

POLITECNICO DI TORINO

Collegio di Ingegneria Chimica e dei Materiali

Corso di Laurea Magistrale
in Ingegneria Chimica e dei Processi Sostenibili

Tesi di Laurea Magistrale

*Sostenibilità nel settore tessile: tintura della
lana con biomassa proteica da *Hermetia
illucens**



Relatore

Prof.ssa Sara Dalle Vacche

Correlatori

Dott.ssa Marina Zoccola

Dr. Ashish Mohod

Candidato
Matteo Aniello

Luglio 2025

Indice

Elenco delle tabelle

Elenco delle figure

1. Introduzione	1
2. Hermetia illucens nell'economia circolare e l'importanza dei coloranti ...	3
2.1. <i>Hermetia illucens</i>	3
2.2. <i>Ciclo vita</i>	3
2.3. <i>Allevamento della mosca soldato nera</i>	4
2.4. <i>Proprietà della Lana</i>	5
2.4.1. <i>Struttura Morfologica della Fibra della Lana</i>	5
2.5. <i>Composizione chimica della fibra della lana</i>	6
2.6. <i>Coloranti Naturali: origine e definizione</i>	7
2.7. <i>Interazione Fibra-Colorante Naturale ed uso di Sali Metallici</i>	8
3. Estrazione proteine da Hermetia illucens	11
3.1. <i>Materiali</i>	11
3.2. <i>Metodi</i>	11
3.2.1. <i>Raccolta e preparazione della BSF</i>	11
3.2.2. <i>Contenuto in umidità ed in ceneri della BSF</i>	11
3.2.3. <i>Estrazione dei lipidi/grassi</i>	13
3.3. <i>Idrolisi con acqua surriscaldata dei campioni di BSF</i>	14
3.3.1. <i>Introduzione</i>	14
3.3.2. <i>Specifiche tecniche</i>	14
3.3.3. <i>Uso dell'autoclave con agitazione meccanica</i>	15
3.3.4. <i>Idrolisi con acqua surriscaldata dei campioni di BSF</i>	16
3.4. <i>Caratterizzazione e Proprietà Chimiche</i>	19
3.4.1. <i>Spettroscopia FTIR</i>	19
3.4.2. <i>Analisi calorimetrica differenziale (DSC)</i>	20
3.4.3. <i>Analisi termogravimetrica (TGA)</i>	21
3.5. <i>Risultati e discussione</i>	22
3.5.1. <i>Composizione della BSF</i>	22
3.5.2. <i>Resa di estrazione dell'idrolisi con acqua surriscaldata</i>	23
3.5.3. <i>FTIR</i>	24

3.5.4. Analisi Termogravimetrica (TGA)	26
3.5.5. Calorimetria a Scansione Differenziale (DSC)	28
4. Processo Tintoriale	29
4.1. Introduzione.....	29
4.2. Meccanismi tintoriali	29
4.3. Legge di Fick	31
4.3.1. Parametri che influenzano la diffusione	31
4.4. Prove di Tintura.....	32
4.4.1. Metodi.....	32
4.4.2. Tintura con Ahiba Nuance Top Speed II	35
4.5. Analisi e Caratterizzazione dei Campioni Tinti	37
4.5.1. Forza del colore (K/S)	37
4.5.2. Solidità del colore	39
4.5.3. Solidità del colore allo sfregamento a secco e a umido.....	42
4.5.4. Microscopia Ottica.....	43
4.5.5. Microscopia Elettronica a Scansione (SEM)	44
4.6. Risultati e discussione	48
4.6.1. Forza del colore (K/S)	48
4.6.2. Solidità del Colore	53
4.6.3. Solidità del colore al lavaggio.....	53
4.6.4. Solidità del colore allo sfregamento	54
4.6.5. Microscopia Elettronica a Scansione (SEM)	55
4.6.6. Microscopia Ottica.....	56
5. Conclusioni	59
6. Bibliografia	61
A. Appendice -Descrizione delle metodologie di analisi utilizzate	i
A.1. Spettrometro a Infrarossi con Trasformata di Fourier (FT-IR)	i
A.1.2. Riflessione Totale Attenuata (ATR)	iii
A.2. Analizzatore Termogravimetrico (TGA)	iv
A.3. Calorimetro a Scansione Differenziale (DSC).....	v
A.4. Microscopio elettronico a scansione (SEM).....	vii
A.4.1. Principio.....	vii
A.4.2. Componenti del Microscopio Elettronico a Scansione (SEM).....	viii
A.5. Microscopio ottico.....	x
A.6. Ahiba Nuance Top Speed II	x
A.6.1. Funzionamento dello strumento	x
A.7. Datacolor Spectroflash SF 600X.....	xiii

A.7.1. Principio di funzionamento **xiii**

Elenco delle tabelle

Tabella 3.1: Contenuto di umidità e ceneri nelle tre diverse fasi del campione di BSF.....	23
Tabella 3.2: Concentrazione proteica e resa di estrazione	24
Tabella 4.1: Calcolo del quantitativo di mordente e colorante (idrolizzato proteico) da utilizzare nel bagno di tintura.....	35
Tabella 4.2: Intensità del colore dei campioni tinti con idrolizzato proteico ottenuto dai diversi stadi della BSF	48
Tabella 4.3: Intensità del colore dei campioni tinti con idrolizzato proteico ottenuto dai diversi stadi della BSF con mordente	49
Tabella 4.4: Solidità del colore al lavaggio dei tessuti in lana. 50% o.w.f. di idrolizzato proteico da larve, pupari e mosche, con e senza mordente.....	51
Tabella 4.5: Gradi di solidità allo sfregamento a secco e ad umido su tessuti di lana tinti con idrolizzato proteico al 50% o.w.f. da larva, pupario e mosca di BSF.....	52

Elenco delle figure

Figura 2.1: Contenuto di umidità e ceneri nelle tre diverse fasi del campione di BSF	3
Figura 2.2: Concentrazione proteica e resa di estrazione	5
Figura 2.3 Struttura morfologica della fibra di lana	6
Figura 2.4: Struttura generale degli amminoacidi	7
Figura 2.5: Spettro elettromagnetico, luce del visibile	8
Figura 2.6: Interazione tra fibra proteica e colorante naturale	9
Figura 2.7: Processo di tintura con pre-mordenzatura	9
Figura 3.1: Campana essiccante con gel di silice	12
Figura 3.2: Ditali di cellulosa (a), apparecchiatura soxhlet (b)	13
Figura 3.3: Autoclave a pressione da 5 litri con agitazione meccanica, Amar Equipment	14
Figura 3.4: Valvola di chiusura e di recupero dell'idrolizzato sul fondo dell'autoclave	16
Figura 3.5: Centrifuga Jouan MR1822	17
Figura 3.6: Idrolizzato proteico essiccato	18
Figura 3.7: Spettrometro FT-IR Nicolet iZ10 con modulo ATR	19
Figura 3.8: DSC Mettler Toledo 821	20
Figura 3.9: Micro bilancia Mettler Toledo MT5	21
Figura 3.10: TGA Mettler Toledo	22
Figura 3.11: Spettro dello stadio larvale di BSF	24
Figura 3.12: Spettro della cenere dello stadio larvale di BSF	25
Figura 3.13: Spettro IR dei lipidi dello stadio larvale di BSF	26
Figura 3.14: TGA larva (rosso), pupario (blu) e mosca (nero)	27
Tabella 3.15: DTG larva (rosso), pupario (blu) e mosca (nero)	27
Figura 3.16: Termogramma DSC estratto da larva	28
Figura 4.1: Fasi del processo di tintura	30
Figura 4.2: Bilancia Analitica Sartorius A200	33
Figura 4.3: Solfato ferroso, idrolizzato proteico e tessuto di lana per il bagno di tintura	34
Figura 4.4: pH-metro da banco Hach sensION+ PH3	34
Figura 4.5: Datacolor Ahiba Nuance Top Speed II	36
Figura 4.6: Pannello di controllo del Datacolor (a), Programma di tintura (b)	37
Figura 4.7: Datacolor Spectroflash SF 600X	38
Figura 4.8: Assemblaggio campioni tinti, standard e multi fibra	39

Figura 4.9: Linitest modello James Heal utilizzato per testare la solidità al lavaggio secondo la norma UNI-EN-ISO 10-C06.....	40
Figura 4.10: Cestello rotante all'interno del Linitest	40
Figura 4.11: Campione tinto, tessuto in lana e tessuto multi fibra scuciti a fine lavaggio	41
Figura 4.12: Scala dei grigi scura (a destra), chiara (a sinistra) utilizzate per le solidità al lavaggio	42
Figura 4.13: Immagine del Crockmeter.....	42
Figura 4.14: Quadratini di tessuto testimone dopo sfregamento a secco e a umido	43
Figura 4.15: Microscopio ottico Leica DMLP	44
Figura 4.16: SEMZEISS.....	45
Figura 4.17: Portacampioni metallici a disco	45
Figura 4.18: Metallizzatore Quorum (a) e camera di metallizzazione (b).....	46
Figura 4.19: SEM Dual Joystick	47
Figura 4.20: Tessuti di lana dopo tintura con idrolizzato proteico larvale in assenza di mordente, a partire dal 2% (a sinistra) fino al 50% in concentrazione di colore o.w.f. (a destra)	49
Figura 4.21: Tessuto di lana ottenuto con idrolizzato proteico della mosca in assenza di mordente, a partire dal 2% (a sinistra) fino al 50% in concentrazione di colore o.w.f. (a destra)	49
Figura 4.22: Tessuto di lana ottenuto con idrolizzato proteico pupale in assenza di mordente, a partire dal 2% (a sinistra) fino al 50% in concentrazione di colore o.w.f. (a destra)	50
Figura 4.23: Confronto tra diversi tessuti di lana al 50% di colore (o.w.f.) in assenza di mordente, tinti con i diversi idrolizzati proteici	51
Figura 4.24: Tessuti di lana tinti con idrolizzato proteico larvale con mordente al 5% (o.w.f.), ottenuti all'aumentare della concentrazione del colore dal 2% (a sinistra) al 50% o.w.f. (a destra).....	51
Figura 4.25: Tessuti di lana tinti con idrolizzato proteico della mosca con mordente al 5% (o.w.f.), ottenuti all'aumentare della concentrazione del colore dal 2% (a sinistra) al 50% o.w.f. (a destra).....	52
Figura 4.26: Tessuti di lana tinti con idrolizzato proteico pupale con mordente al 5% (o.w.f.), ottenuti all'aumentare della concentrazione del colore dal 2% (a sinistra) al 50% o.w.f. (a destra).....	53
Figura 4.27: SEM del tessuto di lana non trattato (a), tessuto trattato con idrolizzato proteico (b).....	56
Figura 4.28: SEM tessuti di lana trattati con idrolizzato proteico da diversi stadi della BSF	56
Figura 4.29: Sezione trasversale di (a) lana di riferimento non tinta 20x , (b) lana tinta con idrolizzato proteico da larva 50% o.w.f. senza mordente 20x	57

Figura 4.30: Sezione trasversale di (c) lana tinta con idrolizzato proteico da larva 5% o.w.f. e 50% o.w.f. mordente (20x)(d) lana tinta con idrolizzato proteico da pupario 50% o.w.f., senza mordente (20x)	57
Figura 4.31: Sezione trasversale di (e) lana tinta con idrolizzato proteico da pupario 5% o.w.f. e 5% o.w.f. mordente (20x), (f) lana tinta con idrolizzato proteico da mosca 50% o.w.f., senza mordente (20x)	58
Figura 4.32: Sezione trasversale di (g) lana tinta con idrolizzato proteico da mosca 50% o.w.f. e 5% o.w.f. mordente (20x)	58
Figura A.1: Schema di funzionamento di uno spettrometro FT-IR	i
Figura A.2: Assorbimenti nell'infrarosso tipici per vari tipi di legami.....	iii
Figura A.4: Schema di una cella DSC a flusso di calore con un sistema di misura a disco...	vi
Figura A.5: Figura A.5: Colonna SEM	ix
Figura A.6: Camera interna con tamburo rotante dell'Ahiba Nuance Top Speed II	xi
Figura A.7: Meccanismo di rotazione del becher nell'Ahiba Nuance Top Speed II	xi
Figura A.8: Chiusura dei becher con cacciavite esagonale	xii
Figura A.9: Strumenti per la calibrazione del Datacolor Spectroflash SF 600X.....	xiii

1. Introduzione

Negli ultimi anni, l'industria tessile ha iniziato una transizione verso soluzioni sempre più sostenibili, riducendo l'uso di prodotti chimici sintetici e cercando alternative ecocompatibili per la tintura dei tessuti. Di conseguenza, lo studio di biomateriali di origine naturale è diventato di notevole interesse, in particolare in relazione all'uso innovativo di risorse biologiche, come ad esempio gli insetti. Uno degli insetti più analizzati in questo contesto è la mosca soldato nera o *Hermetia illucens*, un noto decompositore di scarti organici, in grado di bioconvertire i nutrienti inutilizzati da scarti alimentari in biomassa dell'insetto ad alto contenuto proteico e lipidico. Ad oggi, questi composti possono essere estratti e utilizzati per produrre materiali bio-based destinati a diverse applicazioni tecniche, tra cui la tintura di fibre naturali utilizzando pigmenti e proteine estratte dall'insetto. Tuttavia, il profilo biochimico della biomassa varia a seconda dello stadio di vita dell'insetto, influenzando le sue proprietà coloranti e il suo risultato sul tessuto. Lo studio include l'analisi delle proteine estratte da *Hermetia illucens*, con una tecnica di estrazione sostenibile ed ecocompatibile, in tre diversi stadi di vita e il loro effetto sulla tintura di tessuti in lana. Uno degli obiettivi è valutare le variazioni del tipo e quantità di estratto sulla resa cromatica, la qualità della colorazione e la interazione con la fibra. La forza del colore, la solidità del colore al lavaggio ed allo sfregamento saranno analizzate per valutare il potenziale applicativo di queste biomasse proteiche come agenti coloranti biologici. Questo lavoro si inserisce nel progetto HI-TECH-*Hermetia illucens* biofactory: from waste to high-value technological products che fa riferimento al Bando PRIN 2022, in cui sono studiate alcune applicazioni potenziali dell'*Hermetia illucens* per lo sviluppo di materiali ad uso tecnologico.

2. *Hermetia illucens* nell'economia circolare e l'importanza dei coloranti naturali

2.1. *Hermetia illucens*

La mosca soldato nera, conosciuta anche come *Hermetia illucens*, è un insetto dell'ordine Diptera appartenente alla famiglia *Stratiomyidae*. Il nome di questa famiglia deriva da due caratteristiche distintive: negli adulti, la presenza di spine toraciche simili a un'armatura, mentre nello stadio larvale, le strisce disposte in modo regolare che ricordano le uniformi dei soldati. [1,2]. Questa specie si contraddistingue per la sua ampia distribuzione a livello mondiale e per la sua flessibilità nell'adattarsi a diversi ecosistemi senza causare problemi ecologici [3]. Nonostante la prima comparsa di *Hermetia illucens* sia stata documentata in Nord America [4], questo insetto è stato segnalato per la prima volta in Europa nel 1926, con un primo avvistamento registrato a Malta [5]. La sua diffusione nel bacino del Mediterraneo ed in altre aree tropicali del mondo testimonia la sua notevole adattabilità. Questa specie sta suscitando sempre più attenzioni come soluzione naturale e innovativa, per una gestione sostenibile dei rifiuti organici e per la produzione di biomassa ricca di nutrienti [6].

2.2. Ciclo vita

Il ciclo vita della mosca soldato nera, **Figura 2.1**, è caratterizzato da significative trasformazioni metaboliche, dettate da esigenze fisiologiche, che comportano importanti variazioni nella composizione di proteine e lipidi nell'insetto.

La prima fase è rappresentata dalle uova, di colore giallo chiaro e lunghe circa 1mm, che vengono deposte sul substrato organico e schiudono in circa 4 giorni, a seconda delle condizioni ambientali [8]. Durante questo stadio, ovvero quello del ciclo embrionale, le uova si distinguono per un alto tasso proteico (45%) e un 15,8% di grassi, mettendo a disposizione elevate riserve energetiche funzionali alla crescita dell'insetto e ad un adeguato avvio del ciclo vitale [9]. Successivamente dalle uova schiuse, fuoriescono le larve, e in questo stadio l'insetto accumula rapidamente le riserve di grasso, raggiungendo il suo picco massimo, pari a circa il 28,4% della massa secca [10]. A seconda del substrato alimentare, fornito durante la dieta e alle condizioni climatiche alle quali sono esposti, il contenuto proteico subisce variazioni considerevoli con valori medi del 41,5%, ma che possono avvicinarsi anche al 61-63% considerando la densità dell'allevamento [11,12].

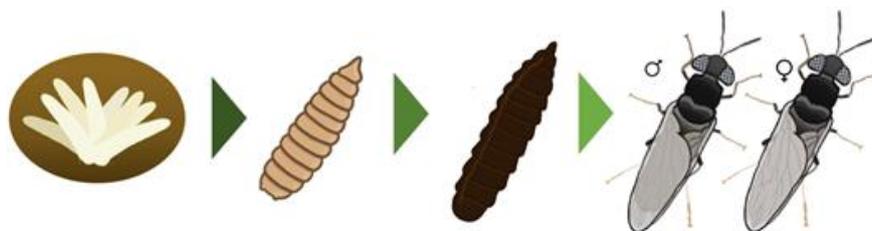


Figura 2.1: Ciclo vita di *Hermetia illucens* [7]

Con l'avvicinamento allo stadio di prepupa, il contenuto in grassi inizia a diminuire, mentre il quantitativo proteico aumenta, a dimostrazione dell'utilizzo delle riserve energetiche per raggiungere la maturazione.

Una volta completata la crescita larvale, l'insetto entra nello stadio prepupa e successivamente di pupa, dove avviene una trasformazione ancora più marcata in cui la larva si ritira all'interno di un esoscheletro indurito, chiamato pupario, rimanendo in uno stato di riposo, aspettando le migliori condizioni per la metamorfosi in adulto.

Nel corso della fase pupale, il contenuto proteico può raggiungere un valore pari a 46,2%, mentre i grassi calano progressivamente fino ad un minimo dell'8,2%. Le prepupe della mosca soldato nera, si identificano come un'ottima risorsa di proteine, lipidi e chitina, elementi rilevanti per la produzione di farine proteiche, biopolimeri e coloranti naturali [6].

Nell'ultimo stadio evolutivo si raggiunge la fase adulta, caratterizzata da ali con nervature dense e una colorazione nera. Il contenuto proteico resta elevato, arrivando fino al 57,6%, mentre quello lipidico si stabilizza su valori attorno al 21,6% [9].

Questi quantitativi identificano il ruolo dell'adulto concentrato principalmente sulla riproduzione anziché sull'accumulo delle riserve energetiche. A differenza di molte altre specie di Ditteri, gli adulti quindi non si nutrono, sopravvivendo così grazie ai grassi accumulati nella fase larvale. Questa peculiarità comporta una semplificazione notevole nell'allevamento della specie, andando a ridurre i costi di nutrizione degli adulti ed il rischio di diffusione di malattie [13,14].

2.3. Allevamento della mosca soldato nera

L'allevamento della mosca soldato nera, è una tecnologia nuova ed ecologica per lo smaltimento dei rifiuti organici e la produzione di biomassa ad alto valore utile in diversi settori industriali. La pratica su larga scala di questa tecnologia potrebbe abbattere significativamente problematiche ambientali, come emissioni atmosferiche di sostanze tossiche durante la digestione anaerobica, e la contaminazione del suolo e delle acque. Come prima accennato l'*Hermetia illucens* è un bioconvertitore naturale con una elevata capacità di valorizzare substrati organici, tra cui letame animale [15], rifiuti agricoli e alimentari [16,17] e anche materiali specifici come caffè e cera d'api [8]. Durante la digestione la mosca soldato nera è in grado di ridurre, in modo significativo, le cariche patogene presenti nei rifiuti organici, andando ad abbattere batteri come *Escherichia coli* e *Salmonella enterica* [18,19], grazie alla sua attività enzimatica che comporta la produzione di ammoniaca determinando valori più alcalini del pH del substrato. Questo rende il residuo del substrato post-conversione, detto "frass", privo di patogeni e idoneo all'uso come fertilizzante organico. Allo stesso tempo, l'elevata quantità di acido laurico (60-75%) che si è in grado di estrarre dalle larve, rappresenta un'alternativa sostenibile agli oli di cocco e palma, riducendo così l'attività di deforestazione [20]. Le sue caratteristiche nutrizionali, come fonte di proteine, lipidi e chitina, la fanno risultare una vera e propria risorsa sostenibile e versatile con un elevato potenziale in diversi settori industriali, in particolare per la produzione di mangimi, coloranti naturali, biopolimeri, come le bioplastiche, e biodiesel, in applicazioni bioenergetiche, e la fanno rientrare così nell'ambito dell'economia circolare. Nonostante i numerosi vantaggi, l'allevamento della mosca soldato nera è soggetto a limitazioni normative, soprattutto in Europa, dove l'uso di rifiuti organici come substrato per la crescita è regolamentato in modo rigoroso [20]. Tuttavia, in paesi come l'Asia e l'America Latina è già ampiamente utilizzata nella gestione dei rifiuti organici su larga scala [21].

Con l'introduzione di investimenti focalizzati ad una revisione della normativa, la mosca soldato nera potrebbe svolgere un ruolo di rilievo per la produzione di prodotti biodegradabili, **rinnovabili** ed **ecompatibili** con l'ambiente, seguendo il più possibile i principi della Green Chemistry, scienza che fonde sostenibilità e progresso tecnologico, migliorando così anche il settore dell'industria tessile (vedi **Figura 2.2**).



Figura 2.2: Bioconversione dei rifiuti alimentari in prodotti ad alto valore aggiunto [22]

2.4. Proprietà della Lana

La struttura della fibra di lana è piuttosto articolata. Una miscela complessa di proteine costituiscono la maggior parte della sua composizione. Una delle caratteristiche principali è l'auto organizzazione della struttura e nonostante sia definita da un alto grado di complessità molecolare la lana presenta una gerarchia di componenti ben definita [23].

2.4.1. Struttura Morfologica della Fibra della Lana

La lana è un materiale cheratinoso, composto da un gruppo di proteine fibrose [24]. La cheratina è una sostanza naturale biocompatibile, biodegradabile e igroscopica [25,26]. In generale, le qualità fisiche delle fibre di lana possono variare a seconda della lunghezza della fibra, del suo diametro e delle arricciature presenti. Inoltre, per quanto riguarda la composizione chimica, la lana è composta da venti diversi amminoacidi. Le fibre di lana sono anche fisicamente diverse tra loro.

La fibra di lana è costituita da cellule cuticolari esterne ed appiattite, cellule corticali interne di forma allungata e cemento intercellulare che si trova fra le cellule corticali e tra le cellule corticali e le cellule cuticolari (vedi **Figura 2.3**). Le cellule cuticolari rappresentano il 10% della fibra di lana, le cellule corticali l'87%, il cemento intercellulare il restante 3%. Nelle fibre più grossolane può essere presente una cavità interna chiamata midollo [27].

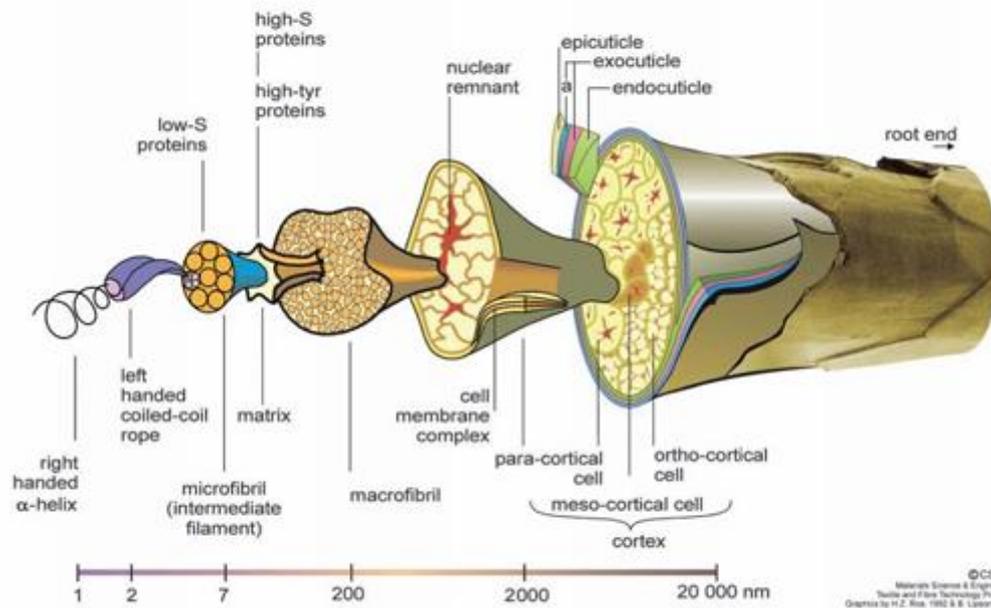


Figura 2.3: Struttura morfologica della fibra di lana [28]

Le cellule della cuticola si differenziano per la presenza di due strati caratteristici che sono l'esocuticola esterna, definita da un quantitativo di cistina pari al 50% e l'endocuticola interna, composta dal 3% di cistina. La cuticola è costituita da una sottile membrana che ne ricopre la superficie, nota come epicuticola, che contiene il 12% di cistina. L'esocuticola è ulteriormente suddivisa in due strati, chiamati esocuticola A, che contiene il 35% di cistina, ed esocuticola B, che contiene il 15% di cistina. Le cellule corticali determinano le proprietà meccaniche della lana. Le due principali categorie di cellule corticali sono le cellule orto- e paracorticali. Una terza classe di cellule, note come cellule mesocorticali, che costituiscono non più del 4% della fibra, si trova lungo il confine tra le regioni orto- e paracorticali[28].

2.5. Composizione chimica della fibra della lana

Le fibre della lana sono caratterizzate da un contenuto proteico cheratinoso pari all'82%, formato per lo più filamenti ricchi in cistina. Il restante 18% è formato da proteine non cheratinose, con basso contenuto di cistina. Le fibre di lana sono composte anche dall'1% di componenti non proteici, come lipidi cerosi e una minore quantità di carboidrati. Le cheratine, che sono un tipo di proteina, hanno una struttura fibrosa e costituiscono il componente principale delle fibre di lana. Le cheratine sono costituite principalmente da proteine con un alto contenuto di zolfo e legami disolfuro, che rendono le fibre di lana insolubili in acqua e resistenti a un'ampia gamma di agenti chimici. La cheratina ha un peso molecolare compreso tra 10 e 60 kDa e si estrae rompendo i legami disolfuro sulle fibre di lana attraverso vari metodi, tra cui processi ossidativi, riducenti, enzimatici e di altro tipo. Le cheratine sono divise in due categorie: cheratine morbide e cheratine dure. Queste categorie sono determinate dalle qualità chimiche e fisiche delle cheratine, nonché dalla quantità di zolfo presente in esse. Le cheratine dure si trovano nella lana, nei capelli, nelle unghie, nelle corna e in altri materiali, mentre le cheratine morbide hanno una bassa concentrazione di zolfo, inferiore al 3% in peso, e si trovano principalmente nello strato corneo della pelle. Per quanto riguarda le

cheratine dure, esse sono costituite da un contenuto di zolfo superiore al 3% in peso. In base al modello di diffrazione ai raggi X, le cheratine possono suddividersi in α -cheratine e β -cheratine, considerando la loro diversa struttura secondaria. Infine le proteine della fibra della lana, si diversificano per la presenza di 20 diversi amminoacidi, (**Figura 2.4**). Quest'ultimi presentano un gruppo amminico ($-\text{NH}_2$) e un gruppo carbossilico ($-\text{COOH}$).

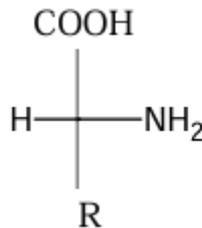


Figura 2.4: Struttura generale degli amminoacidi [28]

2.6. Coloranti Naturali: origine e definizione

I coloranti naturali, utilizzati fin dall'antichità, hanno sempre rappresentato una risorsa fondamentale per la tintura di tessuti, fibre e variegate tipologie di materiali. La loro capacità nel conferire un effetto cromatico è dovuta all'interazione tra la luce visibile e le molecole cromofore che li compongono. Quest'ultime, (Flavonoidi, Carotenoidi, Clorofille e molte altre), si distinguono per la presenza di strutture con doppi legami coniugati, (alternanza di doppi e singoli legami), in grado di assorbire e riflettere specifiche lunghezze d'onda della luce, appartenenti allo spettro della luce visibile (**Figura 2.5**), determinando così la percezione di un colore specifico. Questo meccanismo non solo ci aiuta a comprendere la varietà di colori presenti in natura, ma viene impiegato in settori come l'industria tessile e alimentare, dove i coloranti naturali vengono utilizzati per colorare cibi, bevande e tessuti [29].

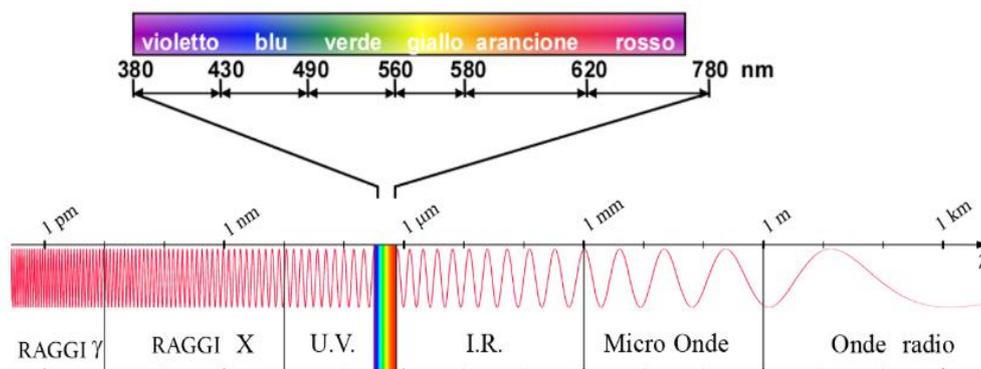


Figura 2.5: Spettro elettromagnetico, luce del visibile [30]

I coloranti naturali si distinguono in vegetali, animali e minerali. I coloranti di origine **vegetale** provengono da piante, fiori, radici, cortecce, foglie e semi. Tra i più noti ci sono l'indaco, estratto dalla specie *Indigofera tinctoria*, usato per la tintura di cotone e lana, capace di donare tonalità blu intense e la curcuma, (*Curcuma longa*), che fornisce tonalità gialle brillanti e che viene spesso impiegata per la tintura di seta e cotone [31].

Oltre alle piante, alcuni insetti o altri organismi, rappresentano fonti preziose di coloranti naturali di origine **animale**. Un esempio è la porpora di Tiro, ottenuta da molluschi e impiegata già in antichità per tingere i tessuti più pregiati. Un altro è l'acido carminico, estratto dalla specie *Dactylopius coccu*, comunemente conosciuto come cocciniglia, che impartisce un intenso colore rosso. Per concludere, i coloranti di origine **minerale** si ricavano da sostanze inorganiche come terre e minerali, tra i più conosciuti: l'ocra, per le tonalità gialle, la malachite per le tonalità verdi e il cinabro per il rosso brillante [31].

2.7. Interazione Fibra-Colorante Naturale ed uso di Sali Metallici

L'industria tessile è in grado di avvalersi della capacità dei coloranti naturali di legarsi alle fibre attraverso diversi processi chimici e fisici. L'adsorbimento rappresenta la fase iniziale della tintura, in cui le molecole cromofore del colorante, vengono adsorbite sulla superficie della fibra per mezzo di interazioni elettrostatiche come: legami ad idrogeno, forze di Van der Waals ed interazioni idrofobiche. La capacità da parte dell'adsorbato di accumularsi sulla superficie- è influenzata dalla composizione chimica della fibra stessa.

Nelle fibre proteiche come lana e seta, di origine animale, **Figura 2.6**, la presenza di gruppi amminici e carbossilici $(-\text{NH}_2, -\text{COOH})$ - permette la formazione di legami covalenti o ionici con i gruppi reattivi dei coloranti garantendo una buona adesione del colore con ottimi risultati su lunga durata.

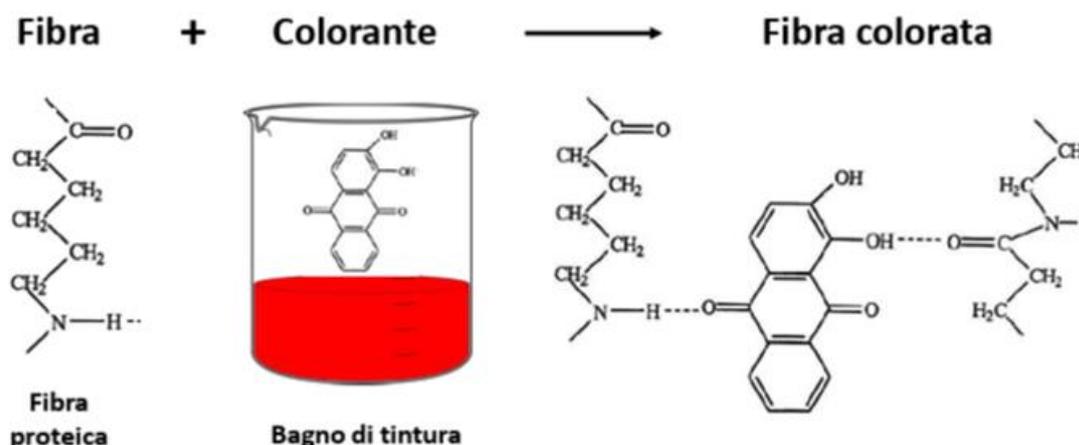


Figura 2.6: Interazione tra fibra e colorante naturale [29]

Per le fibre cellulosiche, di origine vegetale come il lino e il cotone, l'interazione avviene principalmente mediante legami ad idrogeno e forze dipolo-dipolo, tra i gruppi idrossilici del

colorante (-OH) e i gruppi meno reattivi della cellulosa. Tuttavia, la solidità del colore e la resistenza al lavaggio risultano meno efficaci, necessitando così dell'utilizzo di mordenti metallici, come solfato di ferro e allume, per migliorare le solidità della tintura [22,32].

Il termine "mordente" deriva dal latino *mordere*, che significa "mordere". Infatti, quest'ultimo grazie alla sua capacità di formare legami chimici con le fibre e i coloranti naturali, determina un ruolo ancorante assicurando che le tinte risultino più intense e resistenti. Il ruolo del mordente, una volta fissatosi sulla fibra, è quello di rendere insolubile il colorante, formando complessi metallorganici (legami covalenti e di coordinazione) e fungendo così da ponte tra fibra e colorante (**Figura 2.7**). La sua applicazione può avvenire con tre differenti metodiche: pre, meta, post-mordenzatura, ovvero prima della tintura, durante il processo di tintura e dopo il bagno di tintura, conferendo effetti cromatici differenti.

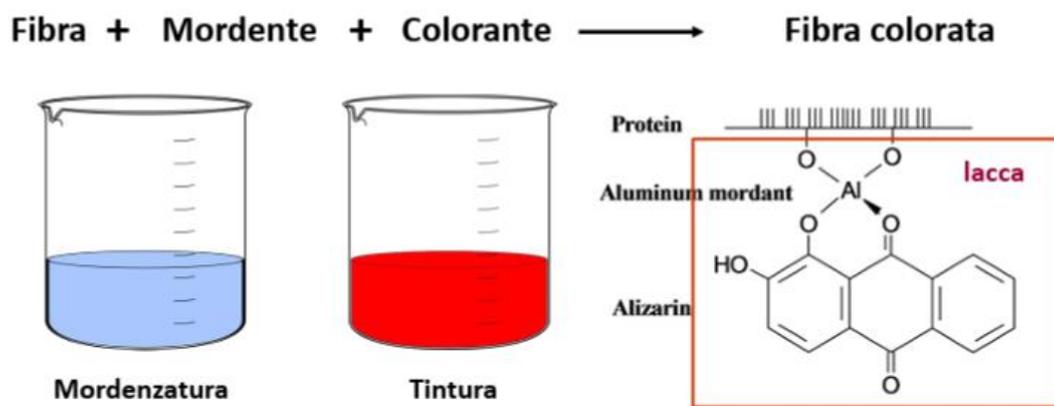


Figura 2.7: Processo di tintura con pre-mordenzatura [29]

L'utilizzo del mordente è dunque una tecnica fondamentale nella tintura naturale, in quanto non solo conferisce resistenza, intensità e solidità del colore, ma può influenzare anche la tonalità finale. Ad esempio, mordenti schiarenti o scurenti- permettendo di ottenere sfumature e colorazioni differenti dalla tonalità naturale del pigmento di partenza [33].

2.5 L'importanza dell'*Hermetia illucens* nell'Industria Tessile

I coloranti naturali sono stati ampiamente utilizzati nella tintura dei tessuti per secoli, ma con l'avvento dei coloranti sintetici il loro utilizzo è diminuito drasticamente. Uno dei principali limiti dei coloranti naturali è, come dimostrato in precedenza, la scarsa affinità con le fibre tessili, che si traduce con una ridotta resistenza ai lavaggi e allo sfregamento. Per aggirare il problema e migliorare la fissazione del colore, sono stati adottati mordenti metallici di ferro e allume che, pur migliorando la solidità del colore, possono avere un impatto negativo sull'ambiente e sulla salute umana [34].

Tuttavia, i coloranti sintetici sono sostanze prodotte a partire da **risorse non rinnovabili** come- petrolio, carbone o gas naturale. Nonostante i loro innumerevoli vantaggi come basso costo, ampia gamma di tonalità, elevate proprietà di resistenza ad agenti ambientali e disponibilità, le crescenti preoccupazioni ambientali legate alla loro produzione e allo

smaltimento ha riportato in primo piano l'interesse per le alternative naturali, che possono derivare da piante, frutti, scarti agricoli e insetti [29,35].

Per un futuro più sostenibile, il settore tessile deve continuare a investire in alternative sostenibili, promuovendo un approccio più responsabile nei confronti della tintura dei tessuti. L'unione tra uso consapevole delle risorse e innovazione tecnologica sarà determinante per realizzare un sistema produttivo circolare ed ecologico.

Inoltre, l'estrazione di coloranti naturali dall'*Hermetia illucens* con acqua surriscaldata rappresenta un'alternativa più sostenibile in confronto ai metodi tradizionali basati su agenti alcalini chimici. Questo processo, oggetto di studio, è in grado di sfruttare temperature superiori ai 100°C e una pressione controllata, facendo in modo che l'acqua funga da solvente e permettendo di recuperare un idrolizzato proteico in modo selettivo senza l'uso di sostanze tossiche [36]. I vantaggi che questa tecnologia offre sono molteplici a partire da una maggiore efficienza energetica, dovuta a tempi brevi e al basso consumo di elettricità. Inoltre, i prodotti non estratti possono essere riutilizzati in agricoltura come fertilizzanti ed infine garantisce una riduzione di sprechi in termini di materia prima.

L'impiego di acqua surriscaldata per l'estrazione dei coloranti naturali non solo migliora l'efficienza produttiva, ma contribuisce alla tutela dell'ambiente, abbassando così l'impatto ecologico dell'intero processo. Sebbene rimangano ancora alcune sfide, come garantire una buona stabilità cromatica e rendere il processo applicabile su larga scala, l'impiego della tintura con coloranti estratti da *Hermetia illucens* può contribuire in modo significativo a ridurre l'impatto ambientale del settore tessile per garantire un futuro più sostenibile e responsabile [37][36].

3. Estrazione proteine da *Hermetia illucens*

3.1. Materiali

È stato utilizzato come colorante naturale l'estratto proteico ottenuto da *Hermetia illucens*, che è stata alimentata con scarti alimentari di mensa e ha bioconvertito questi scarti trasformandoli nella propria biomassa, dalla quale si possono estrarre proteine, lipidi, chitina. L'allevamento di questi insetti è stato condotto presso il Centro di Agrozootecnica Tetto Frati a Carmagnola (TO), di proprietà dell'Università degli Studi di Torino in una camera climatizzata dove temperatura ($29 \pm 0,5^\circ\text{C}$) e umidità relativa ($60 \pm 5\%$) vengono controllate e regolate con precisione. Un sistema di ventilazione assicura un flusso di aria costante, evitando così stratificazioni e garantendo una adeguata ossigenazione e prevenendo il surriscaldamento. Vengono inoltre monitorati i livelli di ammoniaca ed anidre carbonica per garantire un ambiente ottimale.

Le larve, i pupari e gli adulti della Black Soldier Fly sono forniti da UNITO al CNR STIIMA di Biella per la bioraffinazione. Dopo le fasi di lavaggio e macinazione, i lipidi vengono estratti dalla BSF mediante un processo di estrazione con solvente, utilizzando un apparecchio Soxhlet con esano. L'esano (C_6H_{14}), il solfato ferroso ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), per la mordenzatura della lana, il detergente ECE e il perborato di sodio ($\text{NaBO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$) con una purezza maggiore del 99% (grado puro per analisi) per la prova di solidità delle tinte al lavaggio sono stati acquistati da Sigma-Aldrich. Le soluzioni necessarie alle concentrazioni richieste sono state preparate utilizzando acqua distillata ottenuta mediante un sistema Millipore. Tutti i prodotti chimici sono stati utilizzati come ricevuti dal fornitore. Il tessuto di lana che è stato tinto è un tessuto standard ISO F01 non trattato acquistato presso la ditta Ausiliari Tessili Srl, (Cornaredo Milano).

3.2. Metodi

3.2.1. Raccolta e preparazione della BSF

Ogni campione di BSF allo stadio di larva, pupario e mosca adulta è stato selezionato manualmente eliminando impurità come terreno o residui alimentari. Inoltre, durante la cernita delle larve di BSF, è stata posta particolare attenzione ad evitare la raccolta accidentale di pupari o mosche adulte. La stessa procedura è stata applicata per la pulizia dei pupari e delle mosche. Ogni campione di larve, pupari e mosche è stato lavato tre volte con acqua distillata e poi essiccato in forno a 55°C per 24 ore. Dopo la pulizia, ciascun campione di BSF è stato macinato grossolanamente con un mixer domestico (Bosch MSM66150 Immersion Mixer, 600 W) prima di essere sottoposto ad ulteriori analisi e processi di raffinazione.

3.2.2. Contenuto in umidità ed in ceneri della BSF

Per determinare il contenuto di umidità, circa 1 g di ciascun campione di larve, pupari e mosche morte sono stati essiccati in un forno ventilato a 105°C fino al raggiungimento di un peso costante.

Il contenuto di umidità è stato calcolato utilizzando la formula (3.1):

$$\text{Umidità (\%)} = \frac{A_i - A_f}{A_i} \times 100 \quad (3.1)$$

Dove:

- A_i = peso iniziale del campione di **BSF**
- A_f = peso finale del campione di **BSF**

Il contenuto di ceneri nei campioni di larve, pupari e mosche morte è stato determinato mediante **forno a muffola**. Un quantitativo di 3 g di ciascun campione è stato posto in un piccolo contenitore in platino e sottoposto a una temperatura di **550 °C per 5 ore + 5 ore** fino a completa mineralizzazione.

La temperatura del forno è stata aumentata gradualmente per evitare shock termici del materiale nel forno a muffola. Alla fine dell'analisi prima della pesata i campioni sono stati fatti raffreddare in una campana di vetro dove nella parte posteriore è presente gel di silice per assorbire eventuali residui di umidità dovute alle capacità idrofile del minerale, **Figura 3.1**. Il contenuto di ceneri è stato calcolato con la formula(3.2):

$$\text{Contenuto di ceneri (\%)} = \frac{A_f}{A_i} \times 100 \quad (3.2)$$

- A_i = peso iniziale del campione essiccato di **BSF**
- A_f = peso finale delle ceneri

I calcoli del contenuto di umidità e di ceneri vengono riferiti sempre al peso secco iniziale.



Figura 3.1: Campana essiccante con gel di silice

3.2.3. Estrazione dei lipidi/grassi

Per determinare il contenuto di grassi grezzi su ciascun campione di BSF (larve, pupari e mosche) è stato utilizzato un apparato Soxhlet, **Figura 3.2**. Tale dispositivo è caratterizzato da un pallone di fondo contenente il solvente di estrazione (in questo caso esano) che viene scaldato fino ad evaporazione. I vapori salgono attraverso il tubo laterale fino al raggiungimento del condensatore dove, con raffreddamento ad acqua, i vapori del solvente condensano e ricadono nella camera di estrazione. In quest'ultima è presente un ditale di cellulosa, (**Figura 3.2**), contenente il campione da estrarre (20-30 g) e un sifone. Il solvente si condensa e si accumula nella camera di estrazione e, quando viene raggiunto un certo livello, il sifone si svuota ed il solvente che ha estratto i grassi dal campione per solubilizzazione si riversa nel pallone di fondo.

Il ciclo si ripete più volte per 4 ore fino alla completa estrazione dei lipidi.

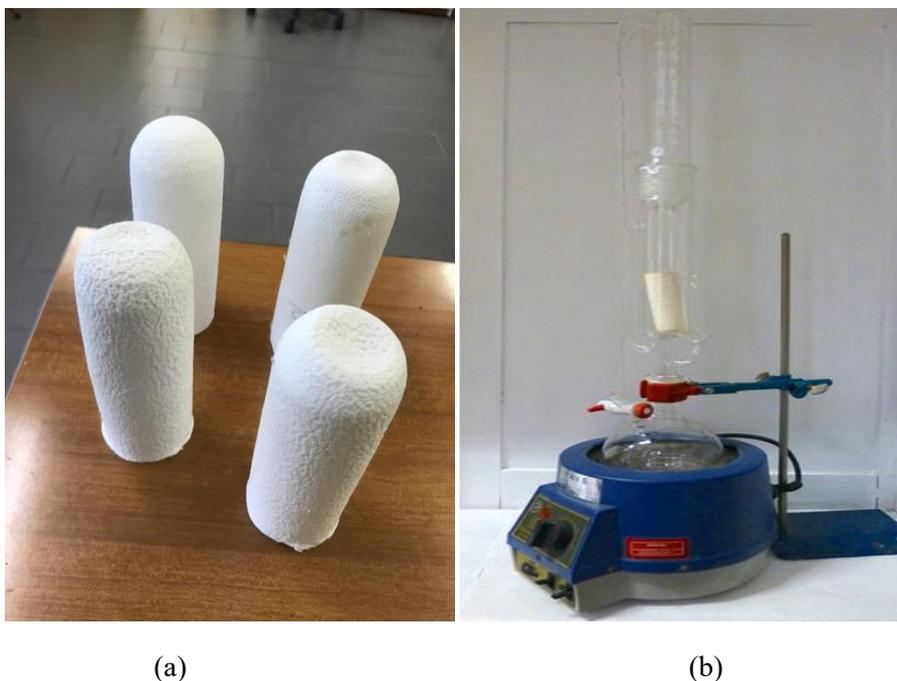


Figura 3.2: Ditali di cellulosa (a), apparecchiatura soxhlet (b) [33].

Il grasso estratto è stato pesato e il contenuto lipidico è stato calcolato con la formula:

$$\text{Contenuto di lipidi} = \frac{w_f}{w_i} \times 100 \quad (3.3)$$

Dove:

- w_i = peso iniziale del campione essiccato di BSF
- w_f = peso del grasso estratto

3.3. Idrolisi con acqua surriscaldata dei campioni di BSF

3.3.1. Introduzione

Il reattore di idrolisi con acqua surriscaldata rappresenta un'innovazione nel campo industriale. La sua versatilità, sicurezza e il basso impatto ambientale lo distinguono dai metodi tradizionali come un'ottima alternativa per l'estrazione del contenuto proteico della mosca soldato nera [38].

Il modello utilizzato in questa tesi è un'autoclave con agitazione meccanica Amar Equipment, mostrata in **Figura 3.3**, che utilizza acqua surriscaldata, come solvente non tossico, ad elevate temperature e pressioni.



Figura 3.3: Autoclave a pressione da 5 litri con agitazione meccanica, Amar Equipment

3.3.2. Specifiche tecniche

La strumentazione utilizzata è un'autoclave a pressione con capacità di 5 litri con agitatore meccanico e dotata di avanzate specifiche per il controllo della temperatura. Le sue caratteristiche tecniche includono una pressione teorica di 100 bar ed una temperatura massima teorica di 300°C. Il corpo del reattore è in acciaio inossidabile SS316, resistente e stabile alle condizioni estreme di reazione, permettendo così di garantire integrità meccanica [38].

L'autoclave è dotata di una testa rimovibile che facilita il caricamento dei reagenti e la manutenzione e viene serrata con l'utilizzo di guarnizioni in PTFE che assicurano la tenuta ermetica evitando perdite di gas o liquidi. Il sistema di riscaldamento comprende una fascia riscaldante elettrica in ceramica con isolamento che permette una distribuzione del calore in modo uniforme con temperature comprese tra i 130 e 300°C. La temperatura viene controllata con un sensore RTD PT100, posto all'interno di un pozzetto termometrico, mentre il controllo del processo è affidato ad un controllore PID programmabile manualmente con allarme di sovratemperatura, che assicura sicurezza e stabilità operativa.

Per la gestione della pressione l'autoclave è equipaggiata con un manometro isolato dal vuoto accompagnato da un sistema di valvole, da una valvola di ingresso e campionamento, usata per l'iniezione o il prelievo di campioni, valvole a spillo per lo sfiato controllato della pressione e valvola di scarico inferiore per un eventuale svuotamento sicuro del campione a fine prova. Il sistema di agitazione prevede un agitatore a pale che ruota a velocità variabile da 100 a 1450 RPM, permettendo così di ottimizzare la miscelazione. L'agitatore è caratterizzato da un accoppiamento magnetico (M-40) sigillato. La presenza di un albero solido con turbina e pale inclinate facilita la distribuzione omogenea del calore.

Il tutto, come si evidenzia in **Figura 3.3**, è montato su di un carrello in acciaio inox con ruote sbloccabili, che ne facilita la mobilità [38].

3.3.3. Uso dell'autoclave con agitazione meccanica

Prima dell'utilizzo occorre eseguire una serie di procedure precauzionali che consistono nell'ispezionare correttamente ed attentamente il reattore. Si procede con il verificare che tutte le valvole siano ben chiuse e funzionanti, in particolare quella di svuotamento presente nella parte inferiore dell'apparecchiatura (**Figura 3.4**) e verificare che il reattore all'interno sia ben pulito. Dopo aver introdotto nella camera di reazione il campione (nel nostro caso larve, pupari o insetti adulti di BSF) e l'acqua, si procede con il montaggio del supporto di chiusura, stringendo le viti prima a mano e poi con una chiave e si verifica che le viti siano ben serrate.

Il sistema di agitazione magnetico deve essere installato in modo tale che le barre magnetiche siano allineate tra di loro e il sensore di temperatura deve essere introdotto nell'apposito pozzetto termometrico. Dopo aver impostato il valore della temperatura desiderata sul regolatore PDI, e regolato la velocità di agitazione, si può avviare il riscaldamento sempre controllando visivamente l'innalzamento graduale della pressione. Risulta opportuno controllare ad intervalli di tempo l'andamento dei parametri di processo e di operare nei valori limite. Tra i valori limite c'è il volume operativo che deve variare in un intervallo tra 800 ml e 4l (la camera di reazione ha una capacità di 5l) per evitare problemi di sovrappressione, lasciando lo spazio necessario per la formazione di gas e vapori. Dopo aver spento il sistema di riscaldamento del reattore occorre controllare l'abbassamento graduale della temperatura sul pannello di controllo e a 90°C è possibile rimuovere il coperchio del reattore, usando gli adeguati strumenti. Dopo aver recuperato il campione idrolizzato il reattore deve essere accuratamente pulito con l'impiego di agenti compatibili verificando che non vi siano stati danni o usura durante il funzionamento.



Figura 3.4: Valvola di chiusura e di recupero dell'idrolizzato sul fondo dell'autoclave

3.3.4. Idrolisi con acqua surriscaldata dei campioni di BSF

L'idrolisi con acqua surriscaldata è un metodo ecologico ed economicamente vantaggioso, poiché utilizza esclusivamente acqua senza l'impiego di agenti chimici aggiuntivi.

Uno dei principali vantaggi di questa tecnica, rispetto ai processi basici o enzimatici di estrazione delle proteine, è la capacità di sterilizzare il materiale, rendendolo sicuro per le applicazioni future. Il processo consente di ottenere proteine e oligopeptidi in un mezzo acquoso a basso costo, senza necessità di ulteriori purificazioni per il loro utilizzo tecnologico. Il materiale privato dei grassi viene sottoposto ed estrazione delle proteine. Inizialmente, 50 g di larve, pupari ed insetto macinati, e a cui sono stati estratti i grassi sono stati inseriti nel reattore con un litro d'acqua. La prova è stata condotta ad una temperatura di 170°C, con agitazione 403 rpm per garantire la miscelazione del campione durante l'idrolisi. Una volta raggiunta la temperatura di 170 °C, la reazione è stata condotta per una durata di 60 minuti e la pressione registrata si è mantenuta a 7 bar.

Alla fine del processo, la soluzione idrolizzata è stata recuperata manualmente, dopo aver aspettato il raffreddamento del sistema fino ad una temperatura di 90°C e dopo aver aperto la valvola di sfiato per raggiungere la pressione atmosferica. Prima di calcolare la resa di estrazione si è proceduto con una fase di filtrazione e di centrifugazione per il recupero del liquido idrolizzato privo del residuo solido di fondo.

In una prima fase, la soluzione di proteine idrolizzate è stata filtrata con un filtro a rete metallica, con lo scopo di separare la frazione prevalentemente liquida, ricca di proteine solubilizzate, da quella più grossolana solida. Il filtrato ottenuto è poi stato centrifugato con una centrifuga Jouan MR1822 (**Figura 3.5**), dove è stata sfruttata la forza centrifuga per separare la frazione solida rimasta da quella liquida. Prima della centrifugazione occorre caricare le provette con campione di peso simile nelle posizioni diametralmente opposte del rotore per assicurare un bilanciamento adeguato e prevenire vibrazioni e procurare danneggiamenti alla centrifuga. Il processo è condotto per 3 volte a 8000 giri/min per 15 min, con raggio di rotazione di 87 mm ed accelerazione 3 m/s². A fine processo si recupera il surnatante contenente le proteine idrolizzate.

Il filtrato solido anch'esso viene recuperato ed analizzato nelle fasi successive per determinarne le caratteristiche chimiche.



Figura 3.5: Centrifuga Jouan MR1822

Infine, sono state prelevate due quantità pari a 10 ml dell'idrolizzato proteico di larva, pupario e insetto e poste all'interno di due contenitori in plastica. Quest'ultimi, precedentemente pesati, verranno posizionati in un forno ventilato, alla temperatura di 75°C, fino a completa evaporazione dell'acqua. Il prodotto finale risulterà essere un concentrato proteico idrolizzato solido, (**Figura 3.6**), e il peso del materiale essiccato verrà utilizzato per calcolare le rese di estrazione e le concentrazioni di materiale estratto.



Figura 3.6: Idrolizzato proteico essiccato

Dopo l'essiccazione dei campioni di larva, pupario e insetto, sono state calcolate le rese di estrazione dei tre processi di idrolisi. Facendo la differenza tra il peso del campione essiccato ed il peso dei contenitori si ottiene il quantitativo proteico in g presente in 10 ml di idrolizzato. Conoscendo il peso secco dei campioni prima dell'idrolisi (larve, pupari e insetti adulti) (vedi **Tabella 4.1**) e il volume di idrolizzato liquido ottenuto per i diversi campioni si può ottenere il peso totale delle proteine idrolizzate dei diversi campioni e le rese di estrazione con le formule 4.1 e 4.2

$$\text{Concentrazione proteica} = \frac{\text{Media peso liquido essiccato campioni} \times \text{Volume residuo idrolizzato}}{\text{Volume campioni}} \quad (3.1)$$

Una volta calcolato il peso delle proteine nell'idrolizzato è possibile ottenere il calcolo delle rese di estrazione formula (4.2), facendo riferimento al peso secco iniziale della larva, pupario e insetto.

$$\text{Resa di estrazione} = \frac{\text{Peso proteine idrolizzato}}{\text{Peso secco campioni iniziali}} \times 100 \quad (3.2)$$

3.4. Caratterizzazione e Proprietà Chimiche

3.4.1. Spettroscopia FTIR

Lo studio delle caratteristiche chimiche dei campioni avviene con l'impiego della spettroscopia infrarossa a trasformata di Fourier (FT-IR). Questa tecnica sfrutta la capacità delle molecole di assorbire la radiazione infrarossa a specifiche frequenze, legate ai diversi legami chimici, generando così uno spettro unico per ogni composto. Per raccogliere gli spettri FTIR, è stato utilizzato uno spettrometro ThermoNicolet iZ10, **Figura 3.7**, equipaggiato con un modulo Smart Endurance™ dotato di cristallo in diamante, operando in modalità ATR (riflessione totale attenuata). Le misurazioni sono state eseguite effettuando 100 scansioni per ogni campione, con una risoluzione di 4 cm^{-1} e un guadagno impostato a 8.0, coprendo un intervallo spettrale compreso tra 4000 e 650 cm^{-1} . Lo studio ha analizzato una varietà di campioni, tra cui larve, pupe, mosche, lipidi, residui solidi e proteine idrolizzate in forma liquida, per ottenere i relativi spettri FTIR. Un approfondimento dell'apparecchiatura è presente nell'Appendice (A.1.).

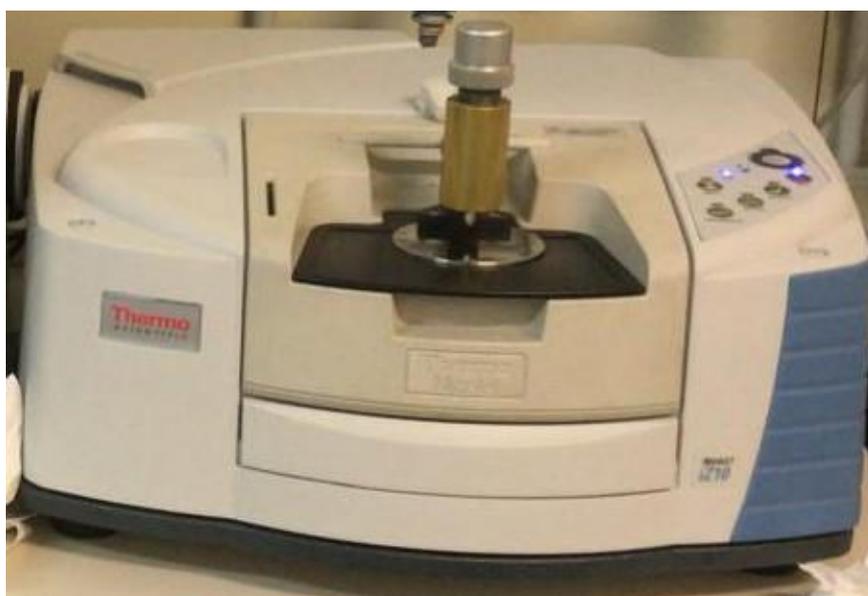


Figura 3.7: Spettrometro FT-IR Nicolet iZ10 con modulo ATR

Questo tipo di approccio si è rivelato particolarmente utile per analizzare le superfici irregolari, come quelle degli estratti proteici sopra menzionati e ha permesso di acquisire gli spettri direttamente dai campioni, evitando pretrattamenti complessi. Prima di ogni misurazione, sono stati registrati anche gli spettri di fondo, senza campione, per evitare eventuali interferenze ambientali, come l'assorbimento di anidride carbonica e vapore acqueo, in modo tale che i risultati ottenuti fossero solo dovuti ed esclusivamente ai componenti caratteristici del campione. Per evitare eventuali tracce di contaminanti, il cristallo ATR è stato pulito con etanolo prima di ogni misurazione e le bande sono state rilevate e poi elaborate con il software OMNIC.

3.4.2. Analisi calorimetrica differenziale (DSC)

La calorimetria a scansione differenziale (DSC) è una tecnica termoanalitica ampiamente utilizzata per determinare le proprietà termiche dei materiali. Essa consente di misurare l'energia termica, assorbita o rilasciata dai campioni, durante processi di riscaldamento o raffreddamento e di poterla confrontare con un materiale di riferimento sottoposto al medesimo trattamento termico [39]. Le analisi DSC sono state effettuate con un Mettler Toledo DSC 821, **Figura 3.8**, il cui principio di funzionamento è presente in Appendice (A.3.). Il flusso di azoto è stato impostato a 100 mL/min e lo strumento è stato calibrato con indio come riferimento. La temperatura è stata aumentata da 0 a 30 °C con una velocità di 10 °C/min. Le acquisizioni e le elaborazioni dei dati sono state determinate tramite software STARe SW versione 9.30. La curva termica rappresenta il flusso di calore in funzione della temperatura e del tempo, e permette di valutare fenomeni termici significativi come transizione vetrosa, fusione e cristallizzazione.



Figura 3.8: DSC Mettler Toledo 821

Affinché i risultati finali siano attendibili è stato necessario seguire con precisione una rigorosa procedura di preparazione. I campioni vengono posti all'interno di contenitori di alluminio, di piccola dimensione, chiamati crogioli, formati da una capsula e un coperchio. La misurazione del peso dei campioni avviene con l'impiego di una bilancia analitica ad alta precisione, Mettler MT5 in grado di rilevare masse dell'ordine di pochi milligrammi o inferiori, mostrata in **Figura 3.9**. Il portacampione inizialmente viene pesato a vuoto per effettuare la tara, viene poi riempito con il campione, di massa compresa tra 2,5 e 3 mg. Dopo pesatura il campione viene inserito all'interno della capsula del crogiolo che successivamente viene sigillato ermeticamente mediante pressatura, per evitare perdite di materiale o contaminazione. Per garantire un'adeguata circolazione del gas sono stati praticati tre fori nel coperchio con l'utilizzo di uno spillo. I crogioli, del campione e del riferimento, vengono infine posti all'interno della cella termica e mediante l'utilizzo del software sopra citato, vengono impostati i parametri sperimentali avviando così la scansione termica.



Figura 3.9: Micro bilancia Mettler Toledo MT5

3.4.3. *Analisi termogravimetrica (TGA)*

L'analisi termogravimetrica (TGA) è una tecnica impiegata per analizzare il comportamento dei materiali quando vengono sottoposti ad un riscaldamento in ambiente controllato [40]. In questa tesi si è cercato di valutare la stabilità termica dei campioni, rilevando le variazioni di massa al variare della temperatura. Le analisi TGA sono state eseguite con un Mettler Toledo TGA/DSC 1 STARe System, **Figura 3.10**, integrato con il software STARe. Questo tipo di configurazione ha garantito un controllo preciso delle condizioni operative per la raccolta dei dati sperimentali. In Appendice A.2. è presente un approfondimento dello strumento.



Figura 3.10: TGA Mettler Toledo

Per l'analisi, i campioni sono stati pesati con estrema precisione, registrando una massa compresa tra 5vmg e 20mg, e posizionati all'interno di crogioli in allumina. Questo materiale, chimicamente inerte e resistente alle alte temperature, garantisce che il contenitore abbia una buona stabilità termica durante i cicli di riscaldamento. Dopo aver posto il crogiolo con il campione sulla bilancia all'interno della fornace, è possibile iniziare le prove fissando le condizioni di lavoro. I campioni sono stati riscaldati da 25 a 500 °C a 10 °C/min, in atmosfera inerte in un ambiente di azoto protettivo (10 ml/min).

3.5. Risultati e discussione

3.5.1. Composizione della BSF

Inizialmente è stata analizzata la composizione degli insetti *Hermetia illucens* (BSF), in particolare per quanto riguarda il contenuto di umidità e di ceneri. I risultati ottenuti relativi alla composizione della BSF sono riportati nella **Tabella 3.1**, che fornisce una descrizione dettagliata del contenuto di umidità e di ceneri nei campioni prelevati nei tre stadi di sviluppo: larva, pupario e mosca. Lo stadio della **mosca** presenta un contenuto di umidità pari al 9,8%, che indica una moderata capacità di trattenere acqua, mentre il contenuto di ceneri è pari al 12,9%, riflettendo una presenza significativa di materiale inorganico. Questo suggerisce che la biomassa della mosca morta potrebbe essere particolarmente ricca di minerali e quindi adatta ad applicazioni che richiedono un alto contenuto di ceneri. Nel caso del pupario, il contenuto di umidità rilevato è del 9,2%, leggermente superiore rispetto allo stadio larvale, mentre il contenuto di ceneri è il più basso tra i tre stadi, pari all'8,3%. Questo valore ridotto di materiale inorganico può risultare vantaggioso per applicazioni che richiedono una composizione a basso contenuto minerale. Lo stadio larvale, invece, mostra i seguenti valori: un contenuto di umidità pari al 7,3%, leggermente inferiore rispetto agli altri stadi, e un

contenuto di ceneri pari all'11,0%, che potrebbe essere attribuito alla presenza dell'esoscheletro e di residui biologici.

I risultati ottenuti sono coerenti con quelli riportati da Smets et al. (2020) [41], che hanno studiato l'estrazione e la caratterizzazione sequenziale di lipidi, proteine e chitina da larve, prepupa e pupa della BSF. È stato riportato che il contenuto di ceneri nei diversi stadi di sviluppo della BSF varia tra l'8% e il 10%. Risultati analoghi sono stati osservati anche da Bhavsar et al. [36], che hanno analizzato gli esoscheletri (exuviae) della BSF, riportando un contenuto di ceneri del 10% nello stadio del pupario.

Tabella 3.1: Contenuto di umidità e ceneri nelle tre diverse fasi del campione di BSF.

Campioni	Umidità (%)	Ceneri (%)
Larva	7,3	11,0
Pupario	9,2	8,3
Mosca	9,8	12,9

3.5.2. Resa di estrazione dell'idrolisi con acqua surriscaldata

La resa dell'estrazione proteica dal pupario, dalle larve e dalle mosche morte è stata determinata in base al peso medio dei campioni liquidi dopo l'essiccazione e al contenuto proteico dell'idrolizzato. Le rese proteiche medie delle larve di BSF, del pupario e delle mosche morte sono state confrontate e riportate nella **Tabella 3.2**. Per l'analisi sono stati prelevati campioni di 50 g di larve, pupari e mosche morte il cui contenuto di umidità era risultato pari 7,3%, 9,2% e 9,8%, rispettivamente. Ogni campione è stato miscelato con 1000 mL d'acqua e il peso effettivo del campione dopo l'essiccazione è stato considerato per il calcolo della resa proteica. Secondo la **Tabella 3.2**, il contenuto proteico più elevato, pari a 26,41 g/L, è stato riscontrato nelle mosche, seguito dalle larve con 22,05 g/L. Questo potrebbe essere dovuto all'elevata attività metabolica e alla composizione proteica sia delle mosche che delle larve. Inoltre, poiché le mosche hanno completato il loro ciclo vitale, potrebbero aver accumulato una maggiore quantità di proteine strutturali e funzionali rispetto alle larve. D'altra parte, il pupario ha mostrato la concentrazione proteica più bassa, circa 14,47%, probabilmente a causa della presenza di chitina, che limita la quantità di proteine estraibili. Per quanto riguarda la resa dell'estrazione proteica, nonostante le variazioni nella concentrazione proteica, sono state ottenute rese simili dalle larve e dalle mosche. Ciò potrebbe essere attribuito alla maggiore solubilità delle proteine estratte dalle larve e dalle mosche, che ne favorisce l'estrazione. Tuttavia, nel caso del pupario, è stata osservata una resa proteica inferiore, probabilmente a causa della sua struttura rigida, che ostacola la diffusione delle proteine nell'idrolizzato.

Tabella 3.2: Concentrazione proteica e resa di estrazione

Parametri	Larva	Pupario	Mosca
Concentrazione proteica (g/l)	22,05	14,47	26,41
Resa di estrazione (%)	47,6	19,3	47,4

3.5.3. FTIR

Per ottenere informazioni dettagliate sulla composizione del campione di *Hermetia illucens* nei diversi stadi di sviluppo, è stata applicata l'analisi FTIR (spettroscopia infrarossa a trasformata di Fourier) ai campioni iniziali di larve, pupario e insetti adulti. Questa tecnica è utile per determinare la composizione molecolare, identificando i gruppi funzionali rilevati nel campione. Gli spettri FTIR relativi allo stadio larvale sono mostrati in **Figura 3.11**. È evidente la presenza di tre regioni spettrali caratteristiche comprese tra 1700 e 1200 cm^{-1} , associate ai gruppi ammidici, la cui origine è riconducibile ai legami peptidici tra gli aminoacidi. Nello specifico, lo spettro del campione mostra bande classiche nelle seguenti regioni: amide I (1600–1700 cm^{-1} , allungamento C=O), amide II (1550–1500 cm^{-1} , allungamento C=N e flessione N-H), e amide III (1400–1200 cm^{-1} , allungamento C-N e flessione N-H). Sono inoltre rilevabili la banda amide A a 3270 cm^{-1} (stiramento N-H) e la banda amide B a 2930 cm^{-1} (stiramento C-H), confermando ulteriormente la presenza di proteine [42,36]. Spettri simili sono stati osservati anche nei campioni di pupario e di insetti adulti morti, sebbene con variazioni riconducibili alla loro diversa composizione biochimica. Sono inoltre presenti intorno a 2900 e 2800 cm^{-1} e intorno ai 1700 cm^{-1} assorbimenti riconducibili alla presenza di lipidi e intorno ai 1400 e 1000 cm^{-1} assorbimenti riconducibili alla presenza di materiale inorganico, mentre gli assorbimenti della chitina si sovrappongono parzialmente con quelli delle proteine.

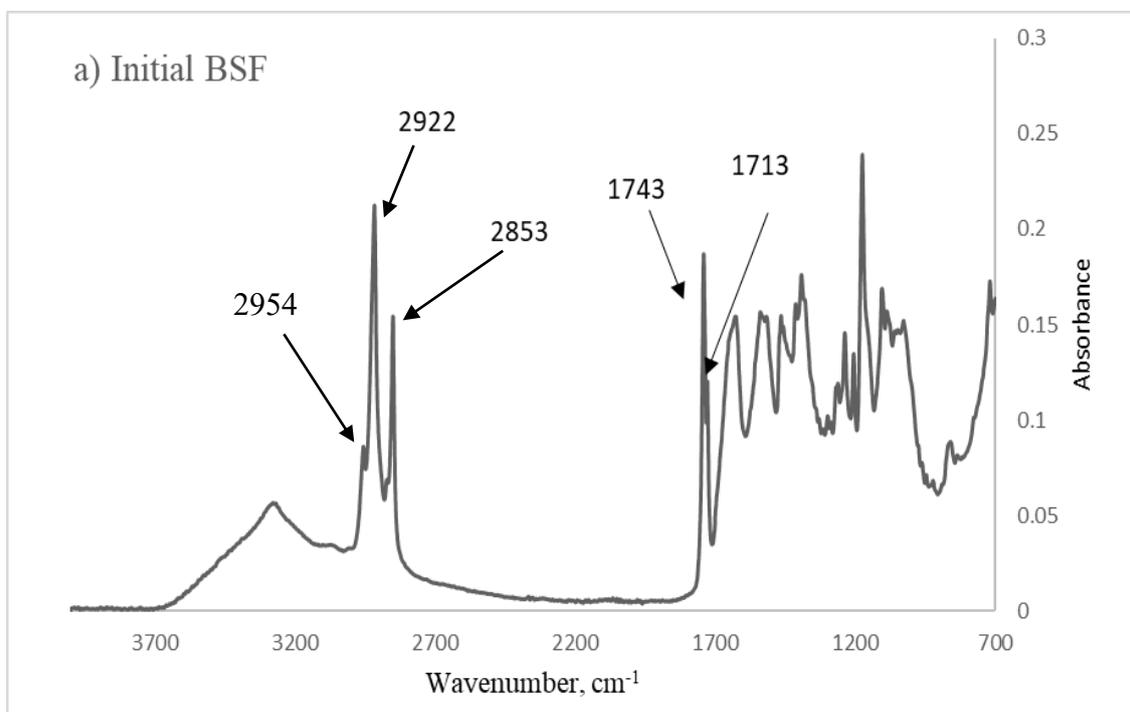


Figura 3.11: Spettro dello stadio larvale di BSF

La **Figura 3.12** presenta lo spettro della cenere del campione larvale, che mostra i picchi distintivi del carbonato di calcio (CaCO_3 , forma calcite). Il picco a 1400 cm^{-1} è attribuito alla vibrazione asimmetrica del gruppo carbonato (CO_3), quello a 1030 cm^{-1} alla vibrazione simmetrica. Il picco a 870 cm^{-1} è associato alla flessione fuori piano del CaO , mentre quello a 710 cm^{-1} alla flessione nel piano dello stesso ossido [36,43].

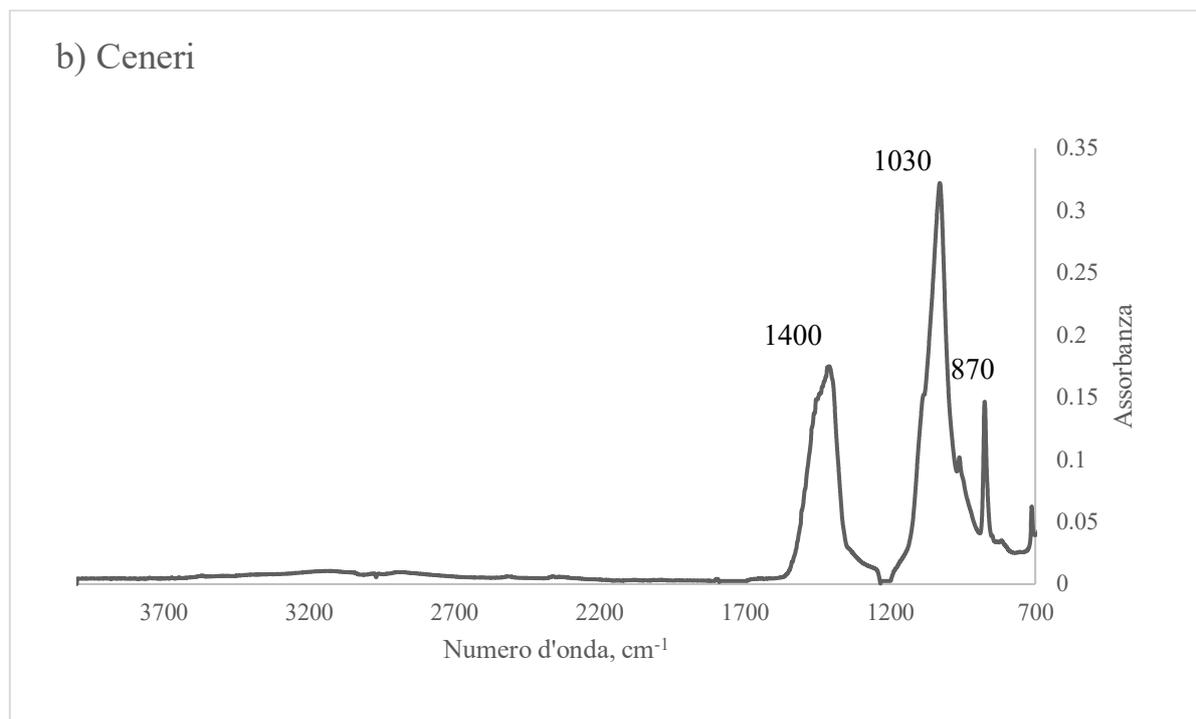


Figura 3.12: Spettro della cenere dello stadio larvale di BSF

Nel presente studio è stato inoltre analizzato il contenuto di lipidi nei vari stadi di sviluppo della BSF. I risultati hanno evidenziato un contenuto lipidico del 25,89% nelle larve, 5,46% nel pupario e 26,97% nei campioni di mosche. Lo spettro FTIR dei lipidi larvali, (**Figura 3.13**), mostra un picco a 2954 cm^{-1} , riconducibile allo stiramento asimmetrico del gruppo $-\text{CH}_3$, mentre i picchi a 2922 e 2853 cm^{-1} sono attribuiti rispettivamente allo stiramento simmetrico e asimmetrico del gruppo $-\text{CH}_2$. Un picco evidente a 1743 cm^{-1} è associato allo stiramento del gruppo carbonilico ($-\text{C}=\text{O}$), e un altro picco intenso a 1713 cm^{-1} è caratteristico degli esteri. Altri segnali, riconducibili a flessioni dei gruppi $-\text{CH}_2$ e $-\text{CH}_3$ e a stiramenti del legame $\text{C}-\text{O}$, sono stati osservati a frequenze inferiori a 1500 cm^{-1} [36,44].

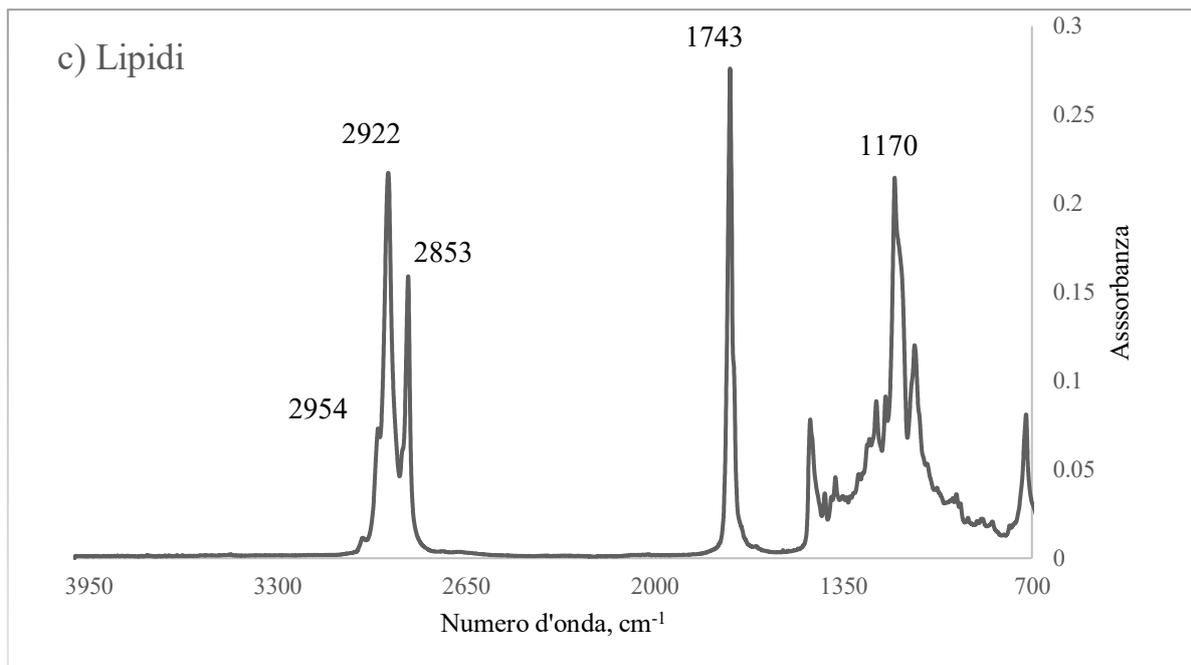


Figura 3.13: Spettro IR dei lipidi dello stadio larvale di BSF

3.5.4. Analisi Termogravimetrica (TGA)

Le curve e le derivate prime delle curve TGA relative ai grassi estratti con esano da larva, pupario e mosca di BSF sono illustrate in Figura 3.14 e Figura 3.15. Ciascuno degli stadi presenta caratteristiche uniche di degradazione termica quando sottoposto a un aumento continuo di temperatura fino a 600 °C.

La prima parte delle curve da 30 °C a 160 °C indica l'evaporazione dell'acqua. In questa parte della curva non si è registrato per nessun campione una perdita di peso ad indicare l'assenza di umidità nei grassi estratti. Nella seconda parte delle curve da 160 °C a 450 °C si verifica la rottura delle molecole pesanti dei grassi in molecole piccole CO₂ e CO. Dalla derivata prima si vede che i grassi estratti da larve sono più stabili termicamente dei grassi estratti da pupari e mosche. I grassi da larva infatti presentano un picco di perdita di peso a 400 °C mentre i grassi da pupari e mosche presentano 2 picchi, intorno ai 200 °C e intorno ai 350 °C.

La perdita di peso è completa dopo i 450 °C e non è presente residuo in nessuno dei 3 campioni di grasso analizzati [45].

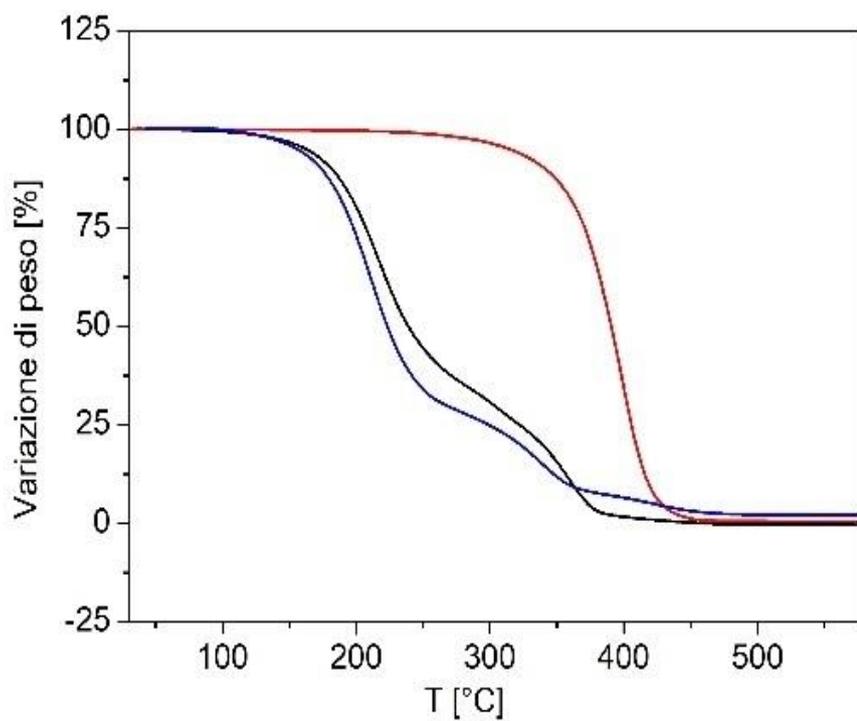


Figura 3.14: TGA larva (rosso), pupario (blu) e mosca (nero)

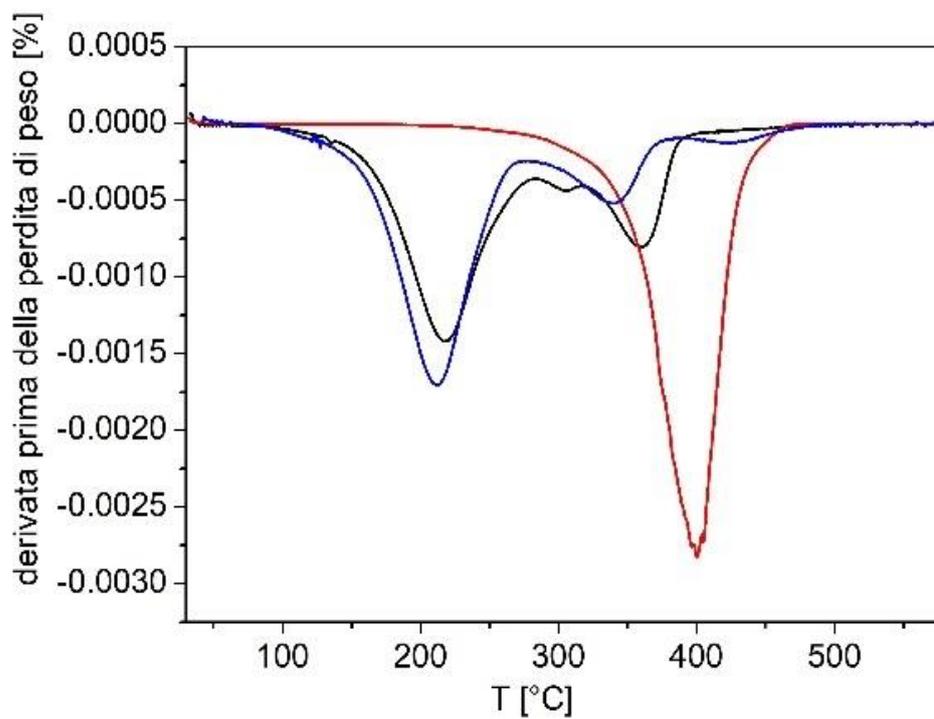


Figura 3.15: DTG larva (rosso), pupario (blu) e mosca (nero)

3.5.5. Calorimetria a Scansione Differenziale (DSC)

In questa parte della tesi sono descritte le proprietà termiche del grasso ottenuto da larve di *Hermetia illucens* estratto con esano. Queste informazioni sono necessarie per valutare le possibili applicazioni del grasso. La calorimetria a scansione differenziale è uno strumento utile per valutare le proprietà fisiche dei grassi e degli oli rispetto ai cambiamenti di fase solido-liquido e liquido-solido. Cristallizzazione e fusione possono essere seguiti tramite DSC. La **Figura 3.16** mostra il termogramma di fusione e cristallizzazione del grasso delle larve di *Hermetia illucens*. Le caratteristiche della curva dipendono fortemente dalla composizione degli acidi grassi e del triacilglicerolo (o trigliceride) del grasso e influenzano le proprietà fisiche del grasso, ad esempio la consistenza.

La curva di cristallizzazione del grasso delle predette larve mostra un picco esotermico a temperatura di circa 8 °C. Tale temperatura indica il passaggio del grasso dalla fase liquida alla fase solida durante la cristallizzazione e conferma che il grasso di larva di *Hermetia illucens* è costituito soprattutto da acidi grassi saturi soprattutto acido laurico, miristico e palmitico. La curva di fusione del grasso delle larve mostra un picco con una spalla a temperatura più bassa. Il grasso inizia a sciogliersi a circa 10 °C con un picco massimo a 26 °C. La fusione è estesa fino a circa 30 °C. Una spiegazione per questo comportamento di fusione è la composizione in acidi grassi del grasso delle larve di *Hermetia illucens* che è costituito principalmente di acidi grassi saturi con lunghezza della catena inferiore a 18 atomi di carbonio. Le curve di cristallizzazione e di fusione di cui finora abbiamo trattato sono molto simili alle curve del grasso di cocco e del grasso di palmisti a sostegno della considerazione che il grasso delle larve di *Hermetia illucens* abbia proprietà tecnologiche molto simili e possa essere utilizzato come sostituto ai semi di palma o grasso di cocco in diverse applicazioni alimentari. Inoltre, è stato osservato come i risultati ottenuti per il grasso estratto da pupario e da mosca sono simili a quelli del grasso estratto da larva, con lievi differenze nei picchi endotermici ed esotermici [46].

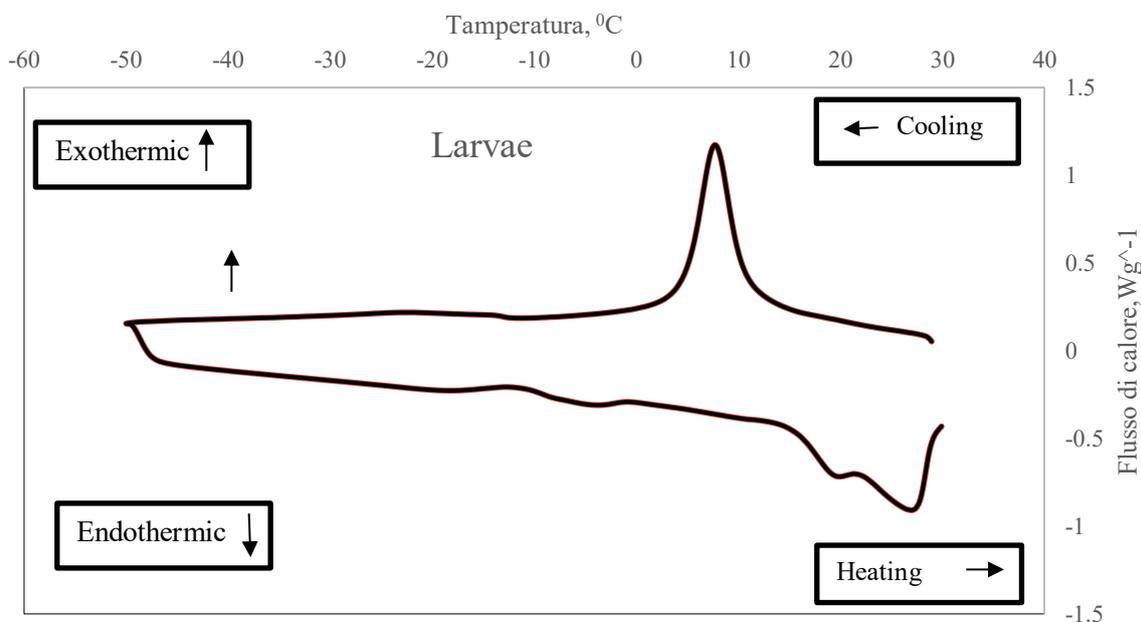


Figura 3.16: Termogramma DSC estratto da larva

4. Processo Tintoriale

4.1. Introduzione

La tintura è un processo di valorizzazione dei tessuti nel quale le molecole di colorante consentono di trasferire al tessuto caratteristiche sia estetiche che funzionali tramite applicazioni controllate. Nella presente trattazione si farà riferimento ad una tipologia di tintura detta ad esaurimento realizzata su campioni standard di lana. L'obiettivo è quello di ottenere un colore uniforme, stabile e resistente nel tempo, garantendo una buona affinità tra fibra e colorante utilizzato. Questa tecnica si caratterizza per essere un processo discontinuo in cui i coloranti sono sciolti o dispersi nel bagno di tintura, e la fibra, posta nel bagno di tintura, assorbe gradualmente il colorante fino ad esaurimento. L'efficacia è legata alle condizioni di lavoro ed ai tempi di contatto affinché le molecole di colorante si distribuiscano in modo uniforme e con sufficiente penetrazione all'interno delle fibre. Questo processo viene normalmente visto sotto due aspetti fondamentali, aspetto chimico e aspetto termodinamico. Infatti nella tintura ad esaurimento i coloranti si trasferiscono sulla fibra per l'instaurarsi di forze di tipo elettrostatico, polari e di dispersione. Il processo tintoriale dipende da diversi fattori operativi: la concentrazione del colorante, il rapporto tra il volume del bagno e la quantità di fibra (R/B), la temperatura, il pH e l'eventuale presenza di agenti ausiliari. In particolare, il pH gioca un ruolo decisivo nella tintura della lana con coloranti acidi, poiché influisce sulla carica elettrica sia delle fibre che dei coloranti, condizionandone quindi la capacità di legarsi [47]. Per garantire una buona fissazione del colore, la lana necessita di un ambiente acido, motivo per cui si impiegano regolatori di pH come l'acido acetico o l'acido solforico.

Anche la temperatura è un parametro essenziale: se da un lato favorisce la diffusione del colorante all'interno della fibra, dall'altro può causare effetti negativi, come il danneggiamento della struttura proteica. Per questo motivo, il processo viene gestito in condizioni di lavoro molto precise e controllate [48].

4.2. Meccanismi tintoriali

Nel processo tintoriale vengono coinvolti fenomeni chimico-fisici molto complessi che riguardano la soluzione del colorante (bagno di tintura) ed un substrato fibroso, nel nostro caso lana. Per valutare l'efficacia del processo bisogna concentrarsi non esclusivamente sulla natura chimica del colorante e della fibra, ma comprendere la natura dei meccanismi che intervengono, controllare le condizioni di lavoro ed ottimizzarle. È possibile suddividere il processo di tintura in cinque stadi differenti: diffusione del colorante dal bagno alla superficie della fibra, adsorbimento, diffusione del colorante all'interno della fibra, migrazione e fissazione del colorante nella fibra, **Figura 4.1**.

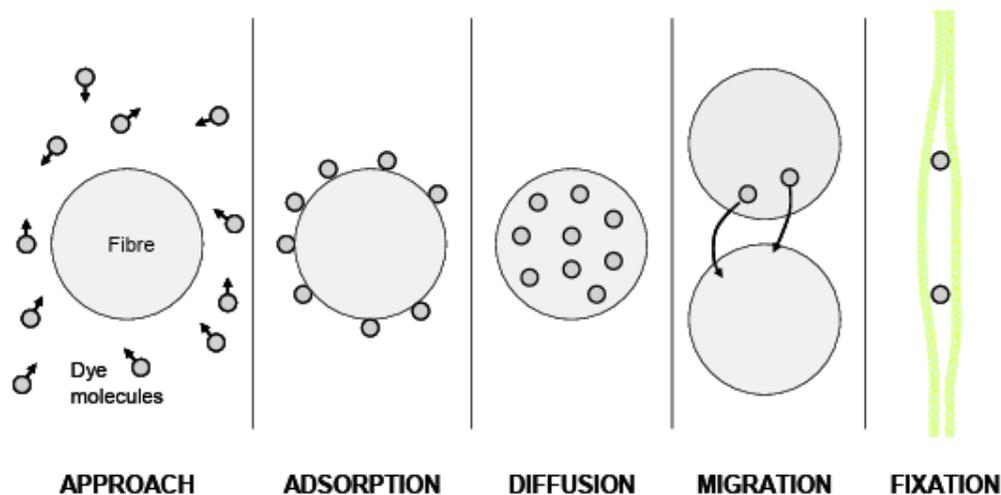


Figura 4.1: Fasi del processo di tintura [49]

Nella prima fase del processo la lana viene immersa in una soluzione contenente il colorante disciolto. I meccanismi che intervengono in questa fase sono convettivi e di diffusione e permettono il passaggio dei coloranti dal liquido alla superficie della fibra. In acqua i coloranti liberano ioni negativi e positivi e si suddividono in cationici ed anionici. L'acqua allo stesso tempo è composta da ioni carichi e potrebbe attrarre gli ioni dei coloranti di carica opposta. Affinché il colorante possa raggiungere la superficie della fibra, quest'ultimo deve essere attratto con maggiore forza dalla fibra stessa rispetto all'acqua. Questo tipo di attrazione si chiama affinità.

I coloranti si legano temporaneamente alla superficie della fibra per mezzo di interazioni elettrostatiche. Man mano che la tintura procede, una quantità maggiore di colorante viene adsorbito, incrementando la concentrazione superficiale, mentre le molecole adsorbite tendono ad essere attratte verso l'interno della fibra. Si osserva un gradiente di concentrazione nel quale le molecole tendono ad allontanarsi dallo strato superficiale per spostarsi all'interno e dar inizio alla terza fase, quella della diffusione. Una volta portata a termine la diffusione i coloranti possiedono la capacità di muoversi all'interno della fibra, ovvero possono spostarsi da un punto all'altro anche dopo essersi legati. Questa tendenza permette al colorante di spostarsi dalle aree più scure verso quelle più chiare per garantire una uniformità cromatica.

L'ultima fase del processo tintoriale è la fissazione, in cui si pone fine alla migrazione instaurando tra colorante e fibra legami chimici o fisici, con fissazione permanente del colorante nelle fibre. I tipi di legame tra colorante e fibra variano in base alla natura del colorante utilizzato. Possiamo avere legami covalenti (come nei coloranti reattivi), oppure interazioni fisiche nei pori della fibra o interazioni elettrostatiche stabili. Controllando i diversi parametri del processo di tintura come pH, temperatura e concentrazione elettrolitica, si favorisce il passaggio dalla fase di migrazione a quella di fissazione.

Successivamente, una volta completato il processo di tintura, operazioni di raffreddamento del bagno e risciacquo delle fibre con acqua fredda, contribuiscono ad arrestare la migrazione e fissare il colorante [49].

4.3. Legge di Fick

Nel processo tintoriale, la diffusione del colorante nella fibra avviene per la formazione di un gradiente di concentrazione nella fase di adsorbimento sulla superficie e il colorante diffonde dalle zone a più alta concentrazione a quelle interne a concentrazione più bassa. Si tratta di un fenomeno controllante la velocità globale di reazione in quanto lo stadio più lento del processo. Per descrivere questi meccanismi di trasporto di massa, si fa riferimento alla legge di Fick [50] (4.1):

$$J = -D \frac{dC}{dx} \quad (4.1)$$

dove:

- J è il Flusso
- D è il coefficiente di diffusione
- $\frac{dC}{dx}$ è il gradiente di concentrazione

Nella legge di Fick il flusso di molecole di colorante J_x è direttamente proporzionale al gradiente di concentrazione.

4.3.1. Parametri che influenzano la diffusione

4.3.1.1. Peso molecolare e concentrazione dei coloranti

Lo stadio controllante la cinetica della tintura è rappresentato dalla diffusione del colorante all'interno della fibra, dove il coefficiente di diffusione dipende da molteplici fattori. Tra questi troviamo la concentrazione e la massa molecolare del colorante. Il coefficiente di diffusione diminuisce quando la massa del colorante aumenta. Si tratta di un comportamento inversamente proporzionale, poiché molecole di maggiore dimensione determinano una resistenza al passaggio elevata e inducono un rallentamento del processo. Inoltre il gradiente di concentrazione formatosi tra superficie e parte interna della fibra rappresenta la forza motrice del processo, quindi un aumento della concentrazione delle molecole del colorante sulla superficie della fibra comporta un aumento del coefficiente di diffusione. La capacità di diffusione del colorante all'interno della fibra può essere definita dalla teoria del poro tortuoso (4.2), dove la struttura della fibra è caratterizzata da una parte amorfa, che ne rappresenta circa il 40-60%, e da una restante parte cristallina più compatta, ordinata e meno permeabile al passaggio di molecole di colorante. I meccanismi di tintura sono regolati esclusivamente dalla capacità che hanno i coloranti nell'attraversare regioni contraddistinte da un elevato stato di disordine, che offrono

una mobilità superiore al passaggio. Secondo questa teoria quindi, si considera che la diffusione avvenga solo nei canalicoli della parte amorfa riempita dal bagno e che ci sia un certo equilibrio tra colorante migrato e temporaneamente legato sulla superficie e il colorante libero di muoversi nel poro [51]. A tal proposito viene introdotto un coefficiente di diffusione apparente:

$$D_a = -\alpha \frac{D_s}{\tau(1+k)} \quad (4.2)$$

dove:

- D_s è coefficiente di diffusione all'interno dei pori
- τ è la tortuosità dei canalicoli
- α è la frazione amorfa della fibra
- k è il coefficiente di affinità tra colorante e fibra

da cui si evince che la diffusione apparante è inversamente proporzionale alla tortuosità dei canalicoli, in quanto maggiore è la presenza di ostacoli e più complesso risulta il percorso, e all'affinità tra colorante e fibra, poiché maggiore è la forza di legame e minore sarà la capacità di diffusione. Infine la diffusione apparente incrementerà all'aumentare della frazione amorfa che permette la diffusione delle molecole di colorante.

4.3.1.2. Temperatura

Un altro parametro da tenere in considerazione e che accelera il processo diffusivo è la temperatura. La legge di Arrhenius (4.3) esprime la relazione tra il coefficiente di diffusione e la temperatura, per la penetrazione del colorante all'interno delle fibre [52].

$$\ln D = \ln D_0 - \left(\frac{E_a}{RT}\right) \quad (4.3)$$

dove:

- D_0 è coefficiente pre-esponenziale
- E_a è l'energia di attivazione
- R è la costante universale dei gas
- T è la temperatura assoluta

Il coefficiente di diffusione aumenta con l'aumentare della temperatura, poiché la velocità delle particelle aumenta e permette di superare l'energia di attivazione del processo con più facilità. Inoltre un elevato valore della temperatura influisce sulla flessibilità delle catene polimeriche, determinando una diminuzione della tortuosità dei canalicoli (τ). Affinchè ciò avvenga la temperatura del sistema deve essere maggiore della temperatura di transizione vetrosa del materiale, ad esempio superiore ai 70°C per le fibre acriliche.

4.4. Prove di Tintura

4.4.1. Metodi

L'idrolizzato proteico estratto dalla biomassa di BSF è stato utilizzato come soluzione colorante per la tintura dei tessuti di lana. Una quantità specifica di colorante espressa come percentuale del peso della fibra di lana (o.w.f.), è stata disciolta in un volume prefissato di acqua demineralizzata. Il solfato ferroso come mordente è stato aggiunto alla soluzione

colorante per migliorare la fissazione del colorante ed ottenere variazioni di tonalità. Bhavsar et al. [53] hanno precedentemente descritto i parametri di tintura ottimali utilizzati per la colorazione delle fibre di seta con idrolizzati proteici da insetti (crisalidi di baco da seta) per garantire un assorbimento e una riproducibilità uniformi del colorante. I parametri ottimali erano una temperatura di tintura di 90 °C, un rapporto materiale/bagno (MLR) di 1:40, una durata di tintura di 60 minuti e un pH del bagno di tintura di 3,8.

Dal momento che il pH del bagno di tintura deve corrispondere al punto isoelettrico della fibra proteica, cioè il valore di pH al quale la proteina presenta una carica elettrica netta pari a zero, per la lana è stato utilizzato il valore di pH di 4,5. Il presente lavoro si propone di indagare l'effetto dell'idrolizzato proteico ottenuto dalla biomassa di BSF utilizzato come colorante sulla tintura della fibra di lana. Sono stati selezionati cinque diverse concentrazioni di idrolizzato proteico, ovvero 2%, 5%, 10%, 30% e 50% (o.w.f). Un tessuto di lana standard ISO F01 (Ausiliari Tessili Cornaredo- MI) è stato tagliato in quadrati del peso di 4 g. Per la misurazione del peso si è adoperata una bilancia analitica di precisione Sartorius A200S, **Figura 4.2.**



Figura 4.2: Bilancia Analitica Sartorius A200S

I campioni di lana sono stati tinti separatamente in un volume di bagno di 160 mL, calcolando un rapporto materiale/bagno di 1:40 [36,53]. Per preparare la soluzione colorante, l'idrolizzato proteico ottenuto da larve di BSF, pupari e mosche è stato diluito alle concentrazioni appropriate. Per la tintura con colorante e mordente, è stato aggiunto al bagno di tintura solfato ferroso al 5% (o.w.f). Poiché il solfato ferroso viene utilizzato allo stato idrato ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), è stato effettuato un calcolo del peso molecolare per determinare la quantità comparabile di FeSO_4 anidro. I pesi molecolari di FeSO_4 (151,908 g/mol) e $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (278,02 g/mol) sono stati utilizzati per calcolare la massa richiesta di $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (in base alla conversione stechiometrica), che è stata poi aggiunta al bagno di tintura. Solfato ferroso, idrolizzato proteico e tessuto di lana sono mostrati in **Figura 4.3.**



Figura 4.3: Solfato ferroso, idrolizzato proteico e tessuto di lana per il bagno di tintura

Per raggiungere il valore di pH di 4,5 richiesto per la tintura acida della lana [53], il pH del bagno di tintura è stato modificato utilizzando acido acetico. Le misurazioni del pH sono state effettuate con pH-metro Hach sensION+ PH3, **Figura 4.4**, dopo opportuna calibrazione con l'impiego di soluzioni tampone (pH 4.01, 7.00, 10.01).



Figura 4.4: pH- metro da banco Hach sensION+ PH3

4.4.1.1. Calcolo del quantitativo di mordente e di idrolizzato proteico da utilizzare nel bagno di tintura

Dall'essiccazione del materiale proteico, sono stati calcolati nella sezione precedente, **Tabella 3.2**, i valori in g di idrolizzato proteico solido da larva, pupario e mosca, ottenuti a partire da 10 ml di idrolizzato proteico liquido delle stesse. Sono mostrati qui di seguito (**Tabella 4.1**) i calcoli per ottenere le quantità dei vari componenti nella preparazione del bagno di tintura, riferiti ad un bagno di tintura con idrolizzato proteico da larva (primo stadio BSF) come colorante.

Tabella 4.1: Calcolo del quantitativo di mordente e colorante (idrolizzato proteico) da utilizzare nel bagno di tintura

N o.	Peso della lana (g)	Mordente (%)	Quantità di mordente utilizzata (g)	Colorante (%)	Quantità di idrolizzato proteico o colorante utilizzata (mL)
1	4,3991	5	0,4026	2	2,9123
2	4,4108	5	0,4036	5	7,3002
3	4,3202	5	0,3953	10	14,3006
4	4,3708	5	0,4000	30	43,4042
5	4,4064	5	0,4032	50	72,9295

Il calcolo del peso di mordente utilizzato è mostrato nella formula 4.4 ed è riferito al peso del campione di lana che è stato tinto, considerando un quantitativo pari al 5% o.w.f. di mordente relativo ai diversi campioni:

- Peso della lana: 4,3991 g
- Percentuale di mordente (5%): 0,05
- Peso molecolare di FeSO_4 : 151,908 g/mole
- Peso molecolare di $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$: 278,02 g/mole

$$\text{Peso mordente (g)} = \frac{\text{Peso lana(g)} \times 0.05 \times 278.02}{151.908} \quad (4.4)$$

Per quanto riguarda la quantità di idrolizzato proteico al 2% o.w.f. è stata calcolata a partire dal peso secco misurato di 10 mL di idrolizzato proteico con l'equazione (4.5):

- Peso della lana 4.3991 g
- Peso molecolare di FeSO_4 : 151,908 g/mole
- Peso molecolare di $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$: 278,02 g/mole
- Peso idrolizzato proteico in 10ml: 0,3021g

$$\text{Idrolizzato proteico (mL)} = \frac{4.3391 \times 0.02 \times 10}{0.3021} \quad (4.5)$$

4.4.2. Tintura con Ahiba Nuance Top Speed II

La colorazione delle fibre di lana con idrolizzato proteico ottenute da larve, pupari e mosche è stata ottenuta utilizzando la macchina rotativa da laboratorio Datacolor Ahiba Nuance Top Speed II. Questa macchina è dotata di 15 portacampioni in acciaio inossidabile, di cui uno di riferimento **Figura 4.5**.



Figura 4.5: Datacolor Ahiba Nuance Top Speed II

Ogni becher utilizzato per le diverse colorazioni è stato riempito con il liquido colorante contenente diverse concentrazioni di idrolizzato proteico, mordente al 5% e un volume appropriato di acqua demineralizzata. Il volume totale del bagno di tintura è stato di 160 mL. Il pH è stato portato a 4,5 con aggiunta di acido acetico. I campioni di lana (circa 4 grammi) sono stati inseriti nei becher di tintura. La macchina è stata programmata per seguire un profilo di tintura standard, **Figura 4.6 (a)**, che includeva il riscaldamento da temperatura ambiente a 90 °C a una velocità di 2 al minuto, il mantenimento della temperatura a 90 °C per 60 minuti e il successivo raffreddamento graduale a 50 °C. **Figura 4.6 (b)**.

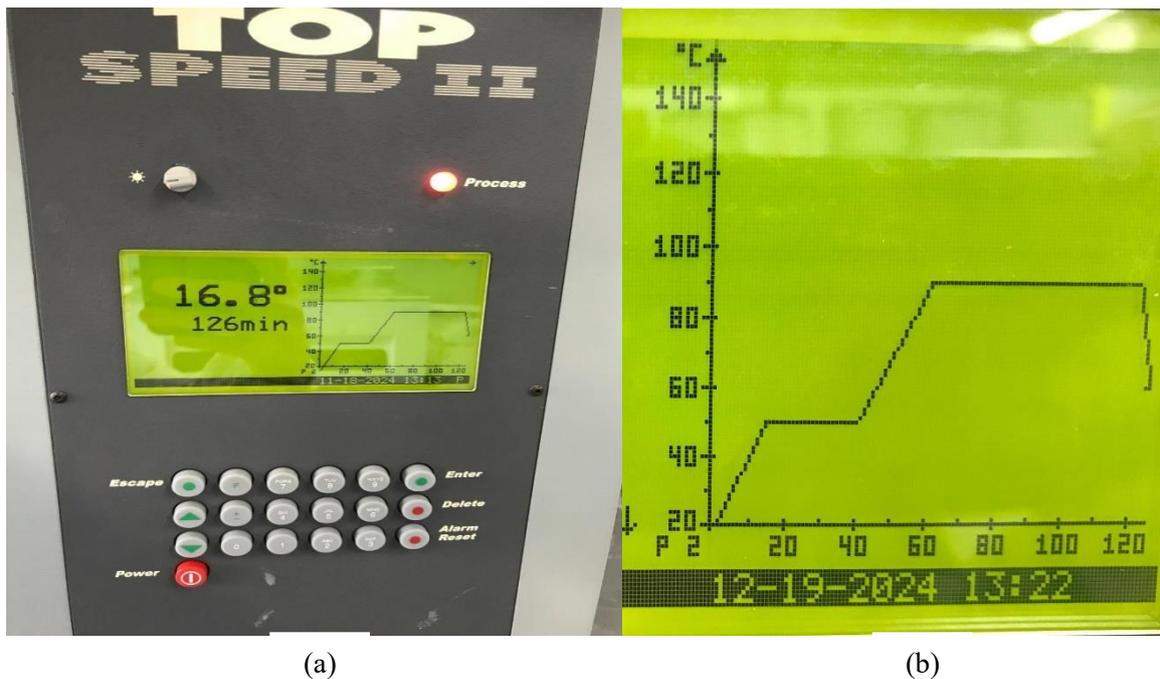


Figura 4.6: Pannello di controllo del Datacolor (a), Programma di tintura (b)

Durante la tintura, i becher venivano ruotati continuamente per garantire che il colore fosse distribuito uniformemente e penetrasse nella struttura della fibra di lana. Quando si utilizzava il mordente, quest'ultimo veniva incorporato direttamente nel bagno di tintura (meta-mordenzatura). Al termine del processo di tintura, i campioni venivano rimossi dai bagni di tintura, lavati accuratamente in acqua calda e fredda per rimuovere eventuali residui di colorante non fissati e lasciati asciugare in forno ventilato a 60 °C per 4 ore.

4.5. Analisi e Caratterizzazione dei Campioni Tinti

4.5.1. Forza del colore (K/S)

La misurazione del colore dei campioni di lana tinti con idrolizzato proteico di BSF da larva pupario e mosca, è stata ottenuta utilizzando uno spettrofotometro Datacolor Spectroflash SF 660X, **Figura 4.7**. Prima della misurazione, è importante che tutti i campioni di tessuto siano completamente asciutti e privi di grinze, pieghe o contaminanti superficiali che possano interferire con le misurazioni. Inizialmente lo strumento è stato calibrato con l'ausilio di una piastrina di calibrazione bianca standard posta su di un cilindro nero per garantire l'accuratezza e la precisione dei risultati.



Figura 4.7: Datacolor Spectroflash SF 600X

Ogni campione è stato quindi posizionato sopra l'apertura della lente e le misurazioni del colore sono state effettuate in condizioni controllate, utilizzando una sorgente luminosa D65 e un angolo di visione di 10°. Sono stati misurati i valori CIELab per i quali lo strumento fornisce valori colorimetrici tra cui L*, per la luminosità (da 0 = nero, a 100 = bianco), a* per l'asse rosso-verde (valori positivi indicano una tendenza verso il rosso, negativi verso il verde), b* per l'asse giallo-blu (valori positivi indicano una tendenza verso il giallo, negativi verso il blu) e l'intensità cromatica essenziale, ovvero il valore del K/S. Il valore dell'equazione cromatica è stato valutato con l'equazione di Kubelka-Munk (4.4).

$$\frac{K}{S} = \frac{(1-R)^2}{2R} \quad (4.4)$$

Dove:

- K è il coefficiente di adsorbimento
- R è la riflettanza del campione tinto al massimo assorbimento
- S è il coefficiente di diffusione

Su ciascun campione sono state effettuate tre misurazioni per verificare la riproducibilità e sono stati utilizzati i valori medi. I dati raccolti hanno permesso di valutare l'influenza della concentrazione dell'idrolizzato proteico e del mordente sulla tintura dei tessuti.

4.5.2. Solidità del colore

Nell'industria tessile la solidità del colore, ottenuto dopo il processo tintoriale, è un'analisi della capacità dei campioni di resistere ad alterazioni, dovute a fattori esterni. I campioni vengono testati dopo essere stati sottoposti a sollecitazioni dovute a: lavaggi, esposizione alla luce, sfregamento o agenti chimici. In questo studio verranno affrontati test per determinare la solidità al lavaggio ed allo sfregamento dei campioni di lana tinti con idrolizzato proteico, utilizzando le norme UNI (Ente Italiano di Normazione).

4.5.2.1. Solidità del colore al lavaggio

La solidità al lavaggio indica la capacità di un tessuto di mantenere il proprio colore invariato dopo ripetuti lavaggi, che siano domestici o industriali. Si tratta di una caratteristica fondamentale e misura se il tessuto tinto mantiene le sue caratteristiche cromatiche o scarica colore su altri capi durante il lavaggio. La solidità al lavaggio di un tessuto tinto si misura con una norma in cui vengono descritte la procedura da utilizzare e le apparecchiature utilizzate. Per valutare la solidità del colore è stata seguita la norma UNI EN ISO 105-C06 che prevede una fase di lavaggio, una fase di asciugatura e una valutazione dei campioni. Sono stati preparati dei campioni di tessuto tinto da analizzare della dimensione di 4x10 cm, dei campioni di tessuto standard di lana (stessa fibra del campione tinto) e un tessuto multi fibra sempre della dimensione 4x10 cm. I tre tessuti sono stati poi assemblati, con al centro il campione tinto da analizzare, come mostrato in **Figura 4.8** e cuciti sul lato corto con una cucitura stretta e sugli altri lati con una cucitura più ampia. Il tutto per tenere i tessuti uniti durante il lavaggio e poterli separare a fine lavaggio [54].



Figura 4.8: Assemblaggio di campioni tinti, standard e multi fibra

I tessuti multi fibra permettono di rilevare la tendenza del colorante a migrare verso diversi tipi di fibra, come avviene durante un lavaggio in presenza di capi di fibre diverse. Il multifibra utilizzato è composto da parti di tessuto in lana, acrilico, poliestere, poliammide, cotone e acetato. Le condizioni di lavaggio sono riportate nella tabella 4, riga A2S della norma e prevedono l'utilizzo di una soluzione con 4g/L di detersivo ECE in polvere e 1g/L di sodio perborato, prodotti acquistati da Sigma-Aldrich. Il macchinario utilizzato per il lavaggio

è un Linitest James Heal, (**Figura 4.9**) come indicato dalla norma. Il ciclo prevede una durata del lavaggio di 30 min alla temperatura di 40°C.



Figura 4.9: Linitest modello James Heal utilizzato per testare la solidità al lavaggio secondo la norma UNI-EN-ISO 10-C06

L'acqua del Linitest è stata preriscaldata a 40 °C e successivamente sono stati inseriti i contenitori con il liquido di lavaggio e i campioni e mantenuti sotto agitazione in un cestello rotante per 30 min. 2 contenitori sono stati inseriti in posizione adiacente e gli altri e due in posizione opposta, per bilanciare i pesi dei contenitori nel Linitest **Figura 4.10**.



Figura 4.10: Cestello rotante all'interno del Linitest

Una volta terminato il lavaggio, i campioni sono stati scuciti, lasciandoli uniti solo su di un lato, (**Figura 4.11**), sciacquati con acqua fredda e successivamente asciugati all'interno di una stufa ventilata a circa 40°C per circa 2h evitando il contatto del tessuto tinto con altri per evitare un ulteriore scarico di colore.



Figura 4.11: Campione tinto, tessuto in lana e tessuto multi fibra scuciti a fine lavaggio

La determinazione del grado di solidità del colore sul campione tinto e lavato è avvenuta per mezzo della scala dei grigi più scura, confrontando il campione tinto e lavato con il campione tinto alle stesse condizioni prima del lavaggio. La scala è divisa in 5 gradi di variazione di colore da grado 5 che indica assenza di variazione di colore a grado 1 che indica variazione massima. La scala dei grigi più chiara è stata utilizzata per valutare lo scarico del colore del tessuto tinto sui tessuti adiacenti e cioè standard di lana e tessuto multi fibra (**Figura 4.12**). La scala dei grigi per lo scarico è caratterizzata da 10 coppie di colori a diversi livelli di variazione cromatica (da 5 a 1 con grado di precisione di mezzo punto). L'indice di solidità può assumere valori variabili da 1, variazione massima, a 5, variazione nulla. Nel caso del grado 5, il materiale tinto non scarica minimamente colore sul tessuto adiacente. La valutazione è stata effettuata in una camera oscura, utilizzando le fonti luminose previste dalla procedura.



Figura 4.12: Scala dei grigi scura (a destra), chiara (a sinistra) utilizzate per le solidità al lavaggio

4.5.3. Solidità del colore allo sfregamento a secco e a umido

Per studiare la solidità allo sfregamento si fa riferimento alla normativa UNI EN ISO 105-X12, che consiste nella misurazione del trasferimento di colore dal tessuto tinto ad un tessuto di riferimento in seguito a ripetuti sfregamenti a secco e ad umido. I campioni tinti sono stati tagliati in pezzi dalle dimensioni di 20x8 cm, adatte per essere fissati con degli aghi allo strumento utilizzato per la prova, chiamato Crockmeter, **Figura 4.13**. Si tratta di un telaio sul quale si colloca il campione tinto. E' inoltre presente un piccolo cilindro in posizione verticale, fissato ad un braccio mobile, sul quale verrà posizionato, tramite una pinza, il quadratino di tessuto testimone che verrà sfregato sul campione [55].



Figura 4.13: Immagine del Crockmeter

Sul tessuto testimone verrà rilasciato eventualmente il colore. Tale prova consiste nell'attuare 10 cicli di sfregamento, ovvero 10 movimenti avanti e indietro, del tessuto campione sul tessuto tinto come previsto dalla norma. La stessa procedura avviene sia a secco che ad umido, dopo opportuna umidificazione del tessuto testimone con acqua distillata e leggera asciugatura. Al termine delle due prove i quadratini del tessuto testimone, **Figura 4.14**, vengono valutati con la scala dei grigi chiara, vista in precedenza, con la possibilità anche di assegnare mezzi punti, partendo da un grado minimo di 1 (trasferimento di colore massimo) ad un grado massimo di 5 (assenza di trasferimento). Come in precedenza ci si avvale per la valutazione di una camera oscura con illuminazione controllata, escludendo luce di Wood e luce gialla 6, come previsto dalla normativa.

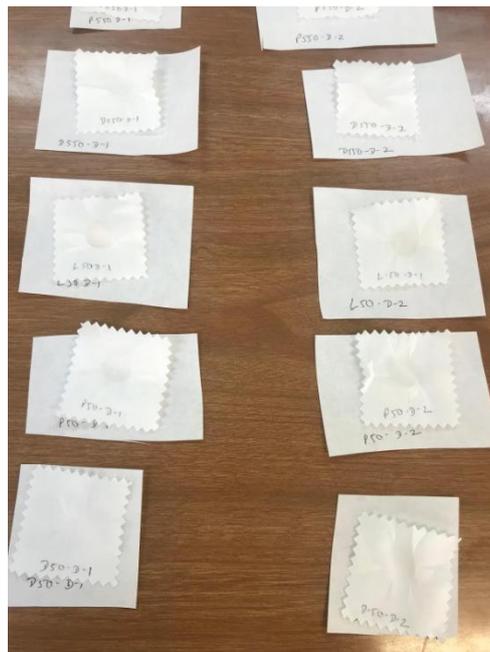


Figura 4.14: Quadratini di tessuto testimone dopo sfregamento a secco e a umido

4.5.4. Microscopia Ottica

La microscopia ottica è una metodica fondamentale per l'analisi morfologica di materiali tessili, poiché permette di visualizzare la struttura interna e la distribuzione del colorante nei campioni di lana trattati con i diversi idrolizzati proteici di larva, pupa e mosche.

In questo caso si è osservata al microscopio ottico la sezione trasversale delle fibre dei tessuti di lana tinti.

La preparazione dei campioni è avvenuta mediante l'utilizzo di un microtomo manuale per fibre. Inizialmente si è partiti con lo sfilare, a mano, una quantità sufficiente di fibre dal tessuto di lana per la formazione di un fascio di fibre compatto. Il microtomo è formato da una sbarretta metallica che presenta un foro circolare nel quale viene introdotto il mazzetto di fibre in modo da occludere completamente l'apertura del foro addossandosi le une alle altre. Dopo aver tagliato le estremità delle fibre che fuoriescono dal foro e perciò inglobato un piccolo cilindro di fibre parallele nella sbarretta metallica, mediante una vite micrometrica le fibre vengono spinte lungo una base del cilindro in modo che fuoriescano di pochi micrometri dalla base opposta dove vengono inglobate in una soluzione costituita da un terzo di collodio, un terzo di etere etilico e un terzo di alcool etilico. Il solvente evapora e la sezione di fibre

inglobate viene asportata con una lametta dalla superficie del microtomo. Il campione da analizzare viene posto su di un vetrino porta oggetto e coperto con un vetrino copri oggetto. Per ottenere delle immagini chiare e ben contrastate, nella fase di montaggio viene applicata tra i 2 vetrini una miscela di glicerina triacetato che ha un indice di rifrazione adatto per l'osservazione delle fibre al microscopio ottico. Successivamente le immagini sono state acquisite con l'impiego di un microscopio ottico Leica DMLP, **Figura 4.15**, applicando diversi ingrandimenti: 10x, 20x e 50x ed analizzate tramite il software LAS V4.12 [56]. Un approfondimento dello strumento è presente in Appendice (A.5.).



Figura 4.15: Microscopio ottico Leica DMLP

4.5.5. Microscopia Elettronica a Scansione (SEM)

La microscopia elettronica a scansione è una tecnica che adopera fasci di elettroni per osservare la superficie di un campione con elevata risoluzione. Per analizzare le caratteristiche superficiali dei materiali di lana trattati con idrolizzati proteici, con mordenzante e senza mordenzante, è fondamentale eseguire una preparazione accurata dei campioni. È stato utilizzato un microscopio elettronico modello ZEISS, **Figura 4.16**. Il funzionamento dell'apparecchiatura nel dettaglio è presente in Appendice (A.4.).



Figura 4.16: SEMZEISS

In una prima fase, i campioni di lana tinti vengono tagliati in pezzi abbastanza piccoli compatibili con le dimensioni dei portacampioni metallici a disco mostrati in **Figura 4.17**. Successivamente ogni campione viene fissato su uno stub metallico usando delle pinzette e del nastro biadesivo. Questo fissaggio garantisce una buona stabilità del campione nel momento dell'analisi ed evita spostamenti dovuti al vuoto o al fascio di elettroni.



Figura 4.17: Portacampioni metallici a disco

Una volta completato il montaggio, i campioni vengono sottoposti ad un processo di metallizzazione, che consiste nel depositare in modo uniforme un rivestimento sottile di oro sulla superficie del campione, con l'utilizzo di un metallizzatore Quorum Q150R ES Plus

mostrato in **Figura 4.18 (a)**. Questo rivestimento ha il duplice scopo di evitare l'accumulo di cariche durante l'analisi e migliorare la nitidezza delle immagini per materiali isolanti come le fibre di lana. La metallizzazione avviene all'interno di una camera a vuoto **Figura 4.18(b)**, mediante un apparecchio sputter coater, dove attraverso un processo di sputtering viene conferita conducibilità elettrica superficiale a campioni non conduttivi come fibre tessute o polimeri. La capacità di dissipare le cariche elettriche accumulate durante l'interazione con il fascio di elettroni, evita distorsioni delle immagini e aumenta il contrasto.



(a)

(b)

Figura 4.18: Metallizzatore Quorum (a) e camera di metallizzazione(b)

Una volta terminata la metallizzazione i campioni sono pronti per essere posizionati all'interno della camera SEM, al di sopra di uno stadio mobile, dove mediante l'uso di un Dual Joystick, **Figura 4.19**, si è in grado di regolare l'inclinazione e la rotazione del campione rispetto al fascio elettronico. L'orientamento e la posizione si osservano su di una schermata Stage Navigation. L'analisi avviene in una camera dove, prima per mezzo di una pompa meccanica e successivamente con una pompa turbo molecolare, si creano delle condizioni di vuoto elevate che migliorano la risoluzione delle immagini.



Figura 4.19: *SEM Dual Joystick*

Per quanto riguarda i parametri di lavoro del SEM, il voltaggio di accelerazione (ETH Target) è fissato a 20kV e la corrente del fascio di elettroni è fissata a 50 μ A. Sono stati poi utilizzati sensori di rilevazione di elettroni secondari di tipo 1 (SE1 ed ogni immagine è ottenuta calibrando e regolando la distanza di lavoro (WD) per garantire una visualizzazione delle immagini ottimizzata.

4.6. Risultati e discussione

4.6.1. Forza del colore (K/S)

La tintura di tessuti di lana utilizzando come colorante le proteine estratte dai vari stadi di BSF, in particolare larve, pupari e mosche, è stata studiata al fine di ottenere la tinta più significativa e stabile. La tintura della lana è stata eseguita nel presente lavoro con e senza mordente. Il solfato ferroso è stato utilizzato come mordente alla concentrazione del 5% o.w.f. ed è stato mantenuto costante per tutta la durata degli esperimenti. Gli esperimenti di colorazione delle fibre di lana sono stati condotti a una temperatura ottimizzata di 90 °C per 60 minuti e a un pH di 4,5, utilizzando processi di colorazione convenzionali [36, 53].

Per determinare l'effetto della colorazione delle fibre di lana, sono state utilizzate diverse concentrazioni di idrolizzato proteico (colorante), cioè il 2%, 5%, 10%, 30% e 50% di colorante (o.w.f.) con e senza mordente. Dopo la tintura, l'intensità del colore delle fibre di lana tinte è stata testata con l'ausilio di un apposito strumento. L'intensità del colore delle fibre di lana tinte ottenute da larve, pupari e mosche di BSF senza mordente è riportata nella **Tabella 4.2**.

Tabella 4.2: Intensità del colore dei campioni tinti con idrolizzato proteico ottenuto dai diversi stadi della BSF

N.	Colore (%)	K/S		
		Larva	Pupario	Mosca
1	2	0,32	0,43	0,4
2	5	0,53	0,83	0,6
3	10	0,90	1,29	0,95
4	30	1,18	2,25	1,69
5	50	1,44	2,78	2,0

Dalla tabella, si osserva che l'idrolizzato proteico proveniente da vari stadi di BSF svolge un ruolo importante nella tintura delle fibre di lana. Dalla tabella si osserva chiaramente che con un aumento della concentrazione del colorante dal 2% al 50% di colorante (o.w.f.), anche l'intensità del colore (valore K/S) delle fibre di lana tinte aumenta da 0,32 a 1,44 quando le fibre sono trattate con idrolizzato proteico derivato da larve senza mordente (**Figura 4.20**), indicando la relazione diretta tra concentrazione del colorante e intensità del colore. Anche gli idrolizzati da pupari e da mosche presentano un andamento simile, (**Figura 4.21**, **Figura 4.22**), ma il loro valore K/S è più alto a tutte le concentrazioni rispetto al valore K/S della lana tinta con colorante estratto da larve.



Figura 4.20: Tessuti di lana dopo tintura con idrolizzato proteico larvale in assenza di mordente, a partire dal 2% (a sinistra) fino al 50% in concentrazione di colore o.w.f. (a destra)

Il valore K/S massimo di 2,78 è stato ottenuto utilizzando idrolizzato proteico da pupari, mentre il valore K/S massimo di 2,0 è stato ottenuto utilizzando idrolizzato da mosca senza l'uso di mordente. La colorazione potrebbe essere dovuta a due fattori principali: (1) la melanina, ampiamente presente nelle mosche adulte e nei pupari [57], e (2) il processo di Maillard, una nota reazione di imbrunimento che si verifica quando amminoacidi e zuccheri riducenti vengono riscaldati, con conseguente creazione di sostanze chimiche marroni [58].



Figura 4.21: Tessuto di lana ottenuto con idrolizzato proteico della mosca in assenza di mordente, a partire dal 2% (a sinistra) fino al 50% in concentrazione di colore o.w.f. (a destra)



Figura 4.22: Tessuto di lana ottenuto con idrolizzato proteico pupale in assenza di mordente, a partire dal 2% (a sinistra) fino al 50% in concentrazione di colore o.w.f. (a destra)

Il minore contenuto di melanina delle larve spiega molto probabilmente la minore intensità del colore rispetto ad altre fonti di biomassa, **Figura 4.23**. L'intensità del colore delle fibre di lana tinte con coloranti derivanti dalla biomassa BSF è nell'ordine pupario > mosca > larva quando non viene utilizzato mordente.



Figura 4.23: Confronto tra diversi tessuti di lana al 50% di colore (o.w.f.) in assenza di mordente, tinti con i diversi idrolizzati proteici

Questo lavoro ha anche studiato l'effetto della presenza di un mordente sulla tintura di fibre di lana utilizzando idrolizzato proteico derivato da BSF. Le condizioni sperimentali sono state mantenute simili a quelle degli esperimenti condotti senza l'uso di mordente; l'unica modifica in questo caso è stata l'aggiunta di una quantità fissa di mordente, ovvero il 5% o.w.f.. I risultati sono riportati nella **Tabella 4.3**.

Tabella 4.3: Intensità del colore dei campioni tinti con coloranti ottenuti da diversi stadi della BSF con mordente

No.	Mordente (%)	Colorante %	K/S		
			Larva	Pupario	Mosca
1	5	2	3	2,73	2,31
2	5	5	2,57	2,24	1,83
3	5	10	2,11	2,05	1,67
4	5	30	1,86	2,28	1,79
5	5	50	1,79	2,71	1,98
6	10	30	2,35	-	-
7	50	2	1,75	-	-
8	50	5	1,34	-	-

La tabella dimostra chiaramente che il mordente è più efficace a concentrazioni inferiori di colorante. Si osserva inoltre dalla **Tabella 4.3** che i tessuti in lana tinti con idrolizzato proteico da larve, **Figura 4.24**, hanno mostrato un andamento decrescente del valore K/S da 3,0 a 1,79 con un aumento della concentrazione di idrolizzato dal 2% al 50% (o.w.f.), rispettivamente.



Figura 4.24: Tessuti di lana tinti con idrolizzato proteico larvale con mordente al 5% (o.w.f.), ottenuti all'aumentare della concentrazione del colore dal 2% (a sinistra) al 50% o.w.f. (a destra)

Un andamento simile è stato osservato anche per le fibre di lana tinte a base di idrolizzato da mosche, **Figura 4.25**; il valore K/S è diminuito da 2,31 a 1,98 con un aumento della concentrazione di idrolizzato proteico dal 2% al 50% o.w.f., rispettivamente. Nel caso del

pupario, **Figura 4.26**, è stato osservato che inizialmente l'intensità del colore della fibra di lana tinta diminuisce da 2,73 a 2,05 con un aumento della concentrazione di idrolizzato proteico dal 2% al 10%. Tuttavia, con un ulteriore aumento della concentrazione di idrolizzato dal 30% al 50%, l'intensità del colore della fibra di lana aumenta da 2,28 a 2,71. È importante tenere presente che il solfato ferroso, se utilizzato come mordente, ha l'effetto di fissare i coloranti naturali sulle fibre tessili e di alterarne le tonalità, rendendo i colori più scuri. Elevati valori di K/S con mordente possono essere dovuti all'ancoraggio del colorante o al solfato ferroso, che scurisce le tonalità. Non si è osservato alcun aumento significativo dell'intensità del colore con un aumento della concentrazione di mordente dal 10% al 50%. Tuttavia, è opportuno notare che l'intensità del colore aumenta con il trattamento con una concentrazione leggermente maggiore di mordente (10% o.w.f.) e di idrolizzato (30% o.w.f.). L'aumento dell'intensità del colore con la maggiore concentrazione di mordente e di idrolizzato può essere dovuto alla migliore formazione di complessi di coordinazione con il colorante quando è stato utilizzato solfato ferroso come mordente [53]. Nel complesso, i risultati mostrano l'efficacia dell'idrolizzato proteico e del mordente nella tintura della lana, e che l'idrolizzato da pupario ha mostrato la maggiore intensità del colore.



Figura 4.25: Tessuti di lana tinti con idrolizzato proteico della mosca con mordente al 5% (o.w.f.), ottenuti all'aumentare della concentrazione del colore dal 2% (a sinistra) al 50% o.w.f. (a destra)



Figura 4.26: Tessuti di lana tinti con idrolizzato proteico pupale con mordente al 5% (o.w.f.), ottenuti all'aumentare della concentrazione del colore dal 2% (a sinistra) al 50% o.w.f. (a destra)

4.6.2. Solidità del Colore

Il test di solidità del colore al lavaggio è stato eseguito seguendo la procedura standard UNI EN ISO CO6. A tal fine, i campioni sono stati preparati secondo le specifiche della norma. La temperatura di lavaggio è stata di 40 °C, per una durata di 30 minuti. Il test di sfregamento a secco e ad umido è stato fatto seguendo la norma UNI EN ISO 105 × 12 (UNI EN ISO 105-X12: Textiles Tests for color fastness. Part X12: Color fastness to rubbing). I risultati relativi alla solidità del colore per idrolizzato proteico da larve, il pupari e mosche di *Hermetia illucens* (BSF), con e senza mordente, vengono illustrati nelle seguenti sezioni.

4.6.3. Solidità del colore al lavaggio

La prova di solidità del colore al lavaggio viene eseguita secondo la procedura standard UNI EN ISO CO6. A tal fine, i campioni di lana tinta ottenuti da idrolizzato proteico derivato da BSF vengono preparati secondo le opportune procedure. La temperatura di lavaggio è stata di 40 °C e il tempo di 30 minuti. I risultati della solidità del colore al lavaggio di fibre di lana tinte con il 50% o.w.f. con idrolizzato proteico di larve, pupari e mosche con e senza mordente sono riportati nella **Tabella 4.4**. Dalla tabella è mostrato che l'idrolizzato proteico ottenuto da tutte e tre le fasi della biomassa di BSF ha il potenziale per essere una fonte sostenibile di colore naturale per applicazioni tessili, in particolare nella tintura della lana. Dalla **Tabella 4.4**, si è inoltre osservato che tutti gli idrolizzati proteici derivati da BSF, usati come coloranti, mostrano un basso scarico del colore sulla fibra di lana e ottengono punteggi costanti tra 4/5 e 5, indipendentemente dall'utilizzo o meno di mordente.

Nel caso di fibre di lana tinte con colorante a base di idrolizzato proteico derivato da BSF, i risultati mostrano che la solidità del colore non è significativamente influenzata in assenza di mordente rispetto all'utilizzo del mordente. È stato inoltre osservato che i tessuti tinti con idrolizzato proteico da larva mostrano buoni risultati di solidità (grado 3) rispetto a quelli tinti con colorante da mosca (grado 2) e pupario (grado 1) quando è stato utilizzato mordente al 5% di o.w.f.. La maggiore solidità dei tessuti tinti con idrolizzato proteico da larva potrebbe

essere dovuta all'interazione del mordente con le proteine disponibili di BSF e le fibre di lana, con la formazione di complessi moderatamente stabili. Nel caso dei pupari, i risultati hanno mostrato una solidità inferiore, probabilmente dovuta alla presenza della melanina come pigmento che si lega più debolmente alla lana con conseguente solidità al lavaggio inferiore. Nel caso di fibre di lana tinte con idrolizzato proteico derivato da BSF senza l'uso di mordente, i risultati della **Tabella 4.4** hanno rivelato una migliore solidità. Ad esempio, sia le fibre di lana tinte a con idrolizzato proteico da larva che da pupario mostrano una solidità di grado 4, probabilmente dovuta alla migliore affinità tra alcune proteine della lana e il colorante naturale senza mordente. Tuttavia, l'idrolizzato proteico a base di mosca, con o senza mordente, presenta una scarsa solidità a causa della sua scarsa affinità per le fibre di lana e della distribuzione irregolare dei gruppi funzionali [59]. Inoltre, i coloranti hanno dimostrato un basso scarico di colore per cui risultati da buoni ad eccellenti su tessuti sintetici, tra cui poliammide, poliestere e acrilico, mentre hanno mostrato valori leggermente inferiori, ma comunque accettabili, su cotone. Questi risultati confermano la possibilità di utilizzare la biomassa BSF come fonte di colorante biodegradabile ed ecosostenibile, con ampia applicabilità come colorante tessile, in particolare per i metodi di tintura sostenibili della lana.

Tabella 4.4: Solidità del colore al lavaggio dei tessuti in lana. 50% o.w.f. di idrolizzato proteico da larve, pupari e mosche, con e senza mordente

N.	Campione	Mordente %	Grado di cambiamento di colore	Lana standard	Acetato	Cotone	Poliammide	Poliestere	Acrilico	Lana
1	Larva	5	3	5	5	3/4	5	5	5	4/5
2	Pupario	5	1	4/5	5	3/4	4/5	5	5	4/5
3	Mosca	5	2	4/5	5	3/4	4/5	5	5	5
4	Larva	No	4	4/5	4/5	3/4	4/5	4/5	4/5	4/5
5	Pupario	No	4	4/5	5	4/5	4/5	4/5	5	4/5
6	Mosca	No	2	4/5	5	4/5	4/5	4/5	5	5

4.6.4. Solidità del colore allo sfregamento

Lo sfregamento a secco e a umido di tessuti di lana tinti con idrolizzato proteico da BSF è stato studiato per comprendere la resistenza di un tessuto tinto allo sbiadimento o alla scoloritura in diverse condizioni. I risultati dello sfregamento a secco e a umido sono riportati nella **Tabella 4.5**. I gradi di solidità del colore sono stati valutati su una scala da 1 (scarsa) a 5 (eccellente) su tutti i campioni, e indicano la resistenza dei coloranti allo sbiadimento.

In caso di sfregamento a secco su tessuto di lana tinto, il tessuto di lana tinto con idrolizzato proteico ottenuto da larve e mosche con mordente ha mostrato una valutazione media di 4/5 gradi, mentre il tessuto di lana tinto con idrolizzato proteico da pupario ha ricevuto una valutazione leggermente inferiore di grado 3/4. È interessante notare che i tessuti tinti con idrolizzato proteico da pupario e mosca senza mordente hanno ricevuto rispettivamente valutazioni di 4/5 e 5, per cui migliori rispetto a quelli con mordente.

Nel caso dello sfregamento ad umido, i campioni tinti con idrolizzato proteico da larva e pupario in presenza di mordente hanno mostrato una solidità da moderata ad elevata, e hanno ricevuto rispettivamente gradi di 3/4 e 4, mentre i tessuti tinti con gli estratti proteici da mosca hanno ottenuto nuovamente gradi più elevati, pari a 4/5. Nel caso dei campioni tinti senza mordente, si è osservata una maggiore variabilità in termini di gradi di solidità: i campioni di lana tinti con idrolizzato proteico da larve hanno ottenuto un grado di solidità allo sfregamento di 3/4, i campioni di lana tinti con idrolizzato proteico da pupari sono scesi a grado 3, mentre i campioni di lana tinti con idrolizzato proteico da mosche hanno ottenuto un lodevole grado di 4, a supporto dell'affermazione che gli idrolizzati proteici da mosche rappresentano la fonte di tintura più performante. Nel complesso, sono state ottenute buone solidità del colore allo sfregamento a secco e ad umido con un colorante naturale.

Tabella 4.5: Gradi di solidità allo sfregamento a secco e ad umido su tessuti di lana tinti con idrolizzato proteico al 50% o.w.f. da larva, pupario e mosca di BSF.

N.	Campione	Mordente (%)	Tipo di sfregamento	Grado di solidità allo sfregamento
1	Larva	5	A secco	4/5
2	Pupario	5	A secco	3/4
3	Mosca	5	A secco	4/5
4	Larva	No	A secco	4
5	Pupario	No	A secco	4/5
6	Mosca	No	A secco	5
7	Larva	5	A umido	3/4
8	Pupario	5	A umido	4
9	Mosca	5	A umido	4/5
10	Larva	No	A umido	3/4
11	Pupario	No	A umido	3
12	Mosca	No	A umido	4

4.6.5. Microscopia Elettronica a Scansione (SEM)

I campioni di tessuto di lana sono stati tinti con idrolizzato proteico da BSF, utilizzando solfato ferroso come mordente in condizioni controllate e analizzati utilizzando un microscopio elettronico a scansione (SEM) con ingrandimento 1000x per valutare la morfologia della superficie del tessuto di lana ed eventuali depositi di colorante o mordenzante. L'impatto del processo di colorazione sulla superficie del tessuto di lana è illustrato nella **Figura 4.27**. Dalla figura, si può facilmente osservare che il tessuto di lana di riferimento non trattato **Figura 4.27(a)** presenta una superficie liscia e intatta con distinte cellule cuticolari, caratteristiche della morfologia naturale della lana. Tuttavia, dopo la tintura con idrolizzati proteici derivati da BSF e mordente, sono state riscontrate lievi alterazioni nella regione della cuticola (**Figure 4.27 (b), Figura 4.28 (c e d)**). È stato inoltre osservato che le scaglie apparivano parzialmente ruvide con depositi in superficie. Questi depositi possono essere attribuiti al mordente solfato ferroso residuo o a frammenti di proteine idrolizzate derivate da BSF.

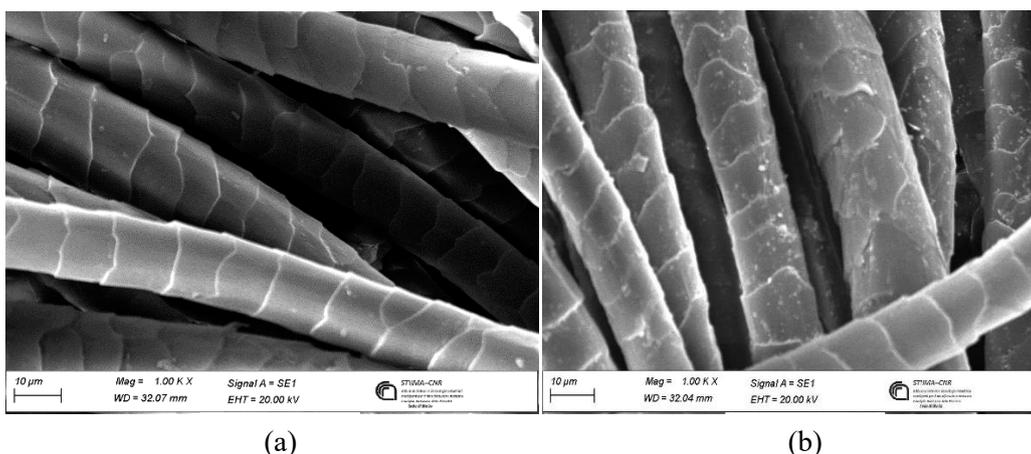


Figura 4.27: SEM del tessuto di lana non trattato (a), tessuto trattato con idrolizzato proteico (b)

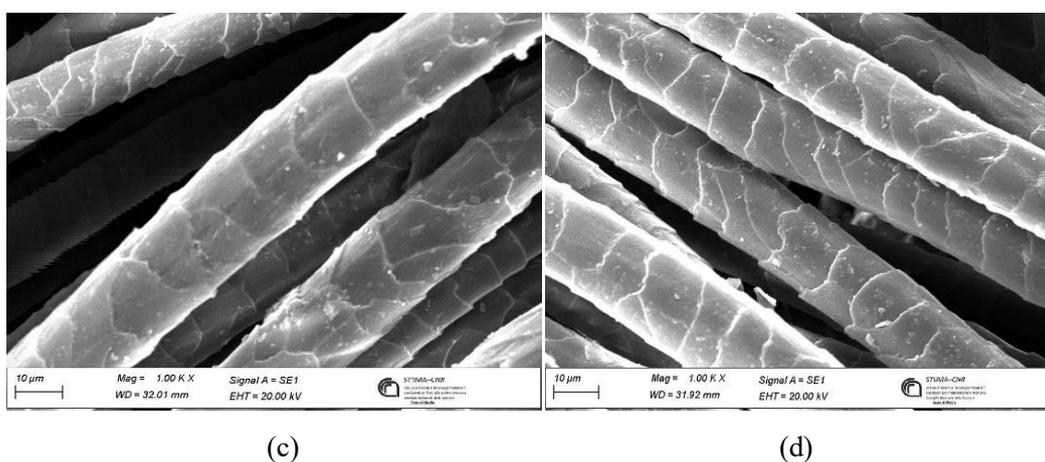


Figura 4.28: SEM tessuti di lana trattati con idrolizzato proteico da diversi stadi della BSF

4.6.6. Microscopia Ottica

Le sezioni trasversali dei tessuti di lana tinti per paragone con un tessuto non tinto di riferimento sono state esaminate al microscopio ottico e i risultati ottenuti sono mostrati in **Figura 4.29**. Dalla figura, è possibile distinguere chiaramente tra la sezione trasversale della lana tinta e quella non tinta. Si può osservare chiaramente che la sezione trasversale della fibra di lana naturale (**Figura 4.29a**) è rimasta chiara, a conferma che il colorante non è presente. La sezione trasversale della fibra di lana trattata al microscopio ottico ha rivelato che la parte interna della fibra di lana appariva visibilmente più scura rispetto alla fibra di lana non trattata, sia con che senza mordente per larva, pupario, mosca (**Figura 4.30**, **Figura 4.31**, **Figura 4.32**). Ciò mette in evidenza che il colorante e il mordente sono penetrati nella matrice interna della fibra, attraverso le regioni amorfe che consentono la diffusione molecolare. Pertanto, la combinazione colorante-mordente ha permeato la struttura della lana anziché rimanere sulla superficie esterna, come avviene in un processo di tintura.

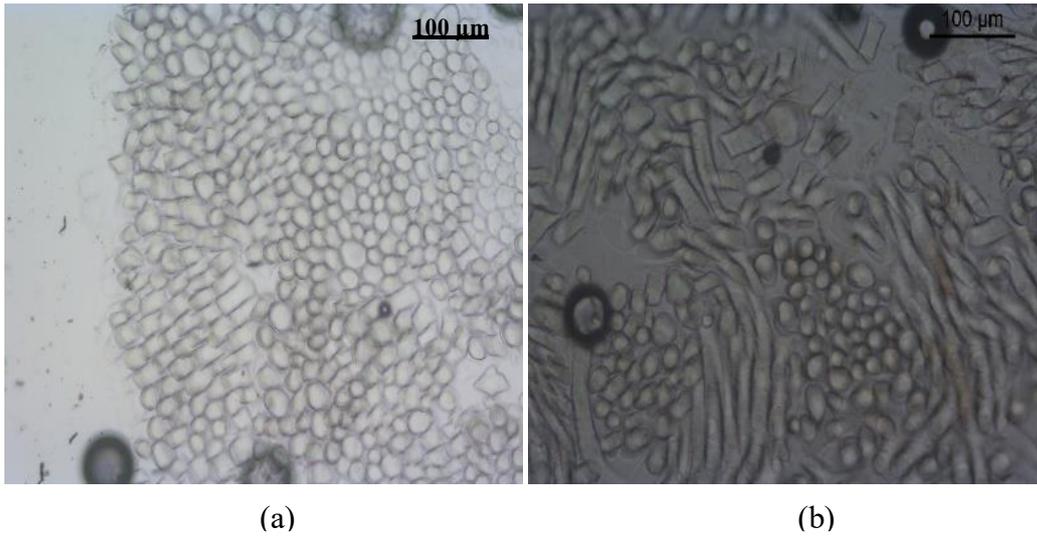


Figura 4.29: Sezione trasversale di (a) lana di riferimento non tinta 20x , (b) lana tinta con idrolizzato proteico da larva 50% o.w.f. senza mordente 20x

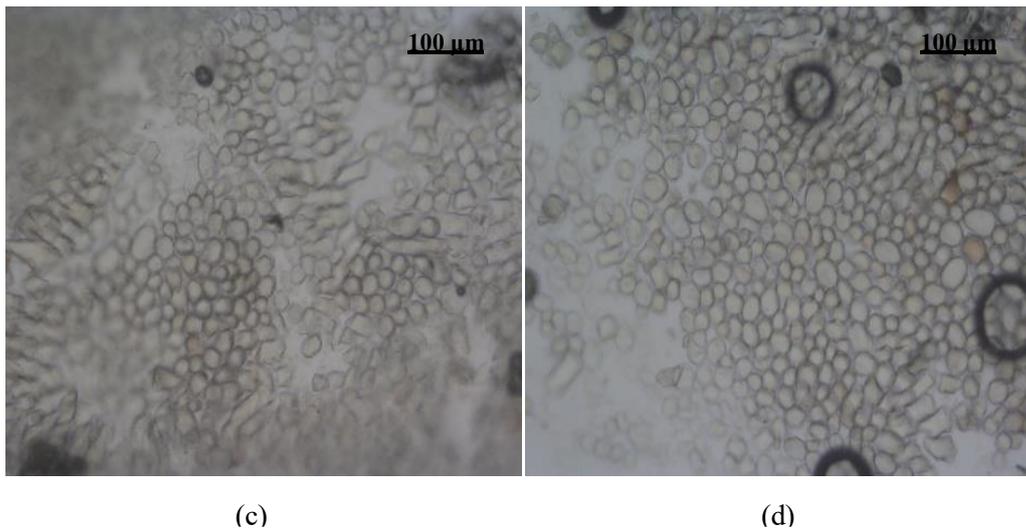
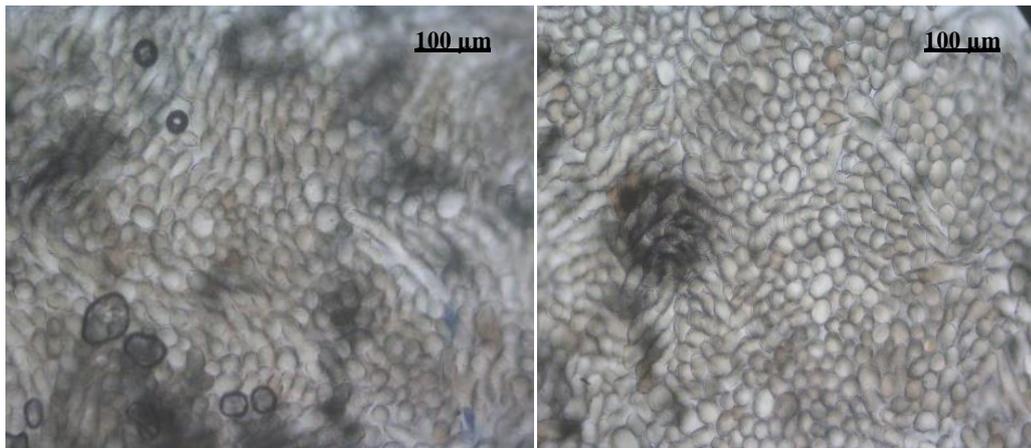


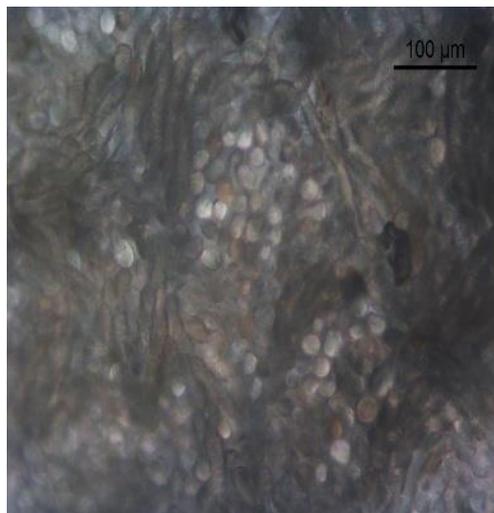
Figura 4.30: Sezione trasversale di (c) lana tinta con idrolizzato proteico da larva 5% o.w.f. e 50% o.w.f. mordente (20x)(d) lana tinta con idrolizzato proteico da pupario 50% o.w.f., senza mordente (20x)



(e)

(f)

Figura 4.31: Sezione trasversale di (e) lana tinta con idrolizzato proteico da pupario 5% o.w.f. e 5% o.w.f. mordente (20x), (f) lana tinta con idrolizzato proteico da mosca 50% o.w.f., senza mordente (20x)



(g)

Figura 4.32: Sezione trasversale di (g) lana tinta con idrolizzato proteico da mosca 50% o.w.f. e 5% o.w.f. mordente (20x)

Nel complesso, si è osservato che la frazione proteica del BSF si è rivelata un agente colorante efficiente e sostenibile. La tecnica descritta contribuisce a sostituire i coloranti chimici sintetici in produzione con alternative rinnovabili e biodegradabili, il che non solo incoraggia la valorizzazione degli scarti di biomassa di insetti, ma supporta anche la bioeconomia circolare.

5. Conclusioni

Nel presente lavoro è stato dimostrato come gli idrolizzati proteici derivati dalle diverse fasi di vita della *Hermetia illucens* (larva, pupario, mosca), possano essere utilizzati come ottimi coloranti naturali per la tintura della lana. L'approccio sperimentale è partito dalla preparazione delle materie prime fino alla caratterizzazione delle proprietà dei tessuti ottenuti. Il processo è stato accelerato dall'uso economicamente sostenibile dell'idrolisi con acqua surriscaldata per l'estrazione dell'idrolizzato proteico da vari stadi di biomassa di BSF. Il contenuto di umidità e ceneri è stato determinato rispettivamente per le larve (7,3% e 11,0%), il pupario (9,2% e 8,3%) e le mosche adulte (9,8% e 12,9%), dopodiché sono stati estratti i lipidi dalla biomassa di ciascun stadio di BSF, con un contenuto lipidico medio del 25,9%, 5,5% e 27,0% rispettivamente per larve, pupario e mosche. L'eliminazione dei lipidi prima dell'idrolisi con acqua surriscaldata è un processo importante per garantire un recupero proteico più stabile, funzionale e puro, evitando reazioni secondarie e aumentando il numero di proteine disponibili alla reazione idrolitica. È stato osservato che la resa massima di proteine estratte è stata del 47,6%, ottenuta utilizzando le larve, seguita da una resa leggermente inferiore di proteine estratte, pari al 47,4%, nelle mosche. La resa minima di proteine è stata del 19,3%, ottenuta nel pupario a causa della sua struttura rigida che rende le proteine difficili da diffondere nell'idrolizzato. L'analisi FTIR fornisce informazioni biochimiche sull'insetto BSF, mentre i dati DSC e TGA forniscono le caratteristiche termiche dei lipidi estratti di vari stadi dell'insetto BSF.

La concentrazione di idrolizzato proteico dal 2% al 50% con un mordente fisso al 5% di solfato ferroso è stata studiata per la colorazione della fibra di lana e i risultati migliori sono stati ottenuti a un pH di 4,5, 90 °C per 60 minuti e con idrolizzato proteico al 50% di o.w.f. senza mordente e idrolizzato proteico al 2% di o.w.f. con mordente. Sulla base dei risultati ottenuti, si può anche osservare che l'efficacia dell'intensità del colore delle fibre di lana tinte è risultata essere nell'ordine pupario > mosca > larve quando non viene utilizzato mordente. Tuttavia, l'efficacia dell'intensità del colore delle fibre di lana tinte con idrolizzato proteico da larva è risultata coerente rispetto all'idrolizzato da larve e mosche. La solidità del colore delle fibre di lana tinte mostra risultati migliori senza l'uso di mordente rispetto ai risultati ottenuti con l'uso di mordente. I risultati di solidità al lavaggio e allo sfregamento del tessuto di lana tinto sono risultati da buoni a eccellenti quando non viene utilizzato mordente, e le fibre di lana tinte a base di idrolizzato proteico da mosca si sono rivelate un'eccellente fonte di colore. Nonostante le loro eccellenti prestazioni, sono state riscontrate differenze nella composizione metabolica dei vari stadi degli insetti. Queste diversità influiscono sia sulle proprietà coloranti che sulla resa dell'estrazione. Ciò dimostra la necessità di selezionare correttamente lo stadio dell'insetto in base all'uso previsto. I risultati ottenuti aprono diverse prospettive. In primo luogo, sarà fondamentale migliorare il processo di tintura su larga scala cercando di abbassare il volume del bagno rispetto al peso del tessuto e sostituire il mordente utilizzato, il solfato ferroso, con altri più rispettosi dell'ambiente. Sarà inoltre interessante osservare come l'idrolizzato proteico possa essere impiegato su altre fibre diverse dalla lana come cotone o lino.

Un aspetto da valutare sarà anche l'analisi ambientale dell'intero processo produttivo, mediante studi di Life Cycle Assessment (LCA), per determinare l'impatto ecologico reale rispetto ai sistemi convenzionali basati su coloranti sintetici. Altre considerazioni interessanti riguardano l'uso di diversi substrati alimentari impiegati nella dieta dell'insetto e come questi ultimi possano influire sulla composizione chimica degli idrolizzati ottenuti e quindi sulla tonalità cromatica che sono in grado di fornire. Nel complesso, il presente lavoro evidenzia il

potenziale dell'idrolizzato proteico ottenuto da varie fasi di BSF come agente colorante verde, che ha dato risultati promettenti nella tintura tessile.

6. Bibliografía

- [1] Tomberlin, J. K., Mohr, R., Benbow, M. E., Tarone, A. M., & VanLaerhoven, S. (2008). The black soldier-fly, *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae), used to estimate the postmortem interval in a case in Amapá State, Brazil. *Journal of Forensic Sciences*, 53(2), 476–478. <https://doi.org/10.1111/j.1556-4029.2008.00659.x>
- [2] Ewusie, E. A., Kwapong, P. K., Ofosu-Budu, G., Sandrock, C., Akumah, A. M., Nartey, E. K., Tetegaga, C., & Agyakwah, S. K. (2019). The black soldier fly, *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae): Trapping and culturing of wild colonies in Ghana. *Scientific African*, 6, e00134. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2019.e00134>
- [3] Marshall, S.A., Woodley, N.E., & Hauser, M. (2015). The historical spread of the Black Soldier Fly, *Hermetia illucens* (L.) (Diptera, Stratiomyidae, Hermetiinae), and its establishment in Canada. *Journal of the Entomological Society of Ontario*, 146, 51–54
- [4] James, M. T. (1935). The genus *Hermetia* in the United States (Diptera: Stratiomyidae). *Bulletin of the Brooklyn Entomological Society*, 30, 165–170. <https://biostor.org/reference/169315>
- [5] Marshall, S. A., Woodley, N. E., & Hausler, M. (2015). The historical spread of the black soldierfly, *Hermetia illucens* (L.) (Diptera, Stratiomyidae, Hermetiinae), and its establishment in Canada. *Journal of the Entomological Society of Ontario*, 146, 51–54
- [6] Caligiani, A., Marseglia, A., Leni, G., Baldassarre, S., Maistrello, L., Dossena, A., & Sforza, S. (2018). Composition of black soldier fly prepupae and systematic approaches for extraction and fractionation of proteins, lipids, and chitin. *Food Research International*, 105, 812–820
- [7] Bermúdez-Serrano, Ileana Maricruz, & Sánchez-Velázquez, Oscar Abel. (2023). Aprovechamiento integral de la Mosca Soldado Negra: Bioconversión, sostenibilidad y desafíos emergentes. *Scientia Agropecuaria*, 14(4), 571-590. Epub 14 de noviembre de 2023. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2023.047>
- [8] Diener, S., Zurbrügg, C., & Tockner, K. (2009). Conversion of organic material by black soldierfly larvae: Establishing optimal feeding rates. *Waste Management & Research*, 27(6), 603-610. <https://doi.org/10.1177/0734242X09103838>
- [9] Liu, X., Chen, X., Wang, H., Yang, Q., ur Rehman, K., Li, W., Cai, M., Li, Q., Mazza, L., Zhang, J., Yu, Z., & Zheng, L. (2017). Dynamic changes of nutrient composition throughout the entire life cycle of black soldierfly. *PLoS ONE*, 12(8), e0182601. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0182601>
- [10] Cammack, Jonathan A., and Jeffery K. Tomberlin. “The Impact of Diet Protein and Carbohydrate on Select Life-History Traits of the Black Soldier Fly *Hermetia illucens* (L.) (Diptera: Stratiomyidae).” *Insects*, vol. 8, no. 2, 2017, p. 56.
- [11] Barragán-Fonseca et al., 2018: Barragán-Fonseca, K. B., Pineda-Mejía, J., Dicke, M., & van Loon, J. J. A. (2018). Performance of the Black Soldier Fly (Diptera: Stratiomyidae) on

Vegetable Residue-Based Diets Formulated Based on Protein and Carbohydrate Contents. *Journal of Economic Entomology*, 111(6), 2676–2683.

[12] Hoc et al., 2020: Hoc, B., Noël, G., Carpentier, J., Francis, F., & Haubruge, E. (2020). About lipid metabolism in *Hermetia illucens* (L. 1758): on the origin of fatty acids in prepupae. *Scientific Reports*, 10, 11916

[13] Gobbi, P., Martínez-Sánchez, A., & Rojo, S. (2013). The effects of larval diet on adult life-history traits of the black soldier fly, *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae). *European Journal of Entomology*, 110(3), 461–468. <http://www.eje.cz/pdfs/110/3/461>

[14] Tomberlin, J. K., & Sheppard, D. C. (2002). Factors influencing mating and oviposition of black soldier flies (Diptera: Stratiomyidae) in a colony. *Journal of Entomological Science*, 37(4), 345–352. <https://doi.org/10.18474/0749-8004-37.4.345>

[15] Newton, G. L., Sheppard, D. C., Watson, D. W., Burtle, G. J., Dove, C. R., Tomberlin, J. K., & Thelen, E. E. (2005). The black soldier fly, *Hermetia illucens*, as a manure management/resource recovery tool. *Conference Proceedings*. <https://www.researchgate.net/publication/237345975>

[16] Nguyen, T. T. X., Tomberlin, J. K., & Vanlaerhoven, S. (2013). Influence of resources on *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae) larval development. *Journal of Medical Entomology*, 50(4), 898-906. <https://doi.org/10.1603/ME12260>

[17] Amrul, N. F., Kabir Ahmad, I., Ahmad Basri, N. E., Suja, F., Abdul Jalil, N. A., & Azman, N. A. (2022). A review of organic waste treatment using black soldier fly (*Hermetia illucens*). *Sustainability*, 14(9), 4565. <https://doi.org/10.3390/su14084565>

[18] Erickson, M. C., Islam, M., Sheppard, C., Liao, J., & Doyle, M. P. (2004). Reduction of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* Serovar Enteritidis in chicken manure by larvae of the black soldierfly. *Journal of Food Protection*, 67(4), 685-690. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-67.4.685>

[19] Liu, Q., Tomberlin, J. K., Brady, J. A., Sanford, M. R., & Yu, Z. (2008). Black soldierfly (*Hermetia illucens*) larvae reduce *Escherichia coli* in dairy manure. *Environmental Entomology*, 37(6), 1525-1530. <https://doi.org/10.1603/0046-225X-37.6.1525>

[20] International Platform of Insects for Food and Feed (IPIFF). (2024). *Insects as feed – EU legislation –*

[21] Mana Impact. (2021, 12 maggio). *A primer on the Black Soldier Fly Market in Asia*. <https://www.manaimpact.com/post/a-primer-on-the-black-soldier-fly-market-in-asia>

[22] <https://encrypted-tbn0.gstatic.com/images?q=tbn:ANd9GcR2TKyvpGL7FtiW-XO8X5PTMmHILuezdIIwUQ&s>

[23]. Simpson, W.S and Crawshaw, G.H. Wool: Science and technology; CRC press, Woodhead publishing Ltd, Cambridge, England, 2002.

- [24]. MacLaren, J. A.; Milligan, B. Wool science. The chemical reactivity of the wool fibre; Science Press, Marrickville, Australia, 1981.
- [25]. Vasconcelos, A.; Cavaco-Paulo, A. The Use of Keratin in Biomedical Applications. *Curr. Drug. Targets*. 2013, 14(5), 612-619.
- [26]. Zoccola, M.; Aluigi, A.; Patrucco, A.; Tonin, C. Extraction, processing and applications of wool keratin. In *Keratin Structure, Properties and Applications*; Dullaart, R.; Mousquès, J.; Nova science publishers, NewYork, USA, 2012.
- [27]. Lewis, D. M.; Rippon, J. A. The coloration of wool and other keratin fibres; John Wiley & Sons Inc.: Hoboken, NJ, 2013.
- [28] Bhavsar, P. S. (2018). *Studies in Green Hydrolysis of Waste Wool* (Doctoral dissertation). Gheorghe Asachi Technical University of Iasi, Romania.
- [29] Clementi, C. (2018). *Coloranti organici naturali*. Dipartimento di Chimica, Biologia e Biotecnologie, Università di Perugia. Recuperato da https://www.dccb.unipg.it/images/DOCS/4_Catia_Clementi_PLS_2018_docenti_compressed.pdf
- [30] ABC Fotografia. (s.d.). *La luce e la percezione del colore*. Recuperato da <https://www.abc-fotografia.it/la-luce-e-la-percezione-del-colore/>
- [31] Bishal, A., Ali, K. A., Ghosh, S., Parua, P., Bandyopadhyay, B., Mondal, S., Jana, M., Datta, A., Das, K. K., & Debnath, B. (2023). *Natural dyes: Its Origin, Categories and Application on Textile Fabrics in brief*. *European Chemical Bulletin*, 12(8), 9780-9802. DOI: 10.48047/ecb/2023.12.8.804.
- [32] Shahmoradi Ghaheh, Fatemeh & Kamali moghaddam, Meghdad & Tehrani, Majid. (2021). Comparison of the effect of metal mordants and bio-mordants on the colorimetric and antibacterial properties of natural dyes on cotton fabric. *Coloration Technology*. 2021;00:1–10. DOI: 10.1111/cote.12569
- [33] Prabhu, K. H., & Bhute, A. S. (2012). Plant based natural dyes and mordants: A review. *Journal of Natural Product and Plant Resources*, 2(6), 649–664.
- [34] Dulo, B., De Somer, T., Phan, K., Roosen, M., Githaiga, J., Raes, K., & De Meester, S. (2022). Evaluating the potential of natural dyes from nutshell wastes: Sustainable colouration and functional finishing of wool fabric. *Sustainable Materials and Technologies*, 34, e00518. <https://doi.org/10.1016/j.susmat.2022.e00518>
- [35] Periyasamy, Aravin Prince. "Natural Dyeing of Cellulose Fibers Using Syzygium Cumini Fruit Extracts and a Bio-Mordant: A Step Toward Sustainable Dyeing." *Sustainable Materials and Technologies*, vol. 33, 2022, e00472, <https://doi.org/10.1016/j.susmat.2022.e00472>.
- [36] Bhavsar, P. S., Dalla Fontana, G., & Zoccola, M. (2021). *Sustainable Superheated Water Hydrolysis of Black Soldier Fly Exuviae for Chitin Extraction and Use of the Obtained*

Chitosan in the Textile Field. ACS Omega, **6**(12), 8548–8561.
<https://doi.org/10.1021/acsomega.0c06040>

[37] Gupta, S. (2024). *A review study on sustainable dyes and their usage in the fashion industry.* International Journal of Research and Analytical Reviews (IJRAR), 11(2).
<https://www.ijrar.org/>

[38] Amar Equipment. (n.d.). *High Pressure Reactors & Systems.* Amar Equipment Pvt. Ltd. Retrieved from https://issuu.com/amarequipments/docs/high_pressure_reactors_systems

[39] Ghanbari, E., Picken, S.J. & van Esch, J.H. Analysis of differential scanning calorimetry (DSC): determining the transition temperatures, and enthalpy and heat capacity changes in multicomponent systems by analytical model fitting. *J Therm Anal Calorim* 148, 12393–12409 (2023). <https://doi.org/10.1007/s10973-023-12356-1>

[40] Sophie Mayer, Marwa Tallawi, Ilenia De Luca, Anna Calarco, Nikita Reinhardt, Luciano Avila Gray, Klaus Drechsler, Arash Moeini, Natalie Germann, Antimicrobial and physicochemical characterization of 2,3-dialdehyde cellulose-based wound dressings systems, *Carbohydrate Polymers*, Volume 272, 2021, 118506, <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118506>.

[41] Smets, R., Verbinnen, B., Van De Voorde, I., Aerts, G., Claes, J., & Van DerBorgh, M. (2020). Sequential extraction and characterisation of lipids, proteins, and chitin from black soldierfly (*Hermetia illucens*) larvae, prepupae, and pupae. *Waste and Biomass Valorization*, 11(12), 6455–6466. <https://doi.org/10.1007/s12649-019-00924-2>

[42] Queiroz, L. S., Regnard, M., Jessen, F., Mohammadifar, M. A., Sloth, J. J., Petersen, H. O., Ajallouei, F., Brouzes, C. M. C., Fraihi, W., & Fallquist, H. (2021). *Physico-chemical and colloidal properties of protein extracted from black soldierfly (Hermetia illucens) larvae.* International Journal of Biological Macromolecules, 186, 714–723.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.07.081>

[43] Tinti, A., Tugnoli, V., Bonora, S., & Francioso, O. (2015). *Recent applications of vibrational mid-infrared (IR) spectroscopy for studying soil components: A review.* Journal of Central European Agriculture, DOI: 10.5513/JCEA01/16.1.1535

[44] Liang, P.; Wang, H.; Chen, C.; Ge, F.; Liu, D.; Li, S.; Han, B.; Xiong, X.; Zhao, S. The Use of Fourier Transform Infrared Spectroscopy for Quantification of Adulteration in Virgin Walnut Oil. *J. Spectrosc.* 2013, 2013, 305604. (44) <https://doi.org/10.1155/2013/305604>

[45] Wang, C., Qian, L., Wang, W., Wang, T., Deng, Z., Yang, F., Xiong, J., & Feng, W. (2017). *Exploring the potential of lipids from black soldier fly: New paradigm for biodiesel production (I).* *Renewable Energy*. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2017.04.063>

[46] Matthäus, B., Piofczyk, T., Katz, H., & Pudiel, F. (2018). Renewable resources from insects: Exploitation, properties, and refining of fat obtained by cold-pressing from *Hermetia*

illucens (black soldier fly) larvae. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 121.
<https://doi.org/10.1002/ejlt.201800376>

[47] Lewis, David. (2008). The Dyeing of Wool with Reactive Dyes. *Journal of the Society of Dyers and Colourists*. 98. 165 - 175. DOI:10.1111/j.1478-4408.1982.tb03631.x.

[48] Bechtold, T., & Mussak, R. (2009). *Handbook of Natural Colorants*. John Wiley & Sons

[49] University of New England. (2012). *WOOL 482/582: Wool dyeing—principles and techniques* (T.14). Woolwise. <https://www.woolwise.com/wp-content/uploads/2017/07/WOOL-482-582-12-T-14.pdf>

[50] Xu, Zhi-cheng & Zheng, Dong-qin & Ai, Bao-Quan & Hu, Bambi & Zhong, Wei-Rong. (2015). Transport diffusion in one dimensional molecular systems: Power law and validity of Fick's law. *AIP Advances*. 5. 107145. 10.1063/1.4935186.

[51] Jin-Tao Guo, Ya-Qian Wei, Sheng-Li Chen, Wei Sun, Ting-Ting Fan, Ming-Ri Xu, Chang-Cheng Zhang, Measurement of pore diffusion factor of porous solid materials, *Petroleum Science*, Volume 19, Issue 4, 2022, Pages 1897-1904, ISSN 1995-8226, <https://doi.org/10.1016/j.petsci.2022.04.008>.

[52] Fogel'son, R.L. & Likhachev, E.R.. (2000). Temperature dependence of diffusion coefficient. *Physics of Metals and Metallography*. 90. 58-61.

[53] Parag Bhavsar, Giulia Dalla Fontana, Claudio Tonin, Alessia Patrucco, Marina Zoccola, Superheated water hydrolyses of waste silkworm pupae protein hydrolysate: A novel application for natural dyeing of silk fabric, *Dyes and Pigments*, Volume 183, 2020, 108678, ISSN 0143-7208, <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2020.108678>.

[54] Chiuvention. (n.d.). *Interpretation of the standard for colour fastness to washing: ISO 105-C06:2010*. Recuperato il 15 giugno 2025, da <https://chiuvention.com/it/blog/interpretation-of-the-standard-for-colour-fastness-to-washing%EF%BC%9Aiso105-c062010>

[55] ISO 105-X12:2016 – Colour fastness to rubbing – Textiles — Tests for colour **fastness** — Part X12 [online]. Darong Tester (pubblicazione approssimativa 2023?). [citato 15 giu 2025]. Disponibile su: <https://it.darongtester.com/iso-105-x12-colorfastness-to-rubbing/>

[56] Leica Microsystems. Leica DM LSP & DM LP: System Microscopes for Polarisation Techniques in Transmitted and Incident Light. Leica Microsystems Wetzlar GmbH.

[57] Ushakova, Nina & Dontsov, Alexandr & Sakina, Natalia & Brodsky, E. & Ratnikova, I. & Gavrilova, N. & Bastrakov, A. & Kozlova, A. & Nekrasov, Roman. (2017). Melanin properties at the different stages towards life cycle of the fly *Hermetia illucens*. *Ukrainian Journal of Ecology*. 7. 424-431. 10.15421/2017_137.

[58] El Hosry, L.; Elias, V.; Chamoun, V.; Halawi, M.; Cayot, P.; Nehme, A.; Bou-Maroun, E. Maillard Reaction: Mechanism, Influencing Parameters, Advantages, Disadvantages, and

Food Industrial Applications: A Review. *Foods* 2025, 14, 1881. <https://doi.org/10.3390/foods14111881>

[59] Sadannavar MK, Periyasamy A, Islam SR, Shafiq F, Dong X, Zhao T. Natural Dyeing and Antimicrobial Functionalization of Wool Fabrics Dyed with Chinese Dragon Fruit Extract to Enhance Sustainable Textiles. *Sustainability*. 2024; 16(16):6832. <https://doi.org/10.3390/su16166832>

[60] Thermo Fisher Scientific. (2024). Introduction to Fourier Transform Infrared Spectroscopy. Thermo Fisher Scientific. <https://www.thermofisher.com/us/en/home/industrial/spectroscopy-elemental-isotope-analysis/molecular-spectroscopy/fourier-transform-infrared-ftir-spectroscopy.html> [Accessed 26 January 2025]

[61] Kamneva, A. A., & Tugarova, A. V. (2023). Specificities of the Fourier Transform Infrared Spectroscopic Methodology and Interpretation of Spectroscopic Data in Microbiological Analyses. *Journal of Analytical Chemistry*, 78(10), 1320-1332. <https://doi.org/10.1134/S1061934823100106>

[62] Kassem, A., Abbas, L., Coutinho, O., Opara, S., Najaf, H., Kasperek, D., Pokhrel, K., Li, X., & Tiquia-Arashiro, S. (2023). Applications of Fourier Transform-Infrared spectroscopy in microbial cell biology and environmental microbiology: Advances, challenges, and future perspectives. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1304081. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1304081>

[63] Nandiyanto, A. B. D., Oktiani, R., & Ragadhita, R. (2019). *How to read and interpret FTIR spectroscopy of organic material*. *Indonesian Journal of Science and Technology*, 4(1), 97–118. <https://doi.org/10.17509/ijost.v4i1.15806>

[64] PerkinElmer, Inc. (2005). FT-IR Spectroscopy: Attenuated Total Reflectance (ATR) [Nota tecnica]. PerkinElmer Life and Analytical Sciences.

[65] PerkinElmer. (2010-2015). A beginner's guide to thermogravimetric analysis (TGA): Frequently asked questions. PerkinElmer, Inc. <https://www.perkinelmer.com/> [Accessed 03 February 2025]

[66] Stagnaro, P., Luciano, G., & Utzeri, R. La calorimetria differenziale a scansione e l'analisi termogravimetrica nella caratterizzazione termica dei materiali polimerici [Dispesa accademica]. ISMAC-CNR.

[67] Mettler-Toledo AG. (2007). TGA/DSC 1 STARe System: Brochure.

[68] Klančnik, G., Medved, J., & Mrvar, P. (2010). Differential thermal analysis (DTA) and differential scanning calorimetry (DSC) as a method of material investigation. *RMZ – Materials and Geoenvironment*, 57(1), 127–142. [31] Parker, M. J. Differential scanning calorimetry. In *Test Methods for Physical Properties*. Elsevier. PII: B0080429939000747

[69] Parker, M. J. Differential scanning calorimetry. In *Test Methods for Physical Properties*. Elsevier. PII: B0080429939000747

[70] Ghanbari, E., Picken, S. J., & van Esch, J. H. (2023). Analysis of differential scanning calorimetry (DSC): Determining the transition temperatures, and enthalpy and heat capacity changes in multicomponent systems by analytical model fitting. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 148(5), 12393–12409. <https://doi.org/10.1007/s10973-023-12356-1>

[71] Egerton, R. F. (2005). *Physical Principles of Electron Microscopy: An Introduction to TEM, SEM, and AEM*. Springer Science+Business Media.

[72] Ali, Ali S. "Application of Nanomaterials in Environmental Improvement." *Nanotechnology and the Environment*, IntechOpen, Mar. 2020, <https://doi.org/10.5772/intechopen.91438>

[73] Datacolor Inc. *Ahiba IR User's Guide*. Part No. 71-990225, Datacolor Inc., 2010.

[74] *Datacolor 650/600/400 User's Guide*. Rev. 1, Part No. 4230-0395M, Datacolor, 2007

[75] Wang, M.; Wang, X.; Guo, C.; Zhao, T.; Li, W. A Feasible Method Applied to One-Bath Process of Wool/Acrylic Blended Fabrics with Novel Heterocyclic Reactive Dyes and Application Properties of Dyed Textiles. *Polymers* 2020, 12(2), 285. <https://doi.org/10.3390/polym12020285>

A. Appendice -Descrizione delle metodologie di analisi utilizzate

A.1. Spettrometro a Infrarossi con Trasformata di Fourier (FT-IR)

La spettroscopia a infrarossi con trasformata di Fourier (FT-IR) è una tecnica analitica che sfrutta il processo di interazione tra la radiazione infrarossa e le molecole presenti nel campione per ottenere informazioni relative alle specie chimiche presenti. Nell'esatto momento in cui il fascio di radiazione infrarossa attraversa il materiale, specifiche frequenze della radiazione vengono assorbite alle lunghezze d'onda corrispondenti delle vibrazioni tipiche dei legami chimici. Per l'effetto del fenomeno descritto si ottiene uno spettro di assorbimento che ci permette di determinare la composizione molecolare e chimica del campione. Questa metodica permette di individuare le specie chimiche presenti nel campione e, grazie all'analisi dei picchi spettrali, sarà peraltro possibile acquisire dati semiquantitativi attinenti alle loro concentrazioni. Inoltre gli spettri acquisiti possono essere confrontati a spettri di riferimento standard. Il punto di partenza del processo analitico della spettroscopia FT-IR, raffigurato in **Figura A.1**, coincide con l'emanazione di radiazione da una sorgente a corpo nero, come ad esempio barre di silicio riscaldate, che con continuità ed uniformità generano un'emissione capace di propagarsi su un ampio intervallo di lunghezze d'onda. Questa radiazione viene controllata e regolata grazie ad un interferometro che divide il fascio in due componenti, riflessi e successivamente ricombinati, capaci di generare un interferogramma ossia un segnale che esprime compiutamente l'intensità della radiazione che dipenderà dalla variabile posizione di uno specchio mobile [60].

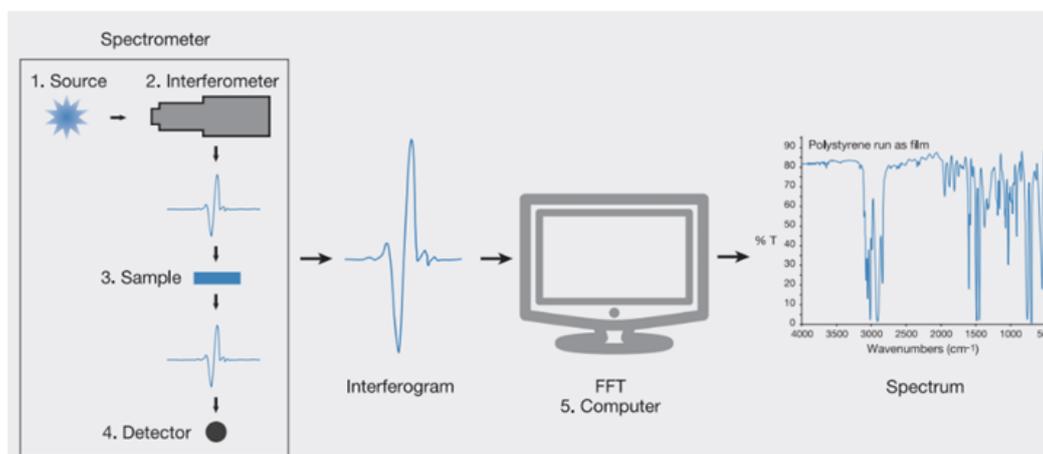


Figura A.1: Schema di funzionamento di uno spettrometro FT-IR

Quando l'interferogramma penetra il campione, le molecole presenti assorbono in modo mirato le frequenze a seconda della loro struttura chimica. Il segnale risultante viene registrato da un sensore e poi convertito in uno spettro utilizzando la trasformata di Fourier (FT). Da ultimo, il raffronto con uno spettro di fondo noto consente di ridurre il rumore di fondo, migliorando di conseguenza l'accuratezza e l'affidabilità del segnale.

La spettroscopia FT-IR utilizza un interferometro per generare l'interferogramma di un segnale, che, attraverso l'applicazione della trasformata di Fourier, viene convertito nello spettro corrispondente. Questo procedimento permette di analizzare simultaneamente tutte le frequenze presenti nel segnale, evitando la necessità di lunghe scansioni sequenziali e

consentendo di acquisire l'intero spettro in pochi secondi [61]. Inoltre, la qualità del segnale migliora grazie alla riduzione del rumore ottenuta sommando più scansioni.

La trasformata di Fourier rappresenta un principio matematico fondamentale che consente di trasformare un segnale definito nel dominio temporale in uno spettro nel dominio delle frequenze. Dal punto di vista matematico, la trasformata di Fourier di un segnale $X(t)$ è espressa dalla formula (A.1). Il modulo del segnale nel dominio delle frequenze, indicato come $A(f)$ o spettrogramma, racchiude informazioni relative a tutte le frequenze contenute nel segnale temporale, rappresentando l'ampiezza delle sinusoidi che lo compongono.

$$A(f) = \int X(t) \exp(-i2\pi t f) dt \quad (\text{A.1})$$

L'interferogramma, acquisito come segnale discreto campionato in N punti, viene convertito tramite la Trasformata di Fourier Discreta (DFT) per passare dal dominio temporale a quello delle frequenze. I coefficienti ottenuti dal procedimento, sono i numeri d'onda e rappresentano le intensità delle vibrazioni molecolari a specifiche frequenze. Tale processo è infatti finalizzato a garantire la nitidezza e leggibilità dello spettro IR che servirà ad una corretta analisi chimica del campione.

$$A(r) = \sum_{k=0}^{N-1} X(k) \exp\left(-i2\pi \frac{k}{N} r\right) \quad (\text{A.2})$$

L'efficienza della trasformata di Fourier è dovuta all'uso di algoritmi avanzati come la Fast Fourier Transform (FFT), che suddivide la trasformata discreta (DFT) in trasformate di dimensioni ridotte, utilizzando le caratteristiche di periodicità e simmetria delle funzioni esponenziali complesse. L'approccio metodologico consente un'elaborazione veloce e accurata, permettendo la sincronica acquisizione di tutti i dati spettrali.

Lo spettro FT-IR ottenuto riporta sull'asse verticale l'assorbimento e sull'asse orizzontale la frequenza espressa in numeri d'onda (cm^{-1}). Siccome i legami molecolari vibrano solo a determinate frequenze, i picchi presenti nello spettro, Figura A.2, corrispondono ai legami presenti nel materiale analizzato. Lo spettro FT-IR copre una vasta gamma di numeri d'onda, che vanno da 14.300 a 20 cm^{-1} , con la maggior parte delle vibrazioni molecolari localizzate nella regione del medio infrarosso ($400\text{--}4.000 \text{ cm}^{-1}$).

All'interno di questo intervallo di valori si possono distinguere più aree di assorbimento, tra le quali la regione dei legami singoli, la regione dei legami tripli, la regione dei legami doppi e infine la regione *fingerprint*. Analizzando le diverse regioni si può notare che la prima ($4000\text{--}2500 \text{ cm}^{-1}$) è caratterizzata da vibrazioni di tipo stretching che coinvolgono gruppi funzionali come O-H (tipici di alcoli e acidi carbossilici), N-H (presenti in ammine e ammidi) e C-H (presenti negli idrocarburi). Nella seconda regione dei legami tripli ($2500\text{--}2000 \text{ cm}^{-1}$), si trovano invece le vibrazioni stretching di legami come $\text{C}\equiv\text{C}$ (alchini) e $\text{C}\equiv\text{N}$ (nitrili). Nella terza regione, ossia quella dei legami doppi ($2000\text{--}1500 \text{ cm}^{-1}$), sono presenti vibrazioni di stretching di legami $\text{C}=\text{C}$ (alcheni), $\text{C}=\text{O}$ (presenti in aldeidi, chetoni, acidi carbossilici, ammidi ed esteri) e vibrazioni di bending (ad esempio N-H) che indicano variazioni negli angoli di legame.

Per ultima, la regione *fingerprint* ($1500\text{--}400 \text{ cm}^{-1}$) si distingue in quanto ci fornisce dettagli molecolari specifici e unici, dovuti alle vibrazioni di bending di legami C-H (tipici degli alcani) e O-H (caratteristici di alcoli e fenoli). Inoltre, sulle frequenze a cui avvengono queste vibrazioni influisce tanto la massa degli atomi coinvolti quanto la rigidità dei legami chimici [62].

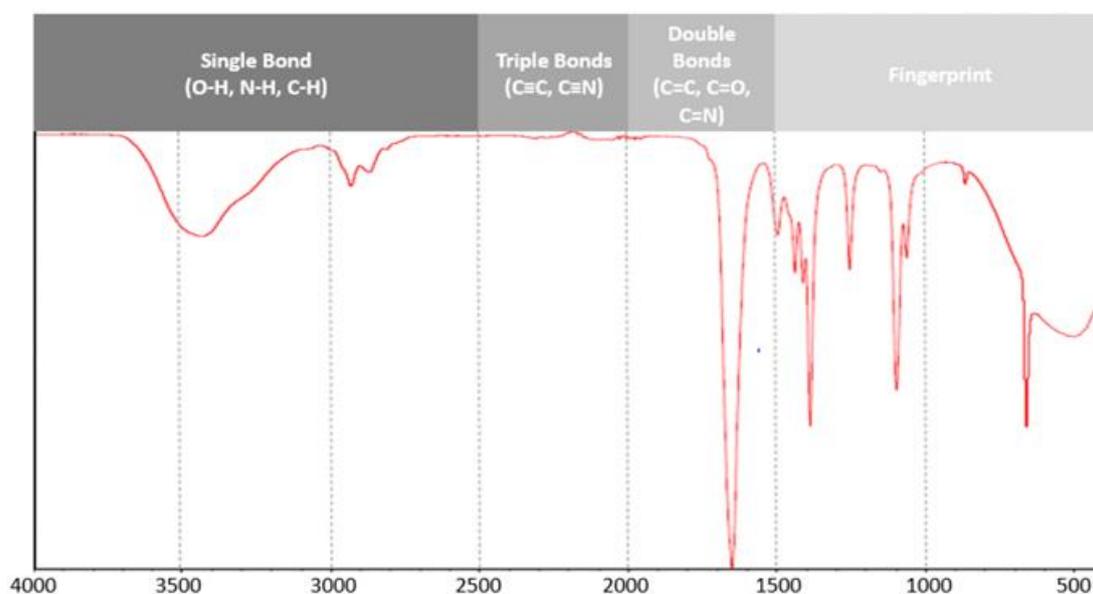


Figura A.2: Assorbimenti nell'infrarosso tipici per vari tipi di legami [63]

L'accuratezza dell'analisi condotta sullo spettro è dovuta alla scrupolosità con cui vengono prese in considerazione, oltre alla posizione dei picchi, anche la loro intensità, dal momento che l'altezza dei picchi è indicativa della quantità relativa del gruppo funzionale presente nel campione. Inoltre, la forma dei picchi fornisce ulteriori informazioni: ad esempio, picchi ampi possono comparire quando gruppi funzionali analoghi, come i carbonili, sono inseriti in diverse strutture chimiche all'interno della stessa molecola, come nel caso di acidi, esteri o aldeidi.

A.1.2. Riflessione Totale Attenuata (ATR)

Tra le modalità di analisi nella spettroscopia FT-IR maggiormente avanzate si annovera la tecnica di Riflessione Totale Attenuata (ATR) che è risultata particolarmente adatta per l'esame di materiali solidi, liquidi o viscosi con una preparazione del campione semplice e rapida.

Il sistema ATR è costituito da una serie di elementi, tra cui il cristallo ATR, realizzato con materiali che si distinguono per un elevato indice di rifrazione. Tra i più comuni troviamo il diamante, noto per la sua elevata resistenza meccanica e chimica; il germanio, che garantisce una penetrazione dell'onda infrarossa più superficiale, ideale per campioni con elevata capacità di assorbimento; lo zinco seleniuro (ZnSe), che è un materiale poco costoso, ma è poco robusto e pertanto risulta adatto per l'analisi di liquidi e paste. Da un punto di vista procedurale, è importante che il cristallo venga accuratamente pulito, prima e dopo ogni misurazione, usando solventi come il metanolo, per evitare contaminazioni che potrebbero compromettere i risultati finali. L'ultima accortezza da tenere affinché il contatto tra il campione e il cristallo risulti ottimale è quella di applicare una pressione adeguata ed uniforme.

Lo spettrometro FT-IR raccoglie i dati e utilizza la trasformata di Fourier per elaborare lo spettro infrarosso.

La misurazione inizia con l'acquisizione di uno spettro di background su cristallo pulito, che verrà sottratto allo spettro del campione. Successivamente, il campione viene posto a diretto

contatto con il cristallo e viene registrato lo spettro FT-IR, che promette di evidenziare le bande di assorbimento caratteristiche dovute alle vibrazioni molecolari del materiale.

Il principio fisico che sta alla base dell'ATR si basa sull'idea che la radiazione infrarossa venga diretta verso la superficie interna del cristallo con un angolo maggiore rispetto all'angolo critico. Questo provoca una riflessione interna totale. In questo modo, la luce infrarossa rimbalza ripetutamente all'interno del cristallo, creando un'onda evanescente che si estende leggermente oltre la superficie, penetrando nel campione per alcune decine di micrometri. Durante questo processo, il campione assorbe energia a specifiche lunghezze d'onda che corrispondono alle sue vibrazioni molecolari caratteristiche. L'energia che non viene assorbita viene riflessa e raccolta dal rilevatore, il quale elabora lo spettro infrarosso che rappresenta le proprietà chimiche del campione. I vantaggi offerti dalla seguente metodologia sono la semplice e poco invasiva preparazione del campione che al contempo garantisce riscontri affidabili e precisi per il contatto diretto campione e cristallo. Inoltre, l'ATR è estremamente versatile, in quanto continua a mantenere i suoi standard di affidabilità anche quando l'analisi sia condotta su un quantitativo molto esiguo di sostanza. A ciò va aggiunto che le tempistiche dell'analisi sono molto brevi in quanto di solito in pochi minuti si può ottenere un risultato attendibile [64].

A.2. Analizzatore Termogravimetrico (TGA)

L'analisi termogravimetrica, o TGA, è una tecnica analitica utile per valutare come cambia la massa di un campione in relazione alla temperatura e al tempo. Nella pratica, si inserisce il campione in una fornace che è programmata per riscaldare il materiale in modo graduale. Il risultato di questa analisi è un termogramma, ossia una curva che ci permette di vedere eventi quali l'evaporazione di solventi, la decomposizione termica, l'ossidazione e altre trasformazioni chimiche del campione.

L'elemento principale di un sistema TGA è la microbilancia ad alta sensibilità, capace di rilevare oscillazioni di peso anche di pochi microgrammi. Inoltre è presente una fornace dove il campione è posizionato in un crogiolo realizzato con materiali resistenti alle alte temperature, come l'allumina utilizzata in questa ricerca. Durante l'analisi, un gas di purga, di solito azoto o aria, scorre costantemente nel sistema per creare l'atmosfera adatta all'analisi e prevenire contaminazioni o reazioni indesiderate. Le termobalance possono avere configurazioni differenti. Nel presente lavoro di tesi, è stato utilizzato un modello di termobilancia a geometria orizzontale con una bilancia a guida parallela, che posiziona il campione in orizzontale. Questa configurazione è particolarmente vantaggiosa perché riduce le turbolenze convettive all'interno della fornace, garantendo una distribuzione del calore più uniforme e, di conseguenza, una maggiore accuratezza e precisione nelle misurazioni [65].

Il termogramma ottenuto indica come cambia la massa di un campione in relazione alla temperatura e al tempo. Fenomeni come la perdita di umidità, la decomposizione termica o le reazioni di ossidazione si manifestano come cambiamenti nella pendenza nella curva TGA. Analizzando queste curve, risulta possibile determinare parametri chiave come la temperatura di inizio degradazione (T_{onset}). Inoltre, possiamo identificare le temperature in cui si verifica la perdita del 10% ($T_{10\%}$) e del 50% ($T_{50\%}$) della massa iniziale [66].

Per ottenere un'analisi maggiormente esaustiva, spesso si utilizza la derivata della curva termogravimetrica (DTG), che mette in evidenza le variazioni di massa del campione. Da questa derivata, sarà possibile individuare punti significativi quali la temperatura di inizio perdita di peso (T_{onset}), che segna l'inizio di una degradazione significativa, e la temperatura di picco (T_{peak}), che corrisponde al massimo tasso di decomposizione, visibile come un minimo nella curva DTG. Questi parametri sono essenziali per caratterizzare i materiali. Per garantire

risultati affidabili, è fondamentale effettuare una pulizia regolare del forno e dei crogioli, riscaldandoli a temperature elevate, cioè fino a 900 °C, per eliminare ogni residuo organico. È anche necessaria una calibrazione periodica dello strumento per mantenerne la precisione. La preparazione del campione è un altro aspetto cruciale: il peso ideale di solito varia tra 5 e 20 mg per garantire una distribuzione uniforme del calore e una buona sensibilità.

Tuttavia, per campioni proteici, si usano quantità inferiori di campione, che si arrestano intorno a 1 mg, per ottenere risultati più precisi. Il materiale deve essere disposto uniformemente sul fondo del crogiolo per massimizzare il contatto con il gas di purga, che in questo caso è stato azoto.

Una volta caricato il crogiolo contenente il campione sulla bilancia termogravimetrica all'interno della fornace, si avvia il flusso del gas regolando la portata volumetrica. Prima dell'avvio dell'analisi, attraverso il software di controllo si imposta il programma termico, definendo l'intervallo di temperatura e la velocità di riscaldamento [67].

A.3. Calorimetro a Scansione Differenziale (DSC)

Il calorimetro a scansione differenziale (DSC) è uno strumento di analisi termica, utilizzato per valutare le proprietà termiche dei materiali misurando le variazioni di energia che avvengono durante il riscaldamento o il raffreddamento.

Il funzionamento della DSC si basa sul confronto simultaneo del flusso di calore tra un campione e un materiale di riferimento chimicamente inerte, entrambi sistemati in crogioli speciali all'interno dello strumento. Sia il campione che il riferimento seguono un programma termico controllato, con riscaldamenti o raffreddamenti a velocità costanti e predefinite.

Durante il test, lo strumento registra la differenza di temperatura tra i due elementi, convertendo questa differenza in un segnale proporzionale al flusso di calore scambiato. I risultati vengono presentati come una curva in cui il flusso di calore, misurato in Watt per grammo (W/g), è tracciato in funzione della temperatura e del tempo. Questa rappresentazione permette di individuare e determinare vari fenomeni termici come la fusione, la cristallizzazione, le transizioni vetrose e altre trasformazioni termodinamiche specifiche del materiale analizzato. La cella di misura della DSC è composta da un disco riscaldante in costantana, su cui sono posizionati il campione e il riferimento, posti su zone rialzate per assicurare un contatto termico efficace.

Nella parte inferiore del disco è presente un wafer di chromel, che con la costantana costituisce una termocoppia, responsabile della misurazione precisa delle temperature del campione e del riferimento. L'intero sistema è inserito in un forno a temperatura controllata, che assicura riscaldamenti e raffreddamenti uniformi, oltre a condizioni isoterme stabili. Per migliorare la distribuzione del calore all'interno della camera di analisi, viene utilizzato un gas di trasporto termico che garantisce una circolazione termica omogenea [68].

Questa configurazione è illustrata schematicamente nella **Figura A.4**, che mostra i principali componenti dello strumento e il principio di funzionamento della cella di misura DSC.

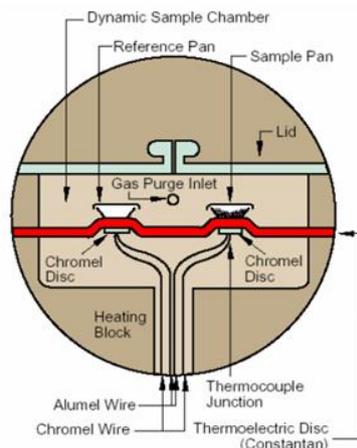


Figura A.4: Schema di una cella DSC a flusso di calore con un sistema di misura a disco

Il calore trasferito è misurato in base alla differenza di temperatura tra il campione e il riferimento e alla resistenza termica del disco RD, come mostrato nella formula (A.3)[69].

$$\frac{dQ}{dt} = \frac{\Delta T}{R_D} \quad (\text{A.3})$$

La curva ottenuta tramite DSC fornisce un quadro dettagliato del comportamento termico dei materiali analizzati. In particolare, è possibile identificare specifiche transizioni termiche osservando i picchi presenti nel grafico. I picchi endotermici, caratterizzati da un incremento positivo di entalpia ($\Delta H > 0$), indicano un assorbimento di calore da parte del campione; tali eventi sono tipici di processi come la fusione, che si realizza alla temperatura di fusione (T_m) e comporta la rottura delle strutture cristalline presenti nel materiale. Al contrario, i picchi esotermici, con variazione di entalpia negativa ($\Delta H < 0$), segnalano un rilascio di calore, tipico di fenomeni come la cristallizzazione, che si verifica alla temperatura di cristallizzazione (T_c).

Analizzando con maggiore attenzione i singoli picchi, è possibile distinguere tre punti cardine: l'Onset, che coincide con l'inizio della deviazione dalla linea di base e rappresenta il punto in cui la transizione termica ha inizio; il Peak, ovvero il massimo del picco, corrispondente al momento di massima velocità del processo di transizione; e l'Endset, che indica la fine del fenomeno, con il ritorno della curva alla linea di base [70].

L'area sottesa al picco è direttamente proporzionale al cambiamento di entalpia associato al processo, ossia alla quantità di energia termica assorbita o ceduta dal sistema durante la trasformazione, sotto condizioni di pressione costante.

Attraverso l'analisi DSC è inoltre possibile determinare ulteriori parametri significativi per il materiale in esame, come il grado di cristallinità (X_c). Questo si calcola confrontando l'entalpia di fusione misurata (ΔH_m) con quella teorica di un cristallo perfetto (ΔH_m^0), utilizzando una formula specifica che consente di quantificare la frazione cristallina presente nel campione.

$$X_c = \frac{\Delta H_m}{\Delta H_m^0} \quad (\text{A.4})$$

Inoltre, attraverso tale approccio metodologico è determinabile la capacità termica specifica (C_p) del materiale, ossia un parametro che indica la quantità di calore necessaria per aumentare di un grado Celsius la temperatura di un grammo di sostanza, mantenendo la pressione costante. Questo valore è fondamentale per comprendere il comportamento termico del campione durante il riscaldamento o il raffreddamento.

La capacità termica specifica può essere calcolata misurando la differenza di flusso di calore tra il campione e la linea di base (ΔQ), considerando la velocità di riscaldamento applicata (R) e la massa del campione (m). Il calcolo si basa sulla seguente relazione:

$$C_p = \frac{\Delta Q}{R \cdot m} \quad (\text{A.5})$$

dove ΔQ rappresenta il segnale di flusso di calore corretto, R è la velocità con cui la temperatura viene aumentata durante l'analisi e m è la massa del campione analizzato.

L'assenza di transizioni termiche in un certo intervallo di temperatura è un chiaro segno della stabilità termica del materiale che stiamo analizzando. Tuttavia, interpretare i dati DSC può diventare complicato a causa della presenza di artefatti, ovvero segnali falsi o distorsioni che possono compromettere la precisione delle misurazioni.

Questi artefatti possono derivare da diverse fonti: ad esempio, problemi strumentali come vibrazioni o movimenti del crogiolo possono generare segnali indesiderati, mentre interferenze ad alta frequenza possono sovrapporsi al segnale reale. Inoltre, se il campione e il riferimento non sono allineati correttamente, possono verificarsi asimmetrie nel segnale. Anche un trasferimento di calore non uniforme tra il forno, il crogiolo e il campione può portare ad errori nei risultati.

Per ridurre al minimo questi problemi, gli strumenti moderni sono spesso dotati di sensori di riferimento che aiutano a correggere le deviazioni del segnale, migliorando così la precisione delle misurazioni. È anche fondamentale calibrare regolarmente lo strumento per eliminare errori sistematici. Infine, scegliere materiali ad alta conducibilità termica per i crogioli contribuisce a ridurre l'impatto delle resistenze termiche non uniformi, garantendo una trasmissione del calore più efficiente e dati più affidabili [68].

A.4. Microscopio elettronico a scansione (SEM)

A.4.1. Principio

La microscopia elettronica a scansione (SEM) si inserisce tra le tecniche analitiche più avanzate e ci permette di esplorare la morfologia della superficie dei materiali solidi con un livello di dettaglio molto elevato, grazie a un fascio di elettroni ben focalizzato. Questa metodologia ci offre immagini ad alta risoluzione, capaci di rilevare caratteristiche morfologiche anche a livello nanometrico. Entrando nei dettagli, il SEM utilizza un fascio di elettroni primari, generato da una sorgente elettronica e accelerato attraverso un campo elettrico. Questo fascio è concentrato in un punto molto piccolo, chiamato "probe", e viene fatto scorrere sulla superficie del campione grazie a un sistema di bobine magnetiche di scansione, che controllano il movimento con grande precisione. Quando il fascio di elettroni interagisce con il campione, si generano diversi tipi di segnali, ognuno dei quali fornisce informazioni specifiche sulla composizione e sulla struttura superficiale del materiale. In particolare, si producono elettroni retro-diffusi (BackscatteredElectrons, BSE), che derivano da collisioni elastiche tra gli elettroni incidenti e i nuclei atomici del campione.

Questi elettroni conservano gran parte della loro energia originale e sono sensibili alla densità atomica locale. Inoltre, vengono emessi elettroni secondari (SecondaryElectrons, SE), che provengono da interazioni anelastiche tra il fascio e gli atomi superficiali, offrendo dettagli

morfologici ad alta risoluzione del campione. Un altro segnale importante è rappresentato dai raggi X caratteristici, generati dalle transizioni elettroniche interne agli atomi del campione, fondamentali per analisi chimiche qualitative e quantitative tramite spettroscopia a dispersione di energia (EDS).

L'insieme dei segnali è captato da speciali rivelatori, elaborato e trasformato in immagini bidimensionali che illustrano la topografia e la composizione superficiale del campione. La qualità e la risoluzione delle immagini dipendono da una parte dalla densità di scansione del fascio elettronico e dall'altra dalla capacità del sistema di mantenere una messa a fuoco stabile ed uniforme nel corso dell'analisi.

Nonostante la sua grande versatilità e la capacità di risoluzione fino alla scala nanometrica, occorre sottolineare che la tecnica SEM presenta importanti limitazioni e per tali ragioni richiede condizioni di operatività specifiche. Ad esempio, il corretto funzionamento del sistema è condizionato ad un ambiente in alto vuoto in modo da evitare la dispersione degli elettroni e garantire la stabilità del fascio.

A questo va sommata la complessità della preparazione dei campioni, specialmente per i materiali non conduttivi, che necessitano di un rivestimento superficiale conduttivo, di solito metallico, per prevenire l'accumulo di carica elettronica durante l'analisi in quanto l'assenza di tale strato protettivo potrebbe compromettere la qualità delle immagini. Ancora, per i campioni biologici, è fondamentale un trattamento di disidratazione preventiva, poiché la presenza di acqua evaporerebbe nel vuoto, alterando la struttura e danneggiando irreparabilmente il campione.

In sintesi, il SEM è uno strumento importante di analisi microscopica avanzata perché capace di fornire dati morfologici e composizionali di alta precisione, anche se richiede una preparazione attenta dei campioni e condizioni sperimentali specifiche [71].

A.4.2. Componenti del Microscopio Elettronico a Scansione (SEM)

Il microscopio elettronico a scansione è composto da diversi componenti integrati che lavorano simultaneamente per consentire un'analisi dettagliata della superficie dei campioni, come mostrato schematicamente in **Figura A.5**. Elemento fondamentale è la sorgente di elettroni, che produce un fascio di elettroni tramite un processo di emissione termoionica. Nella pratica, un filamento di tungsteno viene riscaldato a temperature elevate, di solito intorno ai 2700 Kelvin, facilitando così il rilascio di elettroni per effetto termico. Questi stessi elettroni vengono poi accelerati in direzione del campione grazie a una differenza di potenziale elettrico applicata tra la sorgente e il campione stesso, creando un fascio elettronico ad alta energia.

Una volta generato, il fascio elettronico attraversa la colonna ottica del SEM, ossia una struttura verticale che contiene una serie di lenti elettromagnetiche e bobine di scansione. Le lenti elettromagnetiche concentrano e focalizzano il fascio in un punto molto ridotto, assicurando un'elevata risoluzione spaziale. Le bobine di scansione, invece, permettono di deviare il fascio lungo le coordinate orizzontali e verticali, consentendo così una scansione sistematica della superficie del campione.

Il campione viene posizionato all'interno di una camera, in un ambiente a vuoto elevato, essenziale per il corretto funzionamento dello strumento. Il vuoto è necessario per ridurre drasticamente la presenza di molecole gassose che potrebbero disperdere o deviare il fascio elettronico, compromettendo la qualità dell'immagine e causando fenomeni di ossidazione o danneggiamento del filamento di tungsteno ad alte temperature. Per ottenere questo elevato grado di vuoto, il sistema utilizza una pompa meccanica per creare un pre-vuoto iniziale e una pompa turbomolecolare per raggiungere il vuoto finale più spinto.

Il supporto del campione, noto come stadio, è motorizzato e può essere spostato lungo i tre assi cartesiani (x , y , z). Inoltre, lo stadio può essere orientato con movimenti di rotazione e inclinazione, controllati con precisione tramite un sistema di joystick duale. Questa flessibilità permette di osservare il campione da diverse angolazioni e di eseguire analisi più complete. Per la rilevazione dei segnali generati dall'interazione del fascio con il campione, il SEM è dotato di un sistema di rivelatori specifici. Tra questi, vi sono i rivelatori di elettroni secondari (SE), che raccolgono gli elettroni emessi dagli strati superficiali del campione, fornendo informazioni dettagliate sulla topografia e sulla morfologia superficiale. Inoltre, il microscopio è equipaggiato con rivelatori di elettroni retro-diffusi (BSE), i quali raccolgono elettroni che hanno subito collisioni elastiche con il campione; questi segnali sono utilizzati principalmente per analisi composizionali, poiché la loro intensità varia in funzione del numero atomico degli elementi presenti: gli atomi più pesanti appaiono più luminosi nelle immagini. In definitiva, il sistema di controllo e visualizzazione digitale coordina l'intero processo, facendo in modo che il movimento del fascio elettronico e la formazione dell'immagine in tempo reale avvengano simultaneamente. Tale sistema integra hardware e software che elaborano i segnali ricevuti dai rivelatori e li convertono in immagini bidimensionali ad alta risoluzione, rappresentando fedelmente la struttura superficiale e di composizione del campione [72].

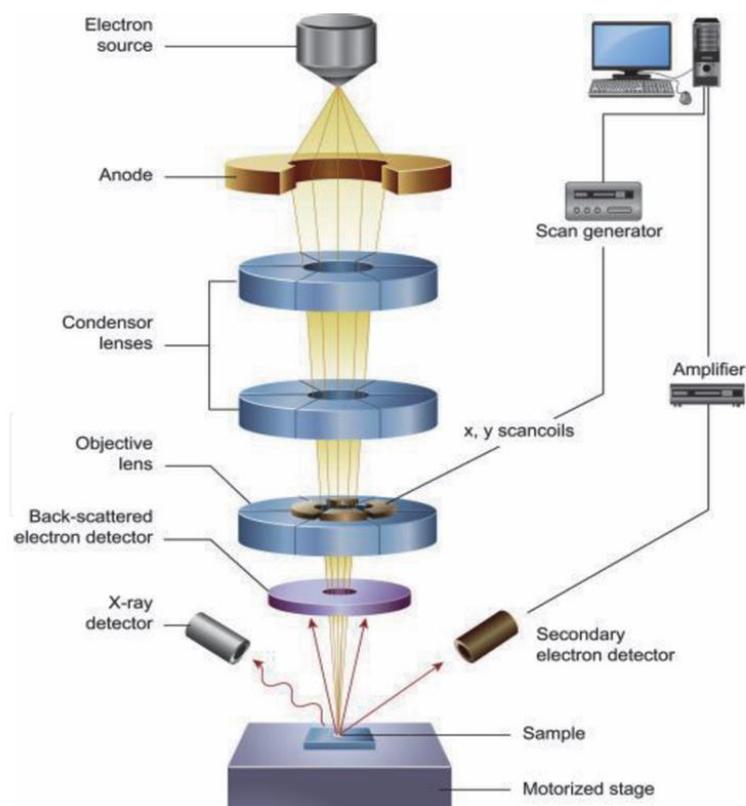


Figura A.5: Colonna SEM [72]

A.5. Microscopio ottico

Il microscopio ottico è un'apparecchiatura in grado di ingrandire le immagini dei campioni impiegando diverse risoluzioni, per mezzo di un sistema di lenti. La rifrazione della luce è il principio di funzionamento alla base del microscopio ottico. Questo tipo di analisi permette di avere una valutazione della parte superficiale e della parte interna di un campione. Una sorgente luminosa, per mezzo di un condensatore, distribuisce la luce in modo omogeneo sul campione in esame. La luce passa attraverso il campione che viene ingrandito da una serie di lenti e può essere osservato tramite gli oculari.

Una lampada alogena è parte integrante dello strumento e permette di avere un'illuminazione uniforme ed un contrasto ottimale. Inoltre il sistema è dotato di un piatto girevole a 360°, con clip di fissaggio che permettono di posizionare i campioni in modo stabile. Il campione è posto su di un vetrino portaoggetto, immerso in una soluzione con indice di rifrazione adatto-glicerina triacetato- e coperto con un vetrino coprioggetto. Infine, è presente un sistema di regolazione della messa a fuoco delle lenti rispetto al campione, al fine di ottenere immagini chiare e mettere in evidenza particolari che risultano sfocati [56].

A.6. Ahiba Nuance Top Speed II

L'Ahiba Nuance Top Speed II è una macchina per tintura in grado di gestire un'ampia gamma di processi. È costituita da un tamburo rotante dove vengono posizionati massimo di 15 becher che contengono il bagno di tintura ed il campione. L'unità utilizza una tecnologia di riscaldamento a infrarossi per riscaldare il bagno di tintura nei becher e un sistema di raffreddamento ad aria. Questo design riduce il consumo energetico, garantendo al contempo il controllo della temperatura e la massima precisione [73].

A.6.1. Funzionamento dello strumento

Per riscaldare il bagno di tintura nei becher vengono utilizzate tre lampade a infrarossi ad alte prestazioni. Le lampade sono montate nella parte superiore dello strumento. Il calore viene trasferito dal becher al liquido del bagno di tintura. Il design dei becher garantisce temperature precise tra i becher. Un becher di riferimento dotato di un sensore di temperatura viene utilizzato per misurare la temperatura del bagno di tintura. La temperatura effettiva viene segnalata al controller tramite un interruttore rotativo. Una ventola ad alta portata (CFM) viene utilizzata per aspirare aria fresca nella camera e raffreddare i becher. L'aria calda viene rilasciata attraverso un canale di scarico. La ventola viene accesa e spenta a seconda delle necessità per regolare la temperatura. Un sistema di sicurezza multiplo di backup monitora la temperatura e protegge l'apparecchiatura e i campioni dal surriscaldamento. La velocità di rotazione del becher può essere variata da 5 a 50 giri/min e il movimento del becher inverte automaticamente la direzione di rotazione ogni minuto, come mostrato in **Figura A.6**. I becher sono montati su un tamburo rotante, la cui velocità può essere variata in base al materiale da trattare. La soluzione colorante viene costantemente agitata mediante rotazione meccanica, il che favorisce una penetrazione uniforme del colorante nelle fibre per ottenere una colorazione uniforme **Figura A.7**. Questa strumentazione ricrea su scala di laboratorio le condizioni dei processi di tintura industriale.



Figura A.6: Camera interna con tamburo rotante dell' Ahiba Nuance Top Speed II [73]

Il tamburo dove vengono posizionati i becher è dotato di un semplice sistema di aggancio meccanico per bloccare i becher in posizione fissa. Prima di fissare i becher al tamburo, è necessario fissare i coperchi utilizzando un cacciavite esagonale fornito con l'unità. **Figura A.8.** Per fissare i coperchi, è importante assicurarsi che il coperchio e la flangia del becher presentino una tenuta liscia e uniforme. Successivamente si posizionano correttamente i becher sulla ruota. I becher devono essere distribuiti uniformemente sulla ruota per evitare di sovraccaricare una sezione della ruota. È fondamentale che tutti i becher abbiano lo stesso volume di liquido.

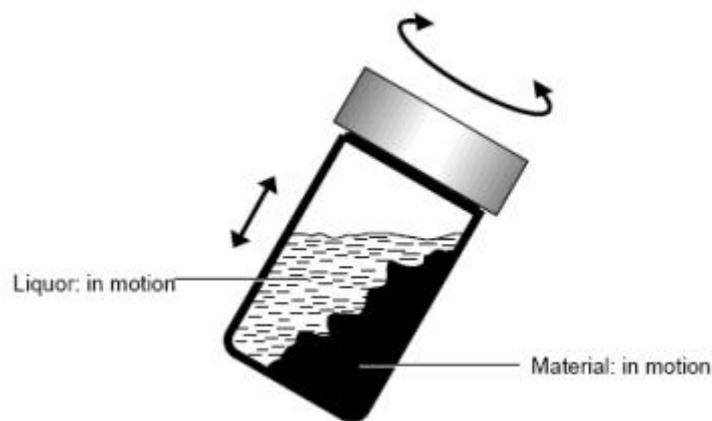


Figura A.7: Meccanismo di rotazione del becher nell' Ahiba Nuance Top Speed II [73]

Tutti i becher devono essere rimossi e puliti dopo ogni ciclo di tintura. Nella maggior parte dei casi, la pulizia con acqua dopo ogni ciclo di tintura dovrebbe essere sufficiente. Tuttavia,

se il colorante è ancora presente, è necessario eseguire una pulizia chimica per rimuovere i residui dal becher.

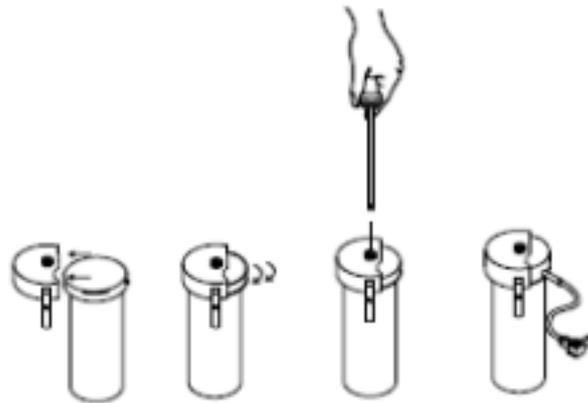


Figura A.8: Chiusura dei becher con cacciavite esagonale [73]

La macchina consente cicli termici programmabili in cui parametri di processo come temperatura, tempo, agitazione e raffreddamento sono gestiti automaticamente da un sistema di controllo digitale. La macchina è gestita tramite un controller digitale con un'interfaccia grafica che consente all'utente di definire e monitorare complessi profili termici multistadio. Ogni fase, comprese le rampe di riscaldamento, le fasi di temperatura costante e le fasi di raffreddamento, può essere configurata con parametri indipendenti. Durante l'intero processo, vengono visualizzati i dati in tempo reale come la temperatura registrata, il tempo rimanente e lo stadio del processo. I grafici che mostrano l'andamento della temperatura nel tempo forniscono una chiara panoramica del ciclo, consentendo tempestive regolazioni se queste sono necessarie. Il sistema di riscaldamento a infrarossi è costituito da lampade alogene posizionate dietro superfici riflettenti. Queste lampade riscaldano i contenitori indirizzando l'energia termica verso di essi. Questo approccio senza contatto elimina la necessità di fluidi termovettori, il che non solo migliora la pulizia, ma accelera anche il processo di raggiungimento della temperatura desiderata. Il monitoraggio ad alta sensibilità della temperatura in tempo reale è reso possibile dal sensore di temperatura PT-100 integrato, che è anche in grado di correggere automaticamente eventuali deviazioni dal profilo termico specificamente programmato. Il sensore è schermato dagli effetti dell'esposizione chimica ed è costantemente monitorato dal microprocessore situato all'interno del dispositivo. Tra le applicazioni di Ahiba Nuance Top Speed II ci sono la tintura di fibre, filati e tessuti naturali e sintetici; la verifica della solidità del colore durante il lavaggio; la creazione di processi di tintura ottimali e lo studio delle interazioni tra ausiliari chimici e substrati. L'elevato livello di versatilità e controllo presente rende Ahiba Nuance Top Speed II uno strumento fondamentale nel campo della sperimentazione tessile. In questo campo, la capacità di fornire risultati precisi e riproducibili su un numero di campioni non elevato riduce notevolmente la quantità di tempo e denaro necessari per lo sviluppo di un processo tintoriale [73].

A.7. Datacolor Spectroflash SF 600X

La strumentazione Datacolor Spectroflash SF 600X è un dispositivo ad alte prestazioni progettato per la misurazione e l'analisi accurata del colore in diversi settori come tessile, automobilistico, della plastica e delle vernici. Questa strumentazione combina tecnologia avanzata con facilità di utilizzo per garantire una corrispondenza precisa del colore e risultati costanti. È inoltre uno strumento potente e versatile per la misurazione precisa del colore, che offre funzionalità avanzate e prestazioni affidabili per soddisfare i severi requisiti dei settori che richiedono un'analisi accurata del colore.

A.7.1. Principio di funzionamento

La strumentazione Datacolor Spectroflash SF 600X funziona secondo il principio della geometria diffusa/8° (d/8°), che garantisce una misurazione del colore coerente e accurata indipendentemente dalla consistenza della superficie del campione. Fra gli accessori dello strumento ci sono una trappola nera, una piastrina bianca e una piastrina verde. La trappola nera e la piastrina bianca vengono usate per calibrare lo strumento prima di ogni serie di misure, mentre la piastrina verde viene utilizzata per eseguire un test diagnostico opzionale **Figura A.9.**



Figura A.9: Strumenti per la calibrazione del Datacolor Spectroflash SF 600X [74]

Le misurazioni del Datacolor Spectroflash SF 600X avvengono nella gamma di riflettanza spettrale nell'intervallo di lunghezze d'onda visibili, da 360 a 700 nm. Lo strumento è in grado di calcolare il valore colorimetrico del campione utilizzando l'illuminante standard D65 e un angolo di osservazione di 10°. Lo strumento fornisce l'intensità del colore, ovvero il valore K/S, e altri parametri CIELAB di output significativi come L* (luminosità), a* (asse rosso-verde) e b* (asse giallo-blu), basati sull'equazione di Kubelka-Munk (A.6):

$$\frac{K}{S} = \frac{(1-R)^2}{2R} \quad (\text{A.6})$$

dove R è la riflettanza del substrato colorato ottenuto alla massima lunghezza d'onda, K è il coefficiente di assorbimento e S è il coefficiente di scattering. Questi valori sono essenziali per confrontare l'uniformità del colore sui tessuti tinti con la seguente equazione (A.7) [75].

$$\Delta E = \sqrt{(L_2^* - L_1^*) + (a_2^* + a_1^*)^2 + (b_2^* - b_1^*)^2} \quad (\text{A.7})$$

Questa equazione serve per confrontare due colori, riferiti al campione standard e al campione oggetto di studio, andando a valutare la distanza euclidea tra due punti nel sistema CIELAB. Se il valore finale è minore di 1 allora la differenza tra i campioni è impercettibile, compresa tra 1 e 2 è visibile solo ad un osservatore esperto e se maggiore di 2 è chiaramente visibile. Lo strumento include anche un sistema automatico di posizionamento del campione, la calibrazione UV e interfacce con software Datacolor come Tools o Match Textile. Queste funzionalità semplificano l'acquisizione, l'archiviazione e l'analisi dei dati. Inizialmente, l'apparecchiatura deve essere calibrata con una piastrella bianca standard per garantire la precisione dello strumento. Una fase preliminare prevede che i campioni vengono posizionati in modo che siano piatti rispetto all'apertura di misurazione. Si presta attenzione a identificare ed eliminare eventuali irregolarità superficiali del campione o contaminazioni che potrebbero influire sulle misurazioni. Per migliorare l'affidabilità del risultato, Datacolor Spectroflash SF 600X consente di effettuare diverse letture da ciascun campione. Questo strumento è ampiamente utilizzato nei laboratori tessili e nell'industria per la corrispondenza del colore, il controllo qualità e applicazioni di ricerca grazie alla sua elevata riproducibilità e sensibilità spettrale. Nel presente lavoro, lo strumento viene utilizzato per valutare i tessuti di lana tinti in termini di intensità del colore e altri parametri significativi [74].