

DEFINIZIONE E SCOPO DEL TEST

La persistenza dell'attività lattoperossidasi nel latte pastorizzato può venire adottata come indice di buona qualità del prodotto, in quanto solo ad un latte crudo di buona qualità microbiologica è possibile applicare un trattamento di pastorizzazione così blando da non inattivare questo enzima. I metodi tradizionali sono però spesso di tipo qualitativo (presente/assente) e danno informazioni solo sull'avvenuto trattamento termico. Quantificare la lattoperossidasi presente in un latte pastorizzato permette invece di valutare la qualità nutrizionale del latte: più alto è il valore della perossidasi meno il latte ha subito alterazioni dalle sue caratteristiche originarie.

Inoltre il test fornisce *indirettamente* il valore di **sieroproteine**, altro parametro importantissimo per determinare la qualità del prodotto e la classe merceologica.

Il test delle sieroproteine è applicabile solo su latte pastorizzato o crudo. Anche se la determinazione di tale parametro è indiretta, il test permette comunque di valutare se il latte rientra nella categoria "alta qualità" (per cui è richiesto un valore minimo di 15,5%) oppure no.

PRINCIPIO DEL TEST

H_2O_2 + indicatore $\xrightarrow{\text{Perossidasi}}$ indicatore ossidato (rosso)

La perossidasi nel latte, in presenza di un indicatore e di acqua ossigenata, catalizza la formazione di un colore rosso la cui intensità, misurata a 505 nm, è direttamente proporzionale alla concentrazione di perossidasi nel campione. In base ad una correlazione effettuata su circa 40 campioni di latte (crudo, fresco e alta qualità), dal valore di perossidasi si calcola il valore di sieroproteine, entrambi i dati sono legati alla qualità della materia prima e al trattamento termico subito.

COMPOSIZIONE DEL KIT E DEI REAGENTI

Codice *300525-II kit consente di effettuare 100 determinazioni e contiene 10 confezioni del codice *300528
Codice *300528-II kit consente di effettuare 10 determinazioni e contiene:

- R1: confezione con 10 provette pre-infiolate con 1 mL di tampone.
- R1a: flacone contenete liofilo.
- R2: flacone contenente 1 mL di soluzione starter.

Per le indicazioni di pericolosità dei reagenti far riferimento alla scheda di sicurezza del prodotto.

Modalità di conservazione: I reagenti sono stabili fino alla data di scadenza. Conservare a **T ambiente** (max 25°C). **ATTENZIONE:** Il liofilo R1a ricostituito deve essere conservato a 2-8°C ed è stabile 15 gg dal momento della ricostituzione

TRATTAMENTO - VOLUME DEL CAMPIONE - RANGE DI MISURA

Utilizzare il latte tal quale.

| Analisi | Parametro | Range di misura | Volume di campione | Risoluzione | Accuratezza | Ripetibilità |
|----------------|---------------|-------------------|--------------------|-------------|-------------|--------------|
| POD-sieroprot. | Perossidasi | 100 – 8000 (U/L) | 5 µL | 1 U/L | +/- 5% | CV <5% |
| | Sieroproteine | 13,6 – 17,72 % SP | | 0,1 % SP | | |

PROVE COMPARATIVE

L'analisi quantitativa della perossidasi è un test innovativo ed quindi estremamente difficile trovare in commercio campioni da utilizzare come standard o metodiche ufficiali di riferimento. Sono stati quindi analizzati nei laboratori CDR con il metodo FOODLAB campioni di latte di differenti aziende di produzione e i valori ottenuti sono stati confrontati con quelli riscontrati nella scheda tecnica del metodo rifletto metrico dello strumento Reflectoquant®. I valori sono ben confrontabili.

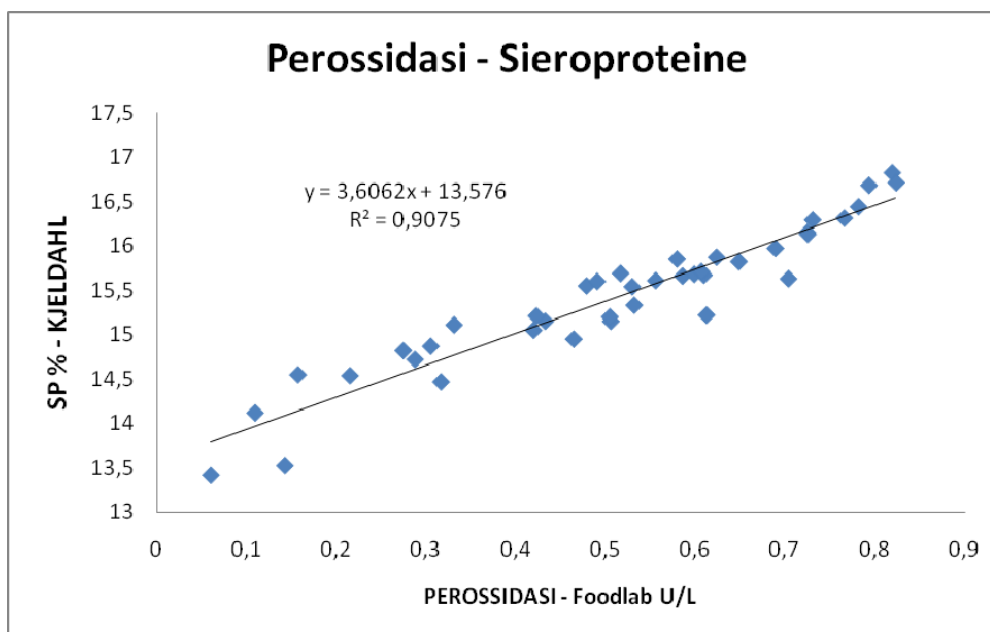
| Campione | Reflectoquant® U/L |
|----------------------|--------------------|
| Latte crudo | 5900 |
| Latte Pastorizzato A | 155 |
| Latte Pastorizzato B | 555 |
| Latte Pastorizzato C | 1785 |
| Latte Pastorizzato D | 1948 |
| Latte Pastorizzato E | 2791 |
| Latte Pastorizzato F | 3118 |
| Latte Pastorizzato G | 3121 |

I dati relativi a questa tabella sono stati ricavati da: Reflectoquant® Peroxidase test in Milk – Reflectometric determination after conversion of a specific substrate

| Campione | Metodo FOODLAB U/L |
|----------------------|--------------------|
| Latte crudo | 5686 |
| Latte crudo | 6107 |
| Latte crudo | 5913 |
| Latte Pastorizzato 1 | 138 |
| Latte Pastorizzato 2 | 656 |
| Latte Pastorizzato 3 | 1442 |
| Latte Pastorizzato 4 | 2387 |
| Latte Pastorizzato 5 | 2691 |
| Latte Pastorizzato 6 | 3948 |

CURVA DI CORRELAZIONE

Il confronto analitico, effettuato presso una primaria azienda lattiero-casearia ha mostrato una buona correlazione tra il parametro Perossidasi (determinato con metodo Foodlab) e il valore di Sieroproteine (misurate col metodo Kjeldahl). In base a questa correlazione è possibile fornire il valore di sieroproteine del campione.



PREPARAZIONE DEL REAGENTE

Le provette contenenti il **reagente R1**, contenute nella busta di alluminio, sono pre-infiolate e pronte all'uso.
Ricostituzione **liofilo R1a**: Aprire la boccetta del liofilo facendo attenzione a non disperdere il contenuto che può essere rimasto sulla parte interna del tappo. Aggiungere 2,0 mL di acqua distillata, chiudere ed agitare bene per inversione fino a completa dissoluzione. Richiudere con il tappo a tenuta in dotazione.
Preparazione reagente **[R1 + R1a]** : Aggiungere 50 µL di R1a nella cuvetta contenente il tampone R1 ed agitare.

Note: *L'inserimento deve essere fatto senza toccare il reagente con il puntale, se questo avviene, sostituire il puntale per evitare di inquinare il reagente R1a.*

Il **reagente R2** è pronto all'uso.

TECNICA OPERATIVA

1. Sulla schermata principale premere il tasto **2** per accedere alle analisi disponibili sul pozzetto di lettura n°2 oppure **0** per vedere la lista completa delle analisi disponibili sullo strumento.
2. Selezionare, dal menu, l'analisi **POD-sieroprot** e premere **ENTER**. Sul display appare **INCUBAZ. 5 MIN.**
3. Inserire in una provetta contenente il reagente **[R1 + R1a]**, **5 µL** di latte ed agitare 2-3 volte per inversione. Mettere la provetta nella cella di termostatazione. **Ripetere l'operazione per ogni campione** da analizzare. E' possibile analizzare fino a 14 campioni per ogni sessione di analisi. Premere **ENTER** per far partire l'incubazione.

Note: *Agitare la bottiglia contenente il campione, prima del prelievo.
Per evitare inquinamenti dovuti alle analisi precedenti, avvinare la pipetta 2-3 volte col campione prima dell'inserimento nel reagente.
Pulire accuratamente l'esterno del puntale, con carta assorbente, dopo il prelievo del campione.
Inserire il puntale della pipetta nel reagente e pipettare più volte per trasferire completamente il volume del campione prelevato.*

4. Al termine dell'incubazione premere **ENTER**, sul display appare **INSERIRE BIANCO.**
5. Agitare la provetta pre-riscaldata e inserirla nella cella di lettura indicata dalla luce verde. Premere **ENTER** per effettuare la lettura. **Ripetere la procedura per ogni campione da analizzare.**
6. Premere **STOP** con la **FRECCIA SU** per passare alla lettura dei campioni. Sul display appare **INCUBAZ. 5 MIN.**
7. Aggiungere **50 µL** di reagente **R2** nella provetta, agitarla per inversione, e metterla nella cella di termostatazione. **Ripetere la procedura per ogni campione da analizzare.**

Note: *L'inserimento deve essere fatto senza toccare il reagente con il puntale, se questo avviene, sostituire il puntale per evitare di inquinare il reagente R2.*

Premere **ENTER** per far partire l'incubazione.

8. Al termine dell'incubazione premere **ENTER**, sul display appare **INSERIRE CAMPIONE.**
9. Agitare la provetta per inversione e inserirla nella cella di lettura indicata dalla luce verde. Premere **ENTER** per effettuare la lettura. **Ripetere l'operazione per ogni campione.**
10. Alla fine della sessione i risultati verranno stampati automaticamente espressi in U/L di Perossidasi e % di Sieroproteine.
11. Premere **ENTER** e **FRECCIA GIU** per tornare al menu analisi.

STANDARDIZZAZIONE DEL SISTEMA

Lo strumento è fornito pre-calibrato e pronto all'uso.
I risultati sono espressi in accordo al metodo di riferimento.
In ogni caso è possibile standardizzare il sistema utilizzando campioni a titolo noto.
Fare riferimento al manuale dello strumento per la procedura operativa.

Solo per uso diagnostico *in vitro*