

# Primjena biokromnih boja i bioaktivnih papira u grafičkoj tehnologiji

---

**Dragović, Marko**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2012**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Graphic Arts / Sveučilište u Zagrebu, Grafički fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:216:707972>

*Rights / Prava:* [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-10-05**



*Repository / Repozitorij:*

[Faculty of Graphic Arts Repository](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU,  
GRAFIČKI FAKULTET

SMJER I MODUL  
GRAFIČKA TEHNOLOGIJA

**PRIMJENA BIOKROMNIH BOJA I  
BIOAKTIVNIH PAPIRA U GRAFIČKOJ  
TEHNOLOGIJI**

DIPLOMSKI RAD

Mentor:

Izv. prof. dr. sc. BRANKA LOZO

Student:

MARKO DRAGOVIĆ

ZAGREB, 2012.

## **Sažetak**

Biokromne boje i bioaktivni papiri su novi grafički materijali koji se koriste za izradu indikatora raznih namjena kao što su prehrambena ambalaža, medicinska ili vojna interna komunikacija i drugo. Indikatori upućuju na kontaminante u pakiranom proizvodu i omogućuju uvid u svježinu proizvoda, odnosno upućuju na kontaminante, npr. bakterije s kojima je bioaktivni papir bio u neposrednom kontaktu. U ovom radu opisani su trenutno dostupni sustavi koji se zasnivaju na biokromnim bojama i bioaktivnim papirima, njihovi mehanizmi rada i mogućnosti usavršavanja istih.

### **Ključne riječi:**

Kromogene boje, biokromne boje, bioaktivni papir, indikatori svježine, pametna ambalaža.

## **USE OF BIOCHROMIC INKS AND BIOACTIVE PAPERS IN GRAPHICS TECHNOLOGY**

### **Abstract**

Biochromic inks and bioactive papers are new graphic materials used for making indicators of various uses such as food packaging, medical or military internal communication and other. Indicators point out to contaminants in packed product and give us insight to product freshness or indicate presence of contaminants such as bacteria to which bioactive paper was in immediate contact with. This paper describes the currently available systems based on biochromic inks and bioactive papers, their working mechanisms and possibilities of their improvement.

### **Key words:**

Chromogenic inks, biochromic inks, bioactive papers, freshness indicators, smart packaging.

# SADRŽAJ

1. Uvod.....	1
2. Kromogene boje.....	2
2.1. Vrste kromogenih boja.....	2
3. Vrste i karakteristike robe za pakiranje.....	4
3.1. Biološki osjetljive robe.....	5
3.2. Robe osjetljive na djelovanje kisika.....	6
3.3. Robe osjetljive na svjetlost.....	6
3.4. Robe osjetljive na promjenu vlažnosti.....	7
3.5. Robe osjetljive na promjenu temperature.....	7
4. Pametna ambalaža.....	8
4.1. Aktivna ambalaža.....	9
4.2. Inteligentna ambalaža.....	11
5. Indikatori svježine bazirani na biokromnim bojama i bio-kemijskim procesima.....	13
5.1. Vremensko-temperaturni indikatori.....	14
5.2. Indikatori kemijskih promjena.....	17
5.3. Indikatori plina.....	19
5.4. Bioindikatori.....	21
5.4.1. Direktni bioindikatori.....	21
5.4.2. Indirektni bioindikatori.....	26
6. Bioaktivni papir.....	28
6.1. Primjer otkrivanja nervnih agenata.....	29
6.2. Primjer otkrivanja pesticida.....	30
6.3. Primjer bioaktivnog papira kao aktivne komponente u ambalaži.....	31
6.4. Mehanizmi izvještavanja.....	32
6.5. Proizvodnja bioaktivnog papira.....	33
6.6. Prednosti bioaktivnih papira pred bioplastikom.....	34
7. Čitljivost indikatorskih sustava.....	35
7.1. Moguće metode poboljšavanja čitljivosti indikatorskih sustava.....	38
8. Zaključak.....	40
9. Literatura.....	42

## 1. Uvod

Biokromne boje i bioaktivni papiri koriste se za izradu biosenzora i indikatora. Pomoću njih moguće je otkriti prisutnost raznih štetnih spojeva i bakterija u okolišu ili u nekom zatvorenom sustavu. U grafičkoj tehnologiji najčešća primjena biokromnih boja je kod indikatora svježine i vremensko-temperaturnih indikatora. Ti indikatori ne mogu zamijeniti precizna laboratorijska ispitivanja i u potpunosti garantirati ispravnost pokvarljivih proizvoda, ali mogu indicirati na valjanost roka upotrebe i propisanog skladištenja proizvoda ili izostanka istih. Stoga je upotreba takvih materijala sve više u upotrebi.

Bioaktivni papiri nisu još ušli u širu uporabu, ali njihov potencijal je velik. Potencijal bioaktivnih papira prepoznat je od strane medicinske, vojne i ambalažne industrije. U grafičkoj industriji, naročito kod izrade ambalaže, sve se veći naglasak stavlja na ekološki prihvatljivu proizvodnju i materijale, što otvara velike mogućnosti za primjenu bioaktivnih papira. Bioaktivni papiri osim zaštitnih svojstava mogu ujedno i pružiti informativnu komponentu pri komunikaciji s korisnikom.

Cilj planiranog istraživanja je sistematizirati postojeće grafičke proizvode na bazi biokromnih boja i bioaktivnih papira na temelju dostupnih podataka. Kategorizacija će se provoditi s kolorimetrijskog aspekta, a očekuje se veliko rasipanje rezultata iz kojih bi se zaključile optimalne opcije za daljnji razvoj indikatorskih proizvoda.

## 2. Kromogene boje

Kromogene boje su one boje koje mijenjaju obojenje kao reakciju na neki vanjski podražaj. Ovisno o vrsti boje i kromogenog materijala koji sadrže potrebna je različita vrsta podražaja kako bi došlo do promjene. Osim što se dijele po kriteriju uzroka promjene tona boje, kromogene boje dijele se i prema kriteriju trajanja same promjene. Prema tome postoje *reverzibilne* i *ireverzibilne* boje. [1]

- *Reverzibilne boje* mijenjaju ton boje za vrijeme trajanja uzroka promjene.
- *Ireverzibilne boje* nakon prestanka djelovanja uzroka promjene boje zadržavaju promjenjeni ton boje.

### 2.1. Vrste kromogenih boja

#### *Termokromne boje*

- Boje kod kojih do promjene obojenja dolazi pod utjecajem promjene temperature.

#### *Fotokromne boje*

- Boje kod kojih do promjene obojenja dolazi pod utjecajem svjetla.

#### *Elektrokromne boje*

- Boje koje reagiraju na promjenu električnog polja u svojoj blizini.

#### *Piezokromne boje*

- Boje kod kojih je podražaj pritisak.

#### *Halokromne boje*

- Boje kod kojih je podražaj promjena pH vrijednosti

#### *Hidrokromne boje*

- Boje koje mijenjaju obojenje u dodiru s vodom.

#### *Biokromne boje*

- Boje koje mijenjaju obojenje pod utjecajem biokemijske reakcije.

Najizraženiju primjenu kromogenih boja vidimo u području sigurnosnog tiska – kod izrade dokumenata (*Slika 1.*), novca, vrijednosnih papira i sl. – i u ambalažnoj industriji gdje se koriste za izradu vremensko-temperaturnih indikatora, eng. *time and temperature indicators* (TTI) i indikatora svježine, eng. *freshness indicators* kod „inteligentne ambalaže“. Kako bi se udovoljilo točno određenim potrebama i željama naručitelja boje se mogu formulirati tako da se ravnaju prema kriterijima trajanja promjene i uzroku promjene boje. U području sigurnosnog tiska najzastupljenije boje su termokromne i fotokromne, dok se biokromne i halokromne boje (*Slika 2.*) uglavnom koriste u indikatorskim sustavima u kemijskom i biokemijskom okruženju.

Za primjenu u tiskarskim bojama kromogene materijale je u pravilu potrebno zaštititi mikrokapsulama koje su i do 10 puta veće od konvencionalnih pigmenata u tiskarskim bojama. Za razliku od pigmenata, mikrokapsule nisu sasvim inertne i netopive, što dodatno utječe na trajnost boje i otiska. [1]



*Slika 1. Termokromna boja kao zaštitni element na putovnici*



*Slika 2. Halokromna boja u pH indikatorskoj traci*

### 3. Vrste i karakteristike robe za pakiranje

Prilikom odabira ambalaže koja će imati optimalna svojstva za neki proizvod moramo uzeti u obzir vrstu robe, njene karakteristike, pojavni oblik i materijal od kojeg je roba izrađena.

Rok trajanja prehrambenih namirnica uvjetovan je trima faktorima [2] :

1. Karakteristikama proizvoda, što uključuje formulaciju i parametre prerade (unutrašnji faktori)
2. Okolini kojoj je proizvod izložen tijekom distribucije i skladištenja (vanjski faktori)
3. Svojstvima pakiranja

Na temelju prirode promjena koje se javljaju tijekom skladištenja, prehrambeni proizvodi mogu se podijeliti u tri kategorije – lako kvarljivi, polu kvarljivi i nekvarljivi – koje se odnose na proizvode sa vrlo kratkim rokom trajanja, kratkim do srednje kratkim rokom trajanja i srednje kratkim do dugim rokom trajanja.

- *Lako kvarljivi proizvodi* su oni proizvodi koji se moraju držati na hladnom ili temperaturama hladnjaka, ako se žele čuvati nešto duže.
- *Polu kvarljivi* proizvodi su oni koji sadrže prirodne inhibitore (npr., neki sirevi, korjenasto povrće i jaja) i oni koji su prošli neku vrstu blažeg procesa konzerviranja (npr., pasteriziranje mlijeka, dimljenje šunke i kiseljenje povrća) što im povećava toleranciju na loše uvjete u okolini i prilikom distribucije i rukovanja.
- *Nekvarljivi proizvodi* su oni koje mogu stajati na sobnoj temperaturi. Mnoga neprerađena roba na koju ne djeluju mikroorganizmi zbog njenog niskog sadržaja vlage spada u ovu kategoriju (npr., žitne pahuljice, orašasto voće i sl.). Prerađena hrana može biti stabilna ako se toplinski sterilizira (npr., konzerve), sadrži konzervanse (npr., bezalkoholna pića), formulira se kao suhi miks (npr., miksevi za torte) ili joj se reducira sadržaj vode (npr., grožđice ili krekeri). Nekvarljivi proizvodi zadržavaju svoj status jedino ako je cjelokupno pakiranje proizvoda koje ih sadrži netaknuto. [2]



Ukoliko ambalaža mora zaštititi lakopokvarljivu robu od djelovanja mikroorganizama tada mora biti izrađena od nepropusnog materijala i hermetički zatvorena budući da do naknadne kontaminacije dolazi uglavnom zbog propusta pri zatvaranju. Optimalni uvjeti za razvoj mikroorganizama su vlažna podloga i temperatura između 20 i 40°C. Aerobni mikroorganizmi za svoj rast i razmnožavanje trebaju kisik pa se mogu razviti samo na površini ambalaže, dok anaerobnim oblicima kisik nije potreban te se mogu razvijati u proizvodu upakiranom u nepropusnu ambalažu. [3]

Mikroorganizmi mogu oštetiti robu i ambalažu na više načina:

- oštećenje zbog same fizičke prisutnosti mikroorganizama
- kvarenje zbog razaranja supstance robe
- kvarenje zbog nusproizvoda metabolizma mikroorganizama koji ulaze u sastav robe.

### 3.1. Biološki osjetljive robe

Robe uglavnom organskog podrijetla poput prehrambenih proizvoda, kože i tekstila od prirodnih vlakana koje su osjetljive na djelovanje štetocina i mikroorganizama nazivamo biološki osjetljivim robama (*Slika 3.*). Robe s većim udjelom vode biološki su osjetljivije jer je povećana mogućnost razvoja mikroorganizama. [2][3]



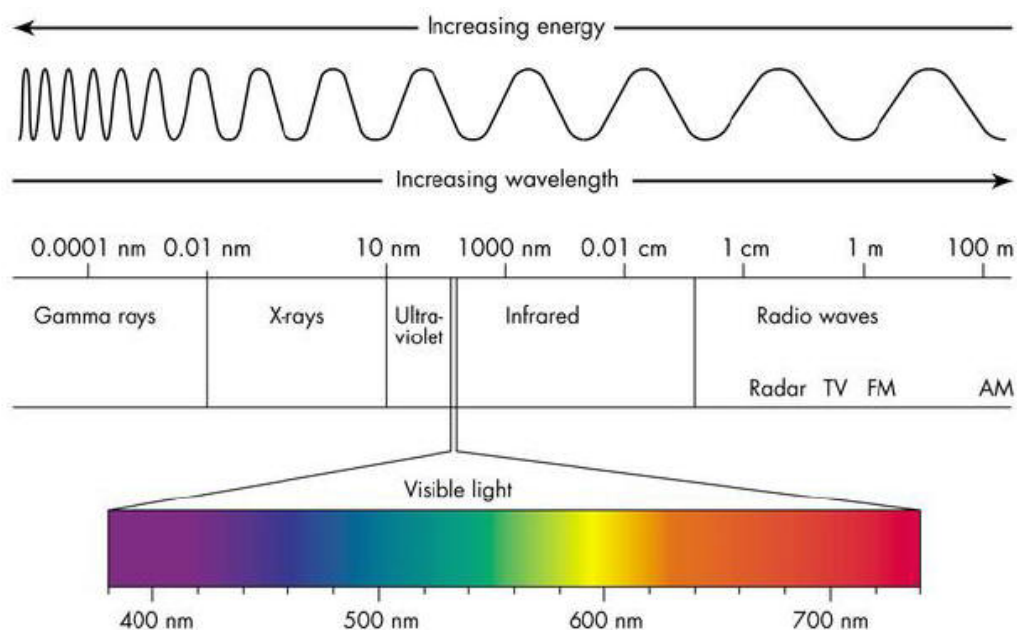
*Slika 3. Biološki osjetljiva roba*

### 3.2. Robe osjetljive na djelovanje kisika

Uz prisustvo kisika dolazi do oksidacije što znatno mijenja svojstva nekim organskim i anorganskim materijalima. Najznačajniji utjecaj oksidacije vidimo kod prehrambenih proizvoda. Oksidacija se pojačava uz prisustvo svjetlosti što dovodi do razaranja vitamina, oksidacije ulja i masti, razgradnje bjelančevina, promjene boje, mirisa i okusa te opadanja nutritivnih vrijednosti proizvoda. [2][3]

### 3.3. Robe osjetljive na svjetlost

UV svjetlost i svjetlost vidljivog spektra (*Slika 4.*) mogu inicirati ili ubrzati različite nepoželjne promjene organskih materijala. Intenzitet svjetla i valna duljina kojima je izložen proizvod igraju veliku ulogu u gubitku obojenja i okusa kod zapakirane hrane. Među osjetljivije robe ubrajamo masti i ulja, masne namirnice, kemikalije, farmaceutske proizvode i materijale koji sadrže srebro halogenide. Uz prisustvo svjetlosti dolazi do razgradnje bjelančevina, razgradnje nekih vitamina, autooksidacije masnih kiselina i nastajanja peroksida masnih kiselina. [2][3]



*Slika 4. Prikaz elektromagnetskog zračenja s prikazanim UV i vidljivim dijelom spektra*

### 3.4. Robe osjetljive na promjenu vlažnosti

Promjenom vlažnosti može doći do različitih promjena materijala robe poput smanjenja mase robe gubitkom vlage, nabiranja površine ili uvenuća svježeg voća i povrća, površinskog sušenja smrznutih roba, prekrystalizacije, kristalizacije zasićenih otopina, hidrolize i sl. Mnogi fleksibilni plastični materijali pružaju dobra svojstva kao barijere za vlagu, iako niti jedan takav materijal nije u potpunosti neprobojan za vlagu, što je ograničavajući faktor kod određivanja roka trajanja hrane. [2][3]

### 3.5. Robe osjetljive na promjenu temperature

Robe mogu biti osjetljive na povišenu ili sniženu temperaturu. Temperatura je ključni faktor u određivanju brzine reakcija propadanja. Promjenom temperature može doći do promjene agregatnog stanja, nepovratne promjene konzistencije i viskoznosti robe. Smrznute robe vrlo su osjetljive na promjenu temperature. Jednom odmrznute namirnice ne smiju se ponovo zamrzavati jer su posebno osjetljive na djelovanje mikroorganizama. Hlađenje također može dovesti do neželjenih promjena kao što je zamućenje ulja i različitih otopina ili oštećenje robe s velikim udjelom vode pri zamrzavanju. U određenim slučajevima materijal ambalaže može utjecati na temperaturu hrane. [2][3]

## 4. Pametna ambalaža

Ambalaža predstavlja sve proizvode bez obzira na prirodu materijala od kojeg su izrađeni ili su korišteni za sadržavanje, čuvanje, rukovanje, isporuku i predstavljanje robe, od sirovina do gotovih proizvoda, od proizvođača do korisnika ili potrošača. [4]

Osnovne funkcije ambalaže su da štiti proizvod od vanjskih utjecaja i kvarenja, da produži rok trajanja proizvodu ako je moguće, da je jednostavna za korištenje, da omogućuje distribuciju i izlaganje proizvoda, da ima ekološku funkciju i da komunicira s potrošačem kao marketinški alat.

U posljednjih nekoliko godina sve se više spominju termini poput pametne ambalaže, inteligentne i aktivne ambalaže. Ti termini služe kako bi se opisala ambalaža koja svojim svojstvima i informacijama koje sadrži omogućuje bolju komunikaciju s kupcem. Osim komunikacije takva ambalaža ovisno o vrsti proizvoda kojeg sadržava i funkciji same ambalaže može omogućiti produljeni rok trajanja, ukazivati na promjene kod proizvoda ili uvjete kroz koje je proizvod prošao na putu do police, pojačavati svojstva proizvoda poput mirisa, okusa, arome i sl.

U 2010. godini najveće tržište za inteligentnu i aktivnu ambalažu bilo je u aplikacijama za hranu i piće. Nova predviđanja upućuju na to da će najveća potražnja za takvom vrstom ambalaže do 2015. godine biti u farmaceutskom sektoru. U Sjedinjenim Američkim Državama potražnja za aktivnom i inteligentnom ambalažom je u porastu od oko 8% godišnje i predviđa se da bi do 2015. godine ta industrija trebala vrijediti oko 2.3 milijarde dolara. [5]

Iako se pametna i inteligentna ambalaža često izjednačavaju, pametna ambalaža bi se trebala gledati kao cjelina koja objedinjuje aktivnu i inteligentnu ambalažu.

#### 4.1. Aktivna ambalaža

Aktivna ambalaža se definira kao: „Ambalaža u koju su namjerno uključeni dodatni sastojci u ili na materijal ambalaže ili u prostor ambalaže koji nije u direktnom kontaktu s robom u svrhu poboljšavanja učinka ambalaže. [6]

Aktivna ambalaža uključuje komponente koje mogu apsorbirati kisik (*Slika 5.*), apsorbirati ugljik dioksid, vlagu, etilen, mirise, okuse; ispuštati ugljik dioksid, etanol, antioksidanse ili konzervanse; i kontrolirati temperaturu i/ili kompenzirati temperaturne promjene. Primjeri nekih od tih aktivnih komponenti navedene su u *Tablici 1.*, zajedno s njihovim mehanizmima rada i primjerima gdje se koriste.



*Slika 5. Primjer aktivne ambalaže s uloškom za apsorpciju kisika*

Kod odabira prikladne aktivne ambalaže mora se uzeti u obzir da različite vrste prehrambenih proizvoda imaju različite mehanizme kvarenja. Rok trajanja proizvoda ovisi o mnogim faktorima koji su sadržani u samoj namirnici (poput pH vrijednosti, hranjivih tvari, biološke strukture, antimikrobakterijalnih spojeva, redoks potencijala i sl.) i vanjskih faktora (poput temperature skladištenja, relativne vlage i okolnih plinova). Ovi faktori direktno utječu na kemijske, biokemijske, fizičke i mikrobiološke mehanizme kvarenja pojedine namirnice. Dakle, odabirom prikladne ambalaže može se produžiti rok trajanja namirnice ili pak poboljšati, smanjiti, ojačati ili ukloniti miris, okus ili boju namirnice.

Tablica 1. Odabrani primjeri sustava aktivne ambalaže [7]

Aplikacije aktivne ambalaže	Mehanizmi	Primjena kod hrane
Skupljači kisika	Bazirani na željezu Metal/kiselina Najlon MXD6 Metalni katalizator (npr. platina) Askorbat/metalne soli Baziran na enzimima	Kruh, torte, kuhana riža, keksi, pizza, tjestenina, suho meso i riba, kava, grickalice, suha hrana i pića
Skupljači/emiteri ugljik dioksida	Željezni oksid/kalcij hidroksid Metalni karbonat/metal halid Kalcij oksid/aktivni ugljen Askorbat/natrij bikarbonat	Kava, svježe meso i riba, orašasti plodovi, biskviti
Skupljači etilena	Kalij permanganat Aktivni ugljen Aktivne gline/zeoliti	Voće, povrće i ostali hortikulturalni proizvodi
Emiteri konzervansa	Organske kiseline Srebrni zeolit Ekstrakti začina i bilja BHA/BHT antioksidansi Vitamin E antioksidans Klor dioksid/sumpor dioksid	Žitne pahuljice, meso, riba, kruh, sir, grickalice, voće i povrće
Emiteri etanola	Atanol u mikrokapsulama	Korica od pizze, torte, kruh, keksi, riba i pekarski proizvodi
Absorberi vlage	PVA pokrivač Aktivne gline i minerali Silica gel	Žitne pahuljice, meso, riba, perad, suha hrana, sendviči, grickalice, voće i povrće
Skupljači mirisa/okusa	Celulozni triacetat Acetilirani papir Limunska kiselina Metalne soli/askorbat Aktivni ugljen/gline/zeoliti	Voćni sokovi, pečena brza hrana, riba, žitne pahuljice, perad, mliječni proizvodi i voće
Pakiranje s regulacijom temperature	Netkane plastike Spremnici s dvostrukom stjenkom Hidro-fluoro karbonski plin Živo vapno/voda Amonijev nitrat/voda Kalcijev klorid/voda Super korodirajuće legure/slana voda Kalijev permanganat/glicerol	Gotova hrana, meso, riba, perad i napici
Filmovi za kompenzaciju temperature	Kristalizirajući polimeri s postraničnim lancem	Voće, povrće i ostali hortikulturalni proizvodi

## 4.2. Inteligentna ambalaža

Jednostavna definicija inteligentne ambalaže je da je to „ambalaža koja osjeća i informira“. Kod „inteligentne“ ambalaže njene funkcije se uključuju i isključuju kao odgovor na vanjske ili unutrašnje uvjete i može uključivati komunikaciju o valjanosti proizvoda s kupcem ili krajnjim korisnikom. [7]

Osnovne funkcije inteligentne ambalaže su:

1. Očuvanje kvalitete
2. Zaštita hrane
3. Zaštita
4. Pogodnost
5. Profit
6. Informacija

Inteligentna ambalaža omogućava praćenje, nadziranje i očitavanje informacija o kvaliteti hrane pomoću tehnologija poput vremensko-temperaturnih indikatora, indikatora zrelosti (*Slika 6.*), radio-frekvencijske identifikacije i biosenzora. Ovakvi uređaji mogu se ugraditi u materijale od kojih je izrađena ambalaža ili aplicirati s unutrašnje tj. vanjske strane pakiranja.

Neki od ovih inteligentnih sustava već su u komercijalnoj upotrebi, dok postoji još mnogo koncepata koji se razvijaju ili usavršavaju (*Tablica 2.*).

*Tablica 2. Sustavi za inteligentnu ambalažu koji se razvijaju ili usavršavaju [8]*

<b>Inteligentni sustavi koji se razvijaju:</b>
• Vremensko-temperaturna povijest
• Indikatori rasta mikroba
• Indikatori mikrobne zagađenosti i curenja
• Zaštita od svjetla (fotokromna)
• Indikatori fizičkog šoka



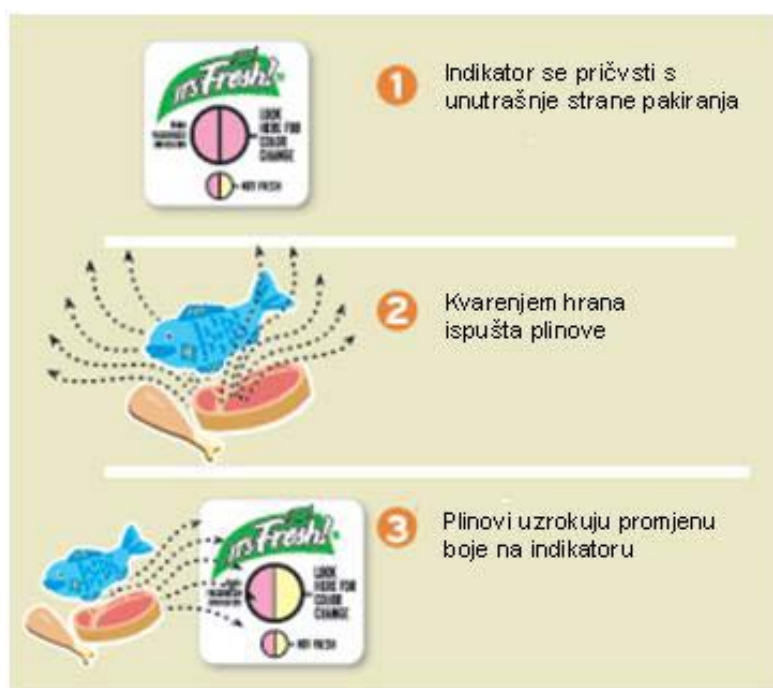
*Slika 6. Primjer „inteligentne“ ambalaže sa indikatorom zrelosti*



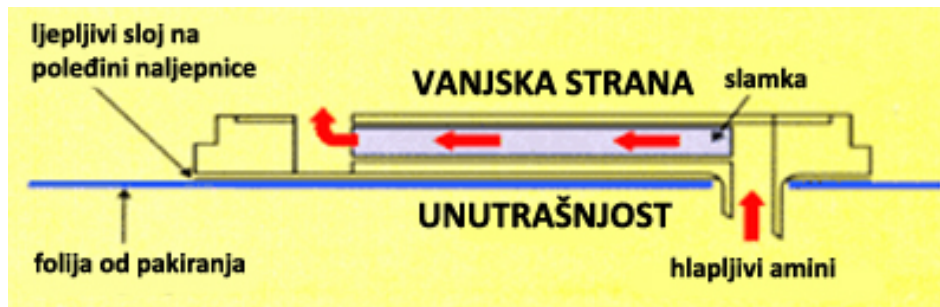
## 5. Indikatori svježine bazirani na biokromnim bojama i bio-kemijskim procesima

Indikatori kod inteligentne ambalaže mogu biti direktni ili indirektni. Indirektni na primjer ukazuju da promjene u koncentraciji kisika u ambalaži mogu označavati opadanje kvalitete proizvoda. Direktni sustavi oslanjaju se na dobivanje informacija o proizvodu koje su rezultat mikrobiološkog rasta ili kemijskih promjena unutar prehrambenog proizvoda (*Slika 7.*). Mikrobiološka kvaliteta može se odrediti kroz reakciju između indikatora u sklopu pakiranja i mikrobnog rasta metabolita. Najveća skupina ovakvih indikatora su indikatori svježine.

Indikatori se baziraju na tehnologiji otkrivanja ciljanog metabolita povezanog s mikrobiološki induciranim propadanjem (*Slika 8.*). Za različitu vrstu hrane različiti koriste se različiti markeri pa tako imamo markere koji otkrivaju određene amine, kiseline, plinove i sl. [9]



*Slika 7. Princip rada direktnog indikatora svježine*



Slika 8. Primjer mehanizma rada male samoljepive indikatorske naljepnice koja mijenja boju u prisustvu hlapljivih amina i koja se može koristiti za nadziranje svježine kvarljivih prehrambenih proizvoda poput morskih plodova.

## 5.1. Vremensko-temperaturni indikatori

Vremensko-temperaturni indikator, eng. Time-temperature indicator (TTI), definira se kao uređaj koji se koristi da prikaže mjerljivu, vremenski-temperaturno ovisnu promjenu koja omogućuje očitavanje potpune ili djelomične temperaturne povijesti prehrambenog proizvoda na kojeg je pričvršćen [10].

Vremensko-temperaturni indikatori koji omogućavaju očitavanje *djelomične* temperaturne povijesti reagiraju tek kad temperatura pređe dozvoljenu granicu koja je dovoljna da prouzroči promjenu u kvaliteti proizvoda ili njegovoj sigurnosti.

Vremensko-temperaturni indikatori koji omogućavaju očitavanje *potpune* temperaturne povijesti reagiraju tijekom cijele povijesti proizvoda i predstavljaju glavni fokus interesa za istraživanje i komercijalnu eksploataciju. [7]

Vremensko-temperaturni indikatori su u pravilu etikete ili naljepnice koje prate vremensko-temperaturne uvjete u kojima se proizvod nalazio na putu od proizvođača sve do kupca tj. krajnjeg korisnika. Oni moraju biti fleksibilni na raspon temperatura, robusni, jeftini, mali, pouzdani, ne smiju predstavljati opasnost ili biti otrovni, na njih ne smiju utjecati drugi uvjeti u okolini osim temperature i moraju jasno prenositi informaciju.

Aktivacija vremensko-temperaturnih indikatora mora biti jednostavna, a prema načinu aktivacije dijelimo ih u dvije skupine. Prvu skupinu čine indikatori koji su aktivni odmah nakon što su proizvedeni, tj. aktivira ih sam proizvođač. Takvi indikatori moraju se dopremiti i čuvati na određenoj temperaturi kako ne bi došlo do promjene kod indikatora prije njegove primjene. U drugu skupinu indikatora spadaju indikatori koji se aktiviraju naknadno, uglavnom prilikom aplikacije na samu ambalažu.

Trenutno komercijalno dostupni vremensko-temperaturni indikatori zasnivaju se na različitim enzimatskim, difuzijskim i polimerno zasnovanim sustavima koji pružaju veliki potencijal za korištenje kod proizvoda od mesa i peradi. Na najveću primjenu ovakvih indikatora nailazimo u transportu hrane u hladnom lancu. [7]

### Primjer bio-kemijskog indikatora:

CheckPoint<sup>®</sup> I naljepnica (*Slika 9.*)

Vrsta indikatora: Vremensko-temperaturni indikator

Promjena boje: Usljed enzimatskih promjena izazvanih povišenom temperaturom

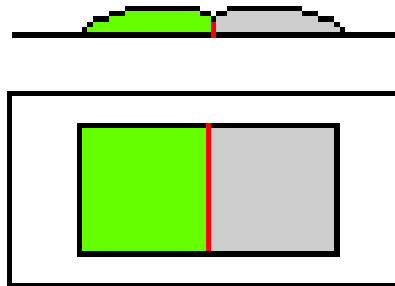
Ove naljepnice upozoravaju na vremensko-temperaturne utjecaje koji mogu predstavljati potencijalno povoljne uvjete za rast patogena poput E. Coli unutar proizvoda.

Dvije otopine pohranjene su odvojeno u dvije male vrećice (*slika 10.*). Zelena vrećica sadrži mješavinu enzima i posebnu indikatorsku boju. Druga vrećica sadrži supstrat suspenzije na koju enzim djeluje. Crvena crta predstavlja probojnu barijeru između otopina. Pri prevelikoj temperaturi barijera popušta, a dvije otopine mogu se slobodno miješati te počinje reakcija. Brzina reakcije ovisi o temperaturi – veća temperatura ubrzava reakciju dok se pri nižoj temperaturi reakcija sporije odvija. [11]

Promjena boje inducira se padom pH što je rezultat enzimatske hidrolize lipidnog substrata. Reakcija završava kada se zelena boja promijeni u žutu. [7]



*Slika 9. CheckPoint® naljepnice*



*Slika 10. Prikaz sustava s vrećicama unutar naljepnice*

## 5.2. Indikatori kemijskih promjena

Indikatori kemijskih promjena najčešće se izvode tako da reagiraju na promjenu pH vrijednosti. Prilikom kvarenja hrane dolazi do specifičnih promjena pH vrijednosti i to u ograničenom rasponu. To znači da je potreban točno određeni kemijski indikator za svaku aplikaciju. Ograničavajući faktor u nekontroliranim uvjetima kod ovakvih indikatora može biti to što su kemikalije koje su odgovorne za promjenu u boji ovisne o temperaturi i prisutnosti ostalih ionskih vrsti. Osim toga prisutnost kemikalija u blizini hrane može potaknuti na zabrinutost u vezi sigurnosti namirnice u doticaju s indikatorom. U pravilu to su jeftini i pouzdani sustavi za prijenos i držanje kemikalija. [7]

Redoks indikator je indikator koji mijenja boju pod određenim elektrodnom potencijalom. Takav indikator mora omogućiti brzu i reverzibilnu promjenu boje. Postoji samo nekoliko klasa organskih redoks sustava koji se mogu koristiti za izradu indikatora.

Dva najčešća sustava su:

- Metal-organski kompleksi (npr. fenantrolin)
- Pravi organski redoks sustavi (npr. metilen plava)

Ponekad obojene oksidanse i reduktante poput kalij manganata ili kalij dikromata netočno nazivaju redoks indikatorima. Oni se ne mogu klasificirati kao pravi redoks indikator zbog njihove ireverzibilnosti. Gotovo svi redoks indikator s pravim organskim redoks sustavom uključuju proton kao sudionika elektrokemijske reakcije. Zbog toga redoks indikatore dijelimo u dvije skupine: *neovisni* ili *ovisni o pH*.

pH indikator je halokromični kemijski spoj dodan otopini u malim količinama tako da se pH otopine može očitati vizualno. [12]

Metaboliti koji reagiraju s ovim indikatorima su produkti biokemijske promjene u namirnici. To su npr. kod kiseljenja mlijeka – mliječne kiseline, kod kvarenja mesa – amonijak, kod dozrijevanja voća - etilen.

Primjer biokemijskog indikatora:

RipeSense™ naljepnica

Vrsta indikatora: Indikator svježine

Promjena boje: Usljed promjene količine etilena u pakiranju

Kako ne bi dolazilo do oštećenja voća pri tradicionalnim metodama provjere zrelosti poput pritiskanja voćke znanstvenici iz kompanije Jenkins Group na Novom Zelandu razvili su i komercijalizirali RipeSense™ naljepnicu (*Slika 11.*) koja mijenja boju u ovisnosti o količini etilena u pakiranju. Nakon provjere boje, kupac zna da li je voće hrskavo, svježije ili sočno. Trenutno na tržištu postoji pakiranje samo za kruške, ali tvrtka najavljuje slične indikatore i za druge vrste voća. [13]



*Slika 11. RipeSense™ naljepnica*

### 5.3. Indikatori plina

Jedan od nusproizvoda koji se pojavljuje prilikom kvarenja hrane je plin. Indikatori koji reagiraju na plin tj. na njegovu prisutnost u ambalaži nazivaju se indikatori plina. Osim sustava koji reagiraju na plinove kao produkte kvarenja hrane postoje i indikatori koji se aktiviraju u prisustvu kisika, ugljičnog dioksida i drugih plinova.

Indikatori kisika su najčešći indikatori plina koji se primjenjuju na ambalaži lako kvarljivih prehrambenih proizvoda zbog toga što zrak najčešće uzrokuje promjenu boje i kvarenje posebno svježih prehrambenih proizvoda. Zrak prodire kroz ambalažu ili zbog oštećenja ili zbog propusnosti samog materijala od kojeg je izrađena sama ambalaža.

Sastav zraka unutar pakiranja mijenja se zbog promjena u hrani, zbog sastava same ambalaže i zbog vanjskih utjecaja. Indikatori plina u obliku etikete pričvršćuju se s unutrašnje strane ambalaže.

Indikator plina mora biti jeftin i njegova implementacija na postojeći proizvod isplativa, ne bi trebao zahtijevati posebne uređaje za očitavanje i svatko bi ga bez posebne edukacije trebao moći pročitati bez poteškoća. Ovakvi indikatori moraju biti netoksični, netopivi u vodi i zdravstveno sigurni za direktni kontakt s prehrambenim proizvodom s obzirom na to da se nalaze s unutarnje strane ambalaže, te bi se trebali aktivirati tek nakon što se proizvod upakira u ambalažu. [14]

## Primjer biokromnog indikatora plina:

Freshness Label naljepnica

Vrsta indikatora: Indikator svježine

Promjena boje: Usljed promjene količine amonijaka u pakiranju

Freshness Label je naljepnica u obliku pješčanog sata (*Slika 12.*) koja reagira na ispuštanje amonijaka prilikom kvarenja mesa - dizajn To-Genkyo. U reakciji s amonijakom donjnji dio naljepnice s barkodom se ispunjava bojom. Što je meso starije to više amonijaka ispušta, a sukladno s količinom amonijaka dolazi do promjene u boji naljepnice (*Slika 13.*). Na taj način kupac može prosuditi kakva je svježina mesa. Kada meso više nije dobro za prodaju, boja ispuni područje gdje je otisnut barkod te ga na taj način učini nečitljivim za barkod čitače na blagajni. [16]



*Slika 12. Naljepnica Freshness Label*



*Slika 13. Princip rada Freshness Label naljepnice*



## 5.4. Bioindikatori

Bioindikatori se sastoje od bioreceptora i pretvornika koji prenose informacije o biološkim promjenama u prehrambenom proizvodu. Dijele se u dvije skupine - oni koji detektiraju mikrobe u prehrambenom proizvodu (*direktni*) i one koji sadrže iste mikrobe koje sadrži i namirnica te na taj način simuliraju rast mikroba unutar ambalaže (*indirektni*).

Bioreceptori su organski materijali poput enzima, antigena, mikroba, hormona i nukleinskih kiselina. Pretvornici mogu biti elektrokemijski, optički, kalorimetrijski i sl. i oni su zavisni od sustava. Inteligentna ambalaža koja sadrži biosenzore ima potencijal za ekstremnu specifičnost i pouzdanost. [15]

### 5.4.1. Direktni bioindikatori

Iako većina direktnih bioindikatora još nije podobna za komercijalnu uporabu u prehrambenom sektoru, najčešće zbog premale osjetljivosti, postoje neki primjeri koji su uspješno izvedeni.

#### Primjer biokromnog indikatora br. 1

Food Sentinel Systeme™ naljepnica (*Slika 14.*)

Vrsta indikatora: Indikator svježine

Promjena boje: Usljed reakcije antitijela na prisutnost bakterija u pakiranju

Food Sentinel Systeme™ (SIRA Technologies, California, USA) zasniva se na naljepnici na čiji je barkod nanesen sloj specifičnih antitijela koja reagiraju na prisutnost bakterija poput *Salmonelle*, *E-coli* i *Listerie* i njihovoj prisutnosti zatamnjuju linije na barkodu koji tada postaje nečitljiv za barkod čitače. Ovaj sustav omogućava kontinuiranu detekciju patogena u prehrambenoj ambalaži. [17]



Slika 14. Food Sentinel Sisteme™ naljepnica

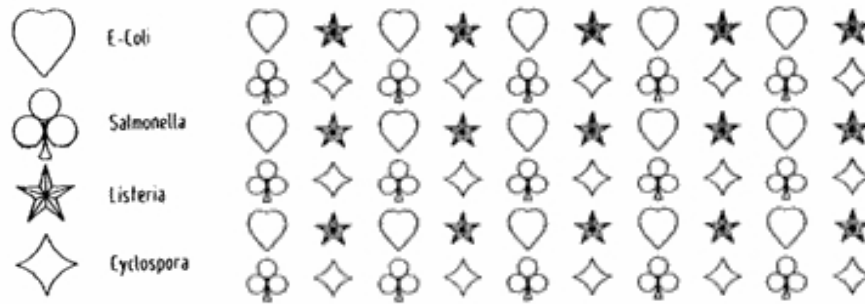
Primjer biokromnog indikatora br. 2

ToxinGuarde naljepnica

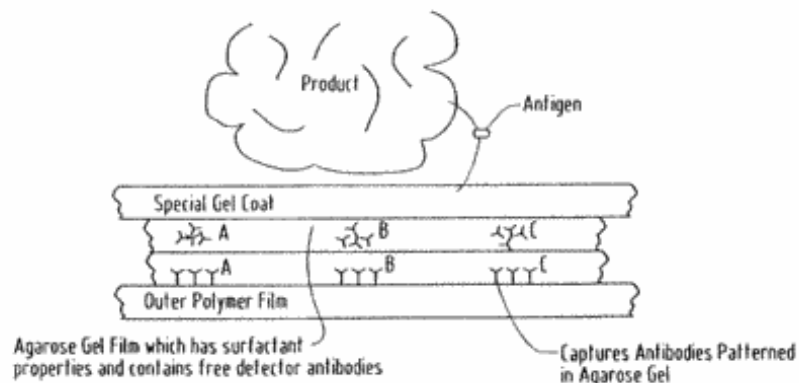
Vrsta indikatora: Indikator svježine

Promjena boje: Usljed reakcije antitijela na prisutnost bakterija u pakiranju

Još jedan primjer direktnog bioindikatora tj. indikatora svježine je ToxinGuarde - Toxin Alert, Canada. Ovaj indikator može detektirati bakterije Campylobacter, Listeriu, Salmonelu i E-coli (Slika 15.). Otiskuje se na fleksibilni plastični film (Slika 16.), a u prisutnosti neželjenih bakterija indikator postaje obojan ili fluorescentan. Ovaj sustav se može koristiti bez ili sa specijalnim bojilima koja će poništiti barkod kao i u Food Sentinel Systeme-u. [18][19]



Slika 15. Referentna tablica s oznakama za različite bakterije i primjer otisnute matrice kakva bi se nalazila na naljepnici



Slika 16. Sastavnice ToxinGuarde sustava

### Primjer biokromnog indikatora br. 3

SensorQ™ naljepnica (Slika 17.)

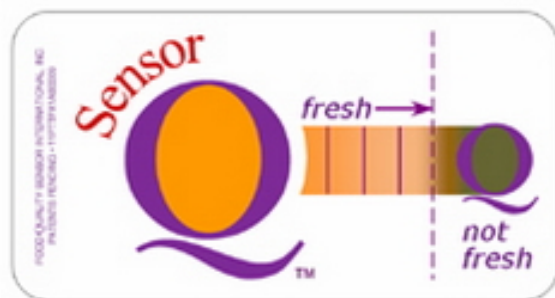
Vrsta indikatora: Indikator svježine

Promjena boje: Reakcija naljepnice na količinu bakterija u pakiranju

Food Quality Sensor International, Inc. razvio je SensorQ™ indikator koji reagira na količinu bakterija izazvanih kvarenjem svježeg mesa. Postavlja se unutar pakiranja sa svježim mesom ili peradi. Kada je unutrašnjost znaka Q na naljepnici narančaste boje proizvod je svjež. Kada broj bakterija unutar ambalaže dosegne kritičnu razinu narančasta

boja počinje tamniti i prelazi u maslinasto zelenu te na taj način ukazuje na to da namirnica nije prikladna za upotrebu. [20]

Ista tvrtka razvila je i SensorfreshQ (Slika 18), „elektronski nos“ tj. uređaj koji također reagira na prisutnost štetnih spojeva kod mesa. Signal se očitava putem tri LED diode. Zelena znači da je meso svježe, žuta da se treba što prije pojesti, a crvena da ga se baci. [21]



Slika 17. SensorQ™ naljepnica



Slika 18. SensorfreshQ™ „elektronski nos“

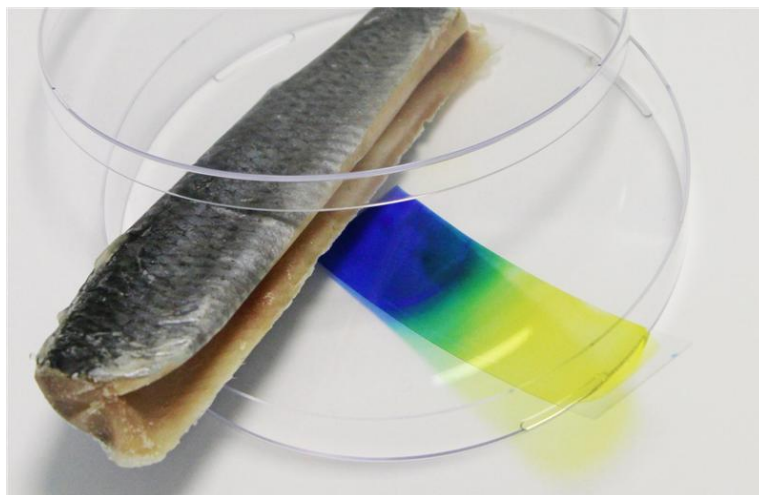
## Primjer biokromnog indikatora br. 4

Indikatorski film (trenutno bez komercijalnog imena)

Vrsta indikatora: Indikator svježine

Promjena boje: Reakcija filma na prisutnost amina

Najnoviji bioindikator ove vrste razvijen je u Fraunhofer Research Institution for Modular Solid State Technologies EMFT u München-u. On se postavlja s unutrašnje strane pakiranja ili u doticaj s prehrambenom namirnicom. Indikator mijenja boju iz žute u plavu u prisutnosti amina proizašlih iz procesa kvarenja hrane (*Slika 19.*). Sigurnost namirnice, s obzirom da je u kontaktu s indikatorom, osigurana je pomoću barijernog sloja između indikatorskog filma i namirnice koji je propustan samo za plinovite amine. Indikatorske kemikalije ne mogu proći kroz barijerni sloj. [22]



*Slika 19. U prisutnosti amina indikator mijenja boju iz žute u plavu*

## 5.4.2. Indirektni bioindikatori

### Primjer biokromnog indikatora br. 1

(eO)<sup>®</sup> indikatorske naljepnice

Vrsta indikatora: Indikator svježine

Promjena boje: Usljed simuliranog rasta mikroorganizama

Primjer indirektnog vremensko-temperaturnog bioindikatora je (eO)<sup>®</sup> naljepnica tvrtke Cryolog (*Slika 20.*). Tehnologija se bazira na mikroorganizmima koji simuliraju kvarenje zapakiranog proizvoda. Indikator sadrži gel s mikroorganizmima koji se izrađuje posebno prema vrsti namirnice, uvjetima skladištenja i razini tražene svježine. Ukoliko je proizvod bio predugo izložen nepovoljnim temperaturnim uvjetima ili je prestar za uporabu boja naljepnice će se promijeniti iz zelene u ljubičastu. [23][24]

(eO)<sup>®</sup> indikatorske naljepnice se lijepe poput klasičnih naljepnica te su zbog toga kompatibilne s brzim automatskim sustavima za ljepljenje koji se koriste u proizvodnim linijama za proizvodnju hrane.



Slika 20. (eO)<sup>®</sup> indikatorske naljepnice

## Primjer biokromnog indikatora br. 2

Traceo<sup>®</sup> indikatorske naljepnice

Vrsta indikatora: Indikator svježine

Promjena boje: Usljed simuliranog rasta mikroorganizama

Još jedan sustav od Cryologa je TRACEO<sup>®</sup> koji se bazira na istom principu - simuliranog rasta mikroorganizama - kao i (eO)<sup>®</sup> naljepnice (Slika 21.). Traceo naljepnica zalijepi se preko barkoda koji postaje nečitljiv ako je proizvod bio izložen nepovoljnim temperaturnim uvjetima ili mu je istekao rok trajanja. [7]



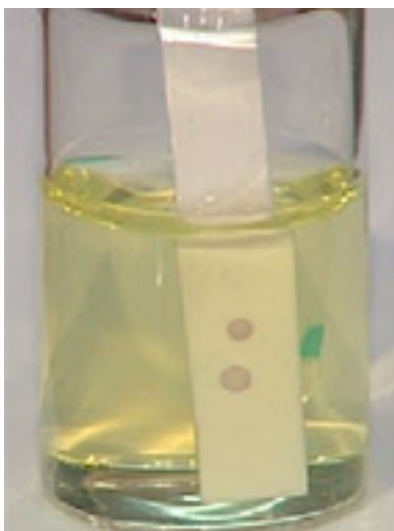
Slika 21. Traceo<sup>®</sup> indikatorska naljepnica

## 6. Bioaktivni papir

Bioaktivni papir je primjer jeftinog, jednokratnog, prijenosnog i jednostavnog testa na bazi papira koji služi brzom otkrivanju toksičnih tvari i kontaminanata u okolišu, hrani i vodi. Bioaktivni papir se razvija uglavnom na razini biosenzora, a razvio ga je Kanadski Sentinel Bioactive Paper Network zajedno s mnogim znanstvenicima, industrijskim i sveučilišnim partnerima i studentima. Sentinel Bioactive Paper Network se nalazi na McMaster sveučilištu u Hamilton, Ontariu i predvodi ga Dr. Robert Pelton, znanstveni direktor i Dr. George Rosenberg, izvršni direktor. [25][26]

Bioaktivni papir još nije ušao u širu primjenu i nije dostupan javnosti, ali se sve više približava komercijalizaciji. Prednost bioaktivnog papira pred skupom laboratorijskom opremom je što pruža jeftinu platformu za dijagnostiku. Bioaktivni papiri su jeftini, imaju dug rok trajanja (do tri mjeseca kada se pravilno skladište), lako su prijenosni i ne zahtijevaju posebne instrumente za očitavanje. [27]

John Brennan i njegov istraživački tim na sveučilištu McMaster razvili su metodu stvaranja bioaktivnog papira (*Slika 22.*) na način da otiskuju biosenzore bazirane na antitijelima, enzimima, DNA aptamerima ili bakteriofagima u strukturu papira. Takav papir veže na svoje receptore patogen ili drugi kontaminant s kojim dođe u kontakt što rezultira vidljivom promjenom na papiru. [25]



*Slika 22. Papir tretiran enzimima mijenja boju u doticaju s testnom otopinom*



Biološki aktivne kemikalije u obliku boja mogu biti otisnute na papir, impregnirane u papir korištenjem strojeva za izradu papira ili tiskarskih strojeva, a mogu i premazivati u različitim slojevima. Boja je slična običnoj boji koju možemo pronaći u svakom stolnom inkjet pisaču, ali sadrži specijalne aditive koji je čine biokompatibilnom.

Aktivni sloj sastoji se od biokompatibilnih silicijevih nanočestica koje se otiskuju u prvom sloju i boje koja sadrži enzime u drugom sloju. Bio-boja se nalazi u obliku tankog filma enzima koji je zarobljen u siliciju na papiru. Kada je papir izložen toksinu molekule u boji mijenjaju boju u odnosu na količinu toksina u uzorku. [23]

Osim silicijevih nanočestica za fiksiranje enzima koriste se i različiti agar mediji u obliku mikro gelova.

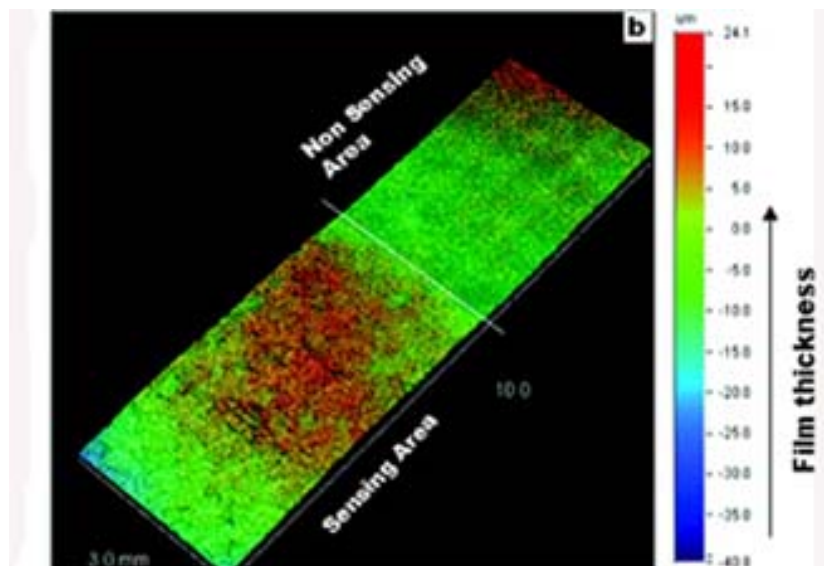
Pošto može detektirati nervne spojeve, bioaktivni papir može se iskoristiti u otkrivanju bioterorizma i sigurnosti hrane. Zbog ovih mogućnosti bioaktivni papir je postao proizvod od interesa za vojnu industriju i industriju ambalaže.

Uspješno izvedeni primjeri bioaktivnih papira mogu se koristiti za detekciju Samonele, E-coli, nekih virusa gripe, pesticidai i virusa kao što je SARS. [28]

## 6.1. Primjer otkrivanja nervnih agenata

U studiji „*Development of a Bioactive Paper Sensor for Detection of Neurotoxins Using Piezoelectric Inkjet Printing of Sol-Gel-Derived Bioinks*“, John Brennan i njegov istraživački tim demonstrirali su koncept detekcije inhibitora acetilkolinesteraze (AChE), kao Paraoksona (nervnog plina) i aflatoksina B1 (mikotoksina štetnog za ljude i životinje), na papiru koristeći princip lateralnog toka sličnom onom koji se koristi u kućnom testu za trudnoću (*Slika 23.*).

Otiskivanje je izvedeno pomoću *FUJIFILM Dimatix Materials* printera, što je dokazalo da je nanošenje bioaktivnih komponenti putem inkjet pisača jednostavno, prijenosno i cjenovno prihvatljivo. [29]



Slika 23. Neourotoksin-senzor isprintan na inkjet pisaču

## 6.2. Primjer otkrivanja pesticida

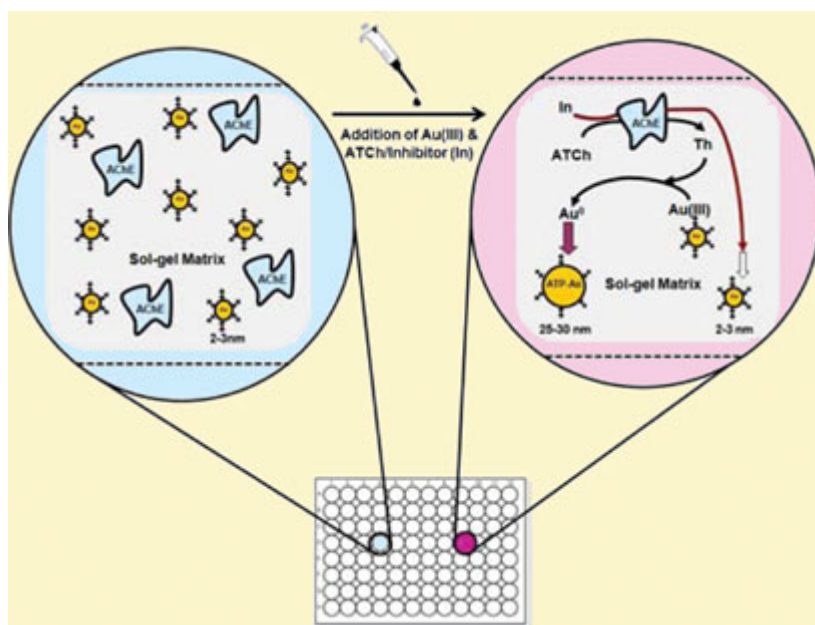
U nešto novijem istraživanju iz 2010. godine John Brennan i njegov tim napravili su kolorimetrijski biotest na papirnatom štapiću za umakanje koji može otkriti niske razine pesticida.

Organofosfatni pesticidi mogu biti toksični za ljude i životinje jer naš živčani sustav sadrži važne enzime poput acetilkolinesteraze (AChE). Ti pesticidi su još uvijek u širokoj primjeni te je stoga potrebna jednostavna metoda za otkrivanje njihovih tragova.

Brennan je kombinirao AChE sa zlatnim nanočesticama u sol-gel premazu prevučenom preko hidrofobno modificiranog papira. Inhibitori prisutni u testiranoj otopini smanjuju rast zlatnih nanočestica (Slika 24.) što prouzrokuje promjenu boje vidljive golim okom.

Zlatne nanočestice se koriste zato što je potrebno zadržati boju unutar štapića za umakanje. Mali organski kromofori bi procurili prilikom umakanja dok veće zlatne čestice ostaju na površini senzora i proizvode vrlo intenzivnu boju koja čini detekciju organofosfata lakom. Ovaj test je dovoljno osjetljiv da detektira niske razine organofosfatnih pesticida poput Paraoksona. [30]

Brennan dodaje da su „organofosfati koji inhibiraju acetilkolinesteraze također od interesa za vojsku, zato što se mogu koristiti kao nervni plinovi ili u svrhe bioterorizma, a ovakva vrsta jednostavnog otkrivanja može pomoći u takvim situacijama“. [31]



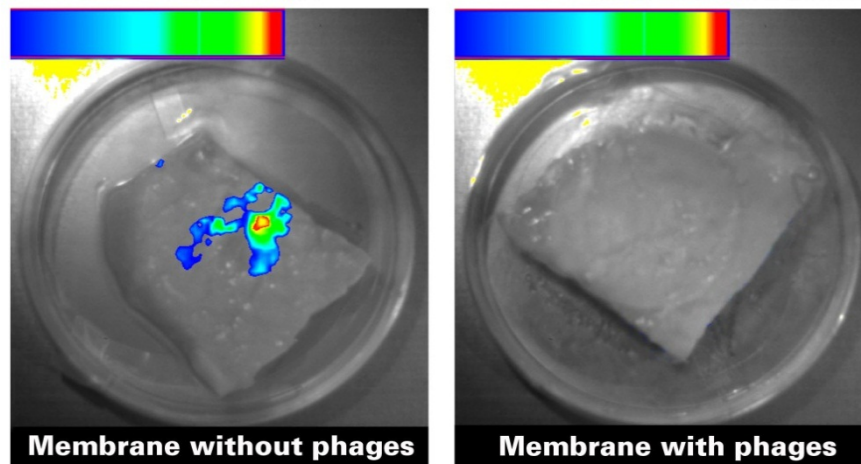
Slika 24. Inhibicija acetilkolinesteraze mijenja rast nanočestica što uzrokuje promjenu boje.

### 6.3. Primjer bioaktivnog papira kao aktivne komponente u ambalaži

Osim indikatorskih svojstava bioaktivni papiri mogu služiti i kao aktivna komponenta koja će pomoći u sprečavanju rasta mikroorganizama i njihovom uništenju. To su dokazali u istraživanju objavljenom u listopadu 2011. Hany Anany i Mansel Griffiths (University of Guelph), potaknuti epidemijama Listerije i E-coli O157.H7 koje su izbile netom prije u Sjevernoj Americi - u povezanosti s dinjama i sirovom govedinom. Sa željom da se spriječe takve tragedije u budućnosti, osmislili su sustav koji koristi bakteriofage da unište ciljane patogene (uključujući Listeriu i E-coli) koji mogu biti prisutni na površini hrane.

Bakteriofag ili kraće fag je specifični bakterijski virus koji se umnožava na račun bakterija. Korištenje faga je odobrila FDA (Američka Federalna administracija za lijekove) i Health Canada (Kanadski Federalni odsjek za lijekove) kao siguran aditiv za neke prehrambene proizvode.

Imobilizirani fag može se prihvatiti na Listeriu i/ili E-coli O157.H7 i reproducirati svoje kopije unutar stanice bakterije. Nakon što količina faga dosegne kritičnu razinu, stanica bakterije puca što je uništava. Na taj način onemogućava patogenu da se množi na površini prehrambene namirnice (Slika 25.). [32]



*Slika 25. Membrana bez faga (lijevo) i membrana sa fagima (desno).*

Sentinelovi istraživači opisali su metodu prihvaćanja faga na celulozni materijal i objasnili da kada se hrana (gotovo ili sirovo meso) zapakira, fagi unište štetne stanice Listerie i E-coli. Ova opcija kod pakiranja funkcioniše na temperaturama istovjetnima onim u zamrzivaču, pri kojima patogeni još uvijek mogu rasti.

#### 6.4. Mehanizmi izvještavanja

Izvještavanje je najveći izazov kod bioaktivnih papira, tj. kako na jednostavan i uočljiv način prikazati prisustvo nekog patogena, toksina ili bakterije.

Korištenje enzima za generiranje boje je uobičajen pristup. Whiteside's grupa je objavila niz radova u kojima demonstriraju kako se može iskoristiti papir pri izdvajanju uzorka u odvojene pregrade u kojima se nalaze različiti testovi, od kojih neki sadrže izvještavanje putem enzima.

Oni opisuju hidrofobni papir s hidrofilnim kanalima koji vode do tri odvojene pregrade. Kanali i pregrade stvoreni su otiskivanjem hidrofobnih uzoraka na filter papir. Enzimi koji

razvijaju boju su umrljani u jednu pregradu i osušeni. Kapilarne sile su iskorištene za prijenos otopine koja se ispituje do pregrada. Ako će test otopina djelovati na enzime u pregradi doći će do promjene boje ili obojenja. [27]

## 6.5. Proizvodnja bioaktivnog papira

Kako bi cijena bioaktivnih papira bila pristupačna oni se moraju proizvoditi u masovnoj produkciji. To nije teško izvedivo s današnjim brzim i prilagodljivim strojevima za izradu papira, ali takvi sustavi svoju isplativost iskazuju tek kroz veliku produkciju što otežava postizanje raznolikosti u traženim svojstvima bioaktivnih papira.

Primjer izrade bioaktivnih papira:

Ako bi se išla izraditi papirnata test trakica za detekciju štetnog virusa ili bakterije na tipičnom modernom brzom stroju za izradu papira, na način da se biomolekule za detekciju virusa ugrađuju u vlakna u pulpi, preko 6 milijardi test trakica bi se proizvelo za manje od četiri sata, ako pretpostavimo da je površina test trakice 5cm<sup>2</sup> i širina stroja za izradu papira deset metara i radi pri brzini od 2000m/min.

Ova kalkulacija pokazuje da se bioaktivni papirnati proizvodi mogu raditi u velikim količinama vrlo brzo. S druge strane moderni strojevi za izradu papira su dizajnirani da proizvode velike količine papira s čim je moguće manjom varijabilnošću u kvaliteti proizvoda. Znači oni su neisplativi ako se koriste kratko vrijeme. Također je teško napraviti proizvode koji imaju drugačija svojstva na stroju za izradu papira, što znači da će biti vrlo teško napraviti milijardu test trakica za otkrivanje različitih virusa koje imaju drugačije sastave. [23]

Različite metode masovne proizvodnje, kao što je inkjet tisak ili premazivanje, mogu se koristiti za izradu proizvoda s više varijabli u svojstvima, ali to smanjuje proizvodne kapacitete.

Raspon uporabe bioaktivnih papira je velik, od pakiranja za hranu i bolničkih maski do papirnih trakica za detektiranje i pročišćavanje nesigurne vode za piće ili provjeravanje prisutnosti zabranjenih pesticida kod usjeva, različitih filtera koji će upozoriti na kontaminaciju u vodi i sl.

## 6.6. Prednosti bioaktivnih papira pred bioplastikom



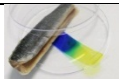



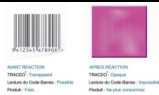
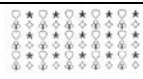
Ekološka komponenta je ta koja daje prednost bioaktivnim papirima pred plastikom.

- Papir je jeftin i proizvodi se lokalno u gotovo svakom dijelu svijeta iz obnovljivih i reciklirajućih izvora,
- Papir ima dugu i uspješnu povijest korištenja kao medij za filtere, barijere, a čak može i služiti kao sterilno pakiranje,
- Na papir se lako otiskuje, lako se premazuje i impregnira,
- Celuloza nema štetan utjecaj na proteine i biomolekule,
- Papir je dobar filter,
- Papir je lako razgradiv,
- Porozna struktura omogućava testove lateralnog toka, kromatografske separacije i jeftine mikrofluidne uređaje. [27]

## 7. Čitljivost indikatorskih sustava

Tablica 3. Kategorizacija navedenih primjera indikatora prema boji

(navedeni indikatori kategorizirani su prema početnoj boji i boji nakon reakcije)

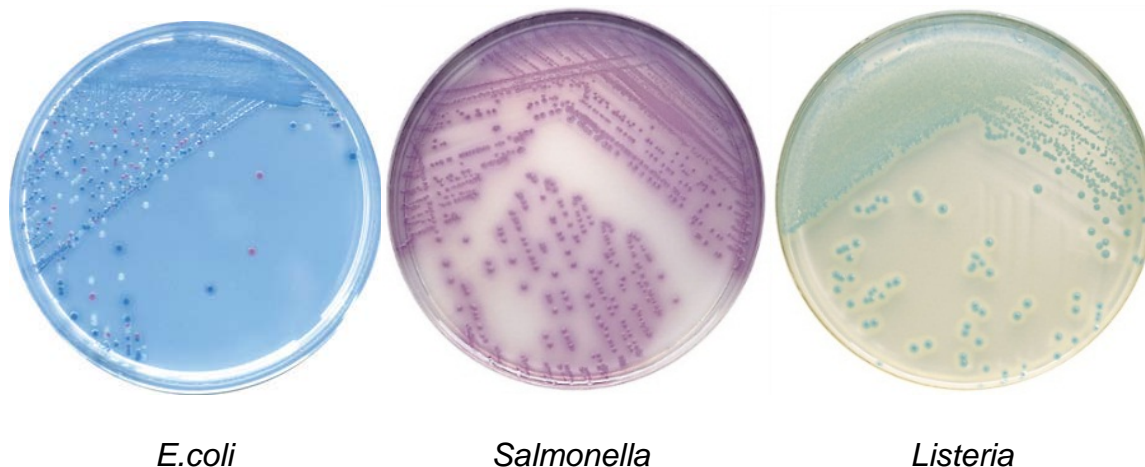
<b>Indikator</b>	<b>Početna boja</b>	<b>Boja nakon reakcije</b>
 <p>CheckPoint®</p>	<b>ZELENA</b>	<b>ŽUTA</b>
 <p>RipeSense™</p>	<b>CRVENA</b>	<b>ŽUTA</b>
 <p>SensorQ™</p>	<b>NARANČASTA</b>	<b>MASLINASTO ZELENA</b>
 <p>Fraunhofer-Gesellschaft</p>	<b>ŽUTA</b>	<b>PLAVA</b>
 <p>Fresh Label</p>	<b>BEZBOJNA</b>	<b>PLAVA</b>
 <p>(eO)®</p>	<b>ZELENA</b>	<b>LJUBIČASTA</b>
 <p>Food Sentinel Systeme™</p>	<b>BEZBOJNA</b>	<b>LJUBIČASTA</b>
 <p>Traceo®</p>	<b>BEZBOJNA</b>	<b>LJUBIČASTA</b>
 <p>ToxinGuarde</p>	<b>BEZBOJNA</b>	<b>TAMNO SIVA/CRNA</b>

Promjena boje u indikatorskim sustavima ovisi o bio-kemijskom mehanizmu na kojem indikator radi. Iz primjera indikatora navedenih u *Tablici 3.* vidimo da je većina sustava već i prije reakcije obojana nekom bojom, dok je ostatak indikatora bezbojan i promijeni boju tek nakon reakcije.

Bioaktivni papiri u pravilu imaju bezbojan bioaktivni sloj koji tek nakon doticaja s određenom tvari postaje obojen.

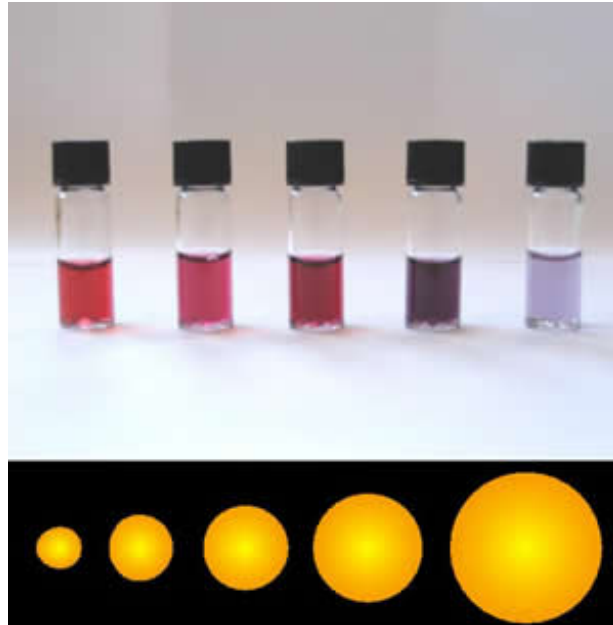
U agar medijima - u ovom slučaju CHROMagar™ medijima - koji se mogu koristiti u mikrogel aplikacijama različite boje se pojavljuju u kontaktu s različitom tvari. Tako za detekciju E-coli agar medij reagira intenzivno plavom bojom, za Salmonelu ljubičastom, a Listeriu svijetlo plavom bojom i svijetlim vijencem oko izolata (*Slika 26.*).

Indikator sa zlatnim nanočesticama u početku je obojen, a promjer zlatnih čestica koje sudjeluju u reakciji određuju koji dio valnih duljina će se apsorbirati. Raspon boje ide od crvene do plave (*Slika 27.*).



*Slika 26. Bakterije u CHROMagar™ mediju*





*Slika 27. Promjena boje s promjenom veličine zlatnih nanočestica*

U trgovinskom sektoru svaki od proizvođača indikatora pokušava nametnuti svoj proizvod kao bolji, uočljiviji i dati mu određenu vizualno prepoznatljivu komponentu. U današnjem užurbanom svijetu, kupac želi proizvode koji su mu na dohvat ruke i koji će mu pružiti tražene informacije bez nepotrebnog utroška vremena. Ta raznovrsnost među indikatorskim sustavima može stvoriti konfuziju među kupcima i usporiti proces odlučivanja te u krajnjoj liniji i značiti gubitak „dragocjenog“ vremena.

Kako bi se olakšao izbor kupcu i kako bi se išlo na ruku populaciji slijepoj na boje idealno bi bilo kada bi se postigao koncenzus između svih proizvođača indikatorskih sustava o korištenju jedinstvenog znakovlja koje bi jednoznačno opisivalo prisutnost ili brojnost štetnih tvari. U tom slučaju na boje slijepa populacija mogla bi se lakše orjentirati, ako ne po boji ili tonu boje onda po jedinstvenom znaku koji se nalazi na jednom takvom indikatoru.

Gruba brojka govori da sljepoća na boje ili daltonizam pogađa oko 8% muškaraca i otprilike 0,5% žena [33]. Najčešće je otežano raspoznavanje crvene i zelene boje, a rjeđi slučaj je nasljeđivanje nesposobnosti prepoznavanja plavih i žutih nijansa boje. Poremećaj u prepoznavanju plavih i žutih nijansi boje pogađa u istom broju i žene i muškarce.

## 7.1. Moguće metode poboljšavanja čitljivosti indikatorskih sustava

Kodiranje boja pomoću grafičkih simbola relativno je novi koncept koji bi mogao uvelike pomoći populaciji slijepoj na boje u lakšem raspoznavanju signala na indikatoru. Sustav kojeg je dizajnirao Miguel Neiva bazira se na procesu logičke asocijacije i lakog pamćenja kroz korištenje primarnih boja prezentiranih kao grafičkih simbola. Raspoznavanje boja postiže se kroz asocijaciju jednostavnih oblika s elementarnim kromatskim kombinacijama (*Slika 28, Tablica 4.*).

Njegov „ColorADD“ projekt i prednosti koje proizlaze iz njegovog korištenja već su prepoznate i implementiraju se u obrazovnom, zdravstvenom i transportnom sektoru. U nekim bolnicama u Portugalu već su uveli njegov sustav u označavanju ozbiljnosti pacijentova stanja ili označavanju lijekova koji se koriste tijekom operacije, a razaznaju se prema razlici u boji.

























Javni transport je još jedno područje u kojem je raspoznavanje boje vrlo bitno pošto se više od 50% ljudi snalazi po kartama podzemnih željeznica i vlakova prema boji linije. U *Metro do Porto* najavili su da će implementirati ovaj sustav u cijeloj mreži metroa, a osim njih Neiva planira predstaviti ovaj sustav i za metro mreže Londona, Brazilije i Sao Paola.

Dodavanjem oznake boje iz ColorADD sustava ili nekog drugog znakovnog sustava u sustav indikatora ili bioaktivnih papira može olakšati očitavanje informacija i smanjiti prostor za pogreške. [34]



Slika 28. Način kodiranja pomoću osnovnih boja i prikaz nekih od boja

Tablica 4. Osnovna tablica sa objašnjenjem simbola ColorADD sustava

CORES SIMBOLOS COLORS SYMBOLS							
	AZUL BLUE	VERDE GREEN	AMARELO YELLOW	LARANJA ORANGE	VERMELHO RED	ROXO PURPLE	CASTANHO BROWN
							
	BRANCO WHITE	CINZA CLARO LIGHT GRAY	CINZA ESC. DARK GRAY	PRETO BLACK	DOURADO GOLD	PRATEADO SILVER	
TONS CLAROS LIGHT TONES							
	TONS ESCUROS DARK TONES						

## 8. Zaključak

Danas, uz sveprisutne medije i lako dostupne informacije, ljudi postaju sve više svjesni opasnosti koje ih okružuju. Vijest na primjer o epidemiji trovanja hranom ili virusu koji hara, brzo će se proširiti i rijetko će koga ostaviti ravnodušnim. Baš zbog takvih vijesti i sličnih događaja, u posljednjih nekoliko godina potražnja za pametnom ambalažom i sustavima za brzo otkrivanje štetnih tvari je u sve većem porastu. Ljudi su prepoznali prednosti koje proizlaze iz korištenja „inteligentnih“ aplikacija kod ambalaže te se osjećaju sigurnije kada kupuju od proizvođača koji koristi takve sustave. To je potaklo na istraživanja i sve brži razvoj novih, pouzdanijih, bržih i jeftinijih metoda i tehnologija za otkrivanje prisutnosti raznih štetnih spojeva i bakterija.

Biokromne boje su boje koje na vrlo jednostavan i direktan način pružaju informaciju o bio-kemijskoj promjeni koja je nastupila. Njih pronalazimo u indikatorima svježine, vremensko-temperaturnim indikatorima i kod bioaktivnih papira.

Vremensko-temperaturni indikatori koji sadrže biokromne boje su indikatori koji rade na principu simuliranog kvarenja proizvoda. Kod indikatora svježine, biokromne boje promjenom tona reagiraju na metabolite koje namirnica ispušta kada se počne kvariti ili dozrijevati. Neki indikatori reagiraju na prisutnost štetnih spojeva i mikroorganizama, kod njih je također promjena boje znak da je došlo do bio-kemijske reakcije.

Razvojem tehnologije izrade bioaktivnih papira danas je doslovno moguće na uređajima poput inkjet printera, proizvesti pouzdane, jeftine, jednokratne i ekološki prihvatljive indikatore ili aktivne komponente koje se mogu koristiti u medicinske, vojne i ambalažne svrhe. Bioaktivni papiri mogu služiti za otkrivanje mikroorganizama poput bakterija i virusa, zaustavljanje njihova rasta ili njihovo uništavanje. Jednostavnost je najveća prednost ove tehnologije, što je čini savršenom platformom za otkrivanje još mnogih korisnih primjena u budućnosti.

Što se tiče metoda poboljšanja čitljivosti indikatorskih sustava postoje neke inovacije koje bi se mogle implementirati u postojeće sustave i na taj način omogućiti lakše isčitavanje informacija i lakšu interpretaciju osobama slijepim na boje. Sistem kodiranja boja kroz grafičke simbole, poput ColorADD-a pokazao se vrlo koristan u tom pogledu, a

njegovim korištenjem kod indikatorskih sustava moglo bi se olakšati očitavanje i spriječiti mogućnost pogreške u očitavanju bitnih informacija.

## Literatura

1. Kromogene boje, dostupno na:  
<http://materijali.grf.unizg.hr/media/Kromogene%20tiskarske%20boje.pdf>,  
20.11.2011 [1]
2. Gordon L. Robertson, Food packaging and shelf life : a practical guide, © Taylor and Francis Group, LLC, 2010. [2]
3. dr.sc. Nataša Stipanelov Vrandečić, Ambalaža, Split 2010, dostupno na:  
<http://www.ktf-split.hr/bib/ambalaza.pdf> 20.11.2011 [3]
4. Ministarstvo zaštite okoliša, prostornog uređenja i graditeljstva RH, Pravilnik o ambalaži i ambalažnom otpadu, NN/97 8.8.2005, Članak 2. [4]
5. Rory Harrington, Active and intelligent packaging in US set for healthy growth, dostupno na: [http://www.foodproductiondaily.com/Packaging/Active-and-intelligent-packaging-in-US-set-for-healthy-growth-report?utm\\_source=copyright&utm\\_medium=OnSite&utm\\_campaign=copyright](http://www.foodproductiondaily.com/Packaging/Active-and-intelligent-packaging-in-US-set-for-healthy-growth-report?utm_source=copyright&utm_medium=OnSite&utm_campaign=copyright)  
28.11.2011 [5]
6. Gordon L. Robertson, Food Packaging Principles and Practice, 2nd edition, © Taylor and Francis Group, LLC, 2006. [6]
7. Joseph Kerry and Paul Butler, Smart Packaging Technologies for Fast Moving Consumer Goods, © John Wiley & Sons, Ltd. 2008. [7]
8. Smart packaging – Intelligent Packaging for Food, Beverages, Pharmaceuticals and Household Products, Dostupno na:  
[http://www.azom.com/article.aspx?ArticleID=2152#\\_Smartness\\_in\\_Packaging](http://www.azom.com/article.aspx?ArticleID=2152#_Smartness_in_Packaging)  
21.12.2011 [8]
9. J.P. Kerry, M.N. O'Grady, S.A. Hogan, Past, current and potential utilisation of active and intelligent packaging systems for meat and muscle-based products, © Elsevier Ltd., 2006 [9]
10. Da-Wen Sun, Handbook of Food Safety Engineering, © Blackwell Publishing Ltd. 2012 [10]

11. How does the CheckPoint® I indicator work?, How is the CheckPoint® I triggered?, dostupno na: <http://www.vitsab.com/FAQ.htm>, © 2006 Vitsab International. Malmö [11]
12. Redox Indicator, dostupno na: [http://en.wikipedia.org/wiki/Redox\\_indicator](http://en.wikipedia.org/wiki/Redox_indicator), 29.12.2011 [12]
13. RipeSense, dostupno na <http://www.ripesense.com/index.html>, 29.12.2011 [13]
14. Andrew Mills, Oxygen indicators and intelligent inks for packaging food, Chemical Society Reviews, 2005, Vol. 34, str. 1003–1011 [14]
15. E.C. Alocilja, S.M. Radke, Market Analysis of Biosensors for Food Safety, Biosensors and Bioelectronics Journal, 2003, Vol. 18, str. 841-846 [15]
16. The Future of Smart Packaging: “Freshness Label”, dostupno na: <http://blog.monty.de/2009/09/the-future-of-smart-packaging-freshness-label/>, 03.01.2012 [16]
17. Islem A. Yezza, Ph.D, Active/intelligent packaging : Concept, Applications and Innovations, dostupno na: [http://www.cmc-cvc.com/english/documents/PresentationDrYezza\\_000.pdf](http://www.cmc-cvc.com/english/documents/PresentationDrYezza_000.pdf), 03.01.2012 [17]
18. Paul LeGood, Andrew Clarke, Smart and Active Packaging to Reduce Food Waste, dostupno na: [https://connect.innovateuk.org/c/document\\_library/get\\_file?uuid=337d4803-111b-4363-bc03-4b80e088dc0f&groupId=72888](https://connect.innovateuk.org/c/document_library/get_file?uuid=337d4803-111b-4363-bc03-4b80e088dc0f&groupId=72888), 04.01.2012 [18]
19. Method and apparatus for detection of multiple biological materials with a heterogeneous antibody mixture, dostupno na: <http://www.patentgenius.com/patent/6696264.html>, 04.01.2012 [19]
20. There is only one freshness, dostupno na: <http://www.ventureitch.com/?p=462>, 04.01.2012 [20]
21. SensorfreshQ Meat Freshness Sniffer, dostupno na: <http://archive.blisstree.com/eat/sensorfreshq-meat-freshness-sniffer/>, 04.01.2012 [21]
22. Sensor Determines If Packaged Meat Has Spoiled, dostupno na: <http://www.sciencedaily.com/releases/2011/04/110413092837.htm>, 06.01.2012 [22]
23. Bioactive paper and fibre products, Patent and literary survey, © VTT 2006, dostupno na: <http://www.vtt.fi/inf/pdf/workingpapers/2006/W51.pdf>, 07.01.2012 [23]

24. Traceability by microbiology, dostupno na:  
<http://www.cryolog.com/en/technology/traceability-by-microbiology.html>, 07.01.2012 [24]
25. Bioactive paper, dostupno na: [http://en.wikipedia.org/wiki/Bioactive\\_paper](http://en.wikipedia.org/wiki/Bioactive_paper), 10.01.2012 [25]
26. Sentinel, Bioactive paper network, dostupno na:  
<http://www.bioactivepaper.ca/index.php?module=page&id=4000>, 10.01.2012 [26]
27. Robert Pelton, Bioactive paper provides a low-cost platform for diagnostics, Trends in Analytical Chemistry, Vol. 28, No. 8, 2009., str. 925-942 [27]
28. Canadian paper innovation holds promise for improved global health safety, dostupno na: [http://www.eurekalert.org/pub\\_releases/2007-05/mu-cpi052307.php](http://www.eurekalert.org/pub_releases/2007-05/mu-cpi052307.php), 11.01.2012 [28]
29. Toxin detection as close as an inkjet printer, dostupno na:  
[http://www.eurekalert.org/pub\\_releases/2009-07/mu-tda071309.php](http://www.eurekalert.org/pub_releases/2009-07/mu-tda071309.php), 11.01.2012 [29]
30. Roger E. Luckham and John D. Brennan, Bioactive paper dipstick sensors for acetylcholinesterase inhibitors based on sol-gel/enzyme/gold nanoparticle composites, Analyst, 2010, Vol. 135, No. 8, str. 2028-2035 [30]
31. Colourimetric sensor detects pesticide toxins, dostupno na:  
[http://www.rsc.org/Publishing/ChemTech/Volume/2010/08/potential\\_toxins.asp](http://www.rsc.org/Publishing/ChemTech/Volume/2010/08/potential_toxins.asp) 13.01.2012 [31]
32. Researchers use phage to create a new paper-based packaging method to control the growth of Listeria and E. coli O157:H7, dostupno na:  
<http://www.bioactivepaper.ca/index.php?module=newser&func=display&topicnum=1&nid=93>, 14.01.2012 [32]
33. Daniel Flück, Colorblind Population, dostupno na:  
<http://www.colblindor.com/2006/04/28/colorblind-population/>, 16.01.2012 [33]
34. Color ADD project brings color identification to the color-blind, dostupno na:  
<http://bestinportugal.com/color-add-project-brings-color-identification-to-the-color-blind>, 17.01.2012 [34]