



DIPARTIMENTO DI SCIENZE AGRARIE ALIMENTARI E AMBIENTALI

CORSO DI LAUREA IN: SCIENZE E TECNOLOGIE ALIMENTARI

HYPERSPECTRAL IMAGING: il nuovo alleato del settore cerealicolo

TIPO TESI: compilativa

Studente:
DIEGO APPICCIUTOLI

Relatore:
DOTT.SSA ROBERTA FOLIGNI

Correlatore:
DOTT.SSA CINZIA MANNOZZI

ANNO ACCADEMICO 2020-2021

A mia madre
A mio padre
E a chi, come loro,
non ha mai smesso di credere
in me

\SOMMARIO

SOMMARIO.....	3
ELENCO DELLE TABELLE.....	4
ELENCO DELLE FIGURE	5
ACRONIMI E ABBREVIAZIONI	7
INTRODUZIONE E SCOPO DELLA TESI	8
CAPITOLO 1 HYPERSPECTRAL IMAGING: LA RIVOLUZIONE DELLE TECNICHE ANALITICHE	9
1.1 Cos'è l'hyperspectral imaging	9
1.2 Componenti strutturali di un sistema di HSI	12
1.3 Acquisire un'immagine iperspettrale	14
1.4 Vantaggi e svantaggi dell'hyperspectral imaging.....	17
CAPITOLO 2 HYPERSPECTRAL IMAGING NELL'INDUSTRIA CERAMICA: DALLA CARIOSSIDE ALLA FARINA	19
2.1 Hyperspectral imaging nell'industria agroalimentare: uno sguardo generale	19
2.2 Hyperspectral imaging nell'industria ceramica	24
2.3 Predire la qualità della farina con l'hyperspectral imaging.....	30
CAPITOLO 3 HYPERSPECTRAL IMAGING NEL PRODOTTO FINITO	35
3.1 Il pane.....	35
3.2 I prodotti dolciari	38
CONCLUSIONI	41
BIBLIOGRAFIA	43

ELENCO DELLE TABELLE

Tabella 1-1: Pregi e difetti di imaging, spettroscopia, multispectral imaging e hyperspectral imaging..... 17

Tabella 1-1 Alcune lunghezze d'onda: per ogni analita si imposta il sistema di HSI ad una determinata lunghezza d'onda.....19

Tabella 2-2 Elenco di alcuni dei parametri quantificabili da un sistema di HSI, i modelli applicati sono diversi tra loro (ad esempio PLSR= partial least squares regression è basato sulla selezione tra più linee, quella che si adatta meglio ai dati minimizzando la somma delle distanze verticali al quadrato dei punti osservati alla linea). Abbreviazioni: R^2_p = coefficiente di determinazione della predizione, R^2_{cv} = coefficiente di determinazione in convalida incrociata, MLR= multi-linear regression, PLSR= partial least squares regression, LS-SVM= least-squares support vector machine, ELM= extreme learning machine, PLS-DA= partial least square discriminant analysis, I-WSM= improved watershed segmentation method, SVR= support vector regression, BP-Adaboost= back propagation adaptive boosting algorithm, ANN= artificial neural network.....21-23

ELENCO DELLE FIGURE

Figura 1-1: Rappresentazione schematica dell'acquisizione di un'immagine iperspettrale di un filetto di pesce	10
Figura 1-2: I diversi approcci con cui acquisire un ipercubo, il movimento delle acquisizioni sono rappresentati dalle frecce mentre le aree grigie rappresentano le regioni acquisite.....	11
Figura 1-3 Rappresentazione di alcuni filtri: ruote porta filtri(a), filtri sintonizzabili a cristalli liquidi(b) e ottico-acustici (c).....	13
Figura 1-4: Un esempio di ipercubo.....	14
Figura 1-5: Schematizzazione dei vari passaggi dell'elaborazione di un ipercubo.....	15
Figura 2-1: Spettro dei campioni di semolino con e senza frammenti di insetti; in A)la sezioni dello spettro che presentano maggiori differenze mentre in B)l'intero spettro campionato.....	26
Figura 2-2: Rappresentazione dei diversi campioni di cariossidi di grano contenenti concentrazioni diverse di ometoato; a)campione privo di ometoato b)1:1000 c)1:500 d)1:100. I valori numerici sulla destra quantificano tramite valore numerico il colore associato alla concentrazione: a)=1, b)=2, c)=3, d)=4.....	27
Figura 2-3: Cariossidi di grano germinate e non a) immagine ottenuta a 1186nm b) estrazione delle informazioni chimiche utili tramite \log_1/R c) prima segmentazione dei pixel con valori di \log_1/R selezionati d) processamento dell'immagine sulla base delle caratteristiche morfologiche (rimozione di interferenti e dei germogli).....	31
Figura 3-1 Aumento dell'area (A) dell'impasto in funzione del tempo fino all'arresto della lievitazione; Osserviamo una sostanziale differenza nel tempo necessario alla lievitazione dei campioni B2-B5 (Gli/Glu= 1.5-1.7) e dei campioni B1-B6 (Gli/Glu= 1.2).....	35
Figura 3-2 A) Misurazione tramite camera HSI-NIR B) Predizione della durezza (scala di colore bianco=nulla, nero=valori elevati) dei tre campioni analizzati.....	36
Figura 3-3 Confronto tra immagine RGB a sinistra e ipercubo a destra, tramite HSI è facilmente visibile come i fenomeni alterativi siano già presenti anche nei campioni 8 e 9 che ad occhio nudo avremmo considerato campioni "sani".....	38

Figura 4-1 Ricerche scientifiche pubblicate negli ultimi anni.....41

ACRONIMI E ABBREVIAZIONI

HSI	<i>HYPERSPECTRAL IMAGING</i>
λ	<i>LUNGHEZZA D'ONDA</i>
X	<i>ASSE DELLE ASCISSE</i>
Y	<i>ASSE DELLE ORDINATE</i>
HPLC	<i>HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY</i>
nm	<i>NANOMETRI</i>
BIT	<i>BAND-INTERLEAVED-BY-PIXEL</i>
BIL	<i>BAND-INTERLEAVED-BY-LINE</i>
BSQ	<i>BAND SEQUENTIAL</i>
ROI	<i>REGION OF INTEREST</i>
NIR	<i>NEAR INFRARED-VICINO INFRAROSSO</i>
R^2_p	<i>COEFFICIENTE DI DETERMINAZIONE DELLA PREDIZIONE</i>
R^2_{cv}	<i>COEFFICIENTE DI DETERMINAZIONE IN CONVALIDA INCROCIATA</i>
DON	<i>DEOSSINIVALENOLO</i>
SKCS	<i>SINGLE KERNEL CHARACTERISATION SYSTEM</i>
GLI	<i>GLIADINE</i>
GLU	<i>GLUTENINE</i>

INTRODUZIONE E SCOPO DELLA TESI

Questo lavoro di tesi si è focalizzato nella ricerca di tecniche analitiche che rappresentino una nuova frontiera in ambito alimentare. Tra i tanti scenari si è voluto approfondire quella che è l'analisi dell'immagine iperspettrale (Hyperspectral Imaging: HSI) come una tecnica alternativa e versatile in tutta la filiera dell'industria agroalimentare.

L'HSI è il risultato della combinazione di due tecniche ottiche: la spettroscopia e l'imaging che nell'insieme ci permettono di percepire simultaneamente le proprietà spaziali e spettrali di un materiale. Questo sistema non distruttivo permette di ottenere dati che vanno dalle caratteristiche fisiche e morfologiche a quelle chimiche di una data molecola.

Per questi e altri motivi, negli ultimi anni, l'hyperspectral imaging è stato impiegato in vari campi, si è passati da un uso aerospaziale e militare per poi spostarsi in ambito medico, agricolo, geologico e alimentare.

In ambito agroalimentare, l'analisi dell'immagine iperspettrale, può essere un metodo di valutazione rapido per determinare il grado di maturazione di un vegetale, predire la frazione lipidica di un frutto, monitorare la presenza di contaminanti in fase di produzione o persino prevedere la shelf-life di un prodotto e la sua cinetica di degradazione.

Tra i tanti ambiti su cui l'HSI può operare si è scelto di concentrarci sull'utilizzo di questa tecnologia sull'intero arco produttivo di un prodotto, pertanto, parleremo dell'uso di questa tecnologia partendo dai cereali per poi passare agli sfarinati concludendo in fine con alcuni esempi di prodotti finiti.

Nel primo capitolo verrà descritto l'hyperspectral imaging definendo i principi fisici e meccanici alla base di questa tecnica, descrivendone i vantaggi e i possibili contesti d'utilizzo.

Il secondo capitolo, il cuore della tesi, affronterà l'applicazione di questa tecnica a partire dalle valutazioni chimico-fisiche dei cereali dalla semina alla raccolta per poi quantificare diversi tipi di contaminanti e definire le caratteristiche reologiche degli sfarinati.

L'ultimo capitolo si concentrerà sul prodotto finito, tratteremo nello specifico due prodotti a base di farina: pane e prodotti dolciari.

Capitolo 1

HYPERSPECTRAL IMAGING: LA RIVOLUZIONE DELLE TECNICHE ANALITICHE

1.1 Cos'è l'hyperspectral imaging

L'hyperspectral imaging è una tecnica analitica il cui funzionamento si basa sull'acquisizione di numerose immagini di uno stesso corpo a diverse lunghezze d'onda spettrali. Il risultato è un'immagine iperspettrale, un'illustrazione che raccoglie nell'insieme, due dimensioni spaziali (x e y) e una dimensione spettrale (λ). La capacità di percepire tre dimensioni è dovuta alla doppia natura dell'hyperspectral imaging: questa è infatti, il risultato della fusione tra spettroscopia e l'analisi d'immagine digitale (Medus et al, 2021).

La spettroscopia è la tecnica che permette di ottenere informazioni sulla natura di un campione dallo studio dello spettro elettromagnetico.

L'analisi d'immagine (imaging), invece, è basata su immagini RGB (red-green-blue). Un'immagine RGB è un'illustrazione bidimensionale costituita da pixel, definita dalla miscelazione dei tre colori primari, che nell'insieme, compongono quasi interamente la regione dello spettro elettromagnetico del visibile (da 390 a 700 nm). Un sistema di imaging comune è pertanto incapace di quantificare al di fuori dalla regione del visibile (Di Wu et al, 2013).

Il risultato dell'associazione di queste due tecniche analitiche è un sistema di imaging spettrale che scatta, contemporaneamente e per ogni regione dello spettro (ogni valore di λ) una vasta gamma di immagini del campione.

Tre sono le tipologie di sistemi basati su questo principio: **multispectral imaging**, **hyperspectral imaging** e **ultraspectral imaging**. Ciò che differenzia queste tecniche è il numero di immagini che vengono acquisite e che costituiranno successivamente l'immagine iperspettrale. Nell'HSI, ad esempio, contiamo fino a diverse centinaia d'immagini che permettono di ottenere uno spettro con una buona risoluzione per ogni pixel (nel multispectral imaging troviamo un numero molto inferiore di immagini).

L'immagine iperspettrale, anche chiamata ipercubo o volume spettrale, è un'immagine tridimensionale composta da voxel (un voxel corrisponde all'unità di misura volumetrica tridimensionale a differenza del pixel che quantifica un'area bidimensionale) ed è il risultato dell'elaborazione di più sub-immagini.

Per capire meglio il concetto potremmo analizzare la figura 1-1 rappresentante l'immagine iperspettrale di un filetto di pesce.

Poiché ogni sub-immagine definisce la distribuzione spaziale dell'intensità dello spettro per ogni lunghezza d'onda potremmo osservare l'immagine iperspettrale definita nei tre assi x, y e λ (fig.1-1a) sia come un'immagine spaziale bidimensionale (x e y) per ogni lunghezza d'onda (λ) sia partendo dallo spettro (λ) per ogni singolo pixel (x e y).

Le immagini grigie sulla sinistra (fig.1-1b) mostrano chiaramente le diverse intensità spettrali, ottenute a diverse lunghezze d'onda (λ) espresse in nm, dipendenti dalle diverse caratteristiche fisico-chimiche del filetto di pesce. I pixel rappresentanti le regioni scure mostrano l'umidità del campione che è strettamente legata ai valori di assorbanza dell'acqua. È possibile quindi definire delle regioni specifiche (dette regioni fingerprint) dove si associa ad ogni pixel la sua composizione (fig.1-1d).

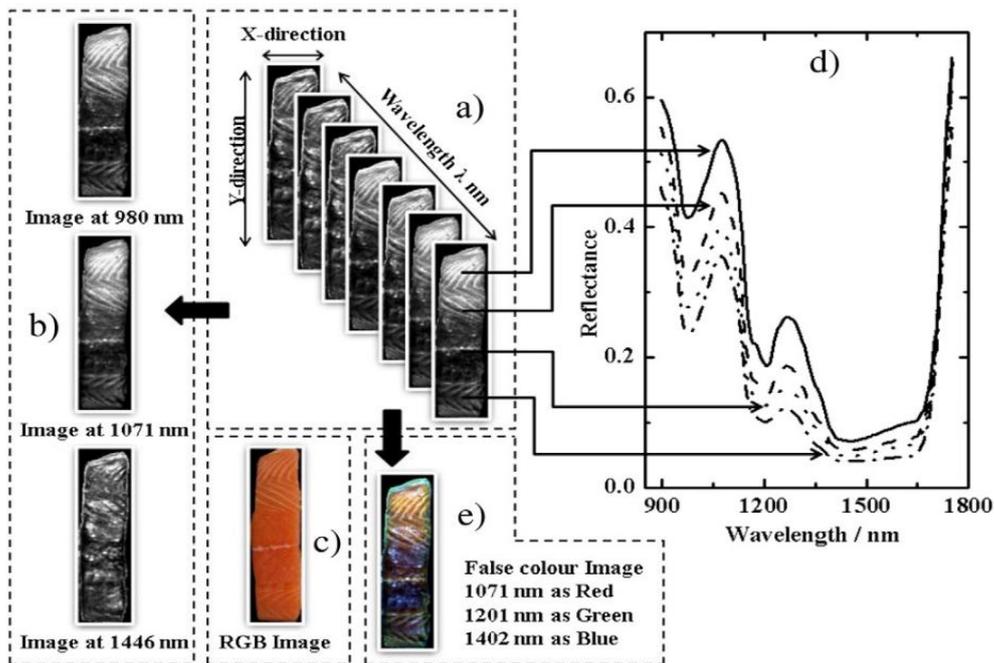


Figura 1-1 *Rappresentazione schematica dell'acquisizione di un'immagine iperspettrale di un filetto di pesce (Di Wu et al, 2013)*

Per ottenere un'immagine iperspettrale si può operare con quattro diverse metodologie.

La prima è la “**point scanning**” (anche conosciuto come metodo whiskbroom). Questa consiste nella scansione di un singolo punto del campione, posto su uno specifico supporto, ottenendo l’ipercubo di quel preciso pixel. Traslando il supporto e quindi il campione lungo uno degli assi (x o y) si ottengono gli altri pixel. I risultati ottenuti non formano un’immagine, bensì vengono conservati in un BIT (band-interleaved-by-pixel) ovvero un formato che permette di accedere alle informazioni spaziali e spettrali di un singolo pixel per volta.

La seconda modalità è definita “**line scan**” (o metodo pushbroom) e permette di acquisire tutti i pixel in linea su una coordinata dell’asse delle y. Traslando l’acquisizione sull’asse delle ascisse si ottiene l’ipercubo che, in questo caso, è descritto in un altro specifico formato: il BIL (band-interleaved-by-line), in cui i dati sono immagazzinati riga per riga.

Un altro approccio è dato dall’ “**area scan**”. Questa modalità permette di ottenere una scansione del piano bidimensionale (x e y) per ogni lunghezza d’onda (λ) senza dover muovere il campione sugli assi. I dati in questo caso sono raccolti nel formato BSQ (band sequential) in cui le informazioni spaziali sono facilmente fruibili per ogni λ .

Un’ultima possibilità è quella del metodo “**single shot**” che registra nell’insieme le informazioni spaziali e spettrali grazie ad un detector di ultima generazione. Nonostante sia il metodo più rapido per acquisire un’immagine iperspettrale, questa metodologia è recente e richiede ancora studi approfonditi. (Di Wu et al, 2013)

Tra le quattro la “**line scan**” è quella più usata in ambito agroalimentare dove può essere applicata direttamente ai nastri trasportatori nelle linee di produzione alimentare (Di Wu et al, 2013).

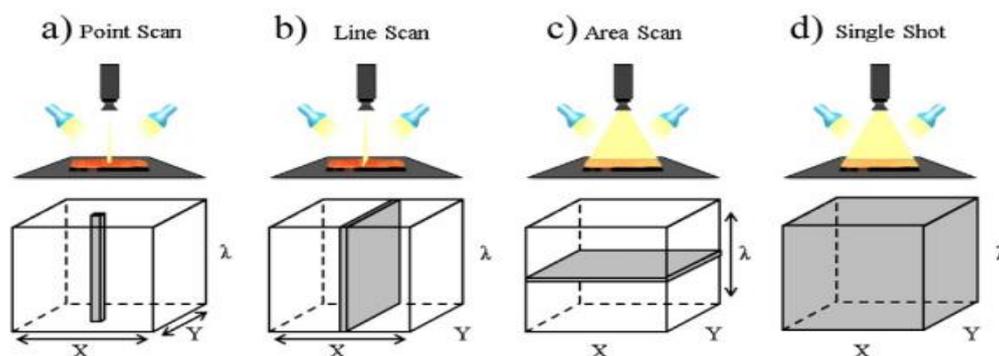


Figura 1-2 I diversi approcci con cui acquisire un ipercubo, il movimento delle acquisizioni sono rappresentati dalle frecce mentre le aree grigie rappresentano le regioni acquisite (Di Wu et al, 2013)

1.2 Componenti strutturali di un sistema di HSI

I sistemi HSI sono costituiti da tre componenti principali: **una sorgente luminosa, un dispositivo di dispersione e un rilevatore ad area** (Dan Liu et al, 2014).

La sorgente luminosa è la regione in cui viene prodotta luce con il compito di illuminare ed eccitare il campione. Sono disponibili diverse tipologie di sorgenti con caratteristiche specifiche. Le lampade alogene ad esempio, producono radiazione elettromagnetica con frequenze che vanno dalla regione dello spettro del visibile al vicino infrarosso ma necessitano riscaldamento e hanno breve durata. I LED (light emitting diodes), invece, non presentano questi problemi e producono radiazioni elettromagnetiche che ricoprono le regioni dell'ultravioletto, del visibile e dell'infrarosso. Questo tipo di sorgente luminosa può essere posizionata nel sistema di HSI in diverse posizioni in base al tipo di illuminazione richiesto (luce convogliata in un solo punto, su una linea, ad anello di luce), difatti i LED sono la sorgente luminosa più usata per le analisi di controllo nell'industria agroalimentare. Le precedenti sorgenti luminose sono accumulate dal produrre luce a banda larga, caratteristica che non troviamo nei laser che generano luce monocromatica che viene usata come mezzo d'eccitazione molecolare nella spettroscopia a fluorescenza e nella spettroscopia Raman (tecniche spettroscopiche che rivelano informazioni strutturali nell'unità del pixel). L'ultima possibilità è rappresentata dalle sorgenti luminose sintonizzabili (tunable light sources). Queste producono luce a banda stretta con un'intensità debole che impedisce danni da irraggiamento o da riscaldamento al campione. Questo sistema può essere applicato esclusivamente con la scansione ad area (area scan), non trova spazio in ambito alimentare ma viene largamente sfruttato nello studio di documenti antichi dove è necessaria una continua salvaguardia del campione (Di Wu et al, 2013).

Il secondo elemento indispensabile per un sistema HSI è il **dispositivo di dispersione**. Questo ha il compito di scomporre la radiazione luminosa prodotta dalla sorgente in diverse lunghezze d'onda. Come mostrato in figura 1-3, vi sono diversi sistemi per ottenere tale suddivisione.

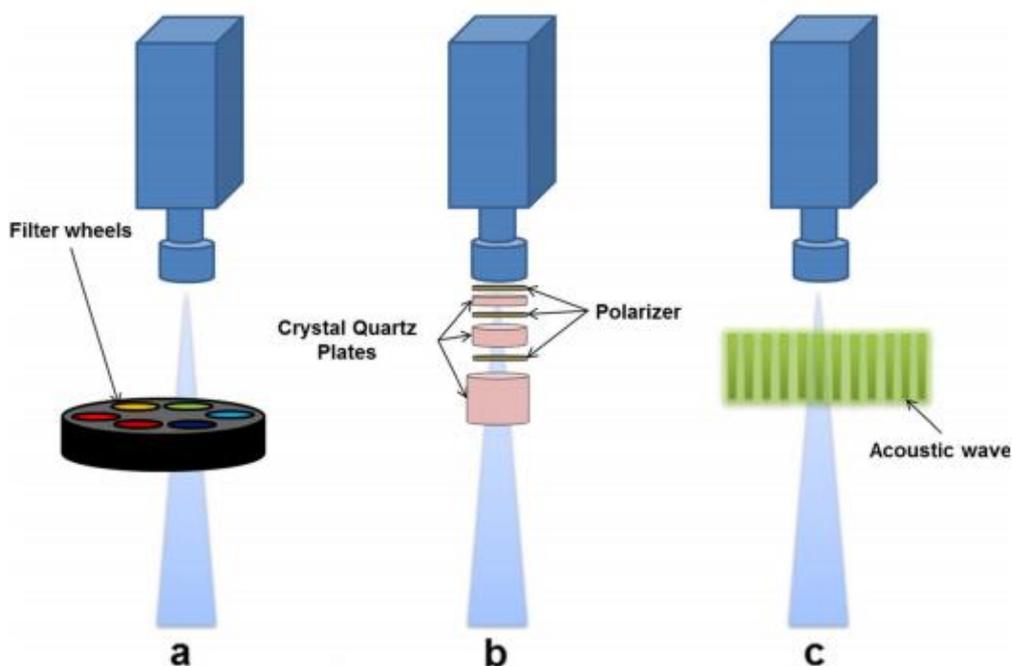


Figura 1-3 Rappresentazione di alcuni filtri: ruote porta filtri (a), filtri sintonizzabili a cristalli liquidi (b) e ottico-acustici (c) (Lankapalli Ravikanth et al, 2017)

Un esempio è quello delle ruote portafiltri, sistemi costituiti da un supporto rotante in cui alloggiavano diversi filtri permeabili selettivamente da alcune lunghezze d'onda. Diverso è il meccanismo degli spettrografi (imaging spectrographs) dove la luce incidente è dispersa grazie all'utilizzo di griglie di diffrazione, senza dover muovere il sistema. Una griglia di diffrazione è un componente ottico in cui la superficie è incisa da scanalature parallele equidistanti tra loro in base alla lunghezza d'onda della luce che si vuole ottenere. Questo sistema sfrutta quindi il fenomeno della diffrazione, ovvero, la variazione della traiettoria di un'onda quando questa incontra un ostacolo. Un'altra possibilità è quella dei filtri sintonizzabili.

Questi possono essere di natura ottico-acustica (Acousto-optic tunable filter AOTF) o a cristalli liquidi (liquid crystal tunable filter LCTF). I primi isolano le specifiche lunghezze d'onda applicando onde acustiche in un cristallo attraversato dalla luce. I filtri LCTF invece, sono costituiti da celle a cristalli liquidi controllate elettronicamente. Queste celle sono inserite tra due polarizzatori paralleli che trasmettono esclusivamente la luce alla determinata lunghezza d'onda. (Di Wu et al, 2013)

L'ultima componente fondamentale per un sistema di hyperspectral imaging è **il rilevatore ad area**. Il rilevatore ha il compito di quantificare l'intensità della frazione di luce acquisita dal campione convertendo i fotoni incidenti in protoni. L'unità strutturale di un rilevatore è il

fotodiodo, un sensore che ha la capacità di convertire uno stimolo luminoso in un segnale elettrico che permetta di ricostruire ed elaborare l'immagine inquadrata. Questo può essere di diversi materiali ognuno con caratteristiche specifiche: silicio, arseniuro di indio-gallio o tellururo di mercurio e cadmio. Tra i tre, il più utilizzato in ambito alimentare è il silicio che coniuga una buona risposta spettrale alle ridotte dimensioni. Anche in questo caso, così come per le altre regioni del sistema HSI, sono possibili diverse tipologie strutturali. Per quanto riguarda i rilevatori questi possono essere di due categorie: i CCD (charge-coupled device) o CMOS (complementary metaloxide-semiconductor). Entrambi sono organizzati in una serie di array costituiti da fotodiodi che cedono un segnale elettrico pari alla quantità di fotoni incidenti sulla superficie.

La differenza sostanziale tra i due sta nel fatto che i CCD muovono la carica generata dal segnale luminoso da pixel a pixel convertendola in tensione in una regione di uscita, i CMOS invece, convertono la carica generata su ogni pixel. (Magnan, 2003)

1.3 Acquisire un'immagine iperspettrale

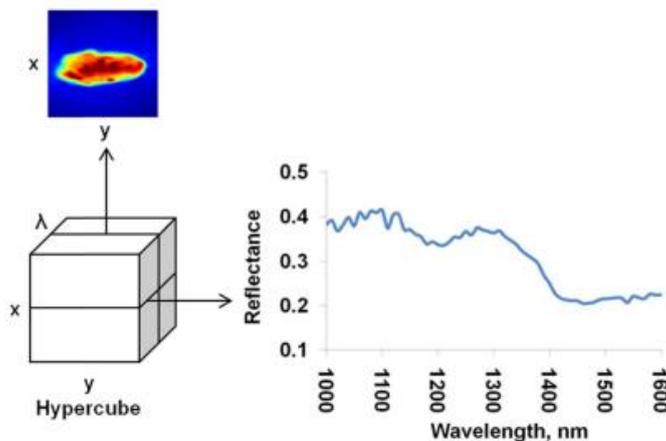


Figura 1-4 Un esempio di ipercubo (Lankapalli Ravikanth et al, 2017)

Per poter acquisire un'immagine iperspettrale è necessario comprendere il comportamento dei campioni quando questi sono esposti ad un fascio di fotoni. I materiali biologici, a causa dei continui movimenti molecolari nei livelli energetici, emettono e assorbono continuamente radiazioni che sono caratteristiche per ogni specie chimica. Il sistema HSI quantifica l'intensità di tali radiazioni in un intervallo nello spettro elettromagnetico. Sono proprio questi valori di radiazione emessa ed assorbita dal campione che costituiranno, dopo diverse elaborazioni,

l'ipercubo. I dati raccolti dipendono da vari parametri con cui opera il sistema di hyperspectral imaging come la lunghezza d'onda dello spettro elettromagnetico che colpirà poi il campione, il tipo e la modalità di scansione, le preventive azioni di calibratura dello strumento. (Lankapalli Ravikanth et al, 2017)

La selezione della lunghezza d'onda ottimale è uno dei passaggi fondamentali per minimizzare la multicollinearità (o collinearità). Questo fenomeno statistico è determinato dal fatto che la correlazione delle variabili indipendenti (la lunghezza d'onda) è forte. Un alto grado di collinearità è sinonimo dell'incremento della deviazione standard. Una selezione attenta e accurata delle lunghezze d'onda attenua l'importanza di questo fenomeno. Inoltre, scegliere una specifica lunghezza d'onda per ogni tipologia di campione diminuisce la probabilità di ottenere piccoli errori nelle valutazioni quantitative e nelle descrizioni qualitative. Di conseguenza, diversi valori di λ sono associati per ogni attributo ricercato. Sono disponibili su questo fronte diversi algoritmi per scegliere la lunghezza d'onda ottimale (Lankapalli Ravikanth et al, 2017).

L'acquisizione di un ipercubo prevede i molteplici passaggi schematizzati in figura 1-5.

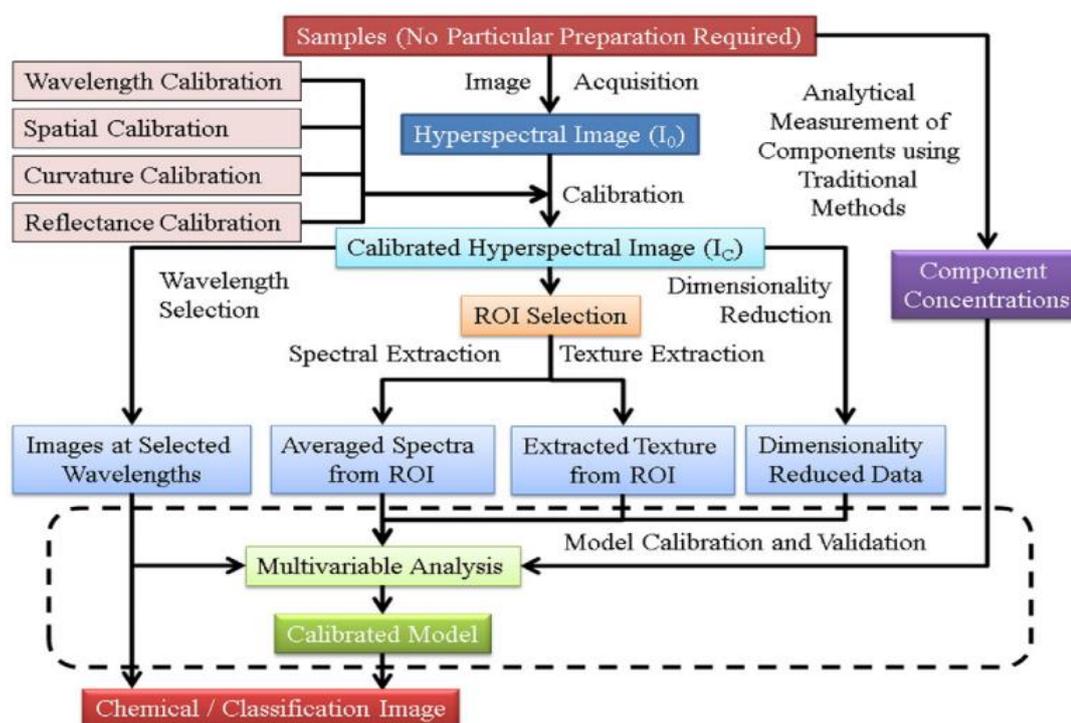


Figura 1-5 Schematizzazione dei vari passaggi dell'elaborazione di un ipercubo (Di Wu et al, 2013).

Per ottenere risultati attendibili, un sistema di HSI necessita di un'opportuna **calibratura**. Questa ha il compito di standardizzare la posizione degli assi spaziali e spettrali dell'ipercubo

confermando l'affidabilità e l'accuratezza dei dati ottenuti, la loro riproducibilità a diverse condizioni permettendo di rilevare possibili errori.

Una prima calibratura è quella delle lunghezze d'onda utilizzate per colpire il campione. Il processo serve per identificare la regione occupata da ogni pixel sulla dimensione spaziale per ogni lunghezza d'onda ed è svolto tramite lampade di calibratura. Queste vengono scannerizzate dal sistema di hyperspectral imaging, così facendo si associa ad ogni lunghezza d'onda un determinato pixel (pixel indices), da qui si definisce un'equazione che associa ad ogni valore di λ la regione spaziale corrispondente.

Diverso è lo scopo della calibratura spaziale, che determina risoluzione e dimensione del campo visivo. Tale operazione è definita diversamente per ogni modalità di scansione. Nella line scanning, ad esempio, i pixel nell'asse delle y sono scansionati dal sistema mentre sull'asse delle x l'acquisizione avviene grazie al movimento del campione. La risoluzione dei pixel sull'asse delle ascisse dipende quindi dall'entità del movimento. L'asse delle ordinate è calibrato dividendo la distanza tra la regione spaziale bersaglio con il numero di pixel all'interno dell'immagine scansionata.

La calibratura della curvatura, invece, si propone di correggere l'effetto di riflessione della luce determinato dai corpi di forma sferica.

La calibrazione della riflettanza delle immagini iperspettrali rappresenta il passaggio con cui l'ipercubo "grezzo" è sviluppato con immagini di riferimento in bianco e nero. Il passaggio prevede quindi l'acquisizione di due immagini di riferimento: il nero (0% di riflettanza) è acquisito quando le sorgenti luminose sono spente e le lenti della camera sono coperte dallo specifico supporto, il bianco invece, è ottenuto con una tavola bianca con un valore standard di riflettanza (circa 99%). I due riferimenti sono utilizzati per correggere l'ipercubo tramite una specifica equazione. (Di Wu et al, 2013)

Successivamente alla calibratura si procede con la segmentazione dell'immagine andando a suddividere quest'ultima in regioni d'interesse chiamate **ROI** (region of interest).

La ricerca di tali zone può essere fatta tramite due metodologie distinte. La prima, la segmentazione manuale, è selettiva e accurata ma richiede molto tempo e molte attenzioni dell'operatore e difatti non viene utilizzata nell'industria agroalimentare. La seconda possibilità prevede l'utilizzo di algoritmi di segmentazione che nel complesso sono più efficienti.

Per poter quantificare la composizione chimica di un campione in genere si effettua un ulteriore passaggio che permette di scomporre l'enorme quantità di informazioni contenuti nel ROI permettendo di stabilire una relazione concreta tra i dati ottenuti e le informazioni che si

vogliono ricercare nel campione. Questo processo prende il nome di **analisi multivariata** e può essere suddivisa nei due aspetti qualitativi e quantitativi.

Nell'industria agro-alimentare, l'analisi qualitativa prevede l'analisi dei dati spettrali dell'ipercubo tramite tecniche chemometriche. Queste permettono di classificare la composizione chimica di un campione tramite l'associazione di studi matematici e statistici. Tale classificazione avviene grazie a tecniche di apprendimento automatico che sviluppano modelli con parametri predefiniti, capaci di identificare uno o più analiti.

L'analisi quantitativa invece, si propone di quantificare i vari componenti chimici sfruttando l'analisi dei modelli di regressione (regression analysis). I modelli di regressione (anche noti come equazione di calibrazione) sono delle risposte quantitative basate su una serie di variabili descrittive. Questi modelli sono stabiliti sulla base di concentrazioni note dei determinati analiti, l'analisi prevede quindi azioni di confronto tra i valori noti e quelli da quantificare ovvero stipulando associazioni tra i dati iperspettrali e le proprietà misurate. (Lankapalli Ravikanth et al, 2017)

1.4 Vantaggi e svantaggi dell'hyperspectral imaging

Unendo insieme gli aspetti più vantaggiosi della classica fotografia digitale e della spettroscopia, l'HSI permette di comprimere informazioni spaziali e spettrali nell'ipercubo. Questa tecnologia tuttavia, presenta molti vantaggi così come alcuni svantaggi. In tabella 1-1 poniamo a confronto hyperspectral imaging con altre tre tecniche analitiche già citate.

	Imaging	Spettroscopia	Multispectral imaging	Hyperspectral imaging
<i>Informazioni spaziali</i>	Si	No	Si	Si
<i>Informazioni spettrali</i>	No	Si	Limitato	Si
<i>Composizione molecolare</i>	No	Si	Limitato	Si
<i>Rilevabilità dei campioni con dimensioni ridotte</i>	Si	No	Si	Si
<i>Capacità di generare una distribuzione sulla base di attributi e qualità</i>	No	No	Limitato	Si

Tabella 2-1 Pregi e difetti di imaging, spettroscopia, multispectral imaging e hyperspectral imaging (Di Wu et al, 2013)

Tra i molteplici vantaggi di un sistema di HSI troviamo molti aspetti legati al campione. A differenza di altre tecniche analitiche, il campione non necessita di lunghi pretrattamenti permettendo il risparmio di tempo, lavoro e di reagenti. Essendo una tecnologia non distruttiva e non invasiva il campione al termine delle operazioni può essere recuperato per subire altre analisi. Delineando uno spettro completo e ricco in informazioni spettrali e spaziali per ogni pixel, l'HSI ha la capacità di determinare contemporaneamente la distribuzione di diversi analiti nello stesso campione. Nell'ipercubo prodotto si possono così scegliere diverse ROI in cui avviare una ricerca specifica. Questo permette di effettuare diversi studi su una stessa immagine. L'hyperspectral imaging permette, inoltre, di classificare e discriminare diversi materiali con colori simili, spettri sovrapposti o caratteristiche morfologiche sulla base di piccole variazioni chimiche. (Lankapalli Ravikanth et al, 2017)

Oltre tutti questi pregi, nell'hyperspectral imaging troviamo anche diversi difetti.

Tra questi ricordiamo quelli legati alla multicollinearità, che come già detto, sorge quando si ha un'elevata correlazione tra più variabili indipendenti. Per andare incontro a questo problema si sceglie di operare con un'analisi multivariata o con un'attenta selezione delle variabili.

Vi sono diversi casi in cui è sconsigliato l'uso dell'HSI, ad esempio quando la regione d'interesse è di dimensioni inferiori ad un pixel, gli attributi che si ricercano non hanno uno spettro di assorbimento caratteristico o quando il campione in analisi è un liquido o un preparato a composizione omogenea (in questo caso si utilizza la spettroscopia poiché l'imaging serve proprio a visualizzare le eterogeneità). Un altro caso è quello di tutti quegli alimenti (ad esempio la frutta) che assorbono una gran quantità di luce a livello superficiale. Questi appaiono, a distanza di pochi millimetri, opachi nella regione del visibile e nel vicino infrarosso dello spettro e pertanto in questo caso è difficile determinare informazioni all'interno del campione. (Di Wu et al, 2013) Un altro fattore a cui è soggetto l'hyperspectral imaging è la temperatura del campione. Variazioni di temperatura causano modificazioni dello spettro di assorbimento dell'acqua che essendo il componente principale della stragrande maggioranza degli alimenti può portare letture sbagliate da parte dello strumento. Infine, quando si devono effettuare delle letture dei micro-composti si prediligono tecniche come la gascromatografia (GC) o la HPLC che in questo caso sono molto più accurate. (Lankapalli Ravikanth et al, 2017)

Capitolo 2

HYPERSPETRAL IMAGING NELL'INDUSTRIA CEREALICOLA: DALLA CARIOSSIDE ALLA FARINA

2.1 Hyperspectral imaging nell'industria agroalimentare: uno sguardo generale

Nell'industria agroalimentare, un settore in costante movimento, nuove frontiere in ambito di analisi della qualità svolgono un ruolo fondamentale nell'evoluzione del settore. L'utilizzo dell'hyperspectral imaging permette di definire con chiarezza diversi aspetti tra cui le caratteristiche sensoriali, la freschezza di un prodotto, i difetti, la concentrazione di una specifica molecola, il grado di maturazione.

Le caratteristiche sensoriali sono un aspetto fondamentale per soddisfare i gusti dei consumatori, questi caratteri sono legati a vari attributi come colore, aroma, texture. Per poter definire tali caratteristiche tramite un sistema di HSI un primo aspetto cruciale è quello della scelta delle lunghezze d'onda, specifiche per ogni sostanza che si va a ricercare (come mostrato in tabella 2-1). (Gozde Ozdogan et al, 2021)

Alimento	Lunghezze d'onda (nm)	Molecola ricercata
<i>Carne e derivati</i>	430	Emoglobina
	575	Metamioglobina
	635	Sulfomioglobina
<i>Vegetali</i>	450	β -carotene
	535	Antocianine
	660	Clorofilla
	780	Licopene
	1600	Tannini
	1680,2250,2425	Caffeina
	1460-1700	Sucrosio

Tabella 3-1 Alcune lunghezze d'onda: per ogni analita si imposta il sistema di HSI ad una determinata lunghezza d'onda (Gozde Ozdogan et al, 2021)

Il colore è una delle caratteristiche più importanti per il consumatore che trae proprio da esso una prima valutazione del prodotto. Per questo motivo l'analisi del colore tramite HSI si concentra su tutti quei processi tecnologici che causano variazioni cromatiche come ad esempio congelamento, cotture e precotture, salagione, essiccamento.

Un altro punto d'interesse nell'industria agroalimentare è quello correlato alla presenza di **difetti nei vegetali**. In questo caso, il sistema di hyperspectral imaging permette di rilevare danni come scottature da freddo o contusioni. I danni da freddo rappresentano delle alterazioni dei tessuti vegetali in seguito a lunghe conservazioni a basse temperature. Queste condizioni determinano modificazioni dell'ortaggio come imbrunimento, perdita di succo, perdita di consistenza e produzione di aromi sgradevoli. Le contusioni invece, rappresentano tutta la gamma dei danni meccanici che possono subire frutta e verdura durante i processi come raccolta, trasformazione e distribuzione. Il risultato degli urti durante queste fasi porta a modificazioni dell'aspetto esterno e dei caratteri interni come sapore, consistenza, valore nutrizionale.

Tramite HSI è possibile esaminare la **texture** di un prodotto. Questa esprime le proprietà sensoriali e meccaniche di un alimento, nonché il grado di resistenza ad una deformazione (masticazione, macinazione, triturazione). Parlando di qualità di un prodotto, le caratteristiche strutturali rappresentano la base per la valutazione dei diversi aspetti ricercati dai consumatori come sapore, freschezza, tenerezza. La carne, ad esempio, deve essere tenera e non coriacea, una pesca è preferita succosa mentre per una mela si preferisce compattezza. Lo studio della texture è specifico per l'attributo che si va a ricercare. Un caso rappresentativo è quello dell'analisi del grado di tenerezza della carne, in questo caso si prediligono lunghezze d'onda tra i 400 e i 1100 nm che portano ad avere ottimi risultati con valori di R^2_P (coefficiente di predizione) intorno a 0,91 con un grado di accuratezza simile ad altri metodi analitici della texture (come le prove di taglio di Warner-Bratzler o il test di penetrazione di Magness-Taylor). (Gozde Ozdogan et al, 2021) L'accuratezza è spesso espressa in valori di R^2 ; questa è una misura statistica che valuta quanto sono vicini i punti dati alla retta di regressione adottata. Valori di $R^2=1$ indicano un adattamento perfetto (e quindi i valori previsti corrispondono completamente alle misure osservate) (A. Polak, 2019)

Un ulteriore campo applicativo dell'hyperspectral imaging è rappresentato dallo studio del **flavour** (aroma). Con questo termine indichiamo la percezione sensoriale fornita dagli stimoli dati da molecole odorose e gustative. Le analisi legate a questo attributo sono effettuate in

genere da un panel test o tramite gascromatografia associata alla spettrometria di massa. Negli ultimi anni molti studi hanno coinvolto l'HSI nella ricerca delle molecole responsabili di diverse caratteristiche come il sapore pungente del pepe verde, la dolcezza di meloni e pomodori oppure l'astringenza dei cachi. Entrando nel dettaglio di un caso studio potremo parlare dell'allicina. Questa molecola odorosa, responsabile del caratteristico aroma dell'aglio, è stata analizzata con due valori di λ diversi: 400-1000 nm (nella regione Vis-NIR) e 1000-1700 nm (NIR). Implicando diverse tecniche chemometriche, due analisi multivariate, tre metodi di selezione delle lunghezze d'onda e diversi pretrattamenti spettrali si è dimostrato come i risultati siano più accurati nella regione del vicino infrarosso (NIR). (Gozde Ozdogan et al, 2021)

Nell'elenco dei vari esempi applicativi dell'uso dell'HSI concludiamo con la determinazione della **freschezza** di un prodotto. La freschezza è un carattere legato alla percezione simultanea di più sensi (olfatto, gusto, tatto, stimoli al trigemino e udito). In genere gli studi focalizzati nella determinazione della freschezza si concentrano su prodotti come carne e derivati carnei, pesce o uova. Proprio su questi ultimi sono stati fatti recenti studi (Yao et al, 2020) che implicano l'utilizzo dell'HSI. È bene ricordare che a differenza degli altri alimenti elencati, nelle uova è difficile decretare la freschezza dall'aspetto esterno. Sfruttando l'HSI e dopo aver delineato le varie condizioni operative (scelta di opportuni algoritmi per eliminare dati degeneri, pretrattamento dei dati spettrali, selezione delle lunghezze d'onda specifiche) si ottiene un valore percentuale del grado di accuratezza pari al 97.78%.

Un'altra importante funzionalità di questa tecnologia è quella di permettere la rivelazione dei frammenti ossei che possono trovarsi nei prodotti carnei.

Negli studi svolti da (Jongguk Lim, 2020) si tiene conto della possibilità di implementare l'HSI all'interno della filiera di lavorazione delle carni. Dopo diversi processi di lavaggio svolti nella filiera sono normalmente rimossi corpi estranei come peli, piume o residui ossei. Quest'ultimi però, possono permanere negli strati interni del prodotto e così giungere indisturbati al consumatore.

In tale ricerca si studia perciò la capacità di rilevare i più piccoli frammenti ossei (dalle dimensioni nell'ordine dei mm) presenti all'interno del tessuto muscolare. Tramite un sistema di Hyperspectral Imaging regolato nel vicino infrarosso è stato acquisito il numero di frammenti ossei contenuti nei campioni selezionati con degli ottimi risultati: su 45 frammenti inseriti all'interno di diversi campioni ben 42 sono stati rilevati dal sistema.

Vi sono molti parametri rilevabili tramite hyperspectral imaging non citati precedentemente ma elencati in tabella 2-2.

Prodotto	Modelli applicati	Proprietà ricercata	Lunghezza d'onda (nm)	Accuratezza
<i>Manzo</i>	MLR	Tenerezza	400-1100	$R^2_{CV} = 0.91$
	Albero decisionale	Grado di marezzatura	400-1000	$R^2_P = 0.99$
	PLSR	WHC-Capacità ritenzione idrica	910-1700	$R^2_{CV} = 0.89$
<i>Agnello</i>	PLSR	Tenerezza	900-1700	$R^2_{CV} = 0.84$
	MLR	Tenerezza	900-1700	$R^2_{CV} = 0.84$
	PLSR	WHC	900-1700	$R^2_{CV} = 0.77$
	PLSR	Brillantezza	900-1700	$R^2_{CV} = 0.91$
<i>Maiale</i>	MLR	Tenerezza	400-1100	$R^2_{CV} = 0.93$
	PLSR	Tenerezza	910-1700	$R^2_{CV} = 0.75$
	PLSR	Colore (chroma)	900-1700	$R^2_P = 0.79$
	BP-AdaBoost	Freschezza	430-960	$R^2_P = 0.932$
	PLSR	Freschezza	400-1100	$R^2_P = 0.924$
	MLR	Freschezza	400-1000	$R^2_P = 0.957$
<i>Salsicce di maiale</i>	PLSR	Brillantezza	380-1000	$R^2_P = 0.73$
	PLSR	Colore (rosso-verde)	380-1000	$R^2_P = 0.76$
	PLSR	Colore (blu-giallo)	380-1000	$R^2_{CV} = 0.71$
<i>Cosce di tacchino</i>	PLSR	Colore (rosso-verde)	900-1700	$R^2_{CV} = 0.74$
<i>Pollo</i>	PLSR	Elasticità	400-1000	$R^2_P = 0.89$
	PLSR	Brillantezza	1000-2500	$R^2_P = 0.80$
<i>Gamberi</i>	LS-SVM	Durezza	400-1000	$R^2_P = 0.824$
	LS-SVM	Gommosità	400-1000	$R^2_P = 0.874$
	LS-SVM	Masticabilità	400-1000	$R^2_P = 0.835$
	BP-NN	Freschezza	400-1000	$R^2_P = 0.966$
<i>Uova</i>	SVR	Freschezza	380-1010	$R^2_P = 0.87$
	PLSR	Freschezza	900-1700	$R^2_P = 0.85$
<i>Banana</i>	MLR	Fermezza	400-1000	$R^2_P = 0.911$

	PLSR	Brillantezza	380-1023	$R^2_p=0.802$
	PLSR	Colore (rosso-verde)	380-1023	$R^2_p=0.975$
	PLSR	Colore (blu-giallo)	380-1023	$R^2_p=0.842$
	PLS-DA	Maturità	400-740	$R^2_p=0.933$
<i>Mela</i>	PLSR	Fermezza	400-1000	$R^2_p=0.828$
	LDA	Contusioni	400-1000	$R^2_p=0.95$
	SVR	Dolcezza	380-1040	$R^2_p=0.887$
	SVR	Acidità	380-1040	$R^2_p=0.81$
<i>Pesca</i>	ANN	Brucciature da freddo	400-1000	$R^2_p=0.85-0.99$
	I-WSM	Contusioni	780-2500	$R^2_{CV} = 0.965$
<i>Mirtillo</i>	PLSR	Fermezza	500-1000	$R^2_p=0.869$
	LS-SVM	Flessibilità	410-1113	$R^2_p=0.785$
	LS-SVM	Contusioni	950-1650	$R^2_p=0.75-1.0$
<i>Mango</i>	PLSR	Fermezza	450-1000	$R^2_{CV} = 0.81$
<i>Funghi</i>	PLS-DA	Contusioni	800-1720	$R^2_{CV} = 0.904$
<i>Pomodoro</i>	PLSR	Dolcezza	1000-1550	$R^2_p=0.74$
	PLS-DA	Maturità	500-950	$R^2_{CV} = 0.80-0.88$
<i>Peperone verde</i>	PLSR	Aroma	1000-1600	$R^2_p=0.86$
<i>Spinaci in foglia</i>	ELM	Freschezza	380-1030	$R^2_p=1.0$
<i>Foglie di tè</i>	LS-SVM	Aroma	450-1000	$R^2_{CV} = 0.66$
<i>Formaggi a pasta dura</i>	PLSR	Maturità	1000-2400	$R^2_p=0.76$

Tabella 2-2 Elenco di alcuni dei parametri quantificabili da un sistema di HSI, i modelli applicati sono diversi tra loro (ad esempio PLSR= partial least squares regression è basato sulla selezione tra più linee, quella che si adatta meglio ai dati minimizzando la somma delle distanze verticali al quadrato dei punti osservati alla linea). Abbreviazioni: R^2_p = coefficiente di determinazione della predizione, R^2_{CV} = coefficiente di determinazione in convalida incrociata, MLR= multi-linear regression, PLSR= partial least squares regression, LS-SVM= least-squares support vector machine, ELM= extreme learning machine, PLS-DA= partial least square discriminant analysis, I-WSM= improved watershed segmentation method, SVR= support vector regression, BP-Adaboost= back propagation adaptive boosting algorithm, ANN= artificial neural network (Gozde Ozdogan et al, 2021)

2.2 Hyperspectral imaging nell'industria cerealicola

È stata precedentemente trattata la capacità dell'hyperspectral imaging di essere un alleato utile in vari processi tecnologici. Potremmo quindi delineare l'intero arco produttivo di un prodotto accompagnando ogni fase della filiera con il sistema di HSI.

Tratteremo nelle prossime pagine, vari anelli dell'industria cerealicola passando dalle cariossidi alla farina, per poi concludere con i prodotti finiti.

Partendo dalla cariosside, è possibile sfruttare questa tecnologia per discriminare corpi estranei, quantificare i chicchi che presentino alterazioni e rotture a livello della regione del pericarpo oppure rilevare sviluppi fungini prevenendo future contaminazioni.

Iniziamo parlando dell'**attività discriminatoria** contro possibili corpi estranei o diverse varietà di cereali. Recenti studi hanno dimostrato come sia possibile tramite HSI, discriminare cariossidi diverse (diversi cereali) o cariossidi private del pericarpo da quelle integre (come ad esempio l'avena dall'avena decorticata). È inoltre possibile rilevare corpi estranei come pietre, altre sementi, escrementi di animali. Negli studi descritti da Nicola Caporaso et al, 2018, quest'analisi è stata effettuata con valori di lunghezza d'onda compresi tra 1000 e 1600 nm e ha ottenuto degli ottimi risultati (90,1% di accuratezza).

Un caso studio di rilevante importanza nell'industria cerealicola italiana è quello trattato da Philippe Vermeulena et al, 2018 sulle **adulterazioni**. In questa ricerca viene promossa l'attività discriminante dell'HSI per selezionare le cariossidi di grano tenero (*Triticum aestivum*) da quelle di grano duro (*Triticum durum*). Lo scopo finale è quello di impedire contaminazioni accidentali o volontarie di farina di grano tenero nella semola destinata alla produzione di pasta. Queste possibili contaminazioni non hanno valenza se il contenuto di farina nella semola non supera il 3% (come descritto nel decreto-legge n.187 del 9 febbraio 2001), nel caso in cui si superi questo valore parliamo di adulterazioni sanzionabili per legge. Sono presenti diversi metodi per rilevare possibili contraffazioni, la tecnica più usata in Italia, consiste nella separazione delle albumine tramite elettroforesi in gel di poliacrilamide. È bene sottolineare che su questo fronte vi è una continua innovazione, recentemente sono approdate nuove tecnologie come l'analisi micro e macroscopica o tecniche basate sulla biologia molecolare.

L'applicazione dell'hyperspectral imaging in quest'ambito comporta molti vantaggi: risparmio di tempo, analiti, possibilità di recuperare il campione alla fine delle analisi,

possibilità di effettuare le analisi sulle cariossidi intere e non sugli sfarinati. Quest'ultimo vantaggio è dovuto al fatto che l'HSI può esaminare il contenuto interno dei chicchi rivelando due parametri fondamentali: contenuto proteico (più elevato nella semola) e la vitrosità, un indicatore di qualità (tipico della semola strettamente legato alle caratteristiche fisiche dei prodotti dopo la cottura) che determina il valore nutritivo (contenuto di proteine e di pigmenti) e alcune caratteristiche fisiche (compattezza dell'endosperma, densità della cariosside e colore). L'hyperspectral imaging nella regione NIR può quantificare la vitrosità dell'endosperma delle cariossidi permettendo di differenziare le cariossidi di *Triticum durum* da quelle di *Triticum aestivum*. Nello studio, i modelli di classificazione scelti per l'analisi dei dati sono quattro: criteri morfologici, profilo spettrale nella regione NIR, contenuto proteico e vitrosità. Tra questi, l'approccio che ha fornito risultati con un grado di accuratezza più elevato (98,8%) è stato quello ottenuto dalla combinazione dei criteri morfologici con l'analisi dello spettro nella regione NIR. Gli altri due modelli sono risultati meno efficienti nella discriminazione tra le due categorie di grano ma rimangono comunque due alternative valide nella determinazione del contenuto proteico e vitrosità delle cariossidi di grano duro. (Philippe Vermeulena et al, 2018)

Oltre ad essere applicato per differenziare diversi cereali, l'hyperspectral imaging è stato anche sfruttato per identificare diverse varietà dello stesso cereale (come il caso del frumento canadese comprendente otto varietà distinte) o per quantificare i **danni provocati da insetti**. In questo caso, lo scopo dell'analisi è discriminare le cariossidi integre da quelle che hanno subito un attacco da insetti infestanti. Uno studio approfondito sull'argomento è stato trattato da S. Mahesh et al, 2015, nella ricerca, le cariossidi analizzate sono scansionate da due camere: una digitale e una camera NIR (700-110 nm). L'elevata accuratezza (95.3-99.3%) dell'analisi è il risultato dell'acquisizione nella regione NIR combinata con il confronto con dieci immagini con caratteristiche visive da utilizzare come input. Tramite HSI si è potuto così distinguere tra cariossidi sane e quelle colpite da *Sitophilus oryzae* (calandra del riso), *Rhizopertha dominica* (cappuccino dei cereali) e *Cryptolestes ferrugineus* (scarabeo piatto del grano) (S. Mahesh et al, 2015).

Anche le ricerche di K. Bhuvanewari et al, 2011, dimostrano l'efficienza dell'hyperspectral imaging come mezzo per rilevare la presenza di frammenti di insetti. Tale studio non si concentra solo su questi, ma allarga l'analisi a tutti i corpi che costituiscono delle vere e proprie "macchie" del semolino, macchie che possono essere associate a frammenti d'insetti, crusca, residui di germe, semi di piante infestanti o punteggiature derivanti da malattie del frumento. Poiché il destino della semola è nella maggior parte dei casi diventare pasta, la presenza di

macchie nere o marroni sulla superficie esterna del prodotto rappresenta un vero e proprio difetto. Ad aggravare il problema, vi è l'impossibilità di separare meccanicamente tramite setacciatura tali corpi estranei a causa della granulometria grossolana che caratterizza la semola stessa. Per far fronte a questo difetto si è resa indispensabile l'analisi delle possibili impurezze analizzate ad esempio tramite puntatura, una tecnica quantitativa che numera i "punti scuri" presenti su una superficie ad area nota, ricoperta di semola. Negli ultimi anni sono state introdotte tecniche più veloci ed efficienti come i contatori elettronici, la quantificazione tramite idrolisi acida e successiva flottazione (metodo AOAC) e in fine tramite hyperspectral imaging. Nello studio, la regione dello spettro utilizzata è la regione NIR, in questo range di lunghezze d'onda sono ben visibili le differenze tra i campioni di controllo da quelli contaminati. Come descritto in figura 2-1, nell'intervallo di lunghezza d'onda compreso tra 1000-1120 nm le differenze sono ben visibili a differenza del range 1300-1400 nm dove ciò non accade. Il modello di predizione scelto è stato sviluppato sulla base di valori di riferimento prestabiliti (il numero di frammenti contati) e sulle informazioni associate alla riflettanza misurata. I valori di riflettanza ottenuti dai campioni di semolino con frammenti d'insetto sono risultati minori di quelli dei campioni puri, sottolineando ancora una volta la capacità dell'HSI di percepire una specifica composizione chimica che, in questo caso era associato all'esoscheletro degli insetti, composto prevalentemente da chitina e lipidi (K. Bhuvaneshwari et al, 2011).

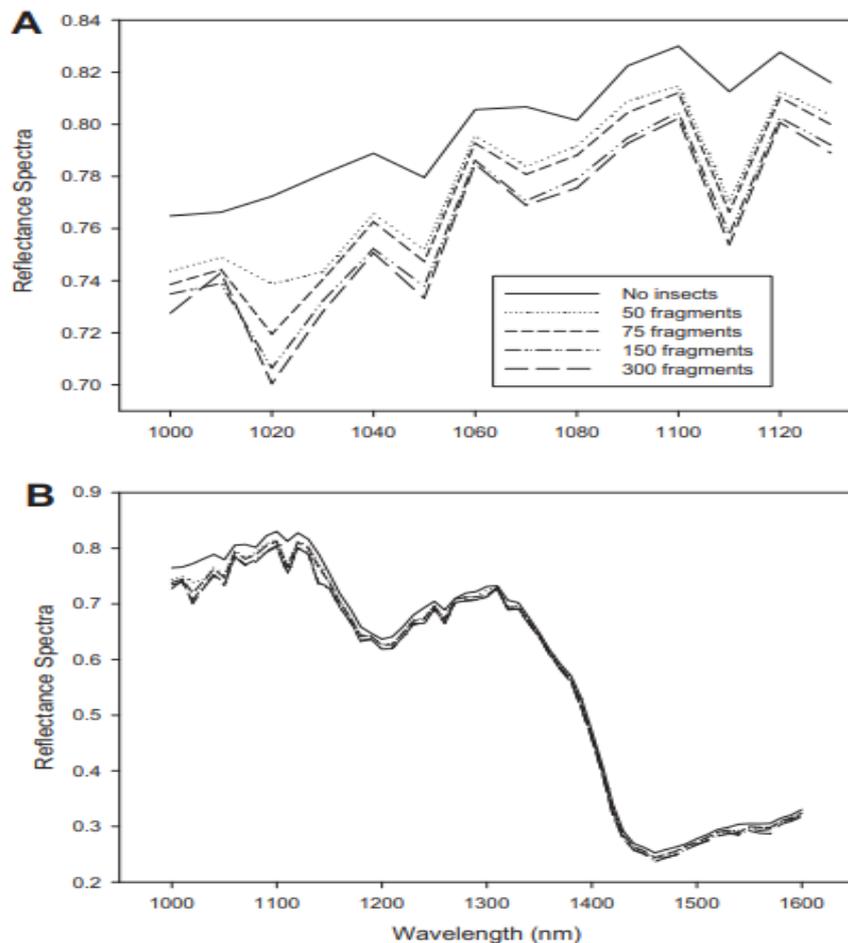


Figura 2-1 Spettro dei campioni di semolino con e senza frammenti di insetti; in A) la sezione dello spettro che presentano maggiori differenze mentre in B) l'intero spettro campionato (K. Bhuvaneswari et al, 2011)

Dai diversi studi evince che per quanto riguarda le analisi sulle cariossidi intere, è necessario tenere conto che l'illuminazione del campione non è uniforme a causa della geometria della cariosside stessa (parliamo di curvatura, forma e rugosità della superficie del pericarpo) che altera riflessione e dispersione.

Per ovviare queste interferenze è fondamentale in questi contesti l'uso di algoritmi matematici che riformulino i dati sulla base di nuove variabili (Nicola Caporaso et al, 2018).

Un'altra possibilità d'uso per l'HSI è quella legata nella ricerca di residui di **pesticidi**. Questi, usati durante il ciclo vitale delle piante di frumento, impediscono attacchi parassitari a cui è soggetta questa coltura. Una volta che i fitofarmaci selezionati sono vaporizzati sulla

superficie vegetativa, non è raro che tali prodotti si diffondano nel terreno e da qui alle cariossidi causando rischi per la salute umana.

Nello studio di Liu Zhang et al, si analizzano e si quantificano i residui di ometoato sulla superficie dei chicchi di grano. L'analisi è stata sviluppata su quattro campioni di grano trattati con diverse concentrazioni di un fitofarmaco generico con il 40% di ometoato (i quattro campioni hanno le seguenti concentrazioni: nulla, 1:1000,1:500,1:100). Dopo le consuete azioni di calibratura, associazione con analisi multivariata, scelta delle lunghezze d'onda specifiche e progettazione dei vari algoritmi di correzione si è giunti ad ottenere risultati con un grado di accuratezza del 98,75%. Questo risultato sottolinea la capacità dell'hyperspectral imaging (in combinazione con l'analisi multivariata) di definire con chiarezza le cariossidi contenenti residui di fitofarmaci sulla superficie (figura 2-2) (Liu Zhang et al, 2019).

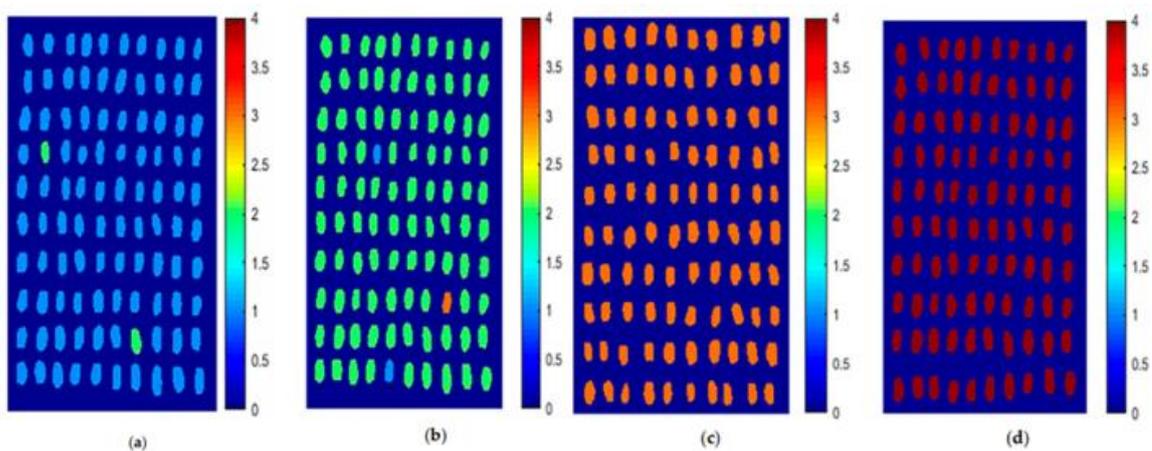


Figura 2-2 *Rappresentazione dei diversi campioni di cariossidi di grano contenenti concentrazioni diverse di ometoato; a)campione privo di ometoato b)1:1000 c)1:500 d)1:100. I valori numerici sulla destra quantificano tramite valore numerico il colore associato alla concentrazione: a)=1, b)=2, c)=3, d)=4 (Liu Zhang et al, 2019)*

Un aspetto importante nell'industria cerealicola è quello legato alla presenza di fenomeni alterativi che nei cereali sono spesso associati a colonizzazione ad opera di diversi funghi. La loro presenza comporta la produzione di **micotossine** che esplicano un'azione tossica nell'organismo (animale e umano). Pertanto, è fondamentale identificare e quantificare questa contaminazione biologica per assicurare la sicurezza al consumatore (Nisar Hussaina et al, 2019).

Le micotossine rappresentano i sottoprodotti del metabolismo secondario di diversi funghi filamentosi tra cui i generi *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Claviceps* e *Alternaria*. Da

muffe appartenenti a questi generi deriva la produzione delle micotossine più rilevanti nell'industria cerealicola come aflatossine (AF), ocratossina A (OTA), zearalenone (ZEN), fumonisine (FB), ergotina, enniatine, patulina, tossine di *Alternaria*, tricoteceni come il deossinivalenolo (DON). Le contaminazioni da micotossine possono avvenire su ogni anello della catena alimentare, soprattutto con condizioni di stoccaggio errate, con tecnologie e con modelli produttivi superati. Poiché l'attività tossica (cancerogena, mutagenica, teratogena, immunosoppressiva) è espressa anche a minime dosi, l'analisi delle micotossine viene svolta con procedure certificate. Tra queste troviamo tecniche di estrazione del campione come l'estrazione liquido-liquido, l'estrazione liquido-solido, estrazione tramite fluido supercritico, estrazione in fase solida (SPE). Per quanto riguarda le tecniche analitiche utilizzate troviamo cromatografia liquida associata a spettrometria di massa, HPLC, la gascromatografia associata alla spettrometria di massa oppure metodi biologici (saggio immuno-assorbente legato ad un enzima-ELISA). Queste procedure hanno una buona accuratezza ma richiedono lunghi tempi, costi ingenti e prevedono la distruzione del campione.

Tra le tecniche emergenti troviamo l'analisi genomica, naso elettronico, tecniche molecolari e hyperspectral imaging (Sofia Agriopoulou et al, 2020).

Nei recenti studi di Antoni Femenias et al, 2020, viene analizzata la capacità dell'HSI di rilevare la presenza di *Fusarium* e di deossinivalenolo (DON). Quest'ultima è una micotossina appartenente al gruppo dei tricoteceni prodotta da alcune specie di *Fusarium* (*F. graminearum* e *F. culmorum*). Tra i fattori che favoriscono lo sviluppo fungino troviamo temperature miti associate all'umidità in campo e una scorretta essiccazione delle cariossidi prima dello stoccaggio o della vendita. Il consumo di cereali o farine contaminate da questa micotossina causano emicranie, diarrea, nausea, irritazioni, emorragie gastrointestinali nonché una vasta gamma di malattie correlate alla loro attività cancerogena, mutagenica e immunosoppressiva. A causa dell'elevata resistenza del DON a diversi trattamenti tecnologici, per garantire la sicurezza del consumatore la Commissione Europea ha stabilito dei limiti massimi nei cereali e nei loro derivati (ad esempio nella farina di grano duro il limite massimo è pari a 1750 µg/kg, nella pasta è di 750 µg/kg mentre nel pane scende a 500 µg/kg).

Dai vari studi evince che per rilevare i danni provocati da *Fusarium*, la regione NIR dello spettro è più adatta rispetto a quella VIS. L'HSI può così essere applicato per identificare e classificare le cariossidi danneggiate sulla base di variazioni del colore e dalle caratteristiche morfologiche (avvizzimento, scolorimento, perdita di peso ecc...). L'analisi viene svolta posizionando le cariossidi sul piano porta campione, rivolgendo il solco ventrale di ogni chicco ventralmente o dorsalmente. La direzione del solco ventrale influenza l'accuratezza

dell'analisi che nel caso studio offerto da Ewa Ropelewska et al, 2018 è maggiore nel caso in cui il solco sia disposto ventralmente. I risultati dimostrano, inoltre, come si trovino più informazioni utili all'indagine nei pixel raccolti nella regione dell'endosperma piuttosto che in quella del pericarpo. Grazie alla capacità di acquisire informazioni spaziali e spettrali, l'HSI potrebbe essere un buon approccio per risolvere il problema della presenza eterogenea di DON nei campioni dovuto alla sintesi non proporzionale ad opera del *Fusarium*. Queste condizioni portano ad avere campioni non rappresentativi dell'intero lotto da cui è stato estratto il campione. Inoltre, spesso la tossina è presente senza manifestazioni visibili, parliamo di cariossidi "asintomatiche". Tuttavia, tramite HSI è possibile conoscere la precisa ubicazione dello sviluppo fungino su una specifica cariosside (Antoni Femeniasa et al, 2020).

2.3 Predire la qualità della farina con l'hyperspectral imaging

Tratteremo ora nello specifico l'applicazione dell'HSI sulle farine derivanti dal frumento poiché sono quelle più consumate a livello mondiale.

Tra i criteri che definiscono la qualità della farina, i più importanti sono il Falling Number (FN) e il contenuto proteico.

Il Falling Number (o indice di caduta di Hagberg) è una misura indiretta delle α -amilasi, una classe di enzimi fondamentale per le caratteristiche reologiche degli impasti, soprattutto per i lievitati. L'attività amilasica di queste proteine porta alla scissione delle catene di amilosio idrolizzando i legami alfa 1-4 glicosidici. Questa reazione consente all'impasto di arricchirsi di zuccheri fermentescibili (glucosio e maltosio).

L' α -amilasi è sintetizzata all'interno della cariosside a partire dallo scutello e successivamente dallo strato aleuronico, la sua attività litica, se attivata prematuramente (come avviene in condizioni di eccessiva umidità prima della raccolta) ha effetti negativi sulle proprietà funzionali della farina. Il metodo comunemente utilizzato per quantificare tale amilasi è il metodo HFN (Hagberg Falling Number). Questo metodo prevede la gelatinizzazione dell'amido presente in una sospensione acquosa di sfarinato che è posta all'interno di un tubo graduato in vetro. Il tempo necessario alla sospensione per depositarsi sul fondo in seguito al riscaldamento del tubo posto in un bagnomaria bollente, è direttamente proporzionale alla quantità delle α -amilasi presenti nel campione. Questo è dovuto all'aumento della temperatura che stimola l'attività enzimatica portando la miscela acqua-sfarinato a liquefarsi, precipitando sul fondo del tubo. L'attività delle amilasi è così definita in secondi (s), passiamo da valori

minimi di 60s a valori elevati di 400s. I valori richiesti dipendono dal mercato e sono compresi in genere tra i 200s e i 300-350s (Nicola Caporaso et al, 2017).

Attuali ricerche hanno dimostrato come preferire l'hyperspectral imaging alla metodologia sopraccitata possa essere un balzo in avanti per l'industria cerealicola.

Entriamo nel dettaglio riflettendo sugli studi svolti da Nicola Caporaso et al, 2017. I campioni di grano analizzati in questa ricerca sono stati pretrattati in laboratorio (ammollo in acqua, riscaldamento e successiva disidratazione a valori di umidità compresi tra il 12 e il 13%), per ottenere una pre-germinazione con lo scopo di aumentare l'attività delle α -amilasi. Il sistema di HSI in questo caso opera tramite un approccio "line scan" e come sorgente luminosa sono state scelte due lampade a incandescenza (500W), posizionate in modo che l'angolo incidente della luce prodotta fosse di 45°. Dopo aver ottenuto l'ipercubo grezzo sono seguite le consuete fasi di calibratura e scelta delle ROI. In figura 2-3 sono mostrate alcune fasi del processo. Il primo step per ottenere dall'immagine le informazioni legate alla natura chimica del campione è quello di calcolare il valore di $\log(1/R)$, dove R è il valore di riflettanza calcolato per ogni pixel sottraendo per ogni pixel i valori dell'immagine di riferimento in nero per poi equalizzare l'immagine con il riferimento bianco (calibratura dello strumento, già trattata nel capitolo 1).

A partire dal valore di $\log I/R$ sarà definita la soglia binaria entro il quale selezionare l'ipercubo, in questo caso vengono selezionati i pixel con lunghezza d'onda $R1186 > 0.1$.

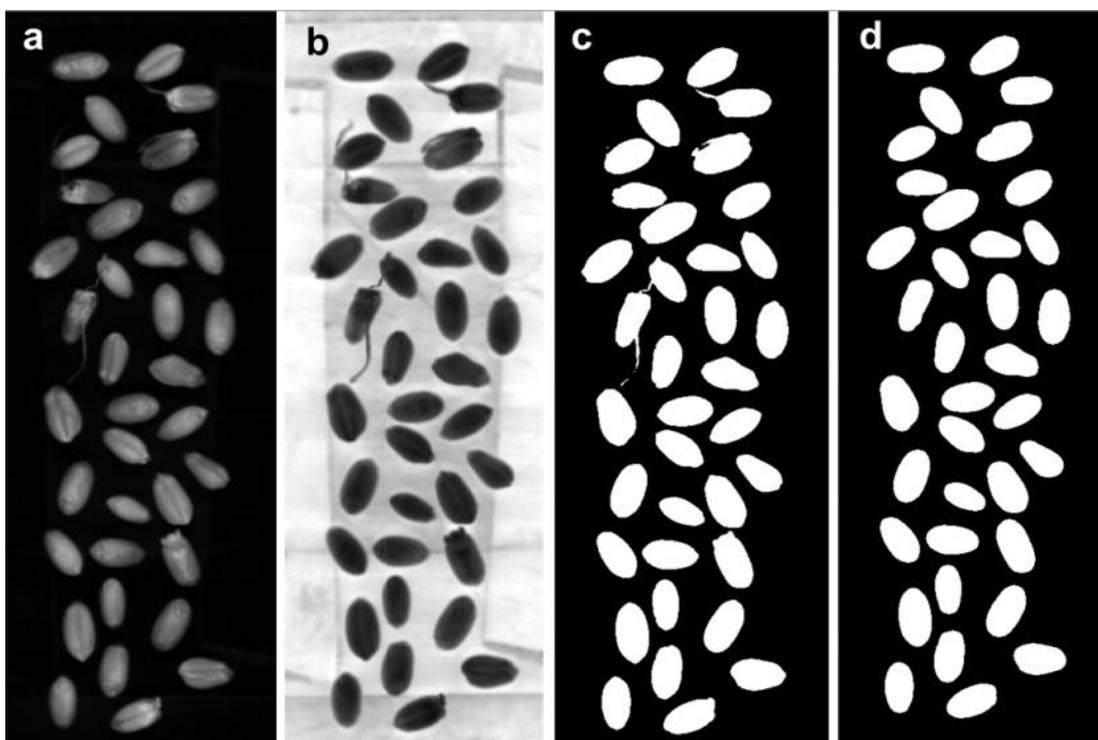


Figura 2-3 Cariossidi di grano germinate e non a) immagine ottenuta a 1186nm b) estrazione delle informazioni chimiche utili tramite $\log I/R$ c) prima segmentazione dei pixel con valori di $\log I/R$ selezionati d) processamento dell'immagine sulla base delle caratteristiche morfologiche (rimozione di interferenti e dei germogli) (Nicola Caporaso et al, 2017)

Queste sono solo alcune delle fasi preliminari, seguono poi il trattamento statistico dei dati e la scelta dei modelli di calibratura più affini al campione. Dagli ottimi risultati ottenuti, è stata validata la capacità dell'hyperspectral imaging di quantificare le α -amilasi dalle cariosidi in esame. Non è da escludere che in futuro, si potrebbe sfruttare tale sistema per selezionare prima della molitura, le cariosidi con un range di indice di caduta che soddisfi i valori d'interesse per l'industria (Nicola Caporaso et al, 2017).

La frazione proteica rappresenta nel grano il dato premonitore delle successive tecnologie di trasformazione. È infatti il contenuto proteico a definire il destino di una farina (pane, biscotti, pasta). Questo valore, influenza la performance in tutti i prodotti da forno, soprattutto in tutti

quelli in cui è richiesta la formazione di una maglia glutinica per supportare una lievitazione. Non c'è da stupirsi se il prezzo finale del grano in molti paesi venga decretato sulla base del contenuto proteico.

Il contenuto proteico nel grano dipende da tre fattori principali: la varietà, le pratiche agronomiche adottate in campo e le condizioni climatiche. Sono state definite negli anni diverse tecniche analitiche per quantificare il contenuto proteico e tra queste troviamo i metodi Kjeldahl, Dumas, Biuret, Lowry, tutti efficaci e certificati. Tuttavia, l'applicazione dell'hyperspectral imaging in questo contesto comporterebbe riduzione di tempi e costi. Una dimostrazione della capacità dell'HSI è descritta da Yang Shuqin et al, 2016 che sfrutta questa tecnologia per predire il contenuto proteico direttamente dalle cariossidi di grano, prima della molitura. Dopo aver acquisito l'ipercubo ad una lunghezza d'onda compresa nella regione NIR tra i 950 e i 1522 nm, nello studio si è verificata l'accuratezza dei risultati applicando il metodo Kjeldahl alle cariossidi fotografate dall'ipercubo (questo sottolinea l'utilità dell'HSI come strumento analitico non distruttivo, i campioni possono essere recuperati e i risultati validati). I risultati dello studio, che ha previsto la costruzione di diversi modelli di predizione, hanno portato un grado di accuratezza (R_2) superiore a 0.92 (Yang Shuqin et al, 2016).

Oltre ai due parametri precedentemente descritti, vi sono altri punti d'interesse nella valutazione della qualità delle farine come l'umidità, la durezza della cariosside e il contenuto di micronutrienti.

L'umidità della cariosside è un altro parametro molto importante. L'umidità viene definita prima dello stoccaggio per prevenire possibili sviluppi fungini (già trattati in precedenza) che intaccherebbero la qualità della farina. Un approccio analitico utilizzato per quantificare questo valore è la "caratterizzazione di ogni singola cariosside" (single kernel characterisation system: SKCS), metodologia che prevede l'analisi tramite parametri predefiniti su 300 cariossidi. Ovviamente non tutti i chicchi hanno la stessa distribuzione di acqua al proprio interno, ad esempio le cariossidi derivanti da raccolti che hanno subito attacchi fungini hanno un grado di umidità maggiore. L'HSI è stato sfruttato già in diversi studi come mezzo di quantificazione dell'umidità delle cariossidi, permettendo il raggiungimento di risultati analitici costanti (Glen Fox et al, 2013).

La durezza dei chicchi è un fattore rilevante per tutti quei cereali che dovranno subire molitura per essere trasformati in farina o semola. È questo parametro a definire indirettamente la granulometria degli sfarinati dopo la macinazione. Anche in quest'ambito un approccio valido è il metodo SKCS, che definisce il grado di durezza analizzando 300 cariossidi tramite software preimpostati con algoritmi specifici (per varietà e tipo di cereale). L'applicazione

dell' hyperspectral imaging nella regione NIR consente di predire la durezza, permettendo di separare le cariossidi in base al destino che lo sfarinato intraprenderà; inoltre, si è dimostrato come sia possibile quantificare le dimensioni del germe e identificare l'aspetto dell'endosperma (vitreo o farinoso) (Glen Fox et al, 2013).

Ricerche recenti attestano la capacità dell'HSI di quantificare con una buona attendibilità il contenuto di **micronutrienti** nel grano.

Negli studi di Naiyue Hu et al, 2021 viene proposto un approccio economico per valutare in breve tempo i micronutrienti caratteristici del grano (come B, Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, Mo e Zn) direttamente dalle cariossidi intatte. La ricerca ha dimostrato, difatti, come risultati migliori siano stati ottenuti sulle analisi effettuate su cariossidi intatte piuttosto che sulla farina. Questo è dovuto al fatto che macinando le cariossidi e ottenendo uno sfarinato si ha un aumento della riflettanza e questo porta ad un calo dell'accuratezza, inoltre si deve tener conto che il contenuto di micronutrienti nel grano è discreto e per lo più collocato nello strato aleuronico (Naiyue Hu et al, 2021).

Capitolo 3

HYPERSPECTRAL IMAGING: VALUTAZIONI SUL PRODOTTO FINITO

3.1 Pane

Dopo aver descritto le molteplici capacità di un sistema di hyperspectral imaging nell'industria cerealicola, possiamo finalmente concludere la filiera includendo questa tecnologia nell'analisi del prodotto finito. Tra i tanti derivati della farina, le ricerche odierne si sono focalizzate su due di essi: **pane e prodotti dolciari**.

Incominciamo parlando del pane. Nonostante questo sia un preparato composto in genere da tre semplici ingredienti: acqua, farina e lievito; molteplici sono i fattori che concorrono a determinare le caratteristiche fisico-chimiche del prodotto finito. Torniamo a parlare di farina e lievitazione, concentrandoci su questa specifica trasformazione.

Dagli studi di Samuel Verdú et al, 2015, viene portata all'attenzione la capacità dell'hyperspectral imaging di analizzare la capacità fermentativa delle farine da pane. In questo caso, sono state analizzate sei farine commerciali differenti, tutte vendute come farine di forza (e quindi adatte alla produzione di pane in cassetta, prodotti da forno e pan di spagna). Tramite impastamento con aggiunta di acqua e lievito sono stati prodotti sei campioni posti a lievitare in condizioni ideali (37°C e umidità relativa del 90%). Il sistema di hyperspectral imaging ha monitorato l'intero processo fino all'arresto della lievitazione, quando è stata rilevata una diminuzione dell'area registrata. Dai campioni, di cui erano state già analizzate le caratteristiche fisico-chimiche, si è resa ben visibile una correlazione esistente tra il contenuto in glutine e le sue frazioni e il processo fermentativo. Queste differenze sono ben visibili in figura 3-1, dove i due campioni che hanno avuto tempi di lievitazione più lunghi erano proprio quelli in cui la frazione glutinica era minore (campioni B2 e B5). Inoltre, si è dimostrata ancora una volta l'importanza del rapporto gliadine/glutenine, rapporto che influenza diversi parametri come la resistenza all'aumento di pressione per aggiunta di gas o la stabilità dell'impasto (Samuel Verdú et al, 2015).

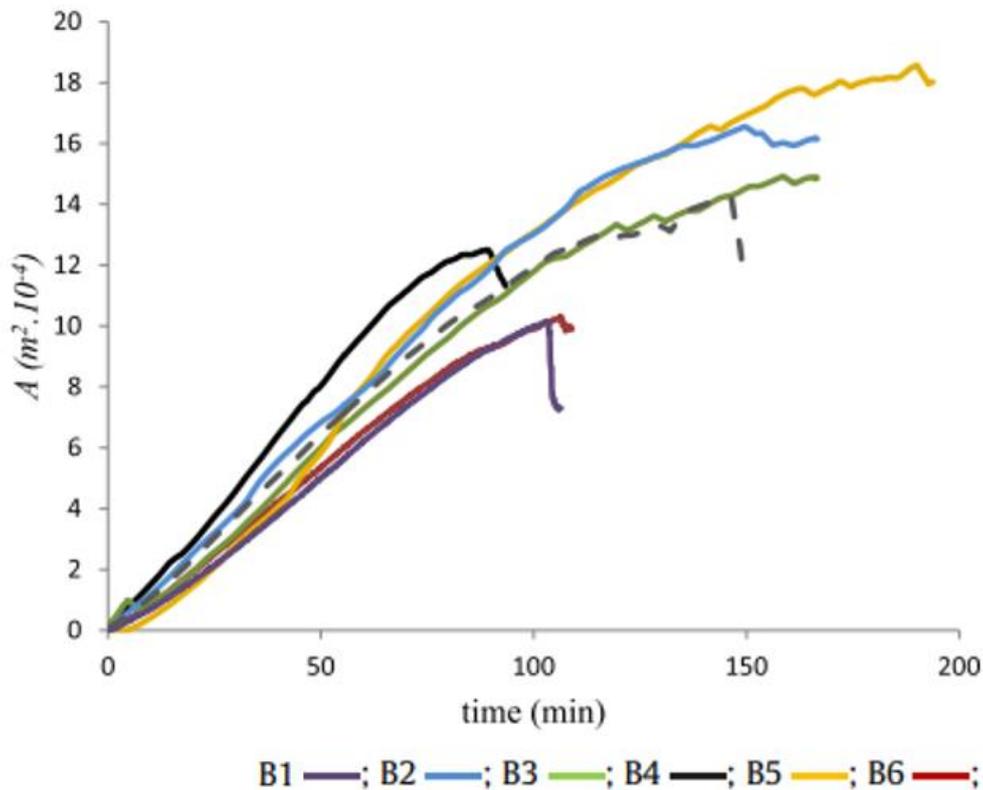


Figura 3-1 Aumento dell'area (A) dell'impasto in funzione del tempo fino all'arresto della lievitazione; Osserviamo una sostanziale differenza nel tempo necessario alla lievitazione dei campioni B2-B5 ($Gli/Glu= 1.5-1.7$) e dei campioni B1-B6 ($Gli/Glu= 1.2$) (Samuel Verdú et al, 2015)

Per ciò che concerne le proprietà cinetiche degli impasti lievitati, è bene ricordare che la lievitazione è il risultato dell'attività metabolica di lieviti e batteri lattici. Queste due classi di microrganismi sono rilevabili tramite HSI che permette di numerare e identificare la presenza di colonie su terreni agarizzati. Utilizzare questa tecnologia in ambito microbiologico permette di quantificare e qualificare cellule vive con attività pro-tecnologica isolate da una matrice alimentare, permettendo inoltre, l'identificazione di eventuali patogeni. Molti sono gli studi che dimostrano l'efficienza dell'hyperspectral imaging in biologia, non è da escludere che presto il suo utilizzo possa abbracciare anche l'aspetto microbico degli impasti lievitati (Seung-Chul Yoon1 et al, 2015).

Recentemente, l'hyperspectral imaging è stato coinvolto nello studio dei processi riguardanti il **raffermamento** (anche detto *staling*) del pane. Nel dettaglio, è stata analizzata la capacità di comprendere e monitorare al meglio questo fenomeno anche in seguito all'aggiunta di enzimi anti-staling come le α -amilasi maltogeniche. Il raffermaimento è un processo degradativo che inizia al termine della cottura, questo influenza la struttura fisico-chimica della crosta in cui l'elasticità caratteristica viene persa man mano fino a divenire rigida. L'uso di α -amilasi maltogeniche può rallentare questo processo grazie alla capacità di produrre polimeri che interferiscono sulla mobilità dell'acqua ritardando la retrogradazione dell'amilopectina.

Negli studi di J. M. Amigo et al, 2021, questa capacità conservante viene studiata e verificata facendo uso dell'HSI. L'analisi è stata effettuata su tre campioni di pane (tre pagnotte intere pronte per la conservazione) prodotti allo stesso modo ma diversamente trattati: il primo campione CR (control bread) privo di enzimi, il secondo EZ1 e il terzo EZ2 sono stati trattati con due enzimi anti-staling differenti.

Per comprendere con quale modalità l'indurimento della crosta evolvesse è stato scelto come modello predittivo il PLS (partial least squares), sfruttato per predire l'indurimento dei campioni per ogni singolo pixel. In figura 3-2 è ben visibile il differente stato evolutivo dei tre campioni analizzati in funzione del tempo; CR è il campione che ha risentito maggiormente la conservazione mentre tra EZ1 e EZ2 è ben visibile come l'enzima utilizzato per EZ2 ha un'attività preservante migliore, difatti al ventunesimo giorno si nota solo un'accenno di raffermaimento (J. M. Amigo et al, 2021).

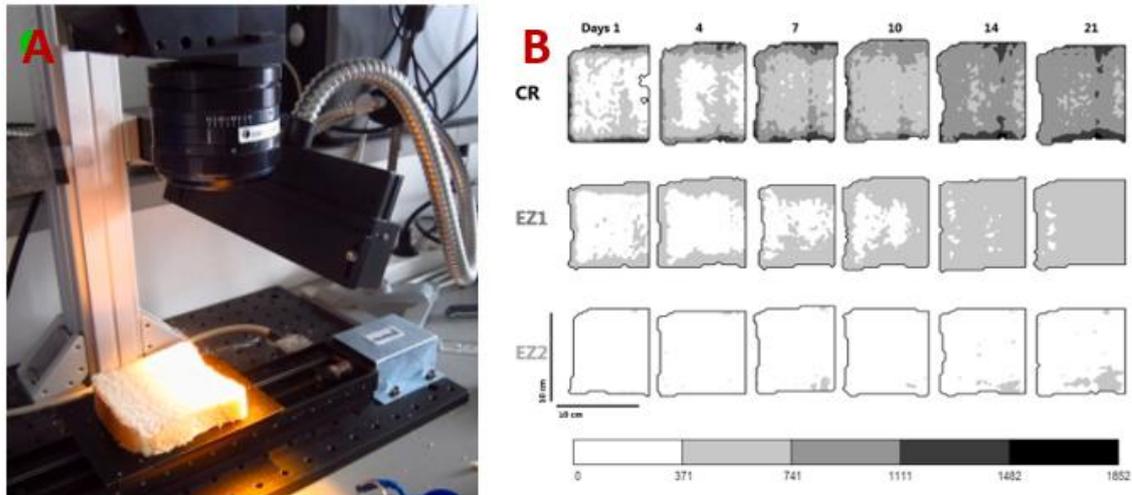


Figura 3-2 A) Misurazione tramite camera HSI-NIR B) Predizione della durezza (scala di colore bianco=nulla, nero=valori elevati) dei tre campioni analizzati (J. M. Amigo et al, 2021)

3.2 I prodotti dolciari

Per quanto riguarda l'industria dolciaria associata ai dolci da forno, in studi recenti si è verificata la possibilità di sfruttare l'HSI per predirne la **shelf-life**.

Questi prodotti hanno tempi di conservazione predefiniti oltre i quali si incombe in trasformazioni più o meno pericolose per il consumo umano che dipendono da diversi fattori come gli ingredienti, dalle modalità di conservazione o dall'ambiente in cui i prodotti sono riposti.

I cambiamenti a cui possono andare incontro questa classe di prodotti sono di tre categorie: modifiche chimiche (dovute ad interazioni tra più molecole che reagiscono tra loro nell'alimento), modifiche fisiche (derivanti da variazioni dei valori di umidità del prodotto in funzione del tempo) e modifiche microbiologiche (causate dalla crescita di microrganismi e dai loro metaboliti). Nelle ricerche svolte da Zainab Saleem et al, 2020) tramite HSI sono state analizzate nell'insieme queste tre possibili alterazioni in campioni di pan di spagna. L'analisi è stata svolta su sedici campioni di pan di spagna preparati allo stesso modo, scansionati tramite HSI ogni 12 ore per un totale di 8 giorni. Nello studio l'attenzione è stata focalizzata alla crescita microbica, per tanto tutti i campioni sono stati vaporizzati con acqua distillata dopo ogni acquisizione per favorirne il deterioramento. Per apprezzare i risultati è necessario volgere uno sguardo alla figura 3-3. Le prime trasformazioni sono visibili tramite HSI già dal

quarto giorno, nel campione numero 8. L'osservazione ad occhio nudo del prodotto non permette di visualizzare tale sviluppo microbico che dovrebbe necessariamente essere analizzato in laboratorio con tempi e costi associati. L'hyperspectral imaging si è dimostrato una tecnica più che azzeccata non solo per rilevare una contaminazione ma anche per predirla con un'elevata accuratezza (98,13%) prima che questa sia visibile ad occhio nudo (Zainab Saleem et al, 2020).

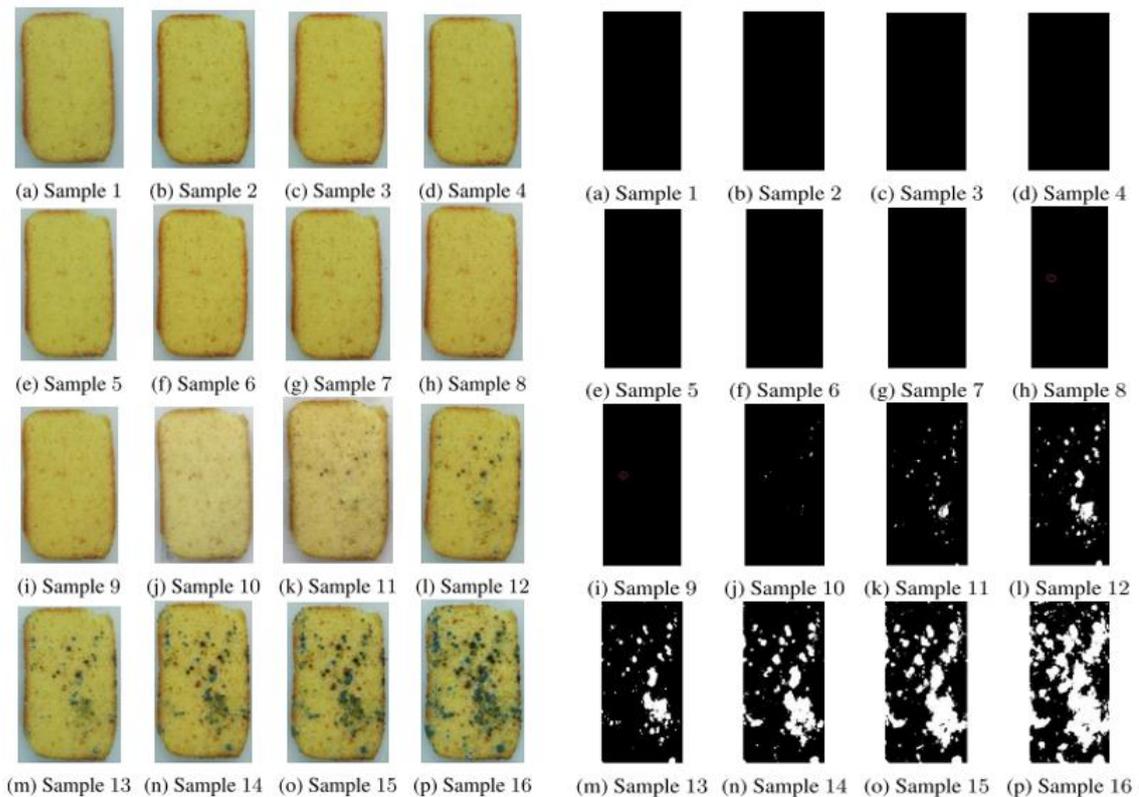


Figura 3-3 *Confronto tra immagine RGB a sinistra e ipercubo a destra, tramite HSI è facilmente visibile come i fenomeni alterativi siano già presenti anche nei campioni 8 e 9 che ad occhio nudo avremmo considerato campioni “sani” (Zainab Saleem et al, 2020)*

Rimanendo nella classe dolciaria di prodotti simili al pan di spagna, altri studi mostrano come tramite HSI si possa quantificare con una buona accuratezza due parametri d'interesse per questa classe merceologica: l'umidità e la consistenza (A. Polak, 2019).

Questi, sono stati misurati contemporaneamente su 96 campioni conservati immediatamente dopo la cottura. Le acquisizioni sono state effettuate nella regione NIR compresa tra 900-1700nm. Si noti come per questi prodotti vi siano dei picchi di assorbanza tra i 1200 e i 1450nm

che sono i valori associati alla presenza di acqua che assorbe proprio in questa regione dello spettro (Zainab Saleem et al, 2020).

Dopo l'acquisizione dell'ipercubo grezzo seguono le consuete azioni di calibratura ed estrazione delle informazioni. In dolci di questo genere, in cui sono presenti bolle d'aria è bene rimuovere questi difetti strutturali tramite specifici algoritmi per impedire errori di misura collegati alla possibilità di tali cavità di influenzare la quantità di luce riflessa.

Le varie analisi hanno dimostrato come sia possibile la quantificazione contemporanea sia dei valori di umidità che dello stato fisico (associabile alla durezza) con un elevato grado di accuratezza pari a $R^2=0.98$ (A. Polak, 2019).

Valori di coefficiente di determinazione simili sono stati riscontrati anche in altri prodotti dolciari come i biscotti. Nello studio di Eloïse Lancelot et al, 2016, viene quantificata tramite HSI, l'umidità di dieci campioni di biscotti appartenenti a due marchi diversi. Anche in questo caso i risultati soddisfacenti ($R^2=0.92$), hanno dimostrato la capacità di questa nuova tecnologia in ambito analitico.

CONCLUSIONI

Nello studio di tesi proposto, è stata trattata la possibilità di sfruttare, per l'intera linea di produzione, una nuova tecnica analitica: l'hyperspectral imaging.

Tale strumentazione è stata trattata con un approccio basato sul confronto con tecniche analitiche odierne, ed è proprio dal confronto che si arguisce come l'HSI presenti vantaggi di notevole interesse:

- rapidità di analisi;
- possibilità di effettuare analisi non distruttive e non invasive;
- ottenimento di risultati multi-parametrici.

Il sistema presenta alcuni punti svantaggiosi su cui lavorare come la necessità di operatori specializzati o l'esigenza di risolvere le variazioni statistiche date dalla multicollinearità.

È bene considerare che nonostante le prospettive di sviluppo non siano certo limitate, la ricerca scientifica ha ancora molto su cui lavorare per poter inserire questa nuova possibilità nell'industria. Va ricordato che, essendo una tecnologia non limitata ad un solo spazio applicativo, vi è una costante implementazione degli studi pubblicati in questo settore.

Di seguito è mostrato un grafico rappresentante l'aumento delle ricerche scientifiche su tale ambito negli ultimi anni.

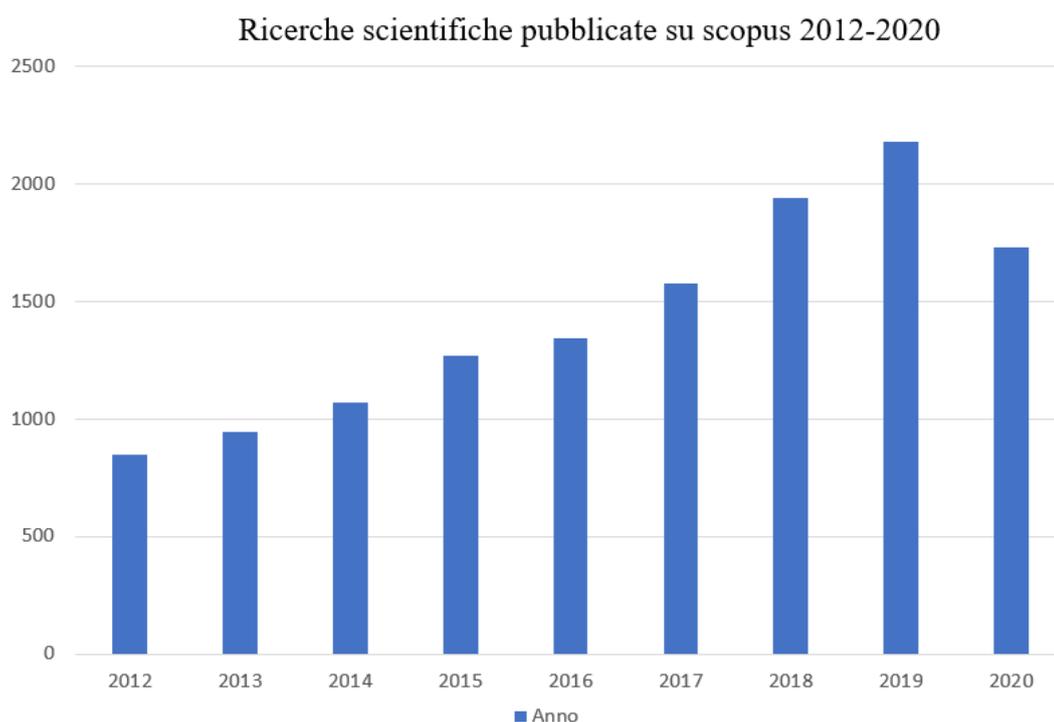


Figura 4-1 Ricerche scientifiche pubblicate negli ultimi anni

Il motivo dell'aumento dell'interesse per questa tecnologia risiede nell'incremento delle possibilità di utilizzo; si è passati da un uso ingegneristico per poi svoltare su altri campi quali: fisica, astronomia, matematica, agricoltura, biologia molecolare, biochimica, genetica, chimica, medicina, immunologia, neuroscienze, storia dell'arte.

Spesso tale tecnologia viene associata ad altre in fase di sviluppo (come il monitoraggio delle amilasi maltogeniche trattate nel capitolo 3), divenendo la base scientifica sfruttata per monitorare l'andamento di una nuova ricerca.

Tra i tanti studi pubblicati, sempre di più sono quelli focalizzati sull'industria agroalimentare che vede nell'hyperspectral imaging un vero e proprio alleato.

Lo studio proposto è solo una delle tante dimostrazioni di come l'utilizzo dell'hyperspectral imaging nell'industria agroalimentare possa divenire la chiave di volta di ogni sistema di neo-generazione.

BIBLIOGRAFIA

- Agriopoulou S., Stamatelopoulou E., Varzakas T., 2020. Advances in Analysis and Detection of Major Mycotoxins in Foods. *foods*, p. 23.
- Amigo J. M., del Olmo A., Moller Engelsen M., Lundkvist H., Engelsen S. B., 2021. Staling of white wheat bread crumb and effect of maltogenic α -amylases. Part 3: Spatial evolution of bread staling with time by near infrared hyperspectral imaging. *Food Chemistry*, Issue 353, p.8.
- Bhuvanewari K., Fields P., White N. D. G, Sarkar A. K., Singh C. B., Jayas D. S., 2011. Image analysis for detecting insect fragments in semolina. *Journal of Stored Products Research*, Issue 47, pp. 20-24.
- Caporaso N., Whitworth M. B., Fisk I. D., 2018. Near-Infrared spectroscopy and hyperspectral imaging for non-destructive quality assessment of cereal grains. *Applied Spectroscopy Reviews*, pp. 667-687.
- Caporaso N., Whitworth M. B., Fisk I. D., 2017. Application of calibrations to hyperspectral images of food grains: example for wheat falling number. *Journal of Spectral Imaging*, Volume 6, p. 15.
- Femeniasa A, Gatiusb F, Ramos J.A., Sanchis V, Marìn S, 2020. Use of hyperspectral imaging as a tool for Fusarium and deoxynivalenol risk management in cereals: A review. *Food Control*, p. 12.
- Fox G., Manley M., 2013. Applications of single kernel conventional and hyperspectral imaging near infrared spectroscopy in cereals. *Sci Food Agric*, pp. 174-179.
- Hu N., Li W., Du C., Zhang Z., Gao Y., Sun Z., Yang L., Yu K., Zhang Y., Wang Z., 2021.

- Hussaina N., Sun D.-W., Pu H., 2019. Classical and emerging non-destructive technologies for safety and quality evaluation of cereals: A review of recent applications. *Trends in Food Science & Technology*, pp. 598-608.
- Lancelot E., Courcoux P., Chevallier S., Le-Bail A., Jaillais B., 2016. Potential of near-infrared hyperspectral imaging spectroscopy to quantify water content in biscuits.. *IEEE Computer Society*, p. 3.
- Lim J., Lee A., Kang J., Seo Y., Kim B., Kim G., Kim S. M., 2020. Non-Destructive Detection of Bone Fragments Embedded in Meat Using Hyperspectral Reflectance Imaging Technique. *sensor*, 20(4038), pp. 1-13.
- Liu D., Sun D.-W., Zeng X.-A., 2014. Recent Advances in Wavelength Selection Techniques for Hyperspectral Image Processing in the Food Industry. *Food Bioprocess Technol*, Issue 7, pp. 307-323.
- Magnan P., 2003. Detection of visible photons in CCD and CMOS. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research*, Volume Sezione A, pp. 199-212.
- Mahesh S., Jayas D., Paliwal J., White N., 2015. Hyperspectral imaging to classify and monitor quality of agricultural materials. *Journal of Stored Products Research*, pp. 17-26.
- Medus L. D., Saban M., Francès-Villoira J.V., Bataller-Mompeàn M., Rosado-Munoz A., 2021. Hyperspectral image classification using CNN: Application to industrial food packaging. *Food Control*, Issue 125, p. 12.
- Ozdogan G., Lin X., Sun D.-W., 2021. Rapid and noninvasive sensory analyses of food products by hyperspectral imaging: Recent application developments. *Trends in Food Science & Technology*, pp. 151-165.
- Polak A., Coutts F.K., Murray P., Marshall S, 2019. Use of hyperspectral imaging for cake moisture and hardness prediction. *IET Image Process*, Volume 13, pp. 1152-1160.

- Ravikanth L., Jayas D. S., White N. D. G., Fields P. G., 2017. Extraction of Spectral Information from Hyperspectral Data and Application of Hyperspectral Imaging for Food and agricultural products. *Food Bioprocess Technol*, Issue 10, pp. 1-33.
- Ropelewska E., Zapotoczny P., 2018. Classification of Fusarium-infected and healthy wheat kernels based on features from hyperspectral images and flatbed scanner images: a comparative analysis. *Springer*, pp. 1453-1462.
- Saleem Z., Khan M. H., Ahmad M., Sohaib A., Ayaz H., Mazzara M., 2020. Prediction of Microbial Spoilage and Shelf-Life of Bakery Products Through Hyperspectral Imaging. *IEEE Access*, Volume 8, p. 11.
- Shuqin Y., Dongjian H., Jifeng N., 2016. Predicting wheat kernels' protein content by near infrared hyperspectral imaging. *Int J Agric & Biol Eng*, 9(2), pp. 163-170.
- Verdú S., Ivorra E., Sanchez A. J., Barat J. M., Grau R., 2015. Study of high strength wheat flours considering their physicochemical and rheological characterisation as well as fermentation capacity using SW-NIR imaging. *Journal of Cereal Science*, Issue 65, pp. 31-37.
- Vermeulena P., Suman M., Fernández Pierna J. A., Baetena V., 2018. Discrimination between durum and common wheat kernels using near infrared hyperspectral imaging. *Journal of Cereal Science*, Issue 84, pp. 74-82.
- Wu D., Sun D.-W., 2013. Advanced applications of hyperspectral imaging technology for food quality and safety analysis and assessment: A review- Part I: Fundamentals. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, Issue 19, pp. 1-14.
- Wun D., Sun D.-W. , 2013. Advanced applications of hyperspectral imaging technology for food quality and safety analysis and assessment. *ELSEVIER*, p. 14.

Yao K., Sun J., Zhou X., Nirere A., Tian Y., Wu X, 2020. Nondestructive detection for egg freshness grade based on hyperspectral imaging technology. *Journal of Food Process Engineering*.

Yoon S., Lawrence K. C., Park B., 2015. Automatic Counting and Classification of Bacterial Colonies Using Hyperspectral Imaging. *Food Bioprocess Technol*, Issue 8, p. 2047–2065.

Zhang L., Rao Z., Ji H., 2019. NIR Hyperspectral Imaging Technology Combined with Multivariate Methods to Study the Residues of Different Concentrations of Omethoate on Wheat Grain Surface. *Sensors*, p. 19.

RINGRAZIAMENTI

A conclusione di questo elaborato, desidero menzionare tutte le persone, senza le quali questo lavoro di tesi non si sarebbe mai realizzato.

In primis un ringraziamento speciale alla mia relatrice Roberta Foligni per la sua immensa pazienza, gli smisurati consigli, l'incredibile disponibilità e l'encomiabile capacità di trasmettere conoscenze durante tutto il percorso svolto assieme.

Grazie anche alla mia correlatrice Cinzia Mannozi per le revisioni e le modifiche apportate alla tesi.

Un ringraziamento speciale va anche al mio tutor aziendale Antonietta di Deo che seguendomi con ammirevole dedizione, ha amplificato il mio desiderio di conoscenza nelle scienze, mostrandomi sbocchi lavorativi non ancora presi in considerazione.

Ringrazio infine, i miei genitori, la mia famiglia e miei amici che dagli albori del mio percorso di studi, mi hanno sempre sostenuto con amore e pazienza.

Grazie.