



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI DELLA
Tuscia



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DELLA TUSCIA DI VITERBO

**DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE PER L'AGRICOLTURA,
LE FORESTE, LA NATURA E L'ENERGIA (DAFNE)**

Corso di Dottorato di Ricerca in

Scienze e tecnologie per la gestione forestale e ambientale - XXVI Ciclo

Titolo della tesi di Dottorato di Ricerca

***STATI DI ALTERAZIONE DEL LEGNO E SVILUPPO DI
PROTOCOLLI DI INDAGINE***

s.s.d. AGR/06

Tesi di dottorato di:

Dott. Luca Calienno

Firma

Coordinatore del corso

Prof. Rosanna Bellarosa

Firma

Tutore

Prof. Angela Lo Monaco

Firma

Co-tutore

Dott. Claudia Pelosi

Firma

Co-tutore

Dott. Rodolfo Picchio

Firma

30 maggio 2014

Riassunto

STATI DI ALTERAZIONE DEL LEGNO E SVILUPPO DI PROTOCOLLI DI INDAGINE

In questo lavoro sono stati studiati alcuni tipi di alterazioni del legno causati da agenti biotici ed abiotici. Nello specifico, tra gli agenti biotici è stato scelto *Inonotus rickii* (Pat.) Ried, un fungo basidiomicete di origine esotica che ultimamente si sta diffondendo negli ambienti urbani. Sono state considerate alcune delle più diffuse specie arboree di interesse ornamentale ed è stata studiata l'azione di tre diversi inoculi di questo fungo.

Invece per quanto riguarda gli agenti abiotici, è stato studiato l'effetto della radiazione luminosa sulla superficie di campioni di legno di diverse specie. Sono state considerate sia le variazioni di colore che della composizione chimica del legno.

L'analisi statistica delle differenze delle caratteristiche fisiche e meccaniche del legno inoculato con *Inonotus rickii* (Pat.) Ried rispetto al controllo, ha permesso di capire che la massa volumica e la resistenza a compressione assiale evidenziano l'effetto degradativo di questo fungo sul legno e, combinandole con una matrice di rischio, è stato possibile individuare un *ranking* di suscettibilità delle specie considerate. Le specie che hanno mostrato una alta suscettibilità *in vitro*, sono le stesse che sono risultate maggiormente attaccate *in vivo*. La radiazione luminosa agisce sul legno provocandone sia alterazione del colore che degradazione delle componenti chimiche. I test statistici hanno mostrato che con l'aumentare del tempo di irraggiamento, variano le componenti colorimetriche (L^* , a^* e b^*) verso tonalità più scure. Inoltre è possibile notare una netta diminuzione della componente fenolica ed un aumento dei gruppi carbonilici.

Le variazioni di colore e la degradazione delle componenti chimiche hanno dato origine a delle funzioni di regressione statisticamente significative.

Parole chiave: legno; alterazioni del legno; *Inonotus rickii* (Pat.) Ried; radiazione luminosa.

Abstract

STATES OF WOOD ALTERATION AND DEVELOPMENT OF INVESTIGATION PROTOCOLS

In this work, some wood alterations, caused by biotic and abiotic factors, are studied. Specifically *Inonotus rickii* (Pat.) Ried is chosen as biotic factor. *Inonotus rickii* (Pat.) Ried is a exotic fungus (*Basidiomycetes*) that is spreading in urban areas. Some of the more important ornamental trees are evaluated. Three different isolates of *Inonotus rickii* (Pat.) Ried are studied.

On the other hand, concerning abiotic factors, the effects of the light on the wood specimens surface are studied. The colour and chemical changes are evaluated.

The statistical analysis of the data, regarding differences of physical and mechanical features between control specimens and inoculated specimens, have allowed to understand that density and axial compression straight underline the degradation capacity of this fungus. Density and axial compression straight are combined using a risk matrix and so a degradation ranking is identified regarding studied wood species. The wood species, that have not showed a high durability *in vitro*, are the same that present susceptibility *in vivo*.

The light causes colour changes and chemical degradation on the wood surfaces. The statistical tests have showed that the colorimetric components change (L^* , a^* e b^*) into darker tones by increasing exposition time. A decrease of phenolic component and an increase of carbonyl groups are showed.

The colour changes and the chemical degradation have originated statistically significant regression functions.

Keywords: wood; wood alterations; *Inonotus rickii* (Pat.) Ried; light.

Sommario

Sommario	5
1. Introduzione.....	8
1.1. Premessa	8
1.1.1 Scopo del lavoro	10
1.2. Alterazioni da funghi ed il caso di <i>Inonotus rickii</i> (Pat.) Reid	12
1.2.1. <i>Inonotus rickii</i> (Pat.) Reid	15
1.3. Alterazioni da fattori abiotici ed il caso della radiazione luminosa	20
1.3.1. L'azione degli agenti abiotici	20
1.3.2. La radiazione luminosa e la sua natura sia ondulatoria che corpuscolare	21
1.3.3. Il colore, la sua percezione e la sua misura	22
1.3.4. Cenni sulla composizione chimica del legno	24
1.3.5. La spettroscopia ad infrarossi a trasformata di Fourier (FT-IR) e <i>Hyper Spectral Imaging</i> (HSI).....	28
1.3.6. L'effetto della radiazione luminosa sul legno	31
2. Materiali e metodi.....	36
2.1. Le alterazioni fisiche e meccaniche del legno a seguito dell'azione di <i>Inonotus rickii</i> (Pat.) Reid.....	36
2.1.1. Premessa	36
2.1.2. Preparazione ed inoculazione del materiale	38
2.1.3. I ritiri e i coefficienti unitari di ritiro	39
2.1.4. La massa volumica al 12% di umidità.....	43
2.1.5 La resistenza a compressione parallela alla fibratura	45
2.1.6. Le metodologie statistiche applicate	47
2.2. Lo studio delle alterazioni di colore e chimiche di superfici legnose sottoposte alla radiazione luminosa in ambiente controllato.....	50
2.2.1. Premessa	50
2.2.2. Preparazione dei campioni	51
2.2.3. Esposizione alla radiazione luminosa in ambiente controllato.....	53
2.2.4. Misure di colore.....	54
2.2.5. Spettroscopia FTIR.....	55
2.2.6. Analisi tramite <i>HyperSpectral Imaging</i>	56
2.2.7. Le metodologie statistiche applicate	58
3. Degradation of some technological features in wood of ornamental species due to <i>Inonotus rickii</i> (Pat.) Reid	60
3.1. Premessa	60
3.2. Manoscritto.....	62
4. Light-induced color changes and chemical modification of treated and untreated chestnut wood surface.....	78
4.1 Premessa	78
4.2. Manoscritto.....	80
5. Application of spectroscopic techniques for the study of the surface changes in poplar wood and possible implications in conservation of wooden artefacts	97
5.1. Premessa	97
5.2. Manoscritto.....	99
6. Surface Investigation of Photo-Degraded Wood by Colour Monitoring, Infrared Spectroscopy, and Hyperspectral Imaging	119
6.1. Premessa	119
6.2. Manoscritto.....	121
7. Modelling colour and chemical changes on beech wood with or without red heartwood	148

7.1. Premessa	148
7.2. Manoscritto	150
8. L'azione degli estrattivi sul legno di <i>Castanea sativa</i> Mill. esposto a radiazione luminosa in ambiente controllato	174
9. Conclusioni	183
10. Bibliografia	186
10.1 Articoli e manuali	186
10.2. Norme	195

1. Introduzione

1.1. Premessa

Le foreste nel mondo rappresentano uno dei sistemi più importanti per la salvaguardia ambientale, poiché sono ricche di biodiversità, influenzano il ciclo dell'acqua, contribuiscono a prevenire frane ed erosione e fissano l'anidride carbonica (Pettenella, 2013).

Grazie alla grande diversità di prodotti e servizi i sistemi forestali contribuiscono all'economia di molte popolazioni delle aree rurali, non solo nei paesi in via di sviluppo. Secondo Mary *et al.* (2005) 1,2 miliardi di persone coprono i loro fabbisogni essenziali grazie alle risorse forestali e secondo la Word Bank (2002) circa 240 milioni vivono in ambienti forestali o nella loro prossimità e 60 milioni di indigeni trovano esclusivamente nelle foreste la loro sussistenza.

Il materiale legnoso assicura approvvigionamento energetico di circa 2 miliardi di persone e copre il 70% del fabbisogno energetico delle popolazioni africane e del sud-est asiatico, ma recentemente il ruolo del legname nell'economia mondiale sta crescendo meno degli altri settori economici (Mary *et al.*, 2005). Infatti, secondo la FAO (2005) dal 1990 al 2000, mentre il mercato globale è cresciuto circa del 30%, il settore del legname è cresciuto solo del 1,4%, passando da 1,6% a 1,2% del PIL mondiale.

Secondo il lavoro svolto dall'UNECE e dalla FAO nel 2013, nei 56 Paesi membri dell'UNECE, durante l'anno 2012, il consumo apparente di tondame per uso industriale è stato di 999.229 m³ (incremento rispetto all'anno precedente di 0,7%), quello di segati di 210.039 m³ (incremento rispetto all'anno precedente di 1,8%) e quello di pannelli a base di legno di 129.123 m³ (incremento rispetto all'anno precedente di 0,5%).

Le foreste comunque continuano a rivestire un ruolo economico importante anche per le attività ad esse collegate come ad esempio il turismo e la produzione di prodotti secondari. Secondo Robinson e Bennett (2004) nelle foreste dell'America Latina, Sud-est asiatico e in Africa occidentale, circa 60 milioni di persone non hanno fonte alternativa di proteine se non la caccia e secondo Srivastava *et al.* (1996) 1,8 miliardi di persone, solo in Asia, fanno uso di piante a scopo medicinale.

Nella filiera foresta-legno, l'Italia è uno dei maggiori paese esportatori di prodotti finiti con circa 80.000 imprese e circa 500.000 unità di personale impiegato. L'approvvigionamento, però, è dipendente, per circa 2/3 del suo fabbisogno, dai paesi esteri. Anche se i boschi italiani hanno subito un aumento sia delle superfici che della provvigione, non si è verificato un incremento della gestione e delle utilizzazioni: sono stati prelevati circa 8 milioni di m³ annui

che rappresentano meno del 25% dell'incremento annuale (la media europea è circa del 65%). Inoltre, è evidente una mancanza qualitativa e quantitativa che possa soddisfare la richiesta interna (Marongiu e Romano, 2012).

Dettori *et al.* (2008) riportano i dati di alcune produzioni forestali non legnose in Italia. Le foreste di quercia da sughero (*Quercus suber* L.), sono estese per poco meno di 3 milioni di ettari, per circa l'80% nella regione Sardegna. Nel periodo 1950 - 2000 hanno conservato indicativamente la loro estensione, ma le produzioni sono in costante decremento a causa del progressivo degrado di questi popolamenti (Elena Rossellò, 2000).

Invece, le superfici delle pinete di pino domestico (*Pinus pinea* L.), per la produzione di pinoli, nel trentennio 1965-1995 sono diminuite, spesso a causa di interventi sulle coste per la promozione del settore turistico (Dettori *et al.*, 2008). L'Inventario Nazionale delle Foreste e dei Serbatoi Forestali di Carbonio (2005) riporta una superficie totale di pinete pure di pino domestico di 46.290 ha.

Sempre secondo Dettori *et al.* (2008), la produzione boschiva di funghi commestibili e tartufi crea lavoro e reddito sia direttamente, attraverso la vendita del prodotto fresco o lavorato, che indirettamente poiché la ricerca funghi è un'attività ricreativa che stimola il turismo. Spesso, le tasse di concessione dei permessi di raccolta possono costituire un'entrata rilevante per i Comuni, talvolta superiore a quella derivante dalla vendita del legname.

In Italia, il legname è stato, nei secoli, largamente utilizzato per vari scopi. Basta ricordare il notevole patrimonio artistico ligneo composto da una moltitudine di manufatti (statue, dipinti su tavola, arredi, infissi, utensili, ecc....) raccolti in musei e chiese. A questo vanno aggiunte le parti di costruzioni (legname strutturale, orditure dei sottotetti, cassettonati decorativi ecc....) e tutte le rifiniture interne ed esterne di edifici anche di importanza artistica. Tutto ciò è soggetto ai processi di degradamento del legno, materiale di origine vegetale e dunque di natura organica, a causa di agenti biotici ed abiotici (Gambetta, 2010).

Gli agenti biotici, in gran parte insetti e funghi, ma anche batteri e, per le costruzioni marittime, organismi marini, in particolari condizioni ambientali, utilizzano e consumano il legno per le loro attività metaboliche. Attacchi ad opera di questi organismi xilofagi possono essere riscontrati sul legno fresco, sul legno in deposito e sul legno in opera. Il ciclo vitale del patogeno può iniziare in foresta e completarsi nel materiale in opera (Gambetta, 2010; Giordano, 1981).

L'esposizione agli agenti abiotici, come l'azione dell'aria, della luce e delle altre radiazioni, e dei cambiamenti di temperatura ed umidità, provocano alterazioni prima superficiali e poi più profonde, provocando essenzialmente cambiamenti di colore, perdita di levigatezza e

continuità delle superfici, parziale scomparsa di cellule e deformazioni permanenti. Poiché questi fattori spesso interagiscono tra di loro, risulta difficile indagarli singolarmente (Giordano, 1981).

Oltre ai prodotti e servizi che gli alberi esplicano negli ambienti forestali, è indispensabile aggiungere anche quelli in contesti urbani. Ormai è opinione comune che gli alberi nelle città possono portare ad un alto numero di benefici approfonditamente studiati (Nowak e Dwyer, 2007; Robles *et al.*, 2011). Gli spazi verdi svolgono un ruolo chiave nel miglioramento del benessere percepito dai cittadini in ambiente urbano. I meccanismi attraverso i quali questi spazi influiscono sul benessere sono molteplici e riguardano, ad esempio: la riduzione dell'inquinamento atmosferico; il miglioramento del microclima urbano; la stimolazione dell'esercizio fisico; l'aumento della coesione sociale; la riduzione dello stress. A queste aree sono, inoltre, attribuiti una serie di benefici psicologici e rigenerativi derivanti dall'esperienza diretta con la natura. In generale, gli ambienti caratterizzati da un'elevata presenza di elementi naturali offrono maggiori opportunità di rigenerazione delle risorse cognitive e delle capacità psicofisiche rispetto ad ambienti artificiali. E' stato evidenziato che ambienti caratterizzati da una combinazione di elementi naturali e artificiali sono in grado di rigenerare i fruitori anche in contesti non propriamente naturali, es. aree urbane (Dentamaro *et al.*, 2011).

Gli alberi in città sono esposti a fattori di stress che possono indurre fitopatologie e fisiopatie. Inquinamento, mancanza di spazio per la crescita, carenza di nutrienti, lesioni meccaniche e disturbi dovuti a manufatti permanenti (strade, marciapiedi, muri di contenimento, ecc...) contribuiscono a ridurre il vigore della pianta, aumentando così la possibilità di azione di agenti biotici secondari (insetti e funghi) che svolgono la loro attività metabolica nello xilema e che possono seriamente far diminuire sia la stabilità che la resistenza alle rotture (Sæbø *et al.*, 2005; Schwarze *et al.*, 2000). Nelle aree urbane il mantenere in piedi alberi, talvolta di grandi dimensioni e con chioma espansa, in condizioni compromesse da fitopatie comporta un rischio rilevante per gli incidenti che possono coinvolgere persone o cose (Robles *et al.*, 2011; Terho e Hallaksella, 2005).

1.1.1 Scopo del lavoro

Dato il valore economico, diretto ed indiretto, del materiale legnoso in opera o in piedi, lo scopo di questo lavoro è stato quello di analizzare alcune tipologie di alterazioni del legno causate da agenti biotici e abiotici. Nello specifico, tra gli agenti biotici è stato scelto *Inonotus*

rickii (Pat.) Ried, un fungo basidiomicete che si sta diffondendo negli ambienti urbani e per quanto riguarda gli agenti abiotici, è stato studiato l'effetto della radiazione luminosa sulla superficie di campioni di legno di diverse specie sia sotto il profilo delle variazioni di colore che della composizione chimica del legno.

E' stata considerata l'azione di *Inonotus rickii* (Pat.) Reid della classe degli *Hymenomycetes* che causa carie bianca e cancri su numerose specie arboree (De Simone *et al.*, 2011; Mazza *et al.*, 2008). Questo organismo polifago di origine esotica, si sta diffondendo in Italia in ambiente urbano. L'obiettivo di questa parte del lavoro è stata quella di valutare *in vitro* l'azione del patogeno sulle caratteristiche fisico-meccaniche del legno di specie ornamentali diverse, ospiti e non, per individuare i test che meglio definiscano da un punto di vista tecnologico i danni causati al legno delle specie esaminate e, stabilire quali, tra queste, abbiano maggiore capacità di resistenza. Si propone, pertanto una metodologia d'indagine che possa essere impiegata per stabilire un *ranking* di degradabilità del legno di specie che possono essere impiegate in ambiente urbano. E' stata valutata inoltre la capacità degradativa di tre inoculi prelevati da diversi ospiti (*Acer negundo* L., *Celtis australis* L. e *Robinia pseudoacacia* L.).

Sono stati studiati campioni delle seguenti specie di interesse ornamentale: *Acer campestre* L., *Acer negundo* L., *Celtis australis* L., *Robinia pseudoacacia* L., *Tilia x vulgaris* Hayne, *Ulmus minor* Mill., *Platanus x acerifolia* (Aiton) Willd. e *Quercus ilex* L.

Per quanto riguarda le alterazioni causate da agenti abiotici, è stata considerata, con varie tecniche, l'azione della radiazione luminosa e le modalità di azione sul colore e sulla composizione chimica della superficie del legno in base al tempo di esposizione in ambiente controllato. Sono stati studiati campioni di legno di specie utilizzate nei beni culturali e nell'industria del legno: *Castanea sativa* Mill., *Populus* L. sp., e *Fagus sylvatica* L. E' stata valutata, infine, anche l'azione di una sostanza protettiva largamente utilizzata per la conservazione dei manufatti artistici lignei.

Sia per quanto riguarda l'azione di *Inonotus rickii* (Pat.) Reid che per quanto riguarda l'azione della radiazione luminosa, i risultati ottenuti sono stati elaborati con metodologie statistiche per discriminare il comportamento dei vari *set* di campioni studiati, e per trovare eventuali funzioni che possano mettere in relazione i fenomeni osservati.

Questo aspetto rappresenta un *gap* in letteratura che questo lavoro ha cercato di colmare.

1.2. Alterazioni da funghi ed il caso di *Inonotus rickii* (Pat.) Reid

I funghi sono organismi eucarioti, eterotrofi (privi di clorofilla), costituiti da elementi tubolari detti ife, che formano il micelio. Utilizzano per il loro nutrimento la sostanza organica già presente in natura. Possono essere saprofiti e dunque nutrirsi di sostanza morta oppure parassiti ed attaccare organismi viventi. Talvolta possono essere prima parassiti e successivamente, dopo la morte dell'ospite, saprofiti. Tutto questo è possibile grazie ad enzimi che possono portare alla degradazione di monomeri ma anche di polimeri complessi come la cellulosa e la lignina (Cronquist, 1979; Gambetta, 2010; Giordano, 1981; Raven *et al.*, 2002).

La sistematica dei funghi è soggetta spesso a modifiche. Raven *et al.* (2002) riporta, modificandola leggermente, la classificazione anche adottata nell'ultima edizione del *Dictionary of the Fungi* (Kirk *et al.*, 2008). Il regno dei *funghi* è diviso in 4 *phyla*, di seguito elencati.

- *Chytridiomycota* (Chitridiomiceti) → sono funghi quasi esclusivamente acquatici, ma alcuni di loro possono vivere anche in suoli desertici.
- *Zigomycota* (Zigomiceti) → molti di questi funghi vivono su piante e animali in decomposizione, ma sono presenti anche parassiti e simbionti di organismi vegetali (endomicorrizze).
- *Ascomycota* (Ascomiceti) → fanno parte di questo *phylum* molte muffe, patogeni delle piante (es. oidi, marciumi, cancri, tracheomicosi, ecc.), simbionti delle piante (es. tartufi) e lieviti.
- *Basidiomycota* (Basidiomiceti) → sono compresi molti tipi di funghi: quelli eduli, a mensola, saprofiti, parassiti, le ruggini e i carboni. Questo *phylum* comprende la classe dei *Agaricomycetes* che a sua volta comprende l'ordine dei *Hymenochaetales*. In questo ordine (famiglia *Hymenochaetaceae*) è compreso *Inonotus rickii* (Pat.) Reid (De Simone *et al.*, 2011; Kirk *et al.*, 2008).

Bisogna aggiungere i funghi imperfetti o Deuteromiceti, cioè funghi di cui si conosce solo la riproduzione asessuata o che sono stati classificati senza considerare la modalità di riproduzione (Kirk *et al.*, 2008; Raven *et al.*, 2002).

La riproduzione può essere di due tipi: sessuata e asessuata. Nel primo caso, per gli Ascomiceti e i Basidiomiceti, sono prodotte spore aploidi grazie alla meiosi e dunque sessualmente: questo ciclo è detto teleomorfo. Nel secondo caso, con modalità che si possono diversificare, si formano dei conidi o delle clamidospore da un processo di mitosi e dunque

asessualmente: in questo caso si parla di ciclo anamorfo. Quest'ultima modalità di riproduzione è tipica dei Deuteromiceti, ma alcuni basidiomiceti possono avere entrambi i cicli (ciclo olomorfo) (Cronquist, 1979; Gambetta, 2010; Giordano, 1981; Moriondo, 1999; Raven *et al.*, 2002).

Lo sviluppo dei funghi nel legno è condizionato da molteplici fattori: di seguito vengono elencati i più importanti (Gambetta, 2010; Giordano, 1981).

- Il substrato: i funghi attaccano determinate specie; anche lo stato del legno (albero vivente oppure tronco abbattuto, eventuale presenza di durame) può essere importante.
- L'umidità: importante sia per la germinazione delle spore che per l'azione degli enzimi. In genere sotto il 20% di umidità e in vicinanza dell'imbibizione totale l'attività e lo sviluppo di funghi sono preclusi, mentre le condizioni ottimali stanno in prossimità, o poco sopra, del punto di saturazione delle pareti cellulari (circa il 30%).
- La temperatura: i funghi non si sviluppano al di sotto di temperature prossime allo zero (3°C) o sopra i 35-40 °C. In realtà il micelio e le spore possono sopravvivere anche a queste temperature ma limitando la loro attività metabolica e, dunque, arrestando l'attacco patologico.
- La luce: non è necessario per lo sviluppo dei funghi ed, in certe specie, il micelio soffre o addirittura muore se esposto a luce intensa. Comunque, il corpo fruttifero di alcune specie esige una certa illuminazione.
- L'ossigeno: alcuni funghi aerobi hanno bisogno per il loro sviluppo di ossigeno libero.
- Il pH: l'attività dei funghi può essere influenzata dal grado di acidità o di alcalinità. Di solito è necessario un pH leggermente acido.
- Fattori della crescita: sono necessari per lo sviluppo dei funghi alcuni componenti minerali (es. l'azoto, il fosforo, il potassio il ferro e lo zinco) ed alcune vitamine (es. tiomine e biotine).

I funghi possono essere la causa di vari tipi di patologie che possono attaccare sia il legno ma anche altre parti di piante in piedi.

I funghi possono causare diverse malattie della chioma, attaccando le foglie e l'asse del getto in corso. Questi patogeni possono appartenere a più gruppi sistematici: Deuteromiceti, Ascomiceti (es. tafrine e oidi) e Basidiomiceti (es. ruggini) (Moriondo, 1999).

Funghi Ascomiceti possono causare tracheomicosi: il micelio si insedia nel sistema vascolare dell'ospite e va ad interferire con la sua funzionalità. La diffusione della malattia attraverso l'ospite avviene tramite conidi e tramite ife (Moriondo, 1999).

Talvolta possono essere attaccati gli apparati radicali in modo tale da provocare la necrosi degli organi deputati all'assorbimento: in questo caso si parla di marciumi radicali (Moriondo, 1999).

I cancri sono delle lesioni del ritidoma che porta alla messa a nudo dei tessuti sottostanti. La pianta tende a cicatrizzare attraverso iperplasie, che spesso, però, non riescono nella loro funzione a causa dell'azione del fungo patogeno (Moriondo, 1999).

Alcuni funghi possono causare l'alterazione del colore del legno, senza portare ad una significativa degradazione delle caratteristiche fisiche e meccaniche del legno. Questo fenomeno è chiamato azzurramento del legno e può causare colorazioni che vanno dall'azzurro al nero. Sono soggette a questi attacchi principalmente le conifere sia sul legno appena abbattuto, sia sul legno in opera (Berti *et al.*, 2013; Gambetta, 2010; Giordano, 1981).

Si parla di azzurramento di profondità, secondo la norma UNI/EN 844-10 (2000), quando il fungo, spingendosi oltre i 2 mm di profondità, sviluppa nei tessuti parenchimatici un micelio costituito da ife con parete tendente al bruno che, grazie ad un fenomeno di diffrazione della luce dovuto alle pareti traslucide del legno, al microscopio assume la tipica colorazione. Tale alterazione è comunque limitata al tessuto legnoso non duramificato poiché il patogeno sviluppa il suo metabolismo nelle cellule dell'alburno (Berti *et al.*, 2013; Gambetta, 2010; Giordano, 1981).

Si parla invece di azzurramento superficiale (UNI/EN 844-10, 2000) quando il micelio fungino si sviluppa e rimane in superficie, non oltre i 2 mm di profondità, utilizzando metaboliti semplici delle cellule parenchimatiche. Questi funghi possono svilupparsi anche su altre matrici come carta, colla e vernice (Berti *et al.*, 2013; Gambetta, 2010; Giordano, 1981).

Alterazioni del colore possono essere anche osservate durante le fasi iniziali di funghi agenti di carie (UNI/EN 844-10, 2000; Berti *et al.*, 2013). Le carie sono prodotte da funghi, che grazie ai loro enzimi, oltre ad utilizzare le sostanze di riserva delle piante, colpiscono anche i costituenti principali della parete cellulare. L'esito del loro attacco consiste in un'alterazione del colore ed in una degradazione del legno e delle sue caratteristiche fisiche e meccaniche, con intensità e modalità variabile in relazione alla specie (Anselmi e Govi, 1996; Gambetta, 2010; Giordano, 1981; Moriondo, 1999).

In base all'aspetto che assume il legno ed alle componenti della parete cellulare che vengono alterate si distinguono diversi tipi di carie. Si parla di carie brune quando le ife si sviluppano nel lume degli elementi legnosi, degradando la cellulosa e le emicellulose ma non alterando la lignina che viene soltanto modificata. Il legno assume una colorazione bruna con fessurazioni longitudinali e trasversali (infatti è detta anche carie cubica) e diventa friabile al tatto. La

resistenza meccanica diminuisce nei primi stadi dell'attacco a causa della polimerizzazione della cellulosa. Successivamente si osserva anche una perdita di massa dovuta alla totale rimozione della cellulosa stessa. I funghi di questo tipo di carie appartengono ai Basidiomiceti (Anselmi e Govi, 1996; Gambetta, 2010; Giordano, 1981; Moriondo, 1999).

Alcuni Ascomiceti e Deuteromiceti, in presenza di elevata umidità, attaccano la zona superficiale delle strutture legnose morte tramite sottili ife che, una volta penetrate nella parete legnosa, si ramificano. Queste, tramite degli enzimi extracellulari, demoliscono le cellulose e le emicellulose circostanti, determinando delle piccole cavità a sezione circolare. In condizioni di secco la disidratazione provoca un'atipica crettatura reticolata della massa legnosa alterata. Questo tipo di carie è detta "soffice" (Anselmi e Govi, 1996; Gambetta, 2010; Giordano, 1981; Moriondo, 1999).

In fine, la carie bianca può manifestarsi in diversi modi. Le forme più diffuse sono: fibrosa e alveolare o tubolare. Nella prima la degradazione della lignina è più o meno completa, mentre quella della cellulosa è solo parziale; il legno assume una tessitura fibrosa e molle. Nella seconda la lignina e la cellulosa vengono completamente digerite rispettivamente in isole ben definite ed in tuboli, per cui si formano dei piccoli loculi (carie alveolare) o tuboli (carie tubolare) che spesso sono quasi totalmente riempiti di micelio (Anselmi e Govi, 1996; Gambetta, 2010; Giordano, 1981; Moriondo, 1999).

1.2.1. *Inonotus rickii* (Pat.) Reid

Inonotus rickii (Pat.) Reid è un fungo Basidiomicete, appartenente alla classe degli *Agaricomycetes*, all'ordine degli *Hymenochaetales* ed alla famiglia degli *Hymenochaetaceae*. Oltre al ciclo teleomorfo, presenta anche quello anamorfo (*Ptychogaster cubensis* Pat.) (De Simone *et al.* 2011; Gilbertson e Ryvarden, 1996; Kirk *et al.*, 2008; Ramos *et al.* 2008). I corpi fruttiferi anamorfi sono frequentemente osservabili su tronchi o rami di alberi vivi infetti, mentre sono occasionalmente prodotti quelli del ciclo teleomorfo.

E' un patogeno che causa carie bianca e cancri su diverse latifoglie (De Simone *et al.*, 2011; Mazza *et al.*, 2008; Ramos *et al.*, 2008) (Fig. 1).



Figura 1. Carie sia su alburno che su durame ad opera di *Inonotus rickii* (Pat.) Reid. su *Acer negundo* L. In evidenza la fruttificazione anamorfa (Fonte: Mazza *et al.*, 2008).

E' stato identificato erroneamente la prima volta come *Fistulina hepatica* (Huds.) Fr. e successivamente Patouillard (1896), analizzando dei campioni proveniente da Cuba, lo ha classificato come *Ptychogaster cubensis* Pat., sulla base dei suoi conidi di fruttificazione. Sempre Patouillard, nel 1908, lo ha classificato nuovamente come *Xanthochrous rickii* Pat. lavorando su dei campioni provenienti dal Brasile (Barnard, 1993). Dopo pochi anni, Saccardo e Trotter (1912) classificano lo stesso organismo come *Polyporus rickii* (Pat.) Sacc. & Trott. (Barnard, 1993; Ramos *et al.*, 2008).

Soltanto nel 1957 Ried sposta questa entità nel genere *Inonotus* Karst. dandogli il nome di *Inonotus rickii* (Pat.) Reid. Nel 2002 Gottlieb *et al.* confermano, attraverso il supporto di dati molecolari, che *Ptychogaster cubensis* Pat. è la forma anamorfa di *Inonotus rickii* (Pat.) Reid (Barnard, 1993; Ramos *et al.*, 2008) (Fig. 2).



Figura 2. Fruttificazioni anamorfe (a sinistra) e teleomorfa (a destra) di *Inonotus rickii* (Pat.) Reid su *Acer negundo* L. (Fonte: Mazza *et al.*, 2008).

L'azione di questo fungo è stata descritta per la prima volta da Davidson *et al.* nel 1942 Secondo il materiale esaminato da questi autori, *Inonotus rickii* (Pat.) Reid è ampiamente

distribuito nell'area tropicale e subtropicale: Stati Uniti meridionali, Brasile, Perù, Hawaii, India, Haiti, Bahamas e Cuba (Barnard, 1993; Davidson *et al.*, 1942). E' attestato anche in Argentina (Mielnichuk e Lopez, 2007; Robles *et al.*, 2011; Sede e Lopez, 1999a,b; Wright e Iaconis, 1955).

Secondo Gilbertson e Ryvarden (1986), nel continente Nord Americano, *Inonotus rickii* (Pat.) Reid è presente in Arizona, Florida e Louisiana. Infatti negli Stati Uniti questo patogeno provoca danni ingenti, causando carie bianca su numerose specie arboree, attaccando anche il durame. Nel sud degli Stati Uniti causa danni ingenti su *Myrica cerifera* L. (albero della cera) e su diverse specie appartenenti al genere *Quercus* L. In Arizona si riscontra specialmente su *Cercidium* e *Parkinsoniana* sp. ed è stata attestata anche su *Cesuarina* L. sp. A Tucson è diffusa su *Cercidium floridum* Benth. ex A. Gray che viene spesso portato a morte. In Florida appare diffuso su *Myrica cerifera* L., su *Quercus laurifolia* Michx e su *Acer saccharinum* L. (Barnard, 1993; Gilbertson e Ryvarden, 1986).

Nel 1970, Malençon lo identifica, per la prima volta nell'area Mediterranea, su *Schinus molle* L. in Marocco; in seguito è stato riscontrato in altri paese dell'Africa mediterranea (Melo *et al.*, 2002).

In Europa risulta ampiamente diffuso: infatti Jaquenoud-Steinlin nel 1985 lo identifica, per la prima volta in Italia (Sicilia), nella forma anamorfa, su *Parkinsonia* L. sp. e Intini, nel 1988, lo riscontra su *Schinus molle* L. a Catania.

Successivamente altri autori lo hanno ritrovato in altri paese dell'Europa mediterranea: Kotlaba e Pouzar (1994) hanno descritto la malattia su *Celtis australis* L., in Montenegro e su *Sambucus nigra* L., in Grecia, mentre Pieri e Rivoire (1996) lo hanno trovato su piante deperenti di *Albizia* Durazz. sp. in Francia.

Intini (2002) ed Intini e Tello (2003) hanno osservato la forma anamorfa, (*Ptychogaster cubensis* Pat.) su *Acer negundo* L., *Celtis australis* L., *Platanus x acerifolia* (Aiton) Wild., e *Schinus molle* L., in Spagna.

Anche in Portogallo, a partire dal settembre del 2000 è stato segnalato a Lisbona sia su *Celtis australis* L. che su *Sapindus saponaria* L., sia nella forma anamorfa e che teleomorfa (Melo *et al.*, 2002; Ramos *et al.*, 2008).

Negli ultimi anni *Inonotus rickii* (Pat.) Reid, è stato segnalato anche in Cina su *Hevea brasiliensis* (Willd. ex A. Juss.) Müll. Arg. (Dai *et al.*, 2010).

Alcuni autori hanno svolto lavori in cui hanno testato la capacità di degradazione del fungo, valutando la perdita percentuale di peso secco del legno inoculato. Mielnichuk e Lopez, 2007 hanno trovato un valore di $10,66 \pm 2,44\%$, mentre Robles *et al.*, 2011 $8,4 \pm 2,2\%$. Questi lavori

hanno preso in considerazione materiale inoculato per 3 mesi, ma nel primo sono stati utilizzati campioni di *Acer negundo* L. e nel secondo campioni di *Platanus x acerifolia* (Aiton) Wild.

Recentemente, in Italia, grazie al contributo del gruppo di lavoro di patologia forestale del CRA-PAV di Roma, questo patogeno è stato studiato approfonditamente. Nel 2003a, Annesi *et al.*, lo riscontrano a Roma su viali alberati, prelevando campioni da *Acer negundo* L. e *Celtis australis* L.: si tratta della prima segnalazione su questi ospiti in Italia. L'identificazione è stata basata sulla morfologia del fungo. Inoltre, hanno analizzato le caratteristiche di diversi inoculi attraverso l'analisi degli isoenzimi (Annesi *et al.*, 2003b) che confermano la stessa identificazione del fungo nei due differenti ospiti. Gli stessi autori propongono l'ipotesi che il fungo si sia diffuso seguendo i viali alberati attraverso la diffusione di clamidospore (asessuali) che sono prodotte in grande quantità. Lo studio sottolinea che l'infezione è stata favorita dalla massiccia presenza di ferite sulle piante (Annesi *et al.*, 2003a).

La presenza del patogeno a Roma mette in luce come questo fungo si stia diffondendo verso nord in Italia. I dati di crescita sugli isolati raccolti a Roma indicano che questi ultimi hanno requisiti termici molto simili a quelli di isolati americani subtropicali e tropicali (Davidson *et al.*, 1942): tali requisiti sono stati soddisfatti ultimamente a Roma da temperature più elevate, con piogge estive insolitamente frequenti (Annesi *et al.*, 2003a; Pautasso *et al.*, 2012).

Durante una campagna di rilievi in Sicilia nel 2004 in giardini pubblici ed in orti botanici, nei quali erano già state eliminate piante arboree infettate da *Inonotus rickii* (Pat.) Reid, Annesi *et al.* (2005) rilevano per la prima volta questo patogeno su *Quercus cerris* L. e su *Aberia caffra* Hook. F. & Harv.

Nel 2008, Mazza *et al.* hanno cercato di ottenere informazioni epidemiologiche, necessarie per attuare le più opportune strategie di difesa ed ottimizzare la gestione delle fitopatie in ambiente urbano (Merrit *et al.*, 1999). Questo è stato attuato attraverso una spazializzazione dei dati attraverso tecnologia GIS (*Geographic Information System*) con l'ausilio di un GPS (*Global Position System*). I dati sono stati raccolti nella città di Roma in alberature di *Acer negundo* L. e di *Albizia julibrissin* Durazz. L'implementazione di un metodo di monitoraggio per la gestione delle fitopatie attraverso l'uso dei sistemi GIS, ha permesso agli autori di creare uno strumento finalizzato ad ottimizzare gli interventi di manutenzione del verde urbano e la programmazione delle scelte operative.

Annesi *et al.* (2010) hanno indagato la diversità di genotipi di *Inonotus rickii* (Pat.) Reid all'interno e tra i centri di malattia individuati in Italia, attraverso test di incompatibilità

somatica e attraverso analisi RAMS (*Random Amplified Microsatellites*), al fine di capire i meccanismi di attacco del patogeno ed il ruolo della riproduzione sessuale e asessuale nella diffusione.

Da questo studio si evince che sia la riproduzione asessuale che quella sessuale svolgono un ruolo importante nella diffusione di questo patogeno. Inoltre viene messo in evidenza che uno stesso clone può colpire diverse specie arboree (Annesi *et al.*, 2010).

Recentemente è stato condotto uno studio per caratterizzare diverse provenienze geografiche di questo patogeno, attraverso il sequenziamento di RNA ribosomiale (De Simone *et al.*, 2011). I risultati hanno mostrato che il materiale studiato può essere ascrivibile a due differenti gruppi: quello degli isolati provenienti dall'Argentina, dall'Europa e dalla Cina e quello degli isolati provenienti dalla Florida (Barnard, 1993; Davidson *et al.*, 1942).

1.3. Alterazioni da fattori abiotici ed il caso della radiazione luminosa

1.3.1. L'azione degli agenti abiotici

Il legno presenta buone caratteristiche di resistenza agli agenti abiotici, alle condizioni ed alle intensità normalmente riscontrabili in natura. I principali agenti sono la temperatura, l'umidità, la radiazione luminosa e le intemperie in generale. A questi vanno aggiunte le sostanze chimiche e gli agenti che sottopongono il materiale legnoso ad azione meccanica come ad esempio il vento (Bonamini *et al.*, 2001).

L'esposizione a temperature superiori a 80°-100° C, specialmente se ripetute, possono dare il via a fenomeni degradativi (Bonamini *et al.*, 2001; Forest Products Laboratory, 2010; Giordano, 1981; Tsoumis, 1991). Inoltre, se il legno rimane esposto ad alte temperature in carenza di ossigeno può verificarsi il fenomeno della carbonizzazione. Questo è il fenomeno che si osserva, talvolta, nei giacimenti lignei di altre epoche geologiche che si trovano a grandi profondità a causa di cataclismi naturali. In questi casi il legno è trasformato in carbone attraverso la successione di varie fasi: torba, lignite, litantrace e antracite (Giordano, 1981).

L'umidità, in tutte le sue forme, provoca fessurazioni in seguito a ripetuti rigonfiamenti e ritiri ed è determinante per lo sviluppo di molteplici agenti patogeni di origine biotica. Quando il legno persiste in ambiente umido in condizioni di carenza o assenza di ossigeno, è possibile osservare fenomeni di infradiciamento e di carbonizzazione (Giordano, 1981; Bonamini *et al.*, 2001).

L'infradiciamento si osserva quando nel legno in ambiente umido la scarsità di ossigeno provoca il blocco dello sviluppo degli organismi che degradano il legno. La distruzione del legno avviene in modo più lento e con un'intensità più bassa ed il risultato è una sostanza polverulenta di color bruno ricca di sostanze umiche. In questo fenomeno risulta difficile stabilire quanta degradazione risulta a carico degli agenti biotici e quanto a quelli abiotici, poiché spesso si osserva che questo fenomeno ha inizio su un substrato già alterato da funghi (Giordano, 1981; Bonamini *et al.*, 2001).

Il fenomeno di carbonizzazione a seguito di permanenza prolungata in ambienti molto umidi e in totale assenza di ossigeno si verifica per il legno immerso in terreni paludosi. Tale ambiente impedisce lo sviluppo e l'azione degli organismi aerobi e dunque si osserva una degradazione estremamente lenta ad opera di alterazioni chimiche che portano, attraverso varie fasi, alla carbonizzazione (Giordano, 1981; Bonamini *et al.*, 2001).

La radiazione luminosa, in ambiente areato, causa una ossidazione fotochimica degli strati superficiale del legno con una conseguente alterazione del colore. Tale alterazione chimica interessa specialmente la componente fenolica del legno (Bonamini *et al.*, 2001; Giordano, 1981; Tsoumis, 1991).

Di seguito tale argomento verrà trattato in modo approfondito poiché è uno degli argomenti fondamentali di questo lavoro. Infatti l'obiettivo è stato quello di studiare le alterazioni di colore e di composizione chimica di superfici di legno esposte a radiazione luminosa.

1.3.2. La radiazione luminosa e la sua natura sia ondulatoria che corpuscolare

La luce è una forma di radiazione elettromagnetica che si propaga nello spazio e nel tempo, sia attraverso il vuoto che attraverso la materia. Si propaga a velocità variabile in base alla natura del mezzo attraversato e, nel caso del vuoto, in maniera indipendente dall'osservatore (Oleari, 2008; Napoli *et al.*, 2010).

La radiazione luminosa ha una natura ondulatoria e una natura corpuscolare: ad esempio l'assorbimento viene spiegato con la presenza di particelle, dette fotoni, mentre la propagazione nello spazio è giustificata da un comportamento ondulatorio (Oleari, 2008; Napoli *et al.*, 2010).

Quando la radiazione luminosa incontra una superficie, si osserva che una parte di essa viene assorbita, una parte viene rifratta e una parte viene riflessa. Si definisce riflessione il fenomeno per cui la luce, a seguito dell'incontro con una superficie, viene riflessa propagandosi nello stesso mezzo dal quale viene. La rifrazione invece è la deviazione del percorso della luce nell'oltrepassare la superficie e l'assorbimento avviene con la sottrazione, in modo selettivo, di lunghezza d'onda (Oleari, 2008; Napoli *et al.*, 2010).

Questi fenomeni sono quantificati tramite alcune grandezze: la trasmittanza è la frazione di luce che oltrepassa un mezzo ed è espressa come il rapporto tra la radiazione luminosa incidente e quella riflessa; l'assorbanza è il logaritmo naturale o in base 10 della trasmittanza; la riflettanza è la porzione di luce riflessa ed è il rapporto adimensionale tra l'intensità del flusso radiante riflesso e l'intensità del flusso radiante incidente (Oleari, 2008; Napoli *et al.*, 2010).

1.3.3. Il colore, la sua percezione e la sua misura

Ogni corpo colpito dalla luce ha la capacità di assorbire determinate lunghezze d'onda e di rifletterne altre. Un organo sensoriale, es. l'occhio, viene colpito dalla radiazione riflessa ed in questo modo si ottiene la percezione del colore.

L'uomo è sensibile solo ad alcune lunghezze d'onda e più precisamente quelle che vanno dai 380 nm ai 780 nm (Fig. 3). Nel caso in cui un oggetto rifletta tutte le componenti in questo *range* sarà percepito come bianco; al contrario se la radiazione viene totalmente assorbita, apparirà nero. In tutti quei casi in cui la componente assorbita o riflessa è solo una parte, otterremo una ben precisa sensazione cromatica (Oleari, 2008; Napoli *et al.*, 2010).

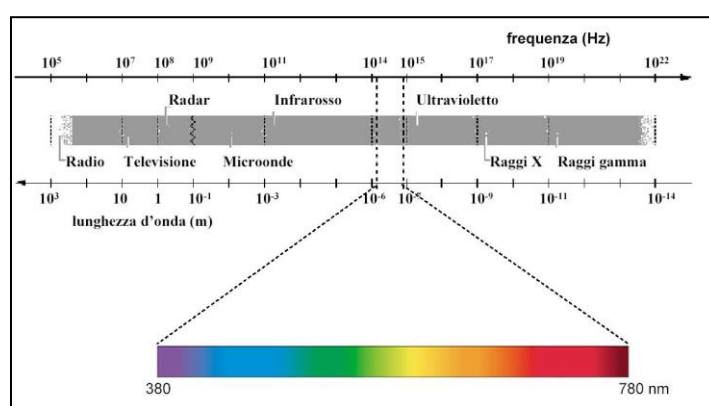


Figura 3. Spettro elettromagnetico (fonte: Napoli *et al.*, 2010).

La necessità di misurare il colore, per scopi industriali, ha dato vita ad una vera e propria scienza a cavallo tra il XIX ed il XX secolo. Esistono sicuramente esperienze precedenti ma con James Clerk Maxwell si osserva il primo tentativo di classificazione del colore.

In questo lavoro, per misurare il colore del legno sottoposto ad invecchiamento in ambiente controllato, è stato utilizzato il metodo CIE 1976 e nello specifico il sistema tridimensionale colorimetrico CIE-L*a*b* 1976 secondo la norma UNI/EN 15886 (2010) (ex Normal 43/1993) (Oleari, 2008; Napoli *et al.*, 2010).

Questo sistema consente di definire un colore secondo 3 coordinate spaziali: L*, a* e b*. L* definita dagli autori di lingua anglosassone come *lightness*, tradotta in italiano come chiarezza, brillantezza o luminosità, è un attributo della sensazione visiva dovuta alla frazione di luce riflessa in relazione al bianco di riferimento. Tale componente è definita nell'intervallo da 0 (nero) a 100 (bianco).

Le componenti a* e b* rappresentano rispettivamente l'asse che va dal rosso al verde e quello che va dal giallo al blu. Queste due componenti possono assumere valori che vanno da -60 (rosso, giallo) a +60 (verde, blu).

Utilizzando questo sistema, dunque, il colore è definito in uno spazio in cui tutte le componenti risultano perpendicolari alle altre (Fig. 4) (Oleari, 2008; Napoli *et al.*, 2010).

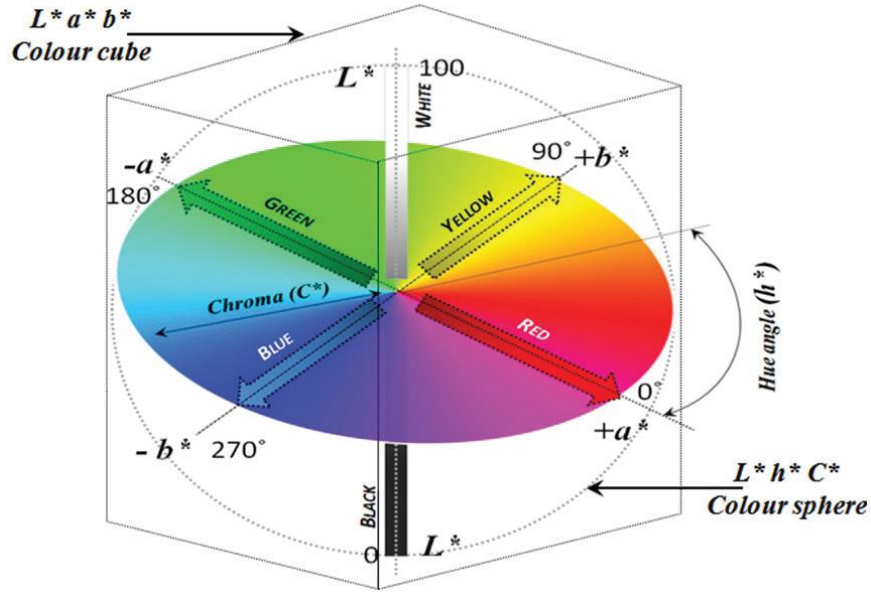


Figura 4. Diagramma cromatico CIE-L*a*b* e CIE-L*h*C* (fonte: Tolvaj *et al.*, 2013)

Spesso risulta importante misurare la differenza tra due colori. Nel sistema CIE-L*a*b* 1976 questa differenza si misura attraverso il calcolo del ΔE^* (Oleari, 2008; Napoli *et al.*, 2010):

$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2}$$

in cui

$$\Delta L^* \rightarrow L_1^* - L_2^*$$

$$\Delta a^* \rightarrow a_1^* - a_2^*$$

$$\Delta b^* \rightarrow b_1^* - b_2^*$$

Talvolta può essere anche utilizzato il sistema CIE-L*h*C* (Fig. 4) in cui i parametri h^* e C^* sono definiti nel modo seguente (Oleari, 2008; Napoli *et al.*, 2010):

$$h^* = \arctg \frac{a^*}{b^*}$$

$$C^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2}$$

La coordinata h^* è definita tinta e la coordinata C^* è definita croma (Oleari, 2008; Napoli *et al.*, 2010).

1.3.4. Cenni sulla composizione chimica del legno

Il legno è composto da cellule che assumono forma, dimensioni e ruoli diversi. Possono essere divise in 3 gruppi in base alla funzione che svolgono: conduzione, sostegno o accumulo di sostanza di riserva (Arrigoni, 1983; Bosetto e Lozzi, 2008, Hon e Shiraishi, 2001; Rowell, 2005).

Quelle che svolgono funzione di supporto e di conduzione sono cellule morte che contengono cavità. Nelle latifoglie sono presenti vasi, tracheidi e fibre con ruoli rispettivamente diversi, mentre nelle conifere si osserva la presenza di tracheidi. Altri tipi di cellule formano strutture con funzioni diverse: i raggi parenchimatici, le cellule epiteliali, il parenchima assiale (Arrigoni, 1983; Bosetto e Lozzi, 2008, Hon e Shiraishi, 2001; Rowell, 2005).

Le cellule del legno sono essenzialmente formate da cellulosa, emicellulose, lignina ed altre componenti chimiche. In maniera molto semplificata è possibile assumere che la cellulosa rappresenta uno scheletro di microfibrille circondato da una matrice di emicellulose e lignina (Bosetto e Lozzi, 2008, Hon e Shiraishi, 2001; Rowell, 2005).

La cellulosa è un omopolisaccaride composto da 2 molecole di glucosio legate attraverso un legame β -1,4 glicosidico: il cellobiosio (Fig. 5). Le molecole di cellulosa sono completamente lineari proprio grazie al legame β -1,4 glicosidico ed hanno forte tendenza a creare legami idrogeno sia intermolecolari che intramolecolari. In questo modo fasci di cellulosa creano microfibrille che generalmente assumono una forma cristallina. Le microfibrille a loro volta formano le fibrille che si organizzano in fibre di cellulosa.

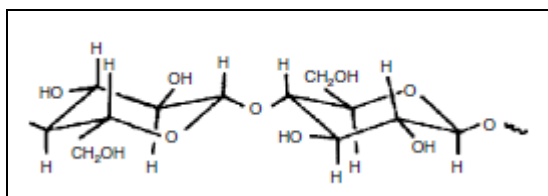


Figura 5. Cellobiosio: glucosio- β -1,4- glucosio (fonte: Rowel, 2005).

La cellulosa nativa è essenzialmente costituita da particelle cristalline, ma è comunque presente una parte amorfa. Nelle cellulose industriali si può raggiungere anche il 40% di cellulosa amorfa (Bosetto e Lozzi, 2008, Hon e Shiraishi, 2001; Rowell, 2005). La

quantificazione della cellulosa amorfa è molto difficile ma è stimato che sia circa il 5-10% (Tsoumis, 1991).

Le emicellulose sono un gruppo di polisaccaridi eterogenei in cui singoli monosaccaridi formano casualmente catene ramificate unite con diversi tipi di legame, formando sostanzialmente strutture amorfe. Appartengono a questo gruppo polisaccaridi costituiti da carboidrati a 5 o 6 atomi di carbonio come lo xilosio ed il galattosio (Fig. 6) (Bosetto e Lozzi, 2008, Hon e Shiraishi, 2001; Rowell, 2005).

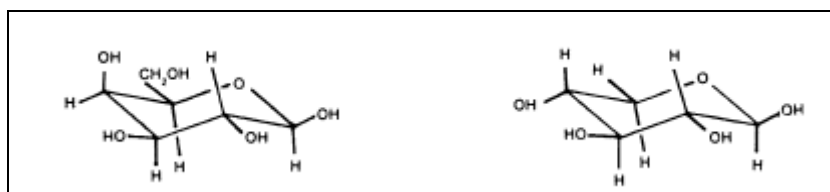


Figura 6. β -D-galattosio e β -D-xilosio (fonte: Rowel, 2005).

Un'altra classe di polisaccaride diffusa nel legno sono le pectine (Bosetto e Lozzi, 2008, Hon e Shiraishi, 2001; Rowell, 2005). Sono composte essenzialmente da tre tipi di polisaccaridi: gli arabani che sono polimeri dell'arabinosio (Fig. 7), i galattani che sono composti del galattosio e i galatturani che sono composti dell'acido galatturonico.

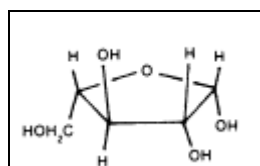


Figura 7. α -L-arabinosio (fonte: Rowel, 2005).

La lignina, invece, è un composto fenolico la cui base costitutiva è rappresentata dal fenilpropano. E' un composto amorfo che varia la sua struttura non solo tra una specie e l'altra ma anche all'interno della stessa specie e della stessa pianta. E' solitamente definita incrostante perché è posta tra le fibrille di cellulosa, le emicellulose e le pectine, attribuendo loro una rigidezza notevole (Bosetto e Lozzi, 2008, Hon e Shiraishi, 2001; Rowell, 2005).

La lignina è originata da tre precursori fondamentali: alcool p-cumarilico, alcool coniferilico ed alcool sinapico (Fig. 8). Secondo la teoria di Freudenberg (1932) questi tre componenti, insieme a 3 glucosidi, darebbero origine alla lignina grazie all'azione dell'enzima β -glucosidasi, il quale separa il glucosio legato all'anello fenolico nell'atomo di carbonio C4, sostituendolo con un gruppo ossidrilico alcolico.

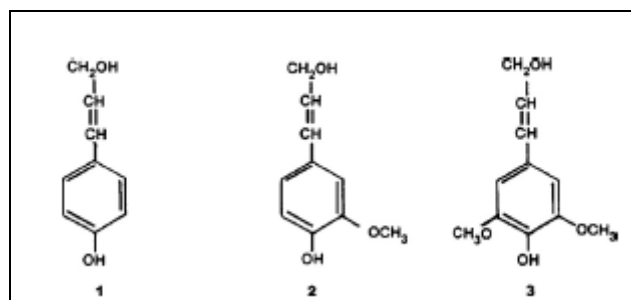


Figura 8. Alcool p-cumarilico, alcool coniferilico ed alcool sinapico (fonte: Rowel, 2005).

Sono definiti estrattivi le molecole che possono essere estratte dal legno utilizzando solventi. Gran parte di questi sono composti fenolici originati da diversi composti originari tra cui l'acido gallico, l'acido ellagico, ecc. (Fig 9) (Bosetto e Lozzi, 2008, Hon e Shiraishi, 2001; Rowell, 2005).

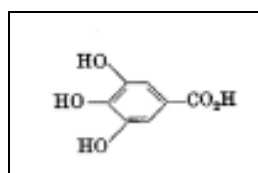


Figura 9. Acido gallico (fonte: Rowel, 2005).

Gli estrattivi fenolici possono essere divisi in diversi gruppi. Il più rappresentativo è probabilmente quello dei tannini che spesso non risulta così facilmente definibile (Bosetto e Lozzi, 2008, Hon e Shiraishi, 2001; Rowell, 2005).

Di solito queste sostanze sono accumulate da queste caratteristiche:

- reagiscono con metalli pesanti (ferro e rame);
- formano composti complessi con proteine, cellulosa, pectine ed alcaloidi;
- reagiscono con le glicoproteine della saliva assumendo un sapore astringente.

La funzione fisiologica dei tannini non è ancora del tutto chiara, ma sembra che facciano aumentare la resistenza al freddo e che a certe concentrazioni impediscano la germinazione delle spore fungine.

I tannini a loro volta sono divisi in 3 gruppi: tannini idrosolubili; tannini non idrosolubili ed altri tannini

Tra gli estrattivi fenolici sono compresi anche altri tipi di composti. Un esempio sono i flavonoidi, composti con scheletro carbonioso come la crisina e la tassifolina che si trovano in alcune conifere, i lignani e lo stilbene, formati dal legame di due gruppi di fenilpropano, ed i tropoloni di alcune conifere, caratterizzati da un anello carbonioso insaturo a 7 atomi di carbonio (Bosetto e Lozzi, 2008, Hon e Shiraishi, 2001; Rowell, 2005).

Tra gli estrattivi si ricordano anche i composti terpenici come le resine e gli oli essenziali. Queste componenti si strutturano in modo diverso all'interno dei vari strati della parete cellulare (Fig. 10) (Arrigoni, 1983; Bosetto e Lozzi, 2008, Hon e Shiraishi, 2001; Rowell, 2005).

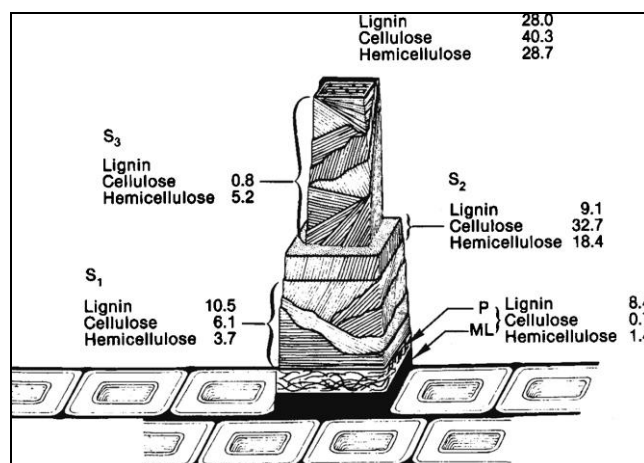


Figura 10. Distribuzione delle principali componenti chimiche all'interno della parete cellulare in *Pinus Sylvestris* L. (fonte: Rowel, 2005)

La lamella mediana ha la funzione di legare le cellule tra di loro ed è formata da pectine. In seguito, prima della morte definitiva della cellula, subisce una forte lignificazione.

La parete primaria è sottile (0,1-0,2 mm) ed è formata di cellulosa, emicellulose, pectine e proteine totalmente circondate da lignina.

La parete secondaria è suddivisibile in 3 strati: uno strato più esterno(S1), vicino alla parete primaria, ed uno più interno (S3) che racchiudono uno spesso strato intermedio (S2).

Lo strato S1 (0,2-0,3 mm) è formato da 3-4 piani di microfibrille di cellulosa che si incrociano tra di loro secondo un angolo che varia tra i 50° ed i 70° rispetto all'asse della cellula. Lo strato S2 (1-5 mm) è formato da numerosi piani di cellulosa che formano angoli tra i 10° ed i 30° in base alla specie ed all'età fisiologica della pianta. Lo strato S3 (0,1 mm) risulta analogo al S1.

I tannini non sono presenti nella parete cellulare delle cellule giovani, ma si trovano all'interno dei vacuoli. Con l'invecchiamento dei tessuti, prima della lignificazione che causa la morte delle cellule, si diffondono nel protoplasma e vengono assorbiti dalla parete cellulare.

1.3.5. La spettroscopia ad infrarossi a trasformata di Fourier (FT-IR) e *Hyper Spectral Imaging* (HSI)

E' stata utilizzata la spettroscopia infrarossa a trasformata di Fourier (FT-IR) per studiare le alterazioni chimiche del legno sottoposto ad invecchiamento in ambiente controllato (Kataoka e Kiguchi, 2001; Moore e Owen, 2001; Napoli *et al.*, 2010; Pandey, 2005a; Tolvaj *et al.*, 2011).

La spettroscopia FT-IR sfrutta la teoria secondo la quale un fotone infrarosso che colpisce una molecola le provoca un passaggio da uno stato vibrazionale fondamentale ad uno eccitato. Questo è possibile poiché una radiazione infrarossa può originare un cambiamento del dipolo elettrico conseguente al cambiamento di posizione degli atomi definito *stretching*. Tale movimento può avere modi diversi e può essere simmetrico o asimmetrico (Napoli *et al.*, 2010).

Le vibrazioni possono provocare uno stiramento del legame chimico od una deformazione dell'angolo di legame. Questi fenomeni possono essere simmetrici o asimmetrici e la deformazione dell'angolo di legame può essere secondo il piano su cui giace oppure su piani diversi (Atkins e de Paola, 2006; Napoli *et al.*, 2010).

La strumentazione per utilizzare questa tecnica è dotata di una sorgente di radiazione luminosa che può essere rappresentata da una lampadina di Nernst (costituito da un cilindro composto da ossidi di zirconio, ittrio e torio che alle estremità presenta due conduttori di platino) o da un Globar (costituito da un cilindro di carburo di silicio di 5 mm di diametro e 50 mm di lunghezza) se si utilizzano lunghezze d'onda oltre i 15 μm . Talvolta vengono utilizzate anche sorgenti laser. La radiazione policromatica viene inviata dalla sorgente ad un interferometro di Michelson che emette, sul campione, una serie di radiazioni le cui intensità e frequenze variano nel tempo in modo noto. La funzione intensità tempo viene analizzata tramite una trasformata di Fourier che permette di ottenere lo spettro di assorbimento del campione.

In Fig. 11 è rappresentata la struttura ed il funzionamento dell'interferometro di Michelson (Atkins e de Paola, 2006; Napoli *et al.*, 2010).

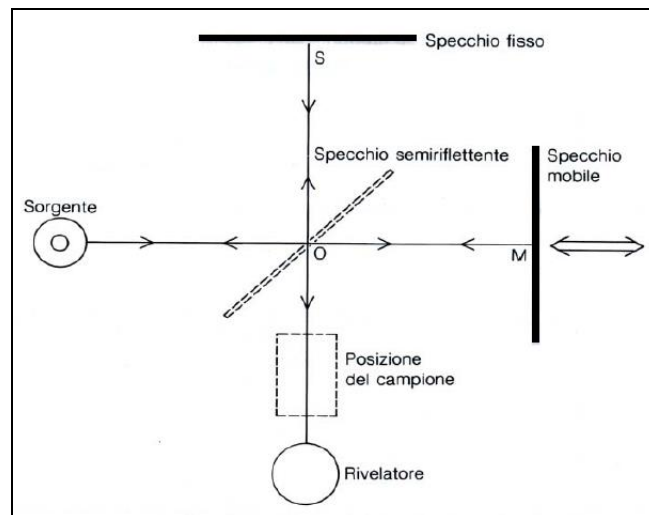


Figura 11. Interferometro di Michelson (fonte: Napoli *et al.*, 2010).

In queste applicazioni si utilizza solitamente le lunghezze d'onda che vanno da 0,8 a 25 μm (talvolta fino a 50 μm) ed è consuetudine esprimerle in cm^{-1} ($1 \mu\text{m} = 10000 \text{ cm}^{-1}$). E' inoltre possibile ottenere spettri in riflettanza (DRIFT- *Diffuse reflectance infrared Fourier transform*) attraverso l'uso di un accessorio opzionale (Napoli *et al.*, 2010).

Lo spettro definitivo è ottenuto come sottrazione di quello ottenuto dal campione e quello ottenuto da un materiale di *background* (Napoli *et al.*, 2010).

Secondo alcuni autori, nel legno la radiazione luminosa, specialmente la componente ultravioletta, raggiunge una profondità di 75 μm (Hon e Ifju, 1978; Hon e Shiraishi, 2001; Tolvaj *et al.* 2011) e successivamente penetra in maniera diversificata in base alle lunghezze d'onda considerate (Kataoka e Kiguchi, 2001; Kataoka *et al.*, 2005; Kataoka *et al.*, 2007; Živković *et al.*, 2014).

Il legno non essendo trasparente non è adatto a misure in trasmittanza. Questo è il motivo per il quale di solito viene polverizzato, miscelato con un materiale trasparente, in genere bromuro di potassio (KBr), e successivamente analizzato. Le difficoltà di questa tecnica risiedono nella oggettiva imprecisione nel rimuovere uno strato di poche decine di micron in modo uniforme. Per questo è impiegata la spettroscopia FT-IR in modalità DRIFT, applicando la teoria di Kubelka-Munk (Kubelka e Munk, 1931; Kubelka, 1948).

Tale teoria è stata proposta per lo studio di materiali che assorbono poco la radiazione luminosa, ma Tolvaj *et al.* (2011) hanno dimostrato che la teoria di Kubelka-Munk è di supporto anche per il legno, nonostante abbia un comportamento contrario.

Nella teoria di Kubelka-Munk si assume un modello semplificato in cui la radiazione luminosa si propaga secondo una sola direzione e che dunque sia trascurata ogni altra

componente ad angoli diversi da 0° e 180° rispetto alla radiazione incidente (approssimazione unidimensionale) (Oleari, 2008; Pandini, 2011).

Lo spettro di riflettanza, attraverso la trasformazione di Kubelka-Munk, viene trasformato in uno spettro simile a quelli in trasmittanza, con intensità espressa in unità definite “unità Kubelka-Munk”, poiché a seguito di semplificazioni e passaggi matematici si ottiene una formula che mette in relazione la riflettanza diffusa al coefficiente di assorbimento (Oleari, 2008; Pandini, 2011).

La funzione di Kubelka – Munk è dunque rappresentata nel seguente modo:

$$F(R_{\infty}) = \frac{(1 - R_{\infty})^2}{2R_{\infty}} = \frac{K(\lambda)}{S(\lambda)}$$

in cui

R_{∞} → riflettanza diffusa

$K(\lambda)$ → coefficiente di assorbimento

$S(\lambda)$ → coefficiente di diffusione

Tolvaj *et al.* (2011) hanno investigato la validità dell'applicazione della teoria di Kubelka-Munk per ottenere spettri FT-IR in modalità DRIFT su campioni di legno. Questi autori hanno concluso che la funzione di Kubelka-Munk può essere utilizzata nel caso in cui si ottengano dei valori di unità Kubelka-Munk inferiori a 14: oltre questi valori non viene indicato in maniera opportuna l'assorbimento di radiazione luminosa ad opera del legno. Nel caso in cui si utilizzi come materiale di *background* un disco di alluminio opaco e con valori di unità Kubelka-Munk tra 14 e 40, gli assorbimenti possono essere calcolati dopo una normalizzazione degli spettri che risulta corretta soltanto se è presente un picco che non muta nelle vicinanze di quello interessato.

I risultati ottenuti dalle elaborazioni delle misure di colore e degli spettri FT-IR, nel caso si *Populus L. sp.*, sono stati confrontati anche con un'altra metodologia di indagine: l'analisi di immagini iperspettrali (*Hyper-Spectral Imaging* - HSI). Questa tecnica consiste nell'acquisizione e nell'elaborazione di immagini iperspettrali rilevando simultaneamente lo spettro nelle lunghezze d'onda utilizzate.

L'analisi HSI è una tecnica d'analisi che consente di ottenere informazioni sulle caratteristiche chimico-fisiche di un campione attraverso la misura della radiazione luminosa assorbita o riflessa. Con l'uso di opportuni sensori, immagini di grandezza diversa possono

essere analizzate attraverso lo spettro associato a ciascun punto detto *pixel* (Sun, 2010; Manesatti, 2010).

Il dato ottenuto può essere immaginato come una serie di immagini sovrapposte, una per ogni banda considerata. Dunque ogni pixel è identificato sia da coordinate piane X e Y ma anche da una terza coordinata K che identifica quale immagine è considerata (Fig. 12) (Chaudhuri e Kotwal, 2013).

Tali sistemi, dunque, consentono non solo una misura spettrale differenziata per punti interessanti dell'immagine, ma anche l'applicazione di tecniche di trattamento elaborativo e di analisi di elementi morfologici significativi dell'immagine.

Queste metodologie, ultimamente, sono state applicate a vari campi che possono essere divisi in due gruppi: il *remote sensing*, nelle quali applicazioni si raccolgono informazioni da satellite, aeromobile o da terra, ma da ampie distanze (Chirici e Corona, 2006; Manesatti, 2010) e il *proximal sensing* nei quali applicazioni le informazioni sono ottenute da campioni posti a brevi distanze (inferiori al millimetro) (Kim *et al.*, 2001; Manesatti, 2010).

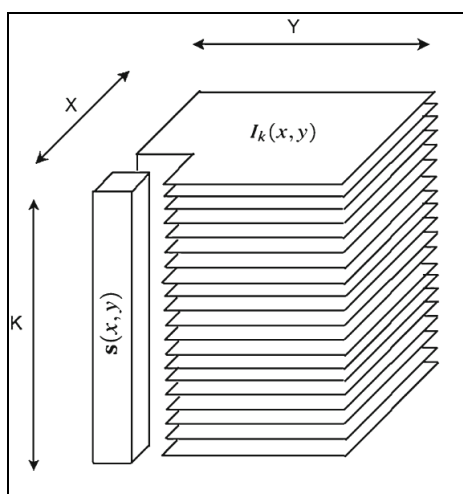


Figura 12. Raffigurazione di un'immagine iperspettrale (Fonte: Chaudhuri e Kotwal, 2013).

1.3.6. L'effetto della radiazione luminosa sul legno

Lo studio delle alterazioni del legno ad opera della luce sono state indagate da numerosi autori, in quanto questo materiale è stato utilizzato da secoli per la realizzazione di manufatti artistici come ad esempio parti e rifiniture di edifici, pannelli, statue e supporti per i dipinti. Per quanto riguarda le specie da noi studiate *Castanea sativa* Mill. e di *Populus* L. sp. hanno avuto, ed hanno un ruolo fondamentale nel campo dei beni culturali (Agresti *et al.*, 2010; Lo Monaco *et al.*, 2011).

Inoltre, il legno è largamente utilizzato in molti settori industriali (Giordano, 1988): *Fagus sylvatica* L., ad esempio, oltre che per mobili o edilizia, è utilizzato anche nella realizzazione di giochi o di oggetti per *design* (Ebner e Petutschnigg, 2007). Anche *Castanea sativa* Mill. e *Populus* L. sp. sono specie utilizzate sia in edilizia sia per manufatti per arredamento (Forest Products Laboratory, 2010; Giordano, 1988).

Di conseguenza gli studi sulle variazioni delle caratteristiche delle superfici dei manufatti in legno esposte a radiazione luminosa, possono essere importanti per capire i meccanismi che causano cambiamenti e per ipotizzare possibili soluzioni a questa forma di degrado. Infatti, il legno esposto a condizioni esterne è sottoposto ad alterazioni superficiali chimiche e di colore a causa di vari fattori come ad esempio la radiazione luminosa, l'umidità, l'ossigeno, le temperature e l'inquinamento (Tolvaj e Faix, 1995; Pandey, 2005a).

Tolvaj e Faix (1995) hanno monitorato il legno invecchiato attraverso l'uso di misure di colore nel sistema CIE-L*a*b* 1976 ed attraverso la spettroscopia infrarossa a trasformata di Fourier in modalità DRIFT. Nello specifico hanno indagato campioni di *Robinia pseudacacia* L., *Populus x euramericana* (Dode) Guinier, *Picea abies* Karst, *Larix decidua* Mill. e *Pinus sylvestris* L. a diversi intervalli di irraggiamento fino a giungere a 200 ore.

Per quanto riguarda il ΔE^* hanno notato che vengono attestate le più alte variazioni entro 25-50 ore di esposizione. Tutti i campioni hanno subito un ingiallimento e in *Robinia pseudacacia* L. viene osservato anche un *shift* verso il rosso. Questo comportamento viene giustificato con la formazione di gruppi carbonilici e carbossilici dovuti alla degradazione (nello specifico fotossidazione) dei gruppi fenolici presenti nella lignina: questo fenomeno è stato confermato dalla spettroscopia infrarossa.

Uno studio analogo è stato condotto da Pandey e Pitman (2003) anche su *Pinus roxburghii* Sarg. e su *Hevea brasiliensis* (Willd. ex A. Juss.) Müll. Arg. irraggiati artificialmente ad intervalli diversi da 0 a 700 ore. L'analisi dei cambiamenti di colore dovuti alla fotodegradazione hanno evidenziato che L^* (*lightness*) decresce mentre le coordinate a^* , b^* ed il ΔE^* incrementano all'aumentare del tempo di esposizione. Le analisi di spettroscopia FT-IR hanno mostrato un decremento del picco della lignina in modo particolare dopo 50 ore di esposizione. Il rapporto di fotodegradazione (lignina/gruppo carbonile) decresce nelle specie indagate, in modo più accentuato su *Hevea brasiliensis* (Willd. ex A. Juss.) Müll. Arg., tuttavia la formazione del gruppo carbonile è più elevato in *Pinus roxburghii* Sarg. Secondo questi autori, inoltre, il ΔE^* è in relazione con il rapporto tra il picco della lignina (che diminuisce) ed il picco del gruppo carbonilico (che aumenta) (Pandey, 2005a). La

degradazione fotochimica osservata in *Hevea brasiliensis* (Willd. ex A. Juss.), conferma i dati già ottenuti (Pandey e Pitman, 2003).

Chang *et al.*, (2002) hanno condotto studi simili per capire la differenza tra le latifoglie (*Acer* L. sp.) e le conifere (*Chamaecyparis* Spach sp.), svolgendo analisi con la spettroscopia FT-IR, in modalità DRIFT. I campioni sono stati esposti alla radiazione luminosa in ambiente controllato per 1, 2, 4, 8 e 12 giorni ed i picchi degli spettri sono stati analizzati mettendoli in rapporto tra di loro. I risultati mostrano che le varie componenti della lignina si comportano in maniera diversa tra conifere e latifoglie. In generale il legno di latifoglie produce meno gruppi carbonilici. Sempre gli stessi autori hanno testato l'effetto di una guaina di poliuretano osservando che la protezione appare migliore nelle latifoglie (Chang *et al.*, 2002).

Colom *et al.* (2003) hanno studiato, tramite FT-IR, il comportamento della lignina e della cellulosa in campioni di *Populus tremula* L. e di *Buxus sempervirens* L. sottoposti a fotodegradazione in ambiente controllato, osservando differenze tra le due specie, una forte degradazione della lignina e una degradazione della cellulosa amorfa.

Sharratt *et al.*, (2008) hanno studiato i cambiamenti di colore dovuti ad esposizione a radiazione luminosa su campioni di *Pinus sylvestris* L. focalizzandosi sulle prime 24 ore di azione, ma utilizzando anche tempi di esposizione più lunghi. Questi autori hanno utilizzato il sistema CIE-L*a*b* 1976, valutando le modificazioni di colore con il ΔE^* . I risultati ottenuti hanno mostrato che la maggior parte dei cambiamenti di colore si sono verificati nelle prime 24 ore, con un incremento della componente gialla e un decremento della componente blu dopo le prime 10 ore.

E' stato anche indagato il comportamento di *Abies alba* Mill. valutando anche l'effetto dell'anidride succinica come preservante a varia concentrazione (Rosu *et al.*, 2010). I campioni sono stati sottoposti a radiazioni con $\lambda > 300$ nm. Il legno sottoposto a trattamento appare con una stabilità fotochimica leggermente più alta all'aumentare della concentrazione di anidride succinica. Il minore cambiamento di colore è dovuto alla maggiore stabilità della lignina dovuta ad una reazione di esterificazione (Rosu *et al.*, 2010).

Il ruolo degli estrattivi e la loro influenza sulla fotodegradazione delle componenti chimiche presenti nel legno sono state studiate su diverse specie, ma non tutti gli autori sono arrivati alle stesse conclusioni. Sicuramente i tannini agiscono, in molte specie arboree, come protettivi naturali contro la degradazione del legno ad opera di agenti biotici (Giordano, 1981; Scalbert, 1992; Tsoumis, 1991). La resistenza all'azione dei funghi è dovuta alla capacità di questi componenti di legarsi con le proteine (Luck *et al.*, 1994) e/o di rimuovere i metalli poiché presentano una forte affinità per gli ioni metallici (Mila *et al.*, 1996).

Molti autori, studiando altri aspetti della fotodegradazione del legno e delle variazioni di colore dovute alla radiazione luminosa, si sono confrontati con il ruolo degli estrattivi in questo fenomeno. In *Robina pseudacacia* L., *Fagus crenata* Blume, *Cryptomeria japonica* D. Don e *Picea abies* Karst. sono stati valutati i cambiamenti di colore utilizzando sia il sistema CIE-L*a*b* 1976 che il sistema CIE-L*h*c* 1976, su campioni esposti ad intervalli fino a 200 ore, osservando un rapido cambiamento di colore iniziale che poi è andato diminuendo con il trascorrere del tempo di esposizione. In particolare, viene riscontrata una relazione lineare tra la componente L* (*lightness*) e h* (tinta) (Tolvaj e Mitsui, 2010). Con studi ulteriori, Tolvaj *et al.* (2013), per il legno delle specie più diffuse in Ungheria, affermano che esiste una correlazione tra la componente L* (*lightness*) e h* (tinta), fatta eccezione per le specie con alto contenuto di estrattivi come *Robina pseudacacia* L., *Quercus cerris* L., *Quercus petrea* (Mattuschka) Liebl.

Tolvaj *et al.* (2012) hanno valutato la fotodegradazione dovuta all'esposizione ad una lampada allo xeno (per 200 ore) ed una a vapore di mercurio (per 20 ore) attraverso il monitoraggio del colore e degli spettri FT-IR: le specie studiate sono state *Robinia pseudoacacia* L., *Fagus crenata* Blume e *Populus canescens* L. I risultati di questo lavoro hanno mostrato che in *Robinia pseudoacacia* L. si osservano minori variazioni di colore e minori alterazioni delle componenti chimiche del legno grazie alla presenza di estrattivi e che la lampada più opportuna a simulare la radiazione luminosa solare è quella allo xeno.

Pandey (2005b) ha studiato l'effetto degli estrattivi sulla fotodegradazione, lavorando su campioni di *Acacia auriculiformis* A. Cunn. ex Benth. E' stata osservata una maggiore variazione di colore e una maggiore degradazione dei gruppi fenolici nei campioni in cui erano ancora presenti gli estrattivi: questo è stato giustificato dall'alterazione degli estrattivi aromatici. Chang *et al.* (2010), analizzando con spettroscopia sia nell'infrarosso che nel UV – visibile campioni di *Cryptomeria japonica* (L.f.) D. Don e *Acacia confusa* Merr., affermano che gli estrattivi hanno un'influenza tale da rendere minore l'alterazione chimica del legno.

I lavori fino a questo punto citati concordano che la componente chimica del legno che maggiormente viene influenzata dall'esposizione alla radiazione luminosa è la lignina (Chang *et al.*, 2002; Pandey, 2005a; Rosu *et al.*, 2010; Sharratt *et al.* 2008; Tolvaj e Mitsui, 2010), ma quale sia il vero ruolo degli estrattivi non risulta ancora chiaro e condiviso. Inoltre, la radiazione luminosa provoca la variazione del colore verificata per mezzo delle coordinate colorimetriche (Hon e Shiraishi, 2001), tuttavia non appare chiarito il ruolo degli estrattivi.

Il primo studio in cui sono state applicate tecnologie basate su l'HSI è stato svolto da Pillow (1941) al fine di identificare il legno di compressione nelle conifere che appariva opaco. Successivamente Nystrom e Hagman (1999) hanno sviluppato un'applicazione con immagini nell'infrarosso vicino per classificare il legno di compressione e Noordam *et al.* (2005) le hanno utilizzate per mappare le caratteristiche degli assortimenti (ritidoma, legno di compressione e legno normale).

Ultimamente questa tecnologia è stata utilizzata per individuare la distribuzione delle componenti chimiche del legno di diverse specie. Thumm *et al.* (2010), utilizzando alcuni campioni di *Pinus radiata* D. Don, hanno visualizzato la distribuzione e la variazione spaziale della lignina, del galattosio e del glucosio.

2. Materiali e metodi

2.1. Le alterazioni fisiche e meccaniche del legno a seguito dell'azione di *Inonotus rickii* (Pat.) Reid

2.1.1. Premessa

Al fine di comprendere le alterazioni che *Inonotus rickii* (Pat.) Reid causa al legno delle specie attaccate sono state studiate, su materiale inoculato per 5 e 10 mesi a 28° C, le seguenti caratteristiche:

- ritiro volumetrico, assiale, tangenziale e radiale;
- massa volumica al 12% di umidità;
- resistenza a compressione assiale.

Questi parametri sono stati studiati attraverso l'applicazione delle opportune norme nazionali ed internazionali UNI/ISO.

I provini legnosi sono stati inoculati con materiale proveniente da isolati prelevati da tre diversi ospiti (*Acer negundo* L., *Celtis australis* L. e *Robinia pseudoacacia* L.) provenienti dalla città di Roma. Nello specifico sono stati inoculati 26 provini di ogni specie e per ogni inoculo.

Sono state considerate alcune delle specie arboree più diffuse in ambiente urbano: *Acer campestre* L., *Acer negundo* L. e *Celtis australis* L. con periodi di inoculazione di 5 e 10 mesi; *Robinia pseudoacacia* L. *Tilia x vulgaris* Hayne, *Ulmus minor* Mill., *Platanus x acerifolia* (Aiton) Willd. e *Quercus ilex* L. per un periodo di inoculazione di 10 mesi.

Molte delle caratteristiche tecnologiche del legno derivano dalla sua spiccata igroscopicità che dà origine a fenomeni di scambio di umidità mediante adsorbimento e desorbimento (Bonamini *et al.*, 2001; Forest Products Laboratory, 2010; Giordano, 1981; Tsoumis, 1991).

Per umidità del legno si intende:

$$u = \frac{(p - p_0)}{p_0} 100 \quad [\%]$$

in cui p $\rightarrow$ massa fresca
 p_0 $\rightarrow$ massa secca

Talvolta, specialmente nell'industria della carta, l'umidità del legno viene calcolata inserendo al denominatore il massa fresca.

Possono essere individuate quattro tipologie di H₂O presente nel legno di seguito elencate (Bonamini *et al.*, 2001; Forest Products Laboratory, 2010; Giordano, 1981; Tsoumis, 1991).

- H₂O di imbibizione o libera: è quella presente nei lumi cellulari che può muoversi liberamente. E' presente solo allo stato fresco ed influenza solo marginalmente le proprietà del legno.
- H₂O di saturazione o legata: è quella che si lega con legami polari alla parete cellulare. Ha un'importanza fondamentale a causa del modo in cui influenza le caratteristiche tecnologiche del legno.
- Vapore acqueo: è presente nell'aria che riempie le cavità cellulari e raggiunge un equilibrio con l' H₂O di imbibizione e con l'H₂O di saturazione.
- H₂O di costituzione: è quella che fa parte della composizione chimica delle varie molecole che costituiscono il legno. Data l'alta energia di legame, questo tipo di legame non interviene nei fenomeni legati al sistema legno-acqua.

Il legno appena abbattuto è ricco di acqua. Nell'alburno generalmente il contenuto di acqua è elevato, nel durame invece è minore. Nel tempo si assiste ad una progressiva diminuzione dell'acqua libera e di quella di saturazione fino ad arrivare ad un equilibrio con l'ambiente circostante. Lo stato anidro, che in natura non esiste, può essere ottenuto soltanto in condizioni artificiali, rimosse le quali il legno si riequilibra con le condizioni ambientali di conservazione (Bonamini *et al.*, 2001; Forest Products Laboratory, 2010; Giordano, 1981; Tsoumis, 1991).

Viene definito punto di saturazione il valore di umidità del legno in cui l'acqua di imbibizione è totalmente eliminata e l'acqua di saturazione è ancora presente. Questo valore dipende da vari aspetti tra i quali la specie legnosa, la presenza di estrattivi, la massa volumica, il rapporto legno primaticcio - legno tardivo, ecc... In generale si raggiunge il livello di saturazione tra valori di umidità del legno che vanno dal 28% al 40%. Di solito, comunque, si considera il valore *standard* del 30%. L'aspetto più importante è che al di sotto di questo valore, si osservano variazioni delle proprietà del legno, come, ad esempio, i ritiri e le resistenze (Bonamini *et al.*, 2001; Forest Products Laboratory, 2010; Giordano, 1981; Tsoumis, 1991).

Pertanto, al variare delle condizioni ambientali, il legno raggiunge un equilibrio attraverso un meccanismo di desorbimento o di adsorbimento, modificando l'umidità nel campo

igroscopico e cioè dallo 0% di umidità al punto di saturazione. A tali cambiamenti, corrispondono macroscopiche variazioni di volume chiamati ritiri o rigonfiamenti.

2.1.2. Preparazione ed inoculazione del materiale

Le piante campionate sono state prelevate dall'Azienda Sperimentale del CRA-PAV "Tor Mancina"- Roma, fatta eccezione per *Quercus ilex* L. che proviene da un bosco sottoposto ad utilizzazione nel Comune di Bultei (SS).

Seguendo la norma UNI 3252 (1987) e UNI 3253 (1952), abbattuti i fusti, sono stati prelevati tronchetti di un metro di lunghezza, dai quali sono state ricavate tavole di almeno 10 cm di larghezza, senza eliminare la corteccia per evitare una rapida perdita di umidità e quindi conseguenti spaccature.

Dopo la stagionatura all'aria dalle tavole sono stati ricavati gli sbocchi, eliminando quelli contenenti il midollo.

Gli sbocchi sono stati condizionati a temperatura di circa 20 °C e umidità relativa di 65±5 % al fine di raggiungere un'umidità del legno più vicina possibile alla normalità (12%).

Da ogni sbocco sono stati ricavati provini prismatici delle dimensioni previste dalla norma UNI 3253, cioè di 20x20x30 mm, per poter effettuare le opportune prove fisiche e meccaniche.

I provini sono stati preparati secondo la norma UNI 3253 (1952): l'asse longitudinale parallelo alla fibratura del legno e sulle testate dei provini gli anelli di accrescimento paralleli a due spigoli opposti e perpendicolari agli altri. Gli spigoli devono essere paralleli tra di loro.

Come evidenziato dalla norma, gli scostamenti dalle dimensioni nominali dei provini non erano superiori a ± 0,5 mm. Queste dimensioni sono state mantenute su ogni singolo provino con una precisione di 0,2 mm.

Alcuni provini sono stati inoculati con *Inonotus Rickii* (Pat.) Reid, altri, sebbene siano stati sottoposti agli stessi trattamenti, non sono stati inoculati, al fine di essere considerati come controllo durante le prove di caratterizzazione tecnologica del legno.

Prima di essere inoculati sono stati essiccati in stufa con una temperatura di 50 °C per 4 giorni, poi messi in acqua per 48 ore e sterilizzati a 110° C per 2 ore per 2 volte (a distanza di 24 ore). Dopo il periodo di incubazione i provini sono stati ripuliti esternamente dal micelio del fungo e sono stati messi in stufa a 50° C per 4 giorni.

Sono stati utilizzati per l'inoculazione 3 isolati di *Inonotus Rickii* (Pat.) Reid prelevati da *Acer negundo* L., *Celtis australis* L. e *Robinia pseudoacacia* L. nella città di Roma. Sono stati

inoculati, per ciascun isolato, contenitori sterili in plastica, contenenti *malt agar*, usando micelio cresciuto su PDA (*Potato Dextrose Agar*). Questi contenitori sono stati incubati al buio a $28^{\circ}\pm 1$ C ed, una volta che il micelio ha ricoperto completamente lo strato di *malt agar*, un provino di legno è stato introdotto.

Dunque 4 set di provini sono stati testati per ciascuna specie ornamentale studiata: 3 con materiale inoculato ed uno con il controllo. Dopo 5 e/o 10 mesi di incubazione alla medesima temperatura, i provini sono stati rimossi dai contenitori e ripuliti del micelio in eccesso. In fine i campioni sono stati essiccati in stufa a 50° C per 96 ore.

Per ogni specie sono stati utilizzati 100 provini che sono stati ripartiti nei 4 set. Ogni set è stato diviso in due gruppi: uno per i ritiri ed uno per la massa volumica al 12% di umidità e per la resistenza alla compressione assiale.

2.1.3. I ritiri e i coefficienti unitari di ritiro

Le variazioni dimensionali osservabili macroscopicamente, a seguito delle variazioni di umidità del legno nel campo igroscopico, sono dovute all'azione delle molecole d'acqua sulle pareti cellulari che causano, con l'adsorbimento e con il desorbimento, allontanamento e l'avvicinamento delle microfibrille di cellulosa (Bonamini *et al.*, 2001; Forest Products Laboratory, 2010; Giordano, 1981; Tsoumis, 1991).

Il ritiro volumetrico totale consiste nella diminuzione percentuale che si misura dallo stato fresco (umidità superiore al punto di saturazione) allo stato anidro (umidità 0%):

$$\beta_v = \frac{(V_f - V_0)}{V_f} 100 \quad [\%]$$

in cui V_f → volume fresco
 V_0 → volume anidro

Le variazioni volumetriche sono solitamente comprese tra il 9% ed il 23%, con grande variabilità sia in base alla specie ma anche tra i provini provenienti da uno stesso tronco (Bonamini *et al.*, 2001; Forest Products Laboratory, 2010; Giordano, 1981; Tsoumis, 1991).

E' necessario sottolineare che le variazioni di volume portano ad una deformazione dell'elemento ligneo, poiché il ritiro assume valori diversi nelle tre direzioni anatomiche: il

legno è un materiale anisotropo. Può essere ricordato che il ritiro in direzione assiale risulta piuttosto limitato (0,1% - 0,8%), e che quello in direzione radiale (2% - 12%) è circa la metà di quello tangenziale (4% - 23%) (Bonamini *et al.*, 2001; Forest Products Laboratory, 2010; Giordano, 1981; Tsoumis, 1991).

Ritiro assiale totale:

$$\beta_L = \frac{(L_f - L_0)}{L_f} 100 \quad [\%]$$

Ritiro radiale totale:

$$\beta_r = \frac{(R_f - R_0)}{R_f} 100 \quad [\%]$$

Ritiro tangenziale totale:

$$\beta_t = \frac{(T_f - T_0)}{T_f} 100 \quad [\%]$$

in cui

$L_f, R_f, T_f \rightarrow$ dimensioni allo stato fresco

$L_0, R_0, T_0 \rightarrow$ dimensioni allo stato anidro

I fattori che influenzano i ritiri sono stati ampiamente discussi. I principali possono essere riassunti nei seguenti punti (Bonamini *et al.*, 2001; Forest Products Laboratory, 2010; Giordano, 1981; Tsoumis, 1991):

- La massa volumica (che verrà definita in seguito) influenza molto i ritiri: tendenzialmente maggiore è la massa volumica del legno e maggiore è il suo ritiro.
- Gli estrattivi duramificanti insolubili in acqua mantengono la parete in uno stato di parziale rigonfiamento e dall'altra tengono occupati i gruppi -OH con i quali le molecole di H₂O formano legami idrogeno. Ne consegue che si verifica un aumento del volume minimo della parete cellulare ma anche una riduzione della percentuale di

idratazione massima delle catene della cellulosa. Per questo si ottiene una riduzione dell'entità del ritiro.

- La maggiore percentuale di lignina nel legno porta ad una riduzione del ritiro.

Si definisce coefficiente unitario di ritiro il ritiro dovuto ad ogni punto percentuale di perdita di umidità, considerando un andamento lineare e costante. Tale valore può essere calcolato dividendo i valori di ritiro per l'umidità del legno raggiunta al punto di saturazione, che convenzionalmente è considerata del 30%. Si definisce, inoltre, coefficiente di anisotropia del ritiro (o coefficiente di nervosità) il rapporto tra ritiro tangenziale e ritiro radiale (Bonamini *et al.*, 2001; Forest Products Laboratory, 2010; Giordano, 1981):

$$coeff. anis. = \frac{\beta_t}{\beta_r}$$

Le differenze di ritiro nelle diverse direzioni porta, se non si prendono precauzioni, a modificazioni della forma degli assortimenti (Fig. 13) (Bonamini *et al.*, 2001; Forest Products Laboratory, 2010; Giordano, 1981). Il coefficiente di anisotropia del ritiro è un indice che descrive sinteticamente la propensione alla deformazione.

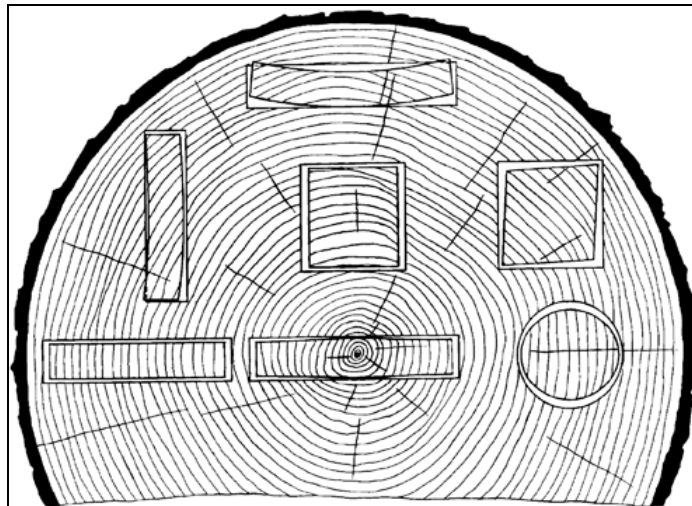


Figura 13. Modifica delle forme in semilavorati legnosi (Fonte: Forest Products Laboratory, 2010).

Per la determinazione del ritiro volumetrico è stata utilizzata la norma UNI/ISO 4858 (1988), per i ritiri radiali e tangenziali la norma UNI/ISO 4469 (1985d). Si ricorda che per la determinazione del ritiro assiale non esiste una norma codificata e dunque non è stata considerata.

Nello specifico le dimensioni nelle direzioni fondamentali sono state misurate con l'ausilio di un calibro centesimale elettronico (precisione 0,01 mm).

La norma UNI/ISO 4469 (1985d) prevede di effettuare le misure al centro di ogni sezione. Al fine di avere dati più precisi ed accurati, per ogni provino è stata presa la misura delle dimensioni in direzione tangenziale e radiale mediante 6 misurazioni, 4 laterali e 2 centrali; inoltre la misura delle lunghezze in direzione longitudinale è stata presa lungo i 4 spigoli (Fig. 14).

Queste misure sono state eseguite sia sui provini portati ad un'umidità oltre il punto di saturazione, sia su provini allo stato anidro. In questo modo sono stati calcolati i ritiri totali, applicando le formule esposte in precedenza, come previsto dalle norme tecniche.



Figura 14. Misura dei provini.

Lo stato di massima imbibizione è stato raggiunto per immersione in acqua distillata a $20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}$, finché non sono state più osservate variazioni dimensionali. Lo stato anidro è stato ottenuto inserendo i campioni in stufa ventilata (Heraeus T 42) a $103^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ finché con il metodo della doppia misura non è stata osservata una variazione dimensionale inferiore a 0,02 mm (Fig. 15).



Figura 15. Stufa ventilata modello Heraeus T 42.

Sono stati calcolati anche i valori dei coefficienti unitari di ritiro, dividendo i valori così ottenuti per l'umidità convenzionale del legno al punto di saturazione (30%), assumendo come lineare la variazione nell'intervallo tra stato anidro e punto di saturazione. Infine, è stato determinato il coefficiente di nervosità.

2.1.4. La massa volumica al 12% di umidità

La massa volumica, o densità, (ρ) rappresenta il rapporto tra massa e volume geometrico e si esprime in kg m^{-3} o in g cm^{-3} . La relazione che la definisce è la seguente:

$$\rho = \frac{m}{V} \quad \left[\text{kg} \cdot \text{m}^{-3} \quad \text{oppure} \quad \text{g} \cdot \text{cm}^{-3} \right]$$

Come è facilmente intuibile, questa proprietà del legno è fortemente influenzata dalle relazioni legno - acqua ed infatti è necessario sempre specificare l'umidità del legno alla quale è stata misurata. Nei manuali e nei lavori scientifici il riferimento è l'umidità normale (12%) ottenuta con la conservazione a 20° C al 65% di umidità relativa (Bonamini *et al.*, 2001; Forest Products Laboratory, 2010; Giordano, 1981; Tsoumis, 1991).

Nello specifico, all'interno della stessa specie questa proprietà può variare in base alla provenienza geografica, alla stazione ed alla posizione sociale all'interno del popolamento forestale, ed all'interno della stessa pianta può variare in base alla proporzione tra legno

primaticcio e tardivo, all'ampiezza degli anelli di accrescimento, alla presenza di estrattivi e posizione all'interno del tronco (Bonamini *et al.*, 2001; Forest Products Laboratory, 2010; Giordano, 1981; Tsoumis, 1991).

La massa volumica è dunque un indice di “compattezza” del legno che è causata dalla diversa porosità che si ha tra le diverse specie ma anche all'interno della stessa specie. La densità media della parete cellulare è di 1530 kg m^{-3} e questo valore rappresenta un valore di ρ limite (Bonamini *et al.*, 2001; Forest Products Laboratory, 2010; Giordano, 1981; Tsoumis, 1991).

Al fine di determinare la massa volumica secondo la norma UNI/ISO 3131 (1985b) ad umidità *standard*, in base alla norma UNI 3253 (1952), i campioni sono stati portati ad umidità normale (12%) tenendo il legno in un ambiente confinato con una temperatura di 20°C e una umidità relativa del 65%. Il livello di umidità del legno è stato, inoltre, controllato in maniera speditiva attraverso un igrometro elettronico. Attraverso misure più accurate applicando la norma UNI/ISO 3130 (1985a), è stata determinata l'umidità reale del singolo campione.

Il valore della massa è stata misurata con una bilancia analitica con precisione di 0,001 (Explorer Ohaus) (Fig. 16).



Figura 16. Bilancia analitica modello Explorer Ohaus.

Per l'ottenimento della massa allo stato anidro, i campioni sono posti in una stufa ventilata a $103^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{C}$ finché, la variazione di massa tra due misurazioni a distanza di 6 ore è inferiore allo 0,5%.

Il volume è stato calcolato per via geometrica applicando le stesse modalità indicate per il calcolo dei ritiri.

I valori ottenuti sono stati normalizzati al 12% di umidità, come previsto dalla norma UNI/ISO 3131 (1985b) applicando la seguente formula:

$$\rho_{12} = \rho_w \left[1 - \frac{(1-K)(W-12)}{100} \right] \quad \left[kg \cdot m^{-3} \quad oppure \quad g \cdot cm^{-3} \right]$$

in cui:

- ρ_w → massa volumica in equilibrio con l'umidità dell'ambiente di conservazione
- K → coefficiente unitario di ritiro volumetrico, alla variazione dell'1% di umidità, assunto pari a $0,85 \cdot 10^{-3}$;
- W → umidità del legno in equilibrio igroscopico con l'ambiente.

2.1.5 La resistenza a compressione parallela alla fibratura

Il legno in una pianta arborea ha anche la funzione di resistere a sollecitazioni interne o esterne: ad esempio il peso della chioma ed il peso della neve sottopongono il fusto a compressione assiale. E' necessario considerare che anche il legname in opera può essere sottoposto a diversi tipi di sollecitazioni (compressione, trazione, ecc...) (Bonamini *et al.*, 2001; Forest Products Laboratory, 2010; Giordano, 1981; Tsoumis, 1991). Solitamente la resistenza ad una sollecitazione di un legno è espressa come carico unitario di rottura espresso $N \cdot mm^{-2}$ (MPa).

Nel caso della compressione assiale (σ), finché si rimane nel campo elastico (condizioni in cui la deformazione è totalmente reversibile), le forze applicate provocano deformazioni proporzionali. All'aumentare delle sollecitazioni si raggiunge un carico massimo che provoca la rottura dell'elemento ligneo (Bonamini *et al.*, 2001; Forest Products Laboratory, 2010; Giordano, 1981; Tsoumis, 1991). Individuato questo carico massimo, il carico unitario è facilmente ottenibile dalla seguente relazione:

$$\sigma = \frac{F}{A} \quad \left[N \cdot mm^{-2} \quad MPa \right]$$

in cui

$F \rightarrow$ forza applicata misurata in N

$A \rightarrow$ superficie della sezione trasversale misurata in mm^{-2}

I tipi di rottura possono essere raggruppati in due categorie. Il primo in cui si formano piani di scivolamento inclinati rispetto alla direzione longitudinale: la rottura può assumere forme diverse in base all'inclinazione dei piani. Nel secondo modo il provino non manifesta rotture evidenti, ma si verifica il piegamento laterale di alcuni fasci di cellule (Bonamini *et al.*, 2001; Forest Products Laboratory, 2010; Giordano, 1981; Tsoumis, 1991).

Di seguito si riporta un breve accenno a quelli che sono i fattori più importanti che influenzano di più la resistenza del legno (Bonamini *et al.*, 2001; Forest Products Laboratory, 2010; Giordano, 1981; Tsoumis, 1991).

- La temperatura: si può in generale affermare che all'aumentare della temperatura si ha una diminuzione della resistenza.
- Durata del carico: esposizioni a carichi per tempi prolungati, possono portare a rottura, anche se la sollecitazione viene tollerata per periodi più ridotti.
- Umidità: il legno presenta valori massimi di resistenza meccanica quando si trova nello stato di essiccazione totale e valori minimi quando l'umidità è pari o superiore al punto di saturazione delle fibre.
- Inclinazione della fibratura: più la fibratura è inclinata e più si abbassa la resistenza.
- Massa volumica: all'aumentare di ρ , in genere aumenta anche la resistenza a compressione. Questa relazione non sussiste solamente all'interno di una stessa specie, ma anche tra specie diverse.

Per il calcolo della resistenza a compressione parallela alla fibratura è stata applicata la norma UNI/ISO 3787 (1985c).

E' stata utilizzata una macchina prova materiali (METRO-COM Engineering s.p.a.) (Fig. 17); l'applicazione del carico è effettuata da due piani di acciaio temprato auto-allineanti con snodi sferici tali da assicurare la uniforme distribuzione del carico sulle estremità del provino posto in maniera tale da essere sollecitato secondo la direzione assiale. La velocità di esecuzione della prova è stata tale da provocare la rottura del provino in un tempo di 1,5 a 2 minuti a partire dall'inizio dell'applicazione del carico.



Figura 17. Macchina prova materiali METRO-COM Engineering s.p.a.

Dopo aver misurato la superficie della sezione minore, la resistenza a compressione è stata calcolata secondo la formula già descritta, come previsto dalla norma UNI/ISO 3787 (1985c). Il valore ottenuto (σ_w) è stato normalizzato al 12% di umidità (σ_{12}), calcolando l'umidità dei campioni al momento della prova (UNI/ISO 3130, 1985a) applicando la seguente formula (UNI/ISO 3787, 1985c):

$$\sigma_{12} = \sigma_w [1 + \alpha(W - 12)] \quad [N \cdot mm^{-2} \quad MPa]$$

in cui:

α → coefficiente di correzione per l'umidità, il cui valore convenzionale è 0,04;

W → umidità dei provini calcolata al momento della prova.

2.1.6. Le metodologie statistiche applicate

Per ogni caratteristica indagata, è stata applicata la statistica descrittiva (media aritmetica, minimo, massimo, intervallo di variazione, varianza, deviazione *standard*, errore *standard*).

Il valore minimo e il valore massimo permettono di individuare immediatamente il campo (o intervallo) di variazione e cioè la differenza tra questi due valori. Queste misure sono usate per descrivere la dispersione, o variabilità, dei dati.

La media aritmetica consiste nel valore attorno al quale i dati sono raggruppati ed è la somma del valore di tutte le osservazioni, diviso il numero di unità. Sia la deviazione *standard* che il

suo quadrato, la varianza, sono degli indici di dispersione dei dati dalla media. Invece, l'errore *standard* misura la dispersione della media calcolata su n dati e come gli altri due parametri descrive la dispersione dei dati.

Per testare la diversità dei parametri fisico-meccanici, tra testimone e materiale inoculato, è stata applicata l'analisi della varianza o test ANOVA (*ANalysis Of VAriance*) (Fischer, 1958; Sheskin, 2000; Soliani, 2005). Partendo dall'ipotesi, giustificata dalla conoscenza dei fenomeni, che dati raccolti in condizioni diverse o da soggetti sottoposti a trattamenti diversi siano raggruppabili in gruppi ben distinti, se ne verifica il livello di significatività statistica.

Il valore della probabilità che tale ipotesi sia corretta, e dunque statisticamente significativa, è dato dal *p-value*, o *p-level*.

Si considerano 3 livelli di significatività statistica:

- *p-level* minore di 0,05 (5%) → ipotesi validata con significatività statistica;
- *p-level* minore di 0,01 (1%) → ipotesi validata con significatività statistica alta;
- *p-level* minore di 0,001 (0,1%) → ipotesi validata con significatività statistica molto alta.

Esistono tre tipi fondamentali di analisi della varianza:

- ANOVA ad una via (one - way) quando si ha una sola variabile dipendente e una sola variabile indipendente;
- ANOVA fattoriale quando si ha una sola variabile dipendente, ma più variabili indipendenti;
- M-ANOVA (*Multivariate ANalysis Of VAriance*) quando c'è più di una variabile dipendente e più di una variabile indipendente.

Dopo l'applicazione dell'analisi della varianza si pone il problema di verificare tra quali gruppi esista una differenza statistica. Per questo è stato applicato il metodo di confronti multipli *post hoc* più diffuso: il test di Tukey o HSD (*Honestly Significant Difference* - Differenze Onestamente Significative) (Sheskin, 2000; Soliani, 2005; Tukey, 1949).

Per le specie e per gli inoculi studiati ed il controllo sono stati calcolati i vari parametri compresi nella statistica descrittiva (media aritmetica, minimo, massimo, intervallo di variazione, varianza, deviazione *standard*, errore *standard*).

Alle specie ed agli inoculi è stata applicata l'analisi della varianza per testare la diversità dei parametri. Successivamente è stato applicato il test di Tukey per verificare tra quali gruppi esista una significatività statistica. Le analisi sono state svolte con il *software* Statistica della StatSoft®.

L'azione del fungo è stata analizzata anche attraverso la creazione di una matrice di rischio con la quale sono state comparate le differenze tra testimone e materiale inoculato per quanto riguarda le caratteristiche che hanno mostrato differenze statisticamente significative a 10 mesi di periodo di inoculazione (massa volumica al 12% di umidità e resistenza a compressione assiale).

Sono state calcolate le differenze percentuali, tra testimone e materiale inoculato, delle due caratteristiche considerate per ogni specie. In base al valore minimo e massimo (resistenza a compressione assiale: 0%-21%; massa volumica al 12% di umidità: 0%-16%) l'intervallo ottenuto è stato diviso in 4 classi uguali ed i valori delle singole classi, per ogni caratteristica, sono stati moltiplicati tra di loro. I risultati previsti dalla matrice sono stati divisi in 3 classi di rischio: rischio basso da 1 a 3, rischio medio da 4 a 6 e rischio alto da 8 a 16 (Tab. 1).

Tabella 1. Matrice di rischio.

		Resistenza a compressione assiale (u = 12%)			
		1	2	3	4
Massa volumica (u = 12%)	1	1	2	3	4
	2	2	4	6	8
	3	3	6	9	12
	4	4	8	12	16

2.2. Lo studio delle alterazioni di colore e chimiche di superfici legnose sottoposte alla radiazione luminosa in ambiente controllato.

2.2.1. Premessa

Al fine di comprendere come la radiazione luminosa contribuisca all'alterazione sia dei parametri colorimetrici sia della composizione chimica superficiale del legno sono stati sottoposti campioni di legno alle seguenti prove:

- esposizione a radiazione luminosa artificiale in ambiente controllato;
- misura del colore con metodo CIE-L*a*b* 1976 ed elaborazione dei dati ottenuti;
- analisi delle intensità dei picchi degli spettri FT-IR a lunghezze d'onda che identificano componenti chimiche di nostro interesse ed elaborazione dei dati ottenuti;
- acquisizione di immagini iperspettrali (HSI) ed elaborazione dei dati ottenuti (solo nel caso di *Populus L. sp.*).

Le specie studiate, di interesse nel campo dei beni culturali e dell'industria del legno, sono state le seguenti: *Castanea sativa* Mill., *Populus L. sp.* e *Fagus sylvatica* L.

Sono state messe a confronto le seguenti tesi:

- *Castanea sativa* Mill. → confronto tra campioni con legno tal quale e campioni trattati con una sostanza preservante Linfoil®;
- *Populus L. sp.* → confronto tra campioni con legno tal quale e campioni trattati con una sostanza preservante Linfoil®;
- *Fagus sylvatica* L. → confronto tra campioni con legno normale e campioni affetti dall'anomalia del cuore rosso;
- *Castanea sativa* Mill. → confronto tra campioni con legno tal quale, campioni di legno in cui sono stati allontanati gli estrattivi solubili in acqua e campioni in cui sono stati allontanati tutti gli estrattivi in acqua e metanolo.

Sulla scheda tecnica del Linfoil®, prodotto dalla società GEAL (Comune di Agliana, Provincia di Pistoia), viene indicato che consiste in una “*miscela complessa di oli vegetali selezionati a rapida essiccazione, resine e cere dure, contenente essiccativi di profondità e di superficie, in solvente paraffinico*” e l'applicazione protegge i manufatti lignei posti in opera in ambienti interni ed esterni.

I dati così ottenuti sono stati elaborati statisticamente al fine di valutare il comportamento dei vari set di campioni analizzati e per verificare le relazioni tra i vari fenomeni osservati.

2.2.2. Preparazione dei campioni

Nel caso del primo studio su *Castanea sativa* Mill. sono stati utilizzati, per i punti di campionamento delle misure colorimetriche, provini sotto forma di tavolette (lunghezza 23 cm, larghezza 5 cm e spessore 2 cm) prelevate nel durame ottenute da una tavola più grande. Dopo il taglio le tavolette sono state conservate al buio in ambiente condizionato a 65% di umidità relativa e ad una temperatura di 22° gradi per raggiungere il 12% di contenuto di umidità nel legno (Bonamini *et al.*, 2001; Forest Products Laboratory, 2010; Giordano, 1981; Tsoumis, 1991; UNI 3253, 1952). Il materiale è stato prodotto in modo che la superficie delle tavolette nella direzione longitudinale fosse radiale.

Su metà dei campioni è stato applicato il Linfoil® diluito con Linfosolv® in rapporto 1:1. Sono state svolte 3 applicazioni consecutive con pennello. In totale sono stati misurati 180 punti di campionamento di cui la metà sono stati trattati. I punti di campionamento sono stati misurati agli intervalli temporali previsti.

Le analisi FT-IR sono state svolte su piccoli campioni di forma circolare (diametro 10 mm e spessore 2 mm) realizzati dalle tavolette, al fine di essere inseriti nello strumento. La superficie del disco era riferita ad una sezione radiale. E' stato realizzato un campione per ogni intervallo di esposizione considerato.

Per quanto riguarda *Populus* L. è stata fatta una preparazione dei campioni analoga. Per la misura del colore sono state ottenute tavolette (lunghezza 23,5 cm, larghezza 5 cm e spessore 5 cm) da tavole più grandi sempre in sezione radiale. Il materiale è stato condizionato in modo analogo a *Castanea sativa* Mill. e il Linfoil® è stato applicato su metà dei campioni. Sono stati misurati 180 punti di campionamento di cui la metà trattata con Linfoil®.

Per quanto riguarda gli spettri FT-IR sono stati ottenuti, analogamente a *Castanea sativa* Mill. campioni di forma circolare (Fig. 18) (diametro 10 mm e spessore 2 mm). Sono stati misurati 3 campioni per ogni intervallo di esposizione.

Successivamente gli stessi campioni utilizzati per gli spettri FT-IR sono stati utilizzati per HSI.

Anche nello studio su *Fagus sylvatica* L. il materiale è stato condizionato come negli altri casi. Sono state preparate, per le misure di colore, tavolette (Fig. 19) con legno normale e con l'anomalia del cuore rosso (lunghezza 25 cm, larghezza 5 cm e spessore 0,8 cm). Sono stati

individuati 30 punti di campionamento con legno normale e 30 punti di campionamento con legno affetto da cuore rosso.

Per quanto riguarda gli spettri FT-IR sono stati analizzati 3 campioni per ogni intervallo per le due tipologie di legno. Sono stati utilizzati campioni delle stesse dimensioni delle due precedenti sperimentazioni.



Figura 18. Campione di *Populus L.* per gli spettri FT-IT prima dell'esposizione alla radiazione luminosa.



Figura 19. Tavolette di *Fagus sylvatica L.* per le misure del colore prima dell'esposizione alla radiazione luminosa. A sinistra legno normale e a destra legno con cuore rosso.

Per la seconda sperimentazione su *Castanea sativa* Mill. sia le misure del colore che gli spettri FT-IR sono stati eseguiti sugli stessi campioni a tutti gli intervalli di esposizione. I provini erano, anche in questo caso, di forma circolare (diametro 10 mm e spessore 2 mm) provenienti da tre tavolette radiali. Il materiale è stato condizionato come già precedentemente indicato. Sono stati considerati il legno tal quale, il legno da cui sono stati allontanati soltanto gli estrattivi idrosolubili con acqua bidistillata (H_2O) (Zahri *et al.*, 2007) e campioni dai quali sono stati estratti tutti gli estrattivi con acqua bidistillata (H_2O) e metanolo (CH_3OH) (Sanz *et al.*, 2010).

Per ogni tipologia di trattamento sono stati analizzati 15 campioni: ognuna delle tre tavolette ha contribuito con 5 campioni. In totale sono stati studiati 45 campioni.

I campioni dai quali sono stati allontanati gli estrattivi idrosolubili, sono stati trattati con H_2O bidistillata in rapporto 1 g:100 ml (Zahri *et al.*, 2007) per 48 ore. Invece l'estrazione con H_2O

e CH₃OH è stata svolta su campioni trattati con una soluzione al 50%. Il rapporto è stato anche in questo caso di 1 g di campioni: 100 ml di miscela (Sanz *et al.*, 2010). Il trattamento è durato 48 ore.

Alla fine del trattamento i campioni sono stati filtrati utilizzando un filtro “a fascia blu” (spessore 160 µm; porosità < 2 µm) sottovuoto e sono stati lasciati asciugare all’aria.

2.2.3. Esposizione alla radiazione luminosa in ambiente controllato

L’esposizione a radiazione luminosa artificiale in ambiente controllato è stata condotta in un Solar Box Modello 1500E (Erichsen Instruments) (Fig. 20). Il sistema è dotato di una lampada allo xeno (2,5 kW) e di un filtro UV che interrompe lo spettro a 280 nm.

Nel Solar Box i campioni sono stati esposti ad intervalli diversi di esposizione in base alle diverse sperimentazioni (Tab. 2) e comunque a 550 Wm⁻², a 55° C. Le condizioni della sperimentazione sono state scelte in base alle specifiche della Erichsen al fine di simulare l’esposizione a luce esterna.

Le condizioni di irradiazione hanno generato un ambiente all’interno del Solar Box con condizioni di umidità relativa costanti.

Tabella 2. Ore di esposizione per le diverse sperimentazioni.

Sperimentazione	Intervalli di esposizione per il colore (h)	Intervalli di esposizione per gli spettri FT-IR (h)
<i>Castanea sativa</i> Mill. I	0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 216, 312, 408, 504.	0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 216, 312, 408, 504.
<i>Populus</i> L. sp.	0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 216, 312, 408, 504.	0, 6, 12, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 216, 312, 408, 504.
<i>Fagus sylvatica</i> L	0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 216, 312, 408, 504.	0, 6, 12, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 216, 312, 408, 504.
<i>Castanea sativa</i> Mill. II	0, 12, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 216, 312, 408, 504, 1008.	0, 12, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 216, 312, 408, 504, 1008.



Figura 20. Solar Box Modello 1500E (Erichsen Instruments).

2.2.4. Misure di colore

Il colore del materiale esposto a radiazione luminosa è stato misurato con lo spettrofotometro di riflettanza X-rite CA22 (Fig. 21).

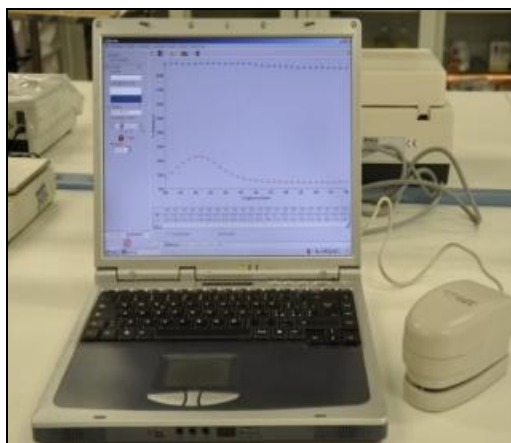


Figura 21. X-rite CA22 con il Notebook necessario per l'utilizzo.

Lo strumento opera in condizioni *standard* grazie ad una lampada allo xeno che simula la luce diurna alle ore 12.00 (*standard observer* 10°). Ha un sensore con una geometria di misura di 45°/0° con una *range* spettrale da 400 nm a 700 nm, una risoluzione spaziale 10 nm, un diametro di misura di 4 mm e ha un bianco di riferimento fornito con lo strumento. Le misure sono state eseguite nel sistema CIE-L*a*b* 1976.

Per ogni campione, ad ogni intervallo di esposizione considerato, sono state misurate le coordinate L^* , a^* e b^* ed i vari Δ (ΔL^* , Δa^* , Δb^* e ΔE^*) in base alla norma tecnica di riferimento (UNI/EN 15886, 2010).

Nei casi in cui le misure sono state effettuate su tavolette, sono state utilizzate maschere graduate al fine di ripetere le misure nello stesso punto.

E' stato utilizzato il *software* in dotazione con lo strumento per esportare i dati in *file* tipo foglio elettronico.

2.2.5. Spettroscopia FTIR

Gli spettri sono stati ottenuti con lo spettrometro a trasformata di Fourier Nicolet Avatar 360 che lavora nel *range* $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$ (Fig. 22).

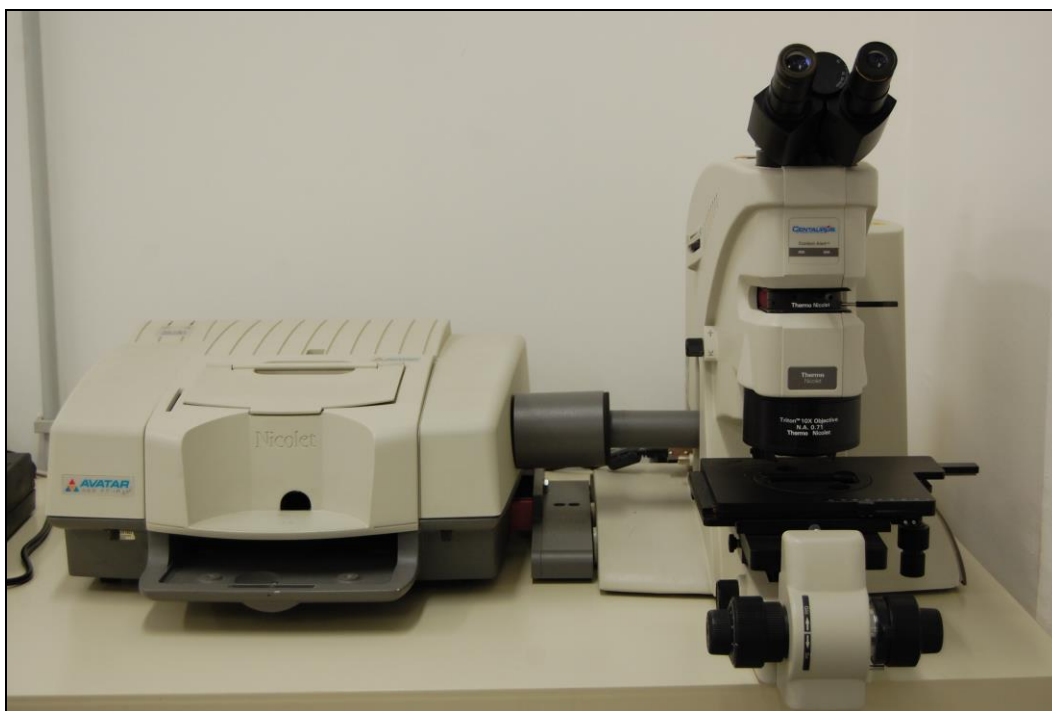


Figura 22. Nicolet Avatar 360.

Questo strumento, grazie ad un accessorio applicato, è stato utilizzato in modalità DRIFT (riflettanza diffusa) con una risoluzione di 4 cm^{-1} . Gli spettri sono stati ottenuti tramite 128 scansioni.

E' stata applicata la teoria Kubelka – Munk al fine di evitare i problemi legati al fatto che è difficile ottenere polvere di legno asportando una superficie di spessore di pochi μm (Kubelka e Munk, 1931; Kubelka, 1948; Hon e Ifju, 1978; Hon e Shiraishi, 2001; Tolvaj *et al.* 2011).

Come già accennato, in questo modo gli spettri ottenuti sono espressi in unità Kubelka - Munk e simulano gli spettri in trasmittanza.

I picchi degli spettri sono stati analizzati con il *software* OMINIC 8.0 (Thermo Electron Corporation) come descritto da Pandey e Pitman (2003).

L'assegnazione tra valore dei picchi degli spettri ed i gruppi molecolari che identificano è stata eseguita in base alla letteratura disponibile (Chang *et al.*, 2002; Colom *et al.*, 2003; Moore e Owen, 2001; Pandey e Pitman, 2003).

In tabella 3 sono riportati il valore dei picchi che identificano i gruppi molecolari più importanti.

Tabella 3. Assegnazione dei picchi.

Valore del picco (cm ⁻¹)	Gruppo molecolare
3400	Gruppo O-H
2940, 2906	Gruppi C-H e C-H ₂
1737	Gruppo C=O
1595, 1507	Gruppo aromatico
1464	Gruppo aromatico
1428	Gruppo C-H
1376	Polisaccaridi
1171	Gruppo C-O-C nella cellulosa e nelle emicellulose
1133	Gruppo C-O-C, gruppo C-H e glucosio ciclico
1091	Gruppo C-O e O-H nella cellulosa e nelle emicellulose
899	Gruppo C1-H della cellulosa
672	Gruppo C-OH della cellulosa

Per questi lavori sono stati utilizzati il picco a 1507 cm⁻¹ per identificare il gruppo aromatico della lignina, il picco a 1737 cm⁻¹ per identificare il gruppo carbonilico ed il picco a 1376 cm⁻¹ per identificare i carboidrati (cellulosa) (Pandey e Pitman, 2003).

Nelle varie elaborazioni sono stati considerati i rapporti tra questi picchi come osservato in letteratura (Pandey, 2005b) al fine di limitare l'effetto della variabilità intrinseca del legno.

2.2.6. Analisi tramite *HyperSpectral Imaging*

Le analisi con la metodologia *HyperSpectral Imaging* è stata svolta con due strumentazioni che indagano due diversi *range* di lunghezze d'onda: 400–1000 nm (*VISible and Near-InfraRed*, VIS-NIR) e 1000–2500 nm (*Short Wave InfraRed*, SWIR).

Per quanto riguarda il range 400-1000 nm è stato utilizzato un ImSpector V10E (SPECIM Ltd, Finland) (Fig 23), montato su un microscopio Leica M205C. Questo strumento ha prodotto immagini con una risoluzione di 2,8 nm, una dispersione di 97,5 nm mm⁻¹ e

un'apertura focale di $f/2,4$. Lo strumento fornisce un'immagine di 780×580 *pixel* e un pacchetto di informazioni di 12 bits per *pixel*.



Figura 23. Strumento ImSpector V10E, montato su un microscopio Leica M205C.

Nel range 1000-2500 nm è stato utilizzato un Specim SISUChema XL, che incorpora un ImSpector N25E (Specim Ltd, Finland) (Fig. 24). Questo strumento ha prodotto immagini con risoluzione di 6,3 nm, con un pacchetto di informazioni di 12 bits per *pixel*. Fornisce una immagine di 320×240 *pixel*.

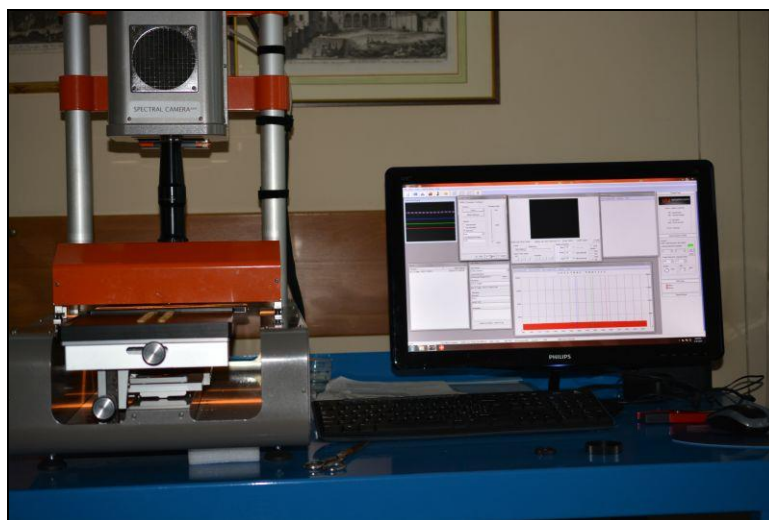


Figura 24. Specim SISUChema XL, che incorpora un ImSpector N25E.

Entrambi i dispositivi funzionano come una fotocamera per consentire l'acquisizione di informazioni spettrali per ciascun *pixel*, attraverso la creazione di un'immagine digitale in cui in ogni *pixel* è presente la risposta per tutte le lunghezze d'onda considerate.

Entrambe le strumentazioni sono controllate da PC dotati di *software* (PLS toolbox, prodotto dalla Eigenvector) specializzato per l'acquisizione e la rielaborazione iniziale degli spettri ottenuti. Questo *software* è un'estensione di Matlab (Version 7.11.1, The Mathworks, Inc.).

2.2.7. Le metodologie statistiche applicate

Sono stati calcolati i parametri della statistica descrittiva in modo analogo a quello riportato nel caso di *Inonotus Rickii* (Pat.) Reid.

E' stata svolta, inoltre, l'analisi della varianza al fine di valutare le differenze tra i vari *set* di campioni studiati.

Al fine di verificare la possibilità di realizzare modelli sono state ottenute le regressioni che descrivono i fenomeni osservati. Si ricorre all'analisi della regressione quando dai dati campionari si vuole ricavare un modello statistico che predica i valori di una variabile (Y) detta dipendente, individuata come effetto a partire dai valori dell'altra variabile (X), detta indipendente, individuata come causa. La regressione necessita di un legame causa-effetto tra le due variabili considerate che deve trovare spiegazione nella disciplina specifica in cui è posto il problema (Soliani, 2005).

Sono state calcolate le relazioni matematiche secondo i tipi che più sono risultati opportuni (lineare, polinomiale del II ordine, esponenziale, ecc...) e la correttezza dell'intercetta e dei coefficienti ottenuti è stata valutata con il *p-level*.

Inoltre è stato ottenuto il valore di R^2 e di R^2_{adj} . R^2 consente di misurare quanto della variabile dipendente Y sia predetto dalla variabile indipendente X e quindi, di valutare l'utilità dell'equazione di regressione nella previsione dei valori della Y e può assumere diversi valori tra 0 e 1. Il valore 0 indica che le due variabili sono completamente indipendenti; un valore più alto indica che la funzione ottenuta passa sempre più vicino ad i valori ottenuti sperimentalmente. Viene raggiunto il valore 1 quando i punti osservati giacciono esattamente sulla funzione ottenuta (Soliani, 2005).

R^2 ha un valore essenzialmente descrittivo applicabile al caso particolare. Nel caso in cui si voglia ottenere una generalizzazione del fenomeno osservato, è necessario considerare R^2_{adj} . (o R^2 corretto) (Soliani, 2005).

Per le relazioni colore/tempo, FT-IR/tempo e FT-IR/colore sono stati realizzati modelli che le descrivono.

Nel caso, invece, del *HyperSpectral Imaging*, sia nel *range* 400-1000 nm (VIS-NIR) che nel *range* 1000-2500 nm (SWIR), è stata utilizzata l'analisi multivariata per ottenere una

riduzione della complessità dovuta al quantitativo dei dati ottenuti. Vista la tipologia dei dati (quantitativi) è stata svolta l'analisi delle componenti principali (*Principal Component Analysis* - PCA). Questa tecnica statistica, finalizzata alla semplificazione dei dati tramite una trasformazione lineare, ha lo scopo di ridurre un numero elevato di variabili in uno minore di variabili definite "latenti" (D'Amico *et al.*, 2005).

La PCA è stata utilizzata per raggruppare i dati in componenti principali che descrivono le variazioni spettrali ottenute. Questa semplificazione permette di descrivere la distribuzione dell'insieme dei dati spettrali, evidenziandone similarità e differenze.

Solitamente le componenti principali, individuate in modo tale da includere il maggior numero possibile di dati sperimentali, sono impiegate per analizzare le caratteristiche comuni tra i campioni ed il loro raggruppamento.

Conseguentemente ogni spettro potrà essere definito, oltre che dal valore di riflettanza di ogni singola lunghezza d'onda, anche dal valore (*score plot*) che viene attribuito in ogni singola componente principale. Di norma si utilizzano le componenti principali necessarie per raggiungere almeno il 90% della varianza.

I campioni, caratterizzati da firme spettrali simili, saranno raggruppati nella regione del piano cartesiano ortogonale con *score plot* simile. In questo modo vengono individuate graficamente nel piano regioni differenti che identificano distinti raggruppamenti di campioni con firme spettrali simili.

E' stata applicata, inoltre, la *Partial Least Squares* (PLS) per ottenere regressioni tra le componenti principali ottenute dalle PCA. Con questa metodologia si stimano le variabili latenti (componenti principali della PCA) attraverso un sistema ricorsivo basato sul metodo dei Minimi Quadrati, che viene successivamente utilizzato per classificare un campione sconosciuto all'interno delle regioni ottenute con la PCA (Barker e Rayens, 2003).

Nello specifico è stata utilizzata la *Partial Least Squares Discriminant Analysis* (PLS-DA), che applicata alle immagini iperspettrali, è una sorta di "mappa di previsione", in cui la classe di ogni *pixel* può essere identificata in base alla mappatura dei colori. Con questa tecnica è possibile individuare, all'interno di ogni componente principale considerata, lo *score plot* di ogni campione sconosciuto che può essere così classificato nelle regioni omogenee della PCA.

3. Degradation of some technological features in wood of ornamental species due to *Inonotus rickii* (Pat.) Reid

3.1. Premessa

L'obiettivo è stato quello di valutare, *in vitro*, i cambiamenti delle proprietà fisiche e meccaniche del legno di 9 specie di interesse ornamentale inoculate con *Inonotus rickii* (Pat.) Reid e di proporre una metodologia di indagine per stabilire un *ranking* di deterioramento delle specie arboree attaccate da funghi.

In questo lavoro è stato fatto anche un monitoraggio su alcuni viali alberati della città di Roma per verificare la diffusione del patogeno. Sono stati monitorati 34 viali alberati delle seguenti specie: *Gleditsia triacanthos* L., *Koelreuteria paniculata* Laxm., *Celtis australis* L., *Platano x acerifolia* (Aiton) Willd., *Robinia* L. sp.

Per quanto riguarda le variazioni delle caratteristiche fisiche e meccaniche del legno inoculato, sono state indagate, secondo le norme di riferimento, i ritiri (radiale, tangenziale e volumetrico) con i relativi coefficienti, il coefficiente di nervosità, la massa volumica e la resistenza a compressione assiale. Sono stati messi a confronto provini inoculati con tre isolati diversi del patogeno con provini non inoculati ma sottoposti agli stessi trattamenti (controllo). Le specie studiate sono state le seguenti: *Celtis australis* L., *Acer negundo* L., *Acer campestre* L., *Robinia Pseudoacacia* L., *Tilia x vulgaris* Hayne, *Ulmus minor* Mill., *Platanus x acerifolia* (Aiton) Willd. e *Quercus ilex* L.

I risultati del monitoraggio hanno evidenziato che la specie più suscettibile a questo patogeno è la *Gleditsia triacanthos* L. con il 4,60% delle piante osservate attaccate. La meno attaccata risulta essere la *Robinia pseudacacia* L. con lo 0,25%.

Le prove fisiche e meccaniche hanno messo in evidenza che non sono presenti diffuse differenze statisticamente significative tra controllo e materiale inoculato nel caso dei ritiri e dei coefficienti ad essi correlati. Invece la massa volumica al 12% di umidità e la resistenza a compressione assiale si sono dimostrate parametri discriminanti per valutare l'azione del fungo. Le differenze tra inoculo e controllo per queste due caratteristiche sono state combinate in una matrice dalla quale sono state ottenute 3 classi di rischio: *Celtis australis* L., *Acer negundo* L., *Acer campestre* L., *Tilia x vulgaris* Hayne e *Platanus x acerifolia* (Aiton) Willd. sono inserite nella classe di rischio più alta e *Robinia Pseudoacacia* L., *Ulmus minor* Mill. e *Quercus ilex* L. in quella più bassa. La seconda classe di rischio non risulta rappresentata dalle specie studiate.

E' stata inoltre osservata una certa variabilità di comportamento tra i diversi inoculi osservati. Questo aspetto andrebbe approfondito poiché secondo la letteratura esiste una differenza genotipica degli isolati soltanto se confrontati quelli di origine americana con quelli provenienti dal resto dell'areale di diffusione di *Inonotus rickii* (Pat.) Reid.

Con questo lavoro è stata sperimentata una nuova metodologia per discriminare l'azione dei funghi sulle specie legnose, che è risultata ottimale per stabilire un *ranking* di suscettibilità a questo patogeno *in vivo*. Inoltre, rende possibile il confronto quantitativo e non solo qualitativo delle alterazioni patologiche.

Il seguente manoscritto è una versione sostanzialmente definitiva che a breve verrà sottomesso ad una rivista internazionale.

3.2. Manoscritto

Degradation of some technological features in wood of ornamental species due to *Inonotus rickii* (Pat.) Reid

Annesi Tiziana^{1*}, Calienno Luca², Picchio Rodolfo², De Simone Daniele¹, Lo Monaco Angela²

1, Plant Pathology Research Center (CRA-PAV), Agricultural Research Council, Roma, Italy.

2 Department of Agriculture, Forests, Nature and Energy (DAFNE), University of Tuscia, Viterbo, Italy.

*E-mail: tiziana.annesi@entecra.it (for correspondence)

Keywords: *Inonotus rickii* (Pat.) Reid; physical features; axial compression strength; wood decay; urban wood species.

Abstract

This paper has three main aims: to verify by careful monitoring the actual incidence of *Inonotus rickii* (Pat.) Reid in different boulevards of Rome (Italy); to assess the physical and mechanical properties changes on inoculated wood specimens of 9 ornamental tree species; to propose an investigation methodology to set a deterioration ranking of urban wood species.

Thirty-four boulevards are monitored; *Gleditsia triacanthos* L., *Koelreuteria paniculata* Laxm., *Celtis australis* L., *Platanus x acerifolia* (Aiton) Willd. and *Robinia* L. sp. were present.

Same physical and mechanical wood features were studied according to national and international standard. In this phase *Celtis australis* L., *Acer negundo* L., *Acer campestre* L., *Robinia pseudoacacia* L., *Tilia x vulgaris* Hayne, *Ulmus minor* Mill., *Platanus x acerifolia* (Aiton) Willd., *Quercus ilex* L. were studied.

Obtained data were analyzed with ANOVA and M-ANOVA test to check the differences among the specimens set. After a risk matrix is constituted in order to combine the feature that have showed statistical difference between control specimens and inoculated specimens.

The wood species, that have not showed *in vitro* durability to *I. rickii*, are the same that have displayed susceptibility *in vivo*.

1. Introduction

In urban areas trees can give a high number of deeply studied benefits (Nowak and Dwyer 2007; Robles et al. 2010). Unfortunately, the trees are exposed to stress factors, biotic and abiotic, that can cause phytopathological and physiological problems. Pollution, space deficit for growth, absence of nutrients, mechanical injury and artifacts (roads, sidewalks, containing walls...) contribute to decrease the tree's vigor and they also increase the possibility of fungal attacks. All these factors can cause damages to the xylem and can reduce the stability and resistance to break (Robles et al. 2010; Schwarze et al. 2000; Sæbø et al. 2005). The decay does not necessarily signify immediate death of the trees, because the process may be extended for over several years. This happens especially if the damages concern the heartwood, which doesn't influence life processes of the tree. In urban areas the risk of accidents involving people or properties could be important and it is not acceptable (Robles et al. 2011; Terho and Hallaksella 2005).

Inonotus rickii (Pat.) Reid is a basidiomycete (*Hymenomycetes*), *Ptychogaster cubensis* Pat. is the recognized anamorphic state (Gilbertson and Ryvarden 1996; Gottlieb et al. 2002), that can damage the trees in urban areas causing cankers and white rot in several ornamental trees. In Europe the first record of *I. rickii* belongs to Jaquenoud-Steinlin (1985). He studied, *P. cubensis* on *Parkinsonia* L. sp. from Sicily.

Other authors recorded it: on *Schinus molle* L. in Catania (Sicily, Italy) (Intini 1988); on *Celtis australis* L. in Montenegro (Kotlaba and Pouzar 1994); on *Sambucus nigra* L. in Greece (Kotlaba and Pouzar 1994). Intini (2002) and Intini and Tello (2003) reported *P. cubensis* attacking *Acer negundo* L., *C. australis*, *Platanus x hybrida* Brot. and *S. molle* in Spain. *I. rickii* was noted also on *Albizia* Durazz. sp. in France (Pieri and Rivoire 1996). In Portugal Ramos et al. (2008) and Melo et al. (2002) studied it on *C. australis* and on *Sapindus saponaria* L..

Since 2003, *I. rickii* was found in some boulevards in Rome and in Sicily (Italy) on different tree species (Annesi et al. 2003, Annesi et al. 2005, Annesi et al. 2010).

Data, about fungal isolates collected in Rome (De Simone et al. 2011), indicate that they have thermal requirements similar to subtropical and tropical American isolates (Davidson et al. 1942).

Due to these factors, this specie could play an increasingly important role in Europe, especially in view of climate change that are affecting the Mediterranean area (Pautasso et al. 2012)

The contaminated trees can show low vegetative vigour. Advanced infection manifest in tree general decline and mortality as reported by Ramos et al. (2008) on boulevard of *C. australis*. in Portugal and by Mazza et al. (2008) on tree lined of *A. negundo* (107 infected trees out of 887) and *A. julibrissin* (56 out of 224) in Rome.

During these surveys carried out in several areas of Rome, also other tree species were sporadically reported as host of *I. rickii*: *Koelreuteria panicula* Laxm., *Platanus X acerifolia* Willd., *Robinia pseudoacacia*, L. *Gleditsia triacanthos* L. and *C. australis* L. (Mazza et al. 2008, Annesi et al. 2010).

I. rickii is a polyfagous pathogen and it produces both annual basidiomes and conspicuous brown powdery masses of chlamydospores, (anamorphic stage). This behavior favors the spread of the infection on adjacent trees (Annesi et al. 2010). Useful information for tree management activities (tree planting, tree maintenance) could be collected from the knowledge of the potential occurrence of the pathogen on trees species commonly used in urban trees.

Owing to these reasons investigations were carried out with the following aims:

- a) to verify by careful monitoring the actual incidence of *I. rickii* in different boulevards of *K. panicula*, *P. acerifolia*, *Robinia sp*, *G. triacanthos* and *C.australis*,
- b) to assess the physical and mechanical properties changes on inoculated wood specimens of 9 ornamental tree species, hosts and non-hosts of *I. rickii*, in order to evaluate *in vitro* the potential “resistance or susceptibility” of each tested species;
- c) to propose an investigation methodology to set a deterioration ranking of urban wood species.

2 Materials and methods

2.1 Phytopathological monitoring

The surveys were performed on 34 boulevards (Tab. 1) located in several areas of Rome. Observations were conducted from 2008 to 2010.

Table. 1. Number of monitored boulevards and trees for each species.

Wood specie	Number of boulevards	Number of trees
<i>Gleditsia triacanthos</i> L.	5	109
<i>Koelreuteria paniculata</i> Laxm.	1	90
<i>Celtis australis</i> L.	8	395
<i>Platano x acerifolia</i> (Aiton) Willd.	10	450
<i>Robinia</i> L. sp.	10	400

The pathogen's occurrence was evaluated through the fungal structures (anamorphic or teleomorphic) detected on the trees, avoiding to infer dangerous wounds.

Fungal identification was confirmed in laboratory by observing the micro and macro morphological characters of collected specimens or obtained mycelia cultures.

2.2 Test *in vitro*: specimens preparation

The trees used to prepare wood specimens were in good vegetative condition. They were grown at experimental farm of CRA-PAV “Tormancina” located in Municipality of Monterotondo (Rome – Lazio Region – Italy); *Quercus ilex* L. was from Municipality of Bultei (Sassari – Sardinia Region – Italy).

Conforming to international standards UNI 3252 (1987) and UNI 3253 (1952), logs (length 1 m) were made from timbers; boards (width of 10 cm) were made from logs. Bark was not removed as to avoid a rapid loss of moisture. Specimens were obtained both in heartwood and sapwood. After air drying, smaller boards were obtained from boards.

The small boards were stored in a conditioned room at 65 ± 5 % relative humidity and at a temperature of 20°C so as to reach 12% moisture content.

Small boards were processed to obtain clear wood specimens, rectangular prisms (dimensions 20x20x30 mm) according to international standards. The specimens were used for physical and mechanical tests.

They were put in H₂O for 48 hours and eventually they were sterilized by autoclaving at 110° C twice for 2 hours at distance of 24 hours. Before the inoculation, the specimens were dried in oven at 50° C for 4 days.

2.3 Inoculation *in vitro* of specimens

Three isolates of *I. rickii* were obtained from anamorphic fructifications which were collected from diseased trees in Rome, *R. pseudoacacia* (PF62-1), *A. negundo* (PF76-2) and *C. australis* (PF217-3). They were employed to infect wood specimens. Twenty-six plastic sterile containers, with a thin layer of MA agar (Malt Agar), were inoculated. Each one was inoculated with one fungal isolate using a mycelia disc grown on PDA (Potato Dextrose Agar). They were incubated at 28 ± 1 C in the dark; when the mycelium had covered the surface of the agar, a wood specimen was introduced into each pot. Control wood specimens

received identical treatment, but they were not inoculated by *I. rickii* isolates before incubation.

After 5 and /or 10 months of incubation at 28° C, specimens were removed from the containers and also the surface mycelium was gently cleaned off. Specimens were dried in oven at 50° C for 96 hours (Tab. 2).

Table 2. Wood species and times of inoculation.

Wood species	Times of inoculation
<i>C. australis</i>	5 and 10 months
<i>A. negundo</i>	5 and 10 months
<i>A. campestre</i>	5 and 10 months
<i>R. pseudoacacia</i>	10 months
<i>T. vulgaris</i>	10 months
<i>U. minor</i>	10 months
<i>P. acerifolia</i>	10 months
<i>Q. ilex</i>	10 months

2.2 Wood properties

The physical features examined were: wood density (ρ), shrinkages (β) and the related coefficient.

Wood density (g cm^{-3}) at 12% MC (moisture content) was determined according to the UNI/ISO 3131 standard (1985a) (Lo Monaco et al. 2011).

The tangential (β_t), radial (β_r) and volumetric (β_v) shrinkage, of each sample, were calculated according to the UNI/ISO 4469 and UNI/ISO 4858 standards (1985c, 1988), considering the total amount of dimensional variation from the fully swollen to the oven-dry condition. In addition, for each variable measured, the coefficient of shrinkage was calculated (coefficient of tangential shrinkage ($C\beta_t$), coefficient of radial shrinkage ($C\beta_r$) and coefficient of volumetric shrinkage ($C\beta_v$)). These parameters are the shrinkage value when moisture content decreases by 1% below the fiber saturation point and under the assumption of a linear relationship, following Ferreira et al. (2012). Coefficient of shrinkage anisotropy (β_t/β_r) is tangential and radial shrinkage ratio (Giordano, 1981).

Concerning the shrinkage, the standard was modified (UNI/ISO 1985c, UNI/ISO 1988) to obtain more accuracy. We have measured the 4 edges and the middle of the surface for radial and tangential direction. We have measured the 4 edges for the axial direction.

The axial compression strength (σ) was determined on specimens at 12% of moisture content according to UNI/ISO 3787 (1985b).

The number of the specimens for each features and sets were described in tables 3 and 4.

Table 3. Number of samples for 5 months of inoculation.

Treatment	Shrinkages		
	<i>C. australis</i>	<i>A. campestre</i>	<i>A. negundo</i>
Control	13	13	13
PF62-1	13	13	13
PF76-2	13	13	12
PF217-3	13	13	13

Density and axial compression strenght			
	<i>C. australis</i>	<i>A. campestre</i>	<i>A. negundo</i>
Control	13	13	13
PF62-1	15	13	13
PF76-2	15	13	14
PF217-3	7	13	13

Table 4. Number of samples for 10 months of inoculation.

	Shrinkages				Density and axial compression strenght			
	PF62-1	PF76-2	PF217-3	Control	PF62-1	PF76-2	PF217-3	Control
<i>C. australis</i>	9	9	10	10	12	16	15	15
<i>A. campestre</i>	10	10	10	10	15	15	15	13
<i>A. negundo</i>	10	9	9	10	15	14	16	15
<i>R. pseudacacia</i>	9	10	10	9	15	16	16	17
<i>T. X vulgaris</i>	9	10	9	9	17	16	17	17
<i>P. acerifolia</i>	9	8	9	8	17	18	17	17
<i>Q. ilex</i>	9	9	9	10	17	17	17	15

2.3 Statistic analysis

Data were analyzed with the Statistica 2010 advanced statistics software. As a first step, data distribution was plotted and visually checked for normality. Differences between the inoculated specimens and the control wood specimens were checked with the standard paired t-test, with ANOVA and MANOVA analysis. Post-hoc tests were conducted with Tukey HSD test method (Sheskin 2000).

2.4 Risk Matrix

A Risk Matrix is constituted in order to combine density and axial compression strength: these features have showed statistical difference between control specimens and inoculated specimens.

The percentage differences' ranges of single features are divided in 4 classes (minimum 1, maximum 4) and, for each wood species, the class of density is multiplied by class of axial compression strength. In this way, an index was calculated to describe the degradation regarding to density and compression strength.

The minimum value of the matrix is 1 (lower degradation) and the maximum value is 16 (highest degradation). The risk matrix's values were divided in three groups: the first group (values 1-3) the effect of the fungal agent is negligible; the second group (values 4-6) the effect becomes evident; the third group (values 8-16) the effect is considerable (Tab. 5) (Ni et al. 2010).

Table 5. Risk Matrix.

		<u>Axial compression strength</u>			
Classes		1	2	3	4
<u>Density</u>	1	1	2	3	4
	2	2	4	6	8
	3	3	6	9	12
	4	4	8	12	16

3. Results

3.1 Phytopathological monitoring

Fructification of *P. cubensis* were observed in 13 out of 34 surveyed boulevard, on 23 diseased trees (Tab. 6). *G. triacanthos*, *K. paniculata*, and *C. australis* presented the fructification on trunk and/ or on branches; *P. acerifolia* presented the fructification at the base of trunk only. The infected trees showed decline symptoms: dead branches, canker, wounds and cavities.

Table 6. Monitoring results.

Host species	Boulevards number	Infected boulevards number	Total tree	Infected tree number	% infected trees
<i>G. triacanthos</i>	5	3	109	5	4,60%
<i>K. paniculata</i>	1	1	90	4	4,40%
<i>C. australis</i>	8	4	395	8	2%
<i>P. acerifolia</i>	10	4	450	5	1,10%
<i>Robinia sp.</i>	10	1	400	1	0,25%

3.2 Physical and mechanical features

ANOVA and MANOVA analysis and *post hoc* Tukey test were performed in order to highlight the difference between inoculated specimens and control specimens.

The results, after 5 month treatment, put into light that statistically significant differences occasionally are showed for physical and mechanical features (Tab. 7).

Table 7. Analysis of variance of physical and mechanical features after 5 month treatment.

	Shrinkages							Density and axial compression strenght	
	β_r	β_t	β_v	$C\beta_r$	$C\beta_t$	$C\beta_v$	β_t/β_r	σ	ρ
<i>C. australis</i>	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	<0,01	n.s.
<i>A. campestre</i>	<0,05	n.s.	n.s.	<0,01	n.s.	<0,01	n.s.	n.s.	n.s.
<i>A. negundo</i>	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	<0,05	<0,01	n.s.	<0,05	n.s.
<i>T. vulgaris</i>	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

In *Celtis australis* L. there is high statistic significant difference, between inoculated specimens and control specimens, as for the axial compression strength.

In *Acer campestre* L. radial shrinkage and the radial coefficient of shrinkage display statistic significant difference.

In *Acer negundo* L. tangential coefficient of shrinkage, volumetric coefficient of shrinkage and axial compression strength show statistic significant differences. Whereas *Tilia x vulgaris* Hayne does not present these differences.

After 10 month treatment (Tab. 8), physical features show statistic significant difference, between inoculated and control specimens for some species only, and not for all the parameters.

Specifically, all kind of shrinkage, and relative coefficients, show statistic significant differences in *R. pseudacacia*, and in *A. campestre*. In *R. pseudacacia*, statistic significant differences, between inoculated specimens and control specimens, are high regarding to tangential and volumetric shrinkage, and relative coefficients. In *A. campestre* the differences are high as for radial, tangential and volumetric, and relative coefficients.

In *C. australis*, the statistic significant differences are high regarding to radial shrinkage, and relative coefficient, and to coefficient of shrinkage anisotropy.

Regarding to density and axial compression strength, high statistic significant differences, between inoculated specimens and control specimens are revealed with the exception of *R. pseudacacia*, *Q. ilex* and *U. minor*. *R. pseudacacia* and *Q. ilex* do not show statistic significant differences and *U. minor* shows high statistic significant differences only for density.

Therefore, the shrinkages and the relative coefficients are not relevant features, while density and axial compression strength efficaciously show the action of *I. rickii*.

Table 8. Analysis of variance of physical and mechanical features after 10 month treatment.

	Shrinkages							Density and axial compression strenght	
	β_r	β_t	β_v	$C\beta_r$	$C\beta_t$	$C\beta_v$	β_t/β_r	σ	ρ
<i>C. australis</i>	<0,05	n.s.	n.s.	<0,05	n.s.	n.s.	<0,05	<0,01	<0,01
<i>A. campestre</i>	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	n.s.	<0,01	<0,01
<i>A. negundo.</i>	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	<0,01	<0,01
<i>R. pseudacacia</i>	<0,05	<0,01	<0,01	<0,05	<0,01	<0,01	n.s.	n.s.	n.s.
<i>T. vulgaris</i>	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	<0,01	<0,01
<i>U. minor</i>	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	<0,01
<i>P. acerifolia</i>	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	<0,01	<0,01
<i>Q. ilex.</i>	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

In table 9 the percentage differences (delta %) between inoculated and control specimens are showed.

Table 9. Percentage reduction of density and axial compression strength.

	C. <i>australis</i>	A. <i>campestre</i>	A. <i>negundo</i>	R. <i>pseud.</i>	T. <i>vulgaris</i>	U. <i>minor</i>	P. <i>acerifolia</i>	Q. <i>ilex</i>
σ	21%	11%	20%	0%	13%	0%	15%	0%
ρ	16%	10%	9%	0%	9%	7%	11%	0%

After 10 month treatment, the changes of density and axial compression strength give interesting information. With the exception of *R. pseudoacacia* and *Q. ilex*, the investigated species display a high decrease. Regarding to axial compression strength the maximum value of the percentage differences is 11% (*A. campestre*) and the minimum value is 21 % (*C. australis*); as for density, the minimum value is 7 % (*U. minor*) and the maximum one is 16 % (*C. australis*).

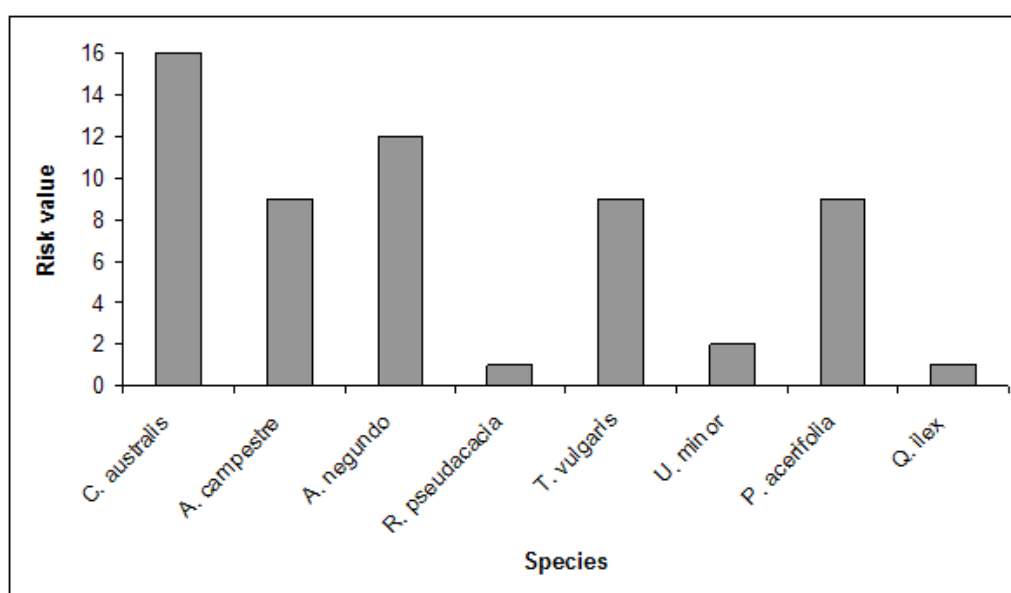


Figure. 1. Risk matrix results.

The density and the axial compression strength are combined in the risk matrix: in Figure 1 the values of risk matrix are showed.

C. australis, *A. campestre*, *A. negundo*, *T. vulgaris* and *P. acerifolia* are in the highest risk group (8-16 points) and *U. minor*, *R. pseudacacia* and *Q. ilex* are in the least high risk group (1-3 points).

In the 10 month treatment specimens, the density and the axial compression strength are analyzed to understand if and how the three isolates show a different way of wood degradation. In table 10 the results of Tukey test are showed.

Tab. 10. Tukey test of three isolates regarding to axial compression strength and density.

<i>C. australis</i>						
	Units of measurement	Control	PF62-1	PF76-2	PF217-3	P-value
σ	MPa	70,30 c	56,72 b	59,65 b	49,43 a	<0,01
ρ	g/cm ³	0,769 c	0,659 b	0,662 b	0,619 a	<0,01
<i>A. campestris</i>						
	Units of measurement	Control	PF62-1	PF76-2	PF217-3	P-value
σ	MPa	64,28 a	60,57 a,b	54,23 c	56,27 b,c	<0,01
ρ	g/cm ³	0,671 c	0,635 b	0,592 a	0,595 a	<0,01
<i>A. negundo</i>						
	Units of measurement	Control	PF62-1	PF76-2	PF217-3	P-value
σ	MPa	59,34 c	44,51 a	48,48 b	48,58 b	<0,01
ρ	g/cm ³	0,611 b	0,558 a	0,569 a	0,536 a	<0,01
<i>R. pseudoacacia</i>						
	Units of measurement	Control	PF62-1	PF76-2	PF217-3	P-value
σ	MPa			90,38		>0,05
ρ	g/cm ³			0,838		>0,05
<i>T. vulgaris</i>						
	Units of measurement	Control	PF62-1	PF76-2	PF217-3	P-value
σ	MPa	42,78 a	35,29 c	36,53 b,c	38,97 b	<0,01
ρ	g/cm ³	0,439 c	0,383 a	0,398 a,b	0,414 b	<0,01
<i>U. minor</i>						
	Units of measurement	Control	PF62-1	PF76-2	PF217-3	P-value
σ	MPa		61,32 ± 7,20			>0,05
ρ	g/cm ³	0,710 b	0,672 b	0,689 b	0,627 a	<0,01
<i>P. acerifolia</i>						
	Units of measurement	Control	PF62-1	PF76-2	PF217-3	P-value
σ	MPa	49,15 b	40,03 a	43,09 a	41,75 a	<0,01
ρ	g/cm ³	0,652 b	0,587 a	0,588 a	0,575 a	<0,01
<i>Q. ilex</i>						
	Units of measurement	Control	PF62-1	PF76-2	PF217-3	P-value
σ	MPa		74,28 ± 6,18			>0,05
ρ	g/cm ³		0,783 ± 0,04			

In the majority of studied species, the three isolates have showed a decrease in relation to its control in density and axial compression strength. Different behaviours are sometimes noted among the three isolates: this is evident in *C. australis*, *A. campestris*, *A. negundo*, *U. minor* and *T. vulgaris*.

Concerning *U. minor* only isolate PF217-3 shows statistic significant differences for density.

4. Discussion and conclusions

The fungi *Basidiomycetes* as *I. rickii*, are characterized by their ability to degrade concurrently lignin, hemicellulose and cellulose (Martínez et al. 2005). These polymers influence mechanical characteristics of the wood: the lignin influences the axial compression strength (Giordano 1981).

The considerable statistically significant decrease in density and in compressive strength is confirmed by other works in literature, regarding to various species of brown and white rot fungal agents found in various tree species. The physical, chemical and morphological wood changes, due to the work of agents of caries, can be accompanied by a decrease of the mechanical properties (Smith and Graham 1983; Green III and Highley 1997; Curling et al. 2002; Clausen and Kartal 2003; Yang et al. 2010; Bouslimi et al. 2014). The brown rots are the most investigated in Literature and all studied species cause a loss of resistance to axial compression and to a decrease of the density (Winandy and Morrell 1993; Curling et al. 2002; Clausen and Kartal 2003; Silva Pereira et al. 2006; da Silva et al. 2007).

The decrease of mechanical features is mainly due to the alteration of the polymers of the cell wall.

In fact, many studies were conducted to relate these aspects: Winandy and Morrell (1993) have demonstrated the relationship between the degradation of hemicellulose and the decrease of compression strength.

Even the weight loss appears to be related to the decrease of compressive strength: Smith and Graham (1983) demonstrate this statement in *Pseudotsuga menziesii* Franco carried out by *Postia placenta* (Fr.) MJ Larsen & Lombard.

This agent of white rot only occasionally led to a significant change in shrinkage, in relation to the control. Tsoumis (1991) confirmed that white rot does not cause considerable variation of shrinkages in relation to control.

Density, in place of the weigh decrease, allows a rapid comparison of behavior of fungi that alters wood: this comparison is quantitative and not only qualitative.

Tests have allowed to understand that density and resistance to axial compression point out high statistic significant differences between inoculated specimens and control specimens.

Density and axial compression strength are features that display high statistic significant differences: they are parameters that point out the wood degradation due to *Inonotus rickii* (Pat.) Reid. Therefore a risk matrix was created to establish, *in vitro*, a degradation ranking among the wood species.

Data show that *C. australis*, *A. negundo*, *P. acerifolia*, *A. campestre*, e *T. vulgaris* are in the highest risk group. Although *in vitro* wood decay tests doesn't give a definitive evidence of

the degradative action of fungus on living trees, they are useful to define the potential risk (Baietto and Wilson 2010). Anyway, results of surveys carried out in this, and in previous studies in Italy (Annesi et. al 2005; Mazza et al. 2008), in Europe (Intini 2002; Intini and Tello 2003; Ramos 2008) and in Argentina (Robles et al. 2011) support these results. In fact *A. negundo*, *C. australis* e *P. acerifolia* are more frequently recorded hosts in urban boulevard.

References

- Annesi, T.; Coppola, R.; D'Amico, L.; Motta, E., (2005) First report of *Aberia caffra* and *Quercus cerris* as hosts of *Inonotus rickii*. Plant disease 89, 107.
- Annesi, T.; Coppola, R.; Motta, E., 2003: Decay and canker caused by *Inonotus rickii* spreading on more urban tree species. Forest Pathol. 33 (6), 405-412.
- Annesi, T.; D'Amico, L.; Bressanin, D.; Motta, E.; Mazza, G., 2010: Characterization of Italian isolates of *Inonotus rickii*. Phytopathol. Mediterr. 49, 301–308.
- Baietto, M; Wilson, D. A., 2010: Relative in vitro wood decay resistance of sapwood from landscape trees of southern temperate regions. HortScience 45(3), 401-408.
- Bouslimi, B.; Koubaa, A.; Bergeron, Y., 2014: Effects of biodegradation by brown-rot decay on selected wood properties in eastern white cedar (*Thuja occidentalis* L.). Int. Biodeterior. Biodegrad. 87, 87-98.
- Curling, S. F.; Clausen, C. A.; Winandy J. E., 2002: Relationships between mechanical properties, weight loss, and chemical composition of wood during incipient brown-rot decay. For. Prod. J. 52, 34-39.
- da Silva, C. A.; Monteiro, M. B. B.; Brazolin S.; Lopez G. A. C.; Richter A.; Braga M. R., 2007: Biodeterioration of brazilwood *Caesalpinia echinata* Lam. (Leguminosae-Caesalpinioideae) by rot fungi and termites. Int. Biodeterior. Biodegrad. 60, 285-292.
- Davidson, R. W.; Campbell, W. A.; Weber, G. F., 1942: *Ptychogaster cubensis*, a wood-decaying fungus of southern oaks and waxmyrtle. Mycologia 34: 142–153.
- De Simone, D.; D'Amico, L.; Bressanin, D.; Motta E.; Annesi T., 2011: Molecular characterization of *Inonotus rickii* / *Ptychogaster cubensis* isolates from different geographic provenances. Mycol. Prog. 10(3): 301-306.

- Ferreira, R. C.; Lo Monaco, A.; Picchio, R.; Schirone, A.; Vessella, F.; Schirone, B., 2012: Wood Anatomy and Technological Properties of an Endangered Species: *Picconia azorica* (Oleaceae). IAWA J. 33: 375–90.
- Gilbertson, R. L.; Ryvarden L., 1996: North American Polypores. Fungiflora, Oslo.
- Giordano G., 1981: Tecnologia del legno vol. 1. UTET, Torino.
- Gottlieb, A. M.; Wright J. E.; Moncalvo J.-M., 2002: *Inonotus* s.l. in Argentina – Morphology, cultural characters and molecular analyses. Mycol. Prog. 1, 299–313.
- Green III, F.; Highley, T. L., 1997: Mechanism of brown-rot decay: paradigm or paradox. Int. Biodeterior. Biodegrad. 39, 113-124.
- Intini, M. G., 1988: Contributo alla conoscenza dei funghi lignicoli italiani: *Inonotus rickii* (Pat.) Reid. Micologia Italiana 17, 49-53.
- Intini, M., 2002: First report of *Inonotus rickii* causing canker rot on boxelder in Europe. Plant Dis. 86, p. 922.
- Intini, M.; Tello M. L., 2003: Investigaciones sobre hongos xilófagos de árboles urbanos en Europa: primera cita de *Inonotus rickii* (Pa.) Reid en España (Researches on xylophagous fungi of urban trees in Europe: first cite of *Inonotus rickii* (Pat.) Reid in Spain). Bol. San. Veg. Plagas 29, 277–279 (in Spanish).
- Jaquenoud-Steinlin, M., 1985: *Inonotus rickii*, un polypore nouveau pour la flore européenne. Mycol. Helv. 1, 371-391.
- Kotlaba, F.; Pouzar Z., 1994: Two new localities of *Inonotus rickii* in Europe. Czech Mycologia 47, 159-161.
- Lo Monaco, A.; Todaro, L.; Sarlatto, M.; Spina, R.; Calienno, L.; Picchio, R., 2011: Effect of moisture on physical parameters of timber from Turkey oak (*Quercus cerris* L.) coppice in Central Italy. For. Stud. China, 13(4): 276–284.
- Martínez, Á. T.; Speranza, M.; Ruiz-Dueñas, F. J.; Ferreira, P.; Camarero, S.; Guillén, F.; Martínez, M. J.; Gutiérrez, A.; Del Río, J. C., 2005: Biodegradation of lignocellulosics: Microbial, chemical, and enzymatic aspects of the fungal attack of lignin. International Microbiology 8(3): 195-204.
- Mazza, G.; Moriondo, M.; Motta, E.; Annesi, T., 2008: Monitoraggio fitopatologico di *Inonotus rickii* nella città di Roma e applicazioni GPS-GIS. Forest@ 5: 160-170.
- Melo, I.; Ramos, P.; Caetano, M. F. F., 2002: First record of *Inonotus rickii* (Basidiomycetes, Hymenochaetaceae) in Portugal. Port. Acta Biol. 20: 265-269.
- Ni, H.; Chena, A.; Chenc, N., 2010: Some extensions on risk matrix approach, Safety Sci. 48, 1269–1278.

- Nowak, D.J.; Dwyer, J.F., 2007: Understanding the benefits and costs of urban forest ecosystems. In: Urban and Community Forestry in the Northeast, 2nd ed. Ed. by Kuser, J.E.; Springer, Netherlands. 25–46.
- Pautasso, M.; Döring, T. F.; Garbelotto, M.; Pellis, L.; Jeger, M. J., 2012: Impacts of climate change on plant diseases—opinions and trends. Eur J Plant Pathol 133:295–313
- Pieri, M.; Rivoire, B., 1996: À propos de quelques polypores (*Aphyllphoromycetideae*) rares ou critiques récoltes récemment – I. Bull. Soc. Mycol. France 112: 163-187.
- Ramos, P.; Caetano, M. F. F., Melo I., 2008: *Inonotus rickii* (Pat.) Reid: an important lignicolous Basidiomycete in urban trees. Revista de Ciências Agrárias 31: 159–167.
- Robles, C. A.; Carmarán, C. C.; Lopez, S. E., 2011: Screening of xylophagous fungi associated with *Platanus acerifolia* in urban landscapes: Biodiversity and potential biodeterioration. Landscape Urban Plan. 100, 129–135.
- Sæbø, A.; Borzan, Ž.; Ducatillion, C.; Hatzistathis, A.; Lagerström, T.; Supuka, J.; Garcia-Valdecantos, L.; Rego, F.; Van Slycken, J., 2005: The selection of plant materials for street trees parks trees and urban woodland. In: Urban Forests and Trees: A Reference Book. Ed. by Konijnendijk, C. C.; Nilsson, K.; Randrup, T. B.; Schipperijn, J.; Springer, Heidelberg. 257–280.
- Schwarze, F. W. M. R.; Engels, J.; Mattheck, C., 2000: Fungal Strategies of Wood Decay in Trees. New York, Springer.
- Sheskin, D. J., 2000: Handbook of Parametric and Nonparametric Statistical Procedures. 2nd edn. London: Chapman & Hall/ CRC, 982.
- Silva Pereira, C. M.; Soares, G. A.; Oliveira, A. C.; Rosa M. E.; Pereira H.; Moreno N.; Vitória San Romão M., 2006: Effect of fungal colonization on mechanical performance of cork. Int. Biodeterior. Biodegrad. 57, 244-250.
- Smith, S. M.; Graham, R. D., 1983: Relationship between early decay and radial compression strength of Douglas-fir. For. Prod. J. 33, 49-52.
- Terho, M.; Hallaksella, A.-M., 2005: Potential hazard characteristics of Tilia, Betula, and Acer trees removed in the Helsinki City Area during 2001–2003. Urban For. Urban. Green 3(2), 113–120.
- Tsoumis, G., 1991: Science and technology of wood. Structure, properties, utilization. New York : Chapman & Hall.

- UNI (Ente Nazionale Italiano di Unificazione), 1952: 3253 - Prove sul legno - Condizionatura. Milano, UNI.
- UNI (Ente Nazionale Italiano di Unificazione), 1987: 3252 - Legno - condizioni generali per la prove fisiche e meccaniche. Milano, UNI.
- UNI/ISO (Ente Nazionale Italiano di Unificazione / International Organization for Standardization) 1985a: 3131 - Legno. Determinazione della massa volumica per le prove fisiche e meccaniche. Milano, UNI/ISO.
- UNI/ISO (Ente Nazionale Italiano di Unificazione / International Organization for Standardization) 1985b: 3787 - Legno. Metodi di prova. Determinazione della resistenza a compressione parallela alla fibratura. Milano, UNI/ISO.
- UNI/ISO (Ente Nazionale Italiano di Unificazione / International Organization for Standardization) 1985c: 4469 - Legno: determinazione del ritiro radiale e tangenziale. Milano, UNI/ISO.
- UNI/ISO (Ente Nazionale Italiano di Unificazione / International Organization for Standardization) 1988: 4858 - Legno: determinazione del ritiro volumetrico. Milano, UNI/ISO.
- Winandy, J. E.; Morrell, J. J., 1993: Relationship between incipient decay, strength, and chemical composition of Douglas-fir heartwood. *Wood Fiber Sci.* 25, 278-288.
- Yang, Z.; Ren, H. Q.; Jiang, Z. H., 2010: Effects of biological decay on mechanical properties of slash pine wood. *J. Beijing Forestry Univ.* 32, 146-149.

4. Light-induced color changes and chemical modification of treated and untreated chestnut wood surface

4.1 Premessa

Studiare le modifiche alle quali sono sottoposti campioni di *Castanea sativa* Mill. esposti a radiazione luminosa in ambiente artificiale è l'obiettivo di questo lavoro. Sono stati messi a confronto campioni trattati con una sostanza preservante Linfoil® diluito con Linfosolv® in rapporto 1:1. Questi preparati sono prodotti dalla società GEAL (Comune di Agliana, Provincia di Pistoia).

Nei beni culturali il legno è stato utilizzato ampiamente sia per componenti strutturali, sia per pannelli, statue ed arredamenti. *Castanea sativa* Mill. è stato generalmente utilizzato per manufatti con superfici legnose esposte all'esterno grazie alla presenza di estrattivi che, da un lato, forniscono un colore piacevole e, dall'altro, possono agire come un preservante naturale contro l'azione degli agenti biotici e abiotici.

Per questo motivo lo studio delle variazioni superficiali del legno esposto a radiazione luminosa può essere importante sia per capire i meccanismi che ne sono la causa, sia per individuare possibili soluzioni a queste forme di degrado.

I campioni sono stati esposti a radiazione luminosa in ambiente artificiale all'interno di un Solar Box (Erichsen Instruments) per intervalli di tempo variabili da 0 a 504 ore.

Il colore è stato misurato con un spettrofotometro di riflettanza (X-Rite CA22) con il metodo CIE-L*a*b* 1976. Sono state considerate le variazioni delle singole componenti (ΔL^* , Δa^* e Δb^*) e la variazione totale di colore (ΔE^*) secondo le norme di riferimento.

Sono state prese misure ai seguenti intervalli: 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 216, 312, 408, e 504 ore. Sono stati considerati 90 punti di misura per il legno non trattato e 90 punti per il legno trattato. Ogni punto, ad ogni intervallo è stato misurato per 3 volte.

Le alterazioni delle componenti chimiche delle superfici legnose sono state valutate con uno spettrometro infrarossi a trasformata di Fourier FT-IR (Nicolet Avatar 360). Gli spettri ottenuti sono stati elaborati con il *software* OMNIC 8.0 (Thermo Electron Corporation).

Sono stati utilizzati campioni di forma circolare con un diametro di 1 cm e spessore 2 mm e gli spettri sono stati effettuati in modalità DRIFT secondo quanto riportato in letteratura. Sono stati utilizzati gli stessi intervalli di tempo utilizzati per lo studio del colore.

I dati ottenuti sono stati sottoposti ad elaborazioni statistiche con il *software* Statistica 2010. Le differenze tra i tipi di trattamento sono state valutate attraverso l'analisi della varianza

(ANOVA e M-ANOVA) e successivamente è stato applicato il Tukey test. Sono state ottenute le regressioni per quanto riguarda l'andamento del colore in funzione del tempo, discriminando l'azione del Linfoil® attraverso una variabile “*Dummy*” (Picchio *et al.*, 2012).

Le più grandi variazioni di colore sono state osservate nelle prime 24 ore e sono dovute principalmente alla diminuzione della componente L* ed alla crescita della componente b*. Inoltre i campioni trattati con Linfoil® hanno mostrato cambiamenti minori.

La spettroscopia infrarossa ha permesso di investigare il grado di fotodegradazione della superficie legnosa dovuta all'ossidazione del legno. Il rapporto lignina/carboidrati (I_{1507}/I_{1377}) decresce durante tutto il periodo di studio e si osserva una diminuzione del 50% durante le prime 168 ore di esposizione.

Le componenti colorimetriche L*, a* e b* possono essere collegate alla fotodegradazione della lignina osservata con la spettroscopia infrarossa. L'approfondimento di questo aspetto e la ricerca di relazioni matematiche che possano mettere in relazione colore ed quantitativo di composti chimici del legno devono essere approfonditi con studi futuri.

Nella gestione e conservazione di manufatti lignei, anche nell'ambito dei beni culturali, le relazioni tra fotodegradazione e colore potrebbero assumere una valenza particolare. Infatti l'utilizzo del colore quale dato utile per individuare il livello di alterazione chimica della superficie del legno sarebbe auspicabile per una maggiore semplicità ed economicità.

Un altro aspetto da approfondire è il ruolo degli estrattivi presenti su *Castanea sativa* Mill. per capire come questi componenti possano agire come protettivi naturali.

Questo lavoro è stato presentato in versione preliminare alla “*10th Biennial International Conference Of The Infrared And Raman Users Group*” (IRUG10) a Barcellona (Spagna) (28-31 marzo 2012) e, ad oggi, risulta accettato ed in pubblicazione sulla rivista internazionale “*Studies in Conservation*”. Di seguito viene allegato il manoscritto dell'articolo.

4.2. Manoscritto

Light-induced color changes and chemical modification of treated and untreated chestnut wood surface

Luca Calienno¹, Claudia Pelosi², Rodolfo Picchio¹, Giorgia Agresti², Ulderico Santamaria², Federica Balletti¹, Angela Lo Monaco¹

¹Department of Agriculture, Forests, Nature and Energy (DAFNE), University of Tuscia, Viterbo, Italy,

²Department of Cultural Heritage Sciences (DISBEC), University of Tuscia, Viterbo, Italy

Correspondence to: Claudia Pelosi, Department of Cultural Heritage Sciences (DISBEC), University of Tuscia, Largo dell'Università, 01100 Viterbo, Italy. Email: pelosi@unitus.it

Keywords: Wood, Conservation, Photo-degradation, Fourier transform infrared spectroscopy, Reflectance spectrophotometry.

Abstract

The aim of this work is to study the surface modifications of chestnut (*Castanea sativa* Mill.) wood by reflectance spectrophotometry and Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) in order to understand the mechanisms that cause changes and to suggest possible solutions to avoid degradation phenomena.

The experimental data were statistically treated to evaluate their significance. Concerning the surface protection of wood, starting from the results obtained by testing different commercial products, attention was focused on a novel organic preservative/consolidant product (Linfoil®) that has attracted great interest in the field of conservation of wooden artifacts. Color monitoring showed that wood surface color undergoes an important variation due to photo-irradiation, occurring within the first 24 hours and mainly due to L* decrease and b* increase. Though the protective treatment modifies wood color, nevertheless the product tested seems to protect the wood surface by reducing photoyellowing. FTIR analysis indicated that irradiation caused the degradation of lignin and increased the concentration of the chromophore groups on the wood surface. Changes in the chromatic coordinates can be linked to the degradation of lignin and to increase of the concentration of carbonyl groups.

Introduction

Wood, a composite of cellulose, hemicellulose, lignin, and extractives, is commonly used as an engineering and structural material. The esthetic beauty of wood is obvious, as seen in its extensive use for veneers, floorings, frames, and furniture. In cultural heritage wood has been widely used since ancient times, both as a structural building component and as a material for panels, statues, and furniture (Agresti *et al.*, 2010). As a consequence, the study of wood surface variations can be important both for understanding mechanisms that cause changes and for suggesting possible solutions to avoid degradation phenomena.

In fact, unprotected wood exposed to outdoor conditions undergoes a variety of degradation reactions induced by diverse factors such as light, moisture, heat, oxygen, and pollutants, causing chemical and color changes of wood surfaces (Tolvaj & Faix, 1995; Pandey & Pitman, 2003; Pandey, 2005a).

Surface treatments, carried out in order to protect wood objects from these factors, modify color

(Unger *et al.*, 2001). Moreover, regarding treated surfaces, color changes due to sunlight exposure will depend on both wood and the product used for its treatment (Biscontin *et al.*, 2009; Genco *et al.*, 2009, 2011; Crisci *et al.*, 2010; Lo Monaco *et al.*, 2011a, 2011b). Color change seems to be the most sensitive quality for determining the extent of photodegradation of untreated and treated wood exposed to ultraviolet and visible radiation (Sharratt *et al.*, 2009), although other indicators such as strength loss and weight changes can also be used (Derbyshire *et al.*, 1995; Evans, 1998). Furthermore, for cultural heritage the monitoring of wood surfaces exposed to sunlight radiation should be performed through non-destructive methods to avoid the paradox of damaging a work of art while monitoring its preservation state (Marengo *et al.*, 2003, 2004).

Starting from these general remarks, in this paper color and chemical modifications of chestnut wood (*Castanea sativa* Mill.) due to artificial aging were examined. The choice of chestnut was due to its wide use in Central Italy, especially for the construction of doors. Moreover, chestnut wood has not been studied before by the methodology presented in this paper. Chestnut was generally employed for the outer surface of the doors due to the properties of its heartwood. In fact, chestnut heartwood contains extractives that give it a pleasant color and a natural durability with regard to biotic and abiotic agents. A novel preservative/consolidant product, based on natural sources, was used to treat the wooden samples. This product, named Linfoil® (GEAL Via Settola 121, Agliana (Pistoia), Italy), is

attracting an increasing interest by conservators for the treatment of wooden objects (Lo Monaco *et al.*, 2011a, 2011b). In Viterbo, for example, the doors of Palazzo dei Mercanti and of Santa Maria della Salute are made of chestnut wood and recently they were treated with Linfoil® by a conservator based on experimental tests made on the product and reported in this paper (by private communication of the conservator).

Color measurements were chosen as a possible method to evaluate wood surface changes. Since color changes on wood surfaces are due to photodegradation of its chemical constituents, the study of the CIELAB color changes and changes in chemical composition due to irradiation is of practical importance both for cultural heritage and for contemporary artifacts and objects.

The chemical modifications of wood constituents caused by irradiation were examined by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) analysis (Kataoka & Kiguchi, 2001; Moore & Owen, 2001; Pandey, 2005a; Tolvaj *et al.*, 2011; Agresti *et al.*, 2013). The relative changes in intensities of spectral bands associated with lignin and carbohydrates as a result of deterioration were determined at different exposure times.

In this work, the authors test a simple method to rapidly check the performance of a commercial product on chestnut wood, to support the work of the conservator on real case studies.

Experimental

Sample preparation

Flat wood samples (23 cm length, 5 cm width and 2 cm thickness) were obtained by a board of chestnut, cut in the heartwood. After cutting, the samples were stored in darkness in a conditioned room at 65% relative humidity and a temperature of 22°C to reach 12% moisture content (Lo Monaco *et al.*, 2011c). The radial surface was used for the measurements.

Half of the samples were treated with a novel commercial product named Linfoil®, a mixture of vegetable oils, resins, and waxes in aliphatic solvent, produced by GEAL (Agliana, Pistoia, Italy). Linfoil® was diluted with Linfosolv® (1:1 volume ratio), a solvent system made of a mixture of refined paraffinic aliphatic derivatives and extracts from citrus; then three coatings of the solution were applied to the wood samples by brush. Linfoil® was previously characterized and tested for aging characteristics (Pelosi *et al.*, 2013).

Artificial aging

Accelerated aging of the samples was performed in a Model 1500E Solar Box (Erichsen Instruments). The system is equipped with a 2.5-kW xenon-arc lamp and an UV filter that cuts off the spectrum at 280 nm. The samples were exposed in the Solar Box chamber from 0 to 504 h at 550 W/m², 55°C and the UV filter at 280 nm. The experimental conditions were chosen following the specifications supplied by Erichsen, in order to simulate outdoor light exposure. Inside the Solar Box chamber relative humidity was constant and determined by the irradiation conditions. Relative humidity was monitored by a data logger positioned inside the Solar Box.

Color monitoring

After exposure for a given length of time, the samples were removed from the Solar Box chamber and the color was measured using an X-Rite CA22 reflectance spectrophotometer, generally employed in wood technology and cultural heritage studies to evaluate color changes after conservation and treatment operations (Crisci *et al.*, 2010; Genco *et al.*, 2011; Ferreira *et al.*, 2012). The characteristics of the color measuring instrument are as follows: color scale CIEL*a*b*; illuminant D65; standard observer 10°; geometry of measurement 45°/0°; spectral range 400–700 nm; spectral resolution 10 nm; measurement diameter 4 mm; white reference supplied with the instrument. The CIELAB color system was used where L* describes the lightness while a* and b* describe the chromatic coordinates on the green-red and blueyellow axes, respectively. The differences in lightness (ΔL^*), chromatic coordinates (Δa^* and Δb^*), and total color (ΔE^*) were then calculated using these parameters according to Normal 43/93 (1993) and EN 15886 (2010). The total color difference, ΔE^* , between two measurements (L^*_1 a^*_1 b^*_1 and L^*_2 a^*_2 b^*_2) is the geometrical distance between their positions in CIELAB color space. It is calculated using the following equation: $\Delta E^*_{2,1} = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2}$.

Measurements were taken at the following intervals: 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 216, 312, 408, and 504 hours. To guarantee that successive measurements were made in the same area, a graduated mask was used.

Concerning wood samples, 180 color measuring points were chosen: 90 for the untreated and 90 for Chestnut wood surface modifications by reflectance spectrophotometry and FTIR Linfoil®-treated wood samples. Three measures for each point were performed, according to Normal 14/83, so that 540 measurements were taken at each exposure time, then average values and standard deviations were calculated.

Fourier transform infrared spectroscopy

Infrared spectra were obtained using a Nicolet Avatar 360 Fourier transform spectrometer. For each sample, 128 scans were recorded in the 4000–400 cm^{-1} spectral range in diffuse reflection modality (DRIFT) with a resolution of 4 cm^{-1} . Spectral data were collected with OMNIC 8.0 (Thermo Electron Corporation) software.

Slices with a size of 10 mm (diameter) $\times$ 2 mm (thickness) were used. Spectra were measured in DRIFT mode. The diameter of the wood slices was suitable for the FTIR diffuse reflectance accessory unit. As background, the spectrum of the KBr powder was used. Peak heights were measured using OMNIC software according to the method describe in the literature (Pandey & Pitman, 2003).

Statistical analysis

Data were analyzed with the Statistica 2010 advanced statistics software. As a first step, data distribution was plotted and visually checked for normality. Differences between treatments were checked with the standard paired t-test, with analysis of variance and multivariate analysis of variance. Post hoc tests were conducted with Tukey HSD test method. In the regression analysis for the color coordinates as function of exposure times, the two sets (untreated and treated) were considered and calculated as statistical dummy variables to develop prediction models (Picchio *et al.*, 2012).

Results and discussion

Color changes of wood samples

Firstly, it must be emphasized that wood color will show high variability, in spite of the fact that

samples were obtained from a single board to reduce material variability, as observed in previously published papers (Lo Monaco *et al.*, 2011a, 2011b). For this reason, it was necessary to perform many measurements, 540 at each exposure time (270 for the treated and 270 for the untreated samples), in order to quantify and account for this variability and to statistically validate the experimental data. Multivariate analysis of variance and Tukey tests, applied to 504 hours of irradiation, highlight that L^* , a^* , and b^* undergo statistically significant changes after the exposure times both for untreated and treated samples (Table 1).

The regression analysis, applied to the chromatic coordinates as a function of the exposure time, showed the statistical validity for the two set of samples (untreated and treated) by considering L^* , a^* , and b^* as dummy variables (Table 2 and Fig. 1).

As can be observed in the Table 1 and Fig. 1, wood color varies with exposure time; in particular, lightness (L^*) values decrease markedly, whereas the chromaticity parameters a^* and b^* increase, as found also by other authors (Pandey, 2005a; Sharratt *et al.*, 2009; Tolvaj & Mitsui, 2010).

The data reported in Table 1 show that L^* value decreases from 76.7 to 62.7, the a^* coordinate increases from 6.2 to 9.4, reaching an almost constant value after 72 hours of exposure and the b^* value increases much more rapidly than a^* (from 19.1 to 28.2 within the first 24 hours) attaining an almost constant value after 48 hours of irradiation. To better appreciate the changes, a bar diagram of the difference values (ΔL^* , Δa^* , and Δb^*) at some chosen exposure times is also shown in Fig. 2. Both Δa^* and Δb^* increase, correlating to increasing yellow and red coloration, with the rise in yellow (b^* coordinate) being the greatest change. Δa^* and Δb^* changes begin to reverse after 312 hours toward the 504 hours (Fig. 2). The reversal of color change can be attributed to the beginning of a photo-bleaching reaction, as suggested by some authors (Sharratt *et al.*, 2009). In general, it is possible to state that the greatest change occurs within the first 24 hours of exposure and around the 470 nm ($\Delta R\% = -20.3$) and 560 nm ($\Delta R\% = -20.2$) wavelengths which correspond to blue and green shades, respectively, as deduced by the reflectance spectra (Fig. 3). This correlates to an increase in yellow/red coloring and is in agreement with an increase of a^* and b^* coordinates.

Concerning the treated wood, it has been found that Linfoil® treatment causes a darkening and a photoyellowing of wood surface, as demonstrated by the variations in the chromatic coordinates ($\Delta L^* = -13.97$, $\Delta a^* = 3.12$, $\Delta b^* = 15.41$, $\Delta E^* = 21.03$).

Also in the treated samples, the color varies with exposure time (see Table 1, Figs. 1 and 2). In particular, L^* values decrease from 62.7 to 55.0, whereas the chromaticity parameters a^* and b^* increase from 9.35 to 13.26 and from 34.5 to 37.1, respectively. Nevertheless, the changes are much lower than those observed for the untreated samples, especially for the b^* coordinate whose values decrease before 72 hours of exposure and increase after this time (Fig. 2).

The greatest change in the reflectance spectra occurs around the 580 nm ($\Delta R\% = -9.24$) wavelength which corresponds to green/yellow shade, as deduced by the reflectance spectra (Fig. 4). Nevertheless, it must be stressed that the reflectance changes due to exposure are much lower in the treated samples with respect to untreated ones.

Tab. 1. Averages of chromatic coordinates at different time of exposure in Solar Box for untreated (UT) and Linfoil®-treated (T).

Chestnut UT							Chestnut T						
Time (hours)	L*	HSD	a*	HSD	b*	HSD	Time (hours)	L*	HSD	a*	HSD	b*	HSD
0	76.7	a	6.2	o,n	19.1	r	0	62.7	d,c	9.4	h,g	34.5	d
1	74.0	b	6.1	o	19.2	r	1	63.4	b,a	9.2	i,h	32.0	i,h
2	74.4	b	6.4	n	21.1	q	2	63.5	b,a	9.1	l,i	31.7	l,i
3	73.1	c	6.4	n	21.8	p	3	63.6	b,a	9.0	m,l,i	30.9	p,o,n
4	72.4	d	6.7	m	24.1	o	4	63.2	c,b,a	8.9	m,l	30.5	q
5	71.1	e	6.7	m	24.1	o	5	63.6	b,a	8.8	n,m,l	30.6	q,p
6	70.1	f	6.7	m	24.1	o	6	63.5	b,a	8.8	n,m	30.6	q,p
7	70.5	f	6.9	m,l	25.4	l	7	63.8	a	8.9	n,m,l	30.6	q,p,o
8	69.0	g	6.7	m	24.7	n	8	63.5	b,a	8.8	n,m	30.4	q
9	68.6	h,g	6.8	m,l	25.1	m	9	63.6	b,a	8.8	n,m	30.6	q,p
10	68.0	i	6.8	m,l	25.2	m,l	10	63.7	a	8.8	n,m	30.6	q,p
11	70.2	f	7.1	i	27.6	h	11	63.6	b,a	8.8	n,m	30.6	q,p
12	68.4	i,h	7.0	l,i	26.6	i	12	63.4	b,a	8.6	n	31.0	n
24	66.5	l	7.6	h	28.2	g	24	63.1	c,b	8.6	n	30.8	p,o,n
48	64.4	q,p	8.2	g	29.1	e	48	62.8	c	8.9	m,l	31.3	m
72	65.7	m	9.1	e	31.7	b	72	62.3	e,d	9.1	l,i	31.5	m,l
96	65.3	n,m	9.1	e	31.6	b	96	61.8	f,e	9.5	h,g	32.4	g
120	64.2	r,q,p	8.8	f	30.6	c	120	61.2	g	9.5	g	32.1	h
144	64.7	p,o	9.4	d	31.7	b	144	61.3	g,f	9.8	f	32.7	g
168	64.9	o,n	10.0	c	32.5	a	168	60.5	h	10.3	e	33.7	f
216	64.1	r,q	10.7	b	32.5	a	216	59.3	i	10.8	d	34.1	e
312	63.9	r,q	11.0	a	32.5	a	312	58.6	l	11.8	c	36.1	c
408	63.9	r	10.0	c	30.0	d	408	57.1	m	12.4	b	36.5	b
504	62.7	s	9.4	d	28.6	f	504	55.0	n	13.3	a	37.1	a

*Multivariate analysis of variance test shows highly significant differences of the colorimetric parameters at different exposure times. Different letters indicate statistical differences (Tukey test, $\alpha=0.01$).

The minor color changes of Linfoil®-treated samples could be attributed to a protective effect of this compound.

The analysis of Linfoil® by FTIR spectroscopy and analytical pyrolysis coupled to a gas chromatographic mass spectrometric system (Pelosi et al., 2013) demonstrated that it is composed of alkyd resins and additives, and that it exhibits high stability and resistance to photodegradation, in accordance with the findings by other authors for alkyd resin composite (Peng, 2012).

By analyzing the obtained results, it is possible to deduce that the rapid decrease of lightness observed for the untreated wood samples within the first 24 hours of exposure can be ascribed to photodegradation processes. The photodegradation is primarily related to the decomposition of lignin, which leads to the generation of chromophoric groups absorbing especially in the UV range of the sunlight spectrum (Hon, 2001; George et al., 2005; Pandey, 2005a).

Tab.2. Regression analysis applied to the chromatic coordinates as function of the exposure times in Solar Box for untreated.

Value	Intercept	Significance	time	Significance	time ²	Significance	Dummy (treated)	R ² adj
L*	70.39221	***	-0.03717	***	4.48×10^{-5}	***	-6.19797	0.729
a*	6.843225	***	0.017939	***	-2.1×10^{-5}	***	1.664813	0.736
b*	24.72024	***	0.04592	***	-7.2×10^{-5}	***	5.230355	0.719

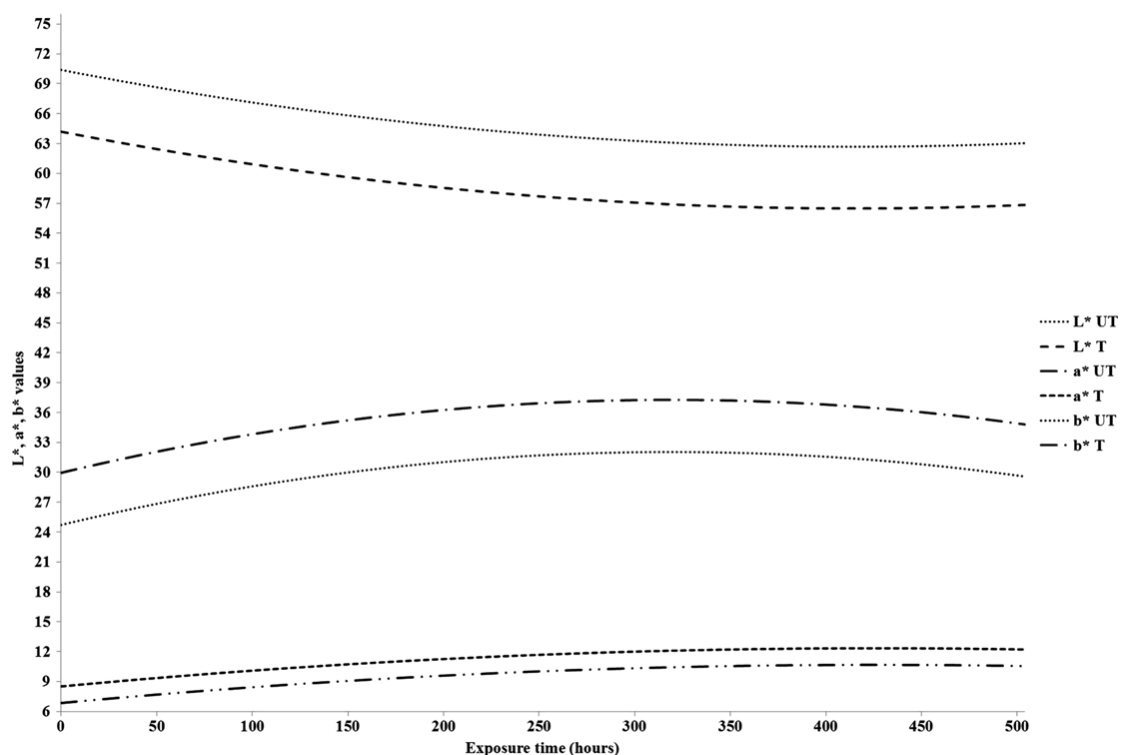


Fig. 1. Color changes of untreated (UT) and Linfoil®-treated (T) chestnut samples due to photo-irradiation. Variation of L*, a*, and b* parameters at different exposure times as calculated from the regression analysis shown in Table 2

The rapid decrease of L* values can be associated also with the photodegradation of extractives, followed by a rapid oxidation of the degradation products, as discussed by Tolvaj & Mitsui (2010). Moreover, phenolic extractives undergo rapid photochemical change due to their good absorption of light (Pandey, 2005b). On the other hand, some authors (Zahri *et al.*, 2007) demonstrated good resistance to photodegradation of some extractives; in particular, they emphasized that gallic acid is much more stable than ellagic acid after UV light exposure. The degradation of extractives and the rapid oxidation of degradation products may act as protection of the main wood components (Nzokou & Kamdem, 2006; Chang *et al.*, 2010). A similar behavior was observed for wood samples treated with preservative products (Nzokou & Kamdem, 2006; Lo Monaco *et al.*, 2011a, 2011b). Some authors suggested that the high durability of American chestnut could be the result of a coupling of tannin and lignin providing a 'fixed preservative' where the ellagato moiety is resistant to oxidative degradation (Helm *et al.*, 1997).

FTIR analysis on wood slices

The infrared spectra of chestnut slices at chosen exposure times are shown in Fig. 5. Band assignment was made according to literature references (Moore & Owen, 2001; Chang *et al.*, 2002; Colom *et al.*, 2003; Pandey & Pitman, 2003; Pelosi *et al.*, 2013).

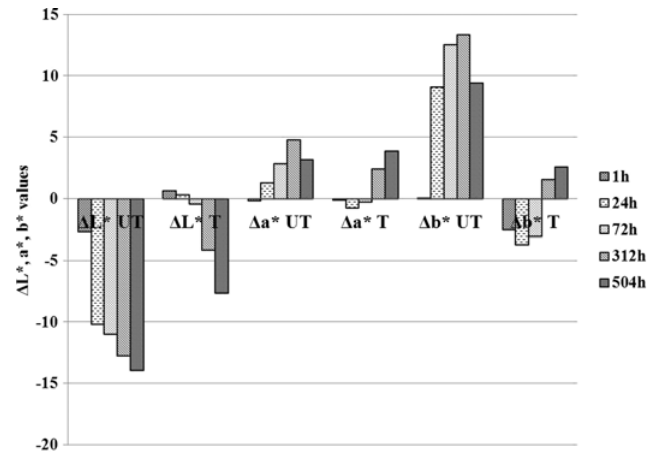


Fig. 2. Changes in CIE-L*a*b* parameters of untreated (UT) and Linfoil®-treated (T) chestnut samples, as shown by ΔL^* , Δa^* , and Δb^* due to accelerated sunlight exposure, at chosen exposure times.

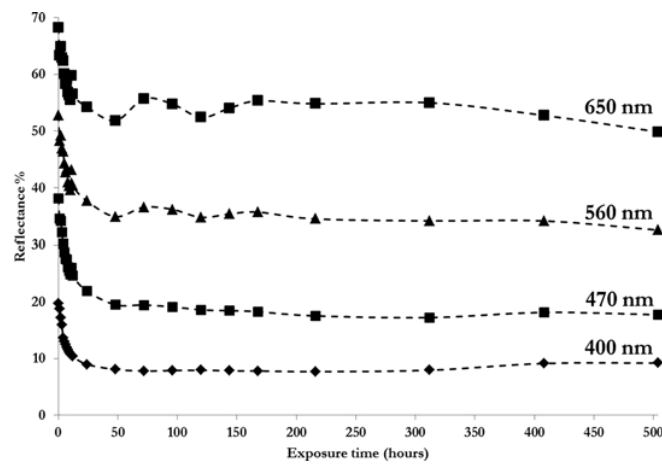


Fig.3. Variation in the reflectance spectra of untreated chestnut samples due to photo-irradiation. Focus on the changes occurring at specific wavelengths within 504 hours.

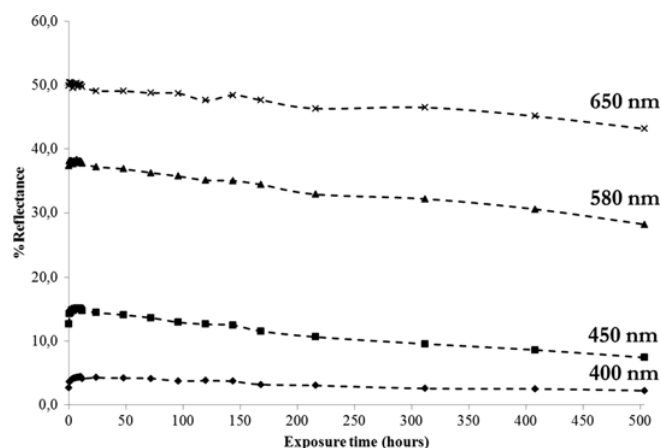


Fig. 4 Variation in the reflectance spectra of Linfoil®-treated chestnut samples due to photo-irradiation. Focus on the changes occurring at specific wavelengths within 504 hours.

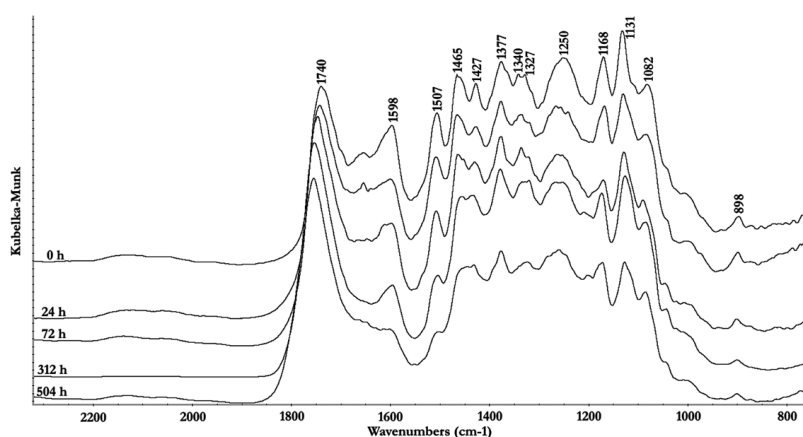


Fig.5. Infrared spectra of chestnut slices measured at different exposure times.

FTIR spectra show the following bands (see Fig. 4, 0 h): 1740 cm^{-1} stretching of the carbonyl group $\text{C}=\text{O}$, 1598 cm^{-1} aromatical skeletal vibrations, 1507 cm^{-1} aromatic skeletal vibrations, 1465 cm^{-1} C–H deformation and aromatical skeletal vibrations, 1427 cm^{-1} C–H in-plane deformation, 1377 cm^{-1} C–H in-plane deformation for polysaccharides, $1340\text{--}1327\text{ cm}^{-1}$ syringyl ring breathing and C–O stretching, 1250 cm^{-1} guaiacyl ring breathing and C–O stretching, 1168 cm^{-1} C–O–C antisymmetric bridge stretching vibration in cellulose and hemicelluloses, 1131 cm^{-1} C–O–C symmetric stretching and aromatic C–H in-plane deformation and glucose ring vibration, 1082 cm^{-1} C–O and O–H association bands in cellulose and hemicelluloses, and 898 cm^{-1} $\text{C}_1\text{--H}$ deformation of cellulose.

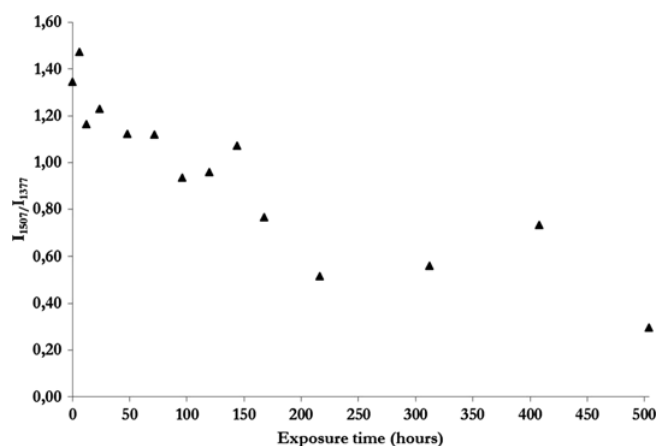


Fig.6. Change in the ratio of lignin band at 1507 cm^{-1} against the carbohydrate band at 1377 cm^{-1} , as function of the irradiation time on the chestnut wood slices.

It can be observed that the intensity of the bands at 1507 , 1598 , and 1465 cm^{-1} , associated with lignin, decreases during photodegradation. This is accompanied by an increase in the intensity of the band at 1740 cm^{-1} , due to carbonyl absorption. The intensities of the peak associated with carbohydrates at 1377 cm^{-1} is not significantly affected by irradiation, so this band has been used as internal reference to evaluate the lignin degradation.

In order to determine the rate of lignin degradation and carbonyl formation, the intensities of the lignin band at 1507 cm^{-1} , the carbonyl band at 1740 cm^{-1} , and the carbohydrate reference band at 1377 cm^{-1} were calculated (Pandey & Pitman, 2003). The relative change in ratio of lignin/carbohydrate bands at different exposure times is showed in Fig. 6. The lignin/carbohydrate intensity ratio decreased with the exposure times and after 168 hours of irradiation it decreased to about 50% of its original value.

The relative increase of the carbonyl groups during photo-irradiation was calculated by considering the ratio of intensity of carbonyl band at 1740 cm^{-1} against a reference peak at 1377 cm^{-1} (Fig. 7). The intensity of the band of the carbonyl groups increases as a function of irradiation time. This can be explained by the formation of $\text{C}=\text{O}$ groups of degraded lignin.

As the carbonyl groups increase during the photoaging whereas the lignin band decreases, the ratio of intensity of the bands at 1507 and 1740 cm^{-1} undergoes a fast and significant decrease after few hours of exposure, as can be observed in Fig. 8. In fact, after 48 hours of exposure the experimental value of the I_{1507}/I_{1740} ratio decreased to about 40% of its original value.

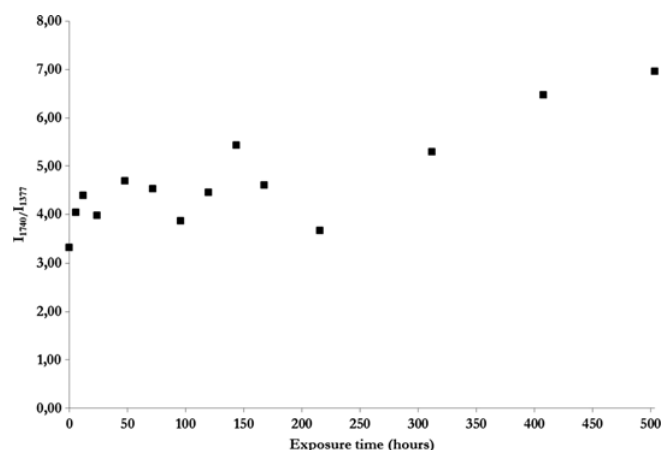


Fig.7. Change in the ratio of carbonyl band at 1740 cm^{-1} against the carbohydrate reference band at 1377 cm^{-1} , as function of the irradiation time, on the chestnut wood slices.

Relation between color and chemical changes in wood samples

Finally, the color changes of wood during irradiation were considered relation to the lignin degradation and the formation of carbonyl groups produced by the photodegradation process. In particular, L^* , a^* , and b^* values were reported as a function of infrared peak ratio in order to study the trend of the data. In fact, as the color changes of the surfaces are mainly due to the formation of $\text{C}=\text{O}$ groups due to photodegradation of lignin, there could be a relationship between the chromatic coordinates and the relative intensity of the infrared peaks associated with lignin.

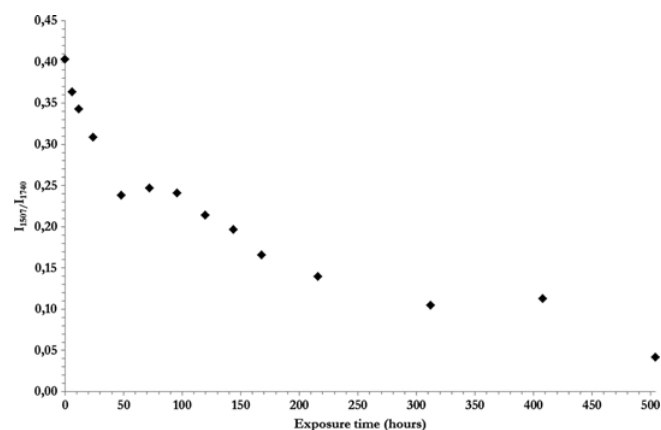


Fig. 8. Change in the ratio of lignin band at 1507 cm^{-1} against the carbonyl band at 1740 cm^{-1} , as function of the irradiation time, on the chestnut wood slices.

The results in Figs. 9–11 show that lignin degradation is linked to photo-induced color changes of wood surfaces. In particular, L^* decreases as function of the peak ratios, whereas a^* and b^* undergo a little increase. This result suggests that the extractive-rich wood degradation, investigated through FTIR analysis, can be considered in relation to the color

modification of the surfaces. This result was demonstrated also for poplar wood (Agresti *et al.*, 2013).

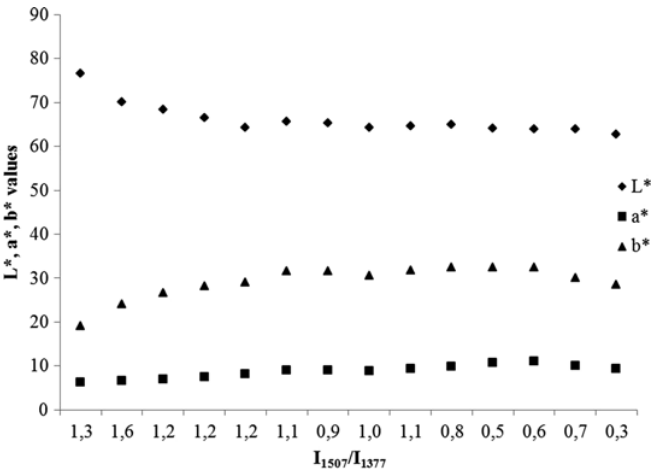


Fig. 9. L*, a*, b* coordinates as function of the infrared peak ratio I_{1507}/I_{1377} (lignin/carbohydrate).

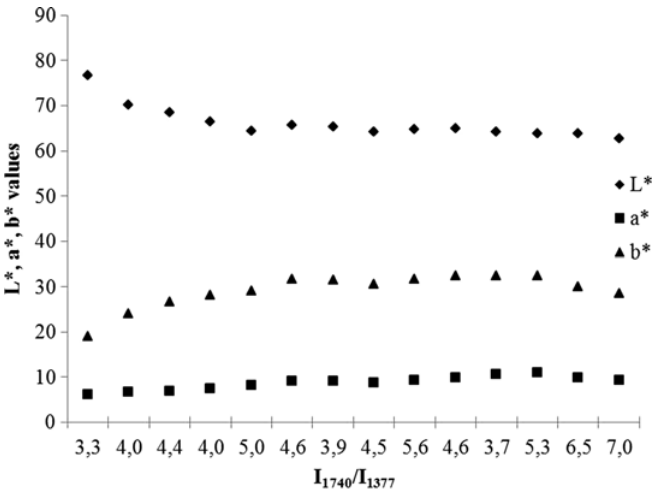


Fig. 10. L*, a*, b* coordinates as function of the infrared peak ratio I_{1740}/I_{1377} (carbonyl/carbohydrate).

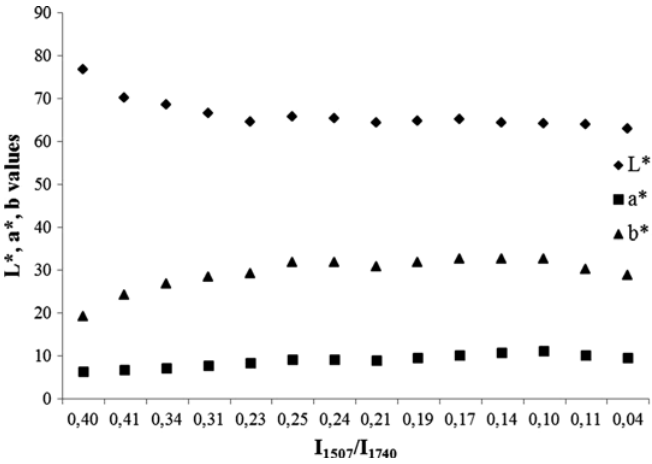


Fig. 11. L*, a*, b* coordinates as function of the infrared peak ratio I_{1507}/I_{1740} (lignin/carbonyl).

Conclusions

The study of color changes in chestnut samples showed that wood exhibits high color variability. The color measurements have to be made in exactly the same points during the experiment in order to avoid calculating surface variability rather than color changes of wood due to simulated sunlight exposure. Wood surface color undergoes an important variation due to photo-irradiation. The greatest changes occur within the first 24 hours and they are mainly due to L* decrease and b* increase. Linfoil® treatment modified wood color. Nevertheless, wood samples treated with Linfoil® exhibited color changes much lower than those of untreated samples. This product seems to protect wood surfaces by reducing photoyellowing. FTIR spectroscopy allowed investigation of the rate of photodegradation of wood surfaces due to lignin oxidation. The rate of photodegradation was investigated by studying the lignin/carbohydrate intensity ratio as function of time. The results showed that the I₁₅₀₇/I₁₃₇₇ ratio (lignin/carbohydrate) decreased to about 50% of its original value after 168 hours of exposure.

An important result was that the color changes, expressed as variations in L*, a*, b* coordinates, can be related to the photodegradation of lignin obtained by FTIR analysis.

This finding encourages further exploration of the relationship between color changes and chemical modification of wood surfaces. This is of particular importance in the field of cultural heritage because understanding this relationship allows control of artifact surfaces after conservation work by a simple and economic method. The role of extractives needs to be further investigated in order to better understand their influence on wood surface changes, especially for outdoor artifacts made of wood containing hydrosoluble tannins, like chestnut.

References

- Agresti, G., Bonifazi, G., Calienno, L., Capobianco, G., Lo Monaco, A., Pelosi, C., Picchio, R. & Serranti, S. 2013. Surface Investigation of Photo-Degraded Wood by Colour Monitoring, Infrared Spectroscopy, and Hyperspectral Imaging. *Journal of Spectroscopy*, 2013: doi:10.1155/2013/4 380536.
- Agresti, G., Genco, G., Giagnacovo, C., Pelosi, C., Lo Monaco, A. & Castorina, R. 2010. Wood of Chestnut in Cultural Heritage. *Acta Horticulturae*, 866: 51–7.
- Biscontin, G., Benedetti, M., Dainese, U., Driussi, G., Morabito, Z. & Tonon, M. 2009. A Methodology of Analysis to Evaluate the Consolidation of Wood. In: G. Biscontin & G. Driussi, eds. *Science and Cultural Heritage XXV 2009. Preservation*

- and Conservation of Wood. Knowledge, Experiences, Perspectives. Venezia: Arcadia Ricerche, pp. 515–27 [in Italian].
- Chang, H.T., Yeh, T.F. & Chang, S.T. 2002. Comparisons of Chemical Characteristic Variations for Photodegraded Softwood and Hardwood With/Without Polyurethane Clear Coatings. *Polymer Degradation and Stability*, 77: 129–35.
 - Chang, T.C., Chang, H.T., Wu, C.L. & Chang, S.T. 2010. Influences of Extractives on the Degradation of Wood. *Polymer Degradation and Stability*, 95: 516–21.
 - Colom, X., Carrillo, F., Nogués, F. & Garriga, P. 2003. Structural Analysis of Photodegraded Wood by Means of FTIR Spectroscopy. *Polymer Degradation and Stability*, 80: 543–9.
 - Crisci, M.C., La Russa, M.F., Malagodi, M. & Ruffolo, S.A. 2010. Consolidating Properties of Regalrez 1126 and Paraloid B72 Applied to Wood. *Journal of Cultural Heritage*, 11: 304–8.
 - Derbyshire, H., Miller, E.R. & Turkulin, H. 1995. Investigations into the Photo-Degradation of Wood Using Microtensile Testing. Part I: The Application of Microtensile Testing Measurement of Photo-Degradation Rates. *Holz als Roh- und Werkstoff*, 53: 339–45.
 - EN 15886. 2010. Conservation of Cultural Property – Test Methods – Colour Measurement of Surfaces. Brussels, Belgium.
 - Evans, P.D. 1998. A Note on Assessing the Deterioration of Thin Wood Veneers During Weathering. *Wood and Fiber Science*, 20: 487–92.
 - Ferreira, R.C., Lo Monaco, A., Picchio, R., Schirone, A., Vessella, F. & Schirone, B. 2012. Wood Anatomy and Technological Properties of an Endangered Species: *Picconia azorica* (Oleaceae). *IAWA Journal*, 33: 375–90.
 - Genco, G., Lo Monaco, A., Pelosi, C., Picchio, R. & Santamaria, U. 2009. An Experimental Procedure to Evaluate Some Consolidant Products for Wood. In: G. Biscontin & G. Driussi, eds. *Science and Cultural Heritage XXV 2009*.
 - Preservation and Conservation of Wood. Knowledge, Experiences, Perspectives. Venezia: Arcadia Ricerche, pp. 475–84, [In Italian].
 - Genco, G., Lo Monaco, A., Pelosi, P., Picchio, R. & Santamaria, U. 2011. A Study of Colour Change Due to Accelerated Sunlight Exposure in Consolidated Wood Samples. *Wood Research*, 56: 511–24.

- George, B., Suttie, E., Merlin, A. & Deglise, X. 2005. Photo-Degradation and Photostabilisation of Wood – the State of the Art. *Polymer Degradation and Stability*, 88: 268–74.
- Helm, R.F., Ranatunga, T.D. & Chandra, M. 1997. Lignin-Hydrolyzable Tannin Interactions in Wood. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45: 3100–6.
- Hon, D.N.S. 2001. Weathering and Photochemistry of Wood. In: D.N.S. Hon & E. Shiraishi, eds. *Wood and Cellulosic Chemistry*. New York: Marcel Decker, pp. 513–46.
- Kataoka, Y. & Kiguchi, M. 2001. Depth Profiling of Photo-Induced Degradation in Wood by FT-IR Microspectroscopy. *Journal of Wood Science*, 47: 325–7.
- Lo Monaco, A., Marabelli, M., Pelosi, C. & Picchio, R. 2011a. Colour Measurements of Surfaces to Evaluate the Restoration Materials. In: L. Pezzati & R. Salimbeni, eds. *O3A: Optics for Arts, Architecture, and Archeology III*. Washington: SPIE, vol. 8084, pp. 1–14.
- Lo Monaco, A., Pelosi, P. & Picchio, R. 2011b. Colour Evolution of Wood Surfaces in Simulated Sunlight Exposure. In: M. Rossi, ed. *Colour and Colorimetry. Multidisciplinary Contributions*. Roma: Maggioli, pp. 207–14.
- Lo Monaco, A., Todaro, L., Sarlatto, M., Spina, R., Calienno, L. & Picchio, R. 2011c. Effect of Moisture on Physical Parameters of Timber from Turkey Oak (*Quercus cerris* L.) Coppice in Central Italy. *Forestry Studies in China*, 13: 276–84.
- Marengo, E., Robotti, E., Liparota, M.C. & Gennaro, M.C. 2003. A Method for Monitoring the Surface Conservation of Wooden Objects by Raman Spectroscopy and Multivariate Control Charts. *Analytical Chemistry*, 75: 5567–74.
- Marengo, E., Robotti, E., Liparota, M.C. & Gennaro, M.C. 2004. Monitoring of Pigmented and Wooden Surfaces in Accelerated Ageing Processes by FT-Raman Spectroscopy and Multivariate Control Charts. *Talanta*, 63: 987–1002.
- Moore, A.K. & Owen, N.L. 2001. Infrared Spectroscopic Studies of Solid Wood. *Applied Spectroscopy Reviews*, 36: 65–86.
- NorMaL 43/93. 1993. *Colour Measurements of Opaque Surfaces*. Rome: ICR-CNR [In Italian].
- Nzokou, P. & Kamdem, P.D. 2006. Influence of Wood Extractives on the Photo-Discoloration of Wood Surfaces Exposed to Artificial Weathering. *Industrial Applications*, 31: 425–34.

- Pandey, K.K. 2005a. Study of the Effect of Photo-Irradiation on the Surface Chemistry of Wood. *Polymer Degradation and Stability*, 90: 9–20.
- Pandey, K.K. 2005b. A Note on the Influence of Extractives on the Photo-Discoloration and Photo-Degradation of Wood. *Polymer Degradation and Stability*, 87: 375–9.
- Pandey, K.K. & Pitman, A.J. 2003. FTIR Studies of the Changes in Wood Chemistry Following Decay by Brown-Rot and White-Rot Fungi. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 52: 151–60.
- Pelosi, C., Agresti, G., Calienno, L., Lo Monaco, A., Picchio, R., Santamaria, U. & Vinciguerra, V. 2013. Application of Spectroscopic Techniques for the Study of the Surface Changes in Poplar Wood and Possible Implications in Conservation of Wooden Artefacts. In: L. Pezzati & P. Targowski, eds. *Optics for Arts, Architecture, and Archaeology IV*. Washington: SPIE, vol. 8790, pp. 1–14.
- Peng, X. 2012. Research on the Aging Properties of Exterior Wood Coatings. *Proc. International Conference on Biobase Material 5 Science and Engineering*. pp. 121–6.
- Picchio, R., Magagnotti, N., Sirna, A. & Spinelli, R. 2012. Improved Winching Technique to Reduce Logging Damage. *Ecological Engineering*, 47: 83–6.
- Sharratt, V., Hill, C.A.S. & Kint, D.P.R. 2009. A Study of Early Colour Change Due to Simulated Accelerated Sunlight Exposure in Scots Pine (*Pinus sylvestris*). *Polymer Degradation and Stability*, 94: 1589–94.
- Tolvaj, L. & Faix, O. 1995. Artificial Ageing of Wood Monitored by DRIFT Spectroscopy and CIE L*a*b* Color Measurements. *Holzforschung*, 49: 397–404.
- Tolvaj, L. & Mitsui, K. 2010. Correlation Between Hue Angle and Lightness of Light Irradiated Wood. *Polymer Degradation and Stability*, 95: 638–42.
- Tolvaj, L., Mitsui, K. & Varga, D. 2011. Validity Limits of Kubelka-Munk Theory for DRIFT Spectra of Photodegraded Solid Wood. *Wood Science and Technology*, 45: 135–46.
- Unger, A., Schniewind, A.P. & Unger, W. 2001. *Conservation of Wood Artefacts. A Handbook*. Berlin: Springer-Verlag.
- Zahri, S., Belloncle, C., Charrier, F., Pardon, P., Quideau, S. & Charrier, B. 2007. UV Light Impact on Ellagitannins and Wood Surface Colour of European Oak (*Quercus petraea* and *Quercus robur*). *Applied Surface Science*, 253: 4985–9.

5. Application of spectroscopic techniques for the study of the surface changes in poplar wood and possible implications in conservation of wooden artefacts

5.1. Premessa

L'obiettivo di questo lavoro è stato quello di studiare le variazioni sia di colore che di composizione chimica di campioni di legno di *Populus L. sp.* sottoposti a radiazione luminosa in ambiente controllato. Sono stati messi a confronto campioni di legno trattato con una sostanza preservante Linfoil® diluito con Linfosolv® in rapporto 1:1. Sono state cercate, e validate statisticamente, le funzioni che mettono in relazione questi due tipi di degradazione.

E' stato scelto *Populus L. sp.* perché è stato utilizzato in Italia nel campo dei beni culturali per la creazione di statue, soffitti, mobili, porte e pannelli per dipinti.

Lo studio di questi aspetti nel campo dei beni culturali potrebbe portare alla creazione di metodi di indagine non distruttivi per individuare l'alterazione chimica del legno a seguito di misure colorimetriche.

L'esposizione alla radiazione luminosa è stata effettuata in Solar Box (Erichsen Instruments) per intervalli diversi da 0 a 504 ore.

Il colore è stato misurato con il metodo CIE-L*a*b* 1976 grazie a uno spettrofotometro di riflettanza (X-Rite CA22) (Lo Monaco *et al.*, 2011). Gli intervalli considerati sono stati i seguenti: 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 216, 312, 408 e 504 ore. Sono stati misurati, per 3 volte ad ogni intervallo di esposizione, 90 punti sia per i campioni trattati che per quelli non trattati.

Sono state indagate le alterazioni chimiche delle superfici legnose irradiate attraverso la spettroscopia FT-IR. E' stato utilizzato uno spettrometro Nicolet Avatar 360, e sono stati utilizzati i seguenti intervalli di esposizione: 0, 6, 12, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 216, 312, 408 e 504 ore. Sono stati utilizzati campioni di forma circolare con diametro di 1 cm e spessore di 2 mm. Le elaborazioni degli spettri sono state eseguite con il *software* OMNIC 8.0 (Thermo Electron Corporation).

Le analisi statistiche sono state eseguite con il *software* Statistica 2010. Sono state valutate le differenze tra i gruppi attraverso l'analisi della varianza e successivamente è stato applicato il Tukey test. Sono stati in fine sviluppati modelli di predizione attraverso regressioni lineari e non lineari.

In questo lavoro è stato analizzato con spettri FT-IR e con la GAS Cromatografia di massa (Pirolisi) il Linfoil®. Sono stati preparati vetrini da microscopio, uno per ogni intervallo esposizione, sui quali è stato applicato il prodotto con un pennello.

I maggiori cambiamenti di colore sono stati osservati nelle prime 24 ore e sono dovuti ad un decremento della componente L^* e ad un aumento della componente b^* . I provini trattati con Linfoil® hanno mostrato un cambiamento di colore molto minore.

Sia per i campioni trattati che per quelli non trattati è stata osservata una variazione statisticamente significativa dei cambiamenti di colore che si distinguono in modo significativo tra le due tipologie di materiale. Sono state trovate le funzioni che mettono in relazione il colore ed il tempo di esposizione.

Gli spettri FT-IR hanno messo in evidenza la fotodegradazione della lignina dovuta all'esposizione alla radiazione luminosa: è stata osservata una ossidazione del 50% di questo componente nelle prime 48 ore. Inoltre, sono state trovate le relazioni che legano l'andamento dei rapporti dei picchi degli spettri con il tempo di esposizione.

Sono state inoltre trovate le funzioni che legano i rapporti tra i picchi degli spettri FT-IR con le coordinate colorimetriche. La verifica statistica di questo aspetto rappresenta il risultato più importante perché potrebbe portare in futuro ad applicare le misure di colore per individuare lo stato di alterazione chimica del legno.

Le analisi FT-IR e la GAS Cromatografia di massa applicate al Linfoil® hanno dimostrato che questo prodotto è composto da resine alchiliche e che è molto stabile nei confronti della radiazione luminosa.

Questo lavoro è stato presentato al convegno internazionale “*Optics for Arts, Architecture, and Archaeology IV*” organizzato dalla “International Society for Optical Engineering” (SPIE) a Monaco (Germania) (15 - 16 maggio 2013). Di seguito si riporta la pubblicazione sugli atti del convegno.

5.2. Manoscritto

Application of spectroscopic techniques for the study of the surface changes in poplar wood and possible implications in conservation of wooden artefacts

C. Pelosi^{*a}, G. Agresti ^a, L. Calienno^b, A. Lo Monaco^b, R. Picchio^b, U. Santamaria ^a, V. Vinciguerra^c

^a Department of Cultural Heritage Sciences (DISBEC), University of Tuscia, Largo dell'Università 01100 Viterbo, Italy;

^b Department of science and technology for Agriculture, Forests, Nature and Energy (DAFNE), University of Tuscia, Via San Camillo de Lellis, 01100 Viterbo, Italy;

^c Department for Innovation in Biological, Agro-food and Forest systems (DIBAF), University of Tuscia, Via San Camillo de Lellis, 01100 Viterbo, Italy

*pelosi@unitus.it; phone 0039 0761357684; fax 0039 0761357182; www.disbec.unitus.it

Keywords: poplar wood, photo-degradation, Fourier Transform Infrared spectroscopy, reflectance spectrophotometry, analytical pyrolysis.

Abstract

The aim of this work is to study the surface modifications of poplar (*Populus* sp.) wood by reflectance spectrophotometry and Fourier Transform Infrared (FT-IR) spectroscopy in order to understand the mechanisms that cause the changes and to suggest possible solutions to avoid the degradation phenomena. Since colour changes on wood surfaces are due to photo degradation of its chemical constituents, the study of the relationship between CIELAB colour changes and changes in chemical composition due to irradiation is of practical importance both in cultural heritage and in contemporary artefacts and objects.

Concerning the surface protection of wood, starting from the results obtained by testing different commercial products, the attention has been focused on Linfoil®, a novel organic preservative/consolidant product that seems to attract a great interest in the field of conservation of wooden artefacts. Linfoil® was chosen and analysed in order to understand its composition and its time stability using reflectance spectrophotometry, FT-IR

spectroscopy and analytical pyrolysis coupled to a gas chromatographic-mass spectrometric system.

Colour monitoring allowed to find that wood surface colour undergoes an important variation due to photo-irradiation, occurring within the first 24 hours and mainly due to L^* decrease and b^* increase. Though Linfoil® treatment modifies wood colour, nevertheless it seems to protect wood surface by reducing the yellowish. FT-IR spectroscopy allowed to investigate the rate of photo-degradation of wood surface due to lignin oxidation. The most important result is that a correlation of the colour changes may be derived with the photo-degradation of lignin obtained by FT-IR analysis.

Introduction

The focus of this work is to study the surface modifications of poplar (*Populus* sp.) wood by reflectance spectrophotometry and Fourier Transform Infrared (FT-IR) spectroscopy in order to understand the mechanisms that cause the changes and to suggest possible solutions to avoid the degradation phenomena. The choice of poplar was due to its widespread use in Italy for the creation of statues, ceilings, furniture, doors, painted panels, etc.

In cultural heritage the monitoring of wood surfaces during light exposure should be performed through non-destructive methods to avoid the paradox of damaging a work of art while monitoring its preservation state. For this reason colour measurements were chosen as possible method to evaluate wood surface changes(1-2).

Since colour changes on wood surfaces are due to photo degradation of its chemical constituents, the study of the relationship between CIELAB colour changes and changes in chemical composition due to irradiation is of practical importance both in cultural heritage and in contemporary artefacts and objects(3).

This work starts from the yet published results obtained by the same authors of this paper regarding the colour measurements on poplar and chestnut wood(4-5). The novelty, in comparison to those papers, is that in the present work the colorimetric data are correlated to the chemical information derived from the FT-IR spectroscopic analysis. Moreover, the artificial ageing was carried out for 504 hours whereas in the previous works it was interrupted at 168 hours.

Concerning the surface protection of wood, starting from the results obtained by testing different commercial products(6), the attention has been focused on Linfoil®, a novel organic preservative/consolidant product that seems to attract a great interest in the field of conservation of wooden artefacts. Also in this case, starting from the previous results, Linfoil® was chosen and analysed in order to understand its composition and its time stability by applying reflectance spectrophotometry, FT-IT spectroscopy and analytical pyrolysis coupled to a gas chromatographic-mass spectrometric.

Methodology

Sample preparation

Wood samples were obtained by a single board of poplar. After cutting, the samples were stored in darkness in a conditioned room at 65% relative humidity and a temperature of 22°C to reach the 12% of moisture content.

Half of the samples were treated with a novel commercial product named Linfoil®, a mixture of vegetable oils, resins and waxes in aliphatic solvent. Linfoil® was diluted with Linfosolv® (1:1 volume ratio), a solvent system made of a mixture of refined paraffinic aliphatic derivatives and extracts from citrus. Linfoil® was applied by a restorer using a brush. Three coats were applied on the surface of the samples (dimensions 235 x 50 x 50 mm).

To perform the FTIR analysis directly on wood surface, slices with a size of 10 (diameter) x 2 (thickness) mm were obtained from the specimens of poplar. The dimensions of the slices were suitable for the FT-IR diffuse reflectance accessory.

Linfoil® samples were prepared by applying the product on glass slides and allowing it to dry.

Accelerated ageing

The accelerated ageing of the samples was performed in a Model 1500E Solar Box (Erichsen Instruments). The system is equipped with a 2.5 kW xenon-arc lamp and an UV filter that cuts off the spectrum at 280 nm. The samples were exposed in the Solar Box chamber from 1 to 504 h at 550 W/m², 55°C and the UV filter at 280 nm. The experimental conditions were chosen following the specifications supplied by Erichsen, in order to simulate the sunlight exposition.

Colour monitoring

After exposure for a given length of time the samples were removed from the Solar Box chamber and the colour was measured using an X-Rite CA22 reflectance spectrophotometer. The characteristics of the colour measuring instrument are the following: colour scale CIEL*a*b*; illuminant D65; standard observer 10°; geometry of measurement 45°/0°; spectral range 400-700 nm; spectral resolution 10 nm; measurement diameter 4 mm; white reference supplied with the instrument. The CIELAB colour system was used where L* describes the lightness while a* and b* describe the chromatic coordinates on the green-red and blue-yellow axes, respectively. The differences in lightness (ΔL^*), chromatic coordinates (Δa^* and Δb^*), and total colour (ΔE^*) were then calculated using these parameters according to Normal 14/93 (1993) and EN 15886 (2010). The total colour difference, ΔE^* , between two measurements (L^*_1 a^*_1 b^*_1 and L^*_2 a^*_2 b^*_2) is the geometrical distance between their positions in CIELAB colour space. It is calculated using the following equation: $\Delta E^*_{2,1} = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2}$.

Measurements were taken at the following hour intervals: 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 216, 312, 408 and 504 h.

To guarantee that successive measurements were made in the same area a graduated mask was used both for wood and Linfoil® samples.

Concerning wood samples, one hundred and eighty colour measuring points were chosen: ninety for the untreated and ninety for Linfoil® treated wood samples. Three measures for each point were performed, according to Normal 14/83, so that five hundred and forty measurements were realized at each exposure time, then average values and standard deviations were calculated.

Colour measurements of Linfoil® samples was performed by putting a standard white paper (Kodak Color Control Patches - white) on the back of the glass plates.

Fourier Transform Infrared spectroscopy

Infrared spectra were obtained using a Nicolet Avatar 360 Fourier transform spectrometer. For each sample 128 scans were recorded in the 4000 to 400 cm^{-1} spectral range in diffuse reflection modality (DRIFT) with a resolution of 4 cm^{-1} . Spectral data were collected with OMNIC 8.0 (Thermo Electron Corporation) software.

To obtain the FT-IR spectra, sample slices were directly inserted in the FTIR diffuse reflectance accessory unit. As background the spectrum of the KBr powder was used.

FT-IR spectra were recorded at the following time intervals: 0, 6, 12, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 216, 312, 408 and 504 hours.

Peak heights were measured using OMNIC software according to the method described in the literature(7).

Pyrolysis gas chromatography mass spectrometry

Linfoil® samples, at 0 and 312 hours of exposure in Solar Box, were investigated by analytical pyrolysis at 600°C using a microfurnace pyrolyser (Pyrojector II, SGE) coupled to a gas chromatographic-mass spectrometric system HP 5971 MSD. The samples were introduced, by a special syringe for solid material, in the pre-heated furnace pyrolyser; the pyrolyser operated under a helium flow at 14 psi and was directly connected to gas chromatograph injector heated at 280°C and operating in splitless conditions.

The separative column was a DB-5 (J and W Scientific, 30m x 0.25mm, 0.25 μm). The temperature program adopted an initial temperature of 40°C, which was held for two minutes and then ramped at 10°C min^{-1} to 300°C, where it was held for a further two minutes. The ion

source of quadrupole mass spectrometer operated at 180°C in electron impact (EI) conditions at 70 eV electron energy and scanned from 35 to 500 a.m.u. every 1.25 seconds. The transfer line between gas chromatograph and mass spectrometer was held at 280°C.

The pyrolysis products were identified comparing their mass spectra with those in the NIST and Wiley libraries in order to determine the nature of the polymeric components in the protective product.

Statistical analysis

Data were analyzed with the Statistica 2010 advanced statistics software. As a first step, data distribution was plotted and visually checked for normality. Differences between treatments were checked with the standard paired t-test, with ANOVA and M-ANOVA analysis. Post-hoc tests were conducted with Tukey HSD test method. Linear and non-linear regression analysis was used to develop prediction models.

Results and discussion

Colour changes of wood samples

Colour variability of poplar wood was widely discussed elsewhere suggesting the necessity to perform a high number of measurements in order to avoid this variability(4,8). In particular, 540 colour measurements were obtained at each exposure time, 270 for untreated and 270 for the treated samples. M-ANOVA and Tukey tests, previously applied to the samples aged for 168 h(4), were extended to 504 hours of irradiation. These tests underline that L*, a* and b* undergo statistically significant changes after the exposure times both for untreated and treated samples, apart from the first hours of irradiation suggesting the possibility to start the measurements directly after 6 hours of irradiation (Table 1).

A nonlinear regression analysis was applied to the chromatic coordinates at different time of exposure in Solar Box in order to evaluate the statistical significance of the experimental data. The results reported in Table 2 and in Figure 1 demonstrate that the various components exhibit a high statistical significance concerning every polynomial function used for the analysis.

Table 1. Nonlinear regression analysis applied to the chromatic coordinates at different times of exposure in Solar Box for untreated (UT) and Linfoil® treated (LT) samples.

Time (h)	Untreated samples						Linfoil® treated samples					
	L*	HSD	a*	HSD	b*	HSD	L*	HSD	a*	HSD	b*	HSD
0	84.3	a	2.0	b,c	16.8	a	71.3	a,b	4.8	b	36.8	h
1	83.7	b	1.4	a	16.7	a	71.3	a,b	4.3	a	29.8	d
2	83.6	b	1.3	a	17.1	b	71.6	a,b	4.2	a	28.7	c
3	83.4	b,c	1.4	a	17.8	c	71.4	a,b	4.2	a	28.4	a,b,c
4	83.8	a,b	1.3	a	19.7	d	71.9	a	4.1	a	28.0	a,b
5	83.3	b,c	1.4	a	19.6	d	71.9	a	4.2	a	27.8	a
6	83.0	c,d	1.5	a	19.7	d	71.8	a	4.1	a	28.3	a,c
7	82.6	d,e	1.9	b	20.7	e	71.7	a,b	4.2	a	28.0	a,b
8	82.0	e,f	2.0	b,c	20.6	e	71.8	a	4.2	a	27.8	a
9	81.7	f	2.0	b,c,d	21.1	f	71.7	a	4.2	a	28.0	a,b
10	82.0	f	2.1	b,c,d	21.2	f	71.8	a	4.3	a	28.0	a,b
11	81.9	f	2.1	c,d	21.6	g	71.7	a,b	4.2	a	28.5	b,c
12	81.9	f	2.1	d	22.7	h	71.1	b	4.4	a	28.5	b,c
24	80.9	g	2.6	e	25.3	i	70.2	c	4.9	b	30.6	e
48	80.0	h	3.4	f	27.6	l	69.5	c	5.8	c	33.4	f
72	79.7	h	4.0	g	29.9	n	68.5	d	6.3	d	34.0	f
96	78.3	i	4.5	h	29.4	m	67.7	e	7.0	e	36.1	g
120	78.1	i	4.8	i	29.9	n	67.6	e	7.2	e	36.1	g
144	77.9	i	5.2	l	30.3	o	66.6	f	8.1	f	38.0	i
168	77.7	i	5.7	m	31.4	p	66.0	f	8.3	f	38.6	i,l
216	76.4	l	7.1	n	33.1	r	65.2	g	9.0	g	39.2	l
312	72.7	m	8.9	o	33.1	r	62.7	h	10.9	h	41.2	m
408	71.7	n	8.7	p	32.2	q	61.1	i	11.8	i	41.9	n
504	71.6	n	9.5	q	33.3	r	61.1	i	11.7	i	42.2	n

In particular, the colour changes are reported as variations of the L*a*b* coordinates in function of time (Figure 1) as calculated from the regression analysis shows in Table 2. As can be observed in the figure, untreated wood colour varies with the exposure time, in particular, lightness (L*) values decrease markedly, whereas the chromaticity parameters a* and b* increase, as found also by other authors on different species^{3, 9-10}. In particular, as shown in Table 1, L* value decreases from 84.3 to 71.6. The a* and b* coordinates increase from 2.0 to 9.5 and from 16.8 to 33.3 respectively. In general it is possible to state that the greatest change occurs within the first 24 h of exposure and around the 460 nm wavelength ($\Delta\text{Reflectance}\% = -28.3$) which corresponds in violet/blue shades, as deduced by the reflectance spectra (Figure 2). This correlates to an increase in yellow/red colouring and is in agreement with an increase of b* coordinate.

Concerning the Linfoil® treated samples, the colour varies with the exposure time. In particular, Lightness (L*) values decrease (from 71.3 to 61.1), whereas the chromaticity parameters a* and b* increase from 4.8 to 11.7 and from 36.8 to 42.2 respectively. Nevertheless, the changes are lower than those observed for the untreated samples, especially for the b* parameter. Moreover, the b* coordinate undergoes a first decrease but after 12 hours of exposure it becomes to increase. In the case of the treated samples, the greatest change occurs around the 540 nm wavelength ($\Delta\text{Reflectance}\% = -14.7$) which corresponds in

green shades as deduced by the reflectance spectra (Figure 3). This correlates to an increase in red colouring and is in agreement with an increase of a^* coordinate. The reflectance values at 460 nm increase within the first 12 hours of exposure and decrease after this time, in accordance with the trend of the b^* coordinate.

Table 2. Nonlinear regression analysis applied to the chromatic coordinates at different times of exposure in Solar Box for untreated (UT) and Linfoil® treated (LT) samples.

Value	Intercept	Significance	time	Significance	Time2	Significance	R2adj.	Significance
L*UT	83.002	***	-0.045	***	0.00004	***	0.816	***
a*UT	1.569	***	0.032	***	-0.00003	***	0.954	***
b*UT	20.108	***	0.00679	***	-0.00008	***	0.857	***
L*LT	71.772	***	-0.042	***	0.00004	***	0.768	***
a*LT	4.109	***	0.031	***	-0.00003	***	0.852	***
b*LT	28.690	***	0.075	***	-0.00008	***	0.766	***

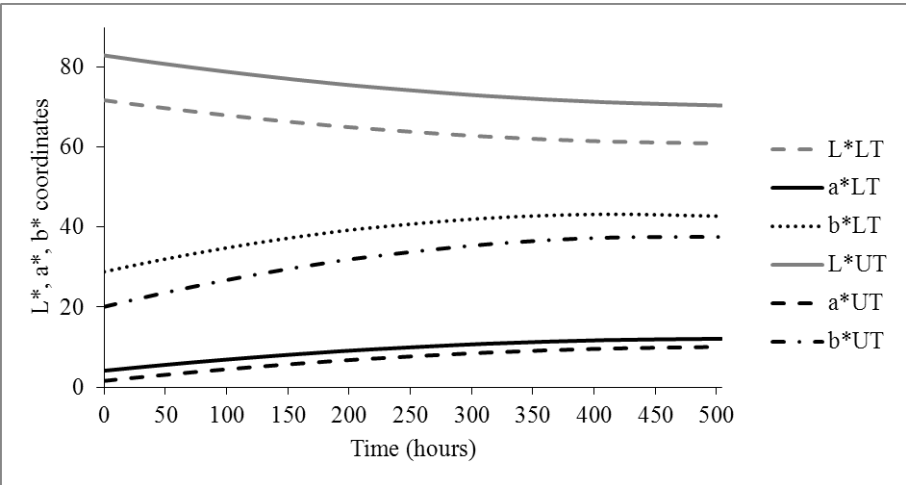


Figure 1 Colour changes of untreated (UT) and Linfoil® treated (LT) poplar samples due to photo-irradiation. Variation of L^* , a^* and b^* parameters at different exposure times as calculated from the regression analysis shown in Table 2.

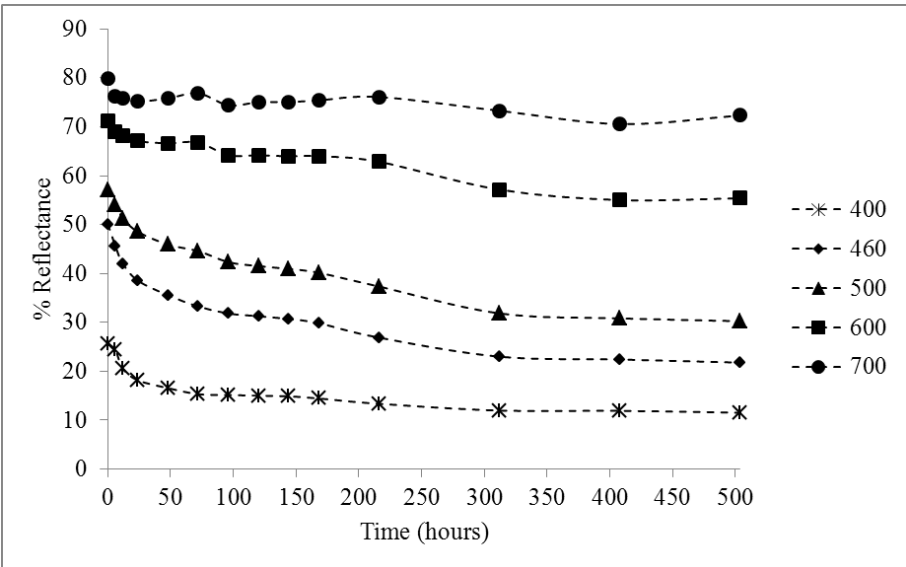


Figure 2. Variation in the reflectance spectra of untreated poplar wood due to photo-irradiation. Focus on the changes occurring at specific wavelengths within 504 h.

A nonlinear regression analysis with three dependent variables was applied to the time in function of colour coordinates (Table 3). The results shown in Table 3 underline the highly statistical significance of the obtained measures regarding the dependent variable time (T) as function of the colour coordinates (L^* , a^* , b^*).

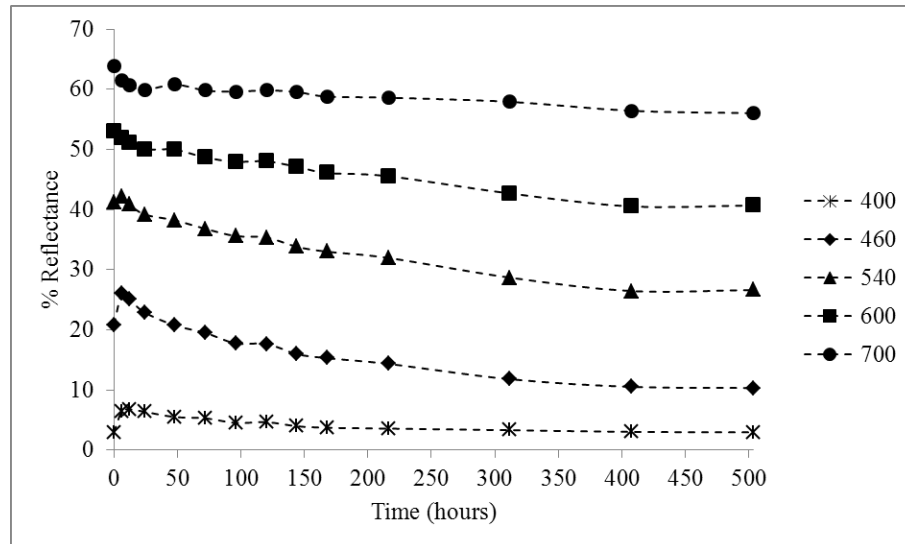


Figure 3. Variation in the reflectance spectra of Linfoil® treated poplar wood due to photo-irradiation. Focus on the changes occurring at specific wavelengths within 504 h.

Table 3. Non linear regression analysis applied to the time as function of the chromatic coordinates.

Untreated samples			Linfoil® treated samples		
	B	Significance		B	Significance
Intercept	1732.326	***	Intercept	5574.602	***
L^*	-56.232	***	L^*	-157.820	***
a^*	16.154	***	-	-	-
b^*	24.495	***	b^*	1.307	***
L^{*2}	0,381	***	L^{*2}	1,104	***
a^{*2}	4.376	***	a^{*2}	2,073	***
b^{*2}	-0.520	***	-	-	-
$R^2_{adj.} = -0.947$; $p < 0.001$			$R^2_{adj.} = -0.865$; $p < 0.001$		
$T = 1732.3 - 56.2L^* + 16.2a^* + 24.5b^* + 0.4L^{*2} + 4.4a^{*2} - 0.5b^{*2}$			$T = 5574.6 - 157.8L^* + 1.3b^* + 1.1L^{*2} + 2.1a^{*2}$		

At last, the untreated and Linfoil® treated specimens were compared by T-test for dependent samples. The T-test put in evidence statistically significant differences for all the chromatic coordinates (Table 4).

Colour changes have been also analysed using ΔE^* variations as function of time exposure (Figure 4). After the first 72 h of exposure in Solar Box a rapid colour change in untreated poplar wood can be observed, as reported also by Oltean et al. for black poplar(11). The increases of ΔE^* become less marked over longer times but reach high values after 504 hours of exposure ($\Delta E^* = 22.13$ after 504 h).

Table 4. T-test, applied on treated (UT) and Linfoil® treated (LT) wood specimens, for dependent samples. Std. Dev. is the standard deviation.

Colour coordinates	Comparison nr.		Std. Dev.	p-level
L*	UT	6480	4.1	***
	LT		3.9	
a*	UT	6480	2.6	***
	LT		2.7	
b*	UT	6480	5.9	***
	LT		5.4	

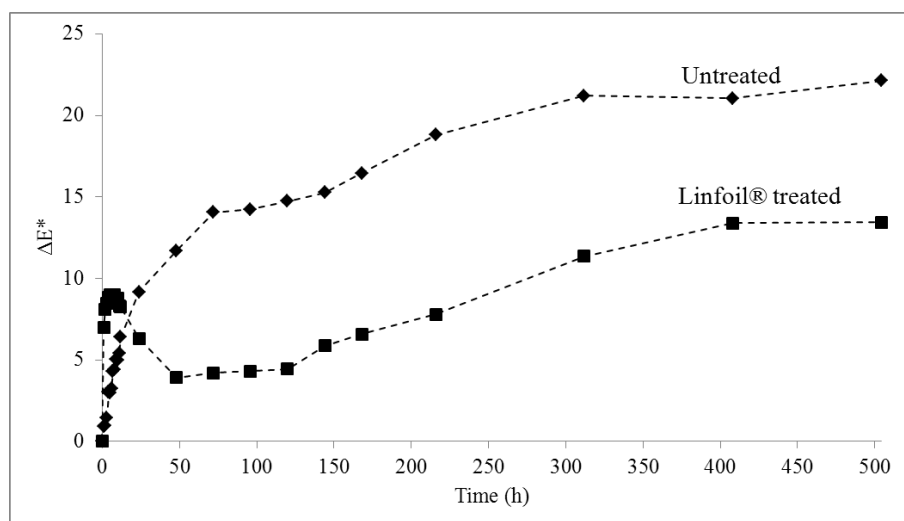


Figure 4. Changes in ΔE^* values due to exposure in Solar Box of the untreated and treated poplar samples over 504 h.

Concerning the Linfoil® treated samples, the ΔE^* values exhibit an increase within the first 12 hours and a decrease after this time. After 120 h of exposure the ΔE^* values start again increasing and reach the final value of 13.45, much lower than that calculated for the untreated samples after 504 h.

By analyzing the obtained results, it is possible to suppose that the rapid decrease of lightness observed for the untreated wood samples within the first 24 of exposure can be ascribed to photodegradation processes. The photodegradation is primarily related to the decomposition of lignin due to the chromophore groups absorbing energy, especially in the UV range of the sunlight spectrum(3,12-13). The high rate of colour change can be explained with chemical structure modification of wood surface, in particular the aromatic lignin C-C band in the infrared spectrum (1507 cm^{-1}) disappears within few hours of exposure(3,12-13).

The minor colour changes of Linfoil® treated samples could be attributed to a protective effect of this compound. Starting from these results the further step was to study the chemical modifications of poplar wood surface and of Linfoil® in order to better understand the mechanism of protection attributed to this product.

Colour changes of Linfoil®

Colour monitoring of Linfoil® during ageing shows that this product undergoes little colour variations (Figure 5). ΔL^* and Δa^* undergo little changes, so the values of ΔE^* are due mainly to b^* variations, in particular b^* decreases during the time ($\Delta b^* = -4.34$ after 504 h of irradiation).

FT-IR analysis on the wood slices

Concerning infrared spectroscopy on the samples, the spectra were collected in DRIFT modality directly on wood slices in order to avoid analysing also the unaltered wood. In fact, wood is a good light absorber for infrared, visible and ultraviolet light(14-15). In particular the UV component of light is totally absorbed in a 75 μm -thick layer(13). Since the change caused by irradiation appears in a thin surface layer, it is not easy to remove the proper thin layer for pellet preparation, as suggested also by other authors(16).

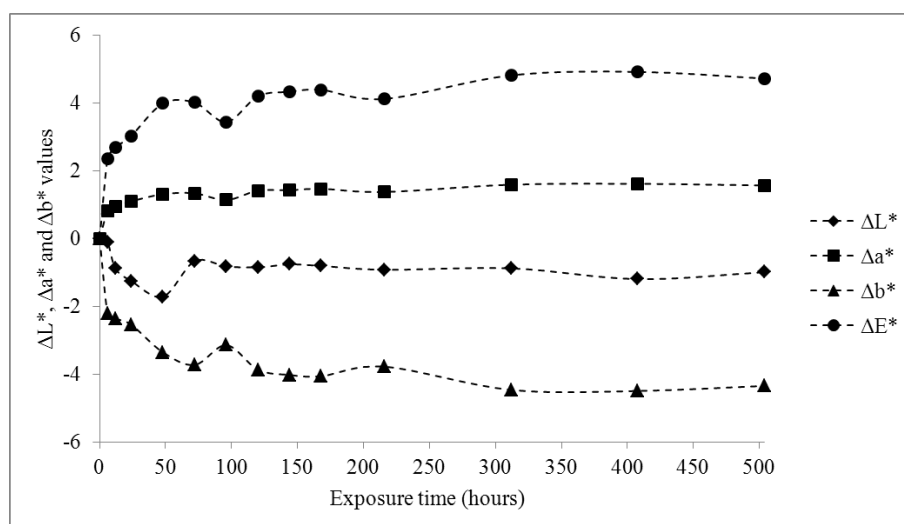


Figure 5. Changes in the CIEL*a*b* parameters, as shown by ΔL^* , Δa^* , Δb^* and total colour change expressed as ΔE^* , due to irradiation.

Band assignment was made according to literature references(7, 17-19). FTIR spectra show the following bands (see Figure 6, 0h): 3400 cm^{-1} stretching of O-H group, 2940 cm^{-1} and 2906 cm^{-1} C-H and CH_2 asymmetric and symmetric stretching, 1737 cm^{-1} stretching of the carbonyl group C=O, 1654 cm^{-1} conjugated carbonyl, 1595 cm^{-1} aromatical skeletal vibrations, 1507 cm^{-1} aromatic skeletal vibrations, 1464 cm^{-1} C-H deformation and aromatical skeletal vibrations, 1428 cm^{-1} C-H in-plane deformation, 1376 cm^{-1} C-H in-plane deformation for polysaccharides, 1333 cm^{-1} syringyl ring breathing and C-O stretching, $1270\text{--}1250\text{ cm}^{-1}$ guaiacyl ring breathing and C-O stretching, 1171 cm^{-1} C-O-C antisymmetric bridge stretching vibration in cellulose and hemicelluloses, 1133 cm^{-1} C-O-C symmetric stretching and

aromatic C-H in-plane deformation and glucose ring vibration, 1091 cm^{-1} C-O and O-H association bands in cellulose and hemicelluloses, 899 cm^{-1} C-H deformation of cellulose, 672 cm^{-1} C-OH out-of-plane bending in cellulose.

The irradiating-time dependent diffuse reflectance FT-IR spectra are shown in Figure 6.

It can be observed that the intensity of the bands at 1507 cm^{-1} , 1595 cm^{-1} and 1464 cm^{-1} , associated to lignin, decrease during photo-degradation. This is accompanied by an increase in the intensity of the band at 1737 cm^{-1} , due to carbonyl absorption. The intensities of the peak associated to carbohydrates at 1376 cm^{-1} is not significantly affected by irradiation, so this band has been used as internal reference to evaluate the lignin decay.

In order to determine the rate of lignin decay and carbonyl formation, the intensities of the lignin band at 1507 cm^{-1} , the carbonyl band at 1737 cm^{-1} and the carbohydrate reference band at 1376 cm^{-1} were calculated(7). Then the relative change in ratio of lignin/carbohydrate bands at different exposure times were derived and statistically evaluated.

In particular, two-way ANOVA was applied to the infrared peak values to test if significant differences in relation to the samples and to the time could be found. Table 5 shows the results of the two-way ANOVA test. As can be observed in Table 5 the differences in the peak ratio with respect to the exposure times are highly significant concerning the I_{1507}/I_{1376} and I_{1507}/I_{1737} ratios. The difference is only significant as regards the I_{1737}/I_{1376} ratio.

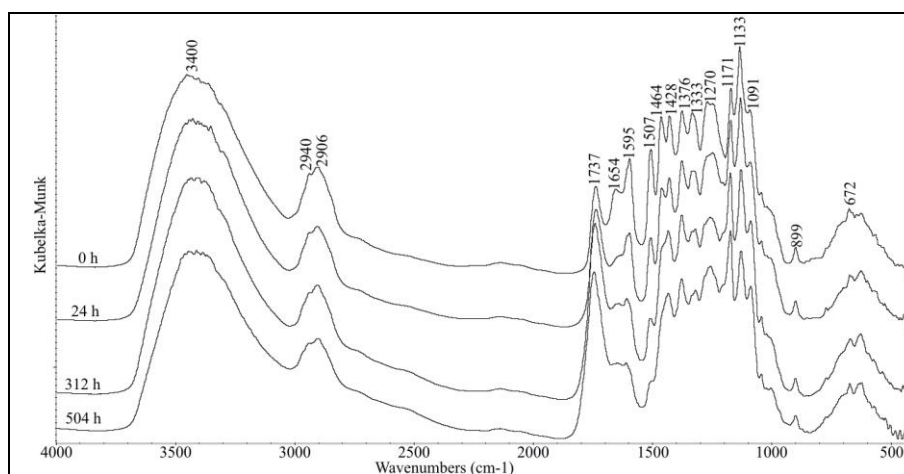


Figure 6. Diffuse reflectance spectra of poplar slices measured at chosen exposure times.

Table 5. Two-way ANOVA test applied to the peak ratios in relation to the samples and to the irradiation time.

Peak ratio	Measures Nr.	Average	Std. Dev.	Samples differences	Time differences
I_{1507}/I_{1376}	42	0.827	0.490	No significance	***
I_{1740}/I_{1376}	42	3.210	1.030	No significance	**
I_{1507}/I_{1737}	42	0.326	0.302	No significance	***

Nonlinear regression analysis was also applied to the peak ratio at the different times of exposure in Solar Box. The results are shown in Table 6 and in Figure 7.

Table 6. Nonlinear regression analysis for the peak ratio at the different times of exposure in Solar Box.

Value	Coefficient	Description	Significance	Time coefficient	Significance	R ² adj.	Significance
I_{1507}/I_{1376}	1.383	e coefficient	***	-0.005	***	0.865	***
Regression	$I_{1507}/I_{1376}=1.383e^{-0.005t}$						
I_{1737}/I_{1376}	2.808	intercept	***	0.003	*	0.129	*
Regression	$I_{1737}/I_{1376}=2.808+0.003t$						
I_{1507}/I_{1737}	0.995	intercept	***	0.0031	***	0.924	***
	-0.109	square root coefficient	***				
Regression	$I_{1507}/I_{1737}=0.995+0.0031t-0.109t^{0.5}$						

The lignin/carbohydrate intensity ratio decreased with the exposure times (as visible in Figure 7, curve A) and after 48 h of irradiation the experimental value of the I_{1507}/I_{1376} ratio decreased to about 50% of its original value.

The relative increase of the carbonyl groups during photo-irradiation was calculated by considering the ratio of intensity of carbonyl band at 1737 cm^{-1} against reference peak at 1376 cm^{-1} . The intensity of the band of the carbonyl groups increases as function of irradiation time. This can be explained with the liberation of C=O groups of degraded lignin.

As the carbonyl groups increase during the photo-ageing whereas the lignin band decreases, the ratio of intensity of the bands at 1507 and 1737 cm^{-1} undergoes a fast and significant decrease after few hours of exposure, as can be observed in Figure 7, curve C. In fact, after 12 hours of exposure the experimental value of the I_{1507}/I_{1737} ratio decreased to about 50% of its original value.

The regression analysis clearly demonstrates that for the I_{1507}/I_{1376} and I_{1507}/I_{1737} peak ratios a statistically significant regression has been derived from the experimental data. In the case of the I_{1737}/I_{1376} peak ratio the regression has a low statistical significance.

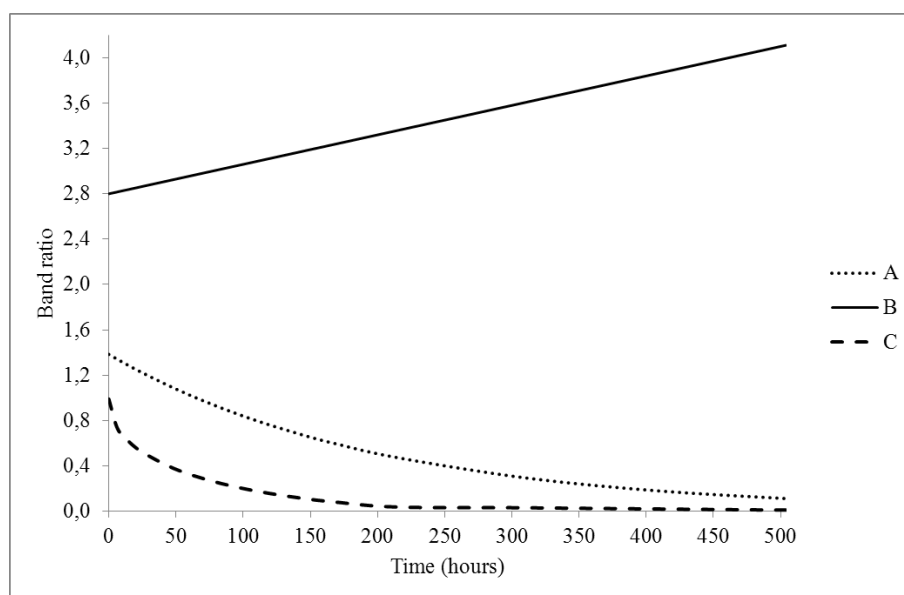


Figure 7 Change in the ratio band at different exposure times, as calculated from the regression analysis shows in Table 6. In the legend (A: I_{1507}/I_{1376}), (B: I_{1737}/I_{1376}), (C: I_{1507}/I_{1737}).

Correlation between colour and chemical changes in wood samples

At last the colour changes of wood during irradiation were correlated with lignin decay and the formation of carbonyl groups produced by the photo-degradation process. In fact, as the colour changes of the surfaces are mainly due to the liberation of C=O groups due to photo-degradation of lignin, there would be a correlation between the colour coordinates and the relative intensity of the infrared peaks associated to lignin. The results showed in Table 7 demonstrate that the lignin decay is related to photo-induced colour changes of wood surfaces.

FT-IR and Py-GC-MS analysis of Linfoil®

FT-IR analysis on Linfoil®

The composition of Linfoil® is not exactly known because it is protected by industrial patent. The only information obtained by the manufacturer is that Linfoil® is a mixture of vegetable oils, resins and waxes with the addition of different compounds with the function of stabilizers and anti-bluish.

FT-IR spectra of Linfoil® at chosen exposure times are shown in Figure 10. The FT-IR peaks can be attributed as follows(21-22): CH₂ asymmetric stretching at 2920 cm⁻¹, symmetric stretching at 2851 cm⁻¹, carbonyl stretching at 1737 cm⁻¹, CH₂ bending at 1464 cm⁻¹, the stretching of the aromatic ring at 1600 cm⁻¹ and 1580 cm⁻¹ (doublet), the C-H bending, C-O and C-C stretching fingerprint peaks, in specific, at 1265 cm⁻¹ and 1169-1104 cm⁻¹, C-H torsion band at 721 cm⁻¹. The attributed infrared peaks are all typical of an alkyd resin. The name alkyd is derived from the alcohol and acid monomers used to make the polyester

polymer, and an alkyd resin is an oil modified alkyd polyester(21-22). A simple alkyd is generally composed of phthalic anhydride (difunctional), glycerol (trifunctional) and linoleic acid(24). Alkyd resins have the most similar final visual appearance to traditional linseed oil usually employed by the restorer to protect wood surface. The main advantage in using alkyd polymers is their speed of drying in respect to linseed oil due to the high molecular weight alkyd resin and the need for fewer crosslinks for film formation(21).

Table 7. Nonlinear regression analysis applied to the peak ratio as function of the chromatic coordinates $L^*a^*b^*$.

I_{1507}/I_{1376}			I_{1507}/I_{1737}		
	B	Significance		B	Significance
Intercept	1.4582	***	Intercept	-12.420	***
L^{*2}	0.000092	***	L^{*2}	0.0017	***
a^{*2}	-0.00373	***	a^{*2}	-0.0072	***
b^{*2}	-0.001328	***	b^{*2}	0.0032	***
$R^2_{adj.}=0.999$			$R^2_{adj.}=0.995$		
$I_{1507}/I_{1376}=1.4582+0.000092L^{*2}-0.00373a^{*2}-0.001328b^{*2}$			$I_{1507}/I_{1737}=-12.420+0.0017L^{*2}-0.0072a^{*2}+0.0032b^{*2}$		

By examining the spectra in Figure 10, it can be observed that over time there was a little increase and broadening of the OH groups peak between 3300 cm^{-1} and 3500 cm^{-1} , and a broadening of the carbonyl peak (at 1737 cm^{-1}), signifying the formation of additional oxygen bearing species on the surfaces of the films. Such ageing and degradation carbonyl species are carboxylic acids, ketones and aldehydes(21,24). The shoulder at 1780 cm^{-1} may be attributed to the formation of a γ -lactone, as reported by various authors(25-26).

Little variations can be observed also in the peaks at 1464 cm^{-1} and 1169 cm^{-1} whereas the weak band at 876 cm^{-1} completely disappeared after 24 hours of exposure.

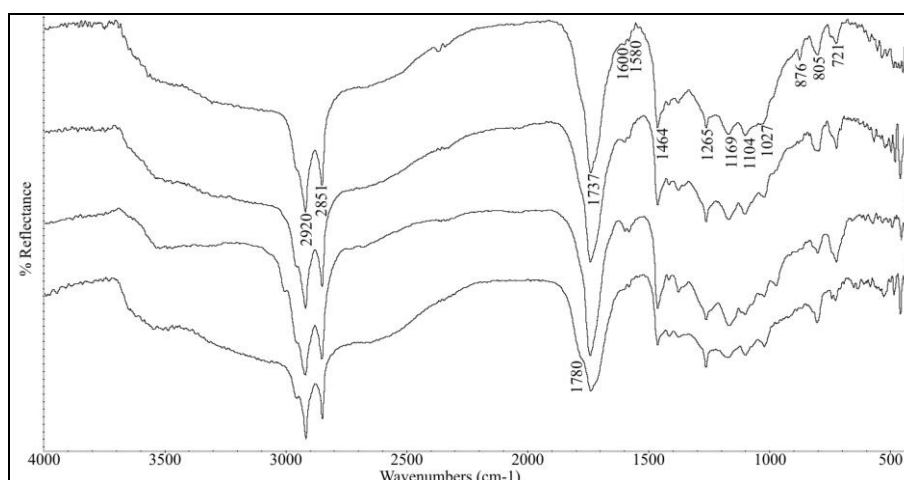


Figure 10. Diffuse reflectance FT-IR spectra of Linfoil® measured at chosen exposure times.

At last, it must be stressed that the observed changes in the infrared spectra due to the irradiation are very little, suggesting a discrete stability of this product. Probably the incorporation of additives in the mixture improve the resistance to photo-degradation usually observed in the alkyd resins and similar to that observed for linseed oils(21).

Py-GC-MS analysis of Linfoil®

Pyrograms of Linfoil® obtained at 0 and 312 hours of exposure are shown in Figure 11. The qualitative composition of the two samples is very similar and the principal products obtained by pyrolysis confirm the results achieved from FT-IR analysis. The peaks attributed to phthalic anhydride, palmitic acid and stearic acid are typical signals of the alkyd resins(27). Moreover, the presence of many other peaks suggest that Linfoil® is a modified alkyd resin: peaks corresponding to homologous series of dimethyl siloxanes are correlated to silicone modifier, the signals attributed to styrene and benzoic acid identify the inclusion of styrene and benzoic acid respectively into the pre-polymerization mix(27-28).

Regarding the effect of exposure over the polymeric structure of the product, it can be observed a little difference between the pyrograms obtained at 0 (Figure 11A) and 312 (Figure 11B) hours of exposure. A decreasing of all siloxane signals is an evident difference probably due to the increase of degree of polymerization correlated to the ageing.

This result further demonstrates the stability of Linfoil® to the photo degradation, also in accordance with the findings by other authors for alkyd resin coating composite(29).

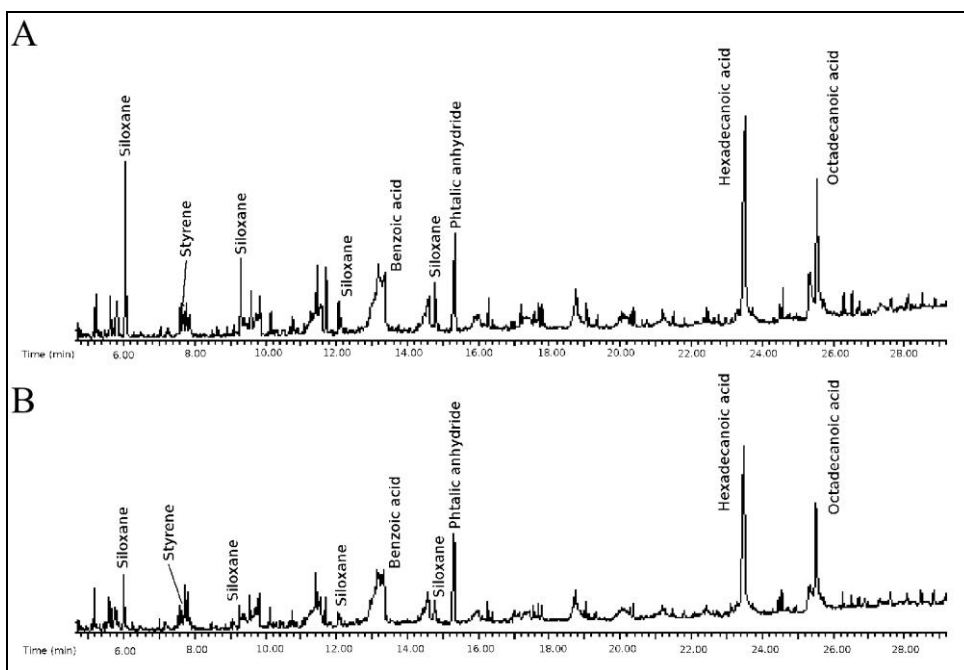


Figure 11. Pyrograms obtained by pyrolysis of Linfoil® samples at 0 (A) and 312 (B) hours of exposure.

Conclusion

The study of colour changes in poplar samples showed that the wood exhibits high colour variability. The colour measurements have to be realized exactly in the same points during the time in order to avoid calculating surface variability rather than colour changes of wood due to simulated sunlight exposure. Wood surface colour undergoes an important variation due to photo-irradiation. The greatest changes occur within the first 24 hours and they are mainly due to L^* decrease and b^* increase. Linfoil® treatment modified wood colour. Nevertheless, wood samples treated with Linfoil® exhibited colour changes much lower than those of untreated samples. This product seems to protect wood surface by reducing the yellowish.

M-ANOVA and Tukey tests underline that L^* , a^* and b^* undergo statistically significant changes after the exposure times both for untreated and treated samples further demonstrating that surface wood colour remarkably changes due to the irradiation in Solar Box. The regression analysis, applied both to the chromatic coordinates as function of the time and vice versa, underlines the highly statistical significance of the experimental data.

The monitoring of Linfoil® ageing in Solar Box put in evidence that this product undergoes little colour variations caused especially by the decrease of b^* .

FT-IR spectroscopy allowed to investigate the rate of photo-degradation of wood surface due to lignin oxidation.

The rate of photo-degradation of wood surface was investigated by studying the lignin/carbohydrate intensity ratio as function of time. The results put in evidence that lignin degrades quickly: after 48 hours of irradiation the lignin/carbohydrate ratio (I_{1507}/I_{1376}) decreased to about 50% of its original value.

The regression analysis applied to the infrared peak ratios demonstrated that the differences between the values at the various irradiation times are statistically significant, apart from the I_{1737}/I_{1376} ratio.

Moreover a correlation between the colour changes and the chemical modifications was investigated in order to assess the applicability of colorimetric measurements in totally non-invasive modality on the works of art.

The most important result was that a correlation of the colour changes may be derived with the photo-degradation of lignin obtained by FTIR analysis. This finding demonstrates that non-invasive colour measurements can be used to evaluate the photo-degradation of untreated and surface treated wood. In particular the regression analysis showed that the lignin decay is related to the photo-induced colour variations of wood surfaces expressed by the $L^*a^*b^*$ coordinates.

Linfoil® was investigated through FT-IR and Py-GC-MS analysis in order to obtain information on its composition and to better understand its protection capability in regards to the wood surface.

FT-IR and Py-GC-MS analysis put in evidence that Linfoil® is composed of an alkyd resin and that it is highly stable to the irradiation in Solar Box.

In conclusion, colour measurement demonstrated a valid and useful tool for the evaluation of wood surface modifications caused by UV irradiation, suggesting the possibility to choose this non-invasive method as a standard control test especially in the conservation field. Linfoil®, a relatively new product of great interest for the restorers, exhibits high stability to the irradiation with UV light, though its composition differs from that declared by the supplier.

This results suggests the necessity to test the commercial products before applying them on a real artefact in order to avoid the failure of the restoration work, and perhaps even further damage to the work of art.

For this reason further experimental work will be performed to test other new and promising commercial products and other wood species used both in cultural heritage and in modern objects and artefacts.

References

1. Marengo, E., Robotti, E., Liparota, M. C., Gennaro, M. C., "A Method for Monitoring the Surface Conservation of Wooden Objects by Raman Spectroscopy and Multivariate Control Charts", *Analytical Chemistry* 75, 5567-5574 (2003).
2. Marengo, E., Robotti, E., Liparota, M. C., Gennaro, M. C., "Monitoring of pigmented and wooden surfaces in accelerated ageing processes by FT-Raman spectroscopy and multivariate control charts", *Talanta* 63, 987-1002 (2004).
3. Pandey, K. K., "Study of the effect of photo-irradiation on the surface chemistry of wood", *Polymer Degradation and Stability* 90, 9-20 (2005).
4. Lo Monaco, A., Marabelli, M., Pelosi, C., Picchio, R., "Colour measurements of surfaces to evaluate the restoration materials", *Proc. SPIE* 8084, 1-14 (2011).
5. Lo Monaco, A., Pelosi, C., Picchio, R., "Colour evolution of wood surfaces in simulated sunlight exposure", *Proc. Colour and Colorimetry. Multidisciplinary Contributions*, 207-214 (2011).

6. Genco, G., Lo Monaco, A., Pelosi, C., Picchio, R., Santamaria, U., "A study of colour change due to accelerated sunlight exposure in consolidated wood samples", *Wood Research* 56 (4), 511-524 (2011).
7. Pandey, K. K., Pitman, A. J., "FTIR studies of the changes in wood chemistry following decay by brown-rot and white-rot fungi", *International Biodeterioration and Biodegradation* 52, 151-160 (2003).
8. Ferreira, R.C., Lo Monaco, A., Picchio, R., Schirone, A., Vessella, F., Schirone, B., "Wood anatomy and technological properties of an endangered species: *Picconia azorica* (Oleaceae)", *IAWA Journal* 33 (4), 375-390 (2012).
9. Sharratt, V., Hill, C.A.S., Kint, D.P.R., "A study of early colour change due to simulated accelerated sunlight exposure in Scots pine (*Pinus sylvestris*)", *Polymer Degradation and Stability* 94, 1589-1594 (2009).
10. Tolvaj, L., Mitsui, K., "Correlation between hue angle and lightness of light irradiated wood", *Polymer Degradation and Stability* 95, 638-642 (2010).
11. Oltean, L., Teischinger, Hansmann, C., "Wood surface discolouration due to the simulated indoor sunlight exposure, *Holz als Roh- und Werkstoff* 66, 51-56 (2008).
12. Deglise, X., Merlin, A., "Comportement photochimique du bois non traité", *Durabilité des bois* (Dirol D., Deglise X. Eds), Herès Science Publication, Paris, 229-268 (2002).
13. Hon, D. N. S., Shiraishi, N., "Color and Discoloration and Weathering and photochemistry of wood", *Wood and Cellulose chemistry*, Marcel Dekker Inc., New York, 385-442, 513-546 (2001).
14. Kataoka, Y., Kigushi, M., "Depth profiling of photo-induced degradation in wood by FT-IR Microspectroscopy", *Journal of Wood Science* 47, 325-327 (2001).
15. George, B., Suttie, E., Merlin, A., Deglise, X., "Photodegradation and photostabilisation of wood - the state of the art", *Polymer Degradation and Stability* 88, 268-274 (2005).
16. Tolvaj, L., Mitsui, K., Varga, D., "Validity limits of Kubelka-Munk theory for DRIFT spectra of photodegraded solid wood", *Wood Science and Technology* 45, 135-146 (2011).
17. Moore, A.K., Owen, N.L., "Infrared spectroscopic studies of solid wood", *Applied Spectroscopy Reviews* 36, 65-86 (2001).
18. Chang, H.T., Yeh, T.F., Chang, S.T., "Comparisons of chemical characteristic variations for photodegraded softwood and hardwood with/without polyurethane clear coatings", *Polymer Degradation and Stability* 77, 129-135 (2002).

19. Colom, X., Carrillo, F., Nogués, F., Garriga, P., "Structural analysis of photodegraded wood by means of FTIR spectroscopy", *Polymer Degradation and Stability* 80, 543-549 (2003).
20. Knuutinen, U., Kyllonen, P., "Two case studies of unsaturated polyester composite art objects", *e-Preservation Science* 3, 11-19 (2006).
21. Ploeger, R., Scalarone, D., Chiantore, O., "The characterization of commercial artists' alkyd paints", *Journal of Cultural Heritage* 9, 412-419 (2008).
22. Azimi, A. R. N., Yahya, R. Gan, S. N., "Improving coating characteristics of palm stearin alkyd by modification with ketone resin" 76, 712-719 (2013).
23. Learner, T., "Analysis of Modern Paints", Getty Publication, Canada, 1-210 (2004).
24. Xu, Y., Yan, C., Ding, J., Gao, Y., Cao, C., "UV photo-degradation of coatings", *Journal of the Chinese Society of Corrosion and Protection* 24 (3), 168-173 (2004).
25. Allen, N.S., Parker, M.J., Regan, C.J., McIntyre, R.B., Dunk, W.A.E., "The durability of water-borne acrylic coatings", *Polymer Degradation and Stability* 47, 117-127 (1995).
26. Melo, M.J., Bracci, S., Camaiti, M., Chiantore, O., Piacenti, F., "Photo-degradation of acrylic resins used in the conservation of stone", *Polymer Degradation and Stability* 66, 23-30 (1999).
27. Learner, T., "The Analysis of Synthetic Paints by Pyrolysis - Gas Chromatography - Mass Spectrometry (PyGCMS)", *Studies in Conservation* 46 (4), 225-241 (2001).
28. Burns, D.T., Doolan K.P., "A comparison of pyrolysis-gas chromatography-mass spectrometry and Fourier transform infrared spectroscopy for the analysis of a series of modified alkyd paint resins", *Analytica Chimica Acta* 422, 217-230 (2000).
29. Peng, X., "Research on the aging propeorties of exterior wood coatings", *Proc. International Conference on Biobase Material Science and Engineering*, 121-126 (2012).

6. Surface Investigation of Photo-Degraded Wood by Colour Monitoring, Infrared Spectroscopy, and Hyperspectral Imaging

6.1. Premessa

L'obiettivo di questa parte del lavoro è stato quello di studiare le modifiche superficiali, sia di colore che di composizione chimica, alle quali è sottoposto il legno di *Populus L. sp.* esposto a radiazione luminosa in ambiente controllato. La scelta di questa specie è stata dettata dal fatto che è stata largamente utilizzata in Italia per la creazione di manufatti artistici di interesse culturale.

Sono state utilizzate diverse metodologie di indagine: la spettrofotometria di riflettanza, la spettroscopia infrarossa a trasformata di Fourier (FT-IR) e l' *Hyper Spectral Imaging* (HSI). Lo scopo è stato capire i meccanismi che causano questi mutamenti e individuare soluzioni a queste forme di degradamento.

Un aspetto importante di questo lavoro è stato quello di mettere a confronto metodologie classiche di indagine (spettrofotometria di riflettanza ed FT-IR) con metodologie più innovative (HSI).

I campioni sono stati esposti a radiazione luminosa artificiale in Solar Box (Erichsen Instruments) a condizioni tali da simulare la radiazione solare. Il colore è stato misurato con spettrofotometro di riflettanza (X-Rite) ai seguenti intervalli: 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 216, 312, 408 e 504 ore. Tale strumento restituisce dati secondo il metodo CIE-L*a*b* 1976.

Per gli spettri FT-IR è stato utilizzato uno spettrometro Nicolet Avatar 360, e sono stati utilizzati i seguenti intervalli di esposizione: 0, 6, 12, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 216, 312, 408 e 504 ore. Per l'elaborazione degli spettri è stato utilizzato il *software* OMNIC 8.0 (Thermo Electron Corporation).

Le analisi iperspettrali sono state eseguite in due diverse fasi: una nella gamma 400-1000 nm (VIS-NIR) utilizzando un ImSpector V10E (SPECIM Ltd, Finland), montato su un microscopio Leica M205C e l'altra nella gamma 1000-2500 nm (SWIR) utilizzando un Specim SISUChema XL, che incorpora un ImSpector N25E (Specim Ltd, Finland).

Le analisi statistiche dei dati ottenuti dalle analisi spettrofotometriche ed FT-IR sono state elaborate statisticamente con il *software* Statistica 2010. Nello specifico è stata effettuata l'analisi della varianza e successivamente è stato applicato il Tukey test. Sono state ottenute anche le regressioni lineari e non lineari per sviluppare modelli che possano mettere in relazione i due fenomeni osservati.

Sui dati nel VIS-NIR è stata applicata la *Principal Component Analysis* (PCA), mentre nello SWIR è stata applicata la *Partial Least Squares Discriminant Analysis* (PLS-DA).

Lo studio dei cambiamenti di colore ha mostrato un'importante variazione di colore nelle prime 24 ore, dovuta specialmente ad una decrescita della componente L^* ed ad una crescita della componente b^* .

L'analisi della varianza ed il Tukey test sottolineano come con il tempo di esposizione, il colore vari in maniera statisticamente significativa.

Sono state trovate inoltre le relazioni, statisticamente significative, che legano le coordinate colorimetriche al tempo di esposizione e vice versa, il rapporto dei picchi degli spettri FT-IR al tempo di esposizione ed il rapporto dei picchi degli spettri FT-IR alle coordinate colorimetriche.

Quest'ultimo aspetto risulta molto importante perché può permettere di conoscere il livello di alterazione chimica del legno in superficie effettuando semplici misure colorimetriche ed evitando analisi invasive e distruttive.

Per quanto riguarda HSI, l'analisi PCA nel VIS-NIR ha confermato che le maggiori variazioni di colore sono osservabili nelle prime 24 ore di esposizione e che esiste una relazione tra alterazione della lignina e tempo di esposizione.

Inoltre la PCA nello SWIR dimostra una correlazione tra i profili spettrali ed il tempo di esposizione alla radiazione luminosa. Invece la PLS-DA ha permesso di ottenere un modello previsionale al fine di classificare campioni esposti a radiazione luminosa.

Pertanto è stata stabilita una correlazione tra alterazione di colore e fotodegradazione del legno.

Questo lavoro è stato presentato in forma preliminare alla “*10th conference of Italian Society of Agricultural Engineering*” (AIIA13) che si è tenuta a Viterbo (8-12 settembre 2013) ed è stato pubblicato in forma definitiva sulla rivista internazionale “*Journal of Spectroscopy*”. Di seguito viene allegato il manoscritto dell'articolo.

6.2. *Manoscritto*

Surface Investigation of Photo-Degraded Wood by Colour Monitoring, Infrared Spectroscopy, and Hyperspectral Imaging

Giorgia Agresti¹, Giuseppe Bonifazi², Luca Calienno³, Giuseppe Capobianco², Angela Lo Monaco³, Claudia Pelosi¹, Rodolfo Picchio³, and Silvia Serranti²

¹ Department of Cultural Heritage Sciences, University of Tuscia, Largo dell'Università, 01100 Viterbo, Italy

² Department of Chemical Engineering Materials & Environment, Sapienza-Rome University, Via Eudossiana 18, 00184 Rome, Italy

³ Department of Agriculture, Forests, Nature and Energy (DAFNE), University of Tuscia, Via San Camillo de Lellis, 01100 Viterbo, Italy

Correspondence should be addressed to Claudia Pelosi; pelosi@unitus.it

Keywords: Poplar (*Populus* sp.) wood; Colour measurement; Fourier Transform Infrared spectroscopy; Hyperspectral imaging.

The aim of this investigation is to study the changes occurring on the surface of poplar wood exposed to artificial irradiation in a Solar Box. Colour changes were monitored with a reflectance spectrophotometer. Surface chemical modifications were evaluated by measuring the infrared spectra. Hyperspectral imaging was also applied to study the surface wood changes in the visible-near infrared and the short wave infrared wavelength ranges. The data obtained from the different techniques were compared to find the possible correlations in order to evaluate the applicability of the Hyperspectral imaging to investigate wood modifications in a noninvasive modality. The study of colour changes showed an important variation due to photo-irradiation which is the greatest change occurring within the first 24 hours. Infrared spectroscopy revealed that lignin degrades mainly in the first 48 hours. Concerning Hyperspectral imaging, the spectral features in the visible-near infrared range are mainly linked to the spectral shape, whereas in the short wave infrared cellulose and lignin affect shape and reflectance levels. The proposed approach showed that a correlation can be

established between colour variation and wood degradation in the visible-near infrared range; furthermore in the short wave infrared region surface chemical changes can be assessed.

Introduction

The focus of this work is to study the surface modifications of poplar (*Populus* sp.) wood by reflectance spectrophotometry, Fourier Transform Infrared (FT-IR) spectroscopy, and Hyper Spectral Imaging (HSI) in order to understand the mechanisms that cause the changes and to suggest possible solutions to avoid the degradation phenomena. The choice of poplar was due to its widespread use in Italy for the creation of statues, ceilings, furniture, doors, painted panels, and so forth.

In cultural heritage the monitoring of wood surfaces during light exposure should be performed through nondestructive methods to avoid the paradox of damaging a work of art while monitoring its preservation state [1, 2]. For this reason colour measurements were chosen as a possible method to evaluate wood surface changes.

Since colour changes on wood surfaces are due to photo degradation of its chemical constituents, the study of the relationship between CIELAB colour changes and changes in chemical composition due to irradiation is of practical importance both in cultural heritage and in contemporary artefacts and objects [3].

This work starts from previous studies, developed by the same authors of this paper, regarding colour measurements on poplar and chestnut wood [4–7]. The novelty of this work, in respect of the previous ones, is the attempt to verify the possible correlations existing between colorimetric and chemical data in the perspective to develop simple, fast and reliable techniques to detect wood surface modifications.

The first studies dealing with the application, in the visible range, of multi spectral and HIS-based techniques to wood date back to 1941 [8] where this approach was used to identify compression wood in conifers, where compression wood appears more opaque in comparison with normal wood that appears translucent. Results showed some limitations. Methods based on near infrared (NIR) imaging were thus developed and applied to classify wood (i.e., compression and opaque) [9] and further “refined” to perform region mapping (i.e., bark, compression, and normal wood) [10]. In the recent years the utilisation of HIS-based techniques increased considerably, also in the field of wood studies where they are used especially to perform the chemical surface mapping for obtaining the distribution of lignin, galactose, and glucose in different wood species [11].

The focus of this work is to make a comparison between classical colorimetric investigation procedures, chemical analysis, and the proposed innovative HIS-based technique in order to verify the possibility to use colour measurements as a quick and simple method to control the surface modifications. The fulfillment of this goal was achieved by examining the correlations

between classical colorimetric and chemical data with wood surface spectral characteristics detected in the (i) VIS-NIR (400–1000 nm) and (ii) SWIR (Short-Wave Infrared, 1000–2500 nm) wavelength ranges. This approach is of great interest in the perspective to set up efficient, robust, noninvasive, and non-destructive analytical tools addressed to evaluate status and modifications of photo-degraded wood surfaces.

Materials and Methods

Sample Preparation

Wood samples were obtained by a single board of poplar. After cutting, the samples were stored in darkness in a conditioned room at 65% relative humidity and a temperature of 22°C to reach the 12% of moisture content. To perform the FT-IR analysis directly on wood surface, slices with a size of 10 (diameter) mm were obtained from the specimens of poplar. The dimensions of the slices were suitable for the FT-IR diffuse reflectance accessory. The same slices were used to perform the HSI measurements.

Accelerated Ageing

The accelerated ageing of the samples was performed in a Model 1500E Solar Box (Erichsen Instruments GmbH & Co). The system is equipped with a 2.5kW xenon-arc lamp and an UV filter that cuts off the spectrum at 280 nm. The samples were exposed in the Solar Box chamber from 1 to 504 h at 550W/m², 55°C, and the UV filter at 280 nm. The experimental conditions were chosen following the specifications supplied by Erichsen, in order to simulate the sunlight exposition.

Colour Monitoring

After exposure for a given length of time the samples were removed from the Solar Box chamber, and the colour was measured using an X-Rite CA22 reflectance spectrophotometer. The characteristics of the colour measuring instrument are the following: colour scale CIEL*a*b*; illuminant D65; standard observer 10°; geometry of measurement 45°/0°; spectral range 400–700 nm; spectral resolution 10 nm; measurement diameter 4 mm; white reference supplied with the instrument. The CIELAB colour system was used where L* describes the lightness while a* and b* describe the chromatic coordinates on the green-red and blue-yellow axes, respectively. The differences in lightness (ΔL^*), chromatic coordinates (Δa^* and Δb^*), and total colour (ΔE^*) were then calculated using these parameters according

to Normal 14/93 (1993) and EN 15886 (2010). The total colour difference, ΔE^* , between two measurements ($L^*_1 a^*_1 b^*_1$ and $L^*_2 a^*_2 b^*_2$) is the geometrical distance between their positions in CIELAB colour space. It is calculated using the following equation: $\Delta E^*_{2,1} = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2}$.

Measurements were taken at the following hour intervals: 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 216, 312, 408, and 504 h.

To guarantee that successive measurements were made in the same area a graduated mask was used.

Ninety colour measuring points were chosen and three measures for each point were performed, according to Normal 14/83, so that two hundred and seventy measurements were realized at each exposure time.

Fourier Transform Infrared Spectroscopy

Infrared spectra were obtained using a Nicolet Avatar 360 Fourier transform spectrometer. For each sample 128 scans were recorded in the 4000 to 400 cm^{-1} (2500 – 25000 nm) spectral range in diffuse

reflection modality (DRIFT) with a resolution of 4 cm^{-1} . Spectral data were collected with OMNIC 8.0 (Thermo Electron Corporation) software.

To obtain the FT-IR spectra, sample slices were directly inserted in the FT-IR diffuse reflectance accessory unit. As background the spectrum of the KBr powder was used.

FT-IR spectra were recorded at the following time intervals: 0, 6, 12, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 216, 312, 408, and 504 hours.

Peak heights were measured using OMNIC software according to the method described in the literature [12].

Hyperspectral Imaging

Hyperspectral analyses were carried out in two steps: a 1st step addressed to analyses the degraded wood surfaces in the wavelength interval 400 – 1000 nm (VIS-NIR) and a 2nd step in which the analysis was performed in the interval 1000 – 2500 nm (SWIR). The investigations were developed with two different sensing devices:

- (i) ImSpector V10E (SPECIM Ltd, Finland) acting in the range 400 – 1000 nm , with a spectral sampling/pixel of 2.8 nm , a dispersion of 97.5 nm/mm , and $F/2.4$ numerical aperture, coupled with a CCD camera (780×580 pixels). Pixel resolution was 12 bits;

(ii) Specim SISUChema XL, embedding an ImSpector N25E (Specim Ltd, Finland) acting in the range from 1000 to 2500 nm, with a spectral sampling/pixel of 6.3 nm, coupled with a MCT camera (320×240 pixels). Pixel resolution was 14 bits.

These two detection architectures were specifically set up in order to allow a static (*off-line*) and also a dynamic analysis, that is the possibility to carry out tests on “moving” samples. Both devices work as a push-broom type line scan camera allowing the acquisition of spectral information for each pixel in the line. The transmission diffraction grating and the optical components provide high light throughput, high-quality and distortion-less images. The result of the acquisition is constituted by a digital image where each column represents the discrete spectrum values of the corresponding element of the sensitive linear array. Both analytical stations are controlled by a PC unit equipped with specialized acquisition/preprocessing software, developed to handle the different units and the sensing device and to perform the acquisition and the collection of the spectra.

Statistical and Spectral Analysis

FT-IR and Colour Data

These data were analysed with the StatSoft Statistica 2010 advanced statistics software. As a first step, data distribution was plotted and visually checked for normality. Differences between treatments were checked with the standard paired t-test, with ANOVA and M-ANOVA analyses. Posthoc tests were conducted with Tukey HSD test method. Linear and nonlinear regression analyses were used to develop prediction models.

HSI: Spectra Acquisition and Handling

For the 1st set of acquisitions (400–1000 nm) the ImSpector V10E was installed on a Leica M205C stereomicroscope. The energizing source was constituted by MI-150 Dolan Jenner fiber optic device equipped with a dichroic lamp. For the 2nd set of acquisitions (1000–2500 nm) the SISUChema XL was used, equipped with macro lens allowing the acquisition of wood samples with a resolution of 30 μm /pixel. Images were acquired through scanning each investigated sample line by line.

The calibration of the procedures was performed through recording black and white reference images. Certified standards were used. Black image (B) was acquired to remove the dark current effect of the camera sensor. White reference image (W) was acquired using a ceramic

tile, calibrated with a NPL Spectralone specimen, in the same condition employed for the raw image acquisition. The image correction was thus performed adopting the following equation:

$$I = \frac{I_0 - B}{W - B} * 100 \quad (1)$$

where I is the corrected hyperspectral image in a unit of relative reflectance (%), I_0 is the original hyperspectral image, B is the black reference image (~0% reflectance), and W is the white reference image (~99.9% reflectance). All the corrected images were then used to perform the HIS-based analysis, that is to extract spectral information and to select the effective wavelengths for the final classification purposes.

Spectral data analysis was carried out adopting standard chemometric methods [13, 14], by the PLS Toolbox (Version 6.5.1, Eigenvector Research, Inc.) running inside Matlab (Version 7.11.1, The Mathworks, Inc.). In particular, the spectra preprocessing was performed as follows: raw spectra were preliminary cut, at the beginning and at the end of the investigated wavelength range, in order to eliminate unwanted effects due to lighting/background noise. Concerning VIS-NIR, the wavelength reduction was from 121 to 81 nm so that the investigation was carried out in the spectral range 500–900 nm. As regards SWIR, the reduction was from 256 to 240 nm resulting in a spectral range 1005–2500 nm. Different pretreatments, De-trend 1st polynomial, Mean-center, 1st Derivative, Standard Normal Variation, Generalized Least Square Weighting (GLSW), and Baseline techniques, were systematically used to classify the different investigated samples.

Principal Component Analysis (PCA) was applied to the spectral data for all investigated samples. It was used to decompose the “processed” spectral data into several principal components (PCs) (linear combinations of the original spectral data) embedding the spectral variations of each collected spectral data set. According to this approach, a reduced set of factors is produced. Such a set can be used for discrimination, since it provides an accurate description of the entire dataset. The first few PCs, resulting from PCA, are generally employed to analyses the common features among samples and their grouping: in fact, samples characterized by similar spectral signatures tend to aggregate in the score plot of the first two or three components. Spectra could be thus characterized either by the reflectance at each wavelength in the wavelength space, or by their score on each PC in the PC space. Samples characterized by similar spectra, which belong to the same class of products, are grouped in the same region of the score plot related to the first two or three PCs, whereas

samples characterised by different spectral features will be clustered in other parts of this space.

Partial Least Squares Discriminant Analysis (PLS-DA) was used to find a model able to perform an optimal discrimination among classes of samples and to predict new images. PLS-DA is a supervised classification technique, requiring a prior knowledge of the data [15]. PLS-DA is used to classify samples into predefined groups by forming discriminant functions from input variables (wavelengths) to yield a new set of transformed values that provides a more accurate discrimination than any single variable (wavelength). A discriminant function is then built using samples with known groups to be employed later to classify samples with unknown group set. Therefore, once the model is obtained, it can be applied to an entire hypercube and for the classification of new hypercubes. The result of PLS-DA, applied to the hyperspectral images, is a “prediction map,” where the class of each pixel can be identified using colour mapping.

Results and Discussion

Colour Changes of Wood Samples

Colour variability of poplar wood was widely discussed elsewhere suggesting the necessity to perform a high number of measurements in order to avoid this variability [4, 16]. In particular, 270

colour measurements were obtained at each exposure time. M-ANOVA and Tukey tests were applied to the chromatic coordinates as function of irradiation times, until 504 hours of exposure (Table 1). ANOVA test underlines that L^* , a^* and B^* undergo statistically significant changes after the exposure times. Tukey's Honestly Significant Different (HSD) test is used in conjunction with the ANOVA in order to find the means significantly different from each other. The letters a, b, c, and so forth in Table 1 (columns HSD) indicate the means' groups statistically different. In particular, Table 1 puts in evidence that during the first hours of irradiation there are low differences suggesting the possibility to start the measurements directly after 6 hours of irradiation.

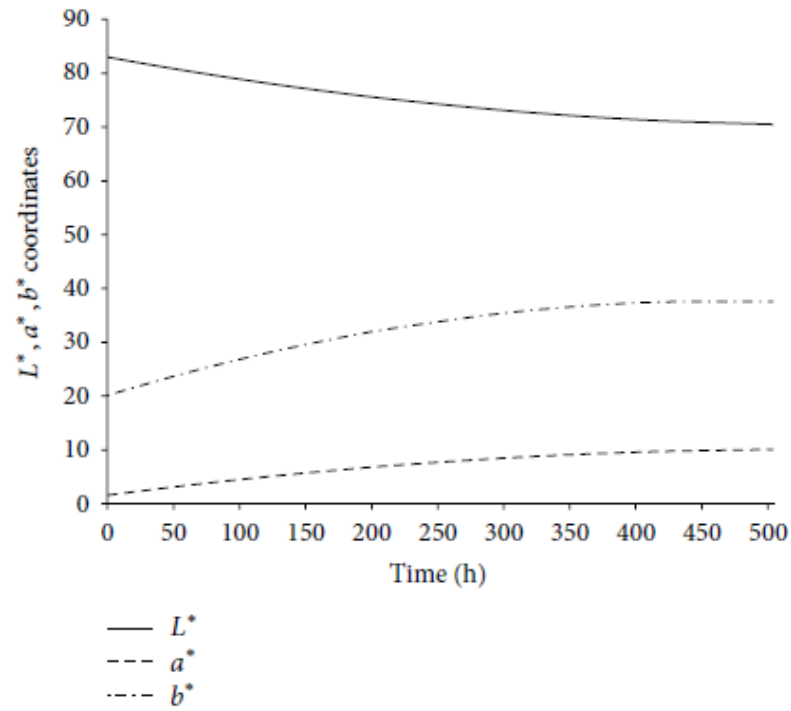


Figure 1: Colour changes of poplar samples due to photoirradiation. Variation of L^* , a^* and b^* parameters at different exposure times as calculated from the regression analysis shown in Table 2.

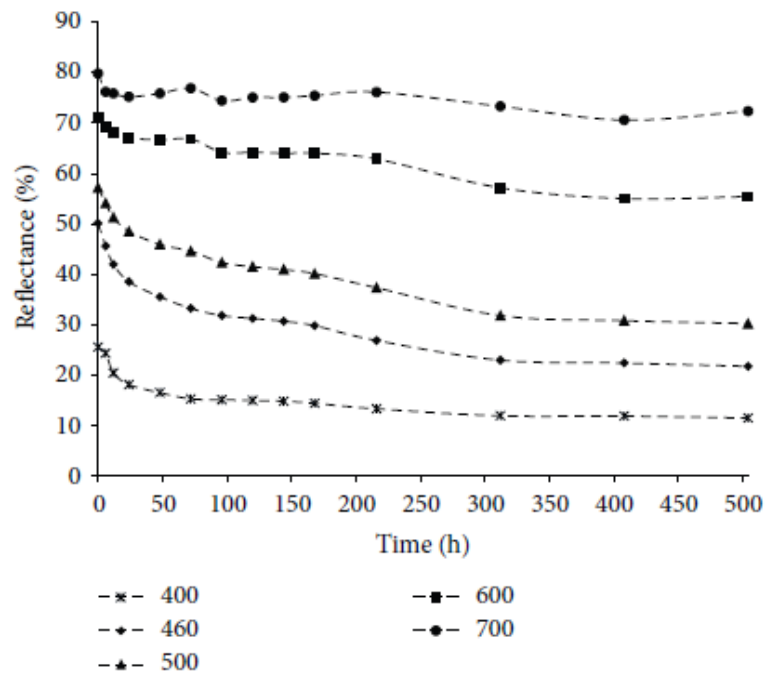


Figure 2: Variation in the reflectance spectra of poplar wood due to photo irradiation. Focus on the changes occurring at specific wavelengths within 504 h.

As the chromatic coordinates undergo statistically significant differences at the chosen irradiation times, the nonlinear regression analysis was applied to the coordinates at different hours of exposure in Solar Box in order to evaluate the statistical significance of the

experimental data. The regression analysis describes the model of variation of the three chromatic coordinates. The results reported in Table 2 and in Figure 1 demonstrate that the various components exhibit a high statistical significance concerning every polynomial function used for the analysis.

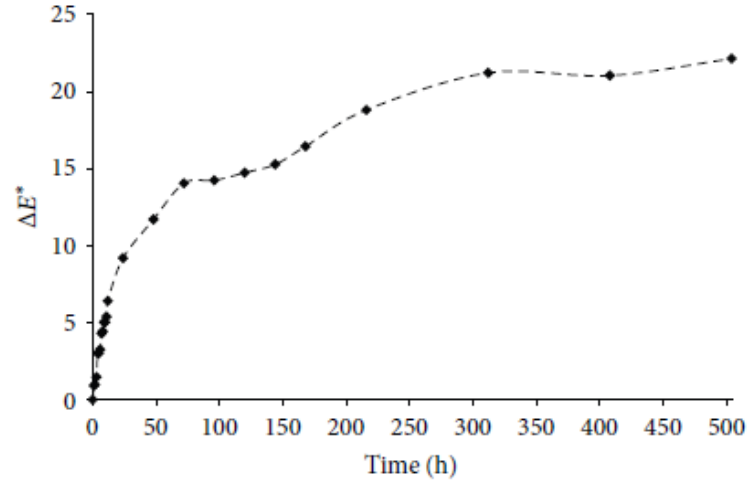


Figure 3: Changes in ΔE^* values due to exposure in Solar Box of the poplar samples over 504 h.

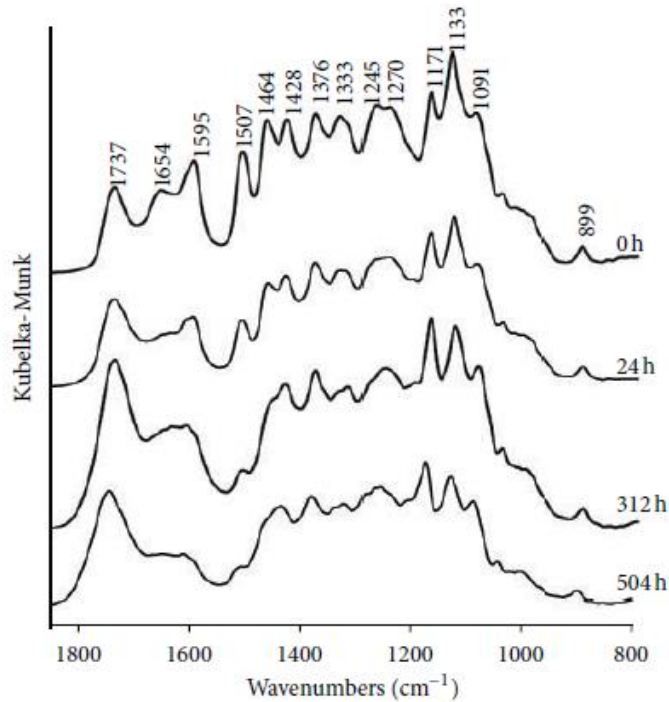


Figure 4: Diffuse reflectance spectra of poplar slices measured at chosen exposure times. Focus on the region 1850–800 cm^{-1} .

In particular, the colour changes are reported as variations of the L^* , a^* and b^* coordinates in function of time (Figure 1) as calculated from the regression analysis shown in Table 2.

As can be observed in the figure, wood colour varies with the exposure time; in particular, lightness (L^*) values decrease markedly, whereas the chromaticity parameters a^* and b^* increase, as found also by other authors on different species [3, 17, 18]. In particular, as shown in Table 1, L^* value decreases from 84.3 to 71.6. The a^* and b^* coordinates increase from 2.0 to 9.5 and from 16.8 to 33.3, respectively. In general it is possible to state that the greatest change occurs within the first 24 h of exposure and around the 460 nm wavelength ($\Delta\text{Reflectance}\% = -28.3$) which corresponds in violet/blue shades, as deduced by the reflectance spectra (Figure 2). This correlates to an increase in yellow/red colouring and is in agreement with an increase of b^* coordinate.

A nonlinear regression analysis with three dependent variables was applied to the time in function of colour coordinates (Table 3). The results shown in Table 3 underline the highly statistical significance of the obtained measures regarding the dependent variable time ($\square$) as function of the colour coordinates (L^* , a^* , b^*).

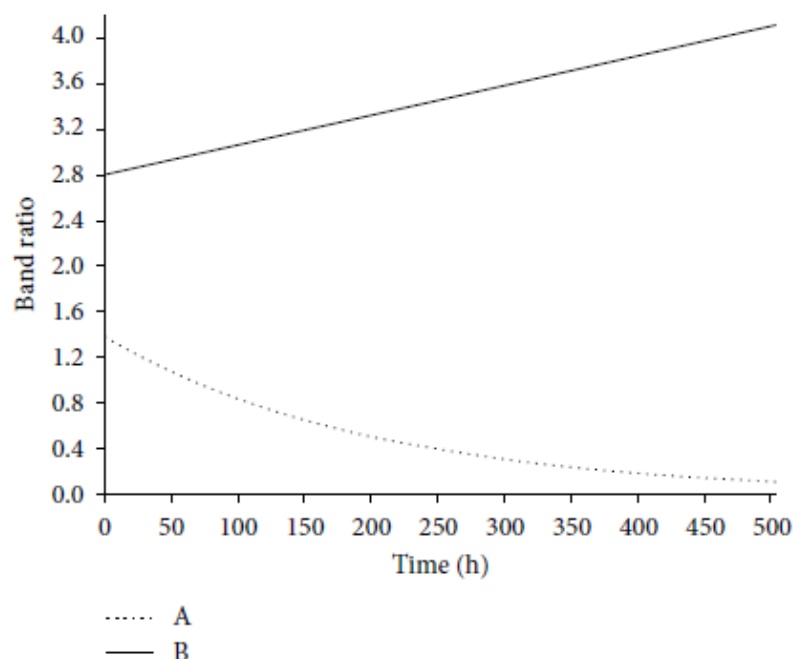


Figure 5: Change in the ratio band at different exposure times, as calculated from the regression analysis shown in Table 5. In the legend (A: I_{1507}/I_{1376}), (B: I_{1737}/I_{1376}).

Table 1: Averages of the chromatic coordinates at different times of exposure in Solar Box for poplar samples. M-ANOVA test shows highly significant differences of the colorimetric parameters at different exposure times. Different letters indicate statistical differences (Tukey test, $\alpha = 0.01$).

Time (h)	L^*	HSD	a^*	HSD	b^*	HSD
0	84.3	a	2.0	b, c	16.8	a
1	83.7	b	1.4	a	16.7	a
2	83.6	b	1.3	a	17.1	b
3	83.4	b, c	1.4	a	17.8	c
4	83.8	a, b	1.3	a	19.7	d
5	83.3	b, c	1.4	a	19.6	d
6	83.0	c, d	1.5	a	19.7	d
7	82.6	d, e	1.9	b	20.7	e
8	82.0	e, f	2.0	b, c	20.6	e
9	81.7	f	2.0	b, c, d	21.1	f
10	82.0	f	2.1	b, c, d	21.2	f
11	81.9	f	2.1	c, d	21.6	g
12	81.9	f	2.1	d	22.7	h
24	80.9	g	2.6	e	25.3	i
48	80.0	h	3.4	f	27.6	l
72	79.7	h	4.0	g	29.9	n
96	78.3	i	4.5	h	29.4	m
120	78.1	i	4.8	i	29.9	n
144	77.9	i	5.2	l	30.3	o
168	77.7	i	5.7	m	31.4	p
216	76.4	l	7.1	n	33.1	r
312	72.7	m	8.9	o	33.1	r
408	71.7	n	8.7	p	32.2	q
504	71.6	n	9.5	q	33.3	r

Colour changes have been also analysed using ΔE^* variations as function of time exposure (Figure 3). After the first 72h of exposure in Solar Box a rapid colour change in poplar wood can be observed, as reported also by Oltean *et al.* for black poplar [19]. The increases of ΔE^* become less marked over longer times but reach high values after 504 hours of exposure ($\Delta E^* = 22.13$ after 504 h). By analyzing the obtained results, it is possible to suppose that the rapid decrease of lightness observed for the wood samples within the first 24 of exposure can be ascribed to photodegradation processes. The photodegradation is primarily related to the decomposition of lignin due to the chromophore groups absorbing energy, especially in the UV range of the sunlight spectrum [3, 20, 21].

FT-IR Analysis on the Wood Slices

Concerning infrared spectroscopy on the samples, the spectra were collected in DRIFT modality directly on the wood slices in order to avoid analysing the unaltered wood also. In fact, wood is a good light absorber for infrared, visible, and ultraviolet light [22, 23]. In particular the UV component of light is totally absorbed in a 75 μm -thick layer [21]. Since the

change caused by irradiation appears in a thin surface layer, it is not easy to remove the proper thin layer for pellet preparation, as suggested also by other authors [24].

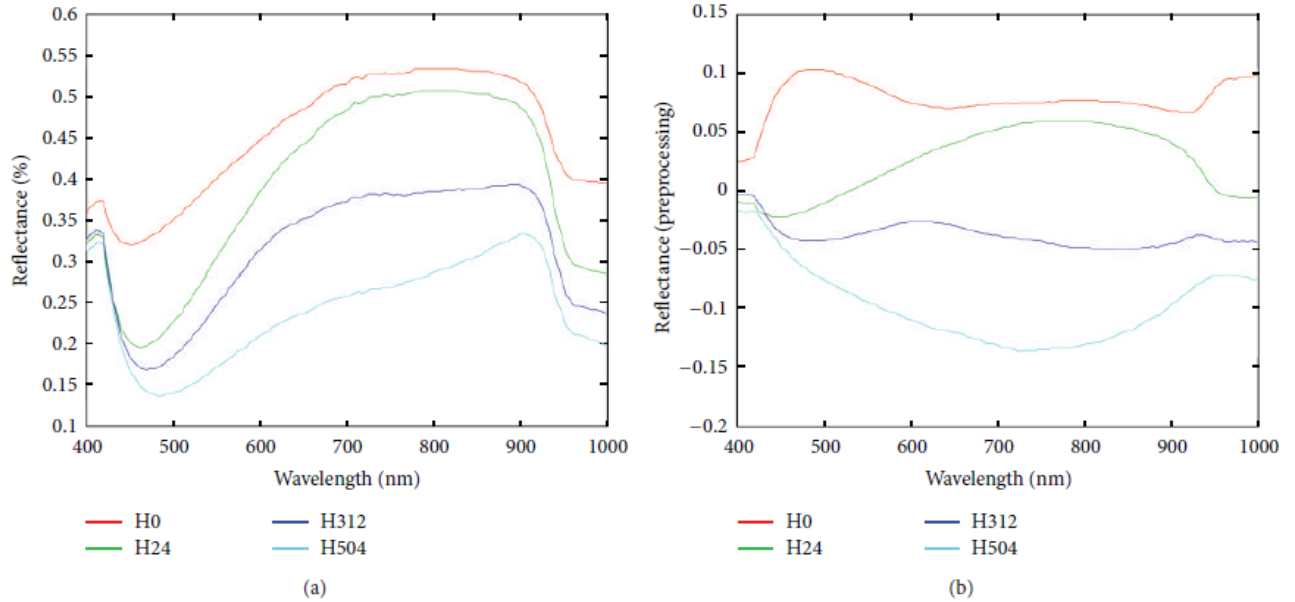


Figure 6: Acquired (a) and preprocessed (b) spectra of the different analysed wood slices, in the VIS-NIR field. Spectra preprocessing was carried out by adopting a GLSWprocedure.

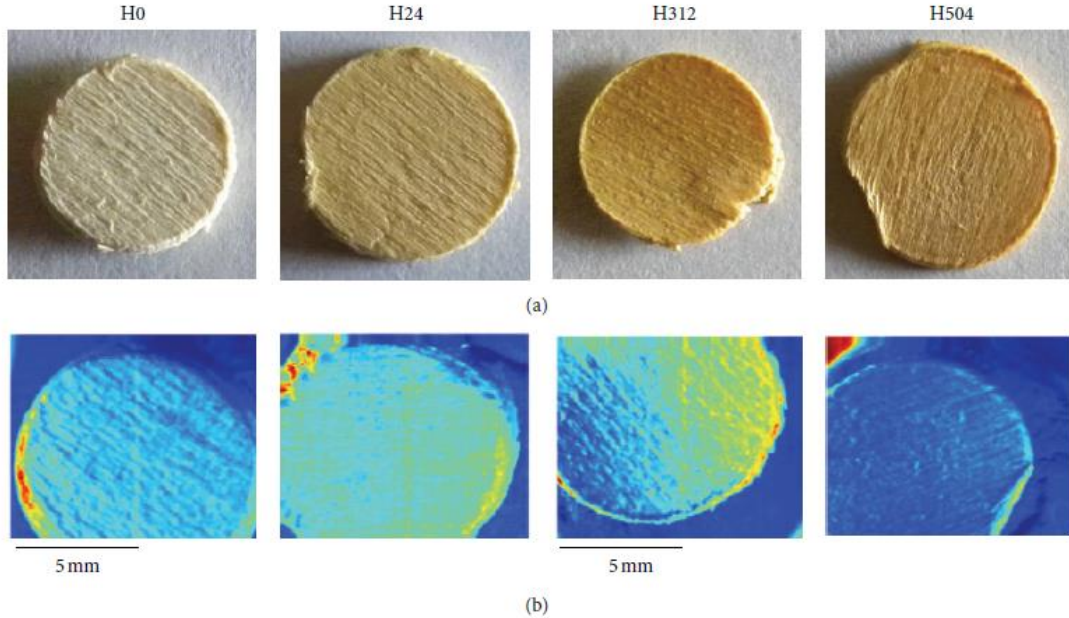


Figure 7: Images of the investigated poplar samples used to build the model. (a) acquired images and (b) images resulting from hypercube data rendering (i.e., false colours) according to the spectral response of the samples in the VIS-NIR range.

Band assignment was made according to literature references [12, 25–27]. FT-IR spectra are characterized by the following bands (Figure 4, 0h): 1737cm^{-1} stretching of the carbonyl group $\text{C}=\text{O}$, 1654 cm^{-1} conjugated carbonyl, 1595 cm^{-1} aromatical skeletal vibrations, 1507

cm^{-1} aromatic skeletal vibrations, 1464 cm^{-1} C–H deformation and aromatical skeletal vibrations, 1428 cm^{-1} C–Hin-plane deformation, 1376 cm^{-1} C–H in-plane deformation for polysaccharides, 1333 cm^{-1} syringyl ring breathing and C–O stretching, $1270\text{--}1245 \text{ cm}^{-1}$ guaiacyl ring breathing and C–O stretching, 1171 cm^{-1} C–O–C antisymmetric bridge stretching vibration in cellulose and hemicelluloses, 1133 cm^{-1} C–O–C symmetric stretching and aromatic C–H in-plane deformation and glucose ring vibration, 1091 cm^{-1} C–O and O–H association bands in cellulose and hemicelluloses, and 899 cm^{-1} C₁–H deformation of cellulose. The bands at 3400 cm^{-1} stretching of O–H group, 2940 cm^{-1} and 2906 cm^{-1} C–H and CH₂ asymmetric and symmetric stretching, 672 cm^{-1} C–OH out of- plane bending in cellulose are not shown in Figure 4.

The irradiating time-dependent diffuse reflectance FT-IR spectra, in the region of interest of the present work, are shown in Figure 4.

Table 2: Nonlinear regression analysis applied to the chromatic coordinates at different times of exposure in Solar Box for poplar samples.

Value	Intercept	Significance	time	Significance	time ²	Significance	R ² adj.	Significance
<i>L</i> [*]	83.002	***	−0.045	***	0.00004	***	0.816	***
<i>a</i> [*]	1.569	***	0.032	***	−0.00003	***	0.954	***
<i>b</i> [*]	20.108	***	0.00679	***	−0.00008	***	0.857	***

* Statistically significant.

*** Very high statistical significance.

Table 3: Nonlinear regression analysis applied to the time as function of the chromatic coordinates.

Poplar samples		
	B	Significance
Intercept	1732.326	***
<i>L</i> [*]	−56.232	***
<i>a</i> [*]	16.154	***
<i>b</i> [*]	24.495	***
<i>L</i> ^{*2}	0.381	***
<i>a</i> ^{*2}	4.376	***
<i>b</i> ^{*2}	−0.520	***

R² adj. = 0.947; *P* < 0.001.

$T = 1732.3 - 56.2L^* + 16.2a^* + 24.5b^* + 0.4L^{*2} + 4.4a^{*2}$.

* Statistically significant.

*** Very high statistical significance.

It can be observed that the intensity of the bands at 1507 cm^{-1} , 1595 cm^{-1} , and 1464 cm^{-1} , associated to lignin, decreases during photo degradation. This is accompanied by an increase in the intensity of the band at 1737 cm^{-1} , due to carbonyl absorption. The intensities of the

peak associated to carbohydrates at 1376 cm^{-1} are not significantly affected by irradiation, so this band has been used as internal reference to evaluate the lignin deterioration.

In order to determine the rate of lignin deterioration and carbonyl formation, the intensities of the lignin band at 1507 cm^{-1} , the carbonyl band at 1737 cm^{-1} , and the carbohydrate reference band at 1376 cm^{-1} were calculated [12]. Then the relative change in ratio of lignin/carbohydrate bands at different exposure times was derived and statistically evaluated.

In particular, two-way ANOVA was applied to the infrared peak values to test if significant differences in relation to the samples and to the time could be found. Table 4 shows the results of the two-way ANOVA test. As can be observed in Table 4 the differences in the peak ratio with respect to the exposure times are highly significant concerning the I_{1507}/I_{1376} ratio. The difference is only significant as regards the I_{1737}/I_{1376} ratio.

Nonlinear regression analysis was also applied to the peak ratio at the different times of exposure in Solar Box. The results are shown in Table 5 and in Figure 5.

The lignin/carbohydrate intensity ratio decreased with the exposure times (as visible in Figure 6, curve (a)), and after 48 h of irradiation the experimental value of the I_{1507}/I_{1376} ratio decreased to about 50% of its original value.

The relative increase of the carbonyl groups during photo irradiation was calculated by considering the ratio of intensity of carbonyl band at 1737 cm^{-1} against reference peak at 1376 cm^{-1} . The intensity of the band of the carbonyl groups increases as function of irradiation time. This can be explained with the photo-oxidation reactions of lignin [28].

The regression analysis clearly demonstrates that for the I_{1507}/I_{1376} peak ratios a statistically significant regression has been derived from the experimental data. In the case of the I_{1737}/I_{1376} peak ratio the regression has a low statistical significance.

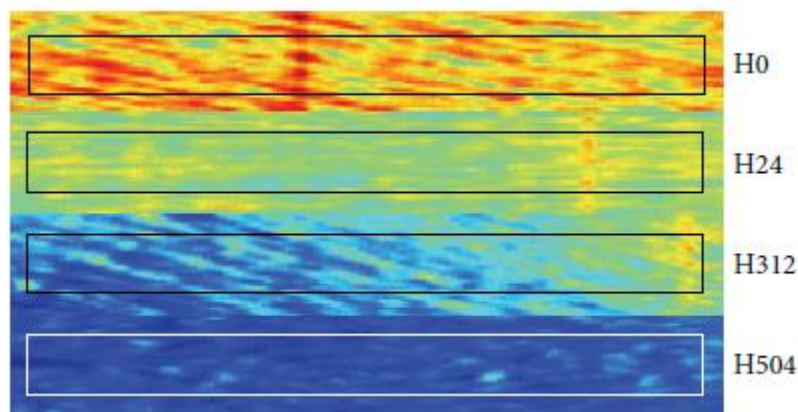


Figure 8: Reconstructed sample image, obtained performing a cut in the central region of each sample. It was used to perform the hyperspectral-based classification. The ROIs used as training set are also shown in the image for each of the four classes.

At last the colour changes of wood during irradiation were correlated with lignin deterioration and the formation of carbonyl groups produced by the photo degradation process. In fact, as the colour changes of the surfaces are mainly due to the photo-degradation of lignin, there would be a correlation between the colour coordinates and the relative intensity of the infrared peaks associated to lignin. The results shown in Table 6 demonstrate that the lignin deterioration is related to photo-induced colour changes of wood surfaces.

Hyperspectral Imaging on the Wood Slices: Investigations in the VIS-NIR Wavelength Range

The acquired and the preprocessed spectra for the different irradiated wood slices, at times 0 (H0), 24 (H24), 312 (H312), and 504 hours (H504) of exposure, are shown in Figure 6. Spectra have been collected starting from areas selected on the wood sample surfaces. The source wood spectra related to the different exposure times are characterized by a similar shape, especially H0 and H24, with a difference in the region around 700–900 nm that becomes more evident at H312 and H504. Moreover, the reflectance decreases from H0 to H504. The application of GLSW preprocessing strongly highlights the differences between the 4 different exposure times.

Figures 7 and 8 show, respectively, the false colour images, as resulting from hypercube data structure, and the reconstructed sample image obtained utilizing the Region of Interest (ROIs) selected in each sample and used to perform the spectral data collection and analysis.

The results of PCA are shown in Figure 9. The greater part of the variance is captured by the first two PCs, as shown in the score plot, where PC1 and PC2 explain 75.11% and 6.71% of the variance, respectively. The spectral data of the four wood samples are clustered into four distinct groups according to their spectral signatures. Discrimination between the wood samples characterized by different exposure times is obtained, especially concerning H0, H24, and H504, whereas H312 is more dispersed between H24 and H504.

Table 4: Two-way ANOVA test applied to the peak ratios in relation to the poplar samples and to the irradiation time.

Peak ratio	Measures Nr.	Average	Std. Dev.	Samples differences	Time differences
I_{1507}/I_{1376}	42	0.827	0.490	No significance	***
I_{1740}/I_{1376}	42	3.210	1.030	No significance	**

** High statistical significance.

*** Very high statistical significance.

Table 5: Nonlinear regression analysis for the peak ratio at the different times of exposure in Solar Box of poplar samples.

Value	Coefficient	Description	Significance	Time coefficient	Significance	R ² adj.	Significance
I_{1507}/I_{1376}	1.383	e coefficient	***	-0.005	***	0.865	***
Regression				$I_{1507}/I_{1376} = 1.383e^{-0.005t}$			
I_{1737}/I_{1376}	2.808	intercept	***	0.003	*	0.129	*
Regression				$I_{1737}/I_{1376} = 2.808 + 0.003t$			

* Statistically significant.

*** Very high statistical significance.

Table 6: Nonlinear regression analysis applied to the peak ratio as function of the chromatic coordinates L*, a*, b* in poplar wood.

	I_{1507}/I_{1376}	
	B	Significance
Intercept	1.4582	***
L^{2*}	0.000092	***
a^{2*}	-0.00373	***
b^{2*}	-0.001328	***

 R^2 adj. = 0.999. $I_{1507}/I_{1376} = 1.4582 + 0.000092L^{*2} - 0.00373a^{*2} - 0.001328b^{*2}$.

* Statistically significant.

*** Very high statistical significance.

The PLS-DA-based classification was calculated using the same pretreatment technique adopted to perform PCA (GLSW) analyses for reference class definition. Starting from 4 new samples, the same approach previously outlined was thus applied, that is, (i) construction of a sample image to verify PLS-DA model, starting from four different ROIs selected inside the wood samples in order to avoid “border effects” (Figure 10); (ii) selection of ROIs, inside the reconstructed sample image, to collect spectra representative of the different irradiated wood slices in order to validate the model.

The results, reported in Figure 11 as prediction images, indicate that the PLS-DA models allow obtaining a good classification of all the samples. Such results can be evaluated taking into account the values of sensitivity and specificity parameters obtained for the classification model. These parameters range from 0 to 1, 1 being the ideal value for a prediction model. Sensitivity is defined as the proportion of class members correctly classified, while specificity refers to the proportion of non class members correctly classified.

The sensitivity and specificity of the PLS-DA model are reported in Table 7 both for Calibration and Cross-Validation. The values of sensitivity and specificity range between 0.75 (H312) and 0.996 (H0) for Calibration and between 0.74 (H312) and 0.996 (H0) for Cross-Validation. Good values of sensitivity and specificity are obtained for the classification of the different time-exposed wood samples, indicating the robustness of the model. The sample

exposed for 312 hours was confirmed as the worst classified according to the indications obtained during the explorative analysis based on PCA previously carried out and described.

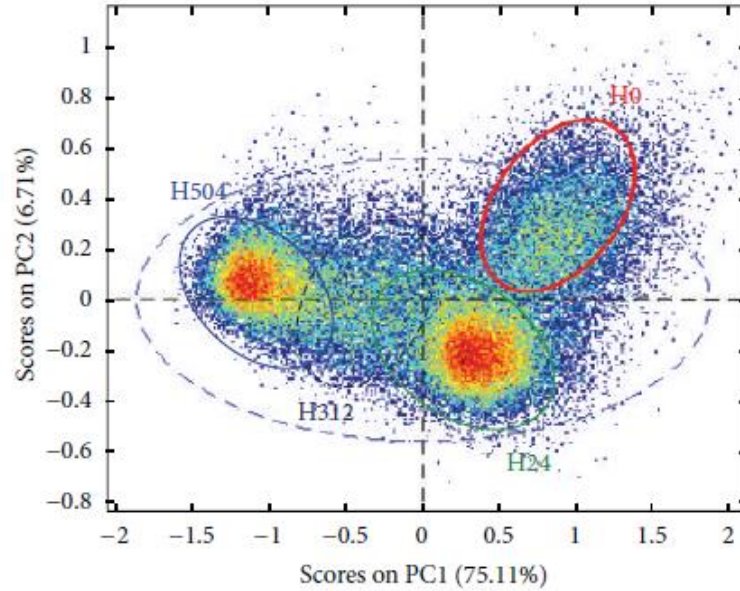


Figure 9: Score plot (PC1 versus PC2), obtained using 81 wavelengths, based on average HSI spectral signatures in the VIS-NIR wavelength region (400–900 nm) for the analysed poplar wood samples.

Hyperspectral Imaging on the Wood Slices: Investigations in the SWIR Wavelength Range.

The acquired and the preprocessed spectra for the different irradiated wood slices, at times 0 (H0), 216 (H216), and 504 hours (H504) of exposures are shown in Figure 12. In the SWIR range both cellulose and lignin are characterised by absorption bands corresponding to specific wavelengths, that is, 1220, 1480, 1930, 2100, 2280, 2340, and 2480nm for cellulose and 1450, 1680, 1930, 2270, 2330, 2380, and 2500 nm for lignin [29].

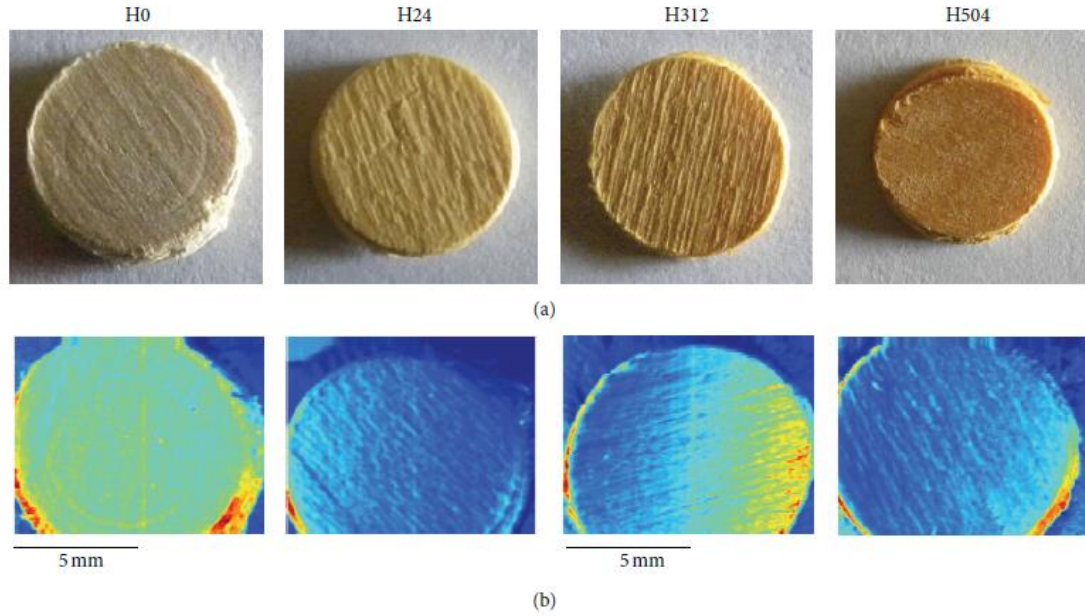


Figure 10: Images of the investigated poplar samples used to perform the PLS-DA-based classification. (a) images as acquired and (b) images as resulting from hypercube data rendering (i.e., false colours) according to samples spectral response in the VIS-NIR range.

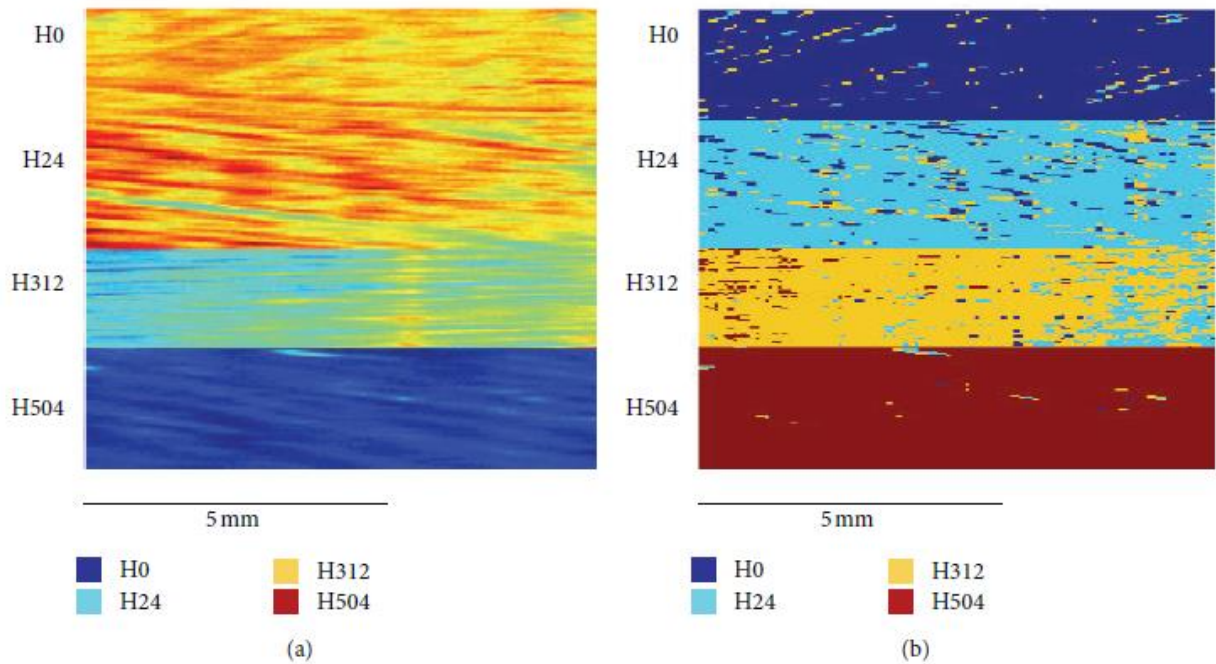


Figure 11: Reconstructed sample image, obtained combining the four different selected ROIs inside the different wood samples and used to perform the hyperspectral-based PLS-DA model validation (a). PLS-DA prediction (most probable class prediction) (b).

The strong absorptions at around 1460 nm and 1930 nm can be attributed to the combination modalities of OH in water molecules. It should be noted that the water chemical bond vibration around 1460 nm may overlap with those of other OH groups in cellulose molecules or of CH₂ groups in lignin [29], making the accurate band assignment in this region difficult. The weak spectral feature around 1730 nm may be attributed to the presence of OH bond of water molecule in cellulose/lignin and the weak absorption at 1790 nm to O–H stretching in

water molecules. The mean absorptions in the 2000–2500 nm wavelength interval can be attributed to the various configurations of the C–H, C=O, C=C, and –COOH functional groups in cellulose and lignin.

Spectra were acquired by performing a preliminary background removal as, differently from the VIS-NIR case, spectral data collection and analysis were carried out with reference to the entire surface of each wood sample. Figures 13 and 14 show, respectively, the false colour images, as resulting from hypercube data structure, and the reconstructed sample image obtained after the background removal.

Table 7: Sensitivity and specificity for the PLS-DA model built for the different wood samples, based on 81 wavelengths.

		Class 1 (H0)	Class 2 (H24)	Class 3 (H312)	Class 4 (H504)
Sensitivity	<i>Calibration</i>	0.996	0.972	0.788	0.972
	<i>Cross-validation</i>	0.996	0.971	0.776	0.971
Specificity	<i>Calibration</i>	0.990	0.941	0.746	0.932
	<i>Cross-validation</i>	0.989	0.938	0.744	0.930

Table 8: Sensitivity and specificity for the PLS-DA model built for the different wood samples, based on 240 wavelengths.

		Class 1 (H0)	Class 2 (H216)	Class 3 (H504)
Sensitivity	<i>Calibration</i>	0.971	0.896	0.969
	<i>Cross-validation</i>	0.967	0.868	0.966
Specificity	<i>Calibration</i>	0.993	0.965	0.960
	<i>Cross-validation</i>	0.993	0.962	0.960

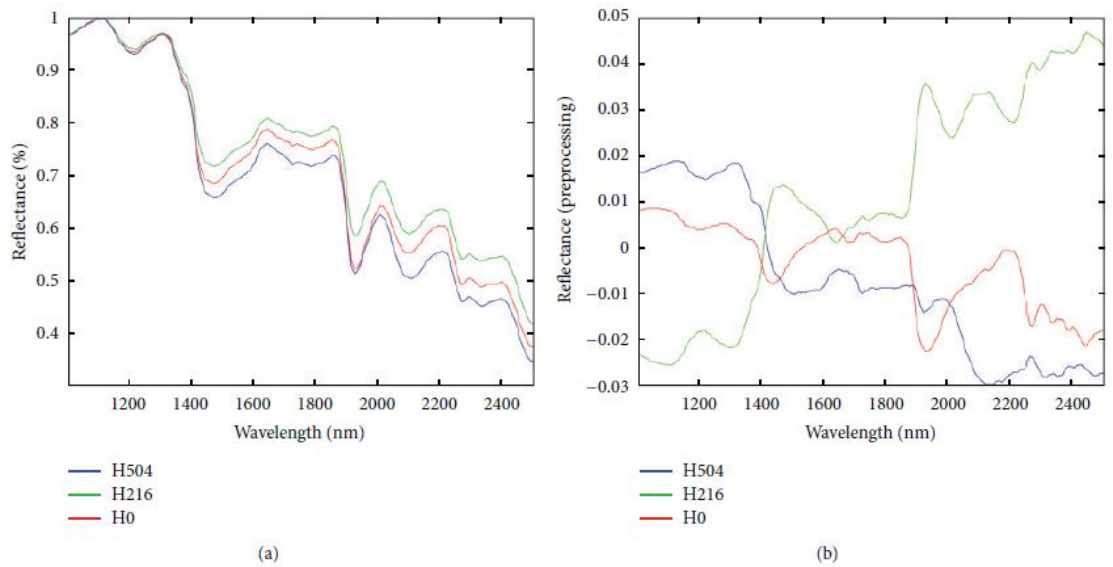


Figure 12: Acquired (a) and preprocessed (b) spectra of the different analysed wood slices, in the SWIR field. Spectra preprocessing was carried out adopting a GLSWprocedure.

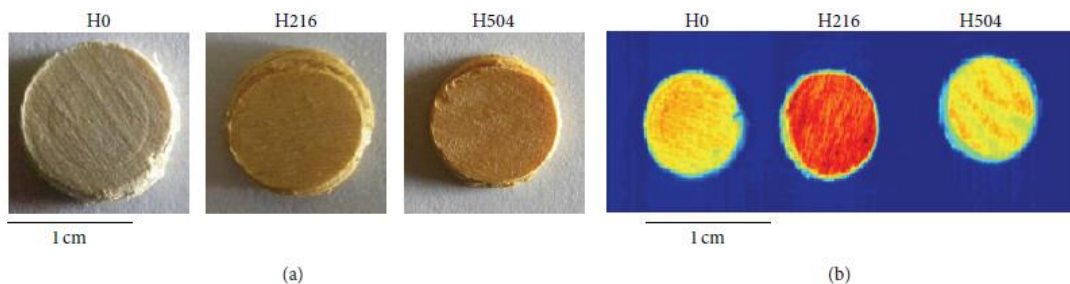


Figure 13: Images of the investigated poplar sample used to build the model. (a) acquired images and (b) images resulting from the hypercube data rendering (i.e., false colours) according to the sample spectral response in the SWIR range.

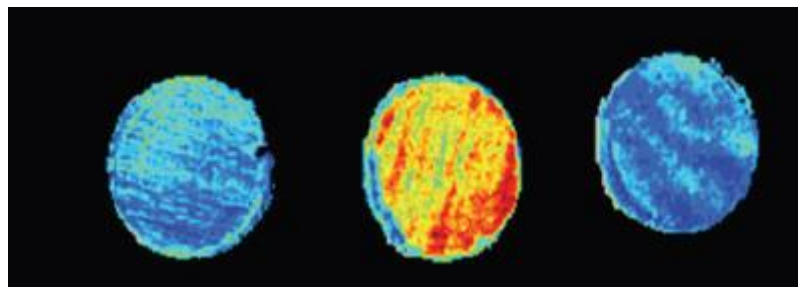


Figure 14: Reconstructed sample image, obtained after a preliminary background removal. It was used to perform the hyperspectral-based classification.

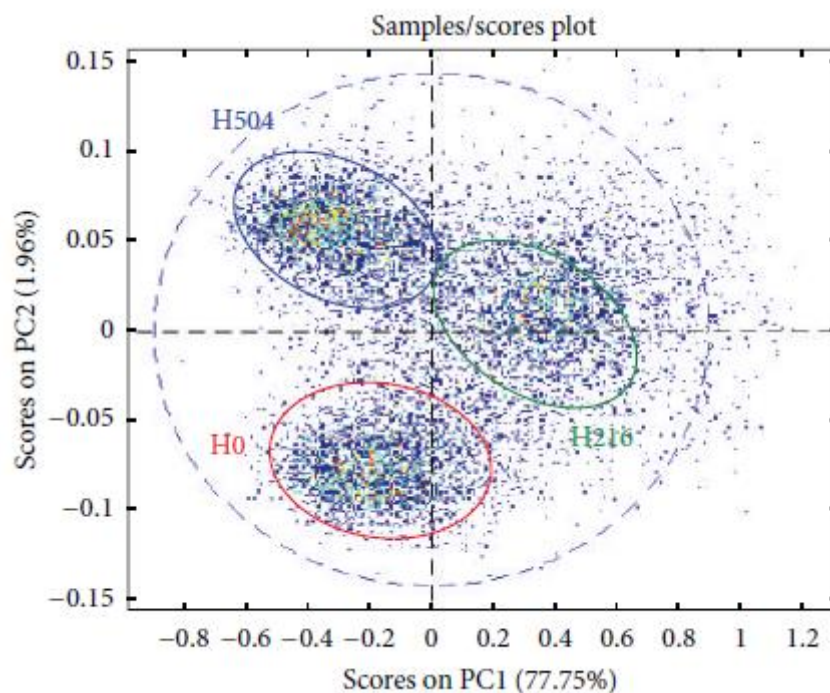


Figure 15: Score plot (PC1 versus PC2), obtained using 240 wavelengths, based on average HSI spectral signatures in the SWIR wavelength region (1005–2500 nm), of the analysed poplar wood samples.

The results of PCA, applied to the average spectral signature of the investigated wood samples, are shown in Figure 15. The greater part of the variance was captured by the first two PCs, as shown in the score plot, where PC1 and PC2 explained 77.75% and 1.96% of the variance, respectively. The spectral data of the three wood samples are clustered into three

distinct groups according to their spectral signatures. A discrimination between the wood samples characterized by different exposure times is thus obtained.

The PLS-DA model was developed, as in the VIS-NIR study, to perform a prediction (i.e., recognition/classification) on unknown wood samples characterised by different exposure times. The PLS-DA-based classification was calculated using the same pretreatment technique adopted to perform PCA (GLSW) analysis for reference class definition. Starting from 3 new samples the following approach was applied: (i) construction of a sample image to verify PLS-DA model, performing background elimination (Figure 16) and (ii) collection of all the spectra related to each sample in order to validate the model (Figure 17).

The sensitivity and specificity of the PLS-DA model, based on all 240 wavelengths, are reported in Table 8 both for Calibration and Cross-Validation. The values of sensitivity and specificity range between 0.896 (H24) and 0.993 (H0) for Calibration and between 0.868 (H24) and 0.993 (H0) for *Cross-Validation*. The results (Figure 17) indicate that the PLSDA models allowed reaching, as in the VIS-NIR range, a good recognition/classification, according to their irradiation times for the 3 investigated poplar samples.

Conclusions

The study of colour changes in poplar samples showed that the wood surface undergoes an important variation due to photo irradiation. The greatest changes occur within the first 24 hours, and they are mainly due to L* decrease and b* increase. M-ANOVA and Tukey tests underline that L*, a*, and b* undergo statistically significant changes after the exposure times further demonstrating that surface wood colour remarkably changes due to the irradiation in Solar Box. The regression analysis, applied both to the chromatic coordinates as function of the time and vice versa, underlines the highly statistical significance of the experimental data. FT-IR spectroscopy allowed investigating the rate of photo degradation of wood surface due to lignin oxidation. The rate of photo degradation of wood surface was investigated by studying the lignin/carbohydrate intensity ratio as function of time. The results put in evidence that lignin degrades quickly: after 48 hours of irradiation the lignin/carbohydrate ratio (I_{1507}/I_{1376}) decreased to about 50% of its original value. The regression analysis applied to the infrared peak ratios demonstrated that the differences between the values at the various irradiation times are statistically significant, apart from the I_{1737}/I_{1376} ratio.

Moreover a correlation between the colour changes and the chemical modifications was investigated in order to assess the applicability of colorimetric measurements in totally non invasive modality on the works of art. The most important result was that a correlation of the colour changes may be derived with the photo degradation of lignin obtained by FTIR analysis. This finding demonstrates that non invasive colour measurements can be used to evaluate the photo degradation of wood. In particular the regression analysis showed that the lignin deterioration is related to the photoinduced colour variations of wood surfaces expressed by the $L^* a^* b^*$ coordinates.

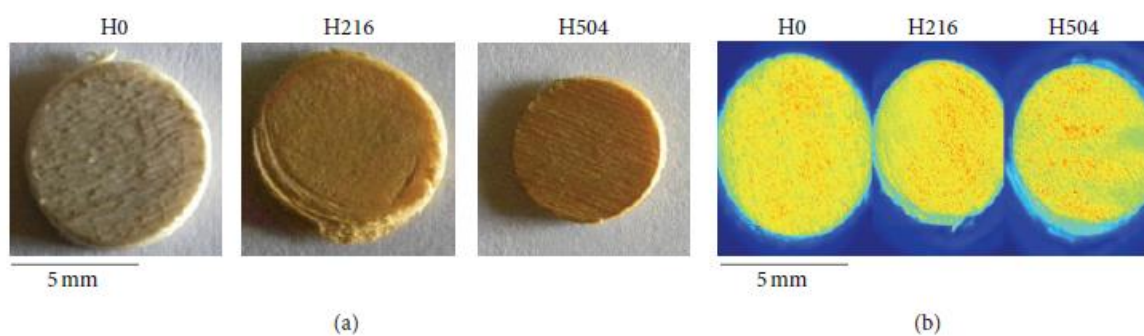


Figure 16: Images of the investigated poplar samples used for the PLS-DA-based classification. (a) Acquired images and (b) images resulting from hypercube data rendering (i.e., false colours) according to samples spectral response in the SWIR range.

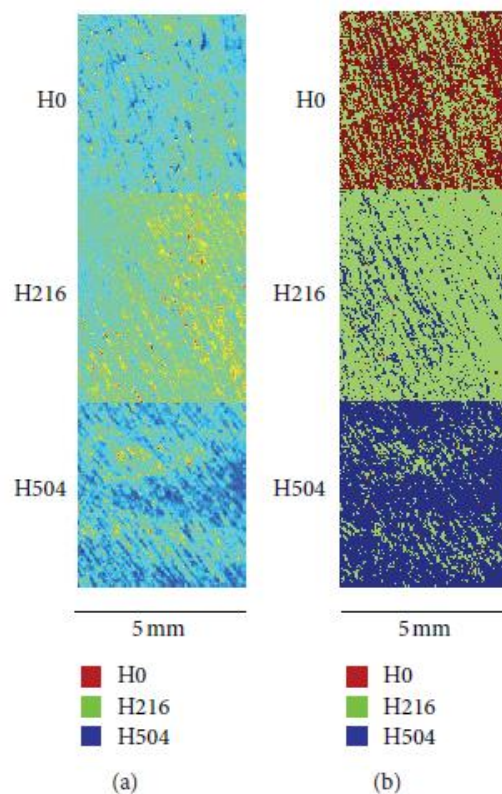


Figure 17: Reconstructed sample image, obtained by combining three different ROIs inside the different wood samples and utilised to perform the hyperspectral-based PLS-DA model validation (a). PLS-DA prediction (most probable class prediction) (b).

Concerning hyperspectral imaging, the detected spectral features shown in the VIS-NIR range are mainly linked to the spectral shape (i.e., colour variation), whereas in the SWIR range cellulose and lignin affect both shape and reflectance levels.

The PCA applied to hyperspectral images acquired in the wavelength range 400–1000nm highlighted a significant variation between samples not exposed and exposed after 24 hours. The variations between samples irradiated for 312 and 504 hours are lower, if compared with the previous ones; in any case the results showed that the colour changes are correlated with the lignin photo degradation. Concerning the SWIR, the PCA demonstrated a correlation between sample spectral profile characteristics and the exposure times.

The application of partial least squares regression (PLSDA) allowed performing a good classification and recognition of different irradiated samples in both investigated wavelength ranges. The proposed approach clearly showed that a correlation can be established between colour variation and wood degradation in the VIS-NIR; furthermore in the SWIR range wood surface chemical changes can be assessed.

Disclosure

The authors declare that they have no financial interests in this work.

References

- [1] E. Marengo, E. Robotti, M. C. Liparota, and M. C. Gennaro, “A method for monitoring the surface conservation of wooden objects by Raman spectroscopy and multivariate control charts,” *Analytical Chemistry*, vol. 75, no. 20, pp. 5567–5574, 2003.
- [2] E. Marengo, E. Robotti, M. C. Liparota, and M. C. Gennaro, “Monitoring of pigmented and wooden surfaces in accelerated ageing processes by FT-Raman spectroscopy and multivariate control charts,” *Talanta*, vol. 63, no. 4, pp. 987–1002, 2004.
- [3] K. K. Pandey, “Study of the effect of photo-irradiation on the surface chemistry of wood,” *Polymer Degradation and Stability*, vol. 90, no. 1, pp. 9–20, 2005.
- [4] A. LoMonaco, M. Marabelli, C. Pelosi, and R. Picchio, “Colour measurements of surfaces to evaluate the restoration materials,” in *O3A: Optics for Arts, Architecture, and Archaeology III*, vol. 8084 of *Proceedings of SPIE*, pp. 1–14, May 2011.

- [5] A. Lo Monaco, C. Pelosi, and R. Picchio, "Colour evolution of wood surfaces in simulated sunlight exposure," in Proceedings of the 7th Color Conference, SIOF: Color and Colorimetry. Multidisciplinary Contributions, vol. 7B, pp. 207–214, 2011.
- [6] G. Genco, A. Lo Monaco, C. Pelosi, R. Picchio, and U. Santamaria, "A study of colour change due to accelerated sunlight exposure in consolidated wood samples," Wood Research, vol. 56, no. 4, pp. 511–524, 2011.
- [7] C. Pelosi, G. Agresti, L. Calienno et al., "Application of spectroscopic techniques for the study of the surface changes in poplar wood and possible implications in conservation of wooden artefacts," in Optics for Arts, Architecture, and Archaeology IV, vol. 8790 of Proceedings of SPIE, pp. 1–14, 2013.
- [8] M. Y. Pillow, "A new method for detecting compression wood," Journal of Forestry, vol. 39, no. 4, pp. 385–387, 1941.
- [9] J. Nystrom and O. Hagman, "Methods for detecting compression wood in green and dry conditions," Journal of Wood Science, vol. 45, no. 1, pp. 30–37, 1999.
- [10] J. C. Noordam, W. H. A. M. van den Broek, P. Geladi, and L. M. C. Buydens, "A new procedure for the modelling and representation of classes in multivariate images," Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems, vol. 75, no. 2, pp. 115–126, 2005.
- [11] A. Thumm, M. Riddell, B. Nanayakkara, J. Harrington, and R. Meder, "Near infrared hyperspectral imaging applied to mapping chemical composition in wood samples," Journal of Near Infrared Spectroscopy, vol. 18, no. 6, pp. 507–515, 2010.
- [12] K. K. Pandey and A. J. Pitman, "FTIR studies of the changes in wood chemistry following decay by brown-rot and white-rot fungi," International Biodeterioration and Biodegradation, vol. 52, no. 3, pp. 151–160, 2003.
- [13] P. Geladi, H. Grahn, and J. Burger, "Multivariate images, hyperspectral imaging: background and equipment," in Techniques and Applications of Hyperspectral Image Analysis, H. Grahn and P. Geladi, Eds., pp. 1–15, John Wiley & Sons, West Sussex, UK, 2007.
- [14] M. Otto, Chemometrics, Statistics and Computer Application in Analytical Chemistry, Wiley-VCH, New York, NY, USA, 1999.
- [15] M. Barker and W. Rayens, "Partial least squares for discrimination," Journal of Chemometrics, vol. 17, no. 3, pp. 166–173, 2003.
- [16] R. C. Ferreira, A. Lo Monaco, R. Picchio, A. Schirone, F. Vessella, and B. Schirone, "Wood anatomy and technological properties of an endangered species: *Picconia azorica* (Oleaceae)," IAWA Journal, vol. 33, no. 4, pp. 375–390, 2012.

- [17] V. Sharratt, C. A. S. Hill, and D. P. R. Kint, "A study of early colour change due to simulated accelerated sunlight exposure in Scots pine (*Pinus sylvestris*)," *Polymer Degradation and Stability*, vol. 94, no. 9, pp. 1589–1594, 2009.
- [18] L. Tolvaj and K. Mitsui, "Correlation between hue angle and lightness of light irradiated wood," *Polymer Degradation and Stability*, vol. 95, no. 4, pp. 638–642, 2010.
- [19] L. Oltean, A. Teischinger, and C. Hansmann, "Wood surface discolouration due to simulated indoor sunlight exposure," *Holz als Roh undWerkstoff*, vol. 66, no. 1, pp. 51–56, 2008.
- [20] X. Deglise and A. Merlin, "Comportement photochimique du bois non trait'e," in *Durabilite des Bois*, D. Dirol and X. Deglise, Eds., pp. 229–268, Her`es Science Publication, Paris, France, 2002.
- [21] D. N. S. Hon and N. Shiraishi, "Color and discoloration and Weathering and photochemistry of wood," in *Wood and Cellulose Chemistry*, pp. 385–442, 513–546, MarcelDekker, New York, NY, USA, 2001.
- [22] Y. Kataoka and M. Kiguchi, "Depth profiling of photo-induced degradation in wood by FT-IR microspectroscopy," *Journal of Wood Science*, vol. 47, no. 4, pp. 325–327, 2001.
- [23] B. George, E. Suttie, A. Merlin, and X. Deglise, "Photodegradation and photostabilisation of wood—the state of the art," *Polymer Degradation and Stability*, vol. 88, no. 2, pp. 268–274, 2005.
- [24] L. Tolvaj, K. Mitsui, and D. Varga, "Validity limits of Kubelka-Munk theory for DRIFT spectra of photodegraded solid wood," *Wood Science and Technology*, vol. 45, no. 1, pp. 135–146, 2011.
- [25] A. K. Moore and N. L. Owen, "Infrared spectroscopic studies of solid wood," *Applied Spectroscopy Reviews*, vol. 36, no. 1, pp. 65–86, 2001.
- [26] H.-T.Chang, T.-F.Yeh, and S.-T.Chang, "Comparisons of chemical characteristic variations for photodegraded softwood and hardwood with/without polyurethane clear coatings," *Polymer Degradation and Stability*, vol. 77, no. 1, pp. 129–135, 2002.
- [27] X. Colom, F. Carrillo, F. Nogu'es, and P. Garriga, "Structural analysis of photodegraded wood by means of FTIR spectroscopy," *Polymer Degradation and Stability*, vol. 80, no. 3, pp. 543–549, 2003.
- [28] D. Rosu, C.-A. Teaca, R. Bodirlau, and L. Rosu, "FTIR and color change of the modified wood as a result of artificial light irradiation," *Journal of Photochemistry and Photobiology B*, vol. 99, no. 3, pp. 144–149, 2010.

[29] F. D. van der Meer and S. M. Jong, Eds., *Imaging Spectrometry: Basic Principles and Prospective Applications*, vol. 4 of *Remote Sensing and Digital Image Processing*, Springer, Dordrecht, The Netherlands, 2002.

7. Modelling colour and chemical changes on beech wood with or without red heartwood

7.1. Premessa

L'obiettivo di questo lavoro è stato quello di valutare le alterazioni di colore e la degradazione fotochimica di campioni di *Fagus sylvatica* L. sottoposti all'azione di radiazione luminosa in ambiente controllato. Sono stati utilizzati campioni di legno normale e campioni affetti dall'anomalia del cuore rosso, provenienti da fustaie transitorie.

E' stata applicata la spettrofotometria di riflettanza per lo studio del colore e la spettroscopia infrarossa a trasformata di Fourier (FT-IR) per lo studio delle alterazioni chimiche del legno.

E' stato scelto di studiare questo tipo di materiale poiché molti popolamenti di *Fagus sylvatica* L. si trovano nella fase di fustaia transitoria dalle quali spesso proviene materiale affetto da cuore rosso: un'anomalia che porta ad un aumento delle tonalità rosse.

La presenza del cuore rosso, che è causa di un forte deprezzamento del legno, viene influenzata dall'età degli alberi, dai diametri e dalle provenienze del materiale. Questa anomalia è provocata dalla penetrazione di ossigeno che degrada i carboidrati solubili e l'amido in composti fenolici colorati grazie a processi chimici o enzimatici.

Il materiale studiato, tavolette di 25x5x0.8 cm per il colore e campioni di forma circolare di 1 cm di diametro e 2 mm di spessore per gli spettri FT-IR, sono stati esposti a radiazione luminosa in ambiente controllato utilizzando un Solar Box (Erichsen Instruments).

Il colore è stato misurato con uno spettrofotometro di riflettanza (X-Rite CA22) con il sistema CIE-L*a*b* 1976. Sono stati utilizzati i seguenti intervalli di esposizione: 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 216, 312, 408 e 504 ore.

Gli spettri FT-IR sono stati effettuati con uno spettrometro Nicolet Avatar 360 ai seguenti intervalli di esposizione 0, 6, 12, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 216, 312, 408 e 504 ore. Gli spettri ottenuti sono stati elaborati con il *software* OMNIC 8.0 (Thermo Electron Corporation).

Con il *software* Statistica 2010 sono state effettuate le analisi statistiche. Sono state valutate le differenze statisticamente significative tra i set di campioni con l'analisi della varianza ed il Tukey test. Sono state effettuate le regressioni lineari e non lineari per ottenere le relazioni tra i vari fenomeni osservati.

I maggiori cambiamenti di colore sono stati osservati nelle prime ore di esposizione e si è osservato che i valori di L*, a* e b* sembrano convergere verso valori simili dopo 504 ore di esposizione.

I risultati dell'analisi della varianza indicano che comunque i set di campioni appartengono a gruppi statisticamente differenti sia in funzione del tempo di esposizione sia in funzione della tipologia di legno.

Per quanto riguarda gli spettri FT-IR non si è osservata differenza statisticamente significativa tra l'andamento dei rapporti dei picchi nel legno normale e con cuore rosso.

Le regressioni hanno permesso di ottenere le relazioni, che legano le coordinate colorimetriche al tempo di esposizione e vice versa, il rapporto dei picchi degli spettri FT-IR al tempo di esposizione ed il rapporto dei picchi degli spettri FT-IR alle coordinate colorimetriche. L'attendibilità dell'intercetta e dei coefficienti, controllata con il *p-level*, è risultata statisticamente significativa.

Le misure di colore si confermano essere un buon metodo per individuare lo stato di alterazione chimica delle superfici legnose esposte a radiazione luminosa.

Questo lavoro è stato presentato in una forma preliminare al “*International Scientific Conference on Hardwood Processing*” (ISCHP13) a Firenze (7-9 ottobre 2013) ed è stato sottomesso, in forma definitiva, alla rivista internazionale “*Wood Science and Technology*”. Attualmente risulta essere accettato ed è in fase di revisione. Di seguito viene allegato il manoscritto dell'articolo.

7.2. Manoscritto

Modelling colour and chemical changes on beech wood with or without red heartwood

Luca Calienno¹, Angela Lo Monaco¹, Claudia Pelosi² and Rodolfo Picchio¹

¹ Department of science and technology for Agriculture, Forests, Nature and Energy, University of Tuscia, Viterbo, 01100, Italy

² Department of Cultural Sciences, University of Tuscia, Viterbo, 01100, Italy

Corresponding author: Claudia Pelosi, Department of Cultural Heritage Sciences, Largo dell'Università, 01100 Viterbo Italy. Tel 00390761357684, Fax 00390761357182, Mobile 00393332877468

Keywords: *Fagus sylvatica* L., red heartwood, wood colour, reflectance spectrophotometry, Fourier Transform Infrared spectroscopy

Abstract

The focus of this study is to investigate the chemical and colour changes occurring at different exposure time on artificially photo-irradiated surfaces of normal and red heartwood beech, in order to understand the mechanisms that cause the changes and to evaluate the possibility of usages of beech not only for energy production purposes. In this sense, surface colour modifications are of crucial importance to define the commercial value of the beech wood.

The artificial photo-irradiation of the wood samples was performed in a Solar Box, equipped with an ultraviolet filter that cuts off the spectrum at 280 nm. Reflectance spectrophotometry and Fourier Transform Infrared spectroscopy were used to assess artificial sunlight influence. The experimental data were statistically treated to evaluate their significance.

Colour monitoring allowed to find that wood surface colour undergoes an important variation due to photo-irradiation, occurring within the first 24-48 hours. Moreover, it was found that the chromatic coordinates (L*a*b*) in normal wood and in red heartwood tended to similar values after 504.

Fourier Transform Infrared spectroscopy allowed to investigate the rate of photo-degradation of wood surface due to lignin oxidation. The most important result is that a correlation, validated by statistical analysis, of the colour changes may be derived with the photo-degradation of lignin obtained by infrared analysis, suggesting the possibility to choose the reflectance spectrophotometry as a non-invasive standard method to monitor the state of preservation of the wood surfaces.

Introduction

Beech (*Fagus sylvatica* L.) is one of the most important forest species in Italy. A territorial protection policy and an improvement of the socio-economic conditions of the mountain people led to the conversion of coppices into transitional high forests, a less intensive use of woodland (Ciancio et al. 2002). In transitional forests the wood supply has a great variability and the quality is low, making it difficult to efficiently process during manufacture.

Physical, mechanical and esthetical features influence both the value and the usage of this wood in each commercial product. The main product from coppices converted into transitional high forests is firewood (Lo Monaco et al. 2011a; Picchio et al. 2011), due to the great amount of branched stems. Beech usually does not form heartwood, but sometime develops an abnormality called red heartwood in unusual manner and independently from the diameters (Knoke 2002; Torelli 1984; Vek et al. 2013). Knoke et al. (2006) illustrate several types of red heartwood, which were previously described by other authors in colour, shape and extension.

Heartwood generally turns in reddish colour differing greatly from the normal wood. This phenomenon is difficult to predict in standing trees (Knoke 2002, 2003; Wernsdörfer et al. 2005, 2006). The probabilities of occurrence and extent of red heartwood vary considerably (Wernsdörfer et al. 2005) increasing with age, diameter and site characteristics (Liu et al. 2005). Knoke (2003) adds, as predictors, crown base height, growth rate, number of injuries, and presence of forking, that greatly depend on the forest ecosystem characteristics. The space competition of the trees and the high stand density cause death of tree branches and injuries through which oxygen may enter the inner parts of the stems, where red heartwood formation or discoloration is then induced, likely involving the activity of micro-organisms (Sorž and Hietz 2007). The oxygen penetration causes a degradation of soluble carbohydrates and starch in coloured phenolic substance by chemical or enzymatic processes (Albert et al. 2003; Koch et al. 2000, 2001).

The red heartwood restricts the applications to low value products due to aesthetic reasons. In Western Europe beech is appreciated for its light pinkish colour (Liu et al. 2005; Molnar et al. 2001). The Asian buyers are more tolerant than European ones towards the red heartwood if the size (length and diameter) of the logs is quite large (Knoke et al. 2006). Nevertheless the inhomogeneity in colour and appearance are the main concerns. Some technological problems were also recorded for red heartwood, as impregnation and difficulties in drying processes (Pöhler et al. 2006; Vek et al. 2013), although the mechanical properties are very similar to those of normal wood beech (Pöhler et al. 2006; Todorović et al. 2012) even in glued beams

(Aicher and Ohnesorge 2011). Hapla et al. (2002) reported that red heartwood influence the yield of the veneer production less than expected, but almost the 10% of product was sorted as low quality.

Thermal treatment usually improves the decay resistance and dimensional stability of wood but it also reduces most of the strength properties (Widman et al. 2012). Todorović et al. (2012) found, in heat treated wood, a decrease in bending strength and a darker colour with the increase of temperature. The study and comprehension of beech wood parameters are crucial to define the potential usages of this species not only for energy production purposes. In particular, the red heartwood is widely diffused in the transitional high forests whose owners would be eager to find a more profitable use of coppice wood than firewood. It should be interesting to know how beech wood colour is changing over time. So it becomes important to investigate the chemistry and colour changes occurring at different exposure times on artificially photo-irradiated surfaces of normal and red hearted wood. To do this, reflectance spectrophotometry and Fourier Transform Infrared (FT-IR) spectroscopy were applied to the two kinds of wood (Calienzo et al. 2014; Genco et al 2011; Lo Monaco et al. 2011b, 2011c; Pelosi et al. 2013; Tolvaj and Faix 1995; Tolvaj et al. 2013). The obtained data were correlated to check the relationship between variation of colour and of the chemical components (Agresti et al. 2013).

Materials and methods

Sample preparation

Wood samples were obtained by boards of beech harvested on Terminillo Mountain (Central Italy -Leonessa Municipality) in a coppice in transition to high forest. Log sections were collected from the whole tree at a height ranging from 2 and 4 m. Diameter at breast high of the trees ranged from 40 to 58 cm.

After cutting, the samples (dimensions: 25x5x0.8 cm) were stored in darkness in a conditioned room at 65% relative humidity and a temperature of 22°C to reach the 12% of moisture content.

To perform the FT-IR analysis directly on wood surface, slices with a size of 10 (diameter) x 2 (thickness) mm were obtained from the specimens of beech. The dimensions of the slices were suitable for the FT-IR diffuse reflectance accessory.

Accelerated ageing

The accelerated ageing of the samples was performed in a Model 1500E Solar Box (Erichsen Instruments). The system is equipped with a 2.5 kW xenon-arc lamp and an UV filter that cuts off the spectrum at 280 nm. The samples were exposed in the Solar Box chamber from 1 to 504 h at 550 Wm^{-2} , 55°C and the UV filter at 280 nm. The experimental conditions were chosen following the specifications supplied by Erichsen, in order to simulate the sunlight exposition. Inside the Solar Box chamber relative humidity was constant and determined by the irradiation conditions. Relative humidity was monitored by a data logger positioned inside the Solar Box.

Colour monitoring

After exposure for a given length of time the samples were removed from the Solar Box chamber and the colour was measured using an X-Rite CA22 reflectance spectrophotometer. The characteristics of the colour measuring instrument are the following: colour scale CIELAB illuminant D65; standard observer 10° ; geometry of measurement $45^\circ/0^\circ$; spectral range 400-700 nm; spectral resolution 10 nm; measurement diameter 4 mm; white reference supplied with the instrument. The CIELAB colour system was used where L^* describes the lightness while a^* and b^* describe the chromatic coordinates on the green-red and blue-yellow axes, respectively. The differences in lightness (ΔL^*), chromatic coordinates (Δa^* and Δb^*), and total colour (ΔE^*) were then calculated using these parameters according to Normal 14/93 (1993) and EN 15886 (2010). The total colour difference, ΔE^* , between two measurements ($L^*_1 a^*_1 b^*_1$ and $L^*_2 a^*_2 b^*_2$) is the geometrical distance between their positions in CIELAB colour space. It is calculated using the following equation: $\Delta E^*_{2,1} = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2}$.

Measurements were taken at the following hour intervals: 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 216, 312, 408 and 504 h.

To guarantee that successive measurements were made in the same area a graduated mask was used for wood samples.

Sixty colour measuring points were chosen: thirty for red heartwood and thirty for normal beech wood. Three measures for each point were performed, so that one hundred and eighty measurements were obtained at each exposure time, then average values and standard deviations were calculated.

Fourier Transform Infrared Spectroscopy

Infrared spectra were obtained using a Nicolet Avatar 360 Fourier transform spectrometer. For each sample 128 scans were recorded in the 4000 to 400 cm^{-1} spectral range in diffuse reflection modality (DRIFT) with a resolution of 4 cm^{-1} . Spectral data were collected with OMNIC 8.0 (Thermo Fisher Scientific Inc.) software.

To obtain the FT-IR spectra, sample slices were directly inserted in the FT-IR diffuse reflectance accessory unit. As background the spectrum of the KBr powder was used.

FT-IR spectra were recorded at the following time intervals: 0, 6, 12, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 216, 312, 408 and 504 hours.

Peak heights were measured using OMNIC software according to the method described in the literature (Pandey 2003).

Statistical analysis

Data were analyzed with the Statistica 2010 advanced statistics software. As a first step, data distribution was plotted and visually checked for normality. Differences between treatments were checked with the standard paired t-test, with ANOVA and M-ANOVA analysis. Post-hoc tests were conducted with Tukey HSD test method. Linear and non-linear regression analysis was used to develop prediction models

Results and Discussion

Colour changes of wood samples

Wood colour, expressed as $L^*a^*b^*$ coordinates, exhibits positive values both in normal and red heart beech, before and after the irradiation in Solar Box (Table 1). The normal wood coordinates before ageing ($L^*=82.06\pm0.60$; $a^*=4.92\pm0.15$; $b^*=17.36\pm0.53$) are similar to those found by other authors for Serbian beech ($L^*=79.1\pm 2.4$; $a^*=6.3\pm 1.0$; $b^*=18.9\pm1.1$) (Todorović et al. 2012) but quite different from those of Japanese beech (*Fagus crenata*, $L^*=67.20\pm 1.18$; $a^*=6.48\pm 0.41$; $b^*=20.10\pm0.66$) (Mitsui and Tsuchikawa 2005).

The red heart wood coordinates before ageing ($L^*=66.85\pm1.33$; $a^*=10.47\pm0.49$; $b^*=21.28\pm0.76$) are similar to those found by other authors for Serbian beech ($L^*=68.3\pm 3.4$; $a^*=9.5\pm 1.1$; $b^*=20.5\pm1.1$) (Todorović et al. 2012).

By comparing the chromatic coordinates, it can be observed that L^* value before irradiation is clearly smaller in red heart wood than in normal wood whereas the values of a^* and b^*

parameters are larger in the red heartwood so enhancing the yellow and red hue in this kind of wood.

Concerning the $L^*a^*b^*$ changes as function of irradiation time, lightness (L^*) clearly decreases markedly in normal wood varying from 82.06 to 68.99 after 504 hours of exposure as observed for other species (Calienzo et al. 2014; Deka et al. 2008; Esteves et al. 2008; Ferreira et al. 2012; Oltean et al. 2008; Sharratt et al. 2009; Živković et al. 2013). The greatest L^* change occurs within the first 48 h of exposure, indicating a clear darkening of the wood surface. After this time, L^* reaches an almost constant value (Figure 1). The rapid decrease of lightness observed for the normal wood within the first 48 h of exposure can be ascribed to photodegradation processes. The photodegradation is primarily related to the decomposition of lignin due to the chromophore groups absorbing energy, especially in the UV range of the sunlight spectrum (Pandey 2005; George et al. 2005; Hon and Shiraishi 2001; Tolvaj and Mitsui 2010).

In red heartwood, lightness undergoes a little decrease in the first 12 hours. After this time L^* coordinate increase reaching the final value of 69.45 at 504 hours of exposure (see Table 1 and Figure 1).

The chromatic coordinate a^* undergoes and increase as function of exposure time in normal wood varying from 4.92 to 9.49 after 504h of irradiation. The greatest changes occur within the first 24 hours of irradiation in Solar Box.

In red heartwood sample a^* coordinate exhibits little and fluctuating changes ranging from 10.47 at time 0 to 8.49 at 504 hours of exposure.

At last, the values of the chromatic coordinate b^* increase both in normal and red heart wood, during the irradiation times, varying from 17.36 (0 hours) to 29.57 (504 hours) for normal wood and from 21.28 to 31.05 in red heartwood. The greatest changes, also in this case, occur within the first hours of exposure and indicate a clear yellowing of wood surface.

It is interesting to note that the $L^*a^*b^*$ coordinates in normal wood and in red heartwood wood are tending to close values after 504 hours of exposure in Solar Box.

Colour changes can also be analysed using ΔE^* variations as function of exposure times (Figure 2). In this way the effect of the Solar Box exposure is even more evident.

After 48 hours of exposure in Solar Box a rapid colour change in normal wood can be observed (see Figure 2 curve A). The value of ΔE^* vary from 1.48 (after 1h of exposure) to 16.23 (after 48h of exposure), followed by little increases to reach the final value of 18.46 at the end of the irradiation.

Concerning the red heartwood, ΔE^* value increases during the time varying from 1.27 (after 1h) to 10.11 (after 504h). The greatest total colour changes occur within the first 12-24 hours, as can be observed in Figure 2.

By comparing the values of ΔE^* in normal and red heart wood, it can be stressed that in both cases an increasing trend has been observed and that the greatest variation occur within the first 24-48 hours. In both cases, after 168 hours of exposure, a plateau has been reached in the ΔE^* values, even if normal wood undergoes greater total colour changes in comparison with red heartwood, as shown in Figure 2.

To verify the significance of the experimental data, some statistical tests were applied to the colorimetric measurements.

Multivariate significance test (M-ANOVA) showed significant differences among the types (normal and red hearted wood; p-level <0.001), among all the exposure times (0-504h; p-level <0.001) and among the time VS type (p-level<0.001).

The results of the inference statistics put in evidence that the difference between normal and red hearted wood with respect to the time is highly significant even if the experimental data showed that the chromatic coordinates seemed to converge towards similar values.

Successively the relationships between the chromatic coordinates and the exposure times were examined by applying statistical regression analysis. The overall results are shown in Table 2. The equations shown in Table 2 for the variables L^* , a^* and b^* as function of the exposure times, give the second degree polynomial curves of the chromatic variables during the time (Figure 3). All constants of the polynomials are characterized by highly statistical significance (p<0.01).

As can be observed in the Figure 3, wood colour varies with the exposure time, in particular, lightness (L^*) values decrease for normal wood (darkening) and increase for red heart wood (lightening). The same trend can be observed for the coordinate a^* . At last, b^* coordinate increases both in normal and red heart wood (yellowing).

At last, for normal and red heart wood a regression analysis was applied to the time in function of colour coordinates (Table 3). The results shown in Table 3 underline the highly statistical significance of the obtained measures regarding the dependent variable time (T) as function of the colour coordinates (L^* , a^* and b^*).

FT-IR analysis on the wood slices

Concerning infrared spectroscopy on the samples, the spectra were collected in DRIFT modality directly on wood slices in order to avoid analysing also the unaltered wood. In fact,

wood is a good light absorber for infrared, visible and ultraviolet radiation (Hon and Shirashi 2001; Kataoka and Kigushi 2001). In particular the UV component of light is totally absorbed in a 75 μm -thick layer (Hon and Shiraishi 2001). Since the change caused by irradiation appears in a thin surface layer, it is not easy to remove the proper thin layer for pellet preparation, as suggested also by other authors (Tolvaj et al. 2011).

Band assignment was made according to literature references (Pandey 2003; Chang et al. 2002; Moore et al. 2001; Colom et al. 2003). FTIR spectra show the following bands (see Figures 4-5, 0h): 3411 cm^{-1} stretching of O-H group, 2938 cm^{-1} and 2904 cm^{-1} C-H and CH_2 asymmetric and symmetric stretching, 1739 cm^{-1} stretching of the carbonyl group C=O, 1656 cm^{-1} conjugated carbonyl, 1594 cm^{-1} aromatical skeletal vibrations, 1507 cm^{-1} aromatic skeletal vibrations, 1465 cm^{-1} C-H deformation and aromatical skeletal vibrations, 1426 cm^{-1} C-H in-plane deformation, 1375 cm^{-1} C-H in-plane deformation for polysaccharides, 1332 cm^{-1} syringyl ring breathing and C-O stretching, 1270-1248 cm^{-1} guaiacyl ring breathing and C-O stretching, 1172 cm^{-1} C-O-C antisymmetric bridge stretching vibration in cellulose and hemicelluloses, 1132 cm^{-1} C-O-C symmetric stretching and aromatic C-H in-plane deformation and glucose ring vibration, 1089 cm^{-1} C-O and O-H association bands in cellulose and hemicelluloses, 899 cm^{-1} C₁-H deformation of cellulose, 621 cm^{-1} C-OH out-of-plane bending in cellulose.

The irradiating-time dependent diffuse reflectance FT-IR spectra of normal and red heart wood are shown in Figures 4-5.

It can be observed that the intensity of the bands at 1507 cm^{-1} , 1594 cm^{-1} and 1465 cm^{-1} , associated to lignin, decrease during photo-degradation. This is accompanied by an increase in the intensity of the band at 1739 cm^{-1} , due to carbonyl absorption. The intensities of the peak associated to carbohydrates at 1375 cm^{-1} is not significantly affected by irradiation, so this band has been used as internal reference to evaluate the lignin decay (Agresti et al. 2013; Calienno et al. 2014; Pelosi et al. 2013).

In order to determine the rate of lignin decay and carbonyl formation, the intensities of the lignin band at 1507 cm^{-1} , the carbonyl band at 1739 cm^{-1} and the carbohydrate reference band at 1375 cm^{-1} were calculated (Pandey 2005). Then the relative change in ratio of lignin/carbohydrate bands at different exposure times were derived and statistically evaluated. The lignin/carbohydrate intensity ratio (Fig. 6) decreased quickly with the exposure times both for normal and red heart wood and after 48h of irradiation it decreased to about 50% of its original value.

The relative increase of the carbonyl groups during photo-irradiation was calculated by considering the ratio of intensity of carbonyl band at 1739 cm^{-1} against reference peak at 1375 cm^{-1} (Fig. 7). The intensity of the band of the carbonyl groups increases as function of irradiation time in normal and red heart wood even if the data are very fluctuating; this can be explained with the formation of C=O groups of degraded lignin (Pandey 2005).

As the carbonyl groups increase during the photo-ageing whereas the lignin band decreases, the ratio of intensity of the bands at 1507 cm^{-1} and 1739 cm^{-1} undergoes a fast and significant decrease after few hours of exposure. In fact, after 12 hours of exposure it decreased to about 50% of its original value (Fig. 8).

The trend of the peak ratios shown in the Figures 6-8 highlighted that the photodegradation process is similar in normal and red heart wood. To verify this statement, the inference statistics was applied to the I_{1507}/I_{1375} , I_{1739}/I_{1375} and I_{1507}/I_{1739} peak ratios as function of the time. In particular, the T-test for dependent samples was applied to the peak ratios as function of the time in order to verify if statistically significant differences can be found between normal and red heart wood. The results shown in Table 4 demonstrate that no statistically significant differences exist between the two types of wood, in fact the p values are always >0.05 .

According to this result, the experimental data will be statistically examined in a single group, without distinction between normal wood and red heartwood.

Successively the relationships between the FT-IR peak ratios and the exposure times were examined by applying statistical regression analysis. The results are shown in Table 5.

The equations shown in Table 5 for the variables I_{1507}/I_{1375} , I_{1739}/I_{1375} and I_{1507}/I_{1739} as function of the exposure times, give the second degree polynomial curves (for I_{1507}/I_{1375} and I_{1507}/I_{1739}) and the line (for I_{1739}/I_{1375}) shown in Figure 9. All constants of the polynomials and of the straight line are characterized by highly statistical significance ($p < 0.01$).

As can be observed in the Figure 9, the FT-IR peak ratios vary with the exposure time, in particular, I_{1507}/I_{1375} and I_{1507}/I_{1739} decrease whereas I_{1739}/I_{1375} increases. The increase of the carbonyl groups as function of the time is mainly associated to the lignin degradation (Pandey 2005).

At last the colour changes of wood during irradiation were correlated with lignin decay and the formation of carbonyl groups produced by the photo-degradation process. In fact, as the colour changes of the surfaces are mainly due to the formation of C=O groups due to photo-degradation of lignin, a correlation between the colour coordinates and the relative intensity of the infrared peaks associated to lignin has been verified.

The results of the regression analysis put in evidence that only the I_{1507}/I_{1375} peak ratio has a statically significant relation with the chromatic coordinates, in particular with L^* and a^* (see Table 6). The polynomial function derived by the application of the regression analysis exhibits high statistical significance ($p < 0.01$). Only the chromatic coordinates L^* and a^* , that represents the lightness and the green-red axes, are influent in relation to the peak ratio suggesting that they can be used to evaluate the photodegradation of wood.

Conclusions

The study of colour changes in normal and red heart wood showed that the surface colour undergoes an important variation due to photo-irradiation. The greatest changes occur in normal wood within the first hours of exposure and they are mainly due to L^* decrease and b^* increase. It is interesting to note that the $L^*a^*b^*$ coordinates in normal wood and in red heartwood wood are tending to close values after 504 hours of exposure in Solar Box.

The results of the inference statistics indicated also that the difference between normal and red hearted wood with respect to the time is highly significant even if the experimental data showed that the chromatic coordinates seemed to converge towards similar values.

At last, for normal and red heart wood the regression analysis underlines the highly statistical significance of the obtained measures regarding the dependent variable time as function of the colour coordinates.

FT-IR spectroscopy allowed to investigate the rate of photo-degradation of wood surface due to lignin oxidation. The rate of photo-degradation of wood surface was investigated by studying the lignin/carbohydrate intensity ratio as function of time. The results revealed that lignin degrades quickly: after 48 hours of irradiation the lignin/carbohydrate ratio (I_{1507}/I_{1376}) decreased to about 50% of its original value both in normal and red heart wood.

The T-test for dependent samples, applied to the peak ratios as function of the time, demonstrated that no statistically significant differences exist between the two types of wood, as a consequence the experimental data were statistically examined in a single group, without distinction between normal wood and red heartwood.

The regression analysis showed that the differences between the values at the various irradiation times are statistically significant, apart from the I_{1737}/I_{1376} ratio.

At last the colour changes of wood during irradiation were correlated with lignin decay and the formation of carbonyl groups produced by the photo-degradation process.

The results of the regression analysis indicated that only the I_{1507}/I_{1375} peak ratio has a statically significant relation with the chromatic coordinates, in particular with L^* and a^* .

In conclusion, colour measurement demonstrated a valid and useful tool for the evaluation of wood surface modifications caused by UV irradiation, suggesting the possibility to choose this non-invasive method as a standard control test to monitor the state of preservation of the wood surfaces.

Although now the main product from forests in transitions is firewood, a more profitable use of wood would be possible. This is due to the knowledge of the technological characteristics, of the esthetical features and of their time modifications that influence both the value and usage of wood in commercial products. Colour variations are crucial to define the potential usages of beech not only for energy production purposes.

References

- Agresti G, Bonifazi G, Calienno L, Capobianco G, Lo Monaco A, Pelosi C, Picchio R, Serranti S (2013) Surface Investigation of Photo-Degraded Wood by Colour Monitoring, Infrared Spectroscopy, and Hyperspectral Imaging. *Journal of Spectroscopy* 1 (1), Article number 380536
- Albert L A, Hofmann T, Németh Zs I, Rétfalvi T, Koloszá J, Varga Sz, Csepregi I (2003) Radial variation of total phenol content in beech (*Fagus sylvatica* L.) wood with and without red heartwood. *Holz Roh Werkst* 61 (3), pp. 227-230
- Aicher S, Ohnesorge D (2011) Shear strength of glued laminated timber made from European beech timber. *Eur J Wood Prod* 69:143–154
- Calienno L, Pelosi C, Picchio R, Agresti G, Santamaria U, Balletti F, Lo Monaco A (2014) Light-induced color changes and chemical modification of treated and untreated chestnut wood surface. *Stud Conserv* DOI 10.1179/2047058413Y.0000000119
- Chang HT, Yeh TF, Chang ST (2002) Comparisons of chemical characteristic variations for photodegraded softwood and hardwood with/without polyurethane clear coatings. *Polym Degrad Stabil* 77:129-135
- Ciancio O, Iovino F, Menguzzato G (2002) Prove sperimentali di avviamento a fustaia con il metodo del rilascio intensivo di allievi: i cedui di leccio in Aspromonte (Calabria). (Conversion in a high forest research with stand release: the *Quercus ilex*

- coppice in Aspromonte). Il bosco ceduo in Italia, Accademia di Scienze Forestali, Firenze: 125-145 (in Italian with English abstract)
- Colom X, Carrillo F, Nogués F, Garriga P (2003) Structural analysis of photodegraded wood by means of FTIR spectroscopy. *Polym Degrad Stabil* 80:543-549
 - Deka M, Humar M, Rep G, Kričej B, Šentjurc M, Petric M (2008) Effects of UV light irradiation on colour stability of thermally modified, copper ethanolamine treated and non-modified wood: EPR and DRIFT spectroscopic studies, *Wood Sci Technol* 42:5–20
 - EN5886 (2010) Conservation of cultural property - Test methods – Colour measurement of surfaces. Brussels Belgium
 - Esteves B, Velez Marques A, Domingos I, Pereira H (2013) Heat-induced colour changes of pine (*Pinus pinaster*) and eucalypt (*Eucalyptus globulus*) wood. *Wood Sci Technol* 42:369–384
 - Ferreira RC, Lo Monaco A, Picchio R, Schirone A, Vessella F, Schirone B (2012) Wood anatomy and technological properties of an endangered species: *Picconia azorica* (*Oleaceae*). *IAWA J* 33 (4):375–390
 - Genco G, Lo Monaco A, Pelosi C, Picchio R, Santamaria, U (2011) A study of colour change due to accelerated sunlight exposure in consolidated wood samples. *Wood Research* 56 (4):511-524
 - George B, Suttie E, Merlin A, Deglise X (2005) Photodegradation and photostabilisation of wood - the state of the art. *Polym Degrad Stabil* 88:268-274
 - Hapla F, Meggers L, Militz H, Mai C (2002) Investigation on the yield and quality of sliced veneer produced from beech trees (*Fagus sylvatica* L.) containing red heartwood. *Holz Roh Werkst* 60(6):440–442
 - Hon DNS, Shiraishi N (2001) Color and Discoloration and Weathering and photochemistry of wood. *Wood and Cellulose chemistry*. Marcel Dekker Inc., New York, 385-442, 513-546
 - Kataoka Y, Kigushi M (2001) Depth profiling of photo-induced degradation in wood by FT-IR Microspectroscopy. *J Wood Sci* 47:325-327
 - Knoke T (2002) Value of complete information on red heartwood formation in beech (*Fagus sylvatica*). *Silva Fenn* 36(4):841-51
 - Knoke T (2003) Predicting red heartwood formation in beech trees (*fagus sylvatica* L.). *Ecol Model* 169(2-3):295-312

- Knoke T, Stang S, Remler N, Seifert T (2006) Ranking the importance of quality variables for the price of high quality beech timber (*Fagus sylvatica* L.). Ann For Sci 63(4):399-413
- Koch G, Bauch J, Puls J, Schwab E, Welling J (2000) Vorbeugung gegen Verfärbungen von Rotbuche. Holz-Zbl 126(6):74–75
- Koch G, Bauch J, Puls J, Welling J (2001) Ursachen und wirtschaftliche Bedeutung von Holzverfärbungen - Interdisziplinäre Forschung am Beispiel der Rotbuche (*Fagus sylvatica* L.).
- Forschungsreport Verbraucherschutz - Ernährung - Landwirtschaft 2/2001 Heft 2, S. 30-33
- Liu S, Loup C, Gril J, Dumonceaud O, Thibaut A, Thibaut B (2005) Studies on european beech (*Fagus sylvatica* L.). part 1: Variations of wood colour parameters. Ann For Sci 62(7):625-32
- Lo Monaco A, Todaro L, Sarlatto M, Spina R, Calienno L, Picchio R (2011a). Effect of moisture on physical parameters of timber from Turkey oak (*Quercus cerris* L.) coppice in Central Italy. For Stud China 13:276–284
- Lo Monaco A, Marabelli M, Pelosi C, Picchio R (2011b) Colour measurements of surfaces to evaluate the restoration materials. In: Proceedings of SPIE 8084:1-14
- Lo Monaco A, Pelosi C, Picchio R (2011c) Colour evolution of wood surfaces in simulated sunlight exposure. In: Colour and Colorimetry. Multidisciplinary Contributions. pp. 207-214
- Mitsui K, Tsuchikawa S (2005) Low atmospheric temperature dependence on photodegradation of wood. J Photoch Photobio B 81:84-88
- Molnár S, Németh R, Feher S, Tolvaj L, Papp G, Varga F (2001) Technical and technological properties of Hungarian beech wood consider the red heart. Wood Research, vol. 46 (1): 21-30
- Moore AK, Owen N (2001) Infrared spectroscopic studies of solid wood. Appl Spectrosc Rev 36:65-86
- Normal 43/93 (1993) Misure colorimetriche di superfici opache (Colour measurements of opaque surfaces), ICR-CNR, Roma
- Oltean L, Teischinger A, Hansmann C (2008) Wood surface discolouration due to the simulated indoor sunlight exposure. Holz Roh Werkst 66:51-56
- Pandey KK (2003) FTIR studies of the changes in wood chemistry following decay by brown-rot and white-rot fungi. Int Biodeter Biodegr 52:151-160

- Pandey KK (2005) Study of the effect of photo-irradiation on the surface chemistry of wood. *Polym Degrad Stabil* 90:9-20
- Pelosi C, Agresti G, Calienno L, Lo Monaco A, Picchio R, Santamaria U, Vinciguerra V (2013) Application of spectroscopic techniques for the study of the surface changes in poplar wood and possible implications in conservation of wooden artefacts. In: *Proceedings of SPIE* 8790-41:1-14
- Picchio R, Spina R, Maesano M, Carbone F, Lo Monaco A, Marchi E (2011) Stumpage value in the short wood system for the conversion into high forest of an oak coppice. *For Stud China* 13(4):252–262
- Pöhler E, Klingner R, Künniger T (2006) Beech (*Fagus sylvatica* L.) – Technological properties, adhesion behaviour and colour stability with and without coatings of the red heartwood. *Ann For Sci* 63:129–137
- Sharratt V, Hill CAS, Kint DPR (2009) A study of early colour change due to simulated accelerated sunlight exposure in Scots pine (*Pinus sylvestris*). *Polym Degrad Stabil* 94:1589-1594
- Sorz J, Hietz P (2008) Is oxygen involved in beech (*Fagus sylvatica*) red heartwood formation? *Trees-Struct Funct* 22(2):175-85
- Todorović N, Popović Z, Milić G, Popadić R (2012) Estimation of heat-treated beechwood properties by colour change. *BioRes* 7(1):799-815
- Tolvaj L, Faix O (1995) Artificial ageing of wood monitored by DRIFT Spectroscopy and CIEL*a*b* color measurements. *Holzforschung* 49:397-404
- Tolvaj L, Mitsui K (2010) Correlation between hue angle and lightness of light irradiated wood. *Polym Degrad Stabil* 95:638-42
- Tolvaj L, Mitsui K, Varga D (2011) Validity limits of Kubelka-Munk theory for DRIFT spectra of photodegraded solid wood. *Wood Sci and Technol* 45:135-146
- Tolvaj L, Molnar Z, Nemeth R (2013) Photodegradation of wood at elevated temperature: Infrared spectroscopic study. *J Photoch Photobio B* 121:32-36
- Torelli N (1984) The ecology of discoloured wood as illustrated by beech (*Fagus sylvatica* L.). *IAWA Bull* 5(2):121-127
- Vek V, Oven P, Poljanšek I (2013) Content of Total Phenols in Red Heart and Wound-Associated Wood in Beech (*Fagus sylvatica* L.). *Drvna ind* 6 (1):25-32
- Wernsdörfer H, Constant T, Mothe F, Badia MA, Nepveu G, Seeling U (2005) Detailed analysis of the geometric relationship between external traits and the shape of red heartwood in beech trees (*Fagus sylvatica* L.). *Trees-Struct Funct* 19(4):482-91

- Wernsdörfer H, Le Moguédec G, Constant T, Mothe F, Nepveu G, Seeling U (2006) Modelling of the shape of red heartwood in beech trees (*Fagus sylvatica* L.) based on external tree characteristics. *Ann For Sci* 63(8):905-13
- Widmann R, Fernandez-Cabo J L, Steiger R (2012) Mechanical properties of thermally modified beech timber for structural purposes. *Eur J Wood Prod* DOI 10.1007/s00107-012-0615-x
- Živković V, Arnold M, Radmanović K, Richter K, Turkulin H (2013) Spectral sensitivity in the photodegradation of fir wood (*Abies alba* Mill.) surfaces: colour changes in natural Weathering. *Wood Sci Technol* DOI 10.1007/s00226-013-0601-4

Tables

Table 1: Average values of the L*a*b* coordinates at the different irradiation times for normal and red heart wood.

Time (h)	Normal wood			Red heartwood		
	L*	a*	b*	L*	a*	b*
0	82.06	4.92	17.36	66.85	10.47	21.28
1	81.06	4.68	18.43	65.89	9.63	21.26
2	80.22	5.13	19.39	65.54	9.74	21.70
3	79.58	5.80	20.72	65.45	10.18	22.61
4	78.19	6.10	21.09	64.63	9.86	22.25
5	77.21	6.37	21.80	64.46	9.76	22.55
6	76.80	6.77	22.29	64.31	9.79	22.76
7	76.15	7.14	22.78	64.12	9.87	23.02
8	75.54	7.47	23.24	63.86	10.05	23.47
9	75.13	7.99	24.19	63.86	10.35	24.24
10	74.42	8.02	24.03	63.66	10.06	23.90
11	73.74	8.23	24.28	63.69	10.00	23.87
12	73.39	8.42	24.51	63.36	10.13	24.21
24	71.90	9.96	27.88	64.44	10.67	27.23
48	70.78	9.85	27.94	65.61	9.97	27.93
72	70.16	9.76	28.21	66.57	9.70	28.66
96	69.25	9.12	27.49	66.30	8.85	27.79
120	69.44	8.99	27.60	66.89	8.71	28.39
144	69.26	9.08	27.91	67.32	8.73	28.79
168	69.51	9.97	29.95	67.73	9.47	31.02
216	68.44	9.48	29.14	67.40	8.96	30.38
312	69.18	9.69	29.90	69.07	8.86	31.22
408	69.01	9.38	29.46	68.58	8.58	31.03
504	68.99	9.49	29.57	69.45	8.49	31.05

Table 2: Regression analysis for the dependent variables $L^*a^*b^*$ of normal wood and red heartwood as function of the time (t).

	Normal wood		Red heartwood	
	Variable coefficient	p-level	Variable coefficient	p-level
Intercept t t²	L*		L*	
	76.615	<0.01	64.515	<0.01
	-0.045	<0.01	0.021	<0.01
	0.00005	<0.01	-0.00002	<0.01
	R ² adj.=0.541; p<0.01 L*= 76.615-0.045t+0.00005t ²		R ² adj.=0.495; p<0.01 L*= 64.515+0.021t-0.000002t ²	
Intercept t t²	a*		a*	
	6.963	<0.01	10.067	<0.01
	0.020	<0.01	-0.008	<0.01
	-0.00002	<0.01	0.00001	<0.01
	R ² adj.=0.489; p<0.01 a*=6.963+0.020t-0.00002t ²		R ² adj.=0.467; p<0.01 a*=10.067-0.008t+0.00001t ²	
Intercept t t²	b*		b*	
	22.19	<0.01	22.954	<0.01
	0.053	<0.01	0.057	<0.01
	-0.00006	<0.01	-0.00006	<0.01
	R ² adj.=0.684; p<0.01 b*=22.19+0.053t-0.00006t ²		R ² adj.=0.848; p<0.01 b*=22.954+0.057t-0.00006t ²	

Table 3: Regression analysis for the dependent variable t (time) as function of the $L^*a^*b^*$ coordinates, in normal wood and red heartwood.

	Variable coefficient	p-level
Intercept L* a* b* L*² a*² b*²	Normal wood	
	10525.09	p<0.01
	-256.27	p<0.01
	121.18	p<0.01
	-111.61	p<0.01
	1.67	p<0.01
	-11.27	p<0.01
	3.03	p<0.01
	R ² adj.=0.891; p<0.01 t=10525.09-256.27L*+121.18a*-111.61b*+1.67L* ² -11.27a* ² +3.03b* ²	
Intercept L* a* b* L*² a*² b*²	Red heartwood	
	9925.968	p<0.01
	-137.215	p<0.01
	-509.234	p<0.01
	-218.429	p<0.01
	1.004	p<0.01
	24.137	p<0.01
	4.599	p<0.01
	R ² adj.=0.889; p<0.01 t=9925.968-137.215L*-509.234a*-218.429b*+1.004L* ² +24.137a* ² +4.599b* ²	

Table 4: T-test for dependent samples on normal and red heart wood.

	Average	Standard deviation	N	Diff.	Standard deviation	T	Degree of freedom	p-level
I_{1507}/I_{1375} Normal	0.855713	0.475166	14	-0.04369	0.244124	-0.66961	13	>0.05
I_{1507}/I_{1375} Red heart	0.812024	0.511930						
I_{1739}/I_{1375} Normal	3.161474	0.960797	14	-0.07445	0.734234	-0.37942	13	>0.05
I_{1739}/I_{1375} Red heart	3.087020	0.751920						
I_{1507}/I_{1739} Normal	0.354302	0.337481	14	-0.03792	0.071823	-1.97558	13	>0.05
I_{1507}/I_{1739} Red heart	0.316380	0.311032						

Table 5: Regression analysis for the dependent variables I_{1507}/I_{1375} , I_{1739}/I_{1375} and I_{1507}/I_{1739} as function of exposure time (t).

	Variable coefficient	p-level
I_{1507}/I_{1375}		
Intercept	1.431	<0.01
t	-0.006	<0.01
t ²	0.000007	<0.01
R ² adj.=0.777; p<0.01		
$I_{1507}/I_{1375} = 1.431 - 0.006t + 0.000007t^2$		
I_{1739}/I_{1375}		
Intercept	1.45	<0.01
T	0.004	<0.01
R ² adj.=0.412; p<0.01		
$I_{1507}/I_{1375} = 1.45 + 0.004t$		
I_{1507}/I_{1739}		
Intercept	1.26	<0.01
t	-0.004	<0.01
t ²	0.000004	<0.01
R ² adj.=0.613; p<0.01		
$I_{1739}/I_{1507} = 1.26 - 0.004t + 0.000004t^2$		

Table 6: Regression analysis for the dependent variable I_{1507}/I_{1375} as function of the chromatic coordinates.

	Variable coefficient	p-level
Intercept	-21.948	<0.01
a*	2.95	<0.01
L* ²	0.002	<0.01
a* ²	-0.163	<0.01
R ² adj.=0.892; p<0.01		
$I_{1507}/I_{1375} = -21.948 + 2.953a^* + 0.002L^{*2} - 0.163a^{*2}$		

Figures

Figure 1 - Changes in $L^*a^*b^*$ values due to exposure in Solar Box of the normal and red heart wood over 504h

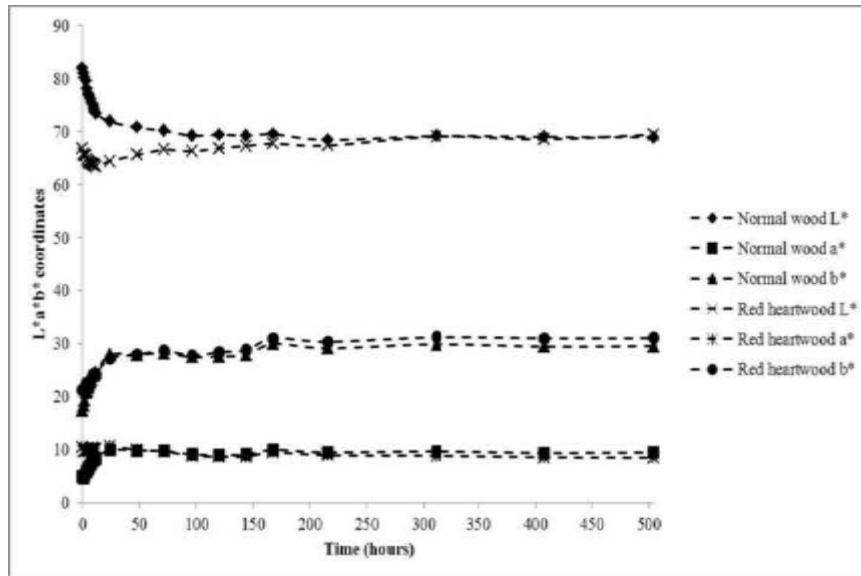


Figure 2 - Changes in ΔE^* values due to exposure in Solar Box of the normal (A) and red heart wood (B) over 504h

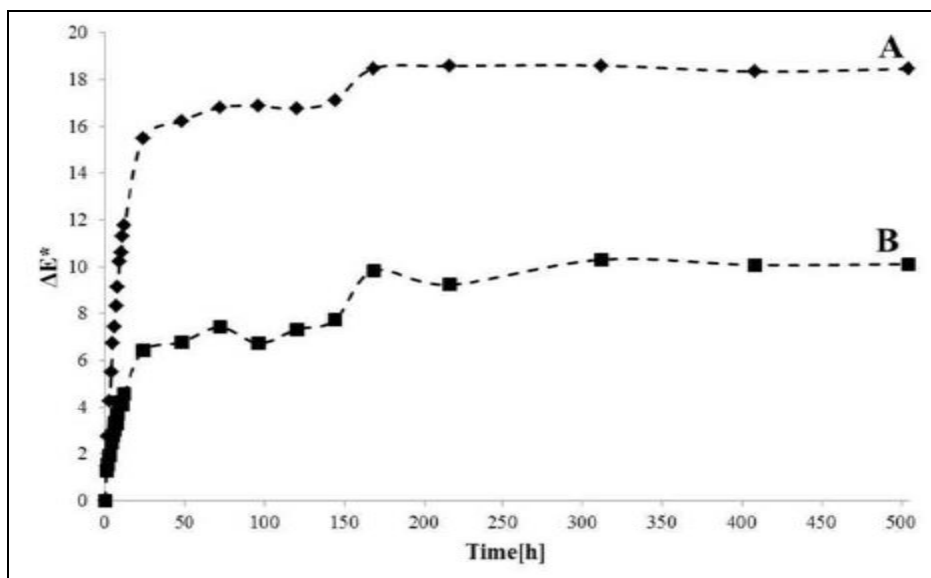


Figure3 - Colour changes of normal and read heart wood due to irradiation. L*, a* and parameters at different exposure times as calculated from the regression analysis shown in Tables 4-5

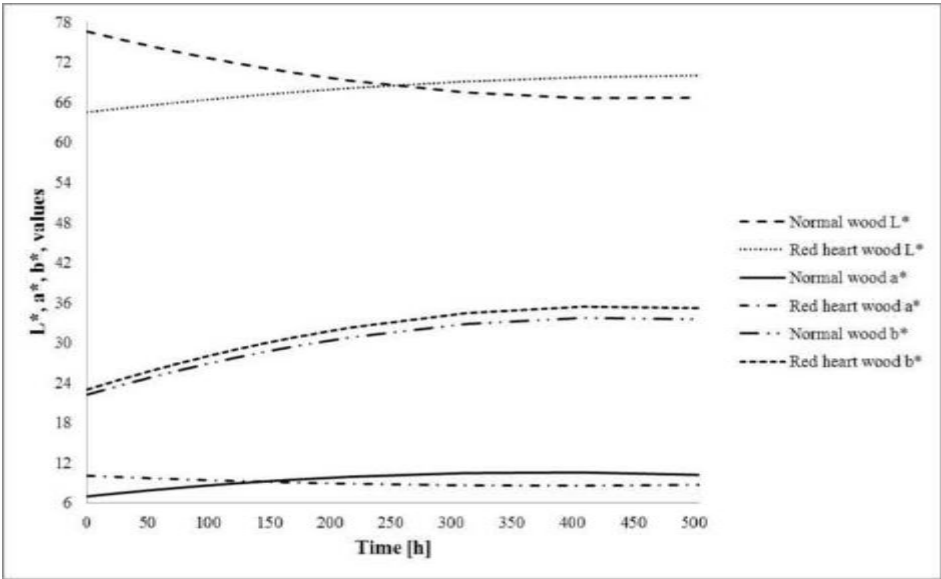


Figure 4: Diffuse reflectance spectra of normal wood slices measured at chosen exposure times

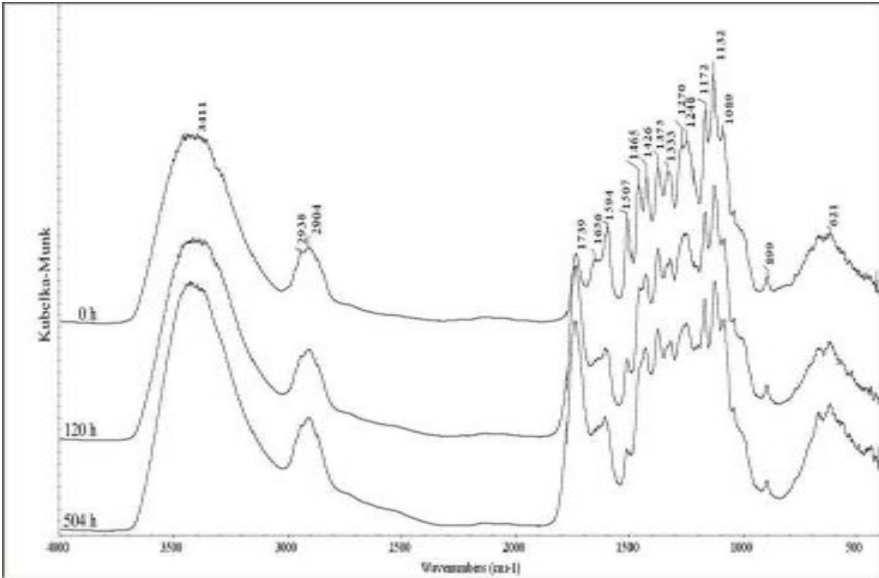


Figure 5: Diffuse reflectance spectra of red heart wood slices measured at chosen exposure times

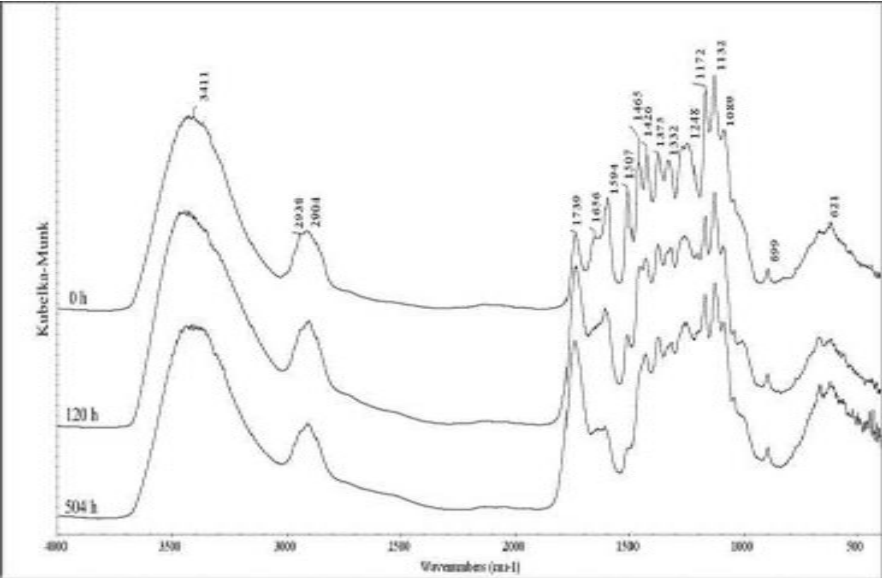


Figure 6 Change in the ratio of lignin band at 1507 cm^{-1} against the carbohydrate band at 1375 cm^{-1} , as function of the irradiation time, for normal and red heart wood

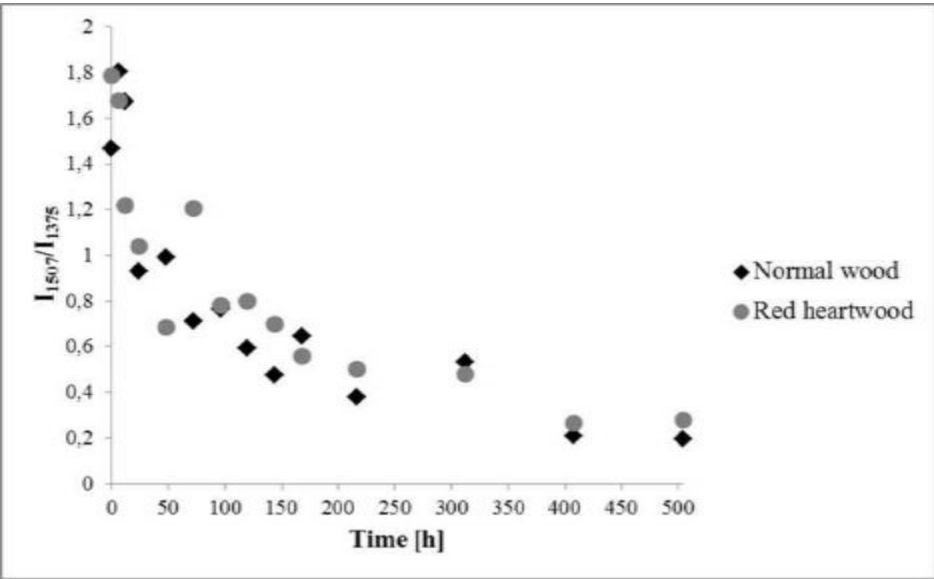


Figure 7 Change in the ratio of carbonyl band at 1739 cm^{-1} against the carbohydrate band at 1375 cm^{-1} , as function of the irradiation time, for normal and red heart wood

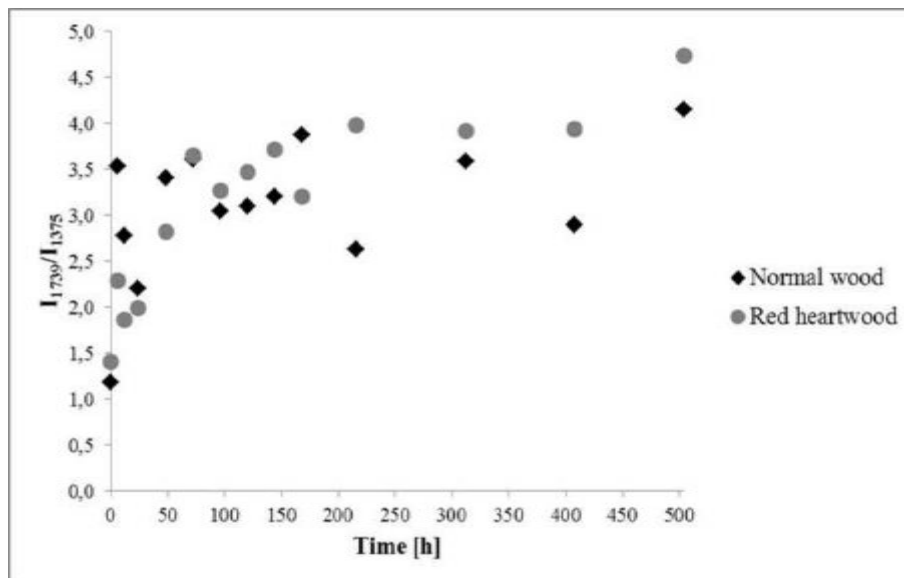


Figure 8 Change in the ratio of lignin band at 1507 cm^{-1} against the carbonyl band at 1739 cm^{-1} , as function of the irradiation time, for normal and red heart wood

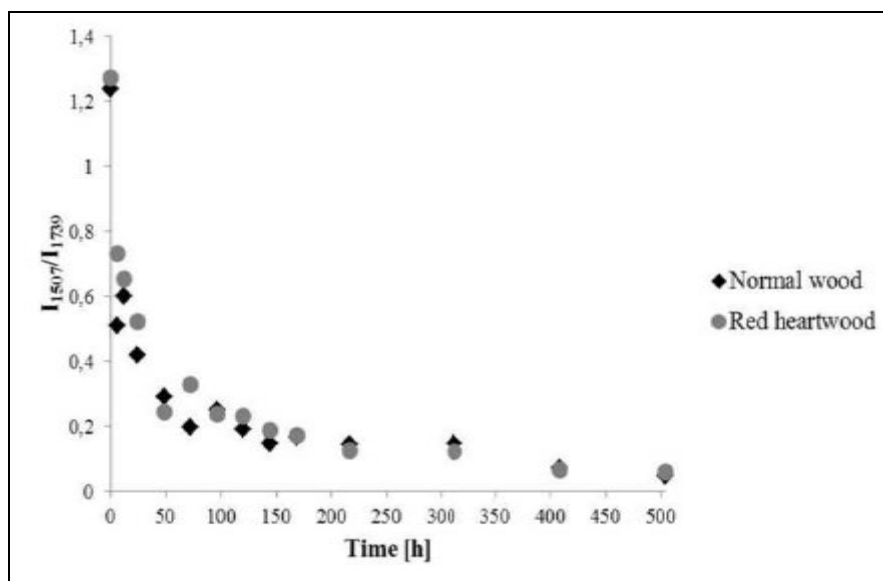
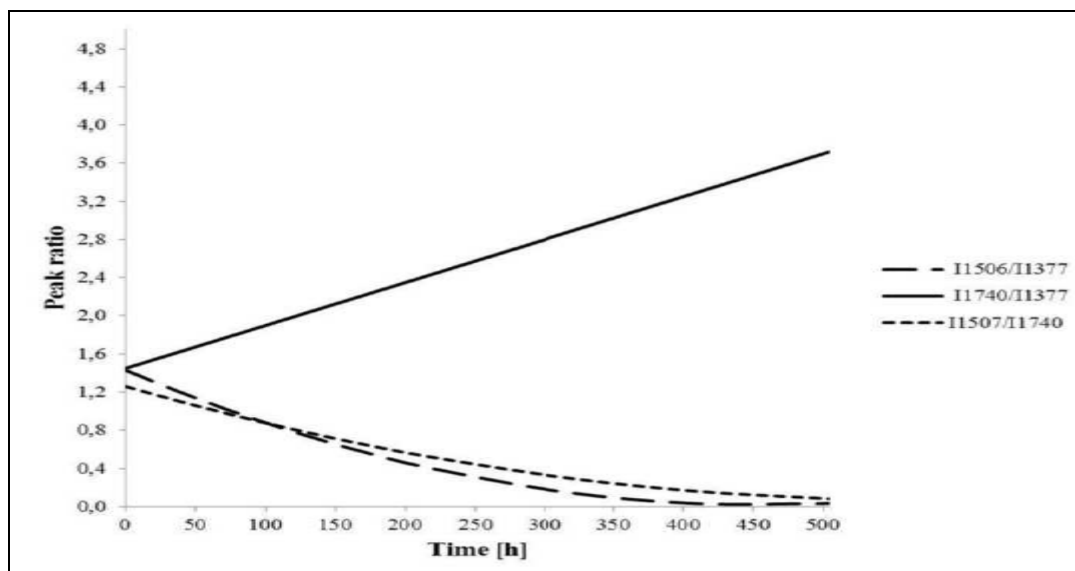


Figure 9 Change in the ratio band at different exposure times, as calculated from the regression analysis shown in Table 8. In the legend (A: I_{1507}/I_{1376}), (B: I_{1737}/I_{1376}), (C: I_{1507}/I_{1737})



8. L'azione degli estrattivi sul legno di *Castanea sativa* Mill. esposto a radiazione luminosa in ambiente controllato

In questa seconda sperimentazione sulla fotodegradazione del legno di *Castanea sativa* Mill., l'obiettivo è stato quello di verificare con elaborazioni statistiche i fenomeni osservati nel primo lavoro svolto e di indagare sul ruolo degli estrattivi nei processi di alterazione chimica e nelle variazioni di colore sui campioni esposti a radiazione luminosa in ambiente controllato. Il manoscritto definitivo, per la sottomissione ad una rivista internazionale, risulta ad oggi in fase di preparazione.

Gli estrattivi hanno un ruolo di protezione del legno contro gli attacchi di agenti biotici. Per quanto riguarda i funghi (Helm *et al.* 1997) l'azione di questi componenti è dovuta alla capacità di legarsi con le proteine (Luck *et al.*, 1994) e con metalli essenziali alla crescita di patogeni: gli estrattivi presentano una forte affinità per gli ioni metallici (Mila *et al.*, 1996). Invece, come già riportato nell'introduzione, il ruolo che gli estrattivi hanno nella fotodegradazione del legno non risulta ancora molto chiaro e universalmente riconosciuto. Alcuni autori sostengono che gli estrattivi non influenzano i cambiamenti di colore (Sharratt *et al.*, 2008), altri sostengono che l'alterazione della componente aromatica di questi composti provocano maggiori cambiamenti cromatici (Pandey, 2005b), altri ancora affermano che gli estrattivi minimizzano le variazioni di colore (Tolvaj *et al.* 2012). Secondo Chang *et al.* (2010) gli estrattivi agiscono in modo tale da rendere minore l'alterazione chimica del legno esposto alla radiazione luminosa.

Sono stati preparati campioni di forma circolare (diametro 10 mm e spessore 2 mm) dalle superfici di tre tavolette in sezione radiale. Per ogni tavoletta sono stati scelti 15 campioni che sono stati divisi rispettivamente in tre gruppi di eguale numero: nel primo non sono stati eseguiti trattamenti, nel secondo sono stati estratti soltanto gli estrattivi idrosolubili in acqua bidistillata (H₂O) (Zahri *et al.*, 2007) e dal terzo sono stati estratti tutti gli estrattivi con una soluzione di acqua bidistillata (H₂O) e metanolo (CH₃OH) (Sanz *et al.*, 2010).

In totale sono stati ottenuti 15 campioni per gruppo di trattamento con 5 campioni per ogni tavoletta di origine.

Nello specifico i campioni del secondo gruppo sono stati trattati con H₂O bidistillata in rapporto 1 g di campioni: 100 ml di solvente (Zahri *et al.*, 2007). Invece il terzo gruppo è stato trattato con una soluzione di acqua (H₂O) e metanolo (CH₃OH) al 50% sempre in rapporto 1 g di campioni: 100 ml di soluzione (Sanz *et al.*, 2010).

Dopo 48 ore di trattamento i campioni sono stati filtrati con un filtro “a fascia blu” (spessore 160 µm; porosità < 2 µm) sottovuoto e successivamente sono stati fatti asciugare all'aria.

I campioni sono stati esposti a radiazione luminosa in ambiente controllato all'interno di un Solar Box Modello 1500E (Erichsen Instruments), dotato di una lampada allo xeno (2,5 kW) e di un filtro UV a 280 nm. I campioni sono stati esposti a 550 W m^{-2} , a 55° C in base alle specifiche della Erichsen al fine di simulare l'esposizione a luce esterna. Le condizioni di umidità relativa sono risultate costanti.

Sono state studiate le variazioni colorimetriche nel sistema CIE-L*a*b* 1976 attraverso uno spettrometro di riflettanza e le alterazioni chimiche con la spettroscopia ad infrarossi a trasformata di Fourier (FTIR).

Gli intervalli di esposizione sono stati i seguenti: 0, 12, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 216, 312, 408 e 504.

Le misure di colore sono state svolte con lo spettrofotometro di riflettanza X-rite CA22, che effettua misure in condizioni *standard*. Questo strumento è dotato di un sensore con una geometria di misura di $45^\circ/0^\circ$ con un *range* spettrale da 400 nm a 700 nm, una risoluzione spaziale 10 nm, un diametro di misura di 4 mm e ha un bianco di riferimento fornito con lo strumento. Le misure sono state eseguite nel sistema CIE-L*a*b* 1976.

Per ogni campione, ad ogni intervallo di esposizione considerato, sono state misurate le coordinate L*, a* e b* ed i vari Δ (ΔL^* , Δa^* , Δb^* e ΔE^*) in base alle norme tecniche di riferimento (UNI EN 15886/2010). I dati ottenuti sono stati esportati in un *file* di tipo foglio di calcolo con il *software* in dotazione con lo strumento.

Per quanto riguarda le analisi spettroscopiche, sono stati ottenuti gli spettri infrarossi con lo spettrometro a trasformata di Fourier Nicolet Avatar 360, che lavora nel *range* $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$.

L'assegnazione dei picchi degli spettri è stata svolta in base alla letteratura disponibile (Chang *et al.*, 2002; Colom *et al.*, 2003; Moore e Owen, 2001; Pandey e Pitman, 2003). In modo particolare sono stati considerati il picco a 1739 cm^{-1} che identifica il gruppo carbonilico che deriva dalla degradazione della lignina, il picco a 1507 cm^{-1} che identifica il gruppo aromatico della lignina ed il picco a 1375 cm^{-1} che identifica i polisaccaridi della cellulosa. E' stato analizzato il rapporto tra i picchi utilizzando come riferimento il picco a 1375 cm^{-1} , che non ha mostrato variazioni, in modo da minimizzare la variabilità presente nel legno.

I dati ottenuti sono stati analizzati attraverso l'analisi della varianza (M-ANOVA) al fine di verificare le differenze tra i vari *set* di campioni studiati. Sono state inoltre ottenute le regressioni dei vari fenomeni al fine di verificare la possibilità di ottenere modelli di previsione.

In tabella 4 sono riportati i valori medi delle coordinate colorimetriche ai vari tempi di irraggiamento. All'inizio della prova il parametro L^* riflette lo stato dei campioni sottolineando le diverse intensità di eliminazione degli estrattivi: L^* evidenzia il progressivo schiarimento dovuto all'allontanamento degli estrattivi idrosolubili e solubili in CH_3OH e H_2O . Si nota al proseguire dell'irraggiamento un progressivo scurirsi dei campioni, segnalato dalla diminuzione di L^* .

Il parametro b^* inizialmente presenta valori diversi nei tre trattamenti, ma già dopo 12 ore di irraggiamento i valori tendono ad uniformarsi, in modo particolare nel legno non trattato e nel legno in cui sono stati allontanati gli estrattivi idrosolubili.

Si può osservare anche che la coordinata b^* presenta nei 3 gruppi una variazione nei valori medi piuttosto accentuata tra le 0 ore di esposizione e le 12 ore di esposizione.

Dopo 168 ore di irraggiamento i tre trattamenti raggiungono i massimi valori di b^* , per poi diminuire progressivamente. Anche la componente a^* raggiunge il massimo valore a 168 ore di irraggiamento. Complessivamente l'andamento di parametri colorimetrici, a prescindere dai valori, ha un comportamento simile nei tre trattamenti.

Nel legno normale, analogamente a quanto evidenziato nella prima sperimentazione sulla stessa specie, può essere osservato un netto decremento della componente L^* , un leggero incremento della componente a^* e un incremento più marcato della componente b^* .

Nel legno in cui sono stati rimossi gli estrattivi idrosolubili (trattato in H_2O) la componente L^* , sebbene parta da un valore medio più alto rispetto al legno non trattato, mostra un decremento meno accentuato. Si osserva un leggero incremento della componente a^* e un incremento, leggermente più accentuato rispetto al legno normale, della componente b^* .

Nel legno trattato con CH_3OH e H_2O , è possibile notare un andamento della componente L^* analogo al legno trattato in H_2O , sebbene i valori di inizio e di fine siano leggermente più alti. Nella componente a^* si osserva un decremento simile agli altri gruppi, con valori leggermente più bassi, e nella componente b^* si osserva un incremento anche in questo caso paragonabile agli altri gruppi ma con valori medi più bassi.

In tabella 5 sono riportate le regressioni ottenute per le coordinate colorimetriche in funzione del tempo di esposizione alla radiazione luminosa. Si osserva che il p -level dell'intercetta e dei coefficienti è sempre altamente significativo. Il fatto che in alcuni casi il valore del R^2_{adj} sia piuttosto basso, indica che può esserci dispersione tra la nebulosa dei valori osservabili e quelli del modello di previsione sviluppato. Comunque in tutti i casi si osserva una corrispondenza tra andamento della funzione calcolata e l'andamento dei valori medi osservati.

Tabella 4. Media delle coordinate colorimetriche L*, a* e b*.

Time (h)	Legno normale			Legno trattato con H ₂ O			Legno trattato con CH ₃ OH e H ₂ O		
	L*	a*	b*	L*	a*	b*	L*	a*	b*
0	75,91800	5,76822	20,28600	79,03822	5,23289	18,34800	80,32756	4,50667	16,99556
12	71,56956	6,89422	28,07844	73,90667	6,23800	28,51600	76,23489	5,18844	27,63378
24	68,83489	7,65733	30,15578	72,37622	6,69867	30,42289	75,26356	5,70711	29,02689
48	66,56667	8,38978	31,43067	72,52622	6,58533	31,12400	74,71911	5,71844	29,48711
72	67,88822	8,93489	32,79711	73,30667	6,96800	32,47578	75,31444	6,24111	30,66111
96	66,73778	9,53356	33,17733	73,02600	7,35733	32,48600	74,85489	6,74822	30,69711
120	66,21200	9,56267	32,79956	72,80600	7,36311	31,95422	74,60422	6,86756	30,26378
144	65,99489	9,43089	32,31422	72,43800	7,32822	31,44556	74,50422	6,88244	29,92311
168	64,99600	10,12333	33,44600	72,17200	8,20489	32,96156	73,57911	7,89644	31,44756
216	63,33822	8,99889	30,42400	70,61867	7,35578	30,36533	72,36844	6,96711	28,67822
312	63,16567	8,82617	29,55183	71,12000	7,20289	29,49311	72,11244	7,01778	27,92156
408	63,71911	9,02944	29,62450	71,31400	7,49622	29,63156	73,07400	7,03044	27,47489
504	63,67389	9,67950	29,97222	71,20733	8,05422	29,84000	72,58222	7,67689	27,83822

Tabella 5. Regressioni delle coordinate colorimetriche in funzione del tempo di esposizione alla radiazione.

Legno non trattato	Legno trattato con H ₂ O	Legno trattato con H ₂ O e CH ₃ OH
L*	L*	L*
R ² adj.=0.729; p<0.01 L*=70.392-0.037t+0.00005t ²	R ² adj.=0.453; p<0.01 L*=75.217-0.027t+0.00004t ²	R ² adj.=0.544; p<0.01 L*=77.428-0.031t-0.00004t ²
a*	a*	a*
R ² adj.=0.736; p<0.01 a*=6.843+0.018t-0.00002t ²	R ² adj.=0.503; p<0.01 a*=6.132+0.010t-0.000015t ²	R ² adj.=0.500; p<0.01 a*=5.161-0.0146t-0.000021t ²
b*	b*	b*
R ² adj.=0.719; p<0.01 b*=24.720+0.046t-0.00007t ²	R ² adj.=0.272; p<0.01 b*=26.901+0.044t-0.00008t ²	R ² adj.=0.249; p<0.01 b*=25.558+0.042t-0.00008t ²

In figura 25 è possibile osservare l'andamento delle coordinate colorimetriche in funzione del tempo, descritto dai modelli sviluppati.

E' possibile osservare che nel caso di L* la progressiva intensità di estrazione degli estrattivi, provoca un generale schiarimento (aumento della *lightness*) nel legno. Sempre all'aumentare dell'intensità di estrazione, si osserva nella componente a* un leggero spostamento verso il verde. Invece nella componente b* si nota che i campioni estratti in CH₃OH e H₂O e quelli estratti in H₂O presentano un andamento che porta a tonalità leggermente più spostate verso il blu all'aumentare dell'intensità di estrazione. Invece il legno non trattato presenta un andamento simile, ma che si distingue dagli altri.

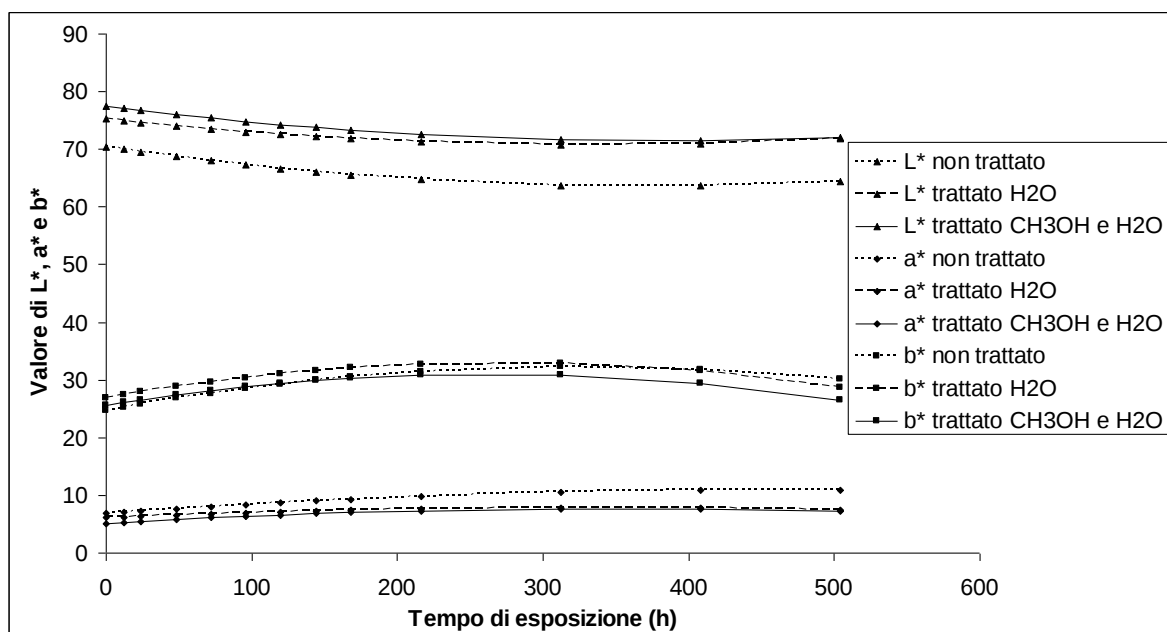


Figura 25. Andamento delle funzioni calcolate delle coordinate colorimetriche in funzione del tempo di esposizione a radiazione luminosa secondo il modello ottenuto.

Per quanto riguarda la variazione totale di colore del legno di *Castanea sativa* Mill., in figura 26 sono riportati i valori del ΔE^* in funzione del tempo di esposizione. E' possibile notare che fino alle prime 48 ore, il gruppo di campioni che non è stato trattato subisce meno cambiamenti di colore. Dopo 48 ore di esposizione le variazioni totali di colore appaiono sempre maggiori rispetto ai campioni che hanno subito trattamenti.

I due gruppi di campioni che hanno subito l'estrazione hanno andamento abbastanza simile, ma il legno che ha subito il trattamento solo con H_2O subisce variazioni di colore leggermente più accentuate.

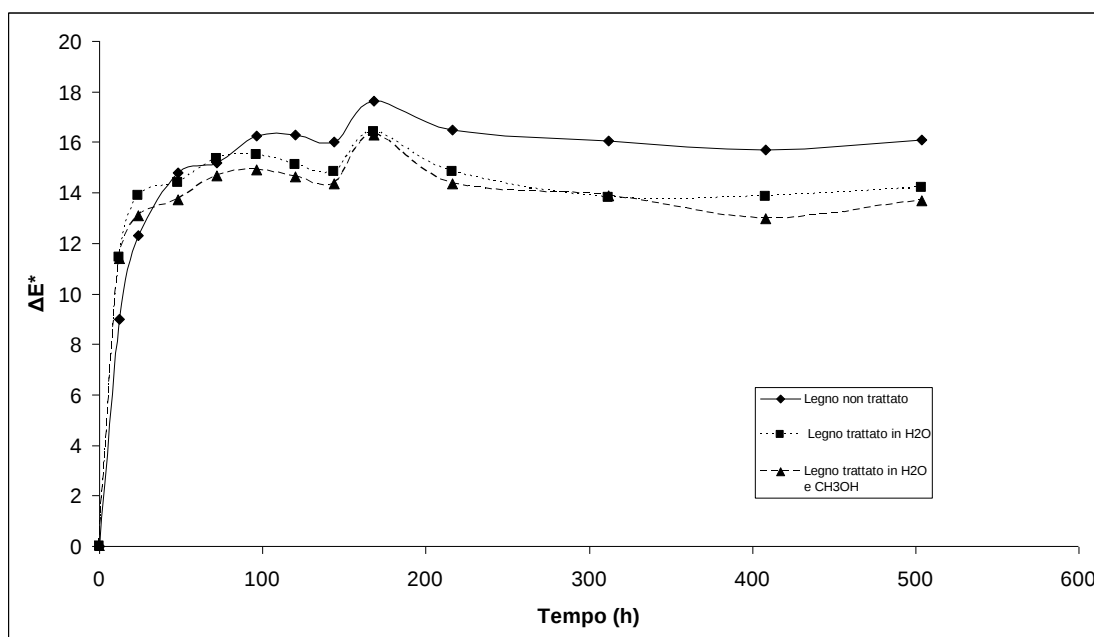


Figura 26. ΔE^* dei tre tipi di legno.

In tabella 6 è riportato il risultato del test M-ANOVA e del Tukey test per quanto riguarda l'andamento del rapporto dei picchi degli spettri FTIR in funzione del tempo. Appare evidente che nei vari rapporti considerati, si osserva una differenza statisticamente significativa molto alta ($p\text{-level} < 0.001$) tra i gruppi di campioni considerati. Fanno eccezione i gruppi che hanno subito l'estrazione per quanto riguarda il rapporto 1507/1739: questi due gruppi non si diversificano.

Tabella 6. Test M-ANOVA e Tukey test sui tre gruppi di campioni rispetto all'andamento del rapporto tra i picchi FTIR.

	HSD test	Gradi di libertà	$p\text{-level}$
I_{1507}/I_{1375} legno non trattato	a	1887	<0.001
I_{1507}/I_{1375} legno trattato con H ₂ O	b		
I_{1507}/I_{1375} legno trattato con H ₂ O e CH ₃ OH	c		
I_{1739}/I_{1375} legno non trattato	a	1887	<0.001
I_{1739}/I_{1375} legno trattato con H ₂ O	b		
I_{1739}/I_{1375} legno trattato con H ₂ O e CH ₃ OH	c		
I_{1507}/I_{1739} legno non trattato	a	1887	<0.001
I_{1507}/I_{1739} legno trattato con H ₂ O	b		
I_{1507}/I_{1739} legno trattato con H ₂ O e CH ₃ OH	b		

In tabella 7 sono riportate le regressioni ottenute che rappresentano dei modelli che descrivono questo fenomeno. La significatività statistica dell'intercetta e dei coefficienti risulta sempre alta. L' $R^2_{adj.}$ varia nei singoli casi: valori più bassi evidenziano che nel caso di misure sperimentali la dispersione può essere maggiore.

Tabella 7. Regressioni dei rapporti tra i picchi in funzione del tempo di esposizione alla radiazione.

Legno non trattato	Legno trattato con H ₂ O	Legno trattato con H ₂ O e CH ₃ OH
I_{1507}/I_{1375}	I_{1507}/I_{1375}	I_{1507}/I_{1375}
$R^2_{adj.}=0.819$; $p<0.01$ $I_{1507}/I_{1375} = 1.846+0.00096t-0.084t^{0.5}$	$R^2_{adj.}=0.848$; $p<0.01$ $I_{1507}/I_{1375} = 1.548+0.0019t-0.106t^{0.5}$	$R^2_{adj.}=0.891$; $p<0.01$ $I_{1507}/I_{1375} = 1.358+0.0020t-0.104t^{0.5}$
I_{1739}/I_{1375}	I_{1739}/I_{1375}	I_{1739}/I_{1375}
$R^2_{adj.}=0.224$; $p<0.01$ $I_{1507}/I_{1375} = 4.323-0.004t-0.192t^{0.5}$	$R^2_{adj.}=0.278$; $p<0.01$ $I_{1507}/I_{1375} = 3.155-0.003t+0.175t^{0.5}$	$R^2_{adj.}=0.485$; $p<0.01$ $I_{1507}/I_{1375} = 2.604-0.0034t+0.169t^{0.5}$
I_{1507}/I_{1739}	I_{1507}/I_{1739}	I_{1507}/I_{1739}
$R^2_{adj.}=0.938$; $p<0.01$ $I_{1507}/I_{1739} = 0.415+0.00045t-0.026t^{0.5}$	$R^2_{adj.}=0.959$; $p<0.01$ $I_{1507}/I_{1739} = 0.508+0.001272t-0.0491t^{0.5}$	$R^2_{adj.}=0.937$; $p<0.01$ $I_{1507}/I_{1739} = 0.543+0.001620t-0.058t^{0.5}$

Nelle figure 27, 28 e 29 si osserva l'andamento del rapporto dei picchi in funzione del tempo di esposizione. Poiché il picco della cellulosa a 1375 cm⁻¹ non varia con il tempo di esposizione, si evince da queste figure che il picco della lignina (1507 cm⁻¹) diminuisce, quello del gruppo carbonilico (1739 cm⁻¹) aumenta. Inoltre è possibile notare che il maggiore livello di estrazione influenza negativamente la resistenza del legno alla fotodegradazione. Fanno eccezione, per il rapporto I_{1507}/I_{1739} , i due gruppi di campioni estratti dai quali si sono ottenute funzioni praticamente sovrapposte: tutto questo è giustificato anche dal risultato della M-ANOVA e del Tukey test.

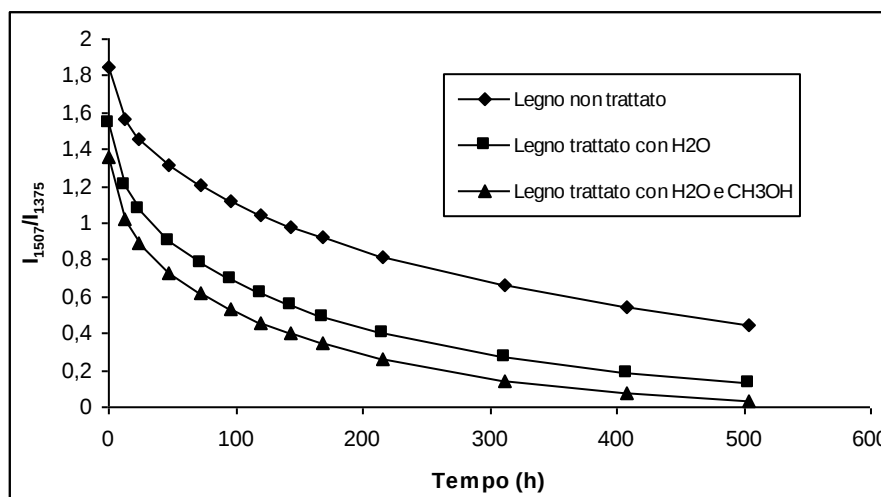


Figura 27. Andamento del rapporto tra i picchi I_{1507}/I_{1375} in funzione del tempo di esposizione a radiazione luminosa secondo il modello ottenuto.

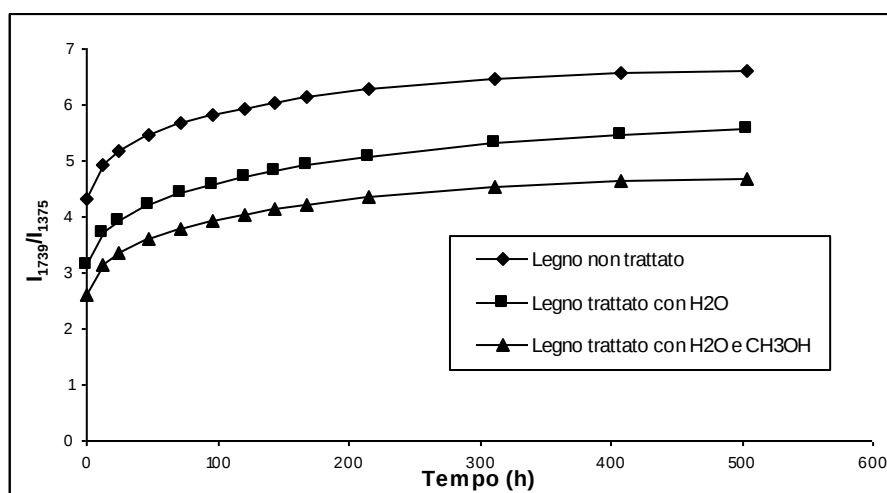


Figura 28. Andamento del rapporto tra i picchi I_{1739}/I_{1375} in funzione del tempo di esposizione a radiazione luminosa secondo il modello ottenuto.

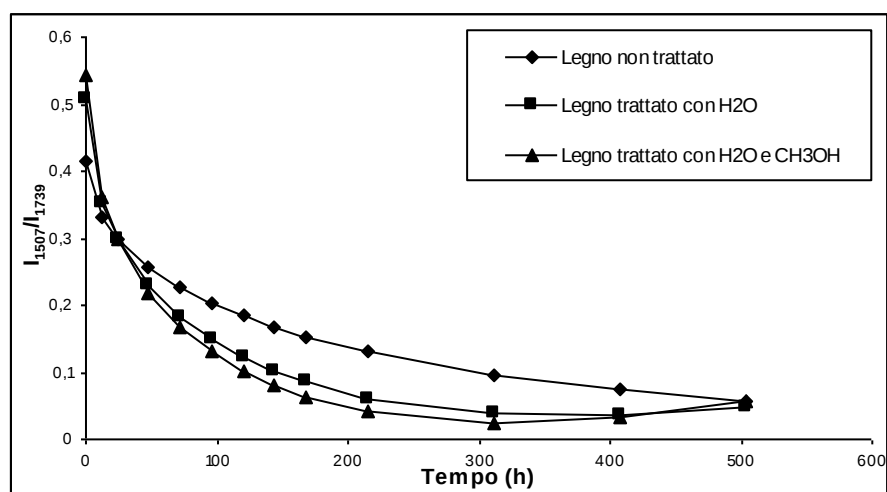


Figura 29. Figura 4. Andamento del rapporto tra i picchi I_{1507}/I_{1739} in funzione del tempo di esposizione a radiazione luminosa secondo il modello ottenuto.

In fine sono state ottenute le regressioni che mettono in relazione i rapporti tra i picchi con le coordinate colorimetriche. In tabella 8 sono riportate quelle che hanno mostrato significatività statistica. Soltanto per il legno non trattato e per i rapporti 1507/1375 e 1507/1739 sono stati ottenuti modelli di previsione con alta significatività statistica.

Tabella 8. Regressioni dei rapporti dei picchi in funzione delle coordinate colorimetriche

Legno non trattato	
I_{1507}/I_{1375}	
$R^2_{adj.}=0.609; p<0.01$	
$I_{1507}/I_{1375} = -23,466+1,267L^*-1,636a^*-0,642b^*-0,0097L^{*2}+0,48402778a^{*2}+0,08680556b^{*2}$	
I_{1507}/I_{1739}	
$R^2_{adj.}=0.808; p<0.01$	
$I_{1507}/I_{1739} = -4,494+0,238L^*-0,393a^*-0,097b^*-0,00179L^{*2}+0,01794a^{*2}+0,0019b^{*2}$	

Dai dati ottenuti sembra opportuno affermare che gli estrattivi agiscono in modo tale da far diminuire i cambiamenti di colore nelle prime 48 ore di esposizione e successivamente si nota quanto osservato dopo 48 ore di esposizione, sembra dovuto in modo principale alla coordinata colorimetrica L^* che secondo alcuni autori è associata in modo particolare alla foto-ossidazione degli estrattivi (Tolvaj e Mitsui, 2010).

Comunque, la foto-ossidazione degli estrattivi potrebbe portare ad una forma di protezione delle componenti chimiche del legno (Nzokou e Kamdem, 2006; Chang *et al.*, 2010). Infatti i dati ottenuti hanno mostrato chiaramente che, all'aumentare dell'intensità di estrazione degli estrattivi, aumenta la fotodegradazione della lignina. Inoltre, secondo Helm *et al.* (1997), l'alta durabilità di una specie tassonomicamente vicina a *Castanea sativa* Mill, *Castanea dentata* (Marsh.) Borkh, è dovuta al fatto che tannini e lignina, legati insieme, si comportano come un preservante naturale.

Le regressioni ottenute per quanto riguarda il rapporto dei picchi in funzione delle coordinate colorimetriche, oltre a confermare quanto osservato su altre specie, permette di ipotizzare la possibilità di utilizzarle come modelli di previsione per individuare lo stato di alterazione della lignina attraverso la misura del colore. Questo potrebbe permettere di svolgere indagini non distruttive su campioni di particolare pregio anche nel campo dei beni culturali.

9. Conclusioni

Le variazioni delle caratteristiche del legno in seguito ad alterazioni biotiche o abiotiche è di grande interesse per comprendere i meccanismi che le provocano e per individuare possibili interventi per preservarne l'integrità e l'efficienza in opera.

Lo studio svolto su *Inonotus rickii* (Pat.) Reid ha permesso di capire come questo agente di carie bianca influenzi le caratteristiche del legno attraverso la sua azione degradativa. Sulle specie studiate, per quanto riguarda i ritiri, non sono state osservate variazioni statisticamente significative tra provini inoculati e controllo. Invece, la massa volumica (ad umidità del 12%) e la resistenza a compressione assiale (ad umidità del 12%) evidenziano differenze statisticamente significative tra i diversi set di campioni e, proprio per questo motivo, sono state utilizzate per individuare, attraverso una matrice di rischio, un *ranking* di suscettibilità delle specie legnose studiate.

Celtis australis L., *Acer negundo* L., *Acer campestre* L., *Tilia x vulgaris* Hayne e *Platanus x acerifolia* (Aiton) Willd. appartengono alla prima classe di rischio, mentre *Robinia pseudoacacia* L., *Ulmus minor* Mill. e *Quercus ilex* L. rientrano alla classe di rischio più bassa. La classe intermedia non risulta rappresentata. Questi dati sono confermati anche dai monitoraggi effettuati nei viali alberati da diversi autori.

Il Tukey test ha evidenziato una differenza di comportamento dei diversi inoculi ma questo non trova conferma in letteratura. Per questo motivo sarebbe auspicabile svolgere indagini più approfondite.

La metodologia messa a punto ha dimostrato di essere idonea per individuare un *ranking* di suscettibilità di resistenza a questo patogeno. Negli studi di carattere fitopatologico, questa metodologia può permettere confronti quantitativi e non solo qualitativi come di solito è proposto. Per queste ragioni appare auspicabile condurre indagini in questo senso su altre specie arboree di interesse ornamentale.

Il legno esposto a radiazione luminosa in ambiente controllato, subisce una variazione di colore ed una alterazione delle sue componenti chimiche. Questi aspetti, già conosciuti in letteratura, hanno trovato per la prima volta una conferma statistica che ha portato inoltre all'individuazione delle funzioni che li descrivono.

Il legno delle specie studiate ha mostrato una diminuzione della coordinata colorimetrica L* piuttosto accentuata e delle variazioni meno sensibili sulle altre coordinate colorimetriche. Il ΔE^* risulta elevato nelle prime ore di esposizione per assumere al progredire dei tempi di

esposizione valori tendenzialmente costanti. Le analisi statistiche hanno permesso di individuare le relazioni che legano l'andamento delle coordinate colorimetriche con il tempo di esposizione.

Nei casi in cui è stata testata la sostanza preservante Linfoil® è stato osservato che i campioni così trattati hanno mostrato una minore alterazione del colore.

Nel caso di *Fagus sylvatica* L. è stato osservato che il legno affetto dall'anomalia del cuore rosso mostra un andamento della coordinata colorimetrica L* totalmente opposto.

Le analisi svolte attraverso la spettroscopia FTIR hanno evidenziato che il picco legato alla lignina subisce un forte decremento ed un conseguente incremento viene osservato nel picco legato al gruppo carbonilico. Il picco legato alla cellulosa rimane sostanzialmente invariato. I picchi degli spettri FTIR normalizzati sono stati analizzati statisticamente. Queste analisi, oltre a confermare quanto osservato sui dati grezzi degli spettri, hanno permesso di ottenere funzioni, con significatività statistica, che descrivono l'andamento dei rapporti dei picchi in funzione del tempo di esposizione.

Con il sostegno di lavori presenti in letteratura che individuano nell'alterazione della lignina la causa delle variazioni di colore del legno esposto a luce in ambiente controllato, sono state ottenute per la prima volta le funzioni che legano le variazioni delle coordinate colorimetriche alla degradazione delle componenti chimiche. Questo rappresenta l'aspetto più interessante poiché consente di individuare il grado di alterazione chimica del legno con la misura del colore senza dover svolgere analisi distruttive: tale aspetto risulta particolarmente interessante nella gestione di beni lignei specialmente se di interesse storico, artistico, demotnoantropologico e culturale.

Nel caso di *Populus* L. sp., la relazione tra variazioni di colore ed alterazione chimica della superficie del legno è stata confermata anche con l'utilizzo della tecnica del *Hyper-Spectral Imaging*.

Nel caso di *Castanea sativa* Mill., è stato svolto uno studio finalizzato alla comprensione dell'influenza degli estrattivi su questi fenomeni. E' apparso evidente che la presenza degli estrattivi favorisce una minore variazione di colore nelle prime ore di esposizione. Successivamente si osserva un andamento contrario attribuibile in modo particolare alla coordinata colorimetrica L*. La variazione di questa coordinata, secondo alcuni autori, risulta associata alla foto-ossidazione degli estrattivi.

Comunque i dati ottenuti mostrano chiaramente che l'assenza degli estrattivi favorisce una più rapida alterazione della lignina, confermando l'azione protettiva di queste sostanze.

Questi studi sulla fotodegradazione del legno vanno a colmare un vuoto osservabile nella letteratura scientifica, sia perché questi fenomeni vengono analizzati per la prima volta statisticamente, sia perché le relazioni fra colore e degradazione chimica superficiale sono state studiate occasionalmente ed in maniera non esaustiva. Per quanto sopra riportato risulta opportuno testare, con questa metodologia, altre specie legnose utilizzate nell'industria del legno o nel campo dei beni culturali ed approfondire il ruolo che gli estrattivi svolgono in questi fenomeni.

10. Bibliografia

10.1 Articoli e manuali

- Agresti G., Genco G., Giagnacovo C., Pelosi C., Lo Monaco A., Castorina R. (2010) Wood of Chestnut in Cultural Heritage. *Acta Horticulturae*, 866: pp. 51–7.
- Annesi T., Coppola R., D'Amico L., Motta E. (2005) First report of *Aberia caffra* and *Quercus cerris* as hosts of *Inonotus rickii*. *Plant disease* 89, p. 107.
- Annesi T., Coppola R., Motta E. (2003a) Decay and canker caused by *Inonotus rickii* spreading on more urban tree species. *Forest Pathology* 33 (6), pp. 405-412.
- Annesi T., Coppola R., Motta E. (2003b) Isozyme analysis on some wood decay fungi. *Journal of Plant Pathology* 85(2), pp. 87-90.
- Annesi T., D'Amico L., Bressanin D., Motta E., Mazza G. (2010) Characterization of Italian isolates of *Inonotus rickii*. *Phytopathologia Mediterranea*, 49, pp.301–308.
- Anselmi N., Govi G. (1996) *Patologia del Legno*. Edagricole, Bologna.
- Arrigoni O. (1983) *Elementi di biologia vegetale: botanica generale*. Casa Editrice Ambrosiana, Milano.
- Atkins P., de Paola J. (2006) *Physical Chemistry*. W. H. Freeman and Company, New York.
- Barker M., Rayens W. (2003) Partial least squares for discrimination. *Journal of Chemometrics*, 17(3): pp. 166–173.
- Barnard E. L. (1993) *Inonotus rickii* (anamorph: *Ptychogaster cubensis*): A wood-decaying fungus of importance to Florida hardwoods. Fla. Dept. Agric. & Consumer Services Division of Plant Industry, Plant Pathology Circular No. 357.
- Berti S., Nocetti M., Sozzi L. (2013) Alterazioni del colore del legno – Prima parte. *Sherwood*, 190: pp.5-10.
- Bonamini G., Noferi M., Togni M., Uzielli L. (2001) *Manuale del legno strutturale - Vol 1 - Ispezione e diagnosi in opera*. Mancusu editore, Roma.
- Bosetto M., Lozzi I. (2008) *Chimica del legno*. Aracne, Roma.
- Chang H. T., Yeh T. F., Chang S. T. (2002) Comparisons of chemical characteristic variations for photodegraded softwood and hardwood with/without polyurethane clear coatings. *Polymer Degradation and Stability* 77: pp. 129–135.
- Chang T.-C., Chang H.-T., Wu C.-L., Chang S.-T. (2010) Influences of extractives on the photodegradation of wood. *Polymer Degradation and Stability*, 95: pp 516–521.
- Chaudhuri S., Kotwal K. (2013) *Hyperspectral Image Fusion*. Springer, Berlin.

- Chirici G., Corona P. (2006) Utilizzo di immagini satellitari ad alta risoluzione nel rilevamento delle risorse forestali. Aracne Editrice, Roma.
- Colom X., Carrillo F., Nogués F., Garriga, P. (2003) Structural Analysis of Photodegraded Wood by Means of FTIR Spectroscopy. *Polymer Degradation and Stability*, 80: pp. 543–9.
- Cronquist A. (1979) *Botanica*. Zanichelli, Bologna.
- D'Amico A., Di Natale C., Martinelli E. (2005) Introduzione al trattamento statistico dei dati. Editrice Aracne, Roma.
- Dai Y. D., D'Amico L., Motta E., Annesi T. (2010) First report of *Inonotus rickii* causing canker and decay on *Hevea brasiliensis* in China. *Plant Pathology*, 59(4): p. 806.
- Davidson R. W., Campbell W. A., Weber G. F. (1942) *Ptychogaster cubensis*, a wood-decaying fungus of southern oaks and waxmyrtle. *Mycologia* 34: pp. 142–153.
- De Simone D., D'Amico L., Bressanin D., Motta E., Annesi T. (2011) Molecular characterization of *Inonotus rickii* / *Ptychogaster cubensis* isolates from different geographic provenances. *Mycological Progress*, 10(3): pp. 301-306
- Dentamaro I., Laforteza R., Colangelo G., Carrus G., Sanesi G. (2011) Assessing the restorative potential of different types of urban and periurban green spaces. *Forest@*, 8: pp. 162-178
- Dettori S., Marone E., Portoghesi L. (2008) Filiera delle produzioni forestali non legnose: produzione e raccolta tra sostenibilità e tracciabilità. Terzo Congresso Nazionale di Selvicoltura. Taormina (ME).
- Ebner M., Petutschnigg A. J. (2007) Potentials of thermally modified beech (*Fagus sylvatica*) wood for application in toy construction and design. *Materials and Design*, 28: pp. 1753–1759.
- Elena Rossellò M, 2000 - Corcho: recursos e incidencia en el mercado del tapón. In: Congreso Mundial do Sobreiro e de la Cortiça. Lisboa, 19-21 de Julho.
- FAO (2005) State of the World's Forests 2005. FAO, Roma.
- Fisher R. A. (1958) *Statistical Methods for Research Workers* 13th ed. Hafner, New York.
- Forest Products Laboratory (2010) *Wood Handbook: Wood as an Engineering Material*. US Department of Agriculture, Washington.
- Freudenberg K. (1932) The relation of cellulose to lignin on wood. *Journal of Chemical Education*, 9(7): p. 1171

- Gambetta A. (2010) Funghi e insetti nel legno. Diagnosi, Prevenzione, Controllo. Nardini Editore, Firenze
- Gilbertson R. L., Ryvarden L. (1996) North American Polypores. Fungiflora, Oslo.
- Giordano G. (1981) Tecnologia del legno vol. 1. UTET, Torino.
- Giordano G. (1988) Tecnologia del legno. vol. 3, tomo 2. UTET, Torino.
- Gottlieb, A. M., Wright J. E., Moncalvo J.-M. (2002) *Inonotus* s.l. in Argentina – Morphology, cultural characters and molecular analyses. Mycological Progress, 1: pp. 299-313.
- Helm R. F., Ranatunga T. D., Chandra M. (1997) Lignin-Hydrolyzable Tannin Interactions in Wood. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 45: pp. 3100-3106.
- Hon D. N. S., Shiraishi N. (2001) Wood and cellulosic chemistry. Marcel Dekker, New York.
- Hon D. N. S., Ifju G. (1978) Measuring penetration of light into wood by detection of photo-induced free radicals. Wood Science, 11: pp. 118-127.
- Intini M. (2002) First report of *Inonotus rickii* causing canker rot on boxelder in Europe. Plant Disease, 86: p. 922.
- Intini M. G. (1988) Contributo alla conoscenza dei funghi lignicoli italiani: *Inonotus rickii* (Pat.) Reid. Micologia Italiana, 17: pp. 49-53.
- Intini M., Tello M. L. (2003) Investigaciones sobre hongos xilófagos de árboles urbanos en Europa: primera cita de *Inonotus rickii* (Pa.) Reid en España (Researches on xylophagous fungi of urban trees in Europe: first cite of *Inonotus rickii* (Pat.) Reid in Spain). Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas, 29: pp. 277–279 (in Spanish).
- Inventario Nazionale delle Foreste e dei Serbatoi Forestali di Carbonio (2005) Le stime di superficie. Ministero delle Politiche agricole, alimentari e forestali. Corpo Forestale dello Stato – Ispettorato Generale.
- Jaquenoud-Steinlin M. (1985) *Inonotus rickii*, un polypore nouveau pour la flore européenne. Mycologia Helvetica, 1: pp. 371-391.
- Kataoka Y., Kiguchi M. (2001) Depth Profiling of Photo-Induced Degradation in Wood by FT-IR Microspectroscopy. Journal of Wood Science, 47: pp. 325–7.
- Kataoka Y., Kiguchi M., Fujiwara T., Evans P. D. (2005) The effects of within-species and between-species variation in wood density on the photodegradation depth profiles of sugi (*Cryptomeria japonica*) and hinoki (*Chamaecyparis obtusa*). Journal of Wood Science, 51(5): pp. 531–536.

- Kataoka Y., Kiguchi M., Williams R. S., Evans P. D. (2007) Violet light causes photodegradation of wood beyond the zone affected by ultraviolet radiation. *Holzforschung*, 61(1): pp. 23–27.
- Kim M. S., Chen Y. R., Mehl P. M. (2001). Hyperspectral reflectance and fluorescence imaging system for food quality and safety. *Transactions of the ASAE*, 44(3): pp. 721-729.
- Kirk P. M., Cannon P. F., Minter D. W., Stalpers J. A. (2008) *Dictionary of the Fungi* (10th ed.). CABI, Wallingford.
- Kotlaba F., Pouzar Z. (1994) Two new localities of *Inonotus rickii* in Europe. *Czech Mycologia* 47, pp. 159-161.
- Kubelka P. J. (1948) New contributions to the optics of intensely light-scattering materials. Part I. *Journal of the Optical Society of America*, 38: pp. 448–457.
- Kubelka P. J., Munk F. (1931) Ein Beitrag zur Optik der Farbanstriche. *Zeitschrift für Technische Physik*, 11a: pp. 593–601.
- Lo Monaco A., Marabelli M., Pelosi C., Picchio R. (2011) Colour measurements of surfaces to evaluate the restoration materials. *Proceedings of SPIE - The International Society for Optical Engineering* Vol. 8084 80840P-1.
- Luck G., Liao H., Murray N. J., Grimmer H. R., Warminski E. E., Williamson M. P., Lilley T. H., Haslam E. (1994) Polyphenols, astringency and proline-rich proteins. *Phytochemistry*, 37(2):357-71.
- Malençon G. (1970) *Ptychogaster cubensis* Pat. et *Xanthochrous rickii* Pat. parasites du faux-poivrier (*Schinus molle* L.) au Maroc. *Bulletin de la Société Mycologique de France*, 86: pp. 693–697.
- Manesatti P. (2010) Innovazioni biofotoniche in agricoltura: analisi iperspettrale e della forma per immagini. Tesi di dottorato, Università della Toscana.
- Marongiu S., Romano R. (2012) Limiti e potenzialità delle filiere forestali in Italia. *La rivista della Rete Rurale Nazionale*, 3: pp 38-39.
- Mazza G., Moriondo M., Motta E., Annesi T. (2008) Monitoraggio fitopatologico di *Inonotus rickii* nella città di Roma e applicazioni GPS-GIS. *Forest@*, 5: pp. 160-170.
- Melo I., Ramos P., Caetano M. F. F. (2002) First record of *Inonotus rickii* (*Basidiomycetes, Hymenochaetaceae*) in Portugal. *Portugaliae Acta Biologica*, 20: pp. 265-269.

- Merritt R. N., Orum T. V., Garcia R. J., Nadeem A. (1999). Applications of information system and geostatistic in plant disease epidemiology and management. *Plant Disease* 83: 308-318.
- Mery G., Alfaro R., Kanninen M., Lobovikov M., (2005) Changing paradigms in forestry: repercussions for people and nature. In Mery G., Alfaro R., Kanninen M., Lobovikov M. (eds) (2005) *Forests in the Global Balance – Changing Paradigms*. Iufro World Series vol 17. Iufro, Wien.
- Mielnichuk N., Lopez S.E. (2007) Interaction between *Epicoccum purpurascens* and xylophagous basidiomycetes on wood blocks. *Forest Pathol*, 37(4): pp. 236–242.
- Mila I., Scalbert A., Expert D. (1996) Iron withholding by plant polyphenols and resistance to pathogens and rots. *Phytochemistry*, 42(6): pp. 1551–1555.
- Moore A. K., Owen N. L. (2001) Infrared Spectroscopic Studies of Solid Wood. *Applied Spectroscopy Reviews*, 36: pp. 65–86.
- Moriondo F. (1999) *Introduzione alla patologia forestale - 2° edizione*. UTET, Torino.
- Napoli A., Pelosi C., Vinciguerra V. (2010) *Principi di analisi spettroscopica con applicazioni ai beni culturali*. Aracne, Roma.
- Noordam J. C., van den Broek W. H. A. M., Geladi P., Buydens L. M. C. (2005) A new procedure for the modelling and representation of classes in multivariate images. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 75(2): pp. 115–126.
- Nowak, D.J., Dwyer, J.F. (2007) Understanding the benefits and costs of urban forest ecosystems. In: Kuser, J.E. (Ed.), *Urban and Community Forestry in the Northeast*. 2nd ed. Springer, Netherlands, pp. 25–46.
- Nystrom J., Hagman O. (1999) Methods for detecting compression wood in green and dry conditions. *Journal of Wood Science*, 45(1): pp. 30–37.
- Nzokou P., Kamdem, P. D. (2006) Influence of Wood Extractives on the Photo-Discoloration of Wood Surfaces Exposed to Artificial Weathering. *Industrial Applications*, 31: pp. 425–34.
- Oleari C. (2008) *Misurare il colore*. Hoepli editore, Milano.
- Pandey K. K. (2005a) Study of the Effect of Photo-Irradiation on the Surface Chemistry of Wood. *Polymer Degradation and Stability*, 90: pp 9–20.
- Pandey K. K. (2005b) A note on the influence of extractives on the photo-discoloration and photo-degradation of wood. *Polymer Degradation and Stability*, 87: pp 375–379.

- Pandey K. K., Pitman A. J. (2003) FTIR Studies of the Changes in Wood Chemistry Following Decay by Brown-Rot and White-Rot Fungi. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 52: pp. 151–60.
- Pandey K. K., Pitman, A. J. (2002) Weathering Characteristics of Modified Rubberwood (*Hevea brasiliensis*). *Journal of Applied Polymer Science*, 85: pp. 622–631.
- Pandini D. (2011) Studi per la modellizzazione della riflettanza spettrale negli strati pittorici. Tesi di dottorato, Università di Milano.
- Patouillard N. (1896) Champignons nouveaux ou peu connus. *Ptychogaster cubensis* n.sp. *Bulletin de la Société Mycologique de France*, 12: pp. 132-135.
- Patouillard N. (1908) *Xanthochrous rickii* n.sp. *Bulletin de la Société Mycologique de France*, 24: pp.6-8.
- Pautasso M., Döring T. F., Garbelotto M., Pellis L., Jeger M. J. (2012) Impacts of climate change on plant diseases—opinions and trends. *European Journal of Plant Pathology*, 133(1): pp. 295-313.
- Pettenella D. (2013) Le risorse forestali. In Cerullo S., Clerici C., Paradiso D., Zanuttini R. (2013) *Il legno pensa al futuro: la sfida della Due Diligence*. Compagnia delle Foreste, Arezzo.
- Picchio R., Magagnotti N., Sirna A., Spinelli R. (2012) Improved Winching Technique to Reduce Logging Damage. *Ecological Engineering*, 47: pp. 83–6.
- Pieri M., Rivoire B. (1996) À propos de quelques polypores (*Aphyllorphoromycetideae*) rares ou critiques récoltes récemment – I. *Bulletin de la Société Mycologique de France*, 112: pp. 163-187.
- Pillow M. Y. (1941) A new method for detecting compression wood. *Journal of Forestry*, 39(4): pp. 385–387.
- Ramos P., Caetano M. F. F., Melo I. (2008) *Inonotus rickii* (Pat.) Reid: an important lignicolous Basidiomycete in urban trees. *Revista de Ciências Agrárias*, 31: pp. 159–167.
- Raven P. H., Evert R. F., Eichhorn S. E. (2002) *Biologia delle Piante*. Zanichelli, Bologna.
- Reid D. A. (1957) New or interesting records of Australasian Basidiomycetes: III. *Kew Bulletin*, 12: pp. 127-143.

- Robinson J. G., Bennett E. L. (2004) Having your wildlife and eating it too: An analysis of hunting sustainability across tropical ecosystems. *Animal Conservation*, 7(4): pp. 397-408
- Robles C. A., Carmarán C. C., Lopez S. E., 2011. Screening of xylophagous fungi associated with *Platanus acerifolia* in urban landscapes: Biodiversity and potential biodeterioration. *Landscape and Urban Planning*, 100: pp. 129–135
- Rosu D., Teaca C.-A., Bodirlau R., Rosu L. (2010) FTIR and color change of the modified wood as a result of artificial light irradiation. *Journal of Photochemistry and Photobiology B* 99:(3) pp. 144–149.
- Rowell R. M. (2005) *Handbook of Wood Chemistry and Wood Composites*. Taylor and Francis, Boca Raton.
- Saccardo P. A., Trotter A. (1912) *Supplementum Universale, Pars VIII. Sylloge Fungorum*, 21: pp. 1-928.
- Sanz M., Cadahía E., Esteruelas E., Muñoz A. M., Fernández de Simón B., Hernández T., Estrella I. (2010) Phenolic compounds in chestnut (*Castanea sativa* Mill.) heartwood. Effect of toasting at cooperage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(17): pp. 9631-9640
- Sæbø A., Borzan Ž., Ducatillion C., Hatzistathis A., Lagerström T., Supuka J., Garcia-Valdecantos L., Rego F., Van Slycken J. (2005) The selection of plant materials for street trees parks trees and urban woodland. In: Konijnendijk C. C., Nilsson K., Randrup T. B., Schipperijn J. (Eds.), *Urban Forests and Trees: A Reference Book*. Springer, Heidelberg, pp. 257–280.
- Schwarze F. W. M. R., Engels J., Mattheck C. (2000) *Fungal Strategies of Wood Decay in Trees*. Springer, New York.
- Scalbert A. (1992) Tannins in Woods and Their Contribution to Microbial Decay Prevention. In Hemingway R. W., Laks P. E. (1992) *Plant Polyphenols*. Plenum Press, New York.
- Sheskin D. J. (2000) *Handbook of Parametric and Nonparametric Statistical Procedures*. 2nd edn. Chapman & Hall/ CRC, London.
- Sede S. M., Lopez S. E. (1999a) Cultural studies of *Agrocybe cylindrica*, *Gymnopilus pampeanus* and *Oudemansiella canarii* (Agaricales) isolated from urban trees. *Mycotaxon* 70, pp. 377–386.
- Sede, S. M., Lopez, S. E. (1999b) Xylophagous fungi of urban trees in Buenos Aires City. *Mycologist* 13 (4), pp. 173–175.

- Soliani L. (2005) Manuale di statistica per la ricerca e la professione. Uninova, Parma.
- Srivastava, J., Lambert, J. & Vietmeyer, N. 1996. Medicinal plants. An expanding role in development. World Bank Technical Paper No. 320. World Bank, Washington, DC.
- Sun D.-W. (2010) Hyperspectral imaging for food quality analysis and control. Academic Press, Waltham.
- Terho M., Hallaksella A.-M. (2005) Potential hazard characteristics of Tilia, Betula, and Acer trees removed in the Helsinki City Area during 2001–2003. Urban Forestry & Urban Greening, 3 (2): pp. 113–120.
- Thumm A., Riddell M., Nanayakkara B., Harrington J., Meder R. (2010) Near infrared hyperspectral imaging applied to mapping chemical composition in wood samples. Journal of Near Infrared Spectroscopy, 18(6): pp. 507–515.
- Tolvaj L., Faix O. (1995) Artificial Ageing of Wood Monitored by DRIFT Spectroscopy and CIE L*a*b* Color Measurements. Holzforschung, 49: pp. 397–404.
- Tolvaj L., Mitsui K. (2010) Correlation between hue angle and lightness of light irradiated wood. Polymer Degradation and Stability, 95: pp. 638-642.
- Tolvaj L., Mitsui K., Varga D. (2011) Validity Limits of Kubelka-Munk Theory for DRIFT Spectra of Photodegraded Solid Wood. Wood Science and Technology, 45: pp. 135–46.
- Tolvaj L., Varga D. (2012) Photodegradation of Timber of Three Hardwood Species Caused by Different Light Sources. Acta Silvatica et Lignaria Hungarica, 8: pp. 145–155.
- Tolvaj L., Persze L., Lang E. (2013) Correlation between Hue Angle and lightness of wood species grown in Hungary. Wood Research 58(1):pp. 141-145.
- Tsoumis G. (1991) Science and technology of wood. Structure, properties, utilization. Chapman & Hall, New York.
- Tukey J. W. (1949) Comparing individual means in the analysis of variance. Biometrics 5, pp. 99.
- UNECE/FAO (2013) Forest Products - Annual Market Review 2012-2013. UNECE/FAO Forestry and Timber Section Trade and Timber Division, Genève.
- Word Bank (2002) Revised forest strategy. Word Bank, Washinton, DC.
- Wright J.E., Iaconis C.L. (1955) Estudios sobre *Basidiomycetes* III *Polyporus rickii* f. sp. *negundinis* sobre arces vivos (Studies on Basidiomycetes III. *Polyporus rickii* f. sp. *negundinis* on standing maples). Revista de Investigaciones Agropecuarias, 9(2): pp. 97–109.

- Zahri S., Belloncle C., Charrier F., Pardon P., Quideau S., Charrier B. (2007) UV light impact on ellagitannins and wood surface colour of European oak (*Quercus petraea* and *Quercus robur*). *Applied Surface Science*, 253: pp. 4985–4989.
- Živković V., Arnold M., Radmanović K., Richter K., Turkulin H. (2014) Spectral sensitivity in the photodegradation of fir wood (*Abies alba* Mill.) surfaces: colour changes in natural weathering. *Wood Science and Technology*, 48: pp. 239–252.

10.2. Norme

- UNI (Ente Nazionale Italiano di Unificazione) (1952) 3253 - Prove sul legno - Condizionatura. UNI, Milano.
- UNI (Ente Nazionale Italiano di Unificazione) (1987) 3252 - Legno - condizioni generali per la prove fisiche e meccaniche. UNI, Milano.
- UNI/EN (Ente Nazionale Italiano di Unificazione/European Norm) (2010) 15886 - Conservazione dei Beni Culturali - Metodi di prova - Misura del colore delle superfici. UNI/EN, Milano.
- UNI/EN (Ente Nazionale Italiano di Unificazione/European Norm) (2000) 844-10 - Legno tondo e segati - Terminologia - Termini relativi alle alterazioni di colore e all'attacco da funghi. UNI/EN, Milano.
- UNI/ISO (Ente Nazionale Italiano di Unificazione / International Organization for Standardization) (1985a) 3130 - Legno. Determinazione dell'umidità per le prove fisiche e meccaniche. UNI, Milano.
- UNI/ISO (Ente Nazionale Italiano di Unificazione / International Organization for Standardization) (1985b) 3131 - Legno. Determinazione della massa volumica per le prove fisiche e meccaniche. UNI/ISO, Milano.
- UNI/ISO (Ente Nazionale Italiano di Unificazione / International Organization for Standardization) (1985c) 3787 - Legno. Metodi di prova. Determinazione della resistenza a compressione parallela alla fibratura. UNI/ISO, Milano.
- UNI/ISO (Ente Nazionale Italiano di Unificazione / International Organization for Standardization) (1985d) 4469 - Legno: determinazione del ritiro radiale e tangenziale. UNI/ISO, Milano.
- UNI/ISO (Ente Nazionale Italiano di Unificazione / International Organization for Standardization) (1988) 4858 - Legno: determinazione del ritiro volumetrico. UNI/ISO, Milano.