

Katariina Kajonen

# ANTIMIKROBISET PINNOITTEET JUOMAPAKKAUKSISSA

Tekniikan ja luonnontieteiden tiedekunta  
Kandidaatintyö  
Syyskuu 2023

# TIIVISTELMÄ

Katariina Kajonen: Antimikrobiset pinnoitteet juomapakkauksissa  
Antimicrobial coatings on beverage packaging  
Kandidaatintyö  
Tampereen yliopisto  
Materiaalitekniikka  
Syyskuu 2023

---

Pilaannuttavat sekä ruokamyrkytyksiä ja tarttuvia tauteja aiheuttavat mikrobit ovat yksi elintarviketeollisuuden merkittävimpiä haasteita. Antimikrobiset pinnoitteet voivat tarjota elintarviketeollisuudelle uuden ratkaisuvaihtoehdon niiden haitallisten vaikutusten vähentämiseen, sillä pinnoitteet rajoittavat ja estävät mikrobien kasvua elintarvikkeessa. Tyypillisesti antimikrobisten pinnoitteiden toimintamekanismi perustuu siihen, että muovin seassa pienenä pitoisuutena olevaa antimikrobisesta aktiivista ainetta vapautuu hitaasti elintarvikkeeseen. Esimerkiksi yleisesti antimikrobeina käytettävät metalliset nanopartikkelit vapauttavat elintarvikkeeseen ioneja, jotka voivat rajoittaa mikrobien määrää elintarvikkeessa estämällä mikrobisolujen normaaleja elintoimintoja. Tässä työssä selvitetään, millaiset antimikrobiset pinnoitteet soveltuvat parhaiten appelsiinimehun ja pastöroidun maidon säilyvyyden ja turvallisuuden parantamiseen nestepakkauksessa. Työ on suoritettu kirjallisuusselvityksenä keskittyen pakkausalan tutkimuksiin ja kirjallisuuteen.

Tarkasteluun valittiin kymmenen erilaista antimikrobista pinnoitetta, joissa antimikrobeina toimivat hopea, titaanidioksidi, sinkkioksidi, kalsiumoksidi, nisiini ja kitosaani. Kaikissa käsitellyissä tutkimuksissa saatiin lupaavia tuloksia pinnoitteiden kyvystä rajoittaa mikrobien kasvua elintarvikkeessa. Koska antimikrobisten pinnoitteiden toimintamekanismi perustuu vuorovaikutukseen elintarvikkeen kanssa, pinnoitteiden vertailussa oli olennaista selvittää, millaisia vaatimuksia Euroopan Unioni asettaa aktiivisille eli ruuan kanssa vuorovaikutuksessa oleville elintarviketekontaktimateriaaleille. Käsitellyistä antimikrobeista vain sinkkioksidi ja kalsiumoksidi ovat tällä hetkellä hyväksytyjä elintarviketekontaktimateriaalien raaka-aineita, minkä takia näitä antimikrobeja sisältävät materiaalit todettiin soveltuvimmiksi juomapakkauksiin. Appelsiinimehun pakkaamiseen soveltuvimmaksi pinnoitteeksi todettiin materiaali, jossa matalatiheyksisen polyeteenin (PE-LD) joukkoon on lisätty 0,25 %:n pitoisuus sinkkioksidinanopartikkeleita. Maidon pakkaamiseen parhaiten soveltuvaksi materiaaliksi todettiin 1–2 % kalsiumoksidia sisältävä komposiitti, jonka pohjamateriaalit ovat polyamidi ja lineaarinen matalatiheyksinen polyeteeni (PE-LLD).

Työssä havaittiin, että erityisesti metallisia nanopartikkeleita sisältävillä antimikrobisilla pinnoitteilla voidaan parantaa elintarvikkeiden säilyvyyttä ja turvallisuutta pakkauksissa, koska ne vaikuttavat merkittävästi erityyppisten mikrobien määrään elintarvikkeissa. Työssä kuitenkin ilmeni myös riskejä liittyen antimikrobisten pinnoitteiden laajamittaiseen käyttöön. Epävarmuutta aiheuttaa erityisesti antimikrobien monimutkainen vapautumis- eli migraatioprosessi, mikä on altis useille eri ulkoisille tekijöille ja voi tämän takia altistaa ihmisen esimerkiksi nanopartikkeleille. Ennen laajempaa käyttöönottoa tulisi siis varmistua siitä, että migraatioprosessi toimii suunnitellusti vuorovaikutuksessa elintarvikkeen, pakkauksen ja säilytysympäristön kanssa. Lisäksi epävarmuutta aiheuttaa mahdollisuus antimikrobiresistenssin muodostumiseen patogeenisissä mikrobeissa johtuen antimikrobisten pakkausmateriaalien laajemmasta käytöstä. Tarvitaan siis vielä lisätutkimuksia, jotta voidaan varmistua niiden soveltuvuudesta juomapakkauksiin.

Avainsanat: antimikrobinen, elintarvikepakkaus, pinnoite

Tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin OriginalityCheck –ohjelmalla.

# SISÄLLYSLUETTELO

1. JOHDANTO .....	1
2. MAIDON JA APPELSIINIMEHUN OMINAISUUDET JA SÄILYVYYS.....	3
2.1    Pastöroitu maito .....	4
2.2    Appelsiinimehu.....	5
3. NESTEPAKKAUSTEN MATERIAALIT JA OMINAISUUDET .....	7
3.1    Nestepakkaukset.....	7
3.2    Muovipullot.....	8
4. ELINTARVIKEKÄYTTÖÖN SOVELTUVAT ANTIMIKROBIT .....	10
4.1    Metallit ja metalliyhdisteet antimikrobeina .....	10
4.2    Orgaaniset antimikrobit .....	12
5. ANTIMIKROBISTEN PINNOITTEIDEN SOVELTUVUUS JUOMAPAKKAUKSIIN	14
5.1    Elintarvikekontaktimateriaaleja koskevat vaatimukset .....	14
5.2    Tutkitut ja lupaavimmiksi todetut antimikrobiset pinnoitteet .....	15
5.3    Muita huomioitavia näkökulmia antimikrobisten pinnoitteiden kaupallistamiseen liittyen .....	17
6. YHTEENVETO.....	19
LÄHTEET .....	21

## LYHENTEET JA MERKINNÄT

UHT	Iskukuumennus, Ultra-high temperature processing
ESL	Korkeapastörinti, Extended shelf life
PHTC	Pastöroinnin jälkeen tapahtuva kontaminaatio, Postheat treatment contamination
PE-LD	Matalatiheyksinen polyeteeni, Low-density polyethylene
EVOH	Eteenivinyylialkoholi, Ethylene vinyl alcohol
PE-HD	Korkeatiheyksinen polyeteeni, High-density polyethylene
PET	Polyetyleenitereftalaatti, Polyethylene terephthalate
PP	Polypropeeni, Polypropylene
TiO <sub>2</sub>	Titaanidioksidi
ZnO	Sinkkioksidi
MgO	Magnesiumoksidi
CaO	Kalsiumoksidi
Ag	Hopea
PE-LLD	Lineaarinen matalatiheyksinen polyeteeni, Linear low-density polyethylene
EFSA	Euroopan elintarviketurvallisuusvirasto, European Food Safety Authority
SML	Migraation raja-arvo, Specific migration limit

# 1. JOHDANTO

Haitalliset mikrobit ovat elintarviketeollisuuden merkittävimpiä haasteita. Haitallisiin mikrobeihin lukeutuvat bakteerit, virukset, sienet ja homeet, jotka aiheuttavat tarttuvia tautteja, ruokamyrkytyksiä tai elintarvikkeen pilaantumisen. Elintarviketeollisuuden on jatkuvasti kehityttävä minimoidakseen näiden haitallisten mikrobien mahdollisuudet vaikuttaa elintarvikkeiden turvallisuuteen ja säilyvyyteen negatiivisesti. Antimikrobiset pakkausmateriaalit voivat tarjota uuden ratkaisuvaihtoehdon tähän haasteeseen. [1]

Antimikrobisten pakkausmateriaalien keskeisenä etua tuovana ominaisuutena verrattuna perinteisiin pakkausmateriaaleihin on kyky rajoittaa ja estää mikrobien kasvua elintarvikkeissa. Antimikrobiset pinnoitteet ovat aktiivisia pakkausmateriaaleja eli ne vuorovaikuttavat elintarvikkeen kanssa. Tyypillisesti antimikrobisten pinnoitteiden pohjamateriaalina on muovi, jonka joukossa on pienenä pitoisuutena antimikrobisesti aktiivista ainetta. Antimikrobinen vaikutus perustuu useimmiten siihen, että antimikrobia, kuten esimerkiksi hopeaioneja, vapautuu hitaasti elintarvikkeeseen, jolla saadaan aikaan jatkuva antimikrobinen vaikutus. [1]

Tässä työssä tutkitaan, millaiset antimikrobiset pinnoitteet soveltuvat parhaiten juomapakkauksiin täyttäen juomapakkauksia koskevat eurooppalaiset turvallisuus- ja laatuvaatimukset. Erityyppiset pinnoitteet soveltuvat eri elintarvikeryhmille, joten työn laajuuden rajaamiseksi aihe on rajattu kylmäsäilytettävän appelsiinimehun ja pastöroidun maidon juomapakkauksiin. Lisäksi kiinnostus nanoteknologian käyttöön on maailmanlaajuisesti kasvussa, ja työssä kiinnitetäänkin erityishuomiota siihen, millaisia etuja uudet nanoteknologian innovaatiot voisivat tuoda juomapakkauksiin. Työ on tehty kirjallisuuskatsauksena keskittyen uudempiin tutkimuksiin, joissa pinnoitteen soveltuvuutta juomapakkaukseen on tutkittu.

Toisessa luvussa käsitellään maidon ja appelsiinimehun säilyvyyttä ja muita niiden pakkaamiseen olennaisimmin liittyviä ominaisuuksia. Kolmannessa luvussa käydään läpi yleisimpiä nestepakkausmateriaaleja ja niiden ominaisuuksia. Tarkasteluun on valittu muovipullot ja nestepakkauskartonki, joihin appelsiinimehua ja maitoa useimmiten pakataan Suomessa. Neljännessä luvussa käsitellään yleisimpiä antimikrobisesti aktiivisia aineita ja niiden vaikutusmekanismeja. Viidennessä luvussa käsitellään antimikrobisten

pinnoitteiden edellytyksiä soveltua maidon ja appelsiinimehun säilyvyyden ja turvallisuuden parantamiseen pakkauksessa. Tarkastelussa huomioidaan muun muassa eurooppalainen lainsäädäntö ja mahdolliset haittavaikutukset ja riskit liittyen antimikrobisten pinnoitteiden käyttöön elintarvikkeiden pakkaamisessa. Lopuksi esitellään koostetusti työn johtopäätökset.

## 2. MAIDON JA APPELSIINIMEHUN OMINAISUUDET JA SÄILYVYYS

Tässä luvussa esitellään olennaisimmat elintarvikkeiden laatuun ja sen säilyttämiseen liittyvät termit sekä keskeisimmät säilyvyyteen vaikuttavat ominaisuudet sekä maidon että appelsiinimehun osalta. Elintarvikepakkauksen tärkein tehtävä on säilyttää tuotteen laatu ja turvallisuus tuotannosta kuluttajalle asti. Laatuun voivat vaikuttaa fysikaaliset, kemialliset tai biologiset tekijät, kuten vesihöyry, hajut ja mikrobit. [1] Luvussa käsitelläänkin myös tekijöitä ja prosesseja, jotka voivat johtaa kylmäsäilytettävän appelsiinimehun ja pastöroidun maidon laadun ja turvallisuuden heikkenemiseen.

Tärkeä elintarvikkeiden säilyvyyteen liittyvä termi on säilyvyysaika, jonka puitteissa elintarvikkeen tulee säilyttää elintarvikekohtaiset mikrobiologiset, aistinvaraiset ja kemialliset vaatimukset. Aistinvaraiset vaatimukset voivat liittyä esimerkiksi tuotteen väriin, makuun ja rakenteeseen. Elintarvikkeiden säilyvyydestä pakkauksessa kertoo joko viimeinen käyttöajankohta tai parasta ennen -päivämäärä. Pastöroidulle maidolle ja appelsiinimehulle merkitään useimmiten parasta ennen -päivämäärä eli vähimmäissäilyvyysaika, jonka puitteissa elintarvike säilyttää sille tyypilliset ominaisuutensa oikein säilytettynä. Ruokaviraston ohjeistuksen mukaan elintarviketta voi vielä käyttää parasta ennen -päivämäärän ylittymisen jälkeenkin, jos elintarvike vaikuttaa normaalilta. Viimeinen käyttöajankohta merkitään tuotteisiin, jotka ovat mikrobiologisesti erittäin helposti pilaantuvia kuten raaka maito ja jauheliha. [2]

Elintarvikkeen säilyvyysaikaan vaikuttavat ympäristön vaikutusten ja pakkauksen lisäksi tuotteen ominaisuudet, kuten pH-arvo, ja tuotteessa mahdollisesti olevat entsyymit, mikrobit ja reaktiiviset yhdisteet. Erityisen merkittävää niin säilyvyysajan maksimoimisen kuin tuoteturvallisuuden kannalta on minimoida haitallisten mikrobien määrä ja kasvu tuotteessa. Haitallisia mikrobeja ovat pilaantumista aiheuttavat ja patogeeniset virukset, bakteerit, homeet, hiivat ja loiset. [3] Patogeenisillä mikrobeilla viitataan mikrobeihin, jotka aiheuttavat tarttuvia tauteja tai ruokamyrkytyksiä [4].

Maidosta ja mehusta pyritäänkin prosessoimalla poistamaan ja inaktivoimaan mahdollisimman paljon mikrobeja. Tämä voidaan tehdä esimerkiksi lämpökäsittelyiden tai säilöntäaineiden avulla. [5] Monet kuluttajat kuitenkin suosivat vähemmän prosessoituja juomia, joissa on paljon ravintoaineita sisältäviä tuoreita ainesosia, minkä takia kylmäsäilytettäviä tuotteita ei useimmiten lämpökäsitellä voimakkaasti [6].

## 2.1 Pastöroitu maito

Maito on herkästi pilaantuva monimutkainen seos, joka sisältää vettä, proteiineja, lipidejä, hiilihydraatteja, entsyymejä, vitamiineja ja mineraaleja. Maidon pilaantuminen voi johtaa nopeaan laadun ja tuoteturvallisuuden heikkenemiseen. Maidon pilaantumisherkkyys johtuu siitä, että maito on hyvä kasvualusta mikrobeille sen kosteuden, ravinteikkaan koostumuksen ja lähellä neutraalia olevan pH-arvon takia. [3] Merkittävimmin maidon säilyvyyteen vaikuttavat bakteeri- ja entsyymitoiminta [4].

Mikrobikuormituksen vähentämiseksi maito täytyy lämpökäsitellä. Kolme pääasiallista Suomessa käytössä olevaa lämpökäsittelytekniikkaa ovat pastörointi, iskukuumennus eli UHT-käsittely ja korkeapastörointi eli ESL-tekniikka. UHT-käsittely ja ESL-tekniikka ovat voimakkaampia lämpökäsittelyitä, jotka pidentävät maidon säilyvyyttä tavalliseen pastöroituun maitoon verrattuna. [4] Tässä työssä keskitytään kuitenkin meijerikäsiteltyyn pastöroituun maitoon.

Pastörointi on lievä lämpökäsittely, jossa maito kuumennetaan vähintään 72 °C:n lämpötilaan 15 sekunnin ajaksi. Prosessi ei vaikuta merkittäväksi maidon ravintoarvoon eikä kemialliseen koostumukseen. Pastöroinnin tärkein tehtävä on tuhota sairauksia tai ruokamyrkytyksiä aiheuttavat patogeeniset mikrobit. Samalla vähenee myös muiden mikrobin määrä, jotka voisivat heikentää maidon laatua säilytyksen aikana. Yleisesti parasta ennen -ajankohta on kylmäsäilytettävälle pastöroidulle maidolle kuusi vuorokautta pakkauspäivästä. [4] Säilyvyyden parantamiseksi on olemassa muitakin keinoja, kuten baktofugointi ja mikrofiltraatio. Molempien tarkoituksena on poistaa mikro-organismeja ja itiöitä maidosta, ja niitä voidaan käyttää tukemaan pastörointia. [3] Mikrosuodatus on paineohjattu kalvosuodatustekniikka, ja baktofugoinnissa bakteereita ja itiöitä poistetaan sentrifugoimalla [7].

Kylmäsäilytettävillä pastöroiduilla maidoilla tärkein hyllyikää rajoittava tekijä on pastöroinnin jälkeen tapahtuva kontaminaatio (PHTC, engl. postheat treatment contamination), jossa maito altistuu kylmää sietäville gram-negatiivisille pilaantumisbakteereille. Kontaminaatio voi tapahtua esimerkiksi käsittelypinnoilta, minkä takia hyvät tuotantotavat ovat tärkeitä hygieniariskien välttämiseksi. Lisäksi hyllyikään vaikuttavat lämpöä kestävätkä bakteerit, jotka selviävät pastöroinnista. Näiden bakteerien aktiivisuus riippuu säilytyslämpötilasta: korkeammassa lämpötilassa maito pilaantuu nopeammin näiden bakteerien vaikutuksesta. Pilaantuminen jääkaappilämpötilassa johtuu pääasiassa *Pseudomonas spp* -bakteerin kasvusta. [5]

Patogeenisille mikrobeille ihminen voi altistua esimerkiksi riittämättömän pastöroinnin tai lämpökäsittelyn jälkeen tapahtuvan kontaminaation takia. Patogeeniset mikrobit voivat



olla peräisin myös eläimestä, mikä voi erityisesti johtaa nopeaan tuoteturvallisuuden heikkenemiseen. [3] Mahdollisesti maidossa esiintyviä patogeenisiä bakteereita ovat esimerkiksi ruokamyrkytyksiä aiheuttavat *Staphylococcus aureus* sekä *Bacillus* ja *Clostridium* -sukuihin kuuluvat bakteerit sekä tarttuvia tauteja aiheuttavat *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* ja *Escherichia coli*. [4]

Maidon säilyvyyden kannalta on olennaista, että tuotetta säilytetään +2–+8 °C:n lämpötilassa valolta ja hajuilta suojattuna [4]. Yleisimpiä valon indusoimia reaktioita ovat lipidien tai rikkipitoisten aminohappojen hajoaminen. Valoaltistus voi myös tuhota valoherkkiä vitamiineja, pääasiassa A-vitamiinia ja riboflaviinia eli B-vitamiinia. [3] Riboflaviini voi tuhoutuessaan katalysoida hapettuneen maun kehittymistä ja askorbiinihapon eli C-vitamiinin hapettumista [5]. Mikrobitoiminta ja valoaltistuksen aiheuttamat reaktiot voivat johtaa esimerkiksi epämiellyttäviin sivumakuihin. Tuoretta makua voivat pilata myös tuotannossa kertyvät haisevat yhdisteet tai pakkauksesta aiheutuvat sivumaut. [3]

Voidaan siis todeta, että maidon käsittelyyn, pakkaamiseen ja säilyttämiseen liittyy useita tekijöitä, jotka voivat vaikuttaa sen laatuun ja säilyvyyteen. Pilaantumisherkkyytensä takia on tärkeää huolehtia, etteivät etenkin patogeeniset mikrobit pääse kontaminoitumaan maitoon, ja että pakkaus suojaa maitoa valolta, hajuilta ja mikrobeilta. Valittaessa sopivaa pakkausmateriaalia maidolle tuleekin siis olla syvällinen tietämys tuotteen ominaisuuksista. [3]

## 2.2 Appelsiinimehu

Appelsiinimehu on yksi kulutetuimmista hedelmämehuista maailmassa [8]. Kylmäsäilytettävät appelsiinimehut ovat joko tuoremehuja tai niiden säilyvyyttä on parannettu pastöroinnilla. Merkittävimmät appelsiinimehun laatua ja säilyvyyttä heikentävät tekijät ovat mikrobiologinen pilaantuminen, hapettuminen ja makuyhdisteiden imeytyminen pakkaukseen. [2, 4]

Appelsiinimehun laadun ja säilyvyyden kannalta olennaisimpia prosesseja ovat ilmanpoisto ja mahdollisesti suoritettava pastörointi. Ilmanpoiston tarkoituksena on minimoida hapettavat reaktiot. Pastörointi suoritetaan ilmanpoiston jälkeen kuumentamalla mehu 90–100 °C:seen 12–45 sekunniksi. Sen tarkoituksena on stabiloida mehua eli poistaa mikrobeja ja tasapainottaa koostumusta. Pastöroinnin huonona puolena on, että se heikentää appelsiinimehun aistinvaraista laatua muun muassa tuhoamalla vitamiineja ja pigmenttejä. [3]

Appelsiinimehun happamuus toimii luonnollisena antimikrobisena agenttina, mutta joillakin mikro-organismeilla on kuitenkin kyky kasvaa hyvin happamassa olosuhteessa. Tällaisia mikrobeja ovat erimerkiksi hiivat ja maitohappobakteerit (*Lactic acid*). Esimerkiksi *Lactobacillus plantarum* kasvaa tuorepuristetussa, minimaalisesti prosessoidussa appelsiinimehussa ja se voi aiheuttaa epämiellyttävän maun lyhyessä ajassa, ja *Alicyclobacillus acidoterrestris* on yksi merkittävimmistä gram-positiivisista bakteereista, joka kasvaa happamissa elintarvikkeissa. [9] Pakkauksen hapenläpäisevyydellä on myös vaikutusta mehussa kasvaviin mikrobityyppeihin, koska esimerkiksi useimmat homeet ja hiivat ovat aerobisia, kun taas monet patogeeneit, kuten salmonellat ja kolibakteerit (*Escherichia coli*), ovat anaerobisia. [3]

Tuore eli lämpökäsittelemätön ja säilöntäaineeton appelsiinimehu pilaantuu jääkaappilämpötilassa noin kahdessa viikossa. Säilöntäaineilla ja lämpökäsittelyillä voidaan vähentää mikrobiologisia ongelmia ja parantaa mehun säilyvyyttä, mutta viime aikoina kuluttajat ovat kuitenkin suosineet tuotteita, joissa on vähemmän säilöntäaineita. [3] Appelsiinimehun pakkaamiseen kannattaa valita pakkaus, joka suojaa hyvin hapelta, koska se hidastaa aerobisten mikrobien kasvua ja suojaa mehua hapettumiselta. Hapettumisreaktioissa tuotteen maku heikkenee, väri muuttuu ja ravintoaineita, kuten askorbiinihappoa eli c-vitamiinia tuhoutuu. [8]

### 3. NESTEPAKKAUSTEN MATERIAALIT JA OMINAISUUDET

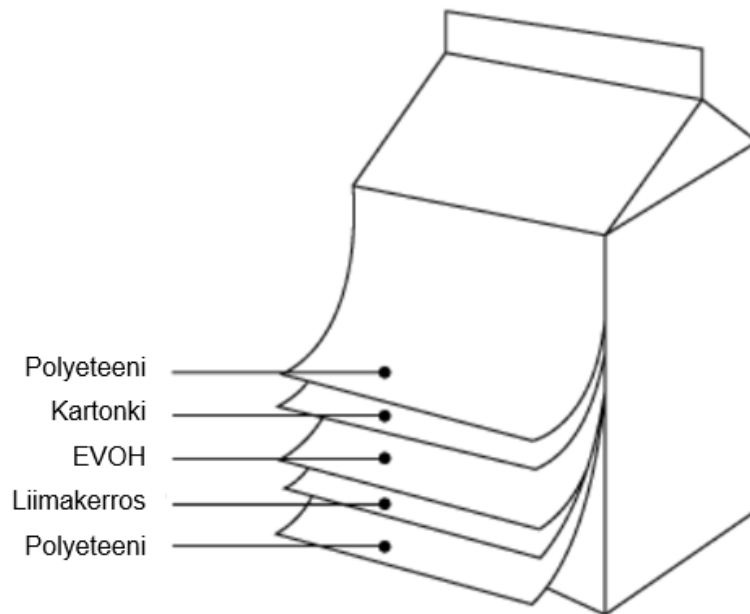
Nykypäivänä maitoa ja mehua pakataan useimmiten nestepakkauskartonkipakkauksiin tai muovipulloihin, minkä takia tässä työssä keskitytään näihin pakkauksiin [5]. Tässä luvussa käsitellään edellä mainittujen nestepakkausten rakennetta ja ominaisuuksia, jotka vaikuttavat elintarvikkeiden säilyvyyteen pakkauksissa.

Kuten edellisessä luvussa kävi ilmi, pakkaus vaikuttaa olennaisesti elintarvikkeen pilaantumiseen. Pakkaus suojaa elintarviketta mikrobiselta kontaminaatiolta. Koska mikrobeja voi olla myös tuotteessa itsessään, pakkauksen tulee estää kosteuden ja hapen pääsyä pakkaukseen, jotka voisivat mahdollistaa mikrobien kasvun. Samalla pakkaus rajoittaa esimerkiksi hapettumisen ja valon aktivoimien reaktioiden pilaannuttavia vaikutuksia. Hyvä pakkaus siis pitää elintarvikkeen turvallisena ja vähentää elintarvikejätettä. [3]

#### 3.1 Nestepakkauskartonki

Nestepakkauskartonki on monikerroksinen materiaali. Kylmäsäilytettävien, lyhyen hyllyiän tuotteiden nestepakkaukset koostuvat yksinkertaisimmillaan kartongista, joka on päällystetty molemmin puolin polyeteenillä. Kartonki on selluloosapohjaista ja koostuu tyypillisesti kahdesta tai kolmesta erilaisesta kuitukerroksesta. [10] Polyeteenikalvo on useimmiten matalatiheyksistä polyeteeniä (PE-LD), joka ekstruusiolaminoidaan kartongin pintaan. PE-LD:n avulla kartongista saadaan nestetiivis ja päällystetyt pinnat voidaan myös kuumasaumata kiinni. [5]

Nestepakkauskartongin etuna on alhainen valonläpäisevyys, mutta heikkoutena on sen hapenläpäisevyys. Pakkauksen hapenläpäisevyys ei ole kuitenkaan vaikuta merkittävästi etenkään kylmäsäilytettäviin maitotuotteisiin, joilla on lyhyt säilyvyysaika. [3] Lisäämällä kerroksia nestepakkauskartonkiin voidaan parantaa muun muassa pakkauksen tiiveyttä ja jäykkyyttä. Kaasujen läpäisevyyttä voidaan heikentää lisäämällä pakkaukseen esimerkiksi kerros alumiinia tai eteenivinyylialkoholia eli EVOH-kopolymeeriä. [5] Tästä esimerkkinä on kuvan 1 nestekartonkipakkaus, jossa pakkauksen rakenteeseen on lisätty EVOH-kerros.



**Kuva 1.** EVOH-kerroksen sisältävä nestepakkauskartonki (muokattu lähteestä [10])

Alumiini- tai EVOH-kerros on esimerkiksi aseptisissä pakkauksissa, koska niiltä vaaditaan ilmatiiveyttä. Aseptisessä pakkauksessa esimerkiksi iskukuumennettua maitoa voidaan säilyttää huoneenlämmössä. [5] Lisäksi nestekartonkipakkaukseen voidaan lisätä uudelleensuljettavuuden vuoksi muovinen korkki, jonka yleinen materiaali on korkeatiheksinen polyeteeni (PE-HD) [8, 9].

### 3.2 Muovipullot

Yleisimpiin muovipullojen materiaaleihin lukeutuvat polyetylenitereftalaatti (PET, engl. polyethylene terephthalate), korkeatiheksinen polyeteeni (PE-HD, engl. high-density polyethylene) ja polypropyleeni (PP, engl. polypropylene) [9]. Tässä luvussa esitellään näiden muovien ominaisuuksia ja käyttöä juomapakkausissa. Useimmiten muovipullot valmistetaan tekemällä ensin ekstruusiolla ontto putki, joka myöhemmin puhallusmuovataan pulloksi [5].

Polyetylenitereftalaatti on yleisesti käytetty lineaarinen kestmuovi, joka on ominaisuuksiltaan kestävämpää, jäykempää ja läpikuultavampaa kuin muut tässä luvussa esitellyt muovit [3]. Merkittävä PET:in käyttökohde ovat virvoitusjuomapullot [2, 9]. Polypropeenin pakkauksissa useimmiten käytetty muoto on isotaktinen, mikä tarkoittaa, että polymeerimolekyyleissä kaikki metyyliryhmät ovat sijoittuneet samalle puolelle molekyyliketjua. Tässä muodossaan PP on kovempaa ja jäykempää kuin muun muassa polyeteenit. Korkeatiheksinen polyeteeni PE-HD on lineaarinen kestmuovi, jonka rakenteeseen muodostuu muutamia lyhyitä haaraketjuja. [10]

Kun vertaillaan näiden kolmen muovilaadun ominaisuuksia taata mahdollisimman hyvä säilyvyys pakkauksessa, voidaan todeta PET:in olevan paras ominaisuuksiltaan. Tämä johtuu siitä, että PET on paras suoja kosteutta ja happea vastaan. Lisäksi PET suojaa erittäin hyvin öljyiltä ja rasvoilta, kun PP ja PE-HD suojaavat niiltä vain kohtalaisesti. Kosteudelta ja hapelta heikoiten suojaava materiaali on PP. [10]

Myös muovipulloihin voidaan lisätä kerroksia parantamaan elintarvikkeen säilyvyyttä pakkauksessa esimerkiksi heikentämällä pakkauksen valon tai hapen läpäisevyyttä. Valon läpäisevyyttä voidaan pienentää esimerkiksi värjäämällä pakkaus tai lisäämällä etiketti. Hapenläpäisevyyttä taas voidaan rajoittaa esimerkiksi EVOH- tai polyamidipinnoitteella. [5]

## 4. ELINTARVIKEKÄYTTÖÖN SOVELTUVAT ANTIMIKROBIT

Antimikrobiset pinnoitteet ovat aktiivisia pakkausmateriaaleja, eli ne vuorovaikuttavat elintarvikkeen kanssa säilyvyyden ja tuoteturvallisuuden parantamiseksi. Antimikrobisissa pinnoitteissa antimikrobi on tyypillisesti pienenä pitoisuutena muovin seassa. Antimikrobisten pinnoitteiden toimintamekanismi perustuukin useimmiten antimikrobisesti aktiivisen aineen migraatioon elintarvikkeeseen. Migraatio-termillä viitataan siihen, että matalan molekyyllipainon omaava yhdiste, kuten metalli-ioni, siirtyy pakkauksesta elintarvikkeeseen. [1]

Tässä luvussa esitellään antimikrobisesti aktiivisia aineita, jotka soveltuvat tai voisivat soveltua elintarvikekäyttöön. Antimikrobisesti aktiiviset aineet on jaoteltu niiden alkupe-  
rän mukaan orgaanisiin ja epäorgaanisiin. Orgaanisiin antimikrobeihin lukeutuu laaja skaala erilaisista elävistä lähteistä peräisin olevia yhdisteitä. Epäorgaanisiin antimikro-  
beihin kuuluu metalleja ja metalliyhdisteitä. [1]

Usein antimikrobien toimintamekanismi perustuu mikrobisolun soluseinän tai -kalvon tuhoamiseen, entsyymaattisen toiminnan estämiseen, geneettisen rakenteen tuhoamiseen tai näiden mekanismien yhdistelmiin [1]. Monilla antimikrobeilla aktiivisuus rajoittuu bak-  
teerien tapauksessa gram-negatiivisiin bakteereihin, koska gram-positiivisten bakteerien soluseinä estää monia antimikrobeja pääsemästä niihin käsiksi [11].

### 4.1 Metallit ja metalliyhdisteet antimikrobeina

Metalleja tai metalliyhdisteitä sisältävät antimikrobiset pinnoitteet ovat useimmiten nano-  
materiaaleja, eli metalli tai metalliyhdiste on materiaalissa nanomittakaavassa, jonka vaihteluväli on 1–100 nanometriä [12]. Useimmiten metalli tai metalliyhdiste on muovin seassa nanopartikkeleina, joiden ei ole tarkoitus vapautua elintarvikkeeseen, vaan anti-  
mikrobinen vaikutus perustuu metalli-ionien migraatioon. Nanoteknologian kehittymisen myötä kiinnostus epäorgaanisten yhdisteiden käyttöä kohtaan on kasvanut niiden usei-  
den hyvien ominaisuuksien vuoksi. [1] Metall- ja metallioksidinanopartikkelit esimerkiksi estävät tai rajoittavat useiden elintarviketeollisuuden kannalta haitallisten mikrobien kas-  
vua ja kestävät hyvin muovien prosessointiolosuhteita kuten korkeaa painetta ja lämpö-  
tiloja [9]. Antimikrobisten nanopartikkelien joukkoon kuuluvat esimerkiksi hopea, sinkki, magnesium, kupari ja kulta [1].

Hopea on tunnettu hyvin antimikrobisesti aktiivisena alkuaineena, sillä se tehoaa gram-positiivisiin ja -negatiivisiin bakteereihin sekä sieniin, alkueläimiin ja tiettyihin viruksiin [1]. Sen antimikrobinen mekanismi perustuu siihen, että ionit voivat kiinnittyä soluseinämiin ja näin häiritä mikrobien soluhengitystä. Lisäksi hopeananopartikkelit voivat tunkeutua soluihin ja aiheuttaa denaturoitumista, jonka seurauksena solu menettää replikaatiokykynsä. [11] Voimakkaan antimikrobisuuden lisäksi hopean etuihin kuuluvat hyvä muovattavuus ja stabiilius lämpötilan muuttuessa [1]. Hopeananopartikkelien huonona puolelana on, että ne voivat aiheuttaa askorbiinihapon eli C-vitamiinin hajoamista [13].

Kulta on antimikrobisesti aktiivinen useita ruokamyrkytyksiä aiheuttavia mikrobeja vastaan. Sen toimintamekanismi perustuu mikrobin soluhengityksen vaikeuttamiseen, mikä johtaa solukuolemaan. Kulta voi myös sitoutua bakteerin muita elintoimintoja esimerkiksi sitoutumalla sen DNA:han ja estämällä transkriptiota. [1]

Kuparin antimikrobinen aktiivisuus perustuu monimutkaisiin hapetus-pelkistys-reaktioihin. Ne haittaavat mikrobisolujen toimintaa esimerkiksi vaurioittamalla solukalvoa, hapettamalla proteiineja ja pilkkomalla DNA- ja RNA-molekyylejä. [1]

Titaanidioksidin ( $\text{TiO}_2$ ) antimikrobinen aktiivisuus perustuu todennäköisesti fotokatalyyttiseen ultravioletti- säteilyn aktivoimaan reaktioon, jossa muodostuu reaktiivisia happilajeja ja hydroksyyli- radikaaleja. Ne voivat inaktivoida mikrobeja vaikuttamalla niiden solukalvoon. Mekanismista ei kuitenkaan olla täysin varmoja. [1]

Sinkkioksidilla ( $\text{ZnO}$ ) on antimikrobista aktiivisuutta sekä gram-positiivisia että -negatiivisia bakteereja vastaan. Se on aktiivinen monia merkittäviä taudinaiheuttajabakteereita vastaan, joihin lukeutuvat esimerkiksi *E. coli*, *B. subtilis* ja *P. fluorescens*. Sinkkioksidin nanopartikkeleiden antimikrobinen mekanismi perustuu partikkeleiden pinnalle muodostuvaan vetyperoksidiin. Toinen mahdollinen mekanismi on solukalvon vaurioittaminen, jolloin sinkki-ionit pääsevät vaikuttamaan bakteerisolujen sisälle. Antimikrobista vaikutusta haittaa mahdollinen partikkeleiden paakkuuntuminen, mikä voi tapahtua vesipitoisessa väliaineessa partikkeleiden hydrofobisuuden takia. [1] Kuten myös hopealla, sinkkioksidin nanopartikkeleidenkin huonona puolena on, että ne voivat aiheuttaa askorbiinihapon eli C-vitamiinin hajoamista [13].

Magnesiumoksidin ( $\text{MgO}$ ) antimikrobinen vaikutus perustuu siihen, että positiivisesti varautunut pinta sitoo negatiivisesti varautuneita bakteerien pintoja [14]. Tällöin ionit pääsevät vaikuttamaan bakteerisolujen peptidilinkkien karbonyyliryhmien kanssa ja voivat aiheuttaa bakteerisolujen kuoleman [1].

Kalsiumoksidi ( $\text{CaO}$ ) on emäs, jota valmistetaan tyypillisesti kalkkikivestä [15]. Kalsiumoksidi on vahvasti antimikrobinen ja sen antimikrobinen mekanismi on samankaltainen

kuin magnesiumoksidilla [14]. Sillä on antimikrobista aktiivisuutta sieniä sekä gram-positiivisia ja -negatiivisia bakteereja vastaan [16].

Antimikrobista aktiivisuutta on havaittu myös muissa metalleissa, semimetalleissa ja maa-alkalimetalleissa, etenkin nanopartikkelimuodossa. Mahdollisia antimikrobeja ovat esimerkiksi rautaoksidit, kadniumselenidi ja alumiinioksidi. [1] Näitä antimikrobeja ei kuitenkaan käsitellä tarkemmin tässä työssä.

## 4.2 Orgaaniset antimikrobit

Orgaanisiin antimikrobeihin kuuluvat bakteereista, viruksista, eläimistä, kasveista, levistä tai sienistä peräisin olevat yhdisteet. Orgaanisia antimikrobeja on useita, ja niitä voidaan käyttää nano-, mikro- tai makrokoossa. [17] Taulukko 1 esittää yleiskatsauksen elintarvikekäyttöön soveltuvista tai mahdollisesti soveltuvista orgaanisista antimikrobeista. Taulukossa antimikrobit on ryhmitelty alkuperän mukaan. Kaikkia taulukossa mainittuja antimikrobeja ei kuitenkaan esitellä syvemmin tässä työssä, vaan keskitytään antimikrobeihin, jotka voisivat parhaiten soveltua lisättäväksi elintarvikepakkauksiin.

**Taulukko 1.** Orgaanisia antimikrobeja (Muokattu lähteestä [17])

Alkuperä	Antimikrobi	Esimerkit
Bakteerit	Bakteriosiinit	Nisiini
Virukset	Bakteriofagit	
Eläimet	Peptidit	Laktoferrini, lysotsyymi
	Polysakkaridit	Kitosaani
	Lipidit	
Kasvit	Kasvit ja yrtit	Oregano, valkosipuli, rosmariini, humala
	Mausteet	Kaneli, neilikka
	Öljyt	Sitraali
	Orgaaniset yhdisteet	Vanilliini
Levät	Makrolevät	Merilevien johdannaiset: karrageeni, alginaatit
	Mikrolevät	Piilevien johdannaiset
Sienet	Sieniutteet	Kääväkäsuutteet

Bakteriosiinit ovat bakteerien tuottamia metabolisia peptidejä, joita bakteerit tuottavat luonnostaan estääkseen muiden bakteerien kasvua. Bakteriosiinien etuihin kuuluu kyky estää korkeita lämpötiloja ja happamia olosuhteita. Käytetyimpiä ovat maitohappobakteerien tuottamat bakteriosiinit, joita on jo pitkään käytetty elintarvikkeiden fermentointiin. Nisiini on pieni polypeptidi, jota tuottaa *Lactococcus lactiksen* alalaji *lactis*. Nisiinin antimikrobinen skaala on laajempi kuin monilla muilla bakteriosiineilla, nimittäin sillä on antimikrobista aktiivisuutta useita gram-positiivisia bakteereja ja niiden lämpöä kestäviä itiöitä vastaan. Normaalisti se ei kuitenkaan merkittävästi kykene estämään homeiden, hii-



vojen tai gram-negatiivisten bakteerien kasvua. Nisiinin antimikrobinen vaikutus perustuu bakteerin normaalin solutoiminnan estämiseen tunkeutumalla sen solukalvon läpi. [1, 11]

Eläinperäisistä peptideistä yleisimmin käytettyihin yhdisteisiin lukeutuvat lysotsyymi ja laktoferrini. Lysotsyymi on entsyymi, joka kykenee hydrolysoimaan tai liuottamaan bakteerien solukalvoa, minkä takia sillä onkin antimikrobista aktiivisuutta ainoastaan gram-positiivisia bakteereja vastaan. Laktoferrini on luonnollinen glykoproteiiniyhdiste, jota on maidossa luonnostaan, minkä takia sitä onkin turvallista käyttää elintarvikkeissa. Laktoferrini on antimikrobisesti aktiivinen gram-negatiivisia bakteereja vastaan. [1]

Kitosaani on kitiinistä johdettu polysakkaridi, jota pidetään yhtenä lupaavimmista elintarvikkeiden säilyvyyttä parantavista luonnollisista aineista, koska sillä on todettu olevan antimikrobista aktiivisuutta gram-positiivisia ja -negatiivisia bakteereja sekä hiivoja ja homeita vastaan [8, 11]. Kitosaanin antimikrobista vaikutusta ei täysin tunneta, mutta se perustuu aminoryhmien positiivisiin varauksiin, jotka vuorovaikuttavat negatiivisesti varautuneiden mikrobisolujen pintojen kanssa [18]. Käytettävyyttä elintarvikkepakkauksissa rajoittavat kuitenkin huono vedenkestävyys ja mekaaniset ominaisuudet [11, 19]. Nanopartikkeleina sen fysikaalis-kemialliset ominaisuudet ovat kuitenkin paremmat kuin mikro- tai makrokoossa [9]. Kitosaanin lähde eli kitiiniä saadaan esimerkiksi äyriäisten kuorista niiden tuotannon sivutuotteena [19].

Taulukossa 1 mainittujen antimikrobien lisäksi antimikrobista aktiivisuutta on muun muassa esimerkiksi orgaanisilla hapoilla, joita saadaan monista eri luonnollisista lähteistä. Erilaisia orgaanisia happoja käytetään säilöntäaineina, ja niillä on antimikrobista aktiivisuutta hiivoja, homeita ja monia bakteereja vastaan. [1] Orgaanisia happoja ei kuitenkaan käsitellä tässä työssä tarkemmin.

## 5. ANTIMIKROBISTEN PINNOITTEIDEN SOVELTUVUUS JUOMAPAKKAUKSIIN

Tässä luvussa esitellään työssä tutkitut antimikrobiset pinnoitteet sekä käsitellään sitä, millaisia edellytyksiä niiden kaupallistamiseen liittyy. Tämän työn näkökulmasta keskeinen edellytys kaupallistamiselle on, että pinnoite täyttää elintarvikekontaktimateriaaleja koskevat asetukset, jotka ovat voimassa Euroopan Unionin alueella. Lisäksi luvussa käsitellään muita kaupallistamisessa huomioitavia näkökulmia, kuten nanopartikkelien käyttöön liittyviä riskejä.

### 5.1 Elintarvikekontaktimateriaaleja koskevat vaatimukset

Juomapakkauksiin elintarvikekontaktiin tarkoitettulla antimikrobisella pinnoitteella tai kalvolla on muutamia tärkeitä ominaisuuksia. Kaikkien materiaalien tulee olla sallittuja olemaan kontaktissa ruokaan sen hetkisten määräysten mukaisesti, eikä asetusten mukaisia antimikrobien sallittuja maksimipitoisuuksia tule ylittää. Se ei saa olla haitallista käsitellä eikä vapauttaa myrkyllisiä partikkeleita ruokaan. Käyttökohteen takia materiaalin tulee olla kemiallisesti stabiili käytössä ja säilytyksessä ja kestää myös vettä. Lisäksi pakkausmateriaalin valmistusprosessin pitäisi olla yksinkertainen ja sen kustannukset kohtuulliset. [1, 11]

Euroopan parlamentin ja neuvoston asetus N:o 1935/2004 [20] asettaa yleiset vaatimukset elintarvikkeen kanssa kosketukseen joutuville materiaaleille. Asetuksen 1935/2004 artiklan 3 mukaan tavallisissa tai ennakoitavissa olevissa käyttöolosuhteissa materiaalista ei saa siirtyä ainesosia elintarvikkeeseen sellaisia määriä, jotka voisivat vaarantaa ihmisen terveyden tai heikentää koostumusta tai aistinvaraisia ominaisuuksia. Lisäksi aktiivisille materiaaleille säädetään asetuksessa erityisvaatimuksia, joiden mukaan aktiiviset elintarvikekontaktimateriaalit saavat muuttaa elintarvikkeen koostumusta tai aistinvaraisia ominaisuuksia vain direktiivin 89/107/ETY mukaisilla tavoilla. Materiaalit eivät siis esimerkiksi saa johtaa kuluttajaa harhaan esimerkiksi peittämällä alkavan pilaantumisen merkkejä. [20]

Kontaktimateriaalin täytyy myös täyttää mahdolliset materiaaliikohtaiset Euroopan Unionin erityissäädökset sekä mahdolliset kansallisten säädösten edellytykset kuten elintarvikelainsäädännön vaatimukset [21, 22]. Euroopan Unionin Muoviasetus 10/2011 [23] määrittää, mitä materiaaleja voi tällä hetkellä käyttää lähtöaineena valmistaessa elintarvikkeen kanssa kontaktiin tarkoitettua materiaalia [23]. Asetus 450/2009 [22] määrittää

pääsäännöt sille, millaisia vaatimuksia aktiivisten pakkausmateriaalien täytyy täyttää [22].

Jotta uusi antimikrobisesti aktiivinen aine voitaisiin hyväksyä käyttöön, on Euroopan elintarviketurvallisuusviraston arvioitava aineen turvallisuus [22]. Lisäksi hyväksyessä aineelle tulisi asettaa tietyt siirtymien raja-arvot [23]. Esimerkiksi nisiini vaikuttaa lupaavalta elintarvikekontaktimateriaaliin soveltuvalta antimikrobilta, koska sen käyttö elintarvikkeen lisäaineena on sallittu ja sillä on antimikrobista aktiivisuutta useita gram-positiivisia bakteereja vastaan [24]. Nisiinin käyttö elintarvikekontaktimateriaalissa ei kuitenkaan ole vielä sallittu, koska elintarvikekäyttöön sallitut lisäaineet eivät automaattisesti ole hyväksytyjä muovimateriaalin lisäaineiksi ja toisinpäin [25]. Ennen hyväksymistä on varmistettava, ettei materiaali aiheuta epätoivottua muutosta vapautuessaan elintarvikkeeseen [23].

## 5.2 Tutkitut ja lupaavimmiksi todetut antimikrobiset pinnoitteet

Taulukossa 2 on esitetty tutkimuksia antimikrobisista pinnoitteista ja kalvoista, joiden soveltuvuus juomapakkauksiin on todettu tutkimuksessa. Tutkimukset [13-14, 26-31] on järjestetty taulukkoon tutkittujen antimikrobien mukaan, jotka ovat hopea (Ag), titaanidioksidi, sinkkioksidi, kalsiumoksidi, nisiini ja kitosaani.

**Taulukko 2. Tässä työssä tutkitut antimikrobiset pinnoitteet**

1	M. Del Nobile <i>et al.</i> 2004 [26]	Hopea	7 %	PE	Alicyclobacillus acidoterrestris (gram+)	Omenamehu
2	S. Braun <i>et al.</i> 2021 [27]	Hopea	10 % hopea-fosfaattijauhetta (1,6 % Ag)	PET	Escherichia coli (gram-) ja Zygosaccharomyces baillii (gram+)	Tislattu vesi, persikkajäättee
3	A. Emamifar <i>et al.</i> 2011 [13, 28]	Hopea + titaanidioksidi	5 % P105-jauhetta (95 % TiO <sub>2</sub> + 5 % Ag)	PE-LD	Lactobacillus plantarum (gram+)	Appelsiinimehu
4		Sinkkioksidi	0,25 %			
5	A. Díez-Pascual 2021 [29]	Sinkkioksidi	10 %	Poly(3-hydroksibutyyraatti)	Escherichia coli (gram-) ja Staphylococcus aureus (gram+)	Ei tiedossa
6	S. Thanakkasaranee <i>et al.</i> 2020 [14]	Kalsiumoksidi	1-2 %	Polyamidi-PE-LLD-komposiitti	Escherichia coli (gram-) ja Staphylococcus aureus (gram+)	Pastöroitu maito
7	Y.-M. Kim <i>et al.</i> 2002 [30]	Nisiini	5 %	Vinyylisetaatti-etylenei kopolymeeri	Micrococcus flavus (gram+)	Pastöroitu maito
8	Lee C. <i>et al.</i> 2004 [31]	Nisiini	3 %	Vinyylisetaatti-etylenei kopolymeeri	Aerobiset bakteerit ja hiivat	Pastöroitu maito
9		Kitosaani	3 %			
10		Nisiini + kitosaani	3 % + 3 %			

Kaikissa tutkimuksissa saatiin lupaavia tuloksia kontaktimateriaalien kyvystä rajoittaa mikrobien kasvua. Materiaaleja on tutkittu eri mikrobeilla ja menetelmillä, ja migraatio-prosesseihin liittyy monia tekijöitä, joten keskinäinen paremmuus on vaikea määrittää antimikrobisten ominaisuuksien perusteella. Tällä hetkellä kuitenkin tutkittujen pinnoitteiden antimikrobeista vain sinkki-, kalsiumoksidi ovat sallittuja käyttää elintarvikekontaktimateriaalissa lisäaineena tai polymeerituotannon apuaineena Muoviasetuksen 10/2011 [23] mukaan. Tämän takia taulukon 2 pinnoitteet 4 ja 6 vaikuttavat tällä hetkellä todennäköisimmiltä kaupallistettaviksi soveltuvilta antimikrobisilta pinnoitteilta.

Appelsiinimehun säilyvyyden ja tuoteturvallisuuden parantamiseen lupaavimmalta kalvolta vaikuttaa taulukon 2 pinnoite 4, jonka pohjamateriaalina on PE-LD ja joka sisältää 0,25 % sinkkioksidinanopartikkeleita. Tutkimuksessa [26] Emamifar *et al.* tutkivat sinkkioksidin kykyä rajoittaa *Lactobacillus plantarum* -bakteerin kasvua appelsiinimehussa ja kalvon kykyä parantaa mehun säilyvyyttä. Nanopartikkelien pitoisuudella 0,25 % saavutettiin lupaavia tuloksia materiaalin kyvystä rajoittaa bakteerin kasvua. Materiaali myös säilytti mehun värin, maun ja koostumuksen hyvin aistinvaraisen raadin mukaan. Näytteistä tutkittiin ja mitattiin väriä, ruskettumisindeksiä, aistinvaraisia ominaisuuksia, askorbiinihapon hajoamista ja mikrobikuormitusta, ja kaikki mittaustulokset paranivat 0,25 % pitoisuudella nanopartikkeleita referenssinäytteeseen verrattuna. Myös prosessoitavuuden kannalta materiaali vaikuttaa lupaavalta, koska tutkimuksessa se valmistettiin niin, että nanopartikkelit sekoitettiin PE-LD-granulaattien sekaan, jonka jälkeen seoksesta valmistettiin kalvo kaksoisruuviekstruusiolla 190 °C lämpötilassa. Emamifar *et al.* suosittelivat kuitenkin mietoa lämpökäsittelyä mehulle ennen pakkaamista, koska yhteisvaikutuksella saataisiin mehun hyllykää kasvatettua huomattavasti paremmin. [13, 28]

Maidon säilyvyyden parantamiseen lupaavimmalta vaikuttava pinnoite on taulukon 2 numero 6, joka on kalsiumoksidia sisältävä komposiittimateriaali, jonka pohjamateriaalina ovat polyamidi ja lineaarinen matalatiheyksinen polyeteeni (PE-LLD). Thanakkasaranee, S. *et al.* tutkivat tutkimuksessaan [14] kalvon kykyä rajoittaa *E. coli* ja *S. aureus* -bakteerien kasvua maidossa. Bakteerit valittiin edustamaan gram-positiivisia ja -negatiivisia bakteereja. Sekä yhden että kahden prosentin kalsiumoksidipitoisuuksien todettiin toimivan loistavasti kumpaakin bakteeria vastaan. Tutkimuksessa materiaalista tehtiin kalvo kaksoisruuviekstruusiolla. [14] Kalsiumoksidin käyttö elintarvikekontaktimateriaalissa vaikuttaa turvalliselta, koska sitä käytetään elintarvikelisiä aineina esimerkiksi happamuudensäätöaineena ja oluen valmistukseen käytettävän veden laadun korjaamiseen [15].

### 5.3 Muita huomioitavia näkökulmia antimikrobisten pinnoitteiden kaupallistamiseen liittyen

Vaikka kumpikin lupaavimmiksi valituista pakkausmateriaaleista vaikuttaa tutkimustulosten perusteella soveltuvilta juomapakkauksiin vähentämään mikrobien aiheuttamia ongelmia, liittyy antimikrobisiin pinnoitteisiin myös epävarmuuksia. Niiden heikkoutena on, että useimmilla antimikrobinen vaikutus perustuu antimikrobisen aineen migraatioon ja migraatioprosessi on kompleksinen. Pakkausmateriaalien teho on pitkälti riippuvainen siitä, että antimikrobia vapautuu oikein, koska antimikrobien pitää saada kontakti mikrobisoluihin vaikuttaakseen niihin. Jotta antimikrobinen materiaali olisi tehokas, aktiivista ainetta tulisi vapauttaa pakkauksesta mahdollisimman pienellä konsentraatiolla, joka tarvitaan estämään mikrobien kasvua. Tämä nimellinen konsentraatio riippuu antimikrobiisesti aktiivisesta yhdisteestä sekä materiaalista, koska niiden vuorovaikutus vaikuttaa aineen vapautumiseen. Myös ympäröivillä olosuhteilla, materiaalien ominaisuuksilla ja antimikrobin lisäämiseen käytetyllä teknologialla on tärkeä rooli migraation tehokkuuden määrityksessä. Esimerkiksi korkea lämpötila edistää migraatiota. [1]

Sen lisäksi, että antimikrobiset pakkaukset voivat vapauttaa halutulla tavalla aktiivisia yhdisteitä, riskinä on, että ne voivat vapauttaa myös muita pienen molekyylipainon omaavia yhdisteitä. Esimerkiksi haihtuvat aineet ja muovin lisäaineet eivät ole kemiallisesti sidottuja polymeeriketjuihin ja voisivat siksi siirtyä elintarvikkeeseen. [1] Tämä aiheuttaa huolen etenkin nanomateriaalien turvallisesta käytöstä elintarvikekontaktimateriaalina. Nanomateriaaleja vapautuu elintarvikkeisiin pääasiassa liuenneiden ionien muodossa, mutta riskinä on, että elintarvikkeen kontaktissa olevat nanomateriaalit voisivat altistaa ihmisen nanomateriaaleille ruuan kautta. Esimerkiksi Yang et al. osoittivat tutkimuksessaan [32], että elintarvikkeiden tai juomien ainesosat, joilla on pelkistäviä ominaisuuksia, voivat muuttaa altistumistapaa hopeaa sisältävissä nanomateriaalipakkauksissa. Muun muassa makeutusaineet voivat indusoida nanopartikkelien migraatiota. Yleensä tällaista migraatiota tapahtuu kuitenkin pitkäaikaisessa varastoinnissa, mutta myös esimerkiksi nanopartikkelien koko ja koostumus sekä pH ja polymeerin ominaisuudet voivat vaikuttaa migraatioprosessiin. Nanomateriaalien vuorovaikutukset ympäristönsä kanssa ovat siis monimutkaisia ja muuntuvia. [32]

Euroopan elintarviketurvallisuusviraston (EFSA) elintarvikkeiden kanssa kosketuksiin joutuvia materiaaleja, entsyymejä, aromiaineita ja valmistuksen apuaineita käsittelevä lautakunta on suorittanut turvallisuusarvioinnin sinkkioksidin nanopartikkeleiden mahdollisesta migraatiosta vuonna 2016. Turvallisuusarviossa arvioitiin sinkkioksidia, joka on tarkoitettu käytettäväksi UV-valon absorboijana polymeerimateriaalissa, joka on tarkoitettu kosketuksiin kaikenlaisien elintarvikkeiden kanssa pitkäaikaisessa säilytyksessä

huoneenlämmössä. Turvallisuusarvion suorittaneen lautakunnan mukaan nanohiukkaset eivät kulkeudu nanomuodossa, vaan liukoisena ionimuodossa. Lautakunta kuitenkin suositteli, että sinkin migraation raja-arvoa (SML, engl. specific migration limit) 25 mg/kg, eli aineen suurinta sallittua määrää elintarvikkeessa, arvioitaisiin uudelleen ottaen huomioon sen, että kuluttajat altistuvat sinkille muistakin lähteistä kuin elintarvikkepakkausmateriaaleista. [33]

Antimikrobisten pakkausmateriaalien laajempi käyttö herättää myös huolen siitä, aiheuttavatko ne resistenssiä bakteereissa. Esimerkiksi EFSA:n Elintarvikelisiäaineita ja elintarvikkeisiin lisättyjä ravintoaineita käsittelevä paneeli on suositellut arvioimaan elintarvikelisiäaineena käytettävän nisiinin riskiä aiheuttaa antimikrobiresistenssiä patogeenisissä bakteereissa [34]. Kaikki edellä mainitut riskit huomioon ottaen voidaan siis todeta, että antimikrobisten pinnoitteiden laajamittainen kaupallinen käyttöönotto Euroopassa vaatii vielä lisätutkimuksia. Lisäksi laajamittainen kaupallinen käyttö edellyttäisi, että muun muassa pinnoitteiden soveltuvuutta juomapakkausten valmistusprosesseihin tutkittaisiin enemmän, jotta saataisiin muodostettua kustannuksiltaan kannattava ja kilpailukykyinen kokonaisuus.

## 6. YHTEENVETO

Työn tavoitteena oli selvittää, millaiset antimikrobiset pinnoitteet soveltuvat kylmäsäilytettävän appelsiinimehun ja pastöroidun maidon pakkaamiseen parhaiten. Antimikrobiset pinnoitteet ovat aktiivisia pakkausmateriaaleja, joilla voidaan hallita elinkykyisten bakteerien, virusten, sienten ja hiivojen määrää elintarvikkeessa. Pinnoitteilla pyritään parantamaan elintarvikkeiden säilyvyyttä ja tuoteturvallisuutta, joihin vaikuttavat merkittävästi pilaannuttavat sekä tarttuvia tauteja tai ruokamyrkytyksiä aiheuttavat mikrobit.

Antimikrobisten pinnoitteiden toimintamekanismi perustuu tyypillisesti siihen, että muovin joukossa pienenä pitoisuutena olevaa antimikrobisesti aktiivista ainetta vapautuu hitaasti elintarvikkeeseen, millä saadaan aikaan jatkuva antimikrobinen vaikutus. Työssä käsitellyt antimikrobisesti aktiiviset aineet jaoteltiin metallisiin ja orgaanisiin antimikrobeihin. Metallit ja metalliyhdisteet ovat pinnoitteissa tyypillisesti nanomuodossa, ja niiden vapauttavat ionit voivat estää mikrobisolujen lisääntymistä tai aiheuttaa solukuoleman esimerkiksi tuhoamalla mikrobien solukalvon ja vaikuttamalla niiden normaaleihin elintoimintoihin. Orgaanisiin antimikrobeihin puolestaan kuuluu useita erilaisia bakteereista, viruksista, eläimistä, kasveista, levistä ja sienistä peräisin olevia yhdisteitä.

Tarkasteluun valittiin kymmenen erilaista antimikrobista pinnoitetta, joiden antimikrobeina toimivat hopea, titaanidioksidi, sinkkioksidi, kalsiumoksidi, nisiini ja kitosaani. Kaikissa käsitellyissä tutkimuksissa saatiin lupaavia tuloksia pinnoitteiden kyvystä rajoittaa mikrobien kasvua ja parantaa elintarvikkeen säilyvyyttä ja turvallisuutta pakkauksessa. Koska antimikrobisten pinnoitteiden toimintamekanismi perustuu vuorovaikutukseen elintarvikkeen kanssa, pinnoitteiden vertailussa oli olennaista selvittää, millaisia vaatimuksia Euroopan Unioni asettaa aktiivisille eli ruuan kanssa vuorovaikutuksessa oleville elintarvikekontaktimateriaaleille. Käsitellyistä antimikrobeista vain sinkkioksidi ja kalsiumoksidi ovat tällä hetkellä hyväksytyjä elintarvikekontaktimateriaalien raaka-aineita, minkä takia näitä antimikrobeja sisältävät materiaalit todettiin parhaiten soveltuviksi juomapakkauksiin. Appelsiinimehun pakkaamiseen soveltuvimmaksi pinnoitteeksi todettiin materiaali, jossa PE-LD:n joukkoon on lisätty sinkkioksidin nanopartikkeleita 0,25 % pitoisuudella. Maidon pakkaamiseen parhaiten soveltuvaksi materiaaliksi todettiin 1–2 % kalsiumoksidia sisältävä polyamidi-PE-LLD-komposiitti.

Työssä ilmeni kuitenkin myös riskejä liittyen antimikrobisten pinnoitteiden käyttöön, minkä takia tarvitaan vielä lisätutkimuksia ennen kuin antimikrobiset pinnoitteet voivat yleistyä juomapakkauksissa. Epävarmuutta aiheuttaa erityisesti antimikrobien monimutkainen migraatioprosessi, johon vaikuttavat useat tekijät, kuten ympäröivät olosuhteet sekä materiaalien ominaisuudet ja valmistustekniikka. Tämä aiheuttaa huolta erityisesti nanomateriaalien suhteen, jotka voisivat altistaa ihmisen nanopartikkeille. Lisätutkimuksia tarvittaisiin myös siitä, aiheuttaako antimikrobisten pakkausmateriaalien laajempi käyttö antimikrobiresistenssin muodostumisen patogeenisissä mikrobeissa.

Tämän työn johtopäätöksenä erityisesti metallisia nanopartikkeita sisältävillä antimikrobisilla pinnoitteilla voidaan parantaa elintarvikkeiden säilyvyyttä ja turvallisuutta niiden laajan antimikrobisen kyvyn vuoksi. Tutkimuksessa ilmenneiden riskien vuoksi tarvitaan kuitenkin lisätutkimuksia ennen laajamittaista kaupallistamista Euroopassa, jotta voidaan varmistua niiden soveltuvuudesta juomapakkauksiin ja vakuuttaa kuluttajat pinnoitteiden hyödyistä. Myös antimikrobisten pinnoitteiden kustannuksilla ja soveltuvuudella erityyppisiin juomapakkausten valmistusprosesseihin on merkittävä vaikutus kaupallisesta näkökulmasta, mutta niitä ei tässä työssä tarkemmin tarkasteltu.



# LÄHTEET

- [1] J. Barros-Velázquez, Antimicrobial Food Packaging, Elsevier, 2016, pp. 107-115, 141-150 ja 399-403
- [2] Ruokavirasto, Ruokaviraston ohje 17068/2, Elintarviketiето-opas elintarvikevalvoijille ja elintarvikealan toimijoille, 2019, pp. 105-112. Saatavissa: <https://www.ruokavirasto.fi/elintarvikkeet/elintarvikeala/pakkausmerkinnat-ja-markkinointi/pakolliset-elintarviketiedot/elintarviketiето-opas-ja-muut-ohjeet/>
- [3] G. L. Robertson, Food Packaging and Shelf Life: a Practical Guide, Boca Raton: Taylor & Francis, 2009, pp. 10-195
- [4] Hämeen ammatti-instituutti, Milkworks: oppimateriaali, verkkosivu. Saatavissa (viitattu 1.3.2023): <https://milkworks.fi/>
- [5] G. L. Robertson, Food Packaging: Principles and Practice, Kolmas painos, Taylor & Francis, 2012, pp. 20-594
- [6] A. Gupta et al., Trends in functional beverages: Functional ingredients, processing technologies, stability, health benefits, and consumer perspective, Food Research International, Vol. 170, 2023, 13 p. Saatavissa: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996923005914>
- [7] A. Guerra, Low cross-flow velocity microfiltration of skim milk for removal of bacterial spores, International Dairy Journal, Vol. 7, Iss. 12, 1997, pp. 849-861. Saatavissa: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0958694698000090>
- [8] P. R. Ashurst, Chemistry and Technology of Soft Drinks and Fruit Juices, Third edition, Hoboken, New Jersey: Wiley Blackwell, 2016, pp. 213-270
- [9] V. Chelladurai ja D. S. Jayas, Nanoscience and Nanotechnology in Foods and Beverages, Boca Raton: CRC Press, Taylor & Francis Group, 2019, pp. 1-76 ja 143-149
- [10] A. Emblem and H. Emblem, Packaging Technology Fundamentals, Materials and Processes. 1st edition. Cambridge: Woodhead Publications, 2012, pp. 178-186 ja 289-301
- [11] K. L. Yam ja D. S. Lee, Emerging Food Packaging Technologies: Principles and Practice, Elsevier Science & Technology, USA, 2012, pp. 27-51
- [12] ISO 80004-1: Nanoteknologiат. Sanasto. Osa 1: Ydintermit, 2015 Suomen standardisoimisliitto, SFS-ISO
- [13] A. Emamifar et al., Effect of nanocomposite packaging containing Ag and ZnO on inactivation of Lactobacillus plantarum in orange juice, Food Control, Vol. 22, Iss. 3-4, 2011, pp. 408-413, Saatavissa: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713510002884>

- [14] S. Thanakkasaranee et al., Effects of incorporating calcined corals as natural antimicrobial agent into active packaging system for milk storage, *Materials Science and Engineering: C*, Vol. 111, 2020, 10 p., Saatavissa: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0928493119343255>
- [15] Ruokavirasto, E529 – Kalsiumoksidi, Saatavissa (viitattu 20.11.2022): <https://www.ruokavirasto.fi/elintarvikkeet/ohjeita-kuluttajille/e-kooditlisaaaineet/e-koodit/e529/>
- [16] K. Sadehgi et al., Calcined marine coral powders as a novel ecofriendly antimicrobial agent, *Materials Science and Engineering: C*, Vol. 107, 2020, 6 p. Saatavissa: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0928493119326633>
- [17] E. J. Quinto et al., Food Safety Trough Natural Antimicrobials, *Antibiotics (Basel)*, Vol. 8, 2019, 30 p. Saatavissa: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6963522/#>
- [18] D. Enescu, Evaluation of the specific migration according to EU standards of titanium from Chitosan/Metal complexes films containing TiO<sub>2</sub> particles into different food simulants. A comparative study of the nano-sized vs micro-sized particles, *Food Packaging and Shelf Life*, Vol. 26, 2020, 12 p. Saatavissa: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214289420305974>
- [19] P. Fernandez-Saiz, Multifunctional and Nanoreinforced Polymers for Food Packaging, *Kappale 20: Chitosan polysaccharide in food packaging applications*, Toimittanut J-M Lagarón, Woodhead Publishing, 2011, pp. 571-593. Saatavissa: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9781845697389500203>
- [20] Euroopan parlamentin ja neuvoston asetukset (EY) N:o 1935/2004 elintarvikkeen kanssa kosketukseen joutuvista materiaaleista ja tarvikkeista ja direktiivien 80/509/ETY ja 89/109/ETY kumoamisesta, Euroopan unionin virallinen lehti, L 338/4, 2004. Saatavissa: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FI/TXT/?uri=CELEX:32004R1935>
- [21] Ruokavirasto, Elintarvikkekontaktimateriaaleja koskeva lainsäädäntö, verkkosivu. Saatavissa (viitattu 15.1.2023): <https://www.ruokavirasto.fi/elintarvikkeet/elintarvikeala/pakkaukset-ja-kontaktimateriaalit/kontaktimateriaaleja-koskeva-lainsaadanto/>
- [22] Komission asetukset (EY) N:o 450/2009 elintarvikkeen kanssa kosketuksiin joutuvista aktiivisista ja älykkäistä materiaaleista ja tarvikkeista, Euroopan unionin virallinen lehti, L 135/3, 2009. Saatavissa: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=CELEX%3A32009R0450>
- [23] Komission asetukset (EU) N:o 10/2011 elintarvikkeiden kanssa kosketukseen joutuvista muovisista materiaaleista ja tarvikkeista, Euroopan unionin virallinen lehti, L 12/1, 2011. Saatavissa: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A32011R0010&qid=1642229548651>
- [24] European Food Safety Authority, EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS), Safety of nisin (E 234) as a food additive in the light of new toxicological data and the proposed extension of use, *EFSA Journal*, Vol. 15, Iss. 12, 2017, 8 p. Saatavissa: <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/4408>

- [25] Komission asetus (EU) N:o 1129/2011 Euroopan parlamentin ja neuvoston asetuksen (EY) N:o 1333/2008 liitteen II muuttamisesta vahvistamalla unionissa hyväksytyjen elintarvikelisiä aineiden luettelo, Euroopan Unionin virallinen lehti, L295/1, 2011
- [26] M. A. Del Nobile et al., Effect of Ag-containing Nano-composite Active Packaging System on Survival of *Alicyclobacillus acidoterrestris*, *Journal of Food Science*, Vol. 69, Nr. 8, 2004, 5 p. Saatavissa: <https://ift.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1365-2621.2004.tb09899.x>
- [27] S. Braun et al. Antimicrobial effectiveness of beverage containers made of silver doped PET, *Journal of Food Engineering*, Vol. 300, 2021, 7 p. Saatavissa: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0260877421000510>
- [28] A. Emamifar et al., Evaluation of nanocomposite packaging containing Ag and ZnO on shelf life of fresh orange juice, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, Vol. 11, Iss. 4, 2010, pp. 742-748. Saatavissa: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1466856410000664>
- [29] A. M. Díez-Pascual, Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) with zinc oxide nanoparticles for food packaging, *J. Food Process Eng.*, Vol. 45, Iss. 7, 2022, 9 p. Saatavissa: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/jfpe.13814>
- [30] Y.-M. Kim et al., Properties of nisin-incorporated polymer coatings as antimicrobial packaging materials, *Packaging Technology and Science*, Vol. 15, nro 5, 2002, pp. 247–254. Saatavissa: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/pts.594>
- [31] C. H. Lee, Influence of antimicrobial packaging on kinetics of spoilage microbial growth in milk and orange juice, *Journal of Food Engineering*, Vol. 65, Iss. 4, 2004, pp. 527-531, Saatavissa: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0260877404000792>
- [32] T. Yang et al., Food and Beverage Ingredients Induce the Formation of Silver Nanoparticles in Products Stored within Nanotechnology-Enabled Packaging, *ACS Applied Materials & Interfaces*, Vol. 13, Iss. 1, 2021, pp. 1398–1412. Saatavissa: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acsami.0c17867>
- [33] European Food Safety Authority EFSA, Safety assessment of the substance zinc oxide nanoparticles for use in food contact materials, *EFSA Journal*, Vol. 14, Iss. 3, 2016, 8 pp. Saatavissa: <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/4408>
- [34] European Food Safety Authority EFSA, Guidance on risk assessment of nanomaterials to be applied in the food and feed chain: human and animal health, *EFSA Journal*, Vol. 19, Iss. 8, 2021, 111 p. Saatavissa: <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/6768>