DIPARTIMENTO DI SCIENZE AGRARIE ALIMENTARI E AMBIENTALI

CORSO DI LAUREA IN: SCIENZE E TECNOLOGIE ALIMENTARI

APPLICAZIONI DEI POLIMERI DI NANOCELLULOSA NEL FOOD PACKAGING

Nanocellulose-polymer composites for application in Food Packaging

TIPO TESI: compilativa

Studente:
EMILIA LUIGIA ANTENUCCI
MAT 1069179

Relatore:
PROF. DANIELE DUCA

ANNO ACCADEMICO 2019-2020

A Paola e Fernando,
per avermi sempre sostenuto.
A Maria Rosaria e Antonio,
per non aver mai smesso di credere in me.

Sommario

Sommario *2*

INDICE DELLE TABELLE *4*

INDICE DELLE FIGURE *5*

Introduzione e scopo della tesi. *7*

1. IL PACKAGING: DALLE ORIGINI ALLA SUA EVOLUZIONE NELL'INDUSTRIA ALIMENTARE. *9*

1.1 Storia del packaging. **9**

1.2 Tipologie e funzioni del packaging **11**

1.3 Innovazione del packaging alimentare. **13**

1.3.1 Active Packaging 14

1.3.2 Intelligent Packaging 16

2. LA NANOCELLULOSA *18*

2.1. La lignocellulosa **18**

2.2. Struttura chimica della cellulosa **21**

2.2 Nanocellulosa **24**

2.3 Isolamento della nanocellulosa **31**

2.3.1. Pretrattamenti 31

2.3.2. Trattamenti di estrazione 34

2.3.2.1 Trattamenti meccanici 35

2.3.2.2. Trattamenti chimici 38

2.4. Proprietà della nanocellulosa **42**

3. LA NANOCELLULOSA E LE SUE APPLICAZIONI NEL FOOD PACKAGING. *44*

3.1 Applicazioni della nanocellulosa nel packaging **44**

3.1.1. Sguardo al futuro. 46

3.1.2. Traguardi raggiunti nel campo della nanocellulosa 58

3.2. Processi per la produzione di materiali a base di nanocellulosa. **62**

3.2.1 Electrospinning (ES) 63

3.2.2. Assemblaggio strato su strato (LbL) 64

3.2.3 Estrusione 64

3.2.4 Colata 65

3.2.5 Rivestimento 65

3.2.6 Cast-drying 66

3.2.7 Liofilizzazione 66

3.3 Impatto della nanocellulosa sulla qualità alimentare. 67
3.3.1 Valutazione della migrazione di imballaggi nanocompositi. 71
3.3.2. Test di migrazione 73
CONSIDERAZIONI E CONCLUSIONI..... 76
Bibliografia 80

INDICE DELLE TABELLE

Tabella 1 - Lunghezza (L) e larghezza (W) di CNC di diversa origine. 29
Tabella 2 - Effetto barriera di Pb e CPb 56
Tabella 3 Proprietà meccaniche, permeabilità e angolo di contatto di Pb e CPb 57
Tabella 4 - Caratteristiche delle diverse tipologie di NC 77
Tabella 5 - Tecnologie per la produzione di materiali polimerici 78

INDICE DELLE FIGURE

Figura 1 - Percentuale di alimenti sprecati annualmente 7
Figura 2 - Scatola di metallo '800. (https://wearepackagingfans.com/site/storia-della-scatoletta-di-latta/) 10
Figura 3 - Imballaggi di cellophane, lattine e scatole di carta per alimenti, anni '50. (Barilla e Lavazza) 11
Figura 4 - Imballaggio attivo in cartone ondulato per frutta della Bestack. (https://www.bestack.com) 15
Figura 5 - Imballaggio intelligente, linguette che cambiano colore per indicare la temperatura della lattina. (https://www.chiefpackagingofficer.com/smart-packaging-innovation-can-pull-tabs/) 16
Figura 6 - Formula stechiometrica della reazione di fotosintesi 18
Figura 7 - Composizione % della biomassa lignocellulosica. (Treccani) 19
Figura 8 - Fonti principali di biomassa lignocellulosica 20
Figura 9 - Struttua chimica della cellulosa (Mishra et al., 2018) 21
Figura 10 - Struttura chimica del cellobiosio (Cellulosa, Wikipedia) 22
Figura 11 - Struttura microfibrillata della cellulosa (Lavoine et al., 2012) 22
Figura 12 - I quattro polimorfi della cellulosa (Lavoine et al., 2012) 24
Figura 13 - Nanocellulosa: fonti, classificazioni e applicazioni. (Zinge et al., 2020) 26
Figura 14 - Fotografia al TEM di CNF estratte da fibre di Opuntia ficus-indica. (Dufresne, 2017) 27
Figura 15 - Immagine al TEM di CNC. (Zinge et al., 2020) 28
Figura 16 - Immagine al TEM di BNC prodotta da due diversi ceppi di Gluconacetobacter. (Farooq et al., 2020) 30
Figura 17 - Diversi metodi di pretrattamento per la produzione di CNF e CNC (Deepa et al., 2019) 32
Figura 18 - Processi meccanici di omogeneizzazione (Nechyporchuck et al., 2016) 36
Figura 19 - Processo meccanico di macinazione (Nechyporchuck et al., 2016) 37
Figura 20 - Rappresentazione dell'ossidazione mediata da TEMPO dei gruppi -OH della cellulosa. (Zinge et al., 2020) 39
Figura 21 - Schema delle fasi principali della preparazione di NC mediante idrolisi acida. (Arrieta et al., 2016) 40
Figura 22 - Reazione del metodo del persolfato di ammonio (APS). 41
Figura 23 - Fasi di imballaggio di carne 47
Figura 24 - Applicazioni di diversi film (CNF, CNF-basso contenuto di CH e CNF-elevato contenuto di CH) come fogli di separazione posizionati tra hamburger di manzo a 5-7 °C per 1 settimana e le loro proprietà . 50
Figura 25 - Produzione di NC sotto forma di idrogel. 51
Figura 26 - Variazione di colore con idrogel di NC 52

Figura 27 - Indicatore di freschezza idrogel, in 4 giorni a 4°C 54
Figura 28 - Processo di coating a secco 55
Figura 29 - Simulazione del confezionamento alimentare con scatole di cartone (Pb) e cartone patinato (CPb) dopo 10 giorni. 56
Figura 30 - Cartone per latte ELOPACK (https://wearepackagingfans.com/site/pure-pak-di-elopack-e-stora-enso-il-cartone-naturale/) 59
Figura 31 - Proprietà barriera ai gas di PLA senza NCC e PLA con NCC. 60
Figura 32 - Processo di laminazione a umido per la produzione di MFC 61
Figura 33 - Processo di rivestimento e cromatogenesi 62
Figura 34 - Processo di Electrospinning (Chapter 2- Electrospinning: The setup and procedure) 63
Figura 35 - Impianto di casting 65
Figura 36 - Schema delle tecniche di cast-dryng e liofilizzazione per la produzione di film e spugne 67

Introduzione e scopo della tesi.

Secondo l'Organizzazione delle Nazioni Unite per l'alimentazione e l'agricoltura (FAO), ogni anno vengono sprecati circa 1,3 miliardi di tonnellate di alimenti, pari a un terzo di tutti gli alimenti prodotti a livello globale. Di questi, circa il 20% sono prodotti lattiero-caseari, il 45% è rappresentato da frutta e verdura, il 20% da carne e il 35% da prodotti ittici; le perdite sono predominanti nelle fasi di lavorazione, distribuzione e consumo. (http://www.fao.org/save-food/en/)

Inoltre, secondo il WWF vengono prodotti oltre 130 milioni di tonnellate di plastica ogni anno, di cui 8 milioni di tonnellate finiscono negli oceani.
(https://www.wwf.it/news/notizie/?uNewsID=37160)

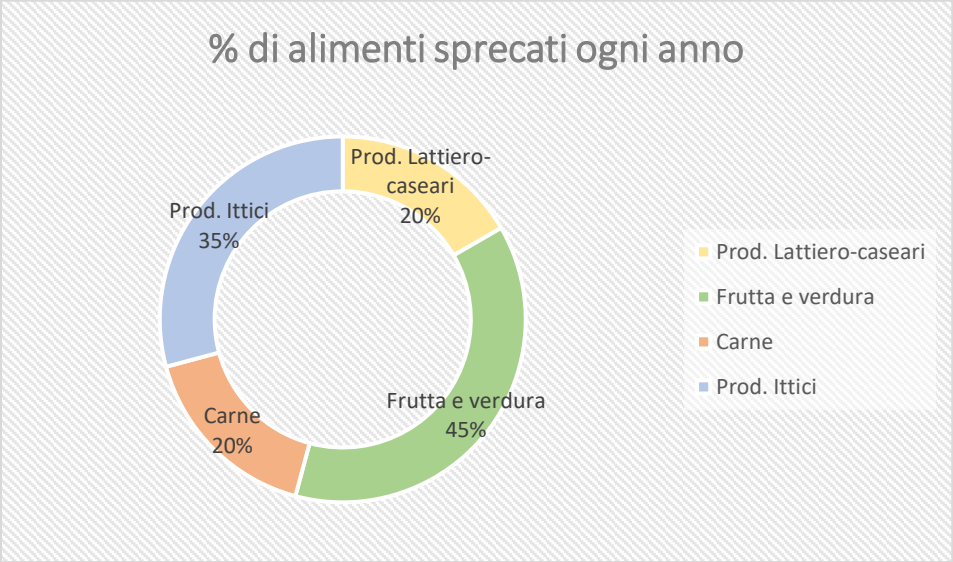

Figura 1 - Percentuale di alimenti sprecati annualmente

La FAO e Messe Düsseldorf, stanno attualmente collaborando con agenzie bilaterali e multilaterali, istituzioni e partner del settore privato, come l'industria dell'imballaggio alimentare, per sviluppare nuove tecnologie e attuare il programma SAVE FOOD Initiative, che ha come obiettivi la riduzione dello spreco degli alimenti e la riduzione dei rifiuti.

La lotta contro la plastica e lo spreco alimentare hanno sensibilizzato notevolmente il mondo del packaging; infatti, numerosi ricercatori stanno lavorando a possibili soluzioni di imballaggi intelligenti e attivi, sostenibili a partire da biopolimeri, per cercare di ridurre le quantità di plastica prodotte e per migliorare la *shelf-life* degli alimenti.

Nell'ultimo decennio, la nanocellulosa è diventata oggetto di studio per la realizzazione di nuovi packaging.

L'obiettivo di questo lavoro di tesi è fornire informazioni sulle nuove tecnologie di packaging a base di nanocellulosa ed evidenziare gli effetti positivi degli imballaggi attivi sugli alimenti.

1. IL PACKAGING: DALLE ORIGINI ALLA SUA EVOLUZIONE NELL'INDUSTRIA ALIMENTARE.

1.1 Storia del packaging.

Il packaging, secondo la ASTM – American Society for Testing and Materials, viene ampliamente definito come un sistema coordinato per disporre i beni per il trasporto, la distribuzione, la conservazione, la vendita e l'utilizzo finale degli alimenti, oltre che come un mezzo per assicurare che un prodotto raggiunga il consumatore finale nel migliore dei modi ed al minimo costo.

Prima di soffermarci sulle funzioni del packaging e sul ruolo che esso ricopre attualmente nel settore alimentare, è opportuno ripercorrere l'evoluzione che ha subito dalle origini fino al giorno d'oggi.[1]

Il packaging nasce da un percorso nel quale si intreccia una serie di processi sociali e produttivi complessi.

Le prime tracce risalgono all'Ottocento, durante la rivoluzione industriale, in cui ci furono numerose invenzioni che risultarono fondamentali per l'ideazione del packaging, le quali videro, poi, largo impiego soprattutto nella seconda metà del secolo, quando l'imballaggio divenne un vero e proprio strumento per il trasporto dei prodotti. Lo sviluppo di nuove macchine a vapore e la conseguente produzione di un'ingente quantità di merci resero disponibili, a prezzi fruibili, prodotti che prima di allora erano considerati di lusso, come ad esempio il tè proveniente dall'India.[2]

Crebbe sempre più, quindi, l'esigenza di mettere a punto nuove tecniche industriali per conservare, proteggere e differenziare i prodotti alimentari. In questo scenario, l'inglese Pierre Durand, perfezionando e brevettando le metodiche di conservazione degli alimenti, già parzialmente sviluppate in Francia da Nicolas Appert, ideò la produzione di scatole di metallo per la distribuzione, nel grande mercato, di alimenti deteriorabili (Figura 1).

Figura 2 - Scatola di metallo '800. (https://wearepackagingfans.com/site/storia-della-scatoletta-di-latta/)

Vennero contestualmente prodotti anche i primi sacchetti di carta e le prime scatole di latta con coperchio, oltre che il cartone da imballaggio, in modo da ampliare la diffusione delle merci e fornire un'offerta adeguata alla crescente domanda del mercato.

All'inizio del '900 l'involucro acquisì, poi, una duplice funzione: estetica e funzionale. Negli anni '30, infatti, negli USA, con l'accrescersi del consumo di massa e la diffusione capillare dei supermarket, il packaging divenne inevitabilmente oggetto di grande interesse del settore produttivo alimentare.

Per la prima volta, quindi, l'imballaggio venne considerato, nella sua totalità, come mezzo essenziale nella comunicazione con il consumatore, al fine di rassicurare, invogliare all'acquisto e rispondere alle esigenze distributive.

Ma la vera rivoluzione che ha investito il mondo dell'industria alimentare risale al secondo dopo guerra, momento in cui anche l'Europa conosce il consumo di massa e i moderni sistemi di distribuzione, con la conseguente evoluzione concettuale del packaging e la realizzazione di contenitori di ogni forma e materiale, di vetro stampato, lattine, scatole di cartone e cellophane (Figura 3).

Figura 3 - Imballaggi di cellophane, lattine e scatole di carta per alimenti, anni '50. (Barilla e Lavazza)

Negli ultimi anni, grazie all'evoluzione tecnologica, si è giunti a produrre packaging sempre più funzionali, i quali, oltre ad avere il compito di contenere e proteggere i prodotti, hanno lo scopo di allungare la shelf-life e di mantenere inalterate le caratteristiche organolettiche dell'alimento.
Inoltre, il simbiotico cambiamento che lega indissolubilmente l'industria e la società ha fatto sì che, nell'ultimo decennio, si sviluppassero nuovi sistemi ecosostenibili di packaging, nel rispetto e nella tutela dell'ambiente.

1.2 Tipologie e funzioni del packaging.

Negli corso degli anni, l'Italia, tentando di adeguarsi a normative europee talvolta poco chiare, ha più volte cercato di definire i limiti legislativi del complesso comparto del packaging.
Il DGLS 152/02 nell'articolo 218, al comma 1, definisce le varie tipologie di imballaggio, riassumendole in quattro grandi capitoli:

a. **imballaggio**: il prodotto, composto di materiali di qualsiasi natura, adibito a contenere determinate merci, dalle materie prime ai prodotti finiti, a proteggerle, a consentire la loro manipolazione e la loro consegna dal produttore al consumatore o all'utilizzatore, ad assicurare la loro presentazione, nonché gli articoli a perdere usati allo stesso scopo;

b. **imballaggio per la vendita o imballaggio primario**: imballaggio concepito in modo da costituire, nel punto vendita, un'unità di vendita per l'utente finale o il consumatore;

c. **imballaggio multiplo o imballaggio secondario**: imballaggio concepito in modo da costituire, nel punto vendita, il raggruppamento di un certo numero di unità di vendita, indipendentemente dal fatto che sia venduto come tale all'utente finale o al consumatore, o che serva soltanto a facilitare il rifornimento degli scaffali nel punto vendita. Esso può essere rimosso dal prodotto senza alterarne le caratteristiche;

d. **imballaggio per il trasporto o imballaggio terziario**: imballaggio concepito in modo da facilitare la manipolazione ed il trasporto di merci, dalle materie prime ai prodotti finiti, di un certo numero di unità di vendita oppure di imballaggi multipli per evitare la loro manipolazione ed i danni connessi al trasporto, esclusi i container per i trasporti stradali, ferroviari marittimi ed aerei". [3]

E' chiaro, quindi, come il concetto di packaging comprenda in sé, anche da un punto di vista normativo, molteplici e complessi aspetti che ne rendono difficile una univoca e onnicomprensiva definizione. Proprio in considerazione della variabilità intrinseca dell'imballaggio, è fondamentale delinearne in maniera appropriata le funzioni che possono essere essenzialmente riassunte in contenimento, protezione, servizio, logistica e comunicazione.

Il **contenimento** è, di certo, la funzione più antica, soprattutto per alcuni prodotti, come il latte o gli sfarinati, in quanto, non essendo dotati di forma propria, risulta fondamentale in qualsiasi fase di produzione, stoccaggio e trasporto. Le tipologie di packaging impiegate per la realizzazione dei contenitori hanno subito un forte sviluppo negli anni ed oggi sono estremamente variabili nella forma e nel materiale.

La **protezione** rappresenta, invece, la superficie di separazione tra il prodotto e l'ambiente esterno, ovvero una vera e propria barriera che ha il compito di preservare le caratteristiche qualitative dell'alimento e di proteggerlo da danni meccanici. Questa barriera deve essere progettata in funzione delle esigenze specifiche dell'alimento e della sua shelf-life, al fine di proteggere lo stesso da contaminazioni chimiche e microbiologiche, dalla permeazione di gas

e vapori, dall'influenza della luce, umidità e da eventuali altri agenti chimico-fisici che potrebbero comprometterne la qualità o accelerarne la degradazione fisica.
Il **servizio**, definito anche come *convenience*, è una delle funzioni più recenti, che ha assunto, negli ultimi anni, una notevole importanza. La facile e rapida fruibilità degli alimenti (rapide preparazione e apertura, scarto ridotto, pelabilità, ecc…) è, infatti, oggi essenziale per soddisfare le esigenze del consumatore.
Essenziale per la grande distribuzione dell'industria alimentare è, invece, la **logistica** che ha il compito di favorire la movimentazione dei prodotti e di facilitare il loro magazzinaggio, ottimizzandone il valore economico.

Infine, una funzione molto importante è la **comunicazione**. L'imballaggio è un vero e proprio *silent seller*, ossia contribuisce in maniera incisiva al successo commerciale di un prodotto e al tempo stesso permette di informare il consumatore, mediante apposite etichette, della conformità alla normativa vigente dell'alimento stesso.[4]

1.3 Innovazione del packaging alimentare.

La tecnologia alimentare lavora da anni per rispondere alle esigenti richieste della società moderna per la produzione di packaging che permettano di mantenere più a lungo la shelf-life dei prodotti e che ne preservino, al tempo stesso, le caratteristiche nutrizionali ed igienico-sanitarie, ottenendo, in tal modo, alimenti più sani e sicuri. Questa continua innovazione deriva, infatti, dalla necessità di far fronte alla crescente attenzione per l'ambiente che ha reso indispensabile l'utilizzo di imballaggi biodegradabili che consentano di ridurre al minimo gli sprechi alimentari. Sono state messe a punto, così, diverse strategie di ottimizzazione degli imballaggi, come ad esempio confezioni di dimensioni diverse per aiutare i consumatori ad acquistare la giusta quantità di prodotto o materiali intelligenti che ne aumentino la durata e la fruibilità.
Il packaging deve essere, inoltre, realizzato con opportuni materiali in grado di instaurare una simbiosi con l'alimento, senza alterare le caratteristiche del prodotto stesso.
E' proprio l'interesse per queste particolari caratteristiche che ha fatto sì che l'industria del packaging sviluppasse soluzioni innovative per rispondere alle mutevoli esigenze del mercato alimentare e dei consumatori, nonché ai crescenti requisiti normativi e legali. Ciò ha condotto all'evoluzione di imballaggi innovativi, quali il packaging active e intelligent.[5]
La loro definizione è chiaramente delineata nel Regolamento (CE) n°1935/2004, articolo 2, comma 1:

per «materiali e oggetti attivi destinati a venire a contatto con i prodotti alimentari» s'intendono materiali e oggetti destinati a prolungare la conservabilità o mantenere o migliorare le condizioni dei prodotti imballati. Essi sono concepiti in modo da incorporare deliberatamente componenti che rilascino sostanze nel prodotto alimentare imballato o nel suo ambiente, o le assorbono dagli stessi;

per «materiali e oggetti intelligenti destinati a venire a contatto con i prodotti alimentari» s'intendono materiali e oggetti che controllano le condizioni del prodotto alimentare imballato o del suo ambiente.

Inoltre, esiste un'altra nuova tecnologia di imballaggio che è rappresentata dallo smart packaging, da non confondere con l'imballaggio intelligente.

Lo smart packaging infatti, garantisce condizioni d'uso alternative, in modo tale che il consumatore possa trarne più vantaggi. Quindi il suo compito non è quello di assorbire o cedere sostanze, ma di migliorare la convenienza d'uso dei prodotti. Degli esempi di questa innovativa tecnologia sono i contenitori dotati di valvole in grado di espellere la CO_2 da alimenti fermentati o espellere la sovrappressione di vapore in alimenti cotti in microonde, o dei contenitori in grado di sviluppare calore al momento del consumo per riscaldare il contenuto.

1.3.1 Active Packaging

Il packaging attivo è nato con l'obiettivo di soddisfare la domanda dei consumatori di materiali da imballaggi naturali, riciclabili e biodegradabili.

L'imballaggio attivo degli alimenti è un esempio di innovazione che va oltre le tradizionali funzioni, in quanto il prodotto e l'ambiente che lo circonda all'interno della confezione interagiscono tra di loro.

Questa tecnologia si basa sul concetto dell'incorporazione di determinati componenti nei sistemi di confezionamento che rilasciano o assorbono sostanze dagli o negli alimenti confezionati o nell'ambiente circostante, in modo da prolungare la durata di conservazione e sostenere la qualità, la sicurezza e le caratteristiche sensoriali degli alimenti stessi (Figura 3).

Un nuovo progresso nell'uso del packaging attivo è l'utilizzo di materiali polimerici contenenti alcuni additivi che gli conferiscono proprietà antimicrobiche importanti. Queste matrici polimeriche, infatti, hanno la capacità di rilasciare agenti attivi come antiossidanti e antimicrobici, preservare composti quali etilene, ossigeno e acqua, o eliminare componenti indesiderabili. L'immissione controllata di agenti attivi negli alimenti attraverso film di

imballaggio per lunghi periodi di conservazione e distribuzione limita, inoltre, lo sviluppo di aromi indesiderati prodotti a seguito dell'incorporazione diretta di additivi negli alimenti.[6]
I più importanti concetti di confezionamento attivo applicati agli alimenti includono assorbitori di umidità, imballaggi antimicrobici, emettitori di anidride carbonica, sostanze assorbenti di ossigeno e imballaggi antiossidanti.[5]

Figura 4 - Imballaggio attivo in cartone ondulato per frutta della Bestack. (https://www.bestack.com)

L'uso di agenti antimicrobici mira a ridurre o inibire la crescita microbica negli alimenti confezionati. [7] Questi vengono utilizzati o mediante l'aggiunta diretta per diffusione all'alimento o mediante l'infusione sotto forma di vapore.[8]
Gli assorbitori di ossigeno utilizzati nei materiali di imballaggio inibiscono, invece, le reazioni ossidative rimuovendo l'ossigeno e possono essere aggiunti direttamente alla confezione o sotto forma di bustine o sotto forma di etichette. Tra gli assorbitori di ossigeno viene comunemente usato l'ossido di ferro che reagisce con l'ossigeno per diminuirne la concentrazione.[9]
Gli assorbitori e i mediatori per l'anidride carbonica sono incorporati nei materiali di imballaggio. Il biossido di carbonio, infatti, riduce il tasso di respirazione degli alimenti freschi e previene in tal modo la differenza di vuoto, prevenendo il collasso della confezione a causa della presenza di assorbitori di ossigeno.[10] L'anidride carbonica può essere aggiunta in molte forme diverse come cuscinetti assorbenti e prodotti chimici (ad es. il bicarbonato).[11]
Il confezionamento attivo coinvolge anche agenti come argille naturali, ossido di calcio e gel di silice, i quali vengono utilizzati come essiccanti in caso di alimenti secchi o come regolatori, diminuendo la perdita di umidità, trattenendo l'umidità relativa desiderabile e diminuendo il contenuto di umidità extra presente nei vuoti e nello spazio di testa, in caso di alimenti con un elevato contenuto di umidità interna. Questi agenti possono essere aggiunti sia come pacchetti

porosi interni che come cartucce di plastica porose con barriera al vapore acqueo e con essiccanti.

1.3.2 Intelligent Packaging

Il packaging intelligente ha assunto, negli anni, un ruolo fondamentale in tutti i campi della nanotecnologia e ha condotto ad un monitoraggio sempre più puntuale della qualità, della sicurezza e della sostenibilità ambientale.

L'imballaggio intelligente è in grado, infatti, di fornire informazioni sulle condizioni di conservazione di un prodotto e sul suo stato della qualità mediante degli indicatori posizionati direttamente sulla confezione. Il fine del packaging intelligente è quello di valutare l'efficacia e la forza del sistema del packaging active[9] e rappresenta anch'esso un enorme passo avanti per prevenire gli sprechi alimentari, migliorare la logistica e la tracciabilità degli alimenti.[5]

L'imballaggio intelligente è collegato all'avanzamento dei regolatori di temperatura - tempo, monitor di maturità, biosensori e indicatori e regolatori di radiofrequenza, [12] così come è possibile osservare in Figura 5, la presenza di linguette che cambiano il colore per indicare la temperatura della bevanda.

Figura 5 - Imballaggio intelligente, linguette che cambiano colore per indicare la temperatura della lattina. (https://www.chiefpackagingofficer.com/smart-packaging-innovation-can-pull-tabs/)

Un packaging intelligente fornisce il segnale per percepire e valutare la freschezza del cibo[13] e fornisce informazioni sulle proprietà degli alimenti chiusi e sul loro ambiente, aiutando a far comprendere lo stato di tali proprietà al produttore, al rivenditore e al cliente.[12]

Questa forma di imballaggio fornisce una funzione aggiuntiva alla comunicazione di base del packaging convenzionale poiché garantisce la possibilità di osservare o registrare i cambiamenti interni ed esterni nell'ambiente circostante il prodotto.

L'imballaggio intelligente offre, dunque, maggiori e più dettagliate conoscenze di tutta la catena di approvvigionamento e permette di tenere sotto controllo i punti critici del prodotto, grazie all'uso di etichette incorporate o stampate sul materiale di imballaggio.[14]

2. LA NANOCELLULOSA

2.1. La lignocellulosa

Le piante producono biomassa grazie alla fotosintesi (Figura 5), un processo biochimico molto importante, mediante il quale si ha la trasformazione dell'anidride carbonica in zuccheri e carboidrati.

$$6\,H_2O + 6\,CO_2 \xrightarrow{\text{Energia solare}} 1\ \text{glucosio} + 6\,O_2$$

Figura 6 - Formula stechiometrica della reazione di fotosintesi

Il componente principale della biomassa è la lignocellulosa che comprende circa la metà della sostanza secca della pianta. La produzione mondiale annua di biomassa lignocellulosica stimata è di oltre 200 miliardi di tonnellate ed è considerata la risorsa di carbonio più abbondante e sostenibile sul nostro pianeta,[15] in quanto non compete con la produzione alimentare.

La lignocellulosa è una sostanza organica, componente principale della parete cellulare delle piante, è una struttura macromolecolare ad alta energia.[16]

Come è possibile osservare in figura 6, la biomassa lignocellulosica è costituita principalmente dal 30-50% di cellulosa, dal 19-45% di emicellulosa e dal 15-35% di lignina, associati tra loro in modo variabile a seconda della loro fonte[17]; sono presenti, inoltre, piccole quantità di pectina, proteine e ceneri. [18]

L'emicellulosa è un polisaccaride amorfo ed eterogeneo a basso peso molecolare costituito da xilglucani, xilani, mannani e glucomannani; forma un'interfaccia tra la lignina idrofobica e la cellulosa idrofila e si collega alla cellulosa e alla lignina nelle cellule delle fibre vegetali.

La lignina, invece, è definita come un polimero complesso tridimensionale ed è composta da gruppi propilfenolo collegati da legami C–C e un gruppo etere; porta all'irrigidimento delle fibre di cellulosa e la difende dagli attacchi biologici. [19]

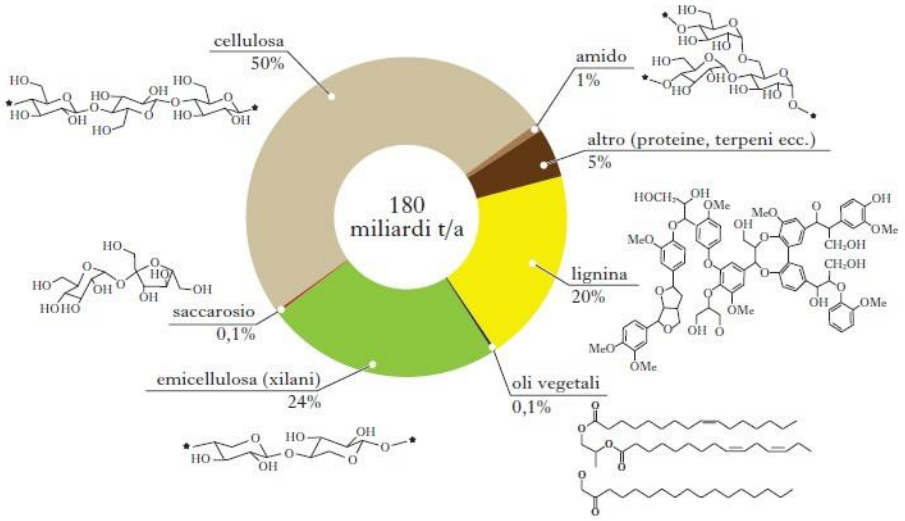

Figura 7 - Composizione % della biomassa lignocellulosica. (Treccani)

Esistono molte fonti di biomassa lignocellulosica (tabella 1), tra cui residui agricoli e forestali come la bagassa di canna da zucchero, paglia e foglie di grano, bucce di cocco, mais, legno oppure colture energetiche e rifiuti industriali come residui dell'industria cartaria. Non tutti questi materiali presentano, in realtà, la medesima composizione di lignocellulosa; tra questi, i legni duri hanno maggiori quantità di cellulosa rispetto alla paglia di grano che, invece, presenta una più abbondante percentuale di emicellulosa. Inoltre, in ogni singola pianta la composizione cambia con l'età, lo stadio di crescita e altre condizioni.[18]

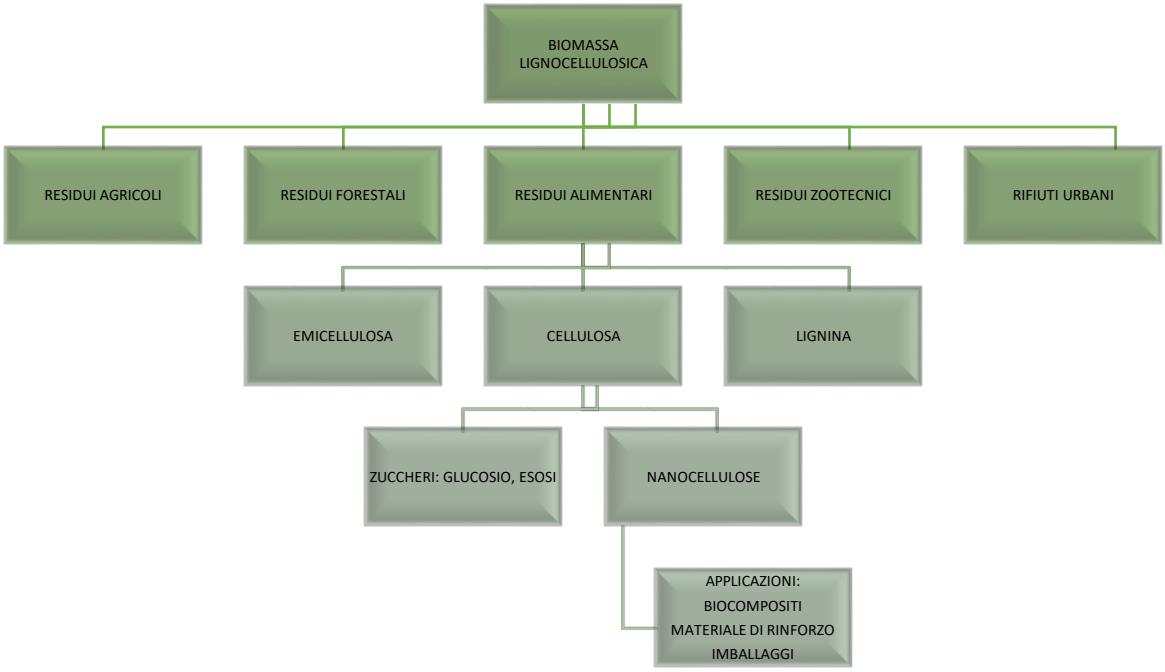

Figura 8 - Fonti principali di biomassa lignocellulosica

La diversa combinazione di questi componenti è, infatti, un fattore chiave nel determinare l'idoneità delle materie prime per la produzione di nanocellulosa. La cellulosa viene separata dalla lignina e dall' emicellulosa mediante dei pretrattamenti che migliorano l'accesso di fibre di cellulosa all'attacco chimico prima dell'idrolisi, tagliando il legame etere tra le catene di glucosio.

Il frazionamento della biomassa è un processo piuttosto difficile per il recupero di cellulosa, emicellulosa e lignina, ma rende possibile la conversione dei singoli componenti in prodotti utili. Sebbene il trattamento della biomassa lignocellulosica a volte causi l'apertura degli anelli di zucchero delle catene polisaccaridiche, con conseguente produzione di glucosio, acido, alcool e aldeide, tale separazione è un passaggio obbligatorio per sbloccare la fibra immagazzinata, rendendo efficace l'utilizzo della nanocellulosa nell'attuale campo delle nanotecnologie.[18]

2.2. Struttura chimica della cellulosa

I biopolimeri sono definiti *bio-based materials*, ossia materiali organici nei quali il carbonio deriva quasi esclusivamente da risorse biologiche rinnovabili.[4]

La cellulosa è il biopolimero più abbondante in natura e può trovarsi allo stato puro in cotone o può essere estratta da legno, foglie di piante e steli, ove coesiste con altri composti naturali come emicellulosa, lignina e sostanze pectiche. Tramite i processi di fotosintesi, le piante sintetizzano la cellulosa che rappresenta circa il 40% della biomassa lignocellulosica. [20]

Indipendentemente dalla sua fonte, la cellulosa si presenta come una fibra bianca senza odore e con una densità di circa 1,5 g/cm^3 [21]e costituisce il componente principale (65% -75%) delle fibrille elementari, organizzandosi secondo una fine struttura gerarchica.[22]

La conoscenza della struttura chimica e delle caratteristiche chimico-fisiche della cellulosa ha permesso il suo impiego in svariati settori, quali l'industria alimentare, farmaceutica, industriale, portando alla formazione di prodotti rinnovabili e non tossici ottenuti dalla sua lavorazione. [23]

La sua composizione elementare è stata determinata dal chimico francese Payen nel 1835.

La sua formula empirica è $(C_6H_{10}O_5)_n$ [24]e contiene, dunque, il 44% - 45% di carbonio, il 6% - 6,5% di idrogeno e il resto è rappresentato dall'ossigeno.

E' un omopolisaccaride lineare, non ramificato, con una struttura cristallina, composto da unità ripetute di D-glucosio, da 2000 a 15000 unità, collegate con legami β-1,4 glucosidici (Figura 7).

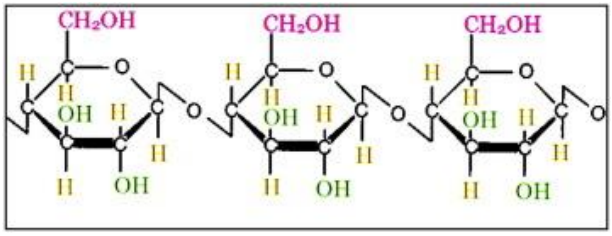

Figura 9 - Struttua chimica della cellulosa (Mishra et al., 2018)

Le molecole di glucosio sono ruotate di 180° l'una rispetto all'altra per consentire il legame β-1,4 glucosidico, diverso dai legami α-1,4 presenti nell'amido e nel glicogeno. Il grado di polimerizzazione della cellulosa è dell'ordine di 10^4, cui può corrispondere un peso molecolare molto elevato di circa 1,62x10^6 Da.

L'unità fondamentale della cellulosa è un omodimero detto **cellobiosio**.[25]

Il cellobiosio $(C_6H_{10}O_5)_2O$ è un disaccaride riducente, in grado di muta rotare ed è costituito da due unità di glucosio, unite con un legame 1,4 disaccaridico (Figura 10).

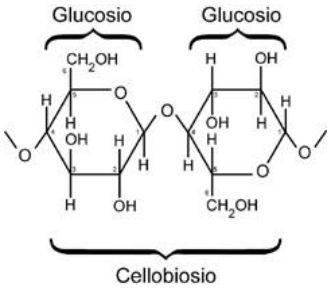

Figura 10 - Struttura chimica del cellobiosio (Cellulosa, Wikipedia)

Il monomero, chiamato unità anidroglucosio (AGU), presenta tre gruppi idrossilici, i quali hanno la capacità di formare forti legami idrogeno. Questa particolare proprietà chimica fa sì che la cellulosa sia dotata di una struttura microfibrillata (Figura 11) su più scale con una organizzazione gerarchica (regioni cristalline e regioni amorfe) e spiega, inoltre, la sua natura altamente coesiva, con una temperatura di transizione vetrosa superiore alla sua temperatura di degradazione.[21]

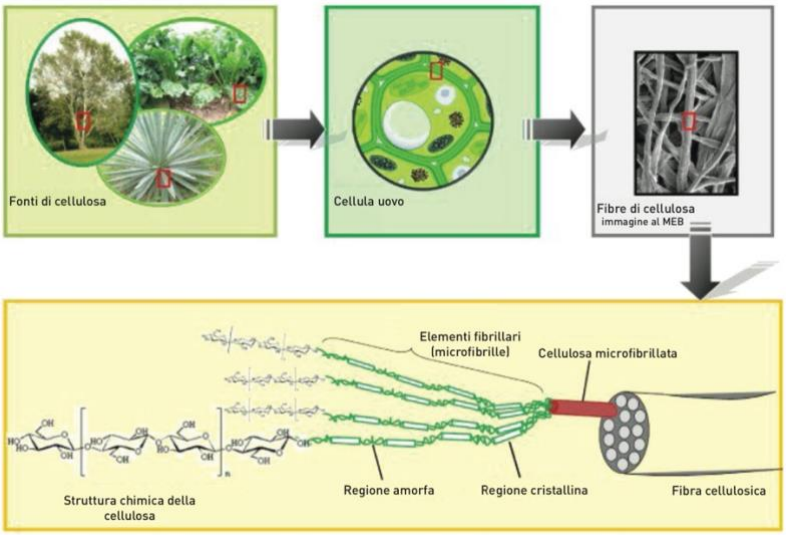

Figura 11 - Struttura microfibrillata della cellulosa (Lavoine et al., 2012)

La catena di cellulosa è costituita da un'estremità di un'unità D-glucosio con un gruppo C4-OH, estremità non riducente, e l'altra estremità terminale con un gruppo C1-OH, estremità riducente.

E' proprio la struttura molecolare che impartisce alla cellulosa le sue peculiari caratteristiche: idrofilia, chiralità, degradabilità e ampia variabilità chimica.

Nel processo di biosintesi le forze di Van der Waals ed i legami idrogeno intra ed intermolecolari tra gruppi -OH e gli atomi di ossigeno di molecole adiacenti possono promuovere il raggruppamento parallelo di più catene di cellulosa, permettendo l'impacchettamento cristallino della cellulosa

in fibrille primarie che a loro volta si aggregano in microfibrille più grandi.[22]

Le dimensioni laterali di queste unità strutturali sono comprese tra 1,5 e 3,5 nm (fibrille primarie), tra 10 e 30 nm (microfibrille) e dell'ordine di 100 nm (bande microfibrillari). [26]

Il legame con l'idrogeno rende, dunque, la cellulosa un polimero relativamente stabile e porta le fibrille a un'elevata rigidità [22]

I legami idrogeno sono molto stretti quando si formano tra due catene di cellulosa adiacenti, al contrario, tendono ad essere meno stretti quando tra le catene si interpongono molecole di acqua. [4]

Inoltre, la cellulosa è un materiale polimorfo dal punto di vista cristallografico: le sue forme cristalline sono diverse perché essa viene bio-sintetizzata come catena singola, ma, a seconda delle condizioni di biosintesi, le catene si aggregano per effetto dell'instaurarsi di legami idrogeno intercatena, oltre a quello già responsabile della linearità. Quindi, la struttura cristallina dipende drasticamente dal tipo di organismo vivente che la produce.

Esistono, infatti, quattro diversi polimorfi di cellulosa: cellulosa I, II, III e IV, osservabili in figura 10. La cellulosa I, cellulosa nativa, è la forma che si trova in natura e si presenta in due allomorfi, Iα e Iβ. La cellulosa II, o cellulosa rigenerata, emerge dopo ricristallizzazione o mercerizzazione con idrossido di sodio acquoso: è la forma cristallina più stabile. La principale distinzione tra queste due forme di cellulosa risiede essenzialmente nella disposizione dei loro atomi: la cellulosa II ha una disposizione antiparallela, mentre le catene di cellulosa I hanno direzione parallela. La cellulosa III_I e III_{II} sono, invece, ottenute a partire rispettivamente dalla cellulosa I e dalla cellulosa II mediante trattamento con ammoniaca; con la modifica della cellulosa III, viene infine prodotta la cellulosa IV.[27]

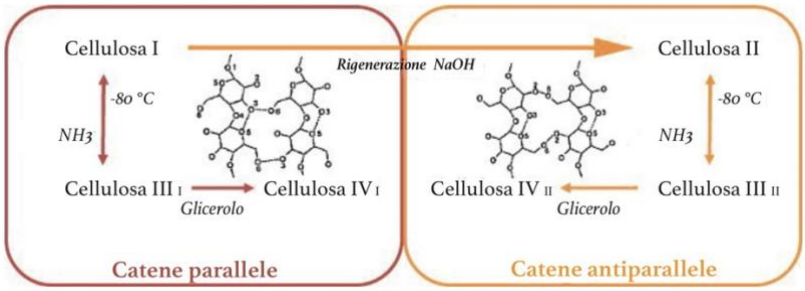

Figura 12 - I quattro polimorfi della cellulosa (Lavoine et al., 2012)

2.2 Nanocellulosa

Negli ultimi anni, la nanocellulosa ha progressivamente acquisito una notevole attenzione nel campo della ricerca, grazie alle sue eccezionali proprietà e potenzialità per diverse applicazioni. I nanobiomateriali, derivati da risorse naturali abbondanti e rinnovabili, possono, infatti, avere lo straordinario potenziale di sostituti degli omologhi sintetici, incoraggiando gli scienziati a sviluppare nuovi nanomateriali a partire da bio-risorse rinnovabili con riduzione significativa dell'impatto ambientale.[28]

Un nanomateriale, per definizione, è un materiale che ha almeno una dimensione inferiore o uguale a 100 nm. I materiali nanocellulosici hanno molte caratteristiche interessanti come la nano dimensione (maggior rapporto tra area superficiale e volume), la non tossicità, la biodegradabilità e la biocompatibilità, tutte caratteristiche che promettono di rivoluzionare molti campi della produzione industriale.[20]

La nanocellulosa, infatti, possiede un grande potenziale di utilizzo, in quanto i materiali in cellulosa sono le materie prime biologiche più abbondanti e possono autoassemblarsi in architetture ben definite su più scale, da nano a micro dimensioni. Inoltre, la cellulosa è una materia prima multifunzionale, a basso costo, con elevata resistenza e basso peso, oltre ad essere rinnovabile. Rispetto ai rinforzi inorganici e non rinnovabili, presenta un basso consumo energetico di produzione, elevata forza specifica, modulo di Young e superficie reattiva.[29]Da un punto di vista meccanico la nanocellulosa presenta una resistenza alla trazione di 500 MPa, simile a quella dell'alluminio, una rigidezza tra i 140 e i 200 GPa, comparabile a quella del kevlar e migliore di quella delle fibre di vetro ed un rapporto resistenza/peso otto volte superiore a quello dell'acciaio inossidabile.[20 30] La nanocellulosa può essere estratta da varie risorse vegetali lingocellulosiche, usando metodi meccanici, chimici o enzimatici. La sua struttura morfologica dipende in larga misura dall'efficace

rimozione della parte non cellulosica e dalla dissoluzione della regione amorfa della struttura del dominio. La morfologia, le proprietà fisiche e le dimensioni delle nanocellulose variano significativamente in base alle risorse di fibre naturali e con i processi di estrazione (Figura 13). [20]

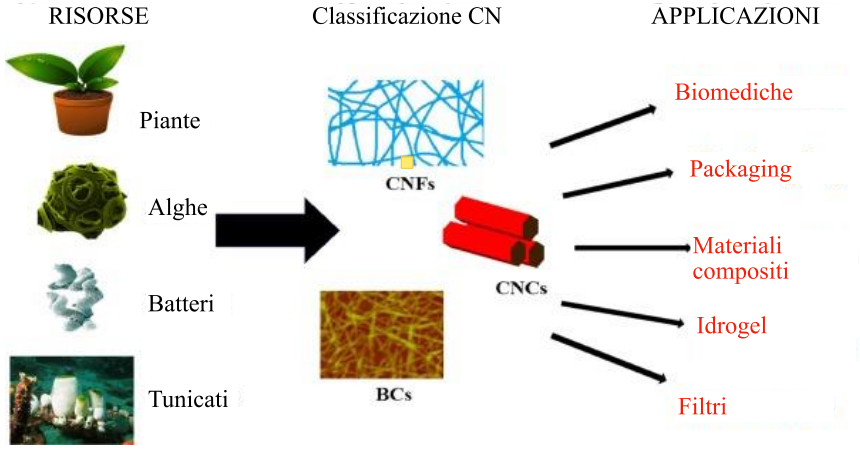

Figura 13 - Nanocellulosa: fonti, classificazioni e applicazioni. (Zinge et al., 2020)

La struttura fibrillare semicristallina della cellulosa nativa I è, attualmente, la principale fonte di nanocellulosa. [21]

La Technical Association of the Pulp and Paper Industry (TAPPI) ha disposto una classificazione delle strutture cristalline di cellulosa sulla base della loro dimensione e forma, suddividendole in:

- **CNC** o nanocristalli di cellulosa, conosciuti anche come nanorods di cellulosa, con diametro tra 5 e 50 nm e lunghezza tra 100 e 500 nm, altamente cristallini;
- **MCC** o cellulosa microcristallina, costituita da particelle sferiche o rods di dimensioni da 10 a 200 mm;
- **CNF** o nanofibrille di cellulosa, costituite da fibre elementari aggregate, con larghezza da 20 a 50 nm e lunghezza dai 500 ai 2000 nm;

Questi diversi tipi di nanocellulosa provengono dalla digestione diretta della cellulosa cristallina. La tipologia più interessante risulta essere il CNC, grazie al suo elevato grado di cristallinità. [31] Inoltre, va aggiunta un'altra classe di nanocellulosa, secreta da batteri, denominata, per l'appunto, nanocellulosa batterica.

Le **nanofibrille di cellulosa** (CNF), chiamate anche cellulosa microfibrillata o microfibrillare, sono costituite da catene di cellulosa legate da legami idrogeno. Le molecole di cellulosa sono sempre biosintetizzate sotto forma di nanofibrille e fino a 100 catene di glucano si aggregano,

poi, per formare CNF.[29] I CNF hanno un diametro variabile che va da 5 a 60 nm [32] e lunghezze superiori a 1 μm. Formano una lunga struttura flessibile a forma di nastro, dovuta alla presenza di regioni amorfe e cristalline. [21]

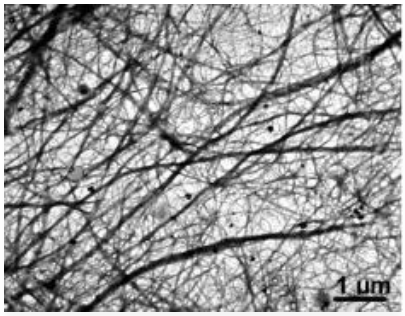

Figura 14 - Fotografia al TEM di CNF estratte da fibre di Opuntia ficus-indica. (Dufresne, 2017)

La loro morfologia conferisce un' elevata energia superficiale e, grazie alla notevole quantità di gruppi ossidrilici in superficie, i CNF sono in grado di formare una stretta rete nanoporosa allo stato secco.[33]

Le nanofibrille di cellulosa sono state isolate per la prima volta nel 1983 mediante omogeneizzazione ad alta pressione da Turbak e Herrick [34], i quali hanno prodotto una cellulosa con dimensioni laterali nel range dei nanometri. La polpa di legno è stata disintegrata più volte, fino ad ottenere un gel viscoso a bassa concentrazione. [21] Durante tale processo sono state prodotte reti fortemente intrecciate di nanofibrille, le quali presentavano domini amorfi e cristallini dovuti all'elevata forza di taglio. Turbak e Herrick, quindi, osservarono che queste nanofribrille avevano notevoli proporzioni e che in acqua formavano un gel con proprietà tixotropiche,[34] il quale, una volta essiccato, si presentava come un film trasparente.

I CNF presentano proprietà interessanti come l'ampia superficie specifica, un modulo elastico molto elevato, un alto *aspect ratio* (rapporto d'aspetto, ossia il rapporto tra matematico tra la lunghezza e la larghezza di una figura bidimensionale), la bassa espansione termica, la natura non abrasiva, il carattere non tossico,[28]notevole capacità di legame con l'idrogeno [21]e la capacità di agire come un rinforzo significativo a bassi livelli di carico del riempitivo. Tutte queste proprietà rendono, dunque, i CNF un rinforzo ideale nel settore dei nanocompositi polimerici.

I campi di applicazione dei CNF sono molteplici, quali la medicina rigenerativa, l'ingegneria dei tessuti, la produzione dei rivestimenti superficiali, l'industria farmaceutica e la produzione di imballaggi alimentari. Oltre a queste applicazioni, i CNF sono stati utilizzati anche per

fabbricare pellicole otticamente trasparenti con eccellenti proprietà di trasmissione della luce visibile e barriera al gas.[28]

L'isolamento dei CNF può essere effettuato mediante un'ampia varietà di tecniche che portano all'ottenimento di una sospensione acquosa:[35]

- Ossidazione mediata da TEMPO
- Processi meccanici
- Idrolisi enzimatica
- Ultrasonicazione ad altà intensità [36]

È molto comune, tuttavia, utilizzare trattamenti aggiuntivi che facilitano l'isolamento dei CNF, come la purificazione, i pretrattamenti meccanici e i pretrattamenti biologici / chimici. La combinazione di trattamenti pre- o post-, unitamente ai vari metodi di isolamento, può produrre CNF con diverse dimensioni di nanofibre, con variabile quantità di fibre microscopiche residue o con particolari proprietà idrofile / idrofobiche che rendono ragione delle molteplici applicazioni dei CNF stessi.37

I **nanocristalli di cellulosa** (CNC) o baffi di cellulosa, sono cristalli simili ad aghi, costituiti da parti cristalline e amorfe, con lunghezza micrometrica da 100-1000 nm e un diametro di 4–25 nm, solitamente isolate con processi meccanici come omogeneizzazione a pressione, macinazione e raffinazione.[38] I CNC hanno una bassa densità, di 1,6 g/cm^{-3} e una elevata resistenza alla trazione e alla torsione.[31]

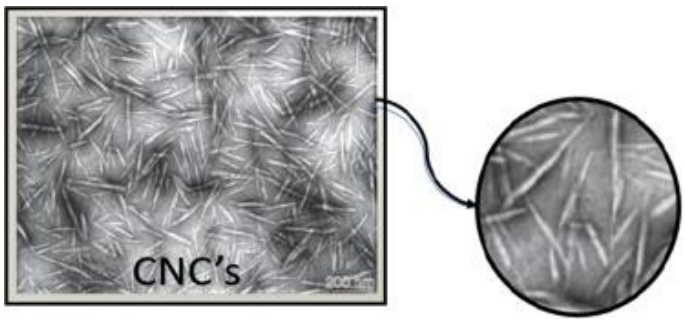

Figura 15 - Immagine al TEM di CNC. (Zinge et al., 2020)

Il primo riferimento all'esistenza di zone cristalline definite nella struttura amorfa dei materiali di cellulosa si è avuto quando Nageli e Schwendener, nel 1870, confermarono l'anisotropia ottica delle piante sia nelle pareti cellulari che nelle fibre. Molti decenni dopo, Rånby e Ribi nel 1950 furono i primi a produrre una sospensione stabile di cristalli di cellulosa colloidale attraverso l'idrolisi con acido solforico del legno e della cellulosa di cotone. Da allora, un

numero esponenziale di ricercatori ha concentrato il proprio lavoro su tali materiali. Il lavoro pionieristico sui nanocristalli di cellulosa proviene principalmente dal Canada, Marchessault, Gray e dalla Francia Dufresne e Cavaillé.

I CNC vengono prodotti in condizioni controllate, con formazione di singoli cristalli ad elevata purezza. Il processo principale nella preparazione di CNC si basa sulla forte idrolisi acida in condizioni rigorosamente controllate di temperatura, agitazione e tempo. Le regioni amorfe, considerate come difetti strutturali, vengono attaccate sotto idrolisi acida, lasciando intatte le regioni cristalline che rappresentano il dominio più resistente.

La sospensione risultante viene poi lavata mediante successive centrifugazioni e la dialisi viene eseguita utilizzando acqua distillata per rimuovere eventuali molecole di acido libero.[21]

Per quanto riguarda la morfologia, i CNC hanno forme diverse a seconda delle loro fonti. Pertanto, la morfologia a forma di bastoncino è caratteristica delle piccole particelle provenienti dal legno, mentre la morfologia a forma di nastro è osservata per le particelle grandi come quelle provenienti dai tunicati.[39]

Un aspetto molto importante per i CNC è il rapporto d'aspetto, *aspect ratio*, definito come il rapporto tra lunghezza e larghezza.[35]

La tabella 2, riporta le diverse lunghezze delle particelle (L) e larghezze (w) per i CNC di origine animale e vegetale osservati dalle tecniche di microscopia elettronica. I CNC derivati dai tunicati hanno mostrato dimensioni di 15-30 nm di larghezza e 1000–3000 nm di lunghezza, quelli derivati da fibre vegetali, invece, mostrano dimensioni più ridotte.[39]

Tuttavia, i CNC derivati da piante, come cotone e legno, sono i più studiati in letteratura, in quanto vi è un'abbondante disponibilità in natura.

Tabella 1 - Lunghezza (L) e larghezza (W) di CNC di diversa origine.

CNC	L (nm)	W (nm)
Batteri	100-1000	10-50
Ramia	150-250	6-8
Agave sisalana	100-500	3-5
Tunicati	1000-3000	15-30
Gimnosperme	100-200	3-4
Angiosperme	140-150	4-5

Un ulteriore tipo di materiale di rinforzo in nanocellulosa è la cellulosa microcristallina (MCC), strettamente correlata al CNC. È formata da fasci di nanocristalli insieme ad alcune parti amorfe, ottenute per degradazione acida che rimuove parte delle regioni amorfe.

La **nanocellulosa batterica** (BNC) è una forma altamente pura di cellulosa[40] è secreta da specifici batteri, in particolar modo dai ceppi *Gluconacetobacter*. Ad esempio, *Gluconacetobacter xylinus* secerne cellulosa micro fibrillata, avente una larghezza di circa 3,5 nm .[41]

Si presenta come una rete tridimensionale continua di nanofibrille assemblate sotto forma di nastri intrecciati con una larghezza di 20-50 nm e una lunghezza di diversi micrometri. La sua composizione chimica è come quella della nanocellulosa di origine vegetale ed è priva di emicellulosa, lignina e pectina. È proprio l'assenza di questi composti che la rende altamente cristallina, generando dei nanocristalli batterici più grandi.

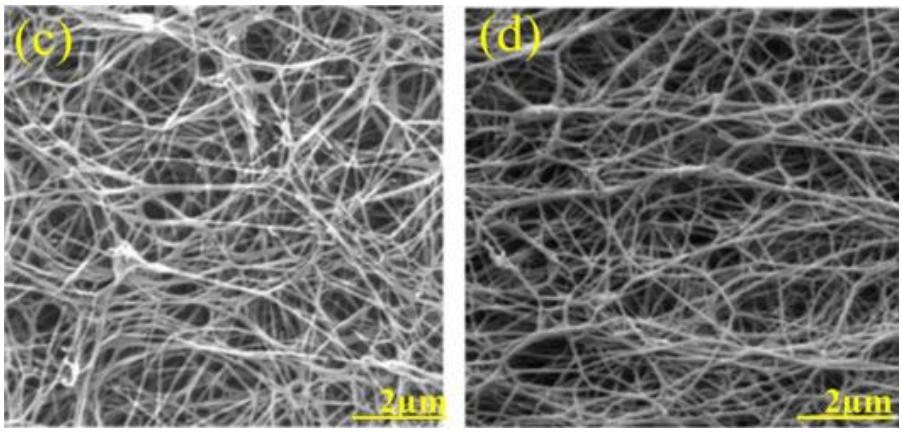

Figura 16 - Immagine al TEM di BNC prodotta da due diversi ceppi di Gluconacetobacter. (Farooq et al., 2020)

La sua nanostruttura fibrillare le conferisce eccellenti proprietà fisiche e meccaniche, come elevata porosità, alto modulo di Young, fino a 150 GPa, alta cristallinità, fino all' 84-89 % e una notevole capacità di trattenere l'acqua, maggiore rispetto ai CNF e CNC. Inoltre, la produzione di BNC non richiede un pre-trattamento per rimuovere la lignina e l'emicellulosa. La BNC presenta delle proprietà meccaniche migliori rispetto a quelle derivate da piante, come una maggiore capacità di trattenere l'acqua e l'idrofilia, queste caratteristiche hanno permesso un'applicazione ancor più ampia di nanocellulosa nel mondo delle industrie biotecnologiche, mediche, farmaceutiche e alimentari.[42]

2.3 Isolamento della nanocellulosa

2.3.1. Pretrattamenti

La biomassa lignocellulosica è costituita da cellulosa e materiali non cellulosici come lignina, emicellulosa e altri composti.[43] La nanocellulosa può essere estratta da varie fonti e risorse vegetali lignocellulosiche, utilizzando metodi differenti. L'estrazione di nanocellulosa dalla biomassa cellulosica comprende due fasi principali: pretrattamento e rimozione della fase amorfa con metodi appropriati. Prima del trattamento meccanico, chimico o enzimatico, infatti, sono richiesti dei pre-trattamenti come il trattamento alcalino e lo sbiancamento.[20] L'obiettivo principale del pretrattamento è quello di rimuovere una certa quantità di lignina, emicellulosa, cera e oli che ricoprono le fibre per ottenere, in tal modo, cellulosa pura. [40] Il trattamento alcalino depolimerizza la struttura nativa della cellulosa, defibrilla la struttura delle microfibrille ed espone cristalliti di breve lunghezza. Inoltre, è necessario un trattamento sbiancante per rimuovere completamente il materiale di cementazione dalla fibra.[20] I pretrattamenti sono dei fattori significativi, in quanto hanno una notevole influenza sugli aspetti e le caratteristiche distinte delle nanocellulose. Il loro impiego ha, infatti, ridotto notevolmente il consumo di energia [44]e migliorato il grado di nanofibrillazione della cellulosa.[45] I CNC possono essere quindi ottenuti attraverso l'idrolisi acida diretta della cellulosa purificata, mentre i CNF sono prodotti da numerosi trattamenti meccanici, come omogeneizzazione, microfluidizzazione, macinazione, criocrushing, ultrasuoni, ecc.[40]

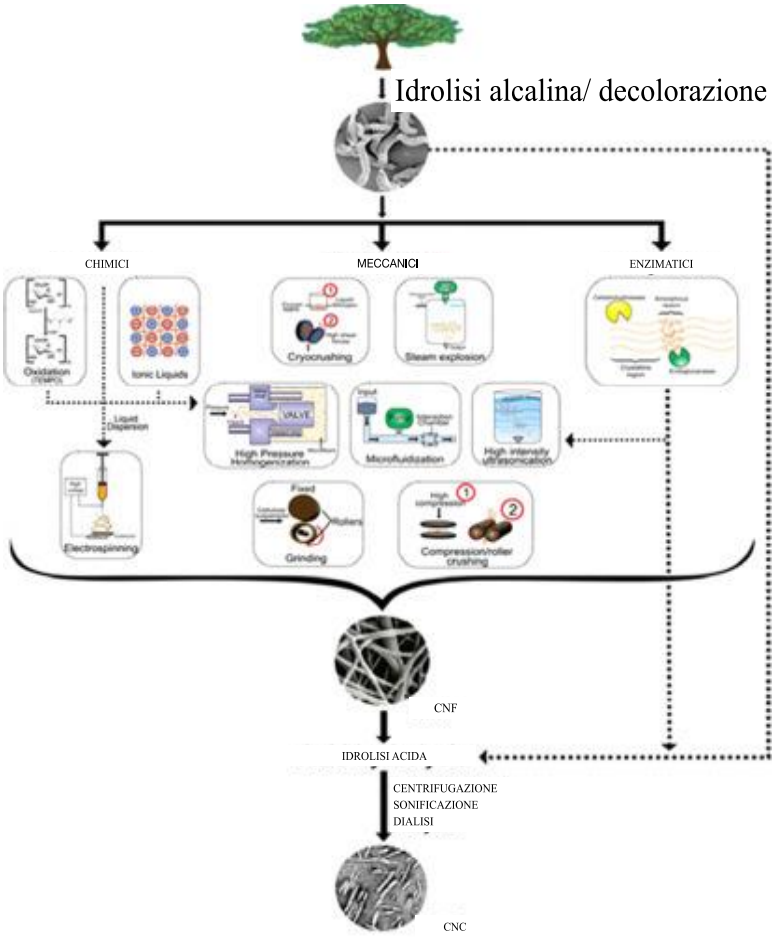

Figura 17 - Diversi metodi di pretrattamento per la produzione di CNF e CNC (Deepa et al., 2019)

I metodi di pretrattamento maggiormente utilizzati sono:

1) <u>Idrolisi enzimatica</u>

Gli enzimi con capacità di idrolisi selettiva, come la laccasi, possono degradare o modificare il contenuto di lignina ed emicellulosa senza degradare il contenuto di cellulosa.[45] Questo metodo rappresenta una valida ed innovativa alternativa ai pretrattamenti chimici convenzionali, grazie al suo basso consumo energetico; inoltre, è un metodo ecologico con emissione trascurabile di contaminanti nocivi per l'ambiente.[44]

Le fibre cellulosiche contengono molti composti organici diversi come struttura composita, per tanto un singolo enzima specifico non può degradare la fibra; è necessario un complesso enzimatico per decomporre la complessa struttura della cellulosa.

Tale complesso è composto da:

- Cellobioidrolasi: cellulasi di tipo A e B che attaccano fortemente la cellulosa cristallina
- Endoglucanasi: cellulasi di tipo C e D che attaccano la struttura amorfa della cellulosa [45]

Il tempo di reazione richiesto per il pretrattamento enzimatico è molto più elevato rispetto al processo di idrolisi acida. [19]
Nel 2007, dagli studi effettuati da Henriksson, è emerso che tale trattamento ha reso più semplice la separazione del materiale in cellulosa microfibrillata e [46]che l'utilizzo dell'idrolisi enzimatica è in grado di ottenere un materiale cellulosico di elevata purezza.[44]

2) <u>Pretrattamento acido-alcalino</u>

Il pretrattamento acido-alcalino è il metodo più comune usato per la solubilizzazione di lignina, emicellulosa e pectina prima dell'isolamento meccanico di NC.[45]
Il pretrattamento alcalino comporta il trattamento del legno o delle fonti vegetali con una soluzione alcalina che idrolizza le aree emicellulosiche e ligniniche. L'idrossido di sodio (NaOH) è un noto agente utilizzato per il trattamento alcalino, insieme a vari altri composti come l'idrossido di calcio (Ca (OH)2), l'idrossido di ammonio (NH4OH) e l'idrossido di potassio (KOH). I pretrattamenti acidi, invece, vengono eseguiti utilizzando soluzioni di acido diluito; queste soluzioni acide sono in grado di solubilizzare, infatti, l'emicellulosa e regioni della lignina. L'acido maggiormente utilizzato su scala industriale per la preparazione della cellulosa è l'acido solforico (H2SO4); altri acidi usati sono l'acido cloridrico (HCl), l'acido fosforico (H3PO4).[44]
Il pretrattamento acido-alcalino prevede i seguenti passaggi:

1. Ammollo delle fibre in una soluzione al 12-17,5% in peso per 2 ore con idrossido di sodio (NaOH), ciò aumenta la superficie delle fibre cellulosiche e facilita l'idrolisi.
2. Ammollo delle fibre in soluzione 1 M a 60–80 ° C con acido cloridrico (HCl), solubilizzando le emicellulose.
3. Trattamento con una soluzione di idrossidi di sodio (NaOH) al 2% in peso per 2 ore a 60–80 ° C. Si rompono così i legami della lignina e si rompono i ponti tra carboidrati e lignina. Il pretrattamento acido-alcalino è, quindi, un metodo efficace che può migliorare la resa di cellulosa dal 43% all'84%, permettendo, inoltre, la rimozione parziale della lignina e delle emicellulose anche dalle fibre di soia e paglia di grano.[45]

3) Ossidazione

L'ossidazione, mediante l'uso di agenti ossidanti come i perossidi organici (H_2O_2, $C_2H_4O_3$), l'ozono, l'ossigeno o l'aria, è un'altra tecnica utilizzata per catalizzare il processo di delignificazione, attaccando e tagliando la struttura ad anello della lignina. Gli agenti di ossidazione sono usati per migliorare gli effetti dei pretrattamenti alcalini. In condizioni di pH basico, pH> 12, l'ossigeno si riduce a radicale superossido ($-O_2 \cdot$) e l'anello della lignina si apre grazie all'azione di questo nucleofilo. Questo è un pre-trattamento efficace per ossidare l'anello aromatico di lignina e parte del polimero di emicellulosa in composti di acidi carbossilici (ad esempio acido formico, acido ossalico e acido acetico); inoltre, è adatto per l'estrazione della cellulosa poiché l'agente ossidante è più aggressivo sulla lignina e parzialmente sull'emicellulosa, mentre la cellulosa viene appena decomposta in questa lieve condizione.[17]

4) Organosolv

Organosolv è il processo simultaneo di degradazione di lignina ed emicellulosa, solvatazione e solubilizzazione di frammenti di lignina in presenza di solventi organici o sue soluzioni acquose. Il solvente organico solubilizza la lignina e parte dell'emicellulosa in condizioni di riscaldamento, lasciando un residuo di cellulosa solida relativamente pura. I solventi utilizzati per tale trattamento sono alcol con un basso punto di ebollizione, (metanolo, etanolo), acetone, acetato di etile e altri solventi. Lo ione OH del solvente attacca i legami eterei della lignina e idrolizza i legami glicosidici dell'emicellulosa. L'uso di alcol ad alta volatilità ne facilita il recupero mediante distillazione e riduce il consumo di energia. L'aggiunta di un catalizzatore nel pretrattamento di *organosolv*, come un acido inorganico (HCl o H_2SO_4) o un acido organico (acido ossalico, acetilsalicilico e salicilico), aiuta a rompere il legame interno del legame lignina-emicellulosa e migliora il processo di solvatazione, permettendo temperature di lavoro più basse. Di conseguenza, questo pretrattamento comporta la pre-idrolisi simultanea e la delignificazione della biomassa lignocellulosica per solubilizzare componenti noncellulosici e ottenere la frazione di cellulosa.[17]

2.3.2. Trattamenti di estrazione

Dopo i pretrattamenti, il secondo passo per la produzione delle nanocellulose è quello di convertire il contenuto cellulosico in particelle di nanoscala, utilizzando diverse tecniche, quali i trattamenti meccanici e quelli chimici, separatamente o combinati insieme per ottenere le caratteristiche desiderate.[47]

2.3.2.1 Trattamenti meccanici

I trattamenti meccanici prevedono la disintegrazione in piccoli frammenti della polpa di cellulosa secca, portando, di solito, alla distruzione della fibra.[34] Seguono, poi , dei trattamenti chimici per decomporre o rimuovere il materiale amorfo o funzionalizzare parzialmente la superficie delle particelle di cellulosa. [48]

Raffinazione, omogeneizzazione e macinazione sono le tecniche più comuni utilizzate per la produzione meccanica di nanocellulosa. Queste tecniche sono, infatti, le più efficaci per la delaminazione della parete cellulare in fibra e l'isolamento del CN.[34]

- <u>Omogeneizzazione ad alta pressione</u>

  L'omogeneizzazione viene utilizzata per disintegrare meccanicamente le fibre di cellulosa, utilizzando due tipi di apparecchiature differenti, gli omogeneizzatori e i microfluidificanti, impiegati in diversi settori: farmaceutico, alimentare, biotecnologico. Durante il processo di omogeneizzazione una sospensione di cellulosa viene fatta passare attraverso un piccolo spazio tra la valvola di omogeneizzazione e un anello di impatto, sottoponendo le fibre a forze di taglio e di impatto che assicurano la fibrillazione della cellulosa (Figura 16).[34]

Figura 18 - Processi meccanici di omogeneizzazione (Nechyporchuck et al., 2016)

Il principio di questa tecnica consiste nel far passare la sospensione di cellulosa attraverso una camera sottile con una geometria specifica, ad esempio a forma di Z o Y, con una larghezza dell'orifizio di 100–400 μm e ad elevate pressioni di lavoro.
Uno degli svantaggi che, per molto tempo, ha caratterizzato l'omogeneizzazione, è stato l'elevato consumo energetico che raggiungeva circa 70 MW h/t. Tuttavia, con lo sviluppo dei metodi di pretrattamento, questo valore è diminuito drasticamente fino a circa 2 MW h/t.

- <u>Macinazione</u>

La macinazione, in inglese *grinding*, è una tecnica utilizzata principalmente per la produzione di CNF.
Durante tale processo, la sospensione di cellulosa viene fatta passare tra dischi statici e rotanti; la distanza tra questi può essere regolata manualmente, per evitare problemi di intasamento (Figura 17).

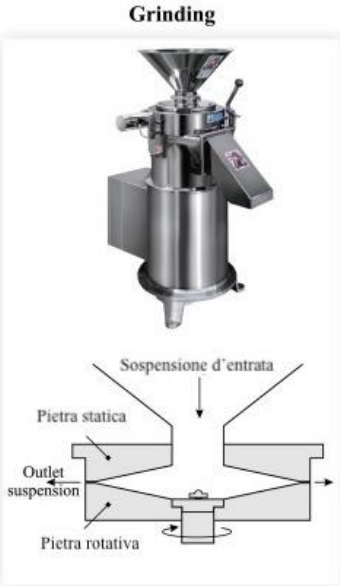

Figura 19 - Processo meccanico di macinazione (Nechyporchuck et al., 2016)

La parete cellulare viene così delaminata grazie all'azione delle forze di taglio che si generano tra i dischi.[34]

- Ball milling

Il trattamento *ball milling*, la macinazione a sfere, è una tecnica innovativa utilizzata per la produzione di CN. Una sospensione di cellulosa viene posizionata all'interno di un contenitore cilindrico cavo, parzialmente riempito con palline (ad es. ceramica, ossido di zirconio o metallo). Mentre il contenitore ruota, la cellulosa viene disintegrata dall'alta energia di collisione che si instaura tra le sfere.[34]

- Raffinazione

Il processo di raffinazione consiste nello *sweel and peel*, letteralmente "gonfiare e sbucciare" la parete cellulare delle fibre in un mezzo acquoso. La raffinazione aumenta la superficie e il volume specifico delle fibre e rende più accessibili le microfibrille ad ulteriori trattamenti biologici o chimici.
Tale metodo è frequentemente utilizzato per la produzione dei CNF, tuttavia può ridurre la lunghezza delle fibre solo attraverso il taglio. Per raffinare la polpa di cellulosa vengono utilizzati poi diversi dispositivi, quali i raffinatori a dischi, mulini

PFI ecc. Le smerigliatrici vengono anche utilizzate nelle fasi di pre-trattamento della polpa prima della disintegrazione meccanica.[34]

- Ultrasonicazione

L'ultrasonicazione consiste nell'esporre un liquido alle onde ultrasoniche (> 20 kHz); questo implica un'alternanza di onde a bassa ed alta pressione, portando alla formazione e alla rottura di piccole bolle di cavitazione.
Tale trattamento crea forti forze di taglio idrodinamiche che vengono utilizzate per delaminare la parete cellulare delle fibre. Numerosi sono i ricercatori che hanno utilizzato questo metodo per produrre CNF senza pretrattamenti biochimici o dopo ossidazione mediata da TEMPO. Dopo l'ultrasonicazione, le sospensioni di cellulosa vengono centrifugate e il CNF viene recuperato dal surnatante.[34]

- Cryocrushing

Un altro metodo meccanico per la produzione di NC è stato proposto da Dufresne nel 1997 e prende il nome di *cryocrushing*.[34]
Nella tecnica del cryocrushing le fibre cellulosiche vengono immerse in azoto liquido, quindi congelate, e successivamente frantumate, applicando elevate forze di taglio mediante l'utilizzo di una smerigliatrice. I materiali CNF possono essere facilmente estratti dalle fibre cellulosiche congelate, in quanto l'elevata pressione esercitata dai cristalli di ghiaccio provoca la rottura della parete cellulare[48] e il conseguente rilascio di frammenti. [34]

2.3.2.2. Trattamenti chimici

- Ossidazione mediata da TEMPO

L'ossidazione mediata da TEMPO è uno dei metodi più utilizzati per l'estrazione dei NC. Il processo coinvolge i gruppi funzionali presenti sulla struttura della cellulosa (Figura 18), carbossilato e aldeide, che vengono ossidati grazie all'azione di un agente ossidante, come l'ipoclorito di sodio (NaClO)[48] a pH 9 ,[49] in presenza del radicale

2,2,6,6-tetrametil-1-piperidina-N-ossido (TEMPO) e iodio (I) o bromuro di sodio (NaBr) usati come catalizzatori in condizioni adeguate.[48]

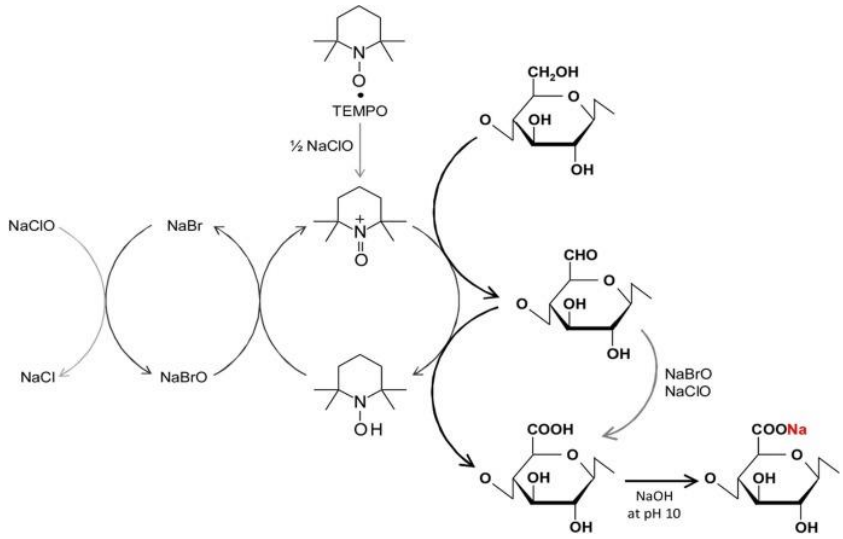

Figura 20 - Rappresentazione dell'ossidazione mediata da TEMPO dei gruppi -OH della cellulosa. (Zinge et al., 2020)

L'ossidazione viene eseguita in un ambiente controllato nell'intervallo di temperatura 50-60°C. Inoltre, tale processo viene implementato dalla precedente frammentazione meccanica della biomassa, la quale favorisce la separazione delle fibre.

TEMPO (radicale tetrametilpiperidina-ossile) è un radicale amminoxilico, solido, idrosolubile, facilmente accessibile e stabile, ampiamente utilizzato nella specifica ossidazione degli alcoli essenziali.[44]

Il sistema TEMPO ± NaBr ± NaClO inizialmente venne applicato ai polisaccaridi solubili in acqua, amido, amilodestrina e pullulano. Sono state studiate poi le proprietà della catena dei polielettroliti del pullulano ossidato con TEMPO in soluzioni acquose e da qui si è dedotto che la depolimerizzazione degli acidi poliuronici si verifica principalmente attraverso il meccanismo di eliminazione a temperatura ambiente in soluzioni alcaline. I ricercatori Chang e Robyt nel 1996 hanno applicato il sistema di ossidazione TEMPO ± NaBr ± NaClO a polisaccaridi insolubili in acqua come cellulosa e chitina. I prodotti ossidati preparati con campioni di cellulosa avevano una resa dell'ossidazione dell'84 ± 87% dei gruppi alcolici primari.[50]

Questo metodo prevede, oggi, la sospensione di 1 g di cellulosa in 50 ml di H_2O contenente

40 ± 7 mg di TEMPO e 0,96 ± 0,12 mg di NaBr. La sospensione viene fissata a 4 °C in un bagno di ghiaccio o a 27 °C e a pH 10 con una soluzione NaOH 0,4 M.
8 ml di NaClO all'11 % vengono aggiunti alla sospensione e il pH viene mantenuto costante a 10,8 aggiungendo 0,4 M di NaOH.
Quando la miscela perde il suo colore giallo si aggiungono 12 ± 4 ml di NaClO e, una volta ottenuta una soluzione del tutto trasparente, dovuta dalla dissoluzione della cellulosa ossidata nel mezzo, l'ossidazione viene bloccata mediane l'aggiunta di etanolo.
I precipitati che si sono formati vengono lavati più volte con etanolo e acetone mediante centrifugazione e successivamente vengono essiccati a 40 °C sotto vuoto.[50]

- Idrolisi acida

L'idrolisi acida prevede l'isolamento di NC mediante l'utilizzo di un acido, come acido cloridrico, fosforico, solforico e bromico. Il metodo più comunemente utilizzato per la fabbricazione di CNC tramite l'idrolisi acida prevede l'impego di acido cloridrico e acido solforico (Figura 19).

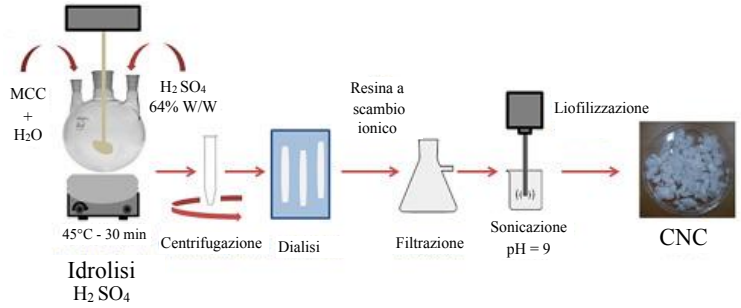

Figura 21 - Schema delle fasi principali della preparazione di NC mediante idrolisi acida. (Arrieta et al., 2016)

Il materiale di cellulosa estratto precedentemente viene posto in acqua deionizzata e successivamente viene aggiunto l'acido solforico. Dopo il tempo di reazione specifico, la miscela finale viene filtrata, centrifugata e lavata con acqua pulita fino a pH neutro. La concentrazione ottimale di acido cloridrico è del 64% (p/v) con un *ratio* di 1: 8,75 in condizioni di reazione specifiche (tempo di reazione di 1 h, temperatura

45 °C e ultrasuoni di 5 minuti). Tempo, temperatura e concentrazione della reazione di idrolisi acida sono i principali fattori che influenzano le proprietà strutturali e dimensionali delle fibre ottenute. La condizione di reazione è stata determinata a livello sperimentale su diversi tipi di materiali cellulosici e le condizioni ottimali sono: concentrazione di acido solforico al 65% (peso), temperatura di reazione di 20–70 °C e tempo di idrolisi variabile da 30 minuti a 12 ore (a seconda sulla temperatura di reazione. [48]

- Metodo del persolfato di ammonio (APS).

Una tra le tecniche più recenti utilizzata per estrarre materiali nanocellulosici è la nuova tecnica di ossidazione, denominata metodo del persolfato di ammonio (APS). Tale metodo avviene in una sola fase di estrazione ed è un processo sostenibile, meno dannoso rispetto all'idrolisi acida (Figura 20).

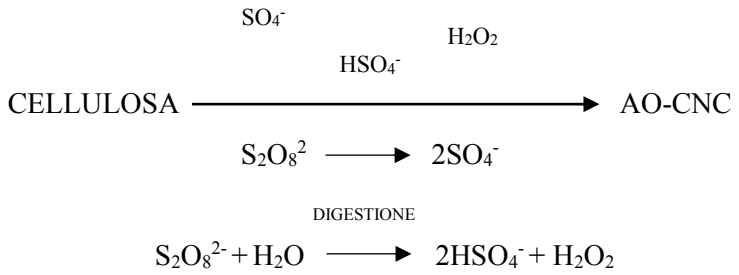

Figura 22 - Reazione del metodo del persolfato di ammonio (APS).

APS è solubile in acqua, non tossico e ha molteplici proprietà e basso costo. Tutte queste caratteristiche permettono la produzione dei CNC a partire dalle fibre di cellulosa, eliminando la regione amorfa e rendendo disponibile il gruppo carbossilico in posizione C6, portando alla formazione di radicali liberi, SO_4, H_2O_2 e HSO_4.
Per la dissoluzione dei materiali cellulosici vengono utilizzati diversi solventi, quali liquidi ionici, soluzioni metalliche, idrati di sale, urea, soluzione acquosa di NaOH, soluzione di NaOH/urea.
Il principale meccanismo di dissoluzione si basa sull'idrolisi del legame idrogeno presente tra le molecole di cellulosa per ottenere una soluzione polimerica di cellulosa.[48]

2.4. Proprietà della nanocellulosa

La struttura morfologica della nanocellulosa dipende fortemente dall'efficace rimozione della parte non cellulosica e dalla dissoluzione della regione amorfa della struttura del dominio. La morfologia, le proprietà fisiche e le dimensioni della nanocellulosa varia significativamente con le diverse risorse di fibre naturali e con i processi di estrazione. [20]
Le tre famiglie principali di nanocellulosa, CNC, CNF e BNC, differiscono tra loro per le dimensioni, le funzioni e per le loro applicazioni, ma hanno in comune proprietà uniche.

Proprietà meccaniche

La cellulosa conferisce specifiche proprietà meccaniche alle cellule vegetali superiori. Le proprietà meccaniche delle fibre sono influenzate da svariati fattori, in particolar modo dalla composizione chimica; altri fattori possono essere la maturità della pianta, i processi di separazione, i difetti microscopici e molecolari, il terreno, le condizioni meteorologiche.
Le proprietà meccaniche delle microfibrille di cellulosa sono più elevate rispetto a quelle delle fibre lignocellulosiche da cui vengono estratte, in quanto il materiale cellulosico risulta essere più omogeneo.[51]
La nanocellulosa ha un modulo di Young pari a circa 70 GPa, con una densità di circa 2,6 g/cm^3, molto più alta rispetto a quella dei materiali cellulosici di base e a quella delle fibre di vetro.
La struttura cristallina e il grado di cristallinità della nanocellulosa dipendono essenzialmente dalle risorse lignocellulosiche.
La nanocellulosa contiene sia cellulosa I che cellulosa II, le quali sono caratterizzate da picchi di diffrazione dei raggi X tipici a circa 2 (θ) ~ 23 ° e 2 (θ) ~ 34 ° rispettivamente.[20]
Inoltre, la nanocellulosa presenta un'elevata resistenza alla trazione e rigidità.
Queste straordinarie proprietà meccaniche rendono dunque le nanoparticelle di cellulosa candidati ideali per la lavorazione di compositi polimerici rinforzati.

Proprietà termiche

La nanocellulosa è caratterizzata da un'elevata temperatura di degradazione che si aggira intorno ai 350 °C e da prestazioni termiche migliori rispetto all'emicellulosa, alla pectina e alla lignina. La degradazione termina dei nanocristalli avviene intorno ai 200-300 °C.[52]

La proprietà di degradazione termica della nanocellulosa dipende principalmente dalla procedura di estrazione e dalla fonte di cellulosa. In generale, la nanocellulosa ottenuta da risorse cellulosiche naturali ha una stabilità termica migliore rispetto alla α-cellulosa presente nella biomassa lignocellulosica, ciò è dovuto alla maggiore cristallinità, alla struttura flessibile e alla totale assenza di lignina nelle nanocellulose.[20]

Proprietà barriera

I nanomateriali di cellulosa mostrano proprietà di barriera contro l'umidità e l'ossigeno (in particolar modo), grazie alle loro ridotte dimensioni e alla loro capacità di formare fitte reti di percolazione.[53] Infatti, il rapporto superficie-volume delle nanoparticelle è maggiore rispetto a quelle delle microparticelle.[51] Questa proprietà può essere anche migliorata ottimizzando la morfologia e la chimica superficiale dei nanomateriali o combinandoli con polimeri ad alta resistenza all'umidità.[53]

Biodegradabilità

Un importante vantaggio dei compositi nanocellulosici è la loro intrinseca biodegradabilità. La cellulosa ha temperature di compostaggio come quelle ambientali, intorno ai 20-30 °C, ciò è dovuto alla sua idrofilia.[52]

3. LA NANOCELLULOSA E LE SUE APPLICAZIONI NEL FOOD PACKAGING.

3.1 Applicazioni della nanocellulosa nel packaging

Lo scopo di questo lavoro è duplice:

1. comprendere a che punto la ricerca scientifica è arrivata per quel che riguarda l'applicazione dei nanomateriali nel settore dell'imballaggio alimentare
2. individuare le potenziali future applicazioni della nanocellulosa come food packaging, nonostante la sua attualmente limitata produzione.

Come già detto precedentemente, i materiali di imballaggio maggiormente utilizzati oggi sono il vetro, l'alluminio, lo stagno e la plastica sintetica di derivazione fossile che possiedono un'elevata resistenza e delle proprietà barriera che li rendono idonei per tale utilizzo. Questi imballaggi, tuttavia, non sono ecosostenibili e alcuni, come ad esempio il vetro, sono caratterizzati da un'enorme intrinseca fragilità.

Con le crescenti preoccupazioni ambientali e le sfide relative allo smaltimento a fine vita, i materiali derivati da risorse rinnovabili sono fortemente raccomandati come potenziali sostituti.

Gli imballaggi a base di carta di cellulosa sono leggeri, economici e sostenibili ma, sfortunatamente, la carta comune derivante dalla lignocellulosa non fornisce una barriera sufficiente per acqua, ossigeno e olio. Attualmente, le confezioni di carta/cartone sono realizzate con rivestimenti di cera, plastica o alluminio. Il cellophane è l'unico materiale a base di cellulosa ad essere utilizzato per imballaggi, in quanto è resistente all'aria e all'acqua; la sua produzione avviene mediante il passaggio della viscosa attraverso una sottile fessura, posta in un bagno acido. Questo processo di produzione avviene mediante l'utilizzo di reagenti, quali CS_2 e H_2S, e porta, però, alla formazione di sottoprodotti dannosi per l'ambiente.

La produzione dei nanomateriali di cellulosa, come CNF e CNC, ha aperto vaste possibilità nell'utilizzo di nuovi materiali per un innovativo imballaggio.[54]
Nell'ultimo decennio c'è stato un rapido progresso nella ricerca, in particolar modo ci si è dedicati allo sviluppo di film attivi destinati ad applicazioni di confezionamento alimentare. [55]
The Sustainable Packaging Coalition[56] definisce il packaging sostenibile come packaging che è:

- vantaggioso, sicuro e salutare per gli individui e le comunità durante tutto il suo ciclo di vita;
- in grado di soddisfare i criteri di mercato sia in termini di prestazioni che di costo;
- in grado di favorire l'approvvigionamento, la produzione, il trasporto e il riciclaggio utilizzando energia rinnovabile;
- in grado di ottimizzare l'uso di materiali di origine rinnovabile o riciclata;
- prodotto utilizzando tecnologie pulite e pratiche migliori;
- prodotto con materiali sicuri in tutti i probabili scenari di fine vita;
- progettato fisicamente per ottimizzare materiali ed energia;
- recuperato ed utilizzato efficacemente in ambito biologico e / o industriale. [19]

Questo ha portato progressi nello sviluppo di imballaggi biodegradabili, in modo particolare a partire da biomateriali rinnovabili a base di cellulosa; l'uso di questo materiale rinnovabile e biodegradabile contribuisce alla sostenibilità ambientale, riducendo lo smaltimento dei rifiuti e le emissioni dei gas serra.
Gli imballaggi a base di cellulosa hanno notevoli vantaggi, quali commestibilità, biodegradabilità, proprietà barriera, non tossicità e basso costo. Questi progressi si concentrano sull'ottenimento di una migliore qualità e sicurezza degli alimenti attraverso il confezionamento. L'uso di tali materiali rinnovabili e biodegradabili contribuirà:

- alla sostenibilità ambientale, riducendo così la quantità e di conseguenza la necessità di smaltimento dei rifiuti e gli equilibri dei gas serra.[19]
- all'ottenimento di metodi alternativi per controllare sia la contaminazione microbica che l'ossidazione dannosa negli alimenti, al fine di limitare, inibire

o ritardare la crescita di microrganismi e il tasso di decadimento della qualità.[55]

In particolare, alcune soluzioni proposte migliorano la sostenibilità dei laminati carta-polimero, mediante la sostituzione dello strato di poliolefine con un film di NC.

Le fibrille di nanocellulosa mostrano una forte interazione su nanoscala che si traduce in un materiale con un'elevata resistenza meccanica e con un'elevata resistenza alla diffusione. La NC e i suoi compositi hanno dimostrato, infatti, di possedere eccezionali proprietà barriera contro l'ossigeno, l'aria e il vapore acqueo.[57]

Sebbene siano in corso ricerche approfondite, l'approccio nanotecnologico per le applicazioni di imballaggio è, per ora, ancora in fase di sviluppo. [19]

Tuttavia, il crescente interesse scientifico ha consentito la realizzazione dei primi impianti industriali per la produzione di quantità commerciali di nanocellulosa.[58]

3.1.1. Sguardo al futuro.

Quanto emerge dalla vasta letteratura disponibile sui potenziali utilizzi delle nanotecnologie è molto incoraggiante ed è quindi opportuno analizzare le diverse applicazioni sperimentali.

In realtà, non è ancora possibile produrre imballaggi con la sola nanocellulosa, per cui è necessario affiancarla ad altre sostanze in grado di poterne aumentare le prestazioni.

Il ruolo della NC nel mondo del packaging può essere, dunque, considerato di "supporto", con diverse forme di utilizzo che offrono prestazioni differenti.

Inoltre, l'utilizzo della NC come imballaggio attivo e intelligente è stato suggerito per diversi alimenti.

In questo paragrafo analizzeremo alcuni esempi.

- **FILM DI NANOCELLULOSA**

Diversi sono i lavori che hanno alla base dei loro studi i film di NC, tuttavia non tutti i film sono costituiti interamente da nanocellulosa.

Un gruppo di ricercatori iraniani ha sviluppato nuovi film a base di cellulosa batterica modificata dal nanocomposito polipirrolo (PPy) - ossido di zinco (ZnO).

Il film BC-PPy-ZnO è stato fabbricato mediante metodo di sintesi chimica ed è stato sviluppato per l'utilizzo nell'imballaggio attivo e intelligente di carne di pollo fresca tritata.

Per la realizzazione del film, la membrana gel BC è stata lavata con acqua distillata per rimuovere le impurità e successivamente è stata immersa in una lastra di polistirene contenente 200 ml di soluzione con 0,025 mol/L di ZnO e 0,075 mol/L di PPy. Sono stati poi aggiunti 100 ml di $FeCl_3$ alla soluzione.
Dopo aver completato la sintesi e la formazione dei film BC-PPy-ZnO, il film è stato essiccato a temperatura ambiente e in condizioni atm per circa 18 ore.
Il film BC-PPy-ZnO ha mostrato poca permeabilità al vapore acqueo e solubilità in acqua, quindi, visti i risultati, è stato scelto come film ottimale e riprodotto per il confezionamento.
Il test è stato eseguito su 300 gr di carne di coscia di pollo senza pelle e ossa, utilizzando come contenitori di imballaggio film in polietilene a bassa densità (LDPE) e film in poliestere; il film BC-PPy-ZnO è stato inserito nel pavimento della confezione, come si può osservare in Figura 23.
300 gr di carne sono stati posizionati sul film (5x10 cm), un altro film è stato posizionato al di sopra della carne (5x5 cm) e infine il contenitore è stato chiuso.

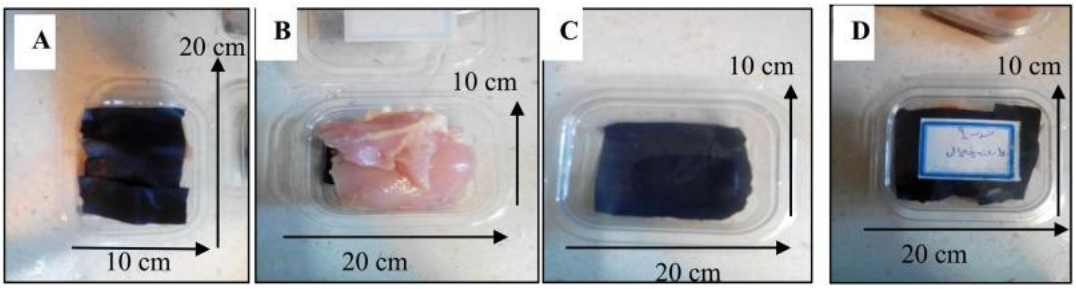

Figura 23 - Fasi di imballaggio di carne (Pirsa et al., 2019)

Le confezioni sono state conservate alle temperature di -18, 4°C e 10 °C per 2, 10 e 20 giorni.
Sono stati, così, studiati gli effetti del film BC-PPy-ZnO sulle proprietà fisico-chimiche e sensoriali della carne di pollo.

È stato determinato il pH del campione ed effettuata la conta delle piastre di colture mesofile e psicrofile.
I risultati ottenuti hanno mostrato che questo film può controllare il valore del pH e la crescita microbica della carne di pollo.
Il film, inoltre, si è dimostrato anche capace di preservare le proprietà sensoriali della carne in uno stato favorevole durante il tempo di conservazione a diverse temperature e di contrastare l'azione degli agenti ossidanti, comportandosi come film attivo antiossidante. Per tale scopo, 20 mg di pellicola sono stati immersi in 0,5 ml di soluzione metanoliche 1 mM di DPPH in condizione di buio per 1 ora. L'assorbanza della soluzione è stata così misurata a 517 nm. Come soluzione in bianco è stato utilizzato metanolo e per l'analisi degli antiossidanti è stato usato uno spettrofotometro UV. Tutte queste caratteristiche potrebbero, quindi, aumentare anche la durata della shelf life del pollo.
Inoltre, in tutti i test la carica microbica totale dei campioni confezionati con il film BC-PPy-ZnO ha mostrato una diminuzione rispetto al campione di controllo.
Un gruppo di panel esperti ha dimostrato anche che l'odore e la qualità sensoriale hanno evidenziato un declino nel tempo nel campione di controllo, mentre nei campioni confezionati con BC-PPy-ZnO questa diminuzione si è verificata molto più lentamente.
Infine, è stata testata la resistenza elettrica (NRR) del film e si è reso evidente che all'aumentare della temperatura di stoccaggio aumentano anche le variazioni della NRR del film di confezionamento.
I cambiamenti nella resistenza elettrica con il cambiamento della temperatura di conservazione sono più percettibili rispetto al cambiamento del tempo di conservazione.
Esistono, infatti, delle relazioni significative tra il cambiamento della NRR e il tasso di crescita microbica, le proprietà sensoriali e il pH.
Scansionando e controllando i cambiamenti nella resistenza elettrica del film di confezionamento, è possibile stimare il tempo e la temperatura della tenuta della carne di coscia di pollo: ciò aiuta a determinare, con discreta precisione, la corretta data di scadenza dell'alimento con questa confezione intelligente. Si può quindi dire che il

film BC-PPy-ZnO, come film intelligente, è in grado di rilevare il tempo di conservazione e la temperatura di conservazione.
Questo studio, definito rivoluzionario da Pirsa et al nel 2018, ha aperto un nuovo scenario sulle potenzialità dei film biodegradabili come materiali attivi ed intelligenti.[59]
Un altro esempio di film a base di NC è quello ideato da un gruppo di ricercatori del Dipartimento di Scienze e Tecnologie Alimentari dell'Oregon State University.
Hanno progettato un film di NCF incorporato con il chitosano (CH).
Il CNF è stato estratto dalla pasta kraft di legno nordico mediante l'utilizzo di un collisore, liberando così le nanofibre presenti nelle fibre lignocellulosiche; il CH, quindi, è stato depolimerizzato e incorporato in due diverse concentrazioni nel film di CNF, 10 e 20 g/ 100 g di CNF su base secca.
Le formulazioni di film sono state preparate mediante omogeneizzazione per 5 minuti e degassate tramite un sistema di vuoto.
Sono stati posti mediante colata in una piastra Petri 60 mL della formulazione ed essiccati a condizioni ambientali per 2 giorni.
I film essiccati sono stati condizionati in una camera autoassemblata a 25 ° C e 50% di umidità relativa per 2 giorni, prima di effettuare tutte le misurazioni.
Sono state valutate le proprietà meccaniche, la capacità di assorbimento dell'acqua, la solubilità in acqua e l'angolo di contatto, la permeabilità al vapore acqueo, le proprietà termiche e l'attività antibatterica, grazie al confezionamento di hamburger di manzo.
La Figura 24 mostra l'aspetto delle pellicole di CNF incorporate con CH come fogli di separazione, posti tra gli hamburger conservati in frigorifero alla temperatura di 5/7 °C per 1 settimana.

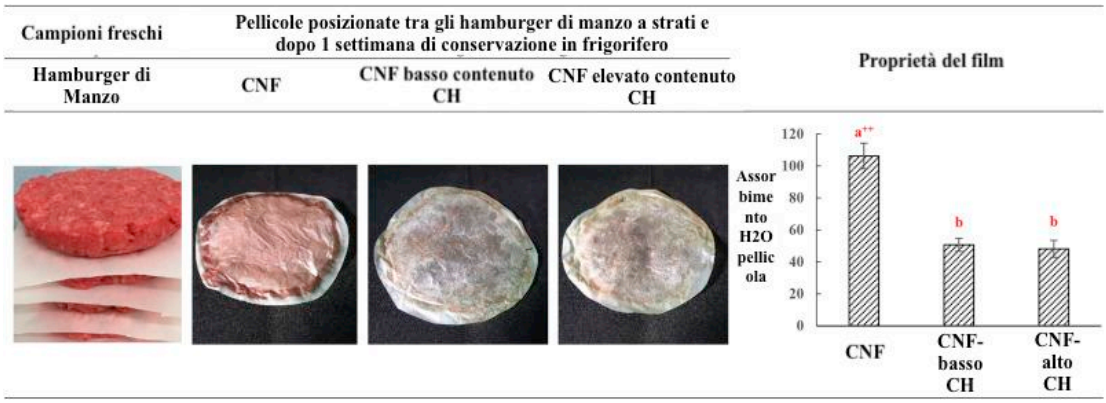

Figura 24 - Applicazioni di diversi film (CNF, CNF-basso contenuto di CH e CNF- elevato contenuto di CH) come fogli di separazione posizionati tra hamburger di manzo a 5-7 °C per 1 settimana e le loro proprietà. (Deng et al., 2017)

La pellicola costituita solo da CNF ha mostrato un cambiamento di colore significativo, dal rosa al rosso, rispetto alle pellicole di CNF incorporate con CH, in quanto ha assorbito più acqua. I film di CNF incorporati con CH hanno, invece, un assorbimento di liquido significativamente inferiore rispetto a quello del film CNF, evidenziando la maggiore resistenza all'acqua dei film di CNF incorporati con CH. Tali risultati hanno dimostrato che le pellicole CNF incorporate nel CH sono durevoli in condizioni di umidità elevata. Questo studio ha, quindi, provato che i film di CNF incorporati in CH possono essere utilizzati come fogli di separazione tra superfici umide per ridurre al minimo il trasferimento di umidità tra prodotti alimentari stratificati.[60]

- **IDROGEL**

Un gruppo di ricercatori cinesi del College of Light Industry and Food Engineering ha sviluppato un idrogel a base di NC ottenuto da bagassa di canna da zucchero.
Lo scopo dello studio era quello di progettare un imballaggio intelligente, un indicatore di freschezza allo stato di idrogel a base di NC di bagassa per monitorare la freschezza del petto di pollo.
La pasta di bagassa sbiancata è stata utilizzata come materia prima per produrre filamenti di cellulosa (BCF) mediante macinazione e successiva ossidazione mediata

da TEMPO. La reazione è stata eseguita a 25 °C con la miscela mantenuta a un pH 10 ed è stata bloccata con10 mL di etanolo una volta che il pH della miscela ha smesso di diminuire, infine il prodotto è stato lavato accuratamente con acqua distillata.

Gli idrogel di NC sono stati preparati aggiungendo goccia a goccia una soluzione acquosa di $ZnCl_2$ al 20% p/p lungo le pareti di uno stampo in teflon a forma di cilindro, sulle quali si trovava la dispersione di BCF ossidata. Le dispersioni acquose di BCF utilizzate avevano una concentrazione di massa dell'1%, 2% e 3%, con una concentrazione finale di ioni di zinco pari a 0,1 mol/L in ciascuna miscela. La miscela è stata lasciata riposare per 24h in modo tale da consentire la formazione dell'idrogel di nanocellulosa. (Figura 25).

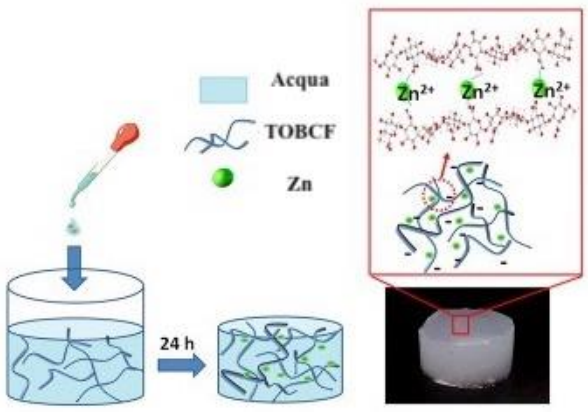

Figura 25 - Produzione di NC sotto forma di idrogel. (Lu et al., 2020)

È stata poi preparata una soluzione acquosa mescolando prima blu di bromotimolo e rosso di metile, in un rapporto di massa 3:2 in etanolo acquoso (70% v/v) a una concentrazione dello 0,25% e poi diluendola allo 0,01% p/v con acqua distillata, in modo da ottenere la soluzione acquosa dell'indicatore. Nell'indicatore idrogel BB e MR funzionano come indicatori di pH a colorante misto, con un tipico cambiamento di colore dal verde in soluzione basica, al rosso in soluzione acida.

La capacità di risposta della CO_2 della soluzione dell'indicatore è stata valutata misurando i cambiamenti nel colore visivo e nello spettro ottico dopo il contatto con la CO_2.

L'idrogel indicatore è stato preparato immergendo l'idrogel di NC nella soluzione colorante precedentemente prodotta per 24h a pH 7; successivamente, l'idrogel colorato è stato rimosso.

Per gli idrogel indicatori la concentrazione di massa finale di BCF ossidato è stata fissata al 3%.

La capacità di risposta della CO_2 dell'idrogel indicatore è stata misurata con le stesse tecniche utilizzate per i test della soluzione dell'indicatore. Il colore dell'idrogel indicatore dovuto al contatto con la CO_2 è stato determinato utilizzando un colorimetro spettrale in modalità di riflessione.

L'idrogel è stato usato come vettore per l'indicatore di pH e come adsorbente idrofilo per la CO_2, per il controllo del deterioramento del petto di pollo. Il petto di pollo è altamente deperibile e la sua freschezza si riduce rapidamente con il tempo. Questo rapido deterioramento è dovuto all'azione dei microrganismi e alla produzione di CO_2 o di azoto basico volatile, come NH_3, $(CH_3)_2NH$ e C_3H_9N.

La freschezza della carne di pollo può essere monitorata indirettamente rilevando i cambiamenti di CO_2 all'interno della confezione.

L'indicatore di idrogel preparato ha dimostrato di essere sensibile alla CO_2, con conseguenti cambiamenti di colore, quindi i ricercatori hanno pensato di applicare l'idrogel come indicatore di freschezza.

In Figura 26 possiamo osservare l'idrogel precedentemente preparato posto all'interno di una camera individuale senza contatto fisico con la carne, in quanto i coloranti sensibili al pH utilizzati in questo lavoro non erano idonei al contatto con gli alimenti.

Figura 26 - Variazione di colore con idrogel di NC (Lu et al., 2020)

In questo studio, l'indicatore idrogel preparato ha, quindi, evidenziato un cambiamento di colore nel pollo confezionato e conservato a 4°C per tre giorni, suggerendo così la sua potenziale applicazione nel packaging intelligente.

Successivamente è stata determinata la quantità di CO2 emessa nello spazio di testa dal deterioramento del pollo.

Sono stati posti 3,0 g di petto di pollo fresco all'interno di una fiala di vetro da 22 ml; la fiala di vetro è stata chiusa e conservata in frigorifero per sette giorni a 4 °C.

Nella Figura 27 possiamo osservare come il colore degli indicatori è cambiato notevolmente con il numero di giorni di conservazione, suggerendo una crescente emissione di CO_2.

Il giorno 0, il colore dell'indicatore di idrogel era verde, ma dopo 24 ore c'è stato un cambiamento del colore in giallo-arancio e dopo 4 giorni a 4°C il colore è diventato rosso vivo, indicando la generazione di un alto livello di CO_2.

Figura 27 - Indicatore di freschezza idrogel, in 4 giorni a 4°C (Lu et al., 2020)

I livelli di deterioramento della carne di pollo sono stati correlati con la formazione di CO_2.

Studiando la conta microbica totale durante la conservazione, si è osservato un aumento significativo con il passare dei giorni; sia la conta microbica che la CO_2 hanno raggiunto livelli massimi il quarto giorno, invece l'O_2 era completamente esaurito. Infatti, il colore dell'idrogel era già cambiato da verde a giallo dopo sole 24 h, mentre dal secondo giorno si è osservato un colore tendente al rosso, momento in cui si è registrato un notevole aumento sia della popolazione microbica che della CO_2. Il terzo giorno, il valore di log CFU/g era maggiore di 6, limite di accettabilità per il consumo umano. Nel contempo l'indicatore idrogel ha mostrato un evidente colore rosso il terzo giorno, corrispondente a un livello di CO_2 pari al 13,8% v/v.

Nel complesso, l'indicatore idrogel ha mostrato un netto cambiamento di colore in base alla freschezza del pollo confezionato, indicando la sua fattibilità come indicatore di deterioramento degli alimenti in tempo reali e quindi la sua potenziale applicazione negli imballaggi alimentari intelligenti. [61]

- **CARTONE RIVESTITO CON TOCN (nanofibre di cellulosa ossidata tramite TEMPO) E POLIPIRROLO (PPy)**

Il cartone rivestito con TOCN combina la biodegradabilità, le proprietà meccaniche e la bassa permeabilità ai gas della NC con le proprietà fisico-chimiche del PPy e per tali motivi questo composito multistrato sembra essere un ottimo candidato per l'imballaggio alimentare attivo.

Per la produzione dell'imballaggio attivo è stato utilizzato un cartone non sbiancato con uno spessore di 50 µm e una grammatura di 45 g / m^2.

Il gel di nanocellulosa (TOCN) è stato prodotto a partire dalla pasta di legno Kraft sbiancata attraverso l'ossidazione mediata da TEMPO. Il gel ottenuto è composto dal 30 % di fibre lunghe e dal 70 % di fibre corte, con una larghezza e una lunghezza di circa 3,5 nm e 306 nm, rispettivamente.

Il processo di rivestimento è stato effettuato mediante l'aggiunta di una soluzione di 2 ml di pirrolo (98%) a 80 ml di sospensione di TOCN; la miscela è stata poi sottoposta ad agitazione per 10 minuti e sono stati aggiunti 10 ml di una soluzione ossidante di $FeCl_3$ a 0,3 M per innescare la polimerizzazione del pirrolo in polipirrolo (PPy).

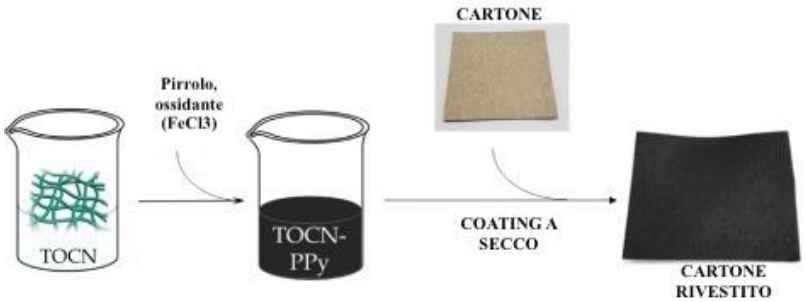

Figura 28 - Processo di coating a secco (Bideau et al., 2018)

Successivamente la miscela TOCN-PPy è stata sciacquata con acqua demineralizzata e poi colata sul cartone (CPb), il quale è stato essiccato all'aria prima di essere calandrato per ottenere un cartone piatto. (Figura 28).

Sono poi state caratterizzate le proprietà dei cartoni, quali la permeabilità dell'aria mediante uno strumento Parker Print Surf; è stata misurata la resistenza alla trazione dei cartoni ad una velocità di estensione di 10 mm/min. Il modulo di Young è stato determinato dalle curve sforzo-deformazione.

Inoltre, è stata eseguita una simulazione con pomodorini per determinare se il CPb presentasse qualche vantaggio come imballaggio alimentare.

I pomodorini sono stati posti per 10 giorni in scatole Pb e CPb; altri pomodorini, invece, sono stati posti all'interno di una confezione, definita di controllo, all'aria aperta. Come è possibile osservare in Figura 29 dopo 10 giorni, i pomodori del controllo sono tutti in uno stato di maturazione avanzato e si presentano molto rugosi; la maggior parte dei pomodori presenti all'interno della scatola Pb sono nelle stesse

condizioni, mentre tutti i pomodorini contenuti nella scatola CPb hanno mantenuto una consistenza compatta e un aspetto attraente per il consumatore.

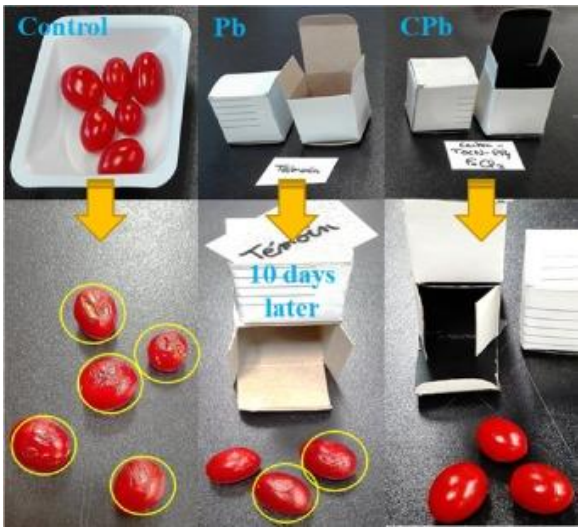

Figura 29 - Simulazione del confezionamento alimentare con scatole di cartone (Pb) e cartone patinato (CPb) dopo 10 giorni. (Bideau et al., 2018)

Ciò può essere spiegato dal fatto che il PPy ha proprietà antiossidanti che ritardano la maturazione e che grazie alla presenza di TOCN si verifica uno scambio minore con l'ambiente esterno; inoltre bisogna considerare che la struttura del rivestimento TOCN / PPy è relativamente stretta e compatta al centro, migliorando così, l'effetto barriera; mentre il cartone presenta una struttura più aperta e disordinata rispetto al rivestimento superiore. Infatti, sulla base dello spessore dei materiali è stata eseguita l'analisi quantitativa sul Pb e CPb degli elementi C, O, N e altri, quali Al, Si e Ca, mediante analisi EDX, riportati nella Tabella 2.

Tabella 2 - Effetto barriera di Pb e CPb (Bideau et al., 2018)

	Cartone	Cartone patinato (rivestimento dello strato superiore)	Cartone patinato (strato centrale)
C (a%)	51.0	67.0	59.2
O (a%)	48.8	26.0	40.4
N (in%)	0.0	7.0	0.0
Si, Al, Ca (At%)	0.2	0.0	0.4

L'ossigeno è uno dei principali fattori di degradazione alimentare, per cui una riduzione degli scambi con l'esterno consente di ridurre il fenomeno di degradazione. Sebbene questo test sia per lo più qualitativo, questi risultati mostrano il notevole effetto della conservazione del cibo con il cartone patinato TOCN-PPy.
Sono stati condotti test per valutare le proprietà meccaniche di ogni cartone e sono riportati nella Tabella 3.

Tabella 3 Proprietà meccaniche, permeabilità e angolo di contatto di Pb e CPb (Bideau et al., 2018)

	Cartone	Cartone patinato
Tensione di trazione (MPa)	15,16 ± 0,01	36,80 ± 3,38
Modulo di Young (GPa)	0,93 ± 0,01	2,92 ± 0,54
Allungamento alla rottura (%)	7,66 ± 0,03	2,36 ± 0,34
Permeabilità all'aria (ml / min)	12,5 ± 1,0	> 1.0
Angolo di contatto (°)	74,3 ± 1,3	79,8 ± 1,2

Vi è un notevole vantaggio nell'utilizzo del rivestimento TOCN-PPy sulle proprietà meccaniche del cartone.
Infatti, i TOCN sono noti per conferire elevate proprietà meccaniche e vengono utilizzati, in questo caso, come agente di rinforzo nei materiali compositi.
La forza del TOCN può essere attribuita alle interazioni più forti dovute alla presenza di gruppi carbossilici e al legame idrogeno inter- e intra-molecolare che si verifica nella struttura delle nanofibre di cellulosa.
La tensione di trazione e il modulo di Young sono aumentati rispettivamente di 2,5 e 3 volte nel CPb e il miglioramento della resistenza del CPb può essere associato proprio alla presenza delle catene TOCN. Tuttavia, i risultati hanno mostrato una diminuzione dell'allungamento alla rottura, il che è confermato anche dall'aumento del modulo di Young, che indica una maggiore rigidità.
Il rivestimento denso, quindi, agisce come un interessante agente rinforzante.

Oltre ad aumentare le proprietà meccaniche, la presenza del rivestimento TOCN-PPy aumenta anche leggermente il carattere idrofobo.
Sono state condotte delle analisi che hanno dimostrato che questo tipo di imballaggio attivo è sicuro anche per quanto riguarda i problemi di migrazione delle particelle.
Infatti, è stato dimostrato che dopo l'immersione per 48 h, sono stati rilasciati solo 0,2 $\times 10^{-3}$ ($\pm$ 5,2 $\times 10^{-6}$) mol / L di PPy, rendendolo così un potenziale candidato per il contatto diretto con il cibo.
Con lo sviluppo di questo rivestimento sono quindi state migliorate le proprietà meccaniche ed è stata ridotta notevolmente la permeabilità ai gas. Il miglioramento è stato attribuito alla fitta rete formata da TOCN e PPy.
Inoltre, questa ricerca ha dimostrato che è possibile produrre un imballaggio alimentare a base di cartone più efficiente del normale imballaggio in cartone, consentendo un miglioramento della durata di conservazione degli alimenti deperibili.[62]

3.1.2. Traguardi raggiunti nel campo della nanocellulosa

Nell'ultimo decennio la costante e proficua ricerca scientifica ha dimostrato le infinite potenzialità della nanocellulosa e l'enorme disponibilità a livello globale delle materie prime da cui ottenerla, inducendo governi ed industrie ad incrementare le attività di sviluppo e produzione su larga scala di questo materiale.
Una delle più grandi aziende al mondo di impianti di produzione di MFC è la Stora Enso, in Finlandia, pioniere nello sviluppo di MFC progettata per produrre imballaggi. Questi ricercatori, infatti, hanno messo a punto un cartone potenziato con MFC, utilizzato per l'industria lattiero-casearia, convertendo una piccola porzione di pasta di legno in MFC e mescolandola alla massa. L'ampia superficie di MFC ha consentito di ottenere prodotti di packaging ultraleggeri con un'elevata resistenza ed un ridotto peso ma che preservano la medesima forza, opacità e lucentezza degli imballaggi tradizionali.
Hanno, così, progettato un cartone per l'imballaggio di liquidi, New Natura, arricchito con cellulosa micro-fibrillata, che non richiede processi chimici di sbiancamento, ottenendo un prodotto caratterizzato da una maggiore resistenza data proprio dalle fibre non sbiancate, un ridotto consumo di carbonio ed un peso

nettamente inferiore che può essere utilizzato per qualsiasi applicazione di confezionamento..[63] (Figura 30).

Figura 30 - Cartone per latte ELOPACK (https://wearepackagingfans.com/site/pure-pak-di-elopack-e-stora-enso-il-cartone-naturale/)

Il nuovo cartone è, quindi, un imballaggio ecosostenibile e autentico che garantisce un'ottima shelf-life degli alimenti e soddisfa al tempo stesso le crescenti esigenze del mercato e dei consumatori sempre più attenti ai prodotti eco-friendly.

Un altro innovativo materiale recentemente sviluppato è il CelluFroce NCC, prodotto come polvere atomizzata o come sospensione liquida, che può essere sfruttato in diversi campi di applicazione.

L'aggiunta di NCC ai film in PLA porta a un miglioramento delle proprietà di barriera ai gas, come evidenziato dal grafico di Figura 31,[64] grazie alle dimensioni delle particelle e all'aspect ratio che riducono la permeabilità dei film e dei materiali.

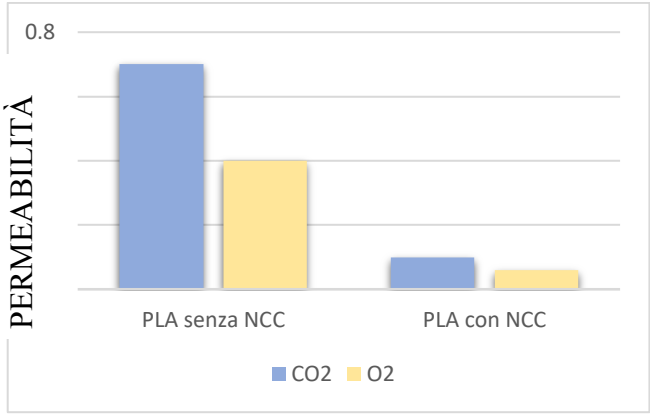

Figura 31 - Proprietà barriera ai gas di PLA senza NCC e PLA con NCC. (https://www.celluforce.com)

Vi sono attualmente numerosi progetti finanziati dall'Unione Europea che mirano ad incentivare e sviluppare processi innovativi e prodotti che rispettino l'ambiente e siano al tempo stesso sicuri per la salute dei consumatori.

Nel progetto FUNKIFIBRE gli scienziati stanno incorporando la cellulosa microfibrillata (CNF) estratta dai rifiuti di cereali, come l'avena, negli imballaggi a basso peso, biodegradabili e rinnovabili che vantano proprietà meccaniche e di barriera superiori, oltre ad avere un ridotto impatto ambientale.

I partner del progetto hanno selezionato due principali flussi di rifiuti d'avena e hanno sviluppato specifici metodi per estrarre e modificare le fibre microfibrillate chiave. Hanno ottimizzato i metodi chimici che rendono le fibre compatibili con i compositi di plastica già esistenti ed ulteriori sforzi si concentreranno, in futuro, per rendere la produzione maggiormente sostenibile da un punto di vista economico. Il progetto è impostato per poter migrare dagli studi pilota a quelli su scala industriale.

I ricercatori di CelluWiz, invece, stanno sviluppando due processi in grado di produrre un materiale da imballaggio interamente in cellulosa, biodegradabile e riciclabile, che possa offrire un'alternativa valida e competitiva ai materiali plastici multistrato esistenti o ai multimateriali utilizzati nel settore degli imballaggi. Fino a questo momento sono stati studiati due principali processi:

1. Il processo di laminazione a umido di MFC

Questo processo (Figura 32) assembla uno strato di cellulosa micro-fibrillata al cartone senza l'uso di colla. Lo strato MFC è abbastanza sottile per essere economicamente rilevante e abbastanza spesso da soddisfare il target di barriera. Inoltre, il processo di laminazione a umido riduce la quantità di energia necessaria per disidratare e asciugare lo strato MFC, con abbattimento dei costi di produzione. Questo processo, progettato nel 2015, è ora sviluppato su scala di laboratorio su apparecchiature manuali.

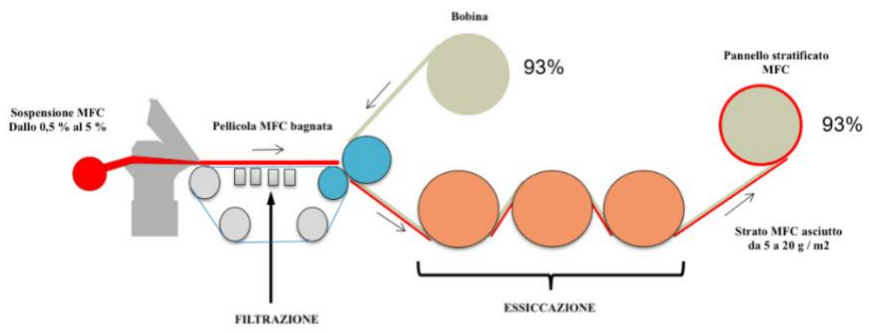

Figura 32 - Processo di laminazione a umido per la produzione di MFC. (http://www.celluwiz.eu)

2. Il processo di rivestimento e innesto per cromatogenesi

Questo processo (Figura 33) è un innesto chimico ultraveloce ed efficiente senza l'utilizzo di solventi, in grado di rendere idrofobici i materiali cellulosici. Dopo essere stato brevettato, è stato sviluppato su scala industriale per innestare carte porose a basse densità.

Il progetto CelluWiz renderà possibile ripensare il processo di rivestimento e innesto della cromatogenesi per raggiungere densità di innesto ultraelevate su strati densi di MFC al fine di creare uno strato micron di puro estere di cellulosa che abbia un'elevata resistenza ai liquidi e barriera al vapore acqueo senza compromettere la riciclabilità e biodegradabilità. Il processo è per ora ancora gestito su piccola scala pilota, ma attualmente queste due tecnologie sono

combinate per produrre tre differenti tipologie di formato (vaschette a conchiglia, tazze e vassoi) già immessi nel mercato. [65]

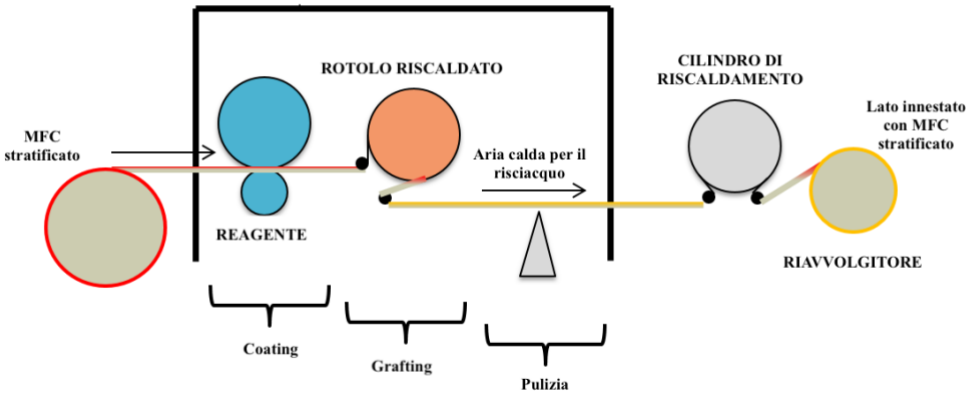

Figura 33 - Processo di rivestimento e cromatogenesi. (http://www.celluwiz.eu)

3.2. Processi per la produzione di materiali a base di nanocellulosa.

Gli imballaggi a base di cellulosa hanno notevoli vantaggi, quali la commestibilità, la biodegradabilità, la proprietà barriera, la non tossicità e il basso costo. [38]

Tuttavia, l'aspetto che limita maggiormente la diffusione di questi imballaggi è la tecnologia di produzione, la quale richiede un'ampia conoscenza delle proprietà dei materiali di partenza, dei prodotti finiti e del processo di trasformazione. Infatti, se le proprietà del polimero di partenza non sono identiche a quelle che si vorrebbero per il prodotto finito o se il polimero non è termoplastico, occorre sottoporre la materia prima a una serie di trasformazioni per consentire la processabilità su impianti simili a quelli utilizzati per la produzione di materiali sintetici. [4]

Negli ultimi anni sono state messe a punto diverse tecnologie per la preparazione di imballaggi a base di nanocellulosa.

3.2.1 Electrospinning (ES)

Tra queste, una delle più promettenti è l'electrospinning (ES), una variazione della filatura in fibra[66], che viene utilizzata per la preparazione di fibre polimeriche[67] con un diametro che va da 2 nm a diversi μm,[68]grazie ad un campo elettrico ad alto potenziale. La filatura viene tipicamente eseguita spingendo una massa fusa polimerica o una soluzione attraverso un piccolo orifizio, quindi coagulando il polimero in una soluzione o atmosfera di essiccazione.[66]

L'ES invece, è una particolare forma di estrusione, la quale prevede l'uso di un dispositivo a più pori, chiamato *"spinneret",* attraverso il quale viene spinto un materiale fluido plastico, per formare più filamenti di fibre continue. [67]

Il flusso viscoso permette l'allineamento delle singole catene polimeriche.[68] Il polimero poi deve essere filtrato e per questo deve trovarsi allo stato fluido, fuso se termoplastico o sciolto in un solvente adeguato.

Un impianto tipico di ES è costituito principalmente da un alimentatore ad alta tensione, uno spinneret e un collettore. (Figura 34).

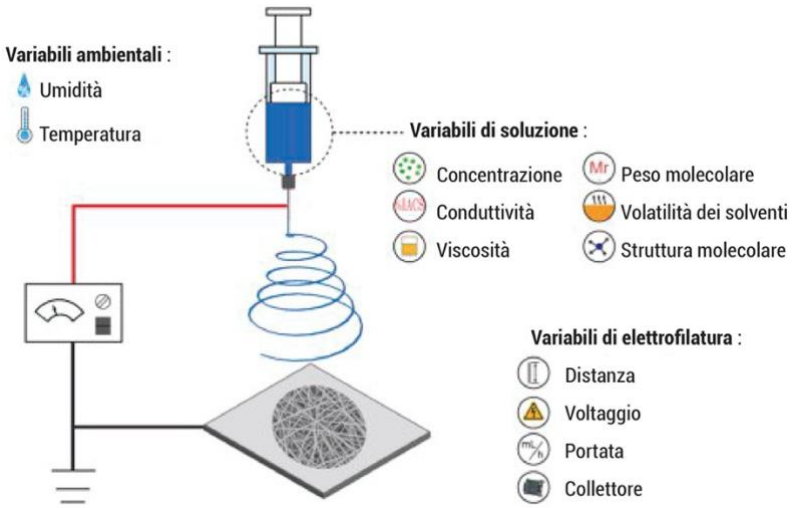

Figura 34 - Processo di Electrospinning (Chapter 2- Electrospinning: The setup and procedure)

Durante il processo di electrospinning, quando viene fornita alta tensione, la goccia di soluzione polimerica presente sulla punta dell'ago si deforma in una goccia a forma di cono, chiamato cono di Taylor, grazie all'azione delle forze elettrostatiche. La forte forza elettrostatica è considerata la forza trainante per l'avvio del processo di

electrospinning. Con l'aumentare dell'intensità del campo elettrostatico, le cariche di induzione sulla superficie si respingono a vicenda e producono sollecitazioni di taglio. Queste forze repulsive agiscono nella direzione opposta alla tensione superficiale. Quando il campo elettrostatico raggiunge la tensione critica Vc, l'equilibrio delle forze repulsive viene interrotto e quindi un getto carico viene espulso dalla punta dell'ago e le fibre ultrasottili vengono depositate sul collettore, formando un sottile film con architettura fibrosa. [69]

L'electrospinning può essere usato per combinare polimeri diversi con la nanocellulosa, superando così problemi di compatibilità e preservando le proprietà più interessanti del biopolimero.[68]

3.2.2. Assemblaggio strato su strato (LbL)

L'assemblaggio strato su strato (LbL) è un'altra tecnica che sta suscitando notevole interesse, grazie alla sua spiccata capacità di esercitare un controllo nanometrico sullo spessore del film e grazie alla ampia scelta di materiali utilizzabili per il rivestimento di substrati. La scelta dei materiali consente di progettare film sottili reattivi e funzionali per diverse applicazioni, incluso il confezionamento alimentare.[70]

LbL consiste nella preparazione di film multicomponenti su supporti solidi e si basa sull'adsorbimento controllato da soluzioni o dispersioni [67].

In questo modo è possibile preservare le proprietà di barriera ai gas e resistenza all'umidità, caratteristica essenziale per la produzione di imballaggi alimentari.

3.2.3 Estrusione

Il processo di estrusione, *melt compounding*, invece, sfrutta le proprietà termoplastiche dei biopolimeri quando vengono portati a temperature superiori alla temperatura di transizione vetrosa (*Tg*)[4], trasformando i materiali da solidi a liquidi e viceversa. Questa tecnica risulta essere più semplice e versatile rispetto a ES e LbL, tuttavia, la nanocellulosa presenta una scarsa compatibilità con i polimeri sintetici e questo ne limita fortemente l'utilizzo.

L'obiettivo principale di questa tecnica è l'incorporazione della nanocellulosa, la quale funge da nanofiller funzionale, in diverse matrici polimeriche, sfruttando le sue

straordinarie proprietà come, ad esempio, l'alto rapporto di aspetto, la superficie specifica e la biodegradabilità.[68]

L'uso di una fase avente dimensioni nanometriche all'interno di una matrice porta così alla formazione di un nuovo materiale con migliori proprietà. [67]

3.2.4 Colata

Un'altra innovativa tecnologia è la colata, *casting*, una tecnica utilizzata soprattutto per la produzione di film biopolimerici; [4] nella Figura 35 possiamo osservare un tipico impianto di casting.

Tale processo si basa sul controllo del rapporto polimero/NC in acqua o in un solvente adeguato[67] a basse temperature[68] tramite la preparazione di una soluzione o dispersione filmogena. Una soluzione del polimero di interesse viene colata in uno strato sottile di un idoneo solvente su un nastro che scorre all'interno di un forno; la successiva evaporazione e il distacco dal nastro mediante un coltello all'uscita dal forno consentono di raccogliere il film prodotto.[4]

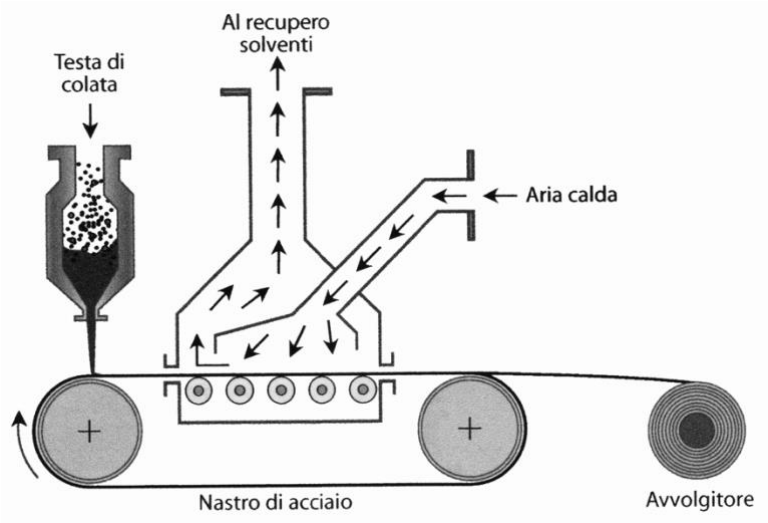

Figura 35 - Impianto di casting (Food packaging: Materiali, tecnologie e soluzioni. Piergiovanni, Limbo 2010)

3.2.5 Rivestimento

Un altro innovativo e potente strumento per migliorare diverse proprietà dei materiali utilizzati per il confezionamento di alimenti e bevande è il rivestimento o *coating* [67]

Questa tecnica prevede l'applicazione di un materiale fluido sulla superficie di un substrato, solitamente un film plastico, ma può essere anche un foglio di carta o una scatola di metallo.[4]
Il *coating* porta alla formazione di strutture composite, aventi uno spessore che varia da decimi di nm a pochi μm.
Oggi c'è un enorme interesse legato alla possibilità di utilizzare la tecnologia di *coating* per
produrre materiali di imballaggi sostenibili, riducendo così lo spessore dei film plastici convenzionali. [67]

3.2.6 Cast-drying

Nel processo di *cast-drying*, essiccazione a getto, invece, la miscela colloidale viene posta in contenitori sterili, piastre Petri, o depositata su substrati mediante varie tecniche di rivestimento, come rivestimento a barra e spruzzatura, per ottenere film solidi dopo la completa rimozione del solvente.
Diversi ricercatori hanno preparato pellicole e spugne basate su CNC ossidati mediati da TEMPO e alginato, utilizzando tecniche di essiccazione a getto e liofilizzazione.

3.2.7 Liofilizzazione

Tra le ultime novità è da inserire il *freeze-drying*, ovvero la liofilizzazione, un'altra tecnica di lavorazione che funziona congelando il materiale e quindi riducendo la pressione circostante per consentire all'acqua congelata nel materiale di sublimare direttamente dalla fase solida a quella gassosa. Questo processo preserva la morfologia dei nanocompositi allo stato umido per preparare spugne bionanocomposite ultraleggere e altamente porose.
La liofilizzazione è ampiamente adottata per sviluppare nuovi bionanomateriali porosi basati su varie fonti naturali, tra cui cellulosa, amido, chitina, chitosano, alginato e gelatina.[40] (Figura 36).

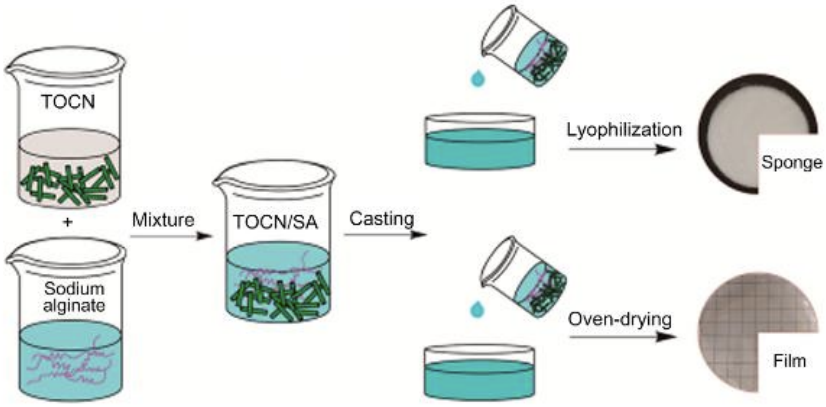

Figura 36 - Schema delle tecniche di cast-dryng e liofilizzazione per la produzione di film e spugne (Deepa et al. 2019)

3.3 Impatto della nanocellulosa sulla qualità alimentare.

Il prerequisito fondamentale di qualsiasi materiale o oggetto a contatto con gli alimenti (MOCA) è quello di saper rispondere agli aspetti legati alla sicurezza e, con riferimento ad un biopolimero come la cellulosa, anche quello di preservare la sua effettiva sostenibilità.

Secondo la Food and Drug Administration molte forme di cellulosa sono riconosciute come sostanze alimentari sicure; inoltre, secondo il Regolamento UE 1129/2011 la cellulosa stessa è riconosciuta come additivo alimentare (E460). Infatti, le fibre di cellulosa più lunghe forniscono struttura e consistenza ai prodotti da forno, mentre quelle più corte trasmettono diversi effetti sensoriali positivi.

Tuttavia, poiché i nanomateriali hanno proprietà insolite, la ricerca negli ultimi anni si è concentrata

sui rischi che i CN potrebbero causare alla salute umana[67]

Il rischio tossicologico per gli esseri umani, associato ai materiali di imballaggio "nano", dipende sostanzialmente da due fattori:

1. La potenziale migrazione delle nanoparticelle nel cibo
2. L'effetto tossicologico delle nanoparticelle.

L'uso di nanoparticelle per applicazioni a contatto con alimenti è disciplinato dal Regolamento UE n. 10/2011 che si riferisce in modo generico a "sostanze in

nanoforma", le quali possono essere utilizzate solo previa autorizzazione e se menzionate nell'allegato I del reg. sopra citato.[70]

Sempre più studi prestano la loro piena attenzione ai possibili rischi per l'ambiente e la salute umana, [21]

in quanto gli effetti biologici della cellulosa nanometrica non possono essere previsti esclusivamente dalla sua natura chimica.

Diversi parametri possono influenzare le interazioni dei nanomateriali di cellulosa con le cellule e gli organismi viventi, pertanto la sicurezza dei nanomateriali di cellulosa non è necessariamente ovvia. [53]

Le nanoparticelle, infatti, possono avere proprietà fisico-chimiche diverse;[70] le dimensioni, la forma, le proprietà di aggregazione e diversi fattori sconosciuti potrebbero ancora influenzare le interazioni della nanocellulosa con le cellule e altri organismi viventi.[71] Inoltre, le NC hanno profili tossicologici diversi rispetto a sostanze aventi dimensioni maggiori, quindi un possibile uso di un nanomateriale è previsto solo se viene effettuata una valutazione del rischio.

Tuttavia, la mancanza di specifiche norme legislative sull'utilizzo di nanoparticelle per applicazioni a contatto con gli alimenti deriva fondamentalmente dalle lacune ancora oggi presenti nella conoscenza scientifica degli effetti tossicologici attribuibili.[70]

Sulla base della loro iniziale caratterizzazione tossicologica, si può affermare che la nanocellulosa

ha un basso potenziale di tossicità e rischio ambientale[67] e finora non sono stati riportati effetti nocivi rilevanti quando si utilizzano concentrazioni realistiche.[53]

I primi studi per il controllo della tossicità dei nanopolisaccaridi sono stati effettuati sui CNC.

I risultati ottenuti fino ad oggi testimoniano, in realtà, una bassa tossicità e un basso potenziale di rischio ambientale, grazie ai test ecotossicologici effettuati su diverse specie acquatiche, come ad esempio Daphnia, trota iridea e Fathead minnow.

Altri studi hanno dimostratro che la citotossicità, cioè l'effetto tossico intracellulare, e la risposta pro-infiammatoria per CNC erano significativamente inferiori rispetto ai nanotubi di carbone e alle fibre di amianto di crocidolite.

Lavori sugli effetti della proliferazione cellulare, sui danni al DNA e sulla morte cellulare sono ancora in corso, ma i primi risultati non rivelano un potenziale pericolo per la salute umana e per l'ambiente.

Anche per i potenziali rischi dei CNF sono stati condotti studi simili nell'ultimo decennio, benché meno numerosi e dettagliati di quelli sui CNC.

Negli studi di tossicità devono essere considerati anche la materia prima, il pretrattamento e il trattamento meccanico, poiché l'CNF ha proprietà e caratteristiche differenti rispetto al CNC.[21]

Le nanofibrille di cellulosa per ora non rivelano assolutamente effetti collaterali così come non sono associate a genotossicità in vitro.

I livelli di tossina delle nanofibre di cellulosa batterica (BNC) sono stati esaminati efficacemente in vitro tramite la vitalità cellulare e le analisi citometriche a flusso, oltre che in vivo grazie ad interventi chirurgici sui topi. Inoltre, la BNC non presenta alcun effetto collaterale sulle colture di cellule endoteliali estratte dalla vena ombelicale dell'essere umano, sui fibroblasti e sui condrociti.

L'analisi in vitro rivela che il 95% delle cellule staminali mesenchimali si accumula sulla membrana di cellulosa.[52]

Pitkänen e il suo gruppo di ricerca hanno valutato le proprietà citotossiche e genotossiche in vitro della NC ottenuta dalla polpa di betulla e macinata, con diametro compreso tra 20 e 60 nm.

La tossicità a breve termine, esposizione 24/72 ore, misurata in base alla variazione del contenuto proteico totale in diverse linee cellulari umane e animali e gli effetti subletali sono stati testati su cellule umane coltivate in vitro. La capacità di danneggiare il DNA è stata valutata, invece, mediante un test batteriologico, il test di Ames; dalle ricerche effettuate non è stato osservato alcun tipo di danno al DNA.

Pertanto, i test tossicologici non hanno indicato fino ad ora nessuna proprietà citotossica o genotossica.[71]

Non meno importante e ancor più correlata ad una valutazione complessiva della sostenibilità dei materiali di confezionamento a base di CN, è la valutazione della potenziale ecotossicità,[67]

ossia l'impatto ambientale delle nanoparticelle eventualmente rilasciate nell'ambiente. È fondamentale, quindi, conoscere in maniera più approfondita le implicazioni dei nanomateriali di imballaggio una volta che diventano rifiuti.

Sebbene il rilascio di nanoparticelle nell'ambiente possa avvenire naturalmente o involontariamente, le nanoparticelle possono finire in maniera intenzionale negli econosistemi terresti e acquatici, come conseguenza della gestione dei rifiuti, come prodotto di compostaggio, incenerimento e messa in discarica.

Recenti studi hanno dimostrato che gli effetti ecotossici sulle piante superiori, valutati in termini di emergenza e crescita precoce dopo esposizione al compost risultante dalla disintegrazione dei diversi nanomateriali, sono trascurabili.[70]

La questione della tossicità attrae progetti europei come *Scale-up Nanoparticles in Modern Papermaking* (SUNPAP, 2009).[21] ed infatti diverse organizzazioni stanno lavorando allo sviluppo di standard volontari internazionali per nanomateriali e nanotecnologie. La divisione nanotecnologie della *Technical Association of the Pulp and Paper Industry* (TAPPI) ha pubblicato una tabella di marcia che descrive le attività pianificate nell'ambito dell'International Nanocellulose Standards Coordination Committee (INSCC). Tali sforzi sono coordinati con l'*American National Standards Institute* (ANSI) *Nanotechnology Standards Panel* e con il Comitato tecnico 229 della *International Standards Organization* (ISO).

TAPPI sta lavorando alla terminologia, alla misurazione e agli standard per la salute e la sicurezza ambientale (EHS) per le varie forme di nanocellulosa. Al momento della scrittura, *la Canadian Standards Authority* ha proposto uno standard ISO per la caratterizzazione dei nanocristalli di cellulosa (CNC) basato su un materiale di riferimento standard sviluppato dal *National Research Council of Canada* per misurare la morfologia, la purezza e le proprietà superficiali delle particelle. **L'ISO TC 229** ha sviluppato circa 40 standard relativi alla misurazione e valutazione dell'EHS dei nanomateriali. Tuttavia, pochi di questi standard sono specifici per singoli nanomateriali, considerato anche il fatto che sono difficili da valutare a causa di problemi di misurazione legati alle loro piccole dimensioni e alle diverse caratteristiche di superficie e volume. [72]

3.3.1 Valutazione della migrazione di imballaggi nanocompositi.

Quando un materiale è destinato al contatto con gli alimenti è fondamentale valutare attentamente anche i problemi di sicurezza, in quanto vi è la possibilità di migrazione dei componenti all'interno dell'alimento.[38] La migrazione è il fenomeno di contaminazione degli alimenti mediante il trasferimento di massa dal materiale di imballaggio all'alimento con cui entra in contatto.

Questo fenomeno interessa tutti i tipi di materiali di imballaggio che, per definizione, non sono chimicamente inerti, per cui il contatto diretto tra confezione e prodotto confezionato può portare alla migrazione della sostanza nel prodotto.

Nell'imballaggio alimentare questo processo è fondamentale, poiché il trasferimento non intenzionale di componenti di imballaggio indesiderabili può influire sulla sicurezza alimentare per il consumatore.[73]

Basilari prerequisiti di idoneità dei materiali sono i noti "limiti di migrazione", i quali nel corso della vita commerciale di un alimento non dovrebbero essere mai superati, ma ciò non è, sfortunatamente, totalmente escludibile, in quanto potrebbero verificarsi dei processi diffusionali imprevedibili in un determinato periodo di tempo.[4]

Uno studio del 2015 riassume gli sforzi sulla valutazione della migrazione per i materiali nanocompositi negli imballaggi alimentari. Nel caso di materiali commestibili, come pellicole e rivestimenti, la questione è più complessa, in quanto i componenti presenti nei materiali sono destinati ad essere ingeriti direttamente ed è proprio per questo che qualsiasi componente deve essere considerato come un componente alimentare, anziché come MOCA.[38]

La migrazione dei nanomateriali potrebbe eventualmente indurre cambiamenti organolettici degli alimenti. Ad esempio, il TiO2 potrebbe causare irrancidimento derivante dall'ossidazione dei lipidi negli alimenti lipidici.

Il processo di migrazione avviene essenzialmente in due fasi: la migrazione iniziale è dovuta ai nanomateriali incapsulati negli strati superficiali; successivamente si ha il rilascio dei nanomateriali dalla parte interna del campione attraverso vuoti e altri spazi tra le molecole del polimero, che dipenderanno dalle proprietà dello stesso, come densità, cristallinità, grado di reticolazione e ramificazione.[73]

La migrazione è influenzata da diversi fattori come le proprietà delle nanoparticelle, la dimensione delle particelle, il peso molecolare, la solubilità e la diffusività nel polimero; da condizioni ambientali, temperatura, stress meccanico; condizioni degli alimenti, pH e composizione; caratteristiche dell'imballaggio, struttura e viscosità del polimero; posizione delle nanoparticelle nel materiale di imballaggio, interazione tra queste e il materiale; e il tempo di contatto.

Ad esempio, temperature elevate e valori di pH più bassi aumentano la solubilità delle nanoparticelle in soluzione acquosa, determinando un incremento della loro migrazione.[74]

Un tasso elevato di migrazione dei nanomateriali potrebbe essere attribuito anche ad una crescente diffusività, la quale può essere prevedibile nelle matrici polimeriche con peso molecolare inferiore e volume maggiore.

Se l'alimento ha un'elevata affinità per il polimero, allora può essere facilmente assorbito nella confezione e provocare il rigonfiamento o la plastificazione della matrice polimerica, allargando così gli spazi ed aumentando la velocità di migrazione.[73]

Anche il metodo di conservazione degli alimenti è importante, in quanto può influenzare la migrazione delle sostanze. È stato riportato che il riscaldamento a microonde causa modifiche strutturali della confezione, accelerando così la migrazione di determinante sostanze. [74]

L'imballaggio è in grado di rilasciare additivi funzionali a seconda delle esigenze nutrizionali e dei gusti, inclusi minerali, probiotici, vitamine, sostanze fitochimiche, oli marini, prebiotici e altre sostanze attive sulle superfici degli alimenti in modo controllato e sistematico. Questi saranno considerati additivi alimentari ai sensi della legislazione e potrebbero ridurre la quantità di additivo chimico necessario alla distribuzione nell'intero alimento. Tali tecnologie innovative generalmente trattano ingredienti funzionali che possono essere inclusi direttamente nella confezione o nei materiali di rivestimento per generare cibi più sani, con un aumento del valore nutritivo attraverso la migrazione.[75]

A seconda del sistema alimentare, la migrazione può essere classificata come sistemi non migratori, volatili e di lisciviazione.

Nel primo sistema, c'è una migrazione insignificante per quanto riguarda i materiali polimerici ad alto peso molecolare, un piccolo numero di sostanze inorganiche o anche pigmenti.

Nel sistema volatile il tipo di migrazione è correlato ad un alimento solido secco con basso potenziale di contatto diretto con il materiale di confezionamento. I composti volatili migrano seguendo tre fasi: diffusione o evaporazione, desorbimento e adsorbimento sul prodotto.

Nel terzo sistema il contatto tra imballaggio e cibo è essenziale.

Il processo di migrazione può essere, nel complesso, suddiviso in quattro fasi principali:

1) diffusione di composti chimici attraverso i polimeri;

2) desorbimento delle molecole diffuse dalla superficie del polimero;

3) assorbimento dei composti all'interfaccia plastica-cibo;

4) desorbimento dei composti nel cibo.

3.3.2. Test di migrazione

La tecnica più recente e più utile per ottenere i dati sulla migrazione consiste nel misurare la concentrazione dei migranti direttamente negli alimenti, o in simulanti alimentari, dopo essere stati a contatto con un materiale di imballaggio. La determinazione dei composti che migrano dai materiali di confezionamento agli alimenti in condizioni reali è estremamente complessa a causa della complessità delle matrici alimentari, soprattutto quando si utilizzano cibi grassi oppure oli. Per questo motivo, la simulazione delle condizioni di migrazione può essere eseguita solo utilizzando simulanti alimentari specifici.[76]

Questi metodi vengono utilizzati per misurare in maniera scientifica la migrazione globale e specifica. [74]

La migrazione globale (OML) viene intesa come un pre-requisito di inerzia del materiale, a prescindere dall'eventuale rischio per il consumatore, per cui la legge stabilisce un limite alla possibile interazione tra imballaggi e alimenti.

L'OML per tutti i materiali disciplinati dalla legislazione nazionale, ad eccezione della plastica, applicato con le stesse regole e verificato con gli stessi metodi di laboratorio, è di 8 mg dm^{-2} e 50 mg kg^{-1}.

La migrazione specifica (SML), invece, rappresenta i limiti che vengono fissati tutte le volte che una sostanza potenzialmente migrabile presenti un rischio per la salute del consumatore o anche soltanto per l'organolepsi del prodotto. SML è espressa in mg kg^{-1} e i limiti dipendono dalla pericolosità della sostanza, potendo arrivare allo zero analitico per le sostanze certamente pericolose.[4]

L'utilizzo di simulanti alimentari per testare la migrazione di composti chimici dagli imballaggi alimentari comprende due fasi. La prima consiste nell'esposizione dell'imballaggio polimerico ai simulanti alimentari, che consente ai composti del materiale di imballaggio di migrare nel simulante;

la seconda è la quantificazione dei migranti trasferiti a un simulante alimentare in termini di migrazione complessiva o migrazione specifica.

Quattro simulanti alimentari sono più comunemente usati per semplificare i test ai fini della conformità normativa, poiché i simulanti sono chimicamente meno complessi degli alimenti. L'acqua viene utilizzata per simulare cibi acquosi (pH> 4,5), acido acetico acquoso al 3% per simulare cibi acquosi acidi (pH <4,5), etanolo acquoso al 10% per simulare prodotti alimentari alcolici e olio d'oliva come simulante di cibi grassi. Inoltre, per contribuire a garantire la salute umana, la Food and Drug Administration degli Stati Uniti e l'Unione Europea hanno stabilito il tipo di cibo e di simulanti alimentari raccomandati per i materiali a contatto con gli alimenti per determinarne la probabile migrazione negli alimenti.[76]

Concentrandosi sulla prestazione di uno scenario di migrazione del caso peggiore e di uno più probabile, sono stati studiati molteplici fattori ambientali e di imballaggio, principalmente il tempo di conservazione e la temperatura di conservazione. Dai test effettuati è possibile evincere come la luce naturale sia in grado di degradare i polimeri tramite foto-ossidazione e aumentare la migrazione di sostanze; tuttavia, il breve periodo di esposizione alla luce degli imballaggi alimentari rende improbabile il deterioramento del prodotto e l'effettiva migrazione. Se un imballaggio alimentare è destinato a venire a contatto in modo ripetuto con prodotti alimentari, allora, in questo caso i test di migrazione vengono eseguiti tre volte sullo stesso campione di prova.[74]

L'uso di modelli matematici di diffusione, supportati da prove scientifiche, per predire il processo di migrazione, è un'alternativa alla misurazione diretta della migrazione mediante test analitici. Per i test di conformità, questi modelli sono calibrati per fornire

un valore di migrazione vicino a quello reale, ma nella maggior parte dei casi tale valore è sovrastimato. Pertanto, esiste un margine di sicurezza tra la migrazione prevista e quella reale. Tuttavia, poiché i modelli sono progettati per essere conservativi, qualora si rilevasse una non conformità indicata attraverso modelli matematici di migrazione, i risultati devono essere necessariamente confermati dai test analitici tradizionali. [76]

CONSIDERAZIONI E CONCLUSIONI

Il food packaging, essenziale strumento per la conservazione, il contenimento, la protezione e il trasporto degli alimenti, rappresenta oggi un settore altamente specialistico e dinamico sul quale convergono l'impegno e le capacità innovative di tutta la comunità scientifica.

Nell'ultimo decennio l'industria alimentare ha, infatti, investito notevoli risorse nello sviluppo e nella produzione di imballaggi ecosostenibili per rispondere in maniera adeguata alle crescenti esigenze dei consumatori, sempre più attenti ai prodotti eco-friendly.

Proprio questa necessità di ridurre quanto più possibile l'impatto ambientale dell'industria ha condotto i ricercatori a focalizzarsi su un materiale del tutto rinnovabile quale la nanocellulosa.

In questo lavoro di tesi ci siamo posti l'obiettivo di analizzare i vari aspetti delle nuove tecnologie di packaging, mettendone in risalto le caratteristiche salienti e le potenzialità applicative.

La nanocellulosa, infatti, presenta una notevole versatilità, data la sua capacità di autoassemblarsi in architetture con diverse dimensioni, offrendo la possibilità di sviluppare variegati materiali utili per gli imballaggi.

La NC può essere estratta da varie risorse vegetali lignocellulosiche, utilizzando metodi meccanici, chimici o enzimatici e ciò rende ragione della sua intrinseca rinnovabilità.

Dalla lavorazione della NC si ottengono tre principali materiali utilizzabili nel food packaging, ossia le nanofibrille di cellulosa (CNF),i nanocristalli di cellulosa (CNC) e la cellulosa batterica (BNC). (Tabella 4)

Tabella 4 - Caratteristiche delle diverse tipologie di NC

	CNF	***CNC***	***BNC***
FONTE	Piante	Piante Alghe Tunicati	Acetobacter xylinium
FORMA	Nastro	Cristalli aghiformi	Rete 3D (nastri intrecciati)
DIMENSIONI (L)	>1 µm	100-1000 nm	3,5 nm
REGIONI PRESENTI	Amorfe e cristalline	Cristalline > amorfe	Cristalline >>
PROPRIETÀ	M. Young 10,2 GPa Resistenza alla trazione 72,6 MPa Aspect ratio > Capacità di legare H	M. Young 100-140 GPa Resistenza alla trazione 7500 MPa Aspetc ratio <	M. Young 150 GPa Resistenza alla trazione 200-300 MPa Aspetc ratio >> Idrofilia Stabilità termica fino a 300 °C
ISOLAMENTO	Ox-TEMPO Idrolisi enzimatica Ultrasonificazione Processi meccanici	Omogeneizzazione Macinazione Raffinazione	Coltivazione batterica
APPLICAZIONI	Carta Film Idrogel	Rivestimento per cartone	Film di rivestimento per alimenti solidi Aerogel

Dalla tabella si evince come le differenti caratteristiche chimico-fisiche dei vari derivati della NC rendano possibile lo sfruttamento di questi composti in un'ampia gamma di imballaggi per alimenti sia solidi che liquidi.

Nonostante ciò, esistono ancora oggi delle criticità che ne limitano l'utilizzo, quali la sensibilità all'umidità, l'elevato consumo energetico per la lavorazione e l'elevato dispendio economico per la produzione.

Attualmente quindi non sono ancora disponibili nella grande distribuzione materiali di imballaggio costituiti esclusivamente di nanocellulosa, ma c'è una progressiva diffusione di prodotti poliaccoppiati con i suoi derivati, come il cartone per l'imballaggio di liquidi, New Natura, arricchito con cellulosa micro-fibrillata.

Diversi sono i progetti stanziati dall'Unione Europea per lo sviluppo di imballaggi costituiti da materiali rinnovabili, al fine di stimolare il settore industriale ad utilizzare prodotti ecosostenibili.

Proprio da ciò si è giunti alla messa a punto di diversi studi pilota che hanno condotto alla progettazione di imballaggi attivi ed intelligenti costituiti da nanocellulosa utilizzabili nel prossimo futuro.

Tra questi ci siamo soffermati su film costituiti da nanocellulosa batterica combinata con PPy e ZnO, in grado di rilevare il tempo e la temperatura di conservazione dell'alimento mediante il controllo del pH e della crescita microbica; altri film di CNF combinato con chitosano, utilizzati come fogli di separazione per carni, in grado di ridurre al minimo il trasferimento di umidità tra gli alimenti.

Oltre ai film, sono stati progettati degli idrogel di NC utilizzati come imballaggio intelligente per le confezioni di carne che permettono di tenere sotto controllo la freschezza del prodotto aiutando il consumatore ad un utilizzo più consapevole.

Infine, uno dei progetti più interessante e stimolante il mondo scientifico è l'utilizzo della nanocellulosa come rivestimento dei cartoni, come il cartone rivestito da TOCN e PPy, il quale combina la biodegradabilità, le proprietà meccaniche e la bassa permeabilità ai gas della NC con le proprietà fisico-chimiche del PPy.

Questa innovativa combinazione, infatti, permette di produrre un imballaggio di cartone attivo più efficiente dei normali imballaggi in cartone, con un netto miglioramento della shelf-life degli alimenti deperibili.

Per la produzione di questi materiali sono state messe a punto diverse innovative tecnologie che rendono, però, ancora complicato e dispendioso il processo di trasformazione della NC, limitandone così l'utilizzo. (Tabella 5)

Tabella 5 - Tecnologie per la produzione di materiali polimerici

	ES	***LbL***	***ESTRUSIONE***	***COLATA***	***RIVESTIMENTO***	***CAST-DRYING***	***LIOFILIZZAZIONE***
FONTE	Campo elettrostatico	Adsorbimento controllato	Compressione	Soluzione o dispersione filmogena	Substrati conigati	Essiccatori a getto	Basse temperature
PRODOTTI	Film sottile con architettura fibrosa	Film multicomponenti su supporti solidi	NC come nanofiller	Film biopolimerici	Strutture compositi di diametro variabile	Film solidi	Spugne bionanocomposite
VANTAGGI	Riduzione incompatibilità dei biopolimeri	Controllo nanometrico sullo spessore del film; Ampia gamma di materiali	Versatilità Semplice esecuzione	Semplice Poco costoso	Materiali ecosostenibili	Semplice Poco costoso	Utilizzo di fonti naturali rinnovabili Semplice
SVANTAGGI	Costoso Impianti industriali complessi	Costoso	IncompatibilitàNC				

Tra le più complesse tecniche che richiedono particolari impianti produttivi, l'electrospinning (ES), utilizzando l'intensità di un campo elettrostatico, può combinare polimeri diversi con la NC; l'assemblaggio strato su strato (LbL) consente, invece, di produrre film multicomponenti su supporti solidi, preservando le proprietà di barriera ai gas, grazie all'adsorbimento controllato da soluzioni o dispersioni. Più versatile, ma al contempo limitata, è, invece, l'estrusione che sfrutta le proprietà termoplastiche dei biopolimeri. Film biopolimerici possono essere prodotti anche attraverso il coating e la colata, mentre l'essiccazione e la liofilizzazione permettono di formare biomateriali porosi.

Nonostante l'intrinseca complessità di produzione, la NC presenta degli enormi vantaggi che stimolano lo sviluppo di materiali e sistemi industriali più semplici e meno costosi. La ridotta ecotossicità, i limitati danni citotossici, la rinnovabilità e la biodegradabilità della nanocellulosa e dei suoi derivati oltre che la versatilità di utilizzo in diversi ambiti applicativi rendono questo campo di ricerca sempre più florido.

In conclusione, ci si attende che nell'immediato futuro i biopolimeri acquisiscano un ruolo irrinunciabile e fondamentale nello sviluppo produttivo e nella mission aziendale dell'industria alimentare, grazie soprattutto allo sforzo dei governi e degli organismi internazionali di controllo che hanno l'obbligo morale di incentivare la ricerca scientifica e sensibilizzare gli acquirenti ad un consapevole ed informato consumo.

Bibliografia

1. ASTM. *Standard Terminology of Packaging and Distribution Environments 1*. www.astm.org (2004) doi:10.1520/D0996-04.
2. Bucchetti Valeria. *Packaging design: storia, linguaggi, progetto - Valeria Bucchetti - Google Libri*. (2005).
3. CONAI. CONAI Consorzio Nazionale Imballaggi http://www.conai.org/imprese/cos-e-imballaggio/#1.
4. Piergiovanni, L. *Food Packaging*. (2010).
5. Realini, C. E. & Marcos, B. Active and intelligent packaging systems for a modern society. *Meat Sci.* (2014) doi:10.1016/j.meatsci.2014.06.031.
6. Majid, I., Ahmad Nayik, G., Mohammad Dar, S. & Nanda, V. Novel food packaging technologies: Innovations and future prospective. *J. Saudi Soc. Agric. Sci.* **17**, 454–462 (2018).
7. Appendini, P. & Hotchkiss, J. H. Review of antimicrobial food packaging. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* **3**, 113–126 (2002).
8. Wilson, C. L. *Intelligent and active packaging for fruits and vegetables*. *Intelligent and Active Packaging for Fruits and Vegetables* (2007).
9. Kerry, J. P., O'Grady, M. N. & Hogan, S. A. Past, current and potential utilisation of active and intelligent packaging systems for meat and muscle-based products: A review. *Meat Sci.* **74**, 113–130 (2006).
10. Vermeiren, L., Devlieghere, F., Van Beest, M., De Kruijf, N. & Debevere, J. Developments in the active packaging of foods. *Trends Food Sci. Technol.* **10**, 77–86 (1999).
11. Brody, A. L., Bugusu, B., Han, J. H., Sand, C. K. & McHugh, T. H. Innovative food packaging solutions. *J. Food Sci.* **73**, (2008).
12. Restuccia, D. *et al.* New EU regulation aspects and global market of active and intelligent packaging for food industry applications. *Food Control* (2010) doi:10.1016/j.foodcont.2010.04.028.
13. Han, J. H., Ho, C. H. L. & Rodrigues, E. T. Intelligent packaging. in *Innovations in Food Packaging* (2005). doi:10.1016/B978-012311632-1/50041-3.
14. Dainelli, D., Gontard, N., Spyropoulos, D., Zondervan-van den Beuken, E. & Tobback, P. Active and intelligent food packaging: legal aspects and safety concerns. *Trends Food Sci. Technol.* (2008) doi:10.1016/j.tifs.2008.09.011.
15. Liu, Y. J., Li, B., Feng, Y. & Cui, Q. Consolidated bio-saccharification: Leading lignocellulose bioconversion into the real world. *Biotechnol. Adv.* **40**, 107535 (2020).
16. Chen, H. *Lignocellulose biorefinery feedstock engineering*. *Lignocellulose*

Biorefinery Engineering (2015). doi:10.1016/b978-0-08-100135-6.00003-x.
17. Lee, H. V., Hamid, S. B. A. & Zain, S. K. Conversion of lignocellulosic biomass to nanocellulose: Structure and chemical process. *Sci. World J.* **2014**, (2014).
18. Ghaemi, F., Abdullah, L. C. & Ariffin, H. *Lignocellulose structure and the effect on nanocellulose production*. *Lignocellulose for Future Bioeconomy* (Elsevier Inc., 2019). doi:10.1016/B978-0-12-816354-2.00002-5.
19. Abdul Khalil, H. P. S. *et al.* A review on nanocellulosic fibres as new material for sustainable packaging: Process and applications. *Renew. Sustain. Energy Rev.* **64**, 823–836 (2016).
20. Mondal, S. Preparation, properties and applications of nanocellulosic materials. *Carbohydr. Polym.* **163**, 301–316 (2017).
21. Lavoine, N., Desloges, I., Dufresne, A. & Bras, J. Microfibrillated cellulose - Its barrier properties and applications in cellulosic materials: A review. *Carbohydr. Polym.* **90**, 735–764 (2012).
22. Koschevic, M. T., dos Santos, M., de Faria, R. C., Fakhouri, F. M. & Martelli, S. M. *Cellulose Nanocrystals Functionalization by Grafting*. *Biopolymer Grafting: Synthesis and Properties* (Elsevier Inc., 2018). doi:10.1016/B978-0-323-48104-5.00009-3.
23. Harini, K. & Sukumar, M. Development of cellulose-based migratory and nonmigratory active packaging films. *Carbohydr. Polym.* **204**, 202–213 (2019).
24. Bajpai, P. *Properties of biobased packaging material*. *Biobased Polymers* (2019). doi:10.1016/b978-0-12-818404-2.00003-5.
25. Mauseth, J. D. *BOTANICA. Fondamenti di biologia delle piante.*
26. Klemm, D., Heublein, B., Fink, H. P. & Bohn, A. Cellulose: Fascinating biopolymer and sustainable raw material. *Angewandte Chemie - International Edition* vol. 44 3358–3393 (2005).
27. Aulin, C. *Novel oil resistant cellulosic materials Christian Aulin Royal Institute of Technology Department of Fibre and Polymer Technology*. *Paper Technology* (2009).
28. Deepa, B. *et al.* Utilization of various lignocellulosic biomass for the production of nanocellulose: a comparative study. *Cellulose* **22**, 1075–1090 (2015).
29. Jonoobi, M. *et al.* Different preparation methods and properties of nanostructured cellulose from various natural resources and residues: a review. *Cellulose* **22**, 935–969 (2015).
30. Rathore, A. & Pradhan, M. K. Hybrid Cellulose Bionanocomposites from banana and jute fibre: A Review of Preparation, Properties and Applications. *Mater. Today Proc.* **4**, 3942–3951 (2017).
31. Operamolla, A., Degli, U., Di, S. & Aldo, B. Nanocarta Di Cellulosa : Proprietà E Prospettive. 16–21 (2017).
32. Missio, A. L. *et al.* Nanocellulose-tannin films: From trees to sustainable active packaging. *J. Clean. Prod.* **184**, 143–151 (2018).
33. Lavoine, N., Guillard, V., Desloges, I., Gontard, N. & Bras, J. Active bio-based food-packaging: Diffusion and release of active substances through and from cellulose nanofiber coating toward food-packaging design. *Carbohydr.*

Polym. **149**, 40–50 (2016).
34. Nechyporchuk, O., Belgacem, M. N. & Bras, J. Production of cellulose nanofibrils: A review of recent advances. *Ind. Crops Prod.* **93**, 2–25 (2016).
35. Dufresne, A. Cellulose nanomaterial reinforced polymer nanocomposites. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **29**, 1–8 (2017).
36. Sánchez, R., Espinosa, E., Domínguez-Robles, J., Loaiza, J. M. & Rodríguez, A. Isolation and characterization of lignocellulose nanofibers from different wheat straw pulps. *Int. J. Biol. Macromol.* **92**, 1025–1033 (2016).
37. Silva, J. M., Barud, H. S., Meneguin, A. B., Constantino, V. R. L. & Ribeiro, S. J. L. Inorganic-organic bio-nanocomposite films based on Laponite and Cellulose Nanofibers (CNF). *Appl. Clay Sci.* **168**, 428–435 (2019).
38. Azeredo, H. M. C., Rosa, M. F. & Mattoso, L. H. C. Nanocellulose in bio-based food packaging applications. *Ind. Crops Prod.* **97**, 664–671 (2017).
39. Criado, P., Fraschini, C., Hossain, F. & Lacroix, M. *Cellulose Nanocrystals in Food Packaging*. *Reference Module in Food Science* (Elsevier, 2019). doi:10.1016/b978-0-08-100596-5.22531-6.
40. Deepa, B., Chirayil, C. J., Pothan, L. A. & Thomas, S. *Lignocellulose-based nanoparticles and nanocomposites: Preparation, properties, and applications*. *Lignocellulose for Future Bioeconomy* (Elsevier Inc., 2019). doi:10.1016/B978-0-12-816354-2.00004-9.
41. Kose, R., Mitani, I., Kasai, W. & Kondo, T. 'Nanocellulose' as a single nanofiber prepared from pellicle secreted by gluconacetobacter xylinus using aqueous counter collision. *Biomacromolecules* **12**, 716–720 (2011).
42. Jeremic, S. *et al.* Production of bacterial nanocellulose (BNC) and its application as a solid support in transition metal catalysed cross-coupling reactions. *Int. J. Biol. Macromol.* **129**, 351–360 (2019).
43. Phanthong, P. *et al.* Nanocellulose: Extraction and application. *Carbon Resour. Convers.* **1**, 32–43 (2018).
44. Zinge, C. & Kandasubramanian, B. Nanocellulose based Biodegradable Polymers. *Eur. Polym. J.* **133**, 109758 (2020).
45. Nasir, M., Hashim, R., Sulaiman, O. & Asim, M. *Nanocellulose: Preparation methods and applications*. *Cellulose-Reinforced Nanofibre Composites: Production, Properties and Applications* (Elsevier Ltd, 2017). doi:10.1016/B978-0-08-100957-4.00011-5.
46. Hubbe, M. A., Rojas, O. J., Lucia, L. A. & Sain, M. Cellulosic nanocomposites: A review. *Int. J. Interact. Mob. Technol.* **12**, 929–980 (2018).
47. Ghaderi, M., Mousavi, M., Yousefi, H. & Labbafi, M. All-cellulose nanocomposite film made from bagasse cellulose nanofibers for food packaging application. *Carbohydr. Polym.* (2014) doi:10.1016/j.carbpol.2014.01.013.
48. Farooq, A. *et al.* Cellulose from sources to nanocellulose and an overview of synthesis and properties of nanocellulose/zinc oxide nanocomposite materials. *Int. J. Biol. Macromol.* **154**, 1050–1073 (2020).
49. Siró, I. & Plackett, D. Microfibrillated cellulose and new nanocomposite materials: A review. *Cellulose* (2010) doi:10.1007/s10570-010-9405-y.
50. Isogai, A. & Kato, Y. Preparation of polyuronic acid from cellulose by

TEMPO-mediated oxidation. *Cellulose* (1998) doi:10.1023/A:1009208603673.
51. Dufresne, A. Nanocellulose: A new ageless bionanomaterial. *Mater. Today* **16**, 220–227 (2013).
52. Mishra, R. K., Sabu, A. & Tiwari, S. K. Materials chemistry and the futurist eco-friendly applications of nanocellulose: Status and prospect. *J. Saudi Chem. Soc.* **22**, 949–978 (2018).
53. Dufresne, A. Nanocellulose Processing Properties and Potential Applications. *Curr. For. Reports* (2019) doi:10.1007/s40725-019-00088-1.
54. Nair, S. S., Zhu, J., Deng, Y. & Ragauskas, A. J. High performance green barriers based on nanocellulose. *Sustain. Chem. Process.* **2**, 1–7 (2014).
55. Cozzolino, C. A. *et al.* Exploiting the nano-sized features of microfibrillated cellulose (MFC) for the development of controlled-release packaging. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* **110**, 208–216 (2013).
56. No Title. http: //www.sustainablepackaging. Org.
57. Shanmugam, K., Doosthosseini, H., Varanasi, S., Garnier, G. & Batchelor, W. Nanocellulose films as air and water vapour barriers: A recyclable and biodegradable alternative to polyolefin packaging. *Sustain. Mater. Technol.* **22**, (2019).
58. Charreau, H., Cavallo, E. & Foresti, M. L. Patents involving nanocellulose: Analysis of their evolution since 2010. *Carbohydr. Polym.* **237**, 116039 (2020).
59. Pirsa, S. & Shamusi, T. Intelligent and active packaging of chicken thigh meat by conducting nano structure cellulose-polypyrrole-ZnO film. *Mater. Sci. Eng. C* **102**, 798–809 (2019).
60. Deng, Z., Jung, J. & Zhao, Y. Development, characterization, and validation of chitosan adsorbed cellulose nanofiber (CNF) films as water resistant and antibacterial food contact packaging. *LWT - Food Sci. Technol.* **83**, 132–140 (2017).
61. Lu, P. *et al.* Preparation of sugarcane bagasse nanocellulose hydrogel as a colourimetric freshness indicator for intelligent food packaging. *Carbohydr. Polym.* **249**, 116831 (2020).
62. Bideau, B., Loranger, E. & Daneault, C. Nanocellulose-polypyrrole-coated paperboard for food packaging application. *Prog. Org. Coatings* **123**, 128–133 (2018).
63. ELOPAK.
64. CelluForce.
65. CelluWiz.
66. Moon, R. J., Martini, A., Nairn, J., Simonsen, J. & Youngblood, J. *Cellulose nanomaterials review: Structure, properties and nanocomposites*. *Chemical Society Reviews* vol. 40 (2011).
67. Li, F., Mascheroni, E. & Piergiovanni, L. The potential of nanocellulose in the packaging field: A review. *Packag. Technol. Sci.* **28**, 475–508 (2015).
68. Ferrer, A., Pal, L. & Hubbe, M. Nanocellulose in packaging: Advances in barrier layer technologies. *Ind. Crops Prod.* **95**, 574–582 (2017).
69. Long, Y. Z., Yan, X., Wang, X. X., Zhang, J. & Yu, M. *Electrospinning*. *Electrospinning: Nanofabrication and Applications* (Elsevier Inc., 2018).

doi:10.1016/B978-0-323-51270-1.00002-9.
70. Rovera, C., Ghaani, M. & Farris, S. Nano-inspired oxygen barrier coatings for food packaging applications: An overview. *Trends Food Sci. Technol.* **97**, 210–220 (2020).
71. Gómez H., C. *et al.* Vegetable nanocellulose in food science: A review. *Food Hydrocoll.* **57**, 178–186 (2016).
72. American Process-Production of Low Cost Nanocellulose for Renewable Advanced Material sApplications.
73. Huang, J. Y., Li, X. & Zhou, W. Safety assessment of nanocomposite for food packaging application. *Trends Food Sci. Technol.* **45**, 187–199 (2015).
74. Arrieta, M. P. *et al.* Recent advances and challenges on applications of nanotechnology in food packaging. A literature review. *Carbohydr. Polym.* **134**, 128–133 (2016).
75. Cozzolino, C. A. *et al.* Safety assessment of nanocomposite for food packaging application. *Carbohydr. Polym.* **134**, 116039 (2019).
76. Cruz, R. M. S., Rico, B. P. M. & Vieira, M. C. *Food packaging and migration*. *Food Quality and Shelf Life* (Elsevier Inc., 2019). doi:10.1016/b978-0-12-817190-5.00009-4.