

Abstract (Italiano)

Negli ultimi anni c'è stato un crescente interesse nello sviluppo di materiali alternativi sostenibili a causa degli impatti ambientali legati all'alto smaltimento di prodotti derivati dal petrolio fossile. In questo contesto, la cellulosa è un componente chiave e una materia prima interessante in quanto uno dei biopolimeri più abbondanti, economici, rinnovabili e biodegradabili presenti in natura. La cellulosa è caratterizzata da catene di cellobiosio non ramificate collegate in modo β -1,4 al glucosio, che agiscono come una struttura tridimensionale per il polisaccaride. Le promettenti proprietà chimiche (come l'idrofilia, la chiralità, la degradabilità e la vasta variabilità chimica) e meccaniche (non tossiche, biocompatibili, rinnovabili e biodegradabili) della cellulosa hanno suscitato un interesse crescente per lo sviluppo di nuovi biomateriali, specialmente attraverso strumenti avanzati di nanotecnologia, che migliorano le sue proprietà tecno-funzionali. Tuttavia, attualmente la cellulosa viene isolata da fonti legnose ed è molto più difficile destrutturarla come componente strutturale delle piante. Infatti, la sua stretta disposizione polimerica e i forti legami con altri componenti lignocellulosici, come l'emicellulosa e la lignina, limitano l'isolamento della cellulosa. Un processo di delignificazione con un efficace trattamento di idrolisi chimica acida o alcalina per separare la cellulosa e l'emicellulosa dalla lignina è un passaggio cruciale. Tuttavia, i metodi attuali sono costosi, consumano molta energia e utilizzano prodotti chimici che richiedono procedure di trattamento a valle e/o di smaltimento. Tenendo conto della sostenibilità ambientale, è controproducente combinare processi energetici sulle fonti legnose.

In questo contesto, il lavoro di questa tesi di dottorato dimostra che il processo necessario per aumentare l'accessibilità e il recupero della cellulosa è fortemente influenzato dalla natura della biomassa nativa. Di conseguenza, i residui/sottoprodotti agroalimentari rappresentano una nuova e promettente materia prima per lo sviluppo di nuovi processi sostenibili per isolare la cellulosa, basati su tecnologie non convenzionali con bassi impatti ambientali ed economici ed elevata efficienza, sottolineando l'urgente necessità di diversificare e valorizzare i rifiuti con strategie di economia circolare. In questo contesto, la omogeneizzazione ad alta pressione (high-pressure homogenization, HPH), un trattamento non termico e puramente fisico, viene usato per la prima volta per aumentare l'efficienza del trattamento di idrolisi chimica delicata per l'isolamento della cellulosa dai residui agroalimentari (aumentando la resa di estrazione del 20% circa), riducendo drasticamente l'uso di prodotti chimici, riducendo i tempi di lavorazione grazie all'intensificazione del processo, migliorando la purezza e inducendo una defibrillazione della struttura di cellulosa, consentendo contemporaneamente il recupero di composti bioattivi ad alto valore aggiunto con elevata capacità antiossidante dalle correnti di scarto. Inoltre, gli stress fluido-meccanici (alta forza di taglio, turbolenza e cavitazione idrodinamica) che si verificano durante il trattamento HPH, in combinazione con l'idrolisi, migliorano la defibrillazione della cellulosa e contribuiscono a ridurre la lunghezza delle fibre. L'utilizzo completo di materie prime da residui/sottoprodotti agroalimentari ha suscitato un notevole interesse anche per lo sviluppo di nuovi processi sostenibili basati sulla strategia green bottom-up. In questo senso, il lavoro è stato svolto per il recupero di biofilm derivati dal processo di fermentazione del tè Kombucha utilizzando AFRs micronizzati come fonte di carbonio, in alternativa ai mezzi sintetici convenzionali, per ridurre i costi dei mezzi di coltura e aumentare la produzione, al fine di ottenere cellulosa nanostrutturata con notevoli proprietà biologiche e fisico-meccaniche. Tutti questi approcci hanno permesso di isolare la cellulosa con specifiche proprietà morfologiche da residui/sottoprodotti agroalimentari o sottoprodotti di processi di fermentazione (valutate mediante dimensioni delle particelle, microscopia ottica ed elettronica a scansione e analisi FT-IR), riducendo l'intensità dei processi chimici convenzionali e aumentando lo sfruttamento di sottoprodotti industriali a basso costo. Dai risultati complessivi, un'efficiente estrazione di cellulosa è stata realizzata insieme alla valorizzazione dei composti ad alto valore aggiunto ancora presenti nella biomassa degli scarti agroalimentari.

Al fine di sviluppare materiali più sostenibili sono stati impiegati processi top-down che consentono l'isolamento della nanocellulosa (NCs) in nanocristalli di cellulosa (CNCs) o nanofibrille di cellulosa (CNFs),

a seconda del trattamento effettuato e delle condizioni operative del processo, grazie alla struttura gerarchica della cellulosa. La NCs può essere ottenuta con successo dalla cellulosa isolata dagli scarti agroalimentari attraverso processi meccanici (ball milling e HPH) e processi di ossidazione mediati da TEMPO [(2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-yl) oxy radical] o una combinazione di questi metodi. Una caratterizzazione sistematica delle proprietà strutturali dei nanomateriali ottenuti dopo ogni processo ha rivelato che i diversi trattamenti hanno permesso l'estrazione di nanoparticelle di cellulosa con diverse proprietà morfologiche e fisiche. Pertanto, questi risultati hanno evidenziato che la NCs può essere estratte con successo dalla polpa di cellulosa degli scarti agroalimentari, offrendo un'alternativa sostenibile ai procedimenti chimici convenzionali sulle fonti legnose, e modificando il processo e/o le sue condizioni operative è possibile modificare le proprietà delle nanoparticelle in base al prodotto finale e all'applicazione desiderata.

La parte finale di questo studio ha riportato la fattibilità dell'utilizzo della NCs in diverse applicazioni innovative come: (i) stabilizzante di emulsioni Pickering, (ii) strutturazione dell'olio tramite sospensioni capillari, (iii) sistemi di decontaminazione di coloranti dai reflui, (iv) rinforzo in rivestimenti commestibili e (v) struttura di rete per catturare CO₂ tramite legami covalenti. In sintesi:

- i. La struttura morfologica delle NCs pretrattate meccanicamente ha mostrato un'alta mobilità e flessibilità all'interfaccia acqua-olio, risultando un efficiente emulsionante a diversi stimoli ambientali, con le fibrille che avvolgono le goccioline di olio per la loro stabilizzazione. In modo notevole, l'alto grado di defibrillazione della NCs ottenuta tramite HPH contribuisce a formare una struttura di rete interconnessa delle goccioline di emulsione, promuovendo la loro efficiente stabilizzazione sterica ed elettrostatica.
- ii. Il trattamento meccanico HPH può essere applicato alle particelle lignocellulosiche direttamente sospese in olio. In questo modo si riducono efficientemente le dimensioni e, allo stesso tempo, si induce l'attivazione delle fibre, fenomeni importanti nella formazione di ponti capillari e di una struttura tridimensionale per regolare la viscosità apparente e lo stress di snervamento delle sospensioni capillari quando viene aggiunta acqua come fluido secondario. Pertanto, la strutturazione dell'olio con particelle lignocellulosiche trattate da HPH può supportare lo sviluppo di oleogel più sostenibili e salutari in sostituzione dei grassi solidi, consentendo di ridurre il contenuto calorico, aumentare il contenuto di fibre alimentari e sfruttare il recupero di preziosi composti bioattivi ancora presenti nei residui. Inoltre, i composti antiossidanti rilasciati nella sospensione permettono di ridurre l'ossidazione dell'olio di girasole utilizzato nelle sospensioni capillari a causa dell'aggiunta di acqua.
- iii. Gli aerogel a base di NCs sono materiali adsorbenti promettenti per il trattamento delle acque reflue, grazie al loro basso costo e all'elevata capacità di adsorbimento. Gli aerogel a base di NCs hanno una capacità di adsorbimento elevata per il blu di metilene, che può essere attribuita alla struttura porosa interna e all'interazione elettrostatica tra NCs e molecole di colorante cationico. In particolare, hanno mostrato una capacità di rimozione del blu di metilene pari o superiore al 90%.
- iv. È stato condotto uno studio sui rivestimenti commestibili a base di alginato di sodio rinforzati con NCs batteriche sulla durata di conservazione delle fragole. I rivestimenti commestibili sviluppati contribuiscono a prolungare la durata di conservazione, riducendo la crescita della flora microbica endogena (carica microbica totale, lieviti e muffe) per oltre 27 giorni in condizioni refrigerate rispetto al controllo.
- v. È stato ottimizzato il processo di funzionalizzazione della NCs con amine. Gli aerogel preparati con la NCs modificata mostrano un potenziale di adsorbimento di CO₂, offrendo nuove opportunità per la progettazione di nuovi biomateriali funzionali con proprietà controllate.

Questa tesi di dottorato dimostra la possibilità di sviluppare e modificare le proprietà della NCs fisicamente o chimicamente tramite diversi approcci sostenibili. Pertanto, questa tesi è in linea all'importanza dell'economia circolare con lo sfruttamento di scarti agroalimentari e lo sviluppo di processi innovativi e (nano)materiali rispettosi dell'ambiente.

Abstract (English)

In recent years, there has been a growing interest in the development of sustainable alternative materials due to the environmental impacts related to the high disposal of fossil oil-based products. In this regard, cellulose is a key constituent and an attractive feedstock as one of the most abundant, cost effective, renewable, and biodegradable biopolymers in nature. Cellulose is characterized by noteworthy structure and properties due to its unique molecular structure, consisting of a highly ordered polymer of cellobiose unbranched chains of β -1, 4-linked glucose units, which act as a framework for the three-dimensional polysaccharide structure. The promising chemical (such as hydrophilicity, chirality, degradability, and broad chemical variability) and mechanical (non-toxic, biocompatible, renewable, and biodegradable) properties of cellulose have aroused increasing interest as building blocks for the development of new biomaterials, especially through advanced nanotechnology tools, which enables further promotion of its techno-functional attributes. Nevertheless nowadays, cellulose is isolated from wood sources, and as structural plant component is much more difficult to deconstruct. Indeed, its innate close polymeric alignment and its intimate relationship with other lignocellulosic components such as hemicellulose and lignin limit the accessibility to cellulose. A delignification process with effective harsh acid or alkaline chemical hydrolysis treatment to split cellulose and hemicelluloses from lignin is a crucial step and undoubtedly the most challenging. However, these current methods are expensive and energy consuming and utilize chemicals which entail special disposal, handling or production procedures. Taking into account environmental sustainability, it is counterproductive to combine energy-severe, wasteful processes on wood sources.

In the context explained above, the works carried out during this Ph.D. thesis have demonstrated that the process required to enhance cellulose accessibility and recovery is strongly influenced by the nature of the native biomass. Consequently, agri-food residues/by-products (AFRs) represent a new and promising feedstock for the development of new sustainable processes to isolate cellulose established on nonconventional technologies with low environmental and economic impacts and high efficiency, emphasizing the stringent need to also diversify and valorize the biobased waste with circular economy strategies. In this context, high-pressure homogenization (HPH), nonthermal and purely physical treatment, is here exploited for the first time to increase the efficiency of mild chemical hydrolysis processing for isolation of cellulose from agri-food residues (increasing the cumulative yield extraction of about 20%), while leading to a drastic reduction in the use of chemicals, shortening the processing times by process intensification, enhancing purity, inducing a defibrillated cellulose structure, are enabling the concurrent recovery of high-value-added bioactive compounds with high antioxidant capacity in the side streams. Moreover, the fluid-mechanical stresses (high shear, elongation, turbulence and hydrodynamic cavitation) occurring during the HPH treatment, in combination with mild hydrolysis, improved the cellulose defibrillation and contributed to trimming down the length of the fibers. The comprehensive utilization of AFRs feedstocks has attracted considerable interest also for the development of new sustainable processes established on bottom-up green constructing strategy. The work was undertaken for the recovery of the biofilm by-product derived from Kombucha tea fermentation process using micronized AFRs as carbon source in alternative to the conventional synthetic media to decrease the culture media costs and enhance the yield production, to obtain nanostructured cellulose with remarkable biological and physico-mechanical properties. These isolation routes allowed the achievement of cellulose pulp with tailored morphological properties from underused AFRs feedstocks or by-products of fermentation processes (evaluated through light scattering for particle size distribution, optical and scanning electron microscopy, and FT-IR analysis), decreasing the severity of conventional chemical processes and increasing the exploitation of low-cost industrial by-products. From the overall results collected in this section, the efficient cellulose extraction has been accomplished along with the valorization of the value-added compounds still contained in the AFRs biomass.

To further improve the financial performance and sustainability of biomass biorefineries, to develop more sustainable materials, and thanks to the hierarchical structure of cellulose, the top-down processes have been employed enabling the isolation of nanocellulose (NCs) into cellulose nanocrystals (CNCs) or cellulose nanofibrils (CNFs), depending on the treatment carried out and operating processing conditions. NCs can be successfully obtained from AFRs isolated cellulose fiber through mechanical (ball milling and HPH) and TEMPO [(2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-yl) oxy radical]-mediated oxidation processes or a combination of these methods. A systematic characterization of the structural properties of the nanomaterials obtained after each process revealed that different treatments allowed to extract the cellulose nanoparticles with different morphological and physical properties. Therefore, these findings demonstrated that NCs could be successfully extracted from AFRs cellulose pulp, offering a sustainable alternative to conventional chemical procedures on wood sources, and changing the process and/or its operating conditions it is possible to tune the properties of nanoparticles, according to the desired end product and application.

The final part of present study reported the feasibility of using NCs in different innovative applications such as (i) Pickering emulsion stabilizer, (ii) oil-structuring through capillary suspensions, (iii) decontamination systems of dyes from wastewater, (iv) reinforcement in edible coatings, and (v) network structure to capture CO₂ via covalent bonding. In summary:

- vi. The morphological structure of mechanically pre-treated NCs exhibited high mobility and flexibility at the oil-water interface, resulting in an efficient emulsifying ability at different environmental stimuli, with the fibrils wrapping around the oil droplets for their stabilization. Remarkably, the high defibrillation degree of NCs obtained via HPH contribute to forming an interconnected network structure of the emulsion droplets, promoting their efficient steric and electrostatic stabilization.
- vii. The HPH mechanical treatment can be applied to the lignocellulosic particles directly in oil, to efficiently cause particle break-up, and, at the same time, to induce the activation of fibers, which is important in the formation of capillary bridges and a three-dimensional network, to regulate the apparent viscosity and yield stress of the capillary suspension, when water as secondary fluid is added. Therefore, oil structuring with lignocellulosic particles treated by HPH may support the development of more sustainable and health-beneficial oleogels in replacement of solid fats, enabling to reduce of the caloric content, increase the dietary fiber content, as well as exploit the recovery of valuable bioactive compounds still present in the residues. Moreover, the antioxidant compounds released in the suspension allow reducing the oxidation of sunflower oil used in the capillary suspensions due to the water addition.
- viii. Low-density and high porosity NCs-based aerogels have been successfully obtained and considered promising adsorbent materials for wastewater treatment, owing to their low-cost and high adsorption capacity. Indeed, NC-based aerogels have a high adsorption capacity for methylene blue, which could be ascribed to the internal porous structure and the electrostatic interaction between NCs and cationic dye molecules. In particular, they exhibited a methylene blue capacity removal equal to or higher than 90%.
- ix. An exploratory study of sodium alginate-based edible coatings reinforced with bacterial NCs on strawberries' shelf life was also conducted. The developed edible coatings contribute to prolonging the shelf life, by reducing the growth of the endogenous microbial flora (total microbial load, yeasts, and molds) over 27 days at refrigerated conditions in comparison with the control.
- x. The optimization of amination to functionalize NCs was experimentally investigated, and the aerogels synthesis was achieved by freeze-drying technology. The as-prepared aerogels show the potential for substantial adsorption of CO₂, offering new opportunities for the design of novel functional biomaterials with controlled properties.

This Ph.D. thesis demonstrates the possibility of developing and tailoring the properties of physically or chemically modified NCs by different sustainable approaches. Therefore, this thesis is aligned with the importance of circular economy with the exploitation of AFRs and developing innovative and environmentally friendly processes and (nano)materials.