



DIPARTIMENTO DI SCIENZE AGRARIE ALIMENTARI E AMBIENTALI

CORSO DI LAUREA IN: SCIENZE E TECNOLOGIE AGRARIE

VALUTAZIONE DEL CONTENUTO IN  
SOLIDI SOLUBILI E DELL'ACIDITÀ DI  
FRUTTI DI FRAGOLA ATTRAVERSO  
METODI DISTRUTTIVI E NON  
DISTRUTTIVI

*Evaluation of soluble solids content and acidity of  
strawberry fruits through destructive and non-  
destructive methods*

*TIPO TESI: (sperimentale)*

STUDENTE

MARCO COZZI

RELATORE

PROF. FRANCO CAPOCASA

CORRELATORI

DOTT. LUCA MAZZONI

DOTT.SSA MANUELA MANCINI

ANNO ACCADEMICO 2022-2023



# SOMMARIO

ELENCO DELLE TABELLE .....	5
ELENCO DELLE FIGURE .....	6
ELENCO DEI GRAFICI .....	7-8
INTRODUZIONE .....	9-10
CAPITOLO 1 LA FRAGOLA .....	11
1.1 Descrizione ed origine della specie coltivata .....	11-12
1.2 Caratteristiche botaniche in Fragola .....	12-13
1.3 Classificazione delle cultivar .....	14
1.4 Il concetto di qualità nei frutti di fragola .....	15-17
1.5 Principali metodi di analisi qualitative per i frutti di fragola .....	17-18
1.6 Spettroscopia NIR.....	19-20
CAPITOLO 2 SCOPO DELLA TESI .....	21
CAPITOLO 3 MATERIALI E METODI .....	22
3.1 Descrizione campo e tecnica colturale adottata .....	22-23
3.2 Materiale Vegetale .....	23-25
3.3 Campionamento .....	26
3.4 Spettroscopia NIR.....	26-27
3.5 Conservazione dei frutti.....	28
3.6 Analisi degli zuccheri .....	29-30
3.7 Anali degli acidi.....	30-32
3.8 Analisi statistica.....	32
3.9 Analisi multivariata dei dati .....	33
3.9.1 Pretrattamenti.....	33
3.9.2 PCA.....	34-35
3.9.3 PLS.....	35-36
CAPITOLO 4 RISULTATI E DISCUSSIONE.....	37

4.1 Contenuto in solidi solubili .....	37-38
4.2 Acidità del frutto .....	38-39
4.3 Distribuzione dei genotipi in base all'acidità e al contenuto in solidi solubili rispetto alle medie dei due parametri .....	39-40
4.4. Analisi PCA .....	40
4.4.1 PCA calcolata sulla matrice_tool G .....	40-45
4.4.2 PCA calcolata sulla matrice Tool P.....	45-50
4.4.3 PCA su contenuto in solidi solubili e acidità ottenuti dalla matrice_toolG	51-54
4.4.4 PCA su contenuto in solidi solubili ottenuti dalla matrice_toolP.....	55-56
4.5 Partial Least Squares Regression PLS .....	57-60
CAPITOLO 5 CONCLUSIONI.....	61-62
BIBLIOGRAFIA .....	63
RINGRAZIAMENTI.....	64

## ELENCO TABELLE

Tabella 1: Descrizione materiale vegetale oggetto della sperimentazione.....	23-25
Tabella 2: Parametri di acquisizione dello spettrofotometro Micro-NIR.....	27
Tabella 3 pretrattamenti utilizzati per costruire i modelli di predizione del contenuto in solidi solubili per la matrice dei dati Tool_G. Il miglior modello di predizione viene evidenziato.....	57
Tabella 4: pretrattamenti utilizzati per costruire i modelli di predizione del contenuto in solidi solubili per la matrice dei dati Tool_P. Il miglior modello di predizione viene evidenziato .....	58

## ELENCO DELLE FIGURE

Figura 1: Rappresentazione morfologica della pianta di fragola.....	13
Figura 2: Spettro elettromagnetico con un focus nel campo dell'infrarosso.....	19
Figura 3: Fragole suddivise in base al genotipo e stoccate in contenitori in plastica per poter essere trasportate in laboratorio.....	26
Figura 4: Micro-NIR con finestra acquisizione da 18-20mm di diametro.....	27
Figura 5: Micro-NIR con tool tablet probe da 8mm di diametro.....	27
Figura 6: Frutti conservati separatamente in sacchetti di plastica, con rispettive targhette di riconoscimento.....	28
Figura 7: Frutti messi a scongelare singolarmente in contenitori di plastica.....	28
Figura 8: Frutto disposto sul colino.....	29
Figura 9: Acheni separati dal succo.....	29
Figura 10: Prelievo succo con pipetta Pasteur.....	30
Figura 11: Deposito succo su lente rifrattometro.....	30
Figura 12: Concentrazione solidi solubili espressa in °Brix.....	30
Figura 13: Prelievo 5mL di acqua Milli-Q.....	31
Figura 14: Prelievo 100µL di succo.....	31
Figura 15: Soluzione acqua Milli-Q più succo.....	32
Figura 16: Miscelazione soluzione con vortex.....	32
Figura 17: Concentrazione espressa in % acido citrico.....	32

## ELENCO DEI GRAFICI

Grafico 1: Contenuto in solidi solubili (SS) dei frutti dei genotipi analizzati tramite rifrattometro.....	38
Grafico 2: Acidità del frutto (%acido citrico) dei 16 genotipi analizzati tramite rifrattometro/acidimetro.....	39
Grafico 3: Distribuzione dei 16 genotipi in base al contenuto in solidi solubili e acidità.....	40
Grafico 4: Score-plot della PCA di tutti i frutti raccolti nella stagione vegetativa 2022 ed analizzati con il Micro-NIR, finestra di acquisizione di 18-20mm di diametro.....	41
Grafico 5: Score- plot della PCA riportata nel grafico 4 con ellissi di confidenza per i 16 genotipi analizzati.....	42
Grafico 6: loading-plot delle componenti principali PC1 e PC2 dei dati ottenuti con lo strumento portatile Micro-NIR, con finestra di acquisizione da 18-20mm di diametro.....	43
Grafico 7: spettri medi dei tre gruppi di genotipi osservati nel grafico 5 e del genotipo AN16,34,55 (Type7) utilizzando il pretrattamento di derivata prima (finestra dello spettro di 9 valori, secondo ordine polinomiale) .....	45
Grafico 8: Score-plot della PCA di tutti i frutti raccolti nella stagione vegetativa 2022 ed analizzati con il Micro-NIR e tool table probe di 8 mm di diametro.....	46
Grafico 9: Score-plot della PCA riportata nel grafico 8 con ellissi di confidenza per i 16 genotipi analizzati.....	47
Grafico 10: loading-plot delle componenti principali PC1 e PC2 I dei dati ottenuti con lo strumento portatile Micro-NIR, con tool table probe da 8mm di diametro.....	48
Grafico 11: spettri medi dei tre gruppi di genotipi osservati nello score-plot (grafico 9) e spettro medio del genotipo AN16,34,55 (Type7) utilizzando il pretrattamento di derivata prima (finestra dello spettro di 9 valori, secondo ordine polinomiale).....	50
Grafico 12: score-plot della PCA con i campioni di fragola colorati in relazione al contenuto in solidi solubili (matrice toolG, 9der1).....	51

Grafico 13: score-plot della PCA calcolata eliminando 6 genotipi di fragola e colorando i campioni in relazione al contenuto in solidi solubili (matrice toolG, 9der1).....	52
Grafico 14: score-plot della PCA con i campioni di fragola colorati in relazione al contenuto di acidità (matrice toolG, 13der1).....	53
Grafico 15: score-plot della PCA calcolata eliminando 6 genotipi di fragola (Dina, Francesca, AN16,15,53, AN13,13,55, AN14,12,58, AN16,53,54) e colorando i campioni in relazione al contenuto di acidità (matrice toolG, 13der1).....	54
Grafico 16: score-plot della PCA con i campioni di fragola colorati in relazione al contenuto in solidi solubili (matrice toolP, 9der1).....	55
Grafico 17: score-plot della PCA calcolata eliminando 6 genotipi di fragola (Dina, Francesca, AN16,15,53, AN13,13,55, AN14,12,58, AN16,53,54) e colorando i campioni in relazione al contenuto in solidi solubili. (matrice toolP, 9der1).....	56
Grafico 18: retta di regressione del modello di predizione dei solidi solubili per la matrice Tool G, ottenuto con il pretrattamento 9der1 e con 8LVs.....	59
Grafico 19: retta di regressione del modello di predizione dei solidi solubili, per la matrice Tool P, ottenuto con il pretrattamento snv e con 7 LVs.....	60



## INTRODUZIONE

La fragola è una pianta perenne i cui frutti rientrano nel grande gruppo dei piccoli frutti all'interno del quale troviamo lampone, rovo e mirtillo. Le principali varietà di fragola ad oggi coltivate nel mondo derivano dall'ibrido interspecifico (ottoploide) *Fragraria x ananassa* ottenuto nella prima metà del 1700.

Nel 2021 la produzione mondiale della fragola ha superato i 9 milioni di tonnellate (dati FAO), i principali produttori sono la Cina con 3,2 milioni di tonnellate (un terzo della produzione mondiale), gli USA con 1.2 milioni di tonnellate e la Turchia con 670 mila tonnellate. L'Italia si è classificata come 14° produttore mondiale con 117 mila tonnellate. Nel 2022 c'è stato un rinnovato interesse con un aumento del 4% della superficie coltivata (fonte: CSO Italy) grazie al quale l'Italia è diventata il 4° produttore a livello europeo con 130 mila tonnellate dietro a Spagna, Polonia e Germania (fonte CSO Italy). Le prime regioni (italiane) produttrici sono la Basilicata e la Campania che, con oltre 1.000 ettari cadauna, coprono il 50% della superficie coltivata per un ammontare di oltre 4.100 ettari. Il Sud Italia raggiunge i 2.600 ettari, mentre nel Nord Italia, con un incremento del 9%, arriva quasi a 1.000 ettari, principalmente concentrati in Piemonte, Emilia-Romagna, nel Veronese e nelle province di Trento e Bolzano (fonte CSO Italy).

La fragola è una specie frutticola notevolmente influenzata dall'ambiente di coltivazione e poiché ogni areale fragolicolo ha le proprie caratteristiche pedoclimatiche essi presentano un loro standard varietale (Walther Faedi et al. 2004). Nella zona del centro-Italia la fragolicoltura si concentra soprattutto nel Lazio (area di Latina), Abruzzo (aree di Francavilla e di Pescara) e nelle Marche (nelle province di Ancona ed Ascoli Piceno) (Walther Faedi et al. 2004).

La fragola ad oggi presenta un calendario di produzione che copre ormai l'intero anno, questo si deve ai vari programmi di miglioramento genetico, che oltre a concentrarsi sull'aspetto qualitativo e produttivo mirano ad ottenere: cultivar a diversa epoca di maturazione in grado di adattarsi a terreni non bromurati, argilloso-calcarei e soprattutto ai vari valori di ph, e all'introduzione di nuove tecniche di coltivazione come la coltivazione fuori suolo su substrati come la torba in coltura protetta e con l'utilizzo di diverse tipologie di materiale di propagazione. In Italia la raccolta inizia già nel mese di gennaio nelle aree più calde della

Sicilia per raggiungere poi un picco nei mesi di aprile e maggio, con le produzioni campane, lucane, romagnole e venete. Durante l'estate si hanno le produzioni di montagna piemontesi e trentine; in autunno le fragole derivano dalle colture veronesi. La raccolta delle fragole nella regione Marche inizia la seconda decade di aprile e termina la seconda decade di giugno.

# Capitolo 1

## LA FRAGOLA

### 1.1 Descrizione ed origine della specie coltivata

La fragola appartiene alla famiglia delle *Rosaceae*, sottofamiglia *Rosoidea*, genere *Fragaria*. Fanno parte di questo genere diverse specie che possono essere classificate in base al loro livello di ploidia sapendo che il numero cromosomico di base è pari a 7. Nel 1500 la fragola non aveva ancora trovato una sicura collocazione sistematica né una valorizzazione agronomica, in Europa era comune una specie di fragola spontanea diploide ( $2x=2n=14$ ) chiamata *Fragaria vesca* L. o meglio nota come fragolina di bosco poiché il sottobosco era il suo habitat naturale. *F. vesca* L. veniva propagata tramite stoloni e trapiantata nei giardini dove era impiegata nelle bordure delle aiuole, valorizzandola per la sua fioritura e non per l'aspetto produttivo caratterizzato da frutti piccoli, di forma da rotonda a conico-allungata, molto aromatici a completa maturazione e con un elevato rapporto acheni/polpa. Esistevano due sottospecie di *F. vesca* L. conosciute come la fragola bianca (*F. sylvestris* var. *alba*) e fragola rifiorente (*F. sylvestris* var. *semperflorens*). In Europa oltre a questa specie diploide era possibile trovare altre due specie spontanee sempre appartenenti al genere *Fragaria*: *F. viridis* Duch. Diploide ( $2x=2n=14$ ) di forte interesse genetico per la sua tolleranza ai terreni calcarei e per la polpa soda dei frutti e *F. moschata* Duch. Esaploide ( $6x=2n=42$ ), quest'ultima dioica ma anche ermafrodita con frutto medio-grande e aromatico. Nel 1712 un militare francese tale Amédée François Frézier durante un viaggio in Cile notò delle piante di fragola con frutti di grandi dimensioni non presente in Europa, si trattava di *Fragaria chiloensis* L. una specie ottoploide ( $8x=2n=56$ ) anche conosciuta con il nome di frutilla. Il militare raccolse e conservò alcune di queste piante e una volta tornato in Europa si cominciò a coltivarle ma fino alla metà del 1700 la produzione di *Fragaria chiloensis* fu incerta fino a quando nel 1766 Antoine Nicolas Duchesne, un giovane francese, non decise di concentrarsi sullo studio di queste nuove piante e capì che queste potevano avere fiori ermafroditi ma anche unisessuali. Quest'ultimo carattere dei fiori fu ritrovato sia in *F.*

*chiloensis* che in *F. moschata*. Questo perché nel primo anno in cui Antoine coltivò questa nuova fragola, le piante non fiorirono e solo dopo vari studi capì che, le piante avevano tutti fiori femminili. Successivamente andando a coltivare queste piante vicino a piante di *F. moschata* con fiori maschili ottenne i primi frutti. Questo incrocio interspecifico è alla base della fragolicoltura moderna. La fragola attuale derivava dall'ibridazione casuale avvenuta tra due specie ottoploidi ( $8x=2n=56$ ) *Fragaria virginiana* (proveniente dagli Stati Uniti orientali) e *Fragaria chiloensis* (proveniente dal Cile) nel 1766 (Angelini, R. (2010). La fragola. Art Servizi SpA Bologna.). La nuova specie prese il nome di *Fragaria X ananassa*, presentava frutti di elevate dimensioni e i suoi semi germinabili diedero origine a piante con fiori perfetti e di facile impollinazione. Da questa nuova specie derivano quasi tutte le varietà di fragola ad oggi coltivate.

## **|1.2 Caratteristiche botaniche in Fragola**

La fragola è una pianta perenne costituita da:

- Fusto raccorciato di lunghezza variabile da qualche cm fino a 10 cm dove vengono accumulate le sostanze di riserva.
- Apparato radicale fascicolato che si sviluppa principalmente nei primi 25-30cm di suolo e che svolgono una duplice funzione di:
  - assorbimento di acqua ed elementi nutritivi dal suolo necessari per permettere alla pianta di svilupparsi e fruttificare
  - accumulo sostanze di riserva principalmente lipidi e zuccheri durante la stagione di riposo le quali saranno poi mobilizzate alla ripresa vegetativa per sostenere tutte le attività della pianta fino a quando le radici non torneranno a svolgere la loro funzione assorbente.
- Foglie con lunghi piccioli alla cui base possiamo trovare due stipole, sono composte da 3 fogliole di forma ovale più o meno allungata, dentate e riunite a rosetta. All'ascella delle foglie possiamo trovare delle gemme che a seconda del fotoperiodo e dei valori di temperatura potranno originare infiorescenze o germogli di accrescimento chiamati Stoloni (Dott. G. Cristiano 1giugno2018). Gli stoloni sono fusti striscianti con andamento orizzontale, nel momento in cui vengono in contatto con il suolo sono in grado di radicare e dare origine ad una nuova piantina geneticamente identica alla pianta madre. L'insieme delle piante legate tra loro tramite stoloni prendono il nome di catena stolonifera. La fragola si propaga per via vegetativa

sfruttando la capacità che le diverse cultivar hanno di produrre germogli di accrescimento e nuove piantine.

- Fiori raccolti in infiorescenze (racemi) sono inseriti sul fusto e sui germogli all'ascella delle foglie, presentano un asse primario e diversi assi di ordine superiore terminanti con un fiore. La differenziazione è scalare, prima l'asse primario poi i successi.
- Fiore perfetto, ermafrodita, con organi maschili (stami) posti intorno al ricettacolo in cui si trovano, disposti a spirale, gli organi femminili o pistilli. Ogni pistillo è composto da un ovario contenete un ovulo che fecondato darà origine all'achenio. È costituito da un calice con 5 o più sepalì e una corolla con 5 o più petali di vario colore, più comunemente bianchi. (Neri et al.,2012)
- Frutto è in realtà un'infruttescenza ovvero un falso frutto poiché ciò che mangiamo deriva dallo sviluppo, dopo che è avvenuta la fecondazione, del ricettacolo. Ai fini di un corretto sviluppo del "frutto" è importante che tutti i pistilli vengano fecondati. Se ciò non avviene si possono formare frutti deformati o malformati. Dobbiamo quindi evitare tutte le condizioni che possono sfavorire una corretta impollinazione, come eccessi di sbalzi termici, scarso arieggiamento ecc..

Il frutto che si origina dal fiore primario avrà dimensione maggiore mentre gli altri frutti di ordine inferiore saranno di dimensioni minori. Le diverse cultivar possono presentare frutti di pezzatura e forma variabile. Queste ultime due caratteristiche del frutto sono ad oggi tra gli obiettivi del miglioramento genetico, questo perché si desidera avere frutti omogenei tra loro e della forma più apprezzata dal consumatore. Il vero frutto della fragola è l'achenio definito, un frutto secco indeiscente, sono presenti in soprannumero e si immergono nel ricettacolo in maniera differente, a volte, se poco immersi possono creare fastidi durante la masticazione rendendo la fragola poco gradevole.

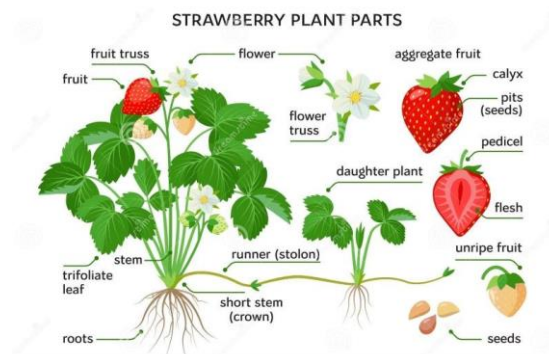


Figura 1: Rappresentazione morfologica della pianta di fragola (www.Dreamstime.com)

### **|1.3 Classificazione delle cultivar**

Le cultivar di Fragola vengono distinte in base alla reazione al fotoperiodo in 3 gradi classi

✓ **Cultivar Brevidiurne- Unifere**

Differenziazione delle gemme a fiore in autunno, ciò comporta un'unica fioritura annuale nella stagione primaverile e per questo definite unifere. Induzione delle gemme a fiore in condizioni di giorno corto ovvero con meno di 12 ore di luce e con temperature inferiori ai 15°C. Con una temperatura superiore ai 30°C la differenziazione non avviene.

✓ **Cultivar Riflorenti – Neutrodiurne**

Le cultivar che appartengono a questa classe per la differenziazione a fiore delle gemme non sono influenzate dal fotoperiodo e per questo definite neutrodiurne. La differenziazione presenta però come limite principale la temperatura giornaliera.

✓ **Cultivar Riflorenti-Longidiurne**

La differenziazione delle gemme a fiore avviene in primavera-estate quando le giornate iniziano ad allungarsi e presentano più di 14 ore di luce. A questa classe appartengono cultivar ad oggi poco coltivate.

Le condizioni ambientali che influenzano la differenziazione a fiore, quindi numero di ore di luce e temperatura (termo-fotoperiodo), vengono percepite dalla pianta attraverso gli apici meristemati dei germogli in crescita. Se i germogli non sono in attiva crescita non subiscono più l'induzione e la successiva differenziazione a fiore. Un'ulteriore classificazione può essere fatta in base alla loro epoca di maturazione, parliamo di:

✓ **Cultivar a maturazione precoce**

✓ **Cultivar a maturazione intermedia**

✓ **Cultivar a maturazione tardiva**

✓ **Cultivar a maturazione molto tardiva**

Questa grande variabilità nel periodo di maturazione, ottenuta grazie ai vari programmi di miglioramento genetico e alle nuove tecniche colturali come la coltivazione fuori suolo e sotto serra, permette di commercializzare la fragola in quasi tutti i mesi dell'anno.

#### **|1.4 Il concetto di qualità nei frutti di fragola**

Con il passare degli anni è sempre più difficile riuscire a soddisfare i consumatori che diventano sempre più esigenti dal punto di vista della qualità alimentare. Proprio per questo motivo nel settore della fragolicoltura i programmi di miglioramento genetico da diversi anni hanno come scopo l'ottenimento di frutti qualitativamente superiori a quelli già esistenti. Quando si parla di qualità però non si deve fare l'errore di considerare solo le caratteristiche organolettiche di un frutto in quanto si hanno diversi tipi di qualità:

- Sanitaria ad oggi molto ricercata dal consumatore e di conseguenza anche dai produttori. Si prediligono frutti integri, senza segni di malattia e privi di residui di fitofarmaci. Si va sempre più alla ricerca di un prodotto sicuro sia dal punto di vista alimentare che ambientale e per questo ci si sta muovendo in due direzioni: - ottenere cultivar che presentino geneticamente una maggiore resistenza ai principali patogeni della fragola; - produzione di mezzi di controllo naturali in grado di sostituire i prodotti di sintesi che mantengano però la medesima efficacia e presentino un minore rischio di inquinamento.
- Commerciale, prende in considerazione diversi aspetti del frutto come forma, colorazione, resistenza alle manipolazioni e attitudine alla conservazione. In base alla cultivar di appartenenza le fragole possono presentare una forma differente: conico, conico allungato, globoso, conico globoso, ovoidale, cordiforme, biconico, cuneiforme allungato, cuneiforme corto e oblato. La stessa pianta in realtà può produrre frutti poco omogenei tra loro sia per dimensioni (frutto primario solitamente più grande) che per forma poiché può accadere che l'impollinazione a causa di eventi avversi non avvenga in maniera ottimale e i frutti siano deformi o comunque non omogenei tra loro. La forma solitamente più apprezzata dal consumatore è quella conico-allungata. La colorazione invece, oltre ad essere un aspetto qualitativo per il consumatore, che predilige frutti con una colorazione rossa omogenea, è anche un importante indice di maturazione con il quale il produttore riesce ad individuare lo stato di maturazione ideale per la raccolta. La resistenza alla manipolazione è una caratteristica molto importante ma non presente in tutte le cultivar, i frutti sono meno suscettibili agli urti durante i trasporti e alle varie operazioni di raccolta e post-raccolta (i frutti restano sani), qui influisce la durezza della polpa e la resistenza della superficie. Fragole con una buona shelf life permettono di conservarle per più tempo evitando che dopo qualche giorno inizino ad intravedersi marciumi, disfacimenti ecc

➤ Nutrizionale: riguarda il contenuto di elementi nutritivi presenti. Il frutto è costituito per il 90% da acqua mentre la restante percentuale viene ripartita tra lipidi, proteine, carboidrati, zuccheri, acidi, vitamine, fibre alimentari, sostanze polifenoliche. Le fibre svolgono una serie di azioni positive sulla salute: il loro effetto saziante oltre che contribuire alla riduzione dell'apporto calorico nella dieta, permette la regolazione dell'indice glicemico rallentando la digestione. (Mazzoni et al.2013). Alto contenuto di vitamina C il che rende questo frutto una delle principali fonti alimentari di questo composto (la sua concentrazione aumento man mano che il frutto raggiunge la maturità), presenti anche svariate tipologie di vitamine del gruppo B tra le quali risaltano i folati. Minerali soprattutto manganese, potassio, ferro e fosforo. Composti fenolici rappresentati da flavonoidi (principalmente antociani) e tannini idrolizzabili, in minor misura da acidi fenolici e tannini condensati. Le concentrazioni di questi composti diminuiscono al progredire della maturazione, il loro livello è maggiore in frutti acerbi. (Mazzoni et al.2013) La vitamina C e i composti fenolici sono ottimi antiossidanti, sono quindi in grado di bloccare i processi ossidativi ai quali possono andare incontro i frutti durante la conservazione.

➤ Sensoriale influisce sul grado di soddisfazione del consumatore, essa dipende dalla consistenza, dall'aspetto, dall'aroma e dal gusto del frutto. Sul gusto vanno ad incidere il contenuto di zuccheri e acidi ma soprattutto il loro rapporto, solitamente il consumatore predilige i frutti in cui questo rapporto è in equilibrio conferendo un gusto né troppo acido né troppo zuccherino. Gli zuccheri che possiamo trovare nella fragola sono glucosio, saccarosio e fruttosio, quest'ultimo è presente in maggiori concentrazioni rispetto agli altri due; l'acidità è rappresentata dall'acido citrico. Le sostanze volatili vanno ad influenzare l'aroma del frutto, sull'aspetto incidono tutta una serie di caratteristiche estetiche già citate nella qualità commerciale (forma, colore, assenza di danni).

La dolcezza, espressa in solidi solubili totali (°Brix), si riduce quando, in prossimità della raccolta, si verificano basse temperature e nuvolosità (Kader, 1988; Morris e Sistrunk, 1991), condizioni che inducono anche ad un innalzamento dell'acidità titolabile (Kidmose et al. 1996); valori elevati di temperatura diurna/notturna, attorno ai 30/22°C, nel periodo successivo alla fioritura fino alla raccolta, determinano scarsi contenuti di solidi solubili e di acidità dei frutti, mentre valori di temperatura  $\leq$  a 25°C, ma con escursione termica fra giorno e notte pari a



7÷8°C, favoriscono l'incremento di entrambi i parametri (Wang e Camp, 2000). L'acidità ha un controllo genetico più forte rispetto al contenuto di solidi solubili totali (SST), questo infatti è maggiormente dipendente dalle condizioni ambientali.

### **|1.5 Principali metodi di analisi qualitative della fragola**

Le caratteristiche qualitative dei frutti vengono determinate principalmente attraverso analisi di tipo distruttivo le quali forniscono dati affidabili ma, presentano forti limiti in quanto richiedono molto tempo per essere eseguite e possono essere effettuate solo su piccoli campioni rappresentativi di partite di prodotto molto più grandi, perché prevedono la distruzione del frutto e quindi notevole perdita di prodotto e di guadagno. Essendo analisi di tipo distruttivo i frutti commercializzati non saranno mai quelli realmente sottoposti ai vari studi, ma simili.

Gli strumenti maggiormente utilizzati per eseguire queste analisi sono:

- **Rifrattometro digitale:** fornisce il contenuto zuccherino di un campione liquido esprimendo il risultato in °Brix. Lo strumento misura l'indice di rifrazione sulla base di un angolo critico di rifrazione. Per eseguire questa analisi occorrono pochi microlitri (µL) di succo di fragola. Ad oggi esistono dei rifrattometri digitali in grado di misurare oltre agli zuccheri anche gli acidi esprimendo questi ultimi in % di acido citrico (rifrattometro-acidimetro). Questo è lo strumento utilizzato per eseguire le analisi oggetto di questa tesi.
- **Penetrometro:** misura la durezza della polpa dei frutti esprimendo il risultato in Kg, g, N. Questo strumento fornisce informazioni preziose sul periodo più opportuno per la raccolta della frutta, sul processo di maturazione e conservazione in frigo, inoltre permette all'operatore di conoscere la sensibilità del prodotto alle manipolazioni.

Da tempo esistono diversi metodi di analisi non distruttive che possono essere quindi applicati su tutti i frutti e non solo su un campione rendendo i risultati più attendibili. I parametri qualitativi misurati con queste tecniche sono il colore, la pezzatura, il peso e la durezza. Gli strumenti utilizzati sono:

- **Colorimetro:** misura l'assorbimento di particolari lunghezze d'onda della luce da parte di un campione, in questo caso la fragola. L'analisi colorimetrica permette di controllare la variazione del colore durante l'intero processo, dal campo al punto vendita. Il colore della superficie del frutto è un buon indice di maturazione.
- **Calibro:** È costituito da una serie di anelli di diverso diametro che permette di suddividere i frutti in base alle loro dimensioni.
- **Bilancia:** misura il peso dei frutti, molto importante nel momento in cui le fragole vengono vendute in cestini che devono avere un peso preciso.
- **Durometro:** in grado di sostituire il penetrometro nella misurazione della durezza. Non provoca alcun tipo di perforazione, il puntale dello strumento lascia sulla superficie del frutto una semplice impronta.

Negli ultimi anni si sta cercando di sostituire completamente le tecniche di analisi distruttive con delle tecnologie veloci e soprattutto affidabili che garantiscono l'integrità del frutto, per raggiungere questi obiettivi si è posta l'attenzione sulla spettroscopia che permette di studiare la struttura di molecole ed atomi attraverso lo studio dei loro spettri. Questa nuova tecnologia fu inventata per essere applicata nel settore della medicina, solo in seguito, con il passare degli anni è stata adattata anche ad altre applicazioni come nell'arte, nel settore della plastica, nelle industrie e nell'alimentare come nel nostro caso. Esistono diverse tipologie di spettroscopia in base alle radiazioni elettromagnetiche utilizzate (per ogni regione dello spettro elettromagnetico abbiamo una spettroscopia). Con queste analisi, definite non distruttive, potremmo finalmente immettere in commercio frutti dei quali conosciamo ogni singola caratteristica. La tecnica che ad oggi si sta cercando di adattare anche all'industria alimentare è la spettroscopia nel vicino infrarosso (NIR) la quale studia l'interazione tra le radiazioni di lunghezza d'onda comprese tra  $12500\text{cm}^{-1}$  e  $4000\text{cm}^{-1}$  e il campione che si sta esaminando. Da questa interazione si possono ottenere una serie di informazioni sulla composizione chimica del frutto. Con la spettroscopia NIR possiamo quindi conoscere contemporaneamente tutti i principali parametri qualitativi mentre con le tecniche distruttive ogni parametro viene misurato con un apposito strumento. Un altro grande vantaggio di questa tecnica di analisi non distruttiva è che permette di conoscere il quantitativo di legami organici, quindi abbiamo un quadro della composizione chimica del frutto più dettagliato. La spettroscopia NIR può essere eseguita in trasmittanza o in riflettanza in base al tipo di campione analizzato. La prima modalità viene utilizzata con campioni liquidi che si lasciano attraversare dalla radiazione; la seconda modalità invece viene usata per campioni solidi che non si lasciano attraversare dalla radiazione del vicino infrarosso.

## 1.6 Spettroscopia NIR

La spettroscopia nell'infrarosso è una tecnica analitica che si basa sull'interazione tra la radiazione elettromagnetica nel range dell'infrarosso e il campione/materia in esame dando informazioni sulla sua composizione chimica e fisica. La tecnica della spettroscopia può andare ad utilizzare diverse lunghezze d'onda (esprese in  $\text{cm}^{-1}$  o in nm) all'interno della regione dell'infrarosso, distinguendo pertanto:

1. vicino infrarosso o NIR (così chiamata perché sfrutta lunghezze d'onda vicine a quelle del rosso nella regione del visibile) da  $12500 \text{ cm}^{-1}$  a  $4000 \text{ cm}^{-1}$  (da 800nm a 2500 nm);
2. medio infrarosso o MIR da  $4000 \text{ cm}^{-1}$  a  $400 \text{ cm}^{-1}$  (da 2500 nm a 25000nm);
3. lontano infrarosso o FIR da  $400 \text{ cm}^{-1}$  a  $20 \text{ cm}^{-1}$  (da 25000 nm a 50000 nm).

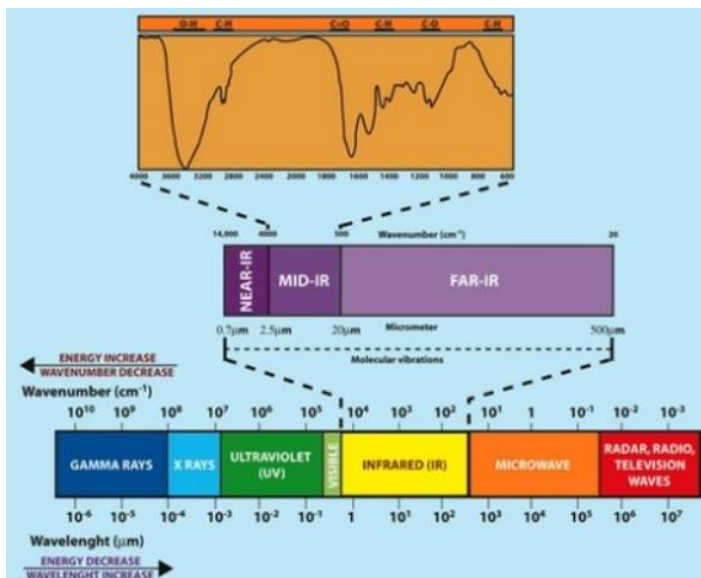


Foto 2. Spettro delle radiazioni elettromagnetiche con un focus nel campo dell'infrarosso.

La spettroscopia nel vicino infrarosso (NIR) viene anche definita vibrazionale perché quando la radiazione elettromagnetica interagisce con il campione si verifica un trasferimento di energia sotto forma di fotoni, ciò comporta il passaggio da uno stato vibrazionale fondamentale ad uno eccitato. In sintesi, si ha il passaggio da energia elettromagnetica a energia vibrazionale, pertanto i legami tra gli atomi iniziano ad aumentare l'ampiezza dei loro movimenti. A causa di questi moti vibrazionali le molecole compiono svariati movimenti che vengono raggruppati in movimenti di stretching (allungamento dei legami chimici tra gli atomi) e di bending (cambiamento dell'angolo dei legami chimici tra gli atomi). Grazie ad un'equazione matematica (legge di Beer-Lambert) la spettroscopia NIR è in grado di determinare la quantità

di energia elettromagnetica assorbita dal campione in esame e quella che invece viene riflessa, partendo dalla radiazione in ingresso nel nostro sistema.

Il risultato dell'analisi NIR è uno spettro, ovvero un grafico di assorbimento dove sulle ascisse sono riportate le lunghezze d'onda mentre in ordinata la percentuale di assorbanza. Le bande di assorbimento più significative sono attribuite ai gruppi funzionali  $-CH$ ,  $-NH$ ,  $-OH$ . Da tenere presente che, nello spettro NIR, i segnali associati agli assorbimenti delle sostanze sono molto complessi, in quanto derivano dalla sovrapposizione di bande di overtone e di combinazione di vibrazioni fondamentali (che invece si possono osservare con la spettroscopia MIR dove si verificano salti energetici singoli e non multipli).

La spettroscopia NIR è influenzata dalla granulometria del campione in quanto la radiazione elettromagnetica segue un percorso diverso in base alle caratteristiche fisiche dello stesso (fenomeno di scattering). Lo scattering determina delle distorsioni spettrali in termini di intensità di assorbimento o di forma, nel capitolo 3.9.1 verrà trattato come gestire tale fenomeno. Gli strumenti che possono essere utilizzati per eseguire analisi in spettroscopia NIR si dividono principalmente in due tipologie: da banco e portatili. I primi sono più sofisticati, hanno una maggiore affidabilità e sono utilizzabili in laboratorio, mentre i portatili pur avendo una minore robustezza hanno il vantaggio di poter essere trasportati nelle aree di studio e di poter essere usati direttamente in campo.

L'analisi NIR presenta molteplici vantaggi: è veloce, può fornire informazioni sulla composizione chimica del campione, non distruggere il campione in esame (successivamente permette di analizzare e vendere il prodotto sottoposto agli studi), può essere fatta in campo e anche su prodotti già confezionati.

## Capitolo 2

### SCOPO DELLA TESI

Lo scopo della tesi è stato quello di determinare la qualità di frutti di fragola attraverso l'applicazione di metodi distruttivi e non distruttivi, e verificare la presenza di una correlazione tra le diverse metodologie di analisi, in modo da contribuire allo sviluppo di un modello previsionale della qualità di frutti di fragola senza la necessità di distruggerli. Nello specifico, i frutti sono stati analizzati in maniera non distruttiva tramite micro-NIR portatile e successivamente con il rifrattometro in entrambi i casi lo scopo era quello di determinare il contenuto in solidi solubili e di acidità.

Per effettuare questo studio, è stata valutata la qualità di frutti di fragola di diversi genotipi, nello specifico 16 genotipi della specie coltivata *Fragaria x ananassa*, provenienti dal campo sperimentale dell'Azienda Agraria Didattico Sperimentale "Pasquale Rosati" di Agugliano (AN) dell'Università Politecnica delle Marche.

## Capitolo 3

### MATERIALI E METODI

#### **3.1 Descrizione campo e tecnica colturale adottata**

Le fragole analizzate in questo studio sono state coltivate nel campo sperimentale dell'Azienda Agraria Didattico-Sperimentale "Pasquale Rosati" dell'Università Politecnica delle Marche, locata nel comune di Agugliano (AN) situato a 203 s.l.m.

Il clima di Agugliano, secondo la classificazione di Koppen e Geiger può essere definito un clima temperato-umido con estati molto calde (Cfa) questo perché la temperatura media del mese più freddo è compresa tra -3°C e +18°C e una temperatura media del mese più caldo superiore ai +22°C, le precipitazioni sono abbondanti in primavera e autunno e meno intense in estate e inverno. La temperatura media annuale è pari a 15°C, le precipitazioni annuali in questa località sono circa 681mm mediamente distribuite in 83 giorni, con minimo relativo in inverno, picco massimo in autunno. Si contano all'incirca 36 giorni all'anno con eventi nebbiosi. L'umidità relativa media annua fa registrare il valore di 75,7% con un massimo dell'82% a novembre e un minimo del 71% in estate nel mese di luglio. ([www.clima.meteoam.it/AtlanteClimatico/](http://www.clima.meteoam.it/AtlanteClimatico/))

Il suolo dove le fragole sono state coltivate è pianeggiante e le sue caratteristiche chimico-fisiche grazie ai dati ottenuti dalle analisi del suolo effettuate dall'Università risultano essere: Tessitura franco-argillosa, contenuto sostanza organica basso 1,14%, dotazione di azoto totale (N) e fosforo totale (P) scarsa, dotazione di calcare attivo alta 12,1%, pH subalcalino (7,3-8,1), alto contenuto in basi di scambio e alta capacità di scambio cationico (CSC). Tutte queste informazioni sono essenziali ai fini di un'ottima coltivazione, permettono all'agricoltore di effettuare delle correzioni al terreno prima di effettuare l'impianto delle colture e inoltre consentono di pianificare un piano di concimazione e di scegliere volumi e turni di adacquamento. Successivamente alle operazioni preliminari di lavorazione ed affinamento nel suolo sono state create le classiche baulature rialzate (file parallele rialzate rispetto al livello del suolo per permettere un ottimo scorrimento dell'acqua piovana impedendo fenomeni di ristagno), le quali sono state coperte con un telo in polietilene nero per impedire la crescita delle malerbe e al di sotto di questa copertura corrono i tubi per l'irrigazione a goccia.

Le piantine disposte a doppia fila ad una distanza di 30cm l'una dall'altra sia sulla fila che tra le file. Il disegno sperimentale adottato è quello di 4 blocchi completamente randomizzati, con parcelle formate da 8 piante per blocco per un totale di 32 piante per clone che permette di uniformare le variazioni dei parametri dovute alla localizzazione delle parcelle in campo. Sono stati utilizzati per questo studio 16 genotipi differenti di fragola le cui principali caratteristiche saranno in seguito descritte. Coltivazione in pieno campo, epoca di messa a dimora fine luglio con l'utilizzo di piantine frigoconservate di categoria A (diametro compreso tra 8mm e 12mm) e epoca di raccolta prima decade di maggio. Questa tecnica colturale presenta dei problemi a causa di ritorni di freddo, grandine e piogge eccessive o in periodi di maggiore sensibilità della fragola.

### 3.2 Materiale vegetale

Le analisi sono state condotte su 16 genotipi di fragole coltivate come precedentemente detto nel campo sperimentale dell'Università Politecnica delle Marche nel quale è attivo dal 1994 un programma di miglioramento genetico per la fragola (Tab1).

<b>VARIETA'</b>	<b>COSTITUTORE</b>	<b>ORIGINE</b>	<b>DESCRIZIONE</b>
Lauretta (LA)	UNIVPM-D3A	ITALIA	Cultivar brevidiurna a maturazione precoce-media, elevata qualità dei frutti e resistenza alle malattie. Adatta ad ambienti temperati, temperato-freddi (B. Mezzetti et al.). Frutto grande e di bella forma, bifioritura.
Sibilla (SB)	Consorzio Italiano Vivaisti (CIV)	ITALIA	Cultivar unifera, adatta a coltura di pieno campo. Maturazione medio-tardiva, frutto conico allungato di colore rosso intenso, elevata produzione, buona pezzatura, consistenza e sapore. Pianta vigorosa.

Silvia (SI)	UNIVPM-D3A	ITALIA	Cultivar brevidiurna a maturazione tardiva, elevata qualità dei frutti e resistenza alle malattie. Adatta ad ambienti temperati, temperato-freddi (B. Mezzetti et al.). Medio-elevata produttività, frutti di forma conico-corta, di buona consistenza e con una colorazione rossa intensa.
AN12,13,58	UNIVPM-D3A	ITALIA	Selezione riflorente, elevata produzione e qualità dei frutti, buona consistenza.
AN15,07,53	UNIVPM-D3A	ITALIA	Selezione a maturazione precoce, elevata qualità dei frutti
AN16,42,54	UNIVPM-D3A	ITALIA	Selezione a maturazione precoce, buona pezzatura e forma del frutto, consistenza e qualità elevate.
AN16,34,55	UNIVPM-D3A	ITALIA	Selezione con frutto di buona forma, pezzatura e consistenza, colore rosso scuro ottimale per la trasformazione
AN16,38,57	UNIVPM-D3A	ITALIA	Selezione a maturazione precoce, frutto sodo, buona dimensione e produzione.
Romina (RO)	UNIVPM-D3A	ITALIA	Cultivar unifera a maturazione precoce. Frutti dolci, di alta qualità, di forma conica o biconica.
Sveva (SE)	UNIVPM-D3A	ITALIA	Cultivar unifera a maturazione tardiva, produttività stabile e



			omogenea (F. Capocasa et al.) Frutto di elevata consistenza e dimensione con una colorazione rosso intensa, tende a scurire a piena maturazione.
AN16,53,54	UNIVPM-D3A	ITALIA	Selezione a maturazione intermedia. Frutti di buone dimensioni, forma e consistente. Produzione elevata
AN14,12,58	UNIVPM-D3A	ITALIA	Selezione rifiorente. Alta qualità accompagnata da alta produzione
AN13,13,55	UNIVPM-D3A	ITALIA	Selezione a maturazione precoce, produzione elevata, ottima pezzatura e forma dei frutti, buona qualità.
AN16,15,53	UNIVPM-D3A	ITALIA	Selezione a maturazione precoce. Frutti di buona qualità, forma, dimensioni e consistenza.
Francesca (FR)	UNIVPM-D3A	ITALIA	Cultivar brevidiurna a maturazione precoce, elevata qualità dei frutti e resistenza alle principali malattie. Adatta ad ambienti temperati, temperato-freddi (B. Mezzetti et al.). Bi-fioritura, di bell'aspetto e buona resa
Dina (DI)	UNIVPM-D3A	ITALIA	Cultivar brevidiurna a maturazione precoce, elevata qualità frutti ed elevata resilienza alle malattie. Adattabile a climi temperato-caldi e subtropicali (B. Mezzetti et al.). Bi-fioritura

Tabella 1: Descrizione materiale vegetale oggetto della sperimentazione.

### 3.3 Campionamento

La raccolta delle fragole è avvenuta manualmente alla metà della raccolta produttiva cercando di selezionare i frutti “migliori” ovvero che abbiano raggiunto il giusto grado di maturazione, colorazione rossa uniforme su tutta la superficie, assenza di deformazioni e malattie (muffe) e più o meno della stessa pezzatura. L’obiettivo era quello di raccogliere in media 20 frutti per genotipo dai 4 blocchi sperimentali. Per alcuni genotipi sono stati raccolti in realtà un numero maggiore di frutti in modo tale da poterne effettuare poi un’ulteriore selezione in laboratorio mentre, per altri, non si è riusciti a selezionare il numero di frutti prefissato a causa di eventi climatici che hanno impedito di entrare in campo una volta raggiunto il giusto grado di maturazione e hanno provocato danni alle fragole rendendole inutilizzabili per le analisi. La maturazione dei frutti è scalare per questo sono stati raccolti a più riprese. Le fragole una volta raccolte sono state posizionate in cestini di plastica e inviate in laboratorio.



Foto 3. Fragole suddivise per genotipo e posizionate in contenitori in plastica per poter essere trasportate in laboratorio.

### 3.4 Spettroscopia NIR

I frutti dopo essere stati selezionati nel campo sperimentale di Agugliano sono stati posizionati nei cestini e trasportati in laboratorio, qui posizionati su dei contenitori di polistirolo numerandoli e riportando la varietà di appartenenza. La numerazione dei frutti è necessaria poiché, andando ad utilizzare diverse tecniche di analisi sullo stesso frutto, ma non nello stesso momento, evita errori di etichettatura e successiva errata comparazione dei risultati. Le analisi sono state eseguite con due tipologie di strumenti di spettrofotometri NIR che sono: spettrofotometro portatile MICRONIR™ on site distribuito da Viavi Solution Inc (JDSU

Corporation, Milpitas, USA) e uno spettrofotometro da banco a trasformata di Fourier, FT-NIR (FT-NIT mod. Nicolet iS10, THERMO), che monta una sfera integrativa.

In questa tesi tratteremo solo i risultati dello spettrofotometro portatile con il quale sono state effettuate due serie di analisi. Nello specifico è stato utilizzato lo spettrofotometro MicroNIR con la sua normale finestra di lettura di diametro compreso tra 18-20 mm (foto 4) e successivamente è stato aggiunto un tool (tablet Probe) che consente di ridurre la finestra di acquisizione a 8 mm di diametro (foto 5), focalizzando l'analisi in un punto più ristretto e riducendo al minimo il verificarsi di effetti di dispersione casuale (scattering). L'analisi è stata eseguita in riflettanza nella regione spettrale 950–1650 nm ( $10.526-6.061 \text{ cm}^{-1}$ ), con un tempo di integrazione di 6,7 ms e con una risoluzione spettrale nominale di 6,25 nm. Il micro-NIR effettua un'analisi background ogni 10 minuti, vale a dire una scansione in cui viene riflesso tutto il segnale elettromagnetico, in modo da considerare e controllare l'ambiente esterno di analisi, e ridurre la variabilità associata ad esso e non al campione

I parametri utilizzati per le analisi sono quelli riportati nella Tabella 2

PARAMETRO	UNITÀ DI MISURA	VALORE
N° scansioni	-	100
Risoluzione	nm	6,25
Intervallo	nm	950÷1650
Background	-	Ogni dieci minuti
N° scansioni background	-	100

Tabella 2 Parametri di acquisizione dello spettrofotometro Micro-NIR

È bene precisare che il NIR riesce a penetrare soltanto i primi mm della parte esterna del frutto. Per questo motivo per ogni fragola sono state eseguite tre repliche, cercando di prendere in esame l'intera circonferenza del campione in modo da ottenere dati significativi sulla composizione di quel frutto.



Foto 4 micro-NIR con finestra di acquisizione Ø 18-20mm



Foto 5 micro- NIR con tool tablet probe Ø 8mm

### 3.5 Conservazione dei frutti

Le fragole una volta analizzate tramite NIR, durometro e penetrometro sono state inserite, in maniera accurata, all'interno di sacchetti di plastica da congelatore. Massimo 4 frutti, disposti in modo tale da non toccarsi tra loro e contrassegnati da un'apposita etichetta che ne indica cultivar di appartenenza e numero del frutto (foto 6), questo è importante per poter comparare poi i diversi metodi di analisi eseguiti. I sacchetti poi inseriti in un unico grande sacco di plastica sono stati congelati ad una temperatura di  $-20^{\circ}\text{C}$ . Fase molto importante perché grazie ai cristalli di ghiaccio che si vengono a formare all'interno delle cellule vegetali del frutto, a causa dell'abbassamento termico, facilitiamo la rottura delle pareti cellulari delle stesse favorendo poi la fuoriuscita di succo durante lo scongelamento.

Terminato il periodo di congelamento le fragole vengono fatte scongelare singolarmente all'interno di bicchieri di plastica sul bordo dei quali venivano agganciate le etichette di riconoscimento (foto 7), passata qualche ora, i frutti scongelano completamente e sul fondo dei contenitori si possono osservare delle goccioline di succo. A questo punto le fragole possono essere sottoposte alle restanti analisi degli zuccheri e degli acidi.



Foto 6. Frutti conservati separatamente all'interno di sacchetti di plastica, con rispettive etichette di riconoscimento.



Foto 7. Frutti messi a scongelare singolarmente in contenitori di plastica.

### 3.6 Analisi degli zuccheri

Misurare il contenuto di solidi solubili (SS) è molto importante perché permette di conoscere il contenuto zuccherino dei frutti ovvero uno dei tre parametri gustativi che nell'insieme influiscono sulla qualità del frutto. La determinazione viene effettuata tramite l'utilizzo di un rifrattometro-acidimetro digitale a compensazione automatica della temperatura il quale esprime il risultato in °Brix (ATAGO, PAL-BIXIACID1 Hybrid per agrumi). Per poter effettuare questa analisi si necessita di succo il quale viene estratto schiacciando i frutti scongelati all'interno dei rispettivi contenitori previa asportazione del peduncolo e dei sepalì. L'estratto poi subisce filtrazione tramite l'utilizzo di colini in modo tale da allontanare gli acheni (vero frutto) dal succo (foto 8). Con una pipetta Pasteur si preleva un'aliquota dell'estratto (foto 9) e la si posa sull'apposito alloggiamento del rifrattometro sulla cui base troviamo una lente (foto 10). Premere il tasto "ok" e dopo qualche secondo sul display compare il valore in °Brix degli zuccheri (foto 11). Una volta analizzato il frutto la lente dello strumento deve essere pulita accuratamente per evitare degli errori di contaminazione nelle successive prove. Ovviamente lo strumento prima di iniziare con le analisi deve essere tarato e per questo scopo viene utilizzata acqua Milli-Q ovvero un'acqua purificata e deionizzata ad un alto livello da un sistema di purificazione il quale usa filtri a resine e deionizzazione, e monitora la concentrazione degli ioni misurando la resistenza elettrica dell'acqua. (<https://it.wikipedia.org/wiki/Milli-Q>) Il rifrattometro digitale utilizza una lente per concentrare la luce in un punto preciso e un sensore per misurare l'angolo di deviazione. Il sensore, una volta ricevuti i dati, elabora l'angolo di deviazione calcolando l'indice di rifrazione e quindi la concentrazione della soluzione (<https://www.sinergica-soluzioni.it/blog/guida-ai-refrattometri-digitali-tutto-quello-che-c-e-da-sapere-n201>).



Foto 8. Frutto disposto sul colino.



Foto 9. Acheni separati dal succo



Foto 10. Prelievo succo con pipetta Pasteur



Foto 11. Deposito succo su lente rifrattometro

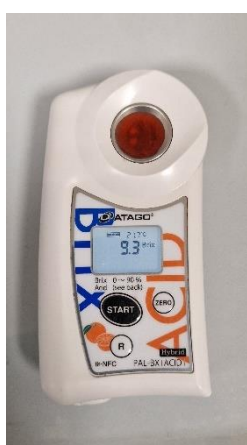


Foto 12. Concentrazione solidi solubili espressa in °Brix

### 3.7 Analisi degli acidi

L'acidità è un altro parametro molto importante che insieme agli zuccheri sono responsabili del gusto del frutto e il loro rapporto influisce sul grado di gradevolezza del consumatore. Misura la concentrazione complessiva di acidi nel succo di fragola rappresentati principalmente da acido citrico, acido ascorbico, acido succinico e acido malico. Questa misurazione richiede la creazione di una soluzione che in questo caso è costituita da 9900 $\mu$ L (9,9mL) di acqua Milli-Q e 100 $\mu$ L (0,1mL) di succo. Le fasi preliminari da eseguire prima di poter fare la misurazione dell'acidità sono:

1. Prendere e disporre un numero di Flacon pari al numero dei frutti che si devono analizzare e disporli su di un'porta Flacon
2. Con un becker prelevare dell'acqua Milli-Q in quantità tale da permettere di inserire in ogni Falcon 10000 $\mu$ L

3. Prendere una pipetta da 5mL di massima aspirazione e tararla a 4,95mL in modo da estrarre 9,9mL con 2 prelievi consecutivi (foto 13)
4. Scegliere un puntale da 5mL e applicarlo alla pipetta preparate precedentemente
5. Riempire ciascuna Flacon fino a 9,9mL
6. Prendere una pipetta da microlitri e tararla a 100 $\mu$ L
7. Prendere e disporre un numero di coni (puntali per la pipetta da microlitri) uguale al numero di frutti da analizzare su di un'porta coni

Giunti a questo punto si può procedere con la misurazione. Si prelevi un'aliquota di 100 $\mu$ L di succo di fragola con l'apposita pipetta e riversarlo all'interno del Flacon (foto 14) assicurandosi di non far venire in contatto la punta del cono con la superficie dell'acqua. Tramite la scala graduata presente sulla parete del Flacon controllare che la soluzione sia pari a 10mL (foto 15), omogeneizzare con l'ausilio di un vortex per qualche secondo (foto 16). Si prelevi un'aliquota di soluzione con una pipetta e la si riversi nell'alloggio del rifrattometro-acidimetro digitale, aspettare che il risultato compaia sul display (foto 17). La misurazione dell'acidità si conclude con la pulizia dello strumento di analisi e si può procedere con gli altri campioni. I valori di acidità ottenuti devono essere registrati in un foglio Excel nella casella del rispettivo frutto. Nel caso dell'acidità lo strumento fornisce un valore percentuale di acido citrico (acido più rappresentativo). Lo strumento non deve essere tarato perché l'operazione è già stata eseguita.



Foto 13. Prelievo 5mL acqua Milli-Q



Foto 14. Prelievo 100 $\mu$ L di succo



Foto 15. Soluzione acqua Milli-Q più succo



Foto 16. Miscelazione soluzione con vortex



Foto 17. Misurazione dell'acidità espressa in % acido citrico

### 3.8 Analisi statistica

L'analisi statistica è stata effettuata mediante il software STATISTICA (StatsoftInc., Tulsa, OK, USA) utilizzando una matrice costituita da 4 variabili (due dipendenti: solidi solubili e acidità e due indipendenti: clone e numero frutti) e 320 casi. I dati sono stati sottoposti ad analisi della varianza ANOVA ad una via (confrontiamo singolarmente variabile dipendente e variabile indipendente es: solidi solubili e clone) tramite confronto di medie; le differenze tra le medie dei 16 genotipi per il contenuto di solidi solubili e acidità (% acido citrico) sono state separate utilizzando il test Duncan con  $p \leq 0.05$ .



### **3.9 Analisi multivariata**

La chemiometria è una branca della chimica che si occupa di studiare l'applicazione dei metodi matematici o statistici ai dati chimici e biologici. Tale disciplina si basa su tecniche di analisi multivariata dei dati (ovvero considera più variabili contemporaneamente) e si rende necessaria quando occorre analizzare dati spettrali, in quanto queste matrici dei dati hanno generalmente grandi dimensioni. In questo lavoro di tesi sono state prese in considerazione la tecnica dell'analisi delle componenti principali (PCA) e la tecnica di regressione multivariata di Partial Least Squares Regression (PLS).

#### **3.9.1 Pretrattamenti spettrali**

Prima di poter calcolare la PCA o la PLS lo spettro grezzo ottenuto con la spettroscopia NIR deve essere pretrattato. Lo scopo è quello di ridurre il fenomeno di scattering eliminando l'influenza dei fenomeni fisici legati all'analisi e rendendo lo spettro più chiaro e facile da interpretare. In questo lavoro di tesi sono stati presi in considerazione tre tipologie di pretrattamenti:

-SNV (Standard Normal Variate) è una trasformazione di riga utile per correggere le alterazioni dovute allo slittamento della linea di base ed al fenomeno dello scattering. Consiste nell'effettuare una "normalizzazione" degli spettri, infatti al dato di assorbimento si sottrae la media di riga e lo si divide per la deviazione standard di riga.

-Derivata prima: è una trasformazione di riga, mitiga gli effetti dovuti allo slittamento della linea di base ed amplifica le assorbanze in regioni di lunghezza d'onda specifiche per evidenziare differenze attraverso la misura della pendenza delle curve;

-Derivata seconda: è una trasformazione di riga, mitiga gli effetti dovuti allo slittamento della linea di base e separa picchi di lunghezza d'onda vicini "nascosti" misurando i cambiamenti di pendenza delle curve.

Nel caso del calcolo della derivata prima o seconda, per ogni finestra dello spettro o intervallo di lunghezze d'onda (in questo studio si considera una finestra di 13 o 9 valori) viene descritta una funzione polinomiale di ordine 2: a tale funzione sarà effettivamente applicata la derivata prima o seconda (Savitzky, 1964). In questo studio è stata utilizzata la derivata prima come pretrattamento (finestra dello spettro di 13 o 9 valori).

### 3.9.2 PCA

La principal components analysis conosciuta con l'acronimo di PCA è un'analisi di tipo esplorativa facente parte del gruppo dell'analisi multivariata. Viene usata principalmente per investigare la matrice dei dati di interesse, capire se ci sono delle similitudini tra i campioni, se essi si raggruppano e per quale motivo.

La PCA è anche definita una tecnica di riduzione delle variabili. Infatti, prende in considerazione tutta la variabilità contenuta nel dataset di interesse e la riconduce a poche nuove variabili note come componenti principali (PC) non correlate tra loro e lo fa tramite un'equazione:

$$X=TP'+ E$$

dove X= matrice originale T= matrice degli score P'= matrice trasposta dei loading. Si crea così una nuova matrice di dati di dimensioni ridotta che però in poche componenti principali (nuove variabili) contiene la maggior parte della variabilità del dataset originale. Ciò è possibile perché vengono eliminate le variabili ritenute ridondanti perché correlate tra loro o di poca importanza (nel NIR sono definite rumore e solitamente coincidono con la linea di base della curva). Le componenti principali si distribuiscono in ordine decrescente, ovvero le prime contengono la maggior parte dell'informazione (espressa in % di varianza) della matrice originaria, mentre le ultime distinguono per lo più rumore. Preventivamente al calcolo della PCA, è necessario effettuare un pretrattamento di colonna: il centraggio sulla media (mean center). Il mean center è un pretrattamento obbligatorio, in quanto serve per eliminare l'informazione comune a tutti gli spettri (l'andamento medio); è così possibile focalizzarsi sulle reali differenze spettrali, evidenziando maggiormente l'informazione utile. In sintesi, in seguito a tale pretrattamento la media dei nuovi spettri è pari a zero.

Come già accennato, in seguito al calcolo della PCA si ottengono:

- Una matrice degli scores, che definiscono le coordinate dei campioni nel nuovo spazio delle componenti. Gli scores hanno la stessa unità di misura dei dati originali.
- La matrice dei loadings, che determinano le coordinate delle variabili nel piano delle componenti. Nel dettaglio sono i coseni degli angoli di rotazione tra la componente principale e la variabile originale. Il valore dei loadings potrà quindi essere compreso solo tra -1 ed 1 e sarà adimensionale.

La matrice degli scores viene rappresentata graficamente nello scores plot. È un grafico molto informativo in quanto dalla semplice osservazione visiva possiamo capire se tra i vari campioni ci siano o meno delle similitudini sulla base delle loro caratteristiche chimiche. Quindi campioni con caratteristiche chimiche simili hanno valori di scores simili e si

raggruppano nel piano cartesiano allo stesso tempo possono essere osservati campioni con differente distribuzione chiamati outliers.

Allo stesso modo, la matrice dei loadings viene rappresentata graficamente dal loading plot. Questo prodotto mostra le variabili che maggiormente influenzano la disposizione dei campioni sullo score plot. Nel caso dei dati spettrali le variabili sono rappresentate dai numeri d'onda.

In questo lavoro di tesi la PCA viene utilizzata per capire se tra i 16 genotipi di fragola campionati ci sono delle similitudini sulla base delle loro caratteristiche chimiche e per quali di esse si verificano queste somiglianze. La PCA è stata calcolata sugli spettri di assorbimento ottenuti con lo strumento portatile micro-NIR utilizzando sia i dati ottenuti con la configurazione classica (matrice\_toolG) che con il tablet probe (matrice\_toolP).

### **3.9.3 Partial Least Squares Regression (PLS)**

La PLS è una tecnica di analisi multivariata di tipo quantitativo che mette in relazione i valori spettrali indipendenti (X) e i valori non spettrali dipendenti (Y) (Blanco e Villarroya, 2002), costruendo una retta di regressione. Il parametro Y viene ruotato per trovare la correlazione massima, intesa come covarianza, con la matrice dei dati spettrali (X). Così come la PCA, anche la PLS trova delle nuove variabili che sono chiamate variabili latenti (LVs) ed il modello di regressione viene costruito con uno specifico numero di questi parametri selezionato in modo da garantire buone performance di predizione ed evitare di modellare il rumore.

Per poter fare delle predizioni attendibili, il modello deve essere validato. La validazione può essere fatta utilizzando una parte di campioni (circa 70%) per la costruzione del modello (calibration set) e una parte dei campioni (circa 30%) per la sua validazione (validation test) oppure con un metodo di convalida incrociata (cross-validation) con gruppi di cancellazione (5 gruppi di cancellazione). Questa tecnica consiste nel dividere la matrice in gruppi ed escludere uno alla volta i gruppi di dati dalla costruzione del modello di regressione ed utilizzare il gruppo di dati escluso come test set per la predizione. Ciò consente di calcolare l'errore di predizione per ognuno dei 5 gruppi di cancellazione. In seguito verrà calcolato un errore di predizione di cross validazione generale (RMSECV).

I modelli PLS vengono valutati sulla base di parametri specifici che forniscono importanti informazioni sulla robustezza del modello sviluppato e della sua capacità di predire nuovi campioni sconosciuti. I parametri sono:

-  $R^2$  o coefficiente di determinazione: misura la forza della relazione lineare tra le variabili indipendenti inserite nel modello di regressione e la variabile dipendente. Relazioni più forti

indicano una minore dispersione dei dati attorno alla retta di regressione. Nel dettaglio valori di  $R^2$  compresi tra 0,50 e 0,65 indicano che si può distinguere tra contenuti alti o bassi di Y. Un  $R^2$  con il valore compreso tra 0,66 e 0,81 indica una predizione quantitativa approssimativa, mentre fra 0,82 e 0,90 la predittività è considerata buona. Oltre questi valori è eccellente [Williams, 2001];

- RMSECV (Root Mean Square Error of Cross Validation): rappresenta l'errore, cioè la differenza tra valori predetti dal modello e quelli realmente osservati;

-RER (Range Error Ratio): rapporto tra il range dei valori del parametro di riferimento Y e l'errore RMSECV. Valori di RER inferiori a 6 indicano un modello scadente, valori compresi tra 7 e 20 indicano un modello idoneo ad essere utilizzato in un'applicazione di screening, mentre valori superiori a 20 indicano un ottimo modello [Williams, 2001].

-RPD (Ratio of Performance to Deviation): rapporto tra la deviazione standard dei valori della Y e l'errore RMSECV. Valori di RPD di 2-3, 3-4 e  $> 4$  indicano rispettivamente un modello discreto, buono ed eccellente [Williams, 2001].

## Capitolo 4

# RISULTATI E DISCUSSIONI

### | 4.1 Contenuto in Solidi Solubili

Il grafico1 mostra il contenuto di solidi solubili per i 16 genotipi analizzati, i quali presentano un'elevata variabilità da 7,11 a 13,47 °Brix, con la presenza di differenze statisticamente significative. Ovviamente nell'istogramma sono riportati i valori medi per ogni cultivar studiata. Nel grafico1 ogni colonna presenta delle lettere in modo da individuare la presenza di differenze statisticamente significative oppure eventuali similitudini.

I frutti della cultivar Francesca mostrano il contenuto zuccherino maggiore con 13,4 °Brix che risulta statisticamente simile solo alle selezioni AN14,12,58 e AN16,34,55 rispettivamente con 12,1 °Brix e 12,8 °Brix ma, allo stesso tempo si differenzia da tutte le altre medie delle altre cultivar. La media della selezione AN16,34,55 risulta avere differenze statisticamente significative solo con le cultivar Sibilla, Sveva, Lauretta e la selezione AN13,13,55. La cultivar Silvia presenta il contenuto di solidi solubili più basso con 7,11°Brix ed è statisticamente simile all'altra cultivar tardiva Sveva 7,14 °Brix e alla selezione AN13.13.55 con 8,8 °Brix. Quest'ultima selezione è però statisticamente simile anche a DINA, AN16,53,54 e Lauretta. La cultivar Lauretta è statisticamente simile a DINA, ROMINA, SIBILLA, AN16,53,54, AN16,42,54, AN16,38,57 e ad AN12,13,58.

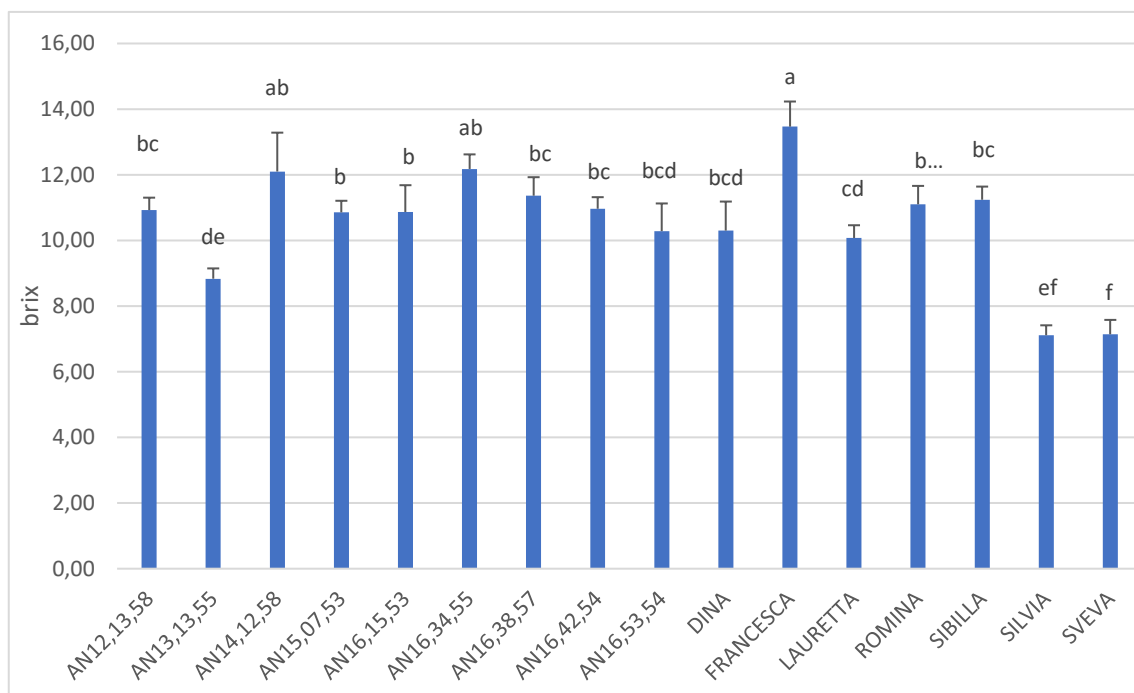


Grafico1 Contenuto in solidi solubili (SS) dei frutti dei genotipi analizzati tramite rifrattometro. I dati sono espressi come media  $\pm$  deviazione standard su 20 frutti analizzati. Lettere diverse indicano differenze statisticamente significative (Duncan test,  $p \leq 0.05$ ).

#### 4.2 Acidità del frutto

Il grafico2 riporta l'acidità media dei frutti, espressa in % di acido citrico, per ogni singolo genotipo, in questo caso rispetto al grafico1 possiamo notare come il range all'interno del quale varia il valore di questo parametro è molto ristretto, si va da 1,19 % a 1,46%. Come nel grafico1 anche in questo caso, ai 16 genotipi vengono assegnate delle lettere che indicano tra quali di questi ci sono differenze statisticamente significative. I frutti della cultivar Francesca mostrano il valore più elevato pari a 1,46% di acido citrico ed è statisticamente differente solo alle cultivar Romina, Sibilla e alla selezione AN16,34,55. Sibilla è il genotipo con il valore di acidità più basso con 1,19% di acido citrico ed è statisticamente differente solo a Romina, Lauretta, Dina e AN12,13,58. Le restanti cultivar sono statisticamente simili tra loro ovvero le loro medie della % di acido citrico per il test statistico non mostrano differenze significative.

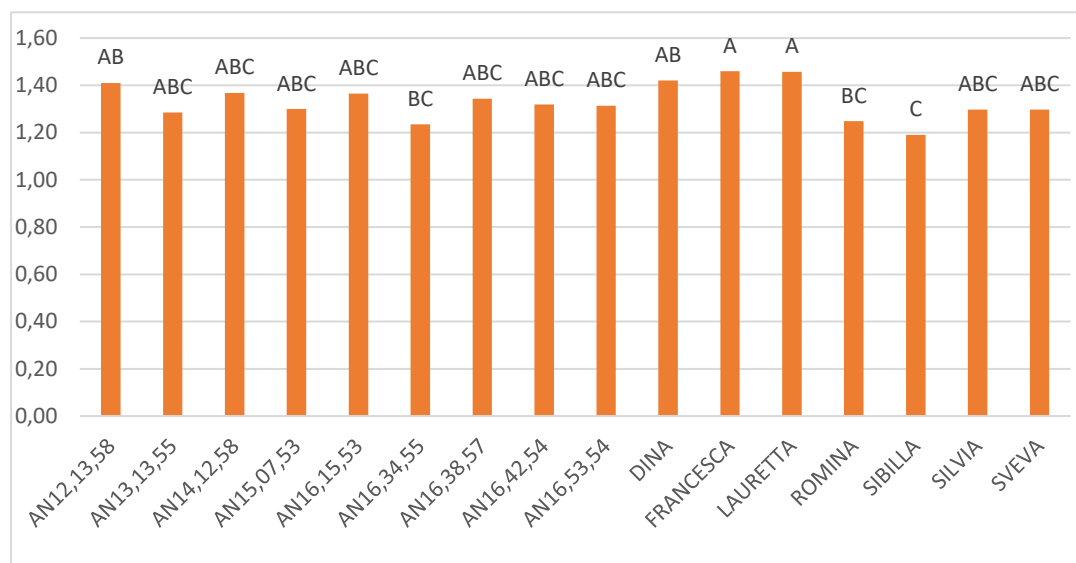


Grafico2 Acidità del frutto (%acido citrico) dei 16 genotipi analizzati tramite rifrattometro/acidimetro. I dati sono espressi come media  $\pm$ deviazione standard su 20 frutti analizzati. Lettere diverse indicano differenze statisticamente significative (Duncan test,  $p \leq 0.05$ ).

#### 4.3 Distribuzione dei genotipi in base all'acidità e al contenuto in solidi solubili

Il grafico 3 permette di osservare la distribuzione di ogni singolo genotipo di fragola analizzato in base al contenuto medio dei 20 frutti in solidi solubili ( $^{\circ}$ Brix) e acidità (% acido citrico). Inserendo poi nel grafico sottostante la media generale dei due parametri sopra citati 10,55  $^{\circ}$ Brix e 1,33% di acido citrico possiamo suddividere il grafico3 in quattro quadranti e fare le seguenti considerazioni: dispersione dei genotipi centrale principalmente tra secondo e quarto quadrante con delle eccezioni, Francesca si posiziona nel quadrante in alto a destra del grafico3 e presenta un'acidità e un contenuto in solidi solubili di molto superiori alla media generale. Le due cultivar a maturazione tardiva, Silvia e Sveva si localizzano nel terzo quadrante a causa di acidità leggermente inferiore alla media ma soprattutto a causa del loro contenuto in solidi solubili rispettivamente di 7,1 e 7,14  $^{\circ}$ Brix.

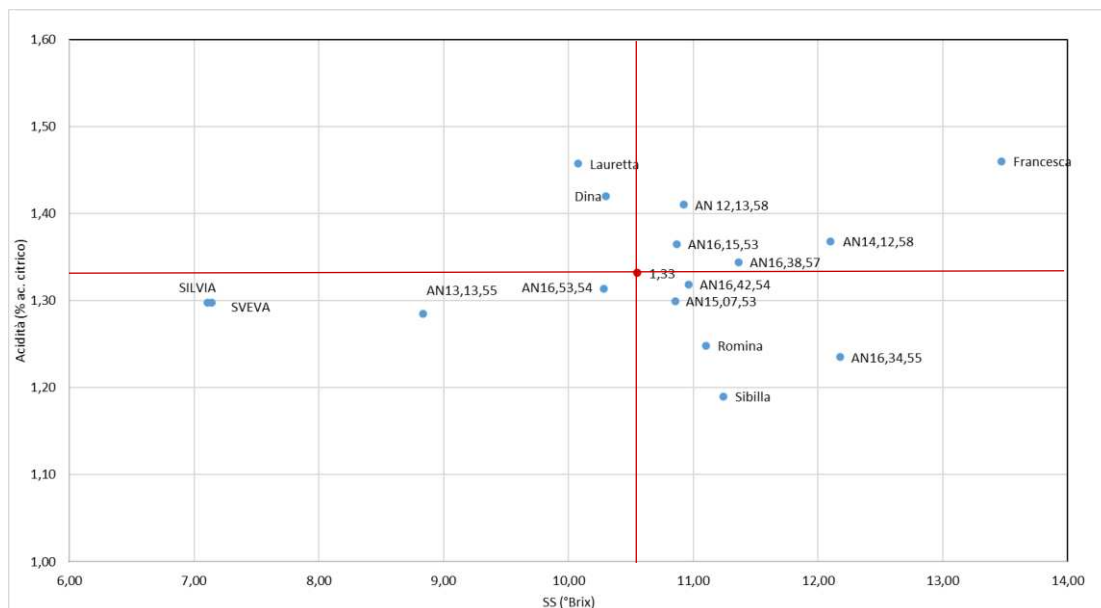


Grafico 3 Distribuzione dei 16 genotipi in base al contenuto in Solidi Solubili e acidità.

#### 4.4.1 PCA CALCOLATA SULLA MATRICE\_TOOLG (Micro-NIR CON FINESTRA DI ACQUISIZIONE DI 18-20 mm DI DIAMETRO)

Lo score plot riportato nel grafico 4 è stato ottenuto pretrattando con derivata prima (finestra dello spettro di 9 valori) la matrice dei dati spettrali ottenuti analizzando tutti i frutti di fragola per ognuno dei 16 genotipi con il Micro-NIR con finestra di acquisizione da 18-20 mm. La PC1 contiene il 72,2% della variabilità della matrice originaria, mentre la PC2 contiene il 24,1% della variabilità della matrice originaria, pertanto il grafico della PCA descrive il 96,3 %). Come si può osservare non c'è una separazione evidente tra i diversi genotipi ma possiamo comunque fare alcune considerazioni. Il genotipo AN16,34,55 indicato con il colore rosso scuro (Type 7) è principalmente localizzato nel quadrante in basso a destra dello score plot. La cultivar AN14,12,58, rappresentata dal colore verde chiaro (Type12), presenta valori positivi per entrambe le componenti principali localizzandosi nel quadrante in alto a destra. In generale, trarre conclusioni non è semplice in quanto i diversi genotipi tendono a sovrapporsi nello score plot riportato nel grafico 4 e non è possibile notare una vera e propria separazione.



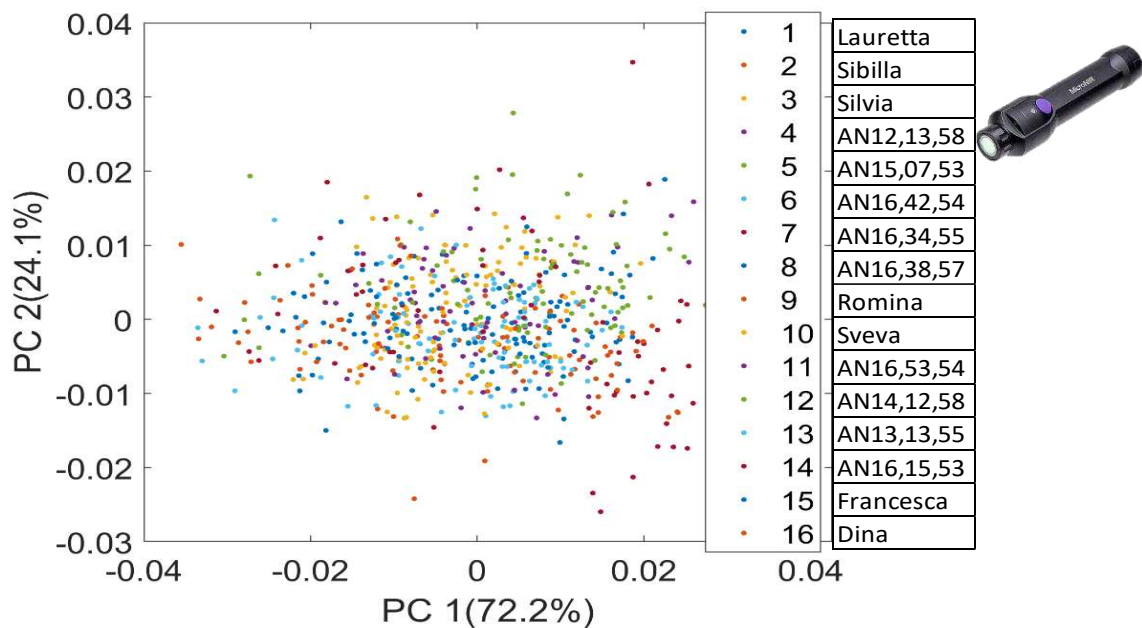


Grafico 4 Score-plot della PCA di tutti i frutti raccolti nella stagione vegetativa 2022 ed analizzati con il Micro-NIR, finestra di acquisizione di 18-20mm di diametro. La matrice di dati è stata pretrattata con la derivata prima (finestra dello spettro di 9 valori, secondo ordine polinomiale) .

Per poter apprezzare meglio la separazione tra le cultivar, sono state calcolate delle ellissi di confidenza utilizzando i valori di score di ogni singolo genotipo. Tali ellissi indicano la probabilità di trovare un campione appartenente al genotipo di interesse all'interno dell'area definita. Ciascuna ellisse è stata calcolata utilizzando i valori medi degli scores come centro e l'errore standard di ciascuna direzione di variabilità come raggio dell'ellisse. Quando le ellissi si sovrappongono esse indicano una somiglianza nelle caratteristiche chimiche dei genotipi, maggiore è la sovrapposizione e maggiori sono le somiglianze dal punto di vista chimico.

Da questo grafico è molto più chiaro ed evidente come il AN16,34,55 (Type7) si discosti molto da tutti gli altri genotipi posizionandosi nel 4° riquadro, quindi assumendo valori negativi di PC2 e positivi di PC1.

I restanti genotipi si raggruppano invece in tre gruppi, nel dettaglio:

-Nel 1° quadrante (valori positivi di PC2 e negativi di PC1) troviamo tre cultivar: AN13,13,55 (Type13) la cui ellisse si va a sovrapporre a quelle di AN16,15,53 (Type14) e di Francesca (Type15). Inoltre con valori maggiormente negativi di PC1 è possibile osservare il genotipo di Dina (Type16).

-Nel 2° quadrante, descritto da valori positivi per entrambe le componenti principali, si raggruppano ben 5 cultivar: AN16,38,57 (Type8) e AN15,07,53 (Type5) che si sovrappongono quasi completamente, AN12,13,58 (Type4), AN14,12,58 (Type12) e Silvia (Type3).

- Nella parte dello score plot con valori di PC2 negativi, troviamo tutti i restanti genotipi: Sibilla (Type2), AN16,42,54 (Type6), AN16,53,54 (Type11), Lauretta (Type1) Romina (Type9) e Sveva (Type10).

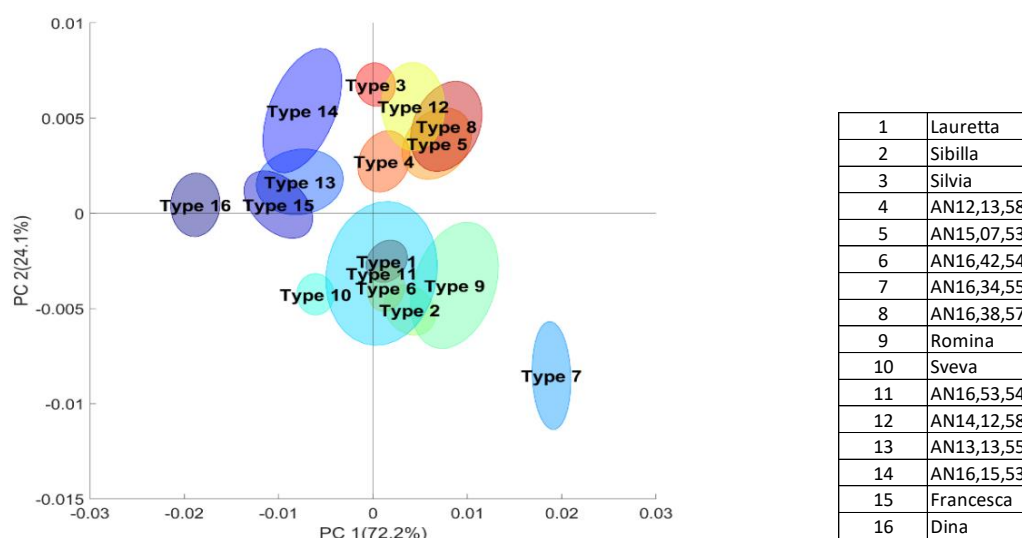


Grafico 5 Score- plot della PCA riportata nel grafico 4 con ellissi di confidenza per i 16 genotipi analizzati.

Il grafico 6 mostra il loading plot della prima e seconda componente principale della PCA. Tale grafico è importante per spiegare quali sono le variabili maggiormente responsabili di quel particolare posizionamento dei genotipi all'interno dello score-plot (grafico 5). Dal momento che, prima di calcolare la PCA è stato eseguito un pretrattamento con derivata prima, le lunghezze d'onda più importanti non sono date dai picchi (come nel caso dell'osservazione dello spettro grezzo), ma dai punti di zero. Il grafico 6 mostra il loading della PC1 (curva azzurra) e il loading della PC2 (linea arancione), che insieme contengono la maggior parte della variabilità contenuta nella matrice di dati originaria (96,3 %).

Il loading1 (PC1) presenta un picco alla lunghezza d'onda di 1453 nm, a cui vengono assegnati i legami -CH e -OH che sono responsabili dello spostamento dei genotipi di fragola verso valori positivi di PC1 nel grafico 5.

Il loading2 (PC2) presenta invece due picchi uno a 1187 nm (primo punto di 0) assegnato alle vibrazioni dei legami CH (secondo overtone) e un secondo a 1410 nm (secondo punto di 0) assegnato alle vibrazioni dei legami OH dell'acqua. Sono i legami assegnati a questi due picchi i responsabili dello spostamento dei 16 genotipi di fragola verso valori positivi di PC2.

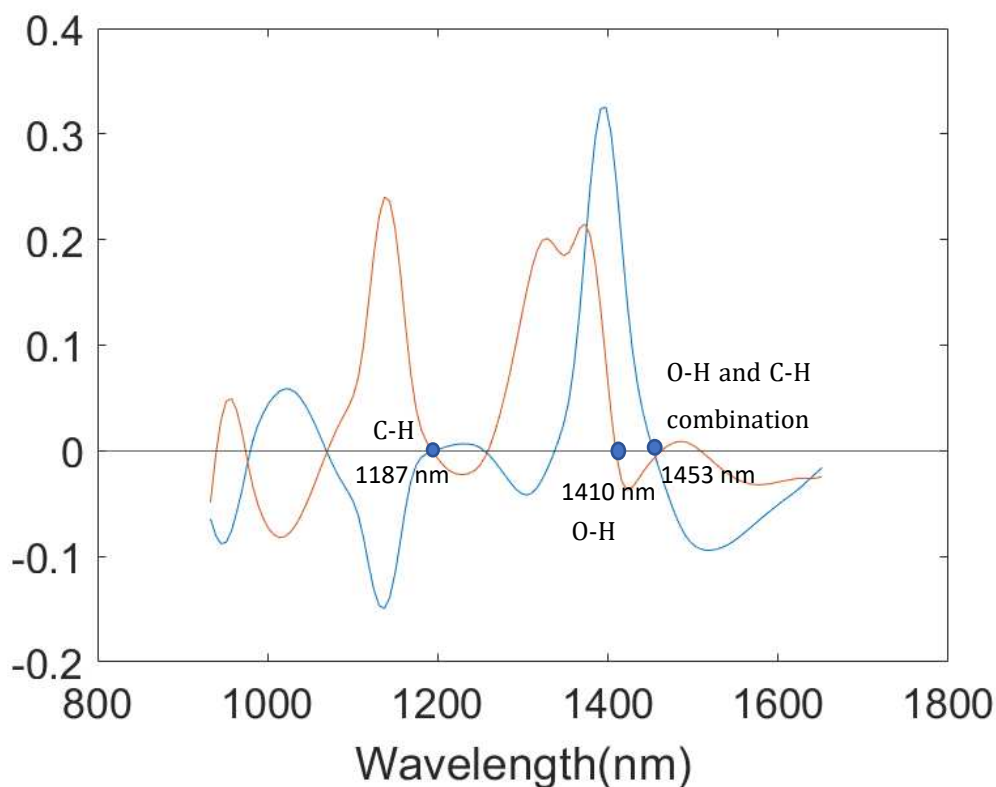


Grafico 6 loading-plot delle componenti principali PC1 (curva azzurra) e PC2 (curva arancione). I dati ottenuti con lo strumento portatile Micro-NIR, con finestra di acquisizione da 18-20mm di diametro, sono stati pretrattati utilizzando una derivata prima, finestra dello spettro di 9 valori.

Per cercare di capire le reali motivazioni alla base della separazione dei 16 genotipi di fragola analizzati all'interno dello score plot della PCA sono stati calcolati gli spettri medi dei quattro gruppi di genotipi osservati nel grafico 5. Il grafico 7 riporta lo spettro medio dei quattro gruppi. La curva celeste rappresenta il gruppo di genotipi con valori di scores del PC2 negativi, la curva verde le cultivar con valori di scores del PC1 negativi e del PC2 positivi (quindi quelli disposti nel 1° quadrante), la curva viola i genotipi con valori di scores del PC2 e PC1 positivi (quindi quelli disposti nel 2° quadrante), infine la curva gialla è stata utilizzata per il genotipo

AN16,34,55 (Type7) che non si raggruppa con nessun altro e ha valori elevati di scores del PC2 negativi.

Da tenere presente che gli spettri riportati nel grafico 7 hanno subito un pretrattamento con derivata prima, finestra dello spettro di 9 valori. Pertanto, come già accennato in precedenza, un picco nello spettro grezzo corrisponde ad un punto di 0 nello spettro pretrattato con derivata prima. Nel grafico 7 possiamo osservare due punti di 0 che corrispondono alle lunghezze d'onda 1200 nm e 1453 nm (coincidono con gli stessi picchi registrati nel grafico 6 con un leggero shift).

Alla lunghezza d'onda di 1200 nm (primo punto di 0) abbiamo assegnato la vibrazione dei legami -CH della regione del secondo overtone mentre alla lunghezza d'onda di 1453nm (secondo punto di 0) la vibrazione dei legami -OH e -CH caratteristici dei solidi solubili (ma anche di altri composti come gli acidi). Considerando queste informazioni e osservando il grafico4 potremmo fare le seguenti considerazioni:

- Il genotipo rappresentato dalla curva gialla ha la maggiore concentrazione di gruppi -CH e -OH ma allo stesso tempo la minore concentrazione dei gruppi -CH della regione del secondo overtone.

- Le cultivar rappresentate dalla curva verde hanno una maggiore concentrazione di legami -CH della regione del secondo overtone e una minore quantità di legami -CH e -OH dei solidi solubili e di altri composti.

- La curva viola e la curva azzurra invece rappresentano i due restanti gruppi di genotipi. Esse nel grafico4 si posizionano tra le due curve sopra trattate sia per quanto riguarda i legami -CH della regione del secondo overtone che per i legami -CH e -OH. Ciò vuol dire che presentano delle caratteristiche intermedie.

Andando a confrontare il grafico 7 con i risultati ottenuti dall'analisi univariata potremmo dire che: AN16,34,55(Type 7) possiede un contenuto medio in Solidi Solubili inferiore solo a Francesca mentre presenta uno dei valori medi di acidità più basso tra i genotipi analizzati quindi ciò che osserviamo nel grafico 7 è dovuto alla presenza di altre sostanze contenenti gruppi -CH e -OH. Fare dei confronti per i restanti genotipi non è semplice poiché nel grafico sottostante non si tiene conto del valore medio di ogni singolo genotipo ma di più genotipi, inoltre, il NIR analizza interamente la composizione chimica del frutto rispetto alle tecniche di laboratorio che analizzano parametri singoli (esempio contenuto di solidi solubili) ed è quindi normale aspettarsi delle incongruenze con il grafico1 e 2.

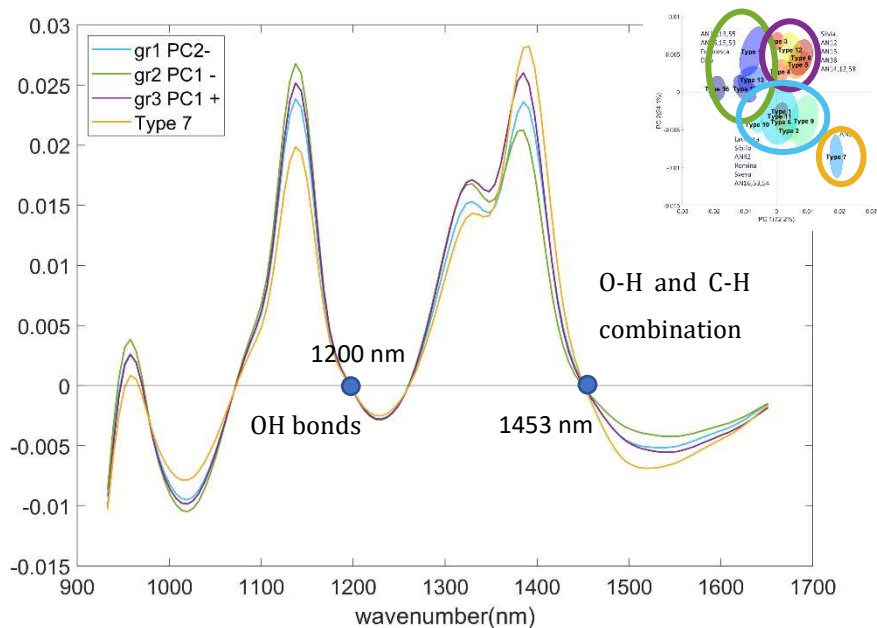


Grafico 7 spettri medi dei tre gruppi di genotipi osservati nel grafico 5 e del genotipo AN16,34,55 (Type7) utilizzando il pretrattamento di derivata prima, finestra dello spettro di 9 valori.

#### 4.4.2 PCA CALCOLATA SULLA MATRICE\_TOOLP (Micro-NIR CON FINESTRA DI ACQUISIZIONE DA 8 mm DI DIAMETRO)

Il grafico 8 riporta lo score-plot della matrice pretrattata con derivata prima (finestra dello spettro di 9 valori) dei dati spettrali ottenuti analizzando tutti i frutti di fragola con il Micro-NIR con tool table probe di 8 mm di diametro. In questo caso la PC1 contiene l'83,6% della variabilità della matrice originaria e la PC2 il 13,2%, pertanto il grafico della PCA descrive il 96.8 % della variabilità della matrice originale (valore pressoché simile a quello della precedente PCA). Anche in questo caso non è possibile osservare un trend evidente di separazione tra i 16 genotipi analizzati in questo lavoro di tesi perciò, ci affidiamo nuovamente al grafico dello score plot con le ellissi di confidenza.

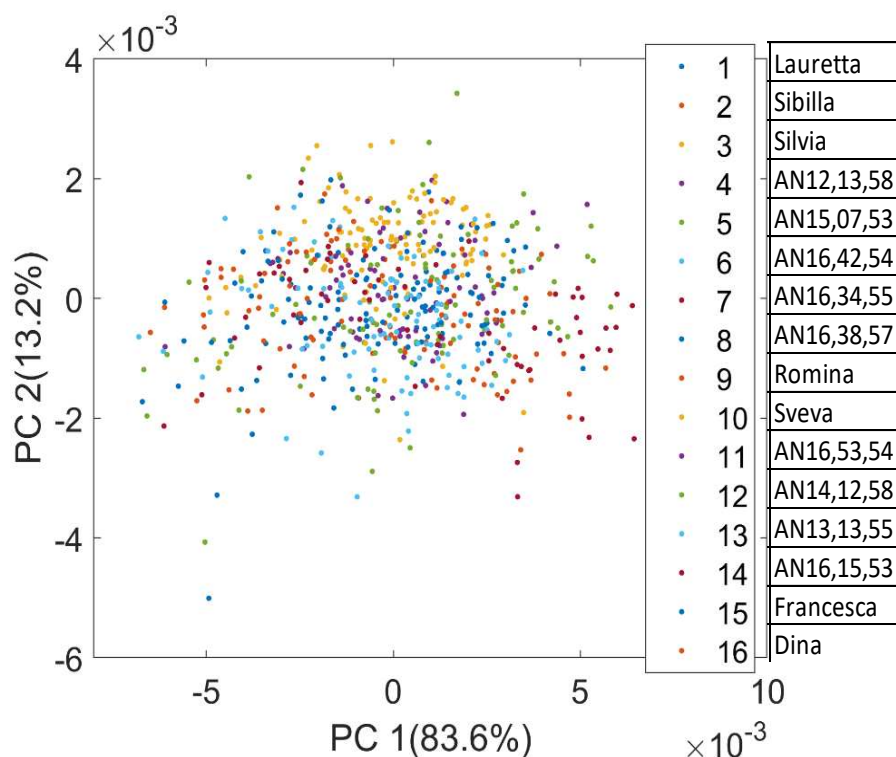


Grafico 8 Score-plot della PCA di tutti i frutti raccolti nella stagione vegetativa 2022 ed analizzati con il Micro-NIR e tool table probe di 8 mm di diametro. La matrice di dati è stata pretrattata con la derivata prima (finestra dello spettro di 9 valori, secondo ordine polinomiale).

Il grafico 9 mostra lo score-plot con le ellissi di confidenza calcolate per ciascuno dei 16 genotipi. Ciascuna ellisse è stata calcolata utilizzando i valori medi degli scores come centro e l'errore standard di ciascuna direzione di variabilità come raggio dell'ellisse. Da questo nuovo grafico è possibile osservare che:

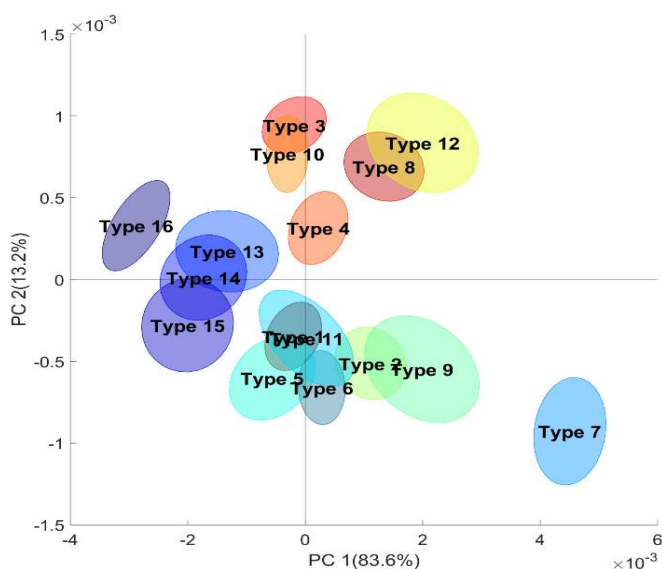
-La cultivar AN16,34,55 (Type7) si trova anche in questo caso in basso a destra nello score plot, è separata e non presenta nessuna sovrapposizione rispetto a tutti gli altri genotipi.

-La selezione AN12,13,58 (Type4) si dispone per gran parte dei campioni nel 2° quadrante (valori positivi di PC1 e PC2) del grafico. AN16,38,57 (Type8) e AN14,12,58 (Type12), si trovano anche loro nel 2° quadrante ma con valori che si allontanano dallo 0 per ambedue le PC rispetto alla precedente selezione. Infine le cultivar Silvia (Type3) e Sveva (Type10) sono in parte sovrapposte, indicando una similitudine nelle caratteristiche chimiche e si localizzano nella parte superiore dello score plot (valori positivi di PC2).

-Le selezioni AN16,15,53 (Type14), AN13,13,55 (Type13) e la cultivar FRANCESCA (Type15) sono caratterizzate da valori di PC1 negativi. Inoltre con valori maggiormente negativi di PC1 è possibile osservare il genotipo di Dina (Type16).

-I restanti genotipi sono tutti raggruppati tra il 3° e 4° quadrante con valori di PC1 compresi tra -1 e +0,5 e valori di PC2 negativi.

In generale, è possibile concludere che a parte alcune piccole differenze relative alla dimensione dell'ellisse, quindi alla variabilità all'interno dello stesso genotipo, e di localizzazione all'interno dello score plot, i 16 genotipi presentano gli stessi raggruppamenti indipendentemente dal dataset utilizzato per il calcolo della PCA.



1	Lauretta
2	Sibilla
3	Silvia
4	AN12,13,58
5	AN15,07,53
6	AN16,42,54
7	AN16,34,55
8	AN16,38,57
9	Romina
10	Sveva
11	AN16,53,54
12	AN14,12,58
13	AN13,13,55
14	AN16,15,53
15	Francesca
16	Dina

Grafico 9 Score-plot della PCA riportata nel grafico 8 con ellissi di confidenza per i 16 genotipi analizzati.

Il grafico 10 mostra i loading delle due componenti principali PC1(83,6%) e PC2(13,2%) contrassegnate rispettivamente con la curva azzurra e la curva arancione. Come per il precedente dataset, i dati spettrali sono stati pretrattati con derivata prima dello spettro grezzo, perciò andremo anche in questo caso ad osservare i punti di 0 presenti nel grafico 10 che

corrispondono alle lunghezze d'onda di 1187 nm e di 1453 nm. La prima lunghezza d'onda corrisponde ai legami -CH della seconda regione di overtone mentre la seconda alla combinazione dei legami -CH e -OH. Nel dettaglio il picco a 1453 nm sul primo loading (curva azzurra) sposta i genotipi verso valori positivi di PC1, mentre il picco a 1187 nm sul secondo loading (curva arancione) verso valori positivi di PC2.

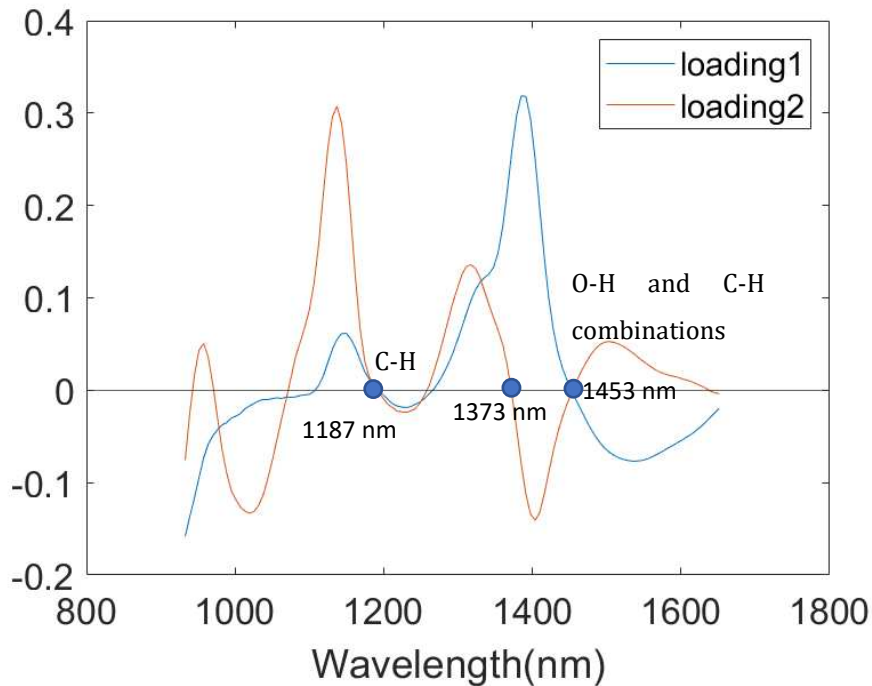


Grafico 10 loading-plot delle componenti principali PC1 (curva azzurra) e PC2 (curva arancione). I dati ottenuti con lo strumento portatile Micro-NIR, con tool table probe da 8mm di diametro, sono stati pretrattati utilizzando una derivata prima finestra dello spettro di 9 valori, secondo ordine polinomiale).

Anche in questo caso, come nel grafico 7, sono stati calcolati gli spettri medi per i quattro gruppi in cui possono essere suddivisi i 16 genotipi di fragola all'interno dello scores plot (grafico 9). Il grafico 11 riporta lo spettro medio pretrattato con derivata prima dei quattro gruppi. Nel dettaglio è possibile osservare due punti di 0 (ovvero picchi nello spettro grezzo originale), uno a 1200 nm e l'altro a 1465 nm, corrispondenti lunghezze d'onda simili a quelle



osservate nel grafico 10 dei loading delle PC (se non per un leggero shift). La lunghezza d'onda a 1200 nm può essere assegnata alla vibrazione dei legami -CH della seconda regione di overtone, mentre la lunghezza d'onda a 1465 nm alla combinazione di vibrazioni dei legami -CH e -OH tipici dei solidi solubili e di altri composti come gli acidi. Grazie ai valori di assorbimento propri di ciascuno spettro è possibile fare delle ipotesi circa la composizione media dei frutti di questi quattro gruppi che sono stati individuati nello score-plot. La prima cosa evidente nel grafico 11 è il differente range di assorbimento all'interno del quale le quattro curve si distribuiscono a 1200 nm e 1465 nm: limitato nel primo caso da  $4,5 \times 10^{-3}$  a  $5 \times 10^{-3}$ , elevato nel secondo caso da  $2,8 \times 10^{-3}$  a  $5 \times 10^{-3}$ . In generale osservando il grafico degli spettri è possibile trarre le seguenti considerazioni:

- I genotipi rappresentati dalla curva verde (gruppo di genotipi con valori di scores di PC1 negativi) presentano in entrambe le lunghezze d'onda di nostro interesse i picchi di assorbimento più bassi con valori rispettivamente di  $4,5 \times 10^{-3}$  e  $2,8 \times 10^{-3}$ . Sulla base di questi valori potremmo dire che i frutti facenti parte di questi genotipi presentano minor contenuto di gruppi CH della seconda regione di overtone ma anche di solidi solubili e di quei composti caratterizzati da legami C-H e O-H.
- Le cultivar descritte dalla curva viola (gruppo di genotipi con valori di scores di PC1 positivi) presentano il picco di assorbimento più alto a 1200 nm (pari a  $5 \times 10^{-3}$ ) mentre un valore intermedio di  $3,5 \times 10^{-3}$  a 1465 nm. I frutti avranno delle caratteristiche intermedie rispetto alle altre tre curve.
- I genotipi raffigurati dalla curva celeste (gruppo di genotipi con valori di scores di PC2 negativi) hanno picchi di assorbimento rispettivamente di  $4,5 \times 10^{-3}$  e  $3,5 \times 10^{-3}$ . Questi frutti hanno delle caratteristiche simili a quelli della curva verde per quanto riguarda i legami a 1200 nm e a quelli della curva viola per quanto riguarda i legami coinvolti a 1465 nm .
- La cultivar AN16,34,55 rappresentata dalla curva arancione (presentano valori di scores del PC1 positivi) ha un elevato contenuto in composti contenenti C-H e O-H con un assorbimento pari a  $5 \times 10^{-3}$  (1465 nm) e un contenuto in legami -CH della seconda regione di overtone (1200 nm) inferiore solo ai genotipi della curva viola con un assorbimento di  $4,6 \times 10^{-3}$ .

Il grafico 7 alla lunghezza d'onda 1465 nm mostra una netta differenza tra il Type 7 e i restanti genotipi ed è lo stesso genotipo che maggiormente si discosta dagli altri analizzati in questo lavoro di tesi. Come già accennato nel capitolo precedente, fare dei confronti tra i diversi genotipi non è semplice poiché nel grafico sottostante non si tiene conto del valore di ogni singolo genotipo ma di un valore medio di più genotipi. Inoltre, il NIR analizza interamente la

composizione chimica del frutto rispetto alle tecniche di laboratorio che analizzano parametri singoli ed è quindi normale aspettarsi delle incongruenze con il grafico 1 e 2.

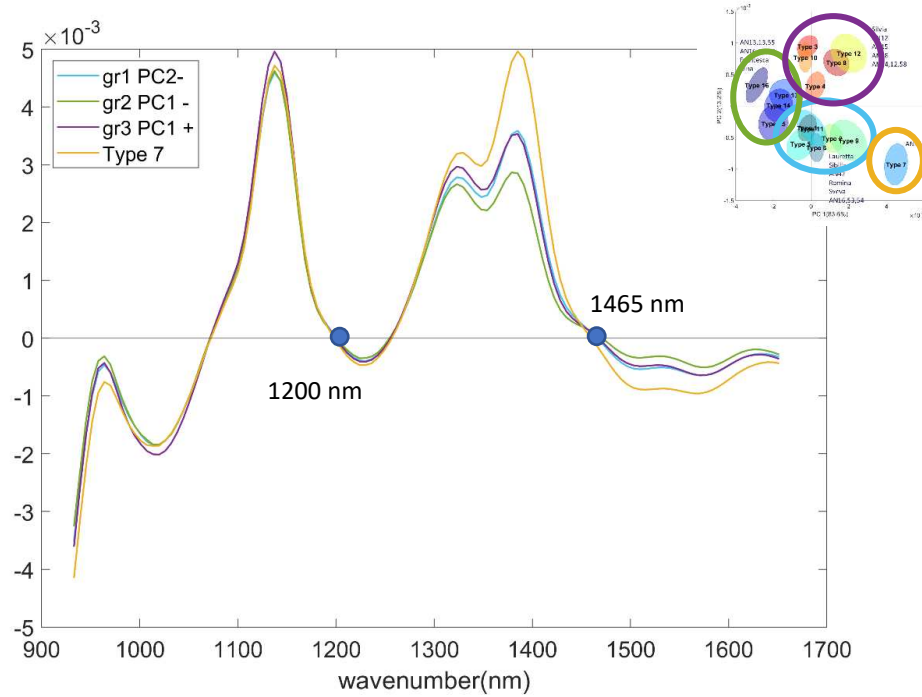
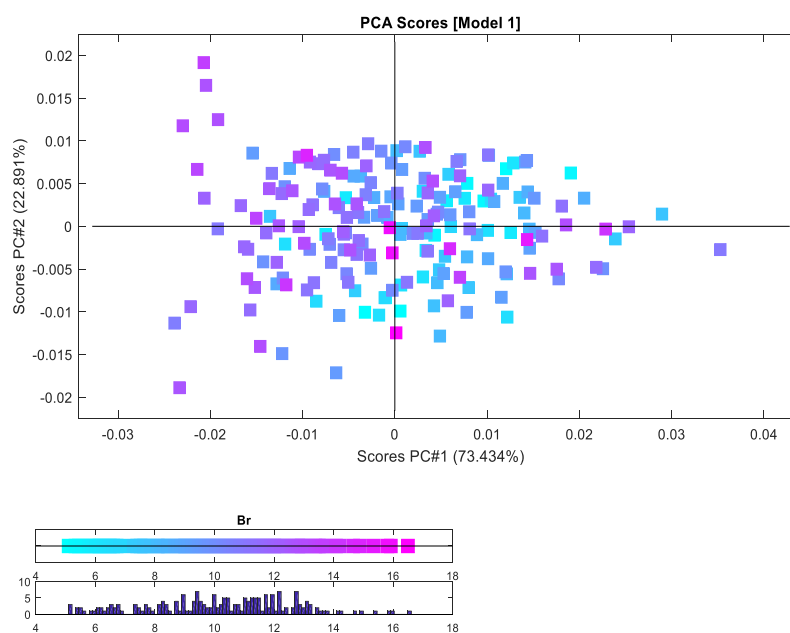


Grafico 11 spettri medi dei tre gruppi di genotipi osservati nello score-plot (grafico 9) e spettro medio del genotipo AN16,34,55 (Type7) utilizzando il pretrattamento di derivata prima (finestra dello spettro di 9 valori, secondo ordine polinomiale).

#### 4.4.3 PCA SU CONTENUTO IN SOLIDI SOLUBILI E ACIDITÀ OTTENUTI DALLA MATRICE\_TOOLG

L'analisi delle componenti principali per i solidi solubili e per l'acidità è stata calcolata su un dataset di minori dimensioni (197 campioni) rispetto alla PCA eseguita per le varietà (235 campioni) visto che per alcuni campioni non è stato possibile determinare uno o entrambi i parametri in questione (soprattutto il contenuto di acidità con le analisi di laboratorio). Il grafico 12 rappresenta lo score-plot della PCA ottenuto colorando gli scores in base al contenuto di solidi solubili dei diversi frutti di fragola. Nel dettaglio la PCA è stata calcolata sulla matrice\_toolG utilizzando come pretrattamento la derivata prima (finestra dello spettro di 9 valori, secondo ordine polinomiale). Dal grafico è possibile notare come al variare del °Brix varia il colore assegnato al frutto. Nel grafico sotto presente i campioni si dispongono maggiormente nella parte centrale del piano cartesiano, si hanno poi frutti con il maggior contenuto in solidi solubili nel primo e nel terzo quadrante mentre, i frutti con il contenuto in solidi solubili più basso (in celeste) si localizzano nel secondo e nel quarto quadrante in prossimità dell'origine degli assi cartesiani.

Tool G – 9der1 (°Brix)

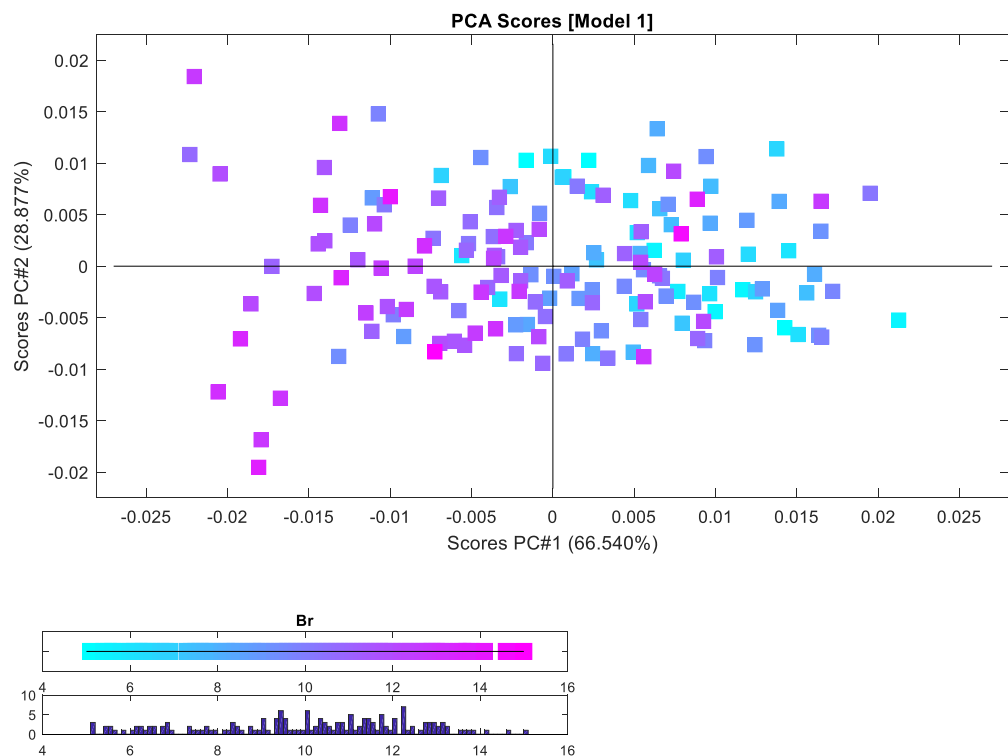


LatentIX v.2.13 21/12-2023 14:04

Grafico 12 score-plot della PCA (pretrattamento di derivata prima, finestra dello spettro di 9 valori, secondo ordine polinomiale) con i campioni di fragola colorati in relazione al contenuto in solidi solubili.

La PCA è stata calcolata nuovamente eliminando i 6 genotipi (Dina, Francesca, AN16,15,53, AN13,13,55, AN14,12,58, AN16,53,54) che alteravano i risultati a causa di una contaminazione da *Botrytis cinerea* (botrite). Il grafico 13 riporta il grafico degli scores della nuova PCA in cui è possibile notare un migliore trend di separazione dei frutti di fragola in base al contenuto di solidi solubili, che diminuisce andando da sinistra verso destra.

Tool G – 9der1 (removed last six) (°Brix)

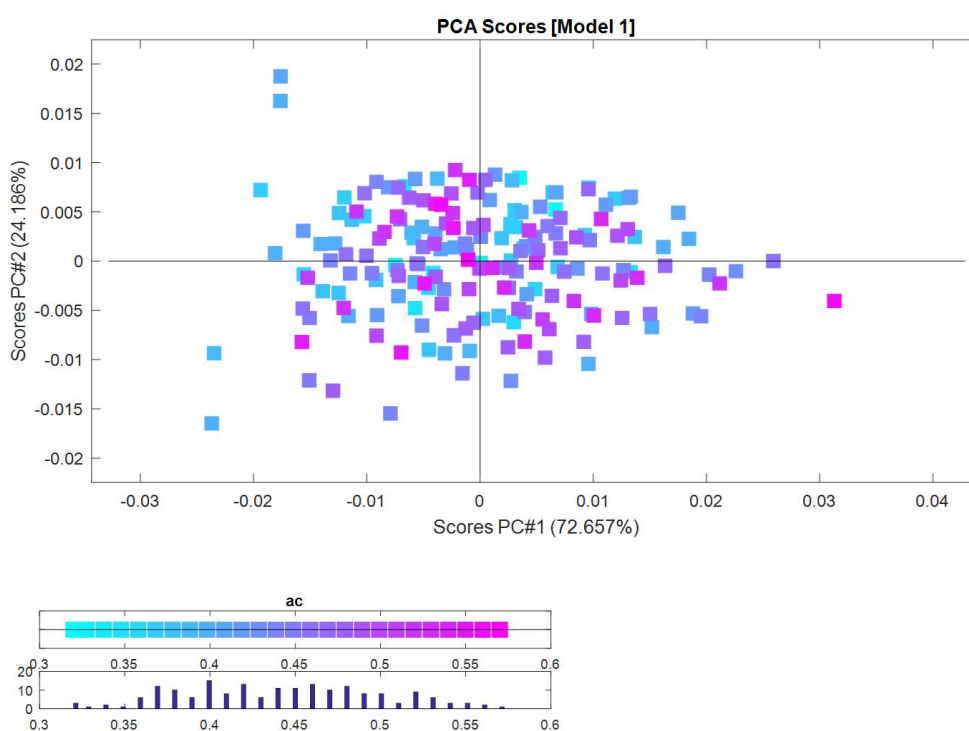


LatentiX v.2.13 21/12-2023 14:52

Grafico 13 score-plot della PCA (pretrattamento di derivata prima, finestra dello spettro di 9 valori, secondo ordine polinomiale) calcolata eliminando i 6 genotipi di fragola e colorando i campioni in relazione al contenuto in solidi solubili.

La stessa procedura è stata ripetuta anche considerando il contenuto di acidità delle fragole. Il grafico 14 mostra lo score-plot della PCA colorando i campioni in base all'acidità e utilizzando un pretrattamento di derivata prima con una finestra dello spettro di 13 valori, secondo ordine polinomiale. Nel grafico sottostante non vi è un chiaro trend di distribuzione in quanto i campioni, seppur con valori di acidità differenti, si distribuiscono nella parte centrale del piano cartesiano in maniera omogenea fatta eccezione per un campione con un'elevata acidità che si isola nel quarto quadrante e di cinque campioni con un'acidità <0,45% nel primo e nel terzo quadrante.

Tool G – 13der1 (ac)



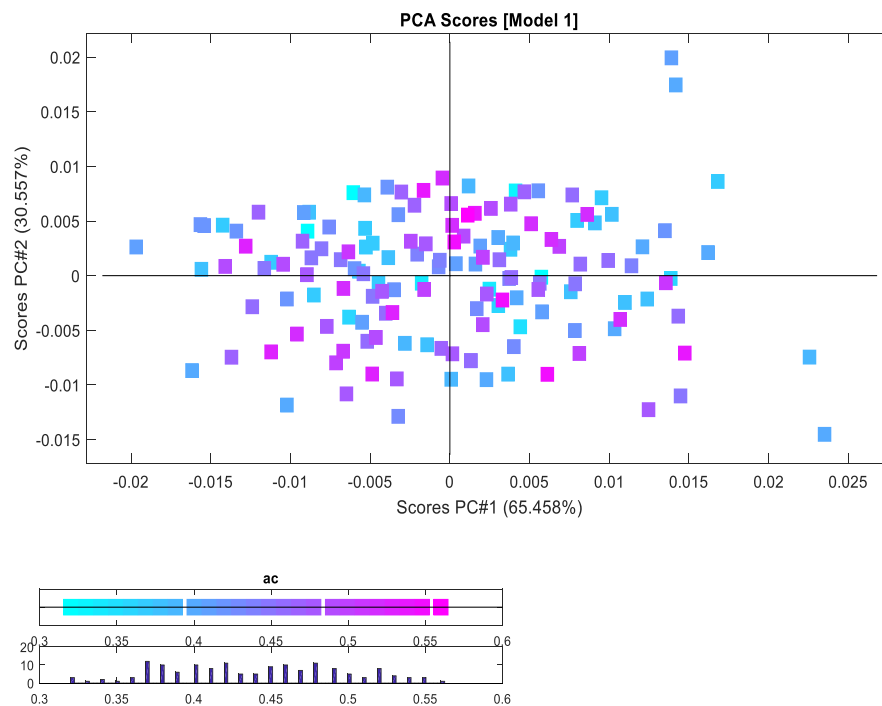
LatentIX v 2 1.3 18/12-2023 11:52

Grafico 14 score-plot della PCA (pretrattamento di derivata prima, finestra dello spettro di 13 valori, secondo ordine polinomiale) con i campioni di fragola colorati in relazione al contenuto di acidità.

Il grafico 15 mostra lo score plot della PCA calcolata non considerando i 6 genotipi (Dina, Francesca, AN16,15,53, AN13,13,55, AN14,12,58, AN16,53,54) contaminati da botrite, come già fatto per il contenuto in solidi solubili. Nonostante questa modifica, per l'acidità non si

riesce comunque ad ottenere un trend di separazione dei campioni in base ai valori di acidità delle fragole.

Tool G – 13der1 (removed last six) (ac)



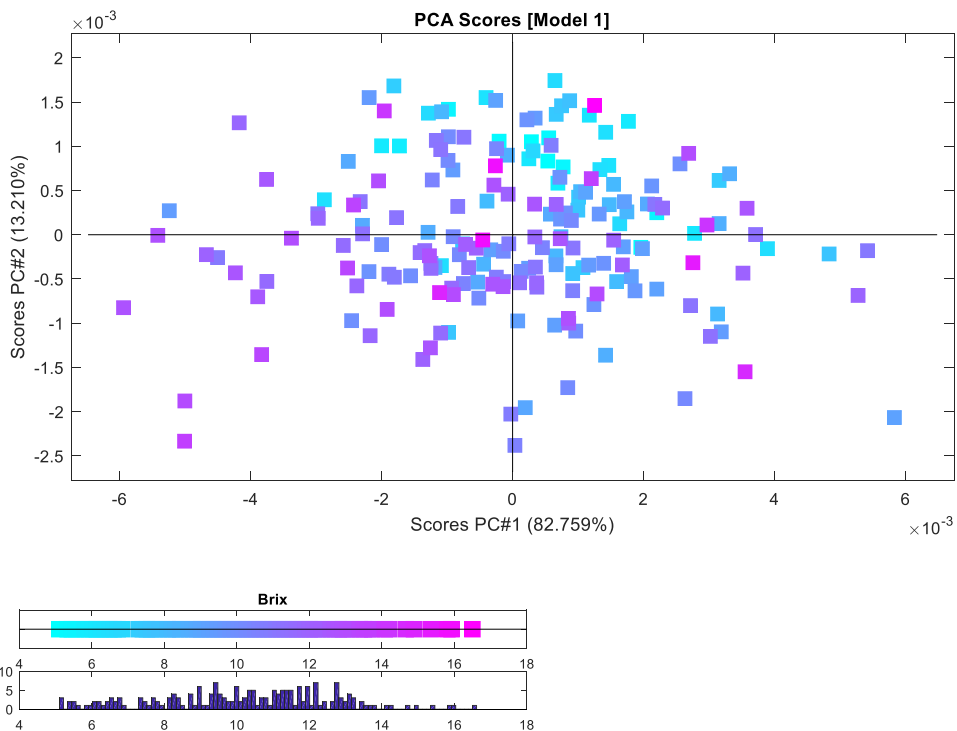
LatentiX v.2.13 18/12-2023 11:56

Grafico 15 score-plot della PCA (pretrattamento di derivata prima, finestra dello spettro di 13 valori, secondo ordine polinomiale) calcolata eliminando i 6 genotipi di fragola (Dina, Francesca, AN16,15,53, AN13,13,55, AN14,12,58, AN16,53,54) e colorando i campioni in relazione al contenuto di acidità.

#### 4.4.4 PCA SU CONTENUTO IN SOLIDI SOLUBILI OTTENUTI DALLA MATRICE\_TOOLP

Il grafico 16 rappresenta lo score-plot della PCA ottenuto colorando i campioni in base al contenuto di solidi solubili dei diversi frutti di fragola. Nel dettaglio la PCA è stata calcolata sulla matrice\_toolP utilizzando come pretrattamento la derivata prima (finestra dello spettro di 9 valori, secondo ordine polinomiale). Dal grafico è possibile notare come i campioni analizzati si distribuiscono nello score-plot in base alla loro concentrazione in solidi solubili. Non vi è un trend evidente, nella parte sinistra del grafico troviamo maggiormente isolati campioni con un contenuto zuccherino superiore a 11 °Brix, nelle altre zone del piano cartesiano è possibile trovare contemporaneamente campioni con un contenuto in solidi solubili differente.

Tool P – 9der1 (°Brix)

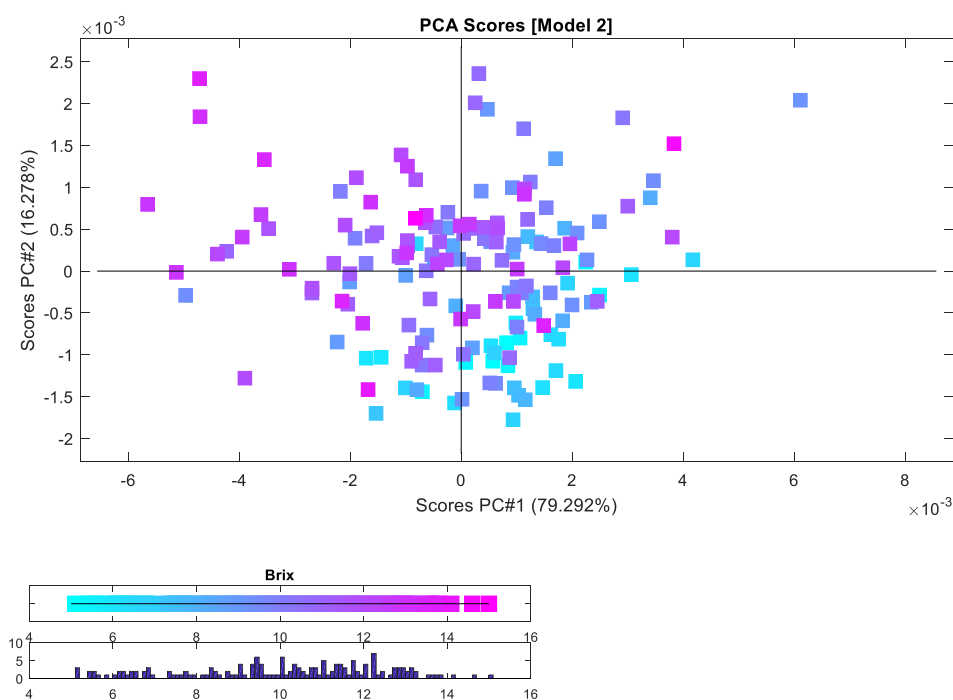


LatentiX v.2.13 9/1-2024 14:52

Grafico 16 score-plot della PCA (pretrattamento di derivata prima, finestra dello spettro di 9 valori, secondo ordine polinomiale) con i campioni di fragola colorati in relazione al contenuto in solidi solubili.

Come per la matrice\_toolG la PCA è stata ricalcolata eliminando i 6 genotipi (Dina, Francesca, AN16,15,53, AN13,13,55, AN14,12,58, AN16,53,54) contaminati da botrite. Il grafico 17 mostra un trend migliore con una diminuzione del contenuto in Solidi Solubili nei campioni spostandoci nello score-plot da sinistra verso destra e dall'alto verso il basso. I frutti con il °Brix maggiore si localizzano principalmente nel primo quadrante mentre i campioni con il °Brix minore ( colore celeste) si localizzano nella parte bassa del grafico 17 tra terzo e quarto quadrante.

Tool P – 9der1 (removed last six)



LatentiX v.2.13 9/1-2024 14:55

Grafico 17 score-plot della PCA (pretrattamento di derivata prima, finestra dello spettro di 9 valori, secondo ordine polinomiale) calcolata eliminando 6 genotipi di fragola (Dina, Francesca, AN16,15,53, AN13,13,55, AN14,12,58, AN16,53,54) e colorando i campioni in relazione al contenuto in solidi solubili.

Per la matrice dei dati Tool\_P non vengono riportati i grafici della PCA colorando i camioni in base al contenuto di acidità poiché come per l'altra matrice (Tool G) non è possibile osservare un trend di separazione soddisfacente.



#### 4.5 PLS

La tabella 3 e la tabella 4 mostrano i risultati del modello di regressione della PLS per la predizione del contenuto in Solidi Solubili per le matrici dei dati Tool G (18-20 mm di diametro) e Tool P (8 mm di diametro) considerando diversi tipi di pretrattamento dei dati spettrali. Nello specifico i pretrattamenti utilizzati sono: RAW, Standard Normal Variate (SNV), Derivata prima finestra dello spettro di 9 valori, secondo ordine polinomiale (9der1), Derivata prima finestra dello spettro di 13 valori, secondo ordine polinomiale (13der1). Per ogni modello vengono riportate il numero di variabili latenti (LVs) utilizzate per descrivere la correlazione tra la matrice dei dati spettrali (X) e il contenuto in Solidi Solubili che deve essere predetto (Y), l'errore del modello, ovvero il Root Mean Square Error of Cross validation (RMSECV) e il coefficiente di correlazione R<sup>2</sup>. Inoltre vengono riportati due indici che permettono di comparare le performance dei diversi modelli: Range Error Ratio (RER) calcolato come rapporto tra il range di solidi solubili (valore °Brix massimo – valore °Brix minimo) e RMSECV e Ratio of Performance to Deviation (RPD) calcolato come rapporto tra la deviazione standard dei dati di solidi solubili (Std) e RMSECV. In genere, per lo stesso pretrattamento utilizzando un numero di LVs maggiore si riesce ad abbassare l'errore del modello e ad ottenere una curva quasi perfetta, ma si incorre nel rischio di andare verso un overfitting del modello, ovvero andare a descrivere non soltanto l'informazione utile ma anche il rumore. I campioni analizzati hanno un valore minimo in Solidi Solubili di 5,1°Brix, un valore massimo di 15,0 °Brix (range 9,9 °Brix), una media di 10,03 °Brix e una deviazione standard di 2,34 °Brix.

PRETRATTAMENTO	LVs	RMSECV	R <sup>2</sup>	RER	RPD
RAW	7	0,94	0,84	10,3	2,5
	9	0,79	0,89	12,6	3,0
SNV	8	0,73	0,90	13,6	3,2
	5	0,97	0,83	10,2	2,4
9der1	8	0,73	0,90	13,6	3,2
13der1	8	0,81	0,88	12,2	2,9

Tabella 3 pretrattamenti utilizzati per costruire i modelli di predizione del contenuto in solidi solubili per la matrice dei dati Tool\_G. Il miglior modello di predizione viene evidenziato.

PRETRATTAMENTO	LVs	RMSECV	R <sup>2</sup>	RER	RPD
RAW	5	1,35	0,67	7,3	1,7
	8	0,91	0,85	10,9	2,6
SNV	7	0,84	0,87	11,8	2,8
9der1	6	0,92	0,84	10,8	2,5
	8	0,84	0,87	11,8	2,8
13der1	8	0,90	0,85	11,0	2,6

Tabella 4 pretrattamenti utilizzati per costruire i modelli di predizione del contenuto in solidi solubili per la matrice dei dati Tool\_P. Il miglior modello di predizione viene evidenziato.

Per la matrice di dati ottenuta dal Tool G sono stati creati quattro diversi modelli di predizione (tabella 3) che hanno prodotto risultati non totalmente soddisfacenti grazie al basso errore di predizione (RMSECV) e R<sup>2</sup> prossimi all'unità. I pretrattamenti SNV e 9der1 con 8 LVs hanno prodotto gli stessi risultati ma si è deciso di focalizzarci solo su uno di questi. Il grafico 18 mostra la retta di regressione del modello di predizione PLS ottenuto con il pretrattamento di derivata prima (9der1) utilizzando 8 LVs. Quest'ultimo è il modello migliore in quanto presenta dei valori in cross-validazione di RMSECV=0,73 °Brix, R<sup>2</sup>=0,90, RER=13,6 e RPD=3,2 che lo rendono attendibile e di buona qualità permettendo di utilizzarlo anche per applicazioni di screening. Nel grafico 18 sull'ascissa troviamo i solidi solubili misurati in laboratorio e definiti come reali (da 5 a 15 °Brix) mentre sull'ordinata troviamo una variabile predetta. La retta verde è quella ideale mentre la retta rossa è quella ottenuta dal nostro modello e possiamo osservare come i campioni si discostino di poco. I cerchi rappresentano i campioni di fragola e in un modello ideale si distribuirebbero lungo la linea. Nel nostro caso i campioni si distanziano in maniera differente dalla retta rossa e l'insieme di queste distanze vanno a formare l'errore RMSECV del modello (gli errori sono le differenze tra l'osservato e il predetto).

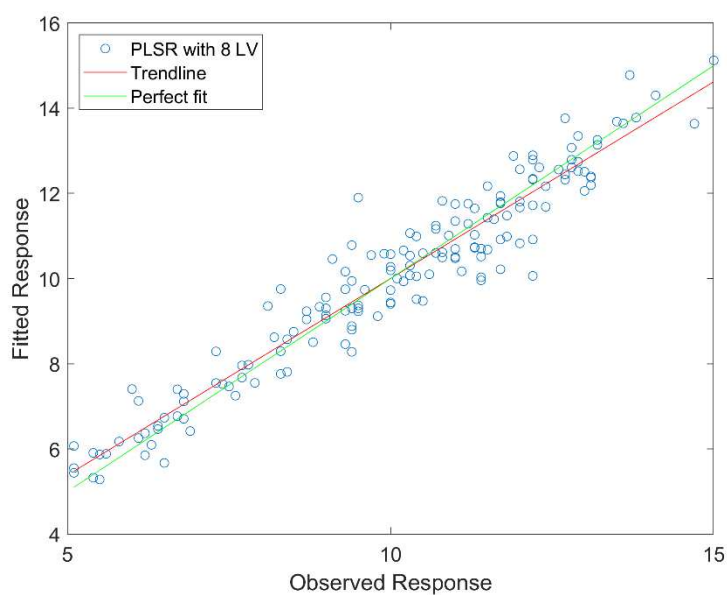


Grafico 18 retta di regressione del modello di predizione dei solidi solubili per la matrice Tool G, ottenuto con il pretrattamento 9der1 e con 8LVs

Anche per la matrice dei dati ottenuti dal Tool P sono stati creati quattro diversi modelli di predizione (tabella 4) con un errore generalmente più elevato e un  $R^2$  più basso rispetto ai modelli del Tool G rendendoli quindi meno performanti. Il grafico 19 mostra la retta di regressione del modello PLS considerato migliore ottenuto effettuando un pretrattamento SNV con 7 LVs. Il modello restituisce i seguenti valori di cross-validazione: RMSECV=0,84,  $R^2=0,87$ , RER=11,8 e RPD= 2,8. I valori appena elencati non sono eccellenti infatti l'RPD definisce questo modello discreto ma poiché l'RER>7 può essere utilizzato nelle analisi di screening.

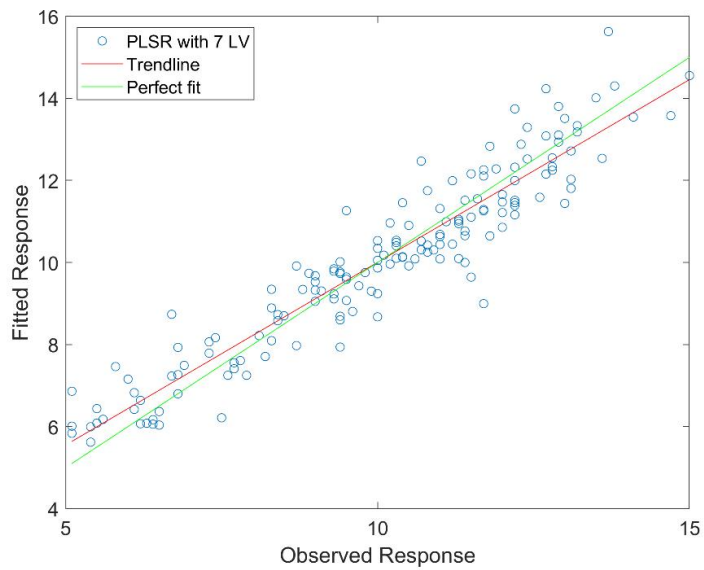


Grafico 19 retta di regressione del modello di predizione dei solidi solubili, per la matrice Tool P, ottenuto con il pretrattamento snv e con 7 LVs.

A differenza del modello PLS per la predizione dei solidi solubili i modelli per la predizione del contenuto di acidità non hanno prodotto risultati soddisfacenti tanto da impedirne l'utilizzo per applicazioni di screening o di controllo qualitativo. Questi risultati confermano quanto osservato negli score plot dell'analisi delle componenti principali per l'acidità, dove sia nel grafico 14 che nel grafico 15 non vi è un chiaro trend di distribuzione dei campioni in base al contenuto di acidità, ma campioni anche se con valori di acidità differenti tendono a raggrupparsi.

## Capitolo 5

# CONCLUSIONI

Dalle analisi di laboratorio, eseguite con metodi distruttivi, sui 16 genotipi di fragola selezionati è possibile notare che la cultivar con il contenuto in solidi solubili maggiore è Francesca ; quest'ultima inoltre risulta essere il genotipo con la maggiore acidità e questo è molto importante poiché va a bilanciare l'elevato contenuto zuccherino conferendo ai frutti un gusto equilibrato, molto apprezzato dai consumatori. Le due cultivar a maturazione tardiva, Sveva e Silvia presentano il contenuto in Solidi Solubili minore, bilanciato da un valore di acidità intermedio tra i 16 genotipi. Sibilla è la cultivar più acida ma, presenta un contenuto zuccherino elevato il che conferisce ai frutti un gusto molto dolce che soddisfa solo una parte dei consumatori.

Le analisi PCA eseguite con il Micro-NIR con finestra di acquisizione di 8 (ToolG) e 18-20 (ToolP) mm di diametro hanno permesso di verificare la distribuzione dei genotipi su di un piano cartesiano (score plot) restituendo risultati molti simili. La selezione AN16,34,55 (Type7) si distacca dai restanti genotipi che invece si raggruppano in tre gruppi. Dall'analisi degli spettri prodotti dalla PCA, per entrambe le matrici, il Type7 risulta avere il picco di assorbimento più elevato alla lunghezza d'onda dei legami C-H e O-H tipici dei Solidi Solubili ma anche di altre molecole.

Inoltre, attraverso l'analisi PLS degli spettri misurati al NIR e dei dati di laboratorio del contenuto di solidi solubili, è stato possibile costruire un modello predittivo robusto per entrambe le matrici (ToolG e ToolP) che può garantire la possibilità del suo utilizzo per applicazioni di screening qualitativo. Per l'acidità la PLS non è riuscita a creare modelli predittivi robusti tanto da impedirne l'utilizzo in applicazioni di screening qualitativo.

In conclusione da questo studio di tesi è possibile concludere che la spettroscopia NIR (Near Infra Red) accoppiata a metodi chemiometrici e all'analisi statistica multivariata dei dati è in grado di fornire risultati soddisfacenti per il contenuto in solidi solubili mentre mostra

difficoltà nel produrre dati ottimali e attendibili per l'acidità. Questa tecnica con ulteriori miglie per il parametro dell'acidità consentirebbe di sostituire i metodi di analisi distruttiva permettendo di fornire al consumatore dati reali sulle caratteristiche dei frutti commercializzati. Il Micro-NIR inoltre essendo uno strumento portatile consente di tenere sotto controllo l'evoluzione delle caratteristiche chimiche dei frutti nel corso della maturazione.

## BIBLIOGRAFIA

- W Faedi, G Baruzzi, P Sbrighi - Ventana, (2004). Fragola, liste varietali fruttiferi.
- Angelini, R. (2010). La fragola. Art Servizi SpA Bologna.
- Dott. G. Cristiano (1giugno2018). Fragola.
- Neri et al (2012)
- Luca Mazzoni 1, Francesca Giampieri 1, Jacopo Diamanti 2, Franco Capocasa2, José Miguel Alvarez-Suarez1, Massimiliano Gasparrini 1, Francesca Balducci 2, Maurizio Battino1 e Bruno Mezzetti 2. Il profilo nutrizionale della fragola ed il suo impatto sulla salute dell'uomo (2013)
- Kader A.A., 1988. Influence of preharvest and postharvest environment on nutritional composition of fruits and vegetables. p. 18-32. In: B. Quebedeaux and F.A.Bliss (eds). Horticulture and human health: contribution of fruits and vegetables. proc. Of 1st International Symposium on Horticulture and Human health. Prentice – Hall Englewood Cliffs, N.J. Katan J. and J.E. DeVay, 1991. Soil Solarization. CRC Press Inc.. Boca Raton, FL, USA, pp.: 267
- Kidmose U., Andersen H., Vang-Petersen O., 1996. Yield and quality attributes of strawberry cultivars grown in Denmark 1990-1991. Fruit Varieties Journal 50 (3):160-167.
- Morris J.R., Sistrunk W. A., 1991. The Strawberry. p.181-206. In: N.A.M. Eskin (ed.). Quality and preservation of fruits. CRC Press
- Savitzky, A. and Golay, M. (1964) Smoothing and Differentiation of Data by Simplified Least Squares Procedures
- Wang S.Y., Camp M.J., 2000. Temperatures after bloom affect plant growth and fruit quality of strawberry. Scientia Horticulturae 85: 183-199
- F. Capocasa et al.
- B. Mezzetti et al.

## RINGRAZIAMENTI

Ci tengo a ringraziare il Prof. Franco Capocasa per la sua disponibilità ma soprattutto per avermi aiutato nella scelta dell'argomento sul quale eseguire lo studio di tesi e del quale ad oggi sono molto soddisfatto. Grazie!

Grazie a Davide che mi ha seguito ed istruito durante le due settimane di laboratorio, Grazie!

Grazie a Luca Mazzoni, il mio correlatore, per la sua disponibilità e soprattutto per gli aiuti e i consigli ricevuti nella stesura della tesi. Grazie!

Grazie a Manuela Mancini per avermi spiegato con grande pazienza tutta la parte di analisi multivariata, per la sua grande disponibilità negli incontri, per aver risposto alle mie mail anche nei giorni festivi, per tutti i suoi chiarimenti e consigli e per avermi seguito passo dopo passo nella stesura di questa tesi. Grazie!

Grazie a Matteo e Lorenzo per esserci sempre stati e per tutti i momenti di spensieratezza passati insieme. Grazie!

Per ultimo, il grazie più importante va alla mia famiglia, che durante questi anni mi ha sempre sostenuto senza farmi mai sentire solo. Grazie per aver creduto in me anche quando le cose non andavano. Grazie per avermi spronato a non mollare e a portare a termine questo percorso di studi. Grazie per aver sopportato tutti i miei sfoghi. Grazie per tutti i sacrifici che avete fatto per me. Potrei andare avanti per ore a ringraziarvi ma concludo dicendovi grazie per avermi reso l'uomo che sono oggi e spero un giorno di riuscire a rendervi fieri ed orgogliosi di me.