

**WORKSHOP 2016 LNR latte e prodotti a base di latte**

# **DETERMINAZIONE DELLA FOSFATASI ALCALINA NEL LATTE: STABILITA' A LUNGO TERMINE DEI CAMPIONI**

**Anna Maria Ferrini**

responsabile LNR latte e prodotti a base di latte



# Quesito iniziale

Escludendo la possibilità di effettuare analisi di revisione per la determinazione della fosfatasi con metodo fluorimetrico qual'è la durata della conservabilità a -18 °C dei campioni di latte destinati alla prova

?

ISO 11816-1:2013 : *il campione non deve risultare danneggiato o modificato durante il trasporto e la conservazione*



# Scopo dello studio

- ➔ Valutare se il congelamento ha effetto rilevabile sul livello dell'attività della fosfatasi alcalina nel latte  
**definire, su base sperimentale, la possibilità di utilizzare campioni congelati nelle analisi di routine**
- ➔ Quantificare la variabilità nel tempo della attività della fosfatasi durante congelamento a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$   
**verificare l'eventuale accettabilità nel tempo di campioni di latte congelati per l'analisi della fosfatasi**



# Protocollo sperimentale

**STEP 1:** Preparazione campioni

**STEP 2:** Metodo

**STEP 3:** Planning



# Step 1 : Preparazione campioni

Latte crudo ALP  
1000-5000 mU

Latte pastorizzato  
ALP < 350 mU

Miscelazione e aliquotazione in piccoli volumi

$3\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$

$-18\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3$

$3\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$

$-18\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3$



# Step 2: Metodo di riferimento

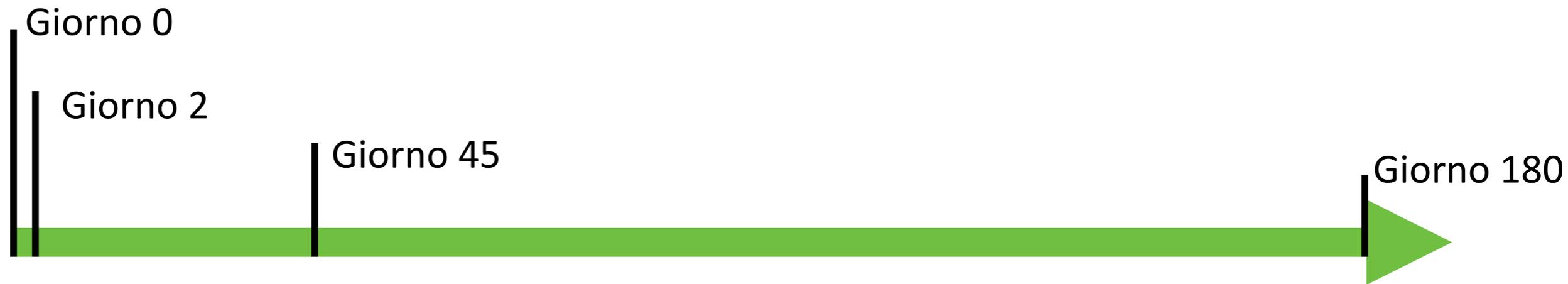


**Metodo di riferimento**

**ISO 11816-1:2013**

**Strumento Fluorophos Test  
System, Advanced Instruments, US**

# Step 3: Planning



Preparazione campioni e verifica

2 aliquote in doppio per congelato\* e refrigerato

\* Cadenza settimanale

\* Cadenza quindicinale



# Risultati

cadenza analisi	giorno	data analisi	latte pastorizzato				
<b>giornaliera</b>	0 (es: lunedì)	17/03/15	a) aliquotazione b) stoccaggio: aliquote a 3 ±2 °C e aliquote a -18/-20 °C c) 4 det (2 aliquote in doppio (solo refrigerato))	<b>aliquote congelate</b>		<b>aliquote refrigerate</b>	
				I Aliquota	II Aliquota	I Aliquota	II Aliquota
	1 (martedì)	18/03/15	4 det x 2 aliquote in doppio (sia refrigerato che congelato)				
	2	19/03/15					
	3	20/03/15					
<b>7 gg</b>	10	27/03/15	4 det x 2 aliquote in doppio (solo congelato)				
	17	03/04/15					
	24	10/04/14					
	31	17/04/15					
<b>15 gg</b>	45	30/04/15	4 det x 2 aliquote in doppio (solo congelato)				
	59						
	73						
	87						
	101						
	115						
	129						
	143						
	157						
	171						
185							



# Risultati

cadenza analisi	giorno	data analisi	latte pastorizzato				
<b>giornaliera</b>	0 (es: lunedì)	17/03/15	a) aliquotazione b) stoccaggio: aliquote a 3 ±2 °C e aliquote a -18/-20 °C c) 4 det (2 aliquote in doppio (solo refrigerato))	aliquote congelate		aliquote refrigerate	
				I Aliquota	II Aliquota	I Aliquota	II Aliquota
	1 (martedì)	18/03/15	4 det x 2 aliquote in doppio (sia refrigerato che congelato)				
	2	19/03/15					
	3	20/03/15					
<b>7 gg</b>	10	27/03/15	4 det x 2 aliquote in doppio (solo congelato)				
	17	03/04/15					
	24	10/04/14					
	31	17/04/15					
<b>15 gg</b>	45	30/04/15	4 det x 2 aliquote in doppio (solo congelato)				
	59						
	73						
	87						
	101						
	115						
	129						
	143						
	157						
	171						
185							



# Risultati

cadenza analisi	giorno	data analisi		latte pastorizzato			
				aliquote congelate		aliquote refrigerate	
				I Aliquota	II Aliquota	I Aliquota	II Aliquota
<b>giornaliera</b>	0 (es: lunedì)	17/03/15	a) aliquotazione b) stoccaggio: aliquote a 3 ±2 °C e aliquote a -18/-20 °C c) 4 det (2 aliquote in doppio (solo refrigerato))				
	1 (martedì)	18/03/15	4 det x 2 aliquote in doppio (sia refrigerato che congelato)				
	2	19/03/15					
	3	20/03/15					
<b>7 gg</b>	10	27/03/15	4 det x 2 aliquote in doppio (solo congelato)				
	17	03/04/15					
	24	10/04/14					
	31	17/04/15					
<b>15 gg</b>	45	30/04/15	4 det x 2 aliquote in doppio (solo congelato)				
	59						
	73						
	87						
	101						
	115						
	129						
	143						
	157						
	171						
185							



# Risultati

cadenza analisi	giorno	data analisi	latte pastorizzato				
<b>giornaliera</b>	0 (es: lunedì)	17/03/15	a) aliquotazione b) stoccaggio: aliquote a 3 ±2 °C e aliquote a -18/-20 °C c) 4 det (2 aliquote in doppio (solo refrigerato))	aliquote congelate		aliquote refrigerate	
				I Aliquota	II Aliquota	I Aliquota	II Aliquota
	1 (martedì)	18/03/15	4 det x 2 aliquote in doppio (sia refrigerato che congelato)				
	2	19/03/15					
	3	20/03/15					
<b>7 gg</b>	10	27/03/15	4 det x 2 aliquote in doppio (solo congelato)				
	17	03/04/15					
	24	10/04/14					
	31	17/04/15					
<b>15 gg</b>	45	30/04/15	4 det x 2 aliquote in doppio (solo congelato)				
	59						
	73						
	87						
	101						
	115						
	129						
	143						
	157						
	171						
	185						

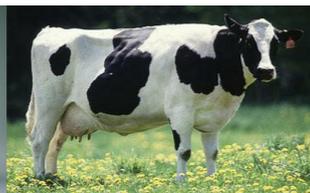
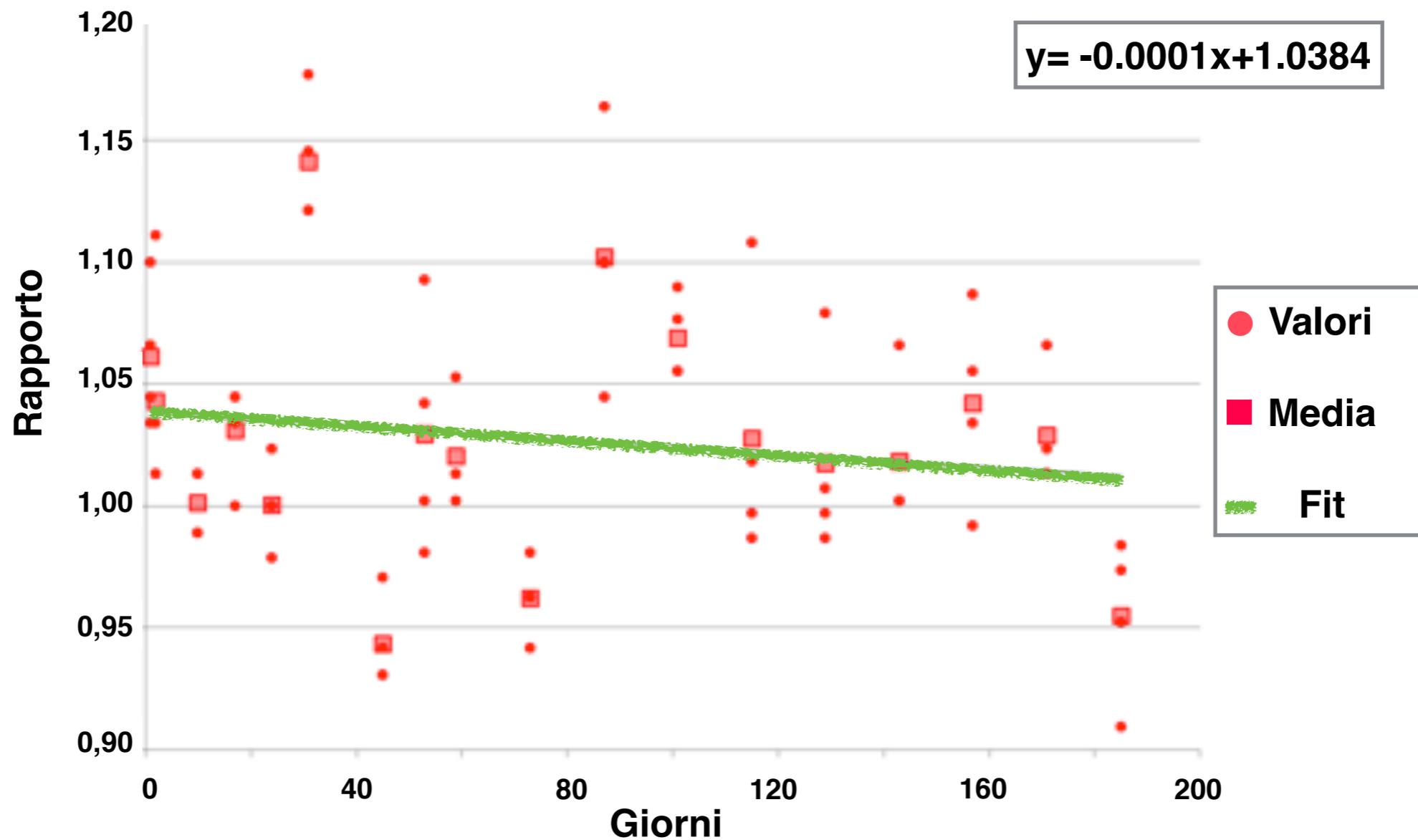


# Valori medi per laboratorio

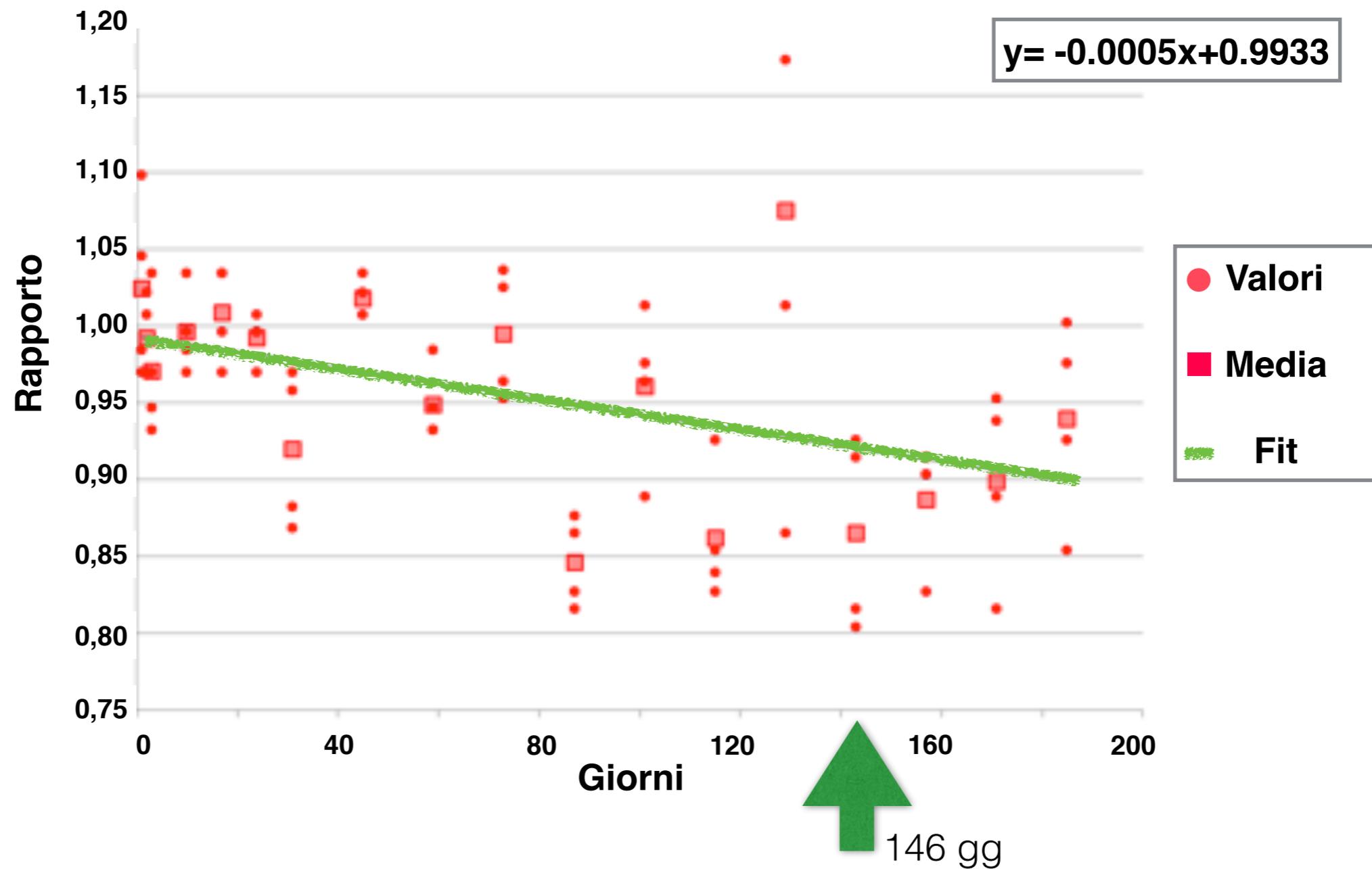
Valori medi mU/L (DS) calcolati sui giorni 1-2					
Latte	IZS Brescia			IZS Torino	
	congelato	refrigerato		congelato	refrigerato
pastorizzato	182.85 (6.47)	173.83(6.01)		159.62 (7.24)	158.36 (4.51)
crudo	6297.88 (163.14)	6279.50 (78.24)		3841.38 (213.74)	3894.44 (324.17)



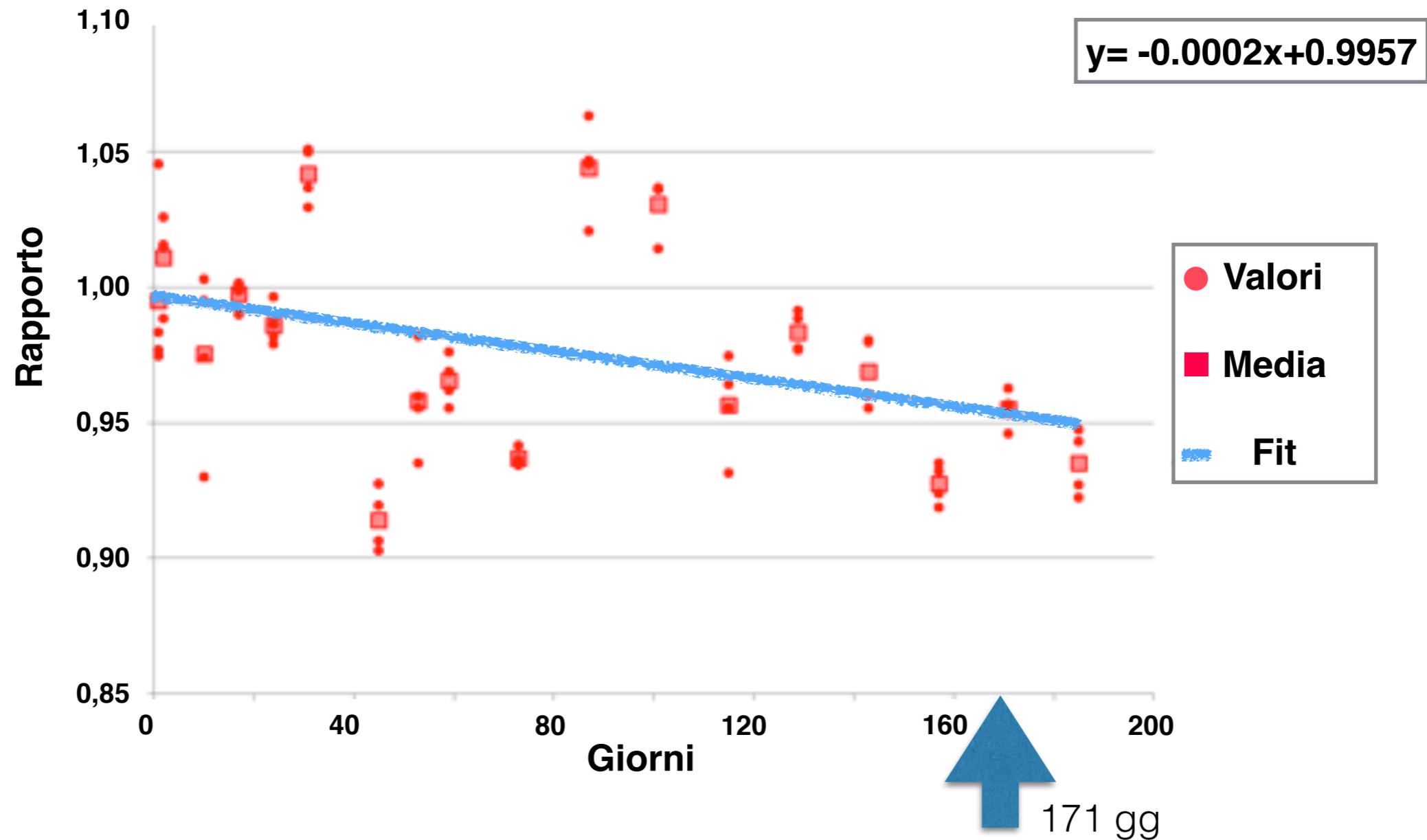
# Regressione latte pastorizzato - lab 1



# Regressione latte pastorizzato - lab 2



# Regressione latte crudo - lab 1





# Anova

Lab	Latte		Coefficienti	Errore standard	Inferiore 95%	Superiore 95%
2	Pastoriz	<i>Intercetta</i>	0,9933	0,0214	0,9478	1,0388
		<i>Giorno</i>	-0,0005	0,0002	-0,0009	-3,7653E-05
1	Crudo	<i>Intercetta</i>	0,9956	0,0142	0,9655	1,0258
		<i>Giorno</i>	-0,0002	0,0001	-0,0005	6,4161E-05
2	Crudo	<i>Intercetta</i>	0,9742	0,0159	0,9404	1,0079
		<i>Giorno</i>	-0,0007	0,0001	-0,0010	-0,0003



# Conclusioni

In condizione di conservazione a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ , la riduzione dell'attività enzimatica nelle nostre condizioni di studio e su campioni preparati in laboratorio

è diventata significativa a partire da 87 gg per il crudo

e

146 gg per il pastorizzato  
(riduzione media intorno al 10-20%)



limite indicativo 90 giorni per crudo e pastorizzato



# ...in corso di pubblicazione

## Determinazione della fosfatasi alcalina nel latte : stabilità a lungo termine dei campioni

E. Buffoli\*, M. Gramaglia\*\*, AM Ferrini\*\*\*, N. Martinelli\*, G. Bolzoni\*

\*IZSLER - Centro di Referenza Nazionale Qualità Latte Bovino - Brescia

\*\* IZSPLV - Laboratorio Centro Latte - Torino

\*\*\* ISS - Laboratorio Nazionale di Riferimento per il latte e i prodotti a base di latte- Roma

*su : Scienza e Tecnica Lattiero-Casearia, 66 (3-4), 0-0, 2016*





grazie per l'attenzione

