

## Il progetto SANCAST: impiego di tecnologie non distruttive per la cernita delle castagne

Riccardo Massantini\*, Roberto Moschetti\*\*

Dipartimento per la Innovazione nei sistemi Biologici, Agroalimentari e Forestali (DIBAF), Università degli Studi della Tuscia

### Introduzione

Sebbene la castanicoltura sia un settore di nicchia a livello nazionale, l'Italia è il quarto produttore mondiale di castagne con circa 50.000 t/anno, ma è tradizionalmente il primo esportatore in termini di valore del prodotto, seguito dalla Cina. Allo stato attuale, la filiera castanicola mostra un livello tecnologico modesto che, storicamente, non ha mai rappresentato un problema per garantire un prodotto di qualità che fosse commercializzato anche attraverso la grande distribuzione organizzata (GDO). Tuttavia, negli ultimi 15-20 anni, la tecnologia di filiera non è risultata essere in grado di contrastare gli effetti dei cambiamenti climatici ed il proliferare di agenti patogeni autoctoni e non, che hanno ridotto considerevolmente il volume delle produzioni ed hanno aumentato l'incidenza di prodotto difettato. Le conseguenze sono state catastrofiche; con il tempo il settore castanicolo ha perso importanti quote di mercato nella GDO ed in alcune annate (es. 2016) la perdita di prodotto ha raggiunto il 90%. Tra le problematiche più rilevanti per la sostenibilità della castanicoltura da frutto in Italia, vi sono la sanità e commerciabilità del frutto, messe a rischio dall'impatto dei danni e le malattie causate da insetti e funghi, responsabili di (i) danni occulti (non visibili all'esterno del frutto) ed (ii) contaminazione da micotossine per le quali la castagna è considerata frutto a rischio (Rodrigues *et al.*, 2012). I funghi che comportano la comparsa di marciumi o muffe (*Penicillium* spp., *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., *Gnomoniopsis castanea*, *Phomopsis castanea*, *Acrospeira mirabilis* e *Sclerotinia pseudotuberosa*) possono svilupparsi da fori di sfarfallamento, da gallerie larvali di insetti carposfagi e da introflessioni dell'episperma, nonché durante la conservazione di frutti

non correttamente asciugati dopo il flottaggio e/o la cura. Tra i danni provocati da parassiti fungini, il marciume da *Gnomoniopsis castanea* sta destando particolare preoccupazione per l'entità del danno che causa.

Il progetto SANCAST (*Qualità e salubrità della castagna: Uso di metodi fisici e biologici a impatto zero nella filiera castanicola per garantire qualità e salubrità del prodotto*) ha come obiettivo finale la messa in commercio di frutti con percentuali di danno/marcio compatibili con gli standard della GDO. SANCAST mira al raggiungimento di tale obiettivo attraverso (i) il trasferimento alla filiera castanicola di pratiche in campo in grado di mitigare danni e marciumi del frutto e (ii) il test e lo sviluppo di modelli discriminanti per la cernita online delle castagne basati sull'impiego della spettrometria puntiforme nel vicino infrarosso a trasformata di Fourier (FT-NIR) e dell'analisi di immagine iperspettrale (o hyperspectral imaging, HSI) nella banda del visibile/vicino infrarosso (Vis/NIR).

### Materiali e metodi

#### Preparazione dei campioni

Due lotti di circa 5 kg castagne (*Castanea sativa* Mill. cv. Marrone Fiorentino), raccolte nella stagione produttiva 2018, sono stati campionati presso un centro di stoccaggio locale (Mastrogregori s.r.l., Viterbo, Italia) dopo esser stati sottoposti a cernita da parte dello stabilimento stesso. Al lotto "S" corrispondevano le castagne cernite come sane, mentre al lotto "U" i frutti guasti. Una volta trasportati presso i laboratori di analisi, i frutti sono stati (i) sottoposti ad ulteriore cernita visiva per rimuovere le castagne danneggiate per impatto e/o germinate e/o erroneamente classificate come sane/guaste, (ii) etichettati e (iii) conservati a 4°C fino ad inizio analisi. Un totale di 720 frutti (360 frutti per lotto) è stato selezionato e sottoposto a scansioni spettrofotometriche (puntiformi ed iperspet-

\* massanti@unitus.it; \*\* rmoschetti@unitus.it

trali) seguite da analisi entomologiche e microbiologiche. I campioni sono stati equilibrati a temperatura ambiente prima dell'analisi spettrofotometrica.

#### Scansioni spettrofotometriche (analisi non distruttiva)

Le scansioni iperspettrali sono state effettuate utilizzando la telecamera iperspettrale mod. PFD4K-CL-65-V10E (400-1000 nm, 0.78 nm di risoluzione) equipaggiata con un obiettivo mod. OLE23 (lunghezza focale 23 cm, numero F 2.4) (Specim Spectral Imaging Ltd., Oulu, Finlandia). La distanza tra la telecamera ed i campioni era pari a 30 cm. La sorgente di illuminazione era composta da 6 lampade alogene da 35W mod. DEOSTAR 51 ALU 41866 WFL (Osram, Monaco di Baviera, Germania). Il software Lumo Scanner 1.2 (Specim Spectral Imaging Ltd., Oulu, Finlandia) è stato utilizzato per il controllo della telecamera e del piano semovente mod. Labscan 40x20 (Specim Spectral Imaging Ltd., Oulu, Finlandia). La velocità della traversa è stata impostata a  $3.24 \text{ mm s}^{-1}$  ed il tempo di esposizione a 35 ms. Gli ipercubi sono stati acquisiti in riflettanza ad una risoluzione di  $1788 \times 1568$  pixels (H×W). La calibrazione è stata effettuata con uno standard in teflon al 70% di riflettanza. Ogni frutto è stato sottoposto a 4 scansioni, idealizzando 4 lati di scansione come rappresentativi della superficie dell'intero frutto: (i) lato convesso (C), (ii) lato concavo (P), (iii) cicatrice ilare (B) e (iv) torcia (T). Una maschera binaria è stata utilizzata per rimuovere il background dall'ipercubo.

Lo spettrofotometro Antaris II (Thermo Scientific, Madison, WI, USA) è stato utilizzato per l'acquisizione di spettri a trasformata di Fourier nella regione spettrale 833-2630 nm (risoluzione di 0.3 nm). Gli spettri sono stati acquisiti in assorbanza, utilizzando lo standard interno dello strumento come riferimento. Ogni spettro è stato ottenuto dalla media di 30 scansioni. Le acquisizioni FT-NIR sono state effettuate sul lato concavo del frutto (P).

Durante la sperimentazione gli spettri sono stati sottoposti ad una serie di pretrattamenti atti a rimuovere informazioni irrilevanti ed aumentare la qualità dei dati: Standard Normal Variate (SNV), Multiplicative Scatter Correction (MSC), filtro

Savitzky-Golay (derivata prima e seconda; polinomio di secondo ordine; finestra di smoothing a 5, 7 o 9 variabili) e Mean Centering (MC).

#### Rilievi entomologici e microbiologici (analisi distruttiva)

Immediatamente dopo l'analisi non distruttiva, i campioni sono stati sezionati ed analizzati in laboratorio per il riconoscimento di danni da parassiti fungini e/o da insetti. Sulla base dei risultati ottenuti, i frutti sono stati classificati in guasti (U) e sani (S) (fig. 1).

#### Sviluppo dei modelli di classificazione

I modelli di classificazione sono stati computati utilizzando la partial least squares discriminant analysis (PLS-DA) mediante l'algoritmo SIMPLS (de Jong, 1993). Il numero ottimale di variabili latenti (Lvs) è stato selezionato secondo Moschetti *et al.* (2017, 2018). I risultati sono stati espressi in termini di errore Falso Positivo (FP), errore Falso Negativo (FN) ed Errore Totale (ET) e riportati per i set di calibrazione (C) e cross-validazione (CV).

#### Gestione dei dati ed analisi chemometrica

Il software Matlab R2019a è stato utilizzato per rimuovere il background dagli ipercubi (Mathworks Inc., Natick, USA), mentre il software PLS\_Toolbox v8.5.6 (Eigenvector Research Inc., WA, USA) è stato utilizzato per lo sviluppo dei modelli PLS-DA.

## Risultati e discussione

Sulla base dei risultati ottenuti da un'indagine condotta nella stagione produttiva 2018, presso gli stabilimenti di stoccaggio delle castagne dell'areale viterbese, l'errore totale delle operazioni di cernita comunemente utilizzate (flottaggio e/o selezione manuale) può oscillare notevolmente, ma è di solito superiore alla soglia del 15-20%. Nei dati raccolti, l'errore di secondo tipo (o Falso Negativo, FN) predomina sull'errore di primo tipo (o Falso Positivo, FP). Pertanto, le comuni operazioni di cernita identificano con più difficoltà i frutti guasti. Tali risultati sono in linea con quanto osservato da Moschetti *et al.* (2014a, 2014b)

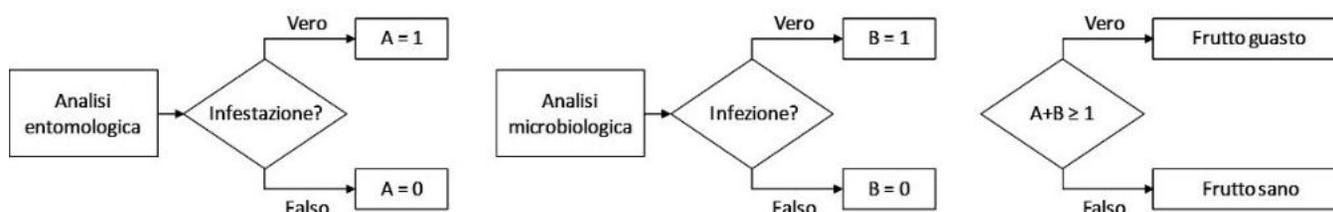


Fig. 1 - Diagramma di flusso utilizzato per definire la classe di appartenenza del frutto.

Tab. 1 - Prestazioni dei modelli PLS-DA per la cernita delle castagne.

Strumento	Lato frutto	Classe frutto	FP <sup>a</sup>		FN <sup>b</sup>		ET <sup>c</sup>	
			Cal <sup>d</sup>	CV <sup>e</sup>	Cal	CV	Cal	CV
FT-NIR	P <sup>f</sup>	S <sup>l</sup>	0.189	0.186	0.137	0.147	0.161	0.165
		U <sup>m</sup>	0.137	0.147	0.189	0.186	0.161	0.165
HSI	B <sup>g</sup>	S	0.106	0.118	0.135	0.143	0.122	0.132
		U	0.135	0.143	0.106	0.118	0.122	0.132
	C <sup>h</sup>	S	0.156	0.150	0.130	0.140	0.142	0.144
		U	0.130	0.140	0.156	0.150	0.142	0.144
	P	S	0.150	0.159	0.125	0.125	0.136	0.140
		U	0.125	0.125	0.150	0.159	0.136	0.140
	T <sup>i</sup>	S	0.131	0.134	0.180	0.180	0.158	0.160
		U	0.180	0.180	0.131	0.134	0.158	0.160

<sup>a</sup>FP, Falso Positivo; <sup>b</sup>FN, Falso Negativo; <sup>c</sup>ET, Errore Totale; <sup>d</sup>Cal, Calibrazione; <sup>e</sup>CV, Cross-Validazione; <sup>f</sup>P, lato concavo; <sup>g</sup>B, cicatrice ilare; <sup>h</sup>C, lato convesso; <sup>i</sup>T, torcia; <sup>l</sup>S, prodotto sano; <sup>m</sup>U, prodotto guasto.

nella stagione produttiva 2012.

La tabella 1 riporta le metriche dei migliori modelli PLS-DA; tutti ottenuti senza alcun pretrattamento di rimozione dei fenomeni di dispersione ottica (o scattering), applicando un filtro Savitzky-Golay con una finestra di smoothing a 5 punti ed un successivo Mean Centering.

In generale, i risultati mostrano una maggiore efficacia dell'analisi di immagine iperspettrale Vis/NIR nella cernita del prodotto. Il miglior modello PLS-DA è stato ottenuto tramite HSI, scansionando il prodotto nel lato della cicatrice ilare (lato B). Tale modello era caratterizzato da un errore totale del 12% in calibrazione e del 13% in cross-validazione. Le migliori prestazioni dei modelli di classificazione ottenuti scansionando la cicatrice ilare trovano conferma in quanto già osservato da Moschetti *et al.* (2014a, 2014b). Ulteriori indagini saranno quindi indispensabili per poter comprendere le ragioni di tale risultato.

L'errore totale del modello ottenuto tramite FT-NIR è risultato essere pari al 16% circa. I modelli HSI e FT-NIR differiscono esclusivamente in termini di errore FP, che risulta sostanzialmente più elevato nel modello ottenuto tramite tecnologia FT-NIR. Occorre comunque precisare che le caratteristiche tecniche dello strumento Antaris II non hanno reso possibile la scansione del frutto sui 4 lati. Pertanto, ulteriori indagini saranno strettamente necessarie prima di poter affermare quale delle due tecnologie sia effettivamente superiore nella cernita dei frutti.

## Conclusioni

La fattibilità di impiego della spettroscopia puntiforme FT-NIR e dell'analisi di immagine iperspet-

trale Vis/NIR per la cernita delle castagne trova ulteriore conferma nell'indagine condotta durante la presente sperimentazione. In comparazione ai tradizionali metodi di cernita, le prestazioni delle tecniche testate nel presente studio risultano leggermente migliori. Tuttavia, ulteriori ricerche saranno necessarie per sperimentare l'efficacia di nuovi algoritmi di analisi discriminante, filtri e metodiche di analisi di immagine, tra cui le emergenti e promettenti tecniche di apprendimento profondo (o Deep Learning): (i) la Deep Chemometrics per l'analisi degli spettri e (ii) le reti neurali convoluzionali (o Convolutional Neural Network, CNN) per lo sviluppo di modelli di classificazione.

## Bibliografia

- DE JONG, S., 1993. SIMPLS: *An alternative approach to partial least squares regression*. Chemom. Intell. Lab. Syst. 18, 251–263.
- MOSCETTI, R., HAFF, R.P., FERRI, S., RAPONI, F., MONARCA, D., LIANG, P., MASSANTINI, R., 2017. *Real-Time Monitoring of Organic Carrot (var. Romance) During Hot-Air Drying Using Near-Infrared Spectroscopy*. Food Bioprocess Technol. 10, 2046–2059.
- MOSCETTI, R., HAFF, R.P., SARANWONG, S., MONARCA, D., CECCHINI, M., MASSANTINI, R., 2014A. *Nondestructive detection of insect infested chestnuts based on NIR spectroscopy*. Postharvest Biol. Technol. 87.
- MOSCETTI, R., MONARCA, D., CECCHINI, M., HAFF, R.P., CONTINI, M., MASSANTINI, R., 2014B. *Detection of Mold-Damaged Chestnuts by Near-Infrared Spectroscopy*. Postharvest Biol. Technol. 93, 83–90.
- MOSCETTI, R., RAPONI, F., FERRI, S., COLANTONI, A., MONARCA, D., MASSANTINI, R., 2018. *Real-time monitoring of organic apple (var. Gala) during hot-air drying using near-infrared spectroscopy*. J. Food Eng. 222, 139–150.
- RODRIGUES, P., VENÂNCIO, A., LIMA, N., 2012. *Mycobiota and mycotoxins of almonds and chestnuts with special reference to aflatoxins*. Food Res. Int. 48, 76–90.