

**C. NOBILI, D. PALUMBO, M. SIGHICELLI  
L. QUERCIA, P. DI LORENZO, P. DE ROSSI  
A. DEL FIORE, V. TOLAINI, S. CANESE**

Dipartimento Sostenibilità dei sistemi produttivi e territoriali  
Centro Ricerche Casaccia, Roma

**M. FALCONIERI, F. FABBRI**

Dipartimento Fusione e Tecnologie per la Sicurezza Nucleare  
Centro Ricerche Casaccia, Roma

# **SISTEMI INNOVATIVI PER IL MONITORAGGIO DELLA QUALITÀ DEI PRODOTTI NELLA FILIERA ORTOFRUTTICOLA**

RT/2017/28/ENEA



AGENZIA NAZIONALE PER LE NUOVE TECNOLOGIE,  
L'ENERGIA E LO SVILUPPO ECONOMICO SOSTENIBILE

C. NOBILI, D. PALUMBO, M. SIGHICELLI  
L. QUERCIA, P. DI LORENZO, P. DE ROSSI  
A. DEL FIORE, V. TOLAINI, S. CANESE

Dipartimento Sostenibilità dei sistemi produttivi e territoriali  
Centro Ricerche Casaccia, Roma

M. FALCONIERI, F. FABBRI

Dipartimento Fusione e Tecnologie per la Sicurezza Nucleare  
Centro Ricerche Casaccia, Roma

## SISTEMI INNOVATIVI PER IL MONITORAGGIO DELLA QUALITÀ DEI PRODOTTI NELLA FILIERA ORTOFRUTTICOLA

RT/2017/28/ENEA



AGENZIA NAZIONALE PER LE NUOVE TECNOLOGIE,  
L'ENERGIA E LO SVILUPPO ECONOMICO SOSTENIBILE

I rapporti tecnici sono scaricabili in formato pdf dal sito web ENEA alla pagina <http://www.enea.it/it/produzione-scientifica/rapporti-tecnici>

I contenuti tecnico-scientifici dei rapporti tecnici dell'ENEA rispecchiano l'opinione degli autori e non necessariamente quella dell'Agenzia

The technical and scientific contents of these reports express the opinion of the authors but not necessarily the opinion of ENEA.

## **SISTEMI INNOVATIVI PER IL MONITORAGGIO DELLA QUALITÀ DEI PRODOTTI NELLA FILIERA ORTOFRUTTICOLA**

C. Nobili, D. Palumbo, M. Falconieri, M. Sighicelli, F. Fabbri, L. Quercia, P. Di Lorenzo, P. De Rossi  
A. Del Fiore, V. Tolaini, S. Canese

### **Riassunto**

La filiera alimentare è una delle più importanti del 'Made in Italy' ed è un settore nel quale l'impiego di tecnologie innovative potrebbe assicurare una maggiore qualità del prodotto. Tecniche non distruttive, applicabili *in situ*, poco dispendiose e real time come l'analisi attraverso il naso elettronico e la spettroscopia ottica e laser affiancate da metodi chimico-fisici, sono state utilizzate nei laboratori dell'ENEA durante attività di ricerca nell'ambito di progetti Nazionali (bandi INDUSTRIA 2015), al fine di monitorare indici di qualità di matrici ortofrutticole, in vista di una loro possibile applicazione a livello industriale.

Nel presente studio le tecniche sopracitate sono state provate in differenti condizioni operative per determinarne la complementarità consentendo di fornire protocolli integrati e sistemi di immediata applicazione per la filiera alimentare.

**Parole chiave:** metodi non distruttivi, naso elettronico (e-nose), spettroscopia laser ultraveloce, metodi chimico-fisici, qualità alimentare.

### **Abstract**

*The food supply chain, among the most important 'Made in Italy' sectors, would greatly benefit of innovative technologies that in turn could ensure a higher quality of products.*

*Non-destructive, in situ, low cost and real-time techniques such as electronic sensing technologies and optical and laser spectroscopy, coupled with chemical-physical methods, have been adopted and verified at ENEA laboratories within the research activities of National projects (INDUSTRIA 2015 calls), dedicated to monitor the quality indexes of fruit and vegetable matrixes, in view of possible applications at industrial level.*

*Within the studies different operating conditions were tested to determine the complementarity of the above mentioned techniques, allowing the identification of the most effective protocols of immediate interest to the food chain.*

**Key words:** *non-disruptive methods, electronic nose (e-nose), ultrafast laser spectroscopy, chemical-physics methods, food quality.*



# INDICE

Sintesi del Progetto 'Magazzino Viaggiante'	4
1 Introduzione	5
2 Materiali e metodi	6
2.1 Matrice vegetale utilizzata	6
2.2 Analisi dello spazio di testa (naso elettronico)	6
2.3 Misure ottiche (TRRS)	11
2.4 Controllo indici di qualità mediante metodi distruttivi	14
3 Risultati	15
3.1 Caratterizzazione VOC/gas nello spazio di testa	15
3.2 Variabilità dei coefficienti di assorbimento e scattering	18
3.3 Monitoraggio della durezza, del grado zuccherino e dell'acidità totale	20
3.4 Confrontabilità delle metodiche utilizzate	23
4 Conclusioni e prospettive future	29
Appendice I: modello di Patterson	30
5 Bibliografia	32

## **Sintesi del Progetto ‘Magazzino Viaggiante’**

Il Progetto “Nuovo servizio di distribuzione evoluto dedicato al comparto agroalimentare: il ‘magazzino viaggiante’ di merci deperibili”, finanziato nell’ambito del Programma Industria 2015, Bando Nuove Tecnologie per il *Made in Italy*, ha previsto lo sviluppo di un modello logistico attraverso la proposta di tecnologie e servizi per l’integrazione di filiera e l’utilizzo dell’intermodalità.

Tra le attività sperimentali svolte nell’ambito del Progetto alcune hanno riguardato lo sviluppo di un sistema per il monitoraggio della qualità dei prodotti ortofrutticoli immagazzinati e trasportati. A questo scopo sono stati impiegati sia un naso elettronico commerciale utilizzato come riferimento, sia una rete di nodi di sensori (nasi elettronici semplificati) in grado di interagire tra loro e trasmettere le informazioni raccolte nell’atmosfera circostante il prodotto (gas e VOC-composti organici volatili), per mezzo di sistemi *wireless* ad una postazione remota di controllo.

Parallelamente alle misurazioni effettuate con sistemi di tipo naso elettronico, l’evoluzione della qualità del prodotto è stata monitorata anche mediante un protocollo di misura ottico, non distruttivo, basato sulla riflettività diffusa risolta nel tempo (TRRS) con laser al femtosecondo.

Al fine di valutare l’accuratezza e la confrontabilità delle tecniche non distruttive sopracitate, gli indici di maturazione quali la durezza della polpa, il grado zuccherino rifrattometrico e l’acidità totale, sono stati monitorati anche con tecniche chimico-fisiche distruttive di riferimento.

## 1. Introduzione

Nell'ambito del settore agroalimentare il comparto ortofrutticolo costituisce una parte fondamentale della produzione sia in termini di quantità sia di qualità.

Data la crescente globalizzazione dei mercati con il conseguente aumento della competitività, l'innovazione e l'ottimizzazione della filiera si rendono sempre più indispensabili tanto più se si considera che i prodotti ortofrutticoli sono facilmente deperibili e necessitano di un monitoraggio continuo, al fine di determinare l'“istante ottimo di vendita”, cioè il momento opportuno di vendita per massimizzare il ricavo, prima del loro deterioramento.

Il controllo di qualità avviene in tutte le fasi della filiera dalla produzione, all'immagazzinamento, al trasporto, fino alla vendita, grazie al monitoraggio di svariati parametri. A tale proposito, è sempre più di grande interesse esplorare l'applicabilità di tecnologie moderne a costi di produzione e di esercizio ridotti, che possono garantire allo stesso tempo efficacia, facilità d'uso, maneggevolezza, affidabilità ed un monitoraggio *real time*. Tutto ciò è possibile, per esempio, mediante un naso elettronico: uno strumento realizzato per simulare il naso umano costituito da un *array* di sensori semi-selettivi che reagiscono ai composti chimici presenti in uno spazio di testa. Attraverso tale sensoristica avanzata, utile anche in altri ambiti (Wilson e Baietto, 2009), è possibile classificare, in maniera non distruttiva, utilizzando come riferimento un *database* di sostanze note, sostanze sconosciute oppure monitorare l'evoluzione delle sostanze volatili ad esempio durante lo stato di maturazione, il trasporto o la *shelf-life*. I segnali dei sensori che forniscono misure analitiche quantitative ma qualitative, possono essere successivamente analizzati con tecniche di *machine learning*, quali la PCA (*Principal Component Analysis*).

Un ulteriore esempio di tecniche innovative e non distruttive è dato da quelle spettroscopiche. Tra queste sta stando sempre più interesse la misura della riflettività risolta nel tempo (TRRS, *time-resolved reflectance spectroscopy*) con impulsi ultracorti. La TRRS è una tecnica in grado di fornire il coefficiente di assorbimento ed il coefficiente di diffusione del campione in esame ad una certa lunghezza d'onda, tipicamente nel vicino infrarosso. Come verrà esposto nel seguito, questi parametri sono legati rispettivamente alla presenza di specie molecolari che presentano bande di assorbimento alla lunghezza d'onda utilizzata, ed alle disomogeneità strutturali del campione. La TRRS è impiegabile *in situ*, ed essendo non distruttiva, remotizzabile e *non-contact*, è in grado di fornire un ristretto numero di indicatori correlabili con gli indici di qualità tramite metodi statistici.

Nel presente lavoro lo stato di maturazione di pere della varietà Decana è stato monitorato sia mediante le tecniche non distruttive sopracitate sia attraverso la misura di indici di qualità come la durezza, il grado zuccherino e l'acidità totale, in un periodo confrontabile con quello necessario per il trasporto dal produttore al distributore. L'attività sperimentale è stata eseguita a tre differenti temperature per simulare i siti di trasporto e conservazione prima della vendita. I risultati ottenuti indicano come le tecniche utilizzate siano strettamente correlate tra loro, riuscendo a dare indicazioni specifiche e puntuali dello stato di maturazione dei prodotti e siano di notevole aiuto per determinare l'“istante ottimo di vendita”.



## 2 Materiali e metodi

### 2.1 Matricce vegetale utilizzata

Le attività sperimentali sono state condotte su pere varietà Decana provenienti dall'Emilia Romagna, reperite sul mercato locale. Il monitoraggio degli indici di qualità è stato effettuato in un intervallo temporale di 24 giorni a differenti temperature di conservazione del prodotto (5 °C, 10 °C e temperatura ambiente-RT).

### 2.2 Analisi dello spazio di testa (naso elettronico)

L'analisi dello spazio di testa è stata eseguita mediante un naso elettronico, denominato PEN3 prodotto dalla AirSense Analytics, in dotazione del laboratorio USER-SITEC (Figura 1).



Figura 1 - Naso elettronico PEN3.

IL PEN3 è uno strumento munito di una camera di misura dove alloggiavano dieci sensori ad ossido di metallo. Come per tutti i sensori di tipo ad ossidi metallici, i diversi elementi dell'array di sensori lavorano a temperature elevate e la loro sensibilità dipende dal catalizzatore depositato, dal materiale dopante e dalla loro temperatura di utilizzo. Nella Tabella 1 sono riportate le caratteristiche e la complessità del campo ispettivo dell'array di sensori (Gómez *et al.*, 2007), che lascia intuire come lo strumento sia in grado di produrre impronte olfattive articolate.

Tabella 1 - Caratteristiche dell'array dei sensori del PEN3

Sensore	Nome	Descrizione generale	Riferimento
1	W1C	Composti aromatici	Toluene, 10 ppm
2	W5S	Molto sensibile, reattività ad ampio spettro, reagisce ad ossidi di azoto	Biossido di azoto, 1 ppm
3	W3C	Ammoniaca, utilizzato come sensore per composti aromatici	Benzene, 10 ppm
4	W6S	Prevalentemente idrogeno	Idrogeno 0.1 ppm
5	W5C	Alcani, composti aromatici, composti apolari	Propano, 1 ppm
6	W1S	Sensibile al metano, già a 10 ppm. Range ampio, simile al numero 8	Metano, 10 ppm
7	W1W	Reagisce a composti solforati, all' H <sub>2</sub> S già a 0,1ppm. Sensibile a molti terpeni e composti solforati organici, come il limonene e la pirazina	Acido solfidrico, 1 ppm
8	W2S	Rileva gli alcoli, in parte i composti aromatici, ha comunque uno spettro ampio	Ossido di carbonio, 100 ppm
9	W2W	Composti aromatici, composti solforati organici	Acido solfidrico, 1 ppm
10	W3S	Reagisce ad alte concentrazioni, superiori a 100 ppm. Si dimostra selettivo per il CH <sub>4</sub>	Metano, 100 ppm

L'analisi dello spazio di testa, effettuata ogni 40 minuti, è avvenuta per le temperature di 5 °C e 10 °C in due compartimenti di una camera di un volume pari a 4m<sup>3</sup> (MISA), nei quali la frutta da monitorare ha occupato circa l'80% del volume (Figura 2).



Figura 2 - Posizionamento delle pere nella Camera MISA.

Il monitoraggio a RT è stato eseguito con lo stesso intervallo di tempo in contenitori posti nel laboratorio. Lo spazio di testa formato all'interno delle camere è stato aspirato e analizzato dal naso elettronico commerciale PEN3 attraverso un sistema di tubi in teflon e un sistema automatico di *sampling* costituito da elettrovalvole comandate da microprocessore che, in sincronia con il PEN3 attraverso valvole opportune, hanno portato i VOC/gas al naso elettronico (Figura 3).

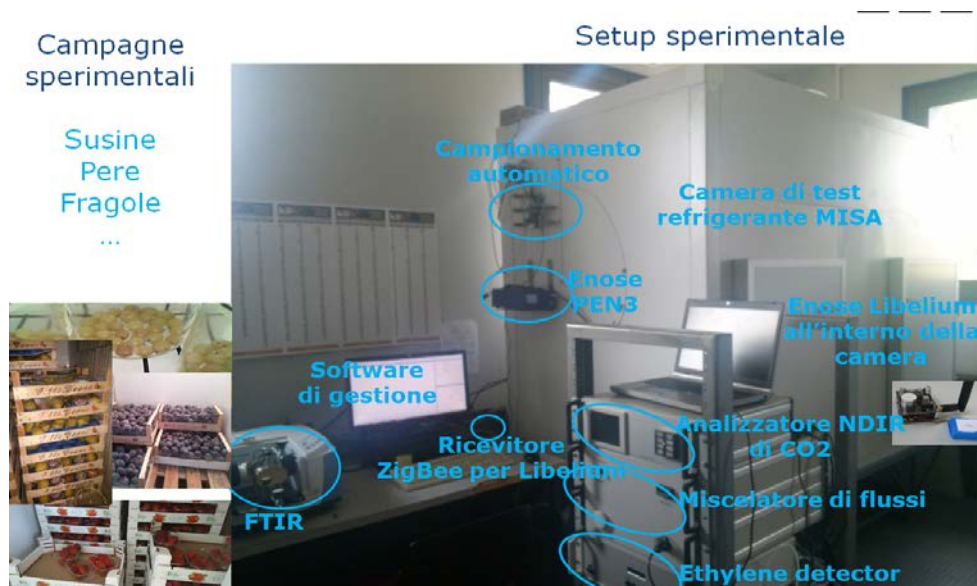
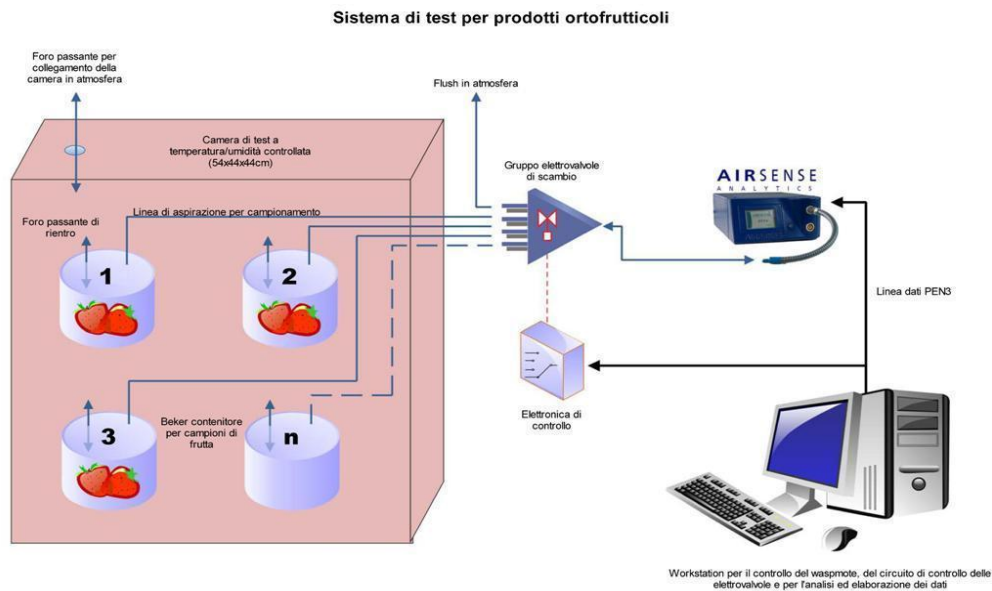


Figura 3 - Configurazione sperimentale.

Il sistema automatico di *sampling* (Figura 4) ha consentito di monitorare lo spazio di testa di vari contenitori contenenti frutta anche a temperature differenti, senza estrarli dalla cella frigorifero oppure di monitorare direttamente l'atmosfera della cella frigorifero.

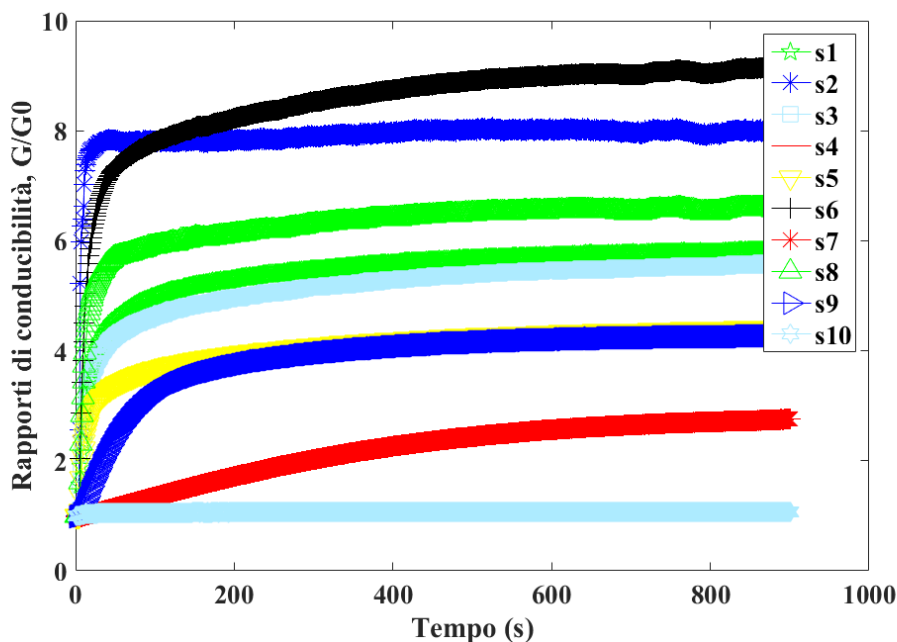


**Figura 4 - Sistema automatico per il *sampling* in cella frigorifero mediante naso elettronico Airsense PEN3 dei diversi campioni di frutta.**

Le misure effettuate con il PEN3 si sono svolte secondo una metodologia determinata sperimentalmente tenendo conto delle variabili che possono influenzare la misura.

Una tecnica di misura adottata è stata quella dello “spazio di testa statico” in cui il campione, chiuso in un contenitore pulito, è stato mantenuto ad una temperatura nota per un certo periodo di tempo in modo da permettere il raggiungimento dell’equilibrio tra i composti volatili emessi dal campione e quelli nella fase vapore. Il volume d’aria statica all’interno del contenitore, inteso anche come l’intera camera refrigerante, è stato prelevato ed analizzato dal PEN3.

A titolo esemplificativo, mostriamo di seguito, un esempio di misura tramite PEN3 di uno spazio di testa di pere conservate a 5 °C per dodici giorni senza apertura della camera di conservazione (Figura 5).



**Figura 5 - Misura con il PEN3 su pere conservate a 5 °C al dodicesimo giorno di sperimentazione.**

Le misure effettuate con l' *autosampler* sono state effettuate, ogni quattro ore, nello stesso spazio di testa. Questo tempo è stato sufficientemente lungo per consentire che spazio di testa si riequilibri, senza perdita di informazione, dopo ogni apertura della camera di misura per prelevare dei campioni di frutta. Ciò ha consentito di seguire l'andamento dello spazio di testa in maniera precisa e accurata.

In corrispondenza delle aperture della camera termostata, occorre tenere presente che lo spazio di testa subisce delle brusche variazioni con cali dei valori dei sensori abbastanza significativi, anche del 50%. Nella Figura 6 è mostrata l'evoluzione dei 10 sensori del naso elettronico PEN3 ogni 4 ore.

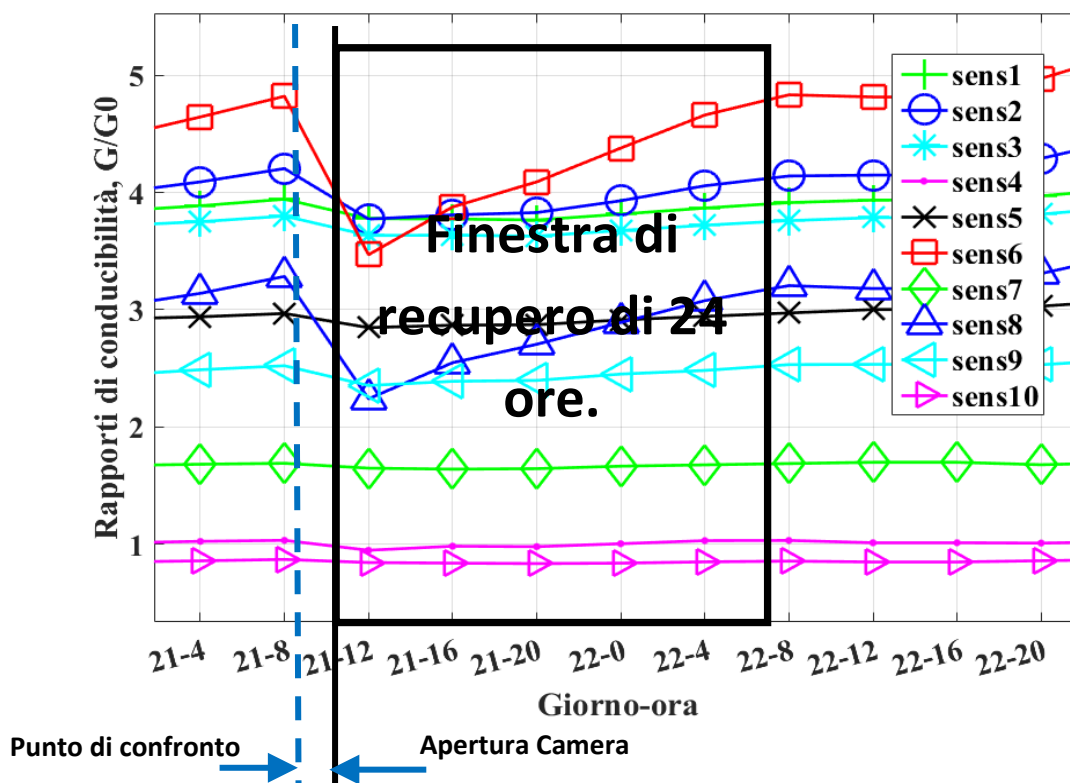


Figura 6 - Finestra di recupero di circa 24 ore dopo le aperture della camera termostata.

La linea nera verticale indica il momento dell'apertura del portellone della camera di misura. Successivamente all'apertura i valori dei sensori scendono per ritornare poi ai valori precedenti all'apertura dopo circa 24 ore. E' intuitivo che la variazione del valore dei sensori dipende da vari fattori, quali il tempo di apertura del portellone e la dimensione del portellone. La Figura 6 è riferita ad un tempo di apertura del portellone di circa 20 secondi. Le variazioni in difetto tra due successive misurazioni di 4 ore, sono quindi indicative di una brusca variazione dello spazio di testa dovuta non ad un cambiamento dello "stato di salute" del prodotto monitorato, ma da condizioni estrinseche al prodotto.

Per ovviare a problemi inerenti l'abbassamento del livello dei VOC/gas nello spazio di testa dovuto all'apertura delle porte, si è provveduto a considerare come valore effettivo di confronto tra le misure del naso elettronico PEN3 e le altre misure, quello che i sensori rilevano immediatamente prima del prelievo dei frutti e durante la notte, se possibile o utile, di modo da normalizzare le condizioni di prelievo come indicato

dalla linea blu tratteggiata verticale. In tal modo sono state eliminate eventuali anomalie dello spazio di testa con conseguente congruenza dell'evoluzione delle misure riferendole esclusivamente all'evoluzione del grado di maturazione o di marcescenza del prodotto trasportato.

Per il confronto con le misure ottenute mediante i metodi ottici e distruttivi sono stati utilizzati i dati forniti dal PEN3 appena prima l'apertura della camera di termostata.

I dati ricavati con il PEN3 relativi alle misure del campione vegetale sono stati mediati, per ogni sensore, per  $k$  campioni (con  $k$  sufficientemente alto, per campioni appartenenti alla zona di saturazione delle misure) ottenendo un singolo punto rappresentativo del sensore per ogni giorno alla stessa ora (Figura 7).

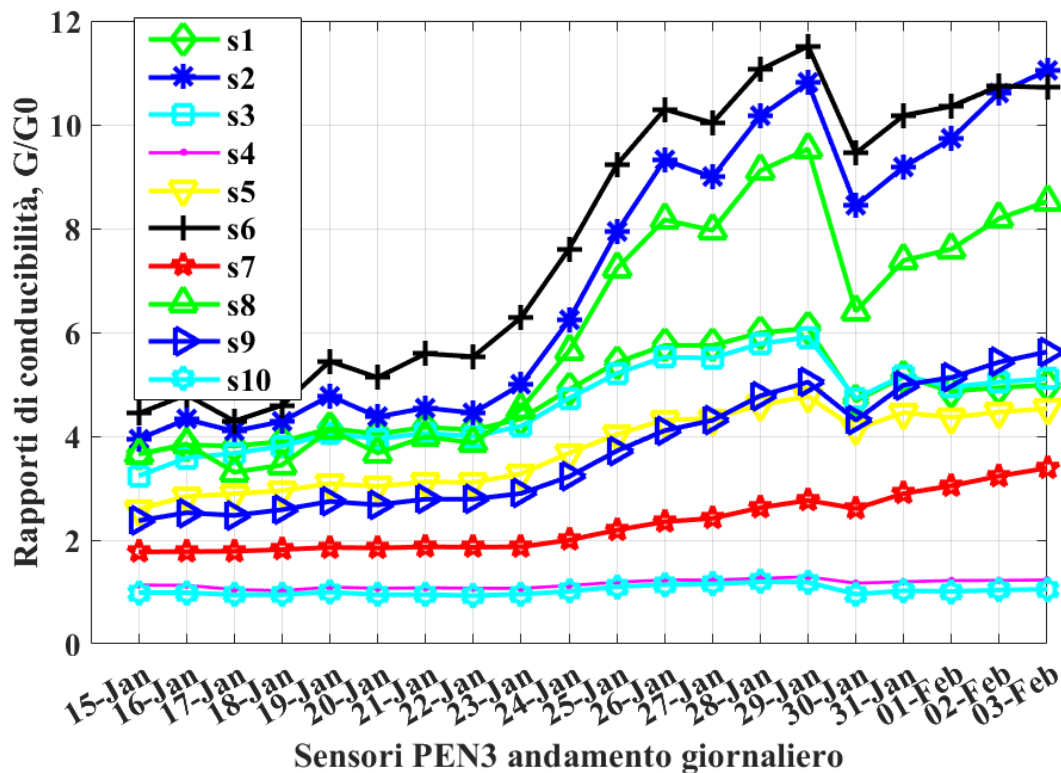


Figura 7 - Andamento giornaliero dei segnali dei sensori del PEN3. Sull'asse delle ascisse vi sono i giorni (una misura per un giorno alla stessa ora).

Per evidenziare le correlazioni tra le variabili stesse e gli *scores*, i dati ottenuti con le diverse metodiche, sono stati mostrati in grafici denominati *biplot*, che permettono di evidenziare contemporaneamente sia la PCA sia le variabili che determinano la PCA. I *biplot* mostrano in  $n$  dimensioni (con  $n$ , per comodità visiva pari a 3 o a 2) gli *scores* dei dati analizzati a cui viene sovrapposto il grafico delle variabili: più una variabile è vicina agli *scores* più questa variabile li influenza, inoltre più due variabili sono vicine più queste sono correlate. Variabili con coefficiente di correlazione pari a 1 sono sovrapponibili con valore del parametro  $p$  tendente a zero.

I valori dei sensori del PEN3 possono essere complessivamente mediati per ottenere un unico valore da confrontare con quelli delle altre variabili delle misure ottiche e distruttive.

### 2.3 Misure ottiche (TRRS)

Molti materiali biologici e in particolare i frutti sono schematizzabili come sistemi in cui la propagazione della luce subisce importanti fenomeni diffusivi dovuti alle disomogeneità strutturali (strutture interne, fibre, strutture cellulari, ecc.) oltre a fenomeni di assorbimento molecolari. L'insieme dei fenomeni di diffusione e di assorbimento determina la propagazione dei raggi luminosi all'interno del campione, ovvero il cammino dei fotoni, e quindi il volume del campione analizzato. La TRRS (*time-resolved reflectivity spectroscopy*, spettroscopia di riflettività risolta temporalmente) si basa sul fatto che i fotoni contenuti in un impulso luminoso, viaggiando all'interno del materiale biologico percorrono traiettorie diverse a causa degli eventi di diffusione ed eventualmente scompaiono a causa dell'assorbimento ottico. Quindi, utilizzando impulsi ultracorti, si riesce ad osservare che l'impulso retroriflesso è in generale ritardato, allungato e attenuato rispetto a quello incidente, e dall'analisi della sua forma, con un opportuno modello, si possono ottenere i valori dei coefficienti di diffusione e di assorbimento del campione in esame. La possibilità di ottenere entrambi questi parametri è una caratteristica essenziale della riflettività risolta nel tempo che la differenzia dalle tecniche "in continua" in cui i due parametri sono correlati intrinsecamente. Le prime applicazioni della TRRS allo studio di tessuti biologici datano alla fine degli anni '80, e, come ad esempio riportato in (Patterson *et al.*, 1989), erano focalizzate essenzialmente a studi *in vivo* della circolazione sanguigna o di masse tumorali. In seguito la tecnica è stata applicata alla diagnostica di difetti interni alle pere (Eccher Zerbini *et al.* 2002) e successivamente, ad opera del gruppo di ricerca del Politecnico di Milano, ad altri frutti (Torricelli *et al.* 2008), mostrando interessanti correlazioni fra i parametri misurati otticamente e le condizioni di maturazione dei frutti investigati.

Nella presente sperimentazione, mediante la misura della riflettività risolta nel tempo si sono determinati due parametri, il coefficiente di assorbimento e il coefficiente di diffusione dei campioni, alla lunghezza d'onda di 780 nm situata nel vicino infrarosso. La perdita dell'informazione spettrale inficia la possibilità di misurare con accuratezza il coefficiente di assorbimento dei composti molecolari presenti nel campione in esame e quindi di quantificarne la presenza. Viceversa, per quanto riguarda il coefficiente di diffusione, la dipendenza spettrale non è particolarmente significativa e l'utilizzo di una singola lunghezza d'onda risulta ugualmente efficace. Essendo il coefficiente di diffusione associato alla struttura interna del frutto, la sua misura dovrebbe essere sufficiente a caratterizzare i fenomeni di maturazione e degrado dovuti alla conservazione prolungata. D'altronde la lunghezza d'onda selezionata è situata nella finestra di maggiore trasparenza dei sistemi biologici, e quindi permette di sondare efficacemente l'interno del frutto in esame.

Lo schema dell'apparato sperimentale per le misure di riflettività risolta nel tempo è mostrato in Figura 8.



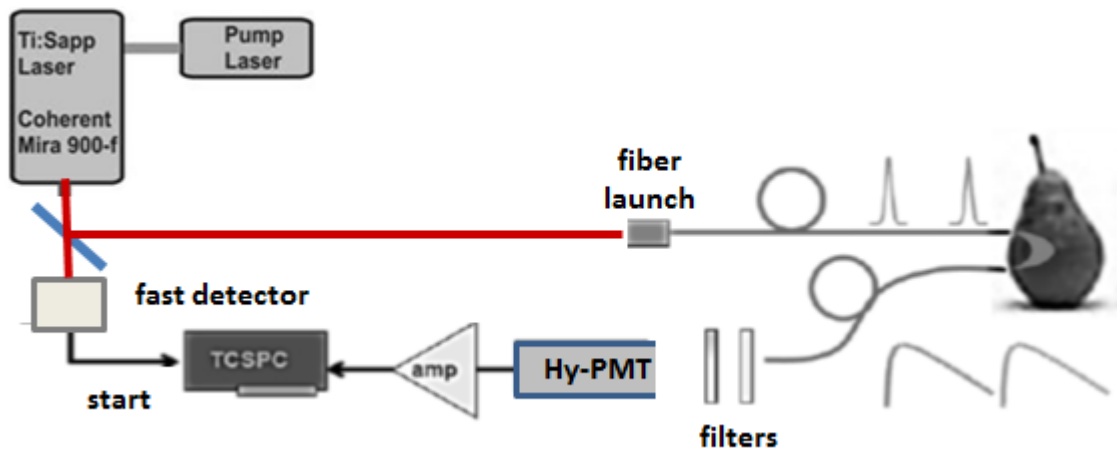


Figura 8 - Schema a blocchi dell'apparato per la misura della riflettività diffusa risolta nel tempo (TRRS).

Il sistema è costituito da una sorgente di impulsi ultracorti (laser MIRA 900F prodotto dalla Coherent) accoppiata ad una fibra ottica che permette di inviare gli impulsi luminosi al campione in esame, da una fibra di raccolta che invia la radiazione riflessa ad un rivelatore veloce (fotomoltiplicatore ibrido Hamamatsu R10467-U), e dall'elettronica che permette di misurare l'impulso riflesso e salvare i dati. Dato che la larghezza degli impulsi retroriflessi è di pochi nanosecondi, per la loro misurazione occorre una elettronica speciale, che si basa sulla tecnica *time-correlated single-photon counting*, TCSPC, il cui funzionamento di principio è mostrato in Figura 9.

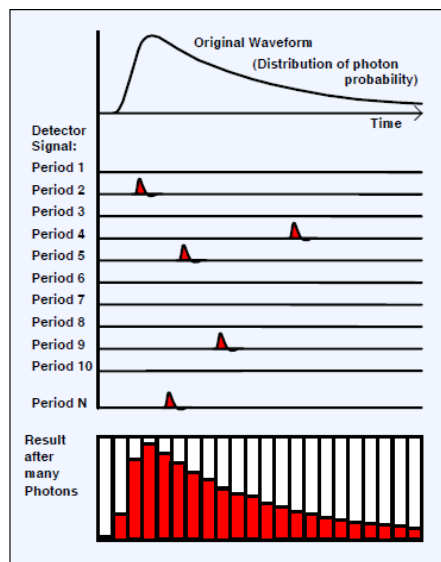
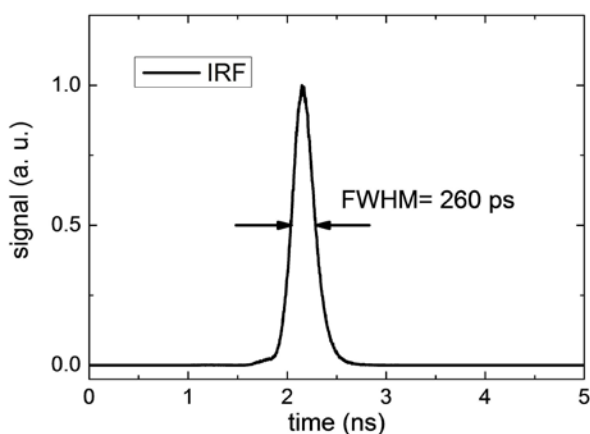


Figura 9 - Principio di funzionamento della tecnica TCSPC (da "The bh TCSPC Handbook"). Ad ogni ciclo di emissione del laser si misura il tempo di arrivo del primo fotone riflesso e si costruisce l'istogramma dei tempi di arrivo; questo istogramma sotto determinate condizioni ricostruisce la forma dell'impulso misurato.

Questa metodologia di misura si basa sulla rivelazione di singoli fotoni e su un approccio statistico di ricostruzione della forma dell'impulso, ovvero sul fatto che nel limite di molti eventi l'istogramma della distribuzione temporale dei fotoni rivelati riproduce la distribuzione dell'intensità dell'impulso. Le

necessarie funzioni sono realizzate tramite una scheda PCI speciale (Edinburgh SPC900) che essenzialmente funziona come un cronometro: ad ogni impulso del laser il cronometro viene fatto partire con un apposito trigger e viene fermato quando viene rivelato il primo fotone dal detector connesso alla fibra che raccoglie la retroriflessione. All'impulso laser successivo il ciclo si ripete, e utilizzando un laser ad alta frequenza di ripetizione (nel nostro caso 76 MHz), in pochi secondi si ha un numero di eventi tale da soddisfare i requisiti statistici per il funzionamento della tecnica. Le due fibre necessarie, una per il lancio dell'impulso nel campione e l'altra per la raccolta dell'impulso retroriflesso sono poste a contatto della superficie del campione ad una distanza pari a 2 cm; questa distanza corrisponde circa alla profondità sondata nel campione (Patterson *et al.*, 1989). Per poter valutare, in sede di analisi dei dati sperimentali, l'allungamento dell'impulso in seguito alla sua propagazione e retroriflessione nel campione in esame, è necessario conoscere la forma dell'impulso prima dell'interazione con il campione, ovvero misurare la cosiddetta risposta strumentale del sistema (IRF, *instrumental response function*). Mostriamo una IRF tipica in Figura 10.



**Figura 10 - Funzione di risposta strumentale dell'apparato per la misura della TRRS, con evidenziata la larghezza a metà altezza dell'impulso.**

Le misure dei campioni sono state eseguite alle temperature di 5 °C, 10 °C e RT, a diversi giorni in concomitanza con i prelievi effettuati per le analisi distruttive e in modo da minimizzare l'alterazione dell'atmosfera nella cella. Per ogni temperatura di conservazione sono stati analizzati tre campioni.

La stima dei parametri ottici a partire dalle misure di TRRS segue il modello sviluppato da Patterson (Patterson *et al.*, 1989; Appendice I).

Gli spettri di riflettanza diffusa sono stati acquisiti a distanza di due o tre giorni l'uno dall'altro, fino ad uno stato di maturazione del frutto tale da rendere la misura non attendibile. Ogni singolo campione è stato misurato ponendo le fibre a contatto della superficie del frutto, senza perforarla, ad una distanza di due centimetri tra loro. Per ogni campione sono state ripetute tre misure ruotandolo di circa 120°. Per ogni temperatura di conservazione i dati sono stati acquisiti su tre frutti scelti a caso tra quelli disponibili, ognuno secondo la modalità di acquisizione appena descritta.

Per valutare un valore medio e un'incertezza sulle misure si è proceduto nel seguente modo: in ogni giornata



di misura, ad un tempo  $t$  dal tempo zero, sono stati acquisiti gli spettri di riflettanza diffusa di tre campioni conservati a temperatura  $T$ , con la metodologia sopra descritta. Per ogni temperatura, quindi, sono stati acquisiti un totale di nove spettri. L'algoritmo di *fitting* restituisce per ogni misura i valori dei coefficienti di *scattering* e assorbimento e lo scarto quadratico medio tra il modello e i punti sperimentali ( $c^2$ ). Ad ogni

valore è stato attribuito un peso pari a  $p_i = \frac{1}{\sum_j \frac{1}{x_j^2}}$  ed è stata calcolata la media pesata:  $\mu_{t,T} = \sum_i p_i \mu_i$  per

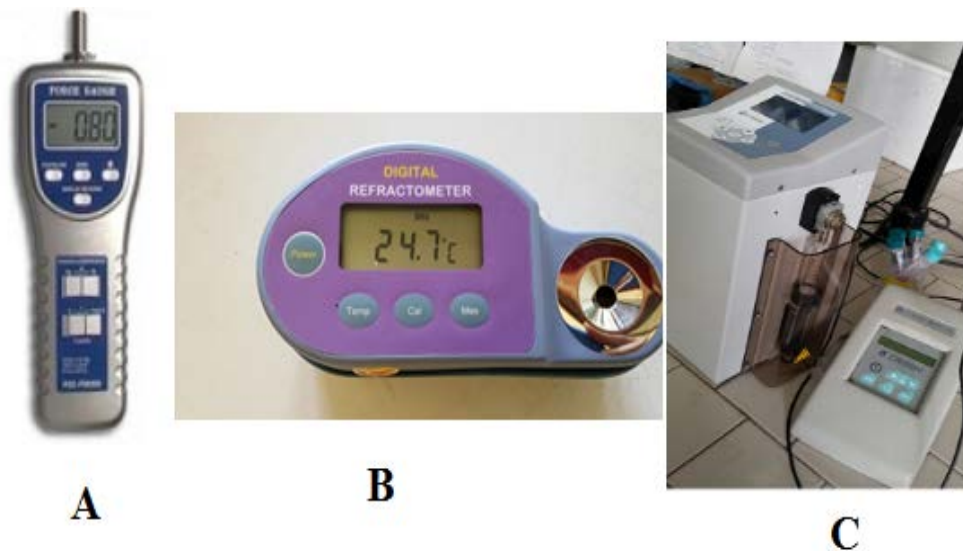
ottenere i coefficienti di assorbimento e *scattering*. L'incertezza sulle misure è stata stimata come la radice quadrata della media pesata degli scarti quadratici dal valore medio:

$$\Delta\mu_{t,T} = \sqrt{\sum_i p_i (\mu_i - \mu)^2}.$$

Sia l'apparato sperimentale per la TRRS sia la procedura per l'analisi dei dati sono stati realizzati interamente nell'ambito del progetto "Magazzino Viaggiante".

## 2.4 Controllo indici di qualità mediante metodi distruttivi

Quali indici di maturazione, si sono considerati la durezza della polpa, il residuo secco rifrattometrico e l'acidità totale, parametri per i quali si osservano cambiamenti più significativi durante la maturazione fisiologica del frutto.



**Figura 11 - Strumenti utilizzati per le analisi distruttive: penetrometro, rifrattometro digitale e titolatore automatico.**

La durezza della polpa, che determina la fermezza della frutta ed è correlata al suo grado di maturità, è stata misurata attraverso l'uso di un penetrometro digitale corredato di una punta da 8 mm, fatta penetrare perpendicolarmente e con forza costante in una porzione di polpa (Figura 11A). La misura è stata ripetuta in due punti diversi di ogni frutto.

Per la determinazione del grado zuccherino e dell'acidità totale, i frutti interi sono stati tritati mediante un omogenizzatore per circa 15 secondi. La polpa è stata poi filtrata mediante delle garze e il filtrato è stato utilizzato per le successive analisi.

Un volume di 2 µl di filtrato è stato posto nella cella di un rifrattometro digitale (Figura 11B) per la determinazione del grado zuccherino espresso come residuo secco rifrattometrico (°Bx).

L'acidità totale del campione è stata determinata attraverso titolazione acido-base con NaOH [0.1N] (riferita all'acido malico) di 200 mL di filtrato diluiti in 15mL di H<sub>2</sub>O distillata fino al viraggio dell'indicatore fenoftaleina (pH= 8.2-8.4) (Figura 11C).

### **3 Risultati**

#### **3.1 Caratterizzazione VOC/gas nello spazio di testa**

Di seguito sono riportate le misure degli spazi di testa alle tre temperature di conservazione. Per le temperature 5 °C e 10 °C (Figure 12 e 13) si individuano tre differenti andamenti: pressoché costante fino al decimo giorno di monitoraggio; un aumento fino al diciassettesimo giorno con un massimo in corrispondenza di quindici giorni di incubazione e un ulteriore aumento fino alla fine della sperimentazione con un massimo in corrispondenza del ventiduesimo giorno.

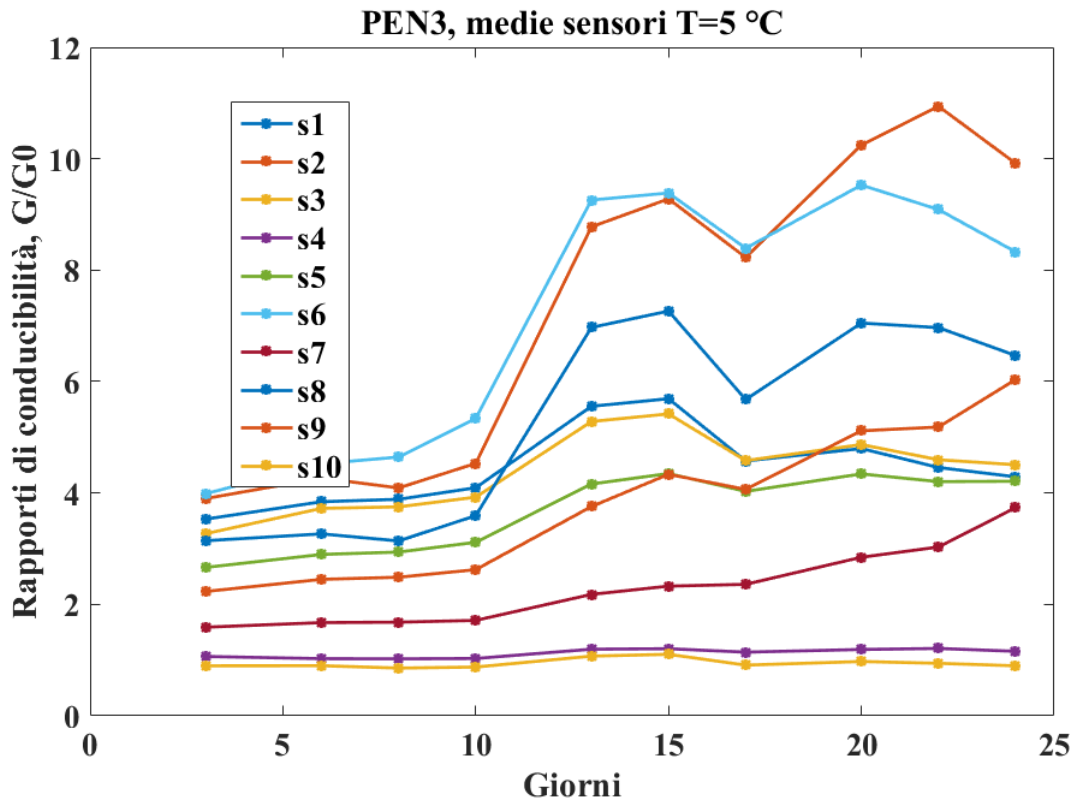


Figura 12 - Andamento dei sensori del PEN3 per i frutti conservati a T=5 °C.

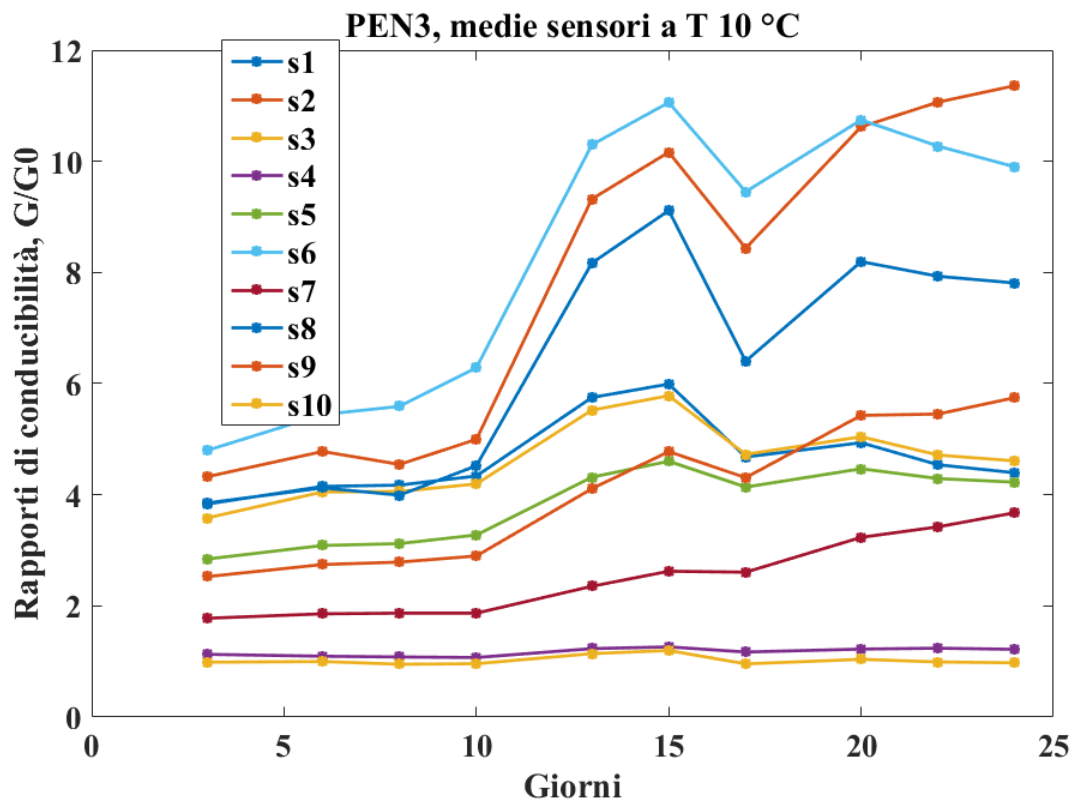


Figura 13 - Andamento dei sensori del PEN3 per i frutti conservati a T=10 °C.

Per RT (Figura 14), i segnali tendono ad aumentare costantemente tranne che per una zona di minimo intorno al diciassettesimo giorno.

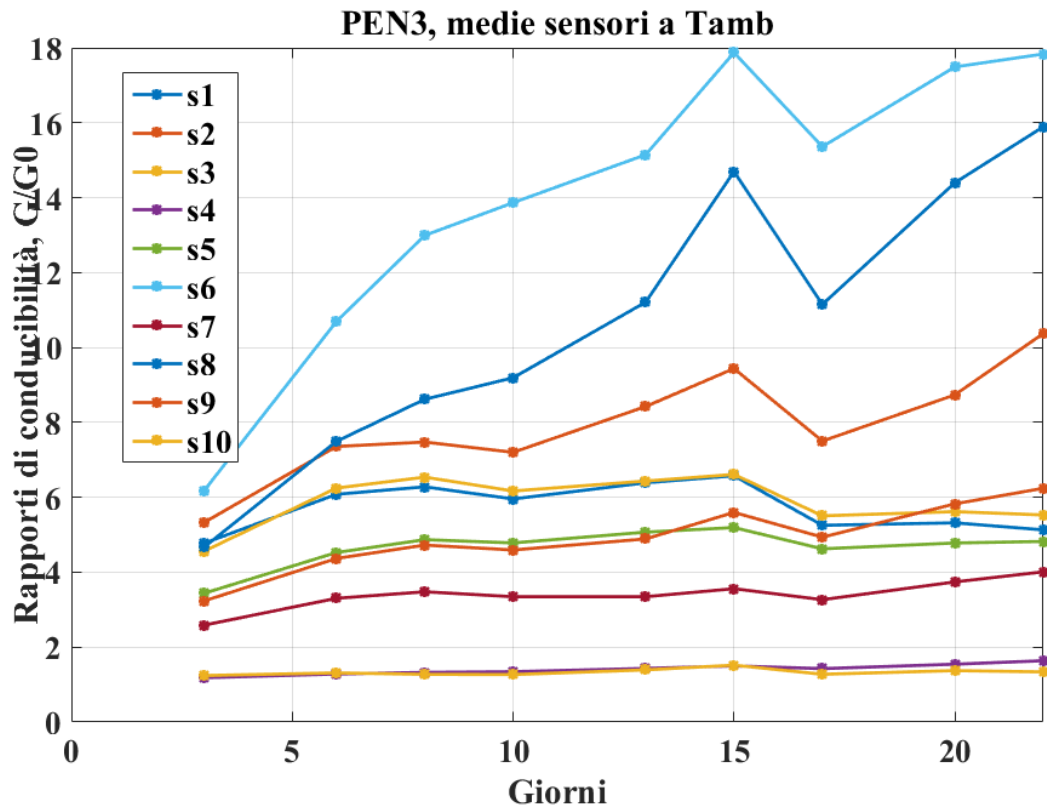
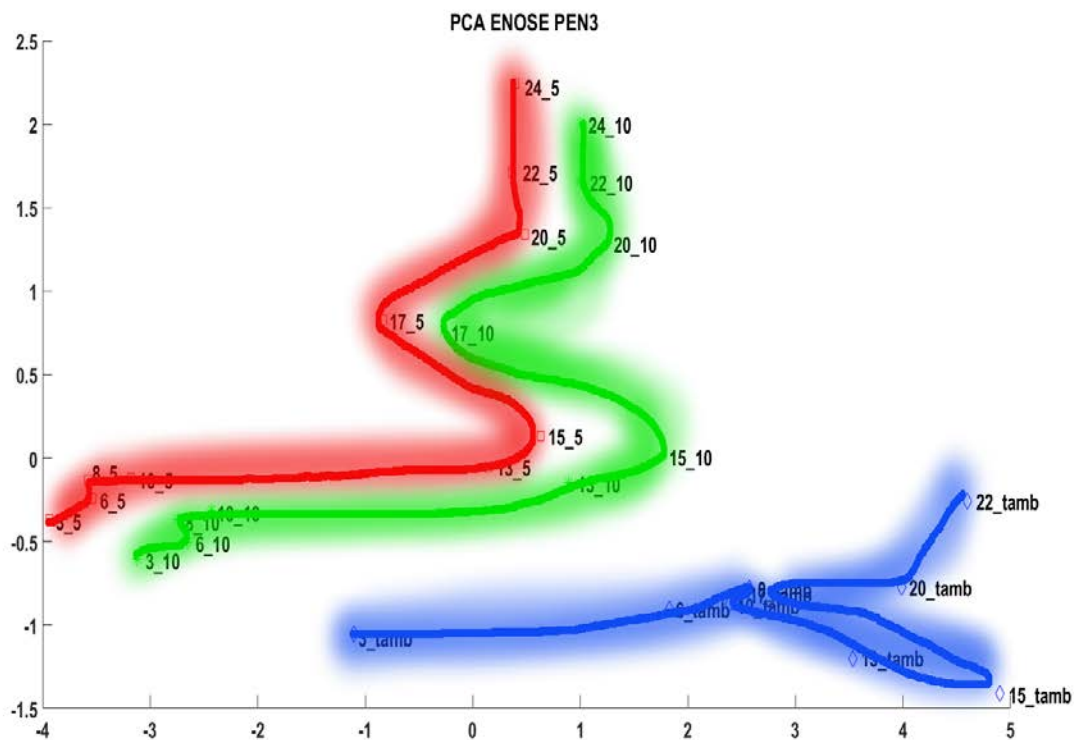


Figura 14 - Andamento dei sensori del PEN3 per i frutti conservati a RT. La sperimentazione, a causa dell'elevata marcescenza della matrice, è stata interrotta al ventiduesimo giorno.

Come si evince dalle figure appena mostrate, i livelli dei segnali aumentano in termini di valore assoluto all'aumentare della temperatura di sperimentazione, sintomo di un maggiore emissione di sostanze odorifere da parte della matrice e inoltre si hanno differenti impronte olfattive per le tre differenti temperature con alcuni sensori che variano più consistentemente di altri. .

La PCA dei dati del PEN3 alle varie temperature è mostrata in Figura 15.



**Figura 15 - PCA delle misure effettuate con il PEN3 alle varie temperature: 5 °C, 10 °C e RT. Sono evidenziati i *cluster* determinati dalle differenti temperature (colorazione artificiale per sola evidenziazione visiva).**

Nella figura i valori si riferiscono al tempo di incubazione e alla temperatura oggetto della sperimentazione. Ad esempio, il valore 24\_5, è indicativo del giorno di incubazione 24 e della temperatura di 5 °C.

Si nota come il PEN3 riesca a determinare dei *cluster* in funzione della temperatura e a separarli completamente. Riesce anche a determinare, nell'ambito dello stesso *cluster*, l'evoluzione temporale della frutta esaminata.

### **3.2 Variabilità dei coefficienti di assorbimento e *scattering***

Di seguito sono riportati gli andamenti dei coefficienti di assorbimento (Figura 16) e dei coefficienti di *scattering* (Figura 17) misurati mediante TRRS.

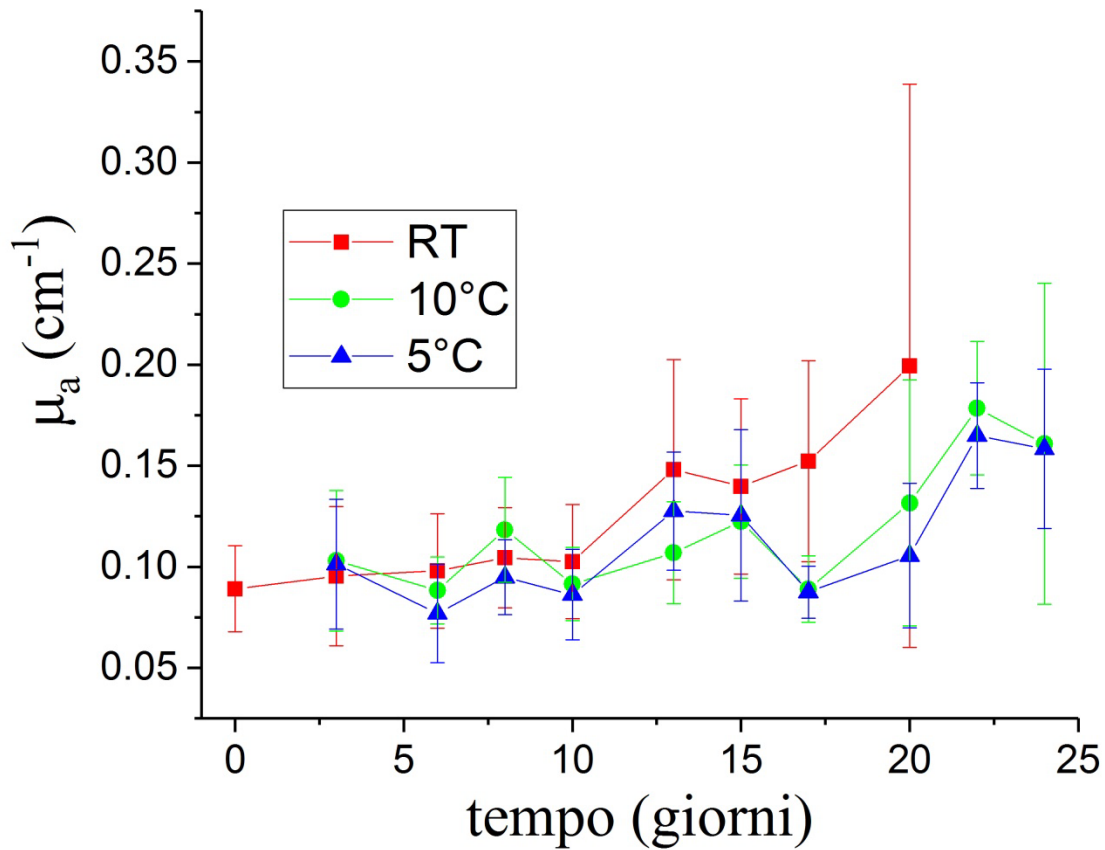


Figura 16 - Coefficienti di assorbimento relativi alle misure eseguite nell'arco temporale della sperimentazione.

Si nota che all'aumentare della temperatura di conservazione dei frutti, il coefficiente di assorbimento tende ad aumentare con il passare del tempo. Questo comportamento può essere ascrivibile all'aumento di una o più specie molecolari in grado di assorbire la radiazione infrarossa a 780 nm utilizzata nell'esperimento; al momento non si è tuttavia in grado di identificare tali sostanze. Inoltre, la barra di incertezza aumenta con la temperatura: la minore dispersione dei dati sui campioni conservati a bassa temperatura è probabilmente dovuta ad una migliore uniformità di maturazione dei campioni.

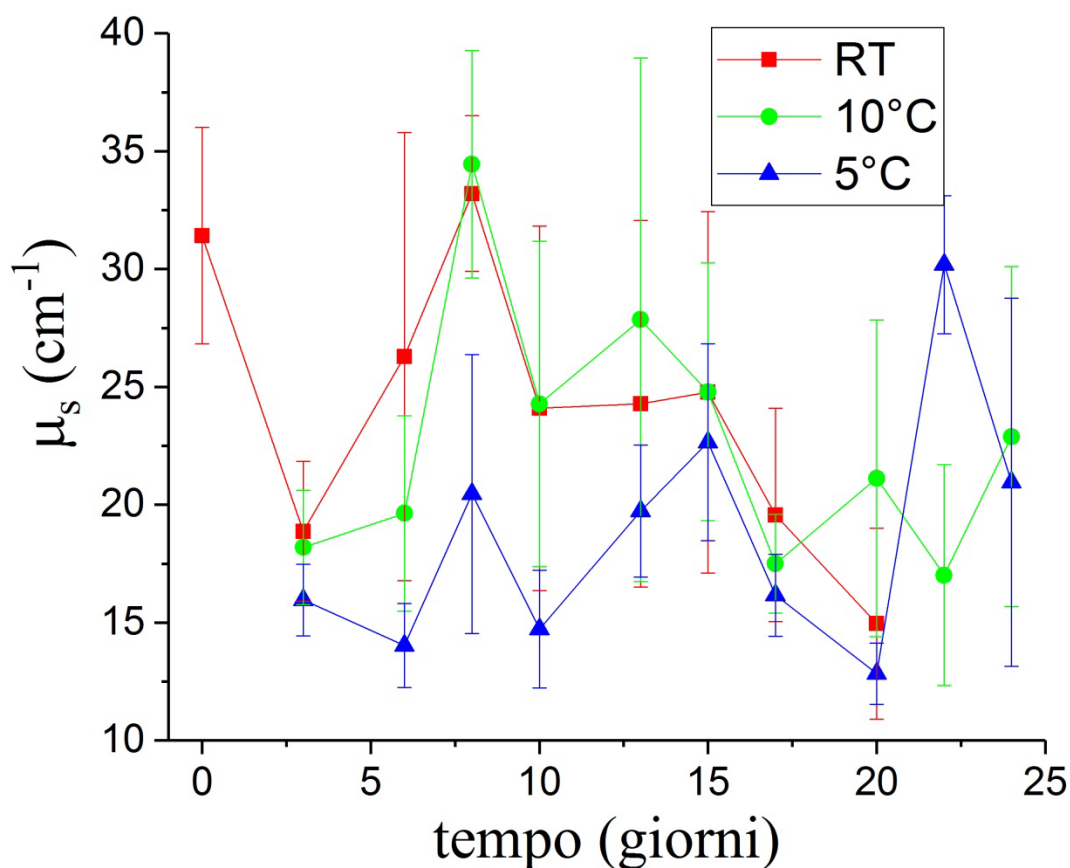
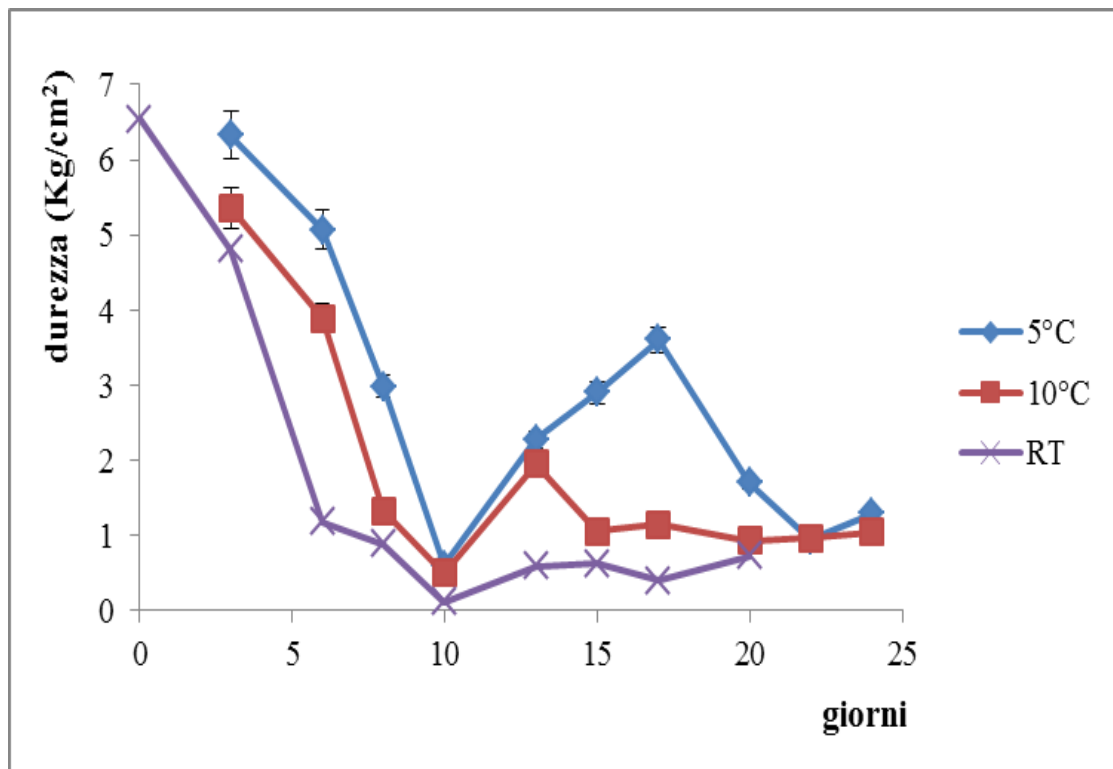


Figura 17 - Coefficienti di *scattering* relativi alle misure eseguite nell'arco temporale della sperimentazione.

Per quanto riguarda il coefficiente di *scattering*, le barre di errore sono molto ampie, probabilmente a causa del fatto che la metodica sperimentale, basata sulla ripetizione della misura su diverse porzioni del campione, sonda regioni con proprietà "strutturali" non omogenee. Trascurando questa dispersione sembrerebbe che il coefficiente di diffusione decresca per poi mostrare un piccolo aumento attorno a metà della sperimentazione per poi decrescere di nuovo. Inoltre i valori misurati sul campione conservato a bassa temperatura sono forse un po' minori di quelli dei campioni conservati a temperatura maggiore. Data la dispersione dei dati sperimentali e la difficoltà di trarre conclusioni da una semplice ispezione del loro andamento, una discussione sarà fatta nel seguito con metodi statistici e col confronto con le altre metodiche

### 3.3 Monitoraggio della durezza, del grado zuccherino e dell'acidità totale

Gli andamenti dei parametri analizzati nel periodo di conservazione della frutta alle condizioni precedentemente esposte sono riportati nelle Figure 18, 19 e 20.



**Figura 18 - Durezza media del campione  $\pm$  DS a differenti di incubazione (5 °C, 10 °C, RT), nel periodo di conservazione (0-24 giorni).**

Per quanto riguarda la durezza del campione, dal grafico si evince un andamento decrescente indipendente dalla temperatura di conservazione dei frutti fino ai 10 giorni. Dal decimo giorno al ventesimo giorno i campioni conservati a RT hanno mostrato uno stato di maturazione pressoché costante e dopo venti giorni di conservazione non sono risultati più idonei all'analisi, perché completamente marci. I campioni incubati a 5 °C e a 10 °C hanno mostrato, invece, un aumento di durezza nell'immediato intervallo successivo poi destinata a decrescere di nuovo. Questo andamento è probabilmente dovuto all'attivazione di enzimi pectici coinvolti nel complesso meccanismo della maturazione (Bron e Jacomino, 2006).



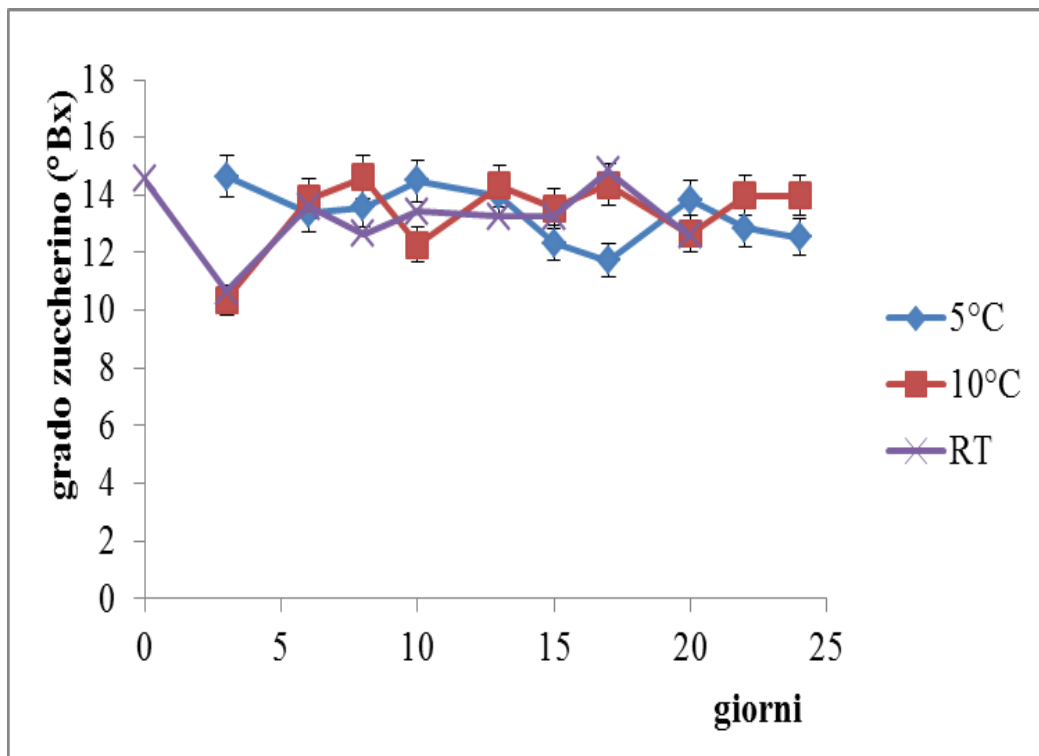


Figura 19 - Grado zuccherino (°Bx) del campione  $\pm$  DS a differenti temperature di incubazione (5 °C, 10 °C, RT), nel periodo di conservazione (0-24 giorni).

Il grado zuccherino parametro legato al livello di maturazione, nelle nostre condizioni sperimentali non ha mostrato variazioni significative.

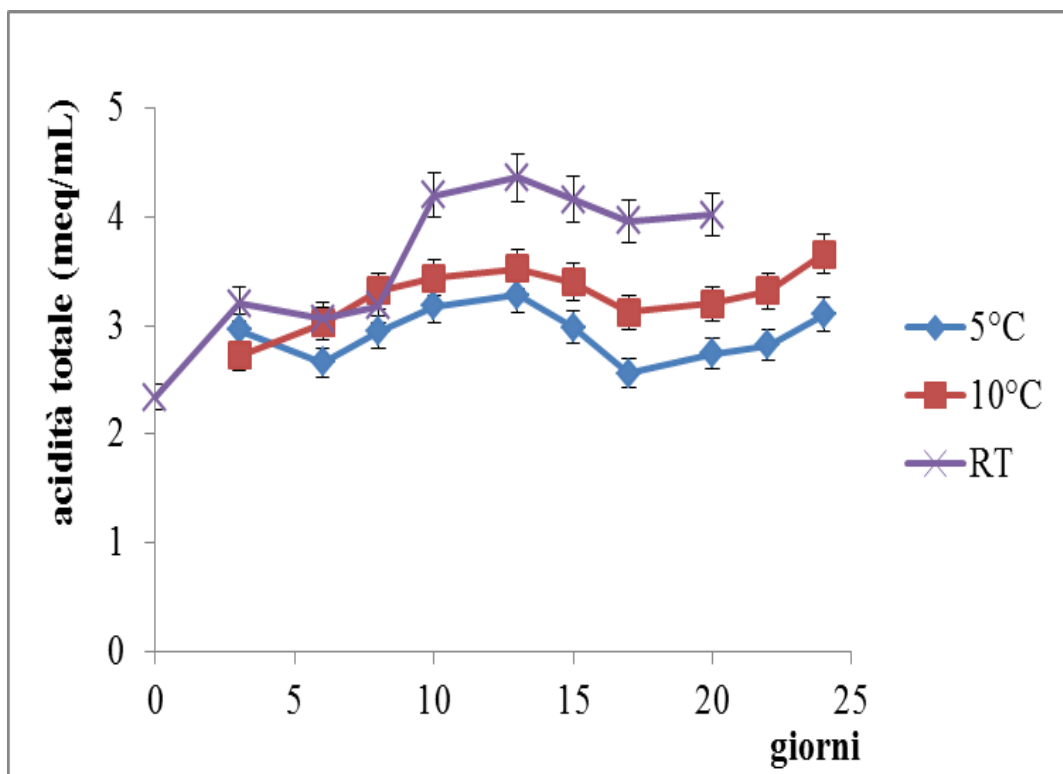


Figura 20 - Acidità totale, calcolata rispetto all'acido malico, del campione  $\pm$  DS a differenti temperature di incubazione (5 °C, 10 °C, RT), nel periodo di conservazione (0-24 giorni).

La curva dell'acidità totale ha mostrato un andamento crescente al crescere della temperatura di incubazione, con un aumento più evidente a temperatura ambiente. Alle temperature più alte, infatti i processi di maturazione e degradazione evolvono più velocemente e la degradazione della parete cellulare determina la formazione di un substrato per la sintesi degli acidi contenuti nella frutta.

### 3.4 Confrontabilità delle metodiche utilizzate

L'elaborazione delle misure effettuate con naso elettronico, metodi spettroscopici e chimico-fisici, è stata eseguita considerando solo le medie complessive di tutti i sensori normalizzate ad 1 per ogni temperatura di incubazione (Figura 21).

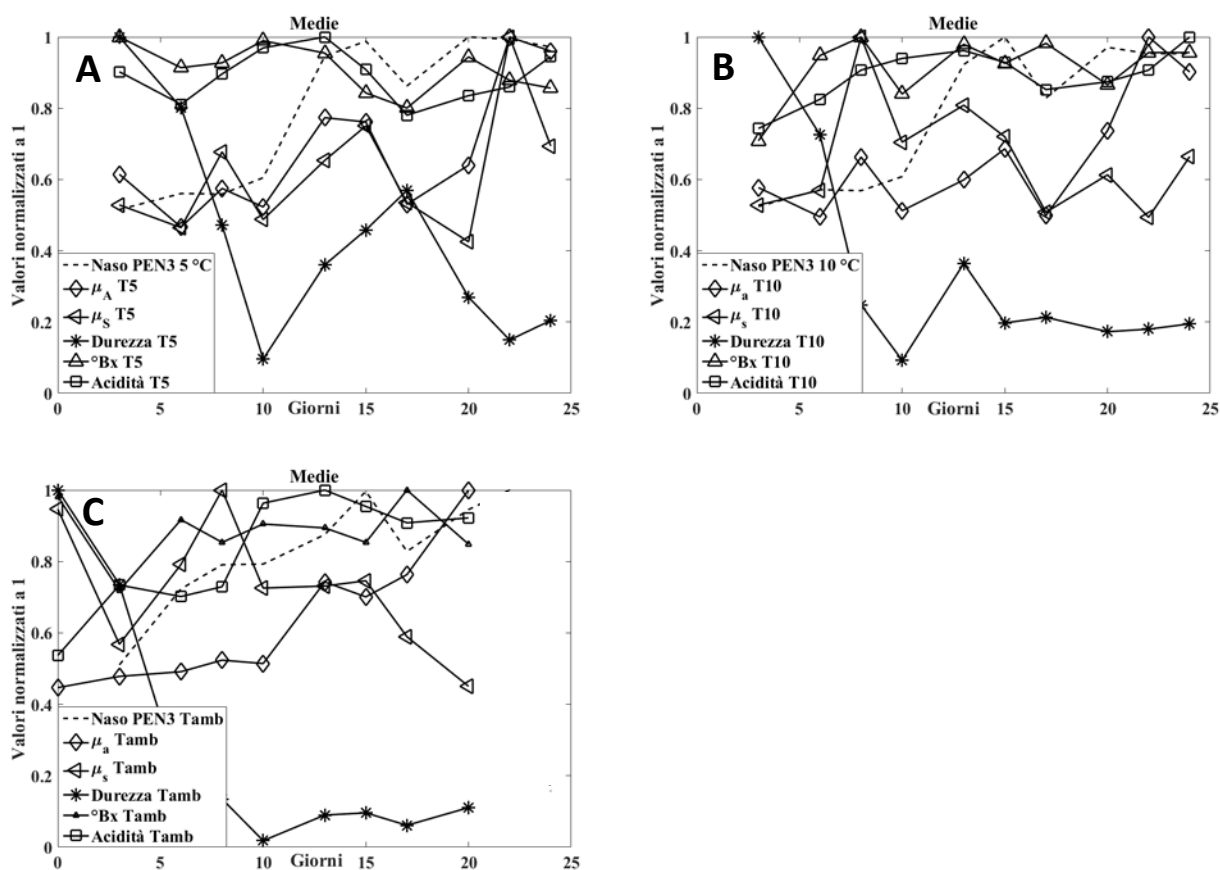


Figura 21 - Andamento delle curve del PEN3 (medie delle medie dei sensori nei giorni di prelievo), delle misure del coefficiente di scattering ( $\mu_s$ ) e di attenuazione ( $\mu_a$ ), durezza, °Bx e acidità a T=5 °C (A), T=10 °C (B), RT (C). Valori normalizzati ad 1.

Una valutazione complessiva degli andamenti delle variabili analizzate è stata eseguita mediante elaborazione statistica. Nei grafici seguenti le variabili sono state rappresentate in un *biplot*, per ogni temperatura, mediante dei vettori. Per la temperatura di conservazione più bassa (5°C) si può notare la

“vicinanza” dei vettori del naso elettronico,  $\mu_s$  e  $\mu_a$  nello spazio delle componenti principali, che suggerisce una maggiore correlazione tra questi rispetto alle altre variabili ricadenti nell’altro riquadro (Figura 22). Questo può essere determinato quantitativamente calcolando i coefficienti di correlazione  $r$  tra le variabili ed il parametro corrispondente  $p$ : in caso di correlazione significativa tra due variabili i valori di  $r$  tendono a 1 (o a -1 in caso di correlazione negativa) con valore di  $p$  che soddisfa la relazione  $p < 0.05$ .

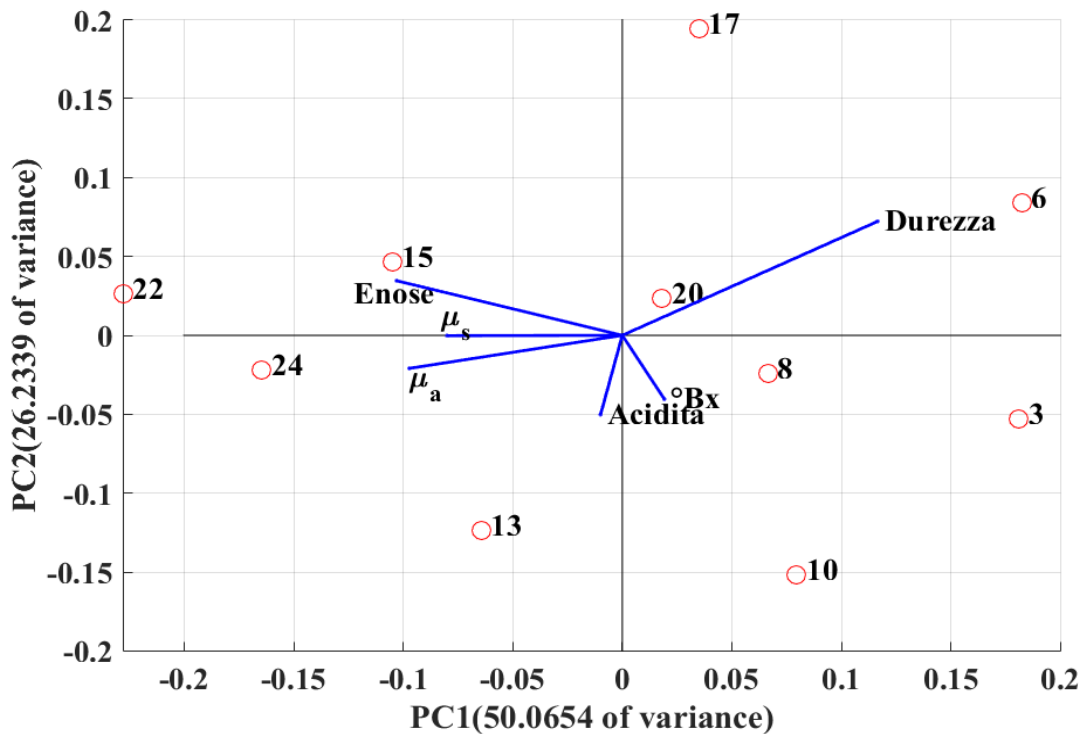


Figura 22 - Biplot T=5 °C, 2D (PC1, PC2). I numeri indicano il giorno di incubazione. Influenza dei e tra i sensori del PEN3 (espressi come media totale) e delle misure ottiche e distruttive.

Il coefficiente di correlazione  $r$  nel caso precedente risulta avere la seguente matrice.

Tabella 2 – Coefficienti di correlazione  $r$  relativi alle medie delle variabili analizzate. T=5 °C.

$r$	PEN3	$\mu_a$	$\mu_s$	Durezza	Acidità	°Bx
PEN3	1.0000	0.7060	0.4478	-0.5757	0.0283	-0.5462
$\mu_a$	0.7060	1.0000	0.8070	-0.5007	0.3359	-0.2999
$\mu_s$	0.4478	0.8070	1.0000	-0.3695	0.1805	-0.3859
Durezza	-0.5757	-0.5007	-0.3695	1.0000	-0.3627	0.1295
Acidità	0.0283	0.3359	0.1805	-0.3627	1.0000	0.4643
°Bx	-0.5462	-0.2999	-0.3859	0.1295	0.4643	1.0000

Mentre per  $p$  otteniamo la seguente matrice (in grassetto sono evidenziati i valori al di sotto di 0.05).

Tabella 3 – Valore  $p$  del test di verifica di no correlazione per  $T=5\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

$p$	PEN3	$\mu_a$	$\mu_s$	Durezza	Acidità	$^{\circ}\text{Bx}$
PEN3	1.0000	<b>0.0225</b>	0.1944	0.0816	0.9380	0.1024
$\mu_a$	<b>0.0225</b>	1.0000	<b>0.0048</b>	0.1405	0.3427	0.3998
$\mu_s$	0.1944	<b>0.0048</b>	1.0000	0.2933	0.6179	0.2707
Durezza	0.0816	0.1405	0.2933	1.0000	0.3029	0.7214
Acidità	0.9380	0.3427	0.6179	0.3029	1.0000	0.1764
$^{\circ}\text{Bx}$	0.1024	0.3998	0.2707	0.7214	0.1764	1.0000

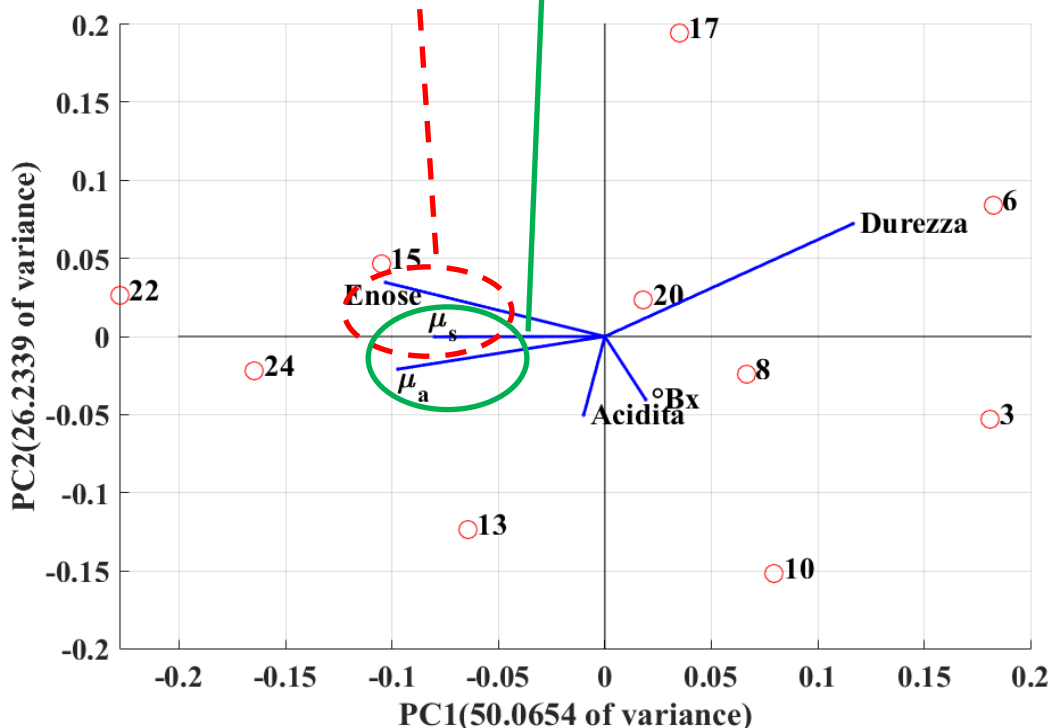


Figura 23 - Biplot relativo alla correlazione tra naso elettronico e  $\mu_a$ , e tra  $\mu_a$  e  $\mu_s$ .

La matrice  $p$  e la Figura 23 mostrano la correlazione matematica e la corrispondente correlazione evidenziabile dal *biplot*.

La relazione di correlazione tra naso elettronico e  $\mu_a$ , e tra  $\mu_a$  e  $\mu_s$  si evince anche da una semplice ispezione visiva delle medie delle variabili (Figura 24) i cui andamenti sono quasi sovrapponibili.

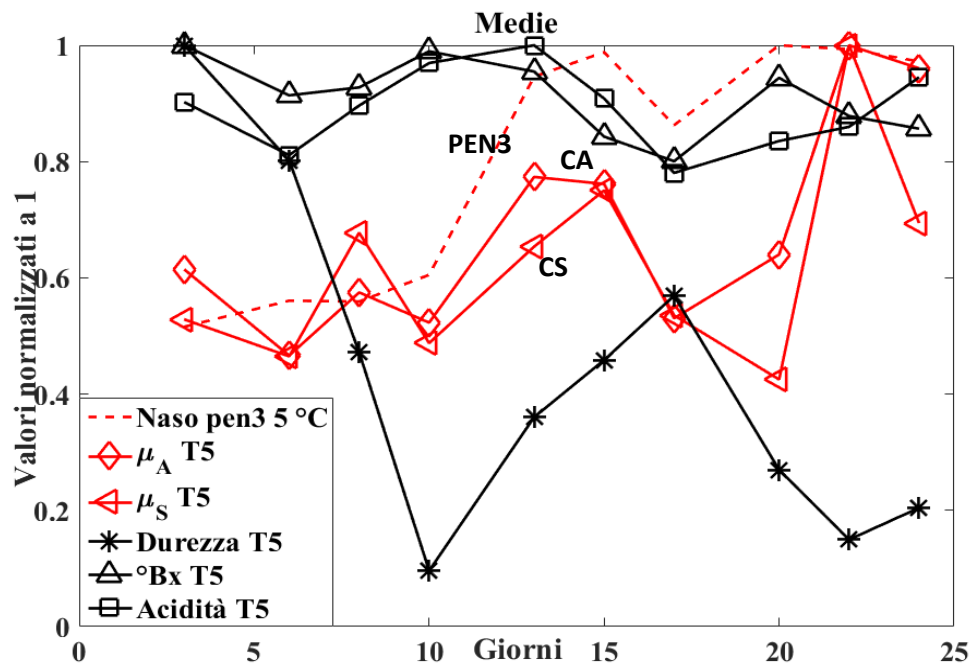


Figura 24 - Relazione tra le medie del naso elettronico,  $\mu_a$  e  $\mu_s$ .

Per le altre variabili non si evince una correlazione lungo tutto l'arco temporale delle sperimentazioni ma è possibile determinare importanti relazioni a breve termine. Infatti, confrontando l'andamento delle medie dei segnali del PEN3 con la durezza, alle varie temperature (Figura 25), si evince come i punti di minimo delle curve relative alla durezza siano registrati tutti in uno stesso giorno, indipendentemente dalle differenti temperature, e cioè dopo dieci giorni dall'inizio della sperimentazione. Nello stesso giorno si nota come i segnali del naso elettronico abbiano una variazione di pendenza determinando così una correlazione negativa tra naso elettronico e durezza mentre, successivamente, fino al diciassettesimo giorno, si ha una correlazione positiva tra naso elettronico e curve relative alla durezza (Figura 26).

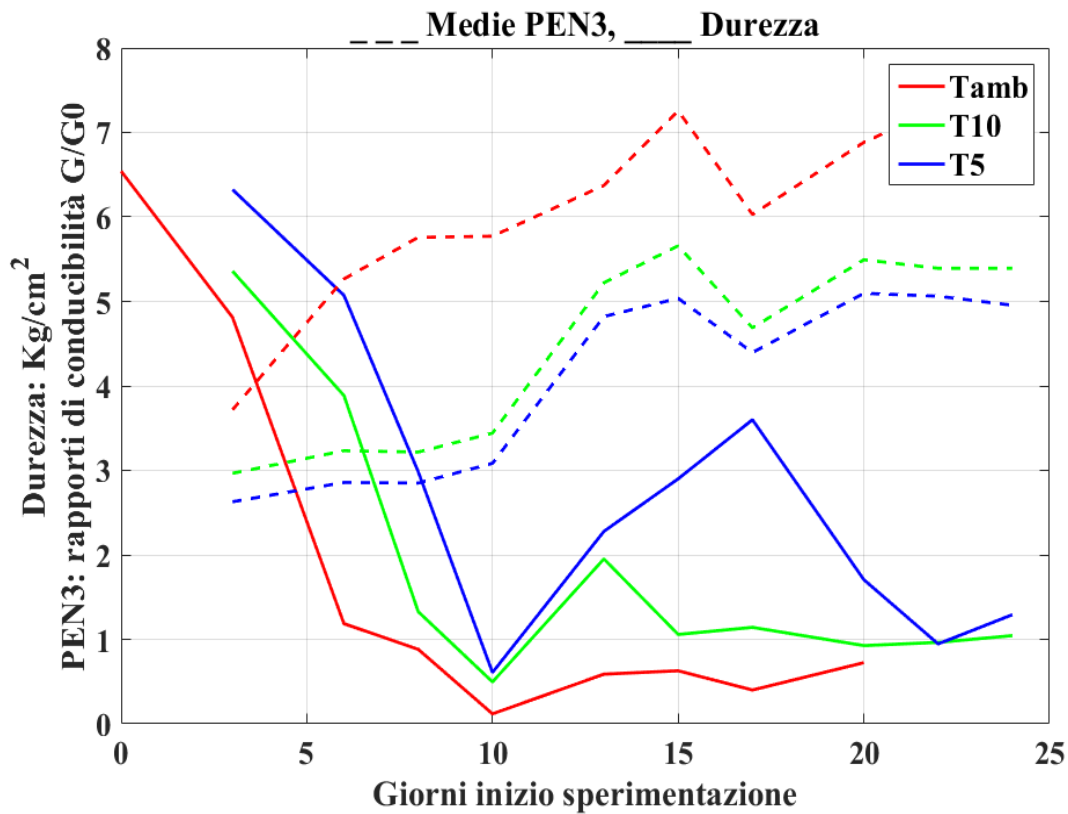


Figura 25 - Evoluzione delle curve del PEN3 di tutti i sensori (considerando le medie delle medie dei sensori nei giorni di prelievo dei frutti) e delle misure di durezza.

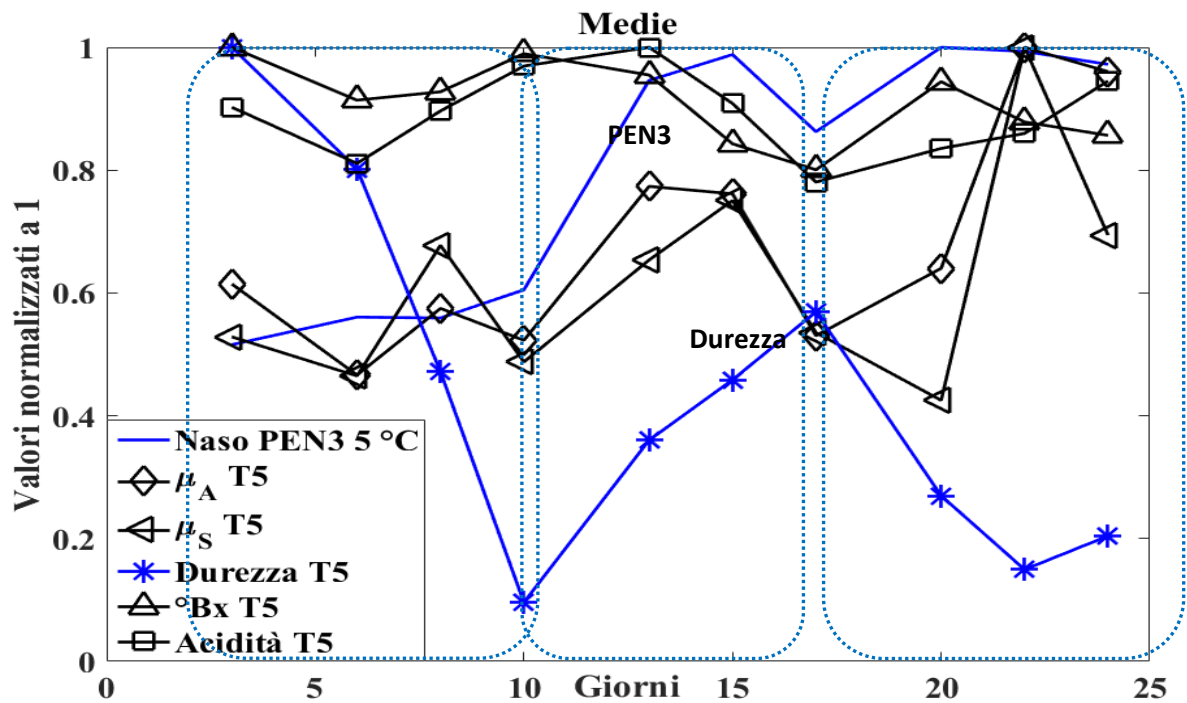


Figura 26 - Correlazioni “a tratti”, evidenziate dalle curve tratteggiate, tra naso elettronico PEN3 e durezza.

Allo stesso modo, analizzando i dati relativi alla temperatura di 10 °C otteniamo i seguenti coefficienti di correlazione e parametro  $p$  di significatività (non mostriamo, per semplicità, i *biplot*; inoltre indichiamo in

grassetto le variabili che risultano avere parametro  $p < 0.05$  con valore di  $r$  negativo).

**Tabella 4 – Coefficienti di correlazione  $r$  relativi alle medie delle variabili analizzate per  $T=10$  °C.**

$r$	<b>PEN3</b>	$\mu_a$	$\mu_s$	<b>Durezza</b>	<b>Acidità</b>	<b>°Bx</b>
<b>PEN3</b>	1.0000	0.6043	-0.1333	-0.5914	0.5686	0.3838
$\mu_a$	0.6043	1.0000	-0.0901	-0.3749	0.4303	0.2080
$\mu_s$	-0.1333	-0.0901	1.0000	-0.2817	0.4821	0.3619
<b>Durezza</b>	-0.5914	-0.3749	-0.2817	1.0000	<b>-0.7784</b>	-0.5386
<b>Acidità</b>	0.5686	0.4303	0.4821	<b>-0.7784</b>	1.0000	0.5815
<b>°Bx</b>	0.3838	0.2080	0.3619	-0.5386	0.5815	1.0000

**Tabella 5 – Valore  $p$  del test di verifica di no correlazione per  $T=10$  °C.**

$P$	<b>PEN3</b>	$\mu_a$	$\mu_s$	<b>Durezza</b>	<b>Acidità</b>	<b>°Bx</b>
<b>PEN3</b>	1.0000	0.0643	0.7136	0.0717	0.0863	0.2735
$\mu_a$	0.0643	1.0000	0.8045	0.2858	0.2145	0.5642
$\mu_s$	0.7136	0.8045	1.0000	0.4304	0.1582	0.3041
<b>Durezza</b>	0.0717	0.2858	0.4304	1.0000	<b>0.0080</b>	0.1082
<b>Acidità</b>	0.0863	0.2145	0.1582	<b>0.0080</b>	1.0000	0.0779
<b>°Bx</b>	0.2735	0.5642	0.3041	0.1082	0.0779	1.0000

Dai coefficienti di correlazione alla temperatura di 10 °C si nota che l'unica correlazione si ha tra valori ottenuti dai metodi chimico-fisici. Quindi non c'è alcuna correlazione tra metodi non distruttivi e distruttivi nell'arco di tempo complessivo della sperimentazione.

Mostriamo infine gli stessi parametri per RT con i valori di  $r$  e di  $p$ , se  $p < 0.05$  il confronto è significativo, colorati in grassetto o corsivo.

**Tabella 6 – Coefficienti di correlazione  $r$  relativi alle medie delle variabili analizzate per RT.**

$r$	<b>PEN3</b>	$\mu_a$	$\mu_s$	<b>Durezza</b>	<b>Acidità</b>	<b>°Bx</b>
<b>PEN3</b>	1.0000	0.7051	0.0010	<b>-0.8157</b>	0.6966	0.4671
$\mu_a$	0.7051	1.0000	-0.5983	-0.4001	0.6036	0.2374
$\mu_s$	0.0010	-0.5983	1.0000	-0.2499	-0.3292	0.1206
<b>Durezza</b>	<b>-0.8157</b>	-0.4001	-0.2499	1.0000	-0.5703	<b>-0.8044</b>
<b>Acidità</b>	0.6966	0.6036	-0.3292	-0.5703	1.0000	0.3537
<b>°Bx</b>	0.4671	0.2374	0.1206	<b>-0.8044</b>	0.3537	1.0000

**Tabella 7 – Valore  $p$  del test di verifica di no correlazione per RT.**

$p$	<b>PEN3</b>	$\mu_a$	$\mu_s$	<b>Durezza</b>	<b>Acidità</b>	<b>°Bx</b>
<b>PEN3</b>	1.0000	0.0508	0.9981	<b>0.0136</b>	0.0549	0.2432
$\mu_a$	0.0508	1.0000	0.1171	0.3261	0.1131	0.5713
$\mu_s$	0.9981	0.1171	1.0000	0.5506	0.4259	0.7760
<b>Durezza</b>	<b>0.0136</b>	0.3261	0.5506	1.0000	0.1399	<b>0.0161</b>
<b>Acidità</b>	0.0549	0.1131	0.4259	0.1399	1.0000	0.3901
<b>°Bx</b>	0.2432	0.5713	0.7760	<b>0.0161</b>	0.3901	1.0000

Dai coefficienti di correlazione calcolati a RT, si evince una significativa correlazione negativa tra valori legati alla misura della durezza e quelli rilevati dal naso elettronico.

#### **4 Conclusioni e prospettive future**

L'applicazione al settore agroalimentare, di fondamentale importanza per l'economia, di tecnologie innovative quali quelle sensoriali e quelle ottiche, si è positivamente concretizzata nell'ambito del Progetto "Magazzino Viaggiante".

Lo stato di maturazione di pere poste a diverse temperature per ventiquattro giorni, è stato valutato sia mediante tecniche non distruttive, come naso elettronico e TRRS, sia mediante tecniche di confronto standardizzate.

Con le misure ottenute mediante il naso elettronico e i metodi ottici e chimico-fisici, è possibile fare interessanti elaborazioni. Le correlazioni significative tra le variabili in gioco (PEN3,  $\mu_a$ ,  $\mu_s$ , acidità, durezza e grado zuccherino) su tutto l'arco temporale della sperimentazione, sono state osservate tra i segnali del naso elettronico, quelli ottenuti con i metodi spettroscopici a 5 °C e la durezza rilevata a RT. Si verificano, d'altra parte, anche correlazioni altrettanto significative in archi temporali limitati. Per esempio si rileva una correlazione significativa tra naso elettronico e durezza misurata a 5°C in corrispondenza dei giorni 10, 17 e 22 della sperimentazione e con il coefficiente di assorbanza ( $\mu_a$ ) in corrispondenza del giorno 15.

L'eventuale mancanza di correlazione tra gli andamenti dei valori ottenuti mediante il naso elettronico e le altre tecniche, è invece spiegabile tenendo conto che il naso elettronico è uno strumento a largo spettro e aspecifico e individua le variazioni dello stato della frutta, che avvengono durante la sua conservazione nel loro insieme e quindi si discosta, in alcuni casi, dai segnali ottenuti con tecniche più specifiche.

La tecnologia sensoriale, quindi, riesce ad individuare le variazioni dello stato della frutta e a sintetizzare, inglobando tutti i punti di "discontinuità" delle misure ottiche e distruttive, l'evoluzione temporale dello spazio di testa apportando informazioni dirimenti sullo stato di maturazione dei prodotti.

L'integrazione delle metodiche non distruttive oggetto di questo studio, utilizzabili anche *in situ*, permette di monitorare *real time* il grado di maturazione delle matrici vegetali e di determinare l'"istante ottimo di vendita" inteso come punto, facilmente individuabile dalle curve mostrate, oltre il quale cambiano in modo significativo le proprietà organolettiche del prodotto.

#### **Ringraziamenti**

Mauro Falconieri ringrazia Domenica Masci per le discussioni preliminari che hanno portato alla realizzazione dell'esperimento di riflettività risolta nel tempo.



## Appendice I: modello di Patterson

Un fascio collimato di luce impulsata, descritto dalla funzione  $S(\vec{r}, t)$ , incide perpendicolarmente la superficie del campione da analizzare. La fluenza dei fotoni  $\varphi(\vec{r}, t)$  è descritta dall'equazione:

$$\frac{1}{c} \frac{\partial}{\partial t} \varphi(\vec{r}, t) - D \nabla^2 \varphi(\vec{r}, t) + \mu_a \varphi(\vec{r}, t) = S(\vec{r}, t) \quad (1)$$

dove  $D = \{3[\mu_a + (1 - g)\mu_s]\}^{-1}$ ,  $\mu_a$  e  $\mu_s$  sono i coefficienti di assorbimento e di *scattering*, rispettivamente, e  $g$  è la media del coseno dell'angolo di *scattering*.

L'equazione (1) può essere risolta se il punto in cui è raccolto il segnale è abbastanza lontano dalla sorgente e se  $\mu_a \ll (1 - g)\mu_s$ . Quest'ultima condizione è tipicamente soddisfatta per i tessuti molli e per lunghezze d'onda nel visibile e vicino infrarosso. L'espressione della riflettanza al tempo  $t$  e a distanza  $r$  dal laser è data da:

$$R(\rho, t) = (4\pi Dc)^{-3/2} z_0 t^{-5/2} \exp(-\mu_a ct) \exp\left(-\frac{\rho^2 + z_0^2}{4Dct}\right) \quad (2)$$

dove  $z_0 = [(1 - g)\mu_s]^{-1}$ .

Dalle misure di TRRS vanno stimati i parametri ottici che possono essere messi in relazione con lo stato di maturazione dei campioni analizzati, in particolare il coefficiente di *scattering* può essere direttamente correlato alla *texture*. Il coefficiente di assorbimento a determinate lunghezze d'onda è invece influenzato dal contenuto di specie chimiche specifiche, come ad esempio gli zuccheri.

Il segnale TRRS acquisito,  $R_{TRRS}$  è dato dalla convoluzione tra la funzione di risposta strumentale  $R_{IRF}$ , misurata di volta in volta nelle condizioni sperimentali scelte, e il segnale reale  $R$ , descritto dall'equazione (2):

$$R_{TRRS}(\rho, t) = \int_0^\infty R(\rho, \tau) \cdot R_{IRF}(\rho, t - \tau) d\tau \quad (3)$$

Se la durata temporale del segnale misurato fosse molto maggiore della durata della funzione strumentale, il contributo quest'ultima potrebbe essere trascurata. Nel nostro caso, però, le condizioni sono tali per cui è necessario considerare la convoluzione tra le funzioni. Per ottenere i parametri ottici della funzione  $R$  abbiamo scelto di applicare un algoritmo di *fitting* alla funzione  $R_{TRRS}$  ottenuta convolvendo numericamente la funzione di risposta strumentale con la funzione  $R$ .

Per velocizzare il processo di *fitting* è stato scelto un algoritmo di minimizzazione di tipo euristico. Questa classe di algoritmi è in grado di trovare una soluzione in tempi brevi in casi in cui gli algoritmi classici sono troppo lenti o non ne trovano affatto. La soluzione trovata, in generale, non è la soluzione ottimale ma una buona approssimazione. L'algoritmo scelto è il Cuckoo Search (CS).

Il CS si ispira al comportamento in natura dei cuculi, uccelli parassiti che depongono le uova in nidi di altre specie di uccelli. La femmina di cuculo depone un solo uovo per ciascun nido e l'uccello ospite, se si accorge della presenza dell'uovo intruso, lo getta via dal nido. Le uova di cuculo, però, sono molto simili a quelle della specie ospite e spesso riesce ad ingannare i genitori adottivi. L'uovo del cuculo si schiude prima degli

altri e appena il pulcino viene alla luce spinge fuori dal nido le altre uova restando l'unico ad essere nutrito. In questo modo il cuculo si garantisce cibo a sufficienza per sopravvivere.

L'algoritmo di minimizzazione CS è stato sviluppato da Yang e Deb nel 2009 (Yang e Deb, 2009). Sono imposte tre regole:

1. ogni cuculo depone un uovo alla volta in un nido ospite scelto a caso
2. i nidi con le uova di migliore qualità passano alla generazione successiva
3. il numero di nidi disponibili è fissato e l'uovo deposto dal cuculo può essere scoperto dall'uccello ospite con una probabilità  $p_a \in [0,1]$ . In questo caso l'uccello ospite può gettare via l'uovo oppure abbandonare il nido e costruirne uno nuovo

Ogni uovo in un nido è una possibile soluzione. L'obiettivo dell'algoritmo è di generare nuove soluzioni, possibilmente migliori di quelle già trovate. La qualità della soluzione è valutata mediante una funzione di fitness opportunamente definita, ad esempio sommando gli scarti quadratici tra i dati sperimentali e il modello. La soluzione che ha la miglior fitness passa automaticamente alla iterazione successiva mentre le altre hanno una probabilità  $p_a$ , di essere non eliminata dall'insieme delle possibili soluzioni e rimpiazzata con un'altra scelta a caso. Lo pseudocodice CS è il seguente:

```

Genera la popolazione di  $n$  nidi  $x_i, i=1,2,\dots,n$ 
for  $i = 1$  to  $n$ 
    Calcola i valori di fitness  $F_i=f(x_i)$ 
end for
    calcola  $f_{min}=\min(f(\mathbf{x})); x_{best}:f(x_{best})=f_{min}$ 
while (condizione di stop non soddisfatta)
    genera un uovo  $x_j$  mediante Lévy flight da un nido scelto a caso
    calcola il valore di fitness  $F_j=f(x_j)$ 
    sceglie un nido a caso  $k$ 
if  $F_j < F_k$  then
     $x_k=x_j; f_k=f_j$ 
end if
    Abbandona una frazione  $p_a$  di nidi (escluso  $x_{best}$ )
    Costruisce un nuovo set di nidi mediante Lévy flights
    Valuta la funzione di fitness e prende il nido migliore
end while

```

Il primo passo è quello della inizializzazione della popolazione iniziale di  $n$  nidi, ovvero di  $n$  punti iniziali nello spazio dei parametri scelti a caso. Per ognuno dei punti si calcola il valore di fitness. Il ciclo di minimizzazione procede con la scelta di un nido a caso e lo spostamento tramite un Lévy flight della forma:

$$x_i^{t+1} = x_i^t + \alpha L(\lambda) \quad (4)$$

dove  $L(\lambda)$  è una funzione di distribuzione con una coda. L'algoritmo cerca una nuova soluzione preferenzialmente nelle vicinanze nello spazio dei parametri dell'ultima soluzione analizzata ma non è improbabile andare a cercare una nuova soluzione lontano, grazie alla coda della funzione  $L$ . Si calcola la fitness del nuovo punto trovato e, se migliore, si rimpiazza la soluzione precedente con quest'ultima. La migliore soluzione passa allo step successivo e una frazione  $p_a$  delle altre soluzioni viene abbandonata e rimpiazzata con delle nuove ottenute muovendosi tramite Lévy flight.

## 5 Bibliografía

- Gómez H., Wang Hu, J., García Pereira G. A. 2007. Discrimination of storage shelf-life for mandarin by electronic nose technique, *LWT* 40: 681-689.
- Droby, S. 2006. Improving quality and safety of fresh fruit and vegetables after harvest by the use of biocontrol agents and natural materials. *Acta Horticulturae*, 709: 45-51.
- Bron I. U. e Jacomino A. P. 2006. Ripening and quality of “Golden” papaya fruit harvested at different maturity stages. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 18(3): 389-396.
- Rozo-Romero L. X., Álvarez-Herrera J. G., Balaguera-López H. E.. 2015. Ethylene and changes during ripening in ‘Horvin’ plum (*Prunus salicina* Lindl.) fruits. *Agronomía Colombiana*, 33(2): 228-237.
- Patterson M.S., Chance B., Wilson B.C. 1989. Time resolved reflectance and transmittance for the non-invasive measurements of tissue optical properties. *Applied Optics*, 28: 2331.
- Eccher Zerbini P., Grassi M., Cubeddu R., Pifferi A., Torricelli A. 2002, Nondestructive detection of brown heart in pears by time-resolved reflectance spectroscopy. *Postharvest Biology and Technology*, 25: 87-97.
- Torricelli A, Spinelli L., Contini D., Vanoli M., Rizzolo A., Eccher Zerbini P. 2008, Time-resolved reflectance spectroscopy for non-destructive assessment of food quality. *Sensing and Instrumentation for Food Quality*, 2: 82-89.
- Yang X.S., Deb S. 2009. Cuckoo search via Lévy flights, *World Congress on Nature & Biologically Inspired Computing (NaBIC 2009)*. IEEE Publications, 210-214.
- Wilson A. D., Baietto M. 2009. Applications and advances in electronic-nose technologies. *Sensors*, 9: 5099-5148.

ENEA  
Servizio Promozione e Comunicazione  
[www.enea.it](http://www.enea.it)

Stampa: Laboratorio Tecnografico ENEA - C.R. Frascati  
settembre 2017