

UNIVERSITY OF SALERNO



DEPARTMENT OF INDUSTRIAL ENGINEERING

Ph.D. Course in Industrial Engineering

Curriculum in Chemical Engineering - XXXII Cycle

Innovative routes to develop multi-functional sustainable active films for food packaging

ABSTRACT

Supervisor

Prof. Loredana Incarnato

Ph.D. student

Annalisa Apicella

Scientific Referees

Prof. Paola Scarfato

Dr. Astrid F. Pant

Ph.D. Course Coordinator

Prof. Francesco Donsì

ENG

Active packaging solutions are among the latest and the most attractive innovations in the food packaging field: this technology plays a dynamic role in food preservation, directly interacting with the food and/or the surrounding packaging atmosphere, by releasing protective substances or absorbing others that accelerate the decay.

Among all, oxygen scavengers, antioxidants and antimicrobials are the most interesting and promising active systems, since they deeply affect the quality preservation and the extension of the shelf-life of foodstuff.

Oxygen scavengers and antioxidants interfere with oxidation mechanisms responsible of qualitative decay of many sensitive foods, while antimicrobials are able to kill or inhibit the growth of pathogenic microorganisms that may contaminate packaged food products

The main challenges in developing active films for food packaging involve the realization of effective systems, with satisfactory functional properties, easy-to-produce by conventional technologies and, last but not least, with high eco-compatibility.

Indeed, the recent concerns toward waste-management issues and shortage of resources, have increasingly shifted the research focus towards the development of highly eco-compatible and sustainable packaging solutions, by means of biomass-derived biodegradable or completely recyclable polymers, or a combination of both.

At the same time, the selection of the proper active agent, as well as the choice of the optimal packaging layout, is an important and not an easy task in the design and application of active packaging.

In particular, the premature exhaustion of the oxygen scavenging films, due to the reduced thicknesses involved, must be avoided, while for antimicrobial and antioxidant structures a tunable release must be achieved.

In order to face these requests, the appropriate design and sizing of the active packaging is essential, by tailoring the performances of the package to the shelf-life requirements of the specific food products.

These considerations inspired the scope of this PhD work, which aimed at investigating innovative routes for the development of sustainable, multi-functional active packaging films, to be successfully applied to extend the shelf-life of sensitive foods.

The first part of the PhD work involved the realization of mono-material, active films based on polyethylene-terephthalate (PET) and co-polyester oxygen scavengers (OS), with prolonged effectiveness over time.

Multilayer structures were realized by cast co-extrusion, inserting the active layer, at an optimized concentration (10% w/w) of a single-phase OS, between two PET inert layers. Four different configurations were designed, and the scavenging properties were extensively investigated, exploring the influence of the multilayer layout on absorption kinetic and parameters.

As further upgrade, the potential of an innovative formulation of the same OS, enhanced by a second, high-oxygen barrier phase, was investigated. Single-layer active PET structures were produced by cast extrusion, and the concentration of the 2-phases OS was optimized. The absorption performances have been thoroughly analyzed and compared with those of the multilayer films, highlighting the similarities, the application potentialities and the advantages of each.

A mathematical model was also developed and appropriately validated, evaluating the potential of the virtualization tool to extrapolate predictive data for evaluating, comparing, and optimizing the scavenging performance of active films, significantly reducing the experimental matrix to explore.

Moreover, shelf life tests were carried out, to assess effectiveness of both multilayer and single-layer films in preserving sensitive food matrices during medium-long storage term.

In the second part of the work, the possibility of functionalizing PET substrates through active biodegradable coatings, easy soluble to be removed, was investigated. An innovative, non-harmful antimicrobial named LAE (Ethyl-N α -dodecanoyl-L-arginate) was incorporated (from 0 to 20% w/w) into a Poly-lactic acid (PLA) coating layer. The produced films combined the structural and barrier performance of PET with the PLA sealing capacity and the LAE antimicrobial activity, while the coating technology ensured to avoid thermal stresses to the heat-sensitive active compound.

The antimicrobial activity of the multilayer films was tested *in vitro* against *E.Coli* CECT 434 strain as pathogenic agent in liquid culture media, and tunable release kinetics were obtained. Moreover, the LAE chemical interaction with the PLA matrix was investigated, as well as its effect on the adhesion, wetting, optical and barrier properties of the films.

The third part of the PhD studies aimed at exploring new possibilities to develop eco-compatible active films, through the valorization of natural bioactive compounds deriving from food industry wastes.

The first part of the research, carried out at the Fraunhofer Institute for Process Engineering and Packaging IVV (Germany), involved the extraction of polyphenolic antioxidants from olive pomace. The olive pomace extract (OPE) was thoroughly characterized, to evaluate chemical-physical properties, antioxidant and O₂-scavenging potential, which provided basic knowledge for tailor-made packaging design. A second-order mathematical model was also applied to describe the oxidation-kinetics of the extract, underlining the potential of the model to predict quite accurately the O₂-scavenging performance of a variety of polyphenols. Then, the OPE (at 5% and 10% w/w) was used to realize active bio-coatings based on Whey Protein Isolate (WPI), spread on a PET substrate film. The produced films combined the environmental advantages deriving from the revaluation of food industry by-products, with the high technical performance offered by the PET film and the protein coating.

The antioxidant activity of the films was evaluated by release tests in fatty foods simulant, and the diffusion kinetic was investigated, suggesting a suitable application of the films for long storage greasy foods. The films compliance to the migration limits established by the European Union Legislation was assessed by overall migration tests. Moreover, the OPE chemical interaction with the WPI matrix was investigated, as well as its effect on the adhesion, wetting, optical and barrier properties of the films.

Finally, as further step forward, 100% biodegradable antioxidant films were also developed, all based on biopolymers and natural extracts derived from olive milling wastewaters (OWE). The antioxidant activity of three different extracts was analyzed. Then, the most performing one was added to a PLA coating layer (from 5 to 20% w/w), spread on a biodegradable substrate made of PLA and PBAT (Polybutylene adipate terephthalate).

The produced multilayer structures were then characterized in order to evaluate the interaction of the antioxidant phase with the polymer matrix, and its effect on the physical and functional performance of the active systems. Lastly, the release kinetics and antioxidant activity in fatty foods simulant endorsed the promising perspectives of the films to be used as 100% eco-compatible alternative for the preservation of oxidative-sensitive food products with high respiration rates.

ITA

Gli imballaggi attivi sono tra le più recenti e le più interessanti innovazioni nel campo del packaging: questa tecnologia svolge un ruolo dinamico nella conservazione degli alimenti, interagendo direttamente con essi e/o con l'atmosfera della confezione, rilasciando sostanze protettive o assorbendone altre che accelerano il decadimento.

Tra tutti, gli assorbitori di ossigeno, gli antiossidanti e gli antimicrobici sono i sistemi attivi più interessanti e promettenti, poiché influenzano profondamente la qualità e la shelf-life dei prodotti alimentari.

Gli assorbitori di ossigeno e gli antiossidanti interferiscono con i meccanismi di ossidazione responsabili del decadimento qualitativo di molti alimenti sensibili, mentre gli antimicrobici sono in grado di uccidere o inibire la crescita di microrganismi patogeni che possono contaminare i prodotti confezionati.

Le principali sfide nello sviluppo di film attivi per il confezionamento alimentare riguardano la realizzazione di sistemi efficaci, con proprietà funzionali soddisfacenti, facili da produrre attraverso tecnologie convenzionali e, ultimo ma non meno importante, con elevata eco-compatibilità.

Infatti, le recenti problematiche relative alla gestione dei rifiuti e alla carenza di risorse hanno spostato sempre più l'attenzione della ricerca verso lo sviluppo di soluzioni di packaging altamente eco-compatibili e sostenibili, attraverso l'impiego di polimeri biodegradabili o completamente riciclabili, o una combinazione di entrambi.

Allo stesso tempo, la selezione del corretto agente attivo e del layout ottimale dei film ricopre un ruolo cruciale e allo stesso tempo complesso nella progettazione e nell'applicazione dell'active packaging.

In particolare, è necessario evitare l'esaurimento prematuro dei film a base di oxygen scavengers, dovuto agli spessori molto ridotti, mentre per le strutture antimicrobiche e antiossidanti è fondamentale ottenere un rilascio modulabile e prolungato nel tempo.

Per far fronte a queste necessità, è essenziale l'appropriato design e dimensionamento dell'imballaggio, adattando le prestazioni della confezione alle esigenze di conservazione dei prodotti alimentari.

In tale scenario si inseriscono gli obiettivi di questo lavoro di dottorato, riguardante lo studio di percorsi innovativi per lo sviluppo di film attivi sostenibili e multifunzionali, da applicare con successo per prolungare la durabilità di prodotti alimenti sensibili.

La prima parte del lavoro ha riguardato la realizzazione di film attivi mono-materiale a base di polietilentereftalato (PET) e oxygen scavengers (OS) a base copoliestera, con efficacia prolungata nel tempo. Sono stati realizzati dei film multistrato mediante co-estrusione cast, inserendo lo strato attivo, a una concentrazione ottimizzata (10% in peso) di OS monofasico, tra due strati inerti di PET. Quattro diverse configurazioni sono state progettate e realizzate, e le performance di scavenging sono state ampiamente studiate, esplorando l'influenza del layout multistrato sulle cinetiche e sui parametri di assorbimento.

In aggiunta, è stata investigata l'efficacia di una formulazione innovativa dello stesso oxygen scavenger, potenziata da una seconda fase ad alta barriera. Film monostrato attivi in PET e OS bifasico sono stati prodotti e la concentrazione dell'assorbitore di ossigeno è stata ottimizzata. Le prestazioni dei sistemi così realizzati sono state accuratamente analizzate e confrontate con quelle dei film multistrato, evidenziando le somiglianze, le potenzialità applicative e i vantaggi di ciascuno.

È stato inoltre sviluppato e opportunamente validato un modello matematico, analizzando le potenzialità dello strumento di virtualizzazione per estrapolare dati predittivi al fine valutare, confrontare e ottimizzare le prestazioni scavenging dei film attivi, riducendo significativamente la matrice sperimentale da esplorare.

Inoltre, sono stati effettuati test di shelf life per valutare l'efficacia di film multistrato e monostrato nel preservare matrici alimentari sensibili durante un periodo di conservazione medio-lungo.

Nella seconda parte del lavoro, è stata investigata la possibilità di funzionalizzare il substrato in PET attraverso coating biodegradabili attivi, facilmente solubili e rimovibili. Un agente antimicrobico innovativo e non nocivo denominato LAE (etil-N α -dodecanoil-L-arginato) è stato incorporato, in percentuali comprese tra 0 e 20% in peso, all'interno di un coating layer in acido polilattico (PLA). I film prodotti hanno combinato le prestazioni strutturali e barriera del PET con la saldabilità del PLA e l'attività antimicrobica del LAE, mentre la tecnologia del coating ha garantito di evitare stress termici al composto attivo sensibile al calore.

L'attività antimicrobica dei film multistrato è stata testata *in vitro* sull'agente patogeno E. Coli CECT 434, ottenendo delle cinetiche di rilascio modulabili. Inoltre, è stata studiata l'interazione chimica del LAE con la matrice di PLA, nonché i suoi effetti sulle proprietà di adesione, bagnabilità superficiale, ottiche e barriera dei film.

La terza parte degli studi di dottorato ha mirato ad esplorare nuove strategie per lo sviluppo di film attivi eco-compatibili, attraverso la valorizzazione dei composti bioattivi naturali derivanti da scarti dell'industria alimentare.

La prima parte della ricerca, condotta presso il Fraunhofer Institute for Process Engineering and Packaging IVV (in Germania) ha riguardato l'estrazione di antiossidanti polifenolici dalla sansa di olive. L'estratto di sansa di olive (denominato OPE) è stato accuratamente caratterizzato per valutare le proprietà chimico-fisiche, antiossidanti e oxygen scavenging, acquisendo le conoscenze di base per la progettazione di imballaggi tailor-made. È stato inoltre applicato un modello matematico al fine di descrivere la cinetica di ossidazione dell'estratto, testando le capacità del modello di prevedere in maniera accurata le prestazioni O₂-scavenging di un'ampia varietà di polifenoli.

Successivamente, l'OPE è stato utilizzato, additivandolo al 5% e al 10% in peso, per realizzare bio-coatings attivi a base di Whey Protein Isolate (WPI), distribuiti su un substrato in PET. I film prodotti hanno permesso di combinare i vantaggi derivanti dalla valorizzazione degli scarti dell'industria agroalimentare con le elevate prestazioni funzionali offerte dal film in PET e dal coating a base di proteina.

L'attività antiossidante dei film è stata valutata mediante test di rilascio in simulanti di alimenti grassi, ed è stata studiata la cinetica di diffusione, suggerendo l'applicabilità dei film per matrici alimentari grasse a lunga conservazione. La conformità dei film ai limiti di migrazione stabiliti dalla legislazione dell'Unione Europea è stata valutata mediante test di migrazione globali. Inoltre, è stata studiata l'interazione chimica dell'OPE con la matrice di WPI, nonché i suoi effetti sulle proprietà di adesione, bagnabilità, ottiche e barriera dei film.

Infine, come ulteriore passo avanti, sono stati sviluppati anche film antiossidanti 100% biodegradabili, a base di biopolimeri ed estratti naturali derivanti dalle acque di vegetazione delle olive (OWE). È stata analizzata l'attività antiossidante di tre diversi estratti, sottoposti a diversi pretrattamenti. Quindi, quello più performante è stato aggiunto, in percentuali comprese tra lo 0 e il 20%, ad un coating layer in PLA distribuito su un substrato biodegradabile costituito da PLA e PBAT (polibutilene adipato tereftalato).

Le strutture multistrato prodotte sono state quindi caratterizzate per valutare l'interazione della fase antiossidante con la matrice polimerica e il suo effetto sulle prestazioni fisiche e funzionali dei sistemi attivi. Infine, le cinetiche di rilascio e l'attività antiossidante in simulanti alimentari grassi hanno confermato le potenzialità dei film ad essere impiegati come alternativa 100% eco-compatibile per la conservazione di prodotti alimentari sensibili all'ossidazione e ad elevata velocità di respirazione.