

Biocidi za dezinfekciju ruku i površina na tržištu RH

Pavić, Ivona

Master's thesis / Diplomski rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:159:748859>

Rights / Prava: [Attribution-NoDerivatives 4.0 International](#)/[Imenovanje-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-18**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, rujan 2020.

Ivona Pavić
1300/USH

**BIOCIDI ZA DEZINFEKCIJU
RUKU I POVRŠINA NA TRŽIŠTU
RH**

Rad je izrađen na Zavodu za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom prof.dr.sc. Sanja Vidaček Filipec.

ZAHVALA

Ovom prilikom želim zahvaliti mentorici prof. dr.sc. Sanji Vidaček Filipec što je prihvatila mentorstvo i predložila zanimljivu temu te ustupila potreban materijal i literaturu za izradu diplomskog rada. Također zahvaljujem na korisnim savjetima i pomoći, utrošenom vremenu i na velikom strpljenju i razumijevanju.

Želim zahvaliti svojim roditeljima, Zdravki i Zdenku, te sestri i braći, koji su mi omogućili bezbrižno školovanje i što su imali puno razumijevanja, ljubavi i strpljenja tijekom cijeloga moga obrazovanja.

Posebno, i najveće hvala, mojoj prijateljici Dominiki za neizmjernu podršku, pomoć i ljubav tijekom ovoga puta.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Diplomski rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo
Laboratorij za tehnologiju mesa i ribe

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

BIOCIDI ZA DEZINFEKCIJU RUKU I POVRŠINA NA TRŽIŠTU RH

Ivona Pavić 1300/USH

Sažetak:

Cilj ovog rada je analiza aktivnih tvari u biocidnim proizvodima za dezinfekciju ruku i površina koji su odobreni za stavljanje na tržište od strane Ministarstva zdravstva Republike Hrvatske u periodu od 2009. do ožujka 2020. godine te pregled aktualne znanstvene literature o upotrebi biocida i dezinfekciji u prehrambenoj industriji. Od ukupno 2784 proizvoda u Registru biocidnih proizvoda, izdvojeni su svi proizvodi za osobnu higijenu ljudi i dezinfekcijska sredstva na području hrane i hrane za životinje, te su utvrđene najčešće aktivne tvari i formulacije proizvoda. Klasični načini dezinfekcije imaju određene izazove, uslijed čega se istražuju alternativne metode dezinfekcije, učinkovita rješenja za teško uklonjive mikroorganizme te rješenja za specifične probleme u pojedinim sektorima prehrambene industrije. Najveći broj istraživanja odnosi se na ispitivanje novih aktivnih tvari i postupaka dezinfekcije kao primjerice korištenje biljnih ekstrakata i fitokemikalija, bakterija mliječne kiseline, enzima i drugih spojeva dobivenih iz mikroorganizama, kavitacije i elektrizirane vode, te upotreba nanočestica srebra.

Ključne riječi: biocidni pripravci, dezinfekcija ruku, dezinfekcija površina, klorni spojevi, alkohol

Rad sadrži: 53 stranice, 11 slika, 14 tablica, 81 literaturnih navoda

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u: Knjižnica Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, Kačićeva 23, Zagreb

Mentor: Prof.dr.sc. Sanja Vidaček Filipec

Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:

1. Doc.dr.sc.Tibor Janči
2. Prof.dr.sc.Sanja Vidaček Filipec
3. Izv.prof.dr.sc.Marina Krpan
4. Prof. dr. sc. Ksenija Marković

Datum obrane: 24.rujna, 2020.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Graduate Thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
Department of Food Engineering
Laboratory for Meat and Fish Technology
Scientific area: Biotechnical Sciences
Scientific field: Food Technology

BIOCIDES USED FOR DISINFECTION OF HANDS AND SURFACES IN THE REPUBLIC OF CROATIA

Ivona Pavić 1300/USH

Abstract:

The goal of this thesis is analysis of the active substances in the biocidal products used for disinfection of hands and surfaces that were approved to be placed on market under the Regulation of the Ministry of Health of the Republic of Croatia, in the period from 2010. until March 2020, and actual scientific literature overview of biocidal products use and disinfection in the food industry. Out of 2784 products in the Register of Biocidal Products, all products for personal hygiene and disinfectants in the field of food and animal feed were singled out. In addition, the most common active substances and product formulations were identified. Current ways of disinfection have their own challenges, therefore, alternative methods of disinfection in the food industry are being explored, as well as efficient solutions against microorganisms that are hard to remove and solutions for specific problems in individual sectors of the food industry. Most research is focused on testing the new active substances and disinfection methods, for example the use of plant extracts and phytochemicals, lactic acid bacteria, enzymes and other compounds obtained from microorganisms, use of cavitation and electrolyzed water, and use of silver nanoparticles.

Keywords: the biocidal preparations, hand disinfection, surface disinfection, chlorine compounds, alcohol.

Thesis contains: 53 pages, 11 figures, 14 tables, 81 references

Original in: Croatian

Graduate Thesis in printed and electronic (pdf format) version is deposited in: Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, Zagreb.

Mentor: Sanja, Vidaček Filipec, PhD.Full professor

Reviewers:

1. PhD. Tibor, Janči, Assistant professor
2. PhD. Sanja, *Vidaček Filipec*, Full professor
3. PhD. Marina, Krpan, Associate professor
4. PhD. Ksenija Marković, Full professor

Thesis defended: 24 September 2020.

Sadržaj

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	2
2.1. ZAKONSKI PROPISI I DEFINICIJE BIOCIDNA U PREHRAMBENOJ INDUSTRIJI	2
2.2. HIGIJENA RUKU	3
2.3. ČISTOĆA POVRŠINA U PREHRAMBENIM OBJEKTIMA.....	7
2.4. VALIDACIJA ČISTOĆE RUKU I POVRŠINA	11
2.5. SREDSTVA ZA DEZINFEKCIJU/ SANITACIJU POVRŠINA I RUKU	12
2.6. UČINKOVITOST BIOCIDNA	13
2.7. KARAKTERISTIKE NAJČEŠĆIH BIOCIDNA.....	20
2.7.1. Klorni spojevi	20
2.7.2. Peroksidi	21
2.7.3. Jodni spojevi	21
2.7.4. Kvaterni amonijevi spojevi.....	22
2.7.5. Alkoholi	24
2.7.6. Aldehidi	24
2.7.7. Fenol.....	24
2.7.8. Bigvanidi.....	25
3. EKSPERIMENTALNI DIO	27
3.1. MATERIJALI	27
3.2. METODE	28
4. REZULTATI I RASPRAVA	29
4.1. VRSTA PROIZVODA 1: BIOCIDNI PROIZVODI ZA OSOBNU HIGIJENU LJUDI	29
4.2. TRENDOVI I IZAZOVI U UPOTREBI ANTISEPTIKA	34
4.3. VRSTA PROIZVODA 4: DEZINFEKCIJSKA SREDSTVA NA PODRUČJU HRANE I HRANE ZA ŽIVOTINJE	38
4.4. TRENDOVI I IZAZOVI U UPOTREBI KLORNIH SPOJEVA I PEROKSIDA	43
5. ZAKLJUČCI	54
6. LITERATURA.....	55

1. UVOD

Čistoća ruku i površina opreme u objektima u kojima se priprema i proizvodi hrana jedni su od najvažnijih postupaka za sigurnosti hrane, a osigurava se provođenjem kontroliranih postupaka pranja i dezinfekcije odgovarajućim sredstvima. Postupci osiguravanja čistoće ruku i površina obuhvaćaju pranje te potom dezinfekciju. Dezinfekcija se u prehrambenim objektima najčešće obavlja primjenom kemijskih sredstava - biocidnih proizvoda.

Biocidni proizvodi ili pripravci su tvari i smjese koje sadrže jednu ili više aktivnih tvari čija je zadaća spriječiti djelovanje štetnog organizma na kemijski ili biološki način. Krovni zakonski propis o stavljanju na raspolaganje na tržište i uporabi biocidnih proizvoda je Uredba 328/2012, prema kojoj se biocidni proizvodi definiraju kao tvari i smjese, priređene u obliku u kojem se isporučuju korisniku, koje se sastoje od, sadrže ili proizvode jednu ili više aktivnih tvari i čija je namjena uništiti, odvratiti, učiniti bezopasnim, spriječiti djelovanje, odnosno nadzirati bilo koji štetni organizam na bilo koji način osim čisto fizičkim ili mehaničkim djelovanjem. Aktivna tvar je tvar ili mikroorganizam koji djeluje na ili protiv štetnih organizama. Ako se biocidni proizvod želi staviti na tržište to zahtjeva autorizaciju, a aktivne tvari koje sadržavaju biocidi moraju biti prethodno odobrene (Joka, 2018).

Prema Uredbi (EU) 2012/528 biocidni proizvodi dijele se u četiri osnovne skupine, skupina 1: Dezinfekcijska sredstva i opći biocidni proizvodi, skupina 2: Sredstva za zaštitu, skupina 3: Zaštita od nametnika i skupina 4: Ostali biocidni proizvodi, što sveukupno čini dvadeset i dva biocidna proizvoda. U ovom radu bit će opisane karakteristike vrste proizvoda 1 i vrste proizvoda 4 koji pripadaju osnovnoj skupini 1. Vrste proizvoda 1 obuhvaća biocide koji se koriste za osobnu higijenu ljudi, dok pod vrste proizvoda 4 spadaju dezinfekcijska sredstva na području hrane i hrane za životinje.

Cilj ovog rada je analiza aktivnih tvari u biocidnim proizvodima za dezinfekciju ruku i površina koji su odobreni za stavljanje na tržište od strane Ministarstva zdravstva Republike Hrvatske u periodu od 2009. do ožujka 2020. godine te pregled aktualne znanstvene literature o upotrebi biocida i dezinfekcije u prehrambenoj industriji.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. ZAKONSKI PROPISI I DEFINICIJE BIOCIDIA U PREHRAMBENOJ INDUSTRIJI

Osnovni higijenski zahtjevi u proizvodnji hrane navedeni su u Pravilniku o higijeni hrane, NN 46/2007 te podrazumijevaju uspostavu preduvjetnih programa, i za većinu objekata, implementaciju HACCP sustava. Preduvjetni programi obuhvaćaju Dobru higijensku praksu (DHP), Dobru proizvođačku praksu (DPP), Standardne operativne postupke (SOP) i Standardne sanitacijske operativne procese (SSOP). Jedan dio dobre higijenske prakse odnosi se na pravila pranja i po potrebi dezinfekcije ruku djelatnika, dok SSOP obuhvaćaju čišćenje i, po potrebi, dezinfekciju ili sanitaciju svih površina, a posebno onih koji su u direktnom kontaktu s hranom. (HAH, 2006)

Dezinfekcija ruku i površina najčešće se obavlja upotrebom kemijskih biocida, koji se definiraju kao sredstva sa dezinfekcijskim ili antiseptičkim djelovanjem. Termini „dezinfekcijsko sredstvo“ i „sanitacijsko sredstvo“ često se naizmjenično koriste u prehrambenoj industriji u svijetu. Dok je „dezinfekcijsko sredstvo“ ili „dezinficijens“ izraz koji se uglavnom koristi u zdravstvenom okruženju, u prehrambenoj industriji u EU, te za sredstva za upotrebu u domaćinstvu, termin „sanitacijsko sredstvo“ se koristi uglavnom u prehrambenoj industriji u SAD-u.

Razlika je ipak jasna prema Agenciji za zaštitu okoliša (engl. *United States Environmental Protection Agency*) koja definira sredstva za sanitaciju kao tvar ili mješavinu tvari koja smanjuje populaciju bakterija u neživom okolišu u značajnom broju, ali ne uništava i ne uklanja sve bakterije. Dezinfekcijsko sredstvo je tvar ili mješavina tvari koje u neživom okolišu uništavaju ili nepovratno inaktiviraju bakterije, gljivice i viruse, ali ne nužno i bakterijske spore. (EPA, 40 CFR 158.2203). Za komercijalne proizvode to jednostavno znači da dezinfekcijska sredstva osiguravaju višu razinu dokazivog smanjenja opterećenja mikroba u odnosu na sredstva za sanitaciju. U tablici 1. prikazane su razlike između sredstava za sanitaciju i dezinfekciju.

Tablica 1. Prikaz razlike između sredstava za sanitaciju i dezinficijensa

(Anonymous 1, 2016)

	Sredstvo za sanitaciju	Sredstvo za dezinfekciju
Smanjenje broja mikroorganizama: Površine koje nisu u dodiru s proizvodom	3 log 99,9 % (5 min)	6 log 99,9999 % (10 min)
Smanjenje broja mikroorganizama: Površine u dodiru s proizvodom	5 log 99,999 % (30 s)	6 log 99,9999 % (10 min)
Kontrola gljivica i virusa	Ne	Da

U nekim slučajevima isti proizvod može biti i sredstvo za dezinfekciju i sredstvo za sanitaciju ukoliko se koristi u različitim koncentracijama, ili na različitim površinama, ili tijekom dužeg kontaktnog vremena.

Biocidi koji se koriste za kontrolu bioloških opasnosti sa ruku nazivaju se antiseptici. Antiseptici su kemijski dezinficijensi koji se primjenjuju na živom tkivu bez štetnih posljedica za razliku od dezinficijensa koji se primjenjuju za nežive tvari, odnosno površine. Antiseptik mora biti dovoljno učinkovit i jak da djeluje na mikroorganizme, a da pri tome ne iritira osjetljivo tkivo. Učinkovitost antiseptika određuje antimikrobna aktivnost i toksičnost na živo tkivo. Indeks toksičnosti definiran je kao omjer najvećeg razrjeđenja antiseptika koji uništi životinjsku stanicu u roku od 10 minuta, te razrjeđenja koje uništi bakterijske stanice u istom vremenu i pod istim uvjetima. Indeks je uveden upravo zato da bi se u odnosu na dva navedena parametra mogli usporediti antiseptici. Dobrim antiseptikom smatra se antiseptik koji ima indeks toksičnosti manji od 1,0, što znači da je više toksičan za bakterije nego za tkivo (Tofant, 2004).

2.2. HIGIJENA RUKU

Čistoća ruku djelatnika u prehrambenim objektima jedna je od najvažnijih postavki u jamčenju sigurnosti hrane. U svim objektima za preradu i pripremu hrane djelatnici moraju znati zašto i kako trebaju prati ruke, a detaljni opis postupka mora biti vidljiv u svim objektima. Unatoč velikoj usredotočenosti prehrambene industrije u svijetu na pravilno pranje ruku, neusklađenost sa preporukama je česta, a brojni slučajevi izbijanja bolesti uslijed nepravilnog pranja ruku javljaju se svake godine (Conover i Gibson, 2016). Primjerice, Michaels i sur. (2004) objavili

su da je od 308 epidemija koje su se pripisale djelatnicima prehrambenih objekata sa ili bez simptoma, 59 % epidemija nastalo zbog onečišćenja prehrambenog proizvoda ručnim dodirima.

U prehranbenom području vrlo često se neprecizno koriste termini koji se odnose na postupke postizanja čistoće ruku, odnosno dekontaminacije. Za razliku od prehrambene struke, higijena ruku je posebno dobro razrađena u području medicine, bolničkih sustava i skrbi za bolesnike, a definicije, načini i postupci dekontaminacije ruku navedeni su u Smjernicama za higijenu ruku u RH. Dekontaminacija ruku provodi se u bolničkom okruženju na tri moguća načina, odnosno može se provoditi obično pranje, higijenska dezinfekcija te kirurška dezinfekcija ili antiseptička pranje ruku.

- Obično pranje ruku je pojam pod kojim se podrazumijeva klasično pranje ruku uz pomoć sapuna i vode ili uz upotrebu različitih pripravaka (najčešće na bazi alkohola) bez vode.

Kod običnog pranja ruku toplom vodom i sapunom trajanje je oko jedne minute. Ruke se ispiru pod tekućom vodom i suše jednokratnim ručnikom. Ruke je potrebno obično oprati prije rukovanja s hranom i prije jela, prije hranjenja bolesnika te poslije korištenja zahoda.

Kada su ruke vidljivo čiste, vrši se dezinfekcija antiseptičkim sredstvom temeljenom na alkoholu. Ova antiseptička sredstva za utrljavanje, na bazi alkohola, primjenjuju se za reduciranje patogene mikrobiološke flore, a imaju mali utjecaj na normalnu floru kože, koja se nalazi kod svakog zdravog pojedinca. Alkoholno antiseptičko sredstvo je djelotvornije i djeluje brže nego higijensko pranje ruku.

- Higijenska dezinfekcija ili antiseptička pranje ruku je postupak pranja ruku antiseptičnim deterdžentom i higijensko utrljavanje - alkoholnim pripravkom. Dezinfekcija ruku vrši se dakle u dva koraka; prvi podrazumijeva higijensko pranje ruku deterdžentnim antiseptikom u trajanju 40-60 sekundi u 6 koraka nakon čega slijedi higijensko utrljavanje alkoholnog antiseptika u trajanju od jedne minute. Antiseptička sredstva koja se upotrebljavaju u tu svrhu su klorheksidindiglukonat, jodofori, triklozan, heksaklorofen.

Primjer alkoholnog antiseptika je tekući proizvod PLIVA SEPT blue, koji se sastoji od dvije aktivne tvari: etanola i klorheksidindiglukonata (koji spada u grupu bigvanida) i registriran je kao proizvod 1., biocidni pripravci za osobnu higijenu ljudi-alkoholni

antiseptik za ruke. Upute za upotrebu navedene su na stranicama proizvođača kada se primjenjuje kao higijenska dezinfekcija ili kirurška priprema ruku. Tako se za PLIVA SEPT blue navodi sljedeće: na dlanove suhih ruku i zapešća nanese se PLIVA SEPT blue (najmanje 3 ml i utrljava u kožu ruku i zapešća te između prstiju, sve dok se koža potpuno ne osuši (najmanje 30 sekundi)).

Učinkovitost dezinfekcije pokazuje redukcija ukupnog broja kolonija (colony-forming unit) nakon provedenog postupka pranja ili utrljavanja. To je razlika logaritama ukupnog broja kolonija $\log_{cfu/ml}$ ispirka brisa ili \log_{cfu/cm^2} otiska prije i nakon dezinfekcije. Označen je kao faktor redukcije RF.

$\log_{fo} [10RF = \log_{fo} 10]$ vrijednosti prije dezinfekcije – $\log_{fo} 10$ vrijednosti poslije dezinfekcije

Redukcija broja mikroorganizama nakon higijenskog pranja ruku i dezinfekcije mora iznositi $3 \log_{fo} 10$, dakle RF mora biti 3.

- Kirurška dezinfekcija ili antisepsa ruku podrazumijeva iste proizvode kao i one za higijensku dezinfekciju ili antisepsu, a razlika je u dužini vremena pranja, koje se produljuje na 2-3 minute, i povećanoj površini pranja, jer se peru ručni zglobovi i podlaktice.

Što se tiče prehrambene struke, dekontaminacija ruku u subjektima u poslovanju hranom vrši se na tri načina:

- A. pranje sapunom i vodom te sušenje (provođenje u jednom koraku = pranje ruku)
- B. pranje sapunom i vodom te sušenje i zatim utrljavanje antiseptika (provođenje u dva koraka = pranje i dezinfekcija)
- C. pranje vodom i antiseptičkim sapunom (1 korak = pranje i dezinfekcija u jednom koraku)

Smjernice za pranje ruku u objektima dostupne su u svim Vodičima dobre prakse te u obaveznoj literaturi tečaja higijenskog minimuma kojeg pohađaju svi djelatnici koji se zapošljavaju u prehrambenim objektima.

Postupak pranja ruku prema materijalima Vodiča higijene dobre prakse za ugostitelje prikazan je na slici 1. Sam postupak pranja ruku se ponešto razlikuje od onog koji je naveden u Smjernicama za higijenu ruku u bolničkoj skrbi. Tako se u smjernicama za prehrambene objekte navodi da je potrebno navlažiti ruke do laktova tekućom toplom vodom i zatim na ruke nanijeti tekući sapun. Tijekom pranja ruke treba trljati dlan od dlan, od dlanova do lakta, prste i između prstiju. Pažnju treba posvetiti palčevima, ispod noktiju, ručnom zglobu i cijeloj podlaktici, najmanje 30 sekundi. Ruke treba dobro isprati pod tekućom toplom vodom, osušiti ruke papirnatim ubrusom, te istim ubrusom zatvoriti slavinu.



Slika 1. Postupak pranja ruku prema materijalima Vodiča higijene dobre prakse za ugostitelje

(Bulić i sur.,2009)

Smjernice Hrvatske agencije za hranu i poljoprivredu u *Osnovnim uputama za higijensku proizvodnju hrane* navode dulje vrijeme provođenja postupka pranja ruku. Navodi se da se ruke pravilno peru pod tekućom toplom vodom i sa tekućim sapunom na način da se sapunom dobro istrlja površina ruku i prstiju u trajanju od najmanje 2 minute. Nakon trljanja, ruke se

trebaju dobro isprati, te osušiti jednokratnim papirnatim ubrusom ili na neki drugi način, budući da se štetni mikroorganizmi mogu lakše širiti ako su ruke vlažne. Gdje je to potrebno, ruke se trebaju oprati uz korištenje dezinfekcijskog sredstva. U većini prehrambenih industrija provodi se dezinfekcija tekućim antiseptikom nakon pranja ruku.

2.3.ČISTOĆA POVRŠINA U PREHRAMBENIM OBJEKTIMA

Cilj SSOP-a je održavanje površina opreme, pribora i pogona u čistom stanju kako ne bi došlo do križne kontaminacije do prehrambenog proizvoda. Osim, dakle, površina opreme i pribora koje su u direktnom kontaktu s proizvodima, podne i zidne površine te vrata moraju se redovito čistiti, kao i pribor kojima se obavlja čišćenje. Sredstva za čišćenje i dezinfekciju ne smiju se skladištiti u prostorima u kojima se rukuje hranom, a prema potrebi, mora se osigurati odgovarajući prostor za čišćenje, dezinfekciju i skladištenje radnog pribora i opreme (NN, 46/2007).

Postupak održavanja higijene površina obično podrazumijeva nekoliko koraka:

- uklanjanje grube prljavštine i ostataka hrane,
- čišćenje kemijskim sredstvima i deterdžentom,
- ispiranje,
- dezinfekciju (odnosno sanitaciju) i
- ispiranje (ako treba isprati dezinficijens).

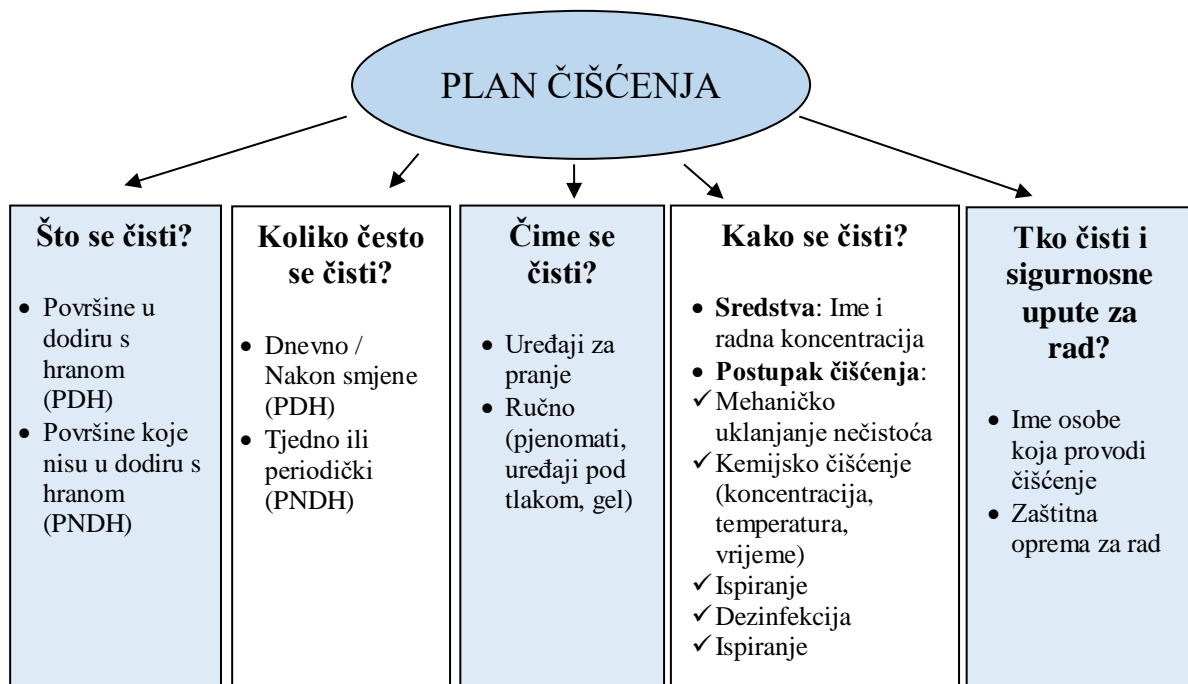
Čišćenje i dezinfekcija su povezani postupci higijenskog procesa, ali najčešće ih je potrebno odvojiti u izvedbi. Čišćenjem uklanjamo ostatke hrane i dio bakterija sa površina, a dezinfekcijom uništavamo ili smanjujemo preostale mikroorganizmena adekvatnu razinu.

Što se tiče redoslijeda postupka čišćenja i dezinfekcije, prvo je potrebno ukloniti i isprati vidljive nečistoće, zatim obaviti postupak kemijskog čišćenja kojim uklanjamo vidljive i nevidljive zaostatke. Slijedi ispiranje vodom, potom dezinfekcija i konačno ispiranje vodom. Na posljetku, vrlo je važan postupak sušenja.

Održavanje čistoće objekta i opreme vrlo je složeno i zahtijeva strogu kontrolu, stoga svi postupci sanitacije trebaju biti ispravno planirani, kontrolirani i dokumentirani, te jasni zaposlenicima koji provode sanitaciju.

Svi objekti koji posluju s hranom moraju imati plan i evidenciju čišćenja.

Planovi (ili radne upute) moraju biti dovoljno detaljne, ali jasne i konkretne te zasebno pisane za svaki dio pogona, opreme ili pribora. Ukratko, plan čišćenja odgovara na pitanja što se čisti, čime se čisti (pribor ili oprema za čišćenje), kako se čisti (postupak čišćenja), koliko često se čisti te tko čisti. Obično sadržava i naziv evidencije koja se mora ispuniti nakon provedenog postupka te sigurnosne upute za rad (Slika 2).



Slika 2. Prikaz plana čišćenja i dezinfekcije

Primjer plana čišćenja (sanitacije) u ribljoj industriji prikazan je na tablici 2.

Tablica 2. Primjer plana sanitacije u ribljoj industriji

Ime subjekta	PLAN SANITACIJE POGON PRERADE-mokri pogon			Obrazac 4.1.- Č&D Revizija:0 Datum:	
Područje primjene	Sredstvo i koncentracije	Opis postupka	Oprema	Izvršitelj	Učestalost
SORTIRKA	xx	Ručno ili putem pjenomata nanijeti na površine pripremljeno sredstvo. Nakon 30 minuta isprati s vodom do uklanjanja sredstva.	pjenomat, uređaj za pranje pod pritiskom	radnici na pranju	NAKON SVAKE UPORABE
TUŠEVI	xx	Ručno ili putem pjenomata nanijeti pripremljeno sredstvo na površine. Nakon 30 minuta isprati s vodom do uklanjanja sredstva.	pjenomat, uređaj za pranje pod pritiskom	radnici na pranju	NAKON SVAKE UPORABE
STROJ ZA PRANJE PVC KAŠETA	xx	Ručno ili putem pjenomata nanijeti na površine pripremljeno sredstvo. Nakon 30 minuta isprati s vodom do uklanjanja sredstva.	pjenomat, uređaj za pranje pod pritiskom	radnici na pranju	NAKON SVAKE UPORABE
KAŠETE	xx	Ručno ili putem pjenomata nanijeti na površine pripremljeno sredstvo. Nakon 30 minuta isprati s vodom do uklanjanja sredstva.	pjenomat, uređaj za pranje pod pritiskom	radnici na pranju	NAKON SVAKE UPORABE
PODNE I ZIDNE POVRŠINE	xx	Otopiti praškasto sredstvo u vodi, te nanijeti na površine. Nakon 15 minuta isprati s vodom do uklanjanja sredstva.	uređaj za pranje pod pritiskom	radnici na pranju	DNEVNO
	xx	Isprati pod vodom kako bi se uklonila gruba zaprljanja. Ručno ili putem pjenomata nanijeti na površine pripremljeno sredstvo. Nakon 30 minuta isprati	pjenomat, uređaj za pranje pod pritiskom	radnici na pranju	MJESEČNO

		s vodom do uklanjanja sredstva.			
--	--	---------------------------------	--	--	--

Za uspješnu provedbu sanitacije važno je educirati osoblje te dati jasne upute tko i kako treba obavljati poslove čišćenja. Pri provedbi postupka pranja i dezinfekcije treba strogo pratiti upute proizvođača kemikalija. Naime, učinak čišćenja bit će zadovoljavajući samo ako su ispunjena četiri preduvjeta, a to su: dovoljna koncentracija sredstva za čišćenje, dovoljno dugo trajanje postupka, prikladna temperatura i odgovarajuća snaga postupka. Različiti načini provedbe postupka mogu imati različite vrijednosti navedenih elemenata kao što je prikazano na slici 2. Kontrola postupka je isto tako važan korak. Vizualnim se pregledom provjerava ima li zaostalih nečistoća na opremi i priboru te zapisuje u evidenciju. Periodički se provodi i kontrola objektivnom metodom uzimanja briseva.

Tablica 3. Primjer evidencije o obavljenom čišćenju i dezinfekciji u industriji prerade ribe

Ime subjekta		EVIDENCIJA SANITACIJE Mokri pogon				Obrazac 4.4.- Č&D Revizija:0 Datum:	
FREKVENCIJA: dnevno / prema potrebi							
ODGOVORNA OSOBA ZA VERIFIKACIJU:							
KOREKTIVNE MJERE: 1 –ponovno čišćenje, 2 – promjena sredstva za čišćenje							
Datum	Vrijeme	Potpis izvršioca	Mjesto kontrole (1-5)	Način kontrole (V, B)	Rezultati (zadovoljava / ne zadovoljava)	Korektivne mjere	Potpis

1 – sortirka; 2 – tuševi; 3 – stroj za pranje kašeta; 4 – podne i zidne površine; 5 – prozori, vrata
V – vizualno; B – bris

Sredstva za dezinfekciju su biocidi, dakle kemikalije. Kad se s njima ne postupa na odgovarajući način, mogu biti štetna za zdravlje zaposlenika koji njima rukuju, kao i za potrošača. Kao što je već navedeno, kemikalije za čišćenje treba u objektu držati u odvojenim prostorijama udaljenim od hrane, zaposlenici moraju biti obučeni za siguran rad s njima, a poslodavac treba zaposlenike opskrbiti zaštitnom odjećom i opremom, ako je njezino korištenje preporučeno u uputama proizvođača kemikalija.

2.4.VALIDACIJA ČISTOĆE RUKU I POVRŠINA

Kontrola čistoće površina i ruku u objektima za pripremu i preradu hrane vrši se vizualno i povremenim instrumentalnim te mikrobiološkim kontrolama, kao što je to navedeno u primjeru evidencijske liste u tablici 3. U manjim objektima, kao primjerice ugostiteljski objekti, minimalno se dva puta godišnje uzimaju uzorci površina i ruku djelatnika, te se analiziraju prema Pravilniku o učestalosti kontrole i normativima mikrobiološke čistoće u objektima pod sanitarnim nadzorom (Pravilnik, 2009). Normativom mikrobiološke čistoće propisuje se granica prihvatljivosti uzorka obzirom na prisutnost, broj mikroorganizama i vrstu, kao što je prikazano u tablici 4. Prema Pravilniku o učestalosti kontrole i normativima mikrobiološke čistoće u objektima pod sanitarnim nadzorom (Pravilnik, 2009), normativi mikrobiološke čistoće dijele se na aerobne mezofilne bakterije i enterobakterije.

Tablica 4. Prikaz normativa mikrobiološke čistoće (Pravilnik, 2009)

PREDMETI, POVRŠINE, RUKU	Aerobne mezofilne bakterije	<i>Enterobacteriaceae</i>
	ODGOVARA	ODGOVARA
Porculanske, staklene, glatko metalne površine cfu*/cm ²	≤ 10 (≤ 1)***	0 – 1
Ostale površine (drvene, plastične, kamene i sl.) cfu*/cm ²	≤ 30 (≤ 1)***	0 – 1
Tanjuri, zdjelice, pribor za jelo i manje posuđe; Posuđe i pribor koje dolazi u kontakt s hranom i POU** cfu*/mL (cm ²)	≤ 100 (≤ 1)***	0 – 1
Boce ili ambalaža za tekućine cfu*/mL	0 - 1	0 – 1
Ruke osoba u dodiru s hranom i POU** cfu*/ mL (cm ²)	≤ 200 (≤ 2)***	0 – 1

*cfu – colony forming unit (broj kolonija bakterija)

**POU- predmeti opće uporabe

***navedene vrijednosti odnose se na otisak

Metoda brisa i metoda otiska su metode koje se primjenjuju kod određivanja mikrobiološke čistoće. Metoda brisa se provodi na način da se namotaj vate na štapiću namoči u sterilnoj fiziološkoj otopini te se prebriše radna ruka – plantarni dio šake, dlan, prsti, rubovi noktiju ili se površina ograniči sterilnim šablonom s otvorom 5x5 cm. Uzeti bris vrati se u epruvetu, zatim se doda 10 ml sterilne fiziološke otopine i dobro homogenizira. Na hranjivu podlogu se nasađuje 1 ml i obradi se prema priznatim mikrobiološkim metodama. Rezultat se izrazi kao cfu/ml

ispirka brisa. Metoda otiska provodi se tako što se otisak uzima odgovarajućom krutom podlogom za namnažanje bakterija. Podloga može biti u petrijevoj zdjelici posebno konstruiranoj za tu namjenu ili na pločici. Nakon uzetog otiska pločica se inkubira pri zadanoj temperaturi. Rezultat se izražava kao cfu/ cm² otiska (Tofant, 2004).

Uzorak je prihvatljive mikrobiološke čistoće ukoliko odgovara mikrobiološkim normativima, također i ako sadrži do 50 % veći broj aerobnih mezofilnih bakterija (cfu/ml) uz uvjet da ne sadrži patogene bakterije (NN, 79/07, 113/08, 43/09).

U industrijskim objektima češće se vrše mikrobiološke kontrole čistoće, a kod proizvodnje visokorizične hrane i svakodnevno, te ne samo prema kriterijima navedenima u pravilniku nego primjerice i na *Listeria* vrste ili druge mikroorganizme. Svaka industrija postavlja planove i kontrolu čišćenja prema vlastitoj procjeni rizika.

2.5.SREDSTVA ZA DEZINFEKCIJU/ SANITACIJU POVRŠINA I RUKU

Svaki objekt za pripremu i proizvodnju hrane mora koristiti sredstva za čišćenje i dezinfekcije ruku i površina strogo prema uputama dobavljača. Dobavljači sredstava za dezinfekciju ruku i površina moraju imati odobrenje za stavljanje na tržište biocidnih proizvoda. Uredbom (EU) br. 528/2012 o stavljanju na raspolaganje na tržište i uporabi biocidnih proizvoda u pogledu određenih uvjeta za pristup tržištu uređuje se stavljanje na tržište te se njezinom nadopunom, Uredbom (EU) br. 334/2014 Europskog parlamenta i vijeća, definiraju uvjeti i obveze odgovornih u lancu distribucije. (Joka, 2018)

U Uredbi (EU) br. 328/2012, biocidni proizvodi se definiraju kao tvari i smjese, priređene u obliku u kojem se isporučuju korisniku, koje se sastoje od, sadrže ili proizvode jednu ili više aktivnih tvari, i čija je namjena uništiti, odvratiti, učiniti bezopasnim, spriječiti djelovanje, odnosno nadzirati bilo koji štetni organizam na bilo koji način osim čisto fizičkim ili mehaničkim djelovanjem. Biocidni pripravci zahtijevaju autorizaciju prije stavljanja na tržište, a aktivne tvari sadržane u određenom biocidnom pripravku moraju biti prethodno odobrene.

Iz članka 19. iz Uredbe 528/2012 biocidni proizvodi odobravaju se ako, između ostalog zadovoljavaju sljedeće uvjete:

- a) aktivne tvari su odobrene za dotičnu vrstu proizvoda i ispunjeni su svi navedeni uvjeti za te aktivne tvari;
- b) sukladno jedinstvenim načelima za ocjenjivanje dokumentacije o biocidnim proizvodima iz

Priloga VI., utvrđeno je da biocidni proizvod ispunjava sljedeće kriterije:

- i. biocidni proizvod je dovoljno učinkovit;
- ii. biocidni proizvod nema nikakve neprihvatljive učinke na ciljne organizme, a posebno neprihvatljivu ili unakrsnu otpornost niti uzrokuje nepotrebnu patnju i bol za kralježnjake;
- iii. biocidni proizvod kao takav i njegovi ostaci nemaju neposrednih niti odgođenih, neprihvatljivih učinaka za zdravlje ljudi, uključujući ranjive skupine, ili životinja izravno ili preko vode za piće, hrane, hrane za životinje, zraka ili drugih neizravnih učinaka;
- iv. biocidni proizvod kao takav i njegovi ostaci nemaju nikakvih neprihvatljivih učinaka na okoliš. Ako je potrebno, za hranu i hranu za životinje određuju se najveće dopuštene količine ostataka s obzirom na aktivnu tvar sadržanu u biocidnom proizvodu.

Od 1.9.2015. proizvođač aktivne tvari mora biti na popisu Europske agencije za kemikalije (European Chemicals Agency - ECHA) da bi mogao biti na tržištu Europske unije. Ukoliko aktivna tvar nije registrirana za određenu namjenu (pripadajuća skupina) i ne nalazi se na popisu, proizvođač/unosnik ne može na tržište (Joka, 2018). Od 1.9.2015. sve tvrtke koje stavljaju biocidne proizvode na tržište Republike Hrvatske dužne su osigurati dokaze kojima se potvrđuje da je dobavljač aktivne tvari koja se nalazi u biocidnom proizvodu uključen na popis koji vodi ECHA.

Nakon provjere statusa aktivne tvari te prikupljene potrebne dokumentacije od strane dobavljača, registrira se biocidni proizvod. Za biocidne proizvode treba ishoditi odobrenje prije stavljanja na tržište. Biocidni proizvodi se klasificiraju u neku od 22 vrste proizvoda koji su grupirani u 4 osnovne skupine.

2.6. UČINKOVITOST BIOCIDA

Svaki biocid i biocidni proizvod mora se podvrgnuti testovima učinkovitosti kako bi se utvrdio njegov spektar djelovanja, kao što zahtjeva krovni zakonski propis - Uredba 328/2012. Tako pojedine aktivne tvari i proizvodi mogu imati baktericidno, fungicidno, virucidno i/ili sporicidno djelovanje. Germicid je sinonim za biocid, odnosno to je agens koji razara sve vrste mikroorganizama, za razliku od baktericida, fungicida i virucida, koji pokazuju letalni učinak za pojedine vrste mikroorganizama. Baktericidno djelovanje označava svojstvo tvari da uništava bakterije, gljivice i viruse ili općenito mikroorganizme. Fungicidno djelovanje se odnosi na svojstvo tvari da uništava gljivice. Virucidno djelovanje označava svojstvo tvari da uništava viruse, asporicidno djelovanje se odnosi na svojstvo tvari da uništava spore (Asaj, 2000).

Biocidi su vrlo raznoliki prema svojstvima kemijske strukture i spektru djelovanja (Russell, 2001), što je prikazano u tablici 5. Postoji mnogo klasa sredstava za dezinfekciju i sanitaciju: halogena sredstva (klorna sredstva, jod), kvarterni amonijevi spojevi (KAS), peroksidi, aldehidi (npr. glutaraldehid, orto-ftalaldehid), fenoli (npr. triklosan), bigvanidi (npr. klorheksidin), alkoholi, kiselo-anionska sredstva za sanitaciju i karboksilna kiselina (Russell, 2001). Sva su ta sredstva kemijski različita, iako neka imaju slične mehanizme djelovanja. Na primjer, KAS, bigvanidi i fenoli su membranski aktivni agensi. Uz to, neki se biocidi mogu koristiti u kombinaciji, kao klorheksidin i alkohol.

Tablica 5. Tipovi i svojstva antimikrobnih biocida (Maillard, 2016)

Biocidi	Faktori koji utječu na aktivnost		Tipična upotreba
	pH	Zaostatci nečistoća	
Aldehidi glutaraldehid, orto-ftalaldehid, formaldehid	>7	-	Očuvanje (npr. kozmetike), sterilizacija medicinske opreme
Peroksidi vodikov peroksid, peroctena kiselina	<7	-/+	Dezinfekcija površine, sanitacija, sterilizacija medicinske opreme, antiseptik
Halogen-otpuštajuća sredstva natrij hipoklorit, klor, jod	<7	+	Dezinfekcija površine, dezinfekcija vode, sanitacija, antiseptik
Bigvanidi klorheksidin, aleksidin, PHMB	>7	+	Očuvanje, antiseptik, dezinfekcija površine
Kvaterni amonijevi spojevi	>7	+	Očuvanje, antiseptik, dezinfekcija površine, sanitacija
Fenoli bifenoli, halofenoli	<7	+/-	Antiseptik, dezinfekcija površine
Alkoholi	+		Antiseptik, dezinfekcija površine (često upotreba u kombinaciji)
Organske kiseline	<7		Očuvanje (sanitacija kada se koristi u kombinaciji)

*PHMB - Poli (heksametienbigvanid) hidroklorid

Odabir biocida za specifičnu primjenu ovisi ne samo o karakteristikama sredstva (npr. toksičnosti, korozivnosti, spektar djelovanja itd.) nego i o uvjetima pri kojima će se koristiti (npr. o karakteristikama površine i opremi; vrsti očekivanih mikroorganizama, tipu nečistoće koja se javlja tijekom specifične operacije, razine mikrobiološke kontaminacije) (Tablica 6).

Tablica 6. Poželjne karakteristike sredstava za dezinfekciju i sanitaciju (Maillard, 2016)

<p>Prema antimikrobnoj aktivnosti: Široki spektar aktivnosti, uključujući bakterije, plijesni, viruse Brza antimikrobna aktivnost Zadržavaju stabilnost i antimikrobnu učinkovitost u širokom rasponu pH vrijednosti Zadržavaju stabilnost i antimikrobnu učinkovitost pri širokom rasponu temperature Zadržavaju aktivnost u prisutnosti organskih opterećenja i tvrde vode Zadržavaju aktivnost pri razrjeđenju Rezidualna aktivnost</p>
<p>Prema sigurnosti: Nisu toksični ili su slabo toksični Razgradivi u okolišu</p>
<p>Prema formulaciji i upotrebi: Nisu korozivni ili su slabo korozivni Ne boje površine Nemaju mirisa Imaju dobra svojstva močenja i detergencije Lako se kombiniraju sa tekućinama i prahovima Kompatibilni su sa drugim kemikalijama (surfaktantima) Nisu skupi</p>

2.6.1. Faktori koji utječu na aktivnost biocida

Neuspjeh u procesu dezinfekcije/sanitacije često je rezultat nepoštivanja ili nerazumijevanja faktora odnosno čimbenika koji utječu na antimikrobnu učinkovitost kemijskih biocida. Ti čimbenici mogu se općenito podijeliti na one svojstvene biocidima i one svojstvene mikroorganizmima (Tablica 7) i poznati su za većinu biocida (Russell, 2004).

Tablica 7. Faktori koji utječu na aktivnost biocida
(Maillard, 2016)

FAKTORI	KOMENATRI
Koncentracija	Glavni uzrok neuspjeha dezinfekcije. Razrjeđenje može inaktivirati biocide, posebno one sa visokim eksponentom koncentracije
Kontaktno vrijeme	Skraćeno kontaktno vrijeme može rezultirati preživljavanjem mikroorganizama. Kontaktno vrijeme treba biti prilagođeno uvjetima primjene.
Organsko opterećenje	Posebice važno u prehrambenoj industriji i u kliničkom kontekstu. Može značajno smanjiti antimikrobnu efikasnost biocida.
Temperatura	Može biti problem kada se biocidi koriste u hladnim uvjetima.
pH	Može utjecati i na mikroorganizme i sredstva, posebno ukoliko je kiseo ili bazičan.
Mikroorganizmi <ul style="list-style-type: none"> • Tip • Broj • Fenotip 	S obzirom na osjetljivost mikroorganizmi se razlikuju odbiocida, priona i spora, koji su najotporniji na dezinfekciju. Teška mikrobaonečišćenja je teže dezinficirati/sanitirati. Mikroorganizmi koji se uzgajaju kao biofilmovi ili sa slabijim metabolizmom otporniji su na antimikrobna sredstva nego planktonski uzgojeni mikroorganizmi i mikroorganizmi

2.6.1.1. Čimbenici svojstveni biocidu

Koncentracija se smatra najvažnijim faktorom za učinkovitost antimikrobnih sredstava (Russell i McDonnell, 2000). Učinak promjene koncentracije na antimikrobnu učinkovitost može se procijeniti tzv. eksponentom koncentracije i prikazan je jednačinom:

$$\eta = \frac{\log t_2 - \log t_1}{\log C_1 - \log C_2}$$

pri čemu C_1 i C_2 predstavljaju dvije koncentracije, a t_1 i t_2 odgovarajuće vrijeme da se populacija smanji na istu razinu. Biocidi se razlikuju s obzirom na eksponent koncentracije (Tablica 8). Biocidi s visokim eksponentom koncentracije brzo izgube aktivnost nakon razrjeđivanja, dok oni s malim eksponentom koncentracije zadržavaju aktivnost nakon razrjeđivanja.

Tablica 8. Primjeri eksponenta koncentracije (η)
(Maillard, 2016)

BIOCID	EKSPONENT
FENOLI	4-9,9
ALKOHOLI	
Benzil alkohol	2,6-4,6
Alifatski alkoholi	6,0-12,7
KATIONSKE BIOCIDI	
Klorheksidin	2
Polimerni bigvanidi	1,5-1,6
QAC	0,8-2,5
Kristal violet	0,9
ALDEHIDI	
Formaldehid	1
Glutaraldehid	1
PEROKSIDI	
Vodikov peroksid	0,5

Kontaktno vrijeme važan je faktor svih protokola ispitivanja učinkovitosti biocida, a izbor vremena izlaganja obično odražava uvjete u prehrambenoj industriji. Ne postoji jednostavan odnos između aktivnosti i kontaktnog vremena, iako je duže vrijeme izlaganja obično povezano s boljom aktivnošću. Standardni protokoli ispitivanja učinkovitosti biocida obično navode određeno vrijeme kontakta ili minimalno potrebno vrijeme kontakta. Na primjer, Europski standard za ispitivanje površinskih dezinfekcijskih sredstava (CEN1276, 1997a) nalaže da se $5\log_{10}$ sniženje bakterijske koncentracije mora postići tijekom vremena izlaganja od 5 minuta. Isto tako, higijenski postupak pranja ruku (CEN1499, 1997b) preporučuje najmanje 1 minutno vrijeme kontakta, što odražava prihvatljivo vrijeme pranja ruku u praksi.

Organsko opterećenje ili kontaminacija (npr. krv, ostaci hrane, fekalni materijali) doprinose smanjenju biocidne aktivnosti. Antimikrobna učinkovitost nekih biocida može biti uvelike pod utjecajem nečistoća. Učinak nečistoća također naglašava nužnost čišćenja površina i opreme prije upotrebe biocidnog pripravka.

Aktivnost biocida obično raste sa porastom temperature. Temperatura je problem posebno tijekom skladištenja biocidnog proizvoda tamo gdje se proizvodi smrznuta hrana (Taylor i sur., 1999). Utjecaj temperature na aktivnost može se izračunati pomoću temperaturnog koeficijenta,

a pogodnije pomoću Q10 vrijednosti (promjena aktivnosti nakon porasta od 10°C). Vrijednost Q10 izražena je jednadžbom:

$$Q_{10} = \frac{\text{Vrijeme potrebno za uništavanje } T^{\circ}\text{C}}{\text{Vrijeme potrebno za uništavanje } (T + 10)^{\circ}\text{C}}$$

Standardni protokoli ispitivanja preporučuju ispitivanje pri temperaturi od 20 °C (npr. CEN1276, 1997a) ili oko sobne temperature (18 ± 25 °C) (npr. CEN13697, 2001). Međutim, to ne odražava upotrebu proizvoda na niskoj temperaturi, iako se aktivnost spoja pri dodatnoj temperaturi može testirati.

Učinak pH na antimikrobno djelovanje je kompleksan i može utjecati na mikroorganizam, ali i na sredstvo (Russell, 2004). Za neke biocide njihovo aktivno stanje je neionizirani oblik (npr. fenoli, octena kiselina, benzojeva kiselina), a porast pH smanjuje njihovu aktivnost. Ostali (npr. kationski biocidi, glutaraldehid) pokazuju pojačanu aktivnost pri alkalnim uvjetima. Međutim, ispitivanje antimikrobne učinkovitosti kod različitih pH vrijednosti obično se ne preporučuje, jer je pH obično definiran za dati proizvod i ne može se mijenjati bez utjecaja na stabilnost formulacije proizvoda.

Površina koja će biti dezinficirana obično nije navedena kao faktor koji utječe na aktivnost biocida kao takvog, ali se treba uzeti u obzir. Antimikrobna učinkovitost dezinfekcijskih sredstava ili sanitacijskih sredstava ovisit će u određenoj mjeri o površini na kojoj se koriste. Površine se mogu jako razlikovati, osobito ukoliko su porozne ili neporozne. Porozne površine imat će tendenciju "zarobiti" mikroorganizme i tako ih zaštititi od djelovanja antimikrobnih sredstava, dok neporozne površine mogu umanjiti adheziju bakterija i olakšati postupak čišćenja ili dezinfekcije.

Većina biocidnih formulacija razrjeđuje se prije upotrebe u tvrdoj vodi. Tvrda voda, i posebno prisustvo dvovalentnih kationa (npr. Mg²⁺, Ca²⁺), mogu ometati aktivnost nekih dezinficijensa blokiranjem adsorpcijskih mjesta na bakterijskoj stanici. Tvrdoća vode posebno je zabrinjavajuća kada je formulaciju/proizvod potrebno razrijediti u odgovarajuću radnu koncentraciju s vodom na licu mjesta. Da bi se tvrdoća vode uzela u obzir, standardni protokoli ispitivanja preporučuju uporabu tvrde vode za razrjeđivanje proizvoda i obično navode njen sastav (npr. CEN1276, 1997a; CEN13697, 2001).

2.6.1.2. Čimbenici svojstveni mikroorganizmima

Mikroorganizmi pokazuju različitu razinu osjetljivosti na određeni antimikrobni biocid. Na slici 3. naveden je silazni poredak otpornosti na germicidnu aktivnost protiv različitih mikroba.



Slika 3. Silazni poredak otpornosti na germicidnu aktivnost protiv različitih mikroba

(Kosalec, 2016)

Općenito je prihvaćeno da što je veća razina onečišćenja (tj. broj mikroorganizama), to je teže provesti dezinfekciju. Predviđanje razine onečišćenja može biti teško, a često se razmatra najgori mogući scenarij, tj. visoke koncentracije. Većina testova bazira se na smanjenju broja mikroorganizama na prihvatljivu razinu, ali ne i potpunom uklanjanju mikroorganizama. Kod ovog pristupa može se javiti problem s visoko zaraznim ili virulentnim mikroorganizmima, poput virusa hepatitisa B, *Escherichia coli* O157 za koje bi bilo preporučljivo potpuno uklanjanje.

Bakterijski fenotip može utjecati na aktivnost antimikrobnih biocida. Uvjeti rasta koji uključuju fizičke (npr. temperaturu, prisutnost kisika) i kemijske uvjete (npr. pH), ograničenje hranjivih tvari ali i to jesu li su stanice uzgajane kao biofilm ili u suspenziji, proizvest će mikroorganizme s različitim fenotipom.

2.7. KARAKTERISTIKE NAJČEŠĆIH BIOCIIDA

Raspoloživ je širok spektar dezinfekcijskih sredstava koji se mogu podijeliti u sljedeće grupe:

2.7.1. Klorni spojevi

Spojevi na bazi klora su najčešće primijenjeni halogeni spojevi. Uključuju natrijev hipoklorit, klor dioksid i N-kloro spojeve poput natrijevog dikloroizocianurata (NaDCC). Vrlo jeftina i često primjenjiva formulacija je vodena otopina natrijevog hipoklorita koja proizvodi hipoklorastu kiselinu (HClO) (Krop, 1990; McDonnell i Russell, 1999). HClO je aktivna komponenta i rezultira inaktivacijom svih vrsta mikroorganizama poput bakterija, virusa i spora (Busta i Sofos, 1999).

2.7.1.1. Hipokloriti

Natrijev hipoklorit (NaOCl) ima široku primjenu u dekontaminaciji površina, izbjeljivanju i uklanjanju neugodnih mirisa i u industriji. Također se široko koristi za dezinfekciju voda, npr. pitku vodu i bazene. NaOCl je nestabilan. NaOCl se razgrađuje pri kontaktu s kiselinama, sunčevom svjetlošću, određenim metalima i pri zagrijavanju. NaOCl je jak oksidans i reagira sa zapaljivim spojevima i reducirajućim sredstvima. U otopinama je slaba baza koja je lako zapaljiva. Kad se NaOCl otopi u vodi, formira hipokloritnu kiselinu (HOCl) i manje aktivni hipokloritni ion (OCl⁻). pH vode određuje koliko HOCl nastaje. Klorovodična kiselina (HCl), sumporna kiselina (H₂SO₄) ili octena kiselina se može koristiti za snižavanje pH da bi se povećalo stvaranje HOCl. HOCl se razgrađuje u HCl i kisik, što je vrlo jak oksidans. Prednosti natrijevog hipoklorita su te da je snažan germicid koji kontrolira širok raspon mikroorganizama, bezbojan je, može se koristiti pri temperaturi hladne vode bez da to utječe na aktivnost, lak je za korištenje, skladištenje i transport, te je ekonomičan za korištenje. Natrijev hipoklorit ima kratak rok trajanja, štetan je za kožu i korozivan na nekim metalima.

2.7.1.2. Klor dioksid

Drugi primijenjeni oblik klora je klor dioksid (ClO_2). Sintetizira se reakcijom klora i natrijevog hipoklorita. Međutim, klorov dioksid mnogo je nestabilniji od standardne hipoklorne otopine i razgrađuje klor u plin pri temperaturama višim od $30\text{ }^\circ\text{C}$ kada je izložen svjetlu (Beuchat, 1998). To može dovesti do opasnih situacija, jer su visoke koncentracije plina klora eksplozivne (Codex, 2003; Speek, 2002). Međutim, ako se otopina drži hladnom i zaštićenom od svjetlosti, dezinfekcijsko sredstvo može ostati stabilno u količini do 10 g.

2.7.2. Peroksidi

Vodikov peroksid i peroctena kiselina su glavni predstavnici peroksida. Vodikov peroksid ima širok spektar primjene u prehrambenoj industriji, komercijalno je dostupan u koncentracijama koje variraju između 3 % i 90 %, dok se 35 % rutinski koristi u prehrambenoj industriji (McDonnell i sur., 2002). Primjenjuje se za dekontaminaciju ambalažnog materijala prije punjenja (Duggali Mohr, 1997) i dekontaminacije površine voća i povrća. Vodikov peroksid je i baktericidan i sporicidan (Hugo i Russell, 1999), a općenito je koncentracija od 6 % baktericidna. Peroksidi su djelotvorniji protiv Gram-pozitivnih bakterija u odnosu na Gram-negativne bakterije (Russell, 1990). Kako bi se postigao sporicidan učinak potrebne su koncentracije između 10 % i 30 %.

Peroctena kiselina komercijalno je dostupna u 15 % otopinama kao mješavina vode, vodikovog peroksida i octene kiseline, te djeluje brže od vodikovog peroksida. Ima širok spektar djelovanja protiv virusa, bakterija, kvasaca i spora (Bernstein, 1990). U usporedbi s vodikovim peroksidom na aktivnost peroctene kiseline teško utječu organske tvari (Russell, 1990).

Nedostatak peroksida je taj što nagriza alate i opremu, te štetno djeluje na ljudsko tkivo (Reuter, 1998). Štetno djelovanje peroksida smanjilo je razvoj i upotrebu antikoroziivnih sredstava (Marquis i sur., 1995).

2.7.3. Jodni spojevi

Jod se široko koristi za dezinficiranje opreme i površina za preradu hrane. Jod je manje reaktivan od klora i pod manjim je utjecajem prisutnosti organskih tvari, ali ima i nedostatke poput obojenja ljudske kože, plastičnih dijelova opreme, a ima i relativno visoku cijenu u usporedbi s klorom (Krop, 1990; Hugo i Russell, 1999). Jod se primjenjuje u tri moguće formulacije: etanol-jod, vodene otopine joda i jodofori. Jodofori se najčešće primjenjuju i imaju visoku topivost u vodi, ne stvaraju pare (ispod $50\text{ }^\circ\text{C}$), manje su korozivni na nehrđajući čelik

od otopina koje sadrže klor i obično su učinkovitiji protiv Gram-negativnih i Gram-pozitivnih vegetativnih stanica, kvasca, plijesni i virusa (Bernstein, 1990; Beuchat, 1998). Bakterijske spore (*B. cereus*, *B. subtilis* i *C. botulinum*) otpornije su na jodofore (vrijednosti D su 10 ± 100 puta veće) i za postizanje inaktivacije potrebne su veće koncentracije.

2.7.4. Kvaterni amonijevi spojevi

Kvaterni amonijevi spojevi (KAS, eng. *Quaternary Ammonium Compounds*, QAC) pripadaju skupini amina i srodni su anorganskim amonijevim solima. Nastaju u reakciji između tercijarnih amina i alkil-halida pri čemu nastaje kvaterna amonijeva sol i odgovarajući halid. Kvaterni amonijevi spojevi su neutralne čvrste tvari bez mirisa i boje, s visokim talištima. U normalnim uvjetima KAS ne podliježu kiselo baznim reakcijama kao što podliježu jednostavni amini i imaju konstantno prisutan pozitivan naboj pri povišenom pH, a to je moguće jer su sva četiri supstituenta kovalentno vezana dušikovim atomom.

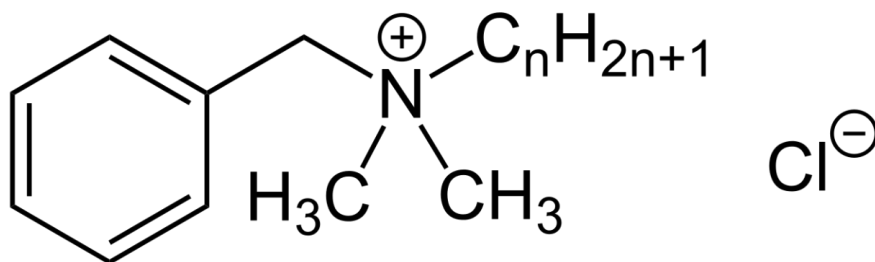
Kvaterni amonijevi kationi ili kvaterni amonijevi surfaktanti skupina su spojeva u kojima je dušik pozitivno nabijen i ima četiri supstituenta. Zbog svoje jednostavne pripreme, strukturne raznolikosti i višestruke primjene, kvaterni amonijevi spojevi već gotovo stoljećima imaju sveprisutnu ulogu kao surfaktanti, boje te kao sredstva za dezinfekciju. (Duggal i Mohr, 1997) Sintetizirani KAS površinski su aktivni kationi koji imaju aktivnost dezinficijensa kao i aktivnost blagih deterdženata. Oni djeluju kao jednostupanjsko sredstvo za čišćenje u vodenoj otopini ili u kombinaciji s deterdžentima. KAS su općenito više učinkoviti u blago alkalnim medijima i njihova učinkovitost može biti značajno poboljšana formulacijom sa kelirajućim agensima kao što je EDTA i s neionskim površinski aktivnim tvarima. Budući da su posebno djelotvorni protiv Gram pozitivnih bakterija poput *L. monocytogenes* oni se široko koriste u proizvodnji hrane i prehrambenim objektima. Učinkoviti su protiv flore kože, posebice stafilokoka i koriste se kao dezinficijensi za ruke. U odgovarajućim razrjeđenjima, KAS su učinkovita, netoksična, biorazgradiva dezinfekcijska sredstva. Čak i u prisutnosti tvrde vode i/ili umjerene količine organskog materijala, imaju širok spektar antibakterijske, antigljivične i antivirusne aktivnosti. Kada se koriste u preporučenim koncentracijama, nemaju okusa, mirisa i gotovo su netoksični (McDonnell i Russel, 1999).

Prednost kvaternih amonijevih spojeva je ta da su stabilni i dugog roka trajanja. Aktivni su protiv mnogih mikroorganizama, te tvore bakteriostatski film. Nekorozivni su i ne iritiraju kožu te su stabilni u prisutnosti organske tvari. Kvaterni amonijevi spojevi u kombinaciji s neionskim ovlaživačima čine dobar deterdžent ili dezinficijens. Također su otporni na promjene temperature. Pored prednosti, kvaterni amonijevi spojevi imaju i nedostatke, kao na

primjer: učinkovitost im je smanjena pri niskim temperaturama, te posjeduju moguće probleme sa zaostacima. Germicidalna efikasnost varira i selektivna je. Kvaterni amonijevi spojevi općenito su biorazgradivi.

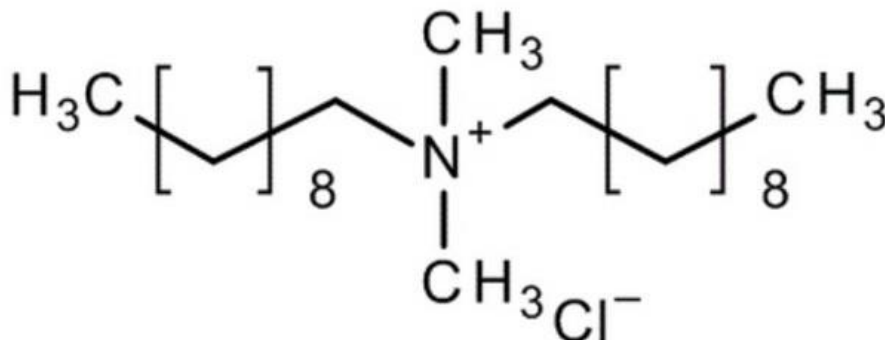
Smatralo se da bakterije ne mogu razviti otpornost na kvaternerne amonijeve spojeve zbog toga što oni imaju sposobnost narušavanja strukture bakterijske stranične membrane dovodeći do razaranja stanice. Provedena istraživanja u zadnjem desetljeću su pokazala da je zbog izuzetne kemijske stabilnosti i učestale upotrebe sve veći broj bakterija razvilo otpornost na KAS.

Najčešći kvaterni amonijevi spojevi su tri-alkilbenzil amonijevi spojevi (npr. benzalkonijev klorid) (Slika 4) i tetra-alkil amonijevi spojevi (npr. didecilmetil-amonij klorid) (Slika 5).



Slika 4. Strukturna formula benzalkonijevog klorida

(Anonymous 2, 2020)



Slika 5. Strukturna formula didecilmetil-amonijevog klorida

(Anonymous 3, 2020)

2.7.5. Alkoholi

Najzastupljeniji alkoholi za dezinfekciju su etil-alkohol (etanol, alkohol), izopropil alkohol (izopropanol, propan-2-ol) i n-propanol (Duggal i Mohr, 1997; McDonnell i Russell, 1999). U prehrambenoj industriji alkohol se posebno koristi za dekontaminaciju tvrdih površina opreme (npr. strojevi za punjenje). Najučinkovitija koncentracija iznosi između 60 % i 70 % (Duggal i Mohr, 1997). Koncentracije za postizanje smanjenja rasta ili potpune inaktivacije su veće nego za klorne otopine ili organske kiseline. Alkoholi brzo reagiraju i imaju širok spektar antimikrobne aktivnosti i inhibiraju rast vegetativnih bakterija, virusa i gljivica. Spore su prilično otporne protiv utjecaja alkohola; međutim, kombinacija 70 % koncentracije s temperaturama do 65 °C rezultira inaktivacijom spora, npr. spore *Bacillus subtilis* (Setlow i sur., 2002). U usporedbi s drugim dezinfekcijskim sredstvima primijenjene koncentracije mnogo su veće (50-100 puta), te su alkoholi djelotvorni samo ako se koriste kao sama tvar, umjesto otopine niske koncentracije. Ovo svojstvo alkohol čini skupljim u upotrebi u usporedbi s klorom i kvaternim amonijevim spojevima, te se stoga ne primjenjuje često na velikim industrijskim proizvodima, već se koristi za aplikacije poput malih, teško dostupnih mjesta u opremi, temperaturnih sondi, te kod brisanja radnih površina. Alkoholi se najčešće koriste kao antiseptici.

2.7.6. Aldehidi

Glutaraldehyd i formaldehyd su dva aldehydna spoja koja se uglavnom koriste za dezinfekciju. Aldehidi djeluju protiv bakterija, virusa, plijesni i spora, te se lako uklanjaju s površina i biorazgradivi su (Duggal i Mohr, 1997). S toksikološkog gledišta aldehidi ne uzrokuju probleme kod ljudi, ako se koriste u propisanim koncentracijama (Duggal i Mohr, 1997). S druge strane formaldehyd može imati mutagene učinke (McDonnell i Russell, 1999). Što se tiče uvjeta prerade, alkalno okruženje je povoljnije od kiselog jer će se na staničnoj površini formirati više reaktivnih mjesta. Primijenjene koncentracije variraju između 0,08 i 1,6 % radi inaktivacije *E.coli*. Za sporicidni učinak obično je dovoljna otopina od 2 %.

2.7.7. Fenol

Bifenoli su hidroksi-halogeni derivati difenil metana, difenil etera i difenil sulfida, a aktivni su protiv bakterija, gljivica i algi. Triklosan i heksaklorofen se najviše koriste (McDonnell i Russell, 1999). Triklosan, derivat difenil etera, poznat je kao sastojak nekih ljekovitih sapuna i gela za čišćenje ruku te paste za zube, a učinkovit je protiv stafilokoka (Hugo i Russell, 1999).

Trenutno se primjenjuje kao antimikrobni sloj u ambalažnom materijalu (Vermeiren i sur., 2002; Chung i sur., 2003) i transportnim trakama. Triklosan može sadržavati koncentracije dioksina i dibenzofurana, tvari vrlo toksične za ljude. Stoga je od velike važnosti da su podrijetlo i način proizvodnje poznati prije primjene na područjima proizvodnje hrane. Trenutna istraživanja pokazuju da triklosan inhibira jedan specifičan enzim sinteze masnih kiselina *E.coli*. To povećava rizik od rezistencije na triklosan jer jedna mutacija gena može rezultirati smanjenom učinkovitošću dezinfekcijskog sredstva (Sixma, 2001).

2.7.8. Bigvanidi

Skupinu bigvanida predstavljaju klorheksidin, aleksidin i polimerni bigvanid (Hugo i Russell, 1999; McDonnell i Russell, 1999). Klorheksidin je vjerojatno najrašireniji biocid u pranju ruku i oralnim proizvodima kao što je ispiranje usta, sprej za usta i pastile za grlo (Sixma, 2001). Bakteriostatski je u koncentraciji od 0,0001 mg l⁻¹, kao i baktericidan u koncentraciji od 0,002 mg l⁻¹ (Russell, 1991). Klorheksidin ima širok spektar djelovanja i ovisi o pH (veća učinkovitost kod alkalnog pH). Njegova učinkovitost uvelike se smanjuje prisustvom organske tvari. Visoke koncentracije klorheksidina uzrokuju koagulaciju unutarstaničnih sastojaka (Russell, 1990; McDonnell i Russell, 1999). Klorheksidin je sporicidan samo na povišenim temperaturama (> 0,005 mg l⁻¹ pri 70°C) i općenito je sporostatičniji; ima malo utjecaja na klijanje spora, ali ne sprječava rast spore (Gorman i sur., 1987; Russell, 1991). Aleksidin i polimerni bigvanid koriste se samo u malom opsegu. Polimerni bigvanidi koriste se posebno u prehrambenoj industriji, ali i za dezinfekciju bazena. Primjer je poli (heksametienbigvanid) hidroklorid (PHMB) koji je glavni aktivni sastojak Vantocila, koji se široko koristi u prehrambenoj industriji, bolnicama, staračkim domovima i kućanstvima.

Tablica 9. Sažetak aktivnih tvari

(Maillard, 2016)

BIOCID	PRIMJENA	BAKTERICIDNI	SPORICIDNI	OSOBINE
Halogeni spojevi	50-250 mg l ⁻¹	>10mg l ⁻¹	>50mg l ⁻¹	Klor jeftin, jod skup Pod utjecajem organskih supstanci
Kvaterni amonijevi spojevi	150-250 mg l ⁻¹	>100mg l ⁻¹	Ne	Rezidualna aktivnost (otprilike 1 dan), neutralni, nisu agresivni
Peroksidi	3-90 %	>6 %	10-30 %	Učinkovitiji u kombinaciji s octenom kiselinom
Alkoholi (etanol)	20-70 (mg l ⁻¹)	>22 (mg l ⁻¹)	60-70 (mg l ⁻¹)	Nisu za industrijsku primjenu
Aldehidi	0.8-16 mg l ⁻¹	<10 mg l ⁻¹	20 mg l ⁻¹	
Bifenoli	2-20 mg l ⁻¹	>10 mg l ⁻¹	Ne	
Bigvanidi (klorheksidin)	>150 mg l ⁻¹	1-60 mg l ⁻¹	-	Primjenjivi u proizvodima za pranje ruku i oralnim proizvodima

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. MATERIJALI

Za prvi dio rada korišten je Registar biocidnih proizvoda javno dostupan na mrežnim stranicama Ministarstva zdravstva na dan 16. ožujka 2020. godine.

Registar biocidnih proizvoda prikazan je u programu Excel, tablično. Sadrži podatke o registriranim biocidnim proizvodima od 2009. godine do ožujka 2020. godine. Biocidni proizvodi su razvrstani prema trgovačkom nazivu biocidnog pripravka, podnosiocu zahtjeva/proizvođaču, nazivu i sadržaju svih aktivnih tvari, vrsti pripravka i namjeni uporabe, vrsti formulacije, te klasi, urudžbenom broju i datumu rješenja. Registar je podijeljen u dva tablična prikaza, popis biocidnih proizvoda do kraja srpnja 2015. godine i popis biocidnih proizvoda od 1. kolovoza 2015. do 16. ožujka do 2020. godine, što je prikazano slikama 6 i 7.

TRGOVAČKI NAZIV BIOCIDNOG PRIPRAVKA	PODNOŠITELJ ZAHTJEVA / PROIZVOĐAČ	NAZIV I SADRŽAJ SVIH AKTIVNIH TVARI	VRSTA PRIPRAVKA I NAMJENA UPORABE	VRSTA FORMULACIJE	KLASA, URUDŽBENI BROJ I DATUM RJEŠENJA
3M NEXCARE HAND SANITIZER	3M (EAST) AG, Podružnica Hrvatska, Slavonska avenija 26/7, Zagreb 3M, St.Paul, SAD	etanol 65-75%	1 (biocidni proizvodi za osobnu higijenu ljudi-antibakterijski gel za ruke)	gel	Klasa:UP/I-543-04/09-05/105 Urbroj:534-08-01-4/2-10-2 Zagreb,07.svibnja 2010.
5809 DURABLE 500 ML CLEAR GEL-ANTIBAKTERIJSKI GEL ZA RUKE 500ML	BERGER d.o.o., Avenija V.Holjevca 20, Zagreb (Durable Hunke&Jochheim GmbH&Co KG, Germany)	etanol 55-70%	1 (biocidni pripravak za osobnu higijenu ljudi)	gel	Klasa:UP/I-543-04/10-05/75 Urbroj.:534-08-01-4/2-10-2 Zagreb, 20. travnja 2010.

Slika 6. Odlomak iz Registra biocidnih proizvoda od 2009. do kraja srpnja 2015.

REGISTRIRANO PUTEM JAVNE FORME NAKON 1.8.2015.									
Trgovački naziv	Podnositelj	Naziv proizvođača	Država proizvođača	Aktivna tvar	Vrsta pripravka	Specifična namjena	Formulacija	Klasa rješenja	Datum rješenja
150 maramica za dezinfekciju ruku i površina	Syneris GmbH, Am Selder 35, 47906 Kempen	Syneris GmbH, Am Selder 35, 47906 Kempen	NJEMAČKA	Didecildimetilamonijev klorid 0,8 g/100g, 2-Fenoksietanol 0,5 g/100 g	1 (biocidni proizvodi za osobnu higijenu ljudi), 2 (dezinfekcijska sredstva i drugi biocidni proizvodi za upotrebu u domaćinstvu i na	Za dezinfekciju ruku i površina	kruto	UP/I-543-04/18-05/256	12.09.2019
165012 Denkmit sredstvo za uklanjanje plijesni, 750 ml	dm-drogerie markt d.o.o. za veletrgovinu i trgovinu na malo drogerijskom i parfimerijskom robom, Kovinska 5a, 10000 Zagreb	AVT GmbH, Otto Hahn-Str. 42, 42369 Wuppertal	NJEMAČKA	Natrijev hipoklorit 2,6%	2. Dezinfekcijska sredstva i drugi biocidni proizvodi za upotrebu u domaćinstvu i na površinama namijenjenima javnom zdravstvu	sredstvo za uklanjanje plijesni i dezinfekciju	tekućina	UP/I-543-04/15-05/230	18.11.2015

Slika 7. Odlomak iz Registra biocidnih proizvoda od 1. kolovoza 2015. do 16. ožujka 2020.

3.2. METODE

Kako bi se utvrdilo stanje na tržištu biocida koji se koriste za dezinfekciju ruku i površina u RH, podaci iz Registra biocidnih proizvoda su analizirani u programu Excel. Svrha rada je da se od ukupnog broja proizvoda i vrsti proizvoda (2784 ukupan broj svih vrsta proizvoda; 22 vrste biocidnih proizvoda) izdvoji vrstu proizvoda 1, odnosno proizvoda za osobnu higijenu ljudi i vrstu proizvoda 4, odnosno proizvoda na području hrane i hrane za životinje prema sljedećim koracima:

1. Izdvajanje proizvoda 1 (proizvoda za osobnu higijenu ljudi) i proizvoda 4 (proizvoda na području hrane i hrane za životinje) od ukupnog broja svih registriranih proizvoda
2. Računanje ukupnog broja i postotka proizvoda 1 i proizvoda 4 po godinama
3. Izdvajanje sadržaja aktivne tvari (etanol, propanol, bigvanidi, kvaterni amonijevi spojevi (KAS), fenoli, oksidacijska sredstva i kombinacije) proizvoda, te računanje njihovog ukupnog broja i postotaka.
4. Računanje ukupnog broja i postotnog udjela vrste kombinacija proizvoda 1
5. Izdvajanje i računanje postotnog udjela formulacija proizvoda 1. Vrste formulacija za proizvod 1 su prah, gel, tekućina i maramice.
6. Izdvajanje sadržaja aktivne tvari proizvoda 4, te računanje njihovog ukupnog broja i postotka.
7. Računanje ukupnog broja i postotnog udjela vrste kombinacija proizvoda 4.
8. Izdvajanje i računanje postotnog udjela formulacija proizvoda 4. Vrste formulacija su tekućina, prah, tablete, granule i maramice.

U drugom dijelu rada, metode su uključivale pretraživanje znanstvenih radova objavljenih u posljednjih 5 godina s ključnim riječima “disinfection” ili “sanitation” ili “antiseptic” + “biocide” + “foodindustry” te “handwashing” + “foodindustry”.

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. VRSTA PROIZVODA 1: BIOCIDNI PROIZVODI ZA OSOBNU HIGIJENU LJUDI

Iz Registra biocidnih proizvoda izdvojeni su svi proizvodi vrste proizvoda 1, odnosno proizvoda za higijenu ljudi. U opisu namjene ovi proizvodi se vode kao sredstva za dezinfekciju ruku ili antiseptici, kao sredstva za pranje i dezinfekciju te antibakterijske maramice. Registar obuhvaća proizvode koji se koriste kao biocidni proizvodi za osobnu higijenu u medicinskom sustavu, za prehrambene objekte i širokupošnju. Antibakterijske maramice su primjer proizvoda koji se ne koriste u prehrambenim objektima, ali se nalaze na tržištu za osobnu upotrebu u svrhu dezinfekcije ruku. Što se tiče upotrebe u prehrambenoj industriji, u Registru moraju biti uvedeni svi proizvodi kojima se provodi korak dezinfekcije ruku, odnosno Registar ne sadrži sapune, tj. proizvode kojima se ruke čiste, nego samo ona sredstva koja uništavaju i smanjuju na odgovarajuću razinu biološke opasnosti s ruku.

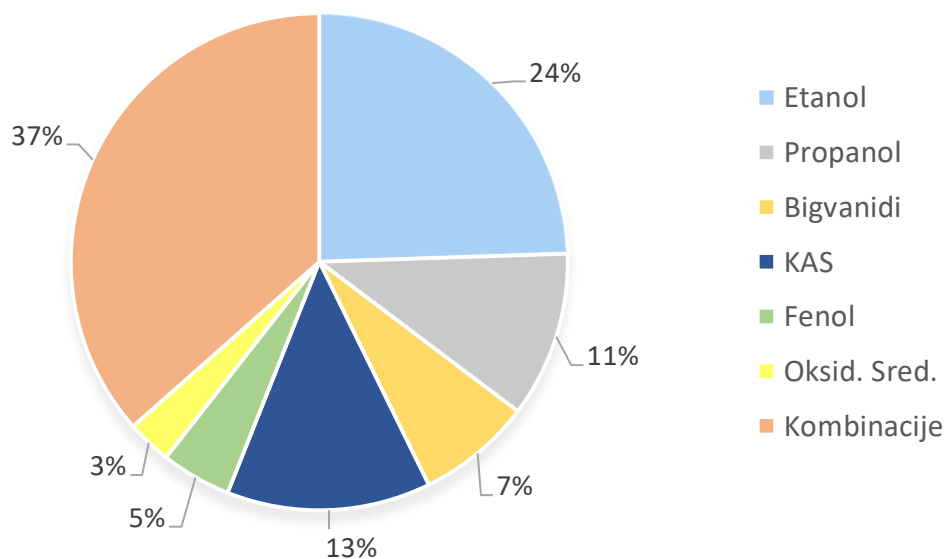
U tablici 10. prikazan je postotni udio proizvoda za osobnu higijenu ljudi kroz godine u razdoblju od 2009. do 2020. godine. U tabličnom prikazu vidljivo je da je ukupan broj proizvoda u registriranom razdoblju 265, što je 10 % od ukupnog broja svih proizvoda (2784). Najviše je proizvoda registrirano u 2010. godini u iznosu od 51 (12 %) proizvod od ukupno 437 svih proizvoda te godine. Također, vidljivo je da je najmanje biocidnih proizvoda vrste proizvoda registrirano u 2020. godini, jer se radi o tekućoj godini. Broj biocidnih proizvoda za osobnu higijenu ljudi u 2020. godini do sredine ožujka je 8 (12 %) od 66 proizvoda svih vrsta biocidnih proizvoda.

Tablica 10. Prikaz broja registriranih proizvoda za osobnu higijenu ljudi iz Registra biocidnih pripravaka registriranih pri Ministarstvu zdravstva RH, u periodu 2009. - 2020.

Godina	Ukupan broj svih proizvoda	Ukupan broj proizvoda 1	Postotak proizvoda 1
2009.	128	9	7 %
2010.	437	51	12 %
2011.	230	22	10 %
2012.	177	16	9 %
2013.	163	22	13 %
2014.	205	34	17 %
2015.	183	17	9 %
2016.	288	25	9 %
2017.	390	22	6 %
2018.	255	21	8 %
2019.	262	18	7 %
2020.	66	8	12 %

Na slici 8. prikazane su aktivne tvari u registriranim proizvodima. Vidljivo je kako najveći postotni udio aktivnih tvari čini kombinacije nekoliko aktivnih tvari u iznosu od 37 %. Najveći broj registriranih proizvoda koji se sastoje od jedne aktivne tvari sadrži etanol, 24 % od svih registriranih proizvoda za higijenu ljudi. Proizvodi od etanola su registrirani u velikom rasponu koncentracija, od 50 % pa sve do 100 % (50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 % i 100 %). Pripravci od propanola registrirani su u manjem postotku (11 %), a koncentracija propanola u registriranim proizvodima za dezinfekciju kože varira u koncentracijama 30, 45, 50, 65, i 70 %. Postotni udio kvaternih amonijevih spojeva je 13 %, a najčešći spojevi ove vrste aktivnih tvari su benzalkonijev klorid (konc. 0,3-3 %), didecildimetil amonijev klorid (konc. 1-5 %), kvaterni amonijevi spojevi, benzil – C12 – 16 – alkildimetil, kloridi koncentracije 5-10 %, oktenidinhidroklorid (konc. 0,1 – 0,3 %).

Bigvanidi zauzimaju 7 % udjela aktivnih tvari, a najčešći među njima su klorheksidindigluconat (konc. <5 %), klorheksidingluconat (konc. 4,5 %), poli (heksametilenbigvanid) hidroklorid (konc. 0,3 % i <0,1 %), D-glukonska kiselina, spojevi s N,N“ - bis (4 - klorofenil) - 3, 12 – diimino - 2, 4, 11, 13 - tetraazatetradekandiamidinom (klorheksidingluconat, 20 %) (konc. 0,5 %, 0,6 %, 2 %, 2,65 %, 3-5 %, 4 % i 20 %) i heksametilen bis (5-(4-klorofenil) bigvanid) digluconat (konc.2,5-10 %).



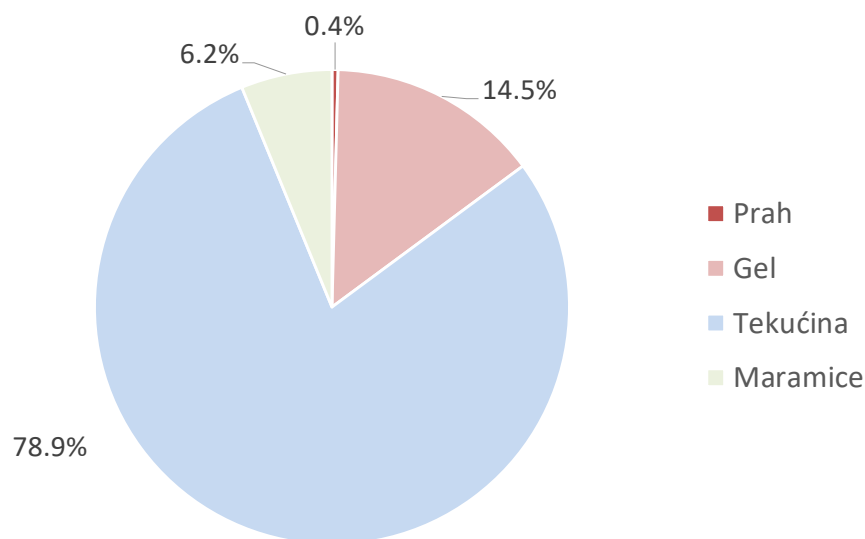
Slika 8. Grafički prikaz postotnog udjela aktivnih tvari proizvoda za osobnu higijenu ljudi navedenih u Registru biocidnih pripravaka u periodu 2009.-2020. (KAS: kvaterni amonijeve spojevi, Oksid. Sred.: oksidacijsko sredstvo)

Kao što je navedeno, većina registriranih proizvoda za higijenu ljudi sadrži nekoliko aktivnih tvari. U tablici 11. prikazan je postotni udio proizvoda koji sadrže kombinaciju spojeva. Kombinacija etanol i propanol ima najveći postotni udio u iznosu od 24 %, dok su najmanje zastupljeni proizvodi s etanolom, propanolom i bigvanidima; etanolom i vodikovim peroksidom; etanol, kvaterni amonijeve spojevi i bigvanidi; te oksidacijsko sredstvo i kvaterni amonijeve spojevi.

Tablica 11. Postotni udio proizvoda za osobnu higijenu ljudi navedenih u Registru biocidnih pripravaka u periodu 2009.-2020., prema vrsti kombinacija spojeva

Vrste kombinacija	Ukupan broj	Postotak
Etanol + propanol	21	24 %
Propanol + bigvanidi	17	19 %
Bigvanidi + Kvaterni amonijevi spojevi	10	11 %
Propanol + fenol	8	9 %
Etanol + bigvanidi	7	8 %
Etanol + Kvaterni amonijevi spojevi	6	7 %
Etanol + propanol + fenol	3	3 %
Fenol + bigvanidi	3	3 %
Propanol + Kvaterni amonijevi spojevi	3	3 %
Etanol + fenol	2	2 %
Etanol + propanol + Kvaterni amonijevi spojevi	2	2 %
Fenol + Kvaterni amonijevi spojevi	2	2 %
Etanol + propanol + bigvanidi	1	1 %
Etanol + vodikov peroksid	1	1 %
Etanol + Kvaterni amonijevi spojevi + bigvanidi	1	1 %
Oksidacijsko sredstvo + Kvaterni amonijevi spojevi	1	1 %

Na slici 9. prikazane su formulacije proizvoda za osobnu higijenu ljudi. Najčešća vrsta je tekućina (78,9 %), dok su proizvodi u obliku praha rijetko registrirani (0,4 %).



Slika 9. Grafički prikaz postotka formulacija proizvoda za osobnu higijenu ljudi registriranih pri Ministarstvu zdravstva RH u periodu 2009.-2020.

Dakle, prema slikama 8 i 9 i tablici 11, i slike može se zaključiti da su najčešće aktivne tvari u proizvodima za higijenu ljudi etanol i propanol, a tip proizvoda tekuće sredstvo.

S obzirom na namjenu proizvoda, daleko najviše registriranih proizvoda, preko 200, registrirano je kao dezinficijens odnosno antiseptik. Kao namjena upotrebe uglavnom se navodi “sredstvo za dezinfekciju ruku-antiseptik”, što ukazuje da se većina sredstava može upotrebljavati za različite svrhe, no postoje i proizvodi za specifičnu primjenu, primjerice “sredstvo za higijensku/kiruršku dezinfekciju ruku” što upućuje na primjenu u bolničkim sustavima ili “sredstvo za dezinfekciju ruku u prehrambenoj industriji” što jasno upućuje na primjenu isključivo u prehrambenim objektima. Svega tri proizvoda su registrirana isključivo za prehrambenu industriju. U većini antiseptika aktivne tvari su etanoli propanol, samostalno i u kombinaciji, te bigvanidi (klorheksidin), zatim slijede proizvodi s peroksidom kao aktivnom tvari.

Što se tiče proizvoda za pranje i dezinfekciju ruku, registrirano ih je ukupno 44. Opisani su različitim navodima, primjerice kao “antiseptički sapun za higijensko pranje ruku”, “antibakterijski sapun za ruke”, “losion za pranje ruku s antibakterijskim učinkom”, “sredstvo

za čišćenje i dezinfekciju ruku”. Ovi proizvodi najčešće sadrže kvaterne amonijeve spojeve, jer kao što je navedeno u Teorijskom dijelu, KAS su učinkoviti i kao sredstva za pranje i kao dezinficijensi. Najčešća aktivna tvar je benzalkolijev klorid, samostalno ili u kombinaciji primjerice s etanolom ili bigvanidima (klorheksidin). Druga česta grupa spojeva koja se koristi u proizvodima za pranje i dezinfekciju ruku su fenoli, točnije triklozan ili dikozan, koji se koriste samostalno u proizvodima, u koncentracijama od 0,1-1 %.

Svega 16 proizvoda registrirano je kao maramice.

4.2. TRENDVI I IZAZVI U UPOTREBI ANTISEPTIKA

Kako bi se dobiveni rezultati stavili u kontekst trendova i izazova, nadalje je provedeno pretraživanje literature s ključnim riječima “handwashing” + “antiseptic”+ “foodindustry” u periodu od 2016. do 2020. godine pri čemu je dobiveno 243 rezultata od kojih su 75 originalni znanstveni radovi, a 44 pregledni. U većini radova fokus nije isključivo na izazove u pranju ruku, nego na općenite izazove u korištenju biocida, kao primjerice rezistencija na biocide te korištenje novih pripravaka za dekontaminaciju površina i ruku. Samo dva rada bave se isključivo pranjem ruku, *Hand Hygiene: An Update i A review of methods for the evaluation of handwashing efficacy* (Conover i Gibson, 2016). Pronađeno je i nekoliko radova kojima se procjenjuje učinkovitost antiseptika s obzirom na formulaciju (pjena s obzirom na tekućinu nije toliko učinkovita u uklanjanju mikrobiološke flore ruku), ciljani organizam (virusi općenito i koronavirus) te područje upotrebe (zemlje nižih sanitarnih standarada) (Dixon i sur. 2017).

Bolon (2016) u radu *Hand Hygiene: An Update* bavi se usporedbom učinkovitosti sredstava koji se upotrebljavaju za pranje i dezinfekciju ruku zdravstvenih radnika u bolničkom okruženju, te u jednom dijelu rada daje pregled dosadašnjih radova koji uspoređuju pranje ruku sapunom (eng. *plain soap*), dezinficijensima na bazi alkohola za utrljavanje bez vode (eng. *alcohol-based hand rub*) te antimikrobnim sapunima odnosno kombiniranim sredstvima za pranje i dezinfekciju (eng. *antimicrobial soap*). Pranje ruku običnim sapunom uklanja prljavštinu i prolaznu floru pomoću kemijskog djelovanja sapuna i mehaničkog trenja. Smanjenje flore ruku povećava se s trajanjem pranja ruku, ali s obzirom na to da trajanje pranja u prosjeku iznosi 6 do 24 sekunde, realno očekivanje bilo bi smanjenje od 0,6 do 1,1 log₁₀ CFU. Suprotno tome, dezinficijensi na bazi alkohola koji se utrljavaju bez vode djeluju ubijanjem organizama na koži, a ne fizičkim uklanjanjem. Antimikrobna aktivnost alkohola pripisuje se denaturaciji proteina. Iako aktivnost ovisi o sastavu i koncentraciji, alkoholi su učinkoviti protiv Gram-pozitivnih koka, Gram-negativnih bacila, mnogih plijesni i brojnih

virusa. Uz primjenu od 30 sekundi, utrljavanje alkohola dovodi do smanjenja bakterija od 3,2 do 5,8 log₁₀ CFU. Alkoholi se smatraju nešto manje učinkovitima protiv virusa bez ovojnice, kao što su virus hepatitisa A, rotavirus, enterovirusi i adenovirus. Alkoholi imaju vrlo slabu aktivnost protiv bakterijskih spora. Smanjenje broja bakterija koje se postiže nakon nanošenja utrljavanjem antiseptika na bazi alkohola varira ovisno o alkoholu koji se koristi; n-propanol je baktericidniji od izopropanola, koji je baktericidniji od etanola. Autorica također iznosi podatak da je od trinaest kliničkih studija u kojima se uspoređivala antibakterijska učinkovitost utrljavanja alkohola i primjene sapuna i vode, u dvanaest potvrđeno daje utrljavanje superiornije od upotrebe sapuna, a u jednoj studiji proizvodi su bili jednako učinkoviti. Dodatna važna prednost utrljavanja je ušteda vremena u usporedbi s pranjem sapunom i vodom.

Što se tiče antimikrobnog djelovanja antimikrobnih sapuna, autorica navodi da ono također ovisi o agensu. Klorheksidin, jedno od češće korištenih sredstava, je kationski bigvanid koji svoje antimikrobno djelovanje postiže razbijanjem staničnih membrana i taloženjem staničnog sadržaja. Smatra se da klorheksidin ima dobru učinkovitost protiv Gram-pozitivnih koka i nešto slabiju protiv Gram-negativnih bacila, plijesni i virusa. Klorheksidin nije učinkovit protiv sporogenih bakterija. Prepoznatljiva značajka klorheksidina je njegova postojana aktivnost na koži. Primijećeno je smanjenje bakterija od 2,1 do 3 log₁₀ CFU kod kraćih primjena (<1 minuta).

Iako se članak autora Conover i Gibson (2016) prvenstveno bavi evaluacijom metodologija za procjenu učinkovitosti metoda pranja ruku, interesantan je za temu ovog diplomskog rada jer se autori fokusiraju na higijenu ruku u prehrambenom sektoru. Autori naglašavaju da je izuzetno česta nesukladnost s pravilnim postupcima pranja ruku u prehrambenom sektoru te da su incidenti često povezani s hranom spremnom za konzumaciju kojom se puno rukuje tijekom pripreme, kao što su salate. Analiziraju faktore o kojima ovisi učinkovitost pranja ruku: učestalost pranja, sredstvo (npr. sapun ili antiseptik), prikladnost (tj. jesu li ruke oprane kad ih je trebalo oprati), trajanje i tehniku pranja. U radu se utvrdilo da je primjena antimikrobnih sapuna učinkovitija od upotrebe običnih sapuna u uklanjanju bakterija, no većina antimikrobnih sapuna ne uključuje spojeve koji su u stanju inaktivirati viruse, ponajviše ljudski norovirus kao jedan od najvažnijih uzročnika trovanja hranom. Spominje se, kao i u Bolon (2016), da je klorheksidin učinkovitiji protiv bakterija (posebno vegetativnih oblika) od virusa i protozoa. Učinkovitost triklosana protiv virusa, posebno onih bez ovojnice (npr. norovirusi) ostaje nejasna, a autori spominju i istraživanje prema kojem je fizičko uklanjanje virusa bez ovojnice, bilo korištenjem vode ili antimikrobnog sapuna bilo djelotvornije od upotrebe sapuna za ruke s antimikrobnim sredstvom. Ipak se, općenito, na osnovu rezultata radova obrađenih u ovom

preglednom radu, može zaključiti da su antimikrobni sapuni učinkovitiji u smanjenju mikrobiološkog onečišćenja ruku s obzirom na upotrebu sapuna i vode. Na raspolaganju su brojne metode za procjenu učinkovitosti pranja ruku, a za određenu metodu eksperimentalne se varijable razlikuju u istraživanjima. Te razlike među metodama kao i razlike u izvještavanju o eksperimentalnim rezultatima otežavaju usporedbu studija i predstavljaju izazov za točnu interpretaciju rezultata između studija. Standardizacija metoda i zahtjevi izvješćivanja potrebni su kako bi se omogućila usporedba studija tako da se mogu donijeti točniji zaključci o procesu pranja ruku. Stoga se razmatra potreba za 1) razvojem standardiziranih metoda ispitivanja pranja ruku i 2) formiranjem smjernica o minimalnim informacijama potrebnim za objavu eksperimenata pranja ruku (Conover i Gibson, 2016).

S obzirom na višu otpornost virusa na antimikrobna sredstva u odnosu na bakterije i time izazove u njihovoj kontroli, za raspravu su interesantna dva rada, Bosch i sur. (2018) *Foodborne viruses: Detection, risk assessment, and control options in food processing* te Berardi i sur. (2020) *Hand sanitisers amid CoViD-19: A critical review of alcohol-based products on the market and formulation approaches to respond to increasing demand*. Bosch i sur (2018) dali su opsežan pregled o otkrivanju, procjeni rizika i mogućnosti kontrole virusa u prehrambenoj industriji i naglasili kako mnogo toga još treba razumjeti s obzirom na učinkovitost kontrolnih mjera, bilo da je riječ o osobnoj higijeni djelatnika ili postupcima obrade hrane. Pravilno pranje ruku i strogo pridržavanje higijenskih mjera od presudnog su značaja i još uvijek su među najboljim mjerama kontrole u sprječavanju prijenosa virusa hrane prenesenog hranom (Bosch, 2018). Međutim, iako je glavni prijenos virusa putem ruku zaraženih zaposlenika na hranu i naglasak je na presudnu važnost pravilnog pranja ruku, u radu se ne navode konkretne smjernice za pranje ruku kako bi se uklonili virusi niti se spominju učinkoviti antiseptici. Za razliku, Berardi i sur. (2020) bave se najvećim izazovom globalnog zdravlja u 2020. godini – kontroli koronavirusa, konkretno razmatraju koja su sredstva za dekontaminaciju ruku učinkovita u kontroli koronavirusa (obično pranje sapunom i vodom, antibakterijski sapuni ili utrljavanje antiseptika). S obzirom da se radi o neovijenim virusima koji su otporniji na dezinfekcijska sredstva od ovijenih, razumljivo je da je kontrolu antisepticima potrebno razjasniti za slučaj koronavirusa. Autori spominju da su najčešći antiseptici na tržištu SAD-a sredstva na bazi alkohola, iako su dostupni i bezalkoholni proizvodi, no oni se ne preporučuju u borbu protiv CoViD-19 zbog slabije učinkovitosti i užeg spektra u usporedbi s proizvodima za dezinfekciju na bazi alkohola (CDC, 2019a). Američki centar za kontrolu bolesti (CDC) predlaže kao najučinkovitiju mjeru kontrole pranje ruku sapunom i vodom, kad god je to moguće. S obzirom da su sredstva za utrljavanje na bazi

alkohola najčešća na tržištu SAD-a, članak se detaljno bavi upravo njima. Najvažniji faktor u određivanju učinkovitosti sredstva za dezinfekciju ruku je alkoholni udio. Koncentracije etanola od 60 % do 95 % smatraju se sigurne i učinkovite za dezinfekciju za upotrebu protiv SARS-CoV-2 prema Američkoj upravi za hranu i lijekove (USFDA), CDC i Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji. Autori naglašavaju važnost pravilne deklaracije i prisutnosti proizvoda na tržištu koji su nepotpuno deklarirani u smislu volumnog ili masenog izražavanja sadržaja etanola. Autori nadalje raspravljaju i o formulaciji proizvoda na tržištu, jer neki radovi ukazuju da antimikrobno djelovanje proizvoda uvelike ovisi o izboru formulacije (tj. pomoćne tvari), a ne samo o koncentraciji alkohola. Dat je prikaz proizvodnje proizvoda u formi gela, te se raspravlja o pojedinim sastojcima za proizvodnju tih proizvoda. Većina formulacija gela sadrži karbomere i sredstvo za neutralizaciju na bazi amina kako bi se razvio gel matriks. Drugi se gelirajući polimeri također u teoriji mogu upotrijebiti kao alternativa; međutim, takvi polimeri ne daju hidroalkoholni proizvod gela istog idealnog reološkog ponašanja i izgleda, jednostavnosti uporabe i stabilnosti. Karbomer je, prema mišljenju Berardi-a i sur. (2020), ostao najbolji standardni gel za higijenu ruku na bazi alkohola.

Pregledni rad autora Loftus i sur. (2019) o higijeni ruku u zemljama s niskim i srednjim dohotkom, bavi se strategijama za smanjenje prenošenja patogena preko ruku zdravstvenih radnika s fokusom na primjenu tih strategija u zemljama koje se suočavaju s nizom jedinstvenih prepreka, uključujući prenapučenost i osiguravanje pouzdane opskrbe antisepticima na bazi alkohola. Široko primjenjive smjernice koje promoviraju tehniku u šest koraka za primjenu sredstva za utrljavanje alkoholnog proizvoda za dekontaminaciju ruku nisu jednostavno primjenjive za zemlje nižih sanitarnih i životnih standarda. Stoga su provedena istraživanja novih metoda koja pokazuju da su kraće i jednostavnije tehnike higijene ruku također učinkovite. Preporučene modifikacije primjerice uključuju skraćivanje trajanja trljanja ruku (15 s umjesto 20–30 s) ili izvođenje 'tri koraka' umjesto 'šest koraka'. Većina studija izvedena je u laboratorijskim uvjetima i potrebno je daljnje kliničko istraživanje.

4.3. VRSTA PROIZVODA 4: DEZINFEKCIJSKA SREDSTVA NA PODRUČJU HRANE I HRANE ZA ŽIVOTINJE

Ukupan broj proizvoda 4, dezinfekcijskih sredstava na području hrane i hrane za životinje, izdvojenih iz Registra biocidnih proizvoda je 426 od ukupnog broja svih vrsta proizvoda (2784 proizvoda). Postotni udio dezinfekcijskih sredstava na području hrane i hrane za životinje u odnosu na sve proizvode iz Registra je 15 %, što je pokazatelj da vrste dezinfekcijskih sredstava na području hrane i hrane za životinje ima više od biocidnih proizvoda za osobnu higijenu ljudi za 6 %. Dezinfekcijska sredstva na području hrane i hrane za životinje se koriste za dezinfekciju opreme, ambalaže, pribora za konzumaciju, površina povezanih s proizvodnjom, transportom i skladištenjem ili konzumacijom hrane ili hrane za životinje.

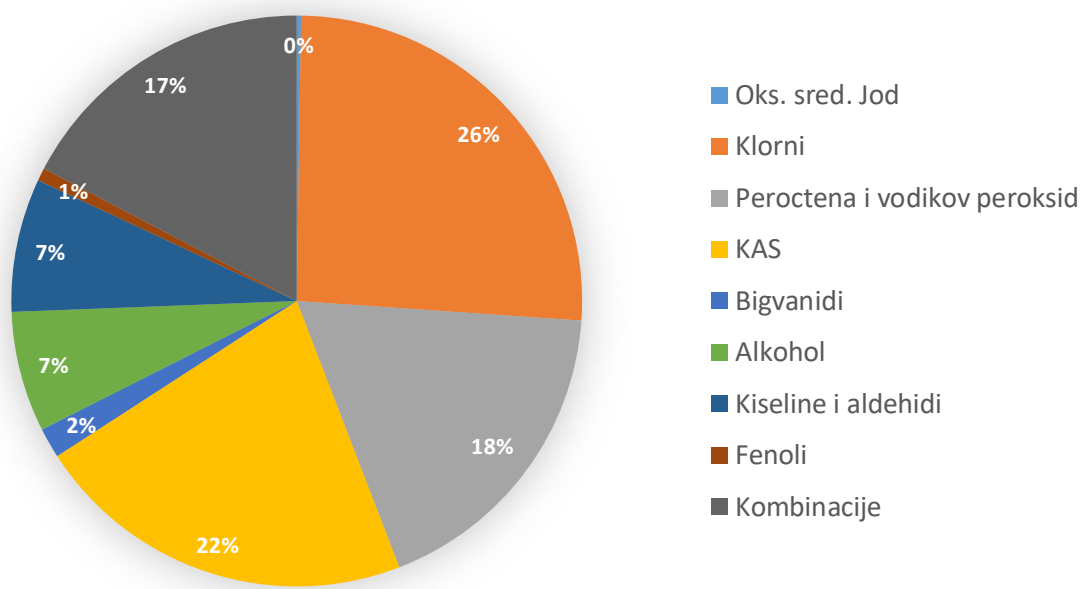
Tablica 12. prikazuje postotni udio dezinfekcijskih sredstava na području hrane i hrane za životinje kroz godine u razdoblju od 2009. do 2020. godine. Sadržaj aktivnih tvari dezinfekcijskih sredstava na području hrane i hrane za životinje je opsežniji u odnosu na biocidne proizvode za osobnu higijenu ljudi i uključuje dodatne aktivne tvari: klorne spojeve, oksidacijsko sredstvo jod, peroctenu kiselinu te kiseline i aldehide. Tabličnim prikazom vidljivo je da je najviše dezinfekcijskih sredstava na području hrane i hrane za životinje registrirano u 2010. godini u iznosu od 85 (19 %) proizvoda od ukupno 437 svih proizvoda te godine. Evidentno je da je najmanje biocidnih proizvoda na području hrane i hrane za životinje registrirano u 2020. godini. Broj biocidnih proizvoda na području hrane i hrane za životinje je 2 u 2020. godini do sredine ožujka, što je izraženo postotnim udjelom od 3 % u odnosu na 66 vrsta svih proizvoda u toj godini.

Tablica 12. Prikaz postotnog udjela dezinfekcijskih sredstva na području hrane i hrane za životinje navedenih u Registru biocidnih pripravaka registriranih pri Ministarstvu zdravstva RH u periodu od 2009. do 2020. godine

Godina	Ukupan broj svih proizvoda	Ukupan broj proizvoda 4	Postotak proizvoda 4
2009.	128	18	14 %
2010.	437	85	19 %
2011.	230	47	20 %
2012.	177	31	18 %
2013.	163	25	15 %
2014.	205	15	7 %
2015.	183	18	10 %
2016.	288	46	16 %
2017.	390	52	13 %
2018.	255	46	18 %
2019.	262	41	16 %
2020.	66	2	3 %

Slika 10. prikazuje najčešće aktivne tvari dezinfekcijskih sredstava na području hrane i hrane za životinje. Prema podacima, najveći postotni udio aktivnih tvari imaju klorini spojevi u iznosu od 26 % , dok najmanji udio ima oksidacijsko sredstvo jod, u iznosu od 0,2 % . Najčešći klorini spojevi koji se koriste su klor dioksid koji ima postotni udio 6% u odnosu na ukupan broj klorinih spojeva (106) kod dezinfekcijskih sredstava na području hrane i hrane za životinje, dok natrijev hipoklorit zauzima znatno viši postotak u iznosu od 62% u odnosu na ukupan broj klorinih spojeva dezinfekcijskih sredstava na području hrane i hrane za životinje. Pored ovih spojeva nalazi se natrijev diklorizocijanurat (konc.3,5 % i 99 %), simklosen (konc. 70-95 %) i troklozen natrij (konc. 30-100 %), a koncentracija klor dioksida je 0,3-1 % , dok je koncentracija natrijeva hipoklorita 5-50 % . Peroctena kiselina i vodikov peroksid zauzimaju 18 % udjela aktivnih tvari. Koncentracije peroctene kiseline koje se koriste su u rasponu od 5 do 20 % , a koncentracije vodikovog peroksida su od 10 do 50 % . Velik udio aktivnih tvari čine kvaterni amonijevi spojevi u iznosu od 22 % . Kvaterni amonijevi spojevi koji se koriste kod dezinfekcijskih

sredstva na području hrane i hrane za životinje, a ujedno i kod biocidnih proizvoda za osobnu higijenu ljudi su benzalkonijev klorid (konc. 1-10 %), didecildimetil amonijev klorid (konc. 1-10 %), kvaterni amonijevi spojevi, benzil – C12 – 16 – alkildimetil, kloridi (konc. 1-20 %), a razlikuju se prema dioktildimetil amonijevom kloridu (konc. 1-10 %) i N-(3-aminopropil)-N-dodecilpropan -1,3 – diaminu (konc. 5-25 %).



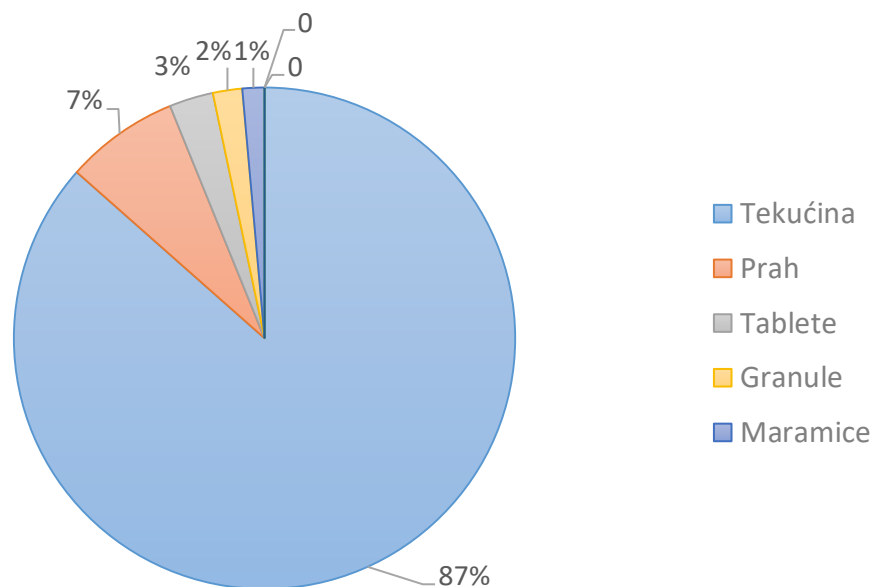
Slika 10. Grafički prikaz postotnog udjela aktivnih tvari u dezinfekcijskim sredstvima na području hrane i hrane za životinje, navedenih u Registru biocidnih pripravaka i registriranih pri Ministarstvu zdravstva RH u periodu od 2009. do 2020. godine (KAS -kvaterni amonijevi spojevi)

Iz tablice 13. vidljiv je postotni udio prema vrsti kombinacija spojeva dezinfekcijskih sredstva na području hrane i hrane za životinje. Kombinacija kvaterni amonijevi spojevi i alkohol ima najveći postotni udio u iznosu od 23 %, dok 1 % postotnog udjela imaju kvaterni amonijevi spojevi i fenol, kvaterni amonijevi spojevi, alkohol i aldehid, alkohol i fenol, te alkohol i kiselina.

Tablica 13. Postotni udio prema vrsti kombinacija spojeva kod dezinfekcijskih sredstava na području hrane i hrane za životinje navedenih u Registru biocidnih pripravaka i registriranih pri Ministarstvu zdravstva RH u periodu od 2009. do 2020. godine

Vrsta kombinacija	Ukupan broj	Postotak
Kvaterni amonijevi spojevi + alkohol	16	23 %
Kvaterni amonijevi spojevi + aldehid	13	18 %
Kvaterni amonijevi spojevi + kiselina	9	13 %
Kvaterni amonijevi spojevi+ peroksid	9	13 %
Kvaterni amonijevi spojevi + bigvanid	4	6 %
Kvaterni amonijevi spojevi + klorni	4	6 %
Srebro + peroksid	4	6 %
Alkohol + bigvanid	3	4 %
Kiselina + peroksid	3	4 %
Kvaterni amonijevi spojevi + bigvanid + alkohol	2	3 %
Kvaterni amonijevi spojevi + fenol	1	1 %
Kvaterni amonijevi spojevi + alkohol + aldehid	1	1 %
Alkohol + fenol	1	1 %
Alkohol + kiselina	1	1 %

Razlika dezinfekcijskih sredstava na području hrane i hrane za životinje u odnosu na biocidne proizvode za osobnu higijenu ljudi očituje se i u vrsti formulacije. Vrste formulacija kod dezinfekcijskih sredstava na području hrane i hrane za životinje su tekućina, prah, tablete, granule i maramice, prikazane grafički na slici 11. Kao i kod biocidnih proizvoda za osobnu higijenu ljudi, najčešće vrsta formulacija dezinfekcijskih sredstava na području primjene hrane i hrane za životinje je tekućina (87 %), dok se najmanje koriste maramice (postotni udio 1 %).



Slika 11. Grafički prikaz postotka formulacija dezinfekcijskih sredstva na području hrane i hrane za životinje, najčešće formulacije u Registru biocidnih pripravaka registriranih pri Ministarstvu zdravstva RH u periodu 2009. do 2020. godine.

Dakle, prema slikama 10. i 11. i tablici 13., može se zaključiti da su najčešće aktivne tvari u dezinfekcijskim sredstvima na području hrane i hrane za životinje kvaterni amonijevi spojevi i klorni spojevi, a tip proizvoda tekuće sredstvo. S obzirom na namjenu, najviše registriranih proizvoda koriste se kao antimikrobni agensi protiv širokog spektra mikroorganizama, u svrhu dezinfekcije površina i opreme te mikrobiološke kontrole industrijskih procesa.

4.4. TRENDOWI I IZAZOVI U UPOTREBI KLORNIH SPOJEVA I PEROKSIDA

Prema globalnoj analizi tržišta 2017. godine i predviđanjima do 2025. godine (Bhandalkar i Deshmukh, 2019), očekuje se da će globalno tržište dezinfekcije hrane i pića svjedočiti značajnom rastu. Klorni spojevi dominirali su na tržištu s najvećim udjelom u 2017. godini, a očekuje se da će pokazati značajni rast tijekom predviđenog razdoblja do 2025. godine, te da će se najčešće koristiti u prehrambenoj industriji kao dezinficijensi za površine koje su u kontaktu s hranom. Klorni spojevi su jedni od najpovoljnijih kemijskih dezinfekcijskih sredstava koje koriste kompanije u prehrambenoj industriji. Osim njih, predviđa se i kontinuirani rast proizvoda na bazi peroksida.

Klorni spojevi uključuju natrijev hipoklorit, klor dioksid i N-kloro spojeve poput natrijevog dikloroizocianurata (NaDCC). Vrlo jeftina i često primjenjiva formulacija je vodena otopina natrijevog hipoklorita koja proizvodi hipoklorastu kiselinu (HClO) (Krop, 1990; McDonnell i Russell, 1999). HClO je aktivna komponenta i rezultira inaktivacijom svih vrsta mikroorganizama poput bakterija, virusa i spora (Busta i Sofos, 1999). Natrijev hipoklorit (NaOCl) ima široku primjenu u dekontaminaciji površina, izbjeljivanju i uklanjanju neugodnih mirisa i u industriji. Prednosti natrijevog hipoklorita su te da je snažan germicid koji kontrolira širok raspon mikroorganizama, bezbojan je, može se koristiti pri temperaturi hladne vode bez da to utječe na aktivnost, lak je za korištenje, skladištenje i transport, te je ekonomičan za korištenje. No s druge strane, natrijev hipoklorit ima kratak rok trajanja, štetan je za kožu i korozivan na nekim metalima (Walker i sur., 2002).

Klor i klor dioksid su oksidirajući agensi (primaju elektron). No ipak, klor ima sposobnost da primi dva elektrona, a klor dioksid može absorbirati pet. To znači da je, pri istom molarnom odnosu, klor dioksid 2.6 puta učinkovitiji od klora. Ista, čak i veća važnost je činjenica da klor dioksid ne reagira sa mnogim organskim spojevima, i kao rezultat toga, klor dioksid ne proizvodi klorirane organske spojeve, koji su štetni za okoliš. Na primjer, aromatski spojevi imaju ugljikove atome poredane kao prstenove te mogu imati i atome drugih spojeva, kao na primjer klor, vezane na prstenove, pri čemu formiraju klorirane aromatske spojeve - jako toksične spojeve koji se zadržavaju u okolišu dosta dugo nakon što su proizvedeni. Svojstva klor dioksida kao oksidirajućeg agensa su prilično različita. Poput ozona, dominantan mehanizam oksidirajuće reakcije klor dioksida je proces poznat kao elektrofilna apstrakcija slobodnih radikala, u odnosu na oksidativnu supstituciju ili adiciju (kao u kloriranim agensima kao što je klor ili hipoklorit). To znači da se klorirani organski spojevi kao što su THM i HAA

ne stvaraju kao rezultat dezinfekcije korištenjem klor dioksida.

Vodikov peroksid ima širok spektar primjene u prehrambenoj industriji, komercijalno je dostupan u koncentracijama koje variraju između 3 % i 90 %, dok se 35 % rutinski koristi u prehrambenoj industriji (McDonnell i sur., 2002). Primjenjuje se za dekontaminaciju ambalažnog materijala prije punjenja (Duggal i Mohr, 1997) i dekontaminacije površine voća i povrća. Vodikov peroksid je i baktericidan i sporicidan (Hugo i Russell, 1999). Peroctena kiselina djeluje brže od vodikovog peroksida. Ima širok spektar djelovanja protiv virusa, bakterija, kvasaca i spora (Bernstein, 1990). U usporedbi s vodikovim peroksidom na aktivnost peroctene kiseline teško utječu organske tvari (Russell, 1990; McDonnell i Russell, 1999). Nedostatak peroksida je taj što nagriza alate i opremu, te štetno djeluje na ljudsko tkivo (Reuter, 1998).

Kako bi se utvrdili trendovi u istraživanjima i znanstvenim publikacijama vezano uz biocide u prehrambenoj industriji, provedeno je pretraživanje znanstvene literature s ključnim riječima “biocide” + “disinfection” + “foodindustry” u periodu 2016. do 2020. godine. S obzirom na 562 dostupne publikacije, pretraživanje je potom ograničeno na originalne i pregledne znanstvene radove objavljene od 2019. godine pri čemu su rezultati uključivali 148 radova (pristupljeno 15.7.2020). U tablici 14. navedene su najčešće teme znanstvenih radova objavljenih iz područja biocida i sanitacije od 2019. godine te najvažnije publikacije.

Tablica 14. Prikaz najčešćih tema znanstvenih radova objavljenih iz područja biocida i sanitacije od 2019. godine i najvažnije publikacije

Područja u kojima se spominju biocidi/sanitacija u znanstvenoj literaturi	Teme znanstvenih radova	Referenca
Nove metode u sanitaciji	Cimetna kiselina i cinamaldehyd Prirodna ulja i biljni ekstrakti Ekstrakt citrusa	Cunault i sur.,2019; Tousehik i sur., 2020; Medina-Rodríguez i sur., 2020, Vetas i sur., 2017; Sakarikou i sur.,2020
	Bakterije mliječne kiseline Enzimi	Mzaheri i sur., 2020; Rowan, 2019; Tousehik i sur., 2020; Mnif i sur., 2020; Ripolles-Avila i sur.,2020; Kohli i sur., 2019; Korkanok i Tatasporn., 2020

	Spojevi dobiveni iz mikrobnih izvora	
	Pulsirajuće svijetlo	Rowan, 2019
	Elektrolizirana voda	Hu i sur.,2019; Medina-Gudiño i sur.,2020; Rahman i sur., 2012b
	Kavitacija	Arteaga i sur., 2019; Deshmukh i sur., 2018; Malheiro i sur.,2018;Mane i sur., 2020; Sakarikou i sur., 2019; Tatsaporn i sur., 2020; Zupanc i sur., 2019
	Srebro	Deshmukh i sur.,2019
	Pirition	Bromberger i sur., 2020
	Glikolna kiselina i glioksal	Fernandes i sur., 2020
Učinkovitost dezinfekcijskih sredstava na pojedine mikroorganizme	Biofilmovi bakterija	Hu i sur., 2019; Ripolles-Avila i sur., 2020; Rodríguez-Melcón i sur., 2019; Tousehik i sur., 2020, Merino i sur., 2019
	Gljivice	GonçalvesLemosi sur., 2020; Lianou i sur., 2020; Ling i sur., 2020
Učinkovitost dezinfekcijskih sredstava u pojedinim primjenama	Zrak, voda, voće i povrće	Garrido i sur., 2019; Mane i sur., 2019; Masotti i sur., 2019; Melo i sur., 2018; Rowan, 2019; Sun i sur., 2019
	Mliječna industrija	Mnif i sur., 2020
Biocidi i utjecaj na okoliš		Chen i Hung, 2017, Golea i sur., 2017; Gombas i sur., 2017; López-Gálvez i sur., 2019; Lee i Huang, 2019; Wan-Ninge, 2018, Rodrigues Macêdo i sur.,2019; Ramirez-Malule i sur., 2020
Otpornost na antimikrobna sredstva		Barroso i sur., 2019; Mane i sur., 2020; Oniciuc i sur., 2018; Pang i sur., 2018; Paul i sur., 2019
Novi materijali s antimikrobnim karakteristikama	Nanomaterijali	Han i sur., 2018;
	Antimikrobne nanočestice	Dyshlyuk i sur., 2020; Marković i sur., 2019

4.4.1. Nove metode u sanitaciji

Najviše publikacija objavljenih od 2019. godine bave se novim metodama u sanitaciji. Razlozi za istraživanje novih metoda sanitacije rezultat su potrebe za razvojem održivih strategija dezinfekcije u prehrambenoj industriji, učinkovitih rješenja za teško uklonjive mikroorganizme (rezistentne bakterije, gljivice i biofilme) te specifičnih problema u pojedinim sektorima prehrambene industrije (npr. mliječna industrija).

Neke od metode koje se istražuju (Tablica 14.) uključuju: korištenje biljnih ekstrakata i fitokemikalija (Malheiro i sur., 2019; Sakarikao i sur., 2020); bakterija mliječne kiseline (Kornkanok i Tatsaporn, 2020), enzima (Mazaheri i sur., 2020; Mnif i sur., 2020) i drugih spojeva dobivenih iz mikroorganizama (Toushiki sur., 2020); upotrebu kisele i neutralne elektrolizirane vode (Hu i sur., 2019; Medina-Gudiño i sur., 2020); korištenje kavitacije (Zupanci sur., 2019) i kombinacije kavitacije i prirodnih ulja (Mane i sur., 2020); te korištenje nanočestica srebra (Deshmukhi i sur., 2019). Ispituju se i mehanizmi uništavanja bakterija registriranim biocidima kojima još nije razjašnjen mehanizam djelovanja, kao što su glioksal i glikolna kiselina (Fernandes i sur., 2020).

Istraživanja ističu potencijalni antimikrobni efekt **esencijalnih ulja i ekstrakata citrusa** u dezinfekcijskim spojevima. Na primjer Vetas i sur. (2017) proučavali su efikasnost dezinfekcije esencijalnih ulja kadulje i zelene metvice na planktonske stanice i biofilm bakterije *Staphylococcus aureus*. Mico E-PRO[®], proizvod na bazi ekstrakta citrusa bogatog flavonoidima, pokazao se učinkovitim pri uklanjanju *E. coli*, *L. monocytogenes*, *S. enterica* i *P. aeruginosa*. Dodatno, proizvod je pokazao jaki baktericidni učinak protiv *L. innocua* i *P. putida* formiranih biofilмова - učinkovitost je slična sa učinkovitosti 1 % NaClO. Rezultati ukazuju da je proizvod, Mico E-PRO[®] dobra opcija kao prirodno sredstvo za sanitaciju za CIP sustave, efikasna i sigurna alternativa u odnosu na tradicionalna dezinfekcijska sredstva bazirana na kemikalijama.

Salmonella ima snažnu sposobnost formiranja biofilмова. Fitokemikalije i biljni ekstrakti su obećavajući u borbi protiv *Salmonella*, zbog njihove kemijske kompleksnosti koja omogućuje istovremeno djelovanje na različite načine. Iako su daljnja istraživanja neophodna, kombinirano korištenje fitokemikalija s drugim agensima (npr. antibiotici, nanočestice, bakteriofagi) s ciljem kontrole formiranja *Salmonella* biofilмова i virulentnosti su vrlo obećavajući (Sakarikou i sur., 2020.)

Deterdženti na bazi **enzima** imaju potencijal da unaprijede učinkovitost dezinficijensa. Glavna funkcija enzima je čišćenje odnosno razgradnja ugljikohidrata, lipida i komponenti DNA, a djeluju na stanice u matriksu biofilma i uzrokuju razaranja matriksa (Ripolles-Avila i sur., 2020). Enzimi koji se koriste u istraživanjima uglavnom su iz mikrobnih izvora, a osim njih, za uklanjanje neželjene flore istražuje se i upotreba drugih **spojeva iz mikrobnih izvora**, primjerice baktericina, biosurfaktanata i spojeva koji utječu na *quorum* (Kohli i sur., 2019, Toushik i sur., 2020). Nadalje, analiziran je i potencijal **bakterija mliječne kiseline (LAB)** izoliranih iz fermentirane hrane za inhibiciju biofilma i staničnu proliferaciju različitih patogena. Iako su daljnja istraživanja potrebna kako bi se utvrdio mehanizam kojim biofilm LAB-a i njihovi aktivni spojevi inhibiraju patogene iz hrane, LAB se smatraju obećavajućim kandidatima za kontrolu prisutnosti patogenih biofilmova u prehrambenoj industriji (Kornkanok i Tatsaporn, 2020).

Pulsirajuća svjetlost (PL) opisana je kao isplativa, netermalna tehnologija koja nema neželjene efekte na tretiranim površinama hrane. PL se također naziva i pulsirajuća UV svjetlost visokog intenziteta, pulsirajuća UV svjetlost, UV svjetlost visokog intenziteta i širokog spektra, intenzivno pulsirajuće svjetlo i pulsiranom bijelom svjetlošću (Rowan, 2019). Kao novo dezinfekcijsko sredstvo širokog spektra koristi se i kiselina **elektrolizirana voda (AEW)**, koja se proizvodi na licu mjesta za jednokratnu uporabu i obično se ne skladišti. Elektrolizirana voda (EW) široko se koristi kao dezinficijens za opremu u prehrambenoj industriji i, prema Hu i sur. (2019) ima potencijal za uništavanje biofilmova te prema Medina-Gudiño i sur. (2020) za uklanjanje *Salmonella enterica* i *Escherichia coli*. Kisela elektrolizirana voda (AEW) ima kiseli pH (2-3), visoki oksidacijsko-redukcijski potencijal (ORP) (>1100 mV) i koncentraciju rezidualnog klora (<500mg l⁻¹) što je čini učinkovitom kao antimikrobni agens. AEW je potencijalno dezinfekcijsko sredstvo koje može zamijeniti NaClO i ima snažan baktericidni učinak protiv raznih patogena (Rahman i sur., 2012b). U usporedbi s tradicionalnim baktericidima, AEW je učinkovitiji, manje opasan, manje štetan za okoliš i nije štetan za ljudsko tijelo, a široko je zastupljen te se koristi u poljoprivredi, zaštiti okoliša, farmaceutskoj i prehrambenoj industriji. Ipak, postoje nedostaci povezani sa EW, što ograničava njenu široku primjenu. Nedostaci koje treba uzeti u obzir su: visoki trošak opreme, tendencija brzog gubitka antimikrobnog potencijala ukoliko nema kontinuirane "dostave" Cl₂, H⁺ i HOCl elektrolizom, smanjenje koncentracije klora tijekom vremena što smanjuje baktericidnu aktivnost EW, smanjenje antimikrobne aktivnosti u slučaju neadekvatnog skladištenja i prisustva organskih tvari u EW i konačno, nedostatak podataka o koncentraciji rezidualnog klora nakon elektrolize,

iako se klor trenutno smatra aktivnim agensom u EW (Rahman, 2016). **Kavitacija** je fizikalno-kemijska tehnika koja uključuje stvaranje mikroskopski malih mjehurića vakuuma u tekućini, koji u kontaktu s površinom predmeta dovode do nastanka implozije te oslobađanja energije. Stvoreni uvjeti ekstremnih temperatura (do 10000K) i pritiska (do 5000 atm) rezultiraju razbijanju i narušavanju staničnih stjenki mikroorganizama te u konačnici predstavljaju uvjete pogodne za dezinfekciju bakterija. Primjenu kavitacije opisuju autori Zupanc i sur. (2019), a u literaturi se opisuje i korištenje kavitacije u kombinaciji s prirodnim uljima (Mane i sur., 2020). Kao jedna od novih metoda, ispituje se i učinkovitost nanočestica **srebra** u dezinfekciji površina. Istraživanja su pokazala da nanočestice srebra mogu prijanjati na bakterijsku staničnu stjenku i posljedično je infiltrirati. Stanična membrana bakterija je negativno nabijena zbog prisutnosti amino, karboksilnih i fosfatnih skupina. Pozitivan naboj doprinosi elektrostatskoj vezi između nanočestica srebra i negativno nabijene membrane mikroorganizama, što olakšava prijanjanje na staničnu membranu. Mehanizam antimikrobnog djelovanja nanočestica srebra je usko povezan sa interakcijom sa sulfhidrilnim skupinama proteina prisutnih na staničnoj membrani. Posljedica je deaktivacija proteina, fizičke promjene i oštećenja bakterijske membrane što u konačnici vodi ka staničnoj smrti. (Deshmukh i sur., 2019)

Jedan od obećavajućih antimikrobnih sredstava širokog spektra je **piritium**. Piritionske soli, posebno cinkova sol, naširoko se koriste u šamponima protiv peruti, farmaceutskim i kozmetičkim pripravcima. Iako se piritium već pokazao uspješnim u dekontaminaciji, ima nedostatke kao npr. neučinkovitost protiv virusa. Obećavajući pristup za rješavanje ovog nedostatka je uključivanje piritiona u ionske tekućine, kako bi se ojačali ili fizički izmijenili njegovi učinci (Bromberger i sur., 2020). **Glikolna kiselina i glioksal** dva su odobrena biocida za dezinfekciju, ali njihovo antimikrobno djelovanje nije bilo detaljno istraženo, stoga je u fokusu istraživanja autora Fernandes i sur. (2020) bilo ispitivanje antimikrobne aktivnosti ovih spojeva protiv *Bacillus cereus* i *Pseudomonas fluorescens*.

4.4.1.1. Učinkovitost dezinfekcijskih sredstava na pojedine mikroorganizme

Druga tema kojom se bavi znanstvena zajednica je ciljana primjena tradicionalnih dezinfekcijskih sredstava i alternativnih metoda u uklanjanju biofilmova i gljivica, odnosno onih mikrobioloških rizika koji su teže uklonjivi. **Biofilmovi**, kao kompleksni mikrobiološki sustavi koji se sastoje od jedne ili više bakterijskih vrsta povećavaju rezistenciju mikroorganizama na dezinficijense. Traženje alternativnih tehnologija za detektiranje, kvantifikaciju i uklanjanje biofilmova formiranih od strane patogenih bakterija u prehrambenim industrijama je od velikog interesa (Merino i sur., 2019). Prema Tousek i sur. (2020) trenutne fizikalne ili kemijske metode koje se koriste u dezinfekciji ne mogu spriječiti ili u potpunosti ukloniti biofilme, a da ne uzrokuju štetne nuspojave. Stoga se ispituju alternativne metode. Kao što je već spomenuto u prethodnom odjeljku, alternativne odnosno novije tehnologije za uništavanje biofilmova uključuju primjenu bioloških metoda kao što su bakterije mliječne kiseline (Kornkanok i Tatsaporn, 2020), primjenu bakteriocina, biosurfaktanata, bakteriofaga (Tousek i sur., 2020), te enzima (Mazaheri i sur., 2020; Mnif i sur., 2019; Ripolles-Avila i sur., 2020); citrusne i druge biljne ekstrakte (Rowan, 2019; Sakarikao i sur., 2020). Dokazana je i učinkovitost kisele elektrolizirane vode za uklanjanje biofilma jedne vrste bakterija (*S. Enteritidis*) i biofilmova formiranih od dviju vrsta bakterija (*S. Enteritidis* i *P. fluorescens*). Biofilmovi formirani od dviju vrsta bakterija pokazuju višu rezistentnost u odnosu na biofilm od jedne vrste bakterije (Hu i sur., 2019). Rodríguez-Melcón, i sur. (2019) su dokazali osjetljivost planktonskih kultura i biofilmova *Listeria monocytogenes* na natrijev hipoklorit i benzalkonijev klorid. Izlaganje biofilmova benzalkonijevom kloridu je uzrokovalo snažno odvajanje biofilma od površine. **Gljivice** mogu rasti na raznim prehrambenim proizvodima i doprinose kvarenju hrane širom svijeta posljedično uzrokujući gubitke od 5-10 %. Antifungalna efikasnost biocida protiv aflatoksina i okratoksina toksičnih sojeva *Aspergillus* ovisi o vrsti i soju te o koncentraciji i spoju koji se koristi. Na primjer, benzalkonijev klorid i jod pokazuju visoku učinkovitost protiv aflatoksinogenih sojeva *Aspergillus*, a peroctena kiselina protiv okratoksinogenih sojeva *Aspergillus* (Lemos i sur., 2020). Kako bi se optimizirali dekontaminacijski režimi i dezinfekcijski protokoli, istraživanje naglašava potrebu karakteriziranja kapaciteta različitih mikrobnih sojeva za formiranje biofilmova (Linaou i sur., 2020).

4.4.1.2. Učinkovitost dezinfekcijskih sredstava u pojedinim primjenama

Kao što je prikazano u tablici 14., ispituje se učinkovitost tradicionalnih i novih metoda dekontaminacije zraka, vode, voća i povrća te za kontrolu higijene u mliječnoj industriji.

Dezinfekcijske procedure u prehrambenoj industriji imaju za cilj minimizirati broj mikroba u **zraku**, kako bi se u konačnici spriječila krizna kontaminacija te se ispituju različiti postupci dezinfekcije. Tretiranje zraka UV zračenjem, ozonom, hladnom plazmom i postupak aerosolizacije se ispituju kako bi se optimizirala tehnika dezinfekcije prehrambenih postrojenja (Masotti i sur., 2019). Masotti. i sur. (2019) su pokazali da ozonizacija i aerosolizacija vodikovim peroksidom efikasno inaktiviraju mikroorganizme u zraku.

Plinoviti ClO_2 ispituje se za unaprjeđenje sigurnosti, kvalitete i senzorskih svojstava **voća i povrća** (klasično se voće i povrće pere u otopini hipoklorita). Klor dioksid je, prema Sun i sur. (2019) visoko učinkoviti biocid koji se koristi za smanjenje gubitaka u proizvodnji i unaprjeđenju sigurnosti hrane zbog snažnog antibakterijskog i antifungalnog djelovanja.

Nedavno istraživanje je dokazalo korisnu primjenu prirodnih ulja s antimikrobnim svojstvima u kombinaciji sa tehnologijom kavitacije kako bi se unaprijedila učinkovitost dezinfekcije **vode**. I Gram-negativne (*E. coli*) i Gram-pozitivne (*S. aureus*) bakterije su učinkovito uklonjene optimiziranjem procesnih parametara, kao što su tlak, temperatura i korištenje odgovarajućih ulja (Mane i sur., 2020). Posebno je važno kontrolirati higijenu u **mliječnoj industriji** zbog potencijalnog nakupljanja velikog broja bakterija i formiranja biofilmova uslijed načina proizvodnje koji potiče nastajanje teško perivih nakupina i visokih kapaciteta u proizvodnji, stoga je uklanjanje biofilmova postalo glavni problem u mljekarskoj industriji (Mnif i sur., 2020).

4.4.1.3. Biocidi i utjecaj na okoliš

Biocidi predstavljaju određeni rizik za okoliš, ne samo zbog kemijskog sastava aktivnih spojeva nego i zbog otapala korištenih u njihovoj formulaciji kako bi se omogućila njihova primjena te prisutnosti nusproizvoda. Zbog svoje učinkovitosti, klor igra primarnu ulogu u dezinfekciji vode za piće i otpadnih voda i površina povezanih s proizvodnjom, transportom, skladištenjem ili konzumacijom hrane ili hrane za životinje. Međutim, nedostaci su stvaranje toksičnih nusproizvoda dezinfekcije, kao što su trihalometani, haloctena kiselina, bromati i kloriti, i to posljedično ima zdravstvene posljedice. Stoga se istražuju alternative koje su održive. Prema dostupnim radovima, neka alternativna dezinfekcijska sredstva mogu biti učinkovita u inaktivaciji patogenih mikroorganizama i manje štetna za zdravlje ljudi i vodene ekosustave.

Brojni čimbenici mogu objasniti prisutnost nusproizvoda dezinfekcije u hrani i pićima. Neki od pokazatelja su neobrađene izvorne vode koje sadrže jodid i brom, industrijske vode dobivene iz klorirane vode iz slavine, te poljoprivredni proizvodi bogati organskim tvarima imaju potencijal za formiranje nusproizvoda dezinfekcije (Chen i Hung, 2017,2016; Golea i sur., 2017; Gombas i sur., 2017; López-Gálvez i sur., 2019).

Natrijev hipoklorit i peroctena kiselina koriste se za sanitaciju površina u preradi hrane, no njihovo kemijsko djelovanje tijekom procesa pranja voća i povrća još uvijek nije poznato. Lee i Huang (2019) uspoređuju navedena sredstva za čišćenje u postupcima pranja svježe narezane salate. Primijenjene su različite količine sredstva za čišćenje, a voda za ispiranje i oprana zelena salata podvrgnute su analizi na 45 nusproizvoda dezinfekcije. Općenito, pranje peroctenom kiselinom rezultiralo je mnogo manjom količinom aldehidnih nusproizvoda u odnosu na NaOCl u vodi za pranje i u salati. (Wan-Ninge, 2018)

Istraživanje (Rodrigues Macêdo i sur., 2019) uspoređuje ekotoksikološke učinke dezinficijensa peroctene kiseline i kalcijevog hipoklorita prema *Dugesia tigrina*. U smislu akutnih učinaka (LC₅₀), aktivni klor kalcijevog hipoklorita bio je toksičniji od peroctene kiseline, iako je LC₅₀ vrijednost bila blizu vrijednosti peroctene kiseline. Aktivni klor kalcijevog hipoklorita se pokazao toksičnijim nego peroctena kiselina. Ovo istraživanje je relevantno, jer je *D. tigrina* indikator kvalitete vode te važan dio prehranbenog lanca (Rodrigues Macêdo i sur., 2019).

Sve je više kontaminanata (različitih kemijskih spojeva) detektiranih u okolišu kao posljedica procesa u industriji, zdravstvu i agrikulturi, a koji predstavljaju ozbiljan problem. Neophodno je dizajnirati i razviti nove strategije i tehnike kako bi se olakšala detekcija i praćenje širokog spektra kontaminanata u okolišu. Učinkovitije metode tretiranja vode bi mogle smanjiti stvaranje otpada i kontaminacija. Također kombinacija različitih fiziokemijskih i bioloških metoda smatra se dobrom alternativom za smanjenje kontaminacije. Primjena dvaju ili više različitih oksidacijskih procesa simultano vodi ka sinergističkom efektu koji se očituje u povećanom nivou reaktivnih kisikovih čestica, što u konačnici smanjuje vrijeme procesa i osigurava amineralizaciju kontaminanata (Ramírez-Malule i sur., 2020).

4.4.1.4. Otpornost na antimikrobna sredstva

Antimikrobna rezistentnost patogena prisutnih u prehrambenoj industriji je globalni problem koji utječe na zdravlje ljudi i životinja i može biti izvor ponovnih kontaminacija hrane rezistentnim mikroorganizmima. Posebice, dugotrajno subletalno izlaganje antimikrobnim agensima vodi nastanku i širenju mikrobnih sojeva koji su manje osjetljivi na antimikrobne agense. Dodatno, može se dogoditi i inducirana otpornost na klinički relevantne antibiotike, odnosno križna-kontaminacija. Primjerice, *P. aeruginosa* sojevi, rezistentni na benzalkonij kloridne spojeve su razvili otpornost na različite antibiotike i industrijske biocidne formulacije, kao npr. poliheksametilen gvanidin hidroklorid. Nadalje, različiti izolati iz *Lactococcus spp.*, *Enterobacter spp.* *Escherichia spp.* su razvili rezistentnost na antibiotike i biocide (Oniciuc i sur., 2019).

U stresnim uvjetima, reakcija sojeva na biocide više varira. Nedavno istraživanje (Barosso i sur., 2019) se bavilo usporedbom osjetljivosti biofilmova *L. monocytogenes* na biocide benzalkonij klorida i peroctene kiseline, pri čemu je peroctena kiselina bila učinkovitija u eliminiranju formiranih biofilmova. Biofilmovi rezistentnih ili osjetljivih sojeva formiranih kao posljedica nutritivnog stresa su imali različit "odgovor" na benzalkonij klorid. Suprotno tomu, rezistentni ili osjetljivi sojevi planktonskih stanica nisu pokazivali osjetljivost biofilmova. (Barosso i sur., 2019)

Potrebno je dodatno istraživanje biofilmova u uvjetima prisutnim u prehrambenim industrijama ali je i nužno razviti nove i učinkovitije antimikrobne strategije za kontrolu rezistencije patogena u prehrambenoj industriji. Kavitacija i korištenje prirodnih ulja/biljnih ekstrakata je nova i tehnološki učinkovita strategija za učinkovito uklanjanje rezistentnih patogena (Mane i sur., 2020).

4.4.1.5. Novi materijali s antimikrobnim karakteristikama

Da bi se riješili problemi površinske kontaminacije, uvode se nove strategije kojima se ograničava sposobnost mikroorganizama da prežive iznad površina i materijala. Antibakterijski premaz naširoko se koristi u zdravstvu, prehrambenoj službi i bolnicama za dezinfekciju i kontrolu mikrobiote. Kao najpopularniji, nanomaterijali iz porodice grafena (GFN), posebno materijali u kombinaciji s GFN-om, pokazuju izuzetna antibakterijska svojstva (Han i sur., 2019). Pokazalo se da nanočestice pokazuju antimikrobni učinak prema različitim vrstama patogena zbog svoje veličine i sposobnosti oštećenja stanica pomoću različitih mehanizama. Za razliku od dezinficijensa, nanomaterijali pružaju mogućnosti za ograničavanje rasta mikroba

prije kontaminacije površina. Metode koje se koriste kod novih materijala s antimikrobnim karakteristikama su nanomaterijali za antimikrobne prevlake i filmove, antimikrobne nanočestice ZnO, TiO₂ i SiO₂ u zaštiti građevinskih materijala od biorazgradnje i antibakterijsko fotodinamičko djelovanje nanočestica ugljika/nanokompoziti polidimetilsiloksana protiv *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* i *Klebsiella pneumoniae* (Dyshlyuki sur., 2020; Marković i sur., 2019).

5. ZAKLJUČCI

Iz Registra biocidnih proizvoda pri Ministarstvu zdravstva RH u periodu 2009. do 2020. izdvojeni su svi proizvodi za higijenu ljudi te svi proizvodi za dezinfekciju za hranu i hranu za životinje. Provedena je analiza pripravaka na osnovu njihovih formulacija i sadržaja aktivnih tvari te su najvažniji zaključci sljedeći:

U slučaju proizvoda za higijenu ljudi, najveći postotni udio aktivnih tvari čine kombinacije nekoliko aktivnih tvari (etanol i propanol; etanol, propanol i bigvanidi; etanol i vodikov peroksid; etanol, kvaterni amonijevi spojevi i bigvanidi; te oksidacijsko sredstvo i kvaterni amonijevi spojevi.). Što se tiče proizvoda za dezinfekciju hrane i hrane za životinje najveći postotni udio aktivnih tvari imaju klorni spojevi.

Što se tiče odobrenih proizvoda za dezinfekciju ruku, najveći broj proizvoda registriran je kao sredstvo za dezinfekciju, a manje kao antibakterijski sapuni, odnosno proizvodi za kombinirano pranje i dezinfekciju ruku.

Nakon pretraživanja recentne literature u vezi dezinfekcije ruku i površina, utvrđeno je da je puno manja raznovrsnost tema istraživanja sredstava i općenito problematike pranja ruku nego tema istraživanja vezanih uz dezinfekciju površina. Najčešće teme pretraživane literature su vezane za ispitivanje novih aktivnih tvari i postupaka dezinfekcije kao primjerice korištenje biljnih ekstrakata i fitokemikalija, bakterija mliječne kiseline, enzima i drugih spojeva dobivenih iz mikroorganizama, kavitacije i elektrizirane vode, te upotreba nanočestica srebra.

Prema globalnoj analizi tržišta 2017. godine i predviđanjima do 2025. godine očekuje se da će globalno tržište dezinfekcije hrane i pića svjedočiti značajnom rastu. Klorni spojevi su jedni od najpovoljnijih i najučinkovitijih kemijskih dezinfekcijskih sredstava koje se koriste za dezinfekciju površina. Osim njih, predviđa se i kontinuirani rast proizvoda na bazi peroksida.

Iako su klorni spojevi najčešće biocidi koji su registrirani u RH, podaci o potrošnji pojedinih biocida u RH nisu navedeni u Registru biocidnih pripravaka pri Ministarstvu zdravstva RH u periodu 2009. do 2020. koji se koristio u ovom radu, te tako ne možemo usporediti trendove potrošnje biocida u RH sa potrošnjom u svijetu.

6. LITERATURA

Anonymous 1 (2016) Inovative Solutions for Microbial Control.
<<https://www.sterilex.com/interpreting-an-epa-label-sanitizer-vs-disinfectant/>>.

Pristupljeno 15. travnja 2020.

Anonymous 2 (2020) Merck – Europea Export.

<<mailto:https://www.sigmaaldrich.com/european-export.html>> . Pristupljeno 25. svibnja 2020.

Anonymous 3 (2020) Research Gate

<https://www.researchgate.net/publication/314488478_A_NOVEL_COLORIMETRIC_BIOSENSOR_FOR_DETERMINATION_OF_CATIONIC_SURFACTANTS/figures?lo=1>. Pristupljeno 25. svibnja 2020.

Arteaga, V., Lamas, A., Regal, P., Vázquez, B., Miranda, J.M., Cepeda, A., Franco, C.M. (2019) Antimicrobial activity of apitoxin from *Apis mellifera* in *Salmonella enterica* strains isolated from poultry and its effects on motility, biofilm formation and gene expression., U: *Microb Pathog*, str.103-771.

Asaj, A. (2000) *Dezinfekcija*, Medicinska knjiga, Zagreb

Barroso, I., Maia, V., Cabrita, P., Martínez-Suárez, J.V., Brito, L. (2019) The benzalkonium chloride resistant or sensitive phenotype of *Listeria monocytogenes* planktonic cells did not dictate the susceptibility of its biofilm counterparts. *Food Research International*.

Berardi, A. (2020) Hand sanitisers amid CoViD-19: A critical review of alcohol-based products on the market and formulation approaches to respond to increasing demand, *International Journal of Pharmaceutics*, str. 119-431.

Bernstein, M. (1990), The chemistry of disinfectants, U: *Handbook of hygiene control in the food industry* (Lelieveld, H.L.M, Mostert, M.A., Holah,J., ured.), Elsevier Applied Science, Cambridge, str. 30-40.

Beuchat, L. R. (1998), Surface Decontamination of Fruits and Vegetables Eaten Raw: a review, U: Handbook of hygiene control in the food industry (Lelieveld, H.L.M, Mostert, M.A., Holah, J., ured.), Elsevier Applied Science, Cambridge.

Bolon, MK. (2016) Hand Hygiene: An Update, U: Infectious Disease Clinics of North America (Boucher, H.W., ured.), Science Direct, Boston, str. 591-607.

Bosch, A., Gkogka, E., Le Guyader, F.S., Loisy-Hamon, F., Lee, A., van Lieshout, L, Marthi, B., Myrmel, M., Sansom, A., Schultz, A.C., Winkler, A., Zuber, S., Phister, T. (2018) Foodborne viruses: Detection, risk assessment, and control options in food processing, U: International Journal of infectious diseases, (Cocolin, L., ured.), Science Direct, Barcelona, str. 110-128.

Bromberger, B., Sommer, J., Robben, C., Trautner, C., Kalb, R., Rossmanith, P., Mester, P.-J. (2020) Evaluation of the antimicrobial activity of pyrithione-based ionic liquids, U: Separation and Purification Technology, (Van der Bruggen, B., ured.), Elsevier Applied Science, Madrid, str. 117-309.

Chung, D., Papadakis, S. E. i Yam, K. L. (2003), Evaluation of a polymer coating containing triclosan as the antimicrobial layer for packaging materials, U: Handbook of hygiene control in the food industry (Lelieveld, H.L.M, Mostert, M.A., Holah,J., ured.) Elsevier Applied Science, Cambridge, str. 165-169.

Codex (2003), Proposed Draft Code of Practice on the Safe Use of Active Chlorine, The Hague, Codex Alimentarius Commission, U: Handbook of hygiene control in the food industry (Lelieveld, H.L.M, Mostert, M.A., Holah,J., ured.) Elsevier Applied Science, Cambridge.

Conover, D.M. i Gibso, K.E. (2015) A Review of Methods for the Evaluation of Handwashing Efficacy, *Food Control*. **63**

Cunault, C., Faile, C., Calabozo-Delgado, A., Benezech, T. (2019) Structure and resistance to mechanical stress and enzymatic cleaning of *Pseudomonas fluorescens* biofilms formed in fresh-cut ready to eat washing tanks, U: Journal of Food Engineering, (Singh, R.P., ured.), Elsevier Applied Science, str. 154-161.

de Oliveira Melo, A., Braz dos Santos, D., Damacena Silva, L., Lopes Rocha, T., Barreto Bazerra, J.C. (2019) Molluscicidal activity of polyhexamethylene biguanide hydrochloride on the early-life stages and adults of the *Biomphalaria glabrata* (Say,1818)., U: *Chemosphere* (de Boer, J., ured.), Elsevier Applied Science, str. 365-371

Deshmukh, S.P., Patil, S.M., Mullani, S.B., Delekar, S.D. (2019) Silver nanoparticles as an effective disinfectant: A review, U: *Materials Science and Engineering: C*, (Salmeron-Sanche, M., ured.), Elsevier Applied Science, str. 954-965.

Dixon, N., Morgan, M., Equils, O. (2017) Foam soap is not as effective as liquid soap in eliminating hand microbial flora. *Am J Infect Control.*, U: *American Journal of Infection Control* (Stone, P., ured.), Elsevier Applied Science, str. 813-814.

Dyshlyuk, L., Babich, O., Ivanova, S., Vasilchenco, N., Atuchin, V., Korolkov, I., Russakov, D., Prosekov, A. (2020) Antimicrobial potential of ZnO, TiO₂ and SiO₂ nanoparticles in protecting building materials from biodegradation, U: *International Biodeterioration & Biodegradation*, (Gu, J-D., ured.), Elsevier Applied Science, str.104-821.

Garrido, Y., Marín, A., Tudela, J.A., Allende, A., Gil, M.I. (2019) Chlorate uptake during washing is influenced by product type and cut piece size, as well as washing time and wash water content, U: *Postharvest Biology and Technology*, (Nicolai, B. i Watkins, C., ured.), Elsevier Applied Science, str. 45-52.

Gonçalves Lemo, J., Stefanello, A., Bernardi, A.O., Garcia, M.V., Magrini, L.N., Cichoski, A.J., Wagner, R., Ventorini Copetti, M. (2020) Antifungal efficacy of sanitizers and electrolyzed waters against toxigenic *Aspergillus*. *Food Research International*. 109-451.

Gorman, S. P., Jones, D. S. i Loftus, A. M. (1987), The sporicidal activity and inactivation of chlorhexidine gluconate in aqueous and alcoholic solution, *Journal of Applied Bacteriology*, U: *Handbook of hygiene control in the food industry* (Lelieveld, H.L.M, Mostert, M.A., Holah,J., ured.), Elsevier Applied Science, Cambridge, str. 183-188.

HAH (2006) Osnove uputa za higijensku proizvodnju hrane. HAH – Hrvatska agencija za hranu <https://www.hah.hr/pdf/osnovne_upute.pdf>. Pristupljeno 03. svibnja 2020.

Han, W., Wu, Z., Li, Y., Wang, Y. (2019) Graphene family nanomaterials (GFNs)—promising materials for antimicrobial coating and film: A review, U: Chemical Engineering Journal (Allen, S. i sur., ured.), Elsevier Applied Science, str. 1022-1037.

HOK (2009) Vodič dobre higijenske prakse za ugostitelje i HACCP vodič za ugostitelje. HOK - Hrvatska obrtnička komora <https://www.hok.hr/cehovi/haccp_ugostiteljstvo>. Pristupljeno 28. lipnja 2020.

Hu, H., Cai, L., Dong, Y., Wang, H., Xu, X., Zhou, G. (2019) Modeling the degradation of acidic electrolyzed water and its ability to disinfect a dual-species biofilm, U: Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie, (Singh, R.K., ured.), Elsevier Applied Science, str. 159-164.

Hugo, W. B. i Russell, A. D. (1999), Types of antimicrobial agents, in Russell, A. D., Hugo, W. B. and Ayliffe, G. A. J. Principles and Practice of Disinfection, Preservation and Sterilization, U: Handbook of hygiene control in the food industry (Lelieveld, H.L.M, Mostert, M.A., Holah, J., ured.), Elsevier Applied Science, Cambridge.

Joka, G. (2018) Biocidi (biocidni proizvodi), jučer, danas, sutra?, *Sigurnost i zaštita na radu*. **67**, 470-472.

Kosalec, I. (2016) Biocidi u ljekarni – mikrobiološki aspekti, <https://bib.irb.hr/datoteka/876040.hfd-biocidi_2016.pdf>. Pristupljeno 28. lipnja 2020.

Krop, J.J.P (1990) Reiniging en Desinfectie, U: Handbook of hygiene control in the food industry (Lelieveld, H.L.M, Mostert, M.A., Holah, J., ured.), Elsevier Applied Science, Cambridge, str.71-72.

Lee, W-N. i Huang, C-H. (2019) Formation of disinfection byproducts in wash water and lettuce by washing with sodium hypochlorite and peracetic acid sanitizers, U: Food Chemistry, (Finglas, P., ured.), Elsevier Applied Science, str. 100-003.

Lianou, A., Nychas, G.-J. E., Koutsoumanis, K.P. (2020) Strain variability in biofilm formation: A food safety and quality perspective. *Food Research International*. 109-424.

Loftus, M.J., Guitart, C., Tartari, E., Mehtar, S., Sithole, B.L., Pittet, D. (2019) Hand hygiene in low- and middle-income countries, U: *International Journal of infectious diseases*, (Cocolin, L., ured.), Science Direct, Barcelona, str. 110-128.

Machado Querido, M., Aguiar, L., Neves, P., Costa Pereira, C., Teixeira, J.P. (2019) Self-disinfecting surfaces and infection control, U: *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, (Busscher, H. i sur., ured.), Elsevier Applied Science, str. 8-21.

Maillard, J.-Y. (2016) Chapter 37 - Testing the Effectiveness of Disinfectants and Sanitizers, U: *Handbook of Hygiene Control in the Food Industry*, (Lelieveld, H. i sur., ured.), Elsevier Applied Science, Cambridge, str. 569-586.

Malheiro, R.F., Maillard, J.-Y., Borges, F., Simões, M. (2019) Evaluation of cinnamaldehyde and cinnamic acid derivatives in microbial growth control, U: *International Biodeterioration & Biodegradation*, (Gu, J-D., i ured.), Elsevier Applied Science, str. 71-78.

Mane, M.B., Bhandri, V.M., Balapure, K., ranade, V.V. (2020) Destroying antimicrobial resistant bacteria (AMR) and difficult, opportunistic pathogen using cavitation and natural oils/plant extract, U: *Ultrasonics Sonochemistry*, (Ashokkumar, M., ured.), Elsevier Applied Science, str. 105-272.

Mane, M.B., Bhandri, V.M., Balapure, K., ranade, V.V. (2020) A novel hybrid cavitation process for enhancing and altering rate of disinfection by use of natural oils derived from plants, U: *Ultrasonics Sonochemistry*, (Ashokkumar, M., ured.), Elsevier Applied Science, str. 104-820.

Marković, Z.M., Kováčová, M., Humpolíček, P., Budimir, M.D., Vajdák, J., Kubát, P., Mičušík, M., Švajdlenková, H., Danko, M., Cápáková, Z., Lehocký, M., Todorović Marković, B.M., Špitalský, Z. (2019) Antibacterial photodynamic activity of carbon quantum dots/polydimethylsiloxane nanocomposites against *Staphylococcus aureus*,

Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae. U: Photodiagnosis and Photodynamic Therapy (Allison, R., ured.), Elsevier Applied Science, str. 342-349.

Marquois, R. E., Rutherford, G. C., Faraci, M. M. i Shin, S. Y. (1995), Sporicidal action of peracetic acid and protective effects of transition metal ions, Journal of Industrial Microbiology, U: Handbook of hygiene control in the food industry (Lelieveld, H.L.M, Mostert, M.A., Holah, J., ured.), Elsevier Applied Science, Cambridge, str.486-492.

Masotti, F., Cattaneo, S., Stuknytė, M., De Noni, I. (2019) Airborne contamination in the food industry: An update on monitoring and disinfection techniques of air, U: Trends in Food Science & technology, (Finglas, P., ured.), Elsevier Applied Science, str. 147-156.

Masotti, F., Vallone, L., Ranzini, S., Silvetti, T., Morandi, S., Brasca, M. (2019) Effectiveness of air disinfection by ozonation or hydrogen peroxide aerosolization in dairy environments. *Food Control*. 32-38.

Mazaheri, T., Ripolles-Avila, C., Hascoët, A.S., Rodríguez-Jerez, J.J. (2020) Effect of an enzymatic treatment on the removal of mature Listeria monocytogenes biofilms: A quantitative and qualitative study. *Food control*. 107-266.

McDonnell, G. i Russell, A. D. (1999), Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance, Clinical Microbiology Reviews, U: Handbook of hygiene control in the food industry (Lelieveld, H.L.M, Mostert, M.A., Holah, J., ured.), Elsevier Applied Science, Cambridge, str. 147-179.

McDonnell, G., Gringol, G. i Antloga, K. (2002), Vapor phase hydrogen peroxide decontamination of food contact surfaces, Dairy, Food and Environmental Sanitation, U:Handbook of hygiene control in the food industry (Lelieveld, H.L.M, Mostert, M.A., Holah, J., ured.), Elsevier Applied Science, Cambridge, str. 868-873.

Medina-Gudiño, J., Rivera-Garcia, A., Santos-Ferro, L., Ramirez-Orejuel, J., Agredano-Moreno, L.T., Jimenez-Garcia, L.F., Paez-Esquiliano, D., Martinez-Vidal, S., Andrade-Esquivel, E., Cano-Buendia, J.A. (2020) Analysis of Neutral Electrolyzed Water anti-bacterial activity on contaminated eggshells with Salmonella enterica or Escherichia coli,

U: *International Journal of Food Microbiology*, (Cocolin, L., ured.), Elsevier Applied Science, str.108-538.

Medina-Rodríguez, A.C. (2020) Clean-in-place disinfection of dual-species biofilm (*Listeria* and *Pseudomonas*) by a green antibacterial product made from citrus extract. *Food Control*. 107-422.

Merino, L., Procura, F., Treio, F.M., Bueno, D.J., Golowczyc, M.A. (2019) Biofilm formation by *Salmonella* sp. in the poultry industry: Detection, control and eradication strategies, U: *Food Research International*, str. 530-540.

Michaels, B., Keller, C., Blevins, M., Paoli, G., Ruthman, T., Todd, E., Griffith, C.J. (2004) Prevention of food worker transmission of foodborne pathogens: Risk assessment and evaluation of effective hygiene intervention strategies, *Food Service Technology*., str. 31-49

Mnif, S., Jardak, M., Yaich, A., Aifa, S. (2020) Enzyme-based strategy to eradicate monospecies *Micrococcus caseolyticus* biofilm contamination in dairy industries, U: *International Dairy Journal*, (Huppertz, T., ured.), Elsevier Applied Science, str. 104-560.

Mohr, M. i Duggal, S. (1997), *Zielgerichte Sauberkeit*; izd. 2, *Lebensmitteltechnik*, U: *Handbook of hygiene control in the food industry* (Lelieveld, H.L.M, Mostert, M.A., Holah, J., ured.), Elsevier Applied Science, Cambridge, str.60-62.

Nierop Groot, M., Abee, T., van Bokhorst – van de Veen, H. (2019) Inactivation of conidia from three *Penicillium* spp. isolated from fruit juices by conventional and alternative mild preservation technologies and disinfection treatments, U: *Food Microbiology*, (Tortorello, M.L., ured.), Elsevier Applied Science, str.108-114.

Ogunsona, E.O., Muthuraj, R., Ojogbo, E., Valerio, O., Mekonnen, T.H. (2020) Engineered nanomaterials for antimicrobial applications: A review, U: *Applied materialstoday*, (Pumera, M., ured.), Elsevier Applied Science, str. 100-473.

Oniciuc, E-A., Likotrafiti, E., Alvarez-Molina, A., Prieto, M., López, M., Alvarez-Ordóñez, A. (2019) Food processing as a risk factor for antimicrobial resistance spread along the food chain, U: *Current Opinion in Food Science*, (A.G. Marangoni, A.G. i Sant'Ana, A., ured.), Elsevier Applied Science, str. 21-26.

Pang, X., Wong, C., Chung, H.-J., Yuk, H.-G. (2019) Biofilm formation of *Listeria monocytogenes* and its resistance to quaternary ammonium compounds in a simulate salmon processing environment. *Food Control*. **98**, 200-208.

Paul, D., Chakraborty, R., Mandal, S.M. (2019) Biocides and health-care agents are more than just antibiotics: Inducing cross to co-resistance in microbes., U: *Ecotoxicol and Environmental Safety*. (Handy, R. i Yan, B., ured.), Elsevier Applied Science str. 601-610.

Pravilnik o higijeni hrane (2007) Narodne novine **99**, Zagreb

Pravilnik o učestalosti kontrole i normativima mikrobiološke čistoće u objektima pod sanitarnim nadzorom (2009) Narodne novine **137**, Zagreb.

Ramírez-Malule, H., Quiñones-Murillo, D.H., Manotas-Duque, D. (2020) Emerging contaminants as global environmental hazards. A bibliometric analysis, U: *Emerging Contaminants*, (Yu, G. i Harrad S., ured.), Elsevier Applied Science, str.179-193.

Reuter, G. (1998), Disinfection and hygiene in the field of food of animal origin, 90 Handbook of hygiene control in the food industry International Biodeterioration & Biodegradation, U: Handbook of hygiene control in the food industry (Lelieveld, H.L.M, Mostert, M.A., Holah, J., ured.), Elsevier Applied Science, Cambridge, str. 209-215.

Ripoles-Avila, C., Ramos-Rubio, M., Hascoët, A.S., Rodríguez-Jerez, J.J. (2020) New approach for the removal of mature biofilms formed by wild strains of *Listeria monocytogenes* isolated from food contact surfaces in an Iberian pig processing plant, U: *International Journal of Food Microbiology*, (Cocolin, J., ured.), Elsevier Applied Science, str. 108-595.

Rodrigues Macêdo, L.P., Silvestre Pereira Dornelas, A., Marques Vieira, M., De Jesus Ferreira, J.S., Almeida Sarmiento, R., Soares Cavallini, G. (2019) Comparative ecotoxicological evaluation of peracetic acid and the active chlorine of calcium hypochlorite: Use of *Dugesia tigrina* as a bioindicator of environmental pollution, U: *Chemosphere*, (de Boer, J., Galloway, T., Yoon, Y., ured.), Elsevier Applied Science, str. 273-281.

Rodríguez-Melcón, C., Riesco-Peláez, F., Garcia-Fernandez, C., Alonso-Calleja, C., Capita, R. (2019) Susceptibility of *Listeria monocytogenes* planktonic cultures and biofilms to sodium hypochlorite and benzalkonium chloride, U: *Food Microbiology*, (Tortorello, M.L., ured.), Elsevier Applied Science, str. 533-540.

Rowan, N.J. (2019) Pulsed light as an emerging technology to cause disruption for food and adjacent industries – Quo vadis?, U: *Trends in Food Science & Technology*, (Finglas, F., ured.), Science Direct, str. 316-332.

Russell, A. D. (1990), Bacterial spores and chemical sporicidal agents, *Clinical Microbiology Reviews*, U: *Handbook of hygiene control in the food industry* (Lelieveld, H.L.M, Mostert, M.A., Holah, J., ured.), Elsevier Applied Science, Cambridge, str. 99-119.

Russell, A. D. (1991), Mechanisms of bacterial resistance to non-antibiotics: food additives and food and pharmaceutical preservatives, *Journal of Applied Bacteriology*, U: *Handbook of hygiene control in the food industry* (Lelieveld, H.L.M, Mostert, M.A., Holah, J., ured.), Elsevier Applied Science, Cambridge, str. 191-201.

Russell, A.D. i Mc Donnell, G. (2001) Antiseptics and disinfectants: Activity, action and Resistance, *Clinical microbiology reviews*, str. 147-179.

Rušani, D. (2020) Higijena ruku kao najvažnija mjera prevencije infekcija povezanih sa zdravstvenom skrbi, Diplomski rad, Medicinski fakultet Sveučilište u Zagrebu, Zagreb

Sakarioku, C., Kostoglou, D., Simões, M., Giaouris, E. (2020) Exploitation of plant extracts and phytochemicals against resistant *Salmonella* spp. in biofilms. *Food Research International*. 108-806.

Setlow, B., Loshon, C. A., Genest, P. C., Cowan, A. E., Setlow, C. i Setlow, P. (2002), Mechanisms of killing spores of *Bacillus subtilis* by acid, alkali and ethanol, *Journal of Applied Microbiology*, U: Handbook of hygiene control in the food industry (Lelieveld, H.L.M, Mostert, M.A., Holah, J., ured.), Elsevier Applied Science, Cambridge, str. 362-375.

Sixma, J. J. (2001), Disinfectants in Consumer Products, Health Council of the Netherland, U: Handbook of hygiene control in the food industry (Lelieveld, H.L.M, Mostert, M.A., Holah, J., ured.), Elsevier Applied Science, Cambridge.

Sofos, J. N. i Busta, F. F. (1999), Chemical food preservatives, in Russel, A. D., Hugo, W. B. and Ayliffe, G. A. J. Principles and Practice of Disinfection, Preservation and Sterilization, U: Handbook of hygiene control in the food industry (Lelieveld, H.L.M, Mostert, M.A., Holah, J., ured.), Elsevier Applied Science, Cambridge.

Speek, A. J. (2002), Onderzoek naar het toepassen van decontaminatie en desinfectiemiddelen in de groenten en fruit verwerkende industrie, U: Handbook of hygiene control in the food industry (Lelieveld, H.L.M, Mostert, M.A., Holah, J., ured.), Elsevier Applied Science, Cambridge.

Sun, X., Baldwin, E., Bai, J. (2019) Applications of gaseous chlorine dioxide on postharvest handling and storage of fruits and vegetables – A review. *Food Control*. **95**, 18-26.

Tatsaporn, T. i Kornkanok, K. (2020) Using Potential Lactic Acid Bacteria Biofilms and their Compounds to Control Biofilms of Foodborne Pathogens, U: Biotechnol Reports (Mattiasson, B., ured.), Biotechnol Reports, str. 4-77.

Tofant, A. (2004) Higijena ruku (znanstveno stručni dio), Veterinarski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.

Toushik, S.H., Rahaman Mizan, F., Hossain, I., Ha, S.-D. (2020) Fighting with old foes: The pledge of microbe-derived biological agents to defeat mono- and mixed-bacterial biofilms concerning food industries, U: Trends in food Science & Technology (Finglas, P., ured.), Elsevier Applied Science, str. 413-425.

Uredba (EU) br. 528/2012 EUROPSKOG PARLAMENTA I VIJEĆA od 22. svibnja 2012. o stavljanju na raspolaganje na tržištu i uporabi biocidnih proizvoda (2012) Službeni list Europske unije

Vermeriren, L., Devliegehere, F. i Debevere, J. (2002), Effectiveness on some recent antimicrobial packaging concepts, Food Additives and Contaminants, U: Handbook of hygiene control in the food industry (Lelieveld, H.L.M, Mostert, M.A., Holah, J., ured.), Elsevier Applied Science, Cambridge, str. 163-171.

Zupanc, M., Pandur, Ž., Stepišnik Perdih, T., Stopar, D., Petkovšek, M., Dular, M. (2019) Effects of cavitation on different microorganisms: The current understanding of the mechanisms taking place behind the phenomenon. A review and proposals for further research, U: Ultrasonics Sonochemistry, (Ashokkumar, M., ured.), Elsevier Applied Science, str. 147-165.

Prof. dr. sc. Sanja Vidaček Filipec
Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo
Laboratorij za tehnologiju mesa i ribe

Zagreb, rujan, 2020.

IZJAVA O IZVORNOSTI

Izjavljujem da je ovaj diplomski rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristila drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

Ivona Pavić

Ivona Pavić