sarikus G., (2006), *Food Res. Int.*, 39, 639-644.
81. Hoseini M. H., Razavi S. H., Mousavi S. M., Yasaghi S. A. S., Hasansaraei A. G., (2008), *J. Appl. Sci.*, 8 (16), 2895-2900.
82. Cha D. S., Choi J. H., Chinnan M. S., Park H. J., (2002), *Lebensm. Wiss. U-Technol.*, 35, 715-719.
83. Oussalah M., Caillet S., Saucier L., Lacroix M., (2006), *Meat Sci.*, 73, 236-244.
84. Quintavalla S., Vicini L., (2002), *Meat Sci.*, 62, 373-380.