



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI DELLA
Tuscia

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

CORSO DI DOTTORATO DI RICERCA IN 'MECCANICA AGRARIA – XXV CICLO'

**TECNICHE ANALITICHE NON DISTRUTTIVE E METODICHE
CHEMOMETRICHE APPLICATE ALLA VALUTAZIONE
QUALITATIVA DI NOCCIOLA E CASTAGNA**

SETTORE SCIENTIFICO DISCIPLINARE

AGR/09 - MECCANICA AGRARIA

COORDINATORE E TUTOR

PROF. MASSIMO CECCHINI

Co-TUTOR

PROF. RICCARDO MASSANTINI

DOTTORANDO

ROBERTO MOSCETTI

APRILE 2013

INDICE DEI CONTENUTI

<i>Ringraziamenti</i>	iii
<i>Prefazione</i>	iv
<i>Titolo della tesi, Sommario e Parole chiave</i>	v
<i>Thesis title, Abstract and Keywords</i>	vi
1. INTRODUZIONE	1
1.1 Presentazione generale	1
1.2 Nocciola – generalità, parametri di qualità e cernita.....	1
1.3 Castagna – generalità, parametri di qualità e cernita	3
1.4 Metodiche analitiche quanti-qualitative on-line.....	4
1.4.1 Spettroscopia.....	5
1.4.2 Analisi di immagine iperspettrale	6
1.4.3 Analisi di immagine multispettrale.....	6
1.5 Chemometria	7
1.5.1 Tecniche di pretrattamento dati	7
1.5.2 Selezione delle variabili.....	9
1.5.3 Classificazione dei campioni	9
1.5.4 Valutazione prestazionale del modello predittivo	11
1.6 Outline della ricerca	11
2. PUBBLICAZIONI PRODOTTE	13
2.1 Proprietà nutrizionali-salutistiche e conservazione della frutta secca in guscio	14
<i>M. Contini, M. Cecchini, R. Massantini, D. Monarca & R. Moscetti</i>	
2.2 Influence of groundcover management systems and double harvest on quality and storage of fresh hazelnuts (<i>Corylus avellana</i> L.)	49
<i>R. Massantini, M. Contini, R. Moscetti, D. Monarca, M. Cecchini, G. Menghini & M. L. Mordacchini Alfani</i>	
2.3 Effects of controller atmosphere and low temperature on storability of chestnuts manually and mechanically harvested	62
<i>M. Cecchini, M. Contini, R. Massantini, D. Monarca & R. Moscetti</i>	

2.4 Maintaining the quality of unripe, fresh hazelnuts through storage under modified atmospheres	79
<i>R. Moscetti, M.T. Frangipane, D. Monarca, M. Cecchini & R. Massantini</i>	
2.5 Feasibility of Vis/NIR spectroscopy for detection of flaws in hazelnut kernels.....	99
<i>R. Moscetti, R. P. Haff, B. Aernouts, W. Saeys, D. Monarca, M. Cecchini & R. Massantini</i>	
3. PUBBLICAZIONI IN FASE DI STESURA	120
3.1 Nondestructive detection of insect-infested chestnuts based on AOTF-NIR spectroscopy	121
3.2 Hazelnut quality sorting using SWIR Hyperspectral Imaging.....	132
3.3 Optimization of hazelnut quality sorting using Vis/NIR and SWIR Hyperspectral Imaging	133
4. ALTRE PUBBLICAZIONI PRODOTTE	134
5. CONCLUSIONI E PROSPETTIVE FUTURE.....	135
6. BIBLIOGRAFIA.....	136

Ringraziamenti

I miei più sentiti ringraziamenti al Prof. Riccardo Massantini per aver rappresentato un punto di riferimento ed una guida per la mia crescita scientifica ed individuale.

Ringrazio il Prof. Danilo Monarca ed il Prof. Massimo Cecchini per il supporto fondamentale datomi durante i tre anni di sperimentazione.

Un ringraziamento anche al Dott. Rinaldo Botondi, al Dott. Andrea Bellincontro, alla Sign.ra Brunella Ceccantoni e al Sig. Giuliano Cipollari, per i consigli datomi e la sempre presente disponibilità all'aiuto dimostratami ogni qual volta ne ho avuto necessità.

Vorrei inoltre ringraziare i ricercatori, gli assegnisti, i tecnici ed i dottorandi che hanno condiviso con me i momenti dell'esperienza accademica. In ordine alfabetico per cognome:

Allegrini Elena

Bedini Roberto

Brunetti Paola

Colantoni Andrea

Colopardi Francesco

Cardona Suárez Carolina

Carletti Letizia

De Sanctis Federica

Di Giacinto Simone

Longo Leonardo

Menghini Giuseppina

Radicetti Emanuele

Stella Elisabetta

Prefazione

La presente tesi di dottorato è il risultato di uno studio interdisciplinare, rivolto alla valutazione ed al controllo delle caratteristiche di qualità e conservabilità di castagne e nocciole prodotte nell'areale dei Monti Cimini (Viterbo, Lazio), mediante l'impiego di metodiche analitiche innovative, non distruttive. In questa tesi la chimica sperimentale, la spettrofotometria Vis/NIR, l'analisi di immagine iperspettrale Vis/NIR e SWIR, la programmazione informatica e la chemometria, vengono contemplate ed utilizzate attraverso un pieno sinergismo.

Il manoscritto è costituito da articoli scientifici, pubblicati o sottomessi a riviste internazionali (Scopus e ISI) del settore per una eventuale pubblicazione. L'ordine di presentazione degli articoli rappresenta la filogenesi scientifica dell'autore, iniziata con la trattazione generale della problematica e proseguita con lo studio particolareggiato ed applicativo dei mezzi analitici necessari alla risoluzione della problematica stessa.

La sperimentazione si avvale, oltre che dell'esperienza dei docenti direttamente coinvolti nel dottorato stesso, anche dell'apporto tecnologico, ingegneristico e chemometrico del Dr. Ron P. Haff, direttore scientifico del '*Imaging and Sorting Lab, Western Regional Research Center - United States Department of Agriculture*' (WRRC-USDA) (California). Pariteticamente rilevante è stato il contributo del Prof. Wouter Saeys, docente del '*Department of Biosystem, Division of Mechatronics, Biostatistics, and Sensors*' della '*Katholieke Universiteit Leuven*' (Belgio).

Entrambe le collaborazioni sono risultate essenziali al raggiungimento degli obiettivi prefissati.

Titolo della tesi

‘Tecniche analitiche non distruttive e metodiche chemometriche applicate alla valutazione qualitativa di nocciola e castagna’

Sommario

La ricerca è stata finalizzata allo studio delle caratteristiche qualitative di frutti di nocciolo (*Corylus avellana* L.) e di castagno (*Castanea sativa* Miller) ed allo sviluppo di funzioni discriminanti in grado di operare una distinzione dei frutti stessi per classi di qualità.

Le metodiche analitiche impiegate hanno riguardato l’uso della spettroscopia Vis/NIR (Visible/Near Infrared), quale tecnologia non distruttiva potenzialmente impiegabile nella selezione on-line. I dati sono stati sottoposti ad analisi chemometrica con l’obbiettivo di sviluppare ed ottimizzare la capacità discriminante delle funzioni di classificazione testate durante la sperimentazione.

Per i frutti di nocciolo, i risultati consistevano in un errore discriminante del 5.2% (5.4% falso negativo, 5.0% falso positivo) per semi con difetti visibili e/o occulti, mediante l’impiego della *Linear Discriminant Analysis*. Una funzione iterativa è stata utilizzata per operare la selezione dei pretrattamenti spettrali ottimali e delle lunghezze d’onda più significative, che sono risultate le seguenti: 564 nm, 600 nm, 1223 nm, 1283 nm e 1338 nm.

Per i frutti di castagno, lo studio ha riguardato il riconoscimento di castagne infestate da larve di insetto (*Cydia splendana* Hb., *Cydia fagiglandana* Zel., *Pammene fasciana* L. e *Curculio elephas* Gyll.). I risultati sono stati ottenuti impiegando la metodica precedentemente utilizzata su frutti di nocciolo. La capacità discriminante migliore è risultata pari ad un errore del 8.4% ed è stata ottenuta impiegando le lunghezze d’onda di 1582 nm, 1900 nm e 1964 nm.

In conclusione, è stata dimostrata la fattibilità dell’utilizzo della spettroscopia Vis/NIR per la selezione di nocciole e castagne per classi di qualità.

Parole chiave

Nocciola, castagna, spettroscopia Vis/NIR, valutazione qualitativa

Thesis title

'Non destructive techniques and chemometric analyses to evaluate hazelnut and chestnut quality'

Abstract

The purpose of the research was to study the quality characteristics of hazelnut (*Corylus avellana* L.) and chestnut (*Castanea sativa* Miller) fruit, and the development of a discriminant function able to distinguish fruits by quality classes. The feasibility of a rapid, on-line detection system was evaluated.

Measurements were performed using a spectrophotometer for Vis/NIR (Visible/Near Infrared) spectra assays. Data were subjected to chemometric computations. An iterative *Linear Discriminant Analysis* algorithm was used to choose the best combination of pre-treatments and a relatively small set of wavelengths to correctly classify the samples.

The best result for a properly detection of hazelnut-fruit flaws was equal to 5.2% total error (5.4% false negative, 5.0% false positive). The optimal features were the wavelengths at 564 nm, 600 nm, 1223 nm, 1283 nm and 1338 nm.

A total error of 8.4% (16.8 false negative, 0.0% false positive) was obtained for classification of chestnut fruit infested by larvae (*Cydia splendana* Hb., *Cydia fagiglandana* Zel., *Pammene fasciana* L. e *Curculio elephas* Gyll.). The best discriminant performance was computed using the wavelengths at 1582 nm, 1900 nm and 1964 nm.

The results demonstrated the feasibility of Vis/NIR spectroscopy to correctly classify hazelnut flaws and chestnut affected by infestations, in a rapid on-line system.

Keywords

Hazelnut, chestnut, Vis/NIR spectroscopy, quality evaluation

1.1 PRESENTAZIONE GENERALE

Lo studio condotto nei tre anni di dottorato di ricerca ha l'obiettivo di estendere l'impiego delle tecnologie non distruttive alla selezione per classi di qualità di frutti ascrivibili alla categoria della 'frutta secca'. Allo scopo, la ricerca è stata condotta su frutti di nocciolo (*Corylus avellana* L.) e castagno (*Castanea sativa* Miller), in quanto prodotti tipici dell'areale dei Monti Cimini (Viterbo, Lazio), aventi una rilevante importanza economica per l'industria dolciaria e di trasformazione, sia a livello provinciale, che nazionale.

1.2 NOCCIOLA – GENERALITÀ, PARAMETRI DI QUALITÀ E CERNITA

Il primato produttivo mondiale di nocciole è detenuto da Turchia, Italia, Spagna ed USA. L'Italia è al secondo posto con 130'743 t., pari al 12.43% della produzione internazionale globale (FAO, 2012).

La nocciola è commercializzata in guscio o sgusciata. Rappresenta una materia prima di rilevante importanza per l'industria dolciaria, in quanto utilizzata per arricchire di colore, sapore, consistenza e fibra, un'ampia gamma di alimenti (Özdemir and Akinci, 2004; Kibar and Öztürk, 2009; Moscetti et al., 2012). Il frutto è ricco in composti bioattivi e può perciò essere impiegato per la preparazione di alimenti funzionali. Talvolta è adoperato anche come surrogato di ingredienti sintetici (Contini et al., 2008; Delgado et al., 2010).

La qualità organolettica della nocciola è principalmente condizionata dall'incidenza del difetto del *vizio occulto* o *marcio interno*, caratterizzato da un imbrunimento generalizzato del seme ed associato alla comparsa di odori e sapori sgradevoli. Le cause di tale alterazione qualitativa non sono completamente chiare, anche se è stata constatata una certa relazione tra la durata della permanenza al suolo della nocciola matura prima della raccolta e l'incidenza del difetto stesso.

La raccolta della nocciola viene effettuata raccogliendo i frutti direttamente dal terreno, a maturazione raggiunta ed a seguito della cascola fisiologica. In passato, le operazioni di raccolta venivano tradizionalmente

eseguite in una sola volta, quando veniva raggiunto circa il 90% della cascola, con l'obiettivo di minimizzare i costi operativi. Tuttavia, ciò implicava il protrarsi del contatto tra nocciola e suolo, comportando uno scadimento qualitativo del prodotto.

La nocciola è in grado di assorbire umidità dal terreno e/o dall'aria, innescando dei processi degradativi che portano all'imbrunimento del seme ed alle alterazioni tipiche del *vizio occulto* (Scortichini, 2006). L'aumento di umidità incentiva l'irrancidimento idrolitico per maggiore attività enzimatica della lipasi, la quale degrada l'olio di cui la nocciola è particolarmente ricca (60% circa, composto in maggior misura da acido oleico [C_{18:1}] e linoleico [C_{18:2}]), producendo acidi grassi, responsabili a loro volta di fenomeni auto-ossidativi nella matrice grassa (Parcerisa et al., 1997; Bonvehì e Rosù, 1996). Congiuntamente, l'attività dell'enzima polifenolossidasi (PPO) può comportare l'ossidazione dei composti polifenolici del frutto, determinando la comparsa di aree necrotiche nel seme (Bonvehì e Rosù, 1996) e provocando un impoverimento nutraceutrico nell'alimento (Solar et al., 2008).

Ad oggi, l'insorgenza del *vizio occulto* è stata parzialmente ridotta attraverso la pratica della doppia raccolta (Massantini et al., 2009), incentivata dalla Comunità Europea (Reg. CE 2200/96 e succ. modif.). La doppia raccolta consiste nell'effettuare due raccolte distinte: la prima quando circa il 40-45% del prodotto è già caduto a terra; la seconda al termine della cascola fisiologica. Nonostante l'efficacia di tale pratica, la problematica persiste, è ben lungi dall'essere risolta ed ha un notevole impatto economico per l'industria della nocciola.

Tra le fasi di lavorazione della nocciola è quindi contemplata una selezione qualitativa dei semi, operata a seguito della sgusciatura del prodotto. L'intento di tale operazione non è mirato soltanto alla rimozione dei semi affetti da *vizio occulto*, ma ha anche lo scopo di rimuovere i frutti con colorazioni o forme anomale, raggrinziti, marciti, irranciditi, amari, intaccati da insetti od alterati rispetto alle condizioni standard.

È importante considerare che la qualità del prodotto è in relazione anche alle dimensioni del seme. Ne consegue che la fase successiva alla selezione del seme che presenta difetti, corrisponde al vaglio per dimensioni. Lo step in questione, anche detto 'calibratura', viene eseguito con l'intento di suddividere

la partita in classi di diametro inferiore a 11 mm, compreso tra 11 e 13 mm, compreso tra 13 e 15 mm o superiore ai 15 mm, a seconda dei requisiti che merceologici e/o tecnologici che richiede l'industria.

La cernita del seme che mostra difetti è ottenuta mediante l'impiego di selezionatrici ottiche e del sequenziale vaglio visivo di operatori esperti. Questo comporta lunghi tempi di cernita, nonché un notevole dispendio economico, a seguito della necessità di impiego di personale specializzato.

La calibratura è completamente meccanizzata, richiede un limitato intervento da parte del personale e consiste nel passaggio del prodotto attraverso vagli oscillanti, dotati di fori di dimensioni variabili.

1.3 CASTAGNA – GENERALITÀ, PARAMETRI DI QUALITÀ E CERNITA

La castagna è un tipico prodotto stagionale coltivato principalmente in Europa ed in Asia. In Italia viene per lo più consumata non processata e soltanto il 20% della produzione nostrana è destinato alla trasformazione dolciaria (Sacchetti et al., 2004).

La castagna è un achenio ricco in amido (~50%) ed in zuccheri semplici (~7.5%), prevalentemente monosaccaridi e disaccaridi, costituito circa per il 9.5% da proteine, il 3.0% da lipidi ed il 5.0% da aminoacidi (Xu, 2005). La castagna ha caratteristiche fisiologiche intermedie tra frutta fresca e secca, a causa dell'elevato contenuto di umidità (50÷60%), dei bassi tenori respiratori e dell'intensa traspirazione (Jermine et al., 2006).

Le principali problematiche di conservazione della castagna sono in maggior misura riconducibili al proliferare delle larve di insetto (*Cydia splendana* Hb, *Cydia fagliglandana* Zel. e *Curculio elephas* Gyll) ed allo sviluppo di muffe (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Mucor*, *Rhizopus* e *Trichotecium*) all'interno delle gallerie scavate dalle larve stesse e/o a seguito dell'infiltrazione di acqua attraverso fratture nel pericarpo, durante la cura in bagno freddo (~15 °C per 3÷9 giorni) o caldo (~50 °C per 45 min.) (Wells e Pain, 1980; Breisch, 1994). La cura in bagno freddo o 'curatura' è un trattamento pre-conservativo tradizionalmente utilizzato in Italia, i cui effetti sulla shelf-life delle castagne sono stati soltanto parzialmente spiegati (Jermine et al., 2006). La cura in bagno caldo è utilizzata soltanto nel caso in cui il prodotto debba essere immediatamente commercializzato, poiché questo sistema è in

grado di assicurare una repentina e totale mortalità delle larve presenti nei frutti. La ‘curatura’ riduce lo sviluppo fungino durante la conservazione ed allo stesso tempo provoca la morte dei fitofagi. L’efficacia del trattamento dipende in parte da fermentazioni lattiche ed alcoliche, innescate dalle condizioni asfittiche dovute all’immersione in acqua, che aumentano considerevolmente la concentrazione di etanolo ed acetaldeide nell’endosperma nei primi 5 giorni di cura (Botondi et al., 2009). Durante il trattamento vi è una diffusione di fenoli dall’episperma alla polpa per incremento della solubilità degli stessi (Bounous, 2002) ed il pH si riduce di 1 unità circa limitando lo sviluppo di funghi ed altri patogeni (Jermini et al., 2006; Migliorini et al., 2010).

La cernita delle castagne (o ‘schiumatura’) è effettuata prima della ‘curatura’ od in combinazione ad essa. Viene eseguita per ridurre la presenza di frutti immaturi, rinsecchiti od in avanzato stato di infestazione da parte di marciumi e/o insetti carpofagi. La ‘schiumatura’ consiste in due passaggi sequenziali, ascrivibili al flottaggio ed alla successiva selezione visiva eseguita da operatori esperti. Il flottaggio corrisponde ad una cernita densimetrica dei frutti che presentano difetti mediante galleggiamento in acqua salmastra. La concentrazione di cloruro di sodio impiegata nelle acque di lavaggio è scelta empiricamente ed è funzione dello stadio di sviluppo larvale, nonché del grado di infestazione della partita di frutti da sottoporre a cernita. Ovviamente, ad un aumento dell’incidenza del difetto nell’annata produttiva, ne corrisponde una maggiore frequenza di frutti infestati nelle confezioni destinate al commercio. La problematica in questione può essere contrastata solo attraverso l’impiego di alte concentrazioni di sale nella soluzione. Tuttavia, ne consegue il problema opposto, ossia un’elevata erronea classificazione di frutti sani in frutti che presentano difetti, a cui anche la più accurata cernita visiva da parte di operatori esperti non è in grado di sopperire.

1.4 METODICHE ANALITICHE QUANTI-QUALITATIVE ON-LINE

Le valutazioni quanti-qualitative on-line negli ortofrutticoli possono essere effettuate con successo mediante l'impiego di tecniche analitiche non distruttive. Tali metodiche si differenziano in base ai principi fisici o chimico-fisici di funzionamento, che per lo più riguardano la conduttività elettrica, la spettroscopia nel visibile (Vis) e nel vicino infrarosso (NIR), le vibrazioni acustiche, gli ultrasuoni, la risonanza magnetica nucleare, i raggi X, l'emissione di volatili ed altro (Rajendran, 2005; Nicolaï et al, 2007; Burn and Ciurczak, 2008; Sun, 2010; Singh et al., 2010; Wang et al., 2011).

1.4.1 SPETTROSCOPIA

La spettroscopia Vis/NIR presenta numerosi vantaggi rispetto alle altre metodiche, riassumibili in una minima preparazione del campione, una buona capacità penetrante dei tessuti ed un vasto campo applicativo. In aggiunta, l'implementazione on-line della strumentazione è semplice, rapida ed ecosostenibile (Pasquini, 2003; Wang et al.; 2010).

L'efficacia della spettroscopia Vis/NIR nel rilevare la presenza di insetti o danni da insetto in derrate alimentari ed in sementi è già stata sperimentata con successo su mirtillo (Peshlov et al., 2009), ciliegia (Xing and Guyer, 2008; Xing et al, 2008), fico (Burks et al., 2000), farina (Wilkin et al., 1986), soia verde (Sirisomboon et al., 2009), giuggiola (Wang et al., 2010; Wang et al., 2011), grano (Chamber et al., 1992; Baker et al., 1999), semi della specie *Larix* (Tigabu and Odén, 2004), semi di *Picea abies* (Tigabu et al., 2004), semi di *Cordia africana* (Tigabu and Odén, 2002) ed altri. La presenza di insetti può essere rilevata in maniera diretta od indiretta. Per via diretta, a seguito della presenza di emolinfa, in base alla composizione lipidica e/o rilevando la concentrazione di chitina (polisaccaride, costituente principale dell'esoscheletro di insetti ed artropodi in genere) (Rajendran, 2005). Il rilevamento indiretto consiste nell'individuare la sussistenza di danni endogeni al prodotto, ascrivibili ad imbrunimenti interni, disidratazione dei tessuti o contaminazioni biologiche. Similarmente ad un attacco da insetto, anche lo sviluppo fungino e quello batterico sono rilevabili tramite risposta al contenuto di chitina, in quanto molecola di riserva ed elemento strutturale della parete cellulare per tali microrganismi (Wang et al., 2011).

1.4.2 ANALISI DI IMMAGINE IPERSPETTRALE

L'analisi di immagine iperspettrale è una tecnica che combina i vantaggi dell'analisi di immagine convenzionale a quelli della spettroscopia. Tramite tale metodica è possibile acquisire informazioni relative alle dimensioni, alla forma e alla struttura del campione, abbinandoli ai dati spettrali ottenuti dal campione stesso. Ciò consente all'analisi di immagine iperspettrale di migliorare il potenziale discriminante degli algoritmi di *machine vision* rispetto a quanto permesso dalla comune analisi di immagine RGB (*Red, Green, Blue*).

Tale tecnologia trova ampie possibilità applicative sia nel settore della ricerca scientifica, che in campo industriale. Alcuni esempi riguardano la determinazione della presenza di imbrunimenti e contaminazioni fungine in mele (Kim et al., 2001), l'analisi della distribuzione spaziale degli zuccheri nei frutti di kiwi (Martinsen e Schaare, 1998) ed il rilevamento di aflatossine in nocciole e peperoncino (Kalkan et al., 2011).

Altri settori applicativi riguardano la mappatura ambientale (Schut et al., 2002), l'agricoltura di precisione (Yang et al., 2004), l'analisi microscopica (Schultz et al., 2001) e l'ispezione degli ortaggi (Cheng et al., 2003).

L'analisi di immagine iperspettrale viene inoltre impiegata per ottimizzare la scelta dei filtri impiegati per i sistemi di analisi di immagine multispettrale (Mehl et al., 2003).

1.4.3 ANALISI DI IMMAGINE MULTISPETTRALE

L'analisi di immagine multispettrale differisce dalla iperspettrale poiché impiega un ridotto numero di piani spettrali. L'acquisizione dei dati tramite analisi iperspettrale richiede una enorme quantità di tempo, rendendo impossibile l'impiego di tale tecnologia in sistemi on-line (Xing et al., 2005).

Il multispettrale risolve la problematica impiegando soltanto i piani spettrali di interesse per le misurazioni quantitative, qualitative e/o discriminanti. La sperimentazione condotta utilizzando l'analisi di immagine multi spettrale ha prodotto ottimi risultati nella rilevazione di tumori della pelle su carcasse di pollame (Kim et al., 2004), l'individuazione di difetti su patata e mela (Noordam et al., 2004; Kleynen et al., 2005; Xing et al., 2005) e la rilevazione di danni arrecati da attacchi fungini su agrumi (Gomez-Sanchis et al., 2002).

1.5 CHEMOMETRIA

La International Chemometrics Society (ICS) definisce la chemometria (o chemiometria) come *‘la disciplina che usa metodi matematici e statistici per progettare, selezionare ed ottimizzare procedure ed esperimenti, estrarre la massima informazione dall’analisi dei dati, computare una rappresentazione grafica di tale informazione, in altre parole... fornire gli aspetti informativi dei dati’*. La chemometria nasce quindi come branca della chimica che si serve di processi matematici, statistici e logici, al fine di semplificare l’interpretazione dei dati. I campi di applicazione della chemometria sono molteplici ed alcuni di essi riguardano il controllo di qualità, il monitoraggio ed il controllo di processo, la tracciabilità degli alimenti, la genomica, la proteomica, la metabolomica, l’analisi di immagine e le applicazioni in ambito industriale ed ambientale.

1.5.1 TECNICHE DI PRETRATTAMENTO DATI

Il primo passo nell’applicazione della chemometria nel campo della spettroscopia, consiste nell’impiego di tecniche di pretrattamento dati. Lo scopo di tali metodiche è quello di impedire o limitare che importanti informazioni analitiche nel campione siano mascherate da variazioni irrilevanti nei dati, ad esempio provocate da interferenze del background o dovute al rumore strumentale. Il pretrattamento dei dati grezzi riduce il peso di variazioni chimiche irrilevanti, con l’obiettivo di migliorare l’accuratezza e la precisione di analisi qualitative e quantitative. Ne consegue che il pretrattamento dati è una fase di importanza critica del processo analitico, che può condurre al successo od al fallimento in molte applicazioni.

Le più comuni tecniche chemometriche di pretrattamento dati vengono applicate per operare la correzione della linea di base (*baseline correction*), la riduzione del rumore (*noise reduction*), l’amplificazione della risoluzione (*resolution enhancement*) e la normalizzazione dei dati (*normalization*) (Pierce et al., 2012).

La correzione della linea di base è il primo step nell’analisi dei dati spettrali ed ha lo scopo di eliminare la deriva dello spettro, nonché di ridurre l’effetto del rumore a bassa frequenza. Le metodiche di *baseline correction* più impiegate sono la *Multiplicative Scatter Correction (MSC)*, la *Standard Normal Variate (SNV)* e la derivata dello spettro (Boysworth e Booksh, 2008).

Le tecniche di riduzione del rumore sono anch'esse impiegate per la correzione della linea di base, ma principalmente hanno lo scopo di operare lo *smoothing* degli spettri. Le tecniche di *noise reduction* vengono applicate nel caso di rumore ad alta frequenza o per migliorare il rapporto tra segnale e rumore negli spettri. L'algoritmo *Savitzky-Golay* viene tipicamente applicato per gli scopi in questione. L'efficacia di tale algoritmo varia in base all'ordine della funzione polinomiale che viene scelto ed in relazione all'ampiezza della finestra di *smoothing* impiegata. Il funzionamento del filtro *Savitzky-Golay* consiste nel sostituire il segnale assunto da ogni lunghezza d'onda dello spettro, in base al segnale delle lunghezze d'onda adiacenti a quella in esame. In definitiva, il valore del segnale in ogni punto è ottenuto dall'interpolazione dei punti descritti dalla funzione polinomiale, computata entro la finestra di *smoothing* (Savitzky e Golay, 1964). L'algoritmo *Savitzky-Golay* è impiegato anche per la computazione della derivata prima, seconda e terza degli spettri, allo scopo di attuare in maniera combinata lo *smoothing*, la *baseline correction* e la *resolution enhancement* dei dati.

L'impiego di metodiche di *noise reduction* è risultato spesso critico e fondamentale per l'ottenimento di buoni risultati in misurazioni analitiche (Pierce et al., 2012).

La normalizzazione è un pretrattamento che viene applicato per correggere le variazioni di dati tra campioni, involontariamente introdotte durante la preparazione dei campioni stessi o l'esecuzione delle misurazioni. Le tecniche di normalizzazione sono innumerevoli. In spettroscopia è tipico il ricorso al *mean centering*, impiegato anche per aumentare la risoluzione delle informazioni contenute negli spettri. Ben più raro è il ricorso all'*autoscaling*, in quanto può comportare la perdita di informazioni nei dati e può amplificare il rumore spettrale. Nella maggior parte dei casi la normalizzazione rende più preciso il risultato dei modelli di calibrazione. Tuttavia, il buon esito del pretrattamento in questione non è scontato ed ogni modello dovrebbe essere testato con e senza normalizzazione (Boysworth e Booksh, 2008).

1.5.2 SELEZIONE DELLE VARIABILI

L'analisi statistica degli spettri elettromagnetici comporta la computazione di un'elevata mole di dati. La selezione delle variabili (*features selection*) si occupa di ridurla, cercando di mantenere la stessa rilevanza di informazioni rispetto al set di dati di partenza. L'obiettivo è quello di snellire le misurazioni eseguite in tempo reale, rendendole rapide, ma mantenendole affidabili.

Le varie metodiche di selezione delle variabili cercano di identificare le variabili più importanti e significative per il raggiungimento del fine predittivo o di classificazione, oggetto di interesse. Le metodiche più impiegate sono la *best subset selection*, la *forward selection*, la *backward elimination*, la *stepwise selection*, il *genetic algorithm* ed il *simulated annealing algorithm* (Naes et al., 2002, Cerdeira et al., 2012).

Le variabili in gioco nel campo della spettroscopia e dell'analisi di immagine iperspettrale, sono rispettivamente le lunghezze d'onda ed i pixel a cui sono abbinate le lunghezze d'onda stesse.

1.5.3 CLASSIFICAZIONE DEI CAMPIONI

Le metodiche di classificazione sono distinguibili in *unsupervised* e *supervised* (Naes et al., 2002).

Un modello *unsupervised*, anche detto *cluster analysis*, identifica la tendenza dei campioni analizzati a formare sottogruppi (*cluster*), senza che la computazione chemometrica si avvalga delle informazioni relative ai reali sottogruppi di appartenenza. Tale metodica è generalmente molto utile e di conseguenza spesso impiegata, durante i primi stadi della sperimentazione, allo scopo di individuare la presenza di *cluster* all'interno delle popolazioni analizzate.

Le metodiche *supervised* sono dei modelli di analisi discriminante e vengono impiegate per la messa a punto di funzioni matematiche descrittive di un definito numero di classi all'interno della popolazione in analisi. Tali metodiche sono quindi impiegate per classificare dei campioni la cui classe di appartenenza non è conosciuta. Tra le tecniche *supervised* più comuni è necessario ricordare la *Linear Discriminant Analysis (LDA)*, la *Quadrati Discriminant Analysis (QDA)*, la *Canonical Discriminant Analysis (CDA)*, la *K-Nearest Neighbors (KNN)*, la *Soft Independent Modeling of Class Analogy*

(SIMCA), la *Multiple Linear Regression (MLR)*, la *Principal Components Regression (PCR)*, la *Partial Least Square Discriminant Analysis (PLSDA)*, le *Least Square Support Vector Machines (LSSVMs)* e le *Artificial Neural Networks (ANN)* (Fisher, 1922; Naes et al., 2002; Coen et al., 2006; Cen e He, 2007; Boysworth e Booksh, 2008).

Quando le variabili inserite all'interno di un modello discriminante presentano collinearità, l'efficienza del modello è inficiata. È il caso delle analisi condotte su set di dati provenienti da misurazioni spettrali, caratterizzate da una forte multicollinearità tra variabili. Per ovviare al problema possono essere selezionati subset di variabili o possono essere impiegate delle tecniche di compressione dati. La *Principal Components Analysis (PCA)* è una tecnica *unsupervised* che può essere impiegata a tale scopo. Attraverso la *PCA* è possibile proiettare i dati in un numero ridotto di combinazioni lineari (*componenti principali, PC*) non correlate tra loro, ma in grado di descrivere la varianza delle variabili originarie.

La metodica *supervised* che si avvale dell'impiego delle *PC* quali nuove variabili è la già citata *PCR*. Confrontata con la *MLR* o con metodiche che prevedono la selezione delle variabili, tale tecnica si avvantaggia del fatto che tutte le informazioni inizialmente presenti nelle variabili originarie sono impiegate per la messa a punto del modello e che le nuove variabili sono ortogonali tra loro, quindi non correlate. Per contro, la *PCR* ha lo svantaggio di impiegare le *PC*, le quali sono selezionate soltanto in funzione delle *x-variables* (lunghezze d'onda, \mathbf{X}), senza che le informazioni della *y* (classi) siano tenute in considerazione. Tale problematica deriva dal fatto che la *PCR* trae fondamento da una metodica *supervised*, la *PCA*. Conseguentemente, impiegando la *PCR* quale metodica discriminante è necessario considerare il rischio che le variabili ortogonali abbiano una scarsa rilevanza nel predire *y*.

La *Partial Least Square regression (PLS)*, diversamente dalla *PCR*, seleziona le nuove variabili (*factors* o *latent variables, LV*) computando sia la \mathbf{X} che la *y*. Nel dettaglio, la *PLS* opera una selezione delle componenti nell'ottica di massimizzare la covarianza tra *y* e tutte le possibili combinazioni lineari di \mathbf{X} . La *PLS* permette di conseguenza l'ottenimento di risultati migliori rispetto alla *PCR*, impiegando un numero inferiore di variabili ortogonali.

La *PLSDA* corrisponde alla *PLS* applicata a fini classificatori.

1.5.4 VALUTAZIONE PRESTAZIONALE DEL MODELLO PREDITTIVO

Una delle metodiche usualmente impiegate per valutare l'efficacia e le prestazioni dei modelli discriminanti, prende il nome di *Receiver Operating Characteristic (ROC) curve*. La *ROC curve* si avvale delle nozioni di *vero positivo (TP)*, *falso positivo (FP)*, *vero negativo (TN)* e *falso negativo (FN)*. La rappresentazione grafica della *ROC curve* consiste in un piano cartesiano, i cui assi corrispondono al *TP ratio* ($TP / [TP + FN]^{-1}$) ed al *FP ratio* ($FP / [FP + TN]^{-1}$). L'area sottostante la curva prende il nome di *Area Under the ROC Curve (AUC)*, assume valori compresi tra 0 ed 1, ed è direttamente correlata alle prestazioni della funzione discriminante soggetta ad analisi. L'andamento della *ROC curve* dipende dai valori assunti dal *TP ratio* e dal *FP ratio*, al variare del *threshold* (o soglia). Al massimo ed al minimo valore del *threshold* corrispondono *TP ratio* e *FP ratio* rispettivamente entrambi pari a 0 ed 1, o viceversa. La condizione ideale, che corrisponde ad una classificazione dei campioni esente da errori, si ha quando il valore del *FP ratio* è pari a 0 ed il *TP ratio* è uguale a 1. Ne consegue che tanto più un algoritmo discriminante è efficace, tanto più la *ROC curve* passerà in prossimità del punto ideale in questione, assumendo un valore della AUC prossimo ad 1.

La metodica in questione è stata impiegata nel protocollo sperimentale di questa tesi di dottorato.

1.6 OUTLINE DELLA RICERCA SVOLTA

L'obiettivo generale della ricerca consiste nell'esplorare la possibilità di impiego della spettroscopia Vis/NIR per la classificazione qualitativa di castagne e nocciole, valutandone la possibile implementazione in selezionatrici on-line.

La presente sperimentazione può essere schematizzata in cinque step principali, durante ognuno dei quali l'attività di ricerca svolta ha prodotto un articolo scientifico relativo. La sequenza degli step è stata ponderata in maniera tale da consentire l'approfondimento graduale della problematica e lo sviluppo di un approccio risolutivo sperimentale.

Lo studio della composizione chimica della frutta secca in guscio e sgusciata, delle sue proprietà nutraceutiche e delle metodiche di conservazione più idonee al mantenimento della qualità della frutta secca stessa, ha rappresentato il primo passo fondamentale della sperimentazione (paragrafo

2.1). Le informazioni raccolte dallo studio della letteratura sono state impiegate per la stesura di una review, che rappresenta lo stato dell'arte nel panorama scientifico nazionale.

Lo studio particolareggiato dei parametri di qualità della castagna e della nocciola è stato effettuato nei tre successivi studi sperimentali. L'effetto di alcune pratiche in pre- e post-raccolta è stato valutato allo scopo conoscitivo delle variabili in grado di condizionare la qualità dei frutti nelle fasi potenzialmente critiche della filiera (paragrafi 2.2, 2.3 e 2.4). La raccolta meccanizzata per le castagne, la doppia raccolta e l'inerbimento controllato per le nocciole, nonché la conservazione in ambienti controllati per entrambi i prodotti, sono stati studiati nel dettaglio. I risultati sono stati impiegati per la stesura di tre articoli scientifici pubblicati su riviste internazionali.

Metodiche *supervised* e *unsupervised* sono state impiegate nella sperimentazione per mettere a punto modelli discriminanti performanti in grado di operare per classi di qualità. Sul frutto di nocciola è stata studiata la possibilità della messa a punto di funzioni discriminanti in grado di separare con efficacia le nocciole sane da quelle affette da difetti di varia natura, *vizio occulto* compreso (paragrafo 2.5). Su castagna è stata valutata la possibilità di impiego della spettroscopia NIR per l'individuazione di frutti infestati da insetti (paragrafo 3.1). I risultati ottenuti sono stati impiegati per la pubblicazione di articoli scientifici attualmente in referaggio od in fase di stesura, principalmente su riviste censite su Scopus o ISI.

PROPRIETÀ NUTRIZIONALI-SALUTISTICHE E CONSERVAZIONE DELLA FRUTTA SECCA IN GUSCIO

Marina Contini ¹, Massimo Cecchini ², Riccardo Massantini ^{1*}

Danilo Monarca ², Roberto Moschetti ²

¹ *Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agroalimentari, Università della Tuscia, Viterbo, Italia*

² *Dipartimento di Geologia e Ingegneria Meccanica, Naturalistica e Idraulica per il Territorio,
Università della Tuscia, Viterbo, Italia*

* *Autore*

INDICE

> COMPOSIZIONE CHIMICA E PROPRIETÀ NUTRIZIONALI-SALUTISTICHE DELLA FRUTTA SECCA IN GUSCIO	17
> PROBLEMATICHE GENERALI DI CONSERVAZIONE DELLA FRUTTA SECCA IN GUSCIO	21
> ARACHIDI	24
> MANDORLE	27
> NOCCIOLE	29
> NOCI	31
> PINOLI	33
> PISTACCHI	34
> CONCLUSIONI	36
> TABELLE	39
> FIGURE	41
> BIBLIOGRAFIA	42

PAROLE CHIAVE: *umidità relativa, atmosfera controllata, nutraceutici, fitochimici, stoccaggio*

KEYWORDS: *relative humidity, controlled atmosphere, nutraceuticals, phytochemicals, storage*

SOMMARIO

La frutta secca in guscio è caratterizzata da un elevato valore energetico per unità di peso, in quanto povera di acqua e ricca in olio. È un alimento altamente nutritivo ma anche salutare, grazie alla presenza di preziosi composti nutraceutici. I principali problemi di conservazione riguardano: l'irrancidimento della frazione grassa; la contaminazione da aflatossine; le infestazioni da parte di insetti. L'articolo riporterà la composizione chimica e le proprietà nutrizionali-salutistiche di: arachidi, mandorle, nocciole, noci, pinoli e pistacchi. Saranno inoltre esaminate le problematiche da affrontare durante la conservazione, analizzando al contempo le migliori condizioni di stoccaggio da prodotto a prodotto.

ABSTRACT

Tree nuts are tasty dry fruits rich in lipids. They are a calorie-dense and nutritious foodstuff, which provides valuable macronutrients, micronutrients, and several health-promoting phytochemicals, among which: phytosterols, squalene, selenium, tocopherols and phenolic antioxidants. The high level of calories has traditionally conditioned and limited the consumption of tree nuts; however, it has been recently evidenced that moderate consumption of these fruits doesn't influence body weight, whilst it could be beneficial for human wellness, reducing the risks of cardiovascular diseases and several chronic alterations associated with oxidative stress, such as: various types of cancer, type-2 diabetes, resistance to insulin, gall stones and inflammations, among others. The low humidity and the low respiratory activity even at room temperature allow for preservation of the tree nuts for lengthy periods, when stored in suitable and controlled conditions. Quality maintenance is guaranteed by means of correct harvesting, handling and storage practices. The main storage problems regard: fat hydrolytic and oxidative alterations; moulds, especially when due to the aflatoxin producer *Aspergillus*; insect infestations (mites, beetles and lepidopterans). *Aspergillus* contamination may occur at various stages including crop growth, but it occurs mainly during storage under unhygienic, unventilated, hot and humid conditions; it is particularly deleterious because aflatoxins are strong toxic, cancerogenic and teratogenic agents. The high fat content gives nuts the tendency to absorb foreign smells from the surrounding environment, which can alter the aroma; the richness in unsaturated (generally polyunsaturated) fatty acids is nutritionally favorable but makes the nuts particularly prone to rancidity. Therefore, in each phase the nuts must be protected from every potential damage, must not come into contact with micro-organisms or pollutants and must be preserved in clean storerooms, with no foreign or contaminating volatiles nor other types of fruits or vegetables. Storage at room temperature means short times of preservation and involves treatments with fumigants in order to prevent some of the problems above mentioned, causing a negative impact on the natural healthfulness of the product. Water content of the nuts, temperature, relative humidity, as well as exposure to light and oxygen are the most important preservation parameters to be kept under control; the best storage conditions are subject to variation according to the nut.

In this manuscript the authors reported the chemical composition, as well as the nutritional and health-promoting properties of the most common tree nuts (almonds, hazelnuts, walnuts, pine nuts and pistachios) and peanuts. They indicated macronutrients (lipids, proteins and carbohydrates) and micronutrients (minerals and vitamins) contents; moreover, they examined content and properties of the health-promoting phytochemical fraction. Depending on the nut, the best storing conditions and methods for extending the preservation without the aid of chemical treatments were individually described, with the aim of providing useful information for maintaining the quality of the product in the best possible way, for a long time.

COMPOSIZIONE CHIMICA E PROPRIETÀ NUTRIZIONALI-SALUTISTICHE DELLA FRUTTA SECCA IN GUSCIO

La frutta secca in guscio appartiene ad una categoria di alimenti ricchi in grassi e poveri in zuccheri, comprendente frutti veri e propri, semi e legumi. Largamente diffusa a livello mondiale, viene in parte consumata direttamente come prodotto fresco, essiccato o tostato, in parte destinata alla trasformazione industriale per la produzione di snack, preparazioni dolciarie, burro, olio e margarina. La frutta secca commercialmente più importante comprende arachidi (*Arachis hypogaea* L.), mandorle (*Prunus dulcis* Mill.), nocciole (*Corylus avellana* L.), noci (*Juglans regia* L.), pinoli (*Pinus pinea* L.) e pistacchi (*Pistacia vera* L.).

La frutta secca è molto apprezzata non solo per le sue peculiari caratteristiche organolettiche, ma anche per l'elevato valore nutrizionale. Grazie al ridotto contenuto di acqua, infatti, rappresenta un concentrato di macro e micro-nutrienti, oltre a costituire un'eccellente fonte di preziose sostanze nutraceutiche.

Lipidi. La frutta secca è ricca di lipidi: pistacchi, arachidi e mandorle ne contengono il 45-49%, mentre in pinoli, noci e nocciole l'olio rappresenta oltre il 60% della parte edule (Tabella 1). La composizione in acidi grassi della frutta secca è riportata in Tabella 2. L'acido grasso più rappresentato è comunemente l'oleico [C_{18:1}] (specie nelle nocciole, in cui costituisce il 78% degli acidi grassi); in noci e pinoli predomina invece il linoleico [C_{18:2}] (rispettivamente: 61 e 57% degli acidi grassi). Le noci si distinguono per il più elevato contenuto in acido linolenico [C_{18:3}] (oltre il 14%), che nelle altre tipologie di frutta secca è riscontrabile a livello di tracce o poco più. In ogni caso gli acidi grassi insaturi prevalgono nettamente sui saturi, evidenziando un profilo acidico capace di ridurre significativamente i rischi di contrarre aterosclerosi e malattie cardiovascolari, in quanto in grado di contrastare efficacemente gli innalzamenti ematici di trigliceridi e colesterolo (Kris-Etherton et al., 1999).

Proteine. La quantità proteica della frutta secca è piuttosto elevata, cosa che la rende una buona fonte di protidi vegetali, con contenuti che vanno dal 13.7% dei pinoli al 25.8% delle arachidi (Tabella 1). In base alle raccomandazioni della FAO (Food and Agricultural Organization) e del WHO (World Health Organization), concernenti i fabbisogni aminoacidici degli adulti, solo le

mandorle e le arachidi sono deficienti in aminoacidi solforati (metionina + cisteina), mentre le altre tipologie di frutta secca contengono quantità soddisfacenti di tutti gli aminoacidi essenziali. Nel caso dei bambini da 2 a 5 anni, invece, la frutta secca risulta carente di diversi aminoacidi essenziali, quali: lisina (soprattutto le noci, le nocciole e le mandorle), triptofano (specie le noci, le mandorle, le arachidi ed i pistacchi), treonina (in particolare le arachidi) e aminoacidi solforati (le mandorle e le arachidi) (Venkatachalam e Sathe, 2006). Riguardo agli aminoacidi non essenziali, degni di nota sono i notevoli quantitativi di arginina (variabili dai 9.15 g/100g di proteina nel pistacchio ai 15.41 g/100 g di proteina nei pinoli) (Venkatachalam e Sathe, 2006), un precursore dell'ossido nitrico cui si devono importanti effetti bioattivi sulla salute umana (Wells et al., 2005). L'azione positiva dell'arginina, unita al basso rapporto lisina/arginina, spiegherebbero almeno in parte la riduzione del rischio di sviluppare ipercolesterolemia e di contrarre malattie cardiovascolari, che negli studi epidemiologici si associa al frequente consumo di frutta secca (Brufau et al., 2006).

Carboidrati. Il tenore in carboidrati (calcolato per differenza) di 100 g di frutta secca va da 13.1 g (pinoli) a 27.5 g (pistacchi) (Tabella 1). I quantitativi di amido sono in ogni caso bassi (massimo 1.7% nei pistacchi) ed i carboidrati risultano costituiti essenzialmente da zuccheri semplici (tra cui prevale nettamente il saccarosio) e fibra alimentare. I notevoli contenuti in fibra (3.7-12.2 g/100g), superiori a quelli di frutta fresca e verdure, possono risultare utili sia nella prevenzione che nel trattamento di numerose alterazioni, quali: malattie intestinali, diabete, ipercolesterolemia, patologie cardiache coronariche, alcune tipologie di cancro (Anderson et al., 1994).

Minerali. Le ceneri si aggirano intorno a 2-3 g/100 g di parte edibile, con contenuti dei singoli minerali che si differenziano a seconda della tipologia di frutta secca (Tabella 3). Ad esempio, mentre i pinoli sono ricchi di potassio, zinco e magnesio, le mandorle lo sono soprattutto di calcio e manganese. Tranne che nelle arachidi, il sodio è scarso o del tutto assente; questa caratteristica rende il consumo di frutta secca adatto anche nell'ambito di diete iposodiche. Inoltre, nutrizionalmente interessanti appaiono gli elevati contenuti di calcio e potassio che, uniti al basso tenore di sodio, esercitano una azione positiva sui meccanismi regolatori della pressione sanguigna (Dumler, 2009).

Vitamine. Numerose vitamine sono contenute nella frutta secca (Tabella 4). Nelle arachidi spiccano folati e vitamina B₃; le mandorle sono una ricca fonte di vitamina B₂ e, soprattutto, di vitamina E (α -tocoferolo), presente in rilevanti quantità anche nelle nocciole, in cui si segnalano buoni tenori di folati; discreti sono anche i contenuti in folati delle noci. I pistacchi hanno i più alti contenuti di vitamina B₆, vitamina A e di luteina + zeaxantina, mentre i pinoli costituiscono un'eccellente fonte di vitamina K.

Composti nutraceutici. La frutta secca contiene numerosi composti fitochimici dotati di proprietà nutraceutiche, ovvero sostanze non indispensabili ma utili per il corretto funzionamento dell'organismo umano. Tra queste ricordiamo i fitosteroli, variabili tra 72 mg/100 g nelle noci a ben 214 mg/100 g nei pistacchi, costituiti essenzialmente da β -sitosterolo (Tabella 5). E' ormai accertato che i fitosteroli interferiscono con l'assorbimento intestinale del colesterolo, riducendo i tenori plasmatici del cosiddetto "colesterolo cattivo" o LDL (Low Density Lipoprotein)-colesterolo (Thompson e Grundy, 2005), notoriamente implicato nella patogenesi delle malattie cardiovascolari. Studi sperimentali ed epidemiologici hanno evidenziato che i fitosteroli introdotti con la dieta possono offrire protezione anche contro alcune tipologie di cancro, come quello alla prostata, al colon ed al seno (Awad e Bradford, 2005). Nella frutta secca sono inoltre presenti numerose sostanze ad attività antiossidante biologicamente attive, in grado di proteggere l'organismo dai danni ossidativi responsabili di numerose alterazioni e malattie cronico-degenerative; per citarne alcune: patologie infiammatorie, ischemiche, cardiovascolari, neurodegenerative, nonché alcune tipologie di cancro (Blomhoff et al., 2006). Fanno parte di questo gruppo di sostanze: lo squalene, di cui è particolarmente ricca la nocciola (Maguire *et al.*, 2004); i tocoferoli, con la loro duplice funzione vitaminica ed antiossidante; il selenio, che pur non essendo dotato di attività antiossidante diretta svolge un ruolo essenziale nella costruzione dei sistemi di difesa antiossidanti endogeni, proteggendo l'organismo da numerose alterazioni patologiche legate allo stress ossidativo. Altre importanti frazioni ad attività antiossidante della frutta secca sono composti fenolici di varia natura (Figura 1 e Tabella 6), tra cui si segnalano flavonoidi e fitoestrogeni (isoflavoni e lignani); nei pistacchi e nelle arachidi è stato riscontrato anche il resveratrolo (Tokuşoğlu *et al.*, 2005). E' da sottolineare che la frazione fenolica della frutta secca è

localizzata essenzialmente nella pellicola (perisperma) dei semi (Arcan e Yemenicioğlu, 2009), che protegge parzialmente l'olio dall'irrancidimento schermandolo dall'atmosfera e la cui rimozione comporta riduzioni della capacità antiossidante globale di oltre il 50%, con punte superiori al 90% nel caso delle noci (Blomhoff et al., 2006). Per contro è stato rilevato che i sottoprodotti pellicolari che residuano dalla tostatura di arachidi (Van Ha et al., 2007), mandorle (Wijeratne et al., 2006) e, soprattutto, nocciole (Contini *et al.*, 2008) si prospettano come ottime materie prime per l'estrazione di concentrati fenolici ad attività antiossidante eccezionalmente elevata.

La frutta secca, essendo ricca di macronutrienti, micronutrienti e preziose sostanze fitochimiche, è dunque non solo molto nutriente, ma anche assai benefica per la salute umana. L'alto contenuto calorico, dovuto all'elevato tenore lipidico, tradizionalmente ha condizionato e limitato il consumo di frutta secca; recenti studi hanno tuttavia accertato che un moderato consumo di questo alimento non provoca incrementi di peso corporeo (Mattes, 2008) ma, al contrario, non solo stimola la sazietà, ed è perciò utile nelle diete a basso tenore in carboidrati mirate al controllo ed alla perdita di peso (Adam-Perrot et al., 2006), ma apporta nel contempo numerosi benefici, tra cui: riduzione del rischio di malattie cardiovascolari, varie tipologie di cancro, diabete di tipo 2, calcoli biliari, infiammazioni, resistenza all'insulina (Blomhoff *et al.*, 2006; Alasalvar e Shahidi, 2009). Per questi motivi la frutta secca è oggi considerata un elemento importante nella moderna piramide alimentare sia statunitense che mediterranea e, pertanto, suggerita nelle linee guida alimentari di numerosi Paesi all'interno di una alimentazione equilibrata e salutare; ne è riprova che la Food and Drug Administration (FDA) degli Stati Uniti ha consentito l'uso nelle confezioni di frutta secca del seguente messaggio: *“risultati scientifici suggeriscono, ma non provano, che il consumo di 1.5 onces (circa 42.5 g) al giorno di gran parte della frutta secca, nell'ambito di una dieta povera di grassi saturi e colesterolo, può ridurre i rischi di malattie cardiache”*.

PROBLEMATICHE GENERALI DI CONSERVAZIONE DELLA FRUTTA SECCA IN GUSCIO

Nella frutta secca, come in tutti i prodotti ortofrutticoli, le fasi di coltivazione, raccolta, trasporto e stoccaggio ne determinano la qualità finale, sia organolettica che nutrizionale. In post-raccolta, i frutti devono essere protetti da qualsiasi danno potenziale, non devono venire a contatto con contaminanti (microrganismi o inquinanti) e, nel caso di lunghi periodi di conservazione, devono essere costantemente sottoposti a refrigerazione. È per questo motivo che la raccolta ed il successivo trasporto al magazzino di stoccaggio vanno eseguiti con cura ed al contempo tempestività. Cura, in quanto il prodotto è suscettibile a danneggiamenti; tempestività, per assicurarne una rapida lavorazione e/o refrigerazione, evitando la permanenza prolungata in ambienti inadeguati. I locali di conservazione devono essere ben areati, al riparo della luce e privi della presenza di possibili contaminanti.

Uno stazionamento protratto dei frutti sul terreno, in attesa della raccolta, è la potenziale causa di contaminazioni fungine, infestazioni da insetti ed assorbimento eccessivo di acqua da parte dei frutti. La prevenzione dall'attacco di muffe e fitofagi è uno dei requisiti fondamentali per una buona conservazione ed ha inizio sin da un mese prima della raccolta; a tal scopo, i materiali, i mezzi, gli attrezzi, i contenitori ed i magazzini di stoccaggio devono essere ben sanitizzati prima che i frutti possano venirvi a contatto (Mencarelli, 2004). Una cattiva gestione della filiera ha effetti cumulativi ed irreversibili sulla qualità del prodotto.

La shelf-life della frutta secca è influenzata da fattori che includono la maturità alla raccolta, il contenuto di acqua dei frutti, la grandezza dei semi, la temperatura, l'umidità relativa (UR) dell'ambiente di stoccaggio, l'esposizione alla luce ed all'ossigeno, la durata della conservazione ed i processi di lavorazione a cui sono sottoposti (Reed et al., 2002; Lee e Resurreccion, 2006; Mexis e Kontominas, 2010). I fattori in questione condizionano lo sviluppo di muffe, il proliferare degli insetti e la velocità dei processi degradativi a carico del prodotto.

La frazione lipidica della frutta secca, per lo più composta da acidi grassi insaturi, va facilmente incontro ad inacidimento ed irrancidimento, con conseguente scadimento della qualità nutrizionale-salutistica e produzione di

odori/sapori sgradevoli (Woodroof, 1983; Reed et al., 2002; Talcott et al., 2005; Passone et al., 2008). La presenza di ossigeno, la temperatura, l'umidità e l'esposizione alla luce sono i principali fattori coinvolti nei fenomeni di alterazione a carico dei lipidi, in particolare nei frutti sgusciati, rotti e freschi. Tuttavia, l'elemento che condiziona fortemente l'ossidabilità di un olio è la sua composizione in acidi grassi, strettamente influenzata dalla specie e, all'interno di questa, dalla varietà. La resistenza all'ossidazione è inversamente correlata alla durata della conservazione (Pattee et al., 1982) e la velocità di ossidazione incrementa all'aumentare del quantitativo di acidi grassi polinsaturi, di cui la frutta secca è particolarmente ricca (Reed et al., 2002; Passone et al., 2008). Conseguentemente, i frutti con una proporzione superiore di acidi monoinsaturi risultano meno suscettibili all'irrancidimento. Ricchi in poliinsaturi sono noci e pinoli, mentre le nocciole si distinguono per i più bassi contenuti. Naturalmente, anche il patrimonio antiossidante endogeno interviene attivamente nel modulare la velocità dei processi ossidativi, rallentandone l'evoluzione.

L'elevato contenuto in grassi rende altresì la frutta secca facilmente incline ad assorbire composti volatili estranei, con ripercussioni negative sull'odore, sul sapore e talvolta anche sul colore (tracce di ammoniacale, a concentrazioni non rilevabili dall'olfatto umano, determinano l'imbrunimento dei semi). Gli aromi assorbiti dal prodotto risultano intensificati nel frutto crudo ed enormemente enfatizzati nel seme tostato. Anche piccole quantità di inquinanti possono alterare la qualità organolettica, pertanto la conservazione deve avvenire in magazzini puliti, privi di odori estranei ed in assenza di frutta, ortaggi o potenziali contaminanti di altro tipo (es. gasolio, sanitizzanti, detergenti, ecc.). L'assorbimento di cattivi odori può essere causato anche da un erroneo confezionamento del prodotto (Woodroof, 1983).

I tenori di UR influenzano il contenuto di acqua nel frutto, modificandone la resistenza meccanica. Il limite di umidità del seme, oltre il quale perde turgidità ed assume una consistenza gommosa, è definito dal *Critical Water Content* (CWC) ed è tipico per ciascun prodotto. Al superamento del CWC corrisponde anche un'elevata attività dell'acqua (a_w), positivamente correlata ai fenomeni di inacidimento. A tenori di UR troppo bassi, i semi perdono eccessivamente peso e diventano fragili, risultando facilmente

danneggiabili durante la manipolazione. La deidratazione eccessiva promuove anch'essa l'ossidazione lipidica.

La frutta secca costituisce un ottimo substrato per lo sviluppo di muffe produttrici di aflatossine (AF) (Passone et al., 2008; Singh e Shukla, 2008), sostanze epatotossiche, immunosoppressive e genotossiche con potente attività cancerogena e teratogena (Ozay et al., 2007). Le AF sono prodotte da due funghi appartenenti al genere *Aspergillus*, l'uno a diffusione mondiale (*Aspergillus flavus*) e l'altro più frequente in climi tropicali e subtropicali (*Aspergillus parasiticus*). Le AF sono distinte dalle sigle B e G; le AF di tipo B (B1 e B2) sono prodotte da entrambe le specie, mentre quelle di tipo G (G1 e G2) sono sintetizzate soltanto dall'*Aspergillus parasiticus*. Tra tutte le AF la più pericolosa è la B1, per l'elevata tossicità acuta e cronica e la potente attività cancerogena che esplica sull'uomo e sugli animali (Eaton et al., 1994). Nonostante la contaminazione da AF possa avvenire in qualsiasi punto della filiera, a partire dalla coltivazione fino al consumo, è stato osservato che le fasi di raccolta e post-raccolta, conservazione inclusa, rappresentano gli stadi più critici su cui improntare efficaci azioni preventive (Ozay et al., 2008). Le muffe si accrescono ottimamente a temperature comprese tra i 6 e i 46°C ed il loro sviluppo è favorito da una UR pari o superiore all'85%. Le aree geografiche più a rischio sono pertanto le regioni subtropicali e tropicali. Tuttavia, a seguito dei cambiamenti climatici in atto, il problema può coinvolgere anche alcune regioni italiane.

Sul territorio comunitario i limiti di AF ammissibili nelle derrate alimentari sono stabiliti dal Regolamento (CE) 466/2001 della commissione dell'8 marzo 2001 e successive modifiche. Nella frutta secca destinata al consumo diretto, il quantitativo di AF totale non può eccedere i 4 ppb ($\mu\text{g}/\text{Kg}$) e non è ammessa una concentrazione superiore ai 2 ppb per la micotossina B1. Per le arachidi da sottoporre a cernita o ad altri trattamenti fisici prima del consumo umano, i limiti salgono a 15 ppb per le AF totali e 8 ppb per la B1; per la restante frutta secca, con medesima destinazione d'uso, i valori massimi sono rispettivamente di 10 ppb e 5 ppb.

La frutta secca è inoltre soggetta all'attacco di acari, scarafaggi e lepidotteri, se non conservata a bassa temperatura ed in condizioni igieniche adeguate. Lo stoccaggio di prodotti di annate differenti è inopportuno, a seguito del rapido

passaggio delle infestazioni dalla derrata più vecchia a quella più fresca, con conseguente drastica riduzione della shelf-life di quest'ultima.

Di seguito saranno affrontate singolarmente le problematiche che coinvolgono la conservazione delle più importanti specie di frutta secca in guscio, analizzando nel contempo le migliori condizioni di stoccaggio in grado di estenderne la conservabilità senza l'impiego di alcun trattamento chimico.

ARACHIDI

Le arachidi sono un prodotto semideperibile, che può essere mantenuto edule per 5 anni se posto in ottime condizioni di conservazione. Contrariamente, in ambienti di mantenimento inadatti, dopo un solo mese il frutto è interessato da perdite di colore, sviluppo di odori estranei, marcescenza e rancidità, nonché attacchi da parte di muffe (*Cercospora* spp., *Aspergillus* spp., *Rhizopus* spp.) ed insetti (*Aphis craccivora*, *Tenebrioides mauritanicus* e *Tinea granella*).

L'esperienza insegna che un buon confezionamento e una refrigerazione ottimale rivestono un ruolo fondamentale nella conservazione delle arachidi. Tuttavia, durante il periodo invernale è possibile stoccare il prodotto a temperatura ambiente, senza incappare in problemi di mantenimento. È soltanto al sopraggiungere dei caldi primaverili che la qualità delle arachidi rischia di ledersi in poche settimane, se il prodotto non è refrigerato ed adeguatamente isolato dall'atmosfera esterna. A tali miti temperature le arachidi sono soggette all'attacco di insetti e diventano presto stantie; il sapore, piuttosto che la qualità globale, risulta compromesso a seguito di fenomeni ossidativi a carico dei lipidi (Talcott et al., 2005; Lee e Resurreccion, 2006). Con il protrarsi della conservazione, la degradazione dei nutrienti colpisce non solo la frazione lipidica ma anche quella amminoacidica libera ed i carboidrati (Passone et al., 2008).

Ai fini di un buon mantenimento, l'umidità relativa dell'ambiente di stoccaggio deve essere tale da stabilizzare il contenuto di acqua delle arachidi a valori ottimali prossimi al 7%. Sopra al 65% di UR i semi tendono ad assorbire acqua; i conseguenti incrementi di a_w accelerano i fenomeni di inacidimento dell'olio e la suscettibilità allo sviluppo di muffe. Sperimentalmente è stato dimostrato che, a temperature comprese tra 30 e 40°C, ad ogni incremento di 0.1

nei valori di a_w corrisponde una riduzione media del 50% nella shelf-life del prodotto. Le arachidi sgusciate e tostate assorbono acqua dall'ambiente di conservazione ad una velocità superiore a quella del prodotto fresco (Lee e Resurreccion, 2006). Lo stoccaggio dei frutti ad una UR prossima o inferiore al 20% è allo stesso modo deleterio, in quanto può incrementare l'alterazione lipidica in maniera paragonabile ad una conservazione in condizioni di umidità elevata (Reed et al., 2002) e rende il prodotto eccessivamente fragile.

Trattamenti pre-conservativi

La cura delle arachidi ha lo scopo di ridurre il tenore di umidità iniziale a valori inferiori almeno all'11%, al fine di limitare lo sviluppo di muffe e consentirne una conservazione duratura. Le arachidi sono normalmente curate in andane; vengono disposte per uno spessore massimo di 1.5 m all'interno di vagoni perforati, nei quali viene iniettata aria calda. La temperatura di esercizio raccomandata è di 8-11°C oltre quella ambientale, con l'accortezza di non superare i 35°C per non incorrere in rischi di alterazioni organolettiche. Essiccature troppo veloci possono provocare la divisione dei cotiledoni ed indurre discolorazioni (Butts et al., 2002).

Il pericolo di infestazioni può essere ridotto mediante stazionamento del prodotto a -18°C per 24 ore; i fitofagi delle arachidi sono infatti per lo più di origine subtropicale e quindi scarsamente resistenti alle basse temperature.

Recentemente è stata dimostrata l'applicabilità dell'utilizzo di antiossidanti sintetici nell'estensione della shelf-life delle arachidi, quali: butilidrossianisolo (BHA o E320), butilidrossitoluene (BHT o E321) e propilparabeno (E217). I risultati mostrano una ritenzione di qualità nel prodotto ed un effetto di controllo sullo sviluppo fungino (Passone et al., 2008).

Conservazione

Le arachidi stoccate a temperatura ambiente hanno dei tempi di mantenimento ridotti. I legumi in guscio sono eduli fino a 6 mesi di conservazione, che si riducono a 4 nel caso in cui i frutti siano sgusciati. In tali condizioni la shelf-life del prodotto può essere estesa soltanto attraverso il trattamento con fumiganti, con impatto negativo sulla salubrità dell'alimento (Woodroof, 1983).

La refrigerazione può prolungare la conservabilità delle arachidi non confezionate fino a 2 anni e vede le migliori condizioni di stoccaggio a temperature comprese tra 0 e 10°C, ad una UR del 65%. In queste condizioni di temperatura il periodo di conservazione del prodotto sgusciato è pari a 9-18 mesi, quello dei semi in guscio può arrivare a 24 mesi, mentre le arachidi tostate si mantengono inalterate per 90 giorni se conservate ad una UR del 60% (Lee e Resurreccion, 2006).

Lo stoccaggio delle arachidi in gas inerti (N₂ e CO₂) aumenta la conservabilità del prodotto per un periodo di tempo prossimo a 12 mesi. L'atmosfera controllata (AC) non ha effetto sulla germinabilità delle arachidi, ma ne rallenta l'imbrunimento e l'irrancidimento; mantiene inoltre inalterato l'aroma della frazione grassa e dei prodotti trasformati da essa derivati (olio, burro, margarina). Le concentrazioni di gas utilizzate sono elevate, pari al 95-100%. La carenza di ossigeno e gli eccessi di azoto e/o anidride carbonica hanno un'azione fungistatica ed insetticida; la mortalità degli insetti è del 95% circa. Il mantenimento in AC estende la vita del prodotto fino a 2 anni se abbinato alla refrigerazione a 0-10°C ed al confezionamento cosiddetto "bag-in-box" (Woodroof, 1983), in cui il prodotto è sigillato in sacche di plastica od alluminio (bag), a loro volta inserite all'interno di scatole di cartone (box), allo scopo di facilitarne la trasportabilità e lo stoccaggio.

Il sottovuoto è un agevole sistema di conservazione e distribuzione, che riduce la necessità di ricorrere alla bassa temperatura per rallentare l'irrancidimento; mantiene inoltre l'umidità ad una soglia molto vicina a quella alla quale è stato confezionato, elimina virtualmente il problema degli insetti e degli attacchi dei roditori, protegge dai danni meccanici e reprime la germinabilità. La conservazione sottovuoto delle arachidi non tostate consiste nella disposizione del prodotto, precedentemente flussato con anidride carbonica, in confezioni bag-in-box ermeticamente sigillate a caldo. Per le arachidi tostate, in guscio e non, la conservazione sottovuoto è preferibile in contenitori di vetro o plastica rigida, data la maggior fragilità del prodotto.

MANDORLE

Similarmente agli altri frutti ricchi in grassi, le mandorle richiedono particolari attenzioni durante la conservazione, legate all'alto contenuto di lipidi polinsaturi, alla contaminazione da AF e all'infestazione da insetti. Lo stoccaggio in guscio è tuttavia piuttosto agevole, in quanto il prodotto risulta efficacemente protetto dal contatto con agenti esterni.

La cultivar gioca un ruolo fondamentale nella conservazione delle mandorle. Il contenuto di tocoferoli, il quantitativo di perossidasi, la tipologia di grassi, ecc., sono tutti fattori dipendenti dalla varietà, dalle caratteristiche del terreno di coltura e dal clima della zona di coltivazione (García-Pascual et al., 2003).

Le mandorle di qualità devono avere un kernel bianco e liscio, un aroma tipico ed un sapore pronunciato.

Trattamenti pre-conservativi

Immediatamente dopo la raccolta, il prodotto viene sottoposto a smallatura cui fa seguito l'essiccazione, ancor oggi eseguita per soleggiamento o tramite l'impiego di essiccatoi. Lo scopo è quello di ridurre il tenore di umidità a livelli prossimi a quelli ottimali. Il soleggiamento ha una durata di 3-4 giorni, in relazione al tempo atmosferico. La deumidificazione con essiccatoi richiede dalle 5 alle 8 ore a seconda della temperatura utilizzata (solitamente 70°C). Dopo l'essiccazione e prima della conservazione, le mandorle in guscio possono essere sottoposte a disinfezione e disinfestazione, soprattutto nel caso di varietà particolarmente sensibili a patologie durante la conservazione. Escludendo l'impiego di fumiganti, le comuni pratiche di controllo dei parassiti delle mandorle prevedono lo stazionamento del prodotto per alcuni giorni a temperature di -18/-20°C o l'esposizione ad atmosfere povere di ossigeno ed arricchite di azoto e/o anidride carbonica. Negli ultimi anni è stato sperimentato l'impiego di raggi gamma (Sánchez-Bel et al., 2008), che mantengono inalterate le caratteristiche organolettiche del prodotto fino a dosi di 3 kGy. Tuttavia, il quantitativo di perossidi è positivamente correlato con l'intensità del trattamento (Mexis et al., 2009).

Conservazione

Il metodo classico di conservazione delle mandorle in guscio prevede la naturale disidratazione del prodotto ed il mantenimento a temperatura ambiente, fino al consumo o alla trasformazione industriale. In tali condizioni, i frutti possono conservarsi anche per un anno senza mostrare cambiamenti significativi, mentre il prodotto tostato non è più edule dopo 6 mesi. Sono state osservate correlazioni positive tra incremento di perossidi e diminuzione di tocoferoli (García-Pascual et al., 2003). Questo metodo di conservazione non è tuttavia ottimale, in quanto i rischi di alterazioni del prodotto sono elevati. I pericoli di decadimento qualitativo possono essere ridotti facendo ricorso ad alcuni accorgimenti, quali il confezionamento, l'AC e le basse temperature. La temperatura di conservazione ideale è compresa tra -3 e 0°C, ma può essere estesa fino a 25°C per brevi periodi. Il tenore di acqua del prodotto stoccato è del 4-7% per le mandole sgusciate e del 5-8% per quelle in guscio. L'UR ideale è compresa tra il 65 ed il 70%. Il frutto viene ottimamente conservato per 12 mesi se posto a temperatura compresa tra -3 e 0°C ad una UR del 65-70%. Anon (2003) riporta la possibilità di stoccare le mandorle per periodi di tempo più lunghi, mantenendole a 0-5°C ad una UR del 65%.

Il ricorso al confezionamento aumenta la shelf-life del prodotto. Se confezionate, le mandorle sgusciate e pelate presentano una shelf-life di 9 mesi. La conservabilità è estesa a 12 mesi nel caso in cui il prodotto venga mantenuto a 2°C. Una conservazione superiore ai 9 mesi, a 4°C di temperatura, può essere assicurata dal confezionamento in film metallico, con atmosfera interna alla confezione satura di azoto. L'utilizzo di assorbitori di ossigeno assicura la conservazione delle mandorle crude, intere o macinate, per un periodo superiore ai 12 mesi, rendendo la permeabilità del materiale utilizzato per il confezionamento, l'esposizione alla luce e la temperatura di stoccaggio parametri marginali (Mexis e Kontominas, 2010).

L'impiego di AC a basso tenore di ossigeno ritarda le alterazioni organolettiche, indipendentemente dalla temperatura di conservazione (Ledbetter e Palmquist, 2006).

NOCCIOLE

I requisiti merceologici in base ai quali viene definita la qualità delle nocciole riguardano la forma, la resa allo sgusciato, l'umidità, il calibro, la pelabilità ed il contenuto in grassi. Anche la nocciola presenta le problematiche di conservazione tipiche della frutta secca, legate alla suscettibilità della componente grassa all'ossidazione (Seyhan et al., 2007).

Una UR superiore al 70% porta il prodotto a riassorbire acqua dall'atmosfera, promuovendo l'inacidimento idrolitico di natura enzimatica operato dalla lipasi, che liberando acidi grassi facilita i fenomeni di auto-ossidazione (Parcerisa et al., 1997). Congiuntamente la polifenolossidasi (PPO), la cui attività dipende prevalentemente dalla varietà e dalla localizzazione geografica della zona di coltivazione, ossida le sostanze polifenoliche, determinando la comparsa di aree necrotiche sul frutto (Bonvehì e Rosù, 1996). Nelle nocciole il CWC è pari al 9.3%, oltre il quale il seme assume una consistenza gommosa (Martinez-Navarrete e Chiralt, 1999).

Come per tutta la frutta secca, la contaminazione fungina vede in prima linea le muffe del genere *Aspergillus* (Mexis e Kontominas, 2009). Tuttavia, a causa del basso contenuto in umidità relativa delle nocciole (6-7%), lo sviluppo di muffe è abbastanza raro ed è per lo più provocato da una inadeguata conservazione. Oltre ad una elevata UR nell'ambiente di stoccaggio, tra le cause favorevoli agli ammuffimenti si elencano: l'eccessiva umidità dei frutti, la scarsa ventilazione, l'inadeguata temperatura di conservazione; svolge un ruolo importante anche la presenza di danni da insetto (*Curculio nucum*, *Gonocerus acuteangulatus*, ecc.).

Trattamenti pre-conservativi

Le nocciole non necessitano di particolari pratiche pre-conservative. Se non sono destinate al consumo fresco, una volta raccolte sono indirizzate alla pulitura a secco e ad un'eventuale essiccazione, con la quale il tenore di umidità viene portato a valori prossimi al 7%.

Con lo scopo di inibire lo sviluppo fungino, sulle nocciole sono state sperimentate tecniche di irradiazione gamma. È stato rilevato che dosi inferiori a 1.5 kGy non causano cambiamenti significativi negli attributi sensoriali dei

frutti, ma per contro aumentano il contenuto in perossidi proporzionalmente alla dose adoperata (Mexis e Kontominas, 2009).

Conservazione

Le nocciole possono essere conservate con o senza guscio, allo stato fresco o essiccato. Solitamente sono stoccate sgusciate e semidisidratate, in quanto destinate all'industria dolciaria. Sono caratterizzate da un basso tenore di umidità residua ed un'attività respiratoria molto debole anche a temperatura ambiente; mantengono pertanto un'ottima serbevolezza se adeguatamente conservate. Lo stoccaggio deve essere eseguito in contenitori e cataste che consentano il ricircolo di aria, utile a mantenere omogenei i livelli di temperatura ed umidità: in media sono sufficienti 20-30 ricircoli per ora per un minimo di 4-6 ore al giorno, eseguiti ad intervalli regolari.

Le nocciole in guscio possono essere conservate all'aria per 3-4 mesi a 3-5°C ed a una UR del 50-70% o per 5-6 mesi nelle medesime condizioni di umidità, ma ad una temperatura inferiore (1-2°C). Per periodi di conservazione prolungati è consigliabile il ricorso ad ambienti impoveriti di O₂ (tenori inferiori all'1%). L'abbinamento della bassa temperatura con gas inerti estende ulteriormente la conservabilità del prodotto. Nello specifico, l'azoto preserva la qualità delle nocciole ad un livello discreto, anche a 20°C (Mencarelli et al., 2007). La conservazione in AC permette di estendere la shelf-life del prodotto sgusciato a 14 mesi, nelle seguenti condizioni: UR 55-60%; O₂ inferiore all'1%; CO₂ pari a 0-0.3%; N₂ circa 99%.

Poste all'interno di buste o big-bag (sacche con volumi di capienza molto elevata, dell'ordine di 500-1000 Kg), le nocciole possono essere mantenute sottovuoto per 9 mesi a 3-4°C, previo flussaggio con azoto e successiva termosaldatura delle confezioni. Nel caso di conservazione a temperatura ambiente, la durata della shelf-life è ridotta a 7 mesi. I contenitori adoperati per il sottovuoto assicurano un ottimo isolamento dall'ambiente esterno e sono generalmente composti dal semplice materiale plastico o dalla sovrapposizione di più strati di materiale differente (es.: polietilene, nylon ed alluminio).

Il prodotto sgusciato e congelato a -18/-20 C° può essere conservato per periodi prossimi ai 12 mesi. Tra tutti i sistemi di stoccaggio presi in esame, le migliori

caratteristiche qualitative sono assicurate dalla conservazione in ambiente refrigerato, sottovuoto.

NOCI

Le noci di buona qualità sono caratterizzate da una grande pezzatura, da un endocarpo sottile e da una colorazione chiara. Il deterioramento ed il danneggiamento dei frutti durante la raccolta, il trasporto e la conservazione, sono causati da insetti, funghi ed umidità (Singh e Shukla, 2008). I fitofagi che comunemente infestano le noci sono la *Cydia pomonella* L., la *Amyelois transitella* Walker e la *Plodia interpunctella* Hübner; i parassiti in questione alterano la qualità del prodotto nutrendosene, tessendo delle tele all'interno dell'endocarpo e promuovendo il proliferare di muffe (Wang et al., 2001; Mitcham et al., 2004).

La raccolta deve essere portata a termine il prima possibile, in quanto le noci mature cadute a terra sono molto ricche in acqua, principalmente in forma libera (elevata a_w). In tale fase, per azione della luce e del conseguente riscaldamento, i frutti sono fortemente soggetti ad irrancidimento. E' stato evidenziato che la luce è una delle principali responsabili dell'alterazione ossidativa: nelle noci mantenute al buio, Jensen *et al.* (2001) hanno rilevato un drastico rallentamento nei fenomeni di ossidazione lipidica, nonostante il mantenimento ad atmosfera ambiente.

Successivamente alla raccolta, le noci devono essere poste immediatamente ad asciugare per evitare alterazioni, sviluppo di muffe ed annerimento della mandorla per azione dei tannini (López *et al.*, 1995). Il grado di essiccamento a cui il prodotto è sottoposto dipende dal Paese di commercializzazione. L'umidità alla vendita delle noci essiccate è solitamente variabile tra l'8% ed il 12%, mentre il prodotto fresco ha un contenuto in acqua del 30% circa.

Le noci non devono essere mantenute per lunghi periodi di tempo a temperature superiori a 10°C. La prolungata esposizione a calori eccessivi (30-40°C) ne accelera drasticamente l'irrancidimento, così come lo stoccaggio in ambienti sia troppo umidi (UR>70%) che troppo asciutti (<40%). L'incremento di acidità nel prodotto è associato alla comparsa di sapori sgradevoli, tra cui talvolta il sentore di sapone (Wang *et al.*, 2001). Per assicurare una corretta

conservazione delle noci, è d'obbligo che la loro umidità non scenda mai al disotto del 3.5% (López *et al.*, 1995).

Trattamenti pre-conservativi

La lavorazione delle noci appena raccolte prevede una pre-pulitura a secco, cui fanno seguito la smallatura, il lavaggio e/o la sbiancatura con ipoclorito di sodio (NaClO) o anidride solforosa (SO₂).

Prima della conservazione, le noci sono epurate dalla presenza dei fitofagi mediante un trattamento ipertermico di disinfestazione. Le pratiche convenzionali consistono nel riscaldare i frutti con aria o acqua calda (Tang *et al.*, 2000). Tra i due, il trattamento con acqua è il più efficace, anche se per assicurare una totale mortalità dei parassiti entrambi i metodi espongono il prodotto al calore per periodi prolungati, con conseguente perdita di qualità (Wang *et al.*, 2001).

Le radio frequenze (RF) sono una tecnica alternativa di disinfestazione che si basa sulla conversione dell'energia elettromagnetica in termica. In soli 5 minuti la temperatura del gheriglio raggiunge i 55°C, assicurando una mortalità degli insetti del 100% e riducendo lo sviluppo di microrganismi (Wang *et al.*, 2002). La velocità con la quale viene eseguito il trattamento mantiene inalterate le caratteristiche qualitative del prodotto (Tang *et al.*, 2000). L'utilizzo delle RF ha anche il vantaggio di ridurre in parte l'umidità delle noci (Mitcham *et al.*, 2004), agevolando le successive pratiche di essiccamento.

L'essiccazione delle noci richiede dalle 4 alle 6 ore a 50-55°C ed è eseguita soltanto se il prodotto è destinato al consumo come frutta secca. Il trattamento è lento a causa della sacca d'aria interna all'endocarpo, la cui azione isolante ostacola la diffusione del calore (Wang *et al.*, 2002). L'operazione è condotta generalmente in tunnel ad aria forzata.

Al fine di ridurre lo sviluppo fungino, sono state anche sperimentate tecniche di irradiazione gamma. Il trattamento è eseguito a 15-18°C ad una UR del 50-70%; non causa cambiamenti significativi nella composizione chimica, non ha effetti sull'aroma e sul sapore ed è efficace contro lo sviluppo delle muffe. Tuttavia, esposizioni ad alte dosi (superiori a 1.5 kGy) hanno effetti negativi sulla qualità sensoriale del prodotto, oltre i 12 mesi di conservazione (Al-Bachir, 2004).

Conservazione

La conservazione di noci in guscio non essiccate, destinate al consumo fresco, viene effettuata in ambienti refrigerati a 8-10°C per un periodo non superiore a 15 giorni, ponendo il prodotto in contenitori idonei (bin, casse, sacchetti, cartoni, ecc), puliti e privi di inquinanti che possano alterarne le caratteristiche organolettiche. Il tenore di umidità del prodotto fresco è superiore al 20%.

Le noci destinate al consumo come frutta secca devono avere un'umidità del gheriglio dell'8% circa. La conservazione delle noci essiccate viene fatta in ambiente asciutto, aerato e con bassa illuminazione. Il prodotto non confezionato viene stipato in bin o big-bag. Nel caso di confezionamento si ricorre all'utilizzo di cartoni, sacchi o sacchette.

Il periodo di conservazione delle noci essiccate è funzione delle condizioni di temperatura ed umidità di stoccaggio. Il mantenimento per un periodo di 6-12 mesi è assicurato da una temperatura di 8-10°C ad una UR del 60-70%. Periodi di conservazione superiori ad un anno sono ottenibili a temperature comprese tra -3 e 0°C (López *et al.*, 1995).

Se il prodotto è confezionato si ottengono ottimi risultati di conservazione a temperature di 11°C o inferiori, in combinazione ad assorbitori di ossigeno. Alternativamente, il confezionamento a bassa permeabilità all'ossigeno, abbinato al flussaggio con azoto, permette di conservare le noci per 13 mesi (Jensen *et al.*, 2003).

PINOLI

I pinoli presentano le stesse problematiche di conservazione già viste per l'altra frutta secca; essendo particolarmente ricchi in acidi grassi polinsaturi, sono fortemente sottoposti al rischio di irrancidimento ed al conseguente deterioramento della qualità organolettica. Le migliori condizioni di mantenimento prevedono il controllo dei parametri di stoccaggio quali temperatura ed umidità, limitando l'esposizione alla luce ed all'ossigeno.

Lo sviluppo di muffe e l'infestazione da insetti rappresentano dei fattori di rischio anche per la qualità dei pinoli.

Trattamenti pre-conservativi

Il prodotto è sottoposto al solo lavaggio, se destinato alla conservazione in guscio. Per i pinoli sgusciati, alla rottura del guscio segue la separazione dei frutti per immersione in soluzione salina (Peruzzi et al., 1998). Immediatamente dopo la cernita, il prodotto è lavato ed asciugato in essiccatoi che raggiungono temperature prossime ai 90°C, riducendo l'umidità dei pinoli sino a tenori del 5-6%.

Anche su pinoli sono state sperimentate tecniche di irradiazione con raggi gamma al fine di ridurre lo sviluppo microbico, preservando la qualità e la salubrità dell'alimento. Il trattamento aumenta il quantitativo di perossidi proporzionalmente alla dose adoperata, mentre non ha effetto sulle caratteristiche fisiche (consistenza e colore), sulla composizione degli acidi grassi e sugli attributi di qualità sensoriale (Gölge e Ova, 2008).

Conservazione

I pinoli possono essere conservati sia sgusciati che interi. La buona pratica di conservazione prevede lo stoccaggio in ambienti privi di odori estranei, al buio, ad una temperatura compresa tra 0 e 3°C ed a una UR non superiore al 65%. In queste condizioni il prodotto sgusciato può essere stipato in sacchi o cartoni dal volume variabile (5-25 Kg) per un periodo di circa 12 mesi, che sale a 18 mesi nel caso in cui si ricorra al sottovuoto. In alternativa, il packaging prevede la sigillatura per termosaldatura delle confezioni (1-5 Kg), previo flusso di azoto al fine di ridurre il tenore di O₂ a quantità inferiori all'1%.

PISTACCHI

Anche i pistacchi, se coltivati in condizioni che espongono la pianta a grandi stress e se malamente ripuliti dal mallo e/o conservati a temperature ed umidità non idonee, possono risultare contaminati da AF (Marín et al., 2008). Per ridurre al minimo la possibilità di sviluppo di muffe, responsabili tra l'altro della comparsa di macchie sul guscio del frutto stesso, è importante operare la rimozione del mallo il più velocemente possibile.

Il prodotto stoccato è suscettibile all'attacco di acari, scarafaggi e lepidotteri come la *Amyelois transitella*, se non conservato a bassa temperatura ed in condizioni igieniche adeguate.

I pistacchi appena raccolti hanno un contenuto in acqua compreso tra il 40 ed il 50% e vengono essiccati ad un tenore di umidità del 5% al fine di incrementarne la shelf-life. Alla rimozione del guscio e del tegumento, una colorazione verde brillante del seme è indice di un prodotto fresco e ben conservato.

Trattamenti pre-conservativi

Prima di essere stoccati e conservati, i pistacchi sono sottoposti ad una serie di lavorazioni in relazione alla destinazione d'uso del prodotto, alcune delle quali atte ad estenderne la shelf-life. Essenziale e tempestiva è la rimozione del mallo per abrasione, che richiede dai 3 ai 5 minuti di esecuzione. I frutti sono successivamente lavati in acqua, al fine di rimuovere i residui di mallo che possono alterare l'aspetto qualitativo dei pistacchi, con comparsa sul guscio di macchie scure dovute a contaminazione fungina. Al momento del lavaggio, i pistacchi fluttuanti vengono scartati in quanto guasti o vuoti. Segue la fase di essiccazione dei frutti, che tradizionalmente era eseguita al sole. Con questo sistema, il tempo necessario affinché i pistacchi raggiungessero l'umidità desiderata era di 3-4 giorni, in relazione alla temperatura ambientale. Oggi l'asciugatura dei semi è operata in correnti forzate di aria calda ad una temperatura di 70-90°C ed impiega dalle 5 alle 10 ore per ridurre l'umidità del prodotto fino a circa il 5%. Trattamenti a temperature prossime ai 90°C, benché più veloci, sottopongono i semi al rischio di separazione del guscio e possono indurre alterazioni organolettiche a scapito del sapore.

Il controllo sull'infestazione da insetti è attuabile mantenendo il prodotto in congelatore per alcuni giorni. Alternativamente è possibile far ricorso all'atmosfera modificata, ponendo i semi in ambienti saturi di azoto (poveri in ossigeno) o arricchiti di anidride carbonica fino al 60% (Kader e Maranto, 1985). I trattamenti esposti uccidono i fitofagi senza alterare qualitativamente i frutti.

Conservazione

La shelf-life dei pistacchi è massimizzata quando il prodotto raggiunge un'umidità del 5%. È essenziale quindi che le condizioni di UR dell'ambiente di conservazione siano tali da impedire il riassorbimento di acqua dall'aria. L'equilibrio è raggiunto ad una UR del 65%, considerata ottimale.

La temperatura di stoccaggio ideale per una conservazione a lungo termine è 0°C. Valori superiori (fino a 25-30°C) sono ammissibili per brevi tempi o nelle fasi di trasposto del prodotto per piccoli tratti. Nel caso di conservazione per periodi più prolungati, la temperatura non deve superare i 10°C (Marín et al., 2008). In ambiente ventilato e con UR del 65%, i pistacchi possono essere conservati per 12 mesi a 20°C, 18 mesi a 10°C e per 24 mesi a 0°C, con deterioramenti minimi nella qualità.

L'impiego della AC con tenori di CO₂ del 98% migliora la conservabilità del prodotto, specialmente alle basse temperature (Maskan e Karataş, 1999).

I pistacchi possono essere stoccati in polysack, sacche di iuta ed in casse di legno o cartone.

CONCLUSIONI

La frutta secca è un alimento altamente nutritivo, la cui inclusione in una dieta costituisce un'ottima fonte di antiossidanti fenolici ed altri fitochimici, potenzialmente utili al benessere dell'organismo ed al mantenimento della salute umana. Le sue problematiche di conservazione riguardano principalmente l'irrancidimento dei grassi, la crescita di muffe (*Aspergillus*) produttrici di aflatossine e l'infestazione da insetti. La contaminazione da Aspergilli può avvenire in vari stadi del ciclo produttivo compresa la crescita in campo, ma soprattutto può insorgere durante la conservazione in condizioni non igieniche, in ambienti scarsamente ventilati, caldi e umidi. Se la presenza di aflatossine è un problema di salute pubblica, in quanto sono tra i più potenti cancerogeni e teratogeni che si conoscano, il controllo sull'irrancidimento dei lipidi è di vitale importanza ai fini qualitativi, in quanto l'alterazione ossidativa non solo deteriora irreversibilmente i caratteri organolettici, ma è anche causa di scadimento nutrizionale (perdita di acidi grassi essenziali e vitamina E) e salutistico (distruzione di antiossidanti preziosi e deleterio accumulo di radicali liberi e perossidi). Per questi motivi sarebbero da prediligere le varietà

naturalmente più resistenti al deterioramento ossidativo, in quanto provviste di una cospicua quantità di antiossidanti (specie tocoferoli e composti fenolici) ed aventi una componente lipidica più ricca di acidi grassi monoinsaturi, a scapito dei poliinsaturi. Purtroppo ricerche ad ampio raggio finalizzate all'individuazione di cultivar specifiche, dotate di tali caratteristiche, non sono state ancora improntate.

Il basso tenore di umidità e quindi la limitata a_w rendono la frutta secca un alimento ben conservabile, in condizioni idonee, per periodi di tempo piuttosto lunghi (anche qualche anno) senza necessità di ricorrere a trattamenti chimici o all'ausilio di conservanti. Il mantenimento a temperatura ambiente è possibile, ma solo per brevi periodi; le temperature ottimali di stoccaggio sono in generale comprese tra 0 e 10°C. La frutta secca si presta anche al congelamento (-18/-20°C). Il ricorso all'atmosfera controllata ed il confezionamento sottovuoto consentono di prolungare la conservabilità per periodi di tempo superiori a quelli ottenibili con la sola refrigerazione. In ogni caso è essenziale che gli ambienti di stoccaggio siano assolutamente puliti, ben areati, al riparo della luce e privi della presenza di qualsiasi possibile contaminante.

Il contenuto ideale di acqua in fase di conservazione varia da prodotto a prodotto. Il superamento del CWC e una a_w elevata o, al contrario, un'eccessiva disidratazione, sono comunque deleteri. L'umidità relativa ottimale nell'ambiente di stoccaggio è in genere compresa tra il 65 ed il 70%.

In passato la lotta ai fitofagi ed alla contaminazione fungina è stata condotta mediante l'ausilio di fumiganti, talvolta adoperati anche in post-raccolta sul prodotto stoccato. Ad oggi ambienti poveri di ossigeno ($O_2 < 1\%$), ottenuti per miscela di anidride carbonica ed azoto o mediante l'impiego di assorbitori di ossigeno, sono in grado di controllare efficacemente lo sviluppo di muffe ed insetti, rendendo inutili i trattamenti chimici. Anche shock termici a temperature di congelamento (-18°C) sono impiegati con successo. Nei magazzini di stoccaggio è consigliabile il monitoraggio dei fitofagi mediante il ricorso a trappole.

Trattamenti fisici alternativi per il controllo dei parassiti prevedono l'uso dei raggi gamma e delle radio frequenze. I raggi gamma, in particolare, hanno recentemente fornito risultati molto interessanti, rivelando ottime potenzialità di impiego; resta comunque da valutare più approfonditamente l'entità dell'impatto

negativo, dose-dipendente, esercitato sulla componente grassa dei prodotti, risultata sensibile al trattamento.

SECCA IN GUSCIO

Tabella 1

Macronutrienti		Arachidi	Mandorle	Pistacchi	Nocciole	Noci	Pinoli
Acqua	g	6.5	4.7	3.9	5.3	4.1	2.3
Lipidi	g	49.2	49.4	45.4	60.8	65.2	68.4
Proteine	g	25.8	21.2	20.3	15.0	15.2	13.7
Ceneri	g	2.3	3.0	2.9	2.3	1.8	2.6
Carboidrati ^a	g	16.1	21.7	27.5	16.7	13.7	13.1
Saccarosio	g	nd ^b	3.6	6.9	4.2	2.4	3.5
Glucosio	g	nd	0.12	0.32	0.07	0.08	0.07
Fruttosio	g	nd	0.09	0.24	0.07	0.09	0.07
Zuccheri, totale	g	4.0	3.9	7.7	4.3	2.6	3.6
Amido	g	nd	0.7	1.7	0.5	0.1	1.4
Fibra alimentare	g	8.5	12.2	10.3	9.7	6.7	3.7
Energia	kcal	567	575	562	628	654	673
Energia	kJ	2374	2408	2352	2629	2738	2816

^aPer differenza; ^bnon disponibile.

Fonte: United States Department of Agriculture (USDA) National Nutrient Database for Standard Reference, Release 22 (2009), www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search.

Composizione chimica in macronutrienti della frutta secca (in 100 g di parte edibile) e valore calorico.

Tabella 2

Vitamina		Arachidi	Mandorle	Pistacchi	Nocciole	Noci	Pinoli
Vit. C (ac. ascorbico)	mg			5.6	6.3	1.3	0.8
Vit B ₁ (tiamina)	mg	0.6	0.2	0.9	0.6	0.3	0.4
Vit B ₂ (riboflavina)	mg	0.1	1.1	0.2	0.1	0.15	0.2
Vit. B ₃ (niacina)	mg	12.1	3.4	1.3	1.8	1.1	4.4
Vit. B ₅ (ac. pantotenico)	mg	1.8	0.5	0.5	0.9	0.6	0.3
Vit. B ₆ (piridossina)	mg	0.3	0.1	1.7	0.6	0.5	0.1
Folati	µg	240	50	51	113	98	34
Colina	mg	52.5	52.1	nd ^a	45.6	39.2	55.8
Betaina	mg	0.6	0.5	nd	0.4	0.3	0.4
Vit A (retinolo)	UI ^b		1.0	415	20	20	29
β-carotene	µg		1.0	249	11	12	17
α-carotene	µg				3		
Luteina + zeaxantina	µg		1.0	1405	92	9.0	9.0
Vit E (α-tocoferolo)	mg	8.3	26.2	2.30	15.0	0.7	9.3
β-tocoferolo	mg	nd	0.3		0.3	0.2	
γ-tocoferolo	mg	nd	0.7	22.6		20.8	11.2
δ-tocoferolo	mg	nd	0.1	0.8		1.9	
Vit. K	µg			nd	14.2	2.7	53.9

^aNon disponibile; ^bUnità Internazionali.

Fonte: United States Department of Agriculture (USDA) National Nutrient Database for Standard Reference, Release 22 (2009), www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search.

Contenuto vitaminico della frutta secca (in 100 g di parte edibile).

Tabella 3

Minerale		Arachidi	Mandorle	Pistacchi	Nocciole	Noci	Pinoli
Calcio (Ca)	mg	92	264	105	114	98	16
Ferro (Fe)	mg	4.6	3.7	3.9	4.7	2.9	5.5
Magnesio (Mg)	mg	168	268	121	163	158	251
Fosforo (P)	mg	376	484	490	290	346	575
Potassio (K)	mg	705	705	1025	680	441	597
Sodio (Na)	mg	18	1	1	-	2	2
Zinco (Zn)	mg	3.3	3.1	2.2	2.4	3.1	6.5
Rame (Cu)	mg	1.1	1.0	1.3	1.7	1.6	1.3
Manganese (Mn)	mg	1.9	2.3	1.2	6.2	3.4	8.8
Selenio (Se)	µg	7.2	2.5	7.0	2.4	4.9	0.7

Fonte: United States Department of Agriculture (USDA) National Nutrient Database for Standard Reference, Release 22 (2009), www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search.

Composizione in minerali della frutta secca (in 100 g di parte edibile).

SECCA IN GUSCIO

Tabella 4

Acido grasso	Arachidi	Mandorle	Pistacchi	Nocciole	Noci	Pinoli
Miristico (14:0)	0.05	0.013				
Palmitico (16:0)	11.1	6.5	11.6	5.3	7.1	5.6
Stearico (18:0)	2.4	1.4	1.1	2.2	2.7	2.4
Arachico (20:0)		0.03	0.10	0.18	0.10	0.40
Behenico (22:0)		0.004	0.10			0.12
Totale saturi	13.6	8.0	12.9	7.7	9.8	8.5
Palmitoleico (16:1)	0.02	0.52	1.10	0.20		0.03
Oleico (18:1)	51.3	65.6	53.7	78.2	14.1	31.1
Gadoleico (20:1)	1.43	0.02	0.40	0.23	0.22	1.39
Totale monoinsaturi	52.8	66.1	55.2	78.7	14.4	32.5
Linoleico (18:2)	33.6	25.8	31.3	13.5	61.2	57.4
Linolenico (18:3)	0.01	0.01	0.60	0.15	14.6	0.28
Eicosadienoico (20:2)		0.01				0.70
Diomo- γ -linolenico (20:3)						0.61
Totale poliinsaturi	33.6	25.9	31.9	13.6	75.8	59.0
Insaturi/saturi	6.4	11.5	6.8	12.0	9.2	10.8

Fonte: United States Department of Agriculture (USDA) National Nutrient Database for Standard Reference, Release 22 (2009), www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search.

Composizioni in acidi grassi (% relativa) dell'olio contenuto nella frutta secca.

Tabella 5

Fitosterolo	Arachidi	Mandorle	Pistacchi	Nocciole	Noci	Pinoli
β -sitosterolo	76.8	143.4	209.8	102.2	88.9	132.0
Campesterolo	13.2	4.9	10.1	6.6	4.9	19.8
Stigmasterolo	12.1	5.0	2.3	< 2.5	-	<1.7
Δ 5-avenasterolo	17.8	19.7	26.2	2.6	7.3	40.3
Sitoatanolo	<1.2	3.2	1.2	4.0	<1.7	5.9
Campestanolo	1.6	3.3	5.0	3.0	2.4	3.8
Altri steroli	15.0	19.6	24.6	2.5	9.1	34.2
Totale fitosteroli	137	199	279	121	113	236

^aNon disponibile.

Fonte: PHILLIPS K. M., RUGGIO D. M., ASHRAF-KHORASSANI M. 2005. *Phytosterol Composition of nuts and seeds commonly consumed in the United States*. Journal of Agricultural and Food Chemistry 53, 9436-9445.

Contenuto in fitosteroli (mg/100g di parte edibile) della frutta secca

Tabella 6

Composti fenolici	Arachidi	Mandorle	Pistacchi	Nocciole	Noci	Pinoli	Rif.
Flavonoidi	mg/100g	0.66	15.24	14.37	11.96	2.71	0.49 (1)
Proantocianidine	mg/100g	15.6	184.0	237.3	500.7	67.3	- (2,3)
Isoflavoni	μ g/100g	7.3	18.0	176.9	30.2	53.3	nd ^a (4)
Lignani	μ g/100g	27.1	111.7	198.9	77.1	85.7	nd (4)
Fitoestrogeni	μ g/100g	34.5	131.1	382.5	107.5	139.5	nd (4)

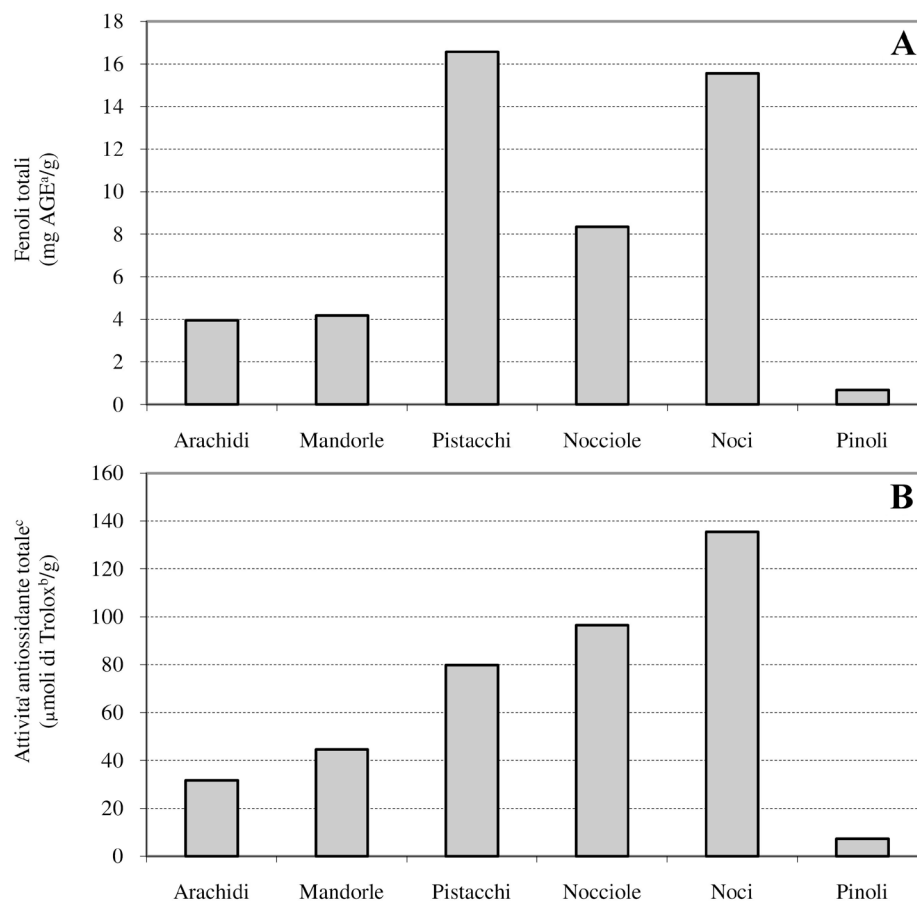
^aNon disponibile.

(1)United States Department of Agriculture (USDA) Database for the Flavonoid Content of Selected Foods, Release 2, 2006, www.ars.usda.gov/nutrientdata; (2)United States Department of Agriculture (USDA) Database for the Proanthocyanidin Content of Selected Foods, 2004, www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp; (3)GU L., KELM M. A., HAMMERSTONE J. F., BEECHER G., HOLDEN J., HAYTOWITZ D., GEBHARDT S., PRIOR R. L., 2004. *Concentrations of proanthocyanidins in common foods and estimations of normal consumption*. The Journal of Nutrition 134: 613-617; (4)THOMPSON L. U., BOUCHER B. A., LIU Z., COTTERCHIO M., KREIGER N., 2006. *Phytoestrogen content of foods consumed in Canada, including isoflavones, lignans, and coumestrol*. Nutrition and Cancer 54: 184-201.

Composti fenolici e rilevati nella frutta secca.

SECCA IN GUSCIO

Figura 1



^a Acido Gallico Equivalenti

^b acido 6-idrossi-2,5,7,8-tetra-metilcromano-2-carbossilico

^c Test ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity)

Fonte: WU X., BEECHER G. R., HOLDEN J.M., HAYTOWITZ D. B., GEB HARDT S. E., PRIOR R. L., 2004. *Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States*. Journal of Agricultural and Food Chemistry 52: 4026-4037.

Fenoli totali (A) ed attività antiossidante totale (B) della frutta secca.

BIBLIOGRAFIA

ADAM-PERROT A., CLIFTON P., BROUNS F., 2006. *Low carbohydrate diets: nutritional and physiological aspects*. Obesity Review 7: 49-58.

ALASALVAR C., SHAHIDI F., 2009. *Tree nuts: composition, phytochemicals, and health effects: an overview*. In: Tree nuts: composition, phytochemicals and health effects. Alasalvar C. e Shahidi F. ed., CRC Press., Taylor & Francis Group, Boca Raton, pag. 5.

AL-BACHIR M., 2004. *Effect of gamma irradiation on fungal load, chemical and sensory characteristics of walnuts (Juglans regia L.)*. Journal of Stored Products Research 40: 355-362.

ANDERSON J. W., SMITH B. M., GUSTAFSON N. J., 1994. *Health benefits and practical aspects of high-fiber diets*. American Journal of Clinical Nutrition 59 (Suppl.): 1242S-1247S.

ANON, 2003. *The Almond Board of California. "Tips for Technologists" Brochure (PDF)*. <http://www.almondsarein.com/manufacturers/files/tip.pdf>.

ARCAN I., YEMENICIOĞLU A., 2009. *Antioxidant activity and phenolic content of fresh and dry nuts with or without the seed coat*. Journal of Food Composition and Analysis 22: 184-188.

AWAD A.B., BRADFORD P.G., 2005. In "Nutrition and Cancer Prevention". CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton, FL.

BLOMHOFF R., CARLSEN M. H., ANDERSEN L. F., JACOBS, D. R. Jr, 2006. *Health benefits of nuts: potential role of antioxidants*. Br. J. Nutr. 96 (Suppl. 2): S52-S60.

BONVEHÌ J.S., ROSÙA N.S., 1996. *Enzymatic activities in the varieties of the hazelnut (Corylus Avellana L.) grown in Tarragona, Spain*. Food Chemistry, Vol. 56, No. 1, pp. 39-44.

BRUFAU G., BOATELLA J., RAFECAS M., 2006. *Nuts: source of energy and macronutrients*. British Journal of Nutrition 96 (Suppl. 2): S24-S28.

BUTTS C.L., WILLIAMS E.J., SANDERS T.H., 2002. *Algorithms for automated temperature controls to cure peanuts*. Postharvest Biology and Technology 24, 309–316.

CONTINI M., BACCELLONI S., MASSANTINI R., ANELLI, A., 2008. *Extraction of natural antioxidants from hazelnut (Corylus avellana L.) shell and skin by-products by long maceration at room temperature*. Food Chemistry 110: 659-669.

DUMLER F., 2009. *Dietary sodium intake and arterial blood pressure*. Journal of Renal Nutrition 19(1): 57-60.

EATON D. L., GROOPMAN, J. D., 1994. *The toxicology of aflatoxins, human health, veterinary and agricultural significance*. Academic Press, San Diego CA.

GARCÍA-PASCUAL P., MATEOS M., CARBONELL V., SALAZAR D.M., 2003. *Influence of Storage Conditions on the Quality of Shelled and Roasted Almonds*. Biosystems Engineering 84 (2): 201–209.

GÖLGE E., OVA G., 2008. *The effects of food irradiation on quality of pine nut kernels*. Radiation Physics and Chemistry 77: 365–369.

JENSEN P.N., SORENSEN G.B., BROCKHOFF P., BERTELSEN G., 2003. *Investigation of packaging systems for systems for shelled walnuts based on oxygen absorbers*. Journal of Agricultural and Food Chemistry 51: 4941–4947.

JENSEN P.N., SORENSEN G., ENGELSEN S.B., BERTWILSEN G., 2001. *Evaluation of quality in walnut kernels (Juglans regia L.) by Vis/NIR spectroscopy*. Journal of Agricultural and Food Chemistry 49: 5790–5796.

KADER A.A., MARANTO J., 1985. *Postharvest handling of pistachio nuts on a small scale*. University of California, Cooperative Extension.

KRIS-ETHERTON P. M., YU-POTH S., SABATÉ J., RATCLIFFE H. E., ZHAO G., ETHERTON T. D., 1999. *Nuts and their bioactive constituents: effects on serum lipids and other factors that affect disease risk*. American Journal of Clinical Nutrition 70 (Suppl.): 504S-511S.

LEDBETTER C.A., PALMQUIST D.E., 2006. *Degradation of almond pellicle color coordinates at different storage temperatures*. Postharvest Biology and Technology 40: 295–300.

LEE C.M., RESURRECCION A.V.A., 2006. *Consumer acceptance of roasted peanuts affected by storage temperature and humidity conditions*. LWT - Food Science and Technology 39: 872–882.

LÓPEZ A., PIQUE M.T., ROMERO A., ALETA N., 1995. *Influence of cold-storage conditions on the quality of unshelled walnuts*. International Journal of Refrigeration. Volume: 18, Issue: 8, pp. 544-549.

MAGUIRE L. S., O'SULLIVAN S. M., GALVIN K., O'CONNOR T. P., O'BRIEN N. M., 2004. *Fatty acid profile, tocopherol, squalene and phytosterol content of walnuts, almonds, peanuts, hazelnuts and the macadamia nut*. International Journal of Food Sciences and Nutrition 55: 171-178.

MARÍN S., HODŽIĆ I., RAMOS A.J., SANCHIS V., 2008. *Predicting the growth/no-growth boundary and ochratoxin A production by Aspergillus carbonarius in pistachio nuts*. Food Microbiology 25: 683– 689.

MARTINEZ-NAVARRETE N., CHIRALT A., 1999. *Water diffusivity and mechanical changes during hazelnut hydration*. Food Research International 32: 447-452.

MASKAN M., KARATAŞ Ş., 1999. *Storage stability of whole-split pistachio nuts (Pistachia vera L.) at various conditions*. Food Chemistry 66: 227-233.

MATTES R. D. 2008. *The energetics of nut consumption*. Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition 17: 337-339.

MENCARELLI F., 2004. Postharvest handling and storage of chestnuts- Compendium, FAO, InPHO. Disponibile all'indirizzo: <http://www.fao.org/inpho/isma?m=library&txt=Chestnut&i=INPhO&p=SimpleSearchFrame&lang=en&n=3>.

MENCARELLI F., FORNITI R., FARDELLI A., DESANTIS D., VALENTINI M., SEQUI P., 2007. *Atmosfere inerti e temperatura nella conservazione delle nocciole essiccate*. Ricerche e innovazioni nell'industria alimentare. Volume VIII. Atti dell'8° Congresso Italiano di Scienza E Tecnologia degli Alimenti (CISETA), Fiera Milano, RHO (MI), 7-8 Maggio 2007.

MEXIS S.F., BADEKA A.V., CHOULIARA E., RIGANAKOS K.A., KONTOMINAS M.G., 2009. *Effect of γ -irradiation on the physicochemical and sensory properties of raw unpeeled almond kernels (Prunus dulcis)*. Innovative Food Science and Emerging Technologies 10: 87-92.

MEXIS S.F., KONTOMINAS M.G., 2009. *Effect of γ -irradiation on the physicochemical and sensory properties of hazelnuts (Corylus avellana L.)*. Radiation Physics and Chemistry 78: 407-413.

MEXIS S.F., KONTOMINAS M.G., 2010. *Effect of oxygen absorber, nitrogen flushing, packaging material oxygen transmission rate and storage conditions on quality retention of raw whole unpeeled almond kernels (Prunus dulcis)*. LWT - Food Science and Technology 43: 1-11.

MITCHAM E.J., VELTMAN R.H., FENG X., DE CASTRO E., JOHNSON J.A., SIMPSON T.L., BIASI W.V., WANG S., TANG J., 2004. *Application of radio frequency treatments to control insects in in-shell walnuts*. *Postharvest Biology and Technology* 33: 93–100.

OZAY G., SEYHAN F., PEMBECCI C., SAKLAR S., YILMAZ A., 2008. *Factors influencing fungal and aflatoxin levels in Turkish hazelnuts (Corylus avellana L.) during growth, harvest, drying and storage: A 3-year study*. *Food Additives and Contaminants*, 25(2): 209–218.

OZAY G., SEYHAN F., YILMAZ A., WHITAKER T.B., SLATE A.B., GIESBRECHT F.G., 2007. *Sampling Hazelnuts for Aflatoxin: Effect of Sample Size and Accept/Reject Limit on Reducing the Risk of Misclassifying Lots*. *Journal of AOAC International* vol. 90, No. 4: 1028-1035.

PARCERISA J., RICHARDSON D.G., RAFECAS M., CODONY R., BOATELLA J., 1997. *Fatty Acid Distribution in Polar and Nonpolar Lipid Classes of Hazelnut Oil (Corylus avellana L.)*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45: 3887-3890.

PASSONE M.A., FUNES G.J., RESNIK S.L., ETCHEVERRY M.G., 2008. *Residue levels of food-grade antioxidants in postharvest treated in-pod peanuts during five months of storage*. *Food Chemistry* 106: 691–697.

PATTEE H.E., YOUNG C.T., PEARSON J.L., SINGLETON J.A., GIESBRECHT F.G., 1982. *Storage and moisture effects on peanut composition and roasted flavor*. *Peanut Science* 9: 98–101.

PERUZZI A., CHERUBINI P., GORRERI L., CAVALLI S., 1998. *Le pinete e la produzione dei pinoli dal passato ai giorni nostri, nel territorio del Parco di Migliarino, S. Rossore, Massaciuccoli*. Ente Parco Regionale Migliarino, San Rossore, Massaciuccoli.

REED K.A., SIMS C.A., GORBET D.W., O'KEEFE S.F., 2002. *Storage water activity affects flavor fade in high and normal oleic peanuts*. Food Research International 35: 769–774.

SÁNCHEZ-BEL P., EGEA I., ROMOJARO F., MARTÍNEZ-MADRID M.C., 2008. *Sensorial and chemical quality of electron beam irradiated almonds (Prunus amygdalus)*. LWT - Food Science and Technology 41: 442-449.

SEYHAN F., OZAY G., SAKLAR S., ERTAS E., SATIR G., ALASALVAR C., 2007. *Chemical changes of three native Turkish hazelnut varieties (Corylus avellana L.) during fruit development*. Food Chemistry 105: 590–596.

SINGH P.K., SHUKLA A.N., 2008. *Survey of mycoflora counts, aflatoxin production and induced biochemical changes in walnut kernels*. Journal of Stored Products Research 44: 169–172.

TALCOTT S.T., DUNCAN C.E., DEL POZO-INSFRAN D., GORBET D.W., 2005. *Polyphenolic and antioxidant changes during storage of normal, mid, and high oleic acid peanuts*. Food Chemistry 89: 77–84.

TANG J., IKEDIALA J.N., WANG S. HANSEN J.D., CAVALIERI R., 2000. *High-temperature-short-time thermal quarantine methods*. Postharvest Biology and Technology, 21: 129-145.

TOKUŞOĞLU Ö., ÜNAL M.K., YEMİŞ F., 2005. *Determination of the phytoalexin resveratrol (3,5,4'-Trihydroxystilbene) in peanuts and pistachios by high-performance liquid chromatographic diode array (HPLC-DAD) and gas chromatography-mass spectrometry (CG-MS)*. Journal of Agricultural and Food Chemistry 53: 5003-5009.

THOMPSON G.R., GRUNDY S.M., 2005. *History and development of plant sterol and stanol esters for cholesterol-lowering purposes*. The American Journal of Cardiology 96 (Suppl. 1): 3S-9S.

VAN HA H., POKORNY J., SAKURAI H., 2007. *Peanut skin antioxidants*. Journal of Food Lipids 14(3): 298-314.

VENKATACHALAM M., SATHE S.K., 2006. *Chemical composition of selected edible nut seeds*. Journal of Agricultural and Food Chemistry 54: 4705-4714.

WANG S., IKEDIALA J.N., TANG J., HANSEN J.D., MITCHAM E., MAO R., SWANSON B., 2001. *Radio frequency treatments to control codling moth in in-shell walnuts*. Postharvest Biology and Technology 22: 29–38.

WANG S., TANG J., JOHNSON J.A., MITCHAM E., HANSEN J.D., CAVALIERI R.P., BOWER J. , BIASI B., 2002. *Process protocols based on radio frequency energy to control field and storage pests in in-shell walnuts*. Postharvest Biology and Technology 26: 265–273.

WIJERATNE S.S.K., AMAROWICZ R., SHAHIDI F., 2006. *Antioxidant activity of almonds and their by-products in food model systems*. Journal of the American Oil Chemists' Society 83: 223-230.

WELLS B. J., MAINOUS A.G., EVERETT C.J., 2005. *Association between dietary arginine and C-reactive protein*. Nutrition 21: 125-130.

WOODROOF J.G., 1983. *Peanuts: Production, Processing, Products*. Avi Publishing Company.

INFLUENCE OF GROUNDCOVER MANAGEMENT SYSTEMS AND DOUBLE HARVEST ON QUALITY AND STORAGE OF FRESH HAZELNUTS (*CORYLUS AVELLANA* L.)

Riccardo Massantini ^{1*}, Marina Contini ¹, Roberto Moschetti ², Danilo Monarca ²,
Massimo Cecchini ², Giuseppina Menghini ², Maria Lorenza Mordacchini Alfani ²

¹ Department of Food Science and Technology, Tuscia University, Italy

² Department of Geology and Mechanical Naturalistic and Hydraulic
Engineering for the Territory, Tuscia University, Italy

* Corresponding author

INDEX

> INTRODUCTION	50
> MATERIAL AND METHODS.....	51
> RESULTS AND DISCUSSION	53
> CONCLUSIONS.....	56
> TABLES	57
> FIGURES	58
> LITERATURE CITED	60

KEYWORDS: *quality, preservation, hazelnut produce, harvest, enzymatic activity*

ABSTRACT

Hazelnuts were grown on either a naturally cover-cropped orchard or a traditionally tilled one and then harvested either with a single or a double harvest. The double harvest technique combined with a permanent ground cover enhanced the quality at harvest and the preservation of hazelnuts. The costs regarding both growing techniques were estimated and it was determined that the double harvest and single harvest produced the same financial result for the grower, since additional costs were balanced by public funding, while permanent groundcover was economically advantageous in comparison to soil tillage. The fresh hazelnuts were stored for 6 months and results showed that double harvest enhanced the quality and reduced the percentage of unsound fruit. Additionally, cover crop technique is not able to contain the negative effects of the single harvest.

INTRODUCTION

The hazelnut (*Corylus avellana* L.) plays a very important role in the confection and transformation industry worldwide. Turkey, Italy, Spain and USA are the most important world producers (Bellincontro et al., 2009). The 34% of the national Italian hazelnut cultivation is concentrated in the Viterbo province of the Latium region, representing 92% of the cultivable surface designated to the hazelnut production (Massantini et al., 2009). Viterbo alone supplies more than 90% of the Regional production. At present in the hazelnut groves surrounding Viterbo, most of the hazelnuts are cultivated with a naturally controlled grass groundcover (Cecchini et al., 2002). This cultivation technique has been used since the 1970s since it has proven to be extremely advantageous (Bignami, 2002), even if it causes a reduction in the average production of hazelnuts by 10% (Avanzato and Raparelli, 2002). The permanent groundcover cropping technique used in local hazelnut groves are financially encouraged by annual premiums per hectare foreseen by registered share 214.3 of the “Programma di Sviluppo Rurale del Lazio 2007-2013” (Reg. CE 1698/2005). The choice of using this technique rather than the traditional soil tillage came about because modern fruit farming is always in search of solutions which could improve the quality of the production and reduce costs while respecting the physiology of the plant as well as environmental issues at the same time (Avanzato and Raparelli, 2002). For this reason alternative cultivation techniques are now replacing the traditional techniques wherever water availability is adequate. The traditional techniques, which are the potential cause of damage to the land structure, limit the transit of the machines and therefore hinder the necessary operations in the particularly damp periods. The use of lined turf (*Trifolium subterraneum subterraneum*), either artificial or spontaneous, succeeds in remedying these problems and also brings other advantages, among which the reduction of the compression of the soil caused by agricultural vehicles, as well as improving the porosity and index of the structural stability of the soil (Campiglia et al., 2007). Moreover the turf favors the assimilation of nutritional elements with scarce mobility due to a root apparatus which can develop at an inferior depth, and it helps to control the erosion of the soil and it maintains or, in some cases, restores the fertility of the soil by improving its organic status (Campiglia et al., 2007). It is also important

to note the subsequent improvement on the flavor and coloration of the fruit, due to a more active tree absorption of phosphorous and potassium and the “lens effect” of the dew. The grass cover also reduces fluctuations in temperature and the phenomenon of iron chlorosis (Valli and Schiavi, 1994).

On one hand the permanent groundcover crop (whole grove surface) brings great advantages from an agronomic point of view, but on the other hand there are still doubts concerning its effect on the quality of the hazelnuts, defined by size, water and fatty acid content, internal defects and damaged acorns (Romero et al., 2009).

The aim of this work was to determine the effect of groundcover cropping system combined with the double harvest technique on the quality and the preservation of the hazelnuts. The meaning double harvest refers to a cultivation technique aimed at improving the quality of hazelnuts and motivated by the EC policy 2200/96 and it helps to prevent the development of hidden flaws or internal rot. Secondly the economic validity of these operations was evaluated, taking into account the financial contribution provided by public bodies.

MATERIALS AND METHODS

The hazelnuts studied (*Corylus avellana* ‘Tonda Gentile Romana’) were grown on a farm in the province of Viterbo (Latium, Italy). They were harvested at different periods of maturity, and distinguished according to the type of harvest carried out (single or double) and the soil management system (with or without turf grass) of the hazelnut grove. We used 3 experimental plots, coming from the same orchard. Regarding the irrigation a 700 mm/year of water was reached when the irrigation was added. Harvest was conducted in September collecting hazelnuts directly from the ground, by hand. When double harvest was performed, the second harvest was carried out after 15 days from the first one.

The samples obtained, brought to 5% humidity of the kernel through dehydration, were promptly sent to the laboratory to be analyzed, in order to determine: firmness, color, polyphenol oxidase (PPO) activity, humidity and sensory qualities. Every test was run with five repetitions for each cropping system, each being carried out on 20 hazelnuts. From the obtained results, expressed by the average of the experimental values, the T0 treatments

concerned samples analyzed at harvest, T1 after 1 month storage, T2 after 2 months, etc. The hazelnuts were stored in shells with the same procedures commonly used by the cooperative of hazelnut producers, i.e., at room temperature (winter climate), at a relative humidity of 60-70%, in a ventilated environment and without any type of chemical treatment. Storage was carried out in this way in line with the present techniques used by the local cooperatives.

The firmness of the hazelnuts was determined with an Instron Universal Testing Machine, mod. 4301 (Instron Corporation, Norwood, MA, USA), equipped with an 8 mm diameter anvil mounted on a crossbeam with a speed of 30 mm/min and set up to exert a force of compression equal to 30 N.

The colorimetric analysis was carried out with techniques of acquisition and digitalization on a personal computer, through the Adobe Photoshop CS3 application (Adobe Systems, Inc.), according to the calibration process indicated by Riva (2003). The obtained results were expressed according to the color space CIEL*a*b* 1976 through the values of lightness L^* , hue angle ($h = \tan^{-1} b^*/a^*$) and saturation index (or chroma, $C^* = [a^{*2} + b^{*2}]^{1/2}$). The color of each seed, given by the coordinates L^* , h and C^* , was compared with the mean of the respective treatment. The average value of the Difference of Color thusly originated from this data ($\Delta E^* = [\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2}]^{1/2}$), which measures the homogeneity in the color of the samples of the harvest (T0) and after six months of storage (T6).

The analysis of the PPO enzymatic activity (carried out because the activity might be influenced by agronomical practices; Serra Bonvehì and Serrano Rosà, 1996), was performed by homogenizing 5 g of a sample in 20 ml of phosphate buffer at pH 6.8. The homogenized pulp was centrifuged at 19,000 rpm for 20 min at 4°C before separating it from its cellular residues by filtering it through double layered cotton. The supernatant obtained was ultimately added to 3 ml of catechol 0.05 M, and then subjected to spectrophotometric analysis for 3 minutes at a wavelength of 400 nm. The data obtained was used to determine the linear regression from which the PPO enzymatic activity can be gathered, expressed as $\text{Abs} \cdot (\text{min} \cdot \text{mg protein})^{-1}$.

The sensory test was performed by a group of 15 trained judges who evaluated the product, referring to a hedonic scale that took into account: color, aspect, firmness, aroma and flavour. The score was expressed taking the typical

characteristics of the fresh product into account, giving them a grade between 1 and 5 (1=poor; 5=excellent).

The humidity was expressed as a percentage.

All the data were subjected to a two-way analysis of variance (ANOVA) and to the Duncan Test ($p \leq 0.05$). The results of the analysis of the firmness and colorimeter were used to make a box plot or box-and-whisker plot.

The experimentation was repeated for 3 consecutive years on the same experimental plots.

RESULTS AND DISCUSSION

Color

The agronomic techniques (groundcover vs. tilled soil) did not show any significant effect on the components of the shell color (L^* , h , C^*) at the moment of the harvest (data not reported). Even after six months of storage the color did not undergo remarkable changes (data not reported). The present experiment did not reveal any relationship between the coloration of the hazelnuts, the harvest technique and the soil management technique.

The box-plots ultimately emphasized how the coordinates of color tend to conform even more among the treatments, following the storage period. The analysis of the ΔE^* shows a low homogeneity of the color of the hazelnuts only in some treatments. The results show how the samples of the single harvest correspond to values of the ΔE^* over the threshold of the “strong difference of color” (Fig. 1), the reported box-plots are relative to the second year, reflecting the general trend of the entire period of experimentation. This happens more or less independently from the cover crop which partly succeeds in limiting the phenomenon to the harvest (T0), resulting in the fact that a ΔE^* value higher than 5 can only be seen at the end of the storage (T6). It can be therefore assumed that a prolonged permanence of the hazelnuts on the orchard soil is the cause of a loss of homogeneity in their color coordinates (Fig. 2).

Firmness

In the storage conditions used the hazelnuts tended to lose elasticity while increasing in firmness. In some cases the deformation measured at breakage did not reveal significant differences between the samples, but rather a tendency to break more easily, as observed by Mencarelli et al. (2007). On the contrary to

the observations made in the colorimetric analysis, the resistance to breakage seems to be mainly influenced both by the type of harvest and soil management system used. The combination of the tilled soil with the single harvest is the cause of an elevated firmness from the beginning (T0), which tends to decrease at the end of the storage period. The type of harvest mainly affected the hazelnut firmness, which tended to be higher if they have been in direct contact with the soil rather than the grass cover.

The bar chart in Figure 3 represents the increase in the firmness for each sample after storage.

One can suppose that the abnormal trend which was registered in the third year of experiment, was caused by heavy rainfall (166 mm) during the harvest period. This brings us to suppose that the climate also plays an important role in the firmness of the hazelnuts; but the data at our disposal does not enable us to carry out a scientific comparison.

Humidity

During storage the water content in the kernel of the hazelnut in shell increased by 1% (± 0.1) in each case examined (data not reported). The conditions of this type of storage do not maintain the level of humidity reached with dehydration (5%) and therefore do not prevent the absorption of water vapor from the outside. Our findings agree with those of Mencarelli et al. (2007) concerning hazelnuts stored in air. It is important not to exceed the threshold of 6% of relative humidity in order to obtain a good quality product (Farinelli et al., 2002) and the type of storage used by the cooperatives seems to be hardly acceptable.

Polyphenol Oxidase Activity (PPO)

The analysis of the PPO enzymatic activity does not show any significant differences among the various treatments (in each year of experimentation) and assumes an average value of 591 (± 24) Abs·(min·mg)⁻¹ of protein (data not reported). The values compared, which are typical of the 'Tonda Gentile Romana' cultivar, bring us to exclude a possible relationship between the agronomic techniques in question and the PPO activity in the hazelnuts. As stated and confirmed in the thesis formulated by Serra Bonvehì and Serrano Rosù (1996), PPO enzymatic activity is not influenced by the agronomic

practices used, but depends firstly on the cultivar and secondly on the geographic location of the hazelnut grove.

Sensory Evaluation

The results of the sensory evaluation (Table 1) proved a higher quality of the product from the double harvest from the very beginning, as there was a smaller amount of moldy hazelnuts, or fruits with a rancid taste and flaws. Characteristics like the fruity taste and the typical flavour of the hazelnuts do not seem to be influenced by a long period of time on the ground. Nevertheless the general quality of the fruit is affected by a longer period of contact with the soil, increasing the frequency of a rancid smell from the hazelnut due to a greater absorption of water. The number of moldy fruits increases considerably after only three months of storage in the single harvest treatment and a slight, but significant increase, can also be found in the hazelnuts from the double harvest on tilled terrain, which influenced the comprehensive evaluation expressed by the panel of judges. The only treatment which reduced the quantity of healthy fruits (except for a rancid taste or mould) to a little less than 20% was the single harvest on tilled terrain. While in the double harvest the Incidence of hazelnuts with flaws was a little less than 30% with a slight improvement in the cover-cropped terrain.

Economic Evaluations

Thanks to the presence of the grass, the technique of a permanent groundcover-cropping appeared to be much more suitable than the traditional techniques of soil tillage (Table 2): because it required fewer operations and more importantly because of the funds provided by the region of Latium (PSR 2007-2013), equal to 100 €/ha. Cover-cropping gives great economic advantages especially if the company adheres to the Integrated Production (Measure 214.1) or to Organic Agricultural programs (Measure 214.2). These economic advantages are present even if the premium is reduced by 20% according to the amount foreseen by the Measure 214.3.

According to an investigation carried out by the local hazelnut cooperatives, the average premium foreseen for the double harvest is equal to 150 €/ha. It is therefore possible to state that there are no substantial differences which justify the practice of the single harvest rather than the double harvest (Table 3).

CONCLUSIONS

Regarding the agricultural techniques studied in this experiment it is possible to state that the double harvest certainly improves and maintains the quality of the hazelnut in shell. The amount of flawed, rancid or moldy fruits is notably reduced, the coloration is more homogeneous and the loss of the mechanical resistance of the kernel is lower. The beneficial effects are due to the low absorption of water owing to the shorter permanence of the fruits on the soil of cultivation prior to harvest.

The effect of the cover-crop is minimal and in respect to the traditional cultivation, it only reduces the initial humidity of the hazelnuts which has a positive impact on their color, firmness and storability. However, the permanent orchard groundcover is not able to minimize the negative effects of the single harvest. Differences in quality among the treatments seem to disappear in the event of heavy rainfall during the harvest period. This hypothesis should be examined more carefully.

The PPO enzymatic activity maintains values which are typical of the cultivar 'Tonda Gentile Romana', excluding every possible connection with the soil management system and the type of harvest carried out.

From an economic point of view it is recommendable to carry out the double harvest in orchard groves with a permanent groundcover and the overall picture showed that using the two practices together is advantageous.

Table 1

Harvest and growing techniques	Storage time (months)						
	0	1	2	3	4	5	6
Double harvest - tilled	4.92a	4.67a	3.88bc	3.73bc	3.58bc	3.51bc	3.21c
Single harvest - tilled	4.37ab	4.18ab	3.23c	3.34c	3.11bc	2.46cd	1.45d
Double harvest - cover cropped	4.98a	4.71a	4.69b	4.42b	4.12bc	4.05bc	4.13bc
Single harvest - cover cropped	4.46a	4.32ab	4.17ab	2.98c	3.14bc	2.35cd	1.23d

Annual per ha costs for a hazelnut orchard management naturally cover cropped compared to a tilled.

Table 2

Cost items (€/ha)	Soil management of hazelnut grove			
	Cover cropped		Tilled	
	Min	Max	Min	Max
Labour	153.84	230.76	214.37	239.59
Equipment	52.36	78.55	71.86	80.32
Contribution ^a	-100.00	-100.00	-	-
Total	106.21	209.31	286.23	319.91
Increase in cost 92% ^b				

^a Regional contribution - PSR 2007/2013.

^b Mean value.

Annual per ha costs for a hazelnut orchard management naturally cover cropped compared to a tilled one.

Table 3

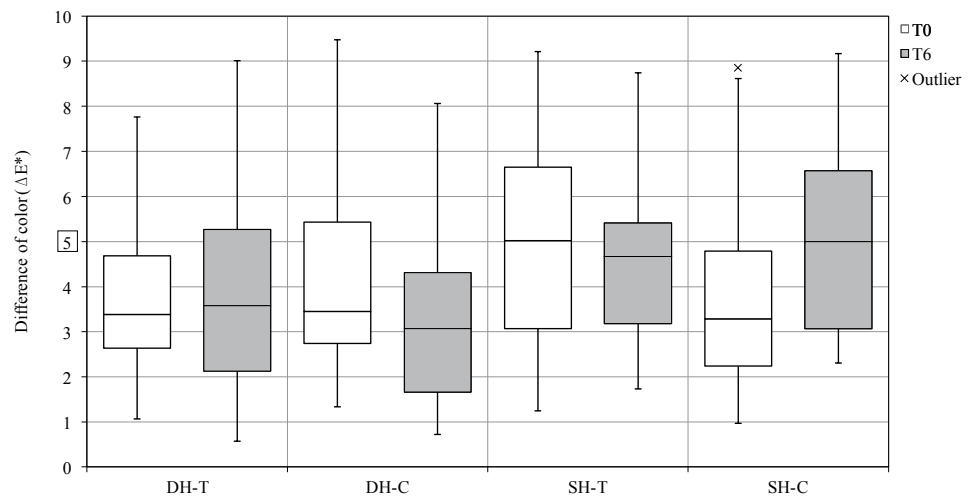
Cost items (€/ha)	Harvest method			
	Single		Double	
	Min	Max	Min	Max
Labour	182.40	250.80	364.80	501.60
Equipment ^a	45.60	57.44	91.21	114.88
Dehydration	75.00	75.00	50.00	50.00
Major earnings	-	-	-150.00	-150.00
Total	303.00	383.24	356.01	516.48
Increase in cost 27% ^b				

^a Equipment cost enclosing transportation costs.

^b Mean value.

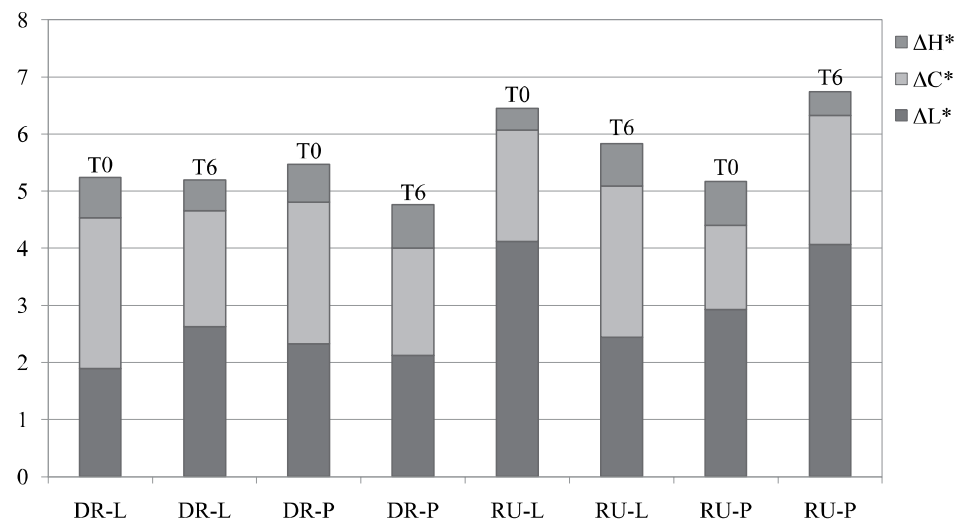
Annual per ha costs for a hazelnut orchard management when harvested in one single harvest and in two different periods.

Figure 1

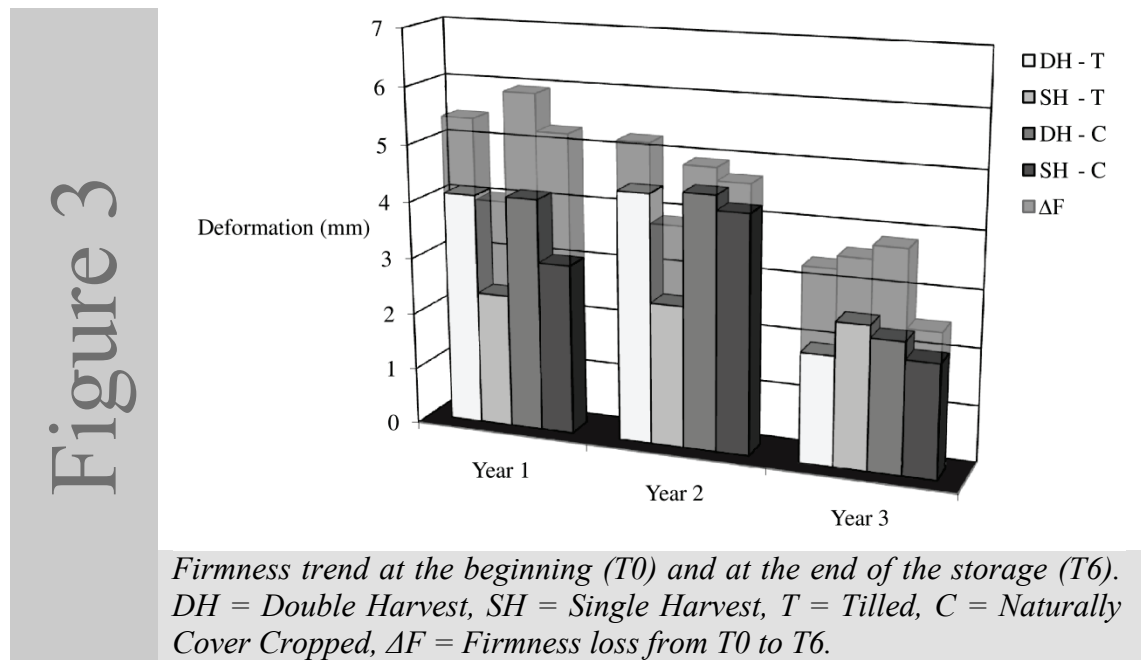


ΔE^* at the second year of the trial. Box-plots indicate ΔE^* at the beginning (T0) and at the end of the storage (T6). Number 5 value indicates the limit beyond which the human eye perceives big color differences. DH = Double Harvest, SH = Single Harvest, T = Tilled orchard, C = Naturally Cover Cropped.

Figure 2



Histogram showing the average trend of Δ Brightness (ΔL^*), Δ Hue Angle (ΔH^*) and Δ Saturation Index (ΔC^*) at the beginning (T0) and at the end of storage (T6). DH = Double Harvest, SH = Single Harvest, T = Tilled orchard, C = Naturally Cover Cropped.



LITERATURE CITED

AVANZATO, D., RAPARELLI, E., 2002. *Agronomical observations on hazelnut orchard growth with leguminous cover crops*. 2nd Convegno Nazionale sul Nocciolo. Giffoni V. P., Italy 5th October, p. 186-192.

BELLINCONTRO, A., MENCARELLI, F., FORNITI, R., VALENTINI, M., 2009. *Use of NIR-AOTF spectroscopy and MRI for quality detection of whole hazelnuts*. VIIth International congress on hazelnut. Acta Hort. 845:593-597.

BIGNAMI, C., 2002. *Present situation and problems of hazelnut growing in Lazio region*. 2nd Convegno Nazionale sul Nocciolo. Giffoni V. P., Italy 5th October, p. 122-132.

CAMPIGLIA, E., MANCINELLI, R., CAVALIERI, A., 2007. *Gestione e mantenimento della fertilità del suolo. Studio e ottimizzazione della filiera corilicola dell'area Cimino-Sabatina*. Ministero delle politiche agricole e forestali. Stampa in proprio, p. 138-145.

CECCHINI, M., MORDACCHINI ALFANI, M.L., ANTONELLI, D., 2002. *The mechanized management of cultivation: experiences in Viterbo province*. 2nd Convegno Nazionale sul Nocciolo. Giffoni V. P., Italy 5th October. p. 213-228.

FARINELLI, D., BOCO, M. AND TOMBESI, A., 2002. *Influences of harvest period and of drying time on hazelnut quality*. 2nd Convegno Nazionale sul Nocciolo. Giffoni V. P., Italy 5th October, p. 262-269.

MASSANTINI, R., CONTINI, M., MORDACCHINI ALFANI, M.L., GUERRIERI, M., MONARCA, D., CECCHINI, M., 2009. *The consumption of fresh hazelnuts: quality and storage*. VII International congress on hazelnut. Acta Hort. 845:635-639.

MENCARELLI, F., ANELLI, G., DE SANTIS, D., MASSANTINI, R., CONTINI, M., BOTONDI, R., FRANGIPANE, T., BELLINCONTRO, A., FARDELLI, A., FORNITI, R. CAPUTO, M., 2007. *Studio degli aspetti conservativi e di prima trasformazione in loco della nocciola dell'area Cimino-Sabatina*. Ministero delle politiche agricole e forestali. Stampa in proprio, p. 182-199.

RIVA, M. 2003. *Il colore degli alimenti e la sua misurazione*. diSTAM, Università degli Studi di Milano.

<http://www.distam.unimi.it/~mriva/mrivadl.htm> (May 2010)

ROMERO, A., TOUS, J., MARTÍ, E., 2009. *White spots in hazelnut kernel: symptoms, causes and quality loss*. VIIth International congress on hazelnut. Acta Hort. 845:607-612.

SERRA BONVEHÌ, J., SERRANO ROSÙA, N., 1996. *Enzymatic activities in the varieties of the hazelnut (Corylus Avellana L.) grown in Tarragona, Spain*. Food Chem. 56:39-44.

VALLI, R., SCHIAVI, S., 1994. *Cure all'arboreto* p. 94-100. In: *Coltivazioni Arboree*. Edagricole, Italy.

EFFECTS OF CONTROLLED ATMOSPHERE AND LOW TEMPERATURE ON STORABILITY OF CHESTNUTS MANUALLY AND MECHANICALLY HARVESTED

Massimo Cecchini ¹, Marina Contini ², Riccardo Massantini ^{1*},

Danilo Monarca ¹, Roberto Moscetti ^{2*}

¹ Department of Geology and Mechanical Naturalistic and Hydraulic Engineering for the Territory

² Department Forest Environment and Resources

Tuscia University, Italy

* Corresponding author

INDEX

> INTRODUCTION	63
> MATERIALS AND METHODS	64
> RESULTS AND DISCUSSION	67
> CONCLUSIONS	71
> FIGURES	72
> REFERENCES	76

KEYWORDS: chestnut, impact damage, organoleptic quality, storage.

ABSTRACT

Unripe The aim of this study was to determine the effect of controlled atmosphere on quality of manually and mechanically harvested chestnuts (*Castanea sativa*, Miller cv. Marrone Fiorentino), treated with “water curing” and stored for two months. Parameters such as color, weight, firmness, acetaldehyde and ethanol concentration, soluble solids content and sensory quality were analyzed. Mechanical harvesting increased the incidence of cracks and bruises inflicted on the chestnuts, as well as removal of the tuft. As regards storability, controlled atmosphere helped maintain chestnut quality, preserving typical organoleptic characteristics and reducing the incidence of rot where damage caused by cracks and removal of the tuft were most frequent from use of a mechanical harvester.

INTRODUCTION

The chestnut fruit (*Castanea sativa*, Miller) is a typical seasonal product grown mainly in Europe and Asia.

In recent decades, technical changes in chestnut cultivation have gone hand in hand with the introduction of towed or self-propelled harvesters, which have almost totally replaced traditional manual harvesting (Monarca et al., 2009a). The use of mechanization has reduced incidence of infestations by typical phytophagous insects. Since the fruit are not sorted in situ, this removes potential inocula found in the soil, indirectly controlling the life cycle of the parasites (Monarca et al., 2002). On the other hand, mechanized harvesting increases the number of damaged fruit due to pericarp cracks and tuft removal (fringed prolongation of the tip of the fruit) (Monarca et al., 2005). This creates injuries and entry for water and fungal parasites (Mencarelli, 2004) during pre-storage treatments, such as cold (approximately 15 °C for 3-9 d) or warm baths (approximately 50 °C for 45 min) (Wells and Pain, 1980; Breisch, 1993). Moulds produce mycotoxins and it is difficult to control product contamination, notwithstanding refrigerated storage at 4 °C. In the majority of cases, mycotoxin levels can exceed the maximum threshold permitted by law after only three months from harvesting (Donis-Gonzalez et al., 2009). A cold bath, commonly called “water curing”, is a pre-storage treatment traditionally used in Italy, which reduces fungal development during storage and kills phytophagous insects at the same time. Treatment effectiveness partially depends on lactic and alcoholic fermentations, triggered by asphyxial conditions due to the immersion in water, which considerably increases ethanol and acetaldehyde concentrations in the endosperm during the first 5 d of treatment (Botondi et al., 2009). During the “water curing”, phenols spread from the epispem to the pulp due to their increase in solubility (Bounous, 2002), and the pH is reduced by approx. 1 unit, inhibiting development of fungi and other pathogens (Mencarelli et al., 1982; Jermini et al., 2006; Migliorini et al., 2010).

A warm bath treatment is only used when the product must be marketed immediately, since it can guarantee the sudden and complete death of the larvae in the fruit.

Chestnuts can undergo refrigerated storage since they are not susceptible to damage caused by low temperature. The best preservation conditions are -1 to

-2 °C (Rouves and Prunet, 2002; Jermini et al., 2006) and a relative humidity (RH) of 90% (Mencarelli, 2004). Controlled atmosphere (CA) storage complements low temperature (Mencarelli, 2004). In CA the product is usually stored in carbon dioxide enriched (10-40%) and oxygen impoverished (3-5%) environments for the entire postharvest period. Moving the concentrations of the two gases to extreme levels may jeopardize chestnut organoleptic quality due to the appearance of off-flavors, as observed by Wang et al. (2008) on Chinese chestnut (*Castanea mollissima* Blume cv. Dahongpao) at oxygen levels below 2% and carbon dioxide levels above 50%. CA storage is second in effectiveness only to a low storage temperature (Kader, 2002; Mignani and Vercesi, 2003) and is one of the most widely used solutions for extending the commercial life of fruit and vegetable products since it slows down the activity of enzymes responsible for darkening phenomena, checks infestations (Roy et al., 2008), limits decay and delays fruit sprouting (Mencarelli, 2004; Wang et al., 2008).

This study was aimed at evaluating the effect of controlled atmospheres on postharvest storage and fruit quality loss in manually and mechanically harvested chestnuts treated with “water curing”.

MATERIALS AND METHODS

Chestnuts (*Castanea sativa* Miller cv. Marrone Fiorentino) were collected from a registered organic farm in the Viterbo area (central Italy). The fruits were classified based on the harvest method used: traditional (manual, T) or mechanized (M). Mechanized harvest was carried out using a self-propelled vacuum harvester (mod. Cimina 300S, FACMA s.r.l., Vitorchiano, Viterbo, Italy) immediately following physiological fruit drop. Manual harvest was carried out 1 week later (the average time the chestnuts remained on the ground during the harvest). A preliminary selection of chestnuts was made by immersing them in water and eliminating floating fruit, since they were rotten or immature (Mencarelli, 2004). Damage and traumas suffered by the fruit were classified as:

- cracks – breaks in the pericarp caused by impact, classified as “superficial” if caused by the fruit bumping against flat surfaces and “deep” when impacting against bruising objects, to the point of damaging the epispem and at times the fruit pulp;

- bruises - pericarp lesions, without tissue tearing;
- abrasions - superficial excoriations of the pericarp. “Slight”, if due to abrasive action between fruits and husks or between the fruit themselves; “deep”, if the result of friction between chestnuts and working parts of the harvesting machine;
- absence of the tuft - removal of the fringed prolongation of the tip of the fruit.

The next phase involved “water curing” the fruit, using a 1:1 water/chestnut ratio defined as optimal by Botondi et al. (2009), at 15°C for 5 d, followed by air drying for 4 h. At the end of this treatment, 4 samples of approx. 550 g each were prepared, differentiation based on the harvesting method utilized (T or M) and on the intended type of storage: air (A) or controlled atmosphere (CA) at 15.20 kPa CO₂ and 3.04 kPa O₂. The gas composition of the CA was chosen following satisfactory results obtained from an initial screening. Five replications were carried out for each treatment and the chestnuts were stored at the optimal storage conditions: temperature -1°C (Rouves and Prunet, 2002; Jermini et al., 2006) and RH 90% (±0.50) (Mencarelli, 2004).

Analyses were performed on each sample at the beginning of testing (time 0, after 5 d of “water curing”) and then repeated every 15 d for 2 months of storage, with measurements of variations in color, weight, firmness, acetaldehyde and ethanol concentrations, soluble solids content (SSC) and sensory quality.

Colorimetric testing was performed with acquisition and digitalization techniques on a personal computer using the Adobe Photoshop CS5 application (Adobe Systems Inc., San Jose, CA, USA), according to Mendoza et al. (2006). The results were expressed according to the CIELab color space through the L* (luminosity), h (hue angle, $h = \tan^{-1} b^*/a^*$) and C* (saturation index or chroma, $C^* = [a^{*2} + b^{*2}]^{1/2}$) coordinates. We also obtained the color difference CIE 1976 ($\Delta E^* = [\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2}]^{1/2}$) between the chestnuts of each sample. The largest value of ΔE^* corresponds to the greatest difference between two colors: imperceptible ($\Delta E^* < 1$), minimal ($1 \leq \Delta E^* < 2$), just perceptible ($2 \leq \Delta E^* < 3$), perceptible ($3 \leq \Delta E^* < 5$), strong difference ($5 \leq \Delta E^* < 12$), different color ($\Delta E^* \geq 12$).

Firmness was determined on raw fruit with the pericarp removed. An Instron Universal Testing Machine (model 4301, Instron Corporation, Norwood, MA, USA) was used: piston diameter 6 mm, crosspiece speed 10 mm s⁻¹ and compression force 3 N.

Ethanol and acetaldehyde production, expressed in µmol g⁻¹ of product, was determined using a gas chromatograph with flame ionization detector (FID) (model Fractovap 4200, Carlo Erba Instruments, Milan, Italy), equipped with an 8 mm 80/106 Chromosorb column at 120 °C; 10 g of fruit pulp were added to 15 mL distilled water and homogenized on ice at 7000 rpm using an Ultra-Turrax model T25 (IKA Labortechnik, Staufen, Germany). The homogenate was filtered through double layered cotton and centrifuged at 5000 rpm for 10 min at 4 °C. Five milliliters of the supernatant were placed in 15 mL test tubes, hermetically closed with a latex stopper and put in a water bath at 55 °C for 30 min. Ten milliliters of the headspace gas solution were collected with a syringe and injected into the gas chromatograph.

SSC was measured using a refractometer (model Palette PR-32, ATAGO Co., Tokyo, Japan); 5 g of fruit pulp were added to 10 ml of distilled water and homogenized using an Ultra-Turrax for 1 min at 5000 rpm. The homogenate was filtered through double layered cotton and centrifuged. A few drops of the supernatant were used for the refractometer reading and the results were multiplied by two, as a dilution factor.

The sensory tests were performed by a group of 15 trained judges who evaluated the raw fruit, using an hedonic scale that took into account peelability, aroma, sweetness, firmness and appearance. By peelability we mean the ease with which the pericarp and the epispem were removed from the chestnuts using a kitchen knife, being careful not to damage the pulp. Quality was scored using a grade between 1 and 10 (1 = poor; 10 = excellent).

Weight loss was reported as a percentage variation with respect to the fruit weight at the beginning of testing.

Analysis of variance (ANOVA) was performed for each parameter and the least significant difference (LSD) was calculated for an appropriate interaction level ($P \leq 0.05$).

Trials were repeated for 3 years with fruit from the same farm. The data reported refer to the first year of study, because seasonal differences were found

to be not significant. Data relative to damage suffered by the fruit during harvesting are related to 3 years of trial in a much as they were the only parameters which revealed significative differences.

RESULTS AND DISCUSSION

Analysis of mechanical damage

During 3 years of testing, the number of damaged fruit and the traumas inflicted on the chestnuts during harvesting was lower with manual harvesting (Fig. 1). With mechanized harvesting, damage was mainly caused by the bumping of the chestnuts against the sharp parts of the working parts (suction collector, defoliator, fan and discharge), between the chestnuts themselves and against the wall of the trailer at the discharge outlet. The average speed to which the fruit were subjected inside the Cimina 300S was calculated to be 23.34 m s^{-1} (± 11.01), corresponding to a kinetic energy of 5.99 J (± 4.62). The variability of the reported data was due to the different speeds reached by the chestnuts inside the working parts, affected in turn by the seesawing working regime of the vacuum harvester engine, dependent on inclination and on practicability of the harvest terrain. Under more favorable working conditions, the kinetic energy generated was such that the operator would be subjected to very high daily noise exposure levels ($\text{LEX}, 8\text{h} [\text{dB(A)}] = 89.1\text{-}95$) (Monarca et al., 2009b), and at the same time, this could be the cause of the increase in incidence of damage to the fruit compared to the traditional harvesting method.

With manual harvesting, we can hypothesize that damage was probably caused solely by the physiological drop of the chestnuts. The mean potential energy of the fruit on the plant is 2.22 J (± 0.65), allowing them to reach a hypothetical mean speed of contact with the ground of 15.55 m s^{-1} (± 2.23).

The vacuum harvester is lined with rubber in order to reduce the incidence of damage to the fruit, but these precautions do not appear to be sufficient. The cause is most likely the high kinetic energy to which the chestnuts are subjected to when the harvester engine runs at 1500-2000 rpm, an average well above the potential energy of the fruit on the tree and already in itself a cause of damage to the pericarp.

The results suggest that abrasions are an insignificant source of damage since they do not deeply injure the pericarp. However, their incidence is very

high where mechanization was used. With the vacuum harvester, friction between the chestnuts is heightened by the kinetic energy to which they are subjected, in addition to the friction with the surfaces of the equipment. For this reason, mechanization considerably increases the incidence of abrasions.

The use of mechanized harvesting damaged a higher number of fruit, removing their tufts, and thus subjecting them to potential water infiltration and pathogens during “water curing”. During the trial, the tufts were removed to an extent of $54.39\% \pm 1.72$ for mechanically harvested fruit, as against $25.65\% \pm 2.23$ with the traditional method.

Colorimetric analysis

There was a gradual physiological yellowing of the chestnuts in all samples. Figure 2 shows the color trend in relation to the harvesting systems and storage methods used. The change in color is quite obvious from the increase observed in h and C^* values, while L^* remained constant in all cases (data not shown). The same degree of fruit yellowing appeared to correspond to different types of harvesting, leading us to exclude a possible effect of mechanized (M) or traditional (T) harvesting on the changes in color for both storage methods used. On the other hand, exposure to air (A) or a modified atmosphere (CA) affected the degree of fruit yellowing, which was higher where exposure to O_2 was greater.

The CIELab color difference (ΔE^*) showed a decrease in color homogeneity only in some cases (Figure 3) over the storage time. The results highlight how some samples with ΔE^* values near the “perceptible” color difference threshold corresponded to air storage during the second month of storage, with a tendency towards “strong” at the end of the 60 days, when chestnuts were mechanically harvested. The results were similar for all three years of testing. We thus hypothesize that exposure to air causes a loss of homogeneity in the color of chestnuts. This phenomenon was heightened in mechanically harvested fruit where it is likely that stress following inflicted cracks and bruises affects color development of some fruit during storage. Nevertheless, CA appears to solve the problem, maintaining the fruits in the minimal color difference range ($1 \leq \Delta E^* < 2$) regardless of the harvesting method used.

Weight loss

At the end of the two months of testing, significant differences in weight were found between air-stored and CA stored chestnuts (Fig. 4). Air-stored fruits lost an average of $3.05\% \pm 0.56$ more weight respects to those stored in CA.

Damage to the pericarp from cracking did not significantly affect the results, suggesting that harvesting method had little effect on variations in weight.

Firmness

Chestnuts tend to lose elasticity (data not shown) becoming firmer (Fig. 5) under all storage conditions used. However, storage methods affected chestnut hardness. Where CA was used, the strain at failure of the fruit decreased less than in air storage, with significant differences between the beginning and the end of testing. The use of CA successfully maintains chestnut firmness for the 60 d of storage, probably from reduced metabolic activity due to poor oxygen availability, which also clearly has an effect on weight loss in the fruit due to lower evapotranspiration. The harvesting methods did not affect the fruit firmness trend. In fact, damage incidence caused by mechanization was barely higher than that from manual harvesting, although the difference in firmness detected between M and T samples was not significant.

Ethanol and acetaldehyde production

There were high concentrations of the two metabolites at the beginning of testing (time 0), followed by a considerable decrease over the subsequent 15 d of storage (Figs 6 and 7). This is likely due to the low oxygen conditions to which the fruits were subjected during the "water curing" phase. The detected concentrations confirm observations of Botondi et al. (2009): lactic and alcoholic fermentations, triggered by low oxygen conditions during water immersion, considerably increased concentrations of ethanol and acetaldehyde in the endosperm during the first 5 d of treatment. Ethanol and acetaldehyde production followed a constant trend for each sample during the two months of storage. However, concentration of the two compounds differed significantly between treatments. Ethanol and acetaldehyde production was higher in the samples stored in CA (M-CA and T-CA) and in air in chestnuts harvested

mechanically (M-A), although differences were not significant. The lower availability of oxygen, and mechanical stresses, are probably responsible for the higher concentrations observed. The air-stored sample, composed of manually harvested fruit (T-A), had the lowest ethanol and acetaldehyde contents, but the differences with the air-stored and mechanically harvested chestnuts (M-A) were not significant.

Soluble solids content

There were no significant differences between the samples in each year (data not shown). There were slight increases during the 2 months of shelf-life, increasing from the initial mean value of $11.59\% \pm 0.47$ to the final value of $13.78\% \pm 0.58$. Thus the harvest method and storage conditions did not affect the soluble solids contents.

Sensory analysis

During the 60 d of storage, score losses were observed in all the examined organoleptic parameters except for sweetness (Table 1), which increased slightly following the catabolism of starch into simple sugars, corroborating what was observed with the soluble solids analysis.

The peelability and sweetness detected in the samples were not affected by the type of harvest and by the storage method used.

During the first 30 d of storage, the aroma was not typical in samples stored in CA. At the end of testing, the best aroma score was found with air-stored chestnuts.

The firmness of the fruit pulp was affected by the storage technique used, and it received lower scores in the treatments exposed to air.

Better visual evaluation during the first 30 d of storage was found in chestnuts stored in CA, marked by less yellowing and wrinkling of the pulp, as well as considerably reduced mould development compared to air-stored samples. Significant differences were detected at the end of the testing between the assessment of appearance in the manually harvested and air-stored (T-A) treatment and the samples stored in CA. The air-stored fruit had the lowest score due to greater mould development (about 20%, data not shown). From this we deduce that the longer harvesting times with the manual practice facilitated

infestation while chestnuts were lying on the ground, promoting the development of moulds during storage, as observed before by Jermini et al. (2006).

CONCLUSIONS

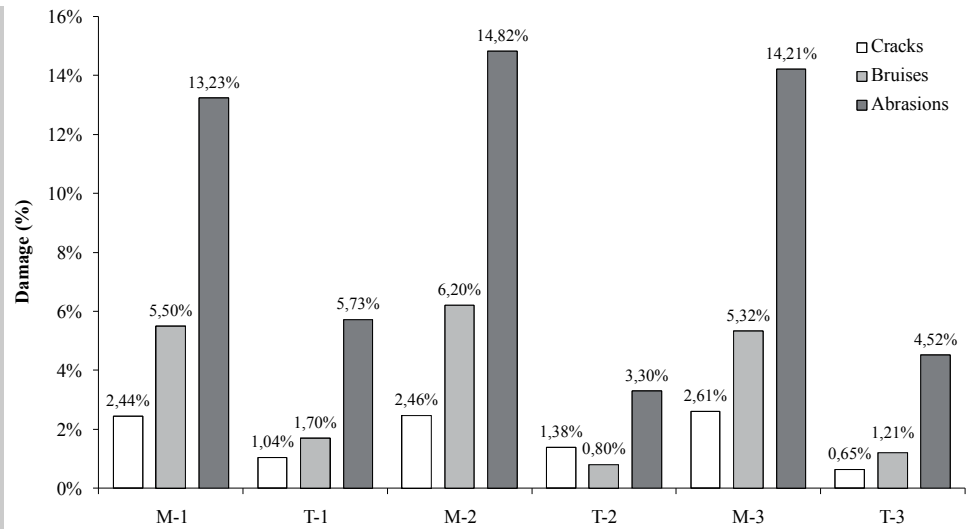
Between the two storage techniques used in this study, CA helped maintain the organoleptic quality of chestnuts better. The product stored under CA had slightly higher overall quality than the air-stored fruit, since CA appears to counter negative effects that mechanized harvesting has on fruit quality. The worst storage conditions were in air with manually harvested fruit. The prolonged time they remained on the ground (1 week) affected storability and the air storage method was not able to preserve quality.

The use of mechanical harvesting increased the incidence of cracks and bruises on chestnuts, as well as removal of the tuft. Nevertheless, the overall effect of mechanical harvesting on fruit quality was negligible, since the parameters studied in this testing were not significantly affected by it. The exception was a slightly higher production of acetaldehyde and ethanol, we assume following the stress suffered by the fruit under mechanized harvesting. This hypothesis should be verified further.

Storage temperature was unable to control the development of moulds in potentially infected fruits, according to Donis-Gonzalez et al. (2009). Under CA the incidence of moldy fruit was considerably reduced. Coloring was more homogeneous and the fruit tended to yellow more slowly. The chestnuts showed fewer losses in strength and weight. The production of acetaldehyde and ethanol was slightly higher than normal, a finding that agrees with the observations of Wang et al. (2008).

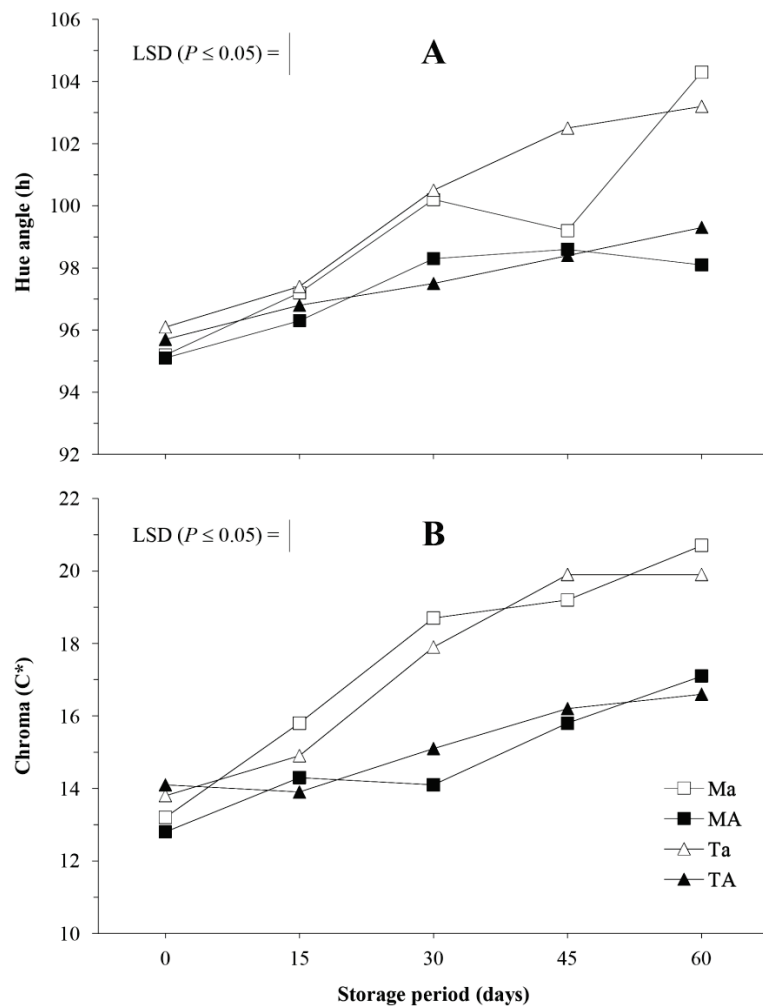
The soluble solids concentrations increased slightly in all samples, but were not affected by the type of harvest and storage methods used.

Figure 1



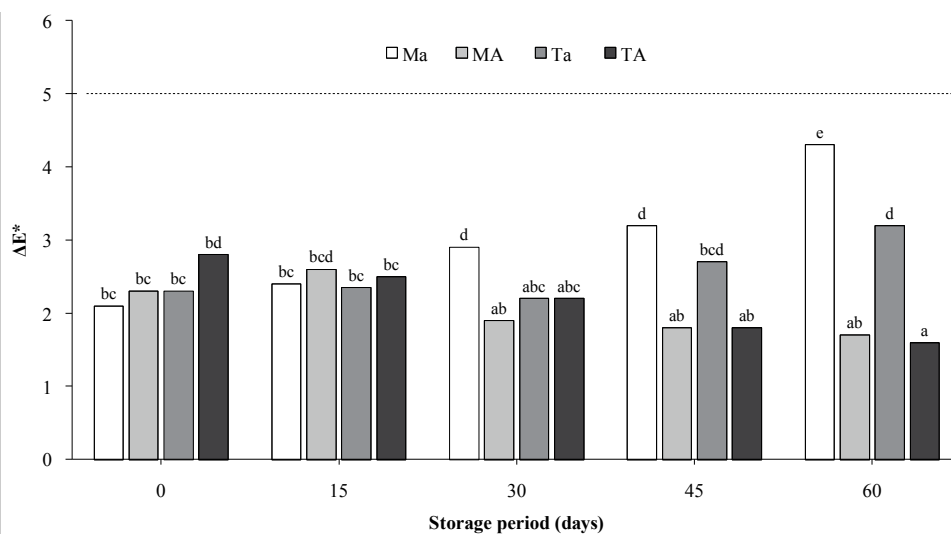
Types of damage detected in the three years of testing (1, 2 and 3).
M = mechanized harvest. T = manual harvest.

Figure 2



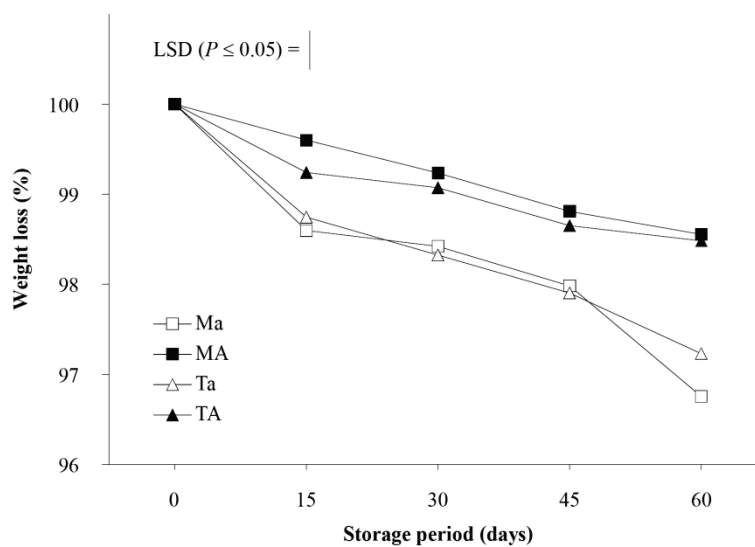
Trend of the Hue angle (A) and of the Chroma (B) from beginning to end of testing (Year 1). M = mechanized harvest; T = manual harvest; A = air storage; CA = controlled atmosphere storage.

Figure 3



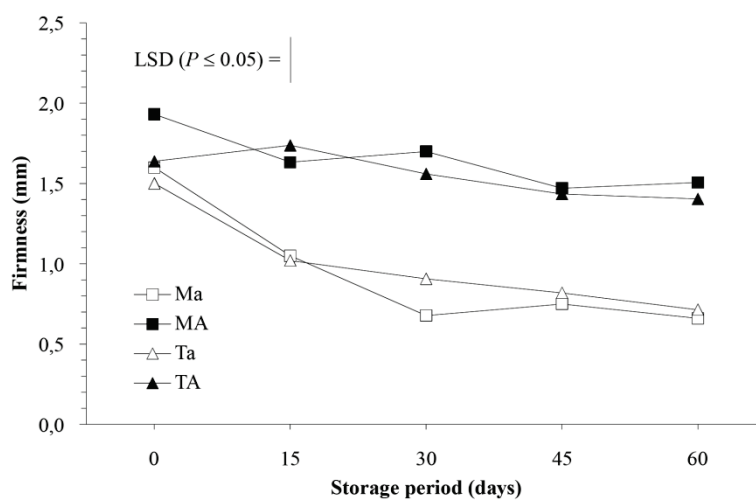
CIE 1976 color difference (ΔE^*) during year 1. The histogram bars represent the ΔE^* of the samples during storage. Value 5 of the ordinate indicates the limit beyond which the human eye perceives strong color differences. M = mechanized harvest; T = manual harvest; A = air storage; CA = controlled atmosphere storage.

Figure 4



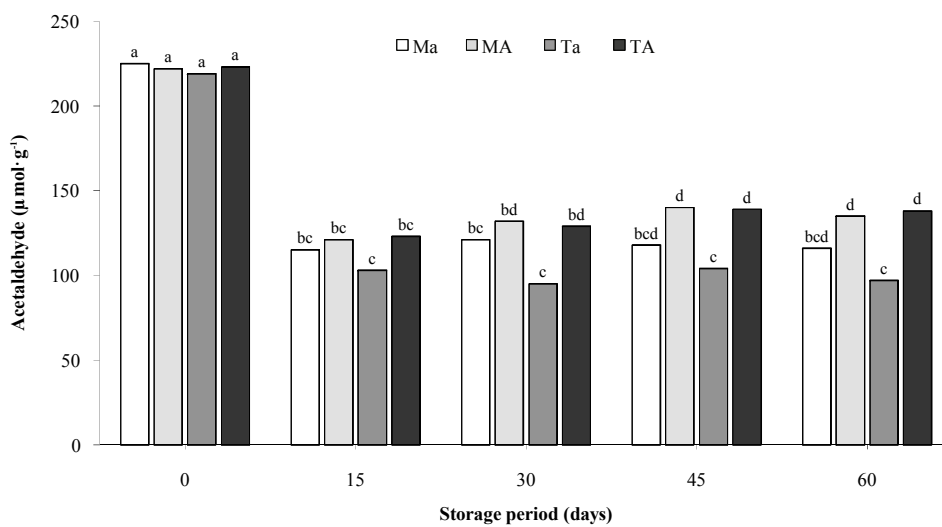
Weight loss trend from beginning to end of testing (Year 1). M = mechanized harvest; T = manual harvest; A = air storage; CA = controlled atmosphere storage.

Figure 5

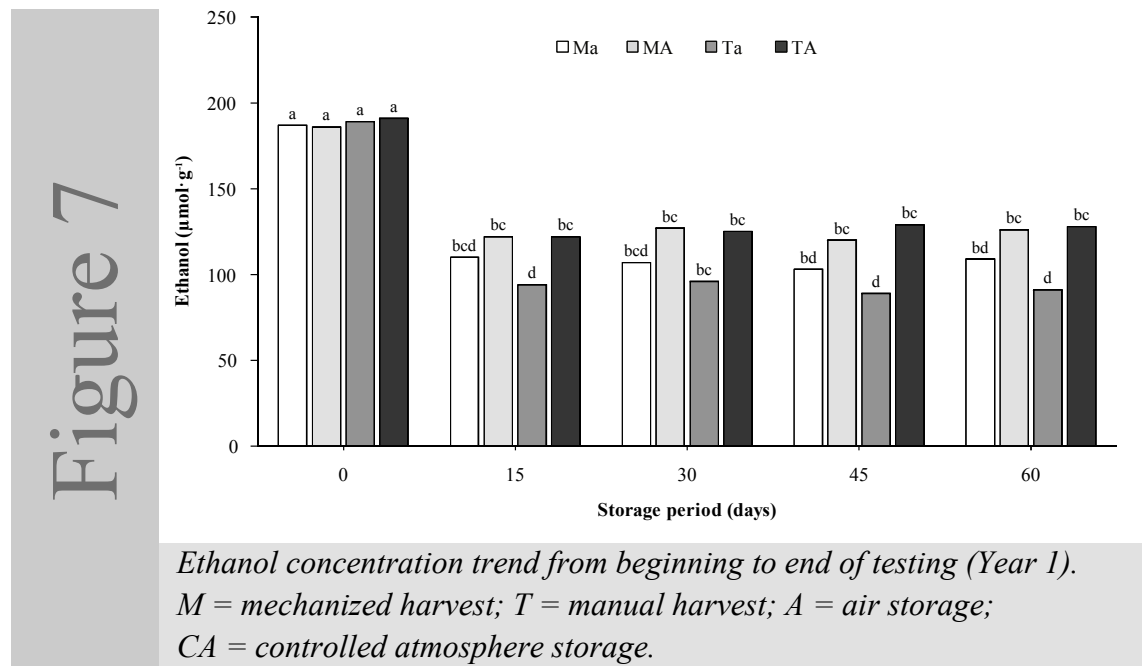


Trend of the increase in firmness of the chestnuts during Year 1, from beginning to end of testing. M = mechanized harvest; T = manual harvest; A = air storage; CA = controlled atmosphere storage.

Figure 6



Acetaldehyde concentration trend from beginning to end of testing (Year 1). M = mechanized harvest; T = manual harvest; A = air storage; CA = controlled atmosphere storage.



REFERENCES

- BOTONDI, R., VAILATI, M., BELLINCOTRO, A., MASSANTINI R., FORNITI, R., MENCARELLI, F., 2009. *Technological parameters of water curing affect postharvest physiology and storage of marrons (Casatena sativa Mill., Marrone fiorentino)*. Postharvest Biol. Technol. 51, 1-9.
- BOUNOUS, G., 2002. *Il castagno. Coltura, ambiente e utilizzazioni in Italia e nel mondo*. Edagricole, Bologna.
- BREISCH, H., 1993. *Harvest, storage and processing of chestnuts in France and Italy*, in International Congress on Chestnuts, Spoleto, Italy, 20–23 October 1993, ed. by Antognozzi E., University of Perugia, pp 429–436.
- DONIS-GONZALEZ, I.R., MEDINA-MORA, C., STADT, S., MANDUJANO, M., FULBRIGHT, D.W., 2009. *The presence of mycotoxins after ninety days of storage in fresh chestnuts*. Acta Hortic. 844, 69-74.
- JERMINI, M., CONEDERA, M., SIEBER, T. N., SASSELLA, A., SCHÄRER, H., JELMINI, G., HÖHN, E., 2006. *Influence of fruit treatments on perishability during cold storage of sweet chestnuts*. J. Sci. Food Agric. 86, 877–885.
- KADER, A.A., 2002. *Produce facts chestnuts, recommendations for maintaining postharvest quality*.
<http://postharvest.ucdavis.edu/Produce/ProduceFacts/Fruit/chestnuts.pdf>
- MENCARELLI, F., 2004. *Postharvest handling and storage of chestnuts- Compendium*, FAO, InPHO. <http://www.fao.org/inpho/>.
- MENCARELLI, F., ANELLI, G., NARDIN, C., STINGO, C., 1982. *La conservazione delle castagne mediante l'impiego di atmosfere controllate*. Industrie Alimentari 21, 217–220.

MENDOZA, F., DEJMEK, P., AGUILERA, J.M., 2006. *Calibrated color measurements of agricultural foods using image analysis*. Postharvest Biol. Technol. 41, 285–295.

MIGLIORINI, M., FUNGHINI, L., MARINELLI, C., TURCHETTI, T., CANUTI, S., ZANONI, B., 2010. *Study of water curing for the preservation of marrons (Castanea sativa Mill., Marrone fiorentino cv)*. Postharvest Biol. Technol. 56, 95–100.

MIGNANI, I., VERCESI, A., 2003. *Effects of postharvest treatments and storage conditions of chestnuts quality*. Acta Hortic. 600, 781-785.

MONARCA, D., CECCHINI, M., ANTONELLI, D., 2002. *The influence of mechanical harvesting on the quality of chestnuts: experiences in the Monti Cimini area*. Acta Hortic., 599, 611-616.

MONARCA, D., CECCHINI, M., GUERRIERI, M., SANTI, M., BEDINI, R., COLANTONI, A., 2009b. *Safety and health of workers: exposure to dust, noise and vibrations*. Acta Hortic. 845, 437-442.

MONARCA, D., CECCHINI, M., GUERRIERI, M., SANTI, M., COLOPARDI, F., 2009a. *The evolution of the hazelnut harvesting technique*. Acta Hortic., 845, 353-358.

MONARCA, D., CECCHINI, M., MASSANTINI, R., ANTONELLI, D., SALCINI, M.C., MORDACCHINI ALFANI, M.L., 2005. *Mechanical harvesting and quality of ‘marroni’ chestnut*. Acta Hortic., 682, 1193-1198.

ROUVES, M., PRUNET, J.P., 2002. *New technique for chestnut storage: effects of controlled atmosphere*. Int. Inf. Syst. Agric. Sci. Technol. 186, 33-35.

ROY, P., UMEHARA, H., NAKAMURA, N., NEI, D., ORIKASA, T., KITAZAWA, H., OKADOME, H., ISHIKAWA, Y., IWAKI, K., KOBAYASHI, M., SHIINA, T., 2008. Determination of physicochemical properties of chestnuts. *J. Food Eng.* 87, 601–604.

WANG, G., LIANG, L., YANG, X., 2008. *Effects of low O₂ or high CO₂ concentrations on the quality changes of Chinese chestnut (Castanea mollissima Blume) during cold storage.* *Acta Hortic.* 768, 349-358.

WELLS, J.M., PAYNE, J.A., 1980. *Mycoflora and market quality of chestnuts treated with hot water to control the chestnut weevil.* *Plant Dis.* 64, 999–1001.

MAINTAINING THE QUALITY OF UNRIPE, FRESH HAZELNUTS THROUGH STORAGE UNDER MODIFIED ATMOSPHERES

Roberto Moschetti ¹, Maria Teresa Frangipane ², Danilo Monarca ¹,
Massimo Cecchini ¹, Riccardo Massantini ^{2*}

¹ Department of science and technology for Agriculture, Forest, Nature and Energy, Tuscia University, Italy

² Department for Innovation in Biological, Agro-food and Forest system, Tuscia University, Italy

* Corresponding author

INDEX

> INTRODUCTION	80
> MATERIALS AND METHODS.....	81
> RESULTS AND DISCUSSION.....	84
> CONCLUSIONS.....	89
> FIGURES.....	91
> REFERENCES.....	95

KEYWORDS: nitrogen, carbon dioxide, fresh product, *Corylus avellana* L.

ABSTRACT

Unripe hazelnuts for fresh consumption due to their delicate taste, the tenderness of the kernel and the fact that they are easy to shell manually without having to use kitchenware or other tools. This report focuses on the possibility of storing unripe, fresh hazelnuts (*Corylus avellana* L., cv. Tonda Gentile Romana) under modified atmospheres, aim of maintaining quality for a 12 d period of storage. Unripe hazelnuts were harvested manually, and the unshelled fruit was stored for 12 d under 100±1 kPa CO₂, 100±1 kPa N₂ or air and at 4 °C or 10 °C. Parameters regarding the color, respiration rate, firmness, moisture, peroxidase and polyphenoloxidase activities and sensory quality were analyzed. A modified atmosphere of 100±1 kPa N₂ maintained the quality of the fresh fruit throughout the 12 d storage period.

INTRODUCTION

Hazelnuts are marketed as shelled and unshelled fruit (Demir et al., 2003), they are one of the most important raw materials for the confectionary and chocolate industries, and they are also used to add flavor, texture and fiber to various foods (Ozdemir and Akinci, 2004; Kibar and Öztürk, 2009). Moreover, hazelnuts are a source of bioactive compounds that might be incorporated into new health-related products or serve as substitutes for synthetic ingredients (Contini et al., 2008; Delgado et al., 2010). Different uses of hazelnuts are being explored including the use of unripe fruit, defined as the stage in which hazelnuts are still on the tree when they have reached their full size, are not very firm and the seed has begun detaching from the pericarp.

The main problem with a fresh product is storage; thus, in order to increase the presence of fresh hazelnuts on the mass market, it is essential to maintain the organoleptic qualities of the produce over a period of time and maintain a high water content, which gives it a fresh appearance. In fact, the moisture of the hazelnut is strongly correlated to the physical properties of the fruit, even influencing the design of the machinery used for dehulling and shelling (Ercisli et al., 2011) and storage facilities (Kibar and Öztürk, 2009).

No research is available regarding the storage of unripe hazelnuts, and few research articles have been published on maintaining the quality of raw hazelnuts in general. Ebrahim et al. (1994) have shown that α -tocopherol was the 95% of vitamin E in hazelnut. They observed that there was a greater accumulation of vitamin E during 5-12 weeks after nut development (from end of June to end of August), and showed that concentration closely paralleled oil synthesis. In raw and roasted peanuts, the vitamin E stability has been strongly correlated with lipid oxidation (Chun et al., 2006). In 2001, after investigating two storage temperatures (7 °C or 25 °C) and 4 different atmospheres with a low level of oxygen (1, 5, 10 or 20 kPa) on shelled and unshelled hazelnuts, San Martin et al. had concluded that rancidity was delayed by storage at atmospheres under 10 kPa of oxygen and a temperature of 7 °C. Hazelnuts can also be stored under a nitrogen atmosphere at ambient temperature, with comparable effects to storage conditions at 3-6 °C and at 50-60% of relative humidity (RH) (Johnson et al., 2009). The rancidity is also stimulated by the humidity of the produce, which increases the enzymatic activity of lipase, causing the deterioration of a

large amount of the oils present in the hazelnut (approximately 60%, consisting of oleic [C_{18:1}] and mostly linoleic [C_{18:2}] acids), thus producing fatty acids that cause an increase in the auto-oxidization of the product (Parcerisa et al., 1997; Köksal et al., 2006). More recently, Mencarelli et al. (2008) have carried out 3 different tests on dried, unshelled hazelnuts to determine the best storage atmosphere and temperature, and the results indicated that a high concentration of nitrogen (98 or 100%) and a low temperature (4 °C) were the best conditions for maintaining the color, firmness, acidity and peroxides of the hazelnuts. Lopez et al. (1995) have determined that there were no chemical or sensorial differences between unshelled walnuts kept at 3 °C and those kept at 10 °C; therefore, a temperature of 10 °C was recommended in order to save electricity. In the case of pistachios, it has been reported that storage under 98% carbon dioxide was successful in controlling rancidity, especially at a temperature of 10 °C (Maskan and Karataş, 1999).

The aim of the experiment described here was to determine the best storage methods for unripe fresh hazelnuts using atmospheres of a high concentration of carbon dioxide or nitrogen at two different temperatures.

MATERIALS AND METHODS

Preliminary analysis

A preliminary organoleptic analysis was carried out to determine the most suitable harvesting time for obtaining high-quality unripe hazelnuts to be used into the experimental procedure for quality maintenance. The analysis was performed on unripe hazelnuts (*Corylus avellana* L., cv. Tonda Gentile Romana) manually harvested on a farm in Viterbo (Central Italy), at three different stages of ripeness. The hazelnuts grown in Central Italy are usually harvested at the end of September, whereas the experimental fruit was harvested at approximately 10, 8 and 6 weeks prior, the middle of July, late July / early August and the middle of August, respectively. The fruit was immediately taken to the laboratory in appropriate thermal boxes, and a low temperature (15±1 °C) was maintained during transportation. The sensory test was performed by a group of 20 trained judges who evaluated the shellability, firmness of the shelled hazelnuts and taste. Shellability means the ease with which the pericarp can be manually removed from the nut without having to use a tool, avoiding damage to the kernel. The

unripe hazelnuts were given marks for quality ranging between 1 and 5 (1 = poor; 5 = excellent). Every test was performed with 5 repetitions for each harvesting time. The preliminary analyses were repeated for 2 years period using fruit harvested from the same farm.

The preliminary organoleptic analysis indicated that the hazelnuts harvested in the 8 weeks before physiological maturity (late July / early August) had the best level of quality (data not shown). The hazelnuts harvested in the middle of July were discarded due to a bitter taste of the kernel and difficulty in shelling due to the elasticity of the pericarp. In the sample where harvesting was delayed until the middle of August, the hardening of the shell had a negative effect on the shellability of the hazelnuts, which resulted in the exclusion of this sample from the ensuing tests.

Experimental procedure for quality maintenance

The following experiment was carried out on fruit grown on the same farm as above. Based on the preliminary analysis, the fruit was harvested in late July / early August, 8 weeks before physiological maturity. The hazelnuts were transported to the laboratory as described above, and were then divided into 6 groups of 1000 g each. Two groups were kept in the air at 4 °C and 10 °C, and the others were kept under the following modified atmospheres (MA): 100±1 kPa CO₂ at 4 °C and 10 °C, and 100±1 kPa N₂ at 4 °C and 10 °C. Each batch was stored for 12 d, in a ventilated and hermetically closed cell (Isolcell, Bozen, Italy) of about 1 m³ at a RH of 80% (±1%), without chemical treatments. The cells atmosphere was maintained with a centralized automation system mod. Multiplex (Isolcell, Bozen, Italy). Three replications of 80 g each were analyzed every 4 d to determine the color, respiration rate, firmness, moisture, peroxidase (POD) activity, polyphenol oxidase (PPO) activity, and sensorial qualities. The color trend and firmness were monitored in the shelled and unshelled fruit. The respiration rate, moisture level, POD activity and PPO activity were only determined in the kernel.

The hazelnuts were shelled manually or with kitchenware whenever necessary, taking care not to damage the kernel. Every test was performed with 5 repetitions for each replication. The results are expressed as the average of the data collected.

Analytical analyses

Color assessment was carried out on the unshelled fruit and the kernel with acquisition and digitalization techniques on a personal computer using the Adobe Photoshop CS5 application (Adobe Systems Inc., San Jose, CA, USA), according to Cecchini et al. (2011). The results are expressed according to the CIELab color space through the L* (luminosity), h (hue angle, $h = \tan^{-1} b^* / a^*$) and C* (saturation index or chrome, $C^* = [a^{*2} + b^{*2}]^{1/2}$) coordinates. We also measured the color difference CIE 1976 ($\Delta E^* = [\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2}]^{1/2}$) between the color data collected every 4 d from the beginning of the test (0 d) of each sample. The value of ΔE^* expresses the difference between two colors numerically: imperceptible ($\Delta E^* < 1$), minimal ($1 \leq \Delta E^* < 2$), just perceptible ($2 \leq \Delta E^* < 3$), perceptible ($3 \leq \Delta E^* < 5$), strong difference ($5 \leq \Delta E^* < 12$), and different color ($\Delta E^* \geq 12$).

Firmness was determined for both shelled and unshelled fruit. An Instron Universal Testing Machine mod. 4301 (Instron Corporation, Norwood, MA, USA) was used, with a piston diameter of 8 mm, a crosspiece speed of 15 mm s⁻¹, and a compression force of 5 N, according to Mencarelli et al. (1994).

The moisture in the kernel was determined by drying the hazelnuts in an oven at 103±1 °C, and the water content was expressed as a percentage of the fresh weight.

The enzymes were extracted with the method used by Serra Bonvehì and Serrano Rosuà (1996), with slight modifications. Twenty grams of hazelnut kernels were homogenized in an ice bath at 7000 rpm using an Ultra-Turrax disperser, model T25 (IKA Labortechnik, Staufen, Germany). The homogenized pulp (5 g) was added to 40 mL of phosphate buffer at pH 6.8 and stirred for 1 h at 2 °C. The homogenate was filtered through a double layer of cotton and centrifuged at 37.000 g for 20 min at 4 °C. The supernatant was then filtered once again, and the enzymatic extract obtained was kept at 2 °C until the analyses of the POD and PPO activity were carried out.

The POD activity was assessed spectrophotometrically. The assay included 1 mL of enzymatic extract, 1 mL 2.2'-azino-bis-(3-ethylbenz-tiazoline-6-sulfonic) acid solution (ABTS) and 1 mL 35% formaldehyde. The measurements were recorded at 430 nm for 5 minutes against a reference cuvette

without the enzyme extract. The enzyme activity was defined as absorbance (ABS) $\text{min}^{-1} \text{mg protein}^{-1}$.

The PPO activity was assayed spectrophotometrically at 540 nm for 5 min using 1 mL enzyme extract added to 1 mL 0.05 M catechol against a reference blank cuvette. The enzyme activity was defined as $\text{ABS min}^{-1} \text{mg protein}^{-1}$.

The respiration rate was expressed as the carbon dioxide produced ($\mu\text{mol CO}_2 \text{g}^{-1} \text{h}^{-1}$) and was monitored on shelled fruit with an infrared analyzer mod. Oxycarb (Isocell, Bozen, Italy). Immediately after the shelling, the hazelnuts were placed inside a 0.5 L hermetically sealed glass jar for 1 h, with a rubber stopper as a lid, in order to insert the analyzer needles according to Bellincontro et al. (2009).

The sensorial tests were performed at the end of test period (12 d) by the same group of trained judges used for the preliminary organoleptic analysis, using a hedonic scale that accounted for the aroma, firmness, shellability, and appearance of the kernels of the shelled and unshelled hazelnuts. The scale for the level of quality ranged between 1 and 5 (1 = poor; 5 = excellent).

Statistical analyses

A two-way within-subjects analysis of variance (ANOVA) with atmosphere composition as subject, temperature of storage as factor A, and time of storage as factor B was performed for each parameter. The honestly significant difference (Tukey's HSD) was calculated for the appropriate level of interaction for $P \leq 0.05$, using R statistics software (ver. 2.13.0, R Development Core Team) with package 'agricolae' ver. 1.0-9 (De Mendiburu, 2010).

RESULTS AND DISCUSSION

Colorimetric analysis on the unshelled hazelnuts

There was no change in color of the hazelnuts stored under nitrogen at 4 °C or 10 °C throughout the entire storage period (Fig. 1). These results have also been found by Mencarelli et al. (2008); however, dried fruit was used in that study. The only change in color was found in the hazelnuts stored under carbon dioxide and in air, where there was an evident browning of the pericarp. In particular, the variations in color were observed in the h and C* coordinates,

whereas the luminosity remained the same for all of the treatments (data not shown). There was a higher level of browning at the storage temperature of 10 °C.

The CIELab color difference was defined that the best sample was the one stored under nitrogen. At the end of the experiment, the lowest differences of color were observed in the samples stored under nitrogen (ranging from 'just perceptible' to 'perceptible'), with no significant differences between 4 °C and 10 °C (Fig. 2). There was a 'strong' ΔE^* in the air-stored sample at 4 °C, and there was a value slightly under 'different color' for the carbon dioxide treatment. Both air and carbon dioxide storage showed great differences in color after only 4 d at 10 °C, which worsened during the remaining storage time.

The results of the colorimetric analysis led to the hypothesis that the changes in color observed were due to the lignification of the pericarp, which was more intense in the air-stored sample. However, despite the need of oxygen for the final step of lignin biosynthesis, the same type of browning was observed in the samples preserved under carbon dioxide, though at a lower degree.

The lignification of the tissue seemed to progress even at low oxygen levels due to the indirect effect of specific enzymes involved in the biosynthesis of lignin (i.e., phenylalanine ammonia lyase [PAL] and POD), the activity of which tends to increase following physiological stress caused by low temperatures (Dangcham et al., 2008). However, it was not possible to attribute the results of the colorimetric analysis of the pericarp under high carbon dioxide levels to the temperature of preservation. In fact, no significant changes in color were observed in the samples kept under nitrogen in relation to the temperature used for preservation. In contrast, low temperatures proved to be the key factor for controlling the variation in the color of the other samples: hazelnuts keep very well at temperatures ranging between 0-7 °C, as they are not susceptible to chilling injuries (Maness, 2004). If we assume that the browning effect was due to an increase in the PAL activity because of the stress caused by the high carbon dioxide levels (Camm and Towers, 1973; Beaudry, 1999), we can therefore, deduce that this indirectly affected the state of lignification of the pericarp and its change in color.

Colorimetric analysis of hazelnut kernels

The results indicated that the storage methods used in the tests had no effect on the color parameters of the fruit kernel. The L*, h and C* remained constant throughout the period of storage for all of the batches (data not shown). Consequently, the ΔE^* values were in the 'imperceptible' difference in color category throughout the entire preservation period for each sample (data not shown).

Respiratory activity

The respiration rate was the same for all of the samples stored under MA at 4 °C and 10 °C, without being influenced by the two storage temperatures (Fig. 3). However, the respiratory activity was found to be successfully limited under the nitrogen and carbon dioxide treatments. Conversely, respiration was not controlled by storage in air at 10 °C, which corresponds to the worst result obtained. In the air-stored samples kept at 4 °C, respiration slowed down substantially due to the decreased temperature, approaching to the levels observed in the samples kept under MA.

Moisture content in hazelnut kernels

The moisture content of the hazelnuts was most influenced by the storage temperature, followed by the type of atmosphere. The air-stored samples lost a larger amount of moisture compared to the MA samples at the same storage temperatures, whereas the statistical elaboration of the data excluded every possible significant difference between the results obtained under nitrogen and carbon dioxide.

At the end of the 12 d test period, the MA samples at 4 °C had lost less moisture, which was equal to 1% both in the nitrogen and in carbon dioxide atmospheres due to reduced transpiration of the tissues caused by the low temperature and the lack of oxygen. The greatest loss of moisture was observed in the hazelnuts stored in air at 10 °C ($3.45\% \pm 0.54$). The result excluded possible differences among the samples, storage in air at 4 °C ($1.71\% \pm 0.33$), under nitrogen at 10 °C ($1.58\% \pm 0.39$), and under carbon dioxide at 10 °C ($1.49\% \pm 0.53$).

Firmness of the unshelled fruit

A trend of pericarp deformation remained almost constant for the hazelnuts stored under nitrogen, whereas the trend tended to decrease considerably for the hazelnuts stored under carbon dioxide and those stored in air (Fig. 4A). The different trends of firmness of the MA samples confirmed the hypothesis of partial lignification of the pericarp in the samples preserved under carbon dioxide due to the physiological stress caused by the high level of the gas. In contrast to the hazelnuts kept under nitrogen, the pericarp of the hazelnuts kept under carbon dioxide did not maintain its initial firmness, and the results obtained were similar to the samples stored in air.

The preservation temperatures used for the experiment did not have a significant effect on the maintenance of the firmness of the unshelled fruit.

Firmness of the hazelnut kernels

The use of MA proved to be effective in controlling the increase in firmness of the kernel over time, while the worst maintaining of texture was observed in the fruit stored in air (Fig. 4B). Under similar preservation temperatures, no significant differences were found among the samples stored under MA. The only temperature that maintained the firmness of the kernel unaltered under both nitrogen and carbon dioxide throughout the 12 d test period was 4 °C. Conversely, the firmness of the kernel tended to increase at 10 °C in all of the samples. At temperatures higher than 4 °C, there was probably a greater loss of flexibility due to a greater loss of moisture from the kernel (data not shown).

Enzymatic activity

The POD activity (Fig. 5) and PPO activity (Fig. 6) over the 12 d storage period were constant and similar for all of the batches under MA; only the air-stored samples showed a gradual decrease in the enzyme activity over time. The storage temperature was observed to influence the trend of the PPO and POD activity only in the presence of oxygen. In the air-stored samples, a minor decrease in the enzymatic activity at 4 °C was observed, whereas the samples under MA did not show significant differences between the two storage temperatures. The environments lacking oxygen appeared to be able to preserve

the activity of the two enzymes completely and effectively. However, variables such as the physiological fruit stage, variety, farm method, and geographical origin could have influenced the POD and PPO activities (Serra Bonvehì and Serrano Rosuà, 1996; Seyhan et al., 2007; Massantini et al., 2009).

Sensorial analysis

From the data of the sensorial analysis provided in Table 1, it was evident that the best organoleptic characteristics were at a storage temperature of 4 °C. The panel gave a lower mark to all of the samples kept at 10 °C due to an evident loss of shellability and an increase in the firmness of the kernel.

Under similar storage temperatures, lower marks were given for shellability to the hazelnuts stored in air and under carbon dioxide. The samples preserved in MA were given a high mark and were considered the best quality regarding the firmness of the kernel, and significant differences between the samples stored under nitrogen and carbon dioxide were excluded at the same storage temperature.

The higher level of browning of the pericarp observed during the colorimetric analysis in the samples stored under carbon dioxide and air did not significantly influence the evaluation of the panel concerning the appearance of the unshelled hazelnuts. In fact, only a few of the judges thought that the evident change in color of the pericarp on the 12th day, was associated with a more advanced level of senescence and gave a lower mark in comparison to the samples stored in nitrogen. The result of appearance evaluation is justified by the fact that the color of carbon dioxide stored samples is very different from the ripe ones. Consequently, the batch stored under carbon dioxide was not simple to judge, and it was evaluated like a fresh fruit by most of the judges.

The appearance of the kernel was not influenced by any of the preservation methods used (data not shown).

A slight loss of aroma was observed in all of the samples stored under MA, excluding the significant differences between nitrogen and carbon dioxide at the same or different storage temperatures. The air-stored hazelnuts obtained a better score with regard to aroma, and the temperature of storage did not appear to influence the assessment of the panel. The produce stored under nitrogen at 4 °C appeared to maintain the best organoleptic characteristics, with only a slight

loss of aroma. The air-stored hazelnuts received the worst marks due to the greater firmness of the kernel and the difficulty in shelling. However, there were fewer differences at 4 °C.

CONCLUSIONS

With the aim of preserving the quality of unripe hazelnuts for fresh consumption, the MA used in the experiment proved to be effective over the 12 d preservation period. The only negative aspect for the samples under MA was the slight loss of aroma of the fruit. However, when comparing the different MA carried out in this experiment, it was evident that the most suitable atmosphere for keeping the chemical, physical and organoleptic characteristics of hazelnuts over time was by storing them in nitrogen at 4 °C. At the end of the experiment, the hazelnuts under nitrogen did not show any change in the color of the pericarp, nor did the intensity of respiration or the enzymatic activity of POD and PPO show any variations. The firmness of the pericarp was typical of the fresh produce, and consequently, the fruit maintained their shellability, allowing for the manual shelling of the pericarp without the aid of tools. Only the moisture content and the kernel firmness were affected by temperature in nitrogen storage. In general, storage at 10 °C reduced the level of preservation in all of the samples. Under MA, there was a greater loss of moisture in the fruit, and a consequent slight increase in the firmness of the kernel at the end of the 12 d period of the experiment. In the case of carbon dioxide atmosphere, the effect of higher temperature of storage in a perceptible reduction in the shellability of the hazelnuts was observed. As determined by the tested parameters and organoleptic evaluation, the air-stored nuts were inferior to those under MA.

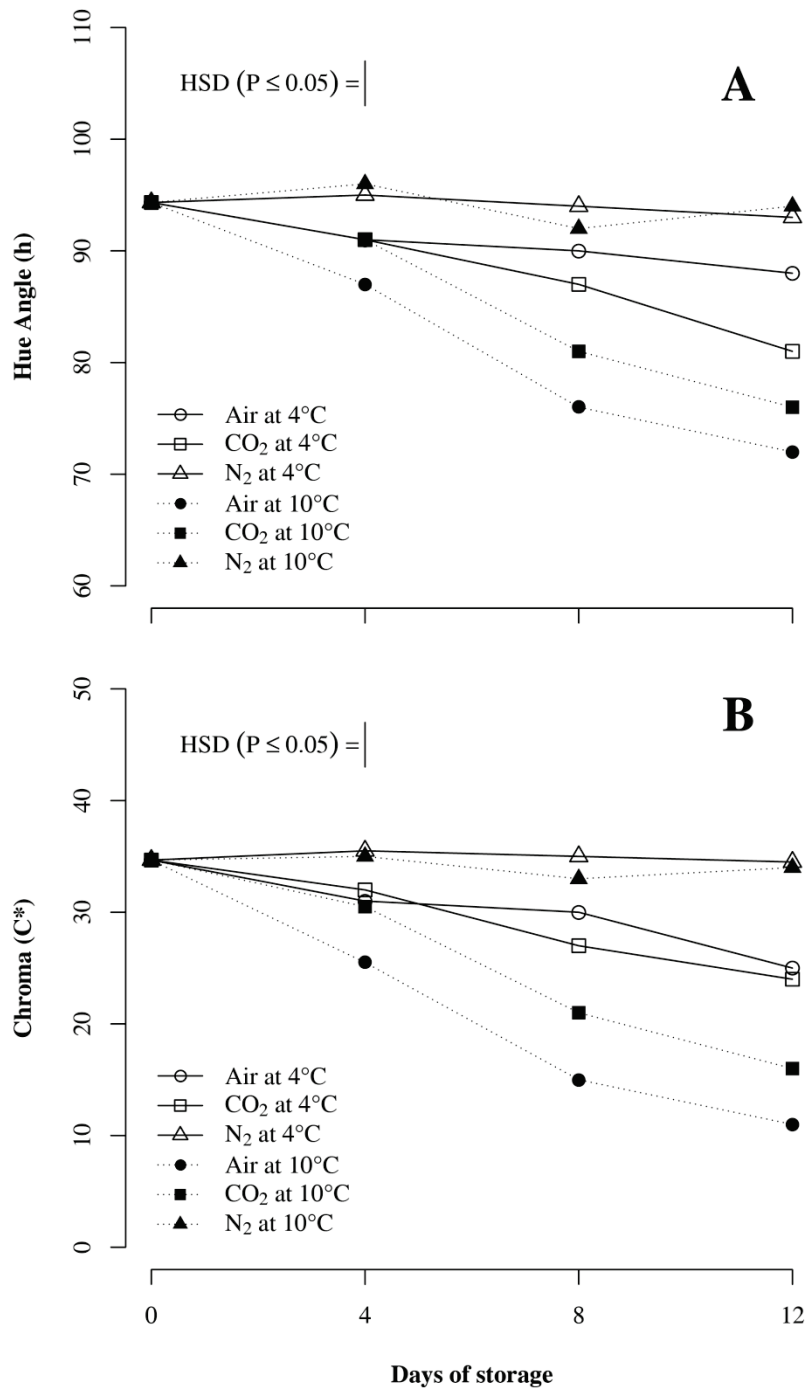
The atmosphere saturated with carbon dioxide produced nuts with lower results concerning quality than the atmosphere saturated with nitrogen. The increase in firmness of the pericarp, the browning in color and the loss of ease of shellability were similar to the samples kept in air, which was found to be the worst state of preservation. It was assumed that the stress caused by the high level of carbon dioxide was responsible for the lignification of the pericarp, influencing the trend of firmness and the color of the tissue. However, the panel test produced positive results, as only the marks for shellability were lower than those for nuts under preservation in nitrogen. Consequently, further research and

experimentation is required to investigate the cause of changes in shellability, firmness and color of the pericarp under carbon dioxide.

The results of the tests showed that only the respiration rate, the POD and PPO activities of the samples stored in MA were not affected by the storage temperature.

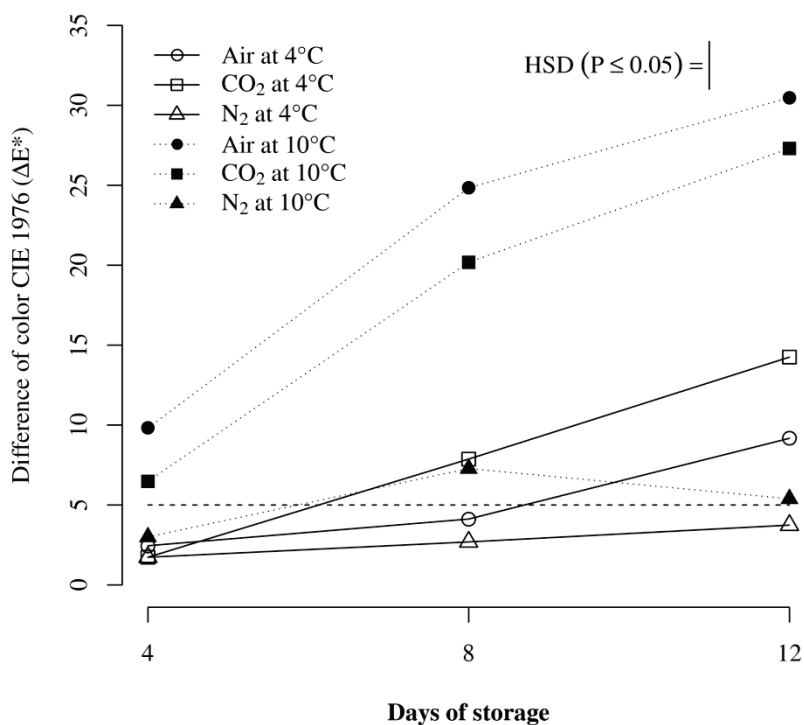
If one is careful not to exceed an 8 d storage period, storage in air at 4 °C is a possible alternative to MA. Otherwise, the fruit lose the typical characteristics of produce for fresh consumption, thus failing to reach the objectives established for preservation.

Figure 1



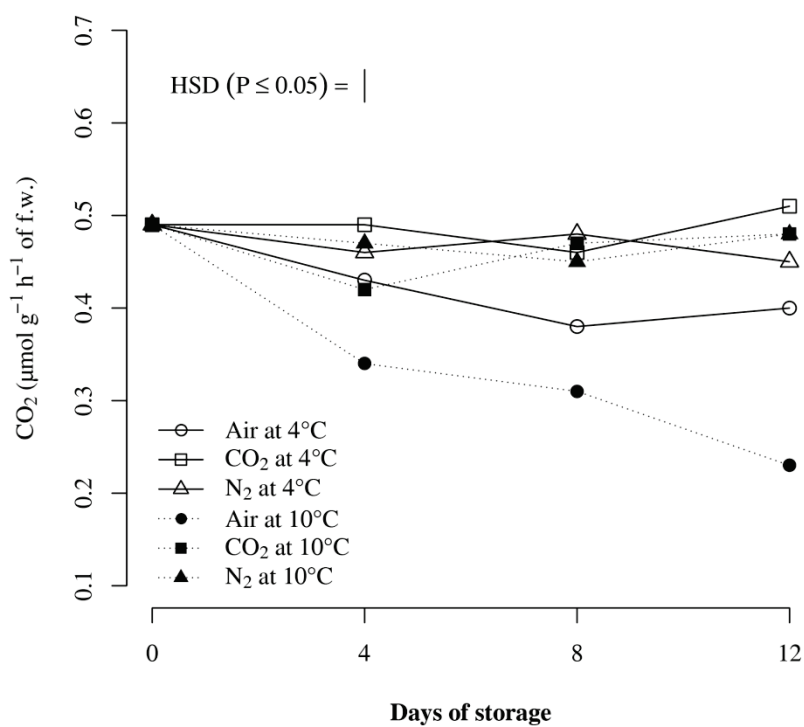
Hue angle (A) and Chroma (B) over 12 d of storage at 4°C and 10°C in air, 100±1 kPa of CO₂, and 100±1 kPa of N₂.

Figure 2



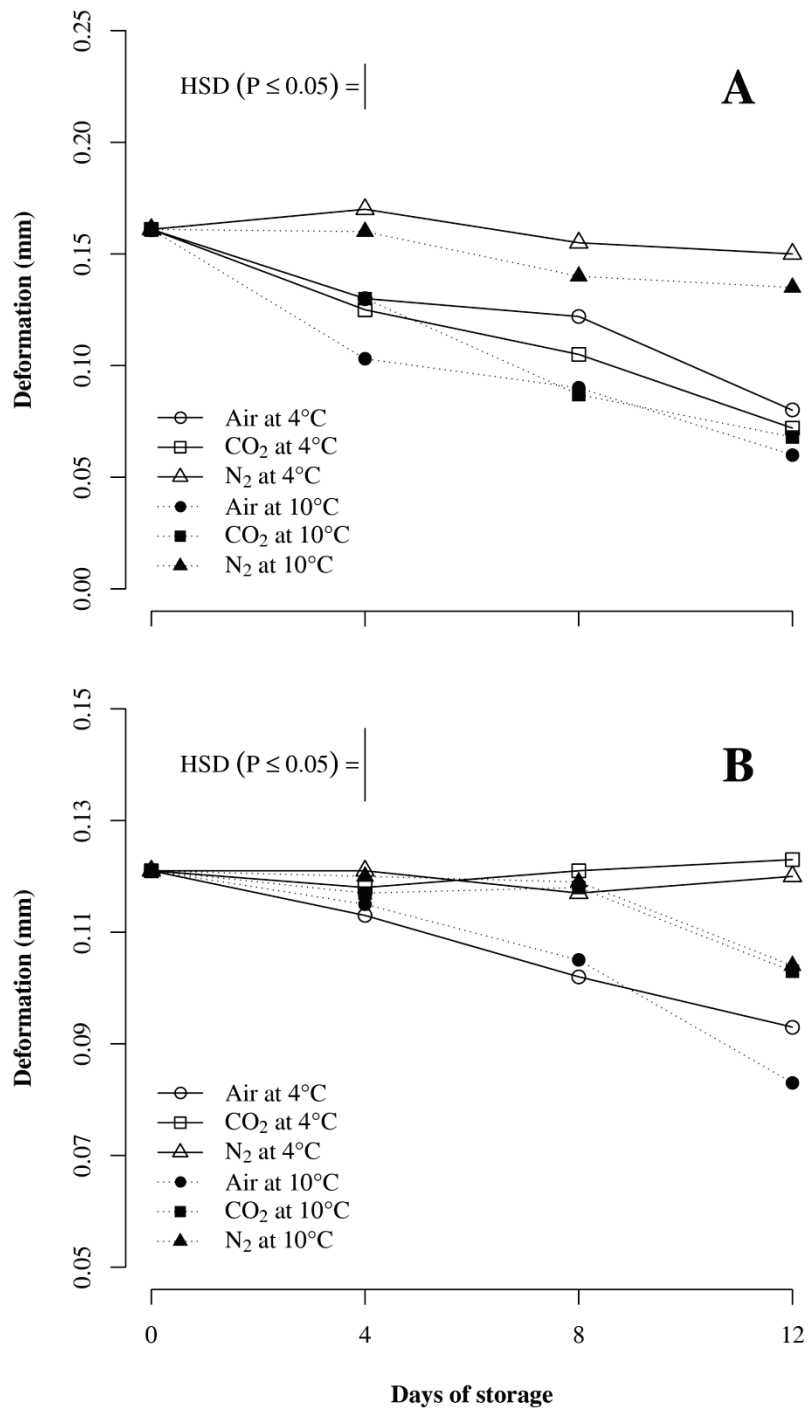
CIE 1976 color difference (ΔE^*) as over 12 d of storage at 4°C and 10°C in air, 100±1 kPa of CO₂, and 100±1 kPa of N₂. Value 5 of the ordinate indicates the limit beyond which the human eye perceives strong color differences.

Figure 3



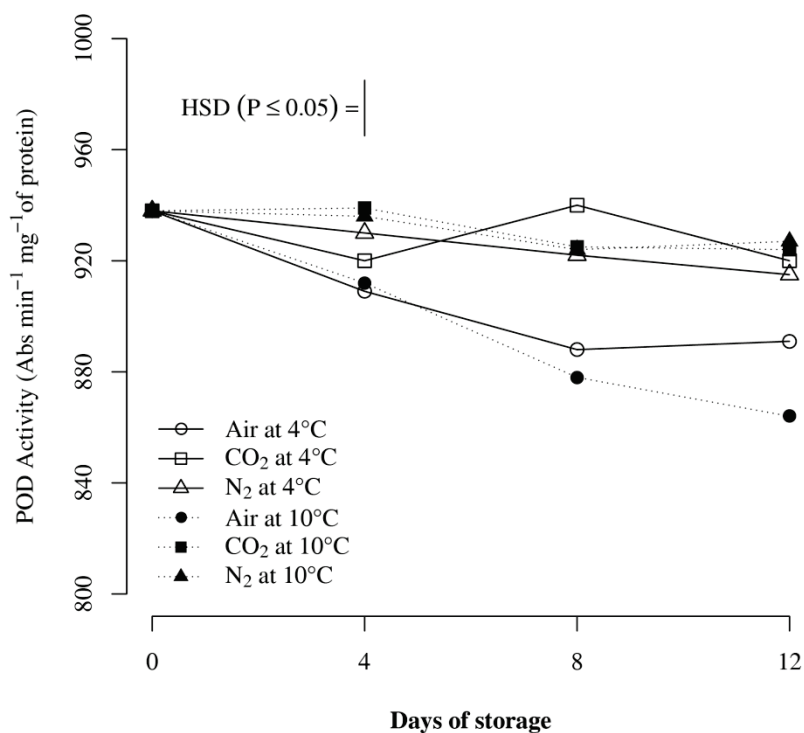
Respiration rate trend over 12 d of storage at 4°C and 10°C in air, 100±1 kPa of CO₂, and 100±1 kPa of N₂.

Figure 4



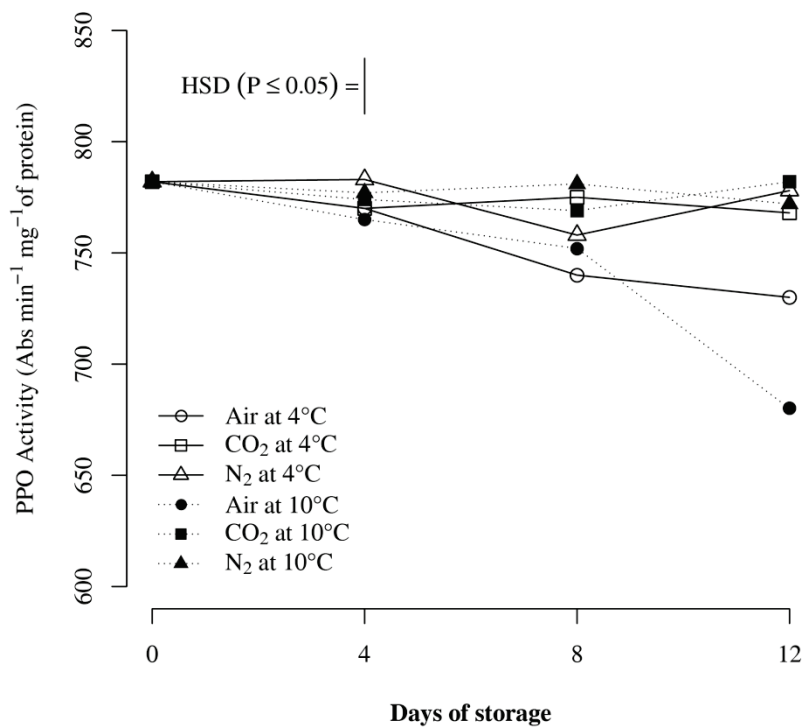
Increase in firmness of the hazelnuts pericarp (A) and kernel (B) over 12 d of storage at 4°C and 10°C in air, 100±1 kPa of CO₂, and 100±1 kPa of N₂.

Figure 5



Peroxidase activity over 12 d of storage at 4°C and 10°C in air, 100±1 kPa of CO₂, and 100±1 kPa of N₂.

Figure 6



Polyphenoloxidase activity over 12 d of storage at 4°C and 10°C in air, 100±1 kPa of CO₂, and 100±1 kPa of N₂.

REFERENCES

- BEAUDRY, R.M., 1999. *Effect of O₂ and CO₂ partial pressure on selected phenomena affecting fruit and vegetable quality*. Postharvest Biol. Technol. 15, 293-303.
- BELLINCONTRO, A., NICOLETTI, I., VALENTINI, M., TOMAS, A., DE SANTIS, D., CORRADINI, D., MENCARELLI, F., 2009. *Integration of nondestructive techniques with destructive analyses to study postharvest water stress of winegrapes*. Am. J. Enol. Vitic. 60:1:57-65.
- CAMM, E.L., TOWERS, G.H.N., 1973. *Phenylalanine ammonia lyase*. Phytochem. 12, 961-973.
- CECCHINI, M., CONTINI, M., MASSANTINI, R., MONARCA, D., MOSCETTI, R., 2011. *Effects of controlled atmospheres and low temperature on storability of chestnuts manually and mechanically harvested*. Postharvest Biol. Technol. 61, 131-136.
- CHUN, J., LEE, J., EITENMILLER, R.R., 2006. *Vitamin E and oxidative stability during storage of raw and dry roasted peanuts packaged under air and vacuum*. J. Food Sci. 70, 292-297.
- CONTINI, M., BACCELLONI, S., MASSANTINI, R., ANELLI, G., 2008. *Extraction of natural antioxidants from hazelnut (Corylus avellana L.) shell and skin wastes by long maceration at room temperature*. Food Chem. 110, 659-669
- DANGCHAM, S., BOWEN, J., FERGUSON, I.B., KETSA, S., 2008. *Effect of temperature and low oxygen on pericarp hardening of mangosteen fruit stored at low temperature*. Postharvest Biol. Technol. 50, 37-44.
- DELGADO, T., MALHEIRO, R., PEREIRA, J.A., RAMALHOSA, E., 2010. *Hazelnut (Corylus avellana L.) kernels as a source of antioxidants and their potential in relation to other nuts*. Indust. Crops Prod. 32, 621-626.

DEMIR, A.D., BAUCOUR, P., CRONIN, K., ABODAYEH, K., 2003. *Analysis of temperature variability during the thermal processing of hazelnuts*. *Innov. Food Sci. Emerg Technol.* 4, 69-84.

DE MENDIBURU, F., 2010. *Agricolae: statistical procedures for agricultural research*. <http://cran.r-project.org/web/packages/agricolae/index.html>

DEMIR, A.D., BAUCOUR, P., CRONIN, K., ABODAYEH, K., 2003. *Analysis of temperature variability during the thermal processing of hazelnuts*. *Innov. Food Sci. Emerg Technol.* 4, 69-84.

EBRAHEM, K.S., RICHARDSON, D.G., TETLEY, R.M., 1994. *Changes in oil content, fatty acid and Vitamin E composition in developing hazelnuts Kernels*. *Acta Hort.* 351, 669-676.

ERCISLI, S., OZTURK, I., KARA, M., KALKAN, F., SEKER, H., DUYAR, O., ERTURK, Y., 2011. Physical properties of hazelnuts. *Int. Agrophys.* 25, 115-121.

JOHNSON, J.A., YAHIA, E.M., BRANDL, D.G., 2009. *Dried fruits and tree nuts*, in: *Yahia, E.M., Raton, B. (Eds.), Modified and controlled atmospheres for the storage, transportation, and packaging of horticultural commodities*. CRC Press, Taylor & Francis Group, pp. 507-526.

KIBAR, H., ÖZTÜRK, T., 2009. The effect of moisture content on the physico-mechanical properties of some hazelnut varieties. *J. Stored Prod. Res.* 45, 14-18.

KÖKSAL, A.I., ARTIK, N., ŞİMŞEK, A., GÜNEŞ, N., 2006. *Nutrient composition of hazelnut (Corylus avellana L.) varieties cultivated in Turkey*. *Food Chem.* 99, 509-515.

LOPEZ, A., PIQUE, M.T., ROMERO, A., ALETA N., 1995. *Influence of cold storage conditions on the quality of unshelled walnuts*. *Int. J. Refrig.* 18, 544-549.

MANESS, N., 2004. *The commercial storage of fruits, vegetables, and florist and nursery stocks – hazelnuts*. Agriculture handbook number 66. <http://www.ba.ars.usda.gov/hb66/contents.html>

MASKAN, M., KARATAŞ, S., 1999. *Storage stability of whole-split pistachio nuts (*Pistachia vera* L.) at various conditions*. Food Chem. 66, 227-233.

MASSANTINI, R., MOSCETTI, R., MONARCA, D., CECCHINI, M., CONTINI, M., ALFANI, L.M., 2009. *The influence of cover crops and double harvest on storage of fresh hazelnuts (*Corylus Avellana* L.)*. Adv. Hort. Sci. 23, 231-237.

MENCARELLI, F., FORNITI, R., DESANTIS, D., BELLINCONTRO, A., 2008. *Effects of inert atmosphere and temperature for dried hazelnuts storage*. Ingredienti alimentari 39, 16-21.

MENCARELLI, F., MASSANTINI, R., LANZAROTTA, L., BOTONDI, R., 1994. *Accurate detection of firmness and color changes in the packing of table grapes with paper dividers*. J. Hortic. Sci., 69, 299-304.

OZDEMIR, F., AKINCI, I., 2004. *Physical and nutritional properties of four major commercial turkish hazelnut varieties*. J. Food Eng., 63, 341-347.

PARCERISA, J., RICHARDSON, D.G., RAFECAS, M., CODONY, R., BOATELLA, J., 1997. *Fatty acid distribution in polar and nonpolar lipid classes of hazelnut oil (*Corylus avellana* L.)*. J. Agric. Food Chem. 45, 3887-3890.

SAN MARTIN, M.B., FERNANDEZ-GARCIA, T., ROMERO, A., LOPEZ, A., 2001. *Effect of modified atmosphere storage on hazelnuts quality*. J. Food Proc. Preserv. 25, 309-321.

SERRA BONVEHÌ, J., SERRANO ROSÚA, N., 1996. *Enzymatic activities in the varieties of the hazelnut (Corylus Avellana L.) grown in Tarragona. Spain.* Food Chem. 56, 39-44.

SEYHAN, F., OZAY, G., SAKLAR, S., ERTAŞ, E., SATIR, G., ALASALVAR, C., 2007. *Chemical changes of three native Turkish hazelnut varieties (Corylus avellana L.) during fruit development.* Food Chem. 105, 590-596.

FEASIBILITY OF VIS/NIR SPECTROSCOPY FOR DETECTION OF FLAWS IN HAZELNUT KERNELS

Roberto Moschetti ¹, Ron P. Haff ², Ben Aernouts ³, Wouter Saeys ³

Danilo Monarca ¹, Massimo Cecchini ¹, Riccardo Massantini ^{4*}

¹ Department of science and technology for Agriculture, Forest, Nature and Energy, Tuscia University, Italy

² United States Department of Agriculture, Western Regional Research Center, California, United States

³ Division of Mechatronics, Biostatistics, and Sensors, Department of Biosystems, K.U. Leuven, Belgium

⁴ Department for Innovation in Biological, Agro-food and Forest system, Tuscia University, Italy

* Corresponding author

INDEX

> INTRODUCTION	100
> MATERIALS AND METHODS.....	102
> RESULTS AND DISCUSSION	105
> CONCLUSIONS.....	107
> TABLES	109
> FIGURES	110
> ACKNOWLEDGEMENTS	114
> REFERENCES	115

KEYWORDS: Hazelnut, Tonda Gentile Romana, visible-near infrared spectroscopy, LDA

ABSTRACT

The feasibility of Vis/NIR spectroscopy for detection of flaws in hazelnut kernels (*Corylus avellana L.* cv. Tonda Gentile Romana) is demonstrated. Feature datasets comprising raw absorbance values, raw absorbance Ratios ($Abs[\lambda_1]:Abs[\lambda_2]$) and Differences ($Abs[\lambda_1]-Abs[\lambda_2]$) for all possible pairs of wavelengths from 306.5 nm to 1710.9 nm were extracted from the spectra for use in an iterative LDA routine. For each dataset, several spectral pretreatments were tested. Each group of features selected was subjected to Partial Least Squares Discriminant Analysis (PLS-DA), Receiver Operating Characteristics (ROC) analysis, and evaluation of performance through the Area Under ROC Curve. The best result (5.4% false negative, 5.0% false positive, 5.2% total error) was obtained using a Savitzky-Golay second derivative on the dataset of raw absorbance differences. The optimal features were $Abs[564\text{ nm}]-Abs[600\text{ nm}]$, $Abs[1223\text{ nm}]-Abs[1338\text{ nm}]$ and $Abs[1283\text{ nm}]-Abs[1338\text{ nm}]$. The results indicate the feasibility of a rapid, online detection system.

INTRODUCTION

Hazelnut (*Corylus avellana* L.) is an economically important raw material for the confectionary and chocolate industries. The kernel is marketed both shelled and unshelled, and is also used to add color, flavor, texture and fiber to various foods (Özdemir and Akinci, 2004; Kibar and Öztürk, 2009). Moreover, hazelnuts are a source of bioactive compounds that might be incorporated into new health-related products or serve as substitutes for synthetic ingredients (Contini et al., 2008; Delgado et al., 2010). The vitamin α -tocopherol constitutes 95% of the vitamin E in hazelnut (Ebrahim et al., 1994), important for the human health due to antioxidant activity. In raw and roasted nuts, vitamin E stability has been strongly correlated with lipid oxidation (Chun et al., 2006).

Rancidity of the oil, unpleasant changes in color, firmness loss and development of peroxides in hazelnuts can be delayed by the use of an ultra low oxygen (ULO) atmosphere, a storage temperature below 4 °C and a relative humidity (RH) lower than 60% (Moscetti et al., 2012).

Nut tissue moisture content (MC) and water activity (a_w), which are responsible for changes in the activity of lipolytic enzymes, are strongly positively correlated with RH. The hydrolysis of oils following the lipolytic activity produces free fatty acids (FFAs), which are catalysts for auto-oxidation reactions (Parcerisa et al., 1997; Köksal et al., 2006), causing the development of off-flavors and reducing consumer acceptability. While all fresh hazelnuts contain trace quantities of FFA's, the amount can increase dramatically under suitable conditions. FFA concentrations exceeding 1% are considered undesirable (Sipahioğlu and Heperkan, 2000).

Water activity is also related to localized Maillard chemical reactions in the kernel (brown centers), which decrease the nutritive value of foods, especially after the roasting process. The occurrence of non-enzymatic browning depends on many factors, including temperature, a_w , pH, oxidation of lipids, ratio of sugar to amino acids, as well as the concentrations of reducing sugars, amino acids and other constituents (i.e. aldehydes) in the inner layer of the kernel (Özdemir et al., 2001; Pearson, 1999). High MC accelerates the growth of micro-fungal diseases which may produce enzymes that break down carbohydrates into their monomers and hydrolyze fats to FFA's, developing a bitter taste. This can occur during harvest, drying and/or storage (King Jr. et al.,

1983). Lipolytic enzymes biosynthesized by micro-fungi cause increased FFA concentration, rather than enzymes already present in the nut (Sariyar and Heperkan, 2003).

The principal moulds encountered in hazelnut fruit belong to genus *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Mucor*, *Rhizopus* and *Trichotecium* (Jiménez et al., 1991). However, only a few, *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Mucor* spp., *Rhizopus* spp. and *Trichotecium* spp., are able to produce lipolytic enzymes in the presence of oleic acid (18:1) triacylglycerols (TAGs), in which all hazelnut cultivars are very rich. In fact, the main hazelnut TAGs are triolein (OOO), linoleyldiolein (LOO) and palmityldiolein (OOP). Thus, the species of micro-fungi growing on the nut are a very important factor regarding the degradation of oils, along with storage temperature and RH. Fungal growth is influenced by substrate composition, storage time, insect damage and the presence/absence of a shell (King Jr. and Schade, 1986; Ozay et al., 2008). *A. niger*, *A. flavus* and *T. roseum* are ubiquitous species which frequently grow inside the shell of the nut in the orchard, at harvest, during post-harvest operations and in storage (Ozay et al., 2008). *Aspergillus* moulds produce various hydrolytic enzymes, including α -amylases, pectinases, proteases, and lipases. *A. flavus* is one of the primary aflatoxin-producing species, able to infest hazelnuts (Amaike and Keller, 2011). *T. roseum* is well-known for its lipolytic activity regardless of changes in RH (Sipahioğlu and Heperkan, 2000).

Hazelnut pests, belonging to the Hemiptera and the Coleoptera orders, provide the means for micro-fungal contamination of nuts by injecting watery saliva into kernels during feeding (Miles, 1972). The primary Hemiptera species associated with damage to hazelnuts are *Acanthosoma haemorrhoidale* L. (Acanthosomatidae), *Coreus marginatus* L. (Coreidae), *Dolycoris baccarum* L. (Pentatomidea), *Gonocerus acuteangulatus* Goeze (Coreidae), *Palomena prasina* L. (Pentatomidea), *Pentatoma rufipes* L. (Pentatomidea), *Pantilius tunicatus* F. (Miridae), *Graphosoma italicum* L. (Pentatomidea) and *Rhaphigaster nebulosa* Poda (Pentatomidae) (Sonnati et al., 2009). Beyond enhancing fungal infections, Hemiptera's watery saliva is a vehicle for hydrolyzing enzymes responsible for quality loss: white spots resulting from insect bites (Romero et al., 2009), detrimental disorder due to proteinase activity

(Vaccinio et al., 2008), hydrolysis of fats to FFAs due to esterase/lipase activity, formation of hollows at the bite location, production of reducing sugars due to amylase activity (Miles, 1972; Capinera, 2001) and development of unpleasant flavors. The primary Coleoptera species infesting hazelnut is *Balaninus nucum* L. (Curculionidae), which is responsible for hazelnuts dropping to the ground prematurely, damages from larval feeding, and subsequent fungal growth in the kernel.

Hazelnuts naturally drop to the ground when mature. Traditionally, to minimize labor costs, the standard practice for harvesting has been to collect all the nuts in a single pass. Thus, nuts that drop earliest remain on the ground for extended periods of time until all nuts are ready to be collected. This protracted contact between nut and soil increases the chances of fungal contamination and the reabsorption of water, which could trigger the aforementioned degenerative processes. This can be partially avoided by harvesting twice (Massantini et al., 2009). The European Commission (1996) has encouraged the use of a double harvest to discourage the development of flaws in hazelnuts. Nonetheless, the problem persists and remains an economic burden for the industry.

Mechanical detectors are commercially available for the detection of flawed hazelnuts. However, automated devices are always followed by manual inspection. Hazelnuts are sorted by size, shape, color and visible defects.

The objective of the present study was to demonstrate the feasibility of using Vis/NIR spectroscopy for the detection of hazelnuts with flaws, including abnormal coloring of the skin and/or kernel, insect damage, detrimental disorders and fungal growth.

MATERIALS AND METHODS

Whole hazelnut kernels (*Corylus avellana* L. cv. Tonda Gentile Romana) were obtained from the Assofrutti facility (Caprarola, Viterbo, Central Italy) in October, 2011. Kernels were preliminarily classified into Sound and Unsound classes following the guidelines of Commission Regulation No 1284/2002 (European Commission, 2002), regarding kernel characteristics. The classifications were based on the presence or absence of color alterations, foreign smell, insects (living or dead), insect damage, detrimental disorders and fungal growth. The kernels were classified using a proprietary mechanical

detector at the facility along with manual selection performed by expert workers. Sound and Unsound classes contained 422 and 677 samples, respectively.

Whole kernel reflectance spectra were acquired using a diode array spectrometer (Corona 45 VISNIR 1.7, Carl Zeiss AG, Jena, Germany) equipped with a silicon (Si) array (range 306.5-1135.5 nm, 3.2-nm resolution) and an indium gallium arsenide (InGaAs) array (range 944.5-1710.9 nm, 6 nm resolution). Aspect Plus 1.76 software (Carl Zeiss AG) was used for the acquisitions. A built-in OMK 500-H reflection measurement head (Carl Zeiss AG) was used to acquire the diffuse reflectance spectra. Samples were mounted on a ring with a 10 mm diameter opening at a 45° angle to the detector array (Figure 1). The detector array consisted of 15 detectors evenly spaced along a circle, and thus the acquired spectra were the mean reflectance spectra over a large area of the sample. Ten spectra were acquired for each side of the kernel and averaged. Reference measurements were performed at 30 min intervals, corresponding to about 60 samples. A calibrated 50% reflectance standard (Labsphere Inc., North Sutton, NH) was used as a white reference to prevent saturation of the detectors during acquisition. Dark reference spectra were obtained by covering the OMK 500-H reflection measurement head with a black tube. Reflectance spectral data were transformed into absorbance ($A = \log_{10} R^{-1}$) with R 2.15.1 statistics software.

Features for use in classification were extracted from the spectra as follows: Raw absorbance values at each wavelength; Ratios of raw absorbance values for each possible pair of wavelengths ($Abs[\lambda_1] : Abs[\lambda_2]$), and; Differences between raw absorbance values for each possible pair of wavelengths ($Abs[\lambda_1] - Abs[\lambda_2]$). Further, these features were extracted following a variety of spectral pretreatments including row-Mean Centering (rMC), Standard Normal Variate (SNV), Multiplicative Scatter Correction (MSC), and Savitzky-Golay first and second derivatives (Df, D2f) with second order polynomial (from 9 nm to 57 nm smoothing points with a step of 6 nm) (Savitzky and Golay, 1964; Boysworth and Booksh, 2008). High frequency noise was filtered from rMC, SNV, MSN and non-pretreated spectra by applying a Savitzky-Golay filter with 5-nm smoothing points. For each dataset, Mean Centering (MC) and Autoscaling (AS) normalization methods were also tested, and an iterative Linear Discriminant Analysis (LDA) algorithm was used to

choose a relatively small set of variables for the ability to correctly classify the samples. For each iteration of the algorithm, half of the samples were used as a training set and half were used for validation. No outlier selection was computed.

The optimal group of three features selected for each trial was analyzed using Partial Least Squares Discriminant Analysis (PLS-DA). For each combination of three features a Receiver Operating Characteristics (ROC) graph was plotted for 20 instances (from 0.0 to 1.0 sound prior probability and from 1.0 to 0.0 unsound prior probability with a step of 0.05).

The ROC curve is a two-dimensional depiction of classifier (combination of features) performance. It contains plots of the ‘false positive rate’ and the ‘true positive rate’ (also respectively called ‘1 – specificity’ and ‘sensitivity’) as a function of the threshold value (Fawcett, 2006):

$$(1) \quad \textit{False positive rate} = 1 - \frac{\textit{True negatives}}{\textit{False positives} + \textit{True negatives}}$$

$$(2) \quad \textit{True positive rate} = \frac{\textit{True negatives}}{\textit{Total positives}}$$

The total error rate represents the percentage of hazelnuts in the validation set incorrectly classified. False positive (fp) errors occur when a good product is classified as bad, while false negative (fn) errors occur when a defective product is misclassified as good. For each ROC plot the relative Area Under the ROC Curve (AUC) was additionally used to evaluate the performance of each computed linear discrimination function (Fawcett, 2006), because it is statistically consistent and more discriminating than the total error rate, as demonstrated by Ling et al. (2003). Consequently, this makes it possible to obtain different AUCs for linear discrimination functions providing the same error rate for a given threshold value. The AUC takes on values between 0.5 and 1.0. An AUC value close to 0.5 indicates that the two groups are not distinctly different and therefore the classifiers have a weak discriminative ability. An AUC value close to 1.0 indicates that the features have strong discriminative power and a low tendency for overlap in the distributions of the group scores (Luo et al., 2012). The AUC value corresponds to the percentage of time a random selection from the positive group will produce a score greater than a random selection from the negative group (Fielding and Bell, 1997). For this

research, an AUC of 0.9 was used as a threshold for acceptable discriminative performance. Thus, classifiers with an AUC equal to or less than 0.9 were discarded.

Statistical pretreatments and analysis, and data normalizations were performed using R 2.15.1 statistics software in combination with TISEAN 3.0.1 package (Hegger et al., 2012), and MASS 7.3-21, hyperspec 0.98, mda 0.4-2, PLS 2.3-0 and RTISEAN 3.0.14 R-packages (CRAN, 2012).

RESULTS AND DISCUSSION

The results of the discriminant analysis to determine the optimal combinations of three features for distinguishing the classes are presented in Table 1. The presented classification results might be slightly overoptimistic, since the selected combination of difference variables was the one giving the best classification results, and results on an independent prediction set might be slightly different. However, given the relatively large size of the data set this difference is expected to be minimal. Furthermore, this potential difference between the validation set and a further prediction set would be the result of overfitting of the data, which is a minor effect when selecting a small number of variables from a much larger pool.

Generally, the priority of the industry is to reduce the occurrence of unsound hazelnuts in the product stream. Consequently, results were tabulated in ascending order of total error and false negative error rates. Results are shown only as high as the best result in which no pretreatment was used on the raw data (trial #18: 6.4% fn, 9.8% fp and 7.7% total error), indicating that pretreatment is an important factor in optimizing classification results. Mean centering and autoscaling were not effective in improving classification; in fact, these techniques led to inferior results as compared to those obtained from non-mean-centered and non-autoscaled spectra. These results indicate that the differences between both groups were large.

The most accurate classification of 5.4% fn, 5.0% fp and 5.2% total error was achieved using second derivative preprocessing combined with a Savitzky-Golay filter with 57 smoothing points (trial #01), resulting in a distribution of observations in each class that was totally represented by the 1st Linear Discriminant (LD1) dimension (Figure 2).

Features selected were $Abs[564 \text{ nm}] - Abs[600 \text{ nm}]$, $Abs[1223 \text{ nm}] - Abs[1338 \text{ nm}]$, and $Abs[1283 \text{ nm}] - Abs[1338 \text{ nm}]$ (Figure 3). For these features, the AUC value was 0.9817, CORRESPONDING to an excellent discrimination performance of the selected classifier (Figure 4).

The PLS-DA of trial #01 indicates that 92.80 % of the variance is explained by LV1 and LV2 (respectively, 50.20% and 42.60%); however, the 7.20% of residual variance from LV3 was essential for a complete description of the samples (Figure 5). The second most accurate classification of 5.6% fn, 6.5% fp and 6.0% total error resulted from using a Savitzky-Golay first derivative with 51 smoothing points (trial #02). Interestingly, in terms of selected features, wavelengths in the visible spectrum and wavelengths of the first region of the NIR spectrum were paired, resulting in excellent discrimination between classes (0.9861 AUC): $Abs[590 \text{ nm}] - Abs[1265 \text{ nm}]$, $Abs[584 \text{ nm}] - Abs[1314 \text{ nm}]$, and $Abs[577 \text{ nm}] - Abs[1334 \text{ nm}]$ (Figure 6).

For some trials, selected features did not include wavelengths in the visible spectrum, yet resulted in good discrimination with low error rates requiring minimal spectral pretreatment.

For instance, trials #03 and #05 included only wavelengths between 1250 nm and 1650 nm (Figure 7), suggesting this is the optimal single band within the tested range for discriminating classes. The use of these wavelengths may also be more desirable since it may be less sensitive to the origin and growing conditions of the product. However, further research would be required to confirm this hypothesis.

Although no references or previous studies are available regarding the detection of flaws in hazelnuts using NIR spectroscopy, and thus no corresponding correlation bands are known, knowledge of the sample chemical composition allows some insight into the particular features found to give good class discrimination. Wavelengths from the absorption range around 1150-1650 nm, which likely represent first overtones of O-H stretching vibrations, and overtones and combinations of -CH (CH_3- , $-\text{CH}_2-$ and *cis* $\text{R}_1\text{CH}=\text{CHR}_2\text{CH}_3-$) stretches and deformations (Yildiz et al., 2001; Christy et al., 2004), were selected by LDA from all datasets. Features computed in that region could be correlated with lipids,

which represent the main constituent of the hazelnut with an average content of 60.75% (USDA, 2012), and water (~1450 nm), phenols (~1400-1440 nm) and hydroperoxides (~1460 nm) (Workman and Weyer, 2008). Features within the yellow-green (550-570 nm) and yellow (570-600 nm) regions of the visible spectrum were also selected (Table 1), showing substantial differences between samples (Figure 3A and 6A). Sound hazelnuts exhibited highest absorption in the yellow range, while unsound kernels showed a higher peak around 560 nm. In addition, wavelengths in the 550-600-nm and 1150-1650-nm ranges were frequently paired in features, either as a difference or a ratio. It has been well established that hydroxyl groups exhibit higher stretching overtones within these bands (Workman and Weyer, 2008). This indicates a relationship between the 550-600 nm range and the first overtones of the O–H stretching vibrations, suggesting differences in oil oxidation between the classes may be the basis for discrimination. However, chemical assessment of hydroperoxides content would be required for verification.

CONCLUSIONS

In the present study, the feasibility of using Vis/NIR spectroscopy (from 306.5 nm to 1710.9 nm) to detect flaws in hazelnut kernels (*Corylus avellana* L. cv. Tonda Gentile Romana) was demonstrated. Features for discriminant analysis comprising absorbance differences or ratios between pairs of wavelengths that resulted in the best classification results were generally in the 550-600 nm and 1150-1650 nm spectral bands, with one wavelength from each band. However, good results obtained using only wavelengths in the 1250-1650 nm band, suggest this is the predominant single band within the tested range for detection of flaws in hazelnuts. Since the hydroxyl groups exhibit higher stretching overtones at 550-600 nm and a first overtone stretching vibration at 1150-1650 nm, it is hypothesized that oil oxidation could be the underlying chemical basis for discrimination. Further research would be necessary for verification.

The lowest classification error rates on the validation set (5.4% fn, 5.0% fp and 5.2% total error) were obtained using a Savitzky-Golay second derivative with 57 smoothing points, and a dataset of absorbance differences ($Abs[\lambda_1] -$

$Abs[\lambda_2]$). Features selected were $Abs[564 \text{ nm}] - Abs[600 \text{ nm}]$, $Abs[1223 \text{ nm}] - Abs[1338 \text{ nm}]$ and $Abs[1283 \text{ nm}] - Abs[1338 \text{ nm}]$, corresponding to an AUC value of 0.9816.

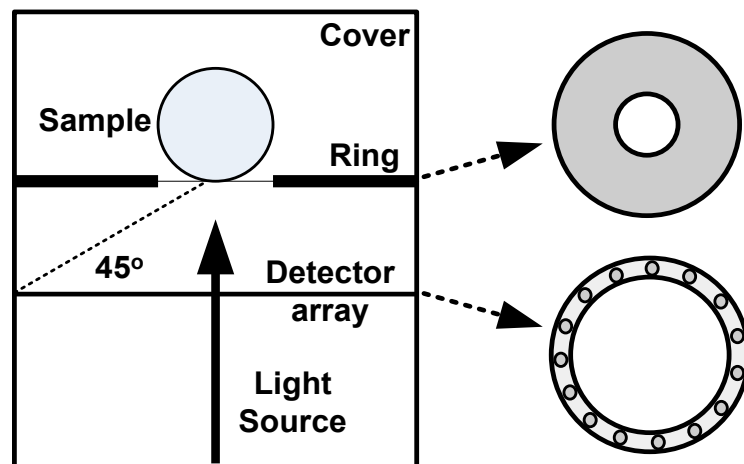
The method used here allows reliable detection of flaws in hazelnuts based on Vis/NIR absorbance values at only a maximum of 6 wavelengths selected from within the spectral range from 306.5-1710.9 nm, thus providing the means for a rapid, online detection system. However, the number of wavelengths required in an online sorting device would be conditional on the spectral pre-treatment used. Obtaining derivative spectra, would require measurement of the neighboring wavelengths to the selected features, corresponding to 2 and 3 wavelengths per feature for first and second derivative, respectively. In addition, correct application of the Savitzky-Golay filter while using only the features selected would necessitate determination of the signal-to-noise ratio between the original spectra and the Savitzky-Golay filtered spectra, which is related to the sensitivity of the chosen detector (i.e. Si and InGaAs or TE-InGaAs). Therefore, the design of a sorting device based on the methods presented here would need to balance the need for simplicity in terms of the number of wavelengths measured with the increased accuracy of applying spectral pretreatments. Nevertheless, measurement of six wavelengths with no pretreatment (trial #18) still yields over 92.3% accuracy and an AUC of 0.9650. This suggest that high speed sorting of hazelnuts based on a limited number of wavelengths in the NIR would be possible.

The potential use of Vis/NIR spectroscopy to separate hazelnuts into quality classes beyond simply damaged or undamaged as defined by the European Commission Regulation No 1284/2002 should be the subject of future research. Based on the results of this study, we expect that such classification is feasible. In particular, identification of hazelnut kernels within the tolerances for flaws admitted by the European Community for the 'Extra' quality class should be possible. In addition, testing for feature selection within spectral ranges not covered by the spectrophotometer used for this study could yield improved accuracy.

Table 1. Summary of results having validation error rate equal to below 7.7% and AUC higher than 0.9. Trials in ascending order of total and false negative error rates.
* Savitsky-Golay smoothing points

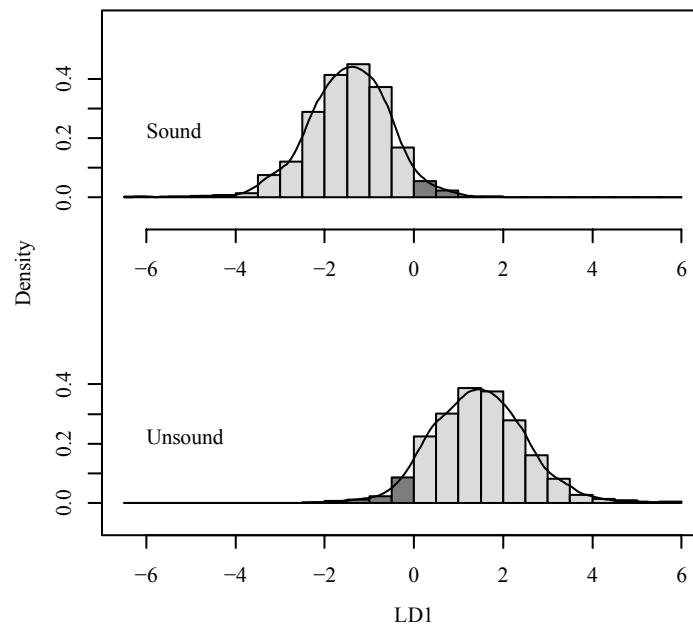
Trial #	Dataset		Selected Features (nm)			Calibration Error rate (%)			Validation Error rate (%)					
	treatment	SG* features	1	2	3	total	fp	fn	AUC	total	fp	fn	AUC	
01	D2f	57	Diff	564 - 600	1223 - 1338	1283 - 1338	5.1	4.8	5.3	0.9852	5.2	5.0	5.4	0.9817
02	Df	51	Diff	590 - 1265	584 - 1314	577 - 1344	5.8	6.3	5.4	0.9935	6.0	6.5	5.6	0.9861
03	SNV	5	Diff	1463 - 1296	1456 - 1338	1253 - 1634	6.0	6.9	5.4	0.9891	6.2	7.2	5.6	0.9829
04	D2f	27	Diff	1296 - 1155	603 - 1338	1362 - 1338	6.1	5.8	6.3	0.9734	6.3	6.0	6.4	0.9669
05	MSC	5	Diff	1289 - 1338	1475 - 1338	1247 - 1640	6.1	7.4	5.3	0.9918	6.4	7.7	5.5	0.9817
06	Df	57	Diff	597 - 1265	590 - 1320	587 - 1338	6.2	6.2	6.2	0.9786	6.4	6.4	6.4	0.9725
07	Df	27	Diff	1094 - 1253	1271 - 1326	1302 - 1350	6.4	7.3	5.8	0.9809	6.6	7.5	6.0	0.9735
08	Df	45	Diff	584 - 1265	580 - 1314	574 - 1344	6.4	6.7	6.3	0.9723	6.6	6.8	6.5	0.9675
09	Df	21	Diff	1155 - 1326	1247 - 1326	1100 - 1350	6.3	6.1	6.4	0.9928	6.6	6.3	6.7	0.9828
10	MSC	5	Ratios	1289 : 1338	1475 : 1338	1247 : 1640	6.6	7.9	5.8	0.9864	6.8	8.2	6.0	0.9802
11	SNV	5	Ratios	1247 : 1338	1289 : 1338	1356 : 1338	6.7	9.7	4.8	0.9789	6.9	10.0	4.9	0.9720
12	Df	39	Diff	587 - 1259	590 - 1314	597 - 1350	6.8	6.9	6.8	0.9882	7.1	7.2	7.0	0.9800
13	Df	15	Diff	1100 - 1350	1247 - 1499	1326 - 1499	7.0	7.1	6.9	0.9823	7.2	7.3	7.1	0.9753
14	D2f	45	Diff	915 - 1265	1481 - 1265	1338 - 1283	7.0	7.3	6.9	0.9788	7.2	7.5	7.1	0.9730
15	Df	33	Diff	1100 - 1253	1505 - 1332	1505 - 1344	7.0	6.8	7.1	0.9818	7.2	7.0	7.3	0.9742
16	rMC	5	Ratios	1247 : 1296	1289 : 1338	1356 : 1338	7.0	10.0	5.2	0.9688	7.3	10.4	5.3	0.9607
17	D2f	57	Ratios	944 : 1338	1259 : 1338	1289 : 1338	7.1	6.4	7.6	0.9801	7.4	6.6	7.8	0.9720
18	None	5	Diff	1247 - 587	1362 - 587	1338 - 1289	7.5	9.5	6.3	0.9712	7.7	9.8	6.4	0.9650

Figure 1



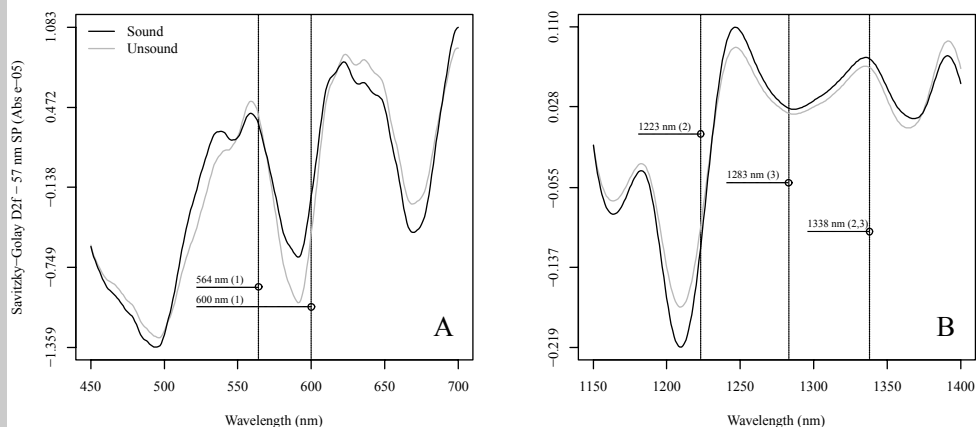
Experimental setup for acquiring NIR spectra. The detector array consisted of 15 detectors evenly spaced along a circle, the output of which were averaged to give a single spectra representing a large area of the sample.

Figure 2



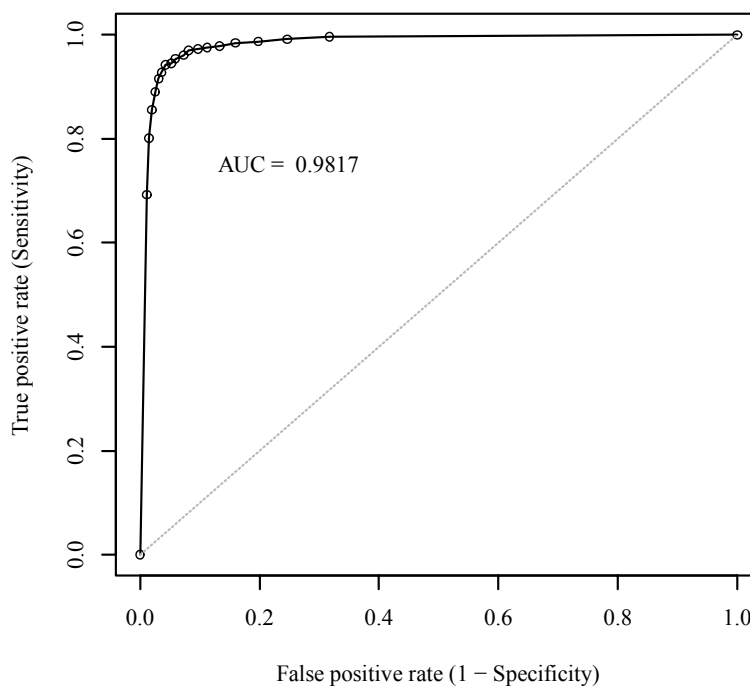
Histograms and overlaid density plots for the observations in each class on the LD1 dimension. Result obtained from the three features selected during the trial #01 (Table 1). Dataset pretreated with the Savitzky-Golay 2nd derivative (57-nm smoothing points). Dark-grey bars correspond to class overlaps on the LD1.

Figure 3



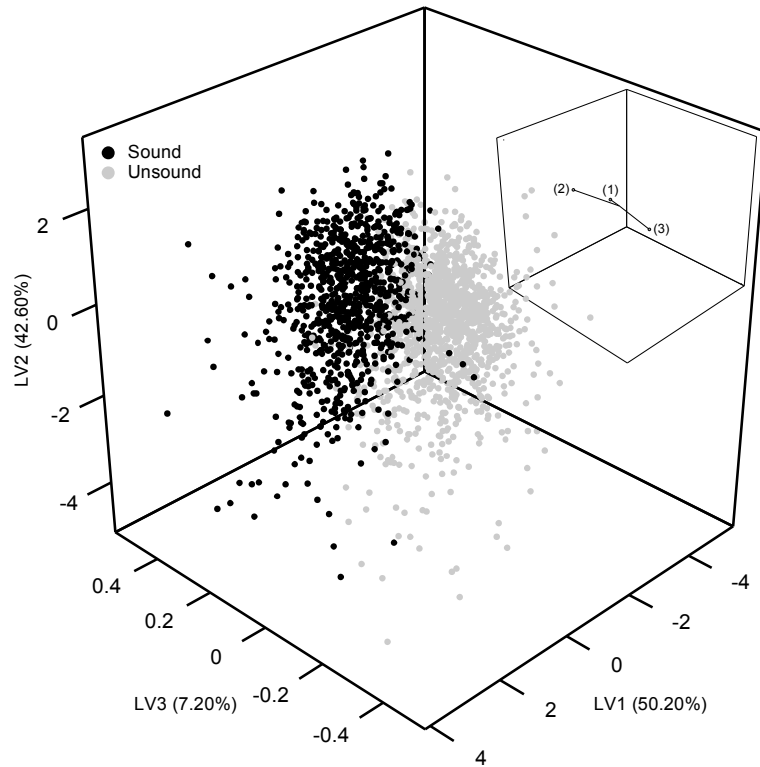
Mean 2nd Savitzky-Golay derivative (57-nm smoothing points) of absorbance spectra. Vertical-dashed lines, round spots and numbers in parentheses indicate the best three pairs of features selected during the trial #01 (Table 1).

Figure 4



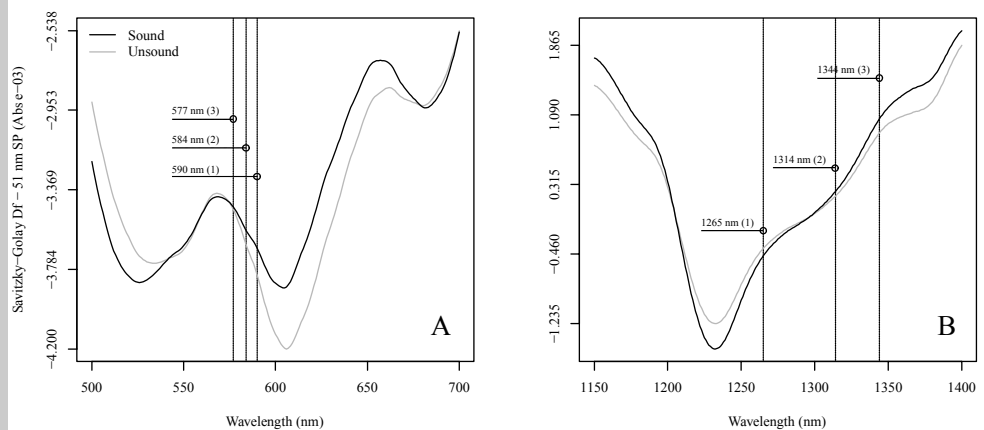
ROC curve plot of trial #01 (Table 1) and relative AUC value. Dashed line represents the limit between the area of a realistic classifier (top-left side, AUC higher than 0.5) and the area of a no-realistic classifier (bottom-right side, AUC equal to or lesser than 0.5) (Fawcett, 2006).

Figure 5



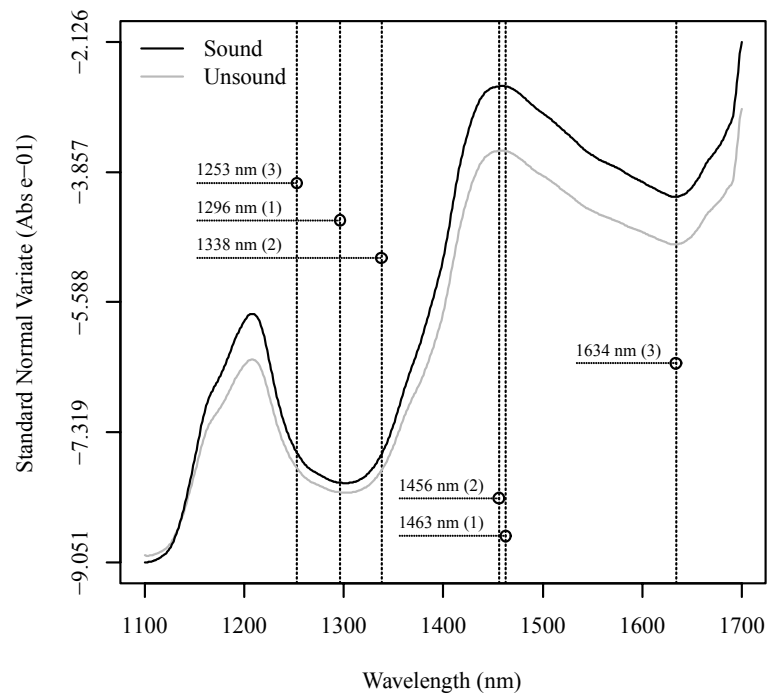
Tridimensional PLS-DA score plot of the three features selected during the trial #01 (Table 1). Dataset pretreated with the Savitzky-Golay 2nd derivative (57 nm smoothing points). Percents of the explained variance are reported in parentheses on the axes. Top-righted box corresponds to the tridimensional loadings plot: (1) 564 nm – 600 nm, (2) 1223 nm – 1338 nm, and (3) 1283 nm – 1338 nm.

Figure 6



Mean 1st Savitzky-Golay derivative (51-nm smoothing points) of absorbance spectra. Vertical-dashed lines, round spots and numbers in parentheses indicate the best three pairs of features selected during the trial #02 (Table 1).

Figure 7



Mean SNV-preprocessed absorbance spectra. Vertical-dashed lines, round spots and numbers in parentheses indicate the best three pairs of features selected during the trial #03 (Table 1).

ACKNOWLEDGMENTS

The research has been financially supported by Mipaaf through the project ‘Miglioramento della filiera corilicola laziale – Mi.F.CO.L.’ represented by the ‘AOP Nocciola Italia Soc. Cons. s.r.l’ and ‘CeFAS - Azienda speciale CCIAA Viterbo’. Ben Aernouts and Wouter Saeys are respectively funded as Ph. D. Fellow and Postdoctoral Fellow of the Research Foundation – Flanders (FWO). Thanks to Claudia Beleites (Institute for Photonic Technology - IPHT, Jena, Germany) for her valuable help on chemometrics.

REFERENCES

AMAIKE, S., KELLER, N.P., 2011. *Aspergillus flavus*. Annual Review of Phytopathology 48, 107-133.

BOYSWORTH, M.K., BOOKSH, K.S., 2008. *Aspects of Multivariate Calibration Applied to Near-Infrared Spectroscopy*. In Burn, D. A., & Ciurczak, W. E. (Eds.), Handbook of Near-Infrared Analysis (3rd ed.) (pp. 207-229). CRC Press.

CAPINERA, J.L., 2001. *Oder Hemiptera – bugs*. Handbook of vegetable pests, (pp. 243-278). New York: Accademic Press.

CHRISTY, A.A. , KASEMSUMRAN, S., DU, Y., OZAKI, Y., 2004. *The detection and quantification of adulteration in olive oil by near-infrared spectroscopy and chemometrics*. Analytical Science 20, 935-940.

CHUN, J., LEE, J., EITENMILLER, R.R., 2006. *Vitamin E and oxidative stability during storage of raw and dry roasted peanuts packaged under air and vacuum*. Journal of Food Science. 70, 292-297.

COMPREHENSIVE R ARCHIVE NETWORK (CRAN), 2012. URL <http://cran.r-project.org/>. Accessed 26.10.12.

CONTINI, M., BACCELLONI, S., MASSANTINI, R., ANELLI, G., 2008. *Extraction of natural antioxidants from hazelnut (Corylus avellana L.) shell and skin wastes by long maceration at room temperature*. Food Chemistry 110, 659–669.

DELGADO, T., MALHEIRO, R., PEREIRA, J.A., RAMALHOSA, E., 2010. *Hazelnut (Corylus avellana L.) kernels as a source of antioxidants and their potential in relation to other nuts*. Industrial Crops and Products 32, 621–626.

EBRAHEM, K.S., RICHARDSON, D.G., TETLEY, R.M., 1994. *Changes in oil content, fatty acid and Vitamin E composition in developing hazelnuts Kernels*. Acta Horticulture 351, 669-676.

EUROPEAN COMMISSION, 1996. *Council Regulation (EC) No 2200/96 of 28 October 1996 on the common organization of the market in fruit and vegetables*. Official Journal of the European Union (L) 297, 1-28.

EUROPEAN COMMISSION, 2002. *Commission Regulation (EC) No. 1284/2002 of 15 July 2002 laying down the marketing standard for hazelnuts in shell*. Official Journal of the European Union (L) 187, 14-20.

FAWCETT, T., 2006. *An introduction to ROC analysis*. Pattern Recognition Letters 27, 861–874.

FIELDING, A.H., BELL, J.F., 1997. *A review of methods for the assessment of prediction errors in conservation presence/absence models*. Environmental Conservation 24, 38–49.

HEGGER, R., KANTZ, H., SCHREIBER, T., 2012. *Nonlinear Time Series Analysis (TISEAN)*. Release March 2007. Accessed 26.10.12.

JIMÉNEZ, M., MATEO, R., QUEROL, A., HUERTA, T., HERNÁNDEZ, E., 1991. *Mycotoxins and mycotoxigenic moulds in nuts and sunflower seeds for human consumption*. Mycopathologia 115, 121-127.

KIBAR, H., ÖZTÜRK, T., 2009. *The effect of moisture content on the physico-mechanical properties of some hazelnut varieties*. Journal of Stored Products Research 45, 14–18.

KING JR., A.D., HALBROOK, W.U., FULLER, G., WHITEHAND, L.C., 1983. *Almond nutmeat moisture and water activity and its influence on fungal flora and seed composition*. Journal of Food Science 48, 615-617.

KING JR., A.D., SCHADE, J.E., 1986. *Influence of almond harvest, processing and storage on fungal population and flora*. Journal of Food Science 51, 202-205.

KÖKSAL, A.I., ARTIK, N., ŞİMŞEK, A., GÜNEŞ, N., 2006. *Nutrient composition of hazelnut (Corylus avellana L.) varieties cultivated in Turkey*. Food Chemistry 99, 509-515.

LING, C.X., HUANG, J., ZHANG, H., 2003. *AUC: a better measure than accuracy in comparing learning algorithms*. Lecture Notes in Artificial Intelligence 2671, 329-341.

LUO, X., TAKAHASHI, T., KYO, K., ZHANG, S., 2012. *Wavelength selection in VIS/NIR spectra for detection of bruises on apples by ROC analysis*. Journal of Food Engineering 109, 457–466.

MASSANTINI, R., MOSCETTI, R., MONARCA, D., CECCHINI, M., CONTINI, M., & MORDACCHINI ALFANI, L. (2009). *The influence of cover crops and double harvest on storage of fresh hazelnuts (Corylus avellana L.)*. Advances in Horticultural Science 23, 231-237.

MILES, P.W., 1972. *The saliva of Hemiptera*. Advances in Insect Physiology 9, 183-255.

MOSCETTI, R., FRANGIPANE, M.T., MONARCA, D., CECCHINI, M., MASSANTINI, R., 2012. *Maintaining the quality of unripe, fresh hazelnuts through storage under modified atmospheres*. *Postharvest Biology and Technology* 65, 33–38.

PARCERISA, J., RICHARDSON, D.G., RAFECAS, M., CODONY, R., BOATELLA, J., 1997. *Fatty acid distribution in polar and nonpolar lipid classes of hazelnut oil (Corylus avellana L.)*. *Journal and Agriculture and Food Chemistry* 45, 3887-3890.

PEARSON, T.C., 1999. *Spectral properties and effect of drying temperature on almonds with concealed damage*. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie* 32, 67-72.

OZAY, G., SEYHAN, F., PEMBECCI, C., SAKLAR, S., YILMAZ, A., 2008. *Factors influencing fungal and aflatoxin levels in Turkish hazelnuts (Corylus avellana L.) during growth, harvest, drying and storage: A 3-year study*. *Food Additives & Contaminants* 25, 209-218.

ÖZDEMİR, F., AKINCI, I., 2004. *Physical and nutritional properties of four major commercial Turkish hazelnut varieties*. *Journal of Food Engineering* 63, 341–347.

ÖZDEMİR, M., SEYHAN, F. G., BAKAN, A. K., ILTER, S., ÖZAY, G., DEVRES, O., 2001. *Analysis of internal browning of roasted hazelnuts*. *Food Chemistry* 73, 191-196.

ROMERO, A., TOUS, J., MARTÍ, E., 2009. *White spots in hazelnut kernel: Symptoms, causes and quality loss*. *Acta Horticulturae* 845, 607-612.

SARIYAR, L., HEPERKAN, D., 2003. *The role of Aspergillus flavus and Aspergillus niger in the hydrolysis of hazelnut fat*. *International Journal of Food Science & Technology* 38, 487–492.

SAVITZKY, A., GOLAY, M.J.E., 1964. *Smoothing and differentiation of data by simplified least squares procedures*. Analytical Chemistry 36, 1627–1639.

SIPAHIÖĞLU, H.N., HEPERKAN, D., 2000. *Lipolytic activity of Trichothecium roseum on hazelnut*. Food Microbiology 17, 401-405.

SONNATI, C., UGHINI, V., 2009. *Seven years of observation of the presence of different plant bug species in the hazelnut orchards of cultivar 'Tonda Gentile delle Langhe' in Piedmont*. Acta Horticulturae 845, 543-548.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA). *National Nutrient Database for Standard Reference - Release 22, 2009*. URL <http://ndb.nal.usda.gov/>. Accessed 26.10.12.

VACCINIO, P., GUIDONE, L., CORBELLINI, M., TAVELLA, L., 2008. *Detection of damage due to bug feeding on hazelnut and wheat by biochemical techniques*. Bulletin of Insectology 61, 189-190.

WORKMAN, J. JR., WEYER, L., 2008. *Practical Guide to Interpretive Near-Infrared Spectroscopy* (pp. 51-69). CRC Press.

YILDIZ, G., WEHLING, R.L., CUPPETT, S.L., 2001. *Method for determining oxidation of vegetable oils by Near-Infrared spectroscopy*. Journal of the American Oil Chemists' Society 5 (78), 495-502.

NONDESTRUCTIVE DETECTION OF INFESTED CHESTNUTS BASED ON AOTF-NIR SPECTROSCOPY

Roberto Moschetti ¹, Ron P. Haff ², Danilo Monarca ¹,
Massimo Cecchini ¹, Riccardo Massantini ^{3*}

¹ *Department of science and technology for Agriculture, Forest, Nature and Energy, Tuscia University, Italy*

² *United States Department of Agriculture, Western Regional Research Center, California, United States*

³ *Department for Innovation in Biological, Agro-food and Forest system, Tuscia University, Italy*

* *Corresponding author*

STATUS DELL'ARTICOLO

Le fasi sperimentali di acquisizione degli spettri ed elaborazione dei dati sono state portate a termine. Allo scopo di distinguere con successo le castagne infestate da quelle sane, è stata impiegata una funzione LDA iterativa, simile a quella già utilizzata per il lavoro scientifico '*Feasibility of Vis/NIR spectroscopy for detection of flaws in hazelnut kernels*', portato a termine con la collaborazione della USDA (California, USA). Per le castagne la funzione discriminante è stata scritta ex-novo ed ottimizzata per l'impiego del software statistico R.

L'analisi chemometrica condotta ha permesso la selezione di lunghezze d'onda impiegabili per discriminare con un errore massimo del 10% le classi di qualità analizzate. L'errore massimo è risultato migliorativo nei confronti della tecnica di flottaggio, impiegata dall'industria per separare le castagne guaste dalla massa di prodotto. L'efficacia della flottazione dipende fortemente dall'empirica concentrazione di cloruro di sodio addizionata alle acque di lavaggio. In annate caratterizzate da un'un'incidenza di infestazione elevata, l'errore discriminante a seguito del flottaggio può raggiungere vette del 30%, comportando una svalutazione complessiva della merce.

La stesura dell'articolo si è avvalsa della collaborazione con il Dott. Ron P. Haff, responsabile del 'WRRC Imaging and Sorting Lab' della USDA (California, USA). Data l'innovazione dell'argomento trattato per il settore della castanicoltura, l'articolo verrà inviato alla rivista internazionale '*Postharvest Biology and Technology*', edita da Elsevier (Amsterdam, Olanda) ed incline alla pubblicazione di ricerche scientifiche innovative per il settore della post-raccolta. Le parti di testo già ultimate, nonché grafici e tabelle, vengono di seguito riportati.

INTRODUCTION

Chestnuts (*Castanea sativa*, Miller) are seasonal fruits of Europe and Asia that maintain their highest quality for a relatively short period of time. Thus, one of the major postharvest problems associated with chestnuts is the high perishability of the fruit. While there are several reasons for this, the predominant factors are related to mold, rot, and insect damage. In most cases, these types of damage are “hidden”, i.e. they are generally not visually detectable on the fruit surface.

The major insect pests of chestnuts are tortrices (*Cydia splendana* (Hb.), *Cydia fagiglandana* (Zel.) and *Pammene fasciana* (L.)) and weevil (*Curculio elephas* (Gyll.)) (Paparatti and Speranza, 2005). In all cases, the larva penetrates the fruit and feeds on the amylaceous substratum of the flesh. Damage increases with the development of the larvae (Giacalone and Bounous, 1993), but even a very small attack compromises the quality of the fruit. At the end of the larval stage (30 to 45 days) the insect creates an exit hole (approximately 1-mm in diameter) in the pericarp and drops to the ground. While an exit hole provides external visual evidence of previous infestation and likely internal damage, for the case where the larva is still inside the nut, there is no such evidence and the internal damage cannot be visually identified.

Under current production practices, the dominant method for identifying and removing infested chestnuts comprises manual sorting through visual observation of the exterior of the fruit for the presence of exit holes, which is time-consuming, labor-intensive and does not identify chestnuts with resident larvae. Depending on the orchard location and the seasonal variables (relative humidity, temperature, rain and other weather factors), insect life-cycles may vary and the incidence of larvae still inside the harvested fruit can be very high (Paparatti and Speranza, 1999). Moreover, the frequency of larvae is exacerbated when mechanical harvesting is performed (Cecchini et al, 2011). In cases of extreme infestation, a salt solution (sodium chloride) flotation system is used to separate lower-density infested fruit. However, the flotation selection is problematic, since the salt concentration is empirically chosen as a function of the severity of infestation and the results depend on the species, life stage and feeding activity of the larvae (Rajendran, 2005). Consequently, the flotation system tends to discard excessive amounts of sound product. A rapid non-

destructive technique for detection of infested chestnuts regardless of the presence of a larval exit hole would be beneficial to the industry.

A variety of techniques are used for non-destructive evaluation of internal fruit quality including those based on electrical properties, near-infrared (NIR) spectroscopy, sound/noise/vibration, ultrasound, nuclear magnetic resonance, x-ray, volatile emission and others (Rajendran, 2005; Nicolai et al., 2007; Burn and Ciurczak, 2008; Sun, 2010; Singh et al., 2010; Wang et al., 2011). NIR spectroscopy has a number of desirable qualities including minimal need for sample preparation, good sample penetration, and a wide range of applications. It is fast, easy to use, environmentally benign, and is highly suited to rapid on-line inspection (Pasquini, 2003; Wang et al., 2010). NIR spectroscopy has been proven effective for the detection of insects or insect damage in food commodities and seeds such as blueberry (Peshlov et al., 2009), cherry (Xing and Guyer, 2008; Xing et al., 2008), fig (Burks et al., 2000), flour (Wilkin et al., 1986), green soybean (Sirisomboon et al., 2009), jujube (Wang et al., 2010; Wang et al., 2011), wheat (Chamber et al., 1992; Baker et al., 1999), seed of *Larix* species (Tigabu and Odén, 2004), seed of *Picea abies* (Tigabu et al., 2004), seed of *Cordia africana* (Tigabu and Odén, 2002) and others. Insects and larvae can be detected directly, due to their hemolymph, lipids and/or chitin content (Rajendran, 2005), or indirectly due to subsequent damage such as internal browning or darkening, dehydration or fungi contamination (Wang et al., 2011).

The objective of the present study is to demonstrate the feasibility of AOTF-NIR spectroscopy for the detection of insects or insect damage in chestnuts, selecting the features combination with the maximum discriminatory capability.

MATERIALS AND METHODS

Chestnut fruit (*Castanea sativa* Miller cv. Marrone Fiorentino) were manually harvested from a local orchard (Central Italy) early in October, 2012. Fruit were immediately moved to a local sorting facility and randomly split into two groups (respectively equal to 120 kg and 15 kg). The largest group was divided into 5 replications of 1500 fruit (around 24 kg each), each of which was separately processed through the flotation-sorting system. For each repetition,

the flotation media consisted of a 7.4% salt (w/v) solution as described by Richter and Tchalale, 1994. Following flotation sorting, fruit were dissected to determine the false positive error rate (good product classified as infested) and the false negative error rate (infested product classified as sound). In addition, false negative chestnuts were visually graded to evaluate the severity of the internal and external insect damages as follows: Grade #1 (slightly damaged kernel; undamaged pericarp), Grade #2 (severely damaged kernel; undamaged pericarp) and Grade #3 (severely damaged kernel; damaged pericarp due to the presence of an exit larva hole).

Chestnut spectra were acquired from 952 fruit of the lesser group, using a Luminar 5030 Acousto-Optic Tunable Filter-Near Infrared (AOTF-NIR) Miniature “Hand-held” Analyzer (Brimrose Corp., Baltimore, USA). The instrument was equipped with a reflectance post-dispersive optical configuration and an indium gallium arsenide (InGaAs) array (range 1100-2300 nm, 2-nm resolution) with a scanning time of 60 ms. Each acquired spectrum was the average of 10 scans. The reference spectrum was automatically measured by the instrument as described by Cayuela and Weiland (2010). Three spectra were acquired for each sample as indicated in Figure 1. Diffuse reflectance spectra were acquired and converted to transmittance measurements using SNAP! 2.04 software (Brimrose Corp.). Transmittance spectral data were transformed into absorbance ($A = \log_{10} T^{-1}$) using R 2.15.2 statistics software. Immediately after the spectral acquisition, chestnuts were dissected to visually determine larvae presence and to classify each spectrum into infested or not-infested classes. Visual grading was performed in the same manner as previously described.

Features for use in classification were extracted from the spectra as Raw absorbance values at each wavelength. Further, these features were extracted following a variety of spectral pretreatments including row-Mean Centering (rMC), Standard Normal Variate (SNV), Multiplicative Scatter Correction (MSC), and Savitzky-Golay first and second derivatives (D_1 , D_2) with second order polynomial (from 9 nm to 57 nm smoothing points with a step of 4 nm) (Savitzky and Golay, 1964; Boysworth and Booksh, 2008). For each pre-treated and not-pre-treated dataset, Mean Centering (MC) normalization method was also tested, and a Simulated Annealing (SA) algorithm was used to seek k -feature subsets (where k ranged from 2 to 6) which are optimal, as surrogates for

the whole dataset (Cerdeira et al., 2012). A maximum of 6-feature selection was computed to minimize overfitting. An iterative Linear Discriminant Analysis (LDA) algorithm was used to evaluate the performance of each subset for the ability to correctly classify the samples. For each iteration of the algorithm, 50% of the samples were used as a training set (476 fruit), 25% were used for validation (238fruit) and 25% were used as test set (238 fruit). No outlier selection was computed.

The Receiver Operating Characteristics (ROC) analysis was computed for evaluating the performance of each LDA model, and the respective ROC curve was plotted. The ROC curve is a two-dimensional depiction of classifier (combination of features) performance. It contains plots of the ‘false positive rate’ and the ‘true positive rate’ (also respectively called ‘1 – specificity’ and ‘sensitivity’) as a function of the threshold value (Fawcett, 2006):

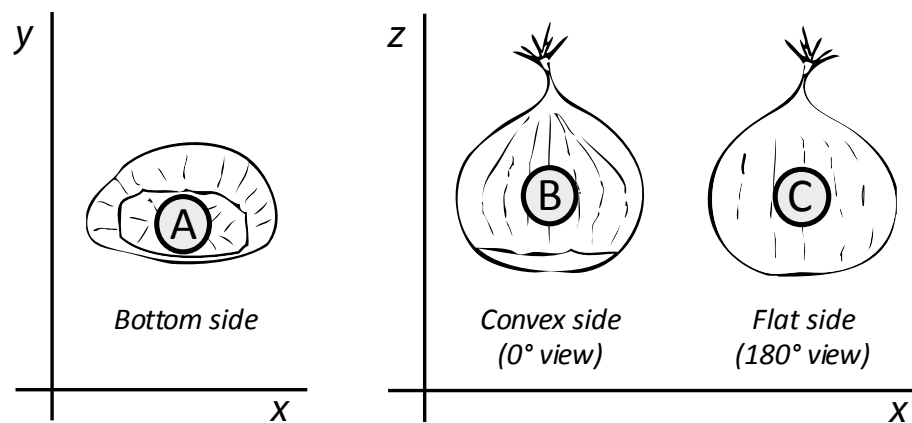
$$\text{False positive rate} = 1 - \frac{\text{True negatives}}{\text{False positives} + \text{True negatives}}$$

$$\text{True positive rate} = \frac{\text{True negatives}}{\text{Total positives}}$$

The total error rate represents the percentage of chestnuts in the test set incorrectly classified. For each ROC plot the relative Area Under the ROC Curve (AUC) was used as additional evaluation of the performance of each computed linear discrimination function (Fawcett, 2006). The AUC takes on values between 0.5 and 1.0. An AUC value close to 0.5 indicates that the two groups are not distinctly different and therefore the classifiers have a weak discriminative ability. An AUC value close to 1.0 indicates that the features have strong discriminative power and a low tendency for overlap in the distributions of the group scores (Luo et al., 2012). The AUC value corresponds to the percentage of time a random selection from the positive group will produce a score greater than a random selection from the negative group (Fielding and Bell, 1997).

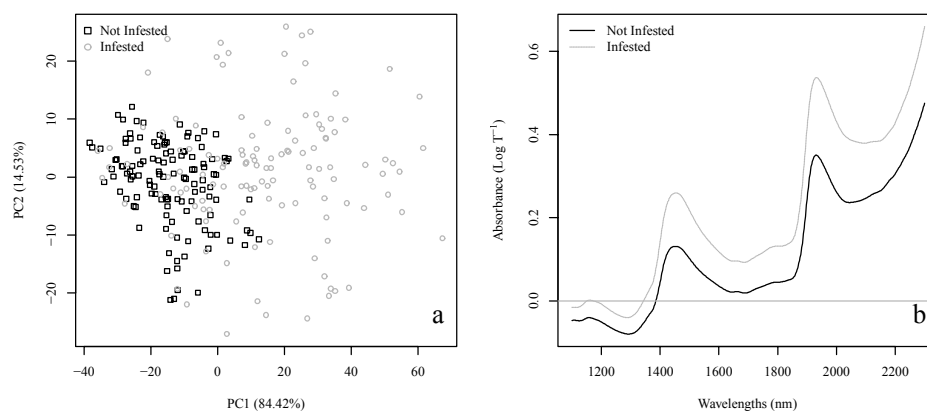
The multivariate analysis of variance (MANOVA) was conducted performing the Wilks’ λ Test for evaluating the significance of difference between classes based on the extracted feature subset.

Figure 1



Scan points of spectra acquisition.

Figure 2



PCA scores plots and relative mean absorbance spectra acquired from the side C of the fruit.

Table 1

Trial #	Dataset				Selected Features (nm)						Error rate (%)			AUC	Wilks' λ	Pr (> F)
	Scatt. C.	Norm.	SG*	Deriv.	1	2	3	4	5	6	fp	fn	total			
01	MSC	Yes	29	-	1118	1384	1422	1592	1738	1800	4.20%	17.65%	10.93%	0.9362	0.359	< 0.001
02	rMC	-	25	-	1120	1236	1386	1740	1832	-	8.40%	15.97%	12.19%	0.9227	0.451	< 0.001
03	MSC	Yes	13	-	1154	1406	1742	1800	-	-	13.45%	17.65%	15.55%	0.9174	0.473	< 0.001
04	MSC	Yes	49	-	1406	1740	1792	-	-	-	13.45%	21.85%	17.65%	0.9005	0.495	< 0.001
05	-	Yes	41	1st	1574	1760	-	-	-	-	10.92%	28.57%	19.75%	0.8546	0.665	< 0.001

Best discriminant results obtained from the side A of the fruit.

Table 2

Trial #	Dataset				Selected Features (nm)						Error rate (%)			AUC	Wilks' λ	Pr (> F)
	Scatt. C.	Norm.	SG*	Deriv.	1	2	3	4	5	6	fp	fn	total			
01	-	Yes	29	1st	1160	1376	1764	-	-	-	1.68%	19.33%	10.51%	0.946	0.597	< 0.001
02	MSC	-	37	1st	1144	1368	1768	2096	-	-	4.20%	17.65%	10.93%	0.920	0.634	< 0.001
03	MSC	Yes	49	1st	1140	1330	1738	1754	2112	-	1.68%	21.85%	11.77%	0.937	0.700	< 0.001
04	rMC	Yes	37	-	1120	1218	1390	1746	1806	2144	8.40%	15.13%	11.77%	0.934	0.522	< 0.001
05	-	Yes	21	2nd	1676	1716	-	-	-	-	8.40%	17.65%	13.03%	0.945	0.500	< 0.001

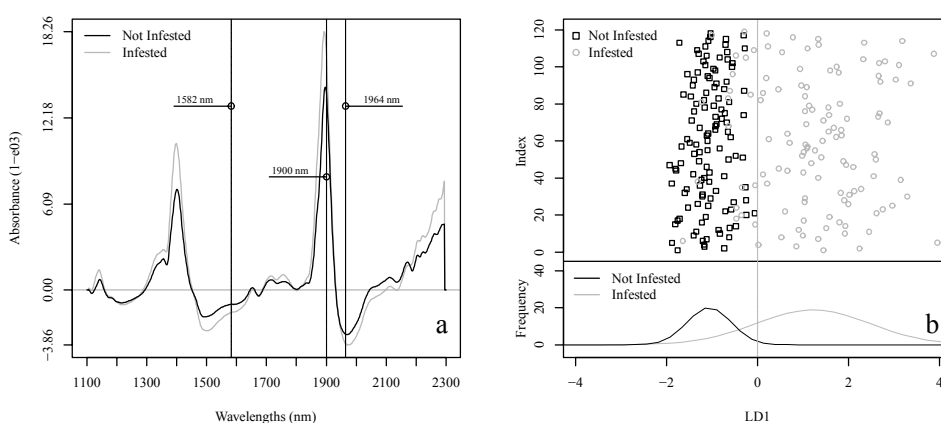
Best discriminant results obtained from the side B of the fruit.

Table 3

Trial #	Dataset				Selected Features (nm)						Error rate (%)			AUC	Wilks' λ	Pr (> F)
	Scatt. C.	Norm.	SG*	Deriv.	1	2	3	4	5	6	fp	fn	total			
01	-	-	13	1st	1582	1900	1964	-	-	-	0.00%	16.81%	8.41%	0.952	0.403	< 0.001
02	MSC	-	33	1st	1446	1778	1872	1900	1962	2200	1.68%	15.97%	8.83%	0.951	0.418	< 0.001
03	-	-	9	1st	1624	1902	1958	1970	-	-	2.52%	15.13%	8.83%	0.930	0.419	< 0.001
04	MSC	-	21	-	2178	2214	-	-	-	-	2.52%	15.13%	8.83%	0.928	0.449	< 0.001
05	rMC	-	25	-	1142	1444	1522	1946	2252	-	0.00%	17.67%	8.84%	0.924	0.412	< 0.001

Best discriminant results obtained from the side C of the fruit.

Figure 3



Mean 1st Savitzky-Golay derivative (13-nm smoothing points) of absorbance spectra and density plot of the LD1 dimension.

REFERENCES

BAKER, J.E., DOWELL, F.E., THRONE, J.E., 1999. *Detection of parasitized rice weevils in wheat kernels with near-infrared spectroscopy*. *Biological Control* 16, 88-90.

BOYSWORTH, M. K., BOOKSH, K. S., 2008. *Aspects of Multivariate Calibration Applied to Near-Infrared Spectroscopy*. In Burn, D. A., Ciurczak, W. E. (Eds.), *Handbook of Near-Infrared Analysis* (3rd ed.) (pp. 207-229). CRC Press.

BURKS, C.S., DOWELL, F.E., AND XIE, F. 2000. *Measuring fig quality using near-infrared spectroscopy*. *J. Stored Prod. Res.* 36, 289–296.

BURN, D.A., CIURCZAK, W.E., 2008. *Handbook of Near-Infrared Analysis* (3rd ed.). CRC Press, London.

CECCHINI, M., CONTINI, M., MASSANTINI, R., MONARCA, D., MOSCETTI, R., 2011. *Effects of controlled atmospheres and low temperature on storability of chestnuts manually and mechanically harvested*. *Postharvest Biol. Technol.* 61, 131–136.

CERDEIRA, J.O., SILVA, P.D., CADIMA, J., MINHOTO, M., 2012. Package ‘subselect’ 0.12-2 for use with R. Selecting variable subsets.

CHAMBERS, J., COWE, I.A., VAN WYK, C.B., WILKIN, D.R., AND CUTHBERTSON, D.C. 1992. *Detection of insects in stored products by NIR*. In ‘Near-infra-red Spectroscopy: Bridging the Gap between Data Analysis and NIR Applications’ (K.I. Hildrum, T. Isaakson, T. Naes, and A. Tandberg, eds), 203–208. Ellis Horwood, New York.

FAWCETT, T., 2006. *An introduction to ROC analysis*. *Pattern Recognition Letters* 27, 861–874.

FIELDING, A.H., BELL, J.F., 1997. *A review of methods for the assessment of prediction errors in conservation presence/absence models*. Environmental Conservation 24, 38–49.

LUO, X., TAKAHASHI, T., KYO, K., ZHANG, S., 2012. *Wavelength selection in Vis/NIR spectra for detection of bruises on apples by ROC analysis*. Journal of Food Engineering 109, 457–466.

NICOLAÏ, B.M., BEULLENS, K., BOBELYN, E., PEIRS, A., SAEYS, W., THERON, K.I., LAMMERTYN, J., 2007. *Nondestructive measurement of fruit and vegetable quality by means of NIR spectroscopy: A review*. Postharvest Biol. Technol. 46, 99–118.

PAPARATTI, B., SPERANZA, S., 1999. *Biological control of chestnut weevil (Curculio elephas Gyll.; Coleoptera, Curculionidae) with the entomopathogen fungus Beauveria bassiana (Balsamo) Vuill. (Deuteromycotina, Hyphomycetes)*. Acta Hort., 494, 459-464.

PAPARATTI, B., SPERANZA, S., 2005. *Management of chestnut weevil (Curculio spp.), insect key-pest in Central Italy*. Acta Hort. 693, 551-556.

PASQUINI, C., 2003. *Near infrared spectroscopy: fundamentals, practical aspects and analytical applications*. J. Braz. Chem. Soc. 14, 198-219.

PESHLOV, B.N., DOWELT, F.E., DRUMMOND, F.A., DONAHUE, D.W., 2009. *Comparison of three near infrared spectrophotometers for infestation detection in wild blueberries using multivariate calibration models*. Journal of Near Infrared Spectroscopy 17 , 203-212.

RAJENDRAN, S., 2005. *Detection of insect infestation in stored foods*. Advances in food and nutrition research. 49, 163-232.

RICHTER, K., TCHALALE, P. 1994. *Improved early detection of internal infestation by flotation using product-adapted salt solutions*. In ‘Stored Product

Protection: Proceedings of the 6th International Working Conference on Stored-product Protection' (E. Highley, E.J. Wright, H.J. Banks, and B.R. Champ, eds), pp. 444–447. CAB International, Wallingford, UK.

SAVITZKY, A., GOLAY, M. J. E., 1964. *Smoothing and differentiation of data by simplified least squares procedures*. Analytical Chemistry 36, 1627–1639.

SINGH, C.B., JAYAS, D.S., PALIWAL, J., WHITE, N.D.G., 2010. *Identification of insect-damaged wheat kernels using short-wave near-infrared hyperspectral and digital colour imaging*. Computers and Electronics in Agriculture 73, 118-125.

SIRISOMBOON, P., HASHIMOTO, Y., TANAKA, M., 2009. *Study on non-destructive evaluation methods for defect pods for green soybean processing by near-infrared spectroscopy*. Journal of Food Engineering 93, 502-512.

SUN, D., 2010. *Hyperspectral imaging for food quality analysis and control*. Academic Press, London.

TIGABU, M., ODÉN, P.C., 2002. *Multivariate classification of sound and insect-infested seeds of a tropical multipurpose tree, Cordia africana, with near infrared reflectance spectroscopy*. Journal of Near Infrared Spectroscopy 10, 45-51.

TIGABU, M., ODÉN, P.C., 2004. *Simultaneous detection of filled, empty and insect-infested seeds of three Larix species with single seed near-infrared transmittance spectroscopy*. New Forests 27, 39–53.

TIGABU, M., ODÉN, P.C., SHEN, T.Y., 2004. *Application of near-infrared spectroscopy for the detection of internal insect infestation in Picea abies seed lots*. Can. J. Forest Res. 34, 76–84.

WANG, J., NAKANO, K., OHASHI, S., 2011. *Nondestructive detection of internal insect infestation in jujubes using visible and near-infrared spectroscopy*. *Postharvest Biol. Technol.* 59, 272-279.

WANG, J., NAKANO, K., OHASHI, S., TAKIZAWA, K., HE, J.G., 2010. *Comparison of different modes of visible and near-infrared spectroscopy for detecting internal insect infestation in jujubes*. *J. Food Eng.* 101, 78-84.

WELLS, J.M., PAYNE, J.A., 1980. *Mycoflora and market quality of chestnuts treated with hot water to control chestnut weevil*. *Plant Dis.* 64, 999-1001.

WILKIN, D.R., COWE, I.A., THIND, B.B., MCNICOL, J.W., AND CUTHBERTSON, D.C., 1986. *The detection and measurement of mite infestation in animal feed using near infra-red reflectance*. *J. Agric. Sci.* 107, 439-448.

XING, J., GUYER, D., 2008. *Comparison of transmittance and reflectance to detect insect infestation in Montmorency tart cherry*. *Comput. Electron. Agric.* 64, 194-201.

XING, J., GUYER, D., ARIANA, D., LU, R., 2008. *Determining optimal wavebands using genetic algorithm for detection of internal insect infestation in tart cherry*. *Sensing Instr. Food Qual. Safety* 2, 161-167.

HAZELNUT QUALITY SORTING USING SWIR HYPERSPETRAL IMAGING

Roberto Moschetti ¹, Janos Keresztes ², Wouter Saeys ², Mohammad Gordazi ²,
Danilo Monarca ¹, Massimo Cecchini ¹, Riccardo Massantini ^{3*}

¹ *Department of science and technology for Agriculture, Forest, Nature and Energy, Tuscia University, Italy*

² *Division of Mechatronics, Biostatistics, and Sensors, Department of Biosystems, K.U. Leuven, Belgium*

³ *Department for Innovation in Biological, Agro-food and Forest system, Tuscia University, Italy*

* *Corresponding author*

STATUS DELL'ARTICOLO

La sperimentazione è stata condotta all'Università Cattolica di Leuven (Belgio), presso il laboratorio del '*Department of Biosystem, Division of Mechatronics, Biostatistics, and Sensors*' sotto la direzione del Prof. Wouter Saeys. Il protocollo sperimentale ha previsto l'analisi di 4 classi di qualità di nocciola 'Tonda Gentile Romana' mediante telecamera iperspettrale SWIR (Short Wavelength Infrared), allo scopo di discriminare le mandorle in base alle classi stesse di appartenenza. La configurazione strumentale è stata ottimizzata mediante una serie di prove preliminari, rivolte al perfezionamento dell'illuminazione dei campioni, all'incremento della potenza del segnale rilevato dalla telecamera durante le misurazioni ed alla riduzione del rumore negli spettri acquisiti. Tutte le misurazioni sono state eseguite a due differenti tempi di esposizione (5000 e 8000 ms), al fine di migliorare la qualità dei dati spettrali acquisiti nel range di operatività della telecamera (1100 – 2500 nm). Gli ipercubi ottenuti dalle acquisizioni sono stati elaborati mediante Matlab 2012b software (Mathworks, Massachusetts, USA). Dall'immagine iperspettrale di ogni nocciola è stato estrapolato uno spettro medio, operando una selezione dei pixel più significativi. A tal fine, è stata utilizzata una funzione in Matlab in grado di creare una maschera di selezione dell'area della nocciola.

I dati spettrali così ottenuti sono stati sottoposti ad analisi chemometrica, mediante l'impiego del pacchetto software PLS-Toolbox 7.0.3 (Eigenvector Research Inc., Wahington, USA). I risultati preliminari ottenuti permettono di discriminare le classi di qualità con successo. Tuttavia, vi sono ampi margini di ottimizzazione del modello discriminante ottenuto tramite Partial Least Square - Discriminanti Analysis (PLS-DA). Conseguentemente, la fase sperimentale di analisi chemometrica non può considerarsi ancora conclusa.

OPTIMIZATION OF HAZELNUT QUALITY SORTING USING VIS/NIR AND SWIR HYPERSPECTRAL IMAGING

Roberto Moscetti ¹, Janos Keresztes ², Wouter Saeys ², Mohammad Gordazi ²,
Danilo Monarca ¹, Massimo Cecchini ¹, Riccardo Massantini ^{3*}

¹ *Department of science and technology for Agriculture, Forest, Nature and Energy, Tuscia University, Italy*

² *Division of Mechatronics, Biostatistics, and Sensors, Department of Biosystems, K.U. Leuven, Belgium*

³ *Department for Innovation in Biological, Agro-food and Forest system, Tuscia University, Italy*

* *Corresponding author*

STATUS DELL'ARTICOLO

La sperimentazione è stata condotta all'Università Cattolica di Leuven (Belgio), presso il laboratorio del 'Department of Biosystem, Division of Mechatronics, Biostatistics, and Sensors' del Prof. Wouter Saeys. Il protocollo sperimentale ha previsto l'analisi di 4 classi di qualità di nocciola 'Tonda Gentile Romana' mediante telecamera iperspettrale Vis/NIR, allo scopo di discriminare le nocciole in base alle classi stesse di appartenenza. All'analisi iperspettrale è stata affiancata una misurazione spettrofotometrica Vis/NIR di olio e polvere di nocciola estratti dagli stessi campioni analizzati mediante telecamera iperspettrale. I dati ottenuti saranno impiegati per migliorare le performance dello studio precedentemente condotto utilizzando la sola telecamera SWIR (Short Wavelength Infrared). Anche in questo caso la configurazione strumentale è stata ottimizzata mediante una serie di prove preliminari, allo scopo di perfezionare l'illuminazione dei campioni, incrementare la potenza del segnale rilevato dalla telecamera durante le misurazioni e ridurre il rumore negli spettri acquisiti. Per le scansioni è stato impiegato un solo tempo di esposizione (57000 ms) sufficiente a garantire un'ottima qualità degli spettri in tutto il range di operatività della telecamera (300-1700 nm). Il modello discriminante, elaborato tramite Partial Least Square – Discriminant Analysis (PLS-DA), prevederà l'impiego di simultaneo di spettri Vis/NIR e SWIR.

MOSCETTI, R., CARLETTI, L., MONARCA, D., CECCHINI, M., STELLA, E., MASSANTINI, R., (in stampa). *Effect of alternative postharvest control treatments on the storability of apples Golden Delicious*. Journal of the Science of Food and Agriculture.

CARLETTI, L., BOTONDI, R., MOSCETTI, R., STELLA, E., MONARCA, D., CECCHINI, M., MASSANTINI, R., (in stampa). Use of ozone in sanitation and storage of fresh fruit and vegetables. Journal of Food Agriculture and Environment.

STELLA, E., MOSCETTI, R., CARLETTI, L., MONARCA, D., CECCHINI, M., MASSANTINI, R., 2013. *Il trattamento degli ortofrutticoli con radiazioni ionizzanti*. Industrie Alimentari, 532, 21-28.

CECCHINI, M., MONARCA, D., MOSCETTI, R., CONTINI, M., FRANGIPANE, M.T., MASSANTINI, R., 2012. *Mantenimento della qualità delle nocciole immature mediante conservazione in atmosfera modificata*. Corylus & Co., 1, 6-13.

DI GIACINTO, S., COLANTONI, A., CECCHINI, M., MONARCA, D., MOSCETTI, R., MASSANTINI, R., 2012. *Produzione casearia in ambienti termici vincolati e sicurezza degli addetti alla produzione*. Industrie Alimentari, 530, 5-12.

CECCHINI, M., MASSANTINI, R., FRANGIPANE, M.T., MONARCA, D., MOSCETTI, R., 2011. *Le aziende vitivinicole nel comprensorio dei colli e Castelli romani: sicurezza ed igiene del lavoro*. Industrie delle Bevande, 236, 34-43.

MASSANTINI, R., MOSCETTI, R., CECCHINI, M., MONARCA, D., 2010. *Mantenimento della qualità organolettica di alcuni ortofrutticoli tipici della regione Lazio minimamente processati*. Italus Hortus, 17, 73-77.

L'obiettivo principale del dottorato di ricerca è stato quello di valutare l'efficacia dell'impiego di metodiche non distruttive e tecniche chemometriche per la valutazione qualitativa dei frutti di castagna e nocciola.

I risultati della sperimentazione dimostrano che l'impiego della spettroscopia Vis/NIR, in abbinamento a metodiche di classificazione *supervised*, è in grado di raggiungere l'obiettivo prefissato, consentendo un errore minimo discriminante pari al 5.2% per le nocciole affette da *vizio occulto* ed al 8.41% per le castagne infestate da larve di insetto.

La sperimentazione è stata condotta con lo scopo di ridurre il numero di lunghezze d'onda utilizzate dalle funzioni discriminanti, con l'ulteriore intento di rendere effettivamente possibile l'applicazione on-line della metodica sviluppata. Infatti, un impiego ridotto di lunghezze d'onda consente la progettazione di macchine ottiche selezionatrici economiche, ma caratterizzate da una elevata velocità operativa, consentita dal ridotto numero di computazioni necessarie durante la classificazione dei campioni.

Data la bontà dei risultati ottenuti mediante spettroscopia Vis/NIR, le prospettive future della sperimentazione riguarderanno l'impiego dell'analisi di immagine iperspettrale per gli stessi scopi. Tale tecnologia, oltre a poter operare una classificazione del prodotto in base alla composizione chimica dello stesso, ha la capacità di analizzare la forma, la grandezza e la struttura di ciascun seme, rendendo le misurazioni più accurate rispetto alla spettroscopia classica. Le analisi saranno condotte con l'intento di selezionare piani spettrali con capacità discriminante nei confronti delle classi analizzate, in modo da consentire l'impiego dell'analisi di immagine multispettrale, la cui applicazione on-line è ad oggi possibile grazie all'evoluzione della potenza di calcolo subita dai processori ed avvenuta nell'ultimo decennio. La sperimentazione verrà inoltre condotta con l'obiettivo aggiuntivo di sviluppare una funzione discriminante in grado di discernere le classi in condizioni sfavorevoli di operatività, ossia a seguito di intimo contatto tra semi di qualità differenti.

BAKER, J.E., DOWELL, F.E., THRONE, J.E., 1999. *Detection of parasitized rice weevils in wheat kernels with near-infrared spectroscopy*. Biol. Control 16, 88-90.

BOTONDI, R., VAILATI, M., BELLINCONTRO, A., MASSANTINI R., FORNITI, R., MENCARELLI, F., 2009. *Technological parameters of water curing affect postharvest physiology and storage of marrons (Casatena sativa Mill., Marrone fiorentino)*. Postharvest Biol. Technol. 51, 1-9.

BOUNOUS, G., 2002. *Il castagno. Coltura, ambiente e utilizzazioni in Italia e nel mondo*. Edagricole, Bologna.

BOYSWORTH, M.K., BOOKSH, K.S., 2008. *Aspects of Multivariate Calibration Applied to Near-Infrared Spectroscopy*. In Burn, D. A., & Ciurczak, W. E. (Eds.), *Handbook of Near-Infrared Analysis* (3rd ed.) (pp. 207-229). CRC Press.

BREISCH H, 1993. *Harvest, storage and processing of chestnuts in France and Italy*, in International Congress on Chestnuts, Spoleto, Italy, 20–23 October 1993, ed. by Antognozzi E, University of Perugia, 429–436.

BURKS, C.S., DOWELL, F.E., AND XIE, F. 2000. *Measuring fig quality using near-infrared spectroscopy*. J. Stored Prod. Res. 36, 289–296

CEN, H., HE, Y., 2007. *Theory and application of near infrared reflectance spectroscopy in determination of food quality*. Trends Food Sci. Technol. 18, 72 – 83.

CERDEIRA, J.O., SILVA, P.D., CADIMA, J., MINHOTO, M., 2012. *Package 'subselect' 0.12-2 for use with R*. Selecting variable subsets.

CHAMBERS, J., COWE, I.A., VAN WYK, C.B., WILKIN, D.R., AND CUTHBERTSON, D.C. 1992. *Detection of insects in stored products by NIR*. In 'Near-infra-red Spectroscopy: Bridging the Gap between Data Analysis and NIR Applications' (K.I. Hildrum, T. Isaakson, T. Naes, and A. Tandberg, eds), pp. 203–208. Ellis Horwood, New York.

CHENG, X., CHEN, Y.R., WANG, C.Y., 2003. *Hyperspectral imaging and feature extraction methods in fruit and vegetable defect inspection*. An ASAE meeting presentation, Paper number: 033119.

COEN, T., SAEYS, W., RAMON, H., DE BAERDEMARKER, J., 2006. *Optimizing the tuning parameters of least squares support vector machines regression for NIR spectra*. J. Chemom. DOI:10/1002/cem.

FISHER, R.A., 1922. *The goodness of fit regression formulae and the distribution of regression coefficients*. J. R. Statist. Soc. 85, 587-612.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO), 2012. <http://www.fao.org>.

GÓMEZ-SANCHIS, J., MOLTÓ, E., GOMEZ-CHOVA, L., ALEIXOS, N., CAMPS-VALLS, G., JUSTE, F., et al., 2004. *Hyperspectral computer vision system for the detection of Penicillium digitatum in citrus packing lines*. In: 2004 CIGR International Conference, Beijing, China, 11–14 October 2004.

JERMINI, M., CONEDERA, M., SIEBER, T. N., SASSELLA, A., SCHÄRER, H., JELMINI, G., HÖHN, E., 2006. *Influence of fruit treatments on perishability during cold storage of sweet chestnuts*. J. Sci. Food Agric. 86, 877–885.

KALKAN, H., BERIAT, P., YARDIMC, Y., PEARSON, T.C., 2011. *Detection of contaminated hazelnuts and ground red chili pepper flakes by multispectral imaging*. Computers and Electronics in Agriculture 77, 28–34.

KIM, M.S., CHEN, Y.R., MEHL, P.M., 2001. *Hyperspectral reflectance and fluorescence imaging system for food quality and safety*. American Society of Agricultural and Biological Engineers, 44 (3), 721-729.

KIM, I., KIM, M.S., CHEN, Y.R., KONG, S.G., 2004. *Detection of skin tumors on chicken carcasses using hyperspectral fluorescence imaging*. Transactions of the ASAE, 47 (5), 1785–1792.

KLEYNEN, O., LEEMANS, V., DESTAIN, M.F., 2005. *Development of a multispectral vision system for the detection of defects on apples*. Journal of Food Engineering, 69 (1), 41–49.

MARTINSEN, P., SCHAARE P., 1998. *Measuring soluble solids distribution in kiwifruit using near-infrared imaging spectroscopy*. Postharvest Biol. Technol., 14, 271–281.

MEHL, P.M., CHEN, Y., KIM, M.S., CHAN, D.E., 2003. Development of hyperspectral imaging technique for the detection of apple surface defects and contaminations. J. Food Eng., 61, 67-81.

MIGLIORINI, M., FUNGHINI, L., MARINELLI, C., TURCHETTI, T., CANUTI, S., ZANONI, B., 2010. *Study of water curing for the preservation of marrons (Castanea sativa Mill., Marrone fiorentino cv)*. Postharvest Biol. Technol. 56, 95–100.

NAES, T., ISAKSOON, T., FEARN, T., DAVIES, T., 2002. *A user-friendly guide to multivariate calibration and classification*. NIR Publications.

NOORDAM, J.C., VAN DEN BROEK, W.H., MC BUYDENS, L., 2005. *Detection and classification of latent defects and diseases on raw French fries with multispectral imaging*. J. Sci. Food Agric., 85, 2249–2259.

OZAKI, Y., MORITA, S., DU, Y., 2007. *Spectral analysis*. In: Near-Infrared spectroscopy in food and science technology. Ozaki, Y., McClure, W.F., Christy, A.A., eds, Wiley J. & Sons, Inc., Hoboken, 47 – 72.

PARCERISA, J., RICHARDSON, D.G., RAFECAS, M., CODONY, R., BOATELLA, J., 1997. *Fatty Acid Distribution in Polar and Nonpolar Lipid Classes of Hazelnut Oil (Corylus avellana L.)*. J. Agric. Food Chem. 45, 3887-3890.

PESHLOV, B.N., DOWELT, F.E., DRUMMOND, F.A., DONAHUE, D.W., 2009. *Comparison of three near infrared spectrophotometers for infestation detection in wild blueberries using multivariate calibration models*. J. Near Infrared Spec. 17 , 203-212.

PIERCE, K.M., KEHIMKAR, B., MARNEY, L.C., HOGGARD, J.C., SYNOVEC, R.E., 2012. *Review of chemometric analysis techniques for comprehensive two dimensional separations data*. J. Chrom. A 1255, 3-11.

RAJENDRAN, S., 2005. *Detection of insect infestation in stored foods*. Adv. Food Nutr. Res. 49, 163-232.

SACCHETTI, G., PINNAVAIA, G.G., GUIDOLIN, E., DALLA ROSA, M., 2004. *Effects of extrusion temperature and feed composition on the functional, physical and sensory properties of chestnut and rice flour-based snack-like products*. Food. Res. Int. 37, 527–534.

SAVITZKY, A., GOLAY, M.J.E., 1964. *Smoothing and differentiation of data by simplified least squares procedures*. Analytical Chemistry 36, 1627–1639.

SCHUT, A.G.T., KETELAARS, J.J.M.H., MEULEMAN, J., 2002. *Novel imaging spectroscopy for grass sward characterization*. Biosystems Engineering, 82(2), 131-141.

SCORTICHINI, M., 2006. *Le principali avversità del nocciolo nel Lazio*. Le avversità del nocciolo in Italia, Petria 16 (1), 31-44.

SERRA BONVEHÌ, J., SERRANO ROSÙA, N., 1996. *Enzymatic activities in the varieties of the hazelnut (Corylus Avellana L.) grown in Tarragona, Spain*. Food Chem. 56 (1), 39-44.

SIRISOMBOON, P., HASHIMOTO, Y., TANAKA, M., 2009. *Study on non-destructive evaluation methods for defect pods for green soybean processing by near-infrared spectroscopy*. J. Food Eng. 93, 502-512.

SOLAR, A., VEBERIČ, R., BACHETTA, L., BOTTA, R., DROGOUDI, P., METZIDAKIS, I., ROVIRA, M., SARRAQUIGNE, J.P., SILVA, A.P., 2008. *Phenolic Characterization of Some Hazelnut Cultivars from Different European Germplasm Collections*. Atti del “7th International congress on hazelnut” 23rd – 27th June 2008 – Viterbo, Italy.

TIGABU, M., ODÉN, P.C., 2002. *Multivariate classification of sound and insect-infested seeds of a tropical multipurpose tree, Cordia africana, with near infrared reflectance spectroscopy*. J. Near Infrared Spec. 10, 45-51.

TIGABU, M., ODÉN, P.C., 2004. *Simultaneous detection of filled, empty and insect-infested seeds of three Larix species with single seed near-infrared transmittance spectroscopy*. New Forests 27, 39–53.

TIGABU, M., ODÉN, P.C., SHEN, T.Y., 2004. *Application of near-infrared spectroscopy for the detection of internal insect infestation in Picea abies seed lots*. Can. J. Forest Res. 34, 76–84.

WANG, J., NAKANO, K., OHASHI, S., 2011. *Nondestructive detection of internal insect infestation in jujubes using visible and near-infrared spectroscopy*. Postharvest Biol. Technol. 59, 272-279.

WANG, J., NAKANO, K., OHASHI, S., TAKIZAWA, K., HE, J.G., 2010. *Comparison of different modes of visible and near-infrared spectroscopy for detecting internal insect infestation in jujubes*. J. Food Eng. 101, 78-84.

WELLS, J.M., PAYNE, J.A., 1980. *Mycoflora and market quality of chestnuts treated with hotwater to control the chestnut weevil*. Plant Dis. 64, 999-1001.

WILKIN, D.R., COWE, I.A., THIND, B.B., MCNICOL, J.W., AND CUTHBERTSON, D.C., 1986. *The detection and measurement of mite infestation in animal feed using near infra-red reflectance*. J. Agric. Sci. 107, 439-448.

XING, J., BRAVO, C., JANCÁSÓK, P., RAMON, H., DE BAERDEMAEKER, J., 2005. *Detecting bruises on 'Golden Delicious' apples using hyperspectral imaging with multiple wavebands*. Biosystems Engineering, 90 (1), 27-36.

XING, J., GUYER, D., 2008. *Comparison of transmittance and reflectance to detect insect infestation in Montmorency tart cherry*. Comput. Electron. Agric. 64, 194-201.

XING, J., GUYER, D., ARIANA, D., LU, R., 2008. *Determining optimal wavebands using genetic algorithm for detection of internal insect infestation in tart cherry*. Sensing Instr. Food Qual. Safety 2, 161-167.

YANG, C., EVERITT, J.H., BRADFORD, J.M., MURDEN, D., 2004. *Airborne Hyperspectral Imagery and Yield Monitor Data for Mapping Cotton Yield Variability*. Precision Agriculture, 5 (5), 445-461.