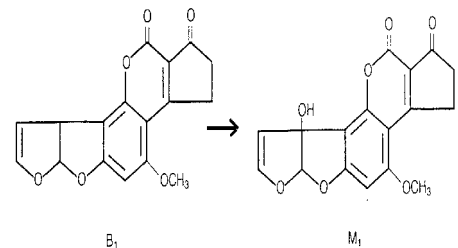




STAR ECOTRONICS s.r.l.

Via Ascanio Sforza, 87 - 20141 MILANO
Tel. 02.89540225 - Fax 02.89549300

AFLAFLESH



NUOVO STRUMENTO DI ANALISI DELLE AFLATOSSINE NEL MAIS

RAGGI UV PER VALUTARNE LA CONTAMINAZIONE

La presenza nei cereali di aflatossine, generate da processi di insorgenza di muffe lungo la filiera produttiva, rappresenta un problema sanitario di difficile soluzione, poiché strettamente correlato ad una non – standardizzazione delle modalità di coltivazione, raccolta e stoccaggio di questi prodotti, nonché ai fattori ambientali e climatici.

La maggiore preoccupazione di tutti gli operatori della filiera agrozootecnica riguarda il problema dei controlli analitici delle materie prime, indispensabili per un corretto accertamento e conseguente segregazione di eventuali partite contaminate da aflatossine, visto anche le normative comunitarie in vigore dal 1° gennaio 2006 ai sensi dei regolamenti Ce 178/2002, 852, 853 e 854 del 2004 e 183/2005.

Tenendo conto che le determinazioni analitiche richiedono tempi incompatibili con la normale attività di un mangimificio o di altri operatori che trattano prodotti agricoli, è nato nel 2006, da un'idea del Consorzio Agrario di Milano e Lodi in collaborazione con l'Università di Milano e STAR ECOTRONICS srl, un sistema di monitoraggio automatico basato sulla rilevazione della fluorescenza emessa dalla granella di mais contaminata.

CARIOSSIDI BRILLANTI

Da questa idea innovativa è nata un'apparecchiatura che permette la misura di screening automatico del contenuto di aflatoxina B1 nel mais. Lo strumento ha dimensioni ridotte e può essere sistemato su un qualsiasi tavolo.

Le specifiche componenti del strumento sono:

1. Un nastro trasportatore corredato di due spazzole per la sua pulizia in continuo.
2. Lampade a raggi UV
3. Telecamera digitale ad alta risoluzione per la rivelazione degli immagini.



4. Encoder per la gestione dell'acquisizione di immagini.
5. PC industriale che gestisce l'automazione, comprende, oltre alla main board, anche una memoria di massa asportabile (CD o stato solido) in grado di memorizzare dati e immagini di almeno 50 prove.
6. Monitor LCD touch screen per una chiara visualizzazione dell'immagine.
7. Porta per collegare una stampante, per la stampa del report finale.

COME EFFETTUARE UN'ANALISI

Effettuare un'analisi con l'Aflaflesh è facile e veloce.

La granella di mais da analizzare non ha bisogno di nessun tipo di pre-trattamento e viene introdotta tramite un'apertura ad imbuto (Fig. 2) che può contenere fino a 5 kg di mais.

Il mais comincia a transitare sul nastro trasportatore e le immagini vengono elaborate da un software che dà la possibilità di visualizzare in tempo reale le granelle contaminate poiché fluorescenti (Fig. 3).

Il risultato finale viene espresso sia in numero totale di chicchi contaminati, sia in superficie totale espressa in pixel. Il processo è totalmente automatizzato, escludendo ogni rischio di soggettività del metodo derivante da un esame visivo.

Al termine viene prodotto un report di analisi (Fig. 4) con il risultato di prova, data, nome fornitore ecc.

Tutto il processo viene salvato in formato avi per una facile consultazione in caso di dubbio.

La durata del test è di circa 10 minuti.

Lo strumento è di facile calibrazione permettendo all'amministratore del sistema, tramite una password (Fig. 5), di impostare le soglie di rilevamento della luce emessa sia nella radiazione verde che nella radiazione rossa (Fig. 6).

Nel periodo iniziale di sperimentazione del progetto sono state prese in esame 5432 tonnellate di mais estraendone 1940 kg equivalenti a 6.000.000 cariossidi esaminate tramite l'*AFLAFLESH* non automatico.

Su questi campioni sono anche state effettuate più di 150 analisi in HPLC per ricavare una curva di calibrazione attraverso una regressione multilineare C e per verificare l'attendibilità del metodo attraverso il confronto dei dati. Successivamente la curva è stata affinata con ulteriori analisi effettuate su altri lotti.

Il passo successivo, ancora più importante, potrebbe essere la possibilità di operare non solo sulla granella ma anche sulle farine o sullo spezzato estendendo di conseguenza le condizioni di applicabilità dello strumento.

Va infine sottolineato che è possibile operare sull'Aflaflesh a due livelli: in qualità di operatore (Utente di prova) e di supervisore (Amministratore di sistema). L'impiego di due password diverse garantisce al sistema qualità e impossibilità per gli operatori di manomettere le impostazioni di misura (es. i valori della soglia di discriminazione dell'emissione di luce fluorescente) e quindi l'assoluta riproducibilità delle misure.

Il risultato della prova attualmente indica, oltre al numero di cariossidi contaminate ed all'area emittente in pixel, l'appartenenza a una di 4 fasce di classificazione del prodotto: **PRODOTTO ACCETTABILE E DISPONIBILE PER OGNI UTILIZZO**; **PRODOTTO ACCETTABILE CON ESCLUSIONE DI ALIMENTAZIONE BOVINE DA LATTE**; **PRODOTTO DA RIANALIZZARE**; **PRODOTTO NON ACCETTABILE**.

Tutto questo viene determinato sulla base degli studi statistici effettuati e di cui si è fatta menzione in precedenza ma nel frattempo è in fase di studio e realizzazione una nuova curva di correlazione. Non appena saranno disponibili tutti i dati relativi alle misure effettuate presso alcuni laboratori accreditati, questo consentirà la creazione di una curva di taratura dell'apparecchio che mettendo in relazione i dati in pixel acquisiti ed i valori in ppb misurati in HPLC sul medesimo campione ne consentirà la calibrazione diretta per consentire la lettura in ppb di aflatoxina B1.

Ciò non richiederà nessuna modifica dell'Hardware dello strumento ma solo una integrazione software

I più evidenti vantaggi di questo strumento sono:

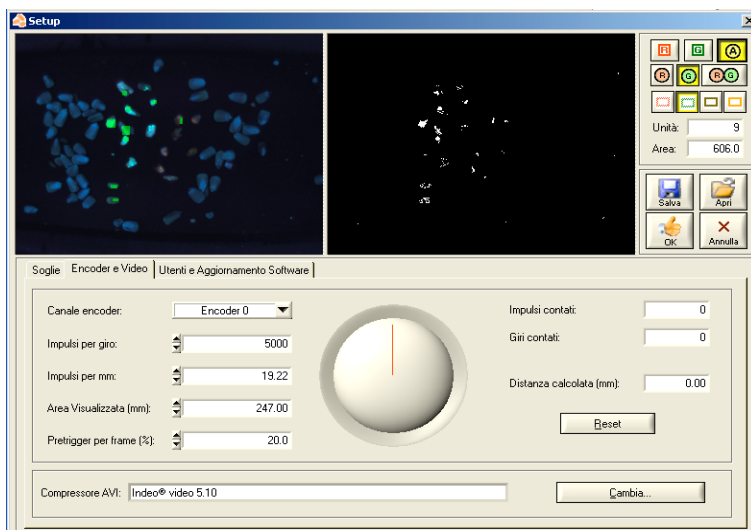
- 1. Facile da utilizzare, non richiede un personale competente.**
- 2. Tempo di analisi 10 min circa, prendendo in esame un quantità rappresentativa di campione (5kg)**
- 3. Non richiede preparazione del campione e reagenti**
- 4. Non è un metodo distruttivo. L'analisi può essere ripetuta sullo stesso campione con altre metodiche (HPLC, ELISA)**
- 5. Sistema automatico di rilevazione quindi oggettivo e riproducibile. Il sistema calcola l'area della contaminazione indotta dalla aflatoxina B1.**
- 6. Unicità: l'Aflaflesh è stato brevettato (N° deposito MI2009A001159)**



Maschera di apertura del software che consente di gestire l'analisi sia da un operatore che da un supervisore.

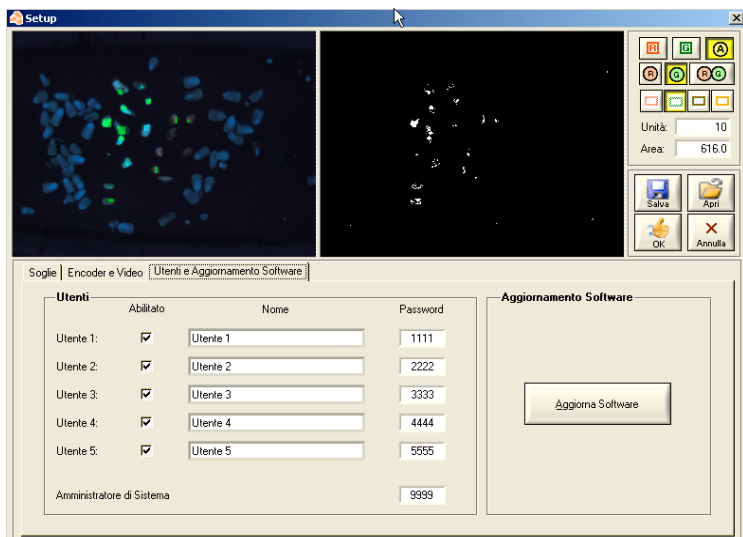
La differenza fondamentale sta nel fatto che l'operatore può solo effettuare la misura senza agire sulle impostazioni delle soglie di lettura, cosa invece consentita all'amministratore.

Il fatto che ogni operatore possa e debba lavorare con una propria password garantisce la "firma" elettronica dei dati e quindi la tracciabilità dei risultati.



Impostazione dei parametri dell'encoder ovvero del sistema di gestione delle acquisizioni di immagine necessarie per conteggiare le cariossidi contaminate e la superficie ricoperta da aflatoxina B1. Questi parametri sono introdotti dal costruttore in fase di taratura iniziale dell'apparecchio e tengono conto sostanzialmente dei seguenti dati indispensabili per l'acquisizione:

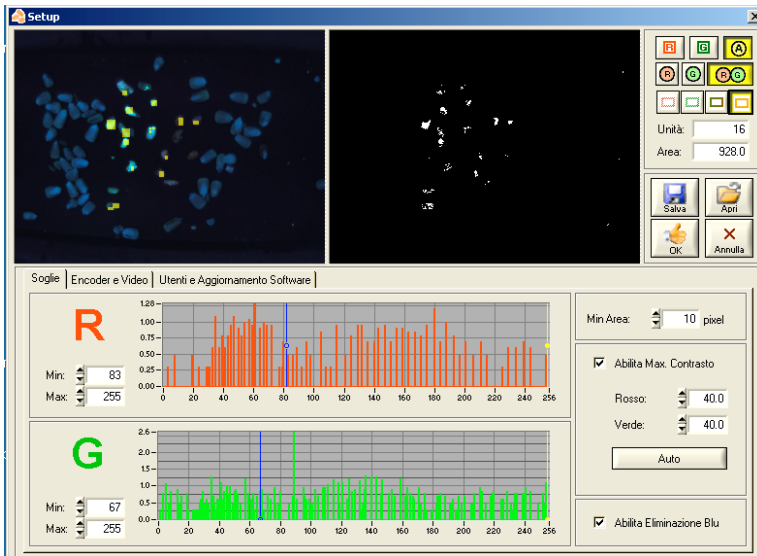
- N° di impulsi/mm del generatore
- N° di impulsi/giro del motore
- Lunghezza totale di ogni singola immagine fotografata



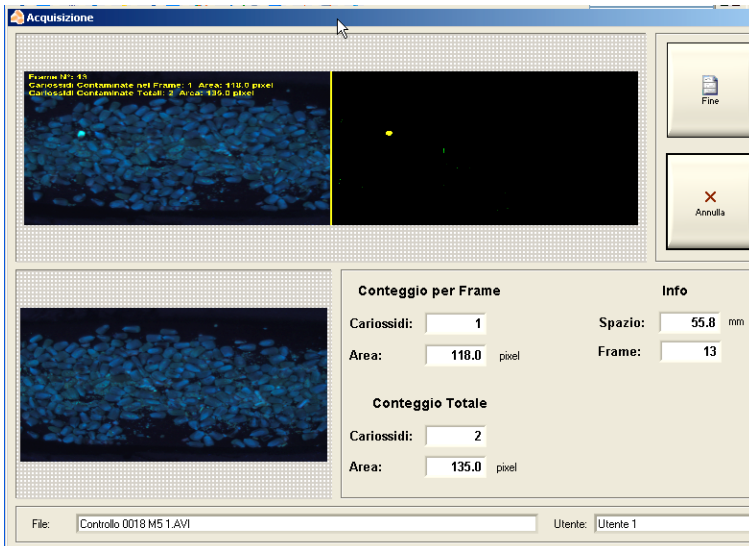
Pagina di programmazione che permette di assegnare la propria password a tutti gli operatori e all'amministratore.

Con il comando aggiorna software è inoltre possibile introdurre aggiornamenti di software. Il metodo più facile per il cliente consiste nell'inserire nella porta USB presente sul fianco del pannello di controllo della macchina una chiave di memoria e premere quindi proprio il tasto virtuale "Aggiorna Software" sul touch screen.

I tasti in alto a destra consentono di selezionare le componenti di colore visualizzate



In questa pagina di impostazione è possibile per l'amministratore selezionare le soglie all'interno delle quali avviene l'acquisizione e il conteggio delle aree contaminate. Si opera separatamente nelle due bande del verde e del rosso ed è possibile controllare il risultato direttamente nell'immagine di destra sullo schermo (l'immagine di sinistra rappresenta la vista tal quale della telecamera). E' possibile inoltre impostare l'area minima che può essere conteggiata dal software: normalmente 10 pixel.



In questa figura viene visualizzata una tipica videata dello strumento in fase di analisi. L'immagine in basso a sinistra mostra lo scorrere del mais sul nastro trasportatore. La finestra in alto a sinistra fa vedere una cariosside emettente sul nastro trasportatore della precedente acquisizione memorizzata. In alto a destra è possibile invece vedere le aree selezionate e conteggiate. Si può notare che una sola cariosside del frame (per 118 pixel) viene conteggiata mentre altri puntini più piccoli e meno fluorescenti non lo sono.

 Rapporto di Prova	
Data:	23-01-2008 16:42:23
Cliente:	
Lotto:	
Note:	AREA MIN 10PX
Valori Misurati	
Cariossidi Contaminate:	20
Area Totale:	630.0 px
Frames Conteggiati:	82
File AVI:	Controllo 0017 M5 4.AVI
Risultati della Prova	
Valore aflatoxina B1 compreso tra 0 - 5 ppb (2.40)	
Prodotto Accettabile e disponibile per ogni utilizzo	
Operatore:	Utente 1

Rapporto redatto da Comvision v1.0

L'immagine del rapporto di prova è identica sullo schermo e nella stampa e consentirebbe una completa documentazione del test effettuato. Data e valori misurati sono introdotti direttamente dallo strumento come pure i valori misurati ed il risultato della prova. L'operatore può invece scrivere all'inizio della prova il nome del cliente (o fornitore) e l'eventuale lotto di prodotto. Il risultato dell'analisi viene indicato per fascia di contaminazione da Afla B1 con l'indicazione dell'impiego consentito. Il valore stimato di B1 viene indicato tra parentesi.