



Progettazione di sistemi ottici semplificati per il settore agroalimentare

Roberto BEGHI¹, Valentina GIOVENZANA¹, Alessio TUGNOLO¹, Riccardo GUIDETTI¹

¹ Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali - Produzione, Territorio, Agroenergia, Università degli Studi di Milano, via Celoria 2, 20133 Milano.

Sommario

Il sistema agroalimentare italiano è per lo più caratterizzato da piccole e medie imprese che spesso, per le loro dimensioni e la ridotta possibilità di investimenti rilevanti in strumentazione analitica, sono caratterizzate dalla mancanza di informazioni importanti per la gestione e il controllo dei loro processi. Per quanto riguarda le aziende agricole, i dati analitici sulle fasi di campo e/o di trasformazione non sono facilmente disponibili e la gestione della raccolta e delle trasformazioni è sostanzialmente basata su pratiche consolidate ed esperienza degli operatori. Vi è pertanto la necessità di poter misurare in modo semplice e rapido, ma oggettivo, i parametri principali in modo da avere a disposizione informazioni importanti per condurre al meglio le fasi decisionali del processo produttivo (es. decidere il momento della raccolta, monitorare le fermentazioni, monitorare la shelf life e la post-harvest life, ecc.).

Da questo punto di vista le tecniche ottiche basate sulla spettroscopia nel visibile vicino infrarosso (vis/NIR) costituiscono un'applicazione valida, semplice e rapida per l'analisi di molti parametri relativi alla qualità delle produzioni.

Sono già presenti da alcuni anni sul mercato sistemi ottici vis/NIR e NIR per la valutazione dei principali parametri di qualità e maturazione (es. contenuto in zucchero e in polifenoli ecc.) in grado di fornire dei risultati di sicuro interesse e di elevata affidabilità. Tali dispositivi costituiscono potenzialmente un valido supporto alle diverse filiere; alcune prove condotte per esempio su mosto hanno evidenziato come tali strumentazioni possano essere di aiuto anche durante tutto il processo di fermentazione per monitorare in continuo i parametri tecnologici. I sistemi ottici utilizzati negli studi presenti in letteratura, però, sono quasi sempre dispositivi costosi complessi e il loro utilizzo reale risulta ancora molto limitato.

Alla luce di queste considerazioni, è evidente come vi sia la necessità di indirizzare la ricerca in questo ambito verso la realizzazione di dispositivi semplici a costi più accessibili anche per piccole realtà e possibilmente specifici per singole filiere, con lo scopo di favorirne la diffusione. L'applicazione di queste tecniche ottiche potrebbe essere di aiuto per il settore per un monitoraggio più razionale e oggettivo della qualità dei prodotti portando quindi a un'ottimizzazione delle filiere e fornendo anche un miglior servizio al consumatore.

Parole chiave: spettroscopia vis/NIR; frutta; verdura; qualità; chemiometria; modelli predittivi.

1. Introduzione

Il rapido e progressivo sviluppo del mercato dei prodotti ortofrutticoli cosiddetti "di alta qualità", sia per il consumo fresco che per trasformazioni ad alto valore aggiunto, mostra il crescente interesse e le maggiori aspettative da parte del consumatore nei confronti delle proprietà sensoriali, dei potenziali benefici per la salute e delle caratteristiche nutrizionali degli alimenti che acquista. Considerata la necessità di disporre in tempi brevi di informazioni per meglio gestire le fasi colturali, è in atto negli ultimi anni un sostanziale cambiamento nelle metodologie di misura. In questa ottica, si sta sempre più affermando l'opportunità di sostituire o affiancare le tecniche classiche di indagine, basate su tradizionali analisi di laboratorio, con metodiche basate prevalentemente su approcci fisici di rapida esecuzione, di limitata invasività, dall'elevata sostenibilità ambientale, applicabili sia in campo che in post-raccolta e che permettano la creazione di database di dati particolarmente vasti e potenzialmente condivisi attraverso il cloud dei dati (Guidetti et al., 2010; Williams & Norris, 2001, Zude et al., 2006). Un impulso ulteriore verso tale cambiamento sta arrivando anche dall'interesse sempre crescente verso l'adozione di tutte quelle tecnologie e metodologie riconducibili ai pilastri fondanti della nuova Industria 4.0.

Fra le diverse tecniche disponibili, la spettroscopia vis/NIR e NIR si è affermata nel settore agro-alimentare come valido strumento per il monitoraggio del processo di maturazione (Nicolai et al., 2007; Beghi et al., 2017). Gli strumenti ottici attualmente in commercio sono principalmente da laboratorio con dimensioni e costi tali da prestarsi poco all'utilizzo in campo da parte di piccoli produttori. Per ovviare a questo problema la ricerca si è concentrata negli ultimi anni su studi di fattibilità e simulazioni di sistemi semplificati di ridotte dimensioni basati su una parte dell'informazione contenuta negli spettri vis/NIR e NIR dei campioni, quella più informativa. Questi studi risultano propedeutici alla progettazione di sistemi dedicati a singole tipologie di prodotto, di dimensioni ridotte e dal costo contenuto (Costa et al., 2011; Giovenzana et al. 2015; Beghi et al. 2014 e 2013; Giovenzana et al. 2014).

A questo proposito esperienze che impiegano tecniche ottiche innovative sono già riportate anche in letteratura. Alcuni autori hanno sviluppato e indagato metodologie non distruttive che impiegano i sistemi vis/NIR o NIR per valutare i parametri tecnologici utili per classificare il prodotto vegetale conferito. I risultati mostrano come sia possibile definire con indici di correlazione interessanti ($R^2 > 0,8$) ed errori limitati ($< 10\%$) i parametri classici di riferimento (grado zuccherino, acidità, ecc.), mentre debbano essere perfezionati i dati relativi alle componenti fenoliche ad esempio su uve da vino. Gli studi relativi all'impiego di tali tecnologie, invece, nel corso del controllo dei processi come per esempio quello di vinificazione, sono molteplici e relativi a tutte le fasi. I risultati (indici di correlazione tendenti all'unità ed errori paragonabili alle normali tecniche analitiche) mostrano ampie potenzialità di impiego delle tecniche spettroscopiche nel settore risultando un utile supporto a tutte le fasi decisionali proprie dell'enologo. Ciò risulta quanto mai importante in quanto lo sviluppo di una viticoltura e una enologia avanzata deve passare necessariamente attraverso l'applicazione di metodi innovativi che possono diventare le tecnologie di riferimento anche per il supporto e la difesa delle produzioni DOC e DOCG.

Obiettivo della ricerca è pertanto la realizzazione di prototipi di sistemi ottici semplificati utilizzabili per l'analisi rapida non distruttiva dei principali parametri correlati alla maturazione e alla qualità dei prodotti. Le fasi sperimentali con l'utilizzo di strumentazione commerciale da laboratorio o portatile è cruciale per la creazione di banche dati spettrali e la definizione delle specifiche lunghezze d'onda da utilizzare nella fase di ingegnerizzazione dei dispositivi.

Le caratteristiche innovative che vengono richieste nella messa a punto dei dispositivi sono le seguenti:

- Semplicità e scalabilità nell'architettura costruttiva
- Compattezza (utilizzo in campo)

- Basso costo
- Cloud dati (IoT)

2. Metodologia

La metodologia utilizzata è suddivisibile in tre step.

Step_1: Identificazione e misura dei parametri di qualità da monitorare per ogni caso studio in funzione degli obiettivi specifici. Per ciascun caso studio vengono identificati i parametri meglio correlati all'obiettivo da raggiungere (es. stima dello stress idrico delle foglie di vite, identificazione del momento ottimale di raccolta dei frutti, monitoraggio della shelf-life del prodotto, ecc.). Questi parametri saranno analizzati mediante analisi chimico-fisiche e sensoriali e utilizzati come indici di riferimento. Verranno poi correlati con le acquisizioni spettrali effettuate sugli stessi campioni utilizzando sistemi ottici vis/NIR e NIR commerciali, sia portatili che da laboratorio.

Risultati attesi Step_1: dataset spettrali derivanti dalle misure spettroscopiche vis/NIR e NIR dei vari casi studio.

Step_2: elaborazione dei dati spettrali e selezione delle lunghezze d'onda più informative per ciascun caso studio (figura 1). Per ciascun caso studio i dati spettrali vengono elaborati per la creazione di modelli di correlazione tra dati ottici e chimici/fisici/sensoriali. Partendo da questi modelli viene eseguita una selezione delle variabili attraverso tecniche chemiometriche per l'individuazione di quelle più informative, con lo scopo di calcolare algoritmi semplificati per ciascun caso studio. La valutazione di questi algoritmi permetterà di stimare le potenziali performance predittive in termini di accuratezza delle stime in vista della progettazione dei futuri sistemi semplificati.

Risultati attesi Step_2: lunghezze d'onda informative selezionate (max 5) e algoritmi semplificati per la stima dei parametri di interesse per ogni caso studio.

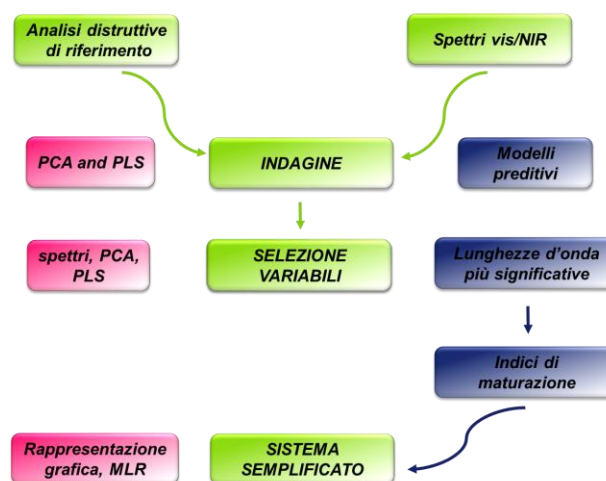


Figura 1 – Quadro sinottico delle analisi chemiometriche su dati spettrali

Step_3: Progettazione dei sistemi ottici semplificati. La fase finale consiste nella simulazione (utilizzando tecniche chemiometriche in grado di testare la selezione delle variabili) e la progettazione, per ogni caso studio, di nuovi sistemi ottici semplificati, dedicati a operatori e consumatori, per la stima dei parametri d'interesse. La

progettazione dei prototipi è impostata con particolare attenzione alla versatilità e modularità; in questo modo sarà possibile sostituire solo le sorgenti luminose a seconda delle specifiche lunghezze d'onda, permettendo di utilizzare lo stesso sistema ottico semplificato per diverse matrici vegetali e obiettivi differenti (per es. individuazione del tempo ottimale di raccolta, monitoraggio della maturazione, stima dei parametri di qualità). Una volta realizzati i pre-prototipi viene eseguita una fase finale di test della capacità di stima e classificazione dei dispositivi proposti, confrontando i dati stimati con i dati misurati come riferimento. Sulla base di questi risultati, gli algoritmi proposti potranno essere modificati/ottimizzati.

Risultati attesi Step_3: studi di comparazione tra risultati ottenibili con strumentazione semplificata con poche lunghezze d'onda e strumentazione ottica commerciale e successiva costruzione di pre-prototipi di strumenti semplificati.

3. Risultati e discussione

L'approccio metodologico per la messa a punto di sistemi semplificati basati sulla misura di poche lunghezze d'onda e dalle ridotte dimensioni è stato proposto per alcuni casi studio, con obiettivi differenti tra loro. Sono stati individuati dei casi studio come mirtillo (analisi del momento di raccolta) (Beghi et al., 2013), uva (analisi qualità tecnologica e fenolica e del momento di vendemmia) (Giovenzana et al., 2014 e 2015), foglie di vite (analisi stress idrico) (Giovenzana et al., 2017) e insalata di IV gamma (analisi della senescenza in shelf-life) (Beghi et al., 2014) per i quali sono stati determinati i parametri di qualità più significativi e mediante l'utilizzo di tecniche di analisi chemiometriche dei dati spettrali acquisiti sono state selezionate le lunghezze d'onda più informative per l'obiettivo specifico di ogni caso studio. Sono stati quindi elaborati specifici algoritmi di correlazione basati su poche variabili, utilizzabili poi nella messa a punto dei nuovi sistemi ottici semplificati. In particolare, per quanto riguarda il filone di ricerca sull'uva, è stato realizzato e sperimentato per l'analisi della maturazione di uva per la produzione di spumante Franciacorta un sistema semplificato basato su tecnologia LED per l'illuminazione dei campioni e l'acquisizione del segnale ottico a 4 specifiche lunghezze d'onda appositamente selezionate (figura 2). Si riportano di seguito con più dettaglio i risultati ottenuti per questo caso studio (Civelli et al., 2015).

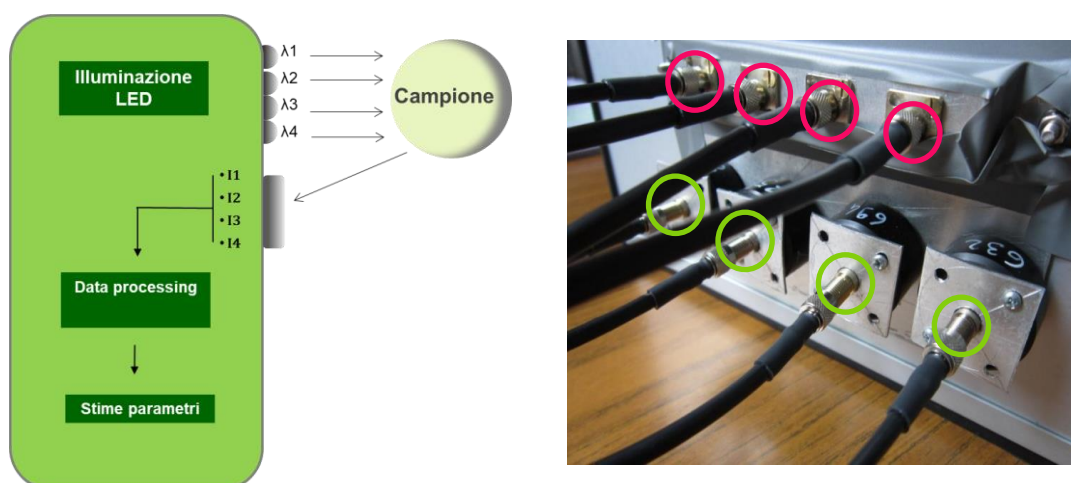


Figura 2 – Schema funzionale del pre-prototipo di sistema semplificato e particolare della fibra ottica a 8 rami appositamente realizzata (Civelli et al., 2015)

La sperimentazione del dispositivo, dopo una fase di test in laboratorio, è stata eseguita su uva bianca (*Vitis Vinifera* L.) cultivar Chardonnay utilizzata per la produzione di spumante Franciacorta. Sono stati analizzati 95 grappoli d'uva durante le ultime settimane di maturazione fino alla data di vendemmia, utilizzando sia il prototipo a LED a quattro lunghezze d'onda che uno spettrofotometro vis/NIR portatile operante nell'intervallo 400-1000 nm (2048 lunghezze d'onda), al fine di poter fare un confronto sulle performance degli strumenti.

Come analisi di riferimento per la calibrazione dei modelli previsionali sono stati misurati il contenuto in solidi solubili (SSC) e l'acidità titolabile (TA). Utilizzando i dati spettrali registrati con il sistema commerciale vis/NIR sono stati elaborati dei modelli di stima utilizzando la tecnica di regressione PLS, con validazione interna tramite cross-validazione con 7 gruppi di cancellazione. Parallelamente, i dati registrati con il sistema ottico semplificato sono stati utilizzati per la calibrazione di modelli di stima per gli stessi parametri di maturazione, in questo caso utilizzando però la tecnica di regressione MLR più adatta per dati costituiti da poche variabili. Le performance dei modelli elaborati sono state valutate mediante parametri come R^2 , RPD e RER. In tabella 1 sono riportati i risultati relativi all'elaborazione dei modelli PLS per la stima di SSC e TA derivanti dagli spettri acquisiti mediante il sistema spettrofotometrico vis/NIR.

Tabella 1. Statistica descrittiva e parametri di valutazione dei modelli PLS elaborati a partire da spettri vis/NIR per la stima di parametri di maturazione di uva bianca per la produzione di spumante Franciacorta

Parametri di maturazione	N	Media	SD	LV	Calibrazione PLS		Cross-validazione PLS			
					R^2_{cal}	RMSEC	R^2_{cv}	RMSECV	RPD	RER
CSS (°Brix) <i>su acini</i>	475	14,1	3,5	7	0,73	1,8	0,71	1,8	1,94	8,72
CSS (°Brix) <i>su grappoli</i>	95	14,2	3,2	7	0,85	1,3	0,80	1,5	2,13	8,77
Acidità (g/dm ³)	95	10,5	5,1	5	0,86	1,9	0,81	2,2	2,32	10,14

SD= deviazione standard; LV=variabili latenti

I parametri di valutazione dei modelli risultano buoni per la stima dell'SSC su grappoli e della TA con R^2 0,80-0,81, valori di RPD > 2 e valori di RER vicino a 9 per SSC su grappoli e superiori a 10 per TA. Performance leggermente inferiori sono state evidenziate dal modello calibrato per la stima dell'SSC dei singoli acini.

I valori di riflettanza registrati per ognuno dei quattro canali del prototipo di sistema semplificato (LED + fotodiodo) sono stati utilizzati per l'elaborazione dei modelli MLR di stima sui medesimi parametri di maturazione (tabella 2). In generale, si è verificata una limitata perdita di informazioni tra i modelli PLS calcolati utilizzando 2048 lunghezze d'onda e i modelli MLR elaborati impiegando solo i quattro canali del dispositivo semplificato.

Tabella 2. Statistica descrittiva e parametri di valutazione dei modelli MLR elaborati a partire dai dati acquisiti con il sistema semplificato a 4 lunghezze d'onda (630, 690, 750, 850 nm) per la stima di parametri di maturazione di uva bianca per la produzione di spumante Franciacorta

Parametri di maturazione	N	Media	SD	Calibrazione MLR		Cross-validazione MLR			
				R^2_{cal}	RMSEC	R^2_{cv}	RMSECV	RPD	RER
CSS (°Brix) <i>su acini</i>	433	14,4	3,3	0,67	1,9	0,66	1,9	1,74	8,26
CSS (°Brix) <i>su grappoli</i>	89	14,1	3,0	0,69	1,7	0,65	1,8	1,67	7,31
Acidità (g/dm ³)	89	9,9	4,5	0,87	1,6	0,85	1,8	2,50	12,40

SD= deviazione standard

La progettazione del prototipo del dispositivo ottico semplificato è stata realizzata con particolare attenzione alla versatilità e alla modularità. La possibilità infatti di modificare facilmente le sorgenti luminose con una scelta specifica di lunghezze d'onda per i LED, consente di utilizzare lo stesso dispositivo ottico semplificato per molte applicazioni differenti e per diverse matrici alimentari.

4. Conclusioni

L'elemento innovativo dell'attività di ricerca consiste nella progettazione e realizzazione di dispositivi semplici dal punto di vista sia hardware che software e quindi di basso costo, che possano affiancare la strumentazione ottica già presente sul mercato e che però attualmente incontra difficoltà di utilizzo e diffusione. La progettazione di questi nuovi dispositivi necessita di una solida e ripetuta sperimentazione per definire i modelli chemiometrici che stanno alla base della stima dei dati che sono poi in grado di fornire. Uno degli obiettivi trasversali di questo progetto è quello di far crescere la consapevolezza della validità delle metodologie innovative, rapide e non distruttive applicabili in fase di raccolta e post-raccolta. La sperimentazione effettuata ha permesso di dimostrare agli operatori come tali tecnologie, applicate alle loro produzioni, possano realmente essere di supporto alle fasi decisionali.

La ricerca gioca un ruolo fondamentale innanzitutto nell'individuazione delle possibili applicazioni grazie a studi preliminari di fattibilità nei diversi ambiti produttivi dove maggiore è la necessità di innovazione a supporto dell'analisi della qualità delle produzioni e del controllo dei processi.

A valle degli studi preliminari di fattibilità, la ricerca deve condurre le sperimentazioni e la creazione dei database spettrali sui quali applicare le opportune tecniche di analisi statistiche dei dati per selezionare le variabili informative da utilizzare nei futuri dispositivi. Questa fase di ricerca è necessaria per la progettazione di nuovi sistemi, dedicati a singole filiere e ispirati possibilmente ai principi dell'industria 4.0. La costruzione dei dispositivi può essere condotta auspicabilmente in collaborazione con i costruttori di strumentazione ottica e nuovamente fondamentale è il ruolo della ricerca durante le fasi di test in campo della strumentazione, per una successiva ottimizzazione.

Infine, la ricerca ha anche il compito non secondario di favorire il trasferimento di conoscenza tra i produttori di strumentazione e le aziende possibili utilizzatrici: questo passaggio contribuisce a fare chiarezza sulle potenzialità ma anche sui limiti della strumentazione vis/NIR, che spesso viene utilizzata come "black box" senza conoscere le basi e le peculiarità di questa tecnologia.

Bibliografia

- Beghi, R., Buratti, S., Giovenzana, V., Benedetti, S., & Guidetti, R. 2017. Electronic nose and visible-near infrared spectroscopy in fruit and vegetable monitoring. *Reviews in Analytical Chemistry*. DOI: 10.1515/revac-2016-0016
- Beghi, R., Giovenzana, V., Civelli, R., & Guidetti, R. 2016. Influence of packaging in the analysis of fresh-cut *Valerianella locusta* L. and Golden Delicious apple slices by visible-near infrared and near infrared spectroscopy. *Journal of Food Engineering*, 171, 145-152.
- Beghi, R., Giovanelli, G., Malegori, C., Giovenzana, V., & Guidetti, R. 2014. Testing of a VIS-NIR System for the Monitoring of Long-Term Apple Storage. *Food and Bioprocess Technology*, 7(7): 2134-2143.

- Beghi, R., Giovenzana, V., Civelli, R., Malegori, C., Buratti, S., & Guidetti, R. 2014. Setting-up of a simplified handheld optical device for decay detection in fresh-cut *Valerianella locusta* L. *Journal of Food Engineering*, 127: 10-15.
- Beghi, R., Spinardi, A., Bodria, L., Mignani, I., & Guidetti, R. 2013. Apples Nutraceutical Properties Evaluation Through a Visible and Near-Infrared Portable System. *Food Bioprocess Technol.*, 6: 2547-2554.
- Beghi, R., Giovenzana, V., Civelli, R., Malegori, C., Buratti, S., & Guidetti, R. 2014. Setting-up of a simplified handheld optical device for decay detection in fresh-cut *Valerianella locusta* L. *Journal of Food Engineering*, 127, 10-15.
- Beghi, R., Giovenzana, V., Spinardi, A., Guidetti, R., Bodria, L., & Oberti, R. 2013. Derivation of a blueberry ripeness index with a view to a low-cost, handheld optical sensing device for supporting harvest decisions. *Transactions of the ASABE*, 56(4), 1551e1559.
- Civelli, R., Giovenzana, V., Beghi, R., Naldi, E., Guidetti, R., & Oberti, R. 2015. A simplified, light emitting diode (LED) based, modular system to be used for the rapid evaluation of fruit and vegetable quality: development and validation on dye solutions. *Sensors*, 15(9), 22705-22723.
- Costa, G., Bonora, E., Fiori, G., & Noferini, M. 2011. *Acta Horticulturae*, 913: 575-581.
- Giovenzana, V., Beghi, R., Parisi, S., Brancadoro, L., & Guidetti, R. (2017). Potential effectiveness of visible and near infrared spectroscopy coupled with wavelength selection for real time grapevine leaf water status measurement. *Journal of the Science of Food and Agriculture* (in press).
- Giovenzana, V., Beghi, R., Civelli, R., & Guidetti, R. 2016. Application of NIR spectroscopy and development of simplified optical devices for the fresh-cut fruit and vegetable sector. *NIR news*, 27(2), 4-6. doi: 10.1255/nirn.1589.
- Giovenzana, V., Beghi, R., Malegori, C., Civelli, R., & Guidetti, R. 2014. Wavelength selection with a view to a simplified handheld optical system to estimate grape ripeness. *Am. J. Enol. Vitic.* 65(1): 117-123.
- Giovenzana, V., Beghi, R., Buratti, S., Civelli, R., & Guidetti, R. 2014. Monitoring of fresh-cut *Valerianella locusta* Laterr. shelf life by electronic nose and VIS-NIR spectroscopy. *Talanta*, 120, 368-375.
- Giovenzana, V., Civelli, R., Beghi, R., Oberti, R., & Guidetti, R. 2015. Testing of a simplified LED based vis/NIR system for rapid ripeness evaluation of white grape (*Vitis vinifera* L.) for Franciacorta wine. *Talanta*, 144, 584-591.
- Guidetti, R., Beghi, R., & Giovenzana, V. 2012. Chemometrics in Food Technology. In: InTech (Eds.), *Chemometrics in Practical Applications*, ISBN: 978-953-51-0438-4.
- Guidetti, R., Beghi, R., & Bodria, L. 2010. Evaluation of Grape Quality Parameters by a Simple Vis/NIR System. *Trans. ASABE*, 53, 477-484.
- Guidetti, R., Beghi, R., Bodria, L., Spinardi, A., Mignani, I., & Folini, L. 2009. Prediction of blueberry (*Vaccinium corymbosum*) ripeness by a portable Vis-NIR device. *Acta Hort.* (ISHS), 810, 877-886.
- Nicolai, B.M., Beullens, K., Bobelyn, E., Peirs, A., Saeys, W., Theron, K.I., & Lammertyna, J. 2007. *Postharvest Biology and Technology*, 46: 99-118.
- Williams, P., & Norris, K. 2001. *Near-Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries*, 2nd edition, American Association of Cereal Chemists, St. Paul, Minnesota, USA.
- Zude, M., Herold, B., Roger, J.M., Bellon-Maurel, V., & Landahl, S. 2006. *J. Food Eng.*, 77: 254-260.