

DEFINIZIONE E SCOPO DEL TEST

Data la labilità delle proteine dell'uovo al calore, la pastorizzazione degli uovo prodotti è basata sull'impiego di temperature non elevate. Per questa ragione l'uso di uova scadenti aumenta in misura considerevole il rischio sanitario e riduce la shelf-life degli ovo prodotti freschi. L'utilizzo di uova incubate o decomposte, scartate al momento della speratura, può essere smascherato rivelando la presenza di alcuni acidi organici indicativi di prodotti del metabolismo microbico e di prodotti di decomposizione come l'acido succinico, l'acido lattico e l'acido D-3-idrossibutirrico. Il metodo attualmente migliore per evidenziare questa frode è la ricerca dell'acido D-3-idrossibutirrico, molto scarso nelle uova appena deposte (<1mg/Kg) ma molto più abbondante negli scarti di incubatrice. L'analisi viene generalmente effettuata per estrazione e gas-cromatografia. Il REGOLAMENTO (CE) N.853/2004 stabilisce che il tenore di acido D-3-idrossibutirrico non deve essere superiore a 10mg/Kg di ovo prodotto allo stato di materia secca non modificato.

PRINCIPIO DEL TEST

D-3-idrossibutirrico + NAD⁺ → Complesso rosa

L'acido D-3-idrossibutirrico reagisce, per via enzimatica, con il NAD⁺ e induce la formazione di un complesso color rosa la cui intensità, misurata a 505 nm, è direttamente proporzionale alla concentrazione di acido D-3-idrossibutirrico nel campione. Il risultato viene espresso in ppm di acido D-3-idrossibutirrico.

COMPOSIZIONE DEL KIT E DEI REAGENTI

Codice *300420 -Il kit consente di effettuare 100 determinazioni e contiene 10 confezioni del codice *300426

Codice *300426 -Il kit consente di effettuare 10 determinazioni e contiene:

- R1: confezione con 10 provette pre-infilate con 1 mL di soluzione di un sale di azonio.
- R2: flacone contenente 1 mL di soluzione enzimatica.
- Polimero per il trattamento del campione.

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 2-8°C.

TRATTAMENTO DEL CAMPIONE

Uova in polvere: ricostituire la polvere d'uovo con acqua secondo le specifiche del prodotto. Trattare il campione liquido ottenuto seguendo le istruzioni sotto riportate.

Misto d'uovo o albume: dispensare in un bicchierino 10 gr di campione omogeneo e aggiungere 1 gr di polimero. Agitare per qualche minuto ad esempio con un magnetino. Trasferire una parte della miscela in una provetta da centrifuga e centrifugare per circa 5 min a 5000giri. Utilizzare la soluzione limpida. Se il centrifugato non è sufficientemente limpido proseguire in questo modo: prelevare il liquido e aggiungere, direttamente in provetta da centrifuga, circa il 5 % di polimero. Agitare bene e ricentrifugare.

Tuorlo: diluire una parte di campione con una parte di acqua distillata e procedere come descritto per il misto d'uovo.

RANGE DI MISURA - VOLUME DEL CAMPIONE - ACCURATEZZA

ATTENZIONE: E' possibile eseguire sul campione così preparato sia l'analisi dell'acido lattico che quella dell'acido D-3-idrossibutirrico.

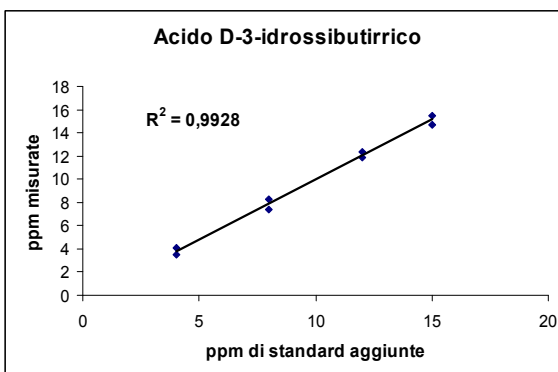
Analisi	Range di misura (ppm ac. D-3- idrossibutirrico)	Volume di campione	Risoluzione	Accuratezza	Ripetibilità
Butirrico misto/tuorlo	0,5 - 15	150 µL	0,1	+/- 5%	CV <3%

Per campioni con valori di acido D-3-idrossibutirrico > 15 ppm, utilizzare metà volume di campione (75 uL) e moltiplicare il risultato ottenuto per 2.

PROVE COMPARATIVE

Sono state eseguite, nei laboratori CDR, prove di recupero utilizzando campioni di misto di uovo addizionati a quantità note di standard di acido D-3-idrossibutirrico. Il recupero è molto buono.

Aggiunte di standard di campione (ppm)	Valore misurato con FoodLab(ppm)
4	4,1
4	3,5
8	7,4
8	8,3
12	11,9
12	12,4
15	14,7
15	15,5



PREPARAZIONE DEL REAGENTE

Le provette contenenti il **reagente R1**, contenute nella busta di alluminio, sono pre-infiolate e pronte all'uso. 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 **Butirrico misto o Butirrico tuorlo** e premere **ENTER**. Sul display appare **INCUBAZ. 5 MIN.**
3. Inserire in una provetta contenente il reagente **R1**, **150 µL** di soluzione limpida 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.
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.
Per evitare inquinamenti dovuti alle analisi precedenti, utilizzare un nuovo puntale per ogni analisi*

4. Al termine dell'incubazione premere **ENTER**, sul display appare **INSERIRE CAMPIONE**.
5. Aggiungere **50 µL** di reagente **R2** nella provetta, agitarla per inversione, e metterla nella cella di lettura indicata dalla luce verde e premere subito **ENTER**. **Ripetere l'operazione per ogni campione**.

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.*

6. Alla fine della sessione i risultati verranno stampati automaticamente espressi in ppm di acido D-3-idrossibutirrico.
*Per esprimere il risultato in peso secco occorre conoscere la % in peso secco del campione e procedere al calcolo: campione 23% peso secco → (risultato / 23) x 100 = **risultato in materia secca**.*
7. 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*