

# LA RACCOLTA E LA CONSERVAZIONE DELLA FRUTTA FRESCA: NUOVI METODI PER PROBLEMI ANTICHI

L'introduzione di varietà adatte all'agricoltura intensiva con alta resa ma scarsa qualità e la difficoltà di mantenere la qualità del prodotto durante le procedure di raccolta e trasporto provocano spesso la delusione dei consumatori sulla qualità della frutta fresca. Nuove tecnologie per la raccolta e per la conservazione della frutta, data la loro alta precisione e velocità, permetteranno di prevenirne il deterioramento e verificarne la qualità

**DOMENICO DE MARTINIS**

ENEA, UTS Biotecnologie, Protezione della Salute e degli Ecosistemi

Dalla prima visita di Adamo nel giardino dell'Eden, l'umanità è stata fortemente dipendente dalle angiosperme (piante con fiore) e dai loro prodotti: il fiore, da cui deriva il seme ed il frutto. Testimonianze scritte sull'effetto della manipolazione della frutta si ritrovano addirittura nell'antico testamento e negli studi dei filosofi greci dell'antichità. La saggezza popolare ci insegna che mantenere la frutta in contenitori chiusi ne accelera la maturazione. È nell'era moderna che si è compreso come in seguito ad una ferita le piante producano etilene ( $C_2H_4$ ), molecola gassosa che induce senescenza dei tessuti e maturazione dei frutti. Le prime ricerche sull'effetto dell'etilene sulle piante risalgono al XIX secolo, quando si descriveva l'azione "tossica" dei gas illuminanti sui viali alberati. Nel 1924 viene identificato etilene, prodotto dalla

combustione nelle stufe a cherosene, come l'elemento che induce la maturazione della frutta<sup>1,2</sup>.

L'etilene è una delle più semplici molecole che presentano attività biologica. La sua azione influenza profondamente la crescita e lo sviluppo delle piante. Nel frutto di tipo "climaterico" (esempio pomodoro) il suo ruolo è essenziale poiché la presenza di etilene induce sia la maturazione che il deperimento dello stesso.

La comprensione delle dinamiche di maturazione della frutta ha importanti risvolti economici perché annualmente grosse perdite nel raccolto, equivalenti a miliardi di euro, sono dovute all'eccessiva maturazione. È chiaro, quindi, che conoscere come il fiore, il seme ed il frutto si sviluppino sia uno dei fattori essenziali in agricoltura. La maturazione, in particolare, è un momento essenziale nella produzione del frutto, perché molti frutti devono essere

completamente maturi per essere appetibili ed essere quindi validi per il mercato e soprattutto per l'alimentazione.

Inoltre, il mercato internazionale fa sì che ogni paese acquisti prodotti realizzati con diverse metodologie di coltivazione e trattamento, ed i patogeni correlati al sito di produzione. È necessario quindi sviluppare tecnologie che uniscano alta sensibilità e precisione alla velocità di uso per favorire una rapida analisi della frutta fresca.

Tuttavia, la semplice conoscenza dell'evoluzione dell'etilene può non essere sufficiente, perché alcuni frutti, i cosiddetti non-climaterici (esempio uva), non necessitano del segnale etilene per iniziare i processi di maturazione del frutto. Anche altre molecole entrano in campo nella definizione del colore, odore e sapore del frutto, cioè di quei parametri che ne definiscono la qualità.

Inoltre, l'uso di pesticidi rappresenta un problema poiché porta alla necessità di individuare l'eventuale presenza di sostanze potenzialmente tossiche per la salute umana; i patogeni stessi poi, producono sostanze specifiche che possono essere dei riferimenti per l'individuazione di una patologia in via di sviluppo.

Anche il crescente interesse per i composti naturali con potenziali funzioni antibiotiche che si accumulano nel frutto è uno stimolo per lo sviluppo di tecnologie necessarie alla loro individuazione. Nuove sofisticate tecnologie stanno diventando sempre più popolari nella ricerca in biologia; strumenti per la rapida raccolta e lavorazione della frutta, tecnologie laser per l'analisi delle sostanze volatili e non volatili rilasciate dal frutto, elettrosensori in grado di definire il profilo degli odori rilasciati dal frutto, potrebbero diventare in futuro strumenti di uso corrente nell'analisi della qualità degli alimenti.

Tuttavia, non sempre queste tecnologie sono di facile utilizzo per i biologi, che mancano delle opportune conoscenze di fisica ed ingegneria, mentre chi è in grado di sviluppare tali tecnologie ha difficoltà ad affrontare problematiche biologiche. Lo sviluppo di progetti multidisciplinari che uniscono competenze di elettronica, fisica dei laser, biochimica e biologia molecolare vegetale, permettono l'utilizzo di nuove tecnologie per scoprirne i limiti ed i vantaggi. In questo articolo verranno descritte tali tecnologie ed il loro impiego per creare una "carta d'identità" che identifichi le qualità di un frutto.

### **Hot Water Dipping: L'autolavaggio della frutta**

Uno dei problemi della conservazione della frutta è l'accumulo di residui e contaminanti durante il raccolto. Le componenti microbiche del terreno o presenti sul frutto possono essere latenti al momento della raccolta ma possono attivarsi al momento della conservazione quando l'umidità, necessaria ad evitare la disidratazione dei frutti, ne favorisce la crescita. Inoltre, in alcuni casi è necessario ripulire i frutti raccolti per non comprometterne l'estetica, che influenza notevolmente la vendibilità. Frutti sporchi, non uniformemente maturi o con segni di patologie sono molto meno vendibili di frutti apparentemente perfetti e vanno nel conto delle perdite accennate nell'introduzione.

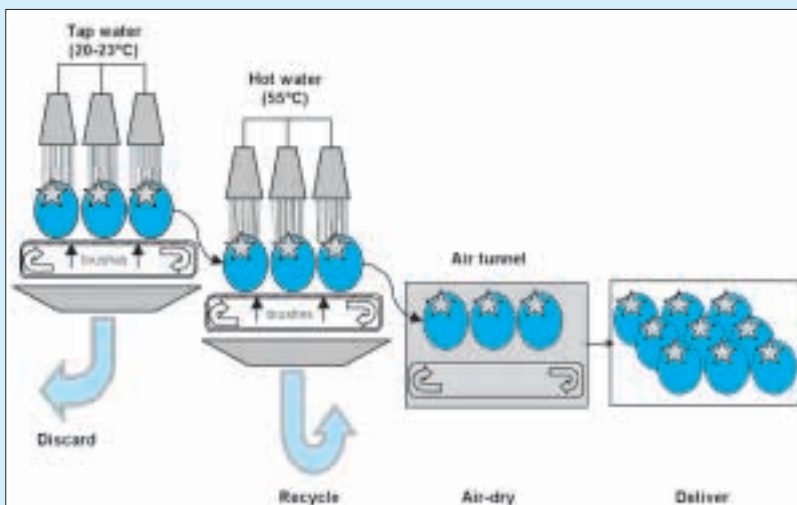
È conoscenza comune che nei mercati al dettaglio i frutti importati dall'estero, che sono stati sottoposti ad una ispezione visiva dal produttore prima e dall'importatore poi, sono molto più regolari e uniformi di quelli provenienti dal mercato locale. Questi criteri, apparentemente superficiali, sono però comprensibili se si pensa che ai grossi importatori fanno capo diverse catene di distribuzione che richiedono lotti di prodotto uniformi da distribuire sulla propria catena di vendita. In Israele, le aziende agricole hanno delle tabelle per poter classificare i loro prodotti sulla base di un'ispezione visiva, per poi veicarli sul mercato locale o estero.

Alcune coltivazioni sono situate nel deserto ed i frutti raccolti sono estremamente sporchi, coperti da una pellicola di sabbia e tradizionalmente gli agricoltori li hanno ripuliti a

mano, con l'ausilio di un pennello. Il lavaggio con acqua sarebbe più pratico ma comporterebbe poi l'asciugatura minuziosa di ogni singolo frutto.

Per velocizzare e standardizzare una procedura di pulitura post-raccolta, i ricercatori del Department of Postharvest Science attivi presso il centro di ricerca di Volcani (Israele), hanno ideato un sistema di "autolavaggio" per ottenere frutta lavata ed asciugata pronta per il trasporto (figura 1). Questo sistema consiste in una serie di guide che sottengono la frutta a due lavaggi, uno in acqua fredda (20-23 °C) ed un altro rapidissimo in acqua calda (55 °C); la frutta viene poi asciugata con un flusso d'aria. Al lavaggio sono associate delle spazzole che aumentano l'efficienza della pulitura. Questo tipo di trattamento non solo produce una frutta già pulita e pronta per il trasporto, ma sembra anche aumentare la durata della conservazione più di quanto si otterrebbe con la sola rimozione dei patogeni depositati. Da uno studio più approfondito i ricercatori israeliani hanno osservato che un tipo di trattamento "hot water" sembra indurre i meccanismi endogeni della difesa del frutto<sup>3,4</sup>.

Pomodori raccolti ancora verdi sono in genere abbastanza resistenti allo sviluppo di muffe, come il fungo polifago *Botrytis cinerea*, ma questa resistenza persiste solo nei primi due giorni dopo la raccolta. Un trattamento ad alta temperatura determina un innalzamento della soglia di resistenza dei frutti, che sviluppano i sintomi da infezione in maniera minore (solo il 60%) ed in ogni caso più lentamente. Studi biochimici e molecolari in frutti infettati hanno

**Figura 1 – Schema del sistema “hot water dipping”**

I frutti raccolti vengono veicolati su di una guida mobile dove sono sottoposti ad un primo lavaggio in acqua a temperatura ambiente ed in seguito ad un veloce lavaggio (pochi secondi) in acqua calda. Il primo lavaggio elimina meccanicamente la maggior parte dei microrganismi patogeni, mentre il secondo passaggio consiste in una vera e propria semi-sterilizzazione che elimina i microrganismi residui ed attiva i sistemi di difesa del frutto. Durante queste fasi di lavaggio, grande importanza rivestono le spazzole (brushes), che contribuiscono alla rimozione meccanica di sporco (esempio residui di terra) e polvere. Le spazzole variano di dimensione e durezza a seconda del frutto raccolto e sembrano avere un ruolo nell'induzione del sistema difensivo del frutto con la loro azione di strofinio. Il sistema è ottimizzato per economizzare l'uso dell'acqua. I reflui del primo lavaggio non possono essere riutilizzati per non rischiare un aumento dell'inoculo microbico e devono essere eliminate, mentre le acque del secondo lavaggio rientrano nel circolo. Avvenuto il lavaggio i frutti vengono asciugati in un flusso d'aria per eliminare l'eccessiva umidità nella confezione finale.

messo in evidenza un cambiamento dell'espressione genica con la comparsa di nuove isoforme di enzimi (perossidasi) che solitamente decadono in seguito al raccolto. Questi risultati indicano una reattività del frutto anche dopo il distacco dalla pianta; il frutto in definitiva non è un semplice involucro commestibile ma possiede un metabolismo in grado di rispondere agli stimoli esterni. È quindi possibile pensare che usando un'adeguata procedura di trattamento post-raccolta si possa

indurre resistenza al deperimento nella frutta, anche senza l'uso di sostanze chimiche di sintesi.

### REMPI-TOF: tecnologie laser per le tecnologie alimentari

Una tecnica analitica basata sulla “laser desorption” dei campioni è stata sviluppata nei laboratori dell'Unidad de Laseres y Haces Moleculares, Instituto Pluridisciplinar, Universidad Complutense de Madrid.

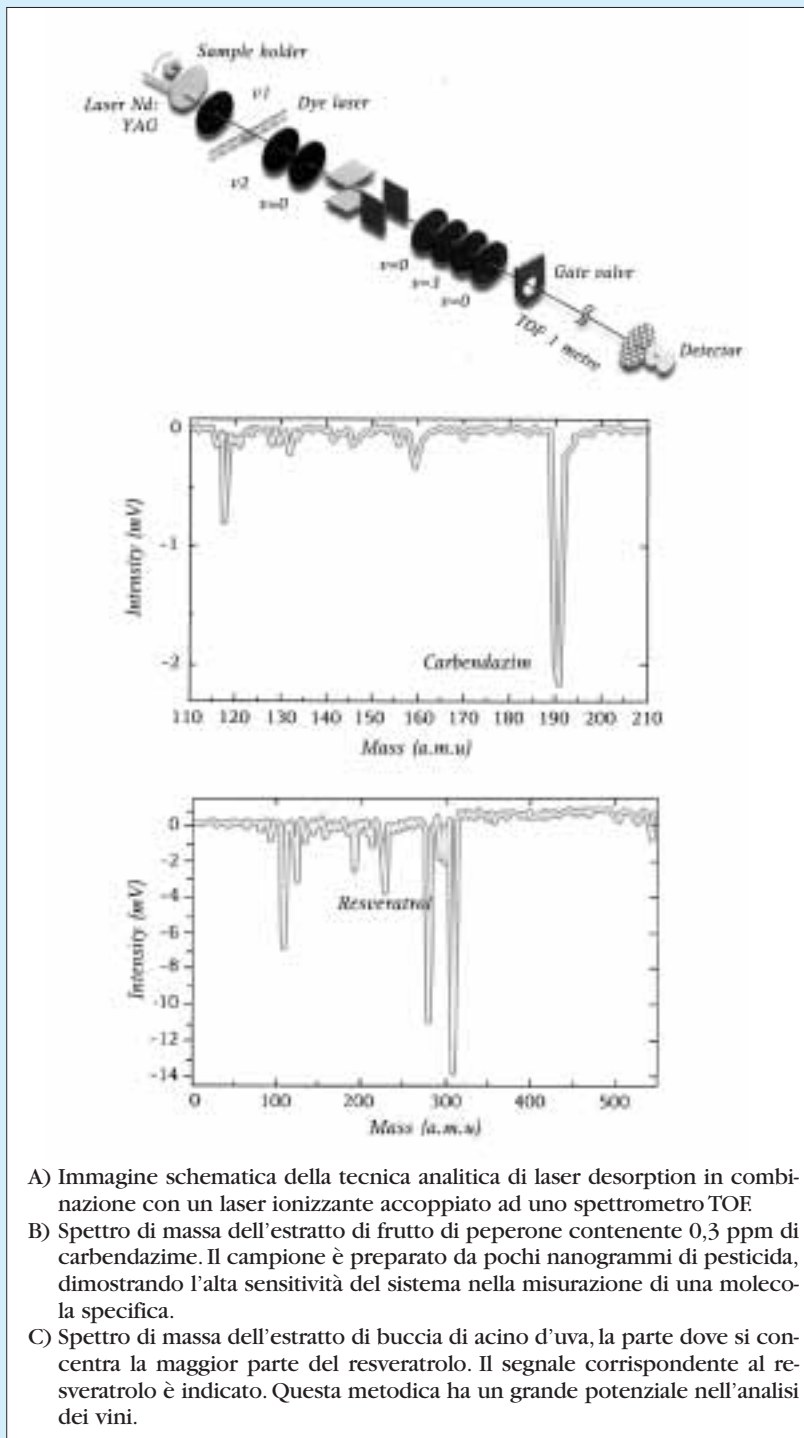
Gli ioni generati da un sistema REMPI (Resonant Multiphoton Ionisation) vengono analizzati da un sistema di spettroscopia di massa TOF (Time of Flight Mass Spectroscopy). Il sistema, è schematizzato in figura 2A.

Questa metodologia unisce laser e spettrometria di massa per una massima selettività, risoluzione e sensibilità nell'identificazione di molecole di interesse. L'innovazione principale nella metodologia è la possibilità di determinare la presenza o meno di una molecola di interesse partendo da un estratto grezzo della polpa di un frutto (esempio pomodoro o uva). Questo sistema, oltre a diminuire il rischio di artefatti dovuti alla preparazione del campione da analizzare, diminuisce sia i tempi necessari alle analisi che la quantità di solventi solitamente utilizzati per la preparazione dei campioni<sup>5</sup>.

L'utilizzo di questa tecnica in biologia è estremamente nuovo e le prime applicazioni sono state sullo studio dei pesticidi usati in agricoltura in Spagna.

Ad esempio, la figura 2B mostra lo spettro di massa generato da un frutto di peperone con un contenuto di 0,3 ppm (parti per milione) di carbendazime, contenuto in soli 0,3 ng di pesticida. Questo è un esempio di come questo sistema permette un'analisi veloce e accurata della quantità di pesticidi accumulati nella frutta fresca; ad esempio per verificare che risponda alle normative del paese nel quale verranno distribuite. Un'altra applicazione interessante di questa metodologia è lo studio dei prodotti naturali che si accumulano nel frutto, come il resveratrolo. Questa molecola è di grande interesse anche in campo medico, per-

**Figura 2 – Immagine schematica della tecnica REMPI-TOF (A) e spettri di massa (B e C)**



ché recentemente ne sono state indicate proprietà anticancerogene<sup>6</sup>. In figura 2 C è indicato lo spettro di emissione di un estratto di buccia di acino d'uva ed è indicato il picco corrispondente al resveratrolo.

### Spettroscopia fotoacustica: trasformazione di luce in suono

L'effetto fotoacustico si basa sulla generazione di onde acustiche in seguito all'assorbimento di luce da parte di una molecola<sup>7</sup>. L'assorbimento di un fotone infrarosso eccita la molecola ricevente, che ritornando allo stadio fondamentale libera energia, come il calore; modulando l'intensità della luce si provoca il riscaldamento ed il raffreddamento delle molecole colpite.

Nel caso di un gas contenuto in un volume fisso, ad una variazione di temperatura corrisponderà una variazione di pressione, questo crea un suono che potrà essere individuato da un microfono molto sensibile. Poiché la pressione è proporzionale al numero di molecole contenute nel gas che verranno eccitate, il suono (che deriva dalla pressione) varierà in proporzione alle diverse molecole contenute nel gas che verranno eccitate ad una specifica intensità luminosa.

È possibile così definire lo spettro di assorbimento/emissione per ogni determinata molecola gassosa; ciò ne permette l'identificazione e la quantificazione anche quando miscelata ad altre molecole.

Il principio dell'effetto fotoacustico è tutt'altro che nuovo, ed era già stato descritto da Alexander Graham Bell nel 1880, ma le sue applicazio-

ni nel campo della ricerca in biologia appartengono a questi ultimi decenni. Il Laser PhotoAcoustic system (LPA system) permette di indentificare molecole volatili di interesse biologico come ad esempio l'etilene (sintomo di senescenza, maturazione, patogenesi), acetaldeide ed etanolo (sintomi di fermentazione e patogenesi) ed anidride carbonica (sintomo di aumento della respirazione e climaterio).

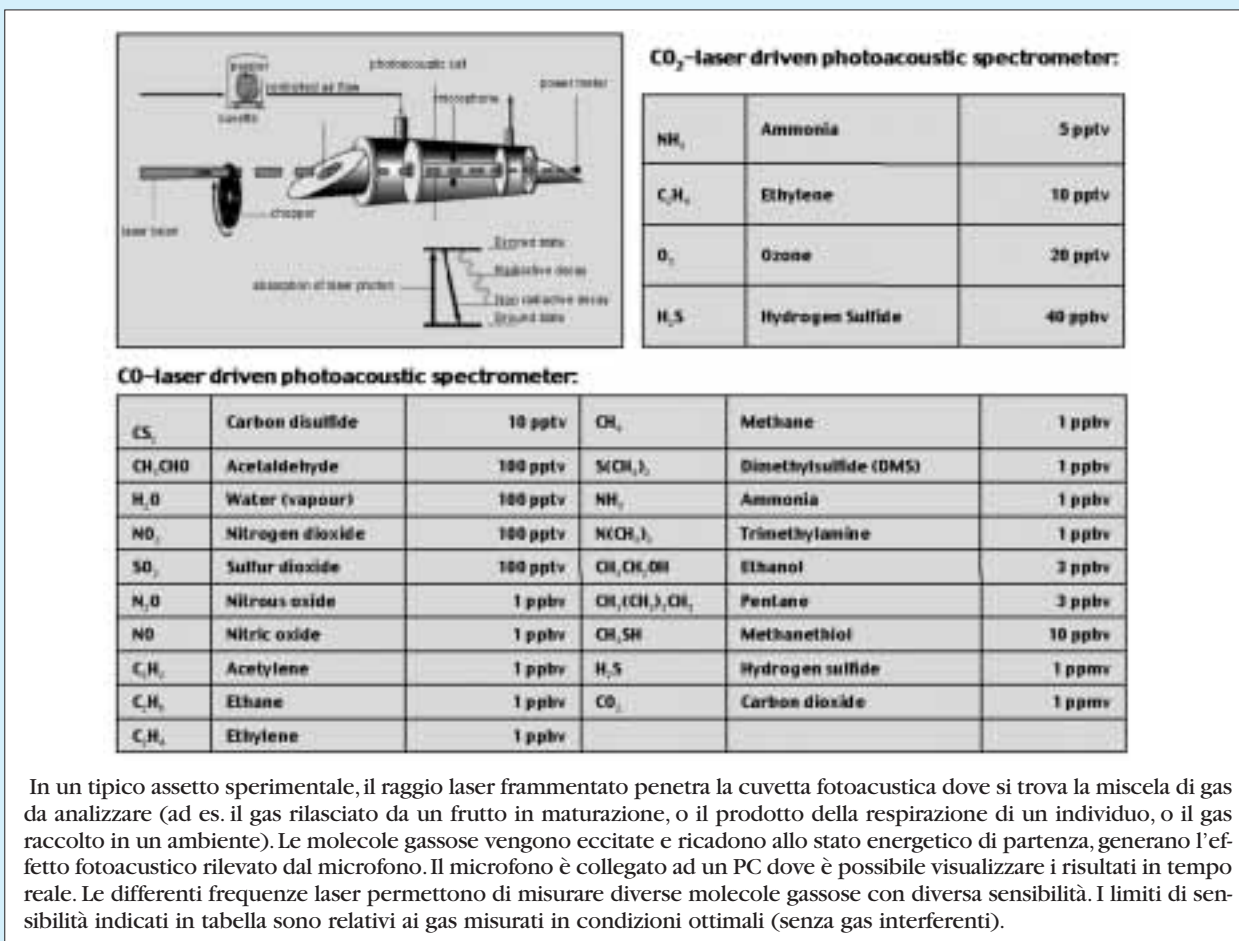
A tutt'oggi, numerosi sono gli studi pubblicati nel campo della biologia

animale e vegetale grazie soprattutto al Dipartimento di Fisica dei Laser dell'Università Cattolica di Nimega (Paesi Bassi), che ha costituito una "facility" finanziata dalla Commissione Europea<sup>8</sup> per permettere l'incontro tra fisici e biologi e la diffusione della tecnologia.

La figura 3 e le tabelle correlate descrivono schematicamente il *set-up* del LPA e le molecole che possono già essere identificate. Uno dei grandi vantaggi del sistema, oltre che alla sensibilità è la possibilità di misura-

re in maniera pressoché continua (fino ad un campionamento al minuto) ed in maniera non distruttiva. Nel campo della fisiologia vegetale, studi sullo sviluppo del fiore e la maturazione del frutto hanno permesso di riesaminare studi già effettuati con metodologie più classiche, mettendo in evidenza come la maggior sensibilità e velocità di misura permettano di ottenere risultati inediti su problematiche antiche, come la riproduzione vegetale<sup>9</sup> e il deperimento della frutta<sup>10</sup>.

**Figura 3 – Immagine schematica di un sistema LPA e tabelle riassuntive della sensibilità dei sistemi LPA per diverse molecole volatili**



## Il naso elettronico che imita il sistema olfattivo umano

La percezione degli odori da parte dell'uomo è di fondamentale importanza nella valutazione della qualità dei prodotti alimentari. Non è quindi sorprendente che numerosi sforzi siano stati prodotti in questi ultimi anni per introdurre sul mercato strumenti che operino con principi simili a quelli olfattivi dell'uomo: il "naso elettronico", definito come "una serie di sensori chimici non specifici e un sistema di pattern recognition" è uno strumento che unisce alla sensibilità discriminante del naso umano, l'oggettività della risposta strumentale, che fornisce risultati in maniera comparabile con il naso umano ed in tempi brevi.

I sensori rappresentano il cuore del sistema, per cui devono soddisfare criteri ben precisi che si possono riassumere in: alta sensibilità verso composti chimici volatili; bassa sensibilità verso l'umidità; alta stabilità e riproducibilità; segnali di uscita facilmente interpretabili.

In letteratura sono riportate numerose applicazioni del naso elettronico per l'industria alimentare: nel settore delle carni è stato utilizzato per valutare la qualità della carne tritata, per riconoscere l'eventuale aggiunta di carne di maiale, per valutare la presenza di differenti generi nei prodotti carnei; inoltre è stato utilizzato per valutare la freschezza del pesce, per monitorare le fasi di produzione della birra e per individuare eventuali contaminazioni da micotossine nei cereali<sup>11</sup>.

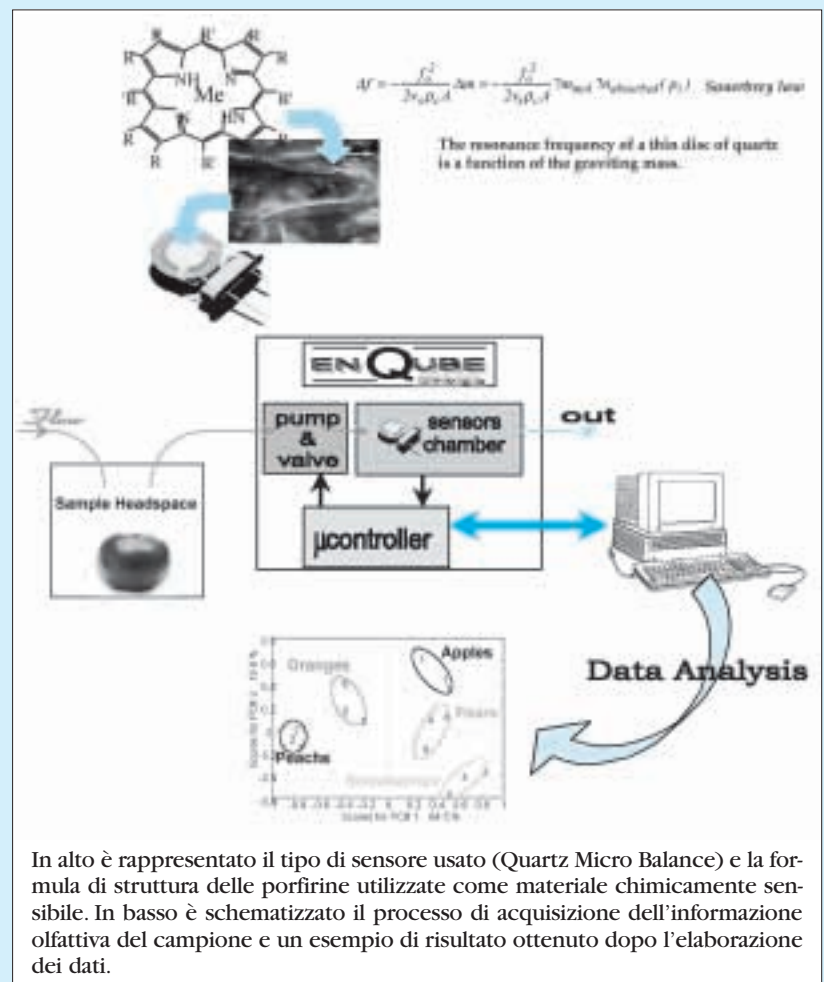
Tra i laboratori che si occupano di biosensori, la ricerca sul naso elettronico si è sviluppata presso Dipar-

timento di Ingegneria Elettronica e Dipartimento di Scienze e Tecnologie Chimiche, Università di Tor Vergata, sin dal 1991. In questi anni la ricerca si è concretizzata in un prototipo di naso elettronico, denominato "LibraNose"<sup>12</sup>, utilizzato in vari contesti di ricerca nei settori alimentari, ambientali e di diagnostica medica.

Il naso elettronico, nella sua struttura a blocchi, mima il sistema olfattivo naturale (figura 4). Le compo-

nenti principali sono la camera di misura, la matrice di sensori ed il sistema di gestione del campione aeriforme. Come per i recettori dell'apparato olfattivo, i sensori artificiali non presentano specificità verso le sostanze odorose, ma rispondono ad un'ampia gamma di composti con differente sensibilità. In questo modo si ottengono informazioni parzialmente indipendenti tra loro, che sono poi assemblate con metodi di "pattern recognition"

**Figura 4 – Immagine schematica del funzionamento del naso elettronico**



ottenendo le caratteristiche tipiche dell'olfatto: classificazione, discriminazione ed identificazione.

A differenza dei due metodi analitici già descritti, il naso elettronico non fornisce informazioni sulle molecole rilasciate ma individua un profilo caratteristico di ogni campione. Il naso elettronico deve essere quindi "istruito" per identificare quali siano i profili odorosi che si vogliono scegliere come parametro; ad es. l'odore rilasciato da un frutto acerbo, a maturazione ideale o sovramaturo, oppure quando i primi sintomi di decadimento ne pregiudicano la trasportabilità o la vendibilità.

È proprio a valle di un sistema di raccolta e preparazione (lavaggio) della frutta, come il sistema di "hot water dipping", che il naso elettronico potrebbe essere collocato per misurare in maniera oggettiva (e instancabile) le caratteristiche di un frutto e permetterne la veicolazione sul mercato locale (ad es. prodotto a maturazione ideale, che si deteriorerebbe durante il trasporto), o sul mercato estero (ad esempio prodotto vicino alla maturazione completa ma che può ancora sopportare un periodo di trasporto senza una eccessiva perdita di qualità).

Il sistema del naso elettronico non è distruttivo e le sue caratteristiche gli permetterebbero di essere integrato con il sistema LPA, ad esempio durante il trasporto di un carico ortofrutticolo. I due sistemi potrebbero monitorare contemporaneamente il profilo delle sostanze volatili rilasciate (odore) e la presenza quantificabile di molecole specifiche collegate a determinati eventi di deperimento (patogenesi, fermentazione). Lo scopo di una proposta di colla-

borazione dell'ENEA con l'Università di Tor Vergata è la realizzazione di un prototipo di sistema olfattivo artificiale in grado di rivelare la presenza di attività microbica nei prodotti trasportati. Tale rivelazione sarà basata sul riconoscimento dell'impronta olfattiva dovuta alla presenza di patogenesi e dell'azione sul deperimento delle merci alimentari. Si vuole sviluppare un sistema di trasmissione remota dei segnali sensoriali, basato su protocolli di trasmissione standard (esempio TCP/IP), in modo da consentire il controllo remoto della situazione della merce viaggiante e di attivare, qualora necessario, delle azioni correttive.

In teoria, il monitoraggio "on-line" con il sistema di LPA e del naso elettronico durante il trasporto di frutta fresca permetterebbe di verificarne in tempo reale le condizioni ed addirittura di modificare i parametri di conservazione (ad esempio temperatura, contenuto in CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>, umidità) in modo da garantire sempre le condizioni ideali.

## Conclusioni

In questo articolo sono state descritte alcune tecnologie che si stanno affacciando nel campo della biologia e che in un prossimo futuro si potrebbero trasformare in strumenti utilizzabili dall'industria alimentare, in particolare l'agroindustria. La prima descritta (hot water dipping) rappresenta in un certo senso la più intuitiva, perché consiste in un sistema di autolavaggio per la frutta. Sorprendentemente, tale sistema non è un semplice lavaggio ma attiva il sistema di difesa e conservazione della frutta in maniera ina-

spettata; questa vera e propria risposta fisiologica deve essere studiata in dettaglio.

Le due tecnologie Laser (LPA e REMPI-TOF) permettono l'identificazione di sostanze volatili e non con la più alta sensibilità e permettono di effettuare studi di biochimica e fisiologia vegetale ottenendo misure che non possono essere ottenute altrimenti. L'ultima tecnologia (naso elettronico) si differenzia dalle due precedenti per la possibilità di produrre un "profilo di riconoscimento" (pattern recognition) risultato di una miscela di sostanze che interagiscono con i sensori. Tutte queste metodologie presentano elementi di complementarità e possono essere utilizzate in una catena di raccolta, conservazione e trasporto della frutta fresca. Altre tecniche si propongono, che non sono state indicate qui, come l'uso di nuovi materiali da impacchettamento, di sistemi innovativi di refrigerazione, lo sviluppo della "lingua elettronica", uso di marcatori molecolari e di sistemi ottici per l'analisi della qualità dei prodotti. È ipotizzabile che non tutte queste tecnologie troveranno applicazione corrente nell'agro-industria ma che il loro sviluppo ne permetterà la messa a punto e l'integrazione in un sistema ideale di controllo della raccolta e del trasporto.

L'autore ringrazia i colleghi con i quali collabora e che hanno messo a disposizione le loro fonti per la stesura di questo articolo. In particolare si ringraziano i colleghi del progetto FAIR CT98-4211 "Fruta Fresca: improvement of natural resistance in fruit"<sup>13</sup>: Eli Fallik, ARO, The Volcani Center, Bet Dagan, Israele (*hot water dipping*), Angel Gonzalez Ureña, Università di Madrid, Spagna (REMPI-TOF), David Parker, Frans

Harren, Sacco e Lintel-Hekkert e Simona Cristescu, Università di Nimega, Paesi Bassi (LPA system).

Si ringrazia inoltre Corrado Di Natale, Università di Tor Vergata, Roma (naso elettronico). Si ringraziano infine i colleghi della Sezione Genetica e Genomica Vegetale dell'Unità tecnico-scientifica Biotecnologie, Protezione della Salute e degli Ecosistemi dell'ENEA per i commenti critici durante la stesura dell'articolo.

## Bibliografia

1. THEOLOGIS A., *One rotten apple spoils the whole bushel: the role of ethylene in fruit ripening*. Cell. 1992 Jul 24;70(2):181-4. Review
2. CAUSIER B., KIEFFER M., DAVIES B., *Plant biology. MADS-box genes reach maturity*. Science. 2002 Apr 12; 296(5566):275-6.
3. LURIE S., FALLIK E., HANDROS A., SHAPIRA R., *The possible involvement of peroxidase in resistance to Botrytis cinerea in heat treated tomato fruit* Physiol. Mol. Plant Pathol.. 1997 Mar;50(3):141-9.
4. FALLIK E., ILIC Z., ALKALAI-TUVIA S., COPEL A., POLEVAYA Y., *A short hot water rinsing and brisbing reduces chilling injury and enhances resistance against Botrytis cinerea in fresh harvested tomato* Adv. Hort. Sci. 2002 16(1);3-6.
5. UREÑA A.G., Instituto Pluridisciplinar, Unidad de Laseres y Haces Moleculares, Universidad Complutense de Madrid, Informative Bulletin, dicembre 1999.
6. JANG M. ET AL., *Cancer Chemopreventive Activity of Resveratrol, a Natural Product Derived from Grapes*. Science 1997 January 10; 275: 218-220.
7. HARREN F.J.M., REUSS J., 1997. *Photoacoustic spectroscopy*, p. 413-435. In G. L. Trigg (ed.), Encyclopedia of applied physics, vol. 19. VCH Publishers, Inc., Weinheim, Germany.
8. Life Science Trace Gas Exchange Facility at University of Nijmegen, the Netherlands. (<http://www-tracegasfac.sci.kun.nl/>).
9. DE MARTINIS D., COTTI G., TE LINTEL HEKKER S., HARREN F.J., MARIANI C., *Ethylene response to pollen tube growth in Nicotiana tabacum flowers*. Planta. 2002 Mar;214(5):806-12.
10. CRISTESCU S.M., DE MARTINIS D., TE LINTEL HEKKERT S., PARKER D.H., HARREN F.J.M., *Ethylene production by Botrytis cinerea in vitro and in tomato fruit* (in stampa, novembre 2002).
11. MANNINO S., BENEDETTI S., BURATTI S., *Il naso elettronico: principi ed applicazioni nel settore alimentare*. Info Sheet n. 10-1/7/2000, diSTAM, Università di Milano. ([http://users.unimi.it/~distam/info/info\\_s10.htm](http://users.unimi.it/~distam/info/info_s10.htm)).
12. DI NATALE C., MACAGNANO A., MARTINELLI E., PAOLESSE R., PROIETTI E., D'AMICO A., *The evaluation of quality of post-harvest oranges and apples by means of an electronic nose*. Sensors and Actuators B 78 (2001) 26-31
13. FAIR CT98-4211, *Fruta Fresca: improvement of natural resistance in fruit* (<http://www.ucm.es/info/ffresca/>).