



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

Dipartimento di Agronomia Animali Alimenti Risorse Naturali e Ambiente  
Dipartimento di Territorio e Sistemi Agro-Forestali

Corso di laurea in Scienze e Tecnologie Alimentari

**UTILIZZO DEGLI OLI ESSENZIALI COME ANTIMICROBICI NEL  
FOOD PACKAGING**

Relatore  
Prof. Sella Luca

Laureanda  
Malisani Silvia  
Matricola n. 1164785

ANNO ACCADEMICO 2021-2022

## INDICE

Riassunto	
Abstract	
1. Introduzione.....	4
2. Confezionamento dei prodotti alimentari.....	4
2.1. Funzioni del Food Packaging.....	5
2.2. Tipologie di Food Packaging.....	6
2.3. Normative sui materiali e gli oggetti a contatto diretto con gli alimenti (MOCA).....	7
3. Innovazione del Food Packaging.....	9
3.1. Imballaggio attivo.....	11
3.1.1. Imballaggi antimicrobici.....	12
4. Oli essenziali.....	13
4.1. Chimica degli oli essenziali.....	14
4.2. Metodi di estrazione degli oli essenziali.....	15
4.2.1. Spremitura a freddo.....	16
4.2.2. Estrazione mediante solventi.....	16
4.2.3. Metodo “Enfleurage”.....	17
4.2.4. Distillazione in corrente di vapore.....	17
4.2.5. Estrazione con fluidi supercritici.....	18
4.3. Attività antimicrobica degli oli essenziali.....	19
4.4. Utilizzo degli oli essenziali nel food packaging.....	20
5. Conclusioni.....	23
6. Bibliografia.....	24

## **RIASSUNTO**

Negli ultimi anni un'importante sfida per l'industria del food packaging è stata quella di produrre degli imballaggi sostenibili e capaci di allungare la shelf life dei prodotti alimentari in quanto è aumentato l'interesse da parte delle istituzioni e dei consumatori verso la tutela dell'ambiente e la riduzione degli scarti alimentari.

In riferimento a questo, hanno attirato molta attenzione antimicrobici naturali come gli oli essenziali, i quali possono essere impiegati direttamente nella matrice alimentare o incorporati nelle matrici polimeriche con lo scopo di allungare la durata di conservazione degli alimenti.

Questo elaborato fornisce una breve panoramica sulle diverse tecnologie di imballaggio, concentrandosi sugli imballaggi attivi incorporati con gli oli essenziali, di cui vengono descritte caratteristiche e attività antimicrobiche

## **ABSTRACT**

In recent years, an important challenge for the food packaging industry has been to produce sustainable packaging capable of extending the shelf life of food products as the interest from institutions and consumers in the protection of food has increased. environment and the reduction of food waste.

In reference to this, natural antimicrobials such as essential oils have attracted a lot of attention, which can be used directly in the food matrix or incorporated into polymer matrices with the aim of extending the shelf life of food.

This paper provides a brief overview of the different packaging technologies, focusing on active packaging incorporated with essential oils, whose antimicrobial characteristics and activities are described.

## **1. INTRODUZIONE**

Negli ultimi anni, il rapido sviluppo delle società ha determinato un aumento sostanziale del consumo di vari tipi di beni e ogni giorno enormi quantità di prodotti vengono spedite in tutto il mondo per soddisfare le richieste dei consumatori.

Il mercato alimentare è uno dei mercati più rilevanti e globalizzati, poiché al giorno d'oggi è possibile trovare cibi provenienti da qualsiasi parte del mondo.

La crescita del mercato alimentare ha portato a un aumento dell'importanza del food packagings sia in termini qualitativi che quantitativi.

Nuove tipologie di confezionamento sono state sviluppate a seguito della necessità di aumentare la shelf life degli alimenti, di evitare il loro danneggiamento durante il trasporto, lo stoccaggio e di ridurre l'impatto ambientale mediante l'utilizzo di materiali rinnovabili o sostenibili.

I progressi nelle ricerche sugli imballaggi alimentari hanno determinato lo sviluppo di nuove tecnologie di imballaggio, come gli imballaggi attivi e intelligenti, le quali permettano di allungare la durata di conservazione dei cibi grazie alla loro interazione con gli stessi.

Tra le diverse soluzioni possibili, c'è stato ultimamente un crescente interesse verso gli imballaggi attivi basati sull'uso di oli essenziali (EO) come sostanze attive. Gli oli essenziali sono dei metaboliti secondari che vengono estratti da diverse parti delle piante, i quali sono dotati di una notevole attività antimicrobica e antiossidante, per questi motivi, oltre al fatto di essere delle sostanze naturali e quindi sostenibili, sono stati scelti per molte soluzioni di imballaggi attivi.

## **2. CONFEZIONAMENTO DEI PRODOTTI ALIMENTARI**

Il food packaging viene impiegato per proteggere gli alimenti dalla contaminazione ambientale e da altri fattori come odori, urti, polvere, temperatura, danni fisici e inoltre è fondamentale per garantire la qualità e la sicurezza alimentare, allungando

al contempo la durata di conservazione e riducendo al minimo gli sprechi di cibo (Han et al., 2018).

## 2.1. FUNZIONI DEL FOOD PACKAGING

L'imballaggio alimentare ha come prima funzione quella di proteggere il prodotto alimentare dall'influenza dell'ambiente esterno. L'obiettivo principale del food packaging è quello di contenere gli alimenti nel modo più economico, soddisfacendo le esigenze sia dell'industria che dei consumatori, assicurando la sicurezza alimentare e riducendo al minimo gli effetti ambientali (Sharma et al.,2021).

Il food packaging per il consumatore finale è sinonimo di praticità d'uso, di qualità e di igiene (Massi,2011) anche se le principali funzioni dell'imballaggio sono il contenimento, la protezione, la comunicazione (Young et al., 2020):

- **Contenimento:** Contenere i prodotti alimentari è la funzione basilare dell'imballaggio. Necessaria soprattutto per alcuni tipi di alimenti, ad esempio i prodotti liquidi, granulari/polverosi (in inglese vengono definiti *free flowing*), i quali non essendo dotati di forma propria, come i prodotti solidi, hanno bisogno di un contenimento. Tutti gli alimenti devono comunque essere imballati per consentire lo stoccaggio o lo spostamento dal punto di produzione alla destinazione finale, anche i prodotti che vengono considerati “non un prodotto confezionato”, come i prodotti sfusi, devono essere imballati per il trasporto (Dong et at.,2008).
- **Protezione:** La confezione protegge i prodotti alimentari da danni fisici come urti, vibrazioni, forze di compressione e da danni ambientali che si verificano in seguito all'esposizione ad acqua, luce, gas, microrganismi.
- **Comunicazione:** Sull'imballaggio deve essere presente un'etichetta la quale deve fornire determinate informazioni al consumatore come la denominazione del prodotto, la lista degli ingredienti, la tabella nutrizionale ecc. Inoltre, da molti anni l'imballaggio è stato definito il venditore silenzioso, in quanto le

immagini, colore, forma, materiale, possono influenzare in modo significativo la percezione del prodotto e le decisioni di acquisto del consumatore (Kenneth et al,2007).

## 2.2. TIPOLOGIA DI FOOD PACKAGING

Gli imballaggi possono essere classificati in tre gruppi (Piergiovanni e Limbo,2010):

- **Imballaggio primario:** l'imballaggio primario è l'imballaggio che viene a diretto contatto con l'alimento; viene detto anche imballaggio di vendita o di presentazione. Ad esempio, è una lattina per una bevanda, un barattolo per una conserva, una busta interna in una scatola di cereali. La loro funzione principale è quella di contenere e preservare il prodotto. L'imballaggio primario deve essere atossico, compatibile con il cibo e non devono causare un cambiamento nelle caratteristiche del cibo come variazioni di colore, reazioni chimiche indesiderate, sapore ecc.
- **Imballaggio secondario:** l'imballaggio secondario ha la funzione di contenere uno o più contenitori primari, quindi a diretto contatto non con il prodotto ma con l'imballaggio primario. Gli imballaggi secondari vengono utilizzati per proteggere i pacchi primari da danni durante la spedizione e lo stoccaggio. Un involucro termoretraibile e un connettore ad anello di plastica che raggruppa due o più lattine insieme per migliorare la facilità di manipolazione sono esempi di imballaggi secondari.
- **Imballaggio terziario:** L'imballaggio terziario è l'insieme di più contenitori primari o secondari, predisposto specificatamente per il trasporto e la movimentazione; detto anche imballaggio di trasporto. Una scatola di cartone è la forma più comune di imballaggio terziario. La sua funzione principale è quella di garantire una movimentazione efficiente.

### 2.3. NORMATIVE SUI MATERIALI E GLI OGGETTI A CONTATTO DIRETTO CON GLI ALIMENTI (MOCA)

Un aspetto da considerare quando si parla di sicurezza alimentare è il packaging, soprattutto quando si tratta del packaging primario cioè quello a diretto contatto con gli alimenti.

I produttori di food packaging devono sottostare alle disposizioni nazionali e ai regolamenti emanati dall'Unione Europea.

Il quadro normativo che si occupa dei materiali e degli oggetti a contatto con gli alimenti (MOCA) è abbastanza complesso in quanto in base all'evoluzione del mercato degli imballaggi e all'introduzione di nuove soluzioni per il packaging si è andato ad arricchire nel corso del tempo.

Nel dettaglio possiamo citare il Reg 1935/2004, il quale stabilisce che i materiali o gli oggetti destinati a venire a contatto, direttamente o indirettamente, con i prodotti alimentari devono essere sufficientemente inerti da escludere il trasferimento di sostanze ai prodotti alimentari in quantità tali da mettere in pericolo la salute umana o da comportare una modifica inaccettabile della composizione dei prodotti alimentari o un deterioramento delle loro caratteristiche organolettiche (Reg.1935/2004).

Inoltre, il quadro normativo prevede (Ministero della salute, 2015):

- Regole speciali per i materiali attivi e intelligenti (non sono concepiti per essere inerti);
- Possibilità di adottare misure UE aggiuntive per specifici materiali (ad esempio la plastica);
- La procedura per eseguire le valutazioni di sicurezza delle sostanze utilizzate nella fabbricazione di MOCA, che coinvolgono l'EFSA;

- Regole sull’etichettatura, comprendenti la dicitura “per contatto con i prodotti alimentari” o un’indicazione circa il loro impiego (ad esempio macchine da caffè, bottiglia di vino), oppure tramite la riproduzione del simbolo ;
- La documentazione per dimostrare la conformità e la rintracciabilità.

Con il Regolamento 2023/2006 si è posto un focus sulle buone pratiche di fabbricazione o good manufacturing practices (GMP) per i materiali e gli oggetti destinati a venire a contatto con gli alimenti.

Il Regolamento impone agli operatori del settore di “istituire, attuare e far rispettare un sistema di assicurazione della qualità efficace e documentato “che si basi sul “monitoraggio dell’attuazione e del totale rispetto delle GMP”.

Le GMP sono costituite da un insieme di regole che descrivono i metodi, le attrezzature, i mezzi e la gestione delle produzioni o dei servizi per assicurarne gli standard di qualità appropriati e il soddisfacimento di quanto richiesto dai consumatori.

Le buone pratiche di fabbricazione prevedono e permettono di (Reg. 2023/2006):

- Documentare, tramite apposite registrazioni, ogni aspetto del processo, attività e operazione;
- Utilizzare personale che abbia ricevuto un’apposita formazione;
- Verificare con regolarità il buon funzionamento degli strumenti, dei macchinari e delle infrastrutture in genere;
- Validare i processi.

Le normative europee si completano da cinque regolamenti specifici che riguardano la cellulosa rigenerata, la ceramica, i materiali attivi e intelligenti, gli oggetti di plastica e la plastica riciclata. Inoltre, sono presenti regolamenti incentrati su alcune sostanze di partenza utili per la produzione dei Moca.

Gli unici materiali che sono oggetto di una specifica normativa sono carta e cartone; in questo caso gli Stati Membri possono rifarsi alle norme nazionali.

Uno dei documenti più completi e complessi è il Regolamento (UE) 10/2011 sui materiali e oggetti di plastica. Detto regolamento detta le norme per verificare la conformità dei materiali plastici e le specifiche così come le restrizioni di impiego di tali sostanze, tra cui i limiti di migrazione, che specificano la quantità massima consentita di migrazione delle sostanze nei prodotti alimentari.

I materiali attivi e intelligenti prolungano la Shelf life degli alimenti, mantenendo o migliorando, le condizioni degli alimenti confezionati, rilasciando o assorbendo sostanze rispetto agli alimenti o al loro ambiente circostante; per questo motivo sono esentati dalla norma generale sull'inerzia prevista dal regolamento (CE) n. 1935/2004 e vengono applicate delle norme specifiche date dal regolamento (CE) n. 450/2009, come:

- Assorbimento di sostanze dall'interno del confezionamento alimentare, come liquido o ossigeno;
- Rilascio di sostanze negli alimenti, come conservanti.

Le normative europee possono essere integrate da leggi nazionali laddove non esistano delle leggi UE specifiche, come nel caso del cartone e carta (Ministero della salute, 2015).

### **3. INNOVAZIONI DEL FOOD PACKAGING**

La tecnologia di confezionamento degli alimenti è in continua evoluzione in risposta alle crescenti sfide della società moderna. Le principali sfide, attuali e future, per quanto riguarda il confezionamento degli alimenti sono: la legislazione, mercati globali, maggiore durata di conservazione, convenienza, alimenti più sicuri e più sani, problemi ambientali, autenticità e lo spreco alimentare (Majid et al., 2018).

Ogni anno una quantità crescente di cibo viene persa lungo tutta la filiera alimentare: secondo gli ultimi dati forniti dalla FAO, ogni anno, circa il 17% del cibo prodotto, 931 milioni di tonnellate di cibo in tutto il mondo viene gettato nella spazzatura (FAO, 2021).

Per ridurre gli sprechi alimentari, sono state proposte delle strategie di ottimizzazione degli imballaggi come il cambiamento delle dimensioni delle confezioni per agevolare i consumatori ad acquistare la giusta quantità di alimenti e la progettazione di nuovi imballaggi finalizzati al mantenimento della qualità e all'aumento della durata di conservazione degli alimenti.

La sicurezza alimentare è una priorità globale e uno dei principali obiettivi dell'attuale legislazione alimentare. Purtroppo, ancora oggi, i rischi microbiologici dei prodotti alimentari sono una delle principali fonti di malattie di origine alimentare. Secondo l'organizzazione mondiale della sanità (OMS) i microrganismi patogeni sono responsabili ogni anno in tutto il mondo di 600.000.000 casi di malattia e quasi 420.000 morti e 27.000.000 di anni di vita perduta (YLL) (Organizzazione mondiale della sanità, 2020).

Inoltre, la crescente domanda da parte dei consumatori di prodotti alimentari minimamente trasformati, più naturali, freschi e convenienti, nonché i continui cambiamenti a livello industriale, di vendita al dettaglio e di distribuzione associati alla globalizzazione offrono un'opportunità per l'industria dell'imballaggio di trovare soluzioni innovative per soddisfare le molteplici esigenze dell'industria alimentare, dei consumatori e dei crescenti requisiti normativi e legali (Realini, Marcos, 2014).

Dei buoni esempi di innovazione che vanno oltre alle tradizionali funzioni degli imballaggi sono il **packaging attivo**, nel quale il prodotto e il suo ambiente interagiscono per prolungare la shelf life dei prodotti alimentari o per migliorarne la sicurezza o le proprietà sensoriali, garantendo la qualità dei cibi confezionati (Ahvenainen, 2003) e il **packaging intelligente**, il quale monitora le condizioni degli alimenti confezionati o dell'ambiente circostante fornendo informazioni al trasformatore, rivenditore e/o consumatore. L'imballaggio intelligente include indicatori di tempo-temperatura, rilevatori di gas e indicatori di freschezza e/o maturazione (De Abreu et al., 2011)

### 3.1. IMBALLAGGIO ATTIVO

Gli sviluppi nella scienza e nell'ingegneria dei materiali hanno portato a una nuova tecnica di confezionamento nota come imballaggio attivo (AP), vale a dire confezioni contenenti degli additivi che hanno come obiettivo comune il miglioramento della durata di conservazione, la sicurezza e la qualità dei prodotti confezionati. L'introduzione di questi imballaggi sta contribuendo notevolmente alla riduzione del deterioramento degli alimenti, allo spreco alimentare, al richiamo degli alimenti e all'insorgenza di malattie alimentari (Vilela et al., 2018).

L'imballaggio attivo è definito dal regolamento (CE) n. 450/2009 come un sistema di imballaggio che incorpora deliberatamente composti che rilasciano o assorbono sostanze all'interno o dall'alimento confezionato o dall'ambiente circostante l'alimento per prolungare la durata di conservazione o per mantenere o migliorare le condizioni dell'alimento confezionato (Regolamento (CE) n. 450/2009).

L'uso di questi sistemi attivi deve essere conforme ai requisiti delle diverse agenzie di regolamentazione, come la Food and Drug Administration (USA), l'Autorità Europea per la sicurezza alimentare (Unione Europea) o altri, che stabiliscono le basi legali per il loro uso accurato e sicuro (Han et al, 2018).

I sistemi di confezionamento attivi possono essere suddivisi in (Yildirim et al., 2017)

- sistemi di assorbimento attivo: rimuovono i composti indesiderati dal cibo o dal suo ambiente di confezionamento, come l'umidità, l'ossigeno, etilene o odori;
- sistemi di rilascio attivi: aggiungono composti al cibo confezionato o nello spazio di testa, ad esempio composti antimicrobici, antiossidanti, anidride carbonica, aromi.

Le sostanze responsabili della funzione attiva dell'imballaggio possono trovarsi in un contenitore separato o essere direttamente incorporato nei materiali di imballaggio.

### 3.1.1. IMBALLAGGI ANTIMICROBICI

Gli alimenti possono essere soggetti a contaminazione microbica (batteri, lieviti e funghi). Molti di questi microrganismi possono determinare dei cambiamenti delle proprietà sensoriali degli alimenti (odore, sapore, consistenza). La crescita microbica è una delle principali preoccupazioni delle industrie alimentari in quanto alcuni microrganismi possono potenzialmente causare delle malattie alimentari. La crescita, la sopravvivenza dei microbi patogeni e deterioranti più comuni come la *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* 0157:H7, *Salomonelle*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*, *Campylobacter jejuni*, *Aspergillus niger* e *Saccharomyces cerevisiae* è influenzata da fattori intrinseci come il pH, l'attività dell'acqua, potenziale redox o da fattori estrinseci come la temperatura, umidità relativa e atmosfera.

I metodi tradizionali di conservazione degli alimenti, utilizzati nell'industria alimentare per prevenire la crescita dei microrganismi patogeni e deterioranti, comprendono il congelamento, la refrigerazione, l'essiccazione, la fermentazione, il trattamento termico e l'uso di additivi (Kuorwel et al.,2011). In seguito, grazie all'avanzare delle tecnologie d'imballaggio si è sviluppato il concetto di imballaggio attivo (Huang et al., 2019). Tra i diversi tipi di imballaggi attivi, vi è l'imballaggio antimicrobico, il quale contiene delle sostanze attive con attività antimicrobica, che interagendo con il prodotto alimentare o con lo spazio di testa all'interno della confezione, tendono a ostacolare o rallentare la crescita dei microrganismi che possono essere presenti negli alimenti confezionati o nel materiale di imballaggio stesso (Otoni et al, 2016). Tenendo sotto controllo la popolazione microbica, si riesce a garantire la sicurezza alimentare, mantenendo le qualità nutritive e sensoriali degli alimenti allungando così la durata di conservazione degli alimenti (Bacerril et al., 2020).

L'imballaggio antimicrobico può assumere diverse forme, tra cui (Appendini e Hotchkiss, 2002):

- Aggiunta di bustine/tamponi contenenti agenti antimicrobici volatili;
- Incorporazione di antimicrobici volatili e non volatili direttamente nei polimeri;
- Applicazione di un rivestimento o di un composto antimicrobico adsorbente sulle superfici dei polimeri a contatto con gli alimenti;
- Uso di polimeri, come il chitosano, che sono intrinsecamente antimicrobici.

L'elenco delle sostanze antimicrobiche impiegate per la formazione degli imballaggi antimicrobici è piuttosto ampio e in continua evoluzione: gli antimicrobici chimici comunemente usati come acido sorbico, sorbato di potassio, benzoato di potassio, nitriti e nitrati stanno venendo lentamente sostituiti da sostanze più "verdi", più naturali come le batteriocine (nisina), enzimi ottenuti da fonti animali (lattoferrina, lisozima), batteriofagi, biopolimeri (chitosano, pectina), oli essenziali, estratti vegetali (semi d'uva, tè verde); questo in seguito alla maggior consapevolezza dei consumatori verso gli effetti negativi sulla salute degli additivi sintetici, alla sostenibilità e al pianeta (Vasile e Baican, 2021).

#### **4. OLI ESSENZIALI**

Gli oli essenziali sono liquidi oleosi estratti da materiale vegetale come fiori, radici, corteccia, foglie, bucce, ecc. (Hyldgaard et al., 2012).

Secondo l'organizzazione internazionale per la standardizzazione (ISO), l'olio essenziale è "un'prodotto ottenuto da materie prime naturali di origine vegetale mediante distillazione in corrente di vapore, mediante procedimenti meccanici dell'epicarpo degli agrumi oppure mediante distillazione a secco" (ISO/DIS9235, 2013).

Nel corso della storia, gli oli essenziali hanno da sempre suscitato un grande interesse, grazie alle loro proprietà antimicrobiche e antiossidanti (Rios, 2016). Dagli antichi testi e dalle rappresentazioni murarie ci sono pervenute un'ampia documentazione iconografica sui metodi di lavorazione delle piante e sulle tecniche di estrazione degli oli essenziali. L'utilizzo degli aromi era inizialmente legato al culto sacrale e i primi

dispensatori di essenze furono, per questo motivo, i sacerdoti. Furono i sacerdoti egiziani a capire per primi le proprietà antisettiche e antibatteriche degli oli essenziali e cominciarono ad utilizzarle durante il complesso processo di mummificazione, per preservare i corpi dei faraoni e bloccare il processo di putrefazione. I primi, però, che riuscirono ad estrarre le parti più volatili delle piante, furono gli Arabi, grazie all'invenzione dell'alambicco (Sowna,2000).

Gli oli essenziali sono una miscela di vari composti caratterizzati da un particolare odore, generalmente a temperatura ambiente sono liquidi incolori o leggermente giallastri, sono insolubili in acqua e solubili in solventi organici (Dhifi et al., 2016).

Esistono quasi 3000 diversi oli essenziali di cui circa 300 utilizzati commercialmente del mercato degli aromi e delle fragranze (Burt,2004).

Gli oli essenziali sono metaboliti secondari, che svolgono importanti funzioni, ma non fondamentali per la vita della pianta, come l'attrazione degli insetti impollinatori, la riduzione dell'appetibilità per gli animali erbivori e la protezione dai microrganismi grazie alla loro attività antimicrobica (Bakkali et al., 2008).

Gli oli essenziali vengono prodotti nel citoplasma di cellule specializzate associate ad organi secretori (peli o tricomi ghiandolari, tasche secretrici, canali secretori) e sono raccolti all'interno delle cellule vegetali sotto forma di minuscole goccioline dentro strutture cellulari chiamate vacuoli.

#### 4.1. CHIMICA DEGLI OLI ESSENZIALI

Questi oli sono miscele complesse che possono contenere oltre 300 composti diversi (Vendi, 2006). Sono costituiti da composti organici a basso peso molecolare, generalmente inferiore a 300. La loro tensione di vapore a pressione atmosferica e a temperatura ambiente è sufficientemente elevata da trovarsi in parte allo stato di vapore.

Gli oli essenziali contengono importanti composti appartenuti a diverse classi chimiche come alcol, eteri o ossidi, aldeidi, chetoni, esteri, ammine, fenoli,

fenilpropanoidi (eugenolo, cinnamaldeide, safrolo) e principalmente terpeni (monoterpeni, diterpeni, triterpeni, sesquiterpeni e i loro composti ossigenati). Alcoli, aldeidi e chetoni offrono un'ampia varietà di note aromatiche, come fruttate ((E)-nerilidolo), florali (Linalolo), agrumate (Limonene) ed erbacee ( $\gamma$ -selinene) ecc.

I componenti principali possono costituire fino all'85% di un olio essenziale e di solito ne definiscono le proprietà biologiche, l'altro 15% è, invece, composto da componenti minori che, pur essendo in tracce, hanno un ruolo significativo nelle attività biologiche, agendo in sinergia con i componenti maggiori (Burt 2004).

La composizione e la qualità degli oli essenziali sono naturalmente influenzati dalle caratteristiche della pianta, come lo stadio di sviluppo, varietà, origine geografica, parte della pianta utilizzata, età, stagione e condizioni della pianta al momento della raccolta e, inoltre, è influenzata dal metodo di estrazione, condizioni di analisi e dal solvente utilizzato (Dhilfi et al., 2016).

#### 4.2. METODI DI ESTRAZIONE DEGLI OLI ESSENZIALI

Ci sono diverse tecniche utilizzate per estrarre gli oli essenziali dalle matrici vegetali. Sebbene sembri relativamente semplice isolare tali oli, la loro composizione può variare in larga misura a seconda dal metodo di estrazione utilizzato.

Le tecniche di estrazione convenzionali come la distillazione di vapore e l'estrazione con solventi, hanno diversi svantaggi quali la bassa efficienza e selettività di estrazione, uso di grandi quantità di solventi e lunghi tempi di estrazione. Per questi motivi, sono stati sviluppati metodi alternativi che possono tipicamente superare questi problemi: l'estrazione di liquidi supercritici, l'estrazione assistita da microonde e gli ultrasuoni sono metodi innovativi che sono stati riconosciuti come metodi di estrazione efficienti che possono portare alla riduzione dei tempi di estrazione e migliorare la quantità e la qualità degli oli essenziali (Cassel, 2009).

#### 4.2.1. SPREMITURA A FREDDO

La spremitura a freddo è il metodo di estrazione più antico e viene utilizzato quasi esclusivamente per la produzione di oli essenziali di agrumi.

Con questo termine si fa riferimento a qualsiasi processo fisico durante il quale le ghiandole dell'olio essenziale presenti nella buccia e nella cuticola vengono rotte per consentire il rilascio dell'olio. Alla fine di questo processo quello che si ottiene è un'emulsione acquosa che viene successivamente centrifugata per separare l'olio essenziale (Bousbia et al, 2009).

#### 4.2.2. ESTRAZIONE MEDIANTE SOLVENTE

L'estrazione con solvente viene impiegata per estrarre gli oli essenziali termicamente labili, come ad esempio dai fiori.

Durante questa tecnica di estrazione, il materiale vegetale viene immerso in del solvente in modo tale da dissolverlo, dopo di che la miscela liquida che contiene l'olio essenziale, insieme ad altri composti, subisce un processo di filtrazione e successiva distillazione.

I solventi comunemente utilizzati sono alcool, esano, etanolo, etere di petrolio e metanolo.

Il principale vantaggio di questa tecnica rispetto alla distillazione è che durante il processo si utilizzano temperature più basse, riducendo così il rischio di alterazioni chimiche dovute alle alte temperature utilizzate durante la distillazione. Inoltre, l'estrazione con solvente è poco costosa, relativamente veloce e poiché la velocità di diffusione è influenzata dalla temperatura è possibile aumentare la velocità del processo impiegando solventi caldi. Lo svantaggio è che nell'olio essenziale rimarrà un piccolo residuo di solvente e di conseguenza non sarà possibile impiegarlo nei prodotti alimentari ma, tuttavia, se il solvente utilizzato è l'alcool, l'olio essenziale ottenuto dall'estrazione è ritenuto sicuro per la salute umana e di conseguenza può essere considerato "commestibile".

Questo metodo però è comunemente utilizzato nell'industria dei profumi.

#### 4.2.3 METODO "ENFLEURAGE"

L'enfleurage è uno dei più antichi metodi di estrazione, utilizzato per ricavare a freddo gli oli essenziali dai fiori (ad esempio rose, gelsomini, violette).

Questa tecnica sfrutta il principio, ormai del tutto confermato, che il simile scioglie il simile, quindi, essendo gli oli essenziali delle sostanze lipofile, il solvente che viene utilizzato è un grasso solido. Nei tempi passati si utilizzavano grassi di origine animale (maiale, bue), al giorno d'oggi vengono impiegati de grassi vegetali.

Il grasso viene spalmato su due telai formati da una lastra di vetro inserita in una cornice di legno, i petali dei fiori vengono poi disposti al di sopra del grasso e infine i due telai vengono sovrapposti uno sopra l'altro e lasciati riposare per alcuni giorni.

Successivamente, i petali vengono rimossi e sostituiti con altri petali. Si procede in questo modo per diverse volte fino alla saturazione del solvente.

Alla fine, il grasso viene raschiato dai telai, ottenendo così quello che si chiama pommade, ossia una pomata profumata ricca di essenze floreali.

Questa pomata può essere utilizzata tal quale oppure può essere lavata con dei solventi (alcol etilico) ottenendo un olio profumato.

Per gli standard odierni è una tecnica che richiede tempi molto lunghi, molta manodopera e costi elevati e di conseguenza al giorno d'oggi non viene più utilizzata.

#### 4.2.4. DISTILLAZIONE IN CORRENTE DI VAPORE

La distillazione in corrente di vapore è il processo più utilizzato per l'estrazione degli oli essenziali dalle piante (Figura 2).

Con questa tecnica si possono estrarre gli oli essenziali dall'intera pianta o solo da corteccia, radici, foglie. Inoltre, quest'ultime possono essere utilizzare fresche, parzialmente disidratate o essiccate.

Questa tecnica si basa sulla proprietà fisica degli oli essenziali di essere volatili, cioè facilmente vaporizzabili e trascinabili dal vapore acqueo.

Il passaggio del vapore, generato dall'ebollizione dell'acqua, attraverso il materiale vegetale, rende le pareti cellulari più permeabili, fino a determinare la rottura e la fuoriuscita dall'essenza, la quale, essendo volatile, viene vaporizzata.

Il miscuglio di vapore acqueo/essenza entra nel condensatore dove viene raffreddato e di conseguenza ritorna allo stato liquido. L'olio essenziale, essendo meno denso dell'acqua, si deposita in superficie e questo permette la loro separazione.

L'olio essenziale, prima di poter essere utilizzato, deve essere purificato, cioè devono essere eliminate le componenti inutili, irritanti e sgradevoli dal punto di vista organolettico (Stratakos e Koidis, 2016)

#### 4.2.5. ESTRAZIONE CON FLUIDI SUPERCRITICI

Tradizionalmente sono stati utilizzati metodi di estrazione convenzionali come la distillazione in corrente di vapore e l'estrazione mediante solventi. Tuttavia, questi metodi presentano diversi svantaggi come la bassa resa, perdita di composti volatili, lunghi tempi di estrazione e residui di solventi tossici.

Tutto ciò ha portato allo sviluppo di tecniche di estrazione alternative in grado di superare questi problemi. Un'alternativa a questi metodi è l'estrazione con fluidi supercritici. Un fluido supercritico particolarmente utilizzato in campo alimentare è l'anidride carbonica (CO<sub>2</sub>) la quale presenta diversi vantaggi (Khajeh et al, 2005)

- la temperatura a cui viene impiegata è moderata, il che lo rende un metodo adatto per i composti termicamente sensibili;
- il potere solvente della CO<sub>2</sub> varia in base alla pressione a cui si decide di effettuare l'estrazione;
- se la pressione diminuisce al di sotto del valore supercritico (73,8 bar) la CO<sub>2</sub> oltre a perdere il potere solvente vaporizza così da essere separata con facilità dell'estratto;

- eventuali residui di CO<sub>2</sub> nell'alimento sono innocui.

#### 4.3. ATTIVITA' ANTIMICROBICA DEGLI OLI ESSENZIALI

La maggior parte degli studi sui meccanismi d'azione dei costituenti degli oli essenziali sono stati condotti su batteri, mentre meno si sa sulla loro azione su lieviti e muffe. Generalmente i batteri Gram negativi sono meno sensibili dei batteri Gram positivi e questo effetto è molto probabilmente dovuto alla differenza di composizione della parete cellulare (Nazzaro et al., 2013).

La loro attività antimicrobica non è attribuibile a un solo meccanismo ma è invece una cascata di reazioni che coinvolgono l'intera cellula.

I principali meccanismi d'azione degli oli essenziali sono (Khorshidian et al., 2018)

- distruzione della parete cellulare;
- danneggiamento della membrana citoplasmatica;
- riduzione della forza proton motrice;
- coagulazione del citoplasma;
- danneggiamento delle proteine di membrana;
- aumento della permeabilità, con fuoriuscita del contenuto cellulare;
- idrolisi dell'ATP e riduzione della sintesi dell'ATP, con riduzione del pool intracellulare dell'ATP.

Una caratteristica importante degli EO e dei loro costituenti è la loro idrofobicità, che consente loro di interagire con i lipidi della membrana cellulare microbica e dei mitocondri, rendendo le strutture meno organizzate e quindi più permeabili. Questa maggiore permeabilità consente il deflusso di ioni e altro contenuto cellulare. Sebbene una certa quantità di deflusso dalle cellule microbiche possa essere tollerata senza perdita di vitalità, una sostanziale perdita di contenuto cellulare o la perdita di ioni e molecole vitali porterà alla morte cellulare (Khaneghah et al., 2018).

Le proprietà antimicrobiche degli oli essenziali possono essere valutate in vitro applicando diversi metodi, come la diffusione sul disco, la determinazione della concentrazione minima inibitoria (MIC) o la concentrazione letale minima (MLC).

#### 4.4. UTILIZZO DEGLI OLI ESSENZIALI NEL FOOD PACKAGING

Gli oli essenziali sono ampiamente utilizzati nell'industria alimentare per il loro effetto antimicrobico, che aiuta a prolungare la durata di conservazione degli alimentari (Sharma et al., 2021). Alcuni di essi già riconosciuti come GRAS (generalmente riconosciuti come sicuri) dalla FDA (Food and Drug Administration).

Nonostante, il dimostrato potenziale antimicrobico in vitro degli oli essenziali e dei suoi componenti, il loro uso come conservanti negli alimenti è limitato in quanto sono necessarie elevate concentrazioni per ottenere una sufficiente attività antimicrobica. La potenza antimicrobica degli oli essenziali viene influenzata dal pH, dalla temperatura, dal livello di contaminazione microbica e dall'interazione dei costituenti idrofobici degli oli con i costituenti della matrice alimentare come il grasso, l'amido e le proteine. Per questo motivo, rispetto ai valori che si verificano in vitro, ci si deve aspettare una prestazione inferiore una volta impiegati negli alimenti. Ad esempio, è stato rilevato in vitro che l'olio di coriandolo aveva un'attività antimicrobica alla concentrazione di 0,018%, mentre, quando è stato applicato a un modello di prosciutto, anche una concentrazione del 6% non mostrava attività antimicrobica (Gill e Holley, 2002). Pertanto, per applicare con successo gli oli essenziali negli alimenti, dovrebbero essere effettuati degli studi primari in modelli alimentari rappresentativi per determinare le potenziali interazioni tra gli oli essenziali e i componenti alimentari che potrebbero influire sulla loro efficacia antimicrobica. Inoltre, un altro aspetto da considerare per l'applicazione degli oli essenziali negli alimenti è il loro intenso aroma che può rendere l'alimento inaccettabile dal consumatore. Dover, quindi, aumentare la concentrazione degli oli essenziali per compensare la loro perdita di efficacia dovuta alla interazione con i componenti della matrice alimentare e i fattori esterni,

ne limita la loro applicazione in quanto possono avere degli effetti negativi sulle caratteristiche organolettiche del prodotto.

Ecco perché la tendenza attuale è l'incorporazione degli oli essenziali in diversi tipi di polimeri (biodegradabili e non), sviluppando così sistemi di imballaggio attivi con proprietà di conservazione migliorate. Gli oli essenziali possono essere aggiunti nel materiale di confezionamento come molecole libere o incapsulate. Quest'ultima opzione si è rivelata molto promettente. L'incapsulamento consente di proteggere le sostanze antimicrobiche dalla degradazione, volatilizzazione o interazione indesiderata con i materiali di imballaggio o con le matrici alimentari, aumenta la disponibilità dell'antimicrobico, in questo caso gli oli essenziali, fornisce un rilascio controllato per periodi di tempo prolungati e riduce i cambiamenti nelle caratteristiche sensoriali degli alimenti (Bacerril, 2020).

Vi sono sempre più ricerche che dimostrano le proprietà benefiche degli oli essenziali negli imballaggi alimentari.

Gedikoglu (2022) ha effettuato una ricerca per determinare l'effetto di rivestimenti di pectina incorporati con oli essenziali di *Thymus vulgaris* e *Thymbra spicata* sulla conservazione di affettati confezionati aerobicamente. Questo ha comportato la riduzione della crescita di *Salmonella typhimurium*, del numero totale dei batteri lattici, lieviti e muffe.

De Andrade et al. (2020) hanno impiegato l'olio essenziale di arancia contro il batterio *Escherichia coli* in un film di polibutirrato (PBAT), commercialmente conosciuto come ECOFLEX (BASF), con conseguente riduzione del tasso di crescita di *E.coli*.

Yeddes et al. (2020) hanno effettuato uno studio su un film di gelatina-chitosano-pectina incorporato di oli essenziali di due varietà di rosmarino, il quale ha evidenziato una riduzione della crescita di *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus aerogenes*, *Enterococcus faecalis*.

Talebi et al. (2018) hanno incorporato diverse concentrazioni di olio essenziale di *Mentha piperita* (*Menta piperita*), *Benium percicum* (*Cumino nero*) e nanocellulosa in

film di acido polilattico (PLA) per produrre film antimicrobici. Gli stessi autori hanno conservato carne macinata sigillata da queste pellicole a 4°C per 12 giorni e hanno valutato gli effetti organolettici e antimicrobici. Hanno così scoperto che l'olio essenziale di *Mentha piperita* e *Benium pericum* sono dotati di un'attività antimicrobica contro *Staphylococcus aureus*, *Enterobacteriaceae* e *Pseudomonas*.

Cabello et al. (2016) hanno introdotto diverse concentrazioni di olio essenziale di *Origanum vulgare* L. *virens* (Origano) nei film di acido polilattico e valutato l'attività antimicrobica del film risultante per l'uso di insalate pronte. Questo nuovo packaging attivo mostra proprietà antimicrobica contro lieviti e muffe.

Sono state inoltre sviluppate pellicole di chitosano contenenti olio essenziale di *Eucalyptus globulus* (Eucalipto) per il confezionamento di salsicce affettate, il quale ha dimostrato una notevole attività antimicrobica verso *Salmonella enteritidis* ed *Escherichia coli* tra i batteri Gram negativi e *Bacillus cereus* e *Staphylococcus aureus* tra i batteri Gram positivi (Mehboobeh et al., 2018).

Anche l'olio essenziale di nocciolo di albicocca incorporato in film di chitosano ha dimostrato una sostanziale attività antimicrobica contro *E. coli*, *B. subtilis* e *Rhizopus stolonifer* (Priyadarshi et al., 2018).

Un altro studio è stato condotto sull'olio essenziale di limone incorporato in un rivestimento di chitosano utilizzato per avvolgere delle fragole, il quale ha determinato una migliore conservazione dei frutti che hanno mostrato una maggior resistenza all'attacco di patogeni fungini, sebbene dal punto di vista organolettico l'olio essenziale abbia avuto un impatto negativo (Perdones et al., 2016).

L'FDA ha dichiarato gli oli essenziali sicuri solo se utilizzati nelle quantità consigliate, in quanto in alcuni casi possono causare delle reazioni allergiche in seguito a un'ingestione acuta (ad esempio, l'olio essenziali di citronella può causare febbre, vomito, convulsioni, cianosi e respirazione rapida). Pertanto, è molto importante determinare l'equilibrio tra l'efficacia e la tossicità degli oli essenziali (Santos et al., 2017).

## 5. CONCLUSIONI

È stato dimostrato che gli oli essenziali esplicano diverse attività biologiche, tra cui l'attività antimicrobica. Pertanto, potrebbero prevenire il deterioramento degli alimenti e l'insorgenza di malattie alimentari causato da microrganismi. Considerando ciò, possono essere incorporati agli imballaggi attivi per esercitare tale azione.

Diversi studi hanno valutato l'efficacia dell'utilizzo degli oli essenziali, come parte del materiale di confezionamento attivo, in diversi alimenti. Per quanto riguarda i diversi metodi di applicazione, l'incapsulamento è considerato il più adatto in quanto permette di ovviare ai problemi degli oli essenziali cioè il loro intenso aroma che può determinare delle modifiche inaccettabili delle caratteristiche organolettiche del prodotto alimentare e alla loro rapida degradazione in seguito all'esposizione alla luce UV, al calore e ai componenti delle matrici alimentari.

In conclusione, l'estrazione, l'ottenimento e l'incorporazione degli oli essenziali negli imballaggi, soprattutto in film biodegradabili, potrebbe essere un'alternativa valida ai tradizionali imballaggi consentendo di prolungare la shelf life, ridurre gli sprechi alimentari, tutelare l'ambiente e ridurre l'insorgenza di malattie alimentari; temi al giorno d'oggi sempre più sentiti.

Tuttavia, sono necessari ulteriori studi per valutare gli effetti dell'aggiunta degli oli essenziali nelle proprietà meccaniche degli imballaggi, proprietà organolettiche degli alimenti e per garantire la sicurezza e l'assenza di effetti collaterali nei consumatori.

Inoltre, sono fortemente raccomandati degli studi di mercato prima della commercializzazione di nuovi materiali di imballaggi attivi e l'uso degli oli essenziali per conoscere il pensiero dei consumatori verso questi nuovi prodotti.

## **BIBLIOGRAFIA**

Ahvenainen R. (2003) Active and intelligent packaging: An introduction. Novel food packaging techniques. Pag 5-21.

Appendini P., Hotchkiss J.H. (2002) Review of antimicrobial food packaging. Innovative Food Science & Emerging Technologies. Volume 3: Pag 113-126

Bakkali F., Idaomar M., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M. (2008) Biological effects of essential oil-A review. Volume 46: Pag.446-475

Becerril R., Nerin C., Silva F. (2020) Encapsulation systems for antimicrobial food packaging components: An Update. MPDI journal: Volume 25: Pag: 1-40.

Bousbia N., Vian M.A., Ferhat M.A., Meklati B.Y., Chemat F. (2009) A new process for extraction of essential oil from *Citrus* peels: Microwave diffusion and gravity. Journal of Food Engineering. Volume 90: Pag 409-413.

Burt S. (2004) Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods- a review. International Journal of Food Microbiology. Volume 94: pag 223-253.

Cabello M.L.R., Picharo S., Bermudez J.M, Baños A., Nuñez C., Guillamòn, Aucejo S., Camean A.M. (2016) Development of PLA films containing oregano essential oil (*Origanum vulgare* L.vires) intended for use in food packaging. Food additive & Contaminants. Volume 33, Parte A: Pag 1374-1386.

Cassel E., Vergas R.M.F., Martinez N., Lorenzo D., Dellecass E. (2009) Steam distillation modelling for essential oil extraction process. *Industrial Crops and Products*. Volume 29: Pag 171-176.

De Abreuj D.P., Cruz J.M., Losada P.P (2011) Active and intelligent food packaging for food industry. Pag 146-187.

De Andreade M.F., De Lima Silva I.D., De Silva G.A., Cavalcante P.V.D., De Silva F.T., De Almeida Y.M.B., Vinhas G.M., De Carvalho L.H. (2020) A study of poly (butylene adipate-co-terephthalate)/ orange essential oil films for application in active antimicrobial packaging. *LWT*. Volume 125: Pag 1-9

Dhilfi W., Belli S., Jazi S., Bahaul N., Mnif W. (2016) Essential oils chemical characterization and investigation of some biological activities: A critical review. *Essential oils: Chemistry and Bioactivity*. Volume 3: Pag 2-16.

Dobrucka R., Przekop R. (2019). New perspectives in active and intelligent food packaging. *Journal of Food Processing and preservation*. Pag 1-9.

Dong S.L., Kit L. Y., Piergiovanni L. (2008). *Food Packaging Science and technology*.

Gedikglu A. (2022) The effect of *Thymus vulgaris* and *Thymbra spicata* essential oil and/or extracts in pectin edible coating on the preservation of sliced bolognas. *Meet science*. Volume 184: Pag 1.10.

Gill A.O, Holley R.A. (2006) Disruption of *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Lactobacillus sakei* cellular membranes by plant oil aromatics. *International journal of food microbiology*. Volume 108: Pag 1.9.

Han J.H., Garcia L.R., Qian J.P., Yang X.T. (2011). Food Packaging: A comprehensive review and future trend. Food science and food safety. Volume 17: Pag.860-877

Huang T., Qian Y., Wei J., Zhou C (2019) Polymeric antimicrobial food packaging and its applications.

Hyldgaard M., Mygind T., Meyer R.L. (2012) Essential oil in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. Frontiers in Microbiology.

ISO/DIS9235 (2013) Aromatic natural raw materials-vocabulary. Pag 9-10

Luciano P., Sara L. (2010). Food packaging: Materiali, tecnologie e soluzioni

Majjad I., Nayik G.A., Dar S.M., Nanda V. (2018) Novel food packaging technologies: Innovations and future prospective. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences. Volume 17: Pag 454-462.

Massi A. (2011). Confezionamento degli alimenti: la normativa comunitaria per imballaggi attivi ed intelligenti.

Mahboobeh E.A., Maghsoudlou K.Y., Khomiri M. (2017) Development and structural characterization of chitosan films containing *Eucalyptus globulus* essential oil: Potential as an antimicrobial carrier for packaging of sliced sausage. Food packaging and shelf life. Volume 17: Pag 65-72

Ministero della salute (2015). Materiali a contatto con gli alimenti.

Nazzaro F., Fratianni F., De Martino L., Coppola R., De Feo V. (2013) Effect of essential oils on pathogenic bacteria. *Pharmaceuticals* 6 (12) Pag 1451-1474

Kenneth M.P.D., Betty B. P.D. (2007). Food Packaging-Roles, Materials, and Environmental Issues. *Journal of Food Science*. Volume 72, Nr.3

Khajeh M., Yamini Y., Bahramifar N., Sefidkon F., Pirmoradei M.R. (2005) Comparison of essential oils compositions of *Ferula assa-foetida* obtained by supercritical carbon dioxide extraction and hydrodistillation methods. *Food Chemistry*. Volume 91: Pag: 639-644.

Khaneghah A.M., Hashemi S.M.B., Limbo S. (2018) Antimicrobial agents and packaging systems in antimicrobial active food packaging: An overview of approaches and interactions. *Food and bioproducts processing*. Volume 111: Pag 1-19.

Khorshidian N., Yousefi M., Khanniri E., Mortazavian A.M. (2018) Potential application of essential oils as antimicrobial preservatives in cheese. *Innovative food science & emerging technologies*. Volume 45: Pag 62-72.

Kuorwel K., Cran M.J., Sonneveld K., Miltz J., Bigger S.W. (2011) Essential oils and their principal constituents as antimicrobial agents for synthetic packaging films. *Journal of food science*. Volume 76: Pag 164-177.

Organizzazione mondiale della sanità (OMS) (2015) Who estimates of the global burden of foodborne disease burden epidemiology reference group.

Organizzazione delle nazioni unite per l'alimentazione e l'agricoltura (FAO) (2021)

Otoni C.G., Espitia P.J.P., Bustillos-Avena R.J., McHugh T.H. (2016) Trends in antimicrobial food packaging systems: Emitting sachts and absorbent pads. Food Research International. Volume 83: Pag 60-73.

Perdones A., Escriche I., Chiralt A., Vergas M. (2016) Effect of chitosan- lemon essential oil coating on volatile profile of strawberries during storage. Food Chemistry. Volume 197: Pag 979-986.

Priyadarshi R., Kumar B., Deeba F., Kulshreshtha A., Singh N. (2018) Chitosan films incorporated with apricot (*Prunus armeniaca*) kernel essential oil as active food packaging material. Food hydrocolloids. Volume 85: Pag 158-166.

Regolamento (CE) n. 450/2009 della commissione del 29 maggio 2009 concernente i materiali attivi e intelligenti destinati a venire a contatto con i prodotti alimentari.

Regolamento (UE) n. 1169/ 2011 del parlamento europeo e del consiglio del 25 ottobre 2011 relativo alla fornitura di informazioni sugli alimenti ai consumatori.

Regolamento (CE) N.1935/2004 del parlamento europeo e del consiglio del 27 ottobre 2004 riguardanti i materiali e gli oggetti destinati a venire a contatto con i prodotti alimentari.

Regolamento (CE) n. 2023/ 2006 della Commissione del 22 dicembre 2006 sulle buone pratiche di fabbricazione dei materiali e degli oggetti destinati a venire a contatto con prodotti alimentari.

Rois J.L. (2016) Chapter 1-Essential Oils: What they are and how the terms are used and defined. *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety* Pag. 3-10.

Santos R.R., Andrade M., De Melo N.R., Silva S.A. (2017) Use of essential oils in active food packaging: Recent advances and future trends. *Trens in food science & technology*. Volume 61: Pag 132-40.

Scallan E., Hoekstra R.M., Angulo F.J., Tauxe R.V., Widdowson M.A., Roy S.L., Jones J.L., Griffin P.M. (2011) Foodborne illness acquired in the United States-Major pathogens. *Emerging infectious diseases journal*. Volume 17: Pag 7-15.

Sharma S., Barkauskaite S., Jaiswal A.K., Jaiswal S. (2021) Essential oils as additives in active food packaging. *Food chemistry*. Volume 343: Pag 1-10.

Sonwa M.M. (2000) Isolation and Structure Elucidation of Essential Oil Constituents. Comparative study of the Oils of *Cyperus alopecuroides*, *Cyperus papyrus* and *Cyperus rotundus*.

Stratakos A.C., Koidis A (2016) Chapter 4- Methods for Extracting Essential Oils. *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety*. Pag 31-38

Talebi F., Misaghi A., Khanjari A., Kamkar A., Gandomi H., Rezaeigolestani M. (2018) Incorporation of spice essential oils into poly-lactic acid film matrix with the aim of extending microbiological and sensorial shelf life of ground beef. *LWT*. Volume 96: Pag 482-490.

Varghese S.A., Siengchin S., Parameswaranpillai J. (2020) Essential oils as antimicrobial agents in biopolymer-based food packaging- A comprehensive review. Food bioscience. Volume 38: Pag 1-22

Vasile C., Baican M. (2021) Progresses in Food Packaging, Food Quality, and Safety-Controlled-Release Antioxidant and/or Antimicrobial Packaging. Pag: 2-49

Vendi C. (2006) The chemistry of fragrance. From performer to costumer. The royal society to chemistry, Cambridge, UK. Pag 329.

Vilela C., Kurek M., Hayouka Z.H., Rocher B., Yildirim S., Autunes M.D.C., Nilsen-Nygaard J., Petterson M.K., Freire C.S.R. (2018) A concise guide to active agents for active food packaging. Trends in food science & technology. Volume 80: pag 212-222.

Wyrwa J., Barska A. (2017) Innovations in the food packaging market: active packaging. European food research and technology 243: Pag 1681-1692.

Yeddes W., Djebali K., Wannas W.A., Naifer K.H., Hammami M., Younes Islem, Tounsi (2020) Gelatin-chitosan-pectin films incorporated with rosemary essential oil: Optimized formulation using mixture desing and response surface methodology. International journal of biological macromolecules. Volume 154: Pag 92-103.

Yildirim S., Rocker B., Pettersen M.K., Nygaard J.N., Ayhan Z., Rutkaite R., Radusin T., Suminska P., Marcos B., Coma V. (2017) Active packaging applications for food. Comprehensive reviews in food science and food safety. Volume 17: Pag 165-199.

Young E., Miroso M., Bremer P. (2020). A systematic review of consumer perceptions of smart packaging technologies for food. Frontiers in sustainable food systems.