



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI AGRONOMIA

ANIMALI ALIMENTI RISORSE NATURALI E AMBIENTE

DIPARTIMENTO DI BIOMEDICINA COMPARATA ED ALIMENTAZIONE

CORSO DI LAUREA IN SCIENZE E TECNOLOGIE ALIMENTARI

## LE NANOTECNOLOGIE NELLA FILIERA AGROALIMENTARE

Relatore:

Prof. Massimiliano Magro

Laureando

Enrico Convento

Matricola n. 2001978

ANNO ACCADEMICO 2023-2024



## Sommario

Riassunto.....	iii
<b>Abstract</b> .....	<b>iii</b>
Introduzione.....	v
<b>1</b> AGRICOLTURA DI PRECISIONE .....	<b>5</b>
1.1 Nanotecnologie applicate ai pesticidi .....	5
1.2 Nanotecnologie applicate ai fertilizzanti .....	7
1.3 Nanosensori per monitorare le coltivazioni .....	14
<b>2</b> PROPRIETÀ E APPLICAZIONI ANTIMICROBICHE DELLE NANOPARTICELLE .....	<b>19</b>
2.1 Proprietà antimicrobiche: .....	19
2.2 Nanovettori antimicrobici alimentari.....	21
<b>3</b> NANOPARTICELLE MAGNETICHE PER L'ESTRAZIONE DI MOLECOLE DA MATRICI ALIMENTARI .	<b>27</b>
<b>4</b> NANOTECNOLOGIA NEL FOOD-PAKAGING.....	<b>39</b>
4.1 Packaging con imballaggio migliorato .....	40
4.2 Packaging attivo .....	42
4.3 Packaging intelligente.....	45
<b>5</b> NANOTOSSICOLOGIA E ASPETTI NORMATIVI.....	<b>49</b>
5.1 Aspetti tossicologici .....	49
5.2 Aspetti normativi .....	50
<b>6</b> CONCLUSIONI .....	<b>43</b>
<b>7</b> Bibliografia .....	<b>45</b>



## **Riassunto**

Questa tesi esplora le applicazioni e le potenzialità delle nanotecnologie nel settore agroalimentare, con particolare attenzione ai seguenti ambiti: agricoltura di precisione, proprietà e applicazioni antimicrobiche delle nanoparticelle, nanoparticelle magnetiche per l'estrazione di molecole da matrici alimentari, nanotecnologia nel food-packaging, aspetti tossicologici e normativi. Attraverso un'analisi dettagliata di diversi esempi di nanomateriali e nanosistemi, si evidenzia come le nanotecnologie possano offrire soluzioni innovative e altamente competitive per migliorare l'efficienza, la sicurezza e la sostenibilità della filiera agroalimentare. Tuttavia, si sottolinea anche la necessità di affrontare con responsabilità e cautela le questioni etiche, normative e ambientali connesse all'utilizzo delle nanotecnologie, al fine di garantire un impatto positivo sul settore agroalimentare e sulla salute pubblica.

## **Abstract**

This thesis explores the applications and potential of nanotechnology in the agrifood sector, focusing on the following areas: precision agriculture, antimicrobial properties and applications of nanoparticles, magnetic nanoparticles for the extraction of molecules from food matrices, nanotechnology in food-packaging, and toxicological and regulatory aspects. Through a detailed analysis of several examples of nanomaterials and nanosystems, it is shown how nanotechnology can offer innovative and highly competitive solutions to improve the efficiency, safety, and sustainability of the agrifood supply chain. However, the need to responsibly and cautiously address ethical, regulatory, and environmental issues related to the use of nanotechnology is also emphasized in order to ensure a positive impact on the agribusiness sector and public health.



## Introduzione

A livello scientifico, lo sviluppo della branca delle nanotecnologie è stato un processo lungo e complesso, che ha coinvolto diverse discipline scientifiche e tecnologiche. Si può far risalire l'inizio della "nano-scienza" al 1959, quando il fisico Richard Feynman tenne una famosa conferenza intitolata "*There's Plenty of Room at the Bottom*" perché ha introdotto il concetto di manipolazione e controllo della materia su una scala molto piccola, che è fondamentale per la nanotecnologia.<sup>1</sup> Successivamente nel 1974 Norio Taniguchi dell'Università di Tokyo usò per la prima volta il termine "nanotecnologia". Tuttavia, le prime osservazioni dirette di nanoparticelle furono realizzate solo negli anni '80, grazie allo sviluppo di strumenti come il microscopio a scansione elettronica (SEM) e il microscopio a effetto tunnel (STM).<sup>2</sup> Con il termine nanoparticella si intende una particella costituita da "cluster" atomici o molecolari con almeno una dimensione spaziale compresa nel range di scala nanometrica tra 1-100 nm.<sup>3</sup> Secondo una ulteriore definizione un nanomateriale può essere naturale, incidentale o costruito artificialmente, presentandosi come un insieme di particelle in forma legata, non legata, aggregata o agglomerata in cui almeno il 50% di esse abbiano dimensioni comprese tra 1 e 100 nm.<sup>4</sup>

In queste particolari dimensioni le particelle presentano un comportamento totalmente differente rispetto ai medesimi materiali in forma "bulk", acquisendo proprietà chimico-fisiche e biologiche uniche.

Le due fondamentali caratteristiche intrinseche delle nano particelle sono: L'Elevata reattività e comportamenti quantici.

L'elevata reattività deriva dall'incremento della superficie specifica; ovvero dall'aumento del rapporto superficie volume<sup>5</sup>. Mentre, i comportamenti quantici, sono la manifestazione del "quantum effect", che determina il passaggio dal comportamento della particella dal prevedibile della fisica classica a quello più complesso della meccanica quantistica. In particolare, una particella di grandezza tra 1-10

nanometri è così piccola da essere comparata alla dimensione della lunghezza d'onda di un elettrone.

Quando le particelle sono confinate in un raggio specifico a livello nanometrico, gli elettroni all'interno delle nanoparticelle non hanno la libertà di muoversi su tutto il materiale. Questo influisce sul comportamento degli elettroni, portando a ciò che è noto come "effetto quantico".<sup>6</sup>

In natura, da sempre la materia presenta anche dimensioni nanometriche come nel caso di particelle derivanti da attività geologiche sia come particelle di origine biologica come argilla, il licopene dei pomodori, vari composti derivati dalla materia organica del suolo, lipoproteine, esosomi, magnetosomi, virus e ferritina<sup>7</sup>. Persino lo stesso DNA può essere classificato come nanomateriale<sup>8</sup>. Non a caso, infatti, la natura ha selezionato questa scala dimensionale della materia per svolgere importanti funzioni biologiche. Gli animali utilizzano la "nanotecnologia" in diversi modi, sfruttando nanostrutture per arrampicarsi, strisciare, mimetizzarsi, corteggiare e prosperare. Alcuni esempi sono: il gecko tokay utilizza strutture nanometriche per aderire a superfici verticali e addirittura al soffitto<sup>4</sup>. Molti insetti possiedono una risonanza ferromagnetica dipendente dalla temperatura, e le nanoparticelle magnetiche presenti negli insetti sociali agiscono come sensori geomagnetici.<sup>9</sup> Le farfalle sfruttano delle nanostrutture per creare effetti ottici come l'iridescenza<sup>10</sup>. Adirittura, nel nostro corpo vi è la presenza di nanoparticelle biologiche. La matrice dell'osso umano infatti è composta principalmente da cristalli di idrossiapatite, ovvero nano cristalli di fosfato di calcio. Questi cristalli sono organizzati in una struttura altamente ordinata a livello nanometrico, conferendo forza e durezza alle ossa.<sup>11 12</sup>

Se pensiamo alle nanotecnologie naturalmente pensiamo a materiali e applicazioni contemporanei ma di fatto sono state trovate in moltissimi manufatti antichi. Fin dall'antichità, infatti, l'uomo ha sfruttato le proprietà di materiali a scala nanometrica, seppure inconsciamente, per creare oggetti di uso comune o di valore



artistico. Un esempio sono i vetri colorati delle finestre delle cattedrali medievali, i quali contengono nanoparticelle di ossidi metallici incorporati durante il processo di fusione che conferiscono loro tonalità di colore variabili a seconda dell'angolo di incidenza della luce<sup>13</sup>. Oppure la *Lycurgus Cup*, un calice romano del IV secolo d.C., cambia colore da verde a rosso quando viene illuminato dall'interno, grazie alla presenza di nanoparticelle di oro e argento nel vetro ceramico<sup>14</sup>. Altre applicazioni di nano particelle sono state scoperte nelle spade in acciaio dei guerrieri giapponesi, le famose katane le quali presentano inclusioni nanometriche di carburo di ferro che ne rinforzano la lama<sup>15</sup>.

Le nanotecnologie sono applicabili in svariati settori, grazie al costante progresso della ricerca scientifica. Nello specifico contesto agroalimentare, di fronte alle sfide poste dal cambiamento climatico, che compromette la produzione alimentare mondiale, e dalla crescita demografica, che ne aumenta la domanda<sup>16</sup>, le nanotecnologie rappresentano soluzioni innovative e altamente competitive per migliorare l'efficienza della filiera alimentare e allo stesso tempo garantirne la sicurezza.

Questa tesi analizza dunque alcune delle più efficaci applicazioni e potenzialità delle nanotecnologie nel settore agroalimentare.



## 1 AGRICOLTURA DI PRECISIONE

La nanotecnologia si è dimostrata come una delle migliori soluzioni ai problemi dell'agricoltura moderna e si stima che sarà una delle forze economiche principali nel breve futuro includendo sia la produzione di cibo che mangimi per animali.<sup>17</sup>

Nell'agricoltura di precisione le nanotecnologie vengono utilizzate per migliorare l'efficacia e la resa dei pesticidi, nanofertilizzanti e nanosensori in grado di rilevare un'ampia varietà di fertilizzanti, erbicidi, pesticidi, insetticidi, agenti patogeni, umidità e pH del suolo.<sup>18</sup>

### 1.1 Nanotecnologie applicate ai pesticidi

Nel mercato i nano pesticidi coprono un'ampia varietà di prodotti, alcuni di essi sono già nel mercato, e si presentano sotto forma di miscele che comprendono tensioattivi, polimeri (organici) e nanoparticelle metalliche.

Il problema principale che la nanotecnologia va a risolvere nell'uso dei pesticidi è la bassa solubilità in mezzi acquosi di questi ultimi. Infatti, la polvere bagnabile (WP) e il concentrato emulsionabile (EC) sono le principali formulazioni di pesticidi nei prodotti antiparassitari convenzionali. Tuttavia, il loro effettivo utilizzo da parte degli ingredienti attivi (IA) dell'assorbimento del bersaglio biologico è inferiore allo 0,1% dopo la deriva della polvere e la lisciviazione dell'acqua piovana. Grazie alla nanoincapsulazione anche i pesticidi più idrofobici aumentano la loro capacità di solubilizzazione, migliorando notevolmente l'omogeneità di dispersione e permettendo un rilascio più controllato e mirato in determinate condizioni ambientali come ad esempio pH, salinità e temperatura, inoltre diminuiscono la loro degradazione nel tempo causata da fattori esterni come le radiazioni ultraviolette.<sup>19</sup>

Ad esempio, l'ingrediente attivo "*Avermectina*", ampiamente utilizzato per la sua ottima efficacia ha un'emivita di 6 ore dovuta alla alta sensibilità alla luce ultravioletta che causa la sua degradazione. A seguito del suo legame in una lunga catena

di poli(glicole etilenico)-carbossilmetilcellulosa (PEG-CMC) sottoforma di nanoparticelle il suo tasso di degradazione era inferiore del 50% dopo 72 ore di illuminazione alla luce UV.<sup>20</sup>

Come precedentemente citato un ulteriore approccio per aumentare la stabilità dei componenti attivi è l'utilizzo di nanomateriali sintetizzati per creare un guscio protettivo. Incapsulando gli IA in nanocapsule di silice mesoporosa queste ulteriormente ricoperte ulteriormente con ciclodestrina, si è dimostrata una degradazione inferiore al 9% delle sostanze attive dopo 24 ore di esposizione alla radiazione UV. L'utilizzo di nanoparticelle magnetiche rappresenta un ulteriore approccio a minor impatto ambientale. L'erbicida glifosato e l'insetticida cipermetrina sono associati a nanoparticelle di diatomee legate a Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> incapsulate in un guscio di chitosano.

Il Chitosano in seguito alla sua degradazione in presenza di pH acido rilascia i composti attivi, mentre le proprietà magnetiche di Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, permettono la rimozione dei nanovettori dal suolo o dall'acqua tramite campi magnetici, riducendo al minimo la loro contaminazione ambientale.

Le nanoparticelle possono essere usate direttamente come pesticida non solo come carrier per sostanze chimiche convenzionali come precedentemente descritto. Nanoparticelle di argento, hanno elevatissime capacità biotossiche dovute alle loro dimensioni ridotte e al loro elevato rapporto superficie volume. Studi hanno dimostrato come le **nanoparticelle di argento** entrano nelle cellule tramite fagocitosi<sup>21</sup>, o per diffusione passiva<sup>22</sup>.

Il "nanoargento" può penetrare dunque nel citoplasma e localizzarsi in diverse strutture cellulari come; le vescicole, i mitocondri, i nuclei o altri organelli. Le nanoparticelle di argento agiscono sulla cellula microbica in diversi modi: possono danneggiare la parete cellulare, alterare il metabolismo, interferire con la sintesi proteica e il DNA, o rilasciare ioni Ag<sup>+</sup> tossici. L'efficacia biocida delle nanoparticelle di argento dipende anche dalla loro forma, dimensione e rivestimento.<sup>23</sup>

Ad esempio, nello studio di Bharani et al.<sup>24</sup> è stato esaminato lo stress indotto dalle nanoparticelle di argento sulla fisiologia e microflora intestinale di *Spodoptera litura*; un insetto dannoso per molte colture, come; il pomodoro, il cotone, il riso e il mais. Misurando i parametri dell'indice nutrizionale, l'attività degli enzimi intestinali e la composizione della microflora intestinale, gli autori hanno riscontrato una riduzione significativa di tutti i parametri testati a seguito del trattamento con le nanoparticelle di argento, dimostrando dunque, un ottimo effetto contro l'infestazione di *S. litura*. In conclusione, le nanoparticelle d'argento possono essere usate come biopesticidi ecocompatibili contro gli insetti parassiti associati a colture economicamente importanti.

## 1.2 Nanotecnologie applicate ai fertilizzanti

Le nanoparticelle possono essere progettate per veicolare specifici elementi nutritivi, come azoto, fosforo o potassio, ottimizzando la fitodisponibilità di tali nutrienti per le piante. Infatti, grazie al loro elevato rapporto superficie volume riescono ad essere assorbite con miglior efficienza dalle radici delle piante. Inoltre, le nanotecnologie consentono di incorporare materiali che favoriscono la ritenzione idrica nel suolo come nanoparticelle idrofobiche, nanogel idratanti<sup>25</sup>, polimeri idroretentori, nanomateriali assorbenti a base di cellulosa e di argilla idrofila, migliorando così l'efficienza nell'uso dell'acqua. Questa innovazione mirata contribuisce non solo a migliorare la produzione agricola, con rese fino a tre volte maggiori<sup>26</sup>, ma anche ridurre l'impatto ambientale associato all'eccessiva applicazione di fertilizzanti convenzionali. Uno dei principali vantaggi dei nanofertilizzanti è la possibilità di modulare la formulazione in modo specifico per colmare carenze nutrizionali specifiche delle piante. Ciò grazie alla possibilità di poter legare singolarmente nutrienti specifici sulla superficie delle nanoparticelle.<sup>27</sup>

La "Nanozeolite" è uno dei più promettenti nanofertilizzanti per le sue proprietà e il suo costo ridotto. Infatti, se utilizzato come nanovettore ha ottime capacità di rilasciare in modo controllato i nutrienti azotati, potassici, fosforici e minerali nel

suolo. La sua struttura cristallina e altamente porosa unita a ioni inorganici negativi idrati in essa contenuti; permette un elevatissimo scambio ionico inducendo una miglior ritenzione e un rilascio graduale di ioni nutritivi con carica positiva e negativa.<sup>28</sup>

### ***Esempi di nano fertilizzanti***

nanoparticelle di zinco/ossido di zinco:

Lo zinco è un nutriente essenziale per le piante e gli animali, ma spesso è scarso nei suoli e negli alimenti<sup>29</sup> Per migliorare la nutrizione delle colture e degli esseri umani, si possono usare fertilizzanti arricchiti con zinco sotto forma di ossidi o solfati. Sotto forma di nanoparticelle, lo ZnO può essere assorbito, metabolizzato e accumulato nei sistemi vegetali.<sup>30</sup> L'ossido di zinco in dimensioni nanometriche, ha un'ampia gamma di applicazioni in agricoltura. Non solo viene utilizzato come fertilizzante nella produzione agricola, ma ha anche la capacità di bloccare le radiazioni UV eccessive durante la crescita delle piante.<sup>31</sup>

Nanoparticelle di biossido di titanio (TiO<sub>2</sub> NP)

Le nanoparticelle di TiO<sub>2</sub> hanno effetti diversi sulle piante a seconda della loro concentrazione, dimensione e dispersione. Alcune piante, come gli spinaci, possono beneficiare di basse concentrazioni di nanoparticelle che stimolano la fissazione dell'azoto e la fotosintesi.<sup>32</sup> Tuttavia, è stato riportato come altre piante (mais e grano) possano subire danni da nanoparticelle di dimensioni superiori ai 20nm che non riescono a penetrare nelle cellule radicali, accumulandosi così nel suolo e andando ad alterare gli enzimi rendendoli tossici ed intaccare l'ecosistema.<sup>33</sup> Questi risultati suggeriscono che le nanoparticelle di biossido di titanio e zinco devono essere applicate con cautela monitorandole attentamente per evitare effetti negativi sull'ambiente.

### Nanoparticelle di ossido di Cerio (CeO<sub>2</sub>NP)

Le nanoparticelle di ossido di cerio (CeO<sub>2</sub> NP) sono nanomateriali usati in agricoltura per migliorare le colture e la nutrizione.<sup>34</sup> Il loro effetto dipende da quanto se ne usa, dal tipo di suolo e di pianta. A basse dosi, favoriscono la crescita e il valore nutritivo delle piante. A dosi alte, possono essere dannose per alcune specie. Per esempio, la lattuga e la soia crescono meglio con 10<sup>2</sup> mg/kg di CeO<sub>2</sub> NP, ma peggio con 10<sup>3</sup>mg/kg.<sup>35</sup> Questo dipende anche dall'umidità del suolo e dalla carica delle nanoparticelle. Questi risultati valgono per gli esperimenti in laboratorio o in piccola scala, ma cambiano in campo aperto per via delle reazioni che potrebbero essere coinvolte nel terreno.

### Nanoparticelle di rame e ossido di rame (CuO NPs)

Il rame è considerato il terzo metallo più importante a causa del suo uso quotidiano e della sua importanza per la maggior parte degli esseri viventi<sup>36</sup>. Le nanoparticelle di ossido di rame hanno trovato applicazione in agricoltura come fertilizzanti, regolatori della crescita delle piante, pesticidi, erbicidi e additivi per la bonifica del suolo.<sup>37</sup> Tuttavia, l'accumulo di nanoparticelle di ossido di rame può ridurre il contenuto d'acqua e la crescita delle verdure.<sup>38</sup> Le nanoparticelle di ossido di rame, hanno un effetto benefico sul processo fotosintetico delle piante ma in concentrazioni elevate si è rilevata la presenza di necrosi, deformazioni stomatiche e complessi organici di rame nei tessuti fogliari, suggerendo uno stress ossidativo indotto dalle nanoparticelle di CuO.<sup>39</sup> Inoltre, le nanoparticelle di ossido di rame mostrano un'efficacia antimicrobica, influenzando così gli equilibri tra i batteri presenti nel suolo. Tuttavia, le nanoparticelle di rame risultano tossiche in seguito a reazioni redox che avvengono nel mezzo utilizzato per la dispersione<sup>40</sup>.

## Nanoparticelle di ossido di ferro

Il ferro si presenta principalmente sotto forma di ossidi come magnetite ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ), maghemite ( $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ ) ed ematite ( $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ ). La carenza di ferro nei terreni e nelle colture è un problema comune e per risolverlo, vengono utilizzati i fertilizzanti con ferro in forma chelata. Recentemente, si è dimostrato che la concimazione ferrosa delle colture sotto forma di nanoparticelle di maghemite, aumentano la germinazione dei semi, aiutano la crescita delle radici e aumentano il contenuto di acqua nella clorofilla.<sup>41</sup>

Si ritiene che i nutrienti raggiungano altre parti della pianta attraverso la radice, rendendola una via importante per l'assorbimento dei nutrienti. Tuttavia, è stato anche riportato che i nutrienti possono essere traslocati dalle foglie a varie parti dei tessuti vegetali rappresentando dunque un altro valido accesso per l'assorbimento. Infatti, nanoparticelle di ferro rivestite di carbonio, cosparse sulle foglie e da esse assorbite sono capaci di migrare ad altre parti della pianta<sup>42</sup>.

## Nanoparticelle di metalli nobili

I nanomateriali di metalli nobili, come l'argento, l'oro e il platino, stanno trovando applicazioni sempre più ampie in agricoltura. L'argento, noto per le sue proprietà antimicrobiche, è utilizzato per eliminare i microrganismi indesiderati nei terreni, nelle piante e nei sistemi idroponici riducendo le fitopatie alle piante. Inoltre, è stato dimostrato un effetto positivo nel promuovere la germinazione dei semi e la crescita delle piante<sup>43</sup>. Tuttavia, l'argento può impedire i naturali processi di nitrificazione del suolo<sup>44</sup>. D'altra parte, le nanoparticelle d'oro, pur non essendo tra i nutrienti richiesti nelle colture, sono state utilizzate come pesticidi e hanno dimostrato di favorire la crescita delle piante. Ad esempio, nanoparticelle d'oro a bassa concentrazione nel suolo possono migliorare il rapporto tra la lunghezza del germoglio e quella della radice nei semi di *Lactuca sativa*, senza influenzare la concentrazione microbica o causare tossicità<sup>45</sup>. Altra importante funzione delle nanoparticelle di oro è la possibilità di far complessare i relativi ioni metallici con biomolecole



naturalmente antiossidanti come i flavonoidi e sostanze fenoliche, con la conseguente riduzione di radicali liberi presenti nella pianta e dello stress ossidativo<sup>46 47</sup>. Infine, le nanoparticelle di platino influenzano positivamente il meccanismo di crescita delle piante, di conseguenza, aumentano la lunghezza e il peso dell'apparato radicale<sup>48</sup>. È stato studiato inoltre come queste nanoparticelle di platino possono anche migliorare i meccanismi protettivi delle piante aumentando la concentrazione di flavonoidi. Tuttavia, l'agglomerazione delle nanoparticelle di platino può ostacolare la loro biodisponibilità<sup>49</sup>. Ad esempio, le nanoparticelle possono migliorare l'efficienza dell'uso dei prodotti chimici agricoli, riducendo così la quantità di prodotti chimici necessari.

È importante notare che la fattibilità economica dell'uso di nanoparticelle in agricoltura dipenderà da vari fattori, tra cui il costo di produzione delle nanoparticelle, il risparmio ottenuto dall'uso più efficiente dei prodotti chimici, e il valore dei benefici ambientali e di salute. Pertanto, ulteriori ricerche sono necessarie per determinare la fattibilità economica dell'uso su larga scala di nanoparticelle di metalli nobili in agricoltura.<sup>50</sup>

### Nanoparticelle di selenio (SeNP)

Il selenio, un elemento che può esistere in diverse forme tra cui: seleniuri, alogenuri, ossidi, acidi, ossiacidi, selenoenzimi e rappresenta, un nutriente essenziale per l'essere umano. Oltre un miliardo di persone soffrono di malnutrizione da selenio, rendendo necessaria la sua integrazione diretta o tramite fertilizzazione nelle piante che comporta una maggiore concentrazione negli animali<sup>51</sup>. Il selenio può essere assunto come integratore da cibo o carne, e il metodo migliore per arricchire il cibo per soddisfare le esigenze umane è aumentare il suo livello nelle colture agricole attraverso la spruzzatura o l'integrazione di additivi come seleniti o selenati nei fertilizzanti. Tuttavia, il selenio presenta una tossicità solo se assunto a concentrazioni elevate ( >900 µg/die )<sup>52</sup>. Le nanoparticelle di selenio hanno interessanti proprietà fisico-chimiche e sono molto biodisponibili con buone funzioni

fisiologiche come eccellenti attività antimicrobiche, antiossidanti, ecc.<sup>53</sup> Ad esempio queste nanoparticelle possono essere anche agenti disintossicanti in quanto interagiscono con metalli pesanti come mercurio, cadmio e piombo, proteggendo così gli organismi viventi da varie malattie.<sup>54</sup> Inoltre, i composti di selenio possono agire da antiossidanti grazie alla loro facilità nel formare legami con ligandi come l'amminoacido serina formando selenocisteina (SEC). La selenocisteina può complessarsi alla glutatione perossidasi per neutralizzare i ROS (*Reactive Oxygen Species*) nelle cellule<sup>55</sup>. Le nanoparticelle di selenio vengono applicate nelle piante e nel cibo e sono ampiamente utilizzate in nanomedicina a causa della loro bassa tossicità.<sup>56</sup>

### Nanoparticelle di ossido di silicio

Nonostante non sia considerato un micronutriente essenziale per la crescita delle piante, offre vantaggi notevoli che vanno dal favorirne la crescita e la produttività a migliorarne la resistenza a fattori biotici e abiotici.<sup>57</sup> È stato dimostrato che il biossido di silicio a dimensioni nanometriche riduce il tasso di traspirazione delle piante migliorandone la colorazione verde e l'espansione dei germogli. Inoltre, nanoparticelle di biossido di silicio hanno dimostrato di possedere il potenziale per migliorare i tassi di crescita di diverse piante e verdure con tempi di maturazione brevi<sup>58</sup>.

<b>Nanofertilizzanti (nome commerciale)</b>	<b>Costituenti</b>	<b>Nome del produttore</b>
<b>Nano Ultra-Fertilizzante (500) g</b>	materia organica, 5,5%; Azoto, 10%; P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> , 9%; Okay <sub>2</sub> O, 14%; P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> , 8%; Okay <sub>2</sub> O, 14%; MgO, 3%	SMTET Eco-technologies Co., Ltd., Taiwan
<b>Nano Calcio (Verde Magico) (1) kg</b>	CaCO <sub>3</sub> , 77.9%; MgCO <sub>3</sub> , 7.4%; Rin <sub>2</sub> , 7.47%; K, 0,2%; Na, 0,03%; P., 0,02%; Fe-7,4 ppm; Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> , 6,3 ppm; Sr, 804 ppm; solfato, 278 ppm; Ba, 174 ppm; Mn, 172 ppm; Zn, 10 ppm	AC International Network Co., Ltd., Germania
<b>Nano Capsula</b>	N, 0,5%; P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> , 0,7%; Okay <sub>2</sub> O, 3,9%; Ca, 2,0%; Mg, 0,2%; S, 0,8%; Fe, 2,0%; Mn, 0,004%; Cu, 0,007%; Zn, 0,004%	La migliore rete internazionale Co., Ltd., Thailandia
<b>Nano Micro Nutriente (EcoStar) (500) g</b>	Zn, 6%; B, 2%; Cu, 1%; Fe, 6%+; EDTA Mo, 0,05%; Mn, 5%+; AMINOS, 5%	Shan Maw Myae Trading Co., Ltd., India
<b>PPC Nano (120) mL</b>	Proteina M, 19,6%; Na <sub>2</sub> O, 0,3%; Okay <sub>2</sub> O, 2,1%; (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> , 1,7%; diluente, 76%	WAI International Development Co., Ltd., Malesia
<b>Fertilizzante Nano Max NPK</b>	Acidi organici multipli chelati con i principali nutrienti, aminoacidi, carbonio organico, micronutrienti/oligoelementi organici, vitamine e probiotici	JU Agri Sciences Pvt. Ltd., Janakpuri, Nuova Delhi, India
<b>Fertilizzanti TAG NANO (NPK, PhoS, Zinco, Cal, ecc.)</b>	Proteino-latto-gluconato chelato con micronutrienti, vitamine, probiotici, estratti di alghe e acido umico	Tropical Agrosystem India (P) Ltd., India
<b>Nano Verde</b>	Estratti di mais, grano, soia, patate, cocco e palma	Nano Green Sciences, Inc., India
<b>Biozar Nano-Fertilizzante</b>	Combinazione di materiali organici, micronutrienti e macromolecole	Fanavar Nano-Pazhoo-hesh Markazi Company, Iran

Tabella 1- Nanofertilizzanti attualmente approvati nel mondo<sup>59</sup>

### 1.3 Nanosensori per monitorare le coltivazioni

Il monitoraggio delle coltivazioni è l'ambito con maggior margine di miglioramento nell'agricoltura convenzionale, sapere infatti con precisione quando e in che quantità utilizzare fertilizzanti, pesticidi e acqua rappresenta un fattore essenziale se si vuole avere un impatto ambientale minimo e allo stesso tempo massimizzare il rendimento delle colture. Il funzionamento logico di un sensore è quello di elaborare dati in output, attraverso un trasduttore, come risposta alla rilevazione di un input esterno di tipo meccanico o elettrochimico. Questa risposta sarà successivamente letta da un rilevatore che trasformerà il segnale in una forma leggibile dall'uomo come, ad esempio, in un segnale video in un display.

La nanotecnologia applicata al monitoraggio delle coltivazioni rappresenta uno degli approcci più promettenti. Nanosensori e bio-nanosensori sono infatti in grado di rilevare parametri fisiologici come la crescita delle piante, il tasso di fotosintesi e la risposta allo stress. Possono monitorare la concentrazione di nutrienti nel suolo, il pH, l'umidità, la temperatura e la presenza di patogeni nelle piante e nel suolo. Inoltre, permettono di rilevare la presenza di contaminanti derivati da residui di pesticidi e da metalli pesanti. Il monitoraggio tramite nano sensori e bio-nanosensori garantisce inoltre una precisione e accuratezza elevata dovuta alla loro piccola dimensione, alla loro elevata reattività superficiale e alla loro stabilità termica. Inoltre, essendo sviluppati per interagire in modo specifico e diretto con molecole target, sono estremamente sensibili alle minime variazioni di concentrazione dell'analita.<sup>60 61</sup>

Quando si parla di nanosensori ci si riferisce a sensori in grado di captare segnali chimici o meccanici su scala nanometrica. La loro struttura può essere classificata su due principali categorie: Nanosensori ottici e nanosensori elettrochimici, invece, per quanto riguarda la configurazione si possono identificare; nanosensori chimici, bio-nanosensori, elettrometri e nanosensori dispiegabili.<sup>62 63</sup>

## Bio-nanosensori

Il bio-nanosensore è in grado di rilevare gli analiti attraverso interazioni biologiche. Il processo di rilevazione viene svolto da un componente di origine biologica, come anticorpi, enzimi, acidi nucleici etc. sensibile all'analita target grazie ad un'unità analitica di derivazione biologica.<sup>64</sup> Essi possono essere suddivisi in: ottici, elettrochimici, piezoelettrici, a luminescenza e termici. Trovano ampio uso nella rilevazione di microrganismi patogeni, contaminanti, nutrienti e stati di stress delle piante.<sup>65</sup>

### *Alcuni esempi di applicazione di nanosensori*

#### Rilevamento qualità del suolo

Un esempio di sensore per rilevare l'umidità del suolo è l'utilizzo di nanofibre di Niobato di potassio (KNO) in grado di cambiare la loro conduttività in presenza di molecole di acqua. Il nanosensore è collegato a un misuratore di corrente che registra la variazione della conduttanza in funzione dell'umidità relativa.<sup>66</sup>

Nel rilevamento di metalli pesanti come cadmio, piombo e mercurio vengono utilizzati nanosensori ICTS (*Immunochromatographic strip*)<sup>67</sup>, elettrochimici, ottici e colorimetrici fluorescenti.<sup>68</sup>

Un nanosensore ICTS è un dispositivo che utilizza una striscia immunocromatografica con nanoparticelle di oro o di altri metalli che si legano all'analita presente nel campione da analizzare. Il legame tra le nanoparticelle e l'analita provoca un cambiamento di colore della striscia, che può essere misurato con un lettore ottico.<sup>69</sup>

I nanosensori ottici invece si basano sul principio che la luce assorbita o riflessa da una nanoparticella dipende dalla sua dimensione, forma, composizione e dall'interazione con il mezzo circostante. In presenza di metalli pesanti, le nanoparticelle

possono subire una variazione di queste caratteristiche, che si traduce in un cambiamento del loro spettro ottico.<sup>70</sup> Tra i nanosensori ottici vi sono i nanosensori colorimetrici fluorescenti. Essi emettono fluorescenza quando vengono eccitati da una determinata lunghezza d'onda di luce. La presenza di una sostanza bersaglio può influenzare la fluorescenza, fornendo così un segnale di rilevamento.<sup>71</sup>

Mentre il principio di funzionamento di un nanosensore elettrochimico si basa sulla misurazione da parte di un circuito elettrico di una tensione, una resistenza, o una impedenza che varia in funzione dell'interazione tra il materiale nanometrico e la sostanza da analizzare.<sup>72</sup>

#### Rilevazione di antiparassitari residuali

L'atrazina nel suolo può essere rilevata con nanosensori composti da nanotubi di diossido di titanio  $\text{TiO}_2$ <sup>73 74</sup>. Quando un pesticida entra in contatto con i nanotubi, può causare un cambiamento misurabile nelle loro proprietà come la resistenza elettrica. Questo cambiamento può quindi essere rilevato e utilizzato per determinare la presenza e la concentrazione del pesticida. Il biosensore presenta un'ottima applicabilità nella determinazione dell'atrazina, con alta sensibilità e stabilità, e una rapida risposta. Il limite di rilevazione è di 0.1 ppt.<sup>75</sup>

#### Rilevazione dello stato della pianta

L'utilizzo del sensore raziometrico a punti quantici o quantum dots (QD) e il tracciamento della fluorescenza dei QD sono strumenti promettenti per la rilevazione non invasiva del glucosio nella pianta. Il nanosensore raziometrico a punti quantici è un dispositivo ottico che sfrutta le proprietà di emissione dei punti quantici (QD) per misurare la concentrazione di una sostanza di interesse. I punti quantici sono nanocristalli semiconduttori che emettono luce di diversi colori a seconda delle loro dimensioni e della lunghezza d'onda di eccitazione. Il nanosensore raziometrico a punti quantici consiste di due tipi di QD: uno sensibile alla sostanza da rilevare e

uno di riferimento. Entrambi i QD sono eccitati dalla stessa sorgente luminosa e la loro intensità di emissione viene misurata da un rivelatore. Il rapporto tra le intensità di emissione dei due QD varia in funzione della concentrazione della sostanza da rilevare, che modifica le proprietà ottiche del QD sensibile. Questo rapporto è chiamato raziometria ed è indipendente da fattori esterni come la temperatura, la distanza e l'angolo di misura.<sup>76</sup>

I secondi utilizzano le medesime proprietà ottiche di fluorescenza dei punti quantici ma questo metodo, non implica necessariamente l'uso di un rapporto raziometrico tra due diversi punti quantici. Infatti, monitora i cambiamenti nella fluorescenza di un singolo punto quantico o di un gruppo di punti quantici per tracciare il loro movimento o interazione con altre molecole. Se applicati dunque nella misurazione del glucosio nella pianta, quando entrano in contatto con lo zucchero, essi modificano la loro fluorescenza e, questo cambiamento, può essere rilevato e misurato per calcolarne la concentrazione.<sup>77</sup>





## 2 PROPRIETÀ E APPLICAZIONI ANTIMICROBICHE DELLE NANOPARTICELLE

### 2.1 Proprietà antimicrobiche:

La nanotecnologia si è rivelata molto efficace in applicazioni mediche, alimentari e agricole come alternativa ai metodi tradizionali per la riduzione della carica microbica patogena.

Contestualmente, il meccanismo di azione delle nanoparticelle può essere diretto o indiretto.

- **L'attività antibatterica diretta** avviene grazie all'interazione diretta delle componenti cellulari microbiche con le nanoparticelle metalliche. In particolare, la funzione antibatterica è data dal rilascio di ioni metallici. L'azione antibatterica dipende dalla concentrazione e dalla dimensione delle nanoparticelle<sup>78</sup>

Ad esempio, nanoparticelle di rame e di argento aderiscono direttamente alla parete cellulare dei batteri causandone la lisi, con la conseguente morte della cellula. Inoltre, le nanoparticelle di rame possono essere traslocate all'interno della cellula e interagendo con il DNA, ne bloccano la replicazione. Mentre, le nanoparticelle di biossido di titanio ( $\text{TiO}_2$ ), generano radicali liberi di ossigeno quando vengono esposte alla luce ultravioletta. Questi radicali liberi possono essere utilizzati per danneggiare la parete e le strutture cellulari dei batteri<sup>79</sup>

- **Attività antimicrobica indiretta:** L'attività antimicrobica indiretta sfrutta l'utilizzo di nanoparticelle per incapsulare e veicolare il principio attivo antibatterico. Dunque, l'azione non è causata direttamente dalle nanoparticelle, ma esse hanno l'importante ruolo di

modulare il rilascio e mettere in contatto il principio attivo con le strutture cellulari e allo stesso tempo di proteggerlo da agenti esterni.<sup>80</sup>

I nano carriers possono avere forme differenti: nanocapsule, nanosfere, nanoshell, branched, nanocube, nanostar, nanorod, o nanocluster.

Il nanocarrier è composto da un nucleo, formato dal principio bioattivo, ed un rivestimento chiamato parete, composta generalmente da; lipidi, proteine e polisaccaridi, polimeri biocompatibili come polietilene glicole (PEG), poli(lattato-co-glicolato) (PLGA), e polimetilmetacrilato (PMMA), silice mesoporosa e dendrimeri ramificati. I composti bioattivi utilizzati come additivi alimentari antimicrobici sono generalmente: di origine vegetale (polifenoli, oli essenziali e isotiocianati), peptidi antimicrobici (lattoferrina, batteriocine) ed enzimi.<sup>81</sup>

Incorporare agenti antimicrobici nelle nanoparticelle offre diversi vantaggi tecnici, tra i quali la creazione di una superficie più ampia per l'interazione con i substrati biologici. Ciò contribuisce a migliorare la solubilità e l'assorbimento degli antimicrobici. Inoltre, questa strategia aiuta a prevenire l'interazione indesiderata con i componenti degli alimenti, proteggendo gli agenti attivi dai composti volatili rilasciati dall'alimento. Ed Infine, promuove un rilascio mirato e controllato, particolarmente cruciale nella produzione di imballaggi antimicrobici attivi.<sup>82</sup>

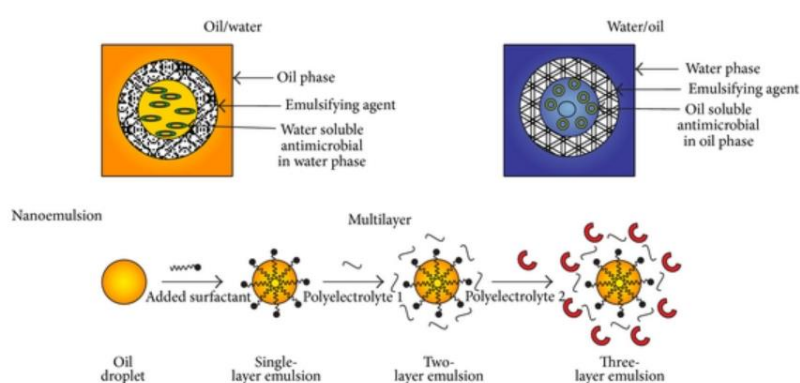
## 2.2 Nanovettori antimicrobici alimentari

### *Nanoemulsioni*

Le nanoemulsioni sono sistemi colloidali stabili di dimensioni nanometriche ( $\leq 100$  nm) formati dalla dispersione di un liquido in un altro liquido immiscibile, con l'utilizzo di agenti emulsionanti.

Queste emulsioni vengono generate con metodi ad alta energia (omogeneizzazione ad alta pressione, microfluidizzazione e ultrasuoni) e metodi a bassa energia (diffusione del solvente).<sup>83 84 85</sup>

Le nanoemulsioni sono comunemente classificate come olio in acqua (O/W), emulsioni multiple olio-in-acqua-in-olio (O/W/O) e acqua-in-olio-in-acqua (W/O/W), nonché emulsioni multistrato con gocce d'olio circondate da strati nanometrici di polielettroliti.<sup>86</sup>



**Figura 1. rappresentazione di nano emulsioni olio/acqua e acqua/olio**

Le nanoemulsioni "olio in acqua" sono in grado di incapsulare principi bioattivi antimicrobici come, ad esempio, oli essenziali che per loro natura, sono insolubili in acqua. Ciò migliora la loro stabilità e distribuzione nella matrice alimentare.

Grazie alle loro dimensioni nanometriche e come ampiamente spiegato precedentemente, il loro rapporto superficie volume permette una maggiore interazione tra il principio attivo e la membrana batterica.

Una migliore efficienza dell'attività antimicrobica consente un minore utilizzo di principio attivo con un conseguente minore impatto sulla qualità del prodotto.

Ad esempio, dalla nanoemulsione di olio di sesamo contenente lo 0,003% di eugenolo è emersa un'efficace attività antibatterica nei confronti di *Staphylococcus aureus*. Mantenendo la stabilità per oltre un mese la nanoemulsione ha indotto una variazione di permeabilità della membrana plasmatica, causando una significativa riduzione della popolazione microbica di 3 log (CFU/mL) dopo 120 minuti.<sup>87</sup>

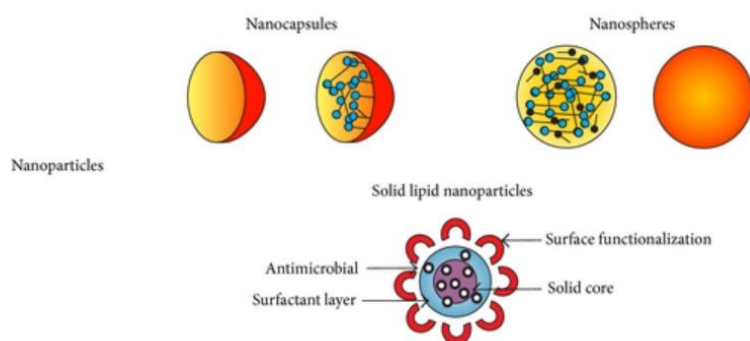
### *Nanoincapsulamento solido*

Per nanoincapsulamento solido ci si riferisce sia a nanosfere che a nanocapsule. La differenza tra le due è che le prime sono costituite da matrici polimeriche al cui interno o nella loro superficie viene incorporato il principio attivo, le seconde invece sono sistemi vescicolari dove il principio attivo viene confinato in un nucleo liquido interno. Le loro proprietà chimico-fisiche, le loro dimensioni, la loro morfologia, la loro carica e stato fisico influenzano le loro prestazioni come sistemi di rilascio.

Le nanoparticelle ad incapsulamento per applicazioni alimentari vengono create attraverso differenti modalità come emulsione/diffusione spontanea, elettrospruzzatura, evaporazione del solvente, polimerizzazione e nanoprecipitazione.<sup>88</sup>

Alcuni esempi sono l'utilizzo di "nanoparticelle lipidiche solide" per l'incapsulamento di principi attivi, prodotte attraverso l'omogeneizzazione ad alta pressione o da microemulsioni. Queste nanoparticelle, infatti, sono dei carrier innovativi basati su una matrice lipidica solida a temperatura ambiente. Rispetto ad altri sistemi essi presentano una maggiore stabilità fisica, garantendo una migliore protezione

del principio attivo e contemporaneamente aumentandone la biodisponibilità.<sup>89</sup>



**Figura 2. rappresentazione della struttura di nanocapsule e nanosfere**

Un ulteriore approccio innovativo di applicazione antimicrobica delle nanoparticelle è il complesso (SAMN@TA) ovvero nanoparticelle magnetiche di maghemite ( $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ ), complessate con molecole di acido tannico per formare il guscio esterno. La maghemite ha una struttura cristallina che favorisce la presenza di domini magnetici. In un materiale magnetico, i domini magnetici sono gruppi di atomi allineati magneticamente. Nella maghemite, questi domini possono essere facilmente influenzati da un campo magnetico esterno.

Il complesso (SAMN@TA) viene utilizzato come carrier di acido tannico (TA) per sfruttando la sua proprietà super paramagnetica in applicazioni antimicrobiche.

Infatti, l'acido tannico, inibisce lo sviluppo *Listeria monocytogenes* attraverso diversi meccanismi, tra cui la chelazione di ioni metallici, l'induzione di stress ossidativo, l'inibizione della motilità e della formazione di biofilm e l'interazione con strutture cellulari come lipopolisaccaridi e flagelline.<sup>90</sup>

L'approccio di creare il complesso (SAMN@TA) si è rilevato particolarmente efficace nell'inibizione della crescita del patogeno *Listeria monocytogenes*. È stato dimostrato come la capacità minima inibitoria (MIC) di SAMN@TA sia equivalente a quella di acido tannico libero (25mg/l) Il vantaggio dell'utilizzo di questa nanotecnologia è dato dalle proprietà magnetiche delle nanoparticelle di maghemite che

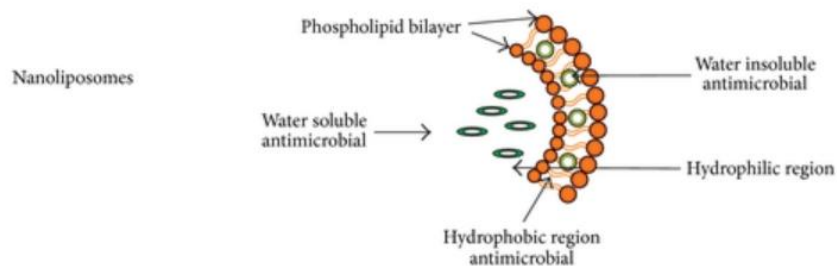
ne permettono la rimozione dalla matrice alimentare non solo dell'acido tannico ma anche di *L. monocytogenes* legata ad esse. Infatti, nonostante le ottime capacità antibatteriche dell'acido tannico libero, esso non risulta removibile dalla matrice alimentare non potendo essere utilizzato come additivo antimicrobico.<sup>91</sup>

### *Nanoliposomi*

I nanoliposomi sono sistemi nanostrutturati costituiti da doppi strati lipidici concentrici che formano vescicole sferiche o bilayer. Questi strati lipidici possono includere fosfolipidi e, talvolta, anche colesterolo. I nanoliposomi sono progettati per incorporare sostanze attive, come farmaci o agenti terapeutici, al loro interno o tra i loro strati lipidici. La loro caratteristica principale è la possibilità di veicolare composti idrosolubili nel nucleo centrale, liposolubili tra le code lipidiche nella doppia membrana e anfifilici tra le due regioni.

I nanoliposomi vengono generati tramite nanofluidizzazione e il riscaldamento di matrici biologiche con alto contenuto di fosfolipidi come: uova, soia o latte. Durante il processo di riscaldamento, una miscela di lipidi viene sciolta in un solvente organico, che viene poi evaporato per formare un film lipidico sottile. Questo film viene poi riscaldato a una temperatura specifica e idratato con una soluzione acquosa contenente il farmaco da incapsulare<sup>92</sup>. Pressioni ad alta intensità vengono utilizzate per ridurre le dimensioni delle particelle in una sospensione o emulsione. Questo processo viene eseguito in un nanofluidizzatore, che è essenzialmente un dispositivo che pompa il fluido attraverso una camera di interazione a geometria

fissa, dove il fluido viene accelerato ad alta velocità attraverso piccoli canali o aperture.<sup>93</sup>



**Figura 3. struttura di un nanoliposoma**

I meccanismi di interazione dei nanoliposomi con le cellule bersaglio sono i seguenti: adsorbimento sulla superficie cellulare, fusione con la membrana cellulare, per endocitosi specifica o aspecifica e fagocitosi.<sup>94</sup>

Un esempio applicativo è l'incapsulamento di molecole di nisina in nanoliposomi di lecitina di soia tramite nanofluidizzazione. Grazie al carattere anfifilico della nisina, è stato possibile incapsularla sia nella fase centrale che in quella lamellare dei nanoliposomi. È stato dimostrato come attraverso questa tecnica la nisina sia stata rilasciata in modo graduale e controllato aumentandone l'efficacia nei confronti di *L. monocytogenes*.<sup>95</sup>





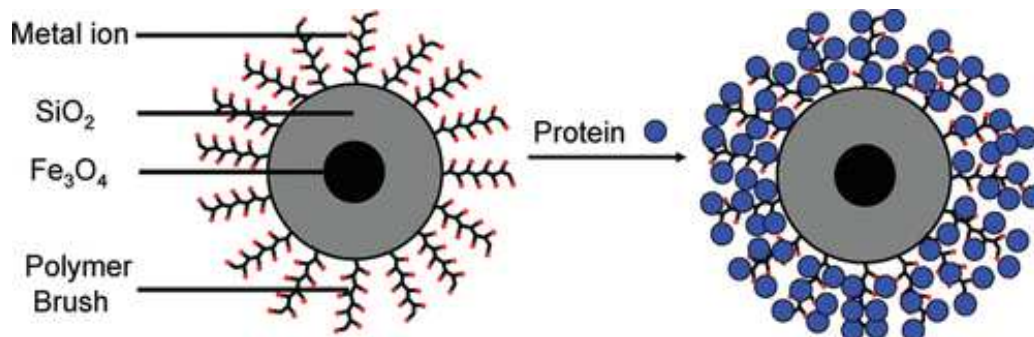
### 3 NANOPARTICELLE MAGNETICHE PER L'ESTRAZIONE DI MOLECOLE DA MATRICI ALIMENTARI

Solitamente l'estrazione e purificazione di sostanze da matrici alimentari nell'industria farmaceutica e alimentare avviene mediante cromatografia, elettroforesi, ultrafiltrazione ed estrazione con solvente<sup>96</sup>. Tuttavia, questi approcci presentano limitazioni notevoli quando applicati su scala industriale. Ad esempio, la cromatografia è spesso caratterizzata da tempi di processo prolungati, elevati costi operativi e benché efficace per molti scopi analitici e di laboratorio, presenta delle complicazioni nel caso si debbano trattare matrici biologiche complesse.<sup>97</sup> L'elettroforesi può essere costosa e complessa, con limitazioni nella separazione di molecole simili.<sup>98 99</sup> L'ultrafiltrazione può causare l'accumulo di particelle sulle membrane, richiedendo manutenzione frequente<sup>100</sup>. L'estrazione con solvente solleva preoccupazioni ambientali e richiede un prolungato processo di evaporazione dopo l'estrazione.<sup>101</sup>

Tra le alternative più promettenti ai comuni metodi di estrazione e purificazione vi è l'utilizzo di nanoparticelle magnetiche. Esse, inoltre, si sono rivelate particolarmente efficaci nell'isolamento e purificazione di proteine e peptidi.

Le nanoparticelle magnetiche (MNPs) presentano un nucleo di ossido di ferro o di altri metalli e sono ricoperte da uno strato superficiale di un ligando che serve a garantire stabilità alla sospensione di nanoparticelle, al fine di evitare la loro aggregazione. Inoltre presentano un agente funzionalizzante che può essere un metallo, un polimero o una biomolecola. Esso ha la funzione di legare la biomolecola che dovrà essere purificata. Le MNPs vengono messe in contatto con il campione biologico da cui si vogliono isolare le molecole di interesse ( e.g. proteine e peptidi) e sfruttando le proprietà di affinità, idrofobicità e carica si crea il legame selettivo tra le MNPs e le biomolecole target. Applicando un campo magnetico esterno si sfrutta il superparamagnetismo del nucleo delle MNPs legate alle biomolecole

target per separarle dalla matrice. In fine si rimuove il campo magnetico e si eluiscono, usando opportune soluzioni tampone o agenti competitivi, le biomolecole target dalle MNPs, per ottenere così, il prodotto purificato.<sup>102</sup>



**Figura 4. Struttura di una MNPs**

Ad esempio, sono state create nanoparticelle di ossido di ferro  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  e ricoperte con due polimeri  $\gamma$ -metacrilossipropiltrimetossilano (MPS) e cloruro di poli[2(metacriloilossi)etil]trimetilammonio (PMAC), per la separazione di glicopeptidi con una capacità di legame di 100mg/g e una purezza dell'82%.<sup>103</sup>

Tuttavia, la necessità di rivestire le nanoparticelle per la separazione magnetica rappresenta vari svantaggi. Primi su tutti il costo e la bassa efficienza nel produrle che non permette a loro di trovare applicazione su larga scala. Inoltre, il rivestimento riduce il momento magnetico medio, riducendone la resa.<sup>104</sup>

Come potenziale soluzione a questi problemi sono state sviluppate nanoparticelle costituite da maghemite stechiometrica ( $\gamma$ -  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ) denominate in letteratura scientifica "surface active maghemite nanoparticles" (SAMN).

Grazie alle loro proprietà chimico-fisiche uniche esse non hanno la necessità di essere rivestite. Infatti, danno luogo ad una sospensione colloidale stabile in acqua per semplice trattamento con ultrasuoni.<sup>105</sup>

Queste nanoparticelle di maghemite hanno trovato applicazione nell'estrazione di curcumina da rizoma della *Curcuma longa* e nell'estrazione della lattoferrina dal siero di latte bovino.<sup>106</sup>

La curcumina è un polifenolo contenuto nel Turmerico; una pianta che fa parte del gruppo della Curcuma. La curcumina ha una notevole capacità di formare complessi stabili con il ferro(III), grazie alla sua struttura chimica che presenta una funzionalità cheto-enolica. Queste funzionalità può legarsi ai siti di ferro(III) presenti sulla superficie delle SAMNs, creando dei legami chimici di coordinazione. In questo modo, la curcumina si lega alle nanoparticelle magnetiche e può essere separata magneticamente da altre sostanze presenti nell'estratto. Successivamente può avvenire la separazione dalle nanoparticelle SAMNs dalla curcumina attraverso una eluizione con alcol al 99,6% per un'ora. Questo approccio ha avuto una resa del 45% con una purezza >98%.<sup>107</sup>



## 4 NANOTECNOLOGIA NEL FOOD-PAKAGING

Il mondo moderno è caratterizzato da una crescente consapevolezza riguardo all'importanza della sicurezza alimentare e della sostenibilità ambientale. In questo contesto, il packaging alimentare gioca un ruolo cruciale nel garantire la freschezza e la qualità degli alimenti, oltre a preservare l'integrità del prodotto durante il trasporto, la conservazione, proteggere da contaminazioni chimiche e microbiologiche. Il packaging assume un ruolo fondamentale nella gestione della shelf life del prodotto alimentare. Il packaging è un'importante variabile nell'impatto che l'industria agroalimentare ha sull'ambiente. Esso può essere ridotto sia ottimizzando la quantità dei materiali usati, sia migliorando la shelf life dei prodotti, quindi minimizzandone lo spreco.

I packaging alimentari tradizionali, come le buste di plastica, i contenitori di cartone o i vasetti di vetro, presentano diversi limiti in termini di protezione, conservazione e sicurezza degli alimenti. Alcuni tra questi sono la permeabilità all'ossigeno, all'umidità e ai microrganismi, inoltre spesso presentano una scarsa resistenza meccanica, termica e difficoltà di riciclaggio.

Nel campo del packaging alimentare, le nanotecnologie possono essere utilizzate per creare imballaggi attivi e intelligenti che interagiscono con il prodotto e con l'ambiente per migliorare la qualità, la sicurezza e la tracciabilità degli alimenti. Ad esempio, nanoparticelle inglobate nel packaging possono rilasciare sostanze antimicrobiche o antiossidanti per prolungare la durata di conservazione degli alimenti, oppure possono cambiare colore o emettere segnali in presenza di alterazioni o contaminazioni. Le nanotecnologie nel packaging alimentare offrono quindi grandi potenzialità, ma richiedono anche una valutazione attenta dei possibili rischi per la salute umana e l'ambiente.

## 4.1 Packaging con imballaggio migliorato

Per imballaggio migliorato si intende l'utilizzo sinergico di tecnologie polimeriche tradizionali e nanotecnologie nel formare un materiale nanocomposito. Tra i principali difetti dei polimeri convenzionali utilizzati nel packaging vi è la scarsa impermeabilità all'ossigeno e scarso isolamento termico. Attraverso l'inclusione di nanoparticelle nella matrice polimerica si possono migliorare notevolmente l'elasticità, le caratteristiche di barriera ai gas e una maggiore stabilità di umidità e temperatura. Tutto ciò va a beneficio della conservabilità dell'alimento aumentandone la shelflife. Inoltre, è possibile conferire proprietà antimicrobiche all'imballaggio sempre grazie alla presenza di particolari nanoparticelle. Un materiale nanocomposito è strutturato in multifase; una fase continua, costituita dalla matrice polimerica e da una fase discontinua o nanoriempitivo formata da un materiale nanodimensionale. Quest'ultimo può essere presente in numerose forme come: nanoparticelle, nanorod, nanotubi, nanofogli.<sup>108</sup>

### Argilla e nanopiastrine di silicato

Vengono utilizzati silicati stratificati, combinati a polimeri come polietilene, nylon, cloruro di polivinile e amido. Essi sono in grado di migliorare le proprietà meccaniche e di permeabilità al vapore. Un esempio è l'utilizzo come nanoriempitivo di argilla Montmorillonite (MMT). Essa si presenta come un foglio ottaedrico di Idrossido di alluminio ( $\text{Al}(\text{OH})^3$ ) tra doppi strati tetraedrici di silice.<sup>109 110</sup> È stato dimostrato infatti come l'applicazione del 5% di nanosilicati in amido termoplastico (TPS) migliora le proprietà meccaniche con una diminuzione di permeabilità al vapore acqueo rispetto al solo TPS.<sup>111</sup> I silicati in dimensione nanometrica possono avere in contemporanea applicazioni di smart packaging. Se complessate con l'estratto di mirtillo gli antociani presenti in esso sono in grado di modificare il proprio colore in base alla variazione al pH dando dunque importanti indicazioni sulla variazione di acidità del prodotto.<sup>112</sup>

### Nanofibre di cellulosa

Le nanofibre di cellulosa hanno una struttura cristallina e si presentano come fasci di molecole allungate tenuti tra loro grazie a legami ad idrogeno<sup>113 114 115 116 117</sup>. È stato dimostrato come l'inclusione di nanofibre di cellulosa in polimeri di amido hanno migliorato le proprietà termo-meccaniche non intaccando la loro biodegradabilità e diminuendone la sensibilità all'acqua.<sup>118</sup>

### Nanotubi di carbonio

I nanotubi di carbonio (CNT) si presentano in due forme principali; nanotubi a parete singola (SWNT) e nanotubi a parete multipla (MWNT). I primi hanno lo spessore di un atomo e lunghezze delle dimensioni nanometriche mentre i secondi sono un insieme di nanotubi concentrici.<sup>119 120</sup>

È stato dimostrato come la loro inclusione in pellicole polimeriche di: polietilene naftalato, l'alcool polivinilico, poliammide e polipropilene abbia notevolmente migliorato la resistenza alla trazione e allo stesso tempo presentino efficaci proprietà antibatteriche, dovute alla loro naturale tendenza di entrare direttamente nelle cellule microbiche e fungine<sup>121</sup>. Ad esempio secondo uno studio di (Dias et al. (2013), l'incorporazione di nanotubi in istocianato di allile abbia inibito lo sviluppo di *Salmonella choleraesuis* per oltre 40 giorni.<sup>122</sup>

### Nanocristalli di amido

I nanocristalli di amido si presentano sottoforma di nanofogli di spessore compreso fra i 6 e 8 nm. Se incorporati in polimeri migliorano la resistenza alla trazione<sup>123</sup>. Mentre grazie alla loro carica positiva e all'aumento della superficie di contatto migliorano l'efficacia antimicrobica dei metalli ad essi incorporati/adsorbiti.<sup>124</sup>

### Nanoparticelle di chitina/chitosano

Il chitosano è un polisaccaride estratto dalla chitina, presente nello scheletro dei crostacei marini, è biocompatibile, biodegradabile e resistente all'ossidazione. Ha proprietà antimicrobiche grazie alla presenza di gruppi amminici e forte polarità positiva che attirano i gruppi carbossilici a carica negativa dei lipidi presenti nelle membrane plasmatiche batteriche.<sup>125</sup>

L'incorporazione di nanoparticelle di chitosano in pellicole di idrossipropilmetilcellulosa (HPMC) ha formato un materiale da imballaggio commestibile con caratteristiche di barriera e resistenza meccanica migliorate<sup>126</sup>.

Un altro esempio è lo sviluppo di pellicole formate da nanoparticelle di chitosano e polimeri di alcol polivinilico che si sono rivelati utili nel contrastare lo sviluppo di *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Bacillus subtilis*.<sup>127</sup>

## 4.2 Packaging attivo

Il packaging attivo è una soluzione innovativa per migliorare la conservazione ed estendere la shelflife dei prodotti andando a modificare attivamente la composizione chimica dell'alimento affinché si contrastino i naturali processi di degradazione.

L'utilizzo della nanotecnologia applicata al packaging permette di attuare queste modifiche nel modo più efficiente. Infatti, è possibile incorporare negli imballaggi alimentari nanoparticelle in grado di rilasciare composti attivi come agenti antimicrobici e antiossidanti o, di scambiare con l'esterno sostanze come ossigeno, vapore acqueo ed etilene.<sup>128</sup>

### Rilascio di nanoparticelle antimicrobiche

È stato studiato l'utilizzo di nanoparticelle inorganiche nella formazione di packaging attivo tra cui Argento (Ag), Oro (Au), Zinco (Zn) Biossido di titanio (TiO<sub>2</sub>), ossido di zinco (ZnO), biossido di silicio (SiO<sub>2</sub>) e nanomateriali derivati dall'ossido di



magnesio (MgO).<sup>129</sup> Come precedentemente spiegato la potenziale attività antimicrobica delle nanoparticelle potrebbe essere attribuita a vari meccanismi, tra cui; l'interazione diretta con le cellule microbiche (con la possibile interferenza nei processi redox di membrana o la penetrazione di tutto l'involucro cellulare), l'influenza su componenti cellulari ossidanti e la generazione di prodotti secondari come le specie reattive dell'ossigeno (ROS) o ioni di metalli pesanti disciolti.

Alcuni esempi sono l'utilizzo di un nanocomposito antimicrobico formato da acido polilattico (PLA) e nanoparticelle di argento che ha dimostrato una forte attività antimicrobica contro *la Salmonella spp.*<sup>130</sup> Inoltre secondo lo studio (Damm, Munstedt e Rosch 2008)<sup>131</sup> si è dimostrata la miglior efficacia di un nanocomposito formato da poliammide e nanoparticelle di argento confrontato con lo stesso polimero ma con incorporate microparticelle di argento contro *E. coli*. Infatti, i risultati hanno indicato che i film contenenti l'1,9% in peso di microparticelle d'argento hanno ucciso l'80% dei batteri, mentre l'incorporazione dello 0,06% in peso delle nanoparticelle d'argento ha eliminato completamente i batteri.<sup>132</sup> Tuttavia la concentrazione massima prevista per legge di ioni di argento è ben al di sotto rispetto della concentrazione minima inibitoria (MIC) necessaria per la maggior parte dei ceppi batterici.<sup>133</sup>

Un altro promettente esempio è l'efficacia antimicrobica contro *E. coli* e *S. aureus*, di nanoparticelle di ossido di zinco incorporate nel polibutilene succinato (PBS)<sup>134</sup>, un polimero biodegradabile e considerato, il miglior sostituto ai polimeri tradizionali.<sup>135</sup>

### Scavenger di ossigeno ed etilene

L'ingresso di ossigeno all'interno della confezione e quindi il suo contatto con alimenti dà origine a molti problemi di ossidazione come; irrancidimento ossidativo, imbrunimento, perdita dei composti aromatici e sviluppo di microorganismi aerobi,

inoltre nel caso di frutti climaterici esso aumenta la respirazione del frutto e quindi anche la produzione di etilene.

Per evitare questi problemi l'approccio classico è quello di creare confezioni sottovuoto oppure inserire gas inserti come azoto e anidride carbonica, formando al suo interno un'atmosfera modificata<sup>136</sup>

Un approccio innovativo atto a risolvere i problemi di presenza di ossigeno ed etilene è lo sviluppo di soluzioni di imballaggio attivo, costituiti da polimeri nanocompositi.

Pellicola di polietilene ad alta densità (HDPE) con nanoparticelle di ferro contenente caolinite e inserite nella matrice polimerica come fase discontinua, hanno dimostrato elevate capacità nell'assorbire l'ossigeno presente all'interno della confezione. Nello specifico questo packaging riesce ad assorbire 43 ml O<sub>2</sub>/g<sub>additivo</sub> al 100% di umidità relativa (UR) e di 37 ml O<sub>2</sub>/g<sub>additivo</sub> al 50% di UR.<sup>137</sup>

Un secondo approccio è quello di sfruttare le reazioni fotocatalitiche del Biossido di titanio (TiO<sub>2</sub>) nella forma nanoparticellare.

Il TiO<sub>2</sub> può essere fotoindotto quando colpito da radiazione UV portando ad una promozione energetica dei suoi elettroni dalla banda di valenza, alla banda di conduzione. Come conseguenza esso può cedere i suoi elettroni all'ossigeno presente nell'aria così da ridurlo ed evitare che ossidi i composti chimici dell'alimento.<sup>138</sup> È stato dimostrato inoltre come la proprietà fotoelettrocatalitica del TiO<sub>2</sub> riesca a degradare l'etilene e a differenza dei convenzionali assorbitori di etilene, il TiO<sub>2</sub> non si degrada, avendo capacità illimitata di eliminare l'etilene purché venga irradiato da radiazione UV.<sup>139</sup>

Queste proprietà di fotoelettrocatalisi di TiO<sub>2</sub> sono state applicate a pellicole di vetro acetato e polipropilene con nanoparticelle di TiO<sub>2</sub> risultando molto efficaci nell'assorbimento di etilene e ossigeno.<sup>140 141</sup>

### Immobilizzazione enzimatica

Gli enzimi svolgono importanti ruoli negli alimenti e nella loro produzione, molti di essi però sono poco stabili in determinate condizioni di pH o di temperatura. Un approccio per risolvere questo problema è l'immobilizzazione degli enzimi in nanoparticelle contenute nella matrice polimerica dell'imballaggio<sup>142</sup>. Questo comporterebbe una maggiore resistenza alla denaturazione e grazie al maggior rapporto superficie/volume delle nanoparticelle; una maggior efficienza<sup>143</sup>.

Inoltre, gli enzimi possono essere rilasciati nell'alimento per colmare carenze enzimatiche del consumatore, ad esempio, lattasi e colesterolo reduttasi possono essere incorporati nell'imballo alimentare.<sup>144</sup>

### 4.3 Packaging intelligente

I sistemi di packaging intelligenti servono per comunicare in tempo reale lo stato e la variazione di qualità dell'alimento associata: al deterioramento, ad agenti patogeni ed a contaminanti chimici. Informazioni riguardo la temperatura, concentrazione di CO<sub>2</sub> e O<sub>2</sub>, umidità, freschezza e presenza di batteri patogeni vengono rilevate e trasmesse grazie a nanosensori <sup>145 146 147</sup>. Lo smart packaging è particolarmente utile sia per rilevare eventuali problemi nella conservazione sia a far percepire al consumatore finale il corretto stato dell'alimento.

#### Sensori di O<sub>2</sub>

È stato creato un indicatore colorimetrico di O<sub>2</sub> che sfrutta le proprietà fotoreattive delle nanoparticelle di TiO<sub>2</sub>. Il sensore si basa su una reazione redox tra un semiconduttore, in questo caso il TiO<sub>2</sub>, un indicatore redox come il blu di metilene, e un donatore di elettroni sacrificale come la trietanolammina, il tutto in un mezzo polimerico. Quando l'inchiostro viene irradiato con luce UV, il blu di metilene viene ridotto dal TiO<sub>2</sub> alla sua forma incolore e il donatore di elettroni viene ossidato. Se l'inchiostro viene poi esposto all'ossigeno, il blu di metilene viene ri-ossidato alla

sua forma blu originale, indicando la presenza di O<sub>2</sub>.<sup>148</sup> Questo sensore è dunque importante per identificare difetti o eventuali rotture nel packaging.

### Sensori di CO<sub>2</sub>

Jung, J., Puligundla, P., & Ko, S. Hanno sviluppato un indicatore colorimetrico per il biossido di carbonio (CO<sub>2</sub>) basato sulla solubilizzazione delle molecole di chitosano in condizioni acide indotte dalla CO<sub>2</sub> in un mezzo acquoso. Infatti, il chitosano, è una sostanza naturale che quando si scioglie in acido e cambia colore da bianco a trasparente.<sup>149</sup> La CO<sub>2</sub> prodotta in seguito al deterioramento degli alimenti confezionati si scioglie rapidamente nell'acqua, abbassando il pH per la formazione di acido carbonico (H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>). L'acido carbonico si dissocia in ioni idrogeno (protoni) e ioni bicarbonato. I protoni partecipano alla protonazione dei gruppi amminici (-NH<sub>2</sub>) delle molecole di chitosano.<sup>150</sup> Di conseguenza, la sospensione bianca opaca di chitosano si trasforma in una soluzione trasparente e incolore, a causa della dissoluzione delle molecole di chitosano.<sup>151</sup>

Il nanosensore può dunque essere usato per controllare la qualità degli alimenti confezionati, misurando il livello di CO<sub>2</sub> prodotto dalla fermentazione o dal deterioramento.<sup>152</sup>

### Rilevamento di deterioramento e microrganismi patogeni

I metodi attualmente più utilizzati per la rilevazione di microrganismi patogeni negli alimenti sono i saggi immunoenzimatici basati sul principio di reazione antigene anticorpo. Lo stesso meccanismo di rilevazione può essere applicato alla nanotecnologia, sfruttando le sue caratteristiche ottiche ed elettriche uniche.

La ricerca è focalizzata nello sviluppo di anticorpi coniugati a punti quantici o "*quantum dots*" (QD).<sup>153</sup> Quando il complesso quantum dot-anticorpo si lega ai batteri, produce una fluorescenza che può essere misurata con appositi strumenti. È stata infatti sviluppata una tecnologia che sfrutta il complesso quantum dot-

anticorpo per il rilevamento simultaneo di *Escherichia coli* O157:H7 e *Salmonella Typhimurium*.<sup>154</sup> I seguenti sono i tre passaggi principali che ne descrivono la procedura:

- 1) Separazione dei batteri dal campione usando nanoparticelle magnetiche rivestite con anticorpi specifici per ogni specie di batteri.
- 2) Reazione delle nanoparticelle-batteri con i quantum dot-anticorpo coniugati, che formano dei complessi "sandwich".
- 3) Misurazione dell'intensità dei picchi di fluorescenza a 525 nm e 705 nm, che corrispondono rispettivamente a *E. coli* e *Salmonella*

I risultati di questo metodo mostrano una buona correlazione tra l'intensità della fluorescenza e il numero di cellule batteriche nel campione, avendo un limite di rilevamento di circa  $10^4$  cfu/ml per entrambi i batteri.<sup>155</sup>

### Indicatori di freschezza

I nanosensori indicatori di freschezza rilevano i metaboliti secondari dei microrganismi deterioranti presenti nell'alimento. Solfuri volatili e ammine sono i principali metaboliti secondari dei batteri deterioranti.<sup>156 157</sup> Vengono dunque incorporate in pellicole alimentari nanoparticelle di metalli di transizione come argento e rame. Essi, reagendo con i metaboliti secondari, rendono l'imballaggio di colore più scuro indicando appunto, uno sviluppo di microrganismi deterioranti che riducono di conseguenza la freschezza dell'alimento.<sup>158 159</sup>

### Indicatori tempo-temperatura (TTIS)

Il principale responsabile della riduzione della shelf life degli alimenti è senza alcun dubbio l'abuso termico i quali vengono a volte sottoposti durante le fasi di trasporto e stoccaggio. I sensori TTIS sono particolarmente utili per monitorare lo storico termico degli alimenti.<sup>160</sup> Consentendo dunque di capire se l'alimento ha subito un abuso termico che, come conseguenza, comporta una perdita della

qualità e sicurezza. Ad esempio, è stato sviluppato un indicatore colorimetrico per il monitoraggio della storia tempo-temperatura, che si basa sull'instabilità termodinamica delle nanofogli di Ag<sup>161</sup>

### **Indicatori di umidità**

Monitorare la variazione di umidità all'interno di una confezione è molto importante per verificarne l'integrità e come sua conseguenza, qualità e sicurezza. È stato studiato il potenziale dei nanocristalli di cellulosa come nanosensori di umidità. La pellicola cambia colore dal rosa al blu quando l'umidità è passata dal 50% (condizione asciutta) al 95% (condizione umida).<sup>162</sup>

## 5 NANOTOSSICOLOGIA E ASPETTI NORMATIVI

### 5.1 Aspetti tossicologici

L'impiego di nanotecnologie nell'industria agroalimentare ha, come abbiamo visto, molte potenzialità. Tuttavia, il loro utilizzo è ancora oggetto di dibattito normativo, tossicologico ed ambientale.

La tossicità delle nanoparticelle è legata generalmente alla loro natura estremamente reattiva. Il loro potenziale effetto tossico può dipendere dai seguenti parametri: la natura organica o inorganica, la loro carica elettrica, la loro solubilità ed infine le loro dimensioni.

In genere le nanoparticelle organiche (lipidi, proteine, carboidrati) sono biodegradabili e facilmente metabolizzate dal corpo, di conseguenza non si accumulano negli organi. Tuttavia, le tecniche per loro preparazione possono renderle tossiche; come, ad esempio, l'utilizzo di solventi organici per la produzione di nanoliposomi,<sup>163164</sup> oppure l'utilizzo specifici tensioattivi per la formulazione di nanoemulsioni<sup>165166</sup>; in questo caso, la tossicità dipende dal tipo di tecnica utilizzata e non tutte presentano tossicità. Al lato opposto le nanoparticelle inorganiche presentano minore biodegradabilità e la capacità di rilasciare ioni come, ad esempio, le nanoparticelle di argento. Riguardo a queste ultime, è stata infatti dimostrata la loro tendenza ad accumularsi negli in seguito a loro esposizione ( $30 \text{ mg kg}^{-1}$ ) secondo il seguente ordine decrescente:

stomaco > reni > testicoli > fegato > cervello > polmoni > sangue<sup>167</sup>

Anche nanoparticelle di  $\text{SiO}_2$  e  $\text{TiO}_2$ , hanno la tendenza ad accumularsi in fegato e milza come dimostrato dalle tecniche di microscopia elettronica a scansione e spettrometria di massa su tessuti umani post-mortem.<sup>168</sup>

Per quanto riguarda la carica elettrica le particelle cariche positivamente sono generalmente più tossiche di quelle neutre o cariche negativamente a causa delle loro maggior interazione con le membrane cellulari e proteine oltre alla possibile

formazione di specie radicaliche dell'ossigeno.<sup>169</sup> Bisogna però notare come dall'altro lato le nanoparticelle inorganiche hanno diverse tendenze a degradarsi in specifiche condizioni di soluzione (pH e forza ionica) e reattività chimiche, influenzando in modo significativo la dinamica di assorbimento e dunque la valutazione della loro tossicità.<sup>170</sup>

## 5.2 Aspetti normativi

Nel Regolamento (CE) n. 1333/2008 della Commissione europea (CE), appare per la prima volta il termine "nanotecnologia".

"un additivo alimentare già approvato ai sensi del presente regolamento, ma preparato con metodi di produzione o utilizzando materie prime significativamente diverse (comprese le nanotecnologie) da quelle incluse nella valutazione dei rischi dell'autorità, o diverse da quelle coperte dalle specifiche stabilite, dovrebbe essere sottoposto alla valutazione dell'autorità"

In tale regolamento infatti è stata riconosciuta l'unicità dei materiali di dimensione nanometrica e successivamente nel regolamento (CE) n. 450/2009 (pag. 4) e nel regolamento (UE) n. 10/2011, si riconoscono le proprietà chimico-fisiche delle nanoparticelle come diverse da quelle dei materiali bulk. Esso, inoltre, norma come le nanoparticelle debbano essere valutate caso per caso per il loro rischio sulla salute umana.

Il recente Regolamento UE 2015/2283 riconosce la necessità di considerare i cambiamenti significativi nella composizione (e.g. presenza di contaminanti) o struttura degli alimenti, che possano influenzare il loro valore nutrizionale ed il loro metabolismo. I nanomateriali devono essere sottoposti a valutazioni rigorose prima di essere autorizzate per l'uso nell'industria alimentare. Inoltre, afferma che rileva la presenza di informazioni limitate sulla nanotossicocinetica, sottolineando che i metodi esistenti di test di tossicità per i nanomateriali ingegnerizzati potrebbero richiedere adeguamenti metodologici. Attualmente la comunità scientifica sta



rivalutando la tossicità dei seguenti additivi alimentari nanometrici : TiO<sub>2</sub> (E171) ossidi e idrossidi di ferro (E172) argento ( E174) , oro (E175) e biossido di silicio (E551) a causa dell'assenza di dati affidabili e caratterizzazione delle nanoparticelle.<sup>171</sup>

Regolamento	Circa
(CE) N. 258/97	Per quanto riguarda i nuovi prodotti e i nuovi ingredienti alimentari
(CE) regolamento (CE) n. 178/2002	Stabilire i principi e i requisiti generali della legislazione alimentare
(CE) regolamento (CE) n. 1935/2004	Sui materiali e sugli oggetti destinati a venire a contatto con i prodotti alimentari
(CE) regolamento (CE) n. 1333/2008	Armonizza l'uso di additivi alimentari nei prodotti alimentari
(CE) regolamento (CE) n. 282/2008	Sui materiali e gli oggetti di materia plastica riciclata destinati a venire a contatto con i prodotti alimentari
(CE) regolamento (CE) n. 450/2009	Sui materiali e gli oggetti attivi e intelligenti destinati a venire a contatto con i prodotti alimentari
(UE) n. 10/2011	Materiali e oggetti di materia plastica destinati a venire a contatto con i prodotti alimentari
(UE) regolamento (UE) n. 1169/2011	Sulla fornitura di informazioni sugli alimenti ai consumatori
regolamento (UE) 2015/2283	Sui nuovi prodotti alimentari

Una regolamentazione adeguata è il fattore chiave per uno sviluppo sostenibile delle nanotecnologie. Se eccessiva la regolamentazione potrebbe rallentare il loro sviluppo, mentre a lato opposto una sotto-regolamentazione potrebbe esporre gli esseri umani a rischi per la salute.

Tuttavia, le nanoparticelle di zinco, argento e titanio sono le più studiate, nonostante ciò, gli attuali limiti analitici<sup>172</sup> e l'esclusività delle singole nanoparticelle, fanno persistere l'incertezza sul l'assorbimento, degradazione, trasformazione e interazione con i tessuti e organi umani. Si ritengono dunque necessari ulteriori studi per effettuare una valutazione del rischio adeguata.

## 6 CONCLUSIONI

La presente tesi si conclude delineando un quadro ricco e complesso delle potenzialità delle nanotecnologie.

Attraverso un'analisi dettagliata dell'agricoltura di precisione potenziata da nanotecnologie, è emerso che la convergenza di queste discipline offre una prospettiva rivoluzionaria per il settore agricolo. La precisione nell'applicazione di fertilizzanti, pesticidi e irrigazione è stata notevolmente potenziata, promuovendo l'efficienza operativa e minimizzando gli impatti ambientali associati alle pratiche agricole tradizionali. Tuttavia, è cruciale sottolineare che l'utilizzo di nanotecnologie con finalità antimicrobiche assume un ruolo duplice, fungendo da additivo alimentare e non solo come strumento per la protezione delle piante.

L'impiego di nanoparticelle con attività antimicrobica in qualità di additivo alimentare si è rivelato promettente nel garantire la sicurezza microbiologica degli alimenti, estendendone la durata e contribuendo alla prevenzione di patogeni responsabili di malattie trasmesse attraverso il consumo di prodotti alimentari. Tale approccio, dunque, non solo consolida la sicurezza alimentare, ma promuove anche la salute pubblica attraverso la riduzione del rischio di tossinfezioni alimentari.

Un ulteriore contributo innovativo emerso da questa ricerca riguarda l'applicazione delle nanoparticelle magnetiche per la purificazione nell'ambito agroalimentare. Questa tecnologia rivoluzionaria si è dimostrata efficace nell'estrazione di molecole biologiche da complesse matrici alimentari. La capacità di manipolare queste nanoparticelle attraverso campi magnetici ha aperto nuove possibilità nel superare gli svantaggi nell'uso delle normali tecniche di purificazione come l'utilizzo di colonne cromatografiche, elettroforesi e ultrafiltrazione.

L'innovativo packaging intelligente basato su nanotecnologie ha fornito un'ulteriore chiave di lettura all'ottimizzazione della filiera agroalimentare. Questo sistema

avanzato non solo garantisce una maggiore durata e freschezza degli alimenti, ma rappresenta anche uno strumento di comunicazione diretta con i consumatori, fornendo informazioni in tempo reale sulla qualità e sulla sicurezza degli alimenti confezionati.

In conclusione, l'integrazione delle nanotecnologie nella filiera agroalimentare si configura come una prospettiva che non solo migliora l'efficienza operativa e la sostenibilità ambientale, ma promuove anche la sicurezza alimentare e la salute pubblica. Tuttavia, in parallelismo con questi progressi, è imperativo affrontare attentamente le questioni etiche, normative e ambientali connesse all'utilizzo delle nanotecnologie, sottolineando la necessità di effettuare una valutazione attenta e specifica degli aspetti tossicologici affinché i benefici derivanti da tali innovazioni, siano guidati da principi di responsabilità e sostenibilità, contribuendo così a plasmare un futuro agroalimentare più sicuro, efficiente e consapevole.

## 7 Bibliografía

---

1. Nanotecnólogo. (2019, March 18). ¿Qué es la nanotecnología? - Nanotecnólogo. Nanotecnólogo. <https://nanotecnologo.com/que-es-la-nanotecnologia/>
2. Venturini\_Lorenzo-E.pdf (unifi.it)
3. Khan, I., Saeed, K., & Khan, I. (2019). Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. *Arabian Journal of Chemistry*, 12(7), 908–931. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2017.05.011>
4. Sekhon, B. S. (2014b). Nanotechnology in agri-food production: an overview. *Nanotechnology, Science and Applications*, 31. <https://doi.org/10.2147/nsa.s39406>
5. Zhang, W. (2014). Nanoparticle Aggregation: Principles and Modeling. In *Advances in Experimental Medicine and Biology* (pp. 19–43). [https://doi.org/10.1007/978-94-017-8739-0\\_2](https://doi.org/10.1007/978-94-017-8739-0_2)
6. Neikov, O. D., & Yefimov, N. A. (2019). Nanopowders. In Elsevier eBooks (pp. 271–311). <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-100543-9.00009-9>
7. Stanley, S. (2014). Biological nanoparticles and their influence on organisms. *Current Opinion in Biotechnology*, 28, 69–74. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2013.11.014>
8. Ito, Y., & Fukusaki, E. (2004). DNA as a ‘Nanomaterial.’ *Journal of Molecular Catalysis B-enzymatic*, 28(4–6), 155–166. <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2004.01.016>
9. Sekhon, B. S. (2014c). Nanotechnology in agri-food production: an overview. *Nanotechnology, Science and Applications*, 31. <https://doi.org/10.2147/nsa.s39406>
10. Tam, H. L., Cheah, K. W., Goh, D., & Goh, J. K. L. (2013). Iridescence and nanostructure differences in Papilio butterflies. *Optical Materials Express*, 3(8), 1087. <https://doi.org/10.1364/ome.3.001087>
11. Wang, B., Zhang, Z., & Pan, H. (2023). Bone apatite nanocrystal: crystalline structure, chemical composition, and architecture. *Biomimetics*, 8(1), 90. <https://doi.org/10.3390/biomimetics8010090>
12. Grünewald, T. A., Liebi, M., Wittig, N. K., Johannes, A., Sikjær, T., Rejnmark, L., Gao, Z., Rosenthal, M., Guizar-Sicairos, M., Birkedal, H., & Burghammer, M. (2020). Mapping the 3D orientation of nanocrystals and nanostructures in human bone:

- 
- Indications of novel structural features. *Science Advances*, 6(24). <https://doi.org/10.1126/sciadv.aba4171>
13. *Storia dei nanomateriali e della nanotecnologia - ECHA*. (n.d.). <https://euon.echa.europa.eu/it/history-of-nanomaterials-and-nanotechnology>
  14. Mohan, S., & Oluwafemi, O. S. (2018). Nanotechnology: the science of the invisible. In *Elsevier eBooks* (pp. 1–18). <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-101975-7.00001-4>
  15. Venturini Lorenzo [https://www.chimica.unifi.it/upload/sub/LAUREA/PUB/2011-2012/ELABORATI/Venturini\\_Lorenzo-E.pdf](https://www.chimica.unifi.it/upload/sub/LAUREA/PUB/2011-2012/ELABORATI/Venturini_Lorenzo-E.pdf). (n.d.).
  16. Helping feed the world's Fast-Growing population. (2017b, January 31). IMF. <https://www.imf.org/en/Blogs/Articles/2017/01/31/helping-feed-the-worlds-fast-growing-population#>.
  17. Kah, M., Tufenkji, N., & White, J. (2019). Nano-enabled strategies to enhance crop nutrition and protection. *Nature Nanotechnology*, 14, 532–540. <https://doi.org/10.1038/s41565-019-0439-5>.
  18. Beegum, S., & Das, S. (2022b). Nanosensors in agriculture. In *Elsevier eBooks* (pp. 465–478). <https://doi.org/10.1016/b978-0-323-91908-1.00012-2>
  - 19-20. An, C., Sun, C., Li, N., Huang, B., Jiang, J., Shen, Y., Wang, C., Zhao, X., Cui, B., Li, X., Zhan, S., Gao, F., Zeng, Z., Cui, H., & Wang, Y. (2022). Nanomaterials and nanotechnology for the delivery of agrochemicals: strategies towards sustainable agriculture. *Journal of Nanobiotechnology*, 20(1). <https://doi.org/10.1186/s12951-021-01214-7>
  21. Xu, M., Abdlli, N., Wang, N., Lu, P., Nie, Z., Dong, X., Lü, S., & Chen, K. (2017). Effects of Ag Nanoparticles on Growth and Fat Body Proteins in Silkworms (*Bombyx mori*). *Biological Trace Element Research*, 180(2), 327–337. <https://doi.org/10.1007/s12011-017-1001-7>
  22. De La Rosa, G., Vázquez-Núñez, E., Molina–Guerrero, C. E., Serafín–Muñoz, A. H., & Vera-Reyes, I. (2021). Interactions of nanomaterials and plants at the cellular level: current knowledge and relevant gaps. *Nanotechnology for Environmental Engineering*, 6(1). <https://doi.org/10.1007/s41204-020-00100-1>
  23. Faiz, M. B., Amal, R., Marquis, C. P., Harry, E. J., Sotiriou, G. A., Rice, S. A., & Gunawan, C. (2018). Nanosilver and the microbiological activity of the particulate solids versus the leached soluble silver. *Nanotoxicology*, 12(3), 263–273. <https://doi.org/10.1080/17435390.2018.1434910>
  24. Bharani, R. A., & Namasivayam, S. K. R. (2017). Biogenic silver nanoparticles mediated stress on developmental period and gut physiology of major lepidopteran pest *Spodoptera litura* (Fab.) (Lepidoptera: Noctuidae)—An eco-friendly approach

---

of insect pest control. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 5(1), 453–467. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2016.12.023>

25. Shahid, S. A., Qidwai, A., Anwar, F., Ullah, I., & Rashid, U. (2012). Improvement in the Water Retention Characteristics of Sandy Loam Soil Using a Newly Synthesized Poly(acrylamide-co-acrylic Acid)/AlZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> Superabsorbent Hydrogel Nanocomposite Material. *Molecules*, 17(8), 9397–9412. <https://doi.org/10.3390/molecules17089397>
  26. Elemike, E. E., Uzoh, I. M., Onwudiwe, D. C., & Babalola, O. O. (2019). The role of nanotechnology in the fortification of plant nutrients and improvement of crop production. *Applied Sciences*, 9(3), 499. <https://doi.org/10.3390/app9030499>
  27. Elemike, E. E., Uzoh, I. M., Onwudiwe, D. C., & Babalola, O. O. (2019b). The role of nanotechnology in the fortification of plant nutrients and improvement of crop production. *Applied Sciences*, 9(3), 499. <https://doi.org/10.3390/app9030499>
  28. Karaca, M. (2004). Use of natural zeolite (Clinoptilolite) in agriculture. *ResearchGate*. [https://www.researchgate.net/publication/269709768\\_Use\\_of\\_Natural\\_Zeolite\\_Clinoptilolite\\_in\\_Agriculture](https://www.researchgate.net/publication/269709768_Use_of_Natural_Zeolite_Clinoptilolite_in_Agriculture)
  29. Sadeghzadeh, B. (2013). A review of zinc nutrition and plant breeding. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, ahead, 0. <https://doi.org/10.4067/s0718-95162013005000072>
  30. Singh, N.B.; Amist, N.; Yadav, K.; Singh, D.; Pandey, J.K.; Singh, S.C. Zinc Oxide Nanoparticles as Fertilizer for the Germination, Growth and Metabolism of Vegetable Crops. *J. Nanoeng. Nanomanuf.* **2013**
  31. Kamran, A.; Haroon, Z.K.; Muhammad, Z.; Imdad, H.; Zeeshan, A. Ossido di nanozinco come fertilizzante futuro. *Weekly Technology Times*, 27 aprile 2016.
  32. Zheng, L., Hong, F., Lü, S., & Liu, C. (2005). Effect of Nano-TiO<sub>2</sub> on Strength of Naturally Aged Seeds and Growth of Spinach. *Biological Trace Element Research*, 104(1), 083–092. <https://doi.org/10.1385/bter:104:1:083>
  33. Asli, S., & Neumann, P. M. (2009). Colloidal suspensions of clay or titanium dioxide nanoparticles can inhibit leaf growth and transpiration via physical effects on root water transport. *Plant, Cell & Environment*, 32(5), 577–584. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2009.01952.x>
- Environmental Science: Processes & Impacts*. (n.d.). <https://pubs.rsc.org/en/journals/journalissues/em#!issueid=em014012&type=archive&issnprint=1464-0325>
34. Cao, Z., Rossi, L., Stowers, C., Zhang, W., Lombardini, L., & Ma, X. (2017). The impact of cerium oxide nanoparticles on the physiology of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.)

---

under different soil moisture conditions. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(1), 930–939. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-0501-5>

- 35 Gui, X., Zhang, Z., Liu, S., Ma, Y., Zhang, P., He, X., Li, Y., Zhang, J., Li, H., Rui, Y., Li, L., & Cao, W. (2015). Fate and phytotoxicity of CEO2 nanoparticles on lettuce cultured in the potting soil environment. *PLOS ONE*, 10(8), e0134261. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0134261>
- 36 Liu, J., Dhungana, B., & Cobb, G. P. (2017). Environmental behavior, potential phytotoxicity, and accumulation of copper oxide nanoparticles and arsenic in rice plants. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 37(1), 11–20. <https://doi.org/10.1002/etc.3945>
- 37-38 XIONG, T. T., et al. Potential contamination of copper oxide nanoparticles and possible consequences on urban agriculture. *Environ. Sci. Technol*, 2017, 78: 5774-5782
- 39 Xiong, T., Dumat, C., Dappe, V., Vezin, H., Schreck, E., Shahid, M., Pierart, A., & Sobanska, S. (2017b). Copper oxide nanoparticle foliar uptake, phytotoxicity, and consequences for sustainable urban agriculture. *Environmental Science & Technology*, 51(9), 5242–5251. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b05546>
- 40 Ramyadevi, J., Jeyasubramanian, K., Marikani, A., Rajakumar, G., & Rahuman, A. A. (2012). Synthesis and antimicrobial activity of copper nanoparticles. *Materials Letters*, 71, 114–116. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2011.12.055>
- 41 Ali, A., Zafar, H., Zia, M., Haq, I. U., Phull, A. R., Ali, J. S., & Hussain, A. (2016b). Synthesis, characterization, applications, and challenges of iron oxide nanoparticles. *Nanotechnology, Science and Applications, Volume 9*, 49–67. <https://doi.org/10.2147/nsa.s99986>.
- 42 Hu, J., Guo, H., Li, J., Wang, Y., Lian, X., & Xing, B. (2017). Interaction of  $\gamma$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanoparticles with *Citrus maxima* leaves and the corresponding physiological effects via foliar application. *Journal of Nanobiotechnology*, 15(1). <https://doi.org/10.1186/s12951-017-0286-1>
- Corredor, E., Testillano, P. S., Coronado, M., González-Melendi, P., Fernández-Pacheco, R., Marquina, C., Ibarra, M. R., De La Fuente, J. M., Rubiales, D., Pérez-de-Luque, A., & Risueño, M. C. (2009). Nanoparticle penetration and transport in living pumpkin plants: in situsubcellular identification. *BMC Plant Biology*, 9(1). <https://doi.org/10.1186/1471-2229-9-45>
- 43 Duhan, J. S., Kumar, R., Kumar, N., Kaur, P., Nehra, K., & Duhan, S. (2017). Nanotechnology: The new perspective in precision agriculture. *Biotechnology Reports*, 15, 11–23. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2017.03.002>



- 
- 44 Masrahi, A. S., VandeVoort, A. R., & Arai, Y. (2014). Effects of silver nanoparticle on Soil-Nitrification processes. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 66(4), 504–513. <https://doi.org/10.1007/s00244-013-9994-1>.
- 45 Pestovsky, Y. S., & Martínez-Antonio, A. (2017). The use of nanoparticles and nanoformulations in agriculture. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 17(12), 8699–8730. <https://doi.org/10.1166/jnn.2017.15041>
- 46 Pestovsky, Y. S., & Martínez-Antonio, A. (2017d). The use of nanoparticles and nanoformulations in agriculture. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 17(12), 8699–8730. <https://doi.org/10.1166/jnn.2017.15041>
- 47 Kumar, V., Guleria, P., Kumar, V., & Yadav, S. K. (2013). Gold nanoparticle exposure induces growth and yield enhancement in *Arabidopsis thaliana*. *Science of the Total Environment*, 461–462, 462–468. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.05.018>
- 48 Judy, J. D., Unrine, J. M., Rao, W., Wirick, S., & Bertsch, P. M. (2012). Bioavailability of gold nanomaterials to plants: Importance of particle size and surface coating. *Environmental Science & Technology*, 46(15), 8467–8474. <https://doi.org/10.1021/es3019397>
- 49 Judy, J. D., Unrine, J. M., Rao, W., Wirick, S., & Bertsch, P. M. (2012b). Bioavailability of gold nanomaterials to plants: Importance of particle size and surface coating. *Environmental Science & Technology*, 46(15), 8467–8474. <https://doi.org/10.1021/es3019397>
- 50 Dam, P., Paret, M. L., Mondal, R., & Mandal, A. K. (2023). Advancement of noble metallic nanoparticles in agriculture: A promising future. *Pedosphere*, 33(1), 116–128. <https://doi.org/10.1016/j.pedsph.2022.06.026>
- 51 WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Global health risks: mortality and burden of disease attributable to selected major risks*. World Health Organization, 2009.)
- 52 Larry E. Johnson . Carenza di selenio, MD, PhD, University of Arkansas for Medical Sciences.2023
- 53 Elemike, E. E., Uzoh, I. M., Onwudiwe, D. C., & Babalola, O. O. (2019c). The role of nanotechnology in the fortification of plant nutrients and improvement of crop production. *Applied Sciences*, 9(3), 499. <https://doi.org/10.3390/app9030499>
- 54 Elemike, E. E., Uzoh, I. M., Onwudiwe, D. C., & Babalola, O. O. (2019c). The role of nanotechnology in the fortification of plant nutrients and improvement of crop production. *Applied Sciences*, 9(3), 499. <https://doi.org/10.3390/app9030499>
- 55 Skaličková, S., Milosavljević, V., Číhalová, K., Horký, P., Richtera, L., & Adam, V. (2017b). Selenium nanoparticles as a nutritional supplement. *Nutrition*, 33, 83–90. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2016.05.001>

- 
- 56 Skaličková, S., Milosavljević, V., Číhalová, K., Horký, P., Richtera, L., & Adam, V. (2017). Selenium nanoparticles as a nutritional supplement. *Nutrition*, 33, 83–90. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2016.05.001>
- 57 Siddiqui, M. H., & Al-Whaibi, M. H. (2014). Role of nano-SiO<sub>2</sub> in germination of tomato (*Lycopersicon esculentum* seeds Mill.). *Saudi Journal of Biological Sciences*, 21(1), 13–17. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2013.04.005>
- 58 Avestan, S., Naseri, L., Hassanzade, A., Sokri, S. M., & Barker, A. V. (2015). Effects of nanosilicon dioxide application on in vitro proliferation of apple rootstock. *Journal of Plant Nutrition*, 39(6), 850–855. <https://doi.org/10.1080/01904167.2015.1061550>
- 59 Prasad, R., Bhattacharyya, A., & Nguyen, Q. D. (2017). Nanotechnology in sustainable agriculture: recent developments, challenges, and perspectives. *Frontiers in Microbiology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01014>
- 60 Prasad, R., Kumar, V., & Prasad, K. S. (2014). Nanotechnology in sustainable agriculture: Present concerns and future aspects. *African Journal of Biotechnology*, 13(6), 705–713. <https://doi.org/10.5897/ajbx2013.13554>
- 61 Dhiman, S., Gaba, S., Varma, A., & Goel, A. (2021). Bio-nanosensors: Synthesis and their substantial role in agriculture. In Springer eBooks (pp. 165–172). [https://doi.org/10.1007/978-3-030-66956-0\\_11](https://doi.org/10.1007/978-3-030-66956-0_11)
- 62 Agrawal, S., & Prajapati, R. (2012). Nanosensors and their Pharmaceutical Applications: A Review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Nanotechnology*, 4(4), 1528–1535. <https://doi.org/10.37285/ijpsn.2011.4.4.2>
- 63 Pooja, Rana, M., & Chowdhury, P. (2021b). Modern applications of quantum dots: Environmentally hazardous metal ion sensing and medical imaging. In Elsevier eBooks (pp. 465–503). <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-820783-3.00025-7>
- 64 Jurado-Sánchez, B., Moreno-Guzmán, M., Perales-Rondón, J. V., & Escarpa, A. (2020). Nanobiosensors for food analysis. In Elsevier eBooks (pp. 415–457). <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-815866-1.00011-x>
- 65 Beegum, S., & Das, S. (2022). Nanosensors in agriculture. In Elsevier eBooks (pp. 465–478). <https://doi.org/10.1016/b978-0-323-91908-1.00012-2>
- 66 Ganeshkumar, R., Sopiha, K. V., Wu, P., Cheah, C. W., & Zhao, R. R. (2016). Ferroelectric KNbO<sub>3</sub> nanofibers: synthesis, characterization and their application as a humidity nanosensor. *Nanotechnology*, 27(39), 395607. <https://doi.org/10.1088/0957-4484/27/39/395607>
- 67 Beegum, S., & Das, S. (2022). Nanosensors in agriculture. In Elsevier eBooks (pp. 465–478). <https://doi.org/10.1016/b978-0-323-91908-1.00012-2>

- 
- 68 Beegum, S., & Das, S. (2022b). Nanosensors in agriculture. In Elsevier eBooks (pp. 465–478). <https://doi.org/10.1016/b978-0-323-91908-1.00012-2>
- 69 Zhou, Y., Ding, L., Wu, Y., Huang, X., Lai, W., & Xiong, Y. (2019b). Emerging strategies to develop sensitive AuNP-based ICTS nanosensors. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 112, 147–160. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.01.006>
- 70 Munawar, A., Ong, Y., Schirhagl, R., Tahir, M., Khan, W. S., & Bajwa, S. Z. (2019). Nanosensors for diagnosis with optical, electric and mechanical transducers. *RSC Advances*, 9(12), 6793–6803. <https://doi.org/10.1039/c8ra10144b>
- 71 Xu, Y., Zhou, Y., & Li, R. (2016). Colorimetric fluorescent nanosensor based on hexamethylene diisocyanate for fluorescent responses and adsorption of heavy metal ions. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 16(3), 2853–2860. <https://doi.org/10.1166/jnn.2016.10779>
- 72 Fakayode, S. O., Walgama, C., Narcisse, V. E. F., & Grant, C. (2023). Electrochemical and Colorimetric nanosensors for detection of heavy metal ions: a review. *Sensors*, 23(22), 9080. <https://doi.org/10.3390/s23229080>
- 73 Yu, Z., Zhao, G., Liu, M., Lei, Y., & Li, M. (2010). Fabrication of a novel Atrazine biosensor and its Subpart-per-Trillion Levels Sensitive performance. *Environmental Science & Technology*, 44(20), 7878–7883. <https://doi.org/10.1021/es101573s>
- 74 Beegum, S., & Das, S. (2022c). Nanosensors in agriculture. In Elsevier eBooks (pp. 465–478). <https://doi.org/10.1016/b978-0-323-91908-1.00012-2>
- 75 Beegum, S., & Das, S. (2022). Nanosensors in agriculture. In Elsevier eBooks (pp. 465–478). <https://doi.org/10.1016/b978-0-323-91908-1.00012-2>
- 76 Amiri, N. S., & Hosseini, M. M. (2020). Application of ratiometric fluorescence sensor-based microwave-assisted synthesized CdTe quantum dots and mesoporous structured epitope-imprinted polymers for highly efficient determination of tyrosine phosphopeptide. *Analytical Methods*, 12(1), 63–72. <https://doi.org/10.1039/c9ay00276f>
- 77 Non-Invasive Fluorescence-based Tear Glucose Sensor Integrated to a Smartphone. (2018). *Horizon*. <https://doi.org/10.3030/751249> Beegum, S., & Das, S. (2022d). Nanosensors in agriculture. Elsevier eBooks, 465–478. <https://doi.org/10.1016/b978-0-323-91908-1.00012-2>

- 
78. Non-Invasive Fluorescence-based Tear Glucose Sensor Integrated to a Smartphone. (2018). *Horizon*. <https://doi.org/10.3030/751249>
79. Jadhav, R., Pawar, P., Choudhari, V. P., Topare, N. S., Raut-Jadhav, S., Bokil, S., & Khan, A. (2023). An overview of antimicrobial nanoparticles for food preservation. *Materials Today: Proceedings*, 72, 204–216. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2022.07.045>
80. Jadhav, R., Pawar, P., Choudhari, V. P., Topare, N. S., Raut-Jadhav, S., Bokil, S., & Khan, A. (2023). An overview of antimicrobial nanoparticles for food preservation. *Materials Today: Proceedings*, 72, 204–216. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2022.07.045>
81. Jadhav, R., Pawar, P., Choudhari, V. P., Topare, N. S., Raut-Jadhav, S., Bokil, S., & Khan, A. (2023). An overview of antimicrobial nanoparticles for food preservation. *Materials Today: Proceedings*, 72, 204–216. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2022.07.045>
82. Bahrami, A., Delshadi, R., Assadpour, E., Jafari, S. M., & Williams, L. (2020). Antimicrobial-loaded nanocarriers for food packaging applications. *Advances in Colloid and Interface Science*, 278, 102140. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2020.102140>
83. Burguera, J., & Burguera, M. (2012). Analytical applications of emulsions and microemulsions. *Talanta*, 96, 11–20. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2012.01.030>
84. Donsi, F., Sessa, M., Mediouni, H., Mgaidi, A., & Ferrari, G. (2011). Encapsulation of bioactive compounds in nanoemulsion-based delivery systems. *Procedia Food Science*, 1, 1666–1671. <https://doi.org/10.1016/j.profoo.2011.09.246>
85. Ghosh, V., Mukherjee, A., & Chandrasekaran, N. (2014). Eugenol-loaded antimicrobial nanoemulsion preserves fruit juice against microbial spoilage. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 114, 392–397. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2013.10.034>
86. Weiß, J., Takhistov, P., & McClements, D. J. (2006). Functional materials in food Nanotechnology. *Journal of Food Science*, 71(9). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2006.00195.x>
87. Ghosh, V., Mukherjee, A., & Chandrasekaran, N. (2014b). Eugenol-loaded antimicrobial nanoemulsion preserves fruit juice against microbial spoilage. *Colloids and*

---

Surfaces B: Biointerfaces, 114, 392–397. <https://doi.org/10.1016/j.col-surf.2013.10.034>

88. Weiß, J., Takhistov, P., & McClements, D. J. (2006b). Functional materials in food Nanotechnology. *Journal of Food Science*, 71(9). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2006.00195.x>
89. Maller, R. (2000). Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery – a review of the state of the art. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 50(1), 161–177. [https://doi.org/10.1016/s0939-6411\(00\)00087-4](https://doi.org/10.1016/s0939-6411(00)00087-4)
- 90 Li, G., Xu, Y., Wang, X., Zhang, B., Shi, C., Zhang, W., & Xia, X. (2014). Tannin-Rich Fraction from Pomegranate Rind Damages Membrane of *Listeria monocytogenes*. *Foodborne Pathogens and Disease*, 11(4), 313–319. <https://doi.org/10.1089/fpd.2013.1675>
- 91 De Almeida Roger, J., Magro, M., Spagnolo, S., Bonaiuto, E., Baratella, D., Fasolato, L., & Vianello, F. (2018). Antimicrobial and magnetically removable tannic acid nanocarrier: A processing aid for *Listeria monocytogenes* treatment for food industry applications. *Food Chemistry*, 267, 430–436. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.06.109>
- 92 Corrêa, A. C. N. T. F., Pereira, P. M. R., & Paschoalin, V. M. F. (2019). Preparation and characterization of nanoliposomes for the entrapment of bioactive hydrophilic globular proteins. *Journal of Visualized Experiments*, 150. <https://doi.org/10.3791/59900>
- 93 [Tecnica innovativa per la produzione di liposomi \(gruppotpp.it\)](http://www.gruppotpp.it)
- 94 Torchilin, V. P. (2005). Recent advances with liposomes as pharmaceutical carriers. *Nature Reviews Drug Discovery*, 4(2), 145–160. <https://doi.org/10.1038/nrd1632>
- 95 M. Imran, A. M. Revol-Junelles, N. René et al., “Microstructure and physico-chemical evaluation of nano-emulsion-based antimicrobial peptides embedded in bioactive packaging films,” *Food Hydrocolloids*, vol. 29, no. 2, pp. 407–419, 2012.
- 96 Kitts, D. D.; Weiler, K. Bioactive proteins and peptides from food sources. Applications of bioprocesses used in isolation and recovery. *Curr. Pharm. Des.* 2003, 9, 1309–1323.
- 97 Turkova, J. *Affinity Chromatography*, 1st ed.; Elsevier Scientific Publishing: Amsterdam, The Netherlands, 1978.
- 98 Bio, S. (2023c, February 7). Capillary Electrophoresis - Definition, principle, types and application. *Microbiology Note – Online Biology Notes*. <https://microbiology-note.com/it/elettroforesi-capillare-definizione-tipi-di-principio-e-applicazione>

- 
- 99Chimicamo. (2023, July 12). Elettroforesi: tipi, applicazioni - Chimicamo. Chimicamo. <https://chimicamo.org/chimica-analitica/elettroforesi/>
- 100 Bio, S. (2023b, January 17). Membrane filtration Method, types, advantages, disadvantages, applications. Microbiology Note – Online Biology Notes. <https://microbiologynote.com/it/tipi-di-metodi-di-filtrazione-a-membrana-vantaggi-svantaggi-applicazioni/>
- 101 Chang, S.H. Utilization of green organic solvents in solvent extraction and liquid membrane for sustainable wastewater treatment and resource recovery—a review. *Environ Sci Pollut Res* 27, 32371–32388 (2020). <https://doi.org/10.1007/s11356-020-09639-7>
- 102 Eivazzadeh-Keihan, R., Bahreinizad, H., Amiri, Z. R., Aliabadi, H. a. M., Salimibani, M., Nakisa, A., Davoodi, F., Tahmasebi, B., Ahmadpour, F., Radinekiyan, F., Maleki, A., Hamblin, M. R., Mahdavi, M., & Madanchi, H. (2021). Functionalized magnetic nanoparticles for the separation and purification of proteins and peptides. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 141, 116291. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2021.116291>
- 103 Jiao, F., Gao, F., Wang, H., Deng, Y., Zhang, Y., Qian, X., & Zhang, Y. (2017). Polymeric hydrophilic ionic liquids used to modify magnetic nanoparticles for the highly selective enrichment of N-linked glycopeptides. *Scientific Reports*, 7(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-017-07516-x>
104. Magro, M., Campos, R. a. S., Baratella, D., Ferreira, M. I., Bonaiuto, E., Corraducci, V., Uliana, M. R., Lima, G. P. P., Santagata, S., Sambo, P., & Vianello, F. (2015c). Magnetic Purification of Curcumin from Curcuma longa Rhizome by Novel Naked Maghemite Nanoparticles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(3), 912–920. <https://doi.org/10.1021/jf504624u>
- 105 Magro, M., Campos, R. a. S., Baratella, D., Ferreira, M. I., Bonaiuto, E., Corraducci, V., Uliana, M. R., Lima, G. P. P., Santagata, S., Sambo, P., & Vianello, F. (2015). Magnetic Purification of Curcumin from Curcuma longa Rhizome by Novel Naked Maghemite Nanoparticles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(3), 912–920. <https://doi.org/10.1021/jf504624u>
106. Bratovčić, A., Odošajić, A., Čatić, S., & Šestan, I. (2015b). Application of polymer nanocomposite materials in food packaging. *Croatian Journal of Food Science and Technology*, 7(2), 86–94. <https://doi.org/10.17508/cjfst.2015.7.2.06>
107. Bratovčić, A., Odošajić, A., Čatić, S., & Šestan, I. (2015). Application of polymer nanocomposite materials in food packaging. *Croatian Journal of Food Science and Technology*, 7(2), 86–94. <https://doi.org/10.17508/cjfst.2015.7.2.06>

- 
- 108 Bratovčić, A., Odošević, A., Čatić, S., & Šestan, I. (2015). Application of polymer nanocomposite materials in food packaging. *Croatian Journal of Food Science and Technology*, 7(2), 86–94. <https://doi.org/10.17508/cjfst.2015.7.2.06>
- 109 (Weiss, J., Takhistov, P., and Mc Clements, D. J. (2006). Functional materials in food nanotechnology. *J. Food Sci.* 71, R107–R116. doi: 10.1111/j.1750-3841.2006.00195.x),
- 110 Mittal, V. (2009). Polymer layered silicate nanocomposites: a review. *Materials* 2, 992–1057. doi: 10.3390/ma2030992
- 111 Muller, C. M. O., Laurindo, B. J., and Yamashita, F. (2012). Composites of thermoplastic starch and nanoclays produced by extrusion and thermopressing. *Carbohydr. Polym.* 89, 504–510. doi: 10.1016/j.carbpol.2012.03.035
- 112 Gutierrez, T. J., Ponce, A. G., and Alvarez, A. V. (2017). doi: 10.1016/j.matchemphys.2017.03.052
- 113 Wang, B., & Sain, M. (2007). Isolation of nanofibers from soybean source and their reinforcing capability on synthetic polymers. *Composites Science and Technology*, 67(11–12), 2521–2527. <https://doi.org/10.1016/j.compscitech.2006.12.015>
- 114 De Souza Lima, M. M., & Borsali, R. (2004d). Rodlike cellulose microcrystals: Structure, properties, and applications. *Macromolecular Rapid Communications*, 25(7), 771–787. <https://doi.org/10.1002/marc.200300268>
- 115 Chirayil, C. J., Mathew, L., and Thomas, S. (2014). Review of recent research in nano cellulose preparation from different lignocellulosic fibers. *Rev. Adv. Mater. Sci.* 37, 20–28
- 116 (doi: 10.1016/j.compscitech.2006.12.015
- 117 ; Kumar, N., and Kumbhat, S. (2016). *Essentials in Nanoscience and Nanotechnology*. John Wiley & Sons.)
- 118 De Souza Lima, M. M., & Borsali, R. (2004). Rodlike cellulose microcrystals: Structure, properties, and applications. *Macromolecular Rapid Communications*, 25(7), 771–787. <https://doi.org/10.1002/marc.200300268>
- 119 Zhou, X., Shin, E., Wang, K., & Bakis, C. E. (2004). Interfacial damping characteristics of carbon nanotube-based composites. *Composites Science and Technology*, 64(15), 2425–2437. <https://doi.org/10.1016/j.compscitech.2004.06.001>
- 120 Moghadam, A. D., Omrani, E., Menezes, P. L., & Rohatgi, P. K. (2015). Mechanical and tribological properties of self-lubricating metal matrix nanocomposites reinforced by carbon nanotubes (CNTs) and graphene – A review. *Composites Part B: Engineering*, 77, 402–420. <https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2015.03.014>

- 
- 121 (Kristo, E., & Biliaderis, C. G. (2007). Physical properties of starch nanocrystal-reinforced pullulan films. *Carbohydrate Polymers*, 68(1), 146–158. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2006.07.021>
- Kuswandi, B., Jayus, J., Restyana, A., Abdullah, A., Heng, L. Y., & Ahmad, M. (2012). A novel colorimetric food package label for fish spoilage based on polyaniline film. *Food Control*, 25(1), 184–189. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.10.008>
- 122 Dias, M. V., De Fátima Ferreira Soares, N., Borges, S. V., De Sousa, M. M., Nunes, C. A., De Oliveira, I. R. N., & Medeiros, É. a. A. (2013). Use of allyl isothiocyanate and carbon nanotubes in an antimicrobial film to package shredded, cooked chicken meat. *Food Chemistry*, 141(3), 3160–3166. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.05.148>
- 123 Kristo, E., & Biliaderis, C. G. (2007b). Physical properties of starch nanocrystal-reinforced pullulan films. *Carbohydrate Polymers*, 68(1), 146–158. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2006.07.021>
- Arora, A., & Padua, G. W. (2010). Review: Nanocomposites in food Packaging. *Journal of Food Science*, 75(1). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01456.x>
- 124 Arora, D., Sharma, N., Sharma, V., Abrol, V., Shankar, R., & Jaglan, S. (2016). An update on polysaccharide-based nanomaterials for antimicrobial applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100(6), 2603–2615. <https://doi.org/10.1007/s00253-016-7315-0>
- 125 Arora, D., Sharma, N., Sharma, V., Abrol, V., Shankar, R., and Jaglan, S. (2016). An update on polysaccharide-based nanomaterials for antimicrobial applications. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 100, 2603–2615. doi: 10.1007/s00253-016-7315-0
- 126 Burdock, G. A. (2007). Safety assessment of hydroxypropyl methylcellulose as a food ingredient. *Food and Chemical Toxicology*, 45(12), 2341–2351. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.07.011>
- 127 Cé, N., Noreña, C. P. Z., & Brandelli, A. (2012). Antimicrobial activity of chitosan films containing nisin, peptide P34, and natamycin. *Cyta-journal of Food*, 10(1), 21–26. <https://doi.org/10.1080/19476337.2010.537371>
- Ramos, Ó. L., Fernandes, J., Silva, S. I., Pintado, M., & Malcata, F. X. (2012). Edible Films and Coatings from Whey Proteins: A Review on Formulation, and on Mechanical and Bioactive Properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 52(6), 533–552. <https://doi.org/10.1080/10408398.2010.500528>
- 128 Arora, A., & Padua, G. W. (2010b). Review: Nanocomposites in food Packaging. *Journal of Food Science*, 75(1). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01456.x>



- 
- Ranjan, S., Dasgupta, N., Chakraborty, A., Samuel, S. M., Chidambaram, R., Shanker, R., & Kumar, A. (2014). Nanoscience and nanotechnologies in food industries: opportunities and research trends. *Journal of Nanoparticle Research*, 16(6). <https://doi.org/10.1007/s11051-014-2464-5>
- doi: 10.1016/j.jssas.2016.11.003
- Majid, I., Nayik, G. A., Dar, S. M., & Nanda, V. (2018). Novel food packaging technologies: Innovations and future prospective. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 17(4), 454–462. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2016.11.003>
- 129 (Bikiaris, D. N., and Triantafyllidis, K. S. (2013). HDPE/Cu-nanofiber nanocomposites with enhanced antibacterial and oxygen barrier properties appropriate for food packaging applications. *Mater. Lett.* 93, 1–4. doi: 10.1016/j.matlet.2012.10.128
- 130 Maria A. Busolo , Patricia Fernandez , Maria J. Ocio & Jose M. Lagaron (2010) Novel silver-based nanoclay as an antimicrobial in polylactic acid food packaging coatings, *Food Additives & Contaminants: Part A*, 27:11, 1617-1626, DOI: 10.1080/19440049.2010.506601
- 131 Damm, C., Münstedt, H., & Rösch, A. (2008). The antimicrobial efficacy of polyamide 6/silver-nano- and microcomposites. *Materials Chemistry and Physics*, 108(1), 61–66. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2007.09.002>
- 132 Damm, C., Münstedt, H., & Rösch, A. (2008b). The antimicrobial efficacy of polyamide 6/silver-nano- and microcomposites. *Materials Chemistry and Physics*, 108(1), 61–66. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2007.09.002>
- 133 Mihindukulasuriya, S. D. F., & Lim, L. T. (2014). Nanotechnology development in food packaging: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 40(2), 149–167. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2014.09.009>
- 134 Petchwattana, N., Covavisaruch, S., Wibooranawong, S., and Naknaen, P. (2016). Antimicrobial food packaging prepared from poly(butylene succinate) and zinc oxide. *Measurement* 93, 442–448. doi: 10.1016/j.measurement.2016.07.048
- 135 Chimicamo. (2024, January 12). Polibutilene succinato: proprietà, sintesi, usi da Chimicamo. Chimicamo. <https://chimicamo.org/chimica-organica/polibutilene-succinato/>
- 136 Sharma, C., Dhiman, R., Rokana, N., & Panwar, H. (2017). Nanotechnology: an untapped resource for food packaging. *Frontiers in Microbiology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01735>
- 137 (M.A. Busolo, J.M. Lagaron Oxygen scavenging polyolefin nanocomposite films containing an iron modified kaolinite of interest in active food packaging applications

---

Innovative Food Science & Emerging Technologies, 16 (2012), pp. 211-217

- 138 Li, X., Green, A. N. M., Haque, S. A., Mills, A., & Durrant, J. R. (2004). Light-driven oxygen scavenging by titania/polymer nanocomposite films. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 162(2–3), 253–259. <https://doi.org/10.1016/j.nainr.2003.08.010>
- 139 Ye, S. Y., Tian, Q. M., Song, X. L., and Luo, S. C. (2009). Photoelectrocatalytic degradation of ethylene by a combination of TiO<sub>2</sub> and activated carbon felts. *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* 208, 27–35. doi: 10.1016/j.jphotochem.2009.08.001
- 140 Li, X., Green, A. N. M., Haque, S. A., Mills, A., & Durrant, J. R. (2004b). Light-driven oxygen scavenging by titania/polymer nanocomposite films. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 162(2–3), 253–259. <https://doi.org/10.1016/j.nainr.2003.08.010>
- 141 Ye, S., Tian, Q., Song, X., & Luo, S. (2009). Photoelectrocatalytic degradation of ethylene by a combination of TiO<sub>2</sub> and activated carbon felts. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 208(1), 27–35. <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2009.08.001>
- 142 Ranjan, S., Dasgupta, N., Chakraborty, A., Samuel, S. M., Chidambaram, R., Shanker, R., & Kumar, A. (2014b). Nanoscience and nanotechnologies in food industries: opportunities and research trends. *Journal of Nanoparticle Research*, 16(6). <https://doi.org/10.1007/s11051-014-2464-5>
- 143 López-Rubio, A., Gavara, R., & Lagarón, J. M. (2006). Bioactive packaging: turning foods into healthier foods through biomaterials. *Trends in Food Science and Technology*, 17(10), 567–575. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2006.04.012>
- 144 Fernández, A., Cava, D., Ocio, M., & Lagarón, J. M. (2008). Perspectives for biocatalysts in food packaging. *Trends in Food Science and Technology*, 19(4), 198–206. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2007.12.004>
- 145 doi: 10.1016/j.meatsci.2006.04.024
- 146 Bouwmeester, H., Dekkers, S., Noordam, M., Hagens, W., Bulder, A., de Heer, C., et al. (2007). Health Impact of Nanotechnologies in Food Production. RIKILT/RIVM Report 2007.014
- 147 doi: 10.1016/j.jssas.2016.11.003
- 148 Lee, S., Sheridan, M., & Mills, A. (2005). Novel UV-Activated Colorimetric Oxygen Indicator. *Chemistry of Materials*, 17(10), 2744–2751. <https://doi.org/10.1021/cm0403863>

- 
- 149 (J. Xu, S.P. McCarthy, R.A. Gross, D.L. Kaplan  
Chitosan film acylation and effects on biodegradability)
- 150 M. Rinaudo, G. Pavlov, J. Desbrières  
Solubilization of chitosan in strong acid medium  
*International Journal of Polymer Analysis and Characterization*, 5 (3) (1999), pp. 267-276)
- 151 Jung, J., Puligundla, P., & Ko, S. (2012). Proof-of-concept study of chitosan-based carbon dioxide indicator for food packaging applications. In *Food Chemistry* (Vol. 135, Issue 4, pp. 2170–2174). Elsevier BV. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.07.090>
- 152 (X. Ge, Y. Kostov, G. Rao High-stability non-invasive autoclavable naked optical CO<sub>2</sub> sensor
- 153 Sharma, C., Dhiman, R., Rokana, N., & Panwar, H. (2017c). Nanotechnology: an untapped resource for food packaging. *Frontiers in Microbiology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01735>
- 154 Sharma, C., Dhiman, R., Rokana, N., & Panwar, H. (2017e). Nanotechnology: an untapped resource for food packaging. *Frontiers in Microbiology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01735>
- 155 Yang, L., & Li, Y. (2006). Simultaneous detection of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella Typhimurium* using quantum dots as fluorescence labels. *Analyst*, 131(3), 394–401. <https://doi.org/10.1039/b510888h>
- 156 Mihindikulasuriya, S. D. F., & Lim, L. T. (2014b). Nanotechnology development in food packaging: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 40(2), 149–167. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2014.09.009>
- 157 Fuertes, G., Soto, I., Carrasco, R., Vargas, M., Sabattin, J., & Lagos, C. (2016). Intelligent Packaging systems: sensors and nanosensors to monitor food quality and safety. *Journal of Sensors*, 2016, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2016/4046061>
- 158 Rossi, M., Passeri, D., Sinibaldi, A., Angjellari, M., Tamburri, E., Sorbo, A., Carata, E., & Dini, L. (2017). Nanotechnology for food packaging and food quality assessment. In *Advances in food and nutrition research* (pp. 149–204). <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2017.01.002>

- 
- 159 Smolander, M., Hurme, E., Koivisto, M., and Kivinen, S. (2004). Indicator. International Patent W O2004/102185 A1.
- 160 <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2017.01735/full#B97>
- 161 Zeng, J., Roberts, S., and Xia, Y. (2010). Nanocrystal-based time-temperature indicators. *Chem. Eur. J.* 16, 12559–12563. doi: 10.1002/chem.201002665
- 162 Bumbudsanpharoke, N., Kwon, S., & Lee, W. (2019). Optical response of photonic cellulose nanocrystal film for a novel humidity indicator. *International Journal of Biological Macromolecules*, 140, 91–97. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.08.055>
- 163 Shin, G. H., Chung, S. K., Kim, J. T., Joung, H. J., & Park, H. J. (2013). Preparation of Chitosan-Coated nanoliposomes for improving the mucoadhesive property of curcumin using the ethanol injection method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(46), 11119–11126. <https://doi.org/10.1021/jf4035404>
- 164 Shin, G. H., Chung, S. K., Kim, J. T., Joung, H. J., & Park, H. J. (2013). Preparation of Chitosan-Coated nanoliposomes for improving the mucoadhesive property of curcumin using the ethanol injection method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(46), 11119–11126. <https://doi.org/10.1021/jf4035404>
- 165 Fathi, M., Mozafari, M. R., & Mohebbi, M. (2012). Nanoencapsulation of food ingredients using lipid based delivery systems. *Trends in Food Science and Technology*, 23(1), 13–27. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2011.08.003>
- 166 Solans, C., Izquierdo, P., Nolla, J., Azemar, N., & García-Celma, M. J. (2005). Nanoemulsions. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 10(3–4), 102–110. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2005.06.004>
- 167 Y., Li, E. Cummins Hazard characterization of silver nanoparticles for human exposure routes *J. Environ. Sci. Health A*, 55 (2020), pp. 704-725
- 168 Peters, R., Oomen, A. G., Van Bommel, G., Van Vliet, L., Undas, A. K., Munniks, S., Bleys, R. L. a. W., Tromp, P., Brand, W., & Van Der Lee, M. (2020). Silicon dioxide and titanium dioxide particles found in human tissues. *Nanotoxicology*, 14(3), 420–432. <https://doi.org/10.1080/17435390.2020.1718232>

- 
- 169 eepti Ameta, Saurabh Tiwari, and Paramvir Singh. 2020. A Preliminary Study on Case-Based Learning Teaching Pedagogy: Scope in SE Education. In Proceedings of the 13th Innovations in Software Engineering Conference on Formerly known as India Software Engineering Conference (ISEC 2020). Association for Computing Machinery, New York, NY, USA, Article 11, 1–12. <https://doi.org/10.1145/3385032.3385045>
- 170 Deepti Ameta, Saurabh Tiwari, and Paramvir Singh. 2020. A Preliminary Study on Case-Based Learning Teaching Pedagogy: Scope in SE Education. In Proceedings of the 13th Innovations in Software Engineering Conference on Formerly known as India Software Engineering Conference (ISEC 2020). Association for Computing Machinery, New York, NY, USA, Article 11, 1–12. <https://doi.org/10.1145/3385032.3385045>
171. De Oliveira Mallia, J., Galea, R., Nag, R., Cummins, E., Gatt, R., & Valdramidis, V. (2022). Nanoparticle food Applications and their toxicity: Current trends and needs in risk assessment strategies. *Journal of Food Protection*, 85(2), 355–372. <https://doi.org/10.4315/jfp-21-184>
- 172 Hofmann-Antenbrink, M., Grainger, D. W., & Hofmann, H. (2015). Nanoparticles in medicine: Current challenges facing inorganic nanoparticle toxicity assessments and standardizations. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 11(7), 1689–1694. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2015.05.005>