

# Presentazione delle attività CNR nell'ambito del progetto Alert

a cura del Dr. Roberto Dragone e del Dr. Gerardo Grasso

**ALERT 2015**

 **CNRISMN**  
INSTITUTE FOR NANOSTRUCTURED MATERIALS



## Attività del CNR

- ✓ Supporto necessario ai partner nella realizzazione del prototipo BEST e monitoraggio costante dei progressi dell'attuazione del prototipo
- ✓ Scelta dei sistemi trasduttori più opportuni e ottimizzazioni della durata e ottimizzazioni per la riduzione dei costi ed eco compatibilità
- ✓ Identificazione di marcatori e lo sviluppo di nuove sonde per il monitoraggio della filiera lattiera e verifica del funzionamento del BEST mediante campionamenti

## Supporto necessario ai partner nella realizzazione del prototipo BEST e monitoraggio costante dei progressi dell'attuazione del prototipo



- **supporto e assistenza sul campo** (es. verifica della funzionalità dei sensori, *training* di personale aziendale non specializzato, interventi di manutenzione ordinaria e straordinaria, ecc.)



- contatti telefonici, periodico scambio di email e incontri (telematici e *vis-à-vis*) con i partner

- **produzione e condivisione di report tecnico scientifici, tabelle, materiale fotografico:**



utilizzati del Consorzio Alert quali **strumenti di controllo e di aggiornamento periodico** i) dello **stato di avanzamento delle attività** progettuali sul campo, ii) dei **progressi** nelle condizioni di **funzionamento** dei dispositivi, iii) delle **criticità riscontrate** nel prototipo BEST

## Scelta dei sistemi trasduttori più opportuni

### Parametri attualmente misurabili attraverso il modulo Amel

Frazione ionica libera (cationi  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{NH}_4^+$  anioni:  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{F}^-$ ,  $\text{I}^-$ )

Gas disciolti ( $\text{O}_2^{**}$  e  $\text{CO}_2^{***}$ )

Potenziale redox

pH

Conducibilità

Temperatura

\* disponibile da novembre 2017

\*\* sensore ottico che garantisce tempi di funzionamento più lunghi (c.ca 1 anno) e minore necessità di interventi da parte dell'operatore (rispetto ad un sensore amperometrico)

\*\*\* elettrodo gas-sensibile

**ALERT 2015**



### Elettrodi ionoselettivi (Ion Selective Electrodes o ISEs)

- ✓ Strumenti di facile uso, dalla ridotta manutenzione
- ✓ Determinazione dell' **attività** della **frazione ionica libera**
- ✓ Particolarmente **utile** in applicazioni ove è richiesto misurare un solo ordine di grandezza dell'attività di un dato ione (o, se è necessario, **conoscere se sopra o sotto una certa soglia di attività**)
- ✓ La misura non viene influenzata dal colore e dalla torbidità del campione

## Durata degli ISEs: valutazioni ed e interventi

i) Periodici calcoli delle **pendenze delle curve di taratura** → **indice della funzionalità e durata degli ISEs.**

ii) verifica mantenimento di un adeguato livello interno del gel elettrolitico interno.

Individuazione dei fenomeni responsabili della diminuzione dei valori delle pendenze delle curve:

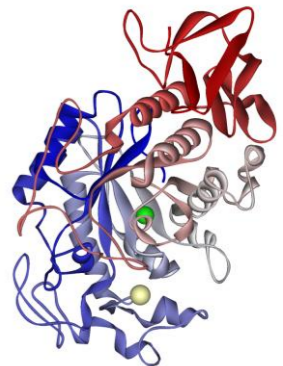
1. Fenomeni di **fouling** (o sporcamento) delle membrane ionosensibili
2. Progressivo **rilascio in soluzione dello ionoforo** (ISEs a membrana polimerica)



- ✓ **Modifica della modalità di conservazione degli elettrodi** tra sessioni di misura (e dunque di mungitura) successive
- ✓ **Modificata la procedura di lavaggio** a fine sessione di misura

### Nuovo protocollo di lavaggio (anche per incrementare la pulizia della linea di misura):

- elaborato in laboratorio, testato in azienda con il prototipo precedente (in modalità manuale)
- ora eseguito in modalità automatizzata
- ✓ **Volumi ridotti** (500 mL) di 3 soluzioni (alcalina, enzimatica e acida) in **concentrazioni 0,5% - 5%**
- ✓ Utilizzo di **formulati enzimatici meno aggressivi, meno schiumogeni e più ecocompatibili** (rispetto ai detergenti tradizionali) → **più adatti ad un utilizzo quotidiano**



**ALERT 2015**

**CNRISMN**  
INSTITUTE FOR NANOSTRUCTURED MATERIALS

**latte**  
**di filiera**  
BEST/ALERT

## Identificazione di marcatori e lo sviluppo di nuove sonde per il monitoraggio della filiera lattiera (in fase di *testing* laboratoristico)



Misure di **indici di fluorescenza della clorofilla a** in biomediatori algali per studio degli **effetti di contaminati chimici** in campioni reali di **acqua di abbeverata**



**Risultati (preliminari)**  
possibilità di impiego di tali **indici di fluorescenza** per valutare i **livelli di contaminanti chimici inibitori dei fotosistemi I e II** eventualmente presenti nei campioni di acqua; tali indici sono inoltre di **potenziale interesse per lo sviluppo di sistemi biosensoristici di rilevazione**



**Rilevazione di Pb** in campioni di **latte crudo** mediante **voltammetria di stripping anodico** su *film* sottili di Hg  
Analizzatore voltammetrico Amel  
periodo agosto-novembre 2017)



*Recovery* analitico 50%  
Instabilità del film sottile di Hg

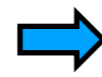
Verifica preliminare del funzionamento del BEST nei POPAs prima della commercializzazione (mediante campionamenti)

- **Latte crudo normale, biologico ed alta qualità)**
- **Latte pastorizzato delattosato (Zymil)**

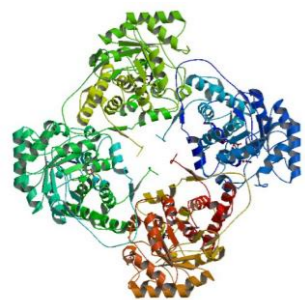
## Identificazione di marcatori e lo sviluppo di nuove sonde per il monitoraggio della filiera lattiera (in fase di *pre-testing* sul campo)



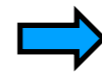
Dispositivo biosensoristico amperometrico a cellule di *Saccharomyces cerevisiae* per la rilevazione dell'erbicida S-triazinico **simazina** in campioni reali di **acqua di abbeverata** e **latte crudo**



**Risultati**  
Rilevazione della simazina a concentrazioni di interesse (**fino a 5 volte sotto i limiti indicati dalla normativa vigente**) in **campioni reali** (acqua di abbeverata e latte crudo di massa dell'azienda Pascolini) **senza pretrattamenti necessari**



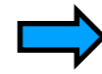
Test preliminari di una **nuova tecnica di confinamento enzimatica** (strategia di intrappolamento enzimatico intermembrane mediante un nuovo sistema elaborato nel nostro laboratorio e realizzato *ad hoc*)



Il sistema realizzato (sinora testato con l'enzima **lattato ossidasi**) consente di effettuare **c.ca 20 misure** al costo medio (stimato) di **3 €** (c.ca 0,20 €/analisi)



Monitoraggio della **variazione del potenziale redox** di campioni di **latte crudo** per la stima della **carica batterica** presente.



I tempi di esecuzione delle misure e di risposta (**c.ca 6 ore per 20000 ufc/mL**) consentirebbero di avere una **stima della carica batterica tra le due sessioni di mungitura** (serotina e mattutina); potenziale utilizzo quale **sistema di screening** senza l'aggiunta di reattivi (es. saggi colorimetrici della reduttasi e misura dell'ATP con metodo bioluminometrico).