

Projekt-Nr.: IGF-FV: 16344N

Laufzeit: 01.02.2010 – 31.01.2012

Forschungsstellen: Deutsches Kunststoff-Institut (DKI)

TU-Darmstadt, Papierfabrikation und Mechanische Verfahrenstechnik (PMV)

Hochschule Darmstadt, Chemie-Biotechnologie, Mikrobiologie (h\_da)

# Papier- und Kartonverpackungen für Lebensmittel und Gartenbauprodukte mit mikroverkapselten, antimikrobiellen Wirkstoffen

## 1 Einleitung

Das umfangreiche Angebot an Lebensmitteln wäre ohne moderne Verpackungen nicht möglich. Neben dem Schutz der Waren vor Verlust und Beschädigung müssen Verpackungen heute eine Vielzahl zusätzlicher Funktionen erfüllen: Beispielsweise sollen Sie Informationsträger sein oder funktionelle Barriereigenschaften besitzen. Um die Lebensmittelqualität zu sichern, werden hohe Ansprüche an die Verpackungen gestellt, da verschiedene Faktoren, wie beispielsweise nicht auf das Packgut angepasste Feuchtigkeits- oder Sauerstoffgehalte den Verderb des Packgutes herbeiführen oder beschleunigen können. Besonders problematisch ist der Befall mit Mikroorganismen, die sich schnell auch über mehrere Verpackungseinheiten hinweg verbreiten können. Die Mikroorganismen können bei der Ernte, dem Verpackungsprozess, aber auch durch das Verpackungsmaterial selbst auf das Packgut übertragen werden. Gerade in Recyclingpapier, das häufig das Ausgangsmaterial für die Verpackung von verderblichem Obst und Gemüse darstellt (Abb. 1), kann eine große Zahl unterschiedlicher Mikroorganismen zu finden sein<sup>[1,2]</sup>.



Abb.1: Beispiele für Lebensmittelverpackungen aus Papier und Karton (von links: Seidenpapier zum Einwickeln unbehandelter Zitrusfrüchte, Tray aus Wellpappe für Äpfel und Kernobst sowie Transportverpackung für Litchis aus Wellpappe)

Verschiedene Lösungen für Verpackungen, die einen Verderb von Lebensmitteln verzögern oder verlangsamen können, existieren auf dem Markt. Solche Verpackungen, die zu diesem Zweck aktiv mit dem Packgut oder der Atmosphäre innerhalb oder außerhalb der Verpackung in Wechselwirkung treten, werden als aktive Verpackungen bezeichnet. Aktive Komponenten können beispielsweise unerwünschte Stoffe wie Wasserdampf, das Reifegas Ethylen oder unangenehm riechende Substanzen adsorbieren oder absorbieren.

Eine spezielle Form der aktiven Verpackungen sind antimikrobielle Verpackungen. Sie verhindern oder verzögern das Wachstum von Mikroorganismen, die durch Kontaminationen des Produkts oder durch das Verpackungsmaterial selbst vorhanden sind. Dies wird beispielsweise durch Säckchen, Pads oder andere Einlagen erreicht, die in die Verpackungen gegeben werden und dort flüchtige antimikrobielle Wirkstoffe kontinuierlich abgeben. Diese Form aktiver Verpackung leidet allerdings unter mangelnder Akzeptanz seitens der Verbraucher, unter anderem auch durch die Angst des versehentlichen Verzehrs. Wirkstoffe können darüber hinaus direkt in das Verpackungsmaterial eingearbeitet oder auf deren Oberfläche aufgetragen werden. In sehr speziellen Fällen können Verpackungsmaterialien von sich aus antimikrobiell wirken.

Die meisten Konzepte für antimikrobiell ausgerüstete Verpackungen existieren im Bereich der Kunststoffverpackungen. Für Verpackungen aus Papier und Karton sind in der Fachliteratur und auf dem Markt nur wenige Beispiele zu finden<sup>[3-6]</sup>. Eine Übertragung der Erkenntnisse aus dem Kunststoffbereich auf Papier, Karton oder Wellpappe ist insbesondere für kleine und mittlere Unternehmen (kmU) von Interesse, da weit über 90 % der deutschen papierverarbeitenden Betriebe, die im Bereich Verpackungsherstellung tätig sind, dem kmU-Bereich angehören. Auch in der Papierindustrie sind kmU zu finden, welche die Rohstoffherzeugung für Papier- und Kartonverpackungen gewährleisten.

Eine direkte Übertragung der antimikrobiellen Ausrüstung von Verpackungen aus dem Kunststoff- in den Papierbereich erscheint durch die verschiedenen Material- und Oberflächeneigenschaften sowie die geringeren Barriereigenschaften des Papiers nicht besonders praktikabel. Es wurde deshalb im Rahmen dieses Projektes ein neues, für Papier- und Kartonverpackungen angepasstes Konzept entwickelt und getestet.

Der Verderb von Obst und Gemüse, die häufig in Kartonverpackungen gelagert und transportiert werden, beginnt meist an der Oberfläche. Dort kann eine Verunreinigung zum Beispiel durch den Verpackungsprozess oder das Verpackungsmaterial, das direkten Kontakt zu den Lebensmitteln hat, auftreten. Auch beim Transport können durch Oberflächenverletzung, Abrieb und Erschütterung Keime und Sporen auf das Füllgut übergehen. Die wesentliche Aufgabe antimikrobiell ausgerüsteter Verpackungen sollte also darin bestehen, das Oberflächenwachstum von Mikroorganismen auf Lebensmitteln zu verhindern. Derzeit wird dies häufig durch Applikation von Wirkstoffen durch Tauchen oder Sprühen direkt auf die Lebensmittel erzielt. Diese Verfahren haben jedoch den Nachteil, dass die Konservierung meist durch eine Überdosierung erreicht wird, was aus ökonomischen und gesundheitlichen Gründen als Mangel angesehen werden muss.

Idealerweise müsste sich demnach ein antimikrobieller Wirkstoff im Verpackungsmaterial oder auf dessen Oberfläche befinden, so dass er einerseits dort ein Wachstum verderbniserregender Keime verhindert oder verlangsamt und andererseits die Ausbreitung dieser Mikroorganismen über mehrere Verpackungseinheiten hinweg verhindert, wenn das Packgut aus einer anderen Quelle befallen

wurde. Damit der Wirkstoff nur bei Bedarf freigesetzt und damit auch das Packgut nicht unnötig belastet wird, wäre dessen Applikation in einer Depotform sinnvoll, die den Wirkstoff nur dann freisetzt, wenn ein mikrobieller Befall stattfindet.

Eine geeignete Lösung für dieses Problem ist die Einbettung eines Wirkstoffs in Mikropartikel, die auf einfache Weise auf eine Papieroberfläche aufgetragen oder beim Papierherstellungsprozess in die Masse eingebunden werden können. Die Hülle oder die Matrix der Mikropartikel können beispielsweise aus einem bioabbaubaren Material bestehen, das von den gleichen Mikroorganismen oder deren Stoffwechselprodukten - wie beispielsweise Enzymen - abgebaut werden kann, die auch das Packgut befallen. Wenn nun dieses Material abgebaut wird, wird der Wirkstoff freigesetzt und tötet die Mikroorganismen ab oder hemmt deren Wachstum.

Bei den Mikropartikeln kann es sich sowohl um Mikrokapselformen handeln, die mit einem flüssigen oder in einem Lösungsmittel gelösten Wirkstoff gefüllt sind, oder um monolithische Mikroklugeln, bei denen der Wirkstoff in ein bioabbaubares Material eingebettet ist (Abbildung 2). Diese beiden Typen unterscheiden sich insbesondere in ihrem Wirkstofffreisetzungprofil. Während bei den Kapseln zu erwarten ist, dass der Wirkstoff rasch und hochkonzentriert austritt, sobald die Kapselwand durch Abbau perforiert ist, sollten massive Klugeln den Wirkstoff über einen längeren Zeitraum kontinuierlich, dann aber in geringeren Konzentrationen abgeben.

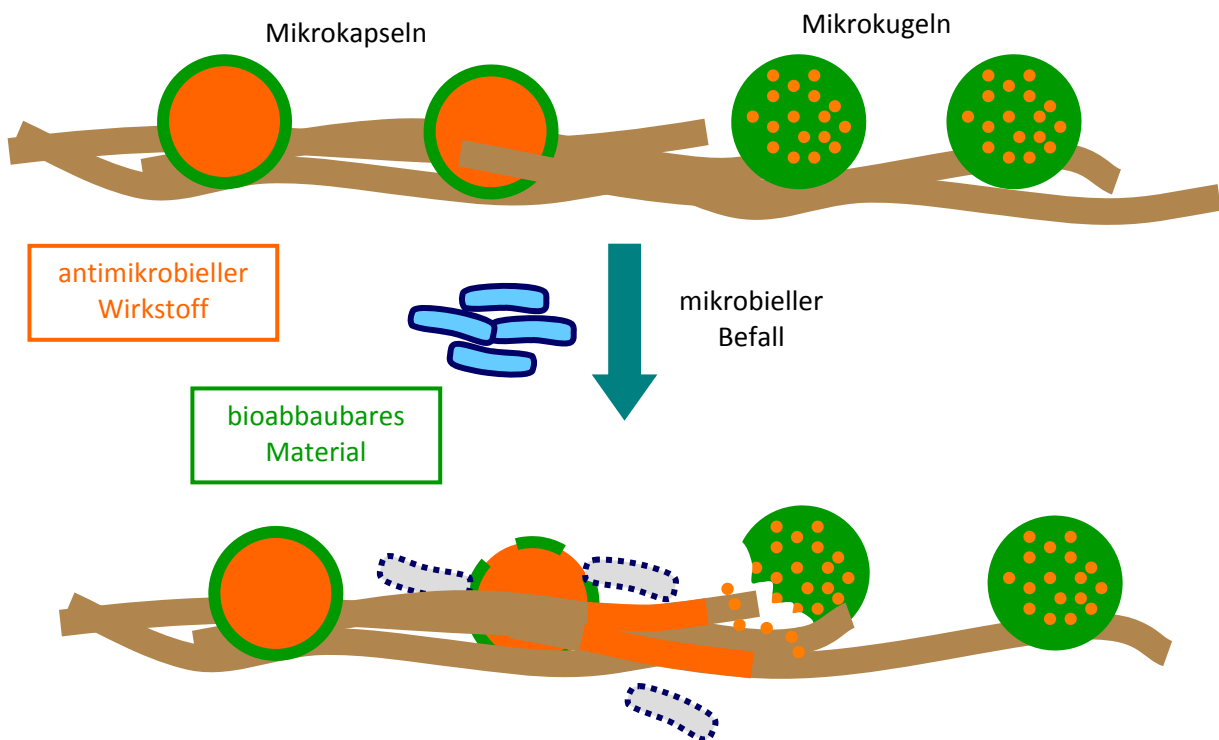


Abbildung 2. Schematische Darstellung einer möglichen Funktionsweise bioabbaubarer, mit antimikrobiellem Wirkstoff beladener Mikropartikel.

Um dieses Ziel zu erreichen, wurden in einem interdisziplinären Projekt geeignete Mikropartikel entwickelt, auf Papier und Karton aufgetragen und die daraus resultierenden aktiven Verpackungsmaterialien hinsichtlich ihrer Wirksamkeit getestet. Beteiligt daran waren das Deutsche Kunststoff-Institut (DKI), das Fachgebiet Papierfabrikation und Mechanische Verfahrenstechnik der TU Darmstadt (PMV) sowie das Fachgebiet Mikrobiologie der Hochschule Darmstadt (h\_da).

Eine wichtige Anforderungen an die antimikrobiell ausgerüsteten Papiere war eine ausreichende und dauerhafte Wirksamkeit bei möglichst geringen Wirkstoffkonzentrationen, um einerseits das Packgut nicht unnötig zu belasten und um andererseits den Preis für die aktive Komponente möglichst gering zu halten. Bei der Materialauswahl sollte weiterhin berücksichtigt werden, dass die aktiven Komponenten für den Menschen nicht gesundheitsschädlich sind und nicht die Eigenschaften der Verpackung, wie beispielsweise deren mechanische Stabilität oder Bedruckbarkeit, negativ beeinflussen.

Ebenfalls zu berücksichtigen war, dass insbesondere kleine und mittlere Betriebe die aktiven Komponenten kostengünstig und mit vorhandener oder leicht modifizierter Ausstattung und einfach durchzuführenden Auftragsverfahren applizieren können.

Um einerseits während der Projektlaufzeit eine Möglichkeit zur Erfolgskontrolle zu besitzen und um andererseits nach einer möglichen Umsetzung der Ergebnisse in die Praxis eine Testmethode für die Qualitätssicherung und Weiterentwicklung zur Verfügung zu haben, wurden mikrobiologische Testmethoden entwickelt, die die Untersuchung, Validierung und Qualifizierung antimikrobiell ausgerüsteter Papier- und Kartonproben erlauben.

## 2 Ergebnisse

### 2.1 Herstellung wirkstoffbeladener Mikropartikel

Als Modell für wasserlösliche Wirkstoffe wurden zunächst Farbstoffe mit dem W/O/W-Doppelemulsionsverfahren in eine Hülle aus dem bioabbaubaren Polymer Poly(lactid-co-glycolid) (PLGA) verkapselt und Freisetzungsprofile des Farbstoffs erstellt (Abbildung 3a). Dabei wurde festgestellt, dass die Kapselhülle aus PLGA für den verwendeten Farbstoff keine ausreichende Barriere darstellt. Darüber hinaus reagierte das System gegenüber einem Austausch des Farbstoffs durch einen Wirkstoff sehr empfindlich, so dass die Herstellung wirkstoffgefüllter Kapseln mit diesem Verfahren in angemessener Zeit nicht zu erwarten war und auf Grund dieser Erkenntnisse nicht weiterverfolgt wurde.

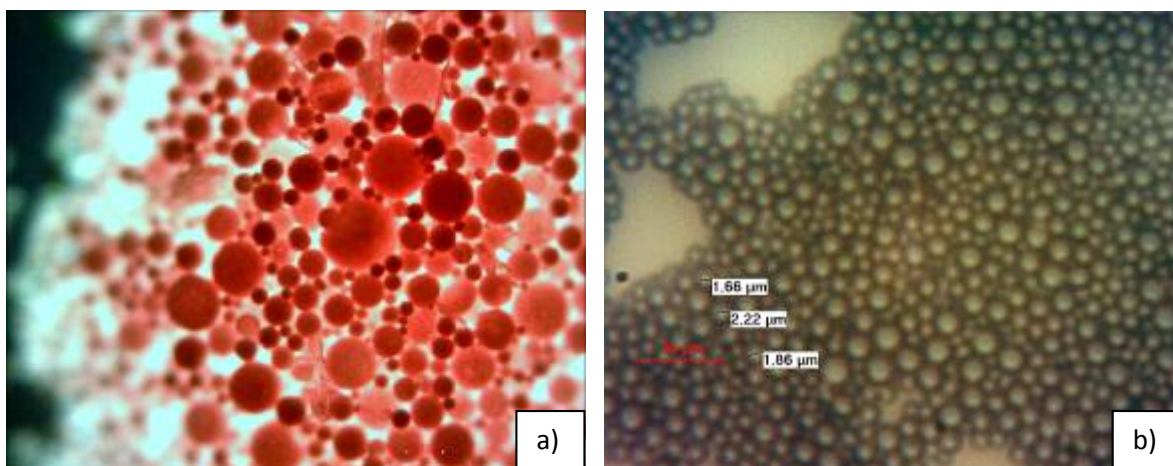


Abbildung 3. a) Farbstoffgefüllte Mikrokapseln, hergestellt mit dem W/O/W-Doppelemulsionsverfahren. b) Wirkstoffgefüllte Kapseln, hergestellt mit der Grenzflächenpolykondensation.

Für die Verkapselung von öllöslichen Inhaltsstoffen diente die Grenzflächenpolykondensation, bei der üblicherweise Mikrokapseln mit Hüllen aus Polyamid hergestellt werden. Da die aus der

Grenzflächenpolykondensation resultierenden Polyamid-Kapselwände unter den für die Anwendung vorgesehenen Bedingungen nicht abbaubar sind, wurden zunächst maßgeschneiderte, bioabbaubare Makromonomere hergestellt<sup>[7]</sup>. Dieses Verfahren lieferte stabile Kapseldispersionen (Abbildung 3b), bei denen der Inhaltsstoff auch nach längerer Lagerzeit nicht durch die Kapselwand diffundierte. Kapseln, die den Wirkstoff 4-Hexylresorcin beinhalten, zeigten gegenüber Testkeimen eine antimikrobielle Wirksamkeit, die nach deren Applikation auf Papier allerdings nicht mehr feststellbar war.

Schließlich wurde ein Verfahren ermittelt, mit dem wirkstoffbeladene Mikrokugeln hergestellt werden konnten. Bei diesen Verfahren wird ein Wirkstoff gemeinsam mit dem bioabbaubaren PLGA in einem organischen Lösemittel gelöst. Die organische Lösung wird dann in Wasser emulgiert und das Lösemittel wird abgedampft. Dabei entsteht eine Dispersion wirkstoffbeladener PLGA-Mikrokugeln (Abbildung 4). Die so hergestellten Kugeln waren sowohl zu Testzwecken auf einem Glassubstrat als auch nach Applikation auf Papier antimikrobiell wirksam. Das Verfahren ist unempfindlich gegenüber Rezepturveränderungen und damit flexibel an verschiedene Anforderungen anpassbar.

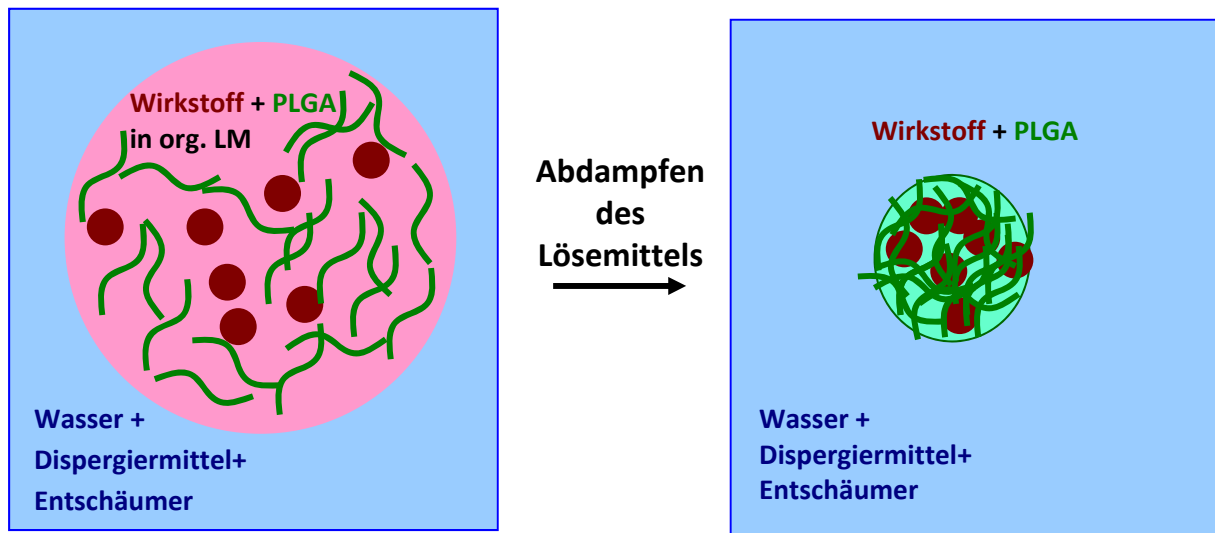


Abbildung 4. Schematische Darstellung der Herstellung wirkstoffgefüllter bioabbaubarer Mikrokugeln

## 2.2 Applikation der Mikropartikel auf Papier und Karton

Die verschiedenen Mikropartikel wurden mit unterschiedlichen Methoden auf Papier appliziert, um einerseits deren Einfluss auf die Papiereigenschaften prüfen zu können und um andererseits mit mikrobiologischen Tests deren Wirksamkeit testen zu können.

Der Auftrag der Mikropartikel mit einem Laborrakelgerät ermöglichte einen guten Übertrag sowie eine gute Verteilung der Partikel (Abbildung 5a). Für dieses Verfahren konnten Bindemittel gefunden werden, die eine ausreichend gute Haftung erzielten, was mit Rupf- und Reibtests gezeigt werden konnte. Die Festigkeitseigenschaften des Rohpapiers werden durch die Applikation der Partikel leicht verbessert. Der Auftrag der Mikrokapseln und -kugeln sollte daher im industriellen Blade und Rollrakel-Verfahren prinzipiell möglich sein.



Das Einbringen der Mikropartikel bei der Laborblattbildung bewirkte eine Verringerung der Papierfestigkeiten, die durch eine Rezepturanpassung ausgeglichen werden konnte. Bei Einträgen von mindestens  $3 \text{ g/m}^2$  Kugeln (trocken) war die Zugabe eines Retentionsmittels erforderlich.

Die Verwendung der Druckverfahren Tiefdruck, Flexodruck und Offsetdruck ermöglichten einen problemlosen Übertrag der Mikrokapseln auf das Papier. Beim Tief- und Flexodruck beeinflussten die Mikrokapseln das Druckbild auf negative Weise, was beim Offsetdruck nicht zu beobachten war.

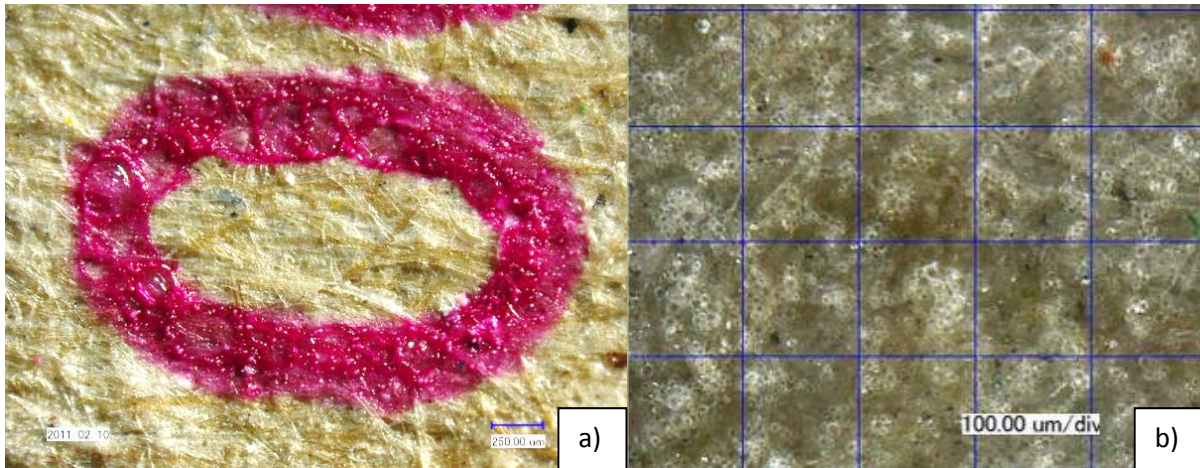


Abb.5. a) Mit Farbstoff gefüllte Mikrokapseln auf Papier gedruckt. b) Wirkstoffbeladene Mikropartikel durch Rakeln auf Papier aufgetragen.

Die Untersuchungen zur Eignung einer Sprühanlage für den Auftrag von Mikropartikeln zeigten, dass sowohl eine ausreichende Partikelanzahl als auch eine gleichmäßige Verteilung sowie eine gute Haftung erzielt werden kann. Negative Auswirkungen auf die Papierfestigkeiten konnten, wie bei den Rakelversuchen, nicht festgestellt werden.

Bei den Untersuchungen an einer Wellpappenversuchsanlage zeigte sich, dass ein Einbringen der Mikrokapseln in die Verklebung des Wellen und Deckenpapiers durch eine Dosierung in den Leim möglich ist. Da der Auftrag der Mikrokapseln nicht flächig möglich ist, ist er für den Anwendungsfall der antimikrobiellen Ausrüstung vermutlich zu gering.

Im Rahmen der hier vorgestellten Untersuchungen konnten mit dem Rakelstreichverfahren und der Blattbildung antimikrobiell wirksame Papiermuster hergestellt werden. Bei den eingesetzten Mikrokugeln führte ein zweischichtiger Auftrag, der die Kugeln nicht kaschiert, zum Erfolg. Auch bei der Blattbildung, in der die Kugeln ohne Bindemittel eingetragen wurden, konnten sie ihre antimikrobielle Wirksamkeit entwickeln.

### 2.3 Mikrobiologische Untersuchungen

Bei Untersuchungen zur Abbaubarkeit des verwendeten Kapselwandmaterials PLGA konnte gezeigt werden, dass bestimmte Enzyme den Abbau beschleunigen können<sup>[8]</sup>. Allerdings ließen die In-vitro-Daten keinen Rückschluss zu, in welchem Ausmaß der enzymkatalysierte im Vergleich zum hydrolytischen Abbau zur Freisetzung von antimikrobiellen Wirkstoffen aus aktiven Verpackungen beiträgt.

Für die Entwicklung angepasster mikrobiologischer Methoden wurden verschiedene Mikroorganismen eingesetzt, um eine fundierte Bewertung der mikrobiziden bzw. mikrobiostatischen Wirkung der

Proben zu ermöglichen. Es gelang schließlich die Entwicklung eines schnell und reproduzierbar durchführbaren modifizierten Hemmhoftests, der die Untersuchung antimikrobiell ausgerüsteter Papier- und Kartonproben erlaubt (Abbildung 6).

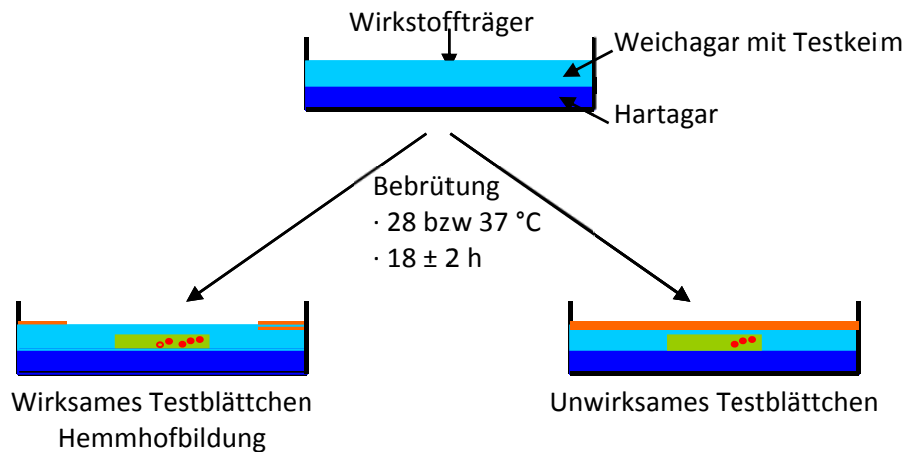


Abbildung 6. Antimikrobielles Wirkstoffscreening - modifizierter Hemmhoftest

In einem Wirkstoffscreening wurden verschiedene Substanzen mit unterschiedlich breiten Wirkspektren identifiziert. Es stellte sich heraus, dass insbesondere 4-Hexylresorcin ein breites Spektrum an Verderbniserregern von Lebensmitteln im Wachstum hemmt und als geeigneter Wirkstoff für die antimikrobielle Ausrüstung von aktiven Verpackungen gelten kann. Darüber hinaus besitzt es eine ausgeprägte mikrobizide Wirkung und verhindert das Wachstum retardierter Keime sowie die Wiederbesiedelung wirkstoffhaltiger Flächen.

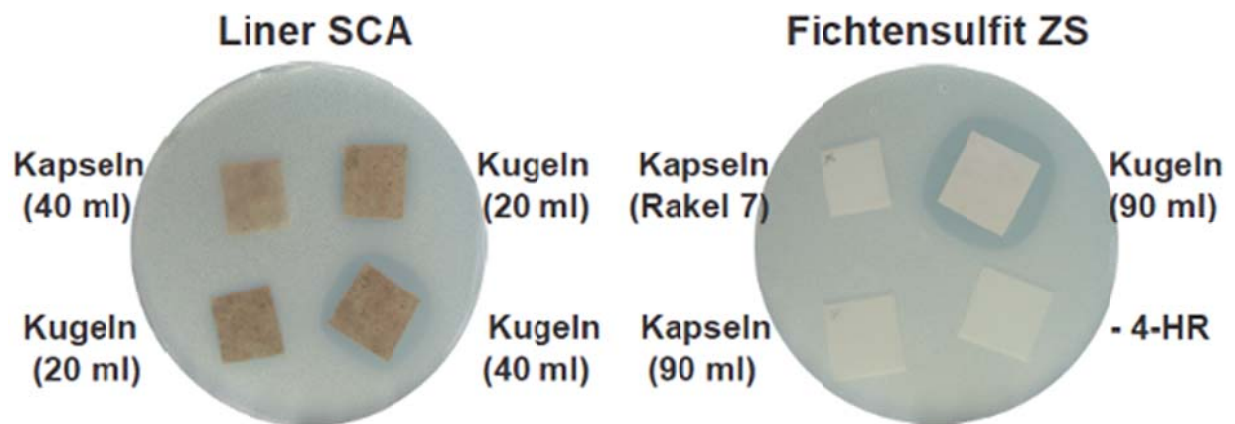


Abbildung 7. Wirkttests von 4-HR-haltigen Papieren aus der Blattbildung. PLGA-Mikrokapseln und - Mikrokugeln mit jeweils 15 % 4-HR, modifizierter Hemmhoftest mit *S. carnosus*.

Sowohl Mikrokapseln als auch Mikrokugeln, die den Wirkstoff 4-Hexylresorcin beinhalten, inhibieren das Wachstum des Testorganismus *S. carnosus*, wobei die monolithischen Kugeln signifikant höhere Wirkstärken erzielen. Nach Applikation der Mikropartikel auf Papier und bei deren Einsatz in der Blattbildung konnte nur bei den Kugeln, nicht aber bei den Kapseln eine Hemmaktivität beobachtet werden (Abbildung 7).

Modifizierte Hemmhofstests, bei denen die Proben vorher nicht desinfiziert wurden, zeigten, dass die Keimbelastung in Blättern, die aus Recyclingpapier gebildet wurden, mit Hilfe wirkstoffbeladener Mikrokugeln keimfrei blieben, während wirkstofffreie Kontrollblätter ein deutliches mikrobielles Wachstum durch Kontaminationen aufwiesen.

### **3 Zusammenfassung**

Im Rahmen dieses Projektes gelang die Herstellung wirkstoffbeladener Mikropartikel, die sich mit üblichen Applikationsmethoden auf Papier und Karton auftragen lassen, ohne die verpackungsrelevanten Materialeigenschaften zu beeinträchtigen. Mit dem 4-Hexylresorcin wurde ein Wirkstoff mit breitem Wirkspektrum identifiziert, der auch in Depotform auf Papier aufgetragen seine Wirksamkeit behält und aufgrund seiner Zulassung als Lebensmittelzusatzstoff für die antimikrobielle Ausrüstung von Lebensmittelverpackungen geeignet ist. Es konnte demonstriert werden, dass mit Hilfe der entwickelten Mikropartikel die Keimbelastung - insbesondere auch in kontaminiertem Recyclingpapier, das häufig die Basis für Obst- und Gemüseverpackungen ist - herabgesetzt werden kann. Verpackungen, die auf diese Weise antimikrobiell ausgerüstet sind, können demnach also als Quelle für eine Kontamination des Packgutes ausgeschlossen werden und können eine Verbreitung von verderbniserregenden Mikroorganismen über mehrere Verpackungseinheiten hinweg verhindern. Das Ziel, eine antimikrobiell ausgerüstete Verpackung auf Papier- oder Kartonbasis zu entwickeln, wurde somit erreicht.

### **4 Danksagung**

Das Forschungsvorhaben Nr. 16344 N der Forschungsvereinigung Kunststoffe zum Thema „Papier- und Kartonverpackungen für Lebensmittel und Gartenbauprodukte mit mikroverkapselten, antimikrobiellen Wirkstoffen“ wurde im Programm zur Förderung der industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie über die AIF finanziert. Für diese Förderung sei gedankt.

Gefördert durch:



aufgrund eines Beschlusses  
des Deutschen Bundestages



## 5 Literatur

1. Öqvist, C. K., Kurola, J., Parkasrinen, J., Ekman, J., Ikavalko, S., Simell, J., Salkinoja-Salonen, M. J. *Ind. Microbiol. Biotechnol.* **35**, (2008) 1165-1173.
2. Väisänen, O., Elo, S., Marmo, S., Salkinoja-Salonen, M., *J. Ind. Microbiol.* **4** (1998) 419-428.
3. Microbeguard: MICROBEGUARD Corporation, Elk grove Village, IL 60007, USA  
<http://microbeguard.com>, letzter Aufruf 02/2012
4. Soares, N. F. F., Moreira, F. K. V., Fialho, T. L., Melo, N. R. *Polym. Adv. Technol.* **23** (2012), 901-908.
5. Bordenave, N., Grelier, S., Coma, V., *Biomacromolecules*, **11**, (2010), 88-96
6. Lee, J., Lee, Y.-H., Jones, K., Sharek, E., Pascall, M. A., *Int. J. Food Sci. Technol.* **46** (2011) 2382-2386.
7. Luckachan, G. E.; Pillai, C. K. S. *J. Polym. Sci. Pol. Chem.* **44** (2006) 3250-3260.
8. Kemme, M., Prokesch, I. und Heinzl-Wieland, R. *Polym. Test.* **30** (2011) 743-748.

## Kontakt:

Dr. Roland Klein  
Fraunhofer-Institut für Betriebsfestigkeit und Systemzuverlässigkeit LBF  
Bereich Kunststoffe  
(ehemals Deutsches Kunststoff-Institut, DKI)  
Schloßgartenstr. 6  
64289 Darmstadt  
Tel.: 06151/705-8611  
[roland.klein@lbf.fraunhofer.de](mailto:roland.klein@lbf.fraunhofer.de)

Prof. Dr. Samuel Schabel  
Technische Universität Darmstadt  
Fachgebiet Papierfabrikation und Mechanische Verfahrenstechnik  
Alexanderstr. 8  
64283 Darmstadt  
Tel.: 06151/16-5912  
[schabel@papier.tu-darmstadt.de](mailto:schabel@papier.tu-darmstadt.de)

Prof. Dr. Regina Heinzl-Wieland  
Hochschule Darmstadt  
Fachbereich Chemie- und Biotechnologie  
Fachgebiet Mikrobiologie  
Schnittspahnstr. 12  
64287 Darmstadt  
Tel.: 06151/16-8204  
[regina.heinzl-wieland@h-da.de](mailto:regina.heinzl-wieland@h-da.de)