

ALMA MATER STUDIORUM – UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

DOTTORATO DI RICERCA IN

Ingegneria Agraria

Ciclo XXIII

Settore scientifico-disciplinare di afferenza: **AGR09**

Titolo della tesi:

**APPLICAZIONI INDUSTRIALI E DI RICERCA DELLA
SPETTROSCOPIA NIR PER LA VALUTAZIONE DI
INDICI QUALITATIVI DI PRODOTTI ALIMENTARI**

Presentata da:

Dott.ssa Florina A. Silaghi

Relatore

Dr. Luigi Ragni

Ing. Angelo Fabbri

Coordinatore Dottorato

Prof. Ing. Adriano Guarnieri

Esame finale anno 2011

INDICE

Nota Introduttiva.....	1
------------------------	---

CAPITOLO 1

SPETTROSCOPIA NEL VICINO INFRAROSSO (NIR)	3
Spettroscopia infrarossa.....	5
Spettroscopia nel vicino infrarosso.....	6

CAPITOLO 2

LA SPETTROSCOPIA NIR IN AMBITO ALIMENTARE.....	13
Bibliografia.....	23

CAPITOLO 3

STIMA DELLE PROPRIETÀ REOLOGICHE DEL GELATO ATTRAVERSO

LA SPETTROSCOPIA FT-NIR

Introduzione.....	29
Il Gelato.....	31
La Reologia.....	43
Materiali e metodi.....	49
Risultati e discussioni.....	55
Conclusioni	59
Bibliografia.....	61

CAPITOLO 4

APPLICAZIONI DELLA SPETTROSCOPIA NIR E DELL'ANALISI

MULTIVARIATA PER LA CARATTERIZZAZIONE DELLE ALBICOCHE

Introduzione.....	65
Albicocco.....	67
Materiali e metodi.....	73
Risultati e discussioni.....	79
Conclusioni	87
Bibliografia.....	89

CAPITOLO 5

STATISTICA MULTIVARIATA E SPETTROSCOPIA FT-NIR PER LA VALUTAZIONE DI INDICI DI QUALITA' IN SEI VARIETA' DI DATTERO

Introduzione.....	93
Il Dattero.....	97
Materiali e metodi.....	105
Risultati e discussioni.....	111
Conclusioni	121
Bibliografia.....	123

CAPITOLO 6

DETERMINAZIONI DELLE ORIGINI DI PROVENIENZA DI PISTACCHIO FRESCO MEDIANTE L'IMPIEGO DI SPETTROSCOPIA NIR A RIFLETTANZA DIFFUSA

Introduzione.....	127
Il Pistacchio.....	131
Materiali e metodi.....	137
Risultati e discussioni.....	145
Conclusioni	151
Bibliografia.....	153

Nota Introduttiva

Nella trattazione di questo lavoro di tesi verranno indagati aspetti qualitativi di prodotti che non rientrano nel panorama delle produzioni alimentari classiche dell'industria alimentare italiana, fatta eccezione per l'albicocca che, comunque è uno dei frutti meno studiati con le metodiche qui considerate.

Lo sviluppo dei sistemi di calcolo, grazie all'evoluzione dell'hardware ed alla nascita di sistemi software evoluti dedicati all'elaborazione statistica dei dati, ha permesso l'applicazione di tecnologie sempre più avanzate anche nell'analisi di prodotti di nicchia.

L'analisi spettroscopica nel vicino infrarosso, applicata all'industria chimica da oltre un ventennio e, successivamente, a quella alimentare sta riscuotendo un grande successo per l'analisi non distruttiva in linea e fuori-linea dei più svariati prodotti alimentari.

I lavori che verranno di seguito illustrati spaziano dall'uso della spettroscopia per la determinazione di alcuni indici reologici sul gelato artigianale alle applicazioni della spettroscopia NIR per la caratterizzazione dei principali indici qualitativi delle albicocche, dei datteri da consumo fresco, fino alla determinazione delle zone di produzione del pistacchio.

A fianco della spettroscopia verranno illustrate diverse metodiche di calcolo statistico multivariato per l'interpretazione degli spettri o per la costruzione di modelli di stima qualitativa.

La tesi si articola in quattro distinte ricerche che prendono in considerazione altrettanti specifici prodotti. Ciascuna di esse è introdotta da una propria premessa e conclusa con una propria bibliografia. Le singole ricerche sono precedute da una trattazione generale sullo stato dell'arte e sui fondamenti della spettroscopia NIR.

CAPITOLO 1

SPETTROSCOPIA NEL VICINO INFRAROSSO (NIR)

Il primo spettro nel vicino infrarosso venne registrato nel 1800 quando Herschel proseguì le proprie misure sul calore di emissione solare al di là della porzione “rossa” dello spettro visibile.

Fu comunque a partire dal 1881 che Abney e Festing valutarono, mediante strumenti fotografici, gli spettri di alcuni liquidi organici nel vicino infrarosso tra 700 e 1200 nm. Essi riconobbero l'importanza dei legami che coinvolgono l'idrogeno nella formazione di assorbimenti proprio in questa regione spettrale.

Sebbene le origini della spettroscopia nel vicino infrarosso risiedano in Europa, fino al 1945 la maggior parte degli sviluppi successivi in tale campo si ebbe negli Stati Uniti d'America.

La ricerca nelle comunicazioni durante la seconda guerra mondiale, portò alla conoscenza di rilevatori fotoelettrici per la regione del vicino infrarosso e quindi alla possibilità di impiegare spettrofotometri NIR.

Le basi per le analisi moderne in questa zona spettrale cominciarono a porsi intorno agli anni '50, quando il Dipartimento di Agricoltura degli Stati Uniti d'America venne coinvolto in un programma di ricerca con lo scopo di sviluppare metodi chimico-fisici al fine di ricavare rapide valutazioni di tipo qualitativo sugli alimenti.

Fino al 1978 vennero posti in commercio solo strumenti a filtro progettati per applicazioni specifiche. L'impulso per ulteriori progressi nell'utilizzo di tali mezzi venne poi dalla disponibilità commerciale di spettro-computer, il Neotec 6350 Research Composition Analyzer (Landa 1979) e il Technicon InfraAnalyzer 500 (Fearn 1982). Questi strumenti portarono ad un vero e proprio flusso di pubblicazioni insieme a risultati di ricerca sull'applicazione del NIR agli alimenti.

Il potenziamento della spettroscopia nel vicino infrarosso successivamente seguì i progressi che si ebbero nei diversi settori della tecnologia quali: ottica, elettronica, hardware e software e, soprattutto, chemiometria.

La tecnologia ottica avanzò già a partire dal 1945, quando si passò dall'utilizzo di “registratori fotografici” degli spettri e di galvanometri a tamburo, all'utilizzo di

diodi, di monocromatori acustico-ottici e di fibre ottiche, attraverso filtri reticolari a diffrazione olografica e filtri ad interferenza. Ognuna di queste tecnologie ha esteso la capacità del NIR.

Le moderne strumentazioni debbono comunque la loro esistenza soprattutto ad un microprocessore in cui vengono immagazzinate tutte le calibrazioni e che è in grado di convertire i dati spettrali in risultati analitici.

La spettroscopia nel vicino infrarosso ha numerosi vantaggi rispetto a più tradizionali metodiche chimiche o di tipo strumentale che vengono utilizzate per le analisi di alimenti e bevande, sebbene alcune di queste tecniche spesso la completino piuttosto che competere con essa. Gli strumenti NIR vennero inizialmente utilizzati per le analisi di alimenti perché le basse assorbanze delle bande di assorbimento erano compatibili con campioni moderatamente concentrati ed inoltre perché le distanze delle traiettorie più lunghe erano assimilabili a quelle del medio infrarosso, regione verso la quale erano stati concentrati molti studi e ricerche. Tali traiettorie fecero sì che gli spettri potessero essere misurati mediante trasmissione attraverso materiali intatti. Ciò permise, e consente tutt'oggi, analisi rapide e non distruttive che non comportano la preparazione dei campioni. Gli spettri NIR di campioni intatti, opachi e biologici possono inoltre essere ottenuti mediante riflettanza diffusa, in modo tale da non richiedere l'utilizzo di celle particolari. Inoltre i materiali ottici che costituiscono uno strumento NIR e la bassa assorbanza dell'acqua, rendono questa regione spettrale particolarmente adatta per le analisi di campioni quali alimenti e bevande, che ne contengono appunto un'alta percentuale.

Tutti questi fattori contribuiscono a far sì che le analisi mediante spettrofotometri NIR siano molto semplici da effettuare, sia da parte di personale tecnicamente non specializzato, sia anche automaticamente in linea.

Un aspetto aggiuntivo da non sottovalutare è il fatto che la tecnica NIR è stata sempre considerata come una "matrice" campione-dipendente, di conseguenza lo sforzo richiesto nella calibrazione è stato spesso giustificato solo per un numero elevato di campioni uniformi da dover analizzare; per questa ragione le industrie di macinazione, di fermentazione ed i caseifici sono stati i primi ad utilizzare uno strumento di questo tipo su larga scala, mentre i laboratori che si occupano delle analisi di un ampio range di campioni alimentari, sono sempre stati meno interessati all'impiego di tale tecnica (Osborne & Fearn, 1993).

SPETTROSCOPIA INFRAROSSA

La spettroscopia infrarossa è una tecnica di analisi che si basa sulle interazioni tra la materia e le radiazioni elettromagnetiche aventi lunghezza d'onda nella regione tra 0.75 e 1000 μm . Sia per la strumentazione che per la sua utilizzazione, lo spettro infrarosso è comunemente suddiviso, per praticità, in regioni dette *vicino*, *medio* e *lontano* infrarosso, i cui limiti approssimativi sono rispettivamente 0.75 – 2.5 μm ; 2.5 – 50 μm ; 50 – 1000 μm .

La maggioranza delle applicazioni analitiche è tuttavia ristretta alla porzione del medio infrarosso compresa tra 2.5 e 25 μm , anche se nell'attuale letteratura analitica le applicazioni nelle regioni del vicino e lontano infrarosso sono in continuo aumento.

La spettroscopia infrarossa ha estese applicazioni in analisi qualitative e quantitative. Il suo uso più importante e caratteristico è tuttavia quello per l'identificazione di composti organici che danno, nella regione del medio infrarosso, spettri generalmente complessi con numerosi massimi e minimi, utili per consentire dei confronti. In molti casi, infatti, lo spettro infrarosso di un composto organico fornisce un'impronta digitale univoca che è facilmente distinguibile dagli assorbimenti di tutti gli altri composti; solo gli isomeri ottici assorbono esattamente allo stesso modo.

Oltre alla sua applicazione come metodo analitico qualitativo, la spettroscopia infrarossa può essere usata come metodo analitico quantitativo. In questo caso, l'elevata selettività del metodo, spesso consente la determinazione quantitativa di un analita in una miscela complessa con una limitata o addirittura nessuna separazione preliminare. Le più importanti analisi di questo tipo riguardano gli inquinanti atmosferici derivanti dai processi industriali. La spettroscopia di assorbimento infrarossa ha un'ulteriore importante utilizzazione come rivelatore in gascromatografia, abbinando così la possibilità di identificare i composti con la notevole abilità di questa tecnica nel separare i componenti di miscele complesse; questa applicazione è stata potenziata con lo sviluppo di spettrofotometri a trasformata di Fourier (Skoog & Leary, 1995).

L'assorbimento della radiazione infrarossa comporta una variazione degli stati vibrazionali molecolari, di conseguenza lo studio degli spettri d'assorbimento infrarosso permette di trarre informazioni sulla flessibilità delle molecole, cioè

sulla facilità con cui le lunghezze e gli angoli di legame possono variare rispetto ai valori che essi posseggono nella configurazione di equilibrio.

Se si considera una molecola con n atomi come un insieme di n masse atomiche, collegate fra di loro da legami dotati di una certa elasticità, l'insieme dei movimenti molecolari di vibrazione è a prima vista molto complesso. Tuttavia esso può essere considerato come una combinazione di vibrazioni relativamente semplici dette *vibrazioni normali*. Infatti, la molecola ha nel suo insieme $3n$ gradi di libertà totali, avendo ciascun atomo tre gradi di libertà corrispondenti al movimento nelle tre direzioni x , y e z .

Se si tolgono i gradi di libertà traslazionali e rotazionali che possiede la molecola (considerata nel suo insieme), ciò che rimane rappresenta il numero di gradi di libertà vibrazionali o vibrazioni normali.

In conclusione, poiché i gradi di libertà traslazionali di una molecola considerata nel suo complesso (cioè con tutta la massa localizzata nel baricentro delle masse) sono tre e poiché i gradi di libertà rotazionali sono ancora tre intorno ai tre assi principali (2 se la molecola è lineare, cioè se due assi sono eguali e coincidenti), si ha che il *numero dei gradi di libertà vibrazionali* che definiscono tutto il movimento vibrazionale nell'insieme molecolare è $3n-6$ ($3n-5$ per una molecola lineare).

SPETTROSCOPIA NEL VICINO INFRAROSSO

La regione del vicino infrarosso (NIR) si estende dal limite superiore delle lunghezze d'onda della regione del visibile (circa 750 nm) fino a 2500 nm. Le zone di assorbimento in questa regione sono bande di armoniche o di combinazione di bande di stiramento vibrazionale fondamentali che cadono nella regione da 3000 a 1700 cm^{-1} ; i legami interessati sono generalmente C-H, N-H e O-H. Poiché si tratta di bande armoniche o di combinazione, i loro coefficienti di estinzione molare sono piccoli e il loro limite di determinazione è dell'ordine dello 0,1%.

Nota: estinzione molare = assorbanza specifica di una soluzione a concentrazione molare unitaria, ad una data lunghezza d'onda, attraverso una cella di lunghezza ottica unitaria (in genere espressa in centimetri).

Designazioni chimiche delle bande del vicino infrarosso

La vibrazione di una molecola può essere descritta o come *stretching* o come *bending*. La vibrazione in cui esiste un continuo cambiamento nella distanza interatomica lungo l'asse del legame fra due atomi è nota come stretching. Nel caso di un gruppo triatomico AX₂, lo stretching può verificarsi simmetricamente per mezzo dei due legami AX che vibrano contemporaneamente verso l'interno e l'esterno della molecola, o asimmetricamente quando essi vibrano in direzioni opposte.

La vibrazione che invece coinvolge un cambiamento nell'angolo di legame è nota come bending e può essere ulteriormente classificata in quattro tipi: scisso ring, docking, wagging, twisting.

Essi sono anche noti rispettivamente come deformazione simmetrica nel piano, deformazione asimmetrica nel piano, deformazione simmetrica fuori dal piano e deformazione asimmetrica fuori dal piano.

Ognuno di questi modi di vibrazione può dare origine a overtones oppure a combinazioni osservabili nella regione del vicino infrarosso.

I legami che coinvolgono l'idrogeno, il più leggero degli atomi, vibrano con maggiore ampiezza quando sono sottoposti a stretching e perciò questo moto devia in maniera più apprezzabile da quello armonico. Di conseguenza, quasi tutte le bande di assorbimento osservate nel NIR derivano da overtones di stretching idrogenionico che coinvolgono i gruppi funzionali AH_y o da combinazioni che riguardano i modi di vibrazione di stretching e bending di tali gruppi.

Nota: overtone = componenti di frequenza superiore alla fondamentale contenuta in un suono complesso.

Interpretazione degli spettri NIR

La maggior parte degli spettri NIR può essere spiegata mediante assegnazione delle bande di overtone e di combinazione delle vibrazioni fondamentali che coinvolgono i diversi tipi di stretching idrogenionico.

Bande di overtone del gruppo C-H

Il legame C-H è sicuramente il legame più importante nelle molecole organiche e le sue bande fondamentali di stretching si trovano nelle seguenti regioni spettrali:

- 3364-3517 nm: alcani
- 3322-3231 nm: alcheni e sistemi aromatici
- 3021-3012 nm: alchini

Studi successivi hanno mostrato che gli spettri di cinquanta alcani rientravano nella regione compresa tra 1694 e 1769 nm circa. La banda del metilene è stata individuata tra 1730 e 1763 nm, quella relative al metile a 1704, 1706 e 1724 nm. I gruppi aromatici presentano un primo e secondo overtone a 1685 e 1143 nm.

Bande di overtone del gruppo O-H

Lo spettro NIR dell'acqua fu pubblicato da Curcio e Petty nel 1951. Esso includeva bande relative al primo e al terzo overtone dello stretching del gruppo O-H a 1450, 969, e 760 nm. La posizione di queste bande, come tutte quelle che caratterizzano un ossidrilico, è dipendente dalla temperatura e dalle condizioni del legame idrogeno, sebbene il primo overtone del gruppo O-H in acqua legata a proteine è stato comunque osservato a 1450 nm. La prima banda di overtone dell'ossidrilico negli alcoli e nei fenoli è presente nella regione tra 1405 e 1425 nm, con un secondo picco tra 945 e 985 nm. Nei carboidrati la prima banda a circa 1439.885 nm è stata attribuita al primo overtone della vibrazione di stretching di un gruppo O-H libero, mentre i picchi corrispondenti a 1490 e 1439 nm sono dovuti ad un gruppo O-H legato rispettivamente ad un idrogeno intra e intermolecolare.

Bande di overtone del gruppo N-H

Per quanto riguarda le ammine primarie ci si aspetta una doppia banda a circa 1500 e 1530 nm dovuta ad un primo overtone di stretching del gruppo N-H e una banda a circa 1000 nm relativa al secondo overtone. Le ammine secondarie dovrebbero presentare una banda singola tra 1520 e 1540 nm e 1030 nm. Le ammine aromatiche mostrano assorbimenti attorno a 1459, 1500 e 1000 nm; non ci si aspetta nessuna banda di assorbimento dovuta al gruppo N-H per quanto riguarda invece le ammine terziarie.

Bande di overtone eterogenee

Ci sono poche altre bande, a parte quelle che interessano i legami C-H, O-H o N-H, che possono essere considerate importanti negli spettri NIR degli alimenti.

Ad esempio, il gruppo carbonile presenta un'intensa banda fondamentale a circa 1700

nm e perciò ci si dovrebbe aspettare che possieda anche da uno a cinque overtone a circa 2898, 1950, 1450, 1160 e 970 nm. In aldeidi e chetoni è stata osservata una banda relativa al secondo overtone attorno a 1960 nm, per gli esteri, tale banda è collocata a 1899 e 1949 nm, per i peptidi, a 1919 nm e infine per gli acidi carbossilici a 1899 nm.

Bande di combinazione del gruppo O-H

Curcio e Petty nel 1951 hanno osservato una banda a 1940 nm nello spettro dell'acqua liquida, mentre Hecht e Wood nel 1956 hanno individuato un picco a 1945 nm che essi hanno attribuito all'acqua legata a proteine. Questa banda è indubbiamente una combinazione di stretching del gruppo O-H a 2857 nm con la deformazione che esso subisce a 6079 nm. Da un punto di vista analitico questo è indiscutibilmente il più importante assorbimento nella regione spettrale del vicino infrarosso.

Una banda di combinazione O-H stretching/O-H deformazione si riscontra in tutti i composti idrossilici, ad esempio, per l'etanolo, essa è presente a circa 2079 nm.

Bande di combinazione del gruppo N-H

Le ammine primarie in genere presentano un picco di combinazione relativo al rapporto N-H stretching/N-H deformazione a circa 2000 nm. Le proteine invece mostrano tre bande di assorbimento principali, nella regione della combinazione del gruppo N-H, a 1980, 2049 e 2180 nm (Osborne & Fearn, 1993).

Aspetti pratici delle analisi nel vicino infrarosso

Come già precedentemente descritto, la tecnica NIR si basa sulla discriminazione nello spettro del prodotto esaminato e delle bande ascrivibili al componente da determinare, per comparazione con gli spettri di un gruppo di campioni di riferimento, di cui è nota la concentrazione del componente, determinata con metodi classici, per ricavare quella contenuta nel campione in analisi, risolvendo equazioni di calibrazione basate sull'assorbimento degli standard alle lunghezze d'onda selezionate.

La complessità degli spettri e il numero di variabili coinvolte richiedono l'intervento di procedimenti chemiometrici atti ad assicurare la validità dei risultati mediante un adatto supporto informatico.

Gli algoritmi più applicati nelle calibrazioni per l'analisi quantitativa sono la regressione lineare multipla delle derivate delle assorbanze, la regressione multivariata del componente principale (PCR) e il metodo dei minimi quadrati (PLS). Per la valutazione qualitativa si considerano l'analisi discriminante e le distanze di Mahalanobis, coadiuvate dall'analisi dei "cluster" quando si devono discriminare sostanze simili.

I software di calibrazione per analisi quantitativa e identificazione qualitativa sono di solito inclusi nel sistema strumentale; alcuni permettono all'utente di scegliere, tra più algoritmi o modelli, quelli adatti alla sua analisi. Altri software sono fornibili separatamente per le diverse esigenze, con tecniche particolari di elaborazione dei dati e con biblioteche di spettri per l'analisi qualitativa.

E' tuttora in corso lo studio degli algoritmi atti a semplificare e validare il trattamento dei dati spettrali NIR, tra cui la possibilità di applicare alla selezione delle lunghezze d'onda gli algoritmi genetici provenienti dalle ricerche sull'intelligenza artificiale e la spettroscopia NIR di correlazione bidimensionale (Polesello, 1998).

La calibrazione comporta la scelta di un certo numero di campioni che possiedano sia valori di riferimento che dati NIR e l'utilizzo di un modello matematico-statistico in grado di fornire, a partire proprio da questi dati, un'equazione di calibrazione che possa essere successivamente impiegata per prevedere il valore di riferimento di campioni incogniti.

Nel caso di prodotti agro-alimentari la calibrazione dei campioni deve soddisfare due precisi criteri: per prima cosa deve essere presente un numero sufficientemente elevato di campioni al fine di rendere ragionevolmente precisa la stima delle costanti di calibrazione; in secondo luogo gli stessi campioni devono risultare anche sufficientemente variabili in tutti i loro aspetti, in modo tale da poter essere rappresentativi di una popolazione di campioni incogniti che verranno testati in altri momenti.

Entrambi i criteri devono interagire bene fra loro e di solito la necessità di soddisfare principalmente il secondo rispetto al primo, garantisce la presenza di un numero sufficiente di campioni.

Lo scopo di includere più fonti di variabilità possibili all'interno del set di calibrazione è quello di ottenere un'equazione che sia adatta e conforme ad una stessa variabilità di campioni diversi e sconosciuti. La distribuzione dei campioni incogniti all'interno di questo ampio range di variabilità, in molti casi tenderà all'andamento di una gaussiana, con una concentrazione dei valori nella zona centrale di questa curva. Se viene utilizzato, come di solito accade, il cosiddetto metodo di calibrazione inversa di misure di regressione di riferimento sui dati spettrali, campioni selezionati random riusciranno a dare un'equazione maggiormente rappresentativa dei valori di riferimento vicini alla popolazione principale rispetto a ciò che accade per campioni che distano due deviazioni standard dalla medesima popolazione (Osborne & Fearn, 1993).

CAPITOLO 2

LA SPETTROSCOPIA NIR IN AMBITO ALIMENTARE

La spettroscopia NIR già da alcuni anni, si è proposta come valida alternativa alle tradizionali metodologie di analisi, in virtù del fatto che è una tecnica rapida, semplice da impiegare, ma soprattutto non richiede una preparazione del campione, il che significa, oltre ad un risparmio di manodopera, anche assenza di rifiuti di laboratorio. Questo fa sì che essa possa essere applicata direttamente in linea fornendo dati di processo in tempo reale.

Nel settore agro-alimentare la spettroscopia NIR è stata notevolmente impiegata per la determinazione di proteine, grassi, umidità, fibra, ceneri e amido su tutta la filiera, a partire dall'industria mangimistica, per rilevare la presenza di farine animali, in matrici vegetali, fino al controllo qualità a valle delle linee di produzione.

Una delle prime pubblicazioni risale al 1964 quando Norris utilizzò la spettroscopia NIR per la prima volta per misurare l'umidità nel grano. Da quel momento è stata utilizzata principalmente per misure rapide del contenuto di umidità, grassi, proteine di molte varietà di prodotti agroalimentari (Davis and Grant, 1987; Gunasekaran and Irudayaraj, 2001).

Le prime applicazioni in linea hanno riguardato prodotti a basso contenuto idrico, in quanto presentavano spettri più semplici da interpretare mediante software chemiometrici allora disponibili; tra questi vanno annoverati farine, malto, zucchero, amido, cioccolato, caffè e tè.

Le sonde impiegate per effettuare le analisi in linea di questa tipologia di prodotti, possono essere diverse in funzione della matrice; in genere presentano un fascio di fibre ottiche delle quali una percentuale variabile, in genere la metà, invia il segnale al campione, mentre l'altra metà raccoglie l'energia retrodiffusa dallo stesso.

Nell'industria molitoria la sonda dello spettrofotometro viene posizionata sopra un nastro trasportatore sul quale passa la matrice da analizzare; l'acquisizione viene fatta in automatico ad intervalli di tempo regolari. In base al parametro per

il quale si è calibrato il sistema, si possono ottenere dati relativi ad umidità, proteine, grasso e fibra.

In seguito è avvenuta l'estensione del metodo all'industria dei prodotti da forno come biscotti e merendine, dove l'alta produzione oraria e la notevole variabilità del prodotto rende impossibile un controllo su campioni rappresentativi. Le acquisizioni vengono effettuate dopo cottura e preraffreddamento; i parametri analizzati sono quelli visti prima, in più l'umidità che in questo campo gioca un ruolo importante in quanto direttamente correlabile con la shelf-life.

Le applicazioni per i prodotti che contengono molta acqua, i cui gruppi ossidrilici presentano bande di assorbimento caratteristiche nella regione del vicino infrarosso, sono state possibili grazie all'impiego di sonde a cammino ottico fisso: la luce in uscita dalle fibre ottiche attraversa uno spazio fisso contenente il campione, quindi colpisce uno specchio, che la riflette verso la sorgente. Tecnicamente esse possono essere considerate come delle "cuvette mobili" che vengono generalmente posizionate all'interno di condutture per alimenti liquidi in posizione ortogonale rispetto al flusso che colpisce la sonda.

Il settore lattiero-caseario è uno dei comparti che storicamente si avvale di tecniche spettroscopiche per la determinazione di alcuni parametri caratteristici, anche se le lunghezze d'onda tradizionalmente impiegate appartengono al medio infrarosso.

Le ragioni che hanno portato ad un maggiore utilizzo della tecnica NIR sono le stesse che hanno fatto affermare questa applicazione in altri settori quali rapidità, semplicità e non preparazione del campione.

La determinazione in linea delle caratteristiche del latte è un fattore di estrema importanza per caseifici e centrali del latte, non solo per controllare l'esattezza dei dati riportati in etichetta ma anche per garantire uniformità di prodotto ad esempio quanto a gusto e consistenza costanti.

Attualmente i valori dei parametri classici del latte vengono controllati in laboratorio, ad intervalli più o meno lunghi, con analisi di tipo manuale o con strumenti IR; questo controllo è vincolato a procedure di campionamento ed analisi che comportano tempi di attesa dei risultati molto variabili.

Sasic & Ozaki (2001) hanno proposto uno studio con lo scopo di fornire un metodo di previsione alternativo nell'ambito di fluidi biologici analizzati mediante spettroscopia NIR. Per fare questo sono stati considerati gli spettri di

cento campioni di latte crudo, nella regione compresa tra 800 e 1100 nm; successivamente è stato previsto il contenuto di grassi, proteine e lattosio mediante PLS. I risultati ottenuti dimostrano che la spettroscopia NIR è una tecnologia promettente per una determinazione veloce ed affidabile della maggior parte dei componenti di fluidi biologici e biomedici.

Il panorama dell'ortofrutta si presenta oggi con una serie di aziende di dimensioni notevoli aventi una capacità lavorativa consistente. Contemporaneamente, il consumatore richiede standard qualitativi sempre maggiori che, considerata la produzione degli attuali impianti, risulta sempre più difficile da raggiungere con i mezzi tradizionali. In risposta a queste esigenze, la tecnologia NIR ha concepito macchine in grado di determinare, su ogni singolo frutto lavorato, con una scansione di circa qualche decimo di secondo, residuo secco rifrattometrico, acidità, grado di maturazione ed altri parametri quali vitrescenza e imbrunimento interno. Tali determinazioni diventano particolarmente interessanti per la lavorazione dei prodotti che hanno ottenuto l'IGP (Indicazione Geografica Protetta), caratterizzati da rigidi intervalli di accettabilità, di residuo secco rifrattometrico e sapore.

Siccome la propagazione della radiazione NIR nei frutti e nei tessuti vegetali dipende in gran parte dalla loro microstruttura, presto venne scoperto che con la spettroscopia NIR era possibile misurare attributi collegati alla struttura del prodotto come la durezza (Lammertyn et al., 1998), i danni interni (Clark et al., 2003) e gli attributi sensoriali (Mehinagic et al., 2004). Nel lavoro svolto da Peirs et al. (2002), per valutare le caratteristiche qualitative di mele Jonagold, la spettroscopia NIR a trasformata di Fourier è stata paragonata alla spettroscopia NIR a dispersione, in particolare sono state confrontate le proprietà di entrambe le strumentazioni per quanto riguarda stabilità, intensità di penetrazione del fascio luminoso e capacità predittiva. Si è potuto constatare che lo spettrofotometro a trasformata di Fourier ha ottenuto un più elevato rapporto segnale-rumore. Entrambi gli strumenti sono stati comunque in grado di misurare, con simile accuratezza, le caratteristiche qualitative delle mele e soprattutto il loro contenuto in solidi solubili, consistenza e acidità titolabile. Basandosi sui risultati ottenuti si è potuto concludere che la spettroscopia a riflettanza FT-NIR può essere considerata una tecnica interessante, alternativa agli strumenti standard a dispersione per una valutazione non distruttiva della qualità di mele Jonagold.

Rodriguez-Saona et al.(2001) hanno sperimentato l'utilizzo di una semplice tecnica quale la spettroscopia NIR a trasformata di Fourier per effettuare una rapida determinazione dei singoli zuccheri presenti in diversi succhi di frutta. Sono state preparate soluzioni acquose di miscele di zuccheri, quali glucosio, fruttosio e saccarosio, per sviluppare un modello di calibrazione, mentre misure dirette sono state effettuate in transflettanza, trasmittanza e riflettanza. I dati spettrali NIR sono stati quindi pretrattati in derivata seconda ed elaborati con software chemiometrico PLS; la capacità di previsione di questi modelli è stata successivamente paragonata ai risultati ottenuti con tradizionali analisi via HPLC ed enzimatiche. Si è potuto rilevare che i modelli prodotti da spettri in trasmittanza hanno dato i migliori risultati, in quanto hanno previsto in maniera accurata e precisa le concentrazioni di zuccheri nei succhi di frutta; minore precisione è stata invece riscontrata nei modelli ottenuti a partire da spettri in riflettanza. In conclusione, si è potuto osservare che la spettroscopia FT-NIR è stata in grado di effettuare analisi rapide, accurate e precise degli zuccheri nei succhi di frutta in esame e per questo potrebbe essere applicata per un controllo qualitativo delle bevande in linea o per monitorare eventuali adulterazioni e contaminazioni.

Abu-Khalaf et al. (2004) hanno tentato di prevedere la qualità sensoriale di alcune cultivar di carote, ottenute mediante diversi sistemi di produzione, utilizzando la tecnologia NIR ed effettuando successive analisi multivariate dei dati, al fine di ottenere modelli attraverso i quali valutare alcuni fattori di modulazione di qualità. Basandosi sui risultati ottenuti hanno potuto constatare che la tecnica NIR è in grado di prevedere la qualità sensoriale delle carote e che tale caratteristica dipende soprattutto dalla cultivar, dal sistema di produzione e dall'annata.

Lo sviluppo tecnologico e la ricerca hanno permesso un notevole abbattimento dei costi; questo ha fatto sì che la tecnologia NIR sia stata implementata in settori di nicchia come quello degli snack salati dei cereali da prima colazione. Nel primo caso in particolare, vengono analizzati prodotti come le patate fritte, in uscita dalla friggitrice, per la determinazione del grado di umidità e di lipidi totali, fornendo così la possibilità di eliminare direttamente in linea il prodotto non conforme.

Per quanto riguarda uova e ovoprodotti, uno studio di Carazzolo et al. (2002) ha individuato alcuni indici qualitativi, quali acido L- lattico, succinico e D-3 idrossibutirrico, per verificare la loro utilità nel valutare freschezza, igiene e

presenza di scarti di incubatoio in uova ed ovoprodotti. Una volta condotta la verifica mediante analisi enzimatiche, è stata valutata l'opportunità di un controllo qualitativo delle uova e loro derivati utilizzando la spettroscopia NIR, metodica che si contrappone all'analisi "tradizionale", per approccio ed elaborazione del dato analitico. La spettroscopia NIR permette, infatti, di compiere analisi sul prodotto tal quale, non richiedendo alcuna preparazione del campione e garantendo una risposta analitica in pochi minuti. Il lavoro ha inoltre dimostrato come tale tecnica possa essere efficacemente utilizzata per il riconoscimento di lotti di uova provenienti da galline alimentate con mangimi arricchiti in acidi grassi poliinsaturi ω -3, verificando mediante analisi gascromatografica la diversa composizione lipidica delle uova arricchite rispetto a quelle non arricchite.

Nell'industria saccarifera, la spettroscopia NIR viene impiegata da tempo nel laboratorio di analisi, ma solo recentemente alcune industrie, in collaborazione con le aziende che producono spettrofotometri, hanno messo a punto sistemi di controllo in linea, determinando i parametri classici, quali il valore di polarizzazione, il contenuto di sodio, potassio, azoto α -amminico e/o azoto totale, direttamente nella polpa o nel filtrato.

La complessità degli spettri NIR e il numero di variabili coinvolte richiedono l'intervento di procedimenti chemiometrici atti ad assicurare la validità dei risultati mediante un adatto supporto informatico.

I metodi statistici più utilizzati nelle calibrazioni sia per l'analisi quantitativa che qualitativa sono la regressione lineare multipla delle derivate delle assorbanze, la regressione multivariata del componente principale (PCA), il metodo multivariato partial least square (PLS) e il metodo delle reti neurali (ANN). I software di calibrazione sono di solito inclusi nel sistema strumentale; ma possono essere utilizzati anche software esterni che permettono in ogni caso, di scegliere tra più algoritmi o modelli adatti all'analisi che si sta effettuando.

Per altre applicazioni particolari, la tecnologia NIR può essere applicata con sistemi mobili quali: strumenti portatili con valigette con banco ottico interfacciabile ad un PC e sistemi trasportati su carrello per essere movimentati all'interno dello stabilimento. Essi permettono una notevole flessibilità di utilizzo offrendo la possibilità di eseguire analisi in sito, in magazzino o in linea con lo stesso strumento, cambiando solo la fibra ottica. Applicazioni del genere trovano implementazioni in reparti particolari come la ricezione di materie prime, dove

spesso si opera “out-line”, o qualora si debbano effettuare controlli fuori dallo stabilimento.

I lavori riguardanti l'applicazione della spettroscopia NIR per la stima di parametri qualitativi delle albicocche sono pochi e riguardano principalmente indici chimici.

Bureau et al. (2009) hanno sviluppato uno studio sulla determinazione del contenuto di zuccheri (glucosio, fruttosio e saccarosio) e di acidi organici (acido citrico e acido malico) in 8 differenti cultivar di albicocca durante il periodo di maturazione tramite spettrofotometria NIR ed elaborazione statistica a mezzo di PLS. Hanno concluso che la regione spettrale più sensibile agli zuccheri e agli acidi organici è compresa tra 1500 e 900 cm^{-1} e che esiste una buona correlazione ($R^2 = 0.74$) tra i parametri qualitativi presi in considerazione e l'analisi spettrale.

Carlini et al (1998) hanno sviluppato un metodo non distruttivo basato sulla spettroscopia NIR combinata all'analisi multivariata PLS per la determinazione dei solidi solubili in due varietà di albicocca (“Baccuccia Spinosa” ed “Errani”). Tali autori hanno trovato una buona correlazione in validation ($r = 0.965$ e $r = 0.946$ per entrambe le varietà).

Esistono moltissimi lavori condotti su altre tipologie di frutta circa la stima di indici qualitativi o la classificazione, ad esempio per varietà o provenienza, che possono essere utili per un'analisi critica del presente lavoro.

Alcuni di questi riguardano l'utilizzo combinato della spettrofotometria NIR, delle reti neurali e dell'analisi delle componenti principali (PCA) per la classificazione di prodotti alimentari in base a diversi aspetti, quali, ad esempio, la varietà e l'origine.

Fu et al. (2007) hanno proposto un metodo fondato sulla combinazione della spettroscopia NIR e reti neurali probabilistiche (PNN) per discriminare le nespole sia in base alla varietà sia in base all'area di produzione. In particolare hanno preso in esame due varietà di nespola e due aree di produzione. Prima dell'elaborazione tramite reti neurali, al fine di ridurre le dimensioni dei dati in ingresso, gli autori hanno eseguito un'analisi delle componenti principali ed hanno concluso che la combinazione NIR e PCA-PNN ha grandi potenzialità nella discriminazione di nespole considerando separatamente i fattori area di produzione e varietà.

Yong He et al.(2005) hanno proposto uno studio avente lo scopo di discriminare varietà di tè mediante spettroscopia NIR e reti neurali (Back Propagation). Anche in questo caso, al fine di ridurre le dimensioni dei dati in ingresso, gli autori hanno applicato a priori un'analisi delle componenti principali (PCA) ricavando 8 PCs utili come valori di input per le reti neurali. La percentuale di campione classificati correttamente è risultata del 100%.

Per quanto riguarda la determinazione quantitativa dei costituenti dei frutti, ad esempio zuccheri e acidi la maggior parte dei lavori presenti in letteratura citano l'utilizzo in chemiometria dell'analisi PLS, anche se negli ultimi anni le reti neurali stanno iniziando a diffondersi anche in questo settore. Di seguito sono riportati alcuni dei più recenti e interessanti lavori relativi a quanto sopra citato.

Tewari et al. (2008) hanno presentato una tecnica rapida, non distruttiva e simultanea per la quantificazione della concentrazione dei costituenti della fase zuccherina e la classificazione in base alla provenienza di limoni utilizzando la spettroscopia NIR combinata all'utilizzo di reti neurali con algoritmo genetico. Al fine di determinare la concentrazione dei diversi zuccheri (glucosio e fruttosio), hanno utilizzato un'analisi PLS: invece per classificare i limoni in base alla varietà e all'origine hanno utilizzato reti neurali con algoritmo genetico. I modelli di calibrazione utilizzati per la PLS hanno fornito eccellenti risultati, $R^2 = 0.996$ e $R^2 = 0.998$, rispettivamente per il glucosio e per il fruttosio. Anche la classificazione con reti neurali ha prodotto ottimi risultati ($R^2 = 0.966$).

Per quanto riguarda le variazioni che possono avvenire all'interno di un frutto durante la maturazione, un interessante lavoro è stato svolto da Clark et al. (2003). Essi hanno determinato la sostanza secca di una varietà di avocado durante quattro momenti di raccolta utilizzando la spettrofotometria NIR sia in riflettanza che in trasmittanza. La relazione tra gli spettri e la quantità di sostanza secca è stata valutata utilizzando due tecniche chemiometriche, la regressione multipla lineare e la PLS. Tali autori hanno concluso che in questo caso, il metodo in trasmittanza ha un potere predittivo maggiore rispetto al metodo in riflettanza e che si raggiungono valori di $R^2 = 0.88$.

Un parametro difficilmente valutabile tramite la spettrofotometria NIR risulta essere la durezza del frutto, in quanto non direttamente collegabile ad una precisa modifica che avviene nel frutto, ad esempio durante la maturazione. Di seguito

vengono riportati alcuni interessanti lavori sulla determinazione della *firmness* in diverse tipologie di frutto a sostegno di quanto citato sopra.

Cavaco et al. (2009) hanno presentato un modello predittivo a PLS segmentata, per la determinazione della durezza di una varietà di pera (*Pyrus Communus L.*) durante la maturazione sotto condizioni di shelf-life partendo da spettri NIR. La correlazione tra la durezza e la riflettanza alla medesima banda di lunghezza d'onda durante la conservazione è risultata essere molto differente durante tale periodo. Di conseguenza gli autori hanno effettuato un'analisi PLS a due segmenti, il primo comprendente le durezze più elevate e quindi i frutti poco maturi o maturi e il secondo comprendente le durezze minori e quindi i frutti maturi o sovra maturi. Gli autori hanno concluso che il modello predittivo trovato è significativo in termini di regressione, ma i relativi errori risultano essere alquanto elevati.

Gomez et al. (2005) hanno presentato un lavoro focalizzato sulla valutazione qualitativa non distruttiva di una varietà di mandarino (*C. reticulata*) utilizzando la spettroscopia VIS/NIR. I parametri presi in considerazione sono stati il residuo secco rifrattometrico (°Brix), l'acidità (pH) e la durezza (N). L'analisi degli spettri è stata condotta tramite PLS e regressione delle componenti principali e i risultati hanno mostrato eccellenti performance predittive per ogni parametro considerato, $r = 0.94$ °Brix, $r = 0.8$ pH e $r = 0.83$ durezza, anche se gli errori relativi alla durezza sono risultati alquanto elevati (RMSE = 8.54 N).

Sempre sulla pera, Liu et al. (2007) hanno cercato la relazione tra misure VIS/NIR e indici di qualità interna (residuo secco rifrattometrico: °Brix e durezza: DMT). I modelli di calibrazione utilizzati erano basati sulla regressione multipla lineare (MLR), sulla regressione delle componenti principali (PCR) e sulla regressione PLS. Il modello migliore è stato quello ottenuto tramite PLS ($r = 0.912$ per il °Brix e $r = 0.854$ per DMT) anche se, come nel lavoro precedente i valori di RMSE relativi alla durezza sono risultati elevati.

Un interessante studio è stato svolto da Schmilovitch (2000) sull'utilizzo della spettroscopia NIR per la valutazione della durezza, acidità e zuccheri nel mango. Gli autori hanno creato dei modelli predittivi basati sulla MLR, PCA e PCR tra spettri e parametri fisiologici del frutto durante un determinato periodo di conservazione. I migliori modelli sono risultati quelli derivanti dalla MLR e PLS, in generale con coefficienti di correlazione elevati per tutti i parametri considerati,

ma anche in questo caso gli errori (SEP) relativi alla durezza sono apparsi molto elevati (17.1: MLR; 23.18: PLS).

Anche se non di recente stesura, il lavoro di McGlone et al. (1998) appare molto interessante nell'ambito della valutazione qualitativa post-raccolta, soprattutto ad ulteriore conferma di quanto citato sopra. Gli autori, infatti, hanno valutato il grado di maturazione post-raccolta dei kiwi tramite la spettrofotometria NIR e a mezzo di modelli multivariati (PLS) hanno dimostrato che per la sostanza secca e per il °Brix si ottengono buoni risultati ($R^2 = 0.90$ e $RMSEP = 0.42\%$ e $R^2 = 0.90$ e $RMSEP = 0.32$ °Brix), mentre per la durezza i risultati ottenuti sono scarsi ($R^2 = 0.66$, $RMSEP = 7.8N$).

Ze'ev Schmilovitch et al. (1999) hanno sviluppato un metodo non distruttivo basato sulla spettroscopia NIR per stimare il contenuto di acqua e di residuo secco rifrattometrico di datteri della cultivar *Hayani*. Il sistema presentava un'elevata velocità di campionamento (100 datteri in 3 minuti), ma anche una buona precisione nella stima dei parametri fisico-chimici, ovvero un errore standard di stima SEP (*Standard error of prediction*) pari all'1% e un coefficiente di correlazione (r) uguale a 0.9 sia per l'acqua che per il residuo secco rifrattometrico. Lo stesso sistema è stato applicato anche ad un'altra cultivar, *Barhi*, ottenendo un SEP (*Standard error of prediction*) dell'1% per quanto riguarda la misura del residuo secco rifrattometrico.

BIBLIOGRAFIA

Akin E. B., Karabulut I., Topcu A. (2008). Some compositional properties of main Malatya apricot (*Prunus armeniaca* L.) varieties. *Food Chemistry* 107, 939–948.

Bureau S, D Ruiz, M Reich, B Gouble, D Bertrand, J M Audergon, C Renard 2009. Rapid and non-destructive analysis of apricot fruit quality using FT-near-infrared spectroscopy . *Food Chemistry*, Volume 113, Issue 4, 15 April 2009, Pages 1323-1328.

Bureau S., Ruiz D., Reich M., Gouble B., Bertrand D., Audergon J. M., Renard C. (2009). Rapid and non-destructive analysis of apricot fruit quality using FT-near-infrared spectroscopy. *Food Chemistry* 15, 1323-1328.

Carazzolo A, Baldassini O, Bortolomeazzi R., Conte L. 2002. La tecnica NIRS nella valutazione di uova e ovo prodotti. *Industrie Alimentari*, XLI 262-267.

Carlini P., Massantini R., Mencarelli F., Botondi R. (1998). Determination of soluble solids content in apricot varieties by visible/near-infrared spectroscopy. *Agricoltura Mediterranea* 128, 138-141.

Cavaco A. M., Pinto P., Antune M. D., Da Silva J. M., Guerra R. (2009) ‘Rocha’ pear firmness predicted by a Vis/NIR segmented model. *Postharvest Biology and Technology* 51, 311–319.

Cavicchi L., Parpinello G.P., Versari A., (2005). Preliminari prove del naso elettronico per le analisi delle qualità sensoriali delle albicocche. *Frutticoltura*. 6, 49-51.

Chen J. Y., Zhang H., Matsunaga R. (2006) Rapid Determination of the Main Organic Acid Composition of Raw Japanese Apricot Fruit Juices Using Near-Infrared Spectroscopy. *Journal of agricultural and food chemistry* 54, 9652-9657.

Clark C.J., McGlone V.A., Requejo C., White, A., Woolf A.B. (2003) Dry matter determination in 'Hass' avocado by NIR Spectroscopy Postharvest. *Biology and Technology* 29, 300-307.

Davies A.M.C., Grant A. 1987. Review: near infrared analysis of food. *International Journal of Food Science and Technol* . 22, 191–207

Davis and Grant, 1987. Near infra-red analysis of food, *International Journal of Food Science and Technology*. DOI: 10.1111/j.1365-2621.1987.

Fu X., Yibin Y., Zhou Y., Xu H. (2007). Application of probabilistic neural networks in qualitative analysis of near infrared spectra: Determination of producing area and variety of loquats. *Analytica Chimica Acta* 598, 27–33.

Gomez A. H., He Y. and Pereira A. G. (2006). Non-destructive measurement of acidity, soluble solids and firmness of Satsuma mandarin using Vis/NIR-spectroscopy techniques. *Journal of Food Engineering* 77, 313–319.

Gunasekaran S., Irudayaraj J. (2001). Optical methods: visible NIR and FTIR spectroscopy, *Nondestructive Food Evaluation. Techniques to Analyse Properties and Quality*, Marcel Dekker Inc., New York, USA (2001).

He Y., Li X., Deng X. (2007) Discrimination of varieties of tea using near infrared spectroscopy by principal component analysis and BP model. *Journal of Food Engineering* 79, 1238–1242.

Huang H., Yu H., Xu H., Ying Y. (2008) Near infrared spectroscopy for on/in-line monitoring of quality in foods and beverages: A review. *Journal of Food Engineering* 87 303–313.

Kasabov N.K. (1998) Foundations of Neural Networks, Fuzzy Systems, and Knowledge Engineering. *The MIT Press Cambridge, Massachusetts*.

Lammertyn J., Nicolai B, Ooms K., de Smedt V, de Baerdemaeker J.. Non-destructive measurement of acidity, soluble solids and firmness of Jonagold apples using NIR Spettroscopy. *Transactions of ASAE*.Vol.41 (4): 1089-1094.

Li X., He Y., Fang H. (2007). Non-destructive discrimination of Chinese bayberry varieties using Vis/NIR spectroscopy. *Journal of Food Engineering* 81, 357–363.

Liu Y., Chen X., Ouyang A. (2008). Nondestructive determination of pear internal quality indices by visible and near-infrared spectrometry. *Food Science and Technology* 41, 1720-1725.

McGlone V. A., Kawano S. (1998). Firmness, dry-matter and soluble-solids assessment of postharvest kiwifruit by NIR spectroscopy. *Postharvest Biology and Technology* 13, 131–141.

Mehinagic E, Royer G, Symoneaux R. Prediction of the sensory quality of apples by physical measurements. *Postharvest Biology and technology*. Volume 34, Issue 3, December 2004, Pages 257-269

Mehinagic E., Royer G., Bertrand D., Symoneaux R., Laurens F., Jourjon F., (2003). Relationship between sensory analysis, penetrometry and visible-NIR spectroscopy of apples belonging to different cultivars. *Food Qual. Prefer.* 14, 473–484.

Mellano M.G., Valentini N., Zeppa G., Rolle L., Botta R. (2005). Applicazione dell'analisi sensoriale alla caratterizzazione delle albicocche. *Frutticoltura*. 6, 41-44.

Nicolai B. M., Beullens K., Bobelyn E., Peirs A., Saeys W., Theron I. K., Lammertyn J. (2007). Nondestructive measurement of fruit and vegetable quality by means of NIR spectroscopy: A review. *Postharvest Biology and Technology* 46, 99–118.

Peirs A., Scheerlinck N, Touchant K., Nicolai BM 2002. Comparison of Fourier Transform and dispersive near infrared reflectance spectrometer for apple measurements. *Biosystems Engineering*, 81(3):305-311.

Pellegrino S., Palara U. (2006). Prospettive di rinnovamento per la coltivazione dell'albicocco in Italia. *Frutticoltura* 6, 16-19.

Pirazzini P. (2006). Dossier albicocca. *Rivista di Frutticoltura e Ortofloricoltura - marzo* 2007 (3).

Rodriguez-Saona L E, Fredrick S. Fry, Michael A. McLaughlin, Elizabeth M. Calvey 2001. Rapid analysis of sugars in fruit juices by FT-NIR spectroscopy. *Carbohydrate Research*, Volume 336, Issue 1, November 2001, Pages 63-74.

Sasić S, Segtnan V. H., Isaksson T., Ozaki Y 2001. Studies on the Structure of Water Using Two-Dimensional Near-Infrared Correlation Spectroscopy and Principal Component Analysis. *Analytical Chemistry*, 2001, 73 (13), pp 3153–3161

Schmilovitch Z, Hoffman A, Egozi H., Ben-Zvi R (1999), Maturity determination of fresh dates by near infrared spectrometry. *Journal of the science of food and agriculture* ISSN 0022-5142 CODEN JSFAAE , vol. 79, no1, pp. 86-90.

Schmilovitch Z., A. Hoffman, H. Egozi, R. Ben-Zvi (2000), Machine for automatic sorting 'Barhi' dates according to maturity by near infrared spectrometry, IV International Conference on Postharvest Science.

Schmilovitch Z., Mizrach A., Hoffman A., Egozi H., Fuchs Y. (2000). Determination of mango physiological indices by near-infrared spectrometry. *Postharvest Biology and Technology* 19, 245–252.

Smith M. (1996). Neural networks for statistical modelling. *London: International Thomson Computer Press*

Tewari J. C., Dixit V., Cho B. K., Malik K. A. (2008). Determination of origin and sugars of citrus fruits using genetic algorithm, correspondence analysis and partial least square combined with fiber optic NIR spectroscopy. *Spectrochimica Acta Part A* 71, 1119–1127.

Todeschini R. (1998). *Introduzione alla chemiometria*. Casa Editrice: *Edises*, Napoli.

Zude M., Herold B., Roger J. M., Bellon-Maurel V., Landahl S. (2006). Non-destructive tests on the prediction of apple fruit flesh firmness and soluble solids content on tree and in shelf life. *Journal of Food Engineering* 77, 254–260.

CAPITOLO 3

STIMA DELLE PROPRIETÀ REOLOGICHE DEL GELATO ATTRAVERSO LA SPETTROSCOPIA FT-NIR

INTRODUZIONE

La produzione di buona parte del gelato artigianale italiano è ottenuto attraverso l'utilizzo di semilavorati per gelateria. I semilavorati per la gelateria artigianale possono essere in polvere o in pasta. Le polveri sono costituite da alcuni ingredienti, come il latte in polvere, proteine del latte, grassi, addensanti ed aromi, miscelati in diverse proporzioni per donare al gelato una giusta struttura di base.

La struttura del gelato influenza anche parametri sensoriali come la percezione del freddo, l'aridità, la resistenza allo scioglimento e la struttura. In particolare sembra che gli addensanti presenti all'interno di tali miscele contribuiscano in maniera ampia alle proprietà del gelato, sia durante la mantecazione che durante la conservazione. Sommers nel 1944 riconosce la principale importanza dei polisaccaridi e delle gomme naturali con effetto stabilizzante della struttura del gelato. Anche se la concentrazione degli addensanti nella base per il gelato è molto bassa rispetto agli altri ingredienti, essi hanno un ruolo essenziale nella stabilità e le proprietà strutturali, questi si sciolgono quasi interamente in acqua fredda dando una struttura opalescente con proprietà pseudo plastiche che tarda la sedimentazione dei solidi o la separazione dei grassi (Lee, Richeter & Dill, 1996). La produzione di polveri per gelato può subire errori di miscelazione e in particolar modo una variazione dell'adeguata quantità di addensanti con effetti negativi sulla reologia del prodotto finito.

Le misure reologiche, anche se molto affidabili e precise, hanno una serie di caratteristiche negative se vengono applicate al livello aziendale durante il processo produttivo, tra quali costi elevati della strumentazione, notevole dispendio di tempo per l'esecuzione, personale specializzato. Questi problemi potrebbero essere risolti attraverso l'impiego della spettroscopia NIR (William & Norris, 2001), la quale è già utilizzata per il controllo delle proprietà analitiche del latte, dei latticini, di farine e tanti altri alimenti. In generale, la spettroscopia NIR

può essere utilizzata per una stima della quantità di proteine, zuccheri, ceneri, umidità etc., con un alto grado di accuratezza, dato che la regione spettrale dimostra delle marcate differenze in base alla composizione del campione (Shewry & Tatham, 2000). Alcuni successi sono stati ottenuti da Sinelli et al. nel 2005, nel tentativo di stimare alcuni parametri reologici della ricotta.

La spettroscopia NIR a riflettanza diffusa è dedicata specialmente all'analisi di prodotti disomogenei, come le polveri. L'analisi NIR può essere eseguita rapidamente e senza una preparazione precedente del campione e gli spettri ottenuti sono delle impronte multivariate delle proprietà chimico-fisiche del campione.

La letteratura riporta il fatto che la spettroscopia NIR può essere utilizzata sia per analisi qualitative che quantitative delle polveri. Molteplici ricerche effettuate applicando la spettroscopia NIR alle polveri vengono dall'ambito farmaceutico (Bertsson, Danielsson, Lagerholm & Folestad, 1998, 2000, 2002).

Le determinazioni quantitative con il NIR sono normalmente basate sul modello di calibrazione multivariata che stabilisce una relazione tra la concentrazione dei componenti o le loro proprietà e l'assorbanza $[\log 1/R]$ misurata per lo stesso set di campioni a differenti lunghezze d'onda. Il primo passo nel processo di calibrazione è quello di selezionare il set di riferimento che deve essere abbastanza grande da contenere tutta la normale variabilità interna del campione. Per le calibrazioni quantitative, i campioni devono essere analizzati con metodi di riferimento per valutare la vera concentrazione dei componenti. Questa esigenza è problematica se il campione è eterogeneo nel suo contenuto, come per esempio, nella base per gelato (Bertsson, Danielsson, Lagerholm & Folestad, 2000).

L'obiettivo di questo lavoro è stato quello di valutare la possibilità di sviluppare un modello spettroscopico in grado di stimare i parametri reologici del mix per gelato pronto per essere mantecato, misurando direttamente il mix di polveri.

IL GELATO

Introduzione

Abitualmente il gelato è definito come una “preparazione alimentare portata allo stato solido o pastoso mediante congelamento posteriore all’impiego delle materie prime utilizzate per la sua fabbricazione o destinate alla vendita e al consumo in tale stato” (Commissione Europea, 7 sett. 1970).

Il gelato è una schiuma che viene stabilizzata congelando la maggior parte del liquido (Morabito, 1999).

Possiamo anche più semplicemente definirla come una “preparazione alimentare composta da materia prima semplice e semilavorata (zuccheri, latte, panna, uova, frutta, paste aromatizzanti) che mediante congelamento e contemporanea agitazione si addensa raggiungendo una certa consistenza e pastosità” (Caviezel, 1986).

All’interno del gelato possiamo trovare tre stadi fisici: lo stadio solido, quello gassoso ed infine quello liquido. Guardando nello specifico ogni fase possiamo identificarne i componenti.

- La **fase solida** comprende:
 - cristalli di ghiaccio;
 - cristalli di saccarosio, lattosio e destrosio;
 - cristalli di grasso consolidato.

- La **fase gassosa** è costituita da:
 - Aria incorporata, che si trova in forma di bolle distribuite all’interno della struttura complessiva del gelato.

- La **fase liquida** comprende:
 - acqua non congelata durante la gelatura e legata a gruppi idrofili;
 - soluzione satura di zuccheri e sali;
 - colloidali con fase dispersa di proteine e stabilizzanti.

Questi tre stadi sono molto importanti, sia per la struttura sia per la qualità del gelato, e devono essere accuratamente bilanciati durante la lavorazione per garantire un'adeguata riuscita del gelato.

Valori e caratteristiche della qualità

La qualità di un prodotto non è mai un concetto assoluto, ma è legato alle caratteristiche del prodotto stesso e alle esigenze del consumatore.

Infatti, la qualità di un prodotto alimentare si può definire come l'insieme dei requisiti e delle caratteristiche in grado di soddisfare le esigenze del consumatore, essendo egli l'attore principale nel determinare i fattori di tale qualità.

Le caratteristiche della qualità si possono suddividere in due gruppi principali: il primo legato a valori oggettivi dipendenti soprattutto dal processo di lavorazione, il secondo invece a valori di tipo soggettivo. S'intuisce pertanto che esse sono strettamente collegate alle esigenze dei consumatori.

Materie prime e loro funzione

L'acqua

L'acqua è l'ingrediente principale nella produzione del gelato, sia tal quale, sia come componente principale del latte e di altri ingredienti. La percentuale di acqua presente in un gelato può, infatti, variare dal 70%, nei tipi alla frutta, al 55% per le creme (Bray, 2001).

Proprio per la sua grande importanza è indispensabile che essa sia sana, batteriologicamente pura, incolore e insapore (Caviezel, 1986).

L'acqua è l'unica materia prima che congela durante il processo di gelatura (-8°C) e d'indurimento, quindi è fondamentale per ottenere un gelato ottimo sotto l'aspetto qualitativo, e deve essere sempre bilanciata durante la creazione delle miscele.

L'acqua, oltre alla funzione appena descritta, svolge diversi altri compiti: essa, infatti, è il solvente degli zuccheri, è necessaria per ricostituire i prodotti in polvere e quelli liofilizzati, per idratare stabilizzanti e proteine, per disperdere i grassi e distribuire gli aromi, in particolare quelli della frutta (Caviezel, 1986).

Il latte e i suoi derivati

Per la varietà dei suoi costituenti, il latte è considerato un alimento completo e concorre a rendere il gelato un prodotto ad elevato valore nutritivo (*Prete, 1982*).

Esso è così composto: acqua 88% e sostanze solide 12%.

Le sostanze solide si suddividono a loro volta in grassi 3,5%, proteine 3,5%, zuccheri 4%, sali minerali, vitamine ed enzimi 1%.

I diversi elementi si trovano dispersi in acqua sotto varie forme:

- in emulsione: gliceridi, steroli e vitamine liposolubili;
- in dispersione colloidale: proteine;
- in soluzione vera: lattosio, sostanze azotate, sali minerali, vitamine idrosolubili.

I solidi presenti nel latte e nei suoi derivati si dividono in due gruppi: magri e grassi. I solidi magri (indicati con la sigla MSNF, “*Milk Solid Non Fat*”) sono costituiti da lattosio, proteine, vitamine idrosolubili, enzimi e altri costituenti minori (*Marshall & Arbuckle, 1996*), mentre i solidi grassi sono costituiti unicamente dal grasso vaccino.

I vari solidi presenti nel latte svolgono diverse funzioni. Ad esempio i grassi provenienti dal latte hanno un ruolo importante nell’aroma e sulla cremosità, mentre le proteine danno corpo e consistenza liscia.

Il lattosio è l’unico zucchero presente nel latte. Una sua caratteristica è la scarsa solubilità e il basso potere dolcificante.

I sali minerali apportano un leggero sapore salato che arrotonda l’aroma finale del gelato (*Marshall & Arbuckle, 1996*).

Per la produzione del gelato vengono anche usati altri derivati del latte, tra cui latte in polvere, latte condensato, siero di latte in polvere, panna liquida e in polvere.

La frutta e i suoi derivati

La frutta è una delle materie prime dei gelati alla frutta e va a caratterizzare in modo importante le miscele, soprattutto nel gusto e nel colore.

Possiamo distinguerla in due gruppi:

- frutta polposa: cioè quella dalla quale si ricava tutta la polpa eliminando semi e buccia;
- frutta succosa da dove si ricava solo il succo.

Spesso al posto della frutta fresca vengono usati derivati, come per esempio frutta congelata e surgelata, frutta liofilizzata e frutta allo sciroppo.

Gli zuccheri

Gli zuccheri hanno molteplici funzioni nella produzione del gelato.

La funzione principale è quella di dolcificare il prodotto, ma contribuiscono anche alla struttura finale del prodotto influenzando la cremosità, la morbidezza e la palatabilità.

Nelle miscele vengono utilizzati vari tipi di zuccheri con differenti proprietà chimico-fisiche, intervenendo sulla loro percentuale possiamo ottenere prodotti con caratteristiche differenti (Morabito, 2001).

In una miscela artigianale il contenuto di zuccheri aggiunti non dovrebbe essere inferiore al 16-18%, né superiore al 20-25%. Infatti, se una certa percentuale di zucchero esalta il sapore del gelato e ne ammorbidisce la consistenza, una quantità eccessiva non solo rende il gelato sgradevolmente dolce, ma ne abbassa il punto di congelamento fino a limiti inaccettabili per le attrezzature artigianali odierne (Caviezel, 1986).

I monosaccaridi come fruttosio, destrosio o zucchero invertito danno al gelato una consistenza morbida, mentre i disaccaridi come saccarosio, maltosio e lattosio permettono di ottenere un gelato più duro e compatto (Morabito, 2001).

I grassi

Per aumentare il contenuto in grassi di una miscela per gelato senza aumentare la fase liquida, si ricorre ai grassi solidi quali burro, margarine, oli raffinati e/o idrogenati (Caviezel, 1986).

È consigliabile tenere presente, durante la scelta del tipo di grasso da utilizzare, due importanti fattori quali il punto di fusione e l'irrancidimento ossidativo. A tal proposito non è consigliato l'utilizzo di grassi con punti di fusione superiore a 26°

C, per il semplice fatto che, durante la gelatura, i grassi induriscono e, se il punto di fusione è troppo alto, il gelato risulterà duro e compatto (Preti, 1982).

I grassi danno al gelato un valore organolettico determinante ed hanno i seguenti vantaggi:

- migliorano il sapore rendendolo pieno e cremoso;
- favoriscono una struttura corta e morbida;
- danno equilibrio alla miscela;
- equilibrano il punto di liquefazione del gelato in bocca (Caviezel, 1986).

Le uova

L'utilizzo dell'uovo in gelateria è legato soprattutto alle sue proprietà specifiche quali l'essere un ottimo addensante ed emulsionante, conferendo al prodotto finito una struttura ottimale con una consistenza morbida e una tessitura liscia e vellutata.

Dell'uovo si utilizza il tuorlo, che essendo ricco di lecitina ha funzione emulsionante. Con l'impiego del tuorlo si ha una minore resistenza alla fusione del gelato e si ottengono valori decisamente inferiori di grasso libero, mentre i valori di viscosità e l'*overrun* sono di poco superiori e, sensorialmente, la ricetta è decisamente migliore (Bray, 2002).

Tra gli ovoprodotti a cui ormai si ricorre, troviamo uova sgusciate, pastorizzate e conservate in forme diverse (ad esempio polvere), tuorli freschi e pastorizzati distribuiti in *tetrapack*, tuorli pastorizzati e criogelati in granuli, oppure di tuorli o albumi pastorizzati in polvere (liofilizzati) (Pancierà, 1996).

Altri prodotti ausiliari

Tra gli altri prodotti ausiliari utilizzati durante la produzione del gelato vanno sicuramente ricordati i prodotti del cacao, che sono largamente utilizzati sotto diverse forme. Vi è poi la frutta secca usata molto nella produzione di gelato soprattutto con mandorle, nocciole, pinoli, noci e pistacchi.

Sono spesso usati anche aromatizzanti che si possono distinguere in:

- estratti con spiccato contenuto aromatico: menta, arancio e limone;

- estratti per l'arrotondamento del gusto: liquirizia, caffè e cacao;
- estratti amaricanti: genziana, rabarbaro, camomilla.

Gli additivi alimentari

Sino ad alcuni decenni fa era vietato l'impiego di sostanze senza valore nutrizionale nei prodotti alimentari e, di conseguenza, nel gelato. Con il D.M. del 1996, n°206, vengono disciplinati gli additivi alimentari consentiti nella preparazione e nella conservazione delle sostanze alimentari.

Quelli utilizzati nella produzione del gelato li possiamo dividere in due categorie:

- addensanti-gelificanti, che agiscono in combinazione con l'acqua;
- emulsionanti, leganti della fase acquosa a quella grassa, che normalmente sono immiscibili tra loro.

Addensanti, stabilizzanti, gelificanti

La funzione principale di questi prodotti è di influenzare le condizioni reologiche della fase acquosa. Questi prodotti, che sono idrocolloidi, quando vengono dispersi in acqua si idratano gradualmente rigonfiandosi e legando molta acqua libera (Caviezel, 1986).

Gli addensanti-gelificati agiscono sulla consistenza del prodotto ed è, infatti, grazie al loro intervento che si ottengono cristalli di ghiaccio più piccoli, rendendo così il gelato più liscio. Ed inoltre tutti gli elementi solidi saranno ripartiti in eguale misura senza possibilità di sedimentazioni. Mentre gli addensanti-stabilizzanti modificano la capacità di trattenere acqua e di rilasciarla nel tempo.

Una delle fasi più importanti in cui agiscono gli addensanti è durante la vendita e la conservazione. In tale periodo, il gelato può subire forti shock termici durante i quali alcuni cristalli di ghiaccio si possono sciogliere. Se l'addensante non è presente si può avere un effetto a catena, con formazione di cristalli più grandi che andranno a degradare organoletticamente il nostro prodotto. Mentre con la presenza di addensanti, essi formano una sorta di reticolo che protegge l'acqua cristallizzata dagli sbalzi di temperatura.

Funzioni degli addensanti:

- rendono asciutto il gelato e lo mantengono stabile;
- regolano ed inibiscono fenomeni di cristallizzazione grossolana;
- conferiscono viscosità di crescita dei cristalli di ghiaccio;
- stabilizzano l'emulsione migliorando la struttura del gelato;
- contribuiscono all'incorporamento di aria nel prodotto finito;
- evitano fenomeni di sineresi [dire cos'è];
- ritardano lo scioglimento del gelato a contatto con temperature ambiente quando viene immesso al consumo;
- contribuiscono al miglioramento della struttura agevolando la spatolabilità;
- “riempiono” il gelato e gli conferiscono una qualità nuova percettibile al gusto.

Nota: sineresi = separazione tra fase grassa e acquosa.

Essi possono essere di natura proteica o glucidica. Tra i primi troviamo le proteine del latte e delle uova, i secondi a loro volta possono suddividersi in naturali, modificati e sintetici.

Alginati (E 400-405)

L'alginato, o alginato di sodio, viene estratto da alghe brune marine, è solubile anche a freddo e viene usato per le miscele al latte, poiché quest'additivo viene di norma addizionato con composti leganti il calcio (fosfato bisodico). La presenza del calcio provoca inoltre una gelificazione a pH inferiore a 4, pertanto non è indicato per miscele acide alla frutta (AA.VV., 1999b).

Carragenani (E 407)

Sono estratti da alghe ed esistono tre tipi di carragenina: “κ”, “λ” e “Jota”. Il tipo “λ” è quello più usato in gelateria e reagendo con frazioni proteiche del latte, forma un legame che contribuisce ad evitare la separazione del latte in siero e solidi (AA.VV., 1999b).

Agar-Agar (E 406)

Derivato da alghe, si scioglie a caldo (105 °C) e si solidifica sotto i 45 °C. Forma un gel elastico ed è usato in combinazione con gli alginati (Tissino, 1991).

Farina di semi di Carruba (E 410)

È stato uno dei primi stabilizzanti ad essere usato in gelateria ed attualmente è anche il più impiegato per la sua capacità d'idratarsi da 80 a 100 volte il suo volume e per la sua stabilità anche in ambiente acido. È solubile a caldo e a freddo, ed il suo miglior rendimento si ottiene oltre i 75°C. È disperdibile in acqua o latte e, se miscelata a secco con una parte di zuccheri, evita la formazione di aggregati e l'incremento di viscosità. È inoltre inerte dal punto di vista chimico nei confronti dei sali dell'acido lattico. Conferisce una struttura armonica e non indurisce eccessivamente il gelato; non ha sapore e non copre gli aromi. Usata da sola provoca precipitazione delle proteine del latte (sierificazione), quindi viene abbinata ad altri stabilizzanti, specialmente per i gelati al latte (AA.VV., 1999b).

Farina di semi di Guar (E 412)

È ottenuta dalla macinazione dei semi di una leguminosa tipica dell'India e Pakistan. È un polisaccaride idrocolloidale ad alto peso molecolare e si presenta come una polvere bianco crema, con odore e sapore neutro, priva di cariche ioniche. La presenza di una frazione di galattosio pari al 40% ne determina la solubilità in acqua, a caldo e a freddo, mentre è insolubile nei solventi organici. Forma, a basse concentrazioni, una dispersione colloidale molto viscosa, che presenta proprietà reologiche pseudoplastiche non-Newtoniane. Possiede la capacità d'idratarsi velocemente in acqua e una certa stabilità alle variazioni di pH (da 3 a 10) e di temperatura. Da sola o in sinergia è usata nei prodotti a base di latte per prevenire la formazione di cristalli di ghiaccio durante i cicli di congelamento-scongelo, assicurando cremosità, aumentando la temperatura di sgocciolamento e la shelf-life (Mercandelli, 2001).

Pectina (E 440)

È un carboidrato purificato, ottenuto da matrici vegetali e la più importante fonte da cui estrarla è la scorza di limone. In gelateria viene usata la pectina a "basso metossile". È un buon gelificante ed offre un'ottima stabilità al pH tipico della frutta, da 2,3 fino a 5, ed alle temperature di pastorizzazione (AA.VV., 1999b).

Carbossimetilcellulosa (CMC) (E 466)

Deriva dalla cellulosa e deve presentare, per l'uso alimentare, una purezza superiore al 99,5%. Ne esistono vari tipi che si differenziano sia per viscosità, che per disperdibilità e per granulometria. È solubile a caldo e a freddo ed è efficace già a basse concentrazioni. Può essere impiegata in un intervallo di pH piuttosto ampio, compreso tra 3 e 10, anche se occorre tener conto che più acido è il pH, tanto più veloce è la degradazione o perdita di viscosità. È sconsigliata l'esposizione prolungata alle alte temperature e, per evitare di conferire al gelato una certa collosità, deve essere dosata con precisione. Abbinata alla carragenina migliora i suoi effetti (AA.VV., 1999b).

Gomma xantano (E 415)

È un polisaccaride di origine vegetale stabile in un ampio intervallo di pH (da 2,5 a 9) e perciò utilizzabile sia per gelati alla frutta sia nelle creme. È consigliabile utilizzarlo in abbinamento ad altri stabilizzanti, poiché una dose eccessiva determina un'eccessiva "filosità" del gelato. Esplica, comunque, una forte azione stabilizzante, riduce l'invecchiamento e la formazione di cristalli grossolani (AA.VV., 1999b).

Gli emulsionanti

Gli emulsionanti sono usati per produrre un prodotto finito con una consistenza più omogenea (Marshall & Arbuckle, 1996).

Gli emulsionanti, attraverso le loro capacità tensioattive, portano alla formazione di emulsioni stabili, abbassando la tensione interfacciale grassa/acqua nelle miscele. Sono molecole che possiedono una parte lipofila e una idrofila e possono essere di natura ionica e non ionica. In quelli ionici la parte lipofila è costituita da una catena organica e la parte idrofila è il gruppo ionizzabile cationico o anionico. I tensioattivi ionici di cariche differenti sono incompatibili fra loro e con gli elettroliti di segno contrario. Gli emulsionanti non ionici non presentano questo fenomeno d'incompatibilità e possiedono una parte idrosolubile non ionizzata (Vecchio, 2002).

Gli emulsionanti devono essere utilizzati a caldo (oltre i 60 °C) perché per agire devono trovarsi allo stato liquido; inoltre i globuli di grasso con il caldo diminuiscono di spessore e rendono più facile l'azione dell'emulsionante (AA.VV., 1999b).

Monodigliceridi (E 471) e digliceridi

Sono i più usati e sono prodotti da materie prime animali e vegetali (olio di palma, soya) facendo reagire gli acidi grassi desiderati con glicerolo. I digliceridi si legano più saldamente con i grassi, al contrario i monogliceridi si legano favorevolmente all'acqua. Per questo motivo sono generalmente disponibili in miscele composte dal 60% circa di monogliceridi e dal 35% circa di digliceridi, in quanto le miscele per gelato prevedono di norma più acqua che grassi (AA.VV., 1999b).

Sucresteri e sucrogliceridi (E 473-474)

Derivano dalla reazione tra acidi grassi e saccarosio, sono emulsionanti sintetici e il loro uso è adeguato per le miscele alla frutta con base acqua (AA.VV., 1999b).

Lecitina (E 322)

Viene estratta da semi oleosi di soya. Riduce la viscosità ed è un buon antiossidante (AA.VV., 1999b).

L'aria

Può sembrare strano considerare l'aria come un ingrediente, ma senza di essa il gelato non sarebbe come lo conosciamo noi. È importante anche il fatto che noi non possiamo dosarlo e misurarlo come gli altri ingredienti.

Una proporzionata ed uniforme incorporazione di aria conferisce al gelato una struttura soffice, gradevole ed un prodotto non eccessivamente freddo. Un gelato senza contenuto d'aria risulta duro e freddo.

La prima fase di incorporazione dell'aria è durante la maturazione della miscela. Il momento più importante però è la primissima fase del processo di gelatura,

perché è al di sotto dei -4°C che il gelato non incorpora più aria ed è importante che il processo di gelatura sia continuo affinché l'aria non fuoriesca. Se il processo non è continuo vi è una sorta di collasso del prodotto.

La capacità di una miscela di incorporare aria si definisce “*overrun*” e dipende dai suoi componenti e dal loro bilanciamento. Infatti, vi sono materie prime che favoriscono ed altre che ostacolano l'incorporamento dell'aria.

Per ottimizzare l'*overrun*, bisogna distinguere anzitutto se si tratta di un gelato a base latte oppure a base acqua. Mediamente, per un buon gelato artigianale a base di latte, panna e uova, un incorporamento equilibrato d'aria deve essere attorno al 30-40%, mentre per gelati a base frutta, vi è un incorporamento d'aria naturale minore, dovuto all'alto contenuto di zuccheri e alla mancanza di uova e grassi, per cui si ha un “*overrun*” del 25-30% (Caviezel, 1986).

Materie prime e ausiliari che favoriscono l'incorporamento d'aria: tuorli d'uovo; albume d'uovo; stabilizzanti; latte magro in polvere; caseinati; alcuni sali minerali.

Materie che ostacolano l'*overrun*: alto contenuto di grassi, MSNF, zuccheri; eccesso paste aromatizzanti; eccesso sali minerali.

I fattori che incidono sull'incorporamento dell'aria sono:

- adeguata maturazione, compresa di cristallizzazione dei grassi, idratazione delle proteine e rigonfiamento degli stabilizzanti;
- caratteristiche tecniche del mantecatore;
- inserimento della miscela nel mantecatore a temperatura non superiore ai 4°C perché temperature maggiori causeranno la perdita dell'aria incorporata precedentemente, durante la maturazione.

I fattori che incidono sull'incorporamento dell'aria in modo negativo sono: insufficiente maturazione; scadente omogeneizzazione; eccessiva quantità di miscela immessa nel mantecatore; agitazione troppo lenta; prematura estrazione dal mantecatore (Caviezel, 1986).

I semilavorati per gelateria

Molto spesso le gelaterie utilizzano semilavorati per la produzione del gelato artigianale. Questi possono essere di diverso tipo: neutri, preparati in polvere, preparati in pasta, preparati liquidi, prodotti liofilizzati e prodotti granulari.

Neutri

I neutri sono costituiti da addensanti, gelificanti ed emulsionanti, in proporzioni ben determinate a seconda della loro più specifica utilizzazione. Vengono a volte addizionati di coloranti ed aromatizzanti e servono quindi da complemento nella preparazione del gelato. Vengono utilizzati dal gelatiere per facilitarne il lavoro, evitando di dover bilanciare i vari additivi.

Preparati in polvere

Un altro gruppo di semilavorati per gelato è costituito dai preparati in polvere. Questi, al contrario dei neutri, contengono tutte o quasi tutte le materie prime necessarie per la produzione del gelato: polvere di latte; panna in polvere; polvere d'uovo; frutta in pasta o liofilizzata; zuccheri; coloranti; aromi; addensanti ed emulsionanti.

Essi sono miscelati in modo da ottenere un prodotto con caratteristiche organolettiche il più possibile analoghe al gusto desiderato.

I preparati in polvere sono delle miscele idonee con ingredienti equilibrati e quindi prodotti che il gelatiere può impiegare tranquillamente ottenendo in taluni casi prodotti di livello superiore rispetto a “prodotti naturali”.

Preparati in pasta

Tra i preparati in pasta quelli maggiormente utilizzati sono quelli di nocciola, pistacchio, gianduia, mandorla, torrone, croccantino e quelle naturali di frutta.

Di norma queste paste vanno impiegate in aggiunta ad una miscela base seguendo scrupolosamente i dosaggi.

LA REOLOGIA

Introduzione

La reologia è una scienza che studia le deformazioni che avvengono nei corpi, quando essi sono sottoposti a sforzi di tipo meccanico.

Questi fenomeni di deformazione sono direttamente collegati alla struttura posseduta dai corpi, essi si manifestano continuamente durante la produzione, lo stoccaggio e il consumo degli alimenti. Studiando preventivamente un prodotto, potremo prevedere il suo comportamento in determinate condizioni.

Le proprietà reologiche dei corpi

In natura i corpi possono essere solidi, fluidi o gassosi. Prendiamo ad esempio due situazioni, una ideale e una reale. Nel primo caso, cioè in una situazione ideale, un solido subisce una deformazione elastica, cioè quando la forza che viene applicata su di esso finisce, l'energia può essere recuperata. Diversamente nel caso di fluidi e gas, essi subiscono deformazioni irreversibili e questo perché non hanno una forma definita, quindi fluiscono.

Nel caso invece di condizioni reali:

- i solidi subiscono deformazioni permanenti se su di essi è stata applicata una certa forza, e possono essere sottoposti a forze tensili (di pressione) e tangenziali;
- per i fluidi e i gas vi è un comportamento che sta tra i liquidi e i solidi, cioè “viscoelastici” e possono essere sottoposti a sole forze tangenziali (Quaglia, 1992).

Il comportamento dei solidi

I solidi ideali elastici, se sottoposti ad uno sforzo di taglio τ , seguono il modello del “Corpo di Hooke” e, conseguentemente, la legge di Hooke:

$$\tau = G \cdot \gamma$$

dove:

- τ è lo sforzo di taglio $\tau = F/A$
- γ è la deformazione relativa $\gamma = \Delta L/L$
- G è la deformazione di Young, che definisce la resistenza del solido alla deformazione ed è specifico per ogni materiale, poiché dipende dalle caratteristiche chimico-fisiche del solido stesso (Quaglia, 1992).

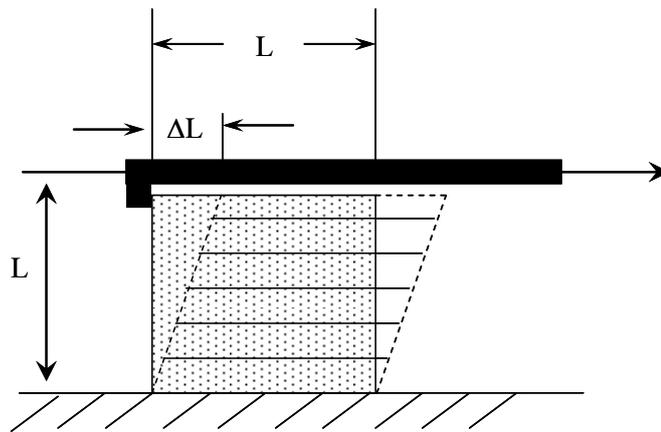


Figura 3.1. Corpo di Hooke”, modello di deformazione di un solido.

Il comportamento dei fluidi: la viscosimetria

Per quanto riguarda i liquidi reali si deve parlare di “Viscosimetria”, quindi di misure reologiche che tengono in considerazione della viscosità, cioè della resistenza del fluido alla variazione irreversibile di posizione dei suoi elementi di volume (Quaglia, 1992).

Esistono diverse variabili che possono far modificare la viscosità di un fluido: struttura chimica del fluido, temperatura, pressione, gradiente di velocità di scorrimento, tempo.

Tutti queste variabili possono influenzare la viscosità sia in maniera positiva che negativa.

La natura chimica e la temperatura sono parametri che influenzano sempre e in maniera determinante il valore della viscosità.

La *pressione* è un parametro la cui influenza sui liquidi diventa determinante soltanto quando raggiunge valori molto elevati; per i gas e vapori la dipendenza è più marcata, ma le misure di viscometria non riguardano i gas e generalmente sono condotte a pressione atmosferica.

I fluidi possono essere divisi in Newtoniani e non Newtoniani (*Quaglia, 1992*).

Fluidi Newtoniani

Un fluido si definisce newtoniano se la sua viscosità non varia con la velocità con cui viene misurata. Il liquido Newtoniano è quel liquido il cui flusso è indipendente da D (gradiente di velocità di scorrimento), ovvero la cui viscosità rimane costante indipendentemente dal gradiente applicato.

Fluidi non Newtoniani

Nei fluidi non Newtoniani la viscosità dipende dal gradiente di velocità di scorrimento D . Questi fluidi si possono suddividere in quattro classi:

- fluidi plastici;
- fluidi pseudoplastici;
- fluidi dilatanti;
- fluidi con viscosità dipendente dal tempo.

Materiali viscoelastici

In realtà, la maggior parte dei materiali possiede caratteristiche viscoelastiche, cioè proprietà sia viscosi che elastiche. Queste proprietà si traducono in un comportamento che provoca in parte il riassorbimento dell'energia fornita per la deformazione e in parte una deformazione vera e propria. Il recupero di parte dell'energia non è immediato, ma avviene con un certo ritardo.

Alcuni materiali viscoelastici sono: gelati, crème, impasti per pane o pasta, emulsioni.

Applicazioni della reologia in campo alimentare

La reologia si sviluppò già nel 1928, come scienza di analisi e razionalizzazione dei complessi comportamenti delle materie prime e dei prodotti, per venire incontro all'evoluzione della tecnologia (Macrae et al., 1993).

La conoscenza delle proprietà reologiche di un prodotto è essenziale per la scienza e la tecnologia alimentare in quanto offre un importante contributo nella risoluzione delle problematiche industriali riguardanti i prodotti stessi ed i processi produttivi.

Nel primo caso l'elaborazione dei risultati reologici è necessaria per la caratterizzazione delle materie prime, in funzione del loro utilizzo, e dei prodotti, in funzione delle proprietà attese; nel secondo caso, le misure reologiche sono utilizzate per la progettazione di nuovi impianti, in relazione alle proprietà delle materie prime e dei prodotti, e per il controllo e il miglioramento degli impianti esistenti.

In particolar modo:

- la texture o la consistenza di un cibo è essenzialmente l'espressione del suo comportamento reologico mediato dai nostri sensi e ne determina la qualità e l'accettabilità da parte del consumatore.
- lo studio reologico di materiali complessi, come concentrati macromolecolari e sistemi colloidali, fornisce informazioni molto importanti sulla loro struttura e sulle loro modificazioni sotto l'effetto di diversi fattori.
- durante la produzione, il confezionamento e lo stoccaggio le materie prime, gli ingredienti, i prodotti intermedi e quelli finiti sono sottoposti a stress meccanici e deformazioni. La conoscenza del comportamento reologico dei materiali è necessaria per operazioni quali il pompaggio, il miscelamento, gli scambi di calore e per le caratteristiche dei macchinari.
- le misure reologiche sono importanti per controllare i processi e la qualità dei prodotti in entrata e in uscita e per studiare le relazioni funzionali tra la composizione del prodotto, il processo necessario alla sua produzione e la sua texture finale (Macrae ed al., 1993).

Reologia delle miscele per gelato

Quando si applica una forza tangenziale ad un liquido, questo inizia a deformarsi, cioè “scorre”, e continua a scorrere finché resta applicata la forza. La sua velocità di deformazione viene indicata con il “ $\dot{\gamma}$ ” (dall’ingl., “*shear rate*”) e misurata in s^{-1} . La reologia di un materiale fluido dipende dalla relazione esistente tra forza e deformazione.

$$\eta = K \cdot \dot{\gamma}^{n-1}$$

La procedura sperimentale utilizzata come primo approccio alla caratterizzazione reologica dei fluidi è quella di tipo triangolare, dove la velocità di deformazione $\dot{\gamma}$ viene aumentata con un’accelerazione costante nel tempo sino ad un determinato valore e poi fatta scendere con decelerazione costante fino a zero. Questi test forniscono informazioni sull’eventuale comportamento tempo-dipendente del materiale evidenziato dalla non sovrapposizione della curva in salita e in discesa (isteresi). In caso di comportamento tempo-dipendente, il materiale ha “memoria” delle forze alle quali viene sottoposto. Si distinguono così 2 tipi di materiali: “tissotropici” e “antitissotropici”. Nel caso delle miscele per gelato l’andamento delle curve nei test di tipo triangolare è quasi coincidente e ciò induce a considerare questi materiali come scarsamente tempo-dipendenti. Tutte le miscele del gelato, incluso quelle prive di stabilizzanti, presentano un flusso definito non-Newtoniano (Goff et al., 1994). Questo caratterizza la maggior parte dei fluidi reali e delinea una relazione non uniforme tra *shear stress* e *shear rate* e quindi una variazione di viscosità al variare di *shear rate*. La viscosità misurata ad una determinata *shear rate* viene chiamata apparente (η_{app}) e si misura in Pa s. Per le miscele la η_{app} aumenta al decrescere dello *shear rate*, sottolineando l’importanza di indicare il campo di *shear rate* a cui la viscosità delle miscele stesse si riferisce (Goff et al., 1994). La loro curva di flusso è infatti quella tipica di un fluido pseudoplastico. Questo tipo di comportamento, diffuso nei liquidi alimentari, può essere ricondotto alla presenza in soluzione di particelle asimmetriche che si orientano nella direzione del flusso o solvate in cui l’alone di solvatazione cambia forma con la velocità del flusso (Goff et al., 1994). Secondo certi autori i fluidi pseudoplastici possono essere immaginati formati da

aggrovigliamenti che ad alti *shear rate* si srotolano riducendo la viscosità (Doveri & Tapparo, 1990). Alcuni autori, tuttavia, asseriscono che il comportamento pseudoplastico, non sia solo in funzione del gradiente di velocità bensì anche al tempo di applicazione dello sforzo di deformazione, mettendo in luce quindi un comportamento tissotropico della miscela (Goff et al., 1994). Nel caso più semplice il comportamento pseudoplastico può essere descritto attraverso una “legge di potenza” (“*Power Law*”):

Questa è l’equazione di una retta che non passa per l’origine (Fig. 3.2).

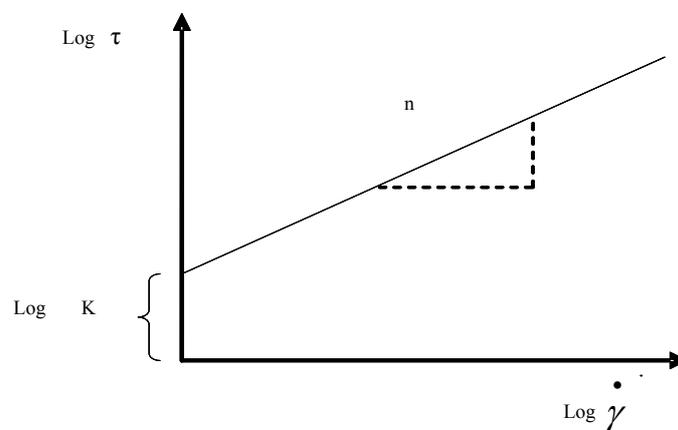


Figura 3.2. Rappresentazione della legge di potenza.

La pendenza della retta è rappresentata da “n” (l’esponente della *Power Law*) ed è detto indice di flusso; l’intercetta “K” viene chiamato indice di consistenza.

In un fluido Newtoniano $n = 1$ e $K = \eta$.

L’indice di consistenza K fornisce indicazioni utili per la progettazione delle attrezzature e la movimentazione delle miscele: introducendo K nell’equazione di Reynolds, se ne determina il regime di flusso definendolo laminare o turbolento (Goff et al., 1994). Nei fluidi pseudoplastici, quali le miscele per gelato, in cui la η_{app} diminuisce all’aumentare dello *shear rate* l’esponente della legge di potenza è minore di 1. Goff et al. (1994) hanno studiato gli effetti di alcune variabili compositive sulle caratteristiche reologiche in condizioni di flusso delle miscele per gelato in funzione della composizione e della temperatura di pastorizzazione. La η_{app} incrementava all’aumentare della quantità di stabilizzanti, di grasso e di solidi magri del latte, mentre diminuiva all’aumentare della temperatura.

MATERIALI E METODI

Ingredienti di base

La composizione della base in polvere per gelato utilizzata nelle prove è stata la seguente: latte in polvere; proteine del latte; destrosio; maltodestrine; agenti montanti; emulsionanti; mix di addensanti; sale, aromi.

Il mix di addensanti era formato da: sodio Carbosimetilcellulosa (CMC), farina di semi di Guar (estratta da semi di *Cyamopsis tetragonoloba*), farina di semi di Tara (ottenuta dai semi di *Caesalpinia spinosa*), farina di semi di Carruba e Carragenani.

La normale percentuale di addensanti all'interno della base per gelato è del 6.2 %. In totale sono state prodotte 60 miscele diverse di 200 g ciascuna, mantenendo le quantità originali degli ingredienti tranne degli addensanti.

Preparazione dei campioni

Per poter costruire un data set adatto per un solido modello di calibrazione si deve considerare un ampio intervallo di variabilità. I campioni a disposizione che venivano direttamente dalla produzione presentavano un intervallo di variabilità molto ristretto per quanto riguardava gli addensanti. Visto questo, è risultato necessario ricostruire le basi in laboratorio variando la quantità di addensante dal 70 al 130% rispetto alla quantità normalmente incontrata nel semilavorato e mantenendo costante la percentuale degli altri ingredienti, valutando in questo modo le modifiche reologiche causate dall'addensante.

Le misure reologiche sono state effettuate dopo le acquisizioni NIR, sugli stessi campioni. Le polveri sono state solubilizzate nel latte a temperatura ambiente in rapporto di 5 a 100, agitate per 10 minuti e poi lasciate riposare per 20 minuti in modo da ottenere in prodotto pronto da essere inserito nel mantecatore. Per ogni campione sono state effettuate 3 ripetizioni.

Misure FT - NIR

Gli spettri sono stati ottenuti per mezzo di uno spettrofotometro FT-NIR della Bruker Optics (Fig. 3.3, MATRIX™-I, Bruker Optics, MA, USA) equipaggiato con una sfera integratrice nella zona di campionatura programmata per QA/QC (Quality Analysis/ Quality Control).

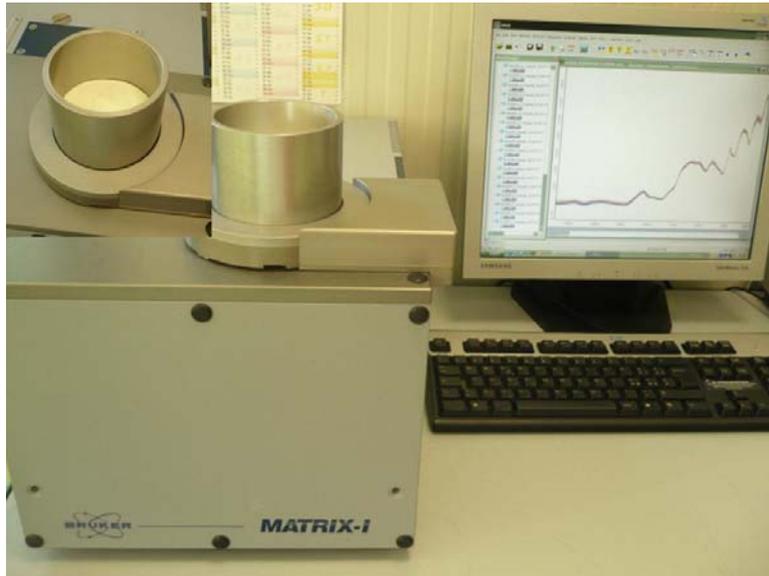


Figura 3.3. Spettrofotometro FT-NIR modello MATRIX-I.

Questo metodo è ideale misurare grandi quantità di materiali e in particolare è usato per analizzare campioni non omogenei o con particelle di grandi dimensioni come possono essere grani, semi o polveri.

Le acquisizioni sono state effettuate cambiando tutte le volte la polvere di semilavorato, nell'intervallo spettrale tra 833 e 2500 nm. Gli spettri sono stati registrati in riflettenza, utilizzando il porta campione con fondo in quarzo ed effettuando 10 scansioni per ogni spettro.

Misure reologiche

Il comportamento reologico della fase della miscela per gelato è stato monitorato con un reometro rotazionale Physica MCR 300 (fig. 3.4), equipaggiato con un bagno termostato TEK 150P (Anton Paar Ostfildern, Germany) e utilizzando un cilindro coassiale del diametro di 27 mm.



Figura 3.4. Reometro rotazionale MCR 300, durante l'analisi.

Lo shear rate e la viscosità apparente sono state misurate a 20°C.

La viscosità apparente, η , viene definita come il rapporto tra lo *shear stress* τ , e lo *shear rate* $\dot{\gamma}$:

$$\eta = \tau / \dot{\gamma}$$

Questo sistema è abitualmente utilizzato per le misure reologiche dei liquidi con media o alta viscosità e paste, come grasso, creme, salse etc., lavorando in un medio - basso range di *shear rate* (Alvarez, Cancellà & Maceiras, 2004).

Il reometro è stato connesso al computer per controllare l'acquisizione dei dati tramite un software specifico.

La cella del sistema di misurazione è stata riempita ed è stata lasciata riposare per 5 minuti nel reometro prima della misurazione, per permettere l'eliminazione

dello stress indotto sul campione durante la preparazione. Durante la misurazione lo *shear rate* è stato aumentato linearmente da 0 al 50 s^{-1} , raccogliendo 30 punti di *shear rate/shear stress*. I dati sono stati riportati come medie di tre ripetizioni, cambiando per ogni ripetizione il campione all'interno del cilindro.

Analisi dei parametri reologici

Le curve di scorrimento sono state valutate utilizzando l'equazione di Ostwald de Waele (Steffe, 1996). La capacità di fittare da parte di questo modello i dati ottenuti è stata valutata tramite il coefficiente di correlazione R^2 . Ostwald de Waele (eq.(1)) è uno dei modelli reologici più utilizzati e che descrive bene molti prodotti alimentari (Holdsworth, 1971).

$$\eta = K \cdot \dot{\gamma}^{n-1} \quad (1)$$

dove:

η è la viscosità apparente, in Pa s,

K è coefficiente di consistenza, in Pa s^n ,

$\dot{\gamma}$ è lo shear rate, in s^{-1}

n è l'indice di flusso.

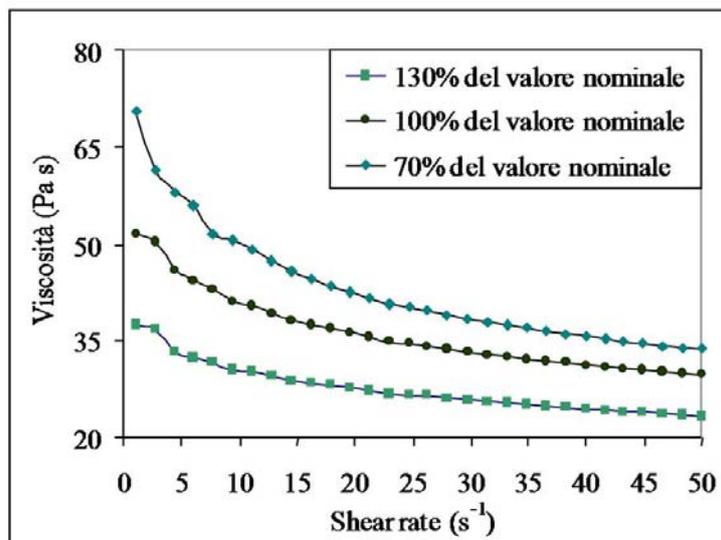


Figura 3.5. Viscosità vs shear rate per differenti concentrazioni di addensanti nel mix per gelato.

I valori di viscosità apparente sono stati ottenuti utilizzando il valore di *shear rate* di 11.1 s^{-1} , valore che si trova il più vicino al valore di velocità di taglio della cavità orale quando si consumano prodotti lattiero-caseari simili al gelato, come esposto da Dikie e Kokini (1983). Il coefficiente di consistenza e l'indice di flusso sono stati ottenuti tramite una regressione non lineare nell'intervallo di *shear rate* compreso tra 11 e 50 s^{-1} (fig. 3.5). I valori di *shear rate* tra 0 e 11 s^{-1} non sono potuti essere utilizzati per la regressione visto il rumore di background generato dai valori piccoli di *shear rate*.

Calibrazione del modello

I modelli predettivi dei parametri reologici sono stati costruiti per mezzo di regressioni PLS utilizzando il software OPUS ver. 6.0 (Brunker Optics), in modo da predire il coefficiente della consistenza (K), e l'indice di flusso (*n*) partendo dagli spettri acquisiti.

Come pretrattamento dei dati è stato usato il Multiplicative Scattering Correction (MSC).

Nella spettroscopia a riflettanza diffusa, lo spettro di una polvere viene influenzato sia dalla concentrazione dei componenti chimici che dalle proprietà fisiche della polvere. La riflettanza misurata è il risultato dell'assorbanza, della rifrazione e dello scattering della luce incidente. Il *multiplicative scattering correction* (MSC) è stato utilizzato come pretrattamento dei dati spettrali per ridurre lo scattering della luce, che varia in funzione della forma, della dimensione, della distribuzione delle particelle e dalla composizione chimica (Berntsson *et al*, 2000). Nel pretrattamento MSC due fattori di correzione vengono calcolati per ogni spettro attraverso regressioni lineari di ogni spettro su uno spettro definito "ideale" che è di solito è lo spettro medio del *data set*.

Il MSC rimuove completamente le differenze spettrali di tipo additivo o moltiplicativo. Questo pretrattamento è stato utilizzato durante l'analisi PLS, dopo aver diviso i dati in *calibration test* and *test set* (Esbensen, Schönkoph, Midtgaard & Guyot, 1998).

In riferimento ai risultati della PCA e le caratteristiche spettroscopiche dei dati, il migliore set di lunghezze d'onda è stato selezionato.

I dati statistici sono stati ottenuti tramite una regressione PLS nell'intervallo spettrale 1330-2180 nm sugli spettri preprocessati.

Il set delle lunghezze d'onda è stato ulteriormente ottimizzato con riferimento al valore migliore di R^2 e il minimo valore del SECV ottenuto usando *leave-one-out Cross Validation* (usando il 75% del *data set*). La bontà di questi modelli è stata valutata in termini di R^2 e SEP effettuando il *Test Set Validation* (con il 25% del *data set*).

Per valutare l'accuratezza con la quale il modello riesce a stimare i valori di riferimento, è stata calcolata la *residual predictive deviation* (RPD), dividendo la deviazione standard dei valori di riferimento per il SECV, ottenendo il RPDCV o per il SEP, ottenendo il RPD (*Williams & Norris, 2001*).

RISULTATI E DISCUSSIONI

Analisi dei parametri reologici

I campioni di base per gelato sono stati caratterizzati da viscosità apparente compresa tra 18.37 e 55.60 Pa s misurata ad uno *shear rate* di 11.1 s^{-1} , un coefficiente di consistenza (K) da 35.99 a 99.47 Pa Sⁿ ed un indice di flusso (*n*) da 0.736 a 0.85. Il coefficiente di determinazione (R^2) calcolato per ogni campione è risultato superiore al 0.95.

Spettroscopia FT-NIR

Gli spettri medi relativi alle basi per gelato (*Fig. 3.6*) sono simili nella forma e hanno come bande d'assorbimento intorno a 1520, 1730 e 2130 nm che sono principalmente collegati alle vibrazioni funzionali dell'O-H e C-H e agli overtone dell'acqua zuccheri e di altre sostanze contenenti gruppo idrossile. La banda di assorbimento attorno a 1935 nm corrisponde all'acqua legata alle proteine (*Williams & Norris, 2001.*)

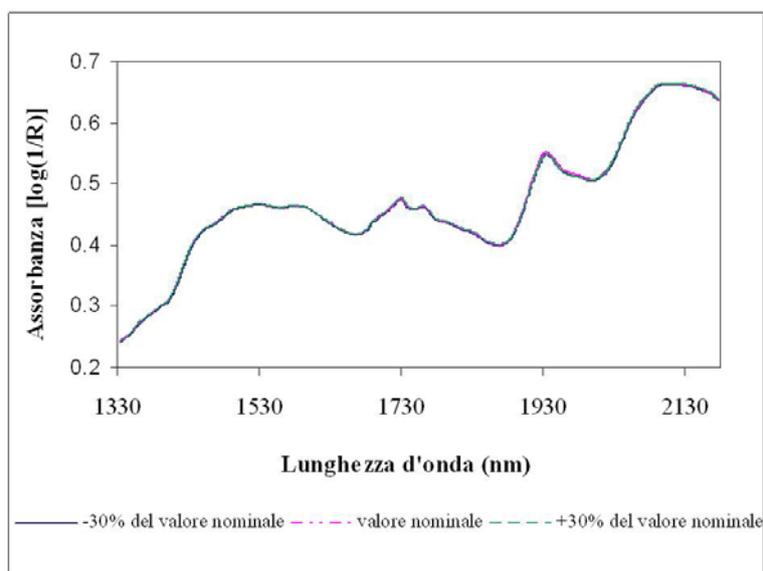


Figura 3.6. Spettri delle miscele di polveri per gelato dopo il pretrattamento MSC nell'intervallo spettrale 1330-2180 nm

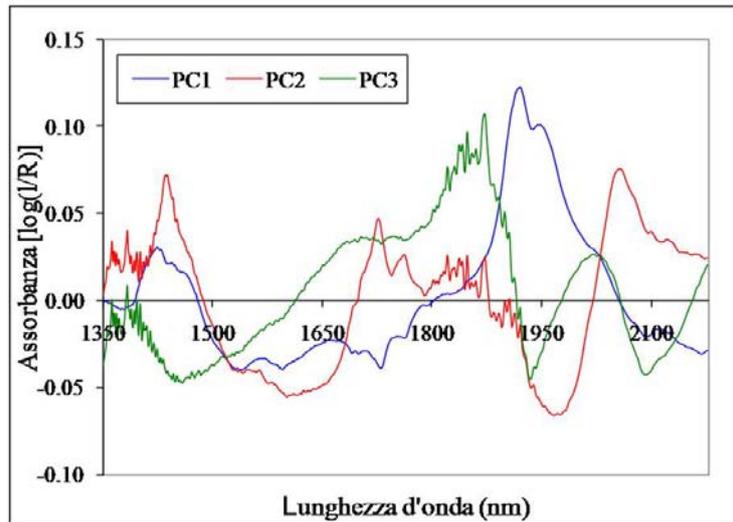


Figura 3.7. Assorbanza vs. lunghezza d'onda (nm)

PC1, componente principale 1; PC2, componente principale 2; PC3, componente principale 3.

La fig. 3.7 mostra gli x-loadings che descrivono i pesi delle variabili individuali x riguardanti il loro contributo nella varianza ottenuto per le misure sulle polveri di gelato.

Calibrazione del modello

I parametri statistici sono stati ottenuti per mezzo della regressione PLS nell'intervallo spettrale compreso tra 1330 e 2180 nm sugli spettri preprocessati con il *multiplicative scattering correction*.

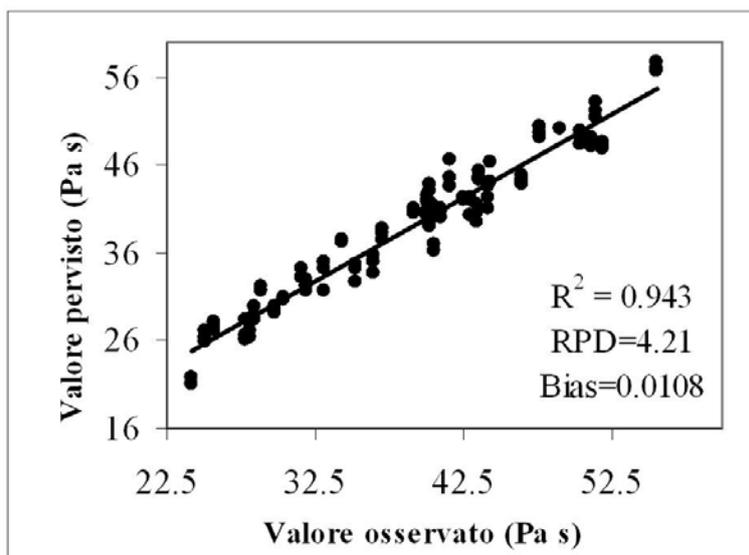


Figura 3.8. Valore previsto vs osservato in Cross Validation per la viscosità (η)

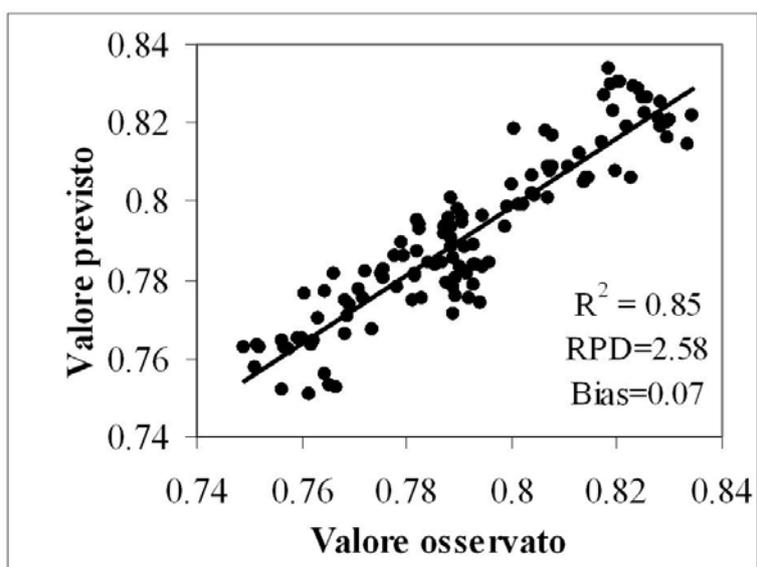


Figura 3.9. Valore previsto vs osservato in Cross Validation per l'indice di flusso (n)

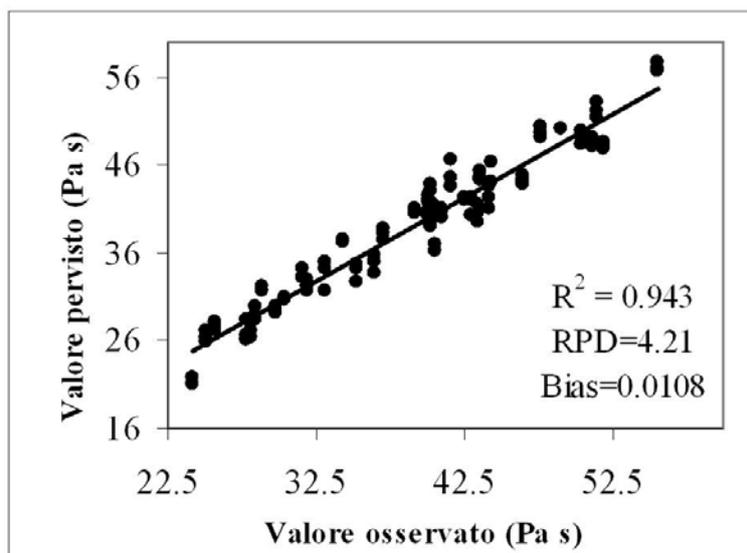


Figura 3.10. Valore previsto vs osservato in Cross Validation per il coefficiente di consistenza (K)

Il miglior coefficiente di determinazione (R^2 0.943) è stato trovato per la viscosità apparente (η) con un RPD di 4.21 (fig. 3.8).

Una buona correlazione di calibrazione è stata trovata tra gli spettri NIR ed il coefficiente di consistenza (K) e l'indice di flusso (n), con un coefficiente di determinazione (R^2) di 0.895 (fig. 3.9) e 0.874 (fig. 3.10), rispettivamente.

Quando il modello è stato applicato per prevedere i campioni sconosciuti, i risultati previsti erano simili per quanto riguarda la viscosità apparente ed il coefficiente di correlazione con R^2 di 0.851 e 0.803, rispettivamente, e più bassi, con R^2 di 0.698, per l'indice di flusso. I valori di *residual predictive deviation* ottenuti sia in *Cross* che in *Test Set Validation*, sono stati attorno a 3 per la predizione del coefficiente di consistenza e di 2.58 per l'indice di flusso.

I valori di RPD ottenuti confermano il fatto che i modelli sviluppati per la stima della viscosità apparente ed il coefficiente di consistenza possono essere utilizzati per uno screening dei dati, invece il modello utilizzato per la stima dell'indice di flusso potrebbe essere utilizzato solo per uno screening preliminare dei dati stessi (Williams & Norris, 2001).

CONCLUSIONI

Il modello Ostwald de Waele è in grado di simulare le proprietà reologiche delle miscele di gelato con un risultato molto buono (R^2 superiore a 0.95).

La tecnica NIR può essere usata per sviluppare modelli di calibrazione per la stima delle proprietà reologiche della miscela per gelato mediante l'algoritmo PLS. La riflettanza diffusa, misurata mediante la sfera integratrice sulle basi per gelato in polvere, sembra essere in grado di correlare la risposta spettroscopica alle proprietà fisiche della miscela per gelato. Una buona accuratezza nella previsione, rispetto alle misure di riferimento, è stata ottenuta sia per la viscosità apparente sia per il coefficiente di correlazione, con un valore di RPD pari a 4.21 e 3, rispettivamente; meno buona è risultata invece la previsione per l'indice di flusso, con un valore di RPD pari a 2.58.

L'applicazione di questi modelli può ridurre significativamente il tempo del controllo delle miscele, il quale è perlopiù condotto facendo e testando il gelato o analizzando le proprietà consistenti del gelato nella sotto forma di miscela di polvere e latte.

Questo metodo, osservato dal punto di vista industriale, può essere uno strumento utile e veloce per un'implementazione in linea, potendo analizzare la qualità della miscelazione e indirettamente le variazioni nelle quantità d'ingredienti. La presente metodologia utile per il monitoraggio delle basi in polvere del gelato non è limitata ad una certa ricetta di base, ma può essere adattata a tutti i processi dove le basi per gelato vengono prodotte.

BIBLIOGRAFIA

AA.VV. 1999b. I neutri nel gelato. *Gelato Artigianale*, 126: 52-61.

Abdelrahim, K. A., Ramaswamy, H., Doyon, G., Toupin, C. 1994. Effects of concentration and temperature on carboxymethylcellulose rheology. *J. Food Sci. and Technol* 29:143-253.

Aime, D.B., Arntfield, S.D., Malcolmson, L.J., Ryland, D. 2001. Textural analysis of fat reduced vanilla ice cream products. *Food Research International* 34:237-246.

Alvarez, E., Cancellà, M.A., Maceiras, R. 2004. Comparisson of rheological behaviour of sweet and salad sauce. *Journal of Food Properties*. 7:51-518.

Berntsson, O., Danielsson, L-G., Lagerholm, B., Folestad, S. 2002. Quantitative in-line monitoring of powder blending by near infrared reflection spectroscopy. *Powder Technol.* 123:185-193.

Bray F. 2001. Ingredienti e punto di congelamento. *Pasticceria-Internazionale*, 24: 135-137.

Bray F. 2002a. Gelati: alternativa agli emulsionanti di sintesi. *Tecnologie Alimentari*, 4: 9-11.

Caviezel L. 1986. Scienza e tecnologia del gelato artigianale. Chiriotti Editori, Pinerolo, Italia.

Dikie, A.M. & Kokini, J. L. 1983. An improved model of food thickeners from non-newtonian mechanics in the mouth. *Journal of Food Science*, 48, 57-61, 65.

Doveri P.P. & Tapparo M. 1990. Approccio reologico alla caratterizzazione del gelato. Relazione dell'Istituto *Lattiero-caseario e di Biotecnologie Agroalimentari di Thiene*.

Esbensen, K., Schönkoph, S., Midtgaard, T., Guyot, D. 1998. *Multivariate Analysis in Practice*. Camo ASA, Oslo.

Goff H.D., Davidson V.J. & Cappi E. 1994. Viscosity of ice cream mix at pasteurization temperatures. *Journal of Dairy Science*, 77: 2207-2213.

Granger, C. A., Leger, Barley, P. Langendorff, V., Cansell, M. 2005. Influence of formulation on the structural networks in ice cream. *International Dairy Journal*. 15:255-262.

Herschel W. 1800. Experiments on the Refrangibility of the Invisible Rays of the Sun, *Phil. Transact. Royal Society*.

Holdsworth, S. D. 1971. Applicability of rheological models to the interpretation of low and processing behaviour of fluid products. *Journal of Texture Studies* 2:393-418.

Lee, K.D., Richter, R.L. and Dill, C.W. 1996. Influence of guar gum on the distribution of some flavor compounds in acidified milk products. *Journal of Dairy Science* 79 (12): 2081–2090.

Macrae R., Robinson R.K., Sandler M.J. 1993. *Encyclopaedia of food Science, Food Technology and Nutrition*, vol 6.

Marshall R.T. & Arbuckle W.S. 1996. *Ice cream*, 5th ed., Chapman & Hall, New York.

Mercandelli F. 2001. Applicazione della gomma di guar nell'industria alimentare. *Tecnologie Alimentari*, 12: 66-69.

- Morabito N. 1999. I segreti chimico-fisici del gelato. *Latte*, 24: 57-59.
- Pancieria D. 1996. *Il BuonGelato*. Editore Finedit, Milano.
- Preti G. 1982. *Il gelato artigianale italiano*. Ulrico Hoepli Editore, Milano.
- Quaglia G. 1992. *Scienza e tecnologia alimentare*.
- Regand ,A.,Goff, H.D. 2002. Effect of biopolymers on structure and ice crystallization in dynamically-frozen ice cream model systems. *Journal of Dairy Sci.* 85:2722-2732.
- Regand, A., Goff, H.D. 2003. Structure and ice recrystallization in frozen stabilized ice cream model systems. *Food Hydrocolloids* 17:95-102.
- Shewry, P. R., Tatham, A.S. 2000. Prediction of wheat protein and HMW-gluten contents by NIR spectroscopy, p. 313-316 (Eds.). *Royal Society of Chemistry*.
- Sinelli, N., Barzaghi, S., Giardina, C., Cattaneo, T. 2005. Use of the FT-NIR spectroscopy to monitor the shelf-life of packed industrial Ricotta cheese. *Journal of NIR Spect.* 13(5):293-300.
- Sommer, H. H. 1944. The theory and practice of ice cream making. 4th ed. Olsen Publishing. Milwaukee, WI, USA.
- Steffe, J. F., 1996. Rheological methods in food process engineering. 2nd rd. Freeman Press, USA.
- Tissino W. 1991. Il vero artigiano e il suo gelato. *Il Gelatiere Italiano*, Editore Finedit, Milano.
- Vecchio A. 2002. Funzioni e aspetti legislativi degli emulsionanti. *Tecnologie Alimentari*, 4: 6-9.

Williams, P. C., Norris, K. 2001. Near-Infrared technology in the Agricultural and Food industry. *American Association of Cereal Chemists*, Inc. St. Paul, MN.

CAPITOLO 4

APPLICAZIONI DELLA SPETTROSCOPIA NIR E DELL'ANALISI MULTIVARIATA PER LA CARATTERIZZAZIONE DELLE ALBICOCCHE

INTRODUZIONE

La spettroscopia del vicino infrarosso è il metodo non distruttivo più utilizzato nelle lavorazioni post-raccolta per la misura di parametri qualitativi di frutta e verdura (Williams e Norris, 2001). Le tecniche NIR sono attualmente implementate in sistemi portatili e nelle linee di lavorazione e la misurazione del contenuto di solidi solubili, i danneggiamenti e i difetti superficiali sono le applicazioni più promettenti. Il grande quantitativo di letteratura prodotta su questo settore durante gli ultimi dieci anni testimonia le potenzialità di questa tecnica largamente dovuta alla combinazione delle misure spettroscopiche con tecniche di analisi multivariata quale PLS (*partial least squares regression*) e ANN (*artificial neural networks*) (Nicolai et al., 2007). Altre importanti applicazioni NIR riguardano la misura della consistenza dei frutti; tuttavia questo aspetto appare più complesso in termini di correlazione e di accuratezza dei modelli predittivi (Lu e Ariana, 2002; Gómez, He, e Pereira, 2006; Zude, Herold, Roger, Bellon-Maurel e Landahl, 2006).

Differentemente da altri frutti, quali mele e pesche, le ricerche condotte sull'utilizzo della tecnologia NIR per la predizione di caratteri qualitativi delle albicocche sono poche e riguardano il contenuto di solidi solubili (Carlini, Massantini, e Mencarelli, 2000) l'acidità titolabile, la durezza della polpa (Bureau et al., 2009), la composizione dei principali componenti organici (Chen, Zhang e Matsunaga, 2006) e il contenuto di carotenoidi (Ruiz, Reich, Bureau, Renard, e Audergon, 2008).

Recentemente, la possibilità di classificare i prodotti agroalimentari a partire dalla sola acquisizione spettrale (*supervised pattern recognition techniques*), senza la necessità di dover misurare il parametro qualitativo di riferimento, ha acquisito

sempre più interesse (Berrueta, Alonso-Salces, e Héberger, 2007). Esempi di tali tecniche sono la LDA (*linear discriminant analysis*), la PLS-DA (*partial least squares discriminant analysis*) (Barker e Rayens, 2003; Indahl, Martens, e Næs, 2007) e la SIMCA (*soft independent modeling of class analogy*) (Vanden Branden e Hubert, 2005).

Le *supervised pattern recognition techniques* combinate con l'informazione spettrale possono essere impiegate al fine di individuare il migliore momento di raccolta e la tipologia di conservazione.

Il presente studio si propone di discriminare tra campioni di albicocche caratterizzate da diversi gradi di maturazione e tipologie di conservazione, per mezzo della spettroscopia FT-NIR in riflettenza diffusa combinata con l'analisi multivariata (Principal Component Analysis, Cluster Analysis e Partial Least Square Analysis).

ALBICOCCO

Origini e diffusioni della coltura

La primaria zona di origine dell'albicocco è ritenuta, da molteplici botanici, quella dell'Asia centrale. Dal Medio Oriente l'albicocco si è diffuso nell'area mediterranea (Italia e Grecia) nel primo secolo a.C. per opera dei Romani e successivamente degli Arabi in Spagna e nel Nord dell'Africa. Solo nel periodo rinascimentale la coltura si è diffusa in Europa, da dove poi sarebbe stata portata negli altri continenti.

La produzione mondiale di albicocche supera di poco le 20 mila tonnellate; il 40% è prodotto in Europa, il 30% in Asia ed il rimanente 30% nei restanti paesi.

Nell'ambito della CEE i principali Paesi produttori sono la Spagna, l'Italia, la Grecia e la Francia.

La quantità di albicocche prodotte annualmente è soggetta a variazioni dovute alle condizioni climatiche, soprattutto durante la fioritura, e alla tendenza della specie all'alternanza.

Le aree italiane di maggiore produzione sono la Campania (60%), l'Emilia-Romagna con oltre il 20%, seguono poi la Basilicata (5%), la Sicilia ed il Piemonte.

Sistematica e caratteristiche botaniche della specie

L'albicocco appartiene alla famiglia delle Rosacee, sottofamiglia delle Prunoidee, genere *Prunus*. La maggior parte degli albicocchi in produzione appartengono alla specie *armeniaca* mentre altre specie vengono utilizzate nel lavoro di miglioramento genetico.

Gli alberi sono a foglia caduca e producono i frutti ovvero drupe di forma variabile, di medie dimensioni, con epicarpo leggermente tomentoso di color giallo o giallo-aranciato e frequentemente presentano una sovracolorazione nella parte esposta al sole. La polpa presenta una colorazione variabile dal verde-giallastro all'arancione, è generalmente spicca, abbastanza soda.

La fruttificazione avviene sui rami misti, sui dardi fioriferi e sui brindilli; i frutti maturano nei mesi di giugno e luglio.

Evoluzione dei requisiti qualitativi

La percezione di qualità dell'albicocca e le attese del consumatore non sono state fino ad ora valutate a sufficienza, soprattutto in relazione alle nuove tipologie varietali. Sul mercato nazionale si trova una destinazione per tutto, dall'eccellenza qualitativa prevista dai regolamenti di club o da capitolati di fornitura, fino a una qualità corrente che confina con quella del prodotto destinato alla trasformazione industriale.

Qualità organolettiche

I punti chiave per definire la qualità gustativa dell'albicocca sono il rapporto dolce/acido, la succosità della polpa e l'aroma. Finora il consumatore ha consumato frutti dolci e poco aciduli. Molte delle cultivar di più recente introduzione presentano acidità medio-elevata. In effetti, l'acidità è tollerata maggiormente dai consumatori Nord-europei, ma l'impressione è che per offrire un prodotto di successo a tutte le latitudini, occorre poter fornire frutti molto dolci, con moderata acidità.

Succosità, aroma e profumo sono determinabili non più solo per via strumentale (Cavicchi et al., 2005); i *panel* test sono ormai entrati di diritto nella valutazione delle nuove accessioni varietali (Mellano et al., 2005). Alla descrizione di aroma e profumo concorrono sia l'intensità che la complessità della percezione.

Senza spingersi sulle descrizioni delle sensazioni orali e olfattive, è evidente che una maggiore attenzione alle percezioni sensoriali gioverà alla promozione dell'immagine dell'albicocca.

Qualità estetiche

In passato la gamma di colori disponibile nell'assortimento varietale era ristretta intorno all'aranciato chiaro; invece ora l'attrattiva si può giocare su colorazioni marcatamente differenziate, nonché su tonalità luminose. Alla presentazione attraente contribuisce una colorazione di fondo aranciato con sfaccettatura rossa luminosa; in secondo ordine appaiono il calibro e la forma.

Qualità tecnologiche

E' divenuta sempre più rilevante in ragione della complessità dei processi post-raccolta volti a far pervenire frutti in condizioni di maturità ottimali sulla tavola di un consumatore spesso lontano dalla zona di produzione. Per superare indenni le fasi di stoccaggio, calibratura-selezione, confezionamento, trasporto, distribuzione, occorre avere a disposizione cultivar geneticamente predisposte ad una lenta evoluzione della maturazione, in modo da poter posizionare la raccolta a uno stadio avanzato senza il timore di un decadimento delle caratteristiche organolettiche.

Gli stessi processi richiedono una scarsa sensibilità ai danni dell'epicarpo; tale esigenza non è scontata con cultivar che, per accentuare il pregio estetico, presentano epicarpo sottile e vellutato. Le varietà tradizionali tomentose erano certo più adatte a tollerare gli stress da manipolazione e trasporto.

Utilizzazione del prodotto

La raccolta delle albicocche viene in massima parte effettuata manualmente a causa della maturazione scalare dei frutti. Tale andamento costituisce uno dei principali ostacoli all'utilizzazione integrale della raccolta meccanica.

Negli ultimi anni la raccolta meccanica ha subito un certo incremento per il prodotto destinato alla trasformazione industriale, in particolare per la produzione di succhi e di creme.

La produzione di albicocche si divide tra il consumo fresco e la trasformazione industriale; la quantità assorbita dall'industria è aumentata nell'ultimo decennio e

attualmente supera il 40% dell'intera produzione. I prodotti derivanti dalla trasformazione industriale delle albicocche sono le puree per la preparazione di succhi, di confetture e marmellate, gli sciroppati e i distillati.

La commercializzazione sul mercato nazionale raggiunge valori superiori al 90% e solo il rimanente viene esportato verso i paesi del centro e del nord Europa.

MATERIALI E METODI

La ricerca è stata condotta analizzando quattro campioni di 120 frutti ciascuno, appartenenti alla cultivar Bora, zona Cesena (FC, Italy), raccolti durante un periodo di 11 giorni in quattro momenti differenti caratterizzati da crescenti stadi di maturazione. In particolare la seconda e la terza raccolta è stata effettuata in congruenza con gli standard commerciali di raccolta. Tutti i frutti sono stati raccolti manualmente dallo stesso filare di piante ed immediatamente trasportati in laboratorio. Nell'ambito di ogni raccolta, 60 frutti sono stati analizzati subito dopo il distacco dalla pianta e i restanti 60 dopo una conservazione di due giorni alla temperatura di 4 °C seguiti da un condizionamento di un giorno a temperatura ambiente (18 °C), seguendo il protocollo commerciale di conservazione prevendita.

Al fine di caratterizzare le albicocche durante la raccolta e la conservazione, al termine delle acquisizioni spettrali sono stati misurati i principali indici di maturazione fisici e chimici.

Le differenze tra le medie degli indici di maturazione nell'ambito delle raccolte e del momento di analisi (alla raccolta e dopo la conservazione) saranno analizzate mediante analisi della varianza (ANOVA) con confronto LSD (*Least Significant Difference*) o per mezzo del test non parametrico di Mann-Whitney, in caso di positività del test sull'omogeneità delle varianze di Levene.

Le acquisizioni spettroscopiche saranno elaborate tramite tecniche di analisi multivariate quali PCA (*Principal Component Analysis*), SIMCA (*Soft Independent Modeling by Class Analogy*), CA (*Cluster Analysis*) e PLS (*Partial Least Squares Regression*).

Acquisizioni spettroscopiche

Lo spettrofotometro utilizzato (fig. 4.1) è un FT-NIR da processo (MATRIX-F, Bruker optics) provvisto di sonda a fibre ottiche (IN 261, Bruker optics).



Figura 4.1. Spettrofotometro FT-NIR (MATRIX-F, Bruker optics) con sonda a fibre ottiche per campioni solidi (diametro pari a 10 mm) (IN 261 Bruker Optics).

In figura 4.2 è mostrato lo schema di funzionamento della sonda a fibre ottiche. La sua forma ad Y consente di illuminare il campione con il 50% dei fasci di fibre (quelli in input) e di raccogliere la luce riflessa con il restante 50% (quelli in output).

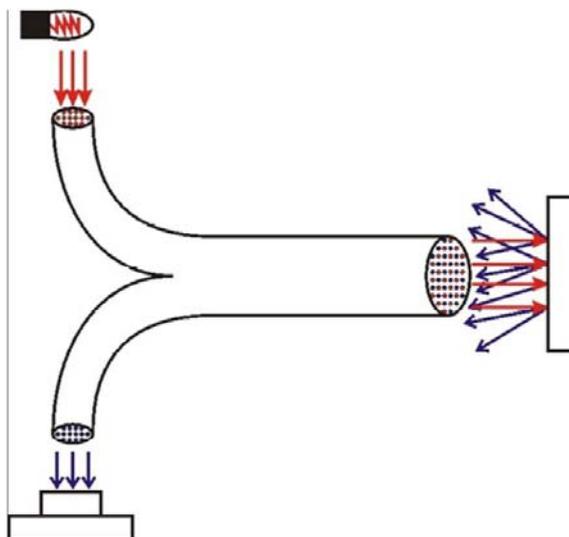


Figura 4.2: Schema di funzionamento della sonda a fibre ottiche (IN 261, Bruker optics).

Su ogni frutto sono state condotte due acquisizioni spettrali ponendo la sonda a fibre ottiche a contatto con due punti diametralmente opposti della sua porzione equatoriale (Fig. 4.3). Le acquisizioni spettrali sono state registrate nel *range* compreso tra 833 e 2500 nm (4 cm^{-1} di risoluzione) (OPUS™, 5.5, Bruker optics). Ad ogni spettro è stato sottratto quello di *background* (Spectralon™, da 13 mm di diametro) secondo la formula:

$$\text{assorbanza} = -\log_{10}[(\text{spettro campione}/\text{spettro background})]$$

Gli spettri acquisiti su ogni albicocca sono stati successivamente mediati.

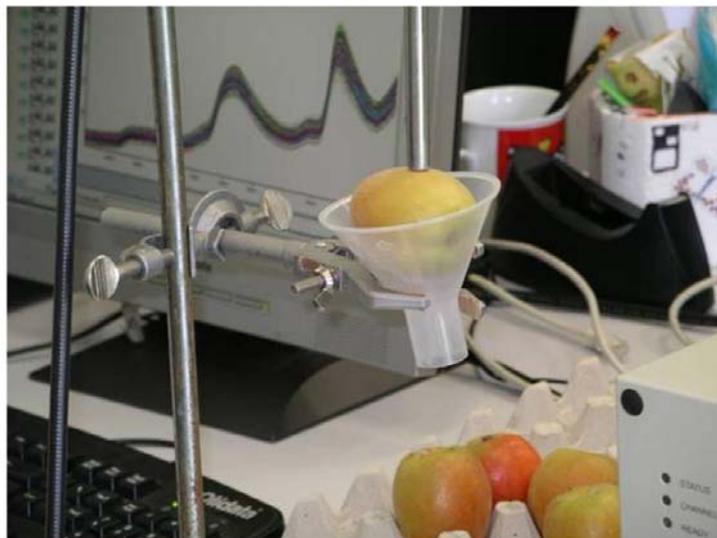


Figura 4.3. Sonda a fibre ottiche a contatto con il frutto.

Indici di maturazione

Indici fisici

Sono stati misurati i seguenti indici fisici: massa (g), diametro equatoriale massimo (mm), diametro equatoriale minimo (mm), diametro longitudinale (mm), colore (giallo-verde) e durezza Magness-Taylor della polpa (N).

La durezza Magness-Taylor (DMT) della polpa è stata valutata mediante un test di compressione condotto tramite Texture Analyzer THDi con puntale da 8 mm di diametro e cella di carico da 50 N (frequenza di campionamento pari a 200 punti per secondo e una velocità di discesa pari a 1 mm/s).

Indici chimici

Sono stati misurati i seguenti indici chimici: il residuo secco rifrattometrico (RSR) ed il pH.

Il residuo secco rifrattometrico è stato valutato tramite rifrattometro digitale. Il dato relativo ad ogni albicocca è stato ottenuto mediando i valori in °Brix provenienti da piccole quantità di succo prelevate nelle facce opposte del frutto. Il pH è stato misurato tramite pHmetro digitale (AMEL 334-B) mediando tre misure condotte su una miscela di 50 ml di acqua distillata e 2 g di polpa.

Analisi dei dati

Statistica classica

Mediante l'analisi della varianza (ANOVA) con confronto LSD (Least Significant Difference) o, in caso di positività del test sull'omogeneità delle varianze di Levene, per mezzo del test non parametrico di Mann-Whitney, sono state valutate le differenze tra le medie degli indici di maturazione nell'ambito delle raccolte e tra campioni freschi e campioni conservati.

Tali indici sono stati analizzati anche tramite PCA (Principal Component Analysis) al fine di valutare la distribuzione dei campioni appartenenti alle quattro raccolte.

Statistica multivariata

Modelli qualitativi

Le informazioni spettrali acquisite sui frutti sono state analizzate impiegando tecniche di analisi multivariata (PCA, *Principal Component Analysis* e CA, *Cluster Analysis*), al fine di poter discriminare nell'ambito delle diverse raccolte e tra i campioni acquisiti alla raccolta e dopo la conservazione (Unscrambler, 9.7, CAMO; OPUS™, 5.5, Bruker optics). Tutti gli spettri sono stati pretrattati al fine di rimuovere gli effetti dovuti allo scattering ed evidenziare il contenuto dell'informazione spettrale. In particolare per l'analisi PCA è stato utilizzato un pretrattamento MSC (*Multiplicative Scatter Correction*) mentre per la CA è stata impiegata una normalizzazione vettoriale seguita dal calcolo della derivata prima. Tale scelta si è basata su indagini preliminari condotte esplorando i dati spettrali e sui migliori risultati ottenibili nell'ambito dei metodi di analisi.

PCA (*Principal Component Analysis*)

Tale analisi è stata condotta con due distinti metodi di validazione quali *Leverage correction* e *Full Cross validation*.

Con la prima tipologia di validazione (*Leverage correction*), l'interpretazione degli andamenti dei *loadings* e degli *scores* ha permesso di selezionare gli intervalli spettrali che meglio descrivono la varianza tra le 4 raccolte nell'ambito dello stesso momento di acquisizione e tra tutti i campioni acquisiti alla raccolta e dopo la conservazione, e di individuare gli spettri *outliers*.

La validazione *Leverage correction*, è un'approssimazione della *Cross validation* che consente di stimare i residui senza effettuare una predizione, dividendo il residuo calcolato in calibrazione per (1-leverage del campione). Si basa sul concetto che campioni con alto *leverage* (elevata distanza dal centro del modello) saranno predetti con più difficoltà. Si tratta di un metodo veloce che rende gli stessi *loadings* e *scores* ottenuti attraverso altri test di validazione, ma riporta una stima più ottimistica dell'errore di predizione; quindi può essere utilizzato per una fase iniziale di esplorazione dei dati.

La *Full Cross validation (leave-one-out)* è stata impiegata per validare 3 modelli costruiti. Nella validazione *leave-one-out* un campione utilizzato per la costruzione del modello di calibrazione, viene escluso dal *training set*, quindi ricalcolata la correlazione e il campione non considerato viene fatto prevedere dal nuovo modello. Questa operazione viene ripetuta per tutti i campioni che costituiscono il *training set*. Tale validazione è stata condotta considerando l'intervallo spettrale selezionato dalle analisi PCA esplorative validate con il metodo *Leverage correction*.

CA (Cluster Analysis)

L'eterogeneità tra le diverse raccolte ed il momento si è stata verificata analizzando le distanze spettrali con il metodo *Ward's Algorithm Standard*. Tale analisi è stata condotta impiegando gli spettri medi calcolati a partire dalle acquisizioni spettrali di ogni raccolta e tipologia di conservazione (in totale sono stati analizzati 8 spettri derivanti ciascuno dai 60 spettri caratterizzanti le singole raccolte e le due tipologie di conservazione) (Tabella 4). Anche in questo caso è stato impiegato l'intervallo spettrale selezionato dalle analisi PCA esplorative validate con il metodo *Leverage correction*.

Modelli quantitativi

Tramite il metodo statistico *Partial Least Squares* (PLS) sono stati sviluppati dei modelli predittivi in grado di descrivere la relazione tra informazione spettroscopica ed indici di maturazione (RSR, pH, e DMT).

PLS (Partial least square regression)

Per ogni indice di maturazione (pH, residuo secco rifrattometrico e durezza Magness-Taylor) sono stati costruiti due modelli, uno per il campione fresco e uno per il campione conservato.

Gli spettri grezzi acquisiti su entrambe le facce del frutto e successivamente mediati sono stati sottoposti ad un algoritmo di ottimizzazione chemiometrico

mediante software OPUS (ver. 5.5, Bruker Optics.) Il processo di ottimizzazione ha consentito di determinare la regione spettrale da considerare, il tipo di pretrattamenti da applicare, numero di fattori della PLS sulla base al miglior valore del coefficiente di determinazione (R^2) e dell'errore quadratico medio in cross validation (*RMSECV*).

Un'analisi PCA è stata condotta sugli spettri per convalidare i risultati ottenuti dal processo di ottimizzazione chemiometrico per la scelta degli intervalli spettrali. I *loadings* delle principali PCs sono stati considerati per selezionare gli intervalli spettrali entro i quali era spiegata la maggior parte della varianza del *dataset*.

Sempre mediante software chemiometrico OPUS sono stati ottenuti i modelli di calibrazione mediante applicazione della PLS mettendo in relazione gli spettri elaborati con i parametri di riferimento.

I modelli sono stati validati con *Cross Validation (leave-one-out)* e *Test Set Validation*. Nella *Cross Validation* un campione utilizzato per la costruzione del modello di calibrazione, viene escluso dal training set, quindi viene ricalcolata la correlazione ed il campione non considerato viene fatto prevedere dal nuovo modello. Questa operazione viene ripetuta per tutti i campioni che costituiscono il training set. Nel *Test Set Validation*, il modello previsionale viene validato considerando una porzione del *dataset*. Nel caso specifico, il 70% degli spettri è stato utilizzato per la *Cross Validation* e il 30% per la *Test Set Validation*.

Tutti i modelli sono stati valutati in base al coefficiente di determinazione (R^2), del *Root Mean Square Error* in *Cross Validation* e *Test Set Validation* (*RMSECV* e *RMSEP*) e della *Residual Predictive Deviation* (*RPDCV* e *RPDP*).

RISULTATI E DISCUSSIONI

Statistica classica

Nelle tabelle 4.1 e 4.2 vengono riportate le medie con le relative deviazioni standard per tutti i parametri fisici presi in considerazione, sia per il campione fresco che per il campione conservato.

Tabella 4.1. Valori medi e deviazioni standard della massa e dei parametri dimensionali misurati sul campione fresco e conservato.

Raccolta	Condizioni post raccolta	Massa (g)	D.long (mm)	D.e max (mm)	D.e min (mm)
I	Fresco	76.1 (11.4)	54.3 (2.7)	50.9 (2.6)	47.9 (1.7)
II	Fresco	77.2 (11.7)	56.4 (3.2)	50.5 (3.1)	47.7 (2.6)
III	Fresco	99.0 (11.8)	60.7 (3.4)	55.2 (2.4)	51.7 (2.4)
IV	Fresco	84.8 (15.6)	57.8 (4.4)	51.9 (3.4)	48.2 (3.1)
I	Conservato	79.8 (8.2)	56.6 (2.3)	50.6 (1.8)	48.6 (2.3)
II	Conservato	72.5 (9.9)	53.4 (3.0)	50.1 (2.8)	46.7 (2.3)
III	Conservato	78.7 (11.0)	54.9 (3.3)	50.1 (2.8)	46.7 (2.3)
IV	Conservato	80.0 (19.4)	54.8 (4.9)	49.9 (5.2)	47.3 (4.2)

Nota: i valori tra parentesi rappresentano le deviazioni standard.

In generale, passando dalla prima alla quarta raccolta si osserva un decremento significativo della durezza Magness-Taylor della polpa sia per i campioni freschi che per i campioni conservati e un incremento significativo del residuo secco rifrattometrico e del pH della polpa sempre per entrambi i campioni.

Tabella 4.2. Valori medi e deviazioni standard dei parametri qualitativi misurati sul campione fresco e conservato.

Raccolta	Condizioni post raccolta	RSR(°Brix)	pH	DMT(N)
I	Fresco	9.7 ^[a, A] _(1.2)	2.85 ^[a, A] _(0.12)	27.4 ^[a, A] _(7.1)
II	Fresco	10.0 ^[a, A] _(1.2)	2.81 ^[a, A] _(0.06)	23.5 ^[b, A] _(7.1)
III	Fresco	11.1 ^[b, A] _(1.3)	2.87 ^[b, A] _(0.06)	16.7 ^[c, A] _(5.7)
IV	Fresco	12.5 ^[c, A] _(2.3)	3.39 ^[c, A] _(0.05)	9.4 ^[d, A] _(5.9)
I	Conservato	9.9 ^[a, A] _(1.0)	2.79 ^[a, B] _(0.13)	22.5 ^[a, B] _(9.5)
II	Conservato	9.7 ^[a, A] _(1.5)	2.77 ^[a, B] _(0.05)	26.7 ^[b, A] _(7.3)
III	Conservato	12.4 ^[b, B] _(1.6)	3.26 ^[b, B] _(0.07)	10.4 ^[c, d, B] _(5.2)
IV	Conservato	13.1 ^[c, A] _(2.1)	3.36 ^[c, B] _(0.04)	8.8 ^[d, A] _(5.0)

Nota: la stessa lettera lungo la colonna indica che non ci sono differenze significative tra le medie dei campioni appartenenti alle diverse raccolte (p -level<0.05; Mann-Whitney test. Le lettere minuscole indicano differenze tra campioni appartenenti a diverse raccolte con lo stesso indice di maturità e condizioni post raccolta; le lettere maiuscole indicano differenze tra campioni con diversi trattamenti post raccolta con lo stesso indice di maturità a nel ambito della stessa raccolta; i valori tra parentesi rappresentano le deviazioni standard.

Analisi spettrale

Le figure 4.4 e 4.5 mostrano gli andamenti degli spettri medi ($\log(1/R)$) calcolati nell'ambito della stessa raccolta per i campioni acquisiti alla raccolta e per quelli dopo la conservazione, rispettivamente.

Tali andamenti sono dominati dalle bande di assorbimento dell'acqua che rappresenta il maggior costituente del frutto (Williams e Norris, 2001). In particolare, il picco a 1450 nm è riconducibile alla presenza di acqua legata a proteine mentre la regione spettrale 1450-1590 nm è attribuibile alla presenza di carboidrati. Le ammine aromatiche mostrano assorbimenti principalmente attorno a 1460-1500 nm mentre gli acidi carbossilici e i composti fenolici, rispettivamente, attorno a 1420-1440 nm e 1400-1600 nm (Williams and Norris

2001). Negli intervalli spettrali citati sono presenti anche gli assorbimenti tipici delle pectine.

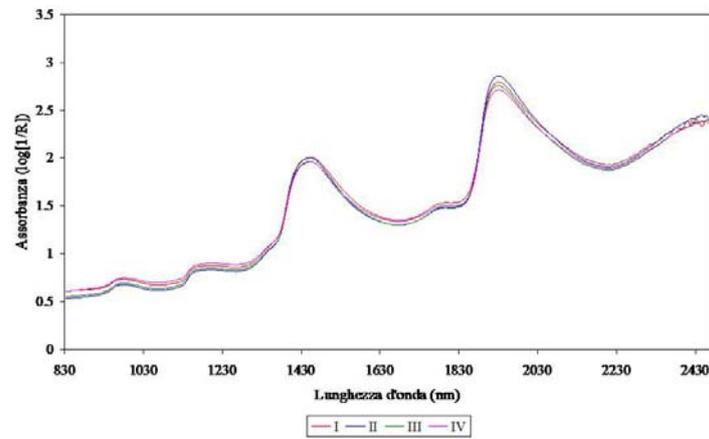


Figura 4.4. Andamento degli spettri medi acquisiti alla raccolta (834-2174 nm)
(R = riflettenza diffusa; I-IV=intervalli di raccolta)

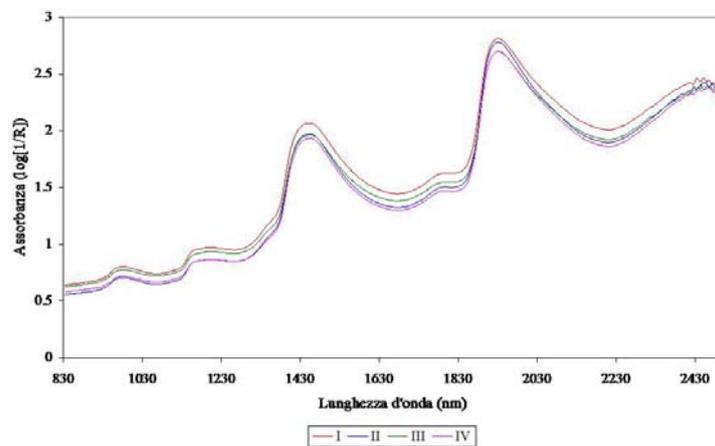


Figura 4.5: Andamento degli spettri medi acquisiti dopo la conservazione (834-2174 nm)
(R = riflettenza diffusa; I-IV=intervalli di raccolta)

Statistica multivariata

Modelli qualitativi

PCA (*Principal Component Analysis*)

Per tutte e tre le analisi PCA, validate con *Full Cross validation (leave-one-out)* nell'intervallo spettrale 1124-1852 nm, la varianza tra i gruppi è descritta da 4 componenti principali. In generale, la maggiore discriminazione tra le raccolte si osserva nell'analisi condotta con gli spettri acquisiti alla raccolta (Fig. 4.6) mentre la distinzione tra le diverse raccolte appare meno evidente nella proiezione degli *Scores* della validazione di quelli acquisiti dopo la conservazione (Fig. 4.8). Differentemente dalle prime due validazioni, è più difficile discriminare dall'analisi degli *Scores* tra i due gruppi caratterizzanti il momento di acquisizione. I relativi andamenti dei *loadings* per le PCA relative al prodotto fresco e conservato, con la percentuale della varianza spiegata dalle singole componenti principali, sono dati nelle figure 4.7 e 4.9.

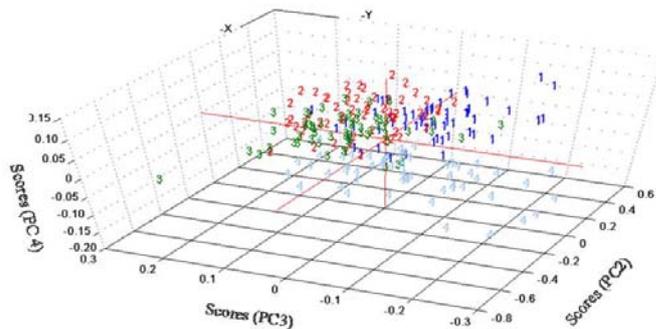


Figura 4.6. Andamento degli *Scores* per l'analisi PCA condotta sugli spettri acquisiti alla raccolta.

(1-4, intervallo di raccolta I-IV; Principal Component (PC); x (PC2, 17%), y (PC3, 5%), z(PC4, 2%); intervallo spettrale 1124-1852 nm; spettri preprocessati con Multiplicative Scattering Correction (MSC).

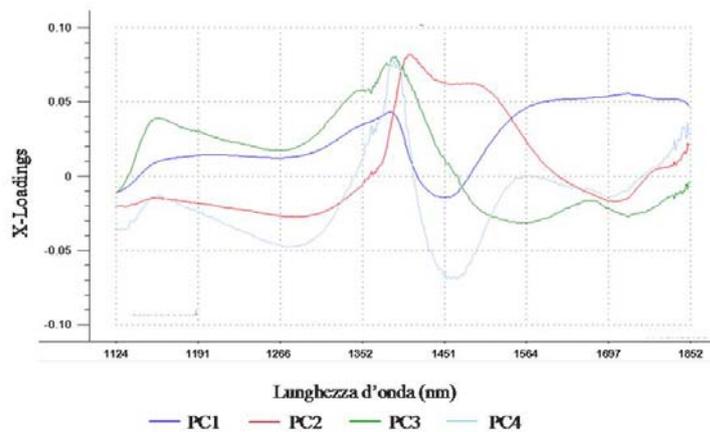


Figura 4.7. Andamento dei *Loadings* per l'analisi PCA condotta sugli spettri acquisiti alla raccolta.

Principal component (PC) X-expl: PC1 (75%); PC2 (17%); PC3 (5%); PC4 (2%); spettri preprocessati con Multiplicative Scattering Correction (MSC)

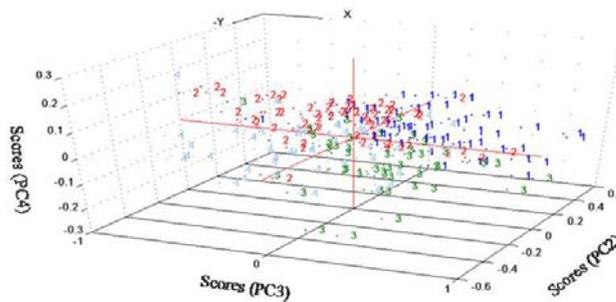


Figura 4.8. Andamento degli Scores per l'analisi PCA condotta sugli spettri acquisiti dopo la conservazione

(1-4, intervallo di raccolta I-IV; Principal Component (PC); x (PC2, 16%), y (PC, 4%), z(PC4, 1%); intervallo spettrale 1124-1852 nm; spettri preprocessati con Multiplicative Scattering Correction (MSC)

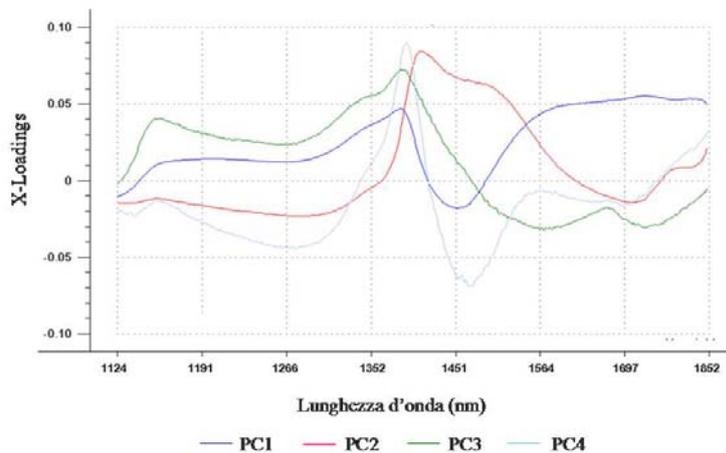


Figura 4.9. Andamento dei *Loadings* per l'analisi PCA condotta sugli spettri acquisiti dopo la conservazione.

Principal component (PC) X-expl: PC1 (79%); PC2 (16%); PC3 (4%); PC4 (1%); spettri preprocessati con Multiplicative Scattering Correction (MSC)

CA (Cluster Analysis)

Le *Cluster Analysis* sono state condotte nell'intervallo spettrale 1124-1852 nm sugli spettri medi nell'ambito delle acquisizioni alla raccolta, dopo la conservazione e per entrambi i momenti di acquisizione, rispettivamente. Dall'analisi del cluster realizzato con gli spettri medi acquisiti alla raccolta si osserva la formazione di due distinti cluster descriventi un livello di eterogeneità massimo tra la prima e le restanti raccolte. Per quanto riguarda il cluster formato con gli spettri delle albicocche conservate si osserva e dopo la conservazione un livello massimo di eterogeneità tra la quarta e le restanti raccolte; per entrambi i momenti di acquisizione, la seconda e la terza raccolta non mostrano tra di loro livelli di eterogeneità.

Dall'analisi del cluster formato con spettri derivanti sia dal prodotto fresco che da quello conservato emerge che le maggiori distanze spettrali osservate sono dovute alla fase di maturazione nel momento della raccolta e non al momento di acquisizione (prodotto fresco o prodotto conservato).

Modelli quantitativi

PLS (Partial least square regression)

Nella tabella 11 vengono riportati i risultati dei modelli predittivi ottenuti per mezzo dell'algoritmo PLS per gli indici di maturazione misurati sul campione fresco e sul campione conservato, rispettivamente.

I dati spettrali derivanti dal campione fresco e conservato, utilizzati per la costruzione dei modelli di stima per i parametri RSR e pH sono stati pretrattati con Multiplicative Scattering Correction per ridurre lo scattering della luce,. In questo tipo di pretrattamento due fattori di correzione vengono calcolati per ogni spettro attraverso regressioni lineari di ogni spettro su uno spettro definito "ideale" che è di solito è lo spettro medio del *data set*.

Per quanto riguarda la durezza Magness-Taylor (DMT) è stato utilizzato un preprocesso del tipo FD (First Derivate) che misura la pendenza della curva spettrale in ogni suo punto e come tale non è affetta dagli spostamenti della linea di base, correggendo qualsiasi distorsione di essa.

Per la previsione del parametro durezza Magness-Taylor (DMT) sono stati utilizzati due intervalli spettrali (1124-1376 nm; 1611-1890 nm), mentre per il pH e il residuo secco rifrattometrico l'intervallo spettrale utilizzato è solo uno (1131-1860 nm), per entrambi i set di campioni.

Dall'analisi delle tabelle emerge che per entrambe le tipologie di campioni (fresco e conservato) i modelli migliori sono quelli ottenuti correlando l'informazione spettrale con il residuo secco rifrattometrico ed il pH della polpa. Per il campione conservato, per il residuo secco rifrattometrico, si osservano valori del coefficiente di determinazione R^2 fino a 0.889 in *Cross Validation* (RMSECV, 0.7) ed a 0.863 in *Test Set Validation* (RMSEP, 0.8), mentre per il pH fino a 0.934 in *Cross Validation* (RMSECV, 0.07) ed a 0.842 in *Test Set Validation* (RMSEP, 0.11).

Tabella 4.3: Modelli predittivi relativi al campione fresco e conservato ottenuti tramite PLS

Indice di maturità	Condizioni post raccolta	Calibration			Cross Validation					Test Set Validation					
		RK	R2	SEC	R2	RMSECV	SECV	RPDCV	SD	RK	R2	RMSEP	SEP	RPD	SD
RSR (°Brix)	Fresco	7	0.832	0.78	0.794	0.822	0.83	2.19	1.8	5	0.722	0.83	0.84	1.89	1.6
	Conservato	6	0.905	0.72	0.889	0.734	0.77	2.87	2.2	4	0.863	0.827	0.83	2.71	2.3
pH	Fresco	6	0.926	0.07	0.863	0.089	0.09	2.67	0.2	6	0.842	0.099	0.096	2.6	0.3
	Conservato	7	0.975	0.05	0.934	0.069	0.07	3.86	0.3	6	0.842	0.113	0.11	2.64	0.3
DMT (N)	Fresco	9	0.699	5.41	0.592	5.88	5.99	1.54	9.2	5	0.557	5.05	4.9	1.57	7.7
	Conservato	7	0.728	6.04	0.653	6.04	6.37	1.62	10.3	5	0.619	6.43	5.64	1.86	10.5

Nota: RK: numero di fattori; SD=deviazione standard; RMSEE: root mean square error in calibrazione; RMSECV: root mean square error in cross validation; RMSEP: root mean square error in test set validation; R²: coefficiente di determinazione; RPDCV: residual prediction deviation in cross validation ; RPDP: residual prediction deviation in test set; SEC = standard error of calibration; SECV = standard error of cross validation; SEP = standard error of prediction; RPD = residual predictive deviation value of prediction

Per quanto riguarda l'accuratezza dei modelli previsionali, per il ° Brix ed il pH i valori del *Residual Predictive Deviation of Prediction* (RPDP) sono di 2.71 e 2.64, valori che secondo William and Norris, 2001 potrebbero essere utilizzati per un'analisi preliminare, invece il RPDP di 1.84 del modello che stima la durezza Magness Taylor non è raccomandabile per essere utilizzato.

CONCLUSIONI

La spettroscopia FT-NIR e le tecniche di analisi multivariata possono essere impiegate al fine di discriminare in modo non distruttivo campioni di albicocche durante la raccolta e la conservazione.

L'analisi multivariata qualitativa condotta senza l'ausilio dei dati di riferimento quantitativi strumentali (indici di maturazione), ha messo in evidenza che frutti caratterizzati da un differente grado di maturazione possono essere individuati sulla base della sola informazione spettrale.

L'analisi delle componenti principali (PCA) ha permesso di individuare l'intervallo spettrale ed il pretrattamento che meglio descrivono le differenze spettrali osservate tra i campioni raccolti a crescente stadio di maturazione e tra i campioni acquisiti alla raccolta e dopo la conservazione.

Analizzando gli indici di maturazione delle albicocche tramite ANOVA una discriminazione netta tra campioni appena raccolti e conservati risulta essere difficile.

Dall'analisi PLS i migliori modelli di stima sono stati ottenuti per il °Brix e pH, dove il R^2 ed il *Residual Predictive Deviation* indicano la possibilità di applicarli per un'analisi preliminare. Questi risultati, simili a quelli già presenti in letteratura, confermano la possibilità di applicazione della tecnica NIR nella valutazione non distruttiva di questa tipologia di frutta dopo raccolta.

I risultati più scarsi, che riguardano i modelli per la DMT, indicano che di essi non può esserne raccomandato l'utilizzo.

BIBLIOGRAFIA

- Barker M, Rayens W. 2003. Partial least squares for discrimination. *J Chemometr* 17:166–73.
- Berreuta LA, Alonso-Salces RM, H'eberger K. 2007. Supervised pattern recognition in food analysis. *J Chromatogr* 1158:196–214.
- Bureau S., Ruiz D., Reich M., Gouble B., Bertrand D., Audergon J. M., Renard C. (2009). Rapid and non-destructive analysis of apricot fruit quality using FT-near-infrared spectroscopy. *Food Chemistry* 15, 1323-1328.
- Carlini P, Massantini R, Mencarelli F, Botondi R. 1998. Determination of soluble solids content in apricot varieties by visible/near-infrared spectroscopy. *Agric Med* 128:138–41.
- Carlini P, Massantini R, Mencarelli F. 2000. Vis-NIR measurement of soluble solids in cherry and apricot by PLS regression and wavelength selection. *J Agric Food Chem* 48:5236–42.
- Cavicchi L., Parpinello G.P., Versari A., (2005). Preliminari prove del naso elettronico per le analisi delle qualità sensoriali delle albicocche. *Frutticoltura*. 6, 49-51.
- Chen J. Y., Zhang H., Matsunaga R. (2006) Rapid Determination of the Main Organic Acid Composition of Raw Japanese Apricot Fruit Juices Using Near-Infrared Spectroscopy. *Journal of agricultural and food chemistry* 54, 9652-9657.
- Chen Q, Zhao J, Zhang H, Wang X. 2006b. Feasibility study on qualitative and quantitative analysis in tea by near infrared spectroscopy with multivariate calibration. *Anal Chim Acta* 572:77–84.

Gomez A. H., He Y. and Pereira A. G. (2006). Non-destructive measurement of acidity, soluble solids and firmness of Satsuma mandarin using Vis/NIR-spectroscopy techniques. *Journal of Food Engineering* 77, 313–319.

Indahl UG, Martens H, Næs T. 2007. From dummy regression to prior probabilities in PLS-DA. *J Chemometr* 21:529–36.

ISO 750. 1998. Fruit and vegetable products: determination of titratable acidity. 2nd ed. Switzerland: Intl. Organization for Standardization.

Lu R, Ariana D. 2002. A near-infrared sensing technique for measuring internal quality of apple fruit. *Appl Eng Agric* 18:585–90.

McGlone V. A., Kawano S. (1998). Firmness, dry-matter and soluble-solids assessment of postharvest kiwifruit by NIR spectroscopy. *Postharvest Biology and Technology* 13, 131–141.

Mellano M.G., Valentini N., Zeppa G., Rolle L., Botta R. (2005). Applicazione dell'analisi sensoriale alla caratterizzazione delle albicocche. *Frutticoltura*. 6, 41-44.

Nicolaï B. M., Beullens K., Bobelyn E., Peirs A., Saeys W., Theron I. K., Lammertyn J. (2007). Nondestructive measurement of fruit and vegetable quality by means of NIR spectroscopy: A review. *Postharvest Biology and Technology* 46, 99–118.

Osborne BG, Fearn T, Hindle PH. 1993. *Practical NIR spectroscopy*

Ruiz D, Reich M, Bureau S, Renard CMGC, Audergon J-M. 2008. Application of reflectance colorimeter measurements and infrared spectroscopy methods to rapid and nondestructive evaluation of carotenoids content in apricot (*Prunus armenica* L.). *J Agric Food Chem* 56:4916–22.

Williams PC, Norris K. 2001. Near-infrared technology in the agricultural and food industry. St. Paul, Minn.: American Assoc. of Cereal Chemists Inc.

Zude M., Herold B., Roger J. M., Bellon-Maurel V., Landahl S. (2006). Non-destructive tests on the prediction of apple fruit flesh firmness and soluble solids content on tree and in shelf life. *Journal of Food Engineering* 77, 254–260.

Vanden Branden K, Hubert M. 2005. Robust classification in high dimensions based on the SIMCA method. *Chemom Intell Lab System* 79:10–21.

Zude M, Herold B, Roger J-M, Bellon-Maurel V, Landahl S. 2006. Non-destructive tests on the prediction of apple fruit flesh firmness and soluble solids content on tree and in shelf life. *J Food Eng* 77:254–60

CAPITOLO 5

STATISTICA MULTIVARIATA E SPETTROSCOPIA FT-NIR PER LA VALUTAZIONE DI INDICI DI QUALITA' IN SEI VARIETA' DI DATTERO

INTRODUZIONE

Con la maturazione dei mercati e con l'introduzione di nuove tecnologie nel campo dell'agricoltura, risulta evidente come la qualità della frutta sia diventata un elemento sempre più importante per il consumatore. Il campo della ricerca è fondamentale e richiede nuovi e costanti aggiornamenti per adempiere lo scopo di migliorare la qualità dei prodotti agricoli. Quest'ultima è influenzata da molteplici fattori: fisici, chimici, fisiologici e sensoriali come ad esempio il grado zuccherino, il colore, la composizione chimica, la durezza e molti altri fattori. Spesso per pervenire a risultati soddisfacenti riguardanti questi fattori, vengono eseguite misure di tipo distruttivo, le quali richiedono tempo e denaro e non possono essere implementati sulle linee di lavorazione. Per ovviare a questo problema, negli ultimi anni il campo della ricerca è orientato verso sistemi di misura rapidi non distruttivi e implementabili nelle linee di selezione.

La spettroscopia NIR (*Near Infrared Spectroscopy*) associata all'analisi con metodi di statistica multivariata, viene utilizzata al fine di costruire modelli per la stima delle principali caratteristiche fisico-chimiche del frutto, quali la sostanza secca, la durezza, l'acidità, il contenuto dei solidi solubili ed altre.

I lavori riguardanti l'applicazione dei metodi fisici non-distruttivi per la stima di parametri qualitativi dei datteri sono pochissimi e riguardano soprattutto indici chimici.

Il seguente lavoro si pone l'obiettivo di sviluppare modelli di calibrazione per la valutazione qualitativa e quantitativa di alcuni dei parametri in grado di caratterizzare la qualità di sei cultivar iraniane di dattero per il consumo fresco (*Deglet Nour, Estamaran, Kabkab, Mazafati, Piarom e Zahedi*).

Stato dell'arte

I lavori riguardanti l'applicazione dei metodi fisici non-distruttivi per la stima di parametri qualitativi dei datteri sono pochissimi e riguardano soprattutto indici chimici.

Ze'ev Schmilovitch et al. (1999) hanno sviluppato un metodo non distruttivo basato sulla spettroscopia NIR per stimare il contenuto di acqua e di residuo secco rifrattometrico di datteri della cultivar *Hayani*. Il sistema presentava un'elevata velocità di campionamento (100 datteri in 3 minuti), ma anche una buona precisione nella stima dei parametri fisico-chimici, ovvero un errore standard di stima SEP (*Standard error of prediction*) di 1% e un coefficiente di correlazione (R) uguale a 0.9 sia per l'acqua che per il residuo secco rifrattometrico.

Lo stesso sistema è stato applicato anche ad un'altra cultivar, *Barhi*, ottenendo un SEP (*Standard error of prediction*) dell'1% per quanto riguarda la misura del residuo secco rifrattometrico.

A. I. Hobani e S. R. Al-Askar nel 2000 si sono occupati di alcune proprietà termiche dei datteri della cultivar *Khudary* e *Sufri*. La conduttività termica effettiva, la diffusività termica e il calore specifico di queste due cultivar sono state determinate in funzione dell'umidità alle temperature di 50 e 70 °C. L'umidità variava dal 18.31% al 62.52% per quanto riguarda i *Khudary* e dal 16.72 al 71.70% per quanto riguarda i *Sufri*. La conduttività termica effettiva variava da 422 a 622 mW/m K a 50°C e da 462 a 676 mW/m K a 70 °C per i *Khudary*, mentre per i *Sufri* variava da 446 a 638 mW/m K a 50 °C e da 449 a 793 mW/m K a 70 °C. La diffusività termica effettiva per i *Khudary* variava da 1.26×10^{-7} a 1.55×10^{-7} m²/s a 50°C e da 1.47×10^{-7} a 1.84×10^{-7} m²/s a 70°C. Quella dei *Sufri* invece variava da 1.30×10^{-7} a 1.93×10^{-7} m²/s a 50°C e da 1.47×10^{-7} a 2.27×10^{-7} m²/s a 70°C. Il calore specifico per la *Khudary* variava da 2.48 a 4.41 kJ/kg K e da 2.42 a 3.99 kJ/kg K, rispettivamente a 50 e a 70 °C, mentre per quanto riguarda i *Sufri* variava da 2.69 a 3.22 kJ/kg K e da 2.40 a 3.41 kJ/kg K, rispettivamente a 50 e a 70 °C.

K.M. Ismail et al. (2003) hanno trovato un metodo veloce per misurare il contenuto di umidità utilizzando un semplice ed economico circuito elettronico. Si tratta di un oscillatore *Colpitts* modificato usando un transistor 2N743. Sono stati presi in studio quattro tipi di datteri (*Sokary*, *Nabtait-Aly*, *Rawthana* e *Om Al-*

Khashab), i quali sono stati mantenuti a temperatura di refrigerazione fino al momento della misura. Per ottenere i dati di riferimento da ogni dattero sono stati prelevati circa 5 g di prodotto che sono stati inseriti nella stufa per 48 ore a 65 °C sotto vuoto. Il coefficiente di determinazione (R^2) di 0.95 confermò che questa tecnica rapida e semplice era anche accurata.

M. A. Sahari et al. (2007), hanno analizzato 34 varietà di datteri per quanto riguarda le misure di umidità, proteine, lipidi e ceneri. Le percentuali medie di queste misure erano rispettivamente di 29.35, 3.3, 0.42 e 2.25 g/100 g di frutto fresco. Il saccarosio non è stato praticamente rilevato in nessuna di queste varietà, tranne nella cultivar *Zark*. Grazie alla spettroscopia atomica ICP è stato possibile trovare elementi minerali come Na, Mg, K e Ca e i loro intervalli erano rispettivamente di 4.46-47.74, 18.44-79.35, 203.61-982.97 e 23.24-73.85 mg/100 g di frutto fresco.

Mohamed Elleuch et al. (2008) si sono occupati dello studio dei principali parametri caratterizzanti (zuccheri, fibre, proteine, ceneri) di due cultivar di datteri, il *Deglet Nour* e l'*Allig*, allo stadio '*Tamr*' di maturazione, appartenenti alla regione *Dèguech* della Tunisia. I datteri presentavano i seguenti valori, rispettivamente: saccarosio 52.7% e 13.9%, glucosio 13.7% e 29.9%, fibre totali 14.4% e 18.4%, proteine 2.1% e 3%, ceneri 2.5% e 2.52%.

M. Keramat Jahromi et al. (2008) hanno studiato le proprietà fisiche della cultivar *Dairi*. Questa cultivar presentava le seguenti proprietà fisico-chimiche: umidità di 10.45%, lunghezza tra 29.8 e 40.2 mm, larghezza tra 15.7 e 20.2 mm e spessore tra 15 e 19.7 mm. La massa media ed il volume medio erano rispettivamente di 5.30 g e 5.49 cm³. La densità del frutto era di 0.97 g/cm³ e quella del frutto denocciolato era di 1.18 g/cm³.

Gli stessi autori hanno poi studiato, in un altro lavoro dello stesso anno, come cambiassero alcune proprietà fisiche della cultivar *Shahani* nel passaggio dallo stadio di maturazione '*Khalal*' al '*Rotab*', fino ad arrivare allo stadio di sovra maturazione.

Sempre il gruppo di *M. Keramat Jahromi* si è occupato della misura delle stesse proprietà fisiche, studiando però la cultivar *Mazafati*. Il contenuto di umidità del frutto era pari al 44.41%, le dimensioni lineari variavano da 32.1 a 43.5 mm in lunghezza, da 20.5 a 28.2 mm in larghezza e da 19.9 a 26.9 mm in spessore. La massa media ed il volume medio erano rispettivamente di 8.39 g e 10.31 cm³.

IL DATTERO

Storia del dattero

La palma da dattero è considerata il primo albero coltivato dall'umanità. Il nome del frutto viene dal greco "daktilos" che significa "dito", per la forma che ricorda una falange. Esso è stato il cibo principale del Medio Oriente per migliaia di anni. Si crede che la sua origine risieda nel Golfo Persico e che siano stati coltivati sin dai tempi antichi dalla Mesopotamia all'Egitto, più o meno nel 4000 a.C.

Il dattero era considerato dai Persiani simbolo di fertilità, mentre la palma venne raffigurata dai Cartaginesi nelle monete e nei monumenti e utilizzata da Greci e Latini come ornamento per celebrazioni trionfali. Gli antichi testi copti raccontano che la Madonna durante la gravidanza si cibava di datteri. Presso i Romani i datteri venivano anche utilizzati per aromatizzare il vino, per fare dolci e per produrre bevande alcoliche con la loro fermentazione. A questa pianta attribuivano valori simbolici di onore e vittoria, perché pur gravata dal peso consistente dei suoi frutti non si piegava, ma anzi cercava disperatamente di ergersi verso l'alto. In epoca imperiale si usava donare un ramo di palma ai grandi attori, auriga o gladiatori, e anche Cristo entrando a Gerusalemme per compiere il suo destino fu festeggiato con foglie di palma.

Il medico arabo dell'antichità Sabbri Kabbani, nel suo libro "Il cibo, non le medicine", attribuisce a questi piccoli frutti la virtù di rendere agili e forti i popoli nomadi che se ne nutrono durante le traversate nel deserto.

Nei ricettari medievali e rinascimentali era presente non soltanto quale frutto servito a fine pranzo, ma anche come ingrediente fondamentale di vivande complesse, quali torte e pasticci, spesso in unione con altri ingredienti salati.

Il letterato e umanista Bartolomeo Sacchi detto "Platina" descriveva questi frutti come dolcissimi ma indigesti, raccomandando di consumarli prima del pasto dopo averli sbucciati e snocciolati, onde evitare di finire strangolati come i soldati di Alessandro Magno.

In tempi più recenti, gli arabi hanno diffuso i datteri attraverso l'Asia, l'Africa del Nord, la Spagna e l'Italia. I datteri vennero introdotti in Messico e in California dagli spagnoli.

Caratteristiche botaniche della specie

La Palma da dattero (*Phoenix dactylifera* L.) è originaria del Nord Africa, dove è ampiamente coltivata formando la caratteristica vegetazione delle oasi.

Si coltiva inoltre nelle Canarie, nel Mediterraneo Settentrionale e nella parte meridionale degli Stati Uniti. Solo le piante femminili producono frutti.

E' una pianta imponente con un tronco molto slanciato, alto fino a 30 metri, vistosamente coperto dai resti delle guaine delle foglie cadute. Le foglie, riunite in un numero massimo di 20-30 a formare una rada corona apicale, sono pennate, lunghe fino a 6 metri, le superiori ascendenti, le basali ricurve verso il basso, con segmenti coriacei, lineari, rigidi e pungenti, di colore verde-glaucoso.

I fiori, unisessuali su piante dioiche, sono piccoli, di colore biancastro, fragranti, riuniti in spadici ascellari lunghi fino a 120 cm e fortemente ricurvi per il peso dei frutti.

Ogni singola spiga può portare da 200 a 1000 datteri e può arrivare a pesare anche 12 kg. Ogni albero produce in media 270 kg di datteri l'anno. La pianta, che inizia a fruttificare solo dopo l'ottavo anno di vita, raggiunge la piena maturità a trent'anni e comincia a deperire dopo il compimento del centesimo anno.

E' una pianta sensibile al freddo, cresce bene su terreni di qualsiasi natura, purché fertili e ben drenati; nelle regioni a clima mite, si coltiva all'aperto in posizioni soleggiate e viene utilizzata soprattutto come pianta ornamentale per il portamento slanciato ed il fogliame.

Perché i frutti giungano a completa maturazione sono, tuttavia, richieste temperature piuttosto elevate (40°C) e notevole disponibilità di acqua, che in coltura viene fornita anche per irrigazione.

Caratteristiche del dattero

Il frutto della *Phoenix dactylifera* L. è una drupa nota col nome di dattero. E' di forma ovale-cilindrica, lunga dai 3 ai 7 cm di diametro e immatura assume colori dal rosso al giallo, in base alla varietà. I datteri contengono un unico seme lungo dai 2 ai 2.5 cm e spesso dai 6 agli 8 mm.

Per aumentare la concentrazione degli zuccheri e renderli così dolci, quasi tutti i datteri vengono fatti essiccare al sole; alcune varietà, come la “Berhi” e la “Hiann”, vengono invece commercializzate fresche. I datteri secchi si presentano più scuri e piuttosto grinzosi, con una forma oblunga irregolare, mentre quelli freschi sono lisci e perfettamente cilindrici. Questi ultimi sono da preferire ai primi, sia per il maggior contenuto di vitamine, sia per l’assenza della glassa di glucosio utilizzata per la conservazione.

I più diffusi sono quelli di provenienza tunisina, la cui qualità è però spesso piuttosto scadente: sono piccoli, poco dolci, addizionati con sciroppo di glucosio e spesso attaccati ad un finto ramo di plastica.

Da grande protagonista del passato, oggi il dattero è ingiustamente relegato in una nicchia di consumo stagionale, che fa torto alle sue notevoli proprietà nutrizionali. Esso è molto energetico, in quanto composto dal 60% di zuccheri (350 calorie per ogni 100 grammi), contiene una buona quantità di vitamine (A, B1, B2, B3, C), nonché calcio, fosforo, ferro e soprattutto tanto magnesio: 200 grammi di dattero offrono quasi 150 mg di magnesio, oltre la metà del fabbisogno giornaliero dell’adulto. Inoltre la presenza delle vitamine idrosolubili permette un assorbimento veloce e consistente dei minerali. Queste caratteristiche ne fanno un frutto ideale per le donne in gravidanza, i bambini, gli sportivi e gli adolescenti. Il magnesio in grandi quantità e le vitamine del gruppo B, sono tradizionalmente alleate nelle strategie alimentari per combattere stanchezza, astenia, depressione e stress psicofisico. La combinazione di zuccheri semplici, calcio, fosforo, ferro e vitamina A, ne consigliano l’uso negli sportivi che fanno intensa attività e che vogliono accrescere la propria massa in maniera naturale. Le fibre del dattero, essendo naturalmente intrise degli zuccheri semplici del frutto, sono eccezionali per risolvere la stitichezza nei soggetti delicati come le mamme in attesa, i bambini, le persone sofferenti di colite e intestino irritabili. Il dattero, per le sue ottime capacità nutrizionali è particolarmente indicato nelle convalescenze, durante le sindromi influenzali, in particolare quando l’organismo è spossato dalla febbre. Il consumo ottimale è naturalmente quello dei frutti freschi, che hanno forma cilindrica, lucida e mai appiccicosa. La provenienza sui nostri mercati di questi ultimi è quasi esclusivamente israeliana, in quanto i paesi nord africani esportano soprattutto datteri già trattati, meno salutari ma comunque molto energetici.

Gli stadi nello sviluppo del frutto

Lo sviluppo del frutto è classificato in quattro stadi usando dei termini arabi (Fayadh & Al-Showiman, 1990). Prima dello Stadio I e nelle prime 4-5 settimane di vita, il dattero è chiamato ‘*Altalaa*’ ed è contraddistinto dal colore verde.

Stadio I: ‘*Kimri*’

Caratterizzato da due fasi:

- nella **prima fase** il dattero mostra le seguenti caratteristiche:

- rapido aumento di dimensioni e peso,
- aumento del tasso di accumulo degli zuccheri,
- alta acidità,
- alto contenuto di umidità,

- nella **seconda fase**, il dattero è caratterizzato da:

- aumento di dimensioni e peso, seppur rallentato,
- diminuzione del tasso di accumulo degli zuccheri,
- leggera diminuzione di acidità,
- elevatissimo contenuto di umidità, molto più che nella prima fase,

Nello Stadio ‘*Kimri*’, la lunghezza media dei frutti si aggira attorno ai 27.5 mm e il diametro attorno ai 17.8 mm (Tabella 5). Il peso medio di cinque tra le varietà di datteri studiate è 5.8 g. I datteri durante questo stadio contengono in media il 5,6% di proteine, lo 0,5% di grassi ed il 3,7% di ceneri (Al-Hooti et al., 1995).

Stadio II: ‘*Khalal*’

Il colore dei datteri cambia dal verde a un incrocio tra giallo e rosso, dipendente dal tipo di coltivazione. In questo stadio, la lunghezza media dei frutti aumenta a 32.5 mm e il suo diametro aumenta a 21 mm. La percentuale di proteine, grassi e ceneri diminuisce fino a 2,7%, 0,3% e 2,8%, rispettivamente. Il peso medio dei frutti aumenta fino a 8.7 g.

Stadio III: 'Rutab'

Il dattero inizia a diventare più tenero e perde acqua. Le percentuali di proteine, grassi e ceneri in questo stadio diminuiscono fino al 2,6%, 0,3% e 2,6%, rispettivamente.

Stadio IV: 'Tamr'

Il dattero si è seccato e assume una consistenza piuttosto dura con un colore più scuro ma ci sono alcuni tipi di datteri che non raggiungono questo stadio.

Nella tabella 6 sono presentate le percentuali medie di proteine, grassi e ceneri di 18 cultivar nello stadio 'Tamr'.

Il contenuto di acqua dei datteri

Il contenuto di umidità dei datteri diminuisce durante la maturazione. Nello Stadio 'Kimri' la sua media è di 83.6%, nello Stadio 'Khalal' è intorno a 66% e continua a diminuire passando allo Stadio 'Rutab' (43%) fino allo Stadio 'Tamr' (24.2%).

Il contenuto di zuccheri dei datteri

I datteri contengono un'elevata quantità di zucchero, che è considerato il componente principale. Questi carboidrati sono soprattutto zuccheri riducenti sotto forma di glucosio, fruttosio, mannosio e maltosio e zuccheri non-riducenti (principalmente glucosio). Sono presenti anche piccole quantità di polisaccaridi, come cellulosa e amido (Shinwari, 1993).

La concentrazione totale di carboidrati aumenta con la maturazione e dipende dal tipo di dattero. La concentrazione di zuccheri totali nello Stadio 'Kimri' varia da 3.4 a 7.7%, nello Stadio 'Khalal' da 18.8 a 31.9% (Ahmed & Ahmed, 1995), nello Stadio 'Rutab' da 43.9 a 50.1%, mentre nello Stadio 'Tamr' da 44.3 a 64.1% (Ahmed & Ahmed, 1995). In altre varietà di dattero, la concentrazione può arrivare a raggiungere l'88% (Shinwari, 1993).

L'aumento della concentrazione degli zuccheri dal primo al quarto stadio è conseguente alla diminuzione del contenuto d'acqua dei datteri durante questi stadi.

Il contenuto di vitamine dei datteri

Il dattero contiene almeno sei vitamine (Tabella 9). La concentrazione di acido ascorbico (vitamina C) è bassa, di circa 0.002-0.02%, ma sono presenti anche vitamina B1, B2, B3 e A.

Produzione mondiale ed esportazione dei datteri

La produzione mondiale dei datteri è aumentata dal 1961 al 1970, passando da 1.8 a 1.9 milioni di tonnellate (Anonimo, 2001). Nei 10 anni seguenti, la produzione è aumentata fino a 2,7 milioni di tonnellate. Dal 1980 al 1990, la produzione è aumentata fino a 3,4 milioni di tonnellate. Gli anni '90 hanno mostrato una crescita spaventosa della produzione mondiale fino a raggiungere il valore di 5,2 milioni di tonnellate nel 1999. Quindi la produzione mondiale è aumentata di 2.9 volte in 40 anni, comparata al raddoppiamento della popolazione mondiale. L'esportazione mondiale dei datteri dal 1961 è aumentata da 0,28 a 0,48 milioni di tonnellate nel 1999. Nel 1961 l'Iraq esportava il 66% della produzione mondiale, mentre nel 1999 solo il 6%, a causa delle sanzioni imposte dalle Nazioni Unite (Tabella 10).

Al contrario l'Iran esportava il 9% della produzione mondiale nel 1961, mentre nel 1999 è arrivato al 21%.

La produzione dei datteri in Iran era di 0.9 milioni di tonnellate nel 1999 (17.5% della produzione mondiale), mentre negli Emirati Arabi Uniti si è passati da 0.006 milioni di tonnellate nel 1961 (0.3% della produzione mondiale) a 0.3 milioni di tonnellate nel 1999 (5.9% della produzione mondiale); inoltre l'esportazione è arrivata a 0.2 milioni di tonnellate (64% della produzione degli Emirati Arabi Uniti stessi, nonché 40% della produzione mondiale).

Questo dimostra come gli Emirati Arabi Uniti siano riusciti a trovare mercato per la loro produzione di datteri, fino a raggiungere ben il 40% della produzione mondiale. Ciò potrebbe essere un segnale su come il mercato dei datteri potrebbe essere fruttuoso per il futuro.

Statistiche più recenti (2007), mostrano invece una produzione di 1 milione di tonnellate di datteri per quanto riguarda l'Iran, 510.000 tonnellate per il Pakistan, 468.000 tonnellate per l'Algeria, 755.000 tonnellate per gli Emirati Arabi Uniti, 970.000 tonnellate per l'Arabia Saudita e di 1.130.000 tonnellate per l'Egitto, che è il maggior produttore mondiale. La produzione totale mondiale ammonta a 6.422.325 tonnellate.

MATERIALI E METODI

La presente sperimentazione si propone di valutare l'adeguatezza della spettroscopia FT-NIR (*Fourier Transform-Near Infrared Spectroscopy*) nella stima degli indici qualitativi dei datteri appartenenti a sei varietà diverse: *Deglet nour*, *Estamaran*, *Mazafati*, *KabKab*, *Piarom* e *Zahedi*.

La ricerca è stata condotta su sei campioni di 100 frutti ciascuno, raccolti in piena fase di maturazione e conservati alla temperatura di 4°C. Al fine di caratterizzare le diverse cultivar di dattero al termine delle acquisizioni spettrali sono stati misurati i principali indici di maturazione fisici e chimici.

Le differenze tra le medie degli indici di maturazione nell'ambito delle raccolte e del momento di analisi (alla raccolta e dopo la conservazione) saranno analizzate mediante analisi della varianza (ANOVA) con confronto LSD (*Least Significant Difference*) o a mezzo del test non parametrico di Mann-Whitney, in caso di positività del test sull'omogeneità delle varianze di Levene.

Le acquisizioni spettroscopiche saranno elaborate tramite tecniche di analisi multivariate qualitative quali PCA (*Principal Component Analysis*), CA (*Cluster Analysis*), SIMCA (*Soft Independent Modeling by Class Analogy*) e PLS (*Partial Least Squares Regression*)

Misure Spettrofotometriche (NIR)

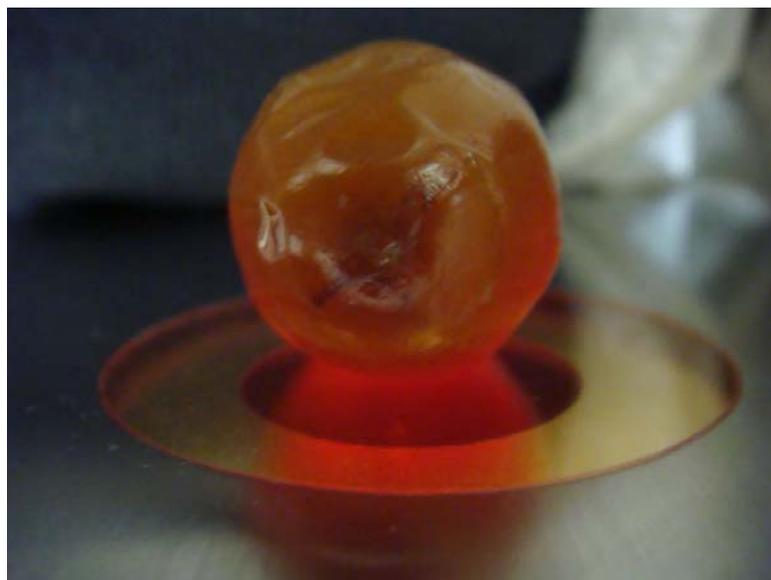
Lo spettrofotometro utilizzato è un Vector 22/N (fig. 5.1, Bruker optics, MA, USA) provvisto di una sfera integratrice e un detector Te-In Ga As.

Il software di gestione della macchina è PUSTM della Bruker Optics il quale permette la scelta dei parametri d'acquisizione e effettua un'elaborazione statistica dei dati, grazie al pacchetto chemiometrico in dotazione.

Per garantire la ripetibilità delle analisi, il sistema è dotato di sistema di validazione interna ed inoltre la componente ottica è completamente schermata da quella elettronica.



a)



b)

Figura 5.1. a) Vector 22/N, Bruker Optics™; b) dattero di varietà KabKab durante l'acquisizione

Lo spettro NIR di ogni campione è stato ottenuto dalla media di 32 scansioni. Le acquisizioni sono state fatte con una velocità di 10 kHz in un range da 800 a 2500 nm e con 5 mm di risoluzione spettrale.

Per ogni frutto sono stati acquisiti spettri su due lati diametralmente opposti dalla sua posizione equatoriale.

Il sistema di campionamento utilizzato è quello della sfera integratrice, che consente un'ampia illuminazione del campione, ed una riduzione dello scattering dovuto all'irregolarità delle superfici. Tale sistema di campionamento viene generalmente impiegato per solidi disomogenei granulari ma, nel nostro caso la fessura del porta campione della sfera integratrice (Ø 20 mm) si adattava molto bene all'illuminazione del campione. Per minimizzare lo scattering della luce dovuto alla differenza di dimensione tra dattero e fessura della sfera, il campione è stato coperto da un tappo nero di metallo utilizzato normalmente nelle misure colorimetriche.

Ad ogni spettro acquisito è stato sottratto il background secondo la seguente formula:

$$\text{assorbanza} = -\log_{10} (\text{spettro campione} / \text{spettro background})$$

Misure distruttive

Dopo l'acquisizione NIR il dattero è stato pesato ed è stata effettuata una penetrazione della polpa in base agli standard ASAE (per misurare la durezza espressa in N). Ogni campione è stato posizionato separatamente su piatto porta campione e la penetrazione è stata effettuata, in direzione radiale, con un *Texture Analyzer* TA-HDI (*Stable Micor Systems Ltd.*, Surrey, UK) provvisto di una sonda cilindrica di 2 mm di diametro ad una velocità di 1 mm/s utilizzando una cella di carico di 50 N.

I datteri sono stati successivamente tagliati in due metà per la valutazione della sostanza secca (SS) e il residuo seccorifrattometrico (RSR).

La sostanza secca è stata misurata in maniera conforme al metodo ufficiale AOAC (1998). I campioni sono stati essiccati per 6 ore a una temperatura di 70 ± 1 °C ad una pressione inferiore a 100 mm Hg.

Per la misura del contenuto dei solidi solubili ogni metà del dattero è stata pesata e poi omogeneizzata (Ultraturrax T25 basic IKA^R-WERKE) con acqua distillata tiepida per 60 secondi, nel rapporto di massa di uno a dieci. La soluzione

risultante è stata filtrata e poi è stato misurato il contenuto di solidi solubili con un rifrattometro digitale (PR-101, ATAGO).

Il valore reale dello RSR è stato poi calcolato moltiplicando il valore del residuo secco rifrattometrico della soluzione diluita al rapporto tra peso della miscela diluita e peso del dattero (metodo ufficiale per analizzare AOAC, 1998).

Statistica multivariata

Modelli qualitativi

PCA (*Principal Component Analysis*)

L'analisi delle componenti principali è stata effettuata sugli spettri NIR tramite Unscrambler ver 9.6, CAMO. Tale analisi è stata condotta con il metodo di validazione *Full Cross validation* al fine di selezionare gli intervalli spettrali che meglio descrivono la varianza tra le 6 varietà di dattero e di individuare gli spettri *outliers*.

Successivamente è stata condotta un'altra analisi PCA al fine di costruire modelli di discriminazione tra le diverse varietà. La *Full Cross validation (leave-one-out)* è stata impiegata per validare la discriminazione tra i 6 gruppi di datteri: *Deglet nour*, *Estamaran*, *Mazafati*, *KabKab*, *Piarom* e *Zahedi*. Il modello è stato costruito utilizzando tutti gli spetti ottenuti dalla media di due acquisizioni effettuate su entrambe le facce del dattero per ciascuna varietà. Nella validazione *leave-one-out* un campione utilizzato per la costruzione del modello di calibrazione, viene escluso dal *training set*, quindi ricalcolata la correlazione e il campione non considerato viene fatto prevedere dal nuovo modello. Questa operazione viene ripetuta per tutti i campioni che costituiscono il *training set*. Tale validazione è stata condotta considerando l'intervallo spettrale selezionato dalle analisi PCA esplorative validate con il metodo *Full Cross Validation*.

CA (Cluster Analysis)

Per definire il grado di similitudine spettrale delle acquisizioni effettuate sulle diverse varietà di dattero è stata condotta una cluster analisi di tipo gerarchico (*Hierarchical Cluster Analyses*) mediante l'impiego di software chemiometrico OPUS ver.5.5, Bruker Optics. Per l'analisi sono stati considerati i valori medi degli spettri ottenuti mediando, nell'intero range spettrale (833-2500 nm), gli spettri acquisiti per ogni singola varietà (200 spettri). Le distanze spettrali sono state calcolate mediante l'applicazione di algoritmi standard (*Ward's Algorithm Standard*) basati sul calcolo delle distanze Euclidee così come la crescita del fattore di eterogeneità H valutato sempre in accordo con il *Ward's Algorithm Standard Average* (Ward, 1963).

SIMCA (Soft Independent Modelling by Class Analogy)

Sei differenti classi sono state modellate individualmente da separate PCA validate con Full Cross Validation. Come dataset sono stati impiegati l'80% degli spettri acquisiti, precedentemente pretrattati con vector normalization nell'intervallo spettrale ottenuto dall'analisi delle componenti principali. Il restante 20% degli spettri è stato utilizzato per testare i modelli di classificazione. I modelli di classificazione SIMCA sono stati sviluppati su tutte e sei le varietà con un livello di Class-cut off limits del 10 % . (Sinelli et al). Il software utilizzato per la modellazione SIMCA è stato Unscrambler (vers 9.6, CAMO, ASA, Norway).

Modelli quantitativi

PLS (Partial Least Square)

Per ogni parametro caratterizzante della qualità è stato costruito un solo modello previsionale utilizzando i dati di tutte sei varietà

In particolare, sono state effettuate regressioni PLS (PLS 1, OPUS™ versione 5.0 Bruker Optics) per stimare la sostanza secca (DM), il contenuto dei solidi solubili (SSC) e la durezza partendo dalle acquisizioni spettrali. In base ai risultati della PCA e alle caratteristiche spettroscopiche è stato selezionato il miglior set di lunghezze d'onda e preprocessi.

Il set di lunghezze d'onda è stato ottimizzato ulteriormente in base al migliore valore di R^2 e il valore minimo del SECV ottenuto usando la *Cross Validation* (con il 75% del *data set*).

La bontà dei modelli precedentemente costruiti è stata valutata tramite una validazione esterna, *Test Set Validation*, (utilizzando il restante 25% del *data set*).

Per riuscire ad accertare l'accuratezza e la bontà dei modelli predittivi, è stata calcolata la deviazione predittiva residuale (RPD) per entrambe le validazioni, dividendo la deviazione standard dei valori di riferimento per il SECV, ottenendo il RPDCV o per il SEP, ottenendo il RPD, (Williams, 2001).

RISULTATI E DISCUSSIONI

Misure distruttive

Le sei cultivar di dattero, *Deglet nour*, *Estamaran*, *KabKab*, *Mazafati*, *Piarom* e *Zahedi*, sono state caratterizzate da valori medi della massa di 8.03 ± 1.27 g, 8.03 ± 1.59 g, 13.6 ± 1.77 g, 12 ± 2.84 , 7.89 ± 1.38 g e 6.57 ± 1.1 g, rispettivamente. La tabella 5.1 mostra i valori medi e la deviazione standard dei parametri qualitativi di ognuna delle sei cultivar di dattero prese in analisi. Differenze significative dal punto di vista statistico tra le varietà sono state osservate per tutti i parametri misurati.

Tabella 5.1. Valori medi e deviazioni standard dei parametri qualitativi misurati per ogni cultivar

		Estamaran	Kabkab	Mazafati	Piarom	Deglet nour	Zahedi
SS (%)	media	88.77 ^a	86.53 ^b	69.49	93.00	86.50 ^b	88.08 ^a
	DS	5.03	3.15	3.56	1.85	2.81	1.49
Durezza (N)	media	1.51 ^{a,b}	1.45 ^{a,b}	0.92 ^{a,b}	5.98	3.77	4.98
	DS	0.84	0.50	0.45	2.89	2.65	3.00
RSR (°Brix)	media	77.70	75.64 ^a	57.98	81.05	72.18	74.62 ^a
	DS	2.63	3.68	2.47	2.95	2.57	4.25
Massa (g)	media	8.03	13.60	12.00	7.89	8.03	6.57
	DS	1.59	1.77	2.84	1.38	1.27	1.10

La stessa lettera lungo la riga, in minuscolo, indica che non ci sono differenze significative tra le medie dei campioni appartenenti alle diverse cultivar ($p\text{-level} < 0.05$; Mann-Whitney test).

Spettroscopia FT-NIR

La figura 5.2 presenta gli spettri medi di tutte e sei le cultivar di dattero ottenuti nel range di lunghezza d'onda di 833 e 2500nm. Gli spettri medi sono simili come forma e hanno bande di assorbimento intorno a 970, 1190, 1450 e 1940 nm. Queste bande di assorbimento sono maggiormente relazionate alle vibrazioni funzionali dell'O-H e C-H e agli *overtone* dell'acqua, zuccheri, cellulose e altre

sostanze contenenti il gruppo *hydroxyle* (Williams, 2001). L'intervallo spettrale considerato (1130-2220 nm) nelle nostre analisi ha escluso la prima banda di assorbimento in quanto il segnale era molto disturbato dal rumore.

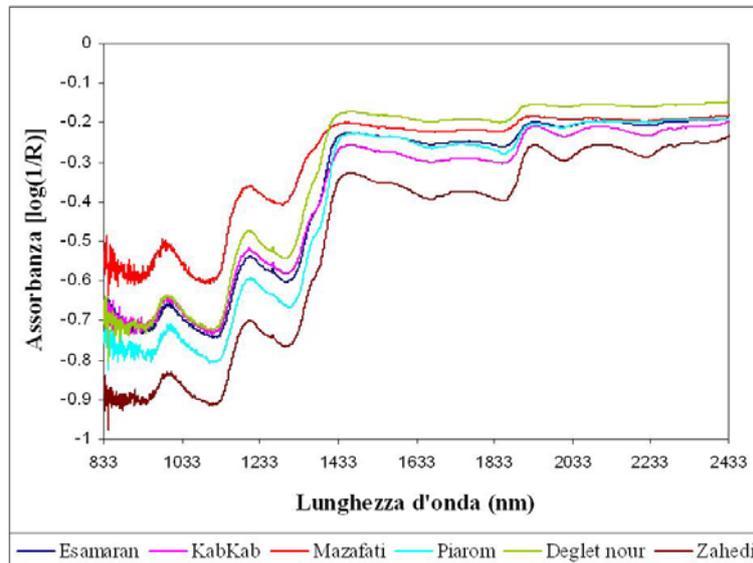


Figura 5.2. Spettri medi ($\log 1/R$) delle sei cultivar di dattero.

Statistica multivariata

PCA (Principal Component Analysis)

Dallo studio preliminare dei dati spettrali condotto tramite un'analisi delle componenti principali nel *range* compreso tra 833 e 2500 nm è stato identificato il miglior intervallo spettrale e preprocessato per l'analisi degli spettri. Le prime due componenti principali spiegano il 96% dell'intera variazione interna del *data set* e il maggiore contributo di loadings si è verificato nell'intervallo spettrale compreso tra 1130 e 2220 con il preprocesso di normalizzazione vettoriale (VN).

I risultati della successiva analisi PCA condotta nell'intervallo spettrale ottenuto tramite *Full Cross Validation* sono evidenziati nelle figure che seguono.

Nella figura 17 sono riportati gli *Scores* proiettati sulle prime due PC (PC1 e PC2) dell'analisi PCA.

La figura 5.4 mostra le *x-loadings* che descrivono i pesi delle *x*-variabili in funzione del loro contributo sulla varianza di tutte le sei cultivar. Come si può

notare dal *loading plot* ci sono tre regioni importanti intorno a 1190, 1450 e 1940 che coincidono con le bande di assorbimento individuate negli spettri medi della figura 5.3.

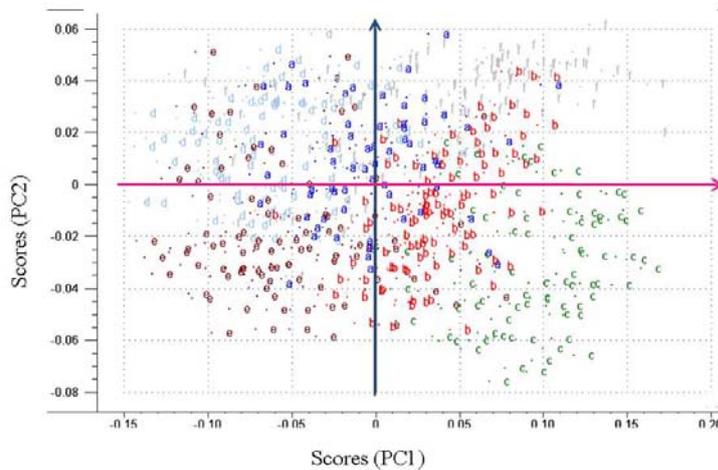


Figura 5.3. Andamento degli *Scores* per l'analisi PCA condotta sugli spettri pretrattati nell'intervallo spettrale 1130 e 2220 (a = estamaran, b = kabkab, c = mazafati, d = piarom, e = deglet nour, f = zahedi)

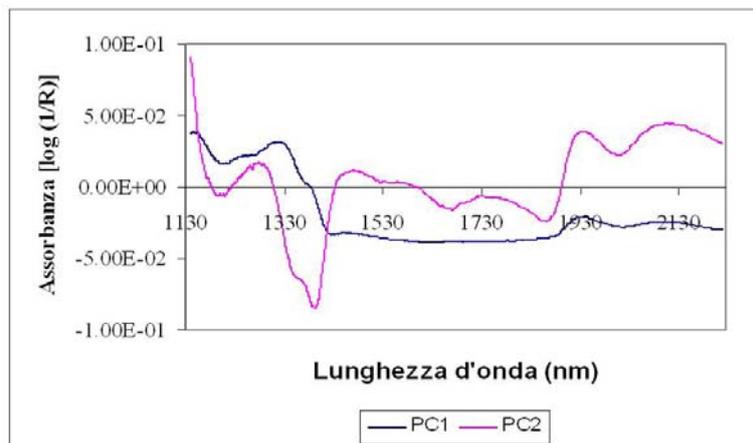


Figura 5.4. Andamento dei *Loadings* per l'analisi PCA condotta sugli spettri provenienti dalle sei varietà di dattero pretrattati nell'intervallo spettrale 1130 e 2220

CA (Cluster Analysis)

Nella figura 5.5 vengono riassunti i risultati della *Cluster Analysis* condotta nell'intervallo spettrale 1130-2220 nm sugli spettri medi di ogni cultivar pretrattati con *Vector Normalisation*. Dall'analisi della dendrogramma si osserva una formazione di due distinti cluster descrivendo un livello di eterogeneità massimo tra le cultivar Mazafaty e Estamaran, Kabkab, Piarom, Deglet nour e Zahedi. La posizione del cultivar Deglet nour all'interno del primo cluster, con Estamaran e Piarom da un parte e Kabkab e Zahedi da un'altra parte e dovuta al fatto che questa varietà presenta delle caratteristiche fisico-chimiche intermedie rispetto alle altre varietà del cluster

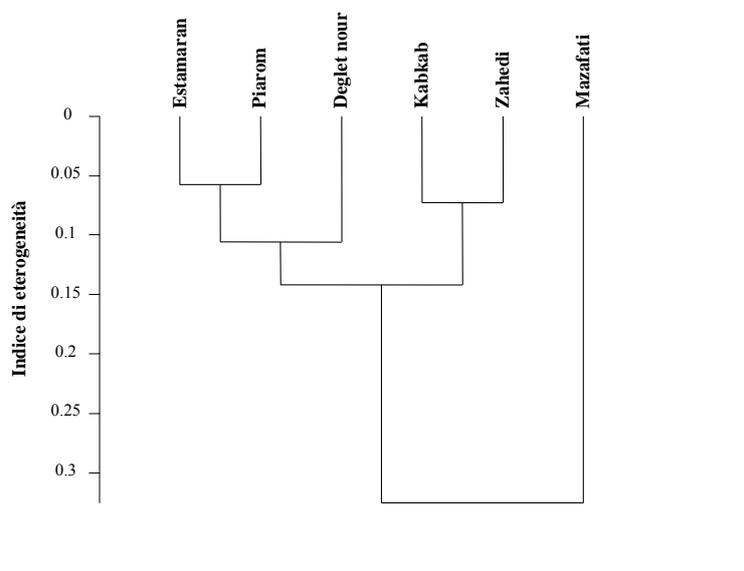


Figura 5.5: Cluster Analysis condotta nell'intervallo spettrale 1130-2220 nm sugli spettri medi di ogni cultivar pretrattati con Vector Normalisation.

SIMCA (Soft Independent Modelling by Class Analogy)

In *tabella 5.2* sono riassunti i risultati delle analisi SIMCA condotte nell'intervallo spettrale 1130-220 nm al fine di classificare diverse cultivar: Estamaran, Kabkab, Mazafati, Piarom, Deglet nour, Zahedi.

Tabella 5.2. Risultati della classificazione SIMCA utilizzando le sei classi di frutti di dattero

Classi	PCs	n. campioni correttamente classificati	% campioni correttamente classificati	False negative	False positive
1	3	13/13		0	0
2	3	20/20		0	0
3	3	20/20	100%	0	0
4	3	20/20		0	0
5	3	20/20		0	0
6	3	13/13		0	0

(class 1= Estamaran; class 2= Kabkab; class 3= Mazafati; class 4= Piarom; class 5= Deglet nour; class 6= Zahedi)

In detta tabella con *false negative* è indicato un campione non correttamente classificato nella classe di appartenenza e con *false positive* si intende che il campione può appartenere anche ad altre classi e la distanza misurata da tali classi è inferiore a quella misurata per la classe di appartenenza. Le distanze dei singoli campioni dalle PCA caratterizzanti le singole classi sono state analizzate attraverso l'interpretazione del *plot Si vs. Hi* un grafico che mette in relazione la distanza, ovvero la deviazione standard dal modello, *Si (object to model distance)*, con la distanza dal centro del modello, *Hi leverage (distance to model center)*, per ogni campione; a parità di *Si* il campione è più vicino al modello che ha il *leverage* più basso.

Il miglior modello è stato ottenuto con il pretrattamento di normalizzazione vettoriale usando 3 PCs in grado di spiegare il 99% della variabilità di ogni classe. Dall'analisi della *tabella 5.3* emerge che il 100% dei frutti sono classificati correttamente

PLS (Partial Least Square)

La *tabella 5.3* contiene i risultati della *Cross Validation* e *Test set validation* effettuate sui modelli predittivi. Questi parametri statistici sono stati ottenuti effettuando un'analisi PLS nel *range* spettrale compreso tra 1130 e 2220 nm. Gli spettri sono stati preprocessati con *Multiplicative scattering correction* e *First derivate* per i modelli previsionali del residuo secco rifrattometrico e della sostanza secca e con *First derivate* per il modello previsionale della durezza.

Un'alta correlazione tra dati spettrali e dati di riferimento è stata incontrata per la sostanza secca ed il residuo secco rifrattometrico, con un coefficiente di

determinazione (R^2) di 0.938 e 0.936, rispettivamente, e un errore standard della calibrazione (SEC) pari all'1.94% per la sostanza secca e 2.04 per i °Brix, rispettivamente.

Quando il modello è stato applicato per prevedere campioni incogniti, i risultati sono stati simili, con un R^2 di 0.928 per la previsione della sostanza secca e 0.930, per la previsione del residuo secco rifrattometrico, con un errore standard della previsione inferiore al 3%. In questi due casi, i valori del residual prediction deviation (RPD) sono risultati intorno a 3.7: ciò significa che i modelli di regressione possono essere utilizzati per lo screening dei campioni, dando una corretta classificazione (Williams, 2001).

La correlazione tra gli spettri NIR e la durezza è stata relativamente buona, con un R^2 di 0.837 e un errore standard della calibrazione (SEC) di 0.7 N. quando il modello è stato applicato per prevedere dei campioni incogniti il risultato è stato inferiore: R^2 uguale a 0.792 ed errore standard della previsione pari al 32%. In questo caso la *residual prediction deviation (RPD)* è stato di 2.2, risultato che conferma l'utilizzo del modello solo per uno *screening* preliminare (Williams, 2001).

Tabella 5.3. Caratteristiche dei modelli PLS per la previsione della sostanza secca, residuo secco rifrattometrico e durezza.

Parametro	Lunghezza d'onda (nm)	DS	Calibration			Cross validation			DS	Test set validation			
			R^2	RK	SEC	R^2	SECV	RPDCV		R^2	RK	SEP	RPDP
SS (%)	1130-2220	7.83	0.944	6	1.84	0.938	1.94	4.04	7.75	0.928	8	2.07	3.74
Durezza (N)	1333-2355	1.88	0.861	7	0.7	0.837	0.76	2.47	2.27	0.792	6	1.03	2.2
RSR (°Brix)	1130-2220	8.08	0.942	6	1.95	0.936	2.04	3.96	8.26	0.93	6	2.18	3.79

Nota: DS, deviazione standard, RK, numero di fattori; SEC, errore standard in calibrazione; SECV errore standard in cross validation; SEP, errore standard in test set validation; R^2 , coefficiente di determinazione; RPDCV: residual predictive deviation in cross validation; RPDP: residual predictive deviation in test set validation.

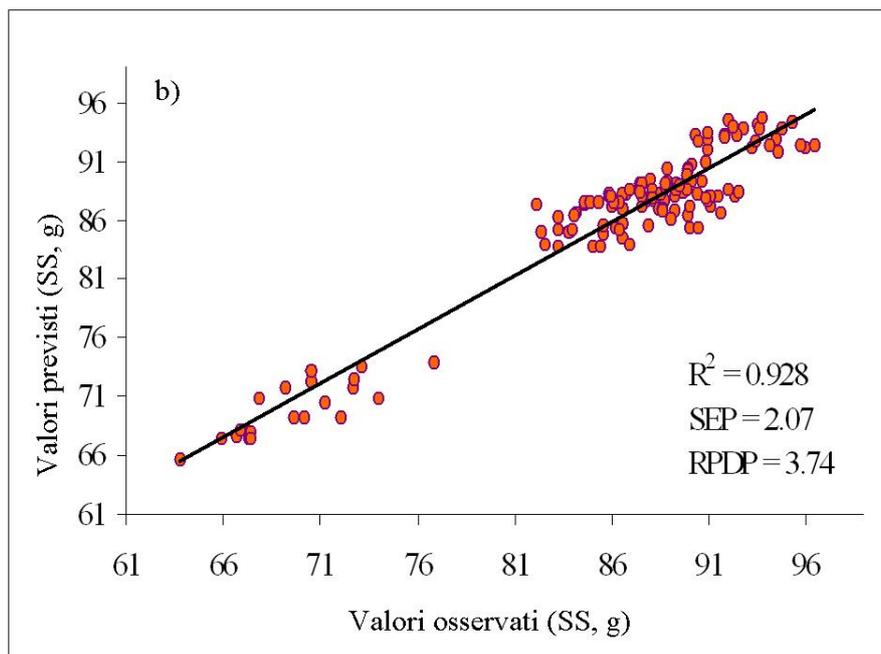
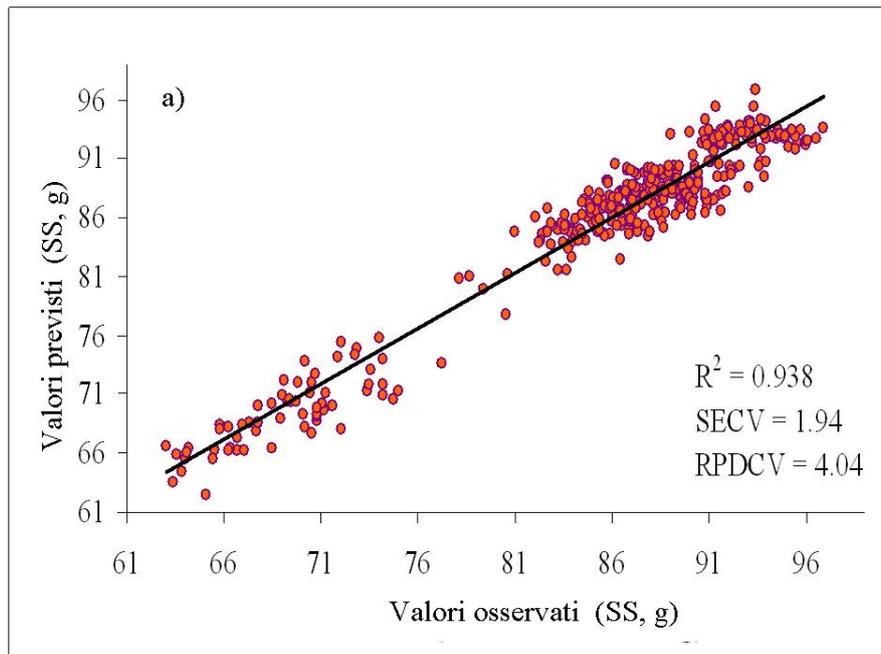


Figura 5.6. Valori predetti contro valori osservati della sostanza secca per la validazione interna (a) ed esterna (b).

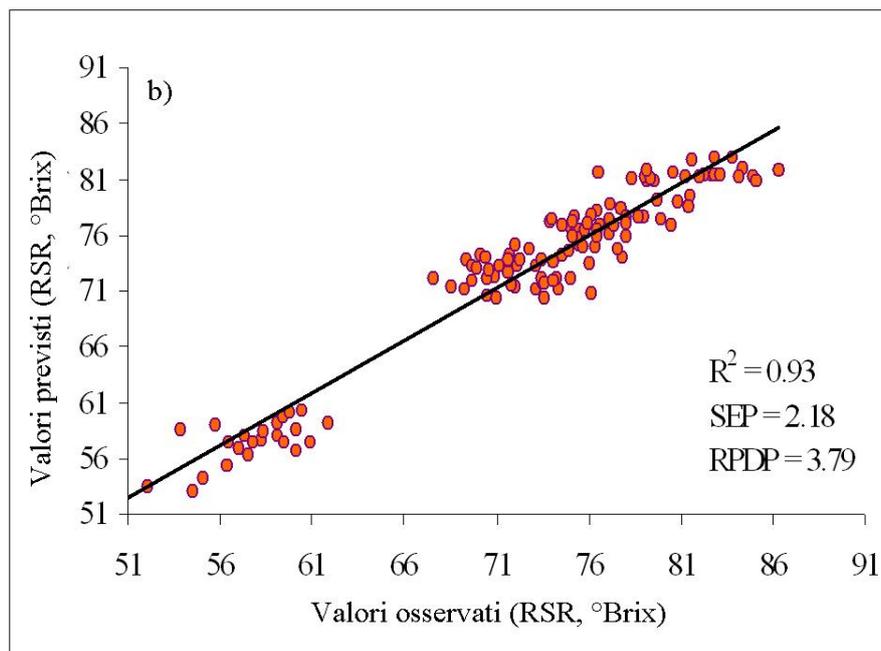
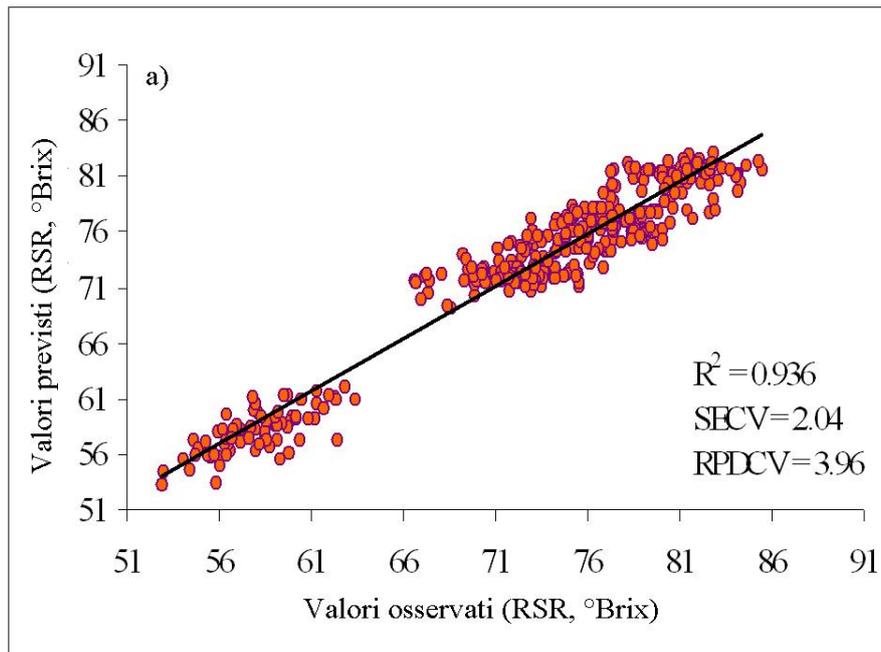


Figura 5.7. Valori predetti contro valori osservati del residuo secco rifrattometrico per la validazione interna (a) ed esterna (b)

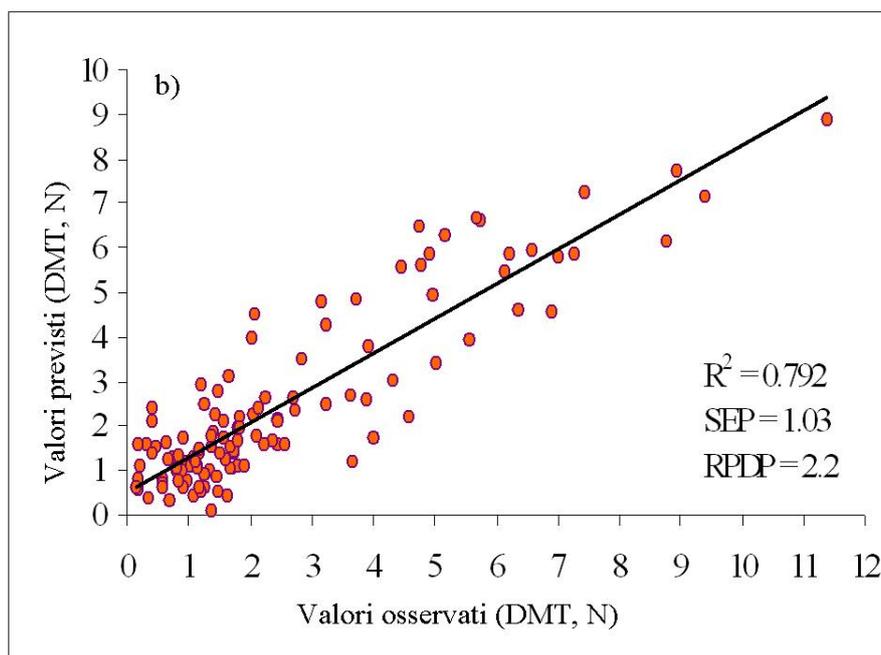
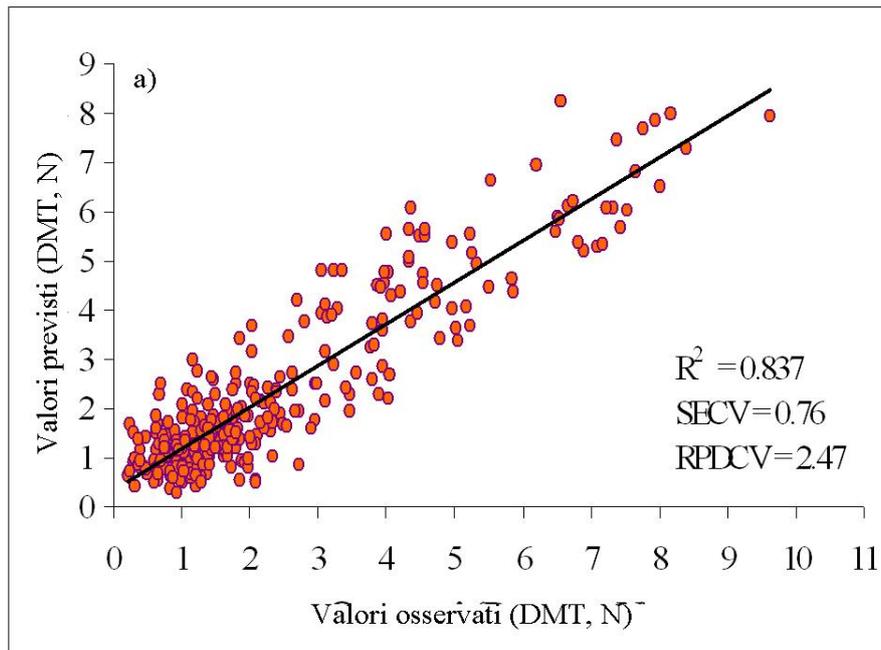


Figura 5.8. Valori predetti contro valori osservati della durezza per la validazione interna (a) ed esterna (b)

CONCLUSIONI

La spettroscopia FT-NIR abbinata a tecniche di analisi multivariata ha permesso di valutare in modo non distruttivo la qualità di sei varietà diverse di dattero.

Nell'analisi delle componenti principali, applicata nell'intervallo di lunghezze d'onda compreso tra 1130 e 2220 nm, le prime due componenti principali spiegano il 96% dell'intera variazione interna del *data set*.

La cluster analysis sembra raggruppare in modo migliore i dati spettrali provenienti da quelle cultivar che presentano le maggiori differenze in termini di contenuto in solidi solubili ed in sostanza secca.

La Soft Independent Modeling Class Analysis (SIMCA) ha mostrato un'ottima capacità di classificazione delle differenti cultivar.

I risultati dell'analisi PLS indicano che i modelli di regressione possono essere utilizzati per una previsione accurata della sostanza secca e del residuo secco rifrattometrico, con un coefficiente di determinazione (R^2) di 0.938 e 0.936, rispettivamente, nella validazione interna e di 0.928 e di 0.930, rispettivamente, nella validazione esterna. Nonostante i modelli ottenuti mostrino coefficienti di determinazione elevati, i valori del *residual prediction deviation (RPD)* per la stima della sostanza secca e del residuo secco rifrattometrico (approssimativamente pari a 3,7), indicano che tali modelli possono essere adatti all'applicazione per uno screening preliminare del prodotto nel post raccolta, (Williams, 2001)

I modelli predittivi relativi alla durezza sono risultati più deboli, con dei valori del coefficiente di determinazione, R^2 , pari a 0.837 e della *residual prediction deviation (RPD)* pari a 2.2, risultato che conferma l'utilizzo del modello solo per uno *screening* preliminare (Williams, 2001).

La spettroscopia FT-NIR, vista la sua capacità di analisi non distruttiva appare come una tecnica comunque adeguata per la selezione merceologica di questo prodotto, andando a determinarne la destinazione. In particolare i modelli presentati sono stati costruiti per lavorare con varietà diverse al fine di minimizzare eventuali interventi di aggiornamento delle calibrazioni in fase di utilizzo, ma devono tuttavia essere migliorati in termini di robustezza ampliando il

dataset con datteri di differenti annate di produzione, diverse provenienze, in modo da introdurre e spiegare l'enorme variabilità dei sistemi biologici complessi.

BIBLIOGRAFIA

Ahmed IA & Ahmed A-WK 1995. Chemical composition of date varieties as influenced by the stage of ripening. *Food Chemistry*. 54, 305-309.

Al-Hooti S, Sidhu JS & Qabazard H 1995. Studies on the physico-chemical characteristics of date fruits of five UAE cultivars at different stages of maturity. *Arab Gulf J. Science Research*. 13, 553 – 569.

Anonimo 2001. FAOSTAT Database . Geneva: Food and Agriculture Organization of The United Nations (vedi anche <http://apps.fao.org/>).

AOAC Official Method 934.06, Moisture in dried fruits, First action 1934, Final action; Association of Official Agricultural Chemists (1998), *Official Methods of Analysis*. A.O.A.C. 16° Ed. pubblicata da A.O.A.C. Washington, D.C. (USA).

ASAE S368.4 DEC00, Compression Test of Food Materials of Convex Shape.

D.W. Hopkins 2002. Derivatives - a systematic approach to removing variability before applying chemometrics, *Near Infrared Spectroscopy: Proceedings of the 10th International Conference*, a cura di R.K. Cho e A.M.C. Davies, p. 140-147, NIR Publications

Fayadh JM & Al-Showiman SS 1990. Chemical composition of date palm (Phoenix dactylifera L.) *Chemistry Society Journal*. 12, 84 - 103.

Hobani A. I., Al-Askar S. R. 2000. Effective thermal properties of dates. *Research. Buletin., No. (92), Agriculture Research Center, King Saud Univ., pp. (5-20).*

K. M. Ismail, S. A. Alyahya 2003. A Quick Method for measuring date moisture content. *Transactions of the ASAE* ISSN 0001 2351 CODEN TAAEA J vol. 46, no2, pp. 401-405

M. Keramat Jahromi et al. 2008. Changes in physical properties of date fruit during three edible stages of ripening. *American-Eurasian Journal Agricultural & Environmentl. Science*, 3 (1): 132-136.

M. Keramat Jahromi et al. 2008. Determination of some physical properties of date fruit. *Journal of Agricultural Technology 2008*, V.4(2): 1-9.

M. Keramat Jahromi et al. 2008. Some physical properties of date fruit. *International Agrophysics*; 22, 221-224.

M.A. Sahari et al. 2007. Effect of varieties on the composition of dates (*Phoenix Dactylifera L.*), *Food Science and Technology International*; 13, 269. DOI: 10.1177/1082013207082244.

M.S. Dhanoa, S.J. Lister, R. Sanderson e R.J. Barnes 1994. The link between Multiplicative Scatter Correction (MSC) and Standard Normal Variate (SNV) transformations of NIR spectra, *Journal Near Infrared Spectroscopy*.

Mohamed Elleuch et al. 2008. Date flesh: Chemical composition and characteristics of the dietary fibre; *Food Chemistry* 111, 676-682.

P. Williams e K. Norris, (Eds.) 2001. Near-Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries 2nd edition, *American Association of Cereal Chemists*, St. Paul, Minnesota, USA, 2001.

Shinwari MA 1993. Date palm. In Encyclopaedia of Food Science, *Food Technology & Nutrition*, vol. 2, eds Macrae R, Robinson RK & Sadler MJ, pp. 1300 - 1305. London: Academic Press. Volume 54, Number 4 247 /259

W.Herschel 1800. Experiments on the Refrangibility of the Invisible Rays of the Sun, *Philadephia Transaction*, Royal Society.

Walid.Al-Shahib, Richard J. Marshall 2003. The fruit of the date palm: its possible use as the best food for the future. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*.

Y.L. Yan, L.L. Zhao, D.H. Han, S.M. Yang 2005. Basics and Application of Near Infrared Spectral Analysis, *China Light Industry Press*, Beijing, pg. 38.

Ze'ev Schmilovitch et al. 1999. Maturity determination of fresh dates by near infrared spectrometry. *Journal of the science of food and agriculture* ISSN 0022-5142 CODEN JSFAAE , vol. 79, no1, pp. 86-90 (6 ref.)

Ze'ev Schmilovitch et al. 2000. Machine for automatic sorting 'Barhi' dates according to maturity by near infrared spectrometry, *IV International Conference on Postharvest Science*.

CAPITOLO 6

DETERMINAZIONI DELLE ORIGINI DI PROVENIENZA DI PISTACCHIO FRESCO MEDIANTE L'IMPIEGO DI SPETTROSCOPIA NIR A RIFLETTANZA DIFFUSA

INTRODUZIONE

Lo studio dell'autenticità degli alimenti implica la verifica della genuinità del campione ossia se esso corrisponde alle caratteristiche della classe merceologica assegnatagli, inclusa l'origine geografica. Molte tecniche analitiche sono state utilizzate per valutare l'autenticità di un ampio spettro di alimenti. Arena et al, nel 2006, hanno caratterizzato la frazione lipidica presente all'interno dei pistacchi provenienti dall'Italia, Grecia, Iran e Turchia per cercare di discriminare tra le diverse provenienze di essi, riuscendo a classificare correttamente 23 casi su 24 (95.8%). Questa metodica assieme alle altre metodiche di controllo generalmente utilizzate, si basano su metodi di analisi invasivi che impiegano tempo e risorse e talvolta non forniscono risultati in tempo reale. L'impiego di strumentazioni in grado di operare in maniera rapida, senza preparazione del campione, sono generalmente una risposta adeguata al controllo di qualità. Questi problemi potrebbero essere risolti attraverso l'impiego della spettroscopia nel vicino infrarosso (NIR), Rispondente allo scopo è la spettroscopia FT-NIR (William & Norris, 2001) associata all'analisi con metodi di statistica multivariata; tale tecnica ha come pregio la rapidità e la possibilità di lavorare sul prodotto in maniera non invasiva, permettendo di costruire modelli per la stima delle principali caratteristiche chimico-fisiche del prodotto. L'applicazione della spettroscopia NIR per valutare l'autenticità di caffè, frutta, latte in polvere, succo d'arancia, carcasse di maiale, riso, salsicce, zuccheri, oli vegetali, grano e farina di grano sono state raccolte in una review da Downey nell' 1996. Le applicazioni sono generalmente basate sul principio dell'analisi discriminante, dove vengono comparati gli spettri test con quelli di riferimento.

L'obiettivo della seguente tesi è di sviluppare sistemi basati sulla spettroscopia FT-NIR per la classificazione delle differenti provenienze del pistacchio. La PCA (Principal Component Analysis), SIMCA (Soft Independent Modeling of Class Analogy) e ANN (Artificial Neural Network) sono state usate per creare i modelli di classificazione.

Stato dell'arte

Il Pistacchio (*Pistacia vera L.*) è un albero a foglie caduche, adatto per climi secchi e produce noccioline in grappoli. E' da sempre oggetto di numerosi studi legati prevalentemente alle sue proprietà nutritive e benefiche, quali la riduzione della colesterolemia e delle malattie cardiache. Allo stesso modo non vanno trascurate le ricerche relative all'applicazione dei metodi fisici per la stima dei parametri qualitativi di tale prodotto.

La miscelazione di pistacchi di diverse varietà e qualità si verifica spesso a causa di piantagioni miste, raccolta manuale, trasporto o manipolazione.

Al fine di fornire ai consumatori un prodotto più uniforme possibile, è preferibile un'ispezione e una classificazione dei frutti misti in lotti di forma e taglia uniforme. L'ispezione visuale è solitamente compiuta da operatori e il suo esito dipende da diversi fattori, come l'esperienza dell'operatore, la loro concentrazione e motivazione, fatica e acutezza visiva, condizioni ambientali della stanza (luce, riscaldamento, aerazione, rumore e così via); per queste ragioni i sistemi automatici sono i benvenuti.

Il processo di lavorazione dei pistacchi può essere riassunto come segue.

- Lo sgusciamento, per separare la buccia dalla nocciolina.
- La separazione della spazzatura e delle parti vuote, per rimuovere gusci vuoti ed impurità come i piccoli rami, foglie, terra, insetti ecc.
- La separazione dei pistacchi non aperti.
- Il lavaggio, che comporta un'irrorazione d'acqua ad alta temperatura
- L'asciugatura, per diminuire l'umidità fino ad un livello appropriato.
- La separazione delle noccioline rotte.
- La salatura.

- La tostatura .
- Il confezionamento.

Razavi et al. hanno indagato sulle proprietà fisiche del pistacchio iraniano e sul suo nucleo, per 5 varietà, in funzione del contenuto di umidità (*Razavi, Emadzadeh, Rafe, & Mohammad-Amini, 2007a; Razavi, Mohammad-Amini, Rafe, & Emadzadeh, 2007c; Razavi, Rafe, & Akbari, 2007d; Razavi, Rafe, Mohammadi-Moghaddam, & Mohammad-Amini, 2007b*). Questi autori hanno esaminato le proprietà geometriche, gravimetriche e frizionali di 5 varietà commerciali di pistacchio iraniano (*Akbari, Badami, Kalle – Ghuchi, Momtaz e O'hadi*). La conoscenza di queste caratteristiche sono necessarie per la progettazione di attrezzature e macchine per il trasporto, lo sgusciamento, la classificazione, la manipolazione, la lavorazione e l'asciugatura, e probabilmente sono utili anche per aumentare l'accuratezza nella classificazione della noce di pistacchio con altri metodi, come quelli basati su tecniche morfologiche o di analisi dell'immagine.

Pearson et al hanno valutato le proprietà del pistacchio sulla base del contenuto di umidità e della varietà (*Pearson, Slaughter, & Studer, 1994*) non riuscendo ad identificare un criterio di classificazione per rimuovere le noci rotte dal raccolto, sebbene le noci rotte mostrassero di essere significativamente più piccole in lunghezza, profondità, altezza, massa e volume, rispetto alle noci normali.

In anni recenti, sono stati sviluppati programmi di classificazione neurale introdotti per prendere decisioni a imitazione degli umani allo scopo di effettuare la selezione qualitativa dei prodotti. Combinati con i sistemi di lavorazione ad alta tecnologia, l'affidabilità è il più importante vantaggio che questi classificatori artificiali apportino alla classificazione dei prodotti agricoli. (*Kavdir & Guyer, 2008*). Tecniche ottiche, meccaniche, elettriche e acustiche sono state utilizzate per la classificazione e la selezione. Un sistema basato sull'analisi di immagine è stato introdotto per l'identificazione dei pistacchi aperti in modo prematuro (*Pearson, 1996*). In seguito, è stata dimostrata l'applicabilità di un sistema automatico per la ricerca dei difetti del frutto basato sui raggi X e sulla caratterizzazione statistica (*Pearson, Doster, & Michailides, 2001*).

L'emissione acustica dell'impatto è stata usata come base per un dispositivo che separa pistacchi con guscio chiuso da quelli con guscio aperto (*Cetin, Pearson, & Tewfik, 2004a; Cetin, Pearson, & Tewfik, 2004b; Pearson, 2001*). Lo stesso sistema basato sull'impatto acustico, in seguito, è stato adattato per separare

nocciole danneggiate da quelle sane (*Kalkan et al., 2006*), le nocciole sottosviluppate da quelle mature e per il rilevamento di cariossidi danneggiate da insetti. I risultati ottenuti da questi lavori (*Kalkan et al., 2006; Onaran et al., 2006; Pearson et al., 2007*) sottolineano l'importanza dei metodi di elaborazione dei segnali dell'impatto acustico per ottenere una buona accuratezza nell'ispezione dei cibi.

Una classificazione con le reti neurali utilizzando il multi-structure neural network (MSNN) è stata proposta da Ghazanfari et al nel 1996. La capacità di classificazione del MSNN è stata confrontata con quella di un classificatore MFNN (multilayer feedforward neural network classifier). L'accuratezza media del classificatore MSNN è risultata pari al 95.9%, superiore dell'8.9% alla performance del classificatore MFNN, per le quattro varietà commerciali di frutti testati. *Casasent et al., 1998*, hanno ottenuto risultati promettenti utilizzando l'analisi d'immagine a raggi-X e le reti neurali per classificare i pistacchi. Le caratteristiche dell'istogramma dell'immagine a raggi-X e le loro derivate spaziali sono state usate per la ricerca dei frutti infestati da insetti.

Nel 2006 *Arena et al* ha caratterizzato la frazione lipidica presente all'interno dei pistacchi provenienti dall'Italia, Grecia, Iran e Turchia per cercare di discriminare tra le diverse provenienze di essi, riuscendo a classificare correttamente 23 casi su 24 (95.8%).

IL PISTACCHIO

(Pistacia vera)

Il pistacchio ha una storia lunga e interessante. Originario del Medio Oriente, l'albero del pistacchio è uno dei più antichi alberi con frutti a drupa. Recenti reperti archeologici ritrovati in Turchia fanno risalire la coltura del pistacchio al settimo millennio a.C. Prosperando in climi caldi, esso si diffuse dal Medio Oriente al bacino del mediterraneo, diventando una squisitezza apprezzata da regnanti, viaggiatori e persone comuni.

La leggenda vuole che la regina di Saba decretasse il pistacchio come un alimento riservato alla mensa reale, spingendosi sino a proibirne ai comuni cittadini la coltura per uso personale. Nabucodonosor, re di Babilonia, fece piantare alberi di pistacchio nei suoi leggendari giardini pensili.

Nel I secolo d.C. l'imperatore Vitellio diffuse il pistacchio a Roma.

Il pistacchio fu impiegato come materia colorante e per vari usi nella medicina popolare per guarire il mal di denti, i dolori articolari e muscolari e contro le malattie del fegato. Gli elevati valori nutritivi del pistacchio e il suo lungo periodo di conservazione ne fecero una delle provviste di viaggio indispensabili per i primi esploratori e commercianti. Insieme alle mandorle, questi venivano spesso trasportati dai viaggiatori lungo l'antica via della seta, che collegava la Cina all'Occidente.

Il pistacchio nell'Iran

Più di 60 varietà di pistacchio, sono coltivate in diverse regioni dell'Iran. Sulla base delle statistiche della FAO, nel 2003 l'Iran ha prodotto circa 250.000 tonnellate di pistacchio, che rappresenta approssimativamente il 54.7% della produzione mondiale esportando 184.946 tonnellate dei suoi pistacchi con un totale ricavo di circa 680 milioni di dollari.

Il pistacchio negli Stati Uniti

I pistacchi cominciarono a diffondersi negli Stati Uniti nell'ultimo ventennio del 1880 perché ricercati dagli americani di discendenza medio-orientale. Il loro principale utilizzo era come spuntino ed erano venduti in distributori automatici. In quel periodo venivano colorati in rosso per mascherare le imperfezioni e attrarre l'attenzione dei consumatori.

Gli alberi di pistacchio cominciarono ad essere piantati in California a titolo sperimentale nei primi decenni del 1930. Dopo dieci anni di attente ricerche e selettocoltura, emerse una varietà particolarmente robusta, denominata Kerman dalla città medio-orientale di origine. Entro la fine del 1960, la coltura commerciale del pistacchio si era diffusa nelle zone aride della California e nella Central Valley. Oggi la California è il secondo produttore mondiale di pistacchi, con oltre 40.000 ettari di pistacchieti che producono più di 136 milioni di chilogrammi di pistacchi all'anno, pari a circa il 98 % della produzione nazionale. La produzione è cresciuta rapidamente negli Stati Uniti, da 2 milioni di chilogrammi nel 1977 a 157 milioni di chilogrammi nel 2004, con un valore del raccolto, nel 2005, di 573 milioni di dollari. La rapida crescita di questo settore negli Stati Uniti ne ha fatto il secondo produttore mondiale, dopo l'Iran e prima della Turchia, della Siria e della Cina.

In Italia è una coltivazione di nicchia, rinomati sono i pistacchi di Bronte alle pendici dell'Etna, tutelati dal marchio DOP "Pistacchio Verde di Bronte".

Generalità

Appartenente alla famiglia delle *Anacardiaceae*, genere *Pistacia*, il pistacchio ha un'altezza media intorno ai 5-6 metri e raggiunge i 300 anni di vita. Ha una corteccia di color grigio cenere, una chioma ampia e branche pendule; il legno è duro e pesante, giallo intenso nelle piante giovani e rosso bruno in quelle adulte. Foglie composte, caduche, imparipennate, tomentose nelle piante giovani, glabre e coriacee in seguito.

Fiorisce in aprile-maggio e presenta fiori apetalati, portati da infiorescenze ascellari a pannocchia; quelli femminili sono simili ad un piccolissimo frutto con stimma trifido, carenato, allargato e papilloso, mentre quelli maschili sono provvisti di bratee e di grosse antere.

Il frutto è una drupa monosperma, con mallo sottile, pedunculata e ovale; cresce in grappoli e, come la mandorla, è un frutto carnoso (Figura 6.1).



Figura 6.1. Frutto di pistacchio in fase immatura

Il seme, contenuto in due valve è unico e allungato, di color verde chiaro, ricco di olio, proteine e vitamine (Figura 6.2).



Figura 6.2. Frutto di pistacchio vicino alla maturità

Allo scopo di aumentarne la resistenza al clima, viene spesso innestato sul terebinto (*Pistacia terebinthus*), più raramente sul lentisco (*Pistacia lentiscus*), specie appartenenti allo stesso genere e presenti allo stato spontaneo nell'ambiente della macchia mediterranea.

Ciclo di crescita

Il pistacchietti possono dare frutti per secoli, secondo un ciclo biennale; per questo motivo le piantagioni vengono fatte in tempi e luoghi differenti, in modo da poter avere un raccolto costante ogni anno.

Matura verso la fine dell'estate o agli inizi d'autunno, il frutto diventa rossigno ed il guscio si apre spontaneamente lungo le proprie suture.

Il pistacchio è una specie dioica: i fiori, unisessuati, sono presenti su individui separati. Quindi, affinché avvenga la fecondazione, il polline viene trasportato dai fiori maschi a quelli femmina dal vento (impollinazione anemofila).

Un solo esemplare maschile è in grado di produrre enormi quantità di polline sufficiente a fecondare un numero elevatissimo di fiori; in genere si innestano in posizione strategica un maschio ogni 15 piante femminili. La qualità delle piante impollinatrici, se non ha decisiva importanza sulla qualità del prodotto, ne ha invece moltissima sulla produttività dell'impianto.

Anche uno sfasamento temporale tra la fioritura del maschio e quella delle piante femminili può comportare una scarsa impollinazione con riflessi negativi sulla quantità dei frutti e quindi sul rendimento globale del pistacchietto.

Tecniche colturali

Molto resistente alla siccità, si adatta ai terreni rocciosi e calcarei; presenta una buona resistenza al freddo anche se teme le gelate primaverili.

Nei pistacchietti naturali la densità di impianto varia da 50 a 500 piante per ettaro, allevate con una forma denominata "a ceppaia", molto simile al vaso policaule, mentre in quelli artificiali si ricorre a sestri in quadro di metri 6-10 × 6-10 con investimenti di 100-280 piante per ettaro, allevate a vaso più o meno aperto e impalcato a 80-100 cm.

Gli interventi di potatura sono limitati in quanto, specie le grosse branche, cicatrizzano molto lentamente. Durante la fase produttiva si attuano interventi annuali o poliennali per eliminare i rami deperiti, secchi e malati. In alcuni casi vengono attuati anche interventi di potatura verde, quali la scacchiatura (eliminazione dei germogli in sovrannumero) e la spollonatura (nel terebinto). Per contenere lo sviluppo delle infestanti e limitare l'evaporazione si possono eseguire alcune lavorazioni superficiali o diserbo chimico.

Raccolto

Ingrandendosi, il seme esercita pressione sul guscio, che si apre lungo le proprie suture, mentre il mallo (l'involucro del frutto) rimane intatto. Quando il frutto è maturo, il mallo, diventato di color rossigno, si stacca dal guscio e può essere rimosso facilmente, anche a mano.

La raccolta dei frutti avviene in genere a settembre e può essere effettuata o manualmente, oppure tramite appositi dispositivi meccanici, gli "scuotitori", i quali battono i rami facendo cadere i frutti su delle reti per evitare che tocchino il suolo. Trasferiti in contenitori, i frutti vengono portati nello stabilimento di lavorazione quanto prima possibile.

La rimozione del mallo e l'essiccazione devono essere eseguiti immediatamente, per preservare il delicato aroma del frutto e impedire l'imbrunimento eccessivo del guscio.

Impieghi

I pistacchi vengono utilizzati sia sgusciati che pelati, spesso tostati e salati, ma anche in pasticceria, per gelati, creme, bevande, per la produzione di salumi (mortadella), o come condimenti per primi e secondi piatti.

Valore nutrizionale

Il pistacchio è uno spuntino appagante, molto nutriente, ricco di fibre e vitamine. In effetti tali frutti contengono moltissimi nutrienti necessari alla nostra salute ed al nostro benessere. Come tutta la frutta secca la componente di grassi buoni, i

grassi insaturi, è molto elevata. I pistacchi favoriscono quindi il riequilibrio tra grassi saturi ed insaturi, una delle regole alla base di un'alimentazione corretta. Numerose ricerche hanno confermato che correggere tale squilibrio nella nostra dieta può aiutare a ridurre il colesterolo ed il rischio di problemi cardiaci. Inoltre, sostituire alimenti ricchi di grassi saturi con alimenti ricchi di grassi insaturi può aiutare a controllare il peso e la pressione del sangue. In confronto ad altri alimenti, i pistacchi contengono molta più vitamina E di latte, banane e broccoli oltre a quantità rilevanti di antiossidanti (importanti per la prevenzione del cancro), beta carotene e selenio.

Sono un'ottima fonte di vitamina B e acido folico, contengono molto più ferro degli spinaci, buone concentrazioni di zinco per il benessere del nostro sistema immunitario, una gamma completa di minerali, quali fosforo e calcio, necessari per rafforzare le ossa, di proteine e di fibre.

Al contrario di quanto si possa pensare, i pistacchi possono essere utilizzati in una dieta ipocalorica per perdere peso, in quanto una quantità ridotta dà un senso di sazietà immediato.

MATERIALI E METODI

Organizzazione generale del lavoro

La presente sperimentazione si propone di classificare tramite spettroscopia FT-NIR assieme a PCA, SIMCA e ANN campioni di pistacchio provenienti dall'Iran e California.

La ricerca sarà condotta analizzando quattro campioni di pistacchio iraniano (figura 6.3) e tre campioni di pistacchio californiano (figura 6.4) senza guscio, raccolti in piena maturità e conservati a 4°C e umidità costante (figura 6.5). Sia i campioni iraniani che quelli californiani sono stati prelevati da zone diverse del paese.

Prima di eseguire le misure NIR i campioni sono stati sottoposti ad un condizionamento a temperatura ambiente di circa 6 ore e poi sono stati sgusciati manualmente. Per ogni campione sono state eseguite 15 acquisizioni NIR cambiando tutte le volte i pistacchi all'interno della cella d'acquisizione, 110 g pistacchio per ogni acquisizione.



Figura 6.3. Campioni di pistacchio iraniani
a-Iran 1, b-Iran 2, c-Iran 3, d-Iran 4



Figura 6.4. Campioni di pistacchio californiano
a-California 1, b-California 2, c-California 3

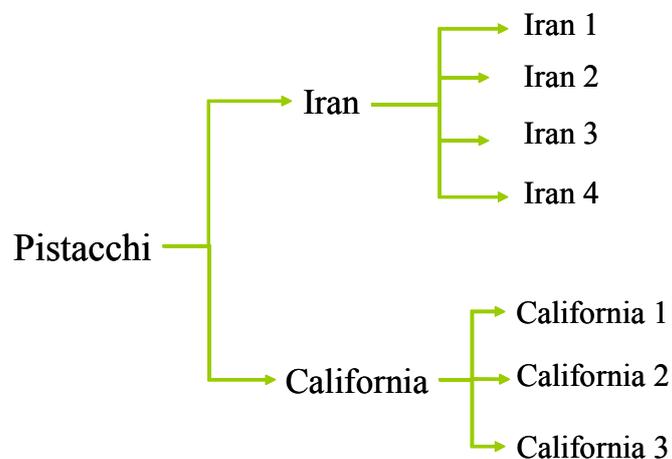


Figura 6.5. Schema del campionamento dei pistacchi.

Al fine di caratterizzare i pistacchi con diverse provenienze, al termine delle acquisizioni spettrali, saranno misurati degli indici qualitativi normalmente valutati a livello aziendale durante il controllo della qualità.

Le differenze tra gli indici misurati saranno analizzate mediante l'analisi della varianza (ANOVA) con confronto LSD (*Least Significant Difference*).

Le acquisizioni spettroscopiche saranno elaborate tramite tecniche di analisi multivariate quali PCA (*Principal Component Analysis*), SIMCA (*Soft Independent Modeling by Class Analogy*) e ANN (*Artificial Neural Network*).

Acquisizioni spettroscopiche

Lo spettrofotometro utilizzato è un Vector 22/N (Bruker optics, MA, USA) provvisto di una sfera integratrice ed un detector Te-In Ga As (figura 6.6).

Questo spettrofotometro è completamente controllato dal software OPUS™ versione 5.0 della Bruker Optics.



Figura 6.6. Spettrofotometro *Vector 22/N*, *Bruker Optics*™ con sfera integratrice per campioni disomogenei

Lo spettrofotometro è dotato di un interferometro Rock Solid™ brevettato dalla Bruker; esso garantisce un'elevata stabilità, in quanto perennemente allineato ed insensibile alle vibrazioni.

Lo spettro NIR di ogni campione è stato ottenuto dalla media di 32 scansioni. Le acquisizioni sono state fatte alla frequenza di 10 kHz in un range da 800 a 2500 nm e con 5 mm di risoluzione spettrale.

Il sistema di campionamento utilizzato è quello della sfera integratrice (fig. 6.6), il quale consente un'ampia illuminazione del campione ed una riduzione dello

scattering dovuto all'irregolarità delle superfici. Tale sistema di campionamento viene generalmente impiegato per solidi disomogenei granulari.

Indici qualitativi

Nella tabella 6.1 sono riassunti gli indici qualitativi misurati dopo le acquisizioni spettrali.

Tabella 6.1. Indici qualitativi misurati sui campioni di pistacchio.

Indici qualitativi	Metodo di acquisizione	Unità di misura
sostanza secca	stufa a 103°C 24h	(%)
grasso totale	soxhlet	(%)
diametro medio	calibro digitale	(mm)
sfericità	calibro digitale	(%)
C*	colorimetro elettronico a riflessione	-
forza di rottura	texture analyser	(N)

Sono stati misurati i seguenti indici fisici: massa di 1000 pistacchi (g), diametro equatoriale massimo (H) in mm, diametro equatoriale minimo (W) in mm, diametro longitudinale (I) in mm, con i quali si sono calcolati il diametro medio (D) in mm e la sfericità (ϕ) in % su 50 pistacchi di ogni campione, il colore (giallo-verde) e sovracoloro (rosso-arancione) della superficie del pistacchio (C*) e la forza di rottura (N)

Il diametro medio e la sfericità sono state calcolate con le seguenti formule:

$$D = (LWH)^{1/3}$$

$$\phi = \frac{(LWH)^{1/3}}{L} \times 100$$

Il colore e il sovracoloro della superficie del pistacchio sgusciato sono stati valutati mediante colorimetro elettronico a riflessione (Konica Minolta Meter CR-400) e sistema tridimensionale CIELab ($C^*=(a^2+ b^2)^{1/2}$), mediando quindici misure condotte sullo stesso campione formato da più pistacchi in diversi punti.

La forza di rottura del pistacchio è stata valutata mediante un test di taglio condotto con una lama da 3 mm di spessore a sezione triangolare tramite Texture Analyzer THDi equipaggiato con una cella di carico da 50 N. I test sono stati effettuati con una frequenza di campionamento pari a 200 punti per secondo e una velocità di discesa pari a 1 mm/s.

Gli indici chimici misurati sono stati: il grasso totale (%) e la sostanza secca (%).

Il grasso totale è stato misurato tramite sistema Soxhlet. Con una bilancia analitica sono stati pesati 1-2 grammi di prodotto macinato e disposti nei ditalini in cartone e poi inseriti nell'apparecchio. Sono state pesate le tazze precedentemente lasciate nella stufa per un'ora a 100 °C e sono stati aggiunti in ognuna 50 ml di etere etilico. Le tazze sono state poi posizionate sulle piastre riscaldanti del Soxhlet. È stato poi avviato il processo che prevede tre fasi: estrazione, risciacquo e fase di recupero.

Per calcolare il valore relativo ad ogni campione di pistacchio è stata utilizzata la seguente formula:

$$G(\%) = \left(\frac{C(g) - B(g)}{A(g)} \right) 100$$

G = quantità di grasso totale (%);

A = massa del campione di granella di pistacchio utilizzata (g);

B = massa del contenitore utilizzato per l'estrazione;

C = massa del contenitore assieme al campione dopo l'estrazione;

La sostanza secca è stata misurata in maniera conforme al metodo ufficiale AOAC (1998) per la frutta secca. I campioni precedentemente macinati e pesati (circa 5 g) sono stati essiccati per 6 h ad una temperatura di 70 ±1 °C ad una pressione inferiore a 100 mm Hg. Dopo l'essiccazione i campioni sono stati lasciati per 1 h nell'essiccatore e poi pesati.

La sostanza secca è stata calcolata secondo la formula:

$$SS(\%) = 100 - \left(\frac{C(g) - B(g)}{(A)g} \right) 100$$

SS = sostanza secca;

A = campione (grammi di granella di pistacchio utilizzata);

B = massa del contenitore utilizzato per l'essiccazione;

C = massa del contenitore insieme al campione dopo l'essiccazione.

Analisi multivariata

Le informazioni spettrali acquisite sui frutti, sono state analizzate impiegando tecniche di analisi multivariata (PCA, *Principal Component Analysis*, SIMCA, *Soft Independent Modeling by Class Analogy*, e ANN, *Artificial Neural Network*) al fine di poter discriminare nell'ambito dei diversi campioni la loro provenienza geografica. Per l'analisi dei dati sono stati impiegati diversi software Unscrambler 9.7, CAMO; OPUS™ 5.5, Bruker Optics e Statistica Neural Network 4.0. Tutti gli spettri sono stati pretrattati al fine di rimuovere gli effetti dovuti allo scattering ed evidenziare il contenuto dell'informazione spettrale. In particolare per le analisi PCA e SIMCA, è stato utilizzato un pretrattamento MSC (*Multiplicative Scatter Correction*) assieme a *Vector Normalisation*. Tale scelta si è basata su indagini preliminari condotte esplorando i dati spettrali e sui migliori risultati ottenibili nell'ambito dei metodi di analisi.

PCA (*Principal Component Analysis*)

L'analisi delle componenti principali è stata effettuata sugli spettri NIR tramite Unscrambler ver 9.6, CAMO, mediante il metodo di validazione *Full Cross Validation* (leave-one-out). Nella validazione leave-one-out un campione utilizzato per la costruzione del modello di calibrazione, viene escluso dal training set, quindi viene ricalcolata la correlazione e il campione non considerato viene fatto prevedere dal nuovo modello. Questa operazione viene ripetuta per tutti i campioni che costituiscono il training set.

Sono state effettuate due analisi PCA. La prima ha avuto come scopo quello di ridurre i dati spettrali ad un numero più piccolo di componenti, nonché la stima del ruolo del contributo della varianza di x-variabili (lunghezze d'onda) e dei diversi metodi di pre-processo dei dati, come: *Vector Normalisation*, *Multiplicative Scattering Correction*, *First Derivate*, *Second Derivate* e *Straight Line Substraction*, ecc.

La seconda PCA è stata utilizzata per validare i 2 gruppi, il gruppo iraniano formato da 60 spettri (medie di 3 ripetizioni) e il gruppo californiano formato da

45 spettri (medie di 3 ripetizioni). Tale validazione è stata condotta considerando il preprocesso e l'intervallo spettrale selezionato con l'analisi PCA precedentemente effettuata.

SIMCA (*Soft Independent Modeling of Class Analogy*)

Due differenti classi sono state modellate individualmente da separate PCA, validate con *Full Cross validation* (leave-one-out) (con l'80% del data set, selezionato come rappresentativo della varianza della popolazione; pretrattamento spettrale: *Multiplicative Scattering Correctin* e *Vector Normalisation* nell'intervallo spettrale identificato con l'analisi PCA precedentemente effettuata). Il restante 20% del data set è stato utilizzato per valutare la capacità di classificare dei modelli ottenuti (livello di significatività pari al 10%).

ANN (*Artificial Neural Network*)

Tramite l'utilizzo delle reti neurali combinate ad un'analisi preliminare degli spettri a mezzo dell'analisi delle componenti principali (PCA), sono stati sviluppati dei modelli qualitativi in grado di discriminare i campioni di pistacchio californiani dai campioni di pistacchio iraniani senza guscio.

L'elaborazione dei dati tramite reti neurali è avvenuta in maniera distinta per le due tipologie di campioni, con guscio e senza guscio. Per ciascun campione è stata effettuata una classificazione in base alla provenienza (America o Iran).

Inizialmente i dati provenienti dalle acquisizioni spettroscopiche sono stati elaborati tramite un'analisi delle componenti principali, PCA, (Unscrambler 9.7 CAMO) al fine di ridurre le dimensioni del data set di input, mantenendo la maggior quantità di informazione possibile. Nel presente lavoro sono state effettuate 2 elaborazioni PCA partendo dai medesimi spettri NIR. Per ciascun campione sono state individuate prima 2PCs e successivamente 3PCs.

Le PCs non sono correlate tra di loro e quindi rappresentano la maggior varianza del data set originale. Generalmente quando le componenti principali (PCs) hanno più dell'85% di *cumulated reliability* del data set originale, possono essere utilizzate per riprodurre quest'ultimo.

Il modello di rete neurale utilizzato è il multi layer perceptron (MLP) con algoritmo *Back Propagation* e funzione sigmoide $f(x) = \frac{1}{1+\exp(-x)}$, scelta molto comune nell'ambito dell'utilizzo delle reti neurali in quanto riduce significativamente i problemi di *overtraining*.

Il data set è formato da 105 casi (45 americani e 60 iraniani). I nodi di input sono rappresentati dalle PCs trovate in precedenza, prima due e successivamente tre.

L'*output* è costituito da un solo nodo secondo il metodo di classificazione denominato *two-state* ed è rappresentato da due variabili nominali, v_1 (1.0) e v_2 (0.0). La prima variabile è associata ai campioni di pistacchio americani la seconda variabile invece è associata ai campioni di pistacchio iraniani.

Il metodo *two-state* si basa sulla determinazione di un livello di confidenza dell'*output* e valore soglia (compreso tra 0 e 1). Se il valore di *output* è superiore al valore di soglia viene inserito nella classe 1.0, mentre se è inferiore viene inserito nella classe 0.0.

In tutti i casi il valore di soglia è stato determinato automaticamente tramite una specifica funzione del programma. I *pattern* di dati utilizzati nella fase di apprendimento sono chiamati *pattern* di addestramento (*training set*) mentre quelli utilizzati durante la fase di verifica sono di due tipi, il *verification set* (per la *cross verification*) e il *test set*.

Dall'intero data set, 57 casi appartenenti al *training set*, 24 al *verification set* e 24 al *test set*. In entrambi i casi la suddivisione dei *data set* è avvenuta in maniera random grazie ad una funzione specifica del programma utilizzato. Tramite una specifica finestra del software è stato possibile variare i parametri di training quali il numero di iterazioni (*epochs*), l'intervallo di *learning rate* e il *momentum*

Le reti migliori sono state selezionate in base alla percentuale di casi classificati correttamente con particolare riferimento ai casi appartenenti al *verification* e al *test set*. E' stato valutato se l'aumento di PCs in *input* (da 2 a 3) influisce in maniera significativa sulla classificazione.

RISULTATI E DISCUSSIONI

Indici qualitativi

La tabella 6.2 presenta i valori medi di massa di 1000 pistacchi per i campioni di pistacchio iraniano e californiano.

Tabella 6.2. Valori medi di massa per 1000 pistacchi

campione	massa 1000 pistacchi
	(g)
iran 1	569.96
iran 2	431.59
iran 3	431.89
iran 4	569.03
california 1	568.94
california 2	589.56
california 3	551.01

Nella tabella 6.3 sono riportate le medie con le relative deviazioni standard per tutti gli indici qualitativi presi in considerazione e le differenze significative relative a tutti i parametri.

Tabella 6.3. Valori medi e deviazioni standard degli indici qualitativi presi in considerazione

Indici qualitativi	iraniano		californiano	
		SD		SD
sostanza secca (%)	96.45 ^a	0.93	95.58 ^a	0.19
grasso totale (%)	32.34 ^b	2.70	32.08 ^b	0.99
diametro medio (mm)	10.76	1.06	11.36	0.70
sfericità (%)	65.10	3.90	69.55	3.89
C*	21.06 ^c	1.61	21.99 ^c	3.09
forza di rottura (N)	22.23	7.65	18.71	4.30

La stessa lettera lungo la riga, in minuscolo, indica che non ci sono differenze significative tra le medie dei campioni appartenenti ai due gruppi (iraniano e californiano), (p -level<0.05 , Test LSD o confronti pianificati).

Differenze significative emergono solo nel caso delle misure del diametro medio, sfericità e forza massima di rottura. L'analisi di questi dati dimostra che effettuando misurazioni relative alla sostanza secca, grasso totale e colore non si riesce a discriminare tra la provenienza dei pistacchi. Una misura della forza di rottura sarebbe utile per discriminare tra i pistacchi iraniani e quelli californiani, ma è una tecnica costosa e che impiega molto più tempo rispetto ad un'analisi NIR.

Analisi spettrale

La figura 6.7 mostra gli andamenti degli spettri medi $[\log(1/R)]$ calcolati nell'ambito dello stesso campione (Iran 1, Iran 2, Iran 3, Iran 4, California 1, California 2, California 3), nell'intervallo spettrale 1176-2500 nm.

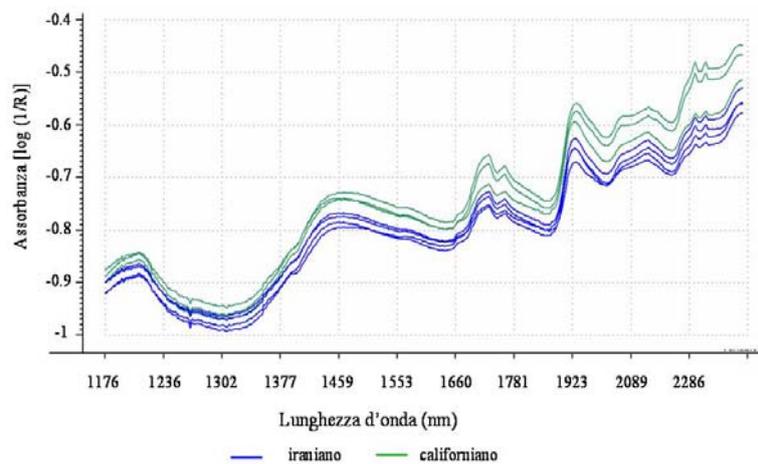


Figura 6.7. Andamento degli spettri medi di pistacchio iraniano e californiano.

Analisi multivariata

PCA (Principal Component Analysis)

Nella figura 6.8 sono riportati gli Scores proiettati in un piano tridimensionale. I relativi andamenti dei loadings, con la % della varianza spiegata dalle singole componenti principali, sono dati nelle figura 6.9.

Per tutte e tre le analisi PCA, validate con Full Cross validation (leave-one-out) nell'intervallo spettrale 1176-2500 nm, la varianza tra i gruppi è descritta da 3 componenti principali (PC1 70%, PC2 18%, PC3 9%). La distinzione tra i gruppi iraniano e californiano appare evidente nella proiezione degli Scores sulla PC1; la distribuzione dei campioni all'interno del gruppo iraniano viene ben visualizzata sulla PC2 mentre la distribuzione dei campioni all'interno del gruppo californiano viene ben visualizzata sulla PC3.

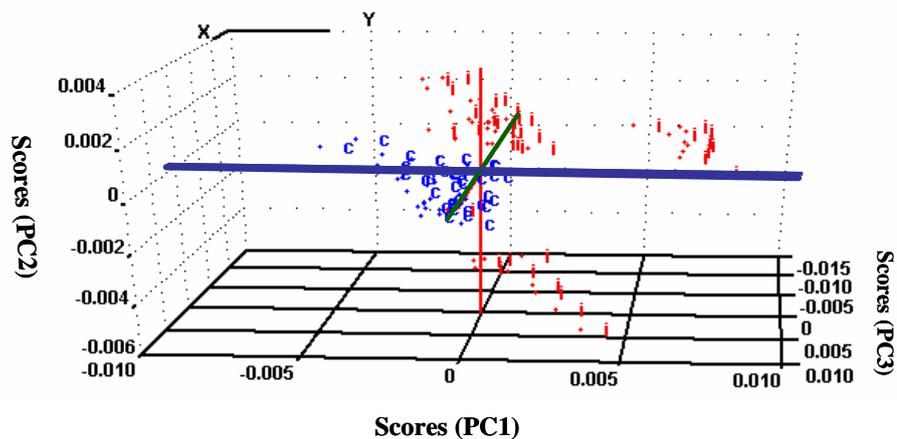


Figura 6.8. Andamento degli Scores per l'analisi PCA condotta sugli spettri pretrattati nell'intervallo spettrale 1176-2500 nm (i= campione iraniano, c= campione californiano)

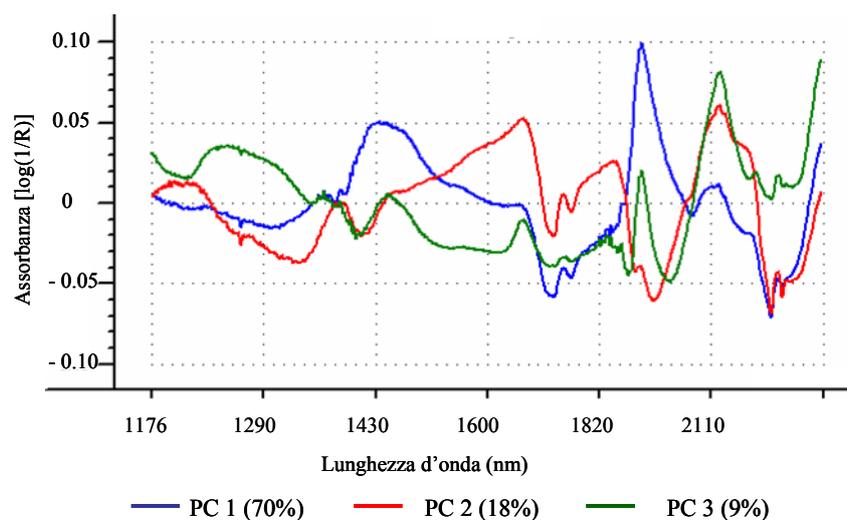


Figura 6.9. Andamento degli Loadings per l'analisi PCA condotta sugli spettri pretrattati nell'intervallo spettrale 1176-2500 nm

SIMCA (Soft Independent Modeling of Class Analogy)

Attraverso l'analisi SIMCA condotta nell'intervallo spettrale 1176-2500 nm si è riusciti a classificare i pistacchi in funzione della provenienza geografica (iraniano o californiano) in percentuale di 100%. Per la costruzione di ogni classe (iraniano e californiano) sono state utilizzate 3 PCs.

I *false negative* rappresentano i campioni non correttamente classificati nella classe di appartenenza e i *false positive* i campione che possono appartenere anche ad altre classi e la distanza misurata da tali classi è inferiore a quella misurata per la classe di appartenenza.

Le distanze dei singoli campioni dalle PCA caratterizzanti le singole classi sono state analizzate attraverso l'interpretazione del plot S_i vs. H_i , un grafico che mette in relazione la distanza, ovvero la deviazione standard dal modello, S_i (object to model distance), con la distanza dal centro del modello, H_i leverage (distance to model center), per ogni campione; a parità di S_i il campione è più vicino al modello che ha il leverage più basso.

Per valutare se le classi sono diverse una dall'altra si calcola la distanza tra i modelli (model-to-model distance), che nel nostro caso è stata di 15.987, evidenziando ampie differenze tra modelli. Questo valore si ottiene testando ogni campione con la classe di origine e con un'altra. Valori maggiori di 3 indicano una buona discriminazione tra le due classi (1 rappresenta la distanza di un modello rispetto a se stesso) (Esbensen 2006).

ANN (Artificial Neural Network)

Le *cumulated reliability* (%) relative alle PCs utilizzate come valori di input nella classificazione con reti neurali sono PC1 70%, PC2 18% e PC3 9%. E' possibile notare che sono sufficienti solo 2 PCs per avere più dell'85% di *cumulated reliability* del data set originale e quindi rappresentare quest'ultimo nell'elaborazione con reti neurali. Utilizzando come input sia 2PCs che 3PCs, sono state testate reti con 2, 3 e 4 nodi nello strato nascosto con un numero di iterazioni non superiore a 150, *learning rate* pari a 0,01 e *momentum* di 0,3.

Nella tabella 6.4 sono riportati i risultati della classificazione con le reti neurali in termini di percentuale di casi classificati correttamente per i tre differenti set di

dati (training, verification e test). I risultati migliori si ottengono con le reti con 3 nodi in input (3PCs) e indistintamente con 2, 3 e 4 nodi nello strato nascosto. Tale reti sono in grado di classificare correttamente in *training* il 98% dei casi e in *verification* (47 su 48) e in *test set* il 93,3% dei casi, ovvero 14 su 15. E' possibile notare anche che, a parità di nodi presenti nello strato nascosto, l'incremento di una PC come valore di input (da 2 a 3) apporta un miglioramento solamente dei risultati relativi al *training set*. In tutte le reti testate i risultati relativi al *verification* e al *test set* rimangono invariati.

Tabella 6.4. Modelli di classificazione in base alla provenienza (America e Iran)

Casi classificati correttamente (%)			
Nodi stratonascosto	Training	Verification	Test
2	94	93.3	93.3
3	94	93.3	93.3
4	94	93.3	93.3
2	98	93.3	93.3
3	98	93.3	93.3
4	98	93.3	93.3

CONCLUSIONI

L'origine di provenienza dei pistacchi gioca un ruolo molto importante sul mercato al fine della definizione del prezzo, soprattutto perché all'origine è legata la qualità e talvolta la destinazione d'uso.

Il nostro lavoro ha messo in luce la possibilità di discriminare la provenienza di diverse tipologie di pistacchio utilizzando metodi veloci non distruttivi e apparentemente più efficaci delle analisi classiche di base.

L'impiego della spettrofotometria nel vicino infrarosso, tecnica ampiamente studiata per la caratterizzazione dei prodotti alimentari, accoppiata all'utilizzo di software chemiometrici e statistici sempre più potenti hanno reso possibile il raggiungimento di risultati apprezzabili.

Nel nostro caso, software statistici che applicano l'analisi multivariata discriminante (PCA e SIMCA) hanno messo in luce che l'analisi NIR è in grado di contenere informazioni tali da rendere distinguibili il pistacchio di provenienza iraniana da quello californiano. Anche l'impiego di software più evoluti come le Reti Neurali (ANN) hanno mostrato un buon potere di classificazione dei pistacchi sempre partendo dai dati spettrali misurati.

Si può concludere che i modelli ottenuti sono una buona base di partenza per lo sviluppo di una ricerca in questo settore. Tali modelli devono tuttavia essere migliorati in termini di robustezza ampliando il dataset con pistacchi di differenti annate di produzione e diverse provenienze.

BIBLIOGRAFIA

Arena E., S. Campisi, B. Fallico, E. Maccarone. Distribution of fatty acids and phytosterols as a criterion to discriminate geographic origin of pistachio seeds. *Food Chemistry* 104 (2007) 403–408.

Cetin, A. E., Pearson, T. C., & Tewfik, A. H. (2004a). Classification of closed and open shell pistachio nuts using voice recognition technology. *Transactions of ASAE*, 47, 659–664.

Cetin, A. E., Pearson, T. C., & Tewfik, A. H. (2004b). Classification of closed and open shell pistachio nuts using principal component analysis of impact acoustics. *Engineering*, 81(1), 218–225.

Downey G., ‘Authentication of Food and Food Ingredients by Near Infrared Spectroscopy’, *J. Near Infrared Spectrosc.*, 4, 47–61 (1996).

Esbensen KH. 2006. *Multivariate data analysis-in practice: an introduction to multivariate data analysis and experimental design*. Esbjerg, Norway: A° lborg Univ., CAMO.

Ghazanfari, A., Irudayaraj, J., & Kusalik, A. (1996). Grading pistachio nuts using a neural network approach. *Transactions of ASAE*, 39(6), 2319–2324.

Kalkan, H., & Yardimci, Y. (2006). Classification of hazelnuts by impact acoustics. In *Proceedings 16th IEEE signal processing society workshop on MLSP*, pp. 325–330.

Kavdir, I., & Guyer, D. E. (2008).). Evaluation of different pattern recognition techniques for apple sorting. *Biosystems Engineering*, 99, 211–219.

Onaran, I., Pearson, T. C., Yardimci, Y., & Cetin, A. E. (2006). Detection of underdeveloped hazelnuts from fully developed nuts by impact acoustics. *Transactions of ASAE*, 49(6), 1971–1976.

Pearson, T. C. (1996). Machine vision system for automated detection of stained pistachio nuts. *Lebensmittel Wissenschaft Technologie*, 29(3), 203–209.

Pearson, T. C., Cetin, A. E., Tewfik, A. H., Haff, R. P. (2007). Feasibility of impactacoustic emissions for detection of damaged wheat kernels. *Digital Signal Processing*, 17, 617–633

Pearson, T. C., Slaughter, D. C., & Studer, H. E. (1994). Physical properties of pistachio nuts. *Transactions of ASAE*, 37(3), 913–918.

Pearson T.C., Doster M., Michailides T. J. (2001). Automated detection of pistachio defects by machine vision. *Applied Engineering in Agriculture*, 17(5), 729–732.

Razavi, M. A., Emadzadeh, B., Rafe, A., & Mohammad-Amini, A. (2007a). The physical properties of pistachio nut and its kernel as a function of moisture content and variety – Part I. Geometrical properties. *Journal of Food Engineering*, 81(1), 209–217.

Razavi, M. A., Rafe, A., Mohammadi-Moghaddam, T., & Mohammad-Amini, A. (2007b). Physical properties of pistachio nut and its kernel as a function of moisture content and variety – Part II. Gravimetric properties. *Journal of Food Engineering*, 81(1), 218–225.

Razavi, M. A., Mohammad-Amini, A., Rafe, A., & Emadzadeh, B. (2007c). Physical properties of pistachio nut and its kernel as a function of moisture content and variety – Part III. Frictional properties. *Journal of Food Engineering*, 81(1), 226–235.

Razavi, M. A., Rafe, A., & Akbari, R. (2007d). Terminal velocity of pistachio nut and its kernel as affected by moisture content and variety. *African Journal of Agricultural Research*, 2(12), 663–666.