

Circolare 3 agosto 1985, n. 32.

Circolare del Ministero della sanità 3 agosto 1985, n. 32. Oggetto: Norme igienico-sanitarie sulla lavorazione e conservazione delle paste alimentari.

Sono recentemente pervenute a questo Ministero segnalazioni di episodi tossinfettivi, verificatesi in Italia ed all'estero, correlati al consumo di paste alimentari all'uovo e speciali, le cui analisi microbiologiche hanno evidenziato frequenti – talora massive – contaminazioni da germi patogeni o potenzialmente patogeni.

La presenza di tali contaminazioni, mentre rappresenta un rischio per il consumatore, nuoce oltretutto all'immagine di prestigio che la pasta italiana gode all'estero, con gravi danni per l'economia nazionale.

Il fenomeno rilevato è da imputare, in ogni caso, ad un basso livello igienico che evidentemente investe le varie fasi della produzione e della conservazione di tali alimenti, ovvero alla carente qualità delle materie prime impiegate.

Ciò premesso, si ritiene opportuno fornire indicazioni di carattere generale e particolari sull'igiene della preparazione e lavorazione delle paste alimentari, normali e speciali, con particolare riferimento alle caratteristiche a cui debbono corrispondere gli stabilimenti ed i laboratori di produzione, da una parte, ed ai requisiti delle materie prime, dall'altra.

Come è noto, la produzione e la vendita delle paste alimentari sono disciplinate dalla L. 4 luglio 1967, n. 580 e dai decreti interministeriali emanati ai sensi del relativo art. 30 (D.M. 27 settembre 1967, D.M. 16 maggio 1969, D.M. 20 marzo 1981).

La normativa in vigore consente la produzione di paste alimentari secche, fresche, speciali ed all'uovo, con l'impiego di vari ingredienti specificamente previsti nei citati decreti.

É evidente come alcuni di tali ingredienti (vari tipi di carne, prodotti d'uovo, formaggi, latticini, pesce, etc.) impiegati nel ripieno possano costituire un substrato ideale per lo sviluppo di microrganismi diversi tra cui, in particolare, taluni patogeni. Nelle paste fresche, poi, lo sviluppo microbico può essere favorito dal grado di umidità proprio di tali prodotti, soprattutto quando venga meno la prescritta catena del freddo, comunque indispensabile per una loro idonea conservazione.

In tal caso (a parte la possibilità dello svolgersi di taluni fenomeni microbiologici, enzimatici, biochimici e chimico-fisici cui é legata la deperibilità e, quindi, l'alterazione di tale tipi di paste alimentari, in funzione proprio della natura e delle peculiari caratteristiche di composizione – umidità, pH, etc.) devono tenersi in concreta considerazione i criteri e le modalità della loro preparazione.

Infatti, le paste fresche sono preparate, spesso, in laboratori artigianali il cui processo tecnologico non prevede trattamenti che comportino un abbattimento della flora microbica.

Appare, per contro, evidente come in alcune fasi di tale lavorazione possano realizzarsi condizioni favorevoli allo sviluppo di certi microrganismi patogeni o potenzialmente patogeni, in grado, come è noto, di produrre tossine resistenti anche alla cottura (termostabili).

É da considerare, altresì, il continuo incremento del consumo delle paste alimentari precotte e surgelate, nelle ristorazioni collettive (comunità scolastiche, aziendali, geriatriche, etc.), dove possono crearsi condizioni particolari di rischio, in

relazione sia ai tempi di distribuzione e somministrazione (specie se protratti), sia alle condizioni di particolare ricettività dei soggetti ad esse appartenenti.

Per tutto quanto sopra esposto, si è ritenuto opportuno predisporre, d'intesa con l'Istituto superiore di sanità, una serie di accertamenti diretti ad evidenziare i momenti più salienti delle contaminazioni microbiche suindicate, alla cui presenza possono ricondursi gli episodi di tossinfezione verificatesi.

Sono, così, emerse carenze igieniche connesse alla inosservanza delle necessarie operazioni di detersione, disinfezione e lavaggio degli impianti e della utensileria dopo ogni ciclo di lavorazione e – ciò che più rileva sotto il profilo sanitario – alla mancanza di idonei sistemi e criteri di conservazione delle materie prime, importanti come substrato e veicolo di microrganismi patogeni o potenzialmente patogeni (prodotti d'uovo, farce a base di carne, ricotta, polpe e patés di prodotti carnei ed ittici, etc.) fino al momento della loro utilizzazione.

I risultati conseguiti attraverso gli accertamenti suindicati e le carenze rilevate, nel confermare l'importanza assunta da taluni tipi di pasta alimentare (soprattutto all'uovo e farcite) nell'epidemiologia delle tossinfezioni alimentari (in particolare salmonellosi ed enterotossicosi stafilococcica), inducono ad adottare misure igieniche che risultino idonee a ridurre il rischio di contaminazioni microbiche di tali alimenti.

In tal senso, si ritiene essenziale e doveroso segnalare all'attenzione delle autorità sanitarie competenti l'opportunità di disporre, in sede di prevenzione e vigilanza, idonei interventi atti a realizzare una più efficace applicazione delle norme igieniche di produzione, preparazione, manipolazione e distribuzione delle paste alimentari in esame secondo i criteri qui di seguito utilmente indicati.

STABILIMENTI E LABORATORI DI LAVORAZIONE DELLE PASTE ALIMENTARI

Appare innanzitutto indispensabile la protezione degli sfarinati impiegati come materia prima, realizzabile attraverso una idonea manutenzione dei silos, un adeguato deposito dei relativi imballaggi ed una razionale lotta contro gli insetti (barriere d'aria, etc.) e, soprattutto, i roditori.

Nella produzione delle paste all'uovo, poi, particolare attenzione si richiede per la conservazione, utilizzazione e manipolazione delle uova impiegate.

A tale riguardo, occorre in primo luogo considerare che, a secondo delle esigenze produttivo-commerciali di tale tipo di pasta, la relativa tecnologia di preparazione si avvale, come é noto, dell'impiego di uova in guscio ovvero di uova già sgusciate (cosidetti prodotti d'uovo), conservate in regime di freddo (refrigerazione o congelazione).

Appare evidente come, nel primo caso, l'autorizzazione di laboratori di produzione (trattasi generalmente di piccoli laboratori di preparazione e confezionamento di paste fresche all'uovo e di paste farcite di vario tipo, quali tortellini, ravioli, etc., annessi di norma ad esercizi di vendita al dettaglio), la cui produzione é, per lo più, commisurata alle richieste giornaliere di mercato, debba essere subordinata, ai sensi del D.P.R. 26 marzo 1980, n. 327 (Regolamento di esecuzione della Legge n. 283/1962), art. 28, ultimo comma, alla presenza di una serie di accorgimenti sanitari e strutturali desumibili proprio dalle particolari esigenze igieniche di tale tipo di lavorazione. Risulta, a tal fine, indispensabile l'impiego di idonea utensileria per la rottura delle uova, in locali possibilmente separati, con impiego di adeguati recipienti per la raccolta dei prodotti di uovo ricavati e per la deposizione e l'allontanamento dei gusci. Pure indispensabile risulta la disponibilità di idonei frigoriferi (o almeno comparti frigoriferi) separati,

rispettivamente, per la conservazione delle uova e delle altre materie prime deperibili (carni, formaggi, ricotta, etc.) a + 3°C.

È appena il caso di far rilevare che le uova da impiegare nella fattispecie devono appartenere, ai sensi degli artt. 31 e 33 della legge 580/1967 alla categoria delle «uova fresche»- (Categoria A = Cfr. art. 6, n. 1 ed art. 7, n. 1, 2 e 3 del Regolamento CEE n. 2772/75 del Consiglio del 29 ottobre 1975 e successivi aggiornamenti).

L'adeguamento di questi laboratori – comunque prescritto dalla legge – alle altre disposizioni di cui al citato art. 28 – D.P.R. n. 327/1980 (senza pregiudizio per l'applicazione delle ulteriori disposizioni ivi previste, con particolare riguardo all'articolo III sull'igiene e sanità del personale addetto) appare, poi, essenziale come irrinunciabile esigenza igienica, soprattutto nel caso in cui l'autorità sanitaria competente ritenga di poter consentire la lavorazione in un unico locale, ai sensi del quinto comma di detto articolo.

Particolare importanza dovrà essere, in ogni caso, attribuita alle operazioni di detersione, disinfezione e lavaggio dell'ambiente della utensileria e degli impianti, dopo ogni ciclo di preparazione.

Ciò premesso, considerato che il riscontro dell'igienica lavorazione di tali tipi di pasta potrà effettuarsi attraverso ispezioni tecniche e/o attraverso controlli microbiologici a sondaggio delle paste prodotte, si ritiene utile suggerire, più oltre, alcuni criteri applicativi in materia.

Nel caso invece di stabilimenti e di laboratori di elevata capacità produttiva di paste all'uovo e paste farcite essiccate ovvero commerciate fresche (in confezioni ipobariche o in atmosfera controllata) o surgelate, attraverso un'adeguata catena distributiva in regime di freddo (rispettivamente refrigerazione a + 3°C ed a basse temperature non superiori a -18°C), che si avvalgono come materia prima di uova prive di guscio, risulta necessario che, in ottemperanza a quanto disposto dall'art. 8, primo comma del D.M. 27 settembre 1967 («salubrità» degli ingredienti consentiti nella preparazione delle paste speciali), vengano a tal fine impiegati esclusivamente prodotti d'uovo pastorizzati comunque rispondenti ai requisiti prescritti dall'O.M. 11 ottobre 1978 emanata ai sensi dell'art. 5, lettera c) della L. 30 aprile 1962, n. 283.

È del tutto evidente che qualora gli stabilimenti o i laboratori di trattasi provvedano direttamente alla preparazione dei «prodotti d'uovo» gli stessi debbono necessariamente essere forniti di impianti di pastorizzazione.

Nel caso in cui gli stabilimenti o i laboratori si riforniscono, per l'approvvigionamento dei prodotti d'uovo pastorizzati, da laboratori specificamente autorizzati, dotati pertanto di quelle strutture idonee a garantire gli indispensabili trattamenti igienici delle uova (lavaggio, detersione, disinfezione, adeguata tecnica di sgusciatura, pastorizzazione, congelazione etc.) sarebbe opportuno che gli utilizzatori industriali, per loro migliore tutela, richiedano ai laboratori di prodotti d'uovo, per ogni partita di merce acquistata, una dichiarazione attestante che la preparazione dei prodotti in questione è avvenuta in conformità alle disposizioni di legge vigenti in materia e che i risultati degli accertamenti microbiologici effettuati corrispondono ai valori prescritti, che, come noto, riguardano indirettamente anche gli stafilococchi. Potrà risultare utile richiedere tuttavia, la ricerca anche di questi ultimi.

Fermo restando che l'autorizzazione sanitaria all'esercizio della specifica produzione utilizzatrice di uova, assorbe ogni lavorazione ausiliaria e complementare, ivi compresa, quindi, quella di sgusciamiento e di preparazione di prodotti d'uovo da utilizzare nel proprio ciclo produttivo, le autorità addette alla vigilanza dovranno verificare che la pastorizzazione dei prodotti di uovo avvenga secondo i criteri illustrati nell'allegato n. 2 in modo da risultare conformi sotto il

profilo microbiologico ai valori previsti nella tabella A allegata alla citata ordinanza 11 ottobre 1978.

È evidente che l'impiego di «prodotti d'uovo» congelati comporta necessariamente la dotazione di celle frigorifere atte ad assicurare la conservazione dei prodotti stessi a temperature non superiori a -10°C fino al momento dello scongelamento per la relativa utilizzazione, mentre altre celle frigorifere sono necessarie per la conservazione temporanea dei prodotti d'uovo refrigerati a temperatura non superiore a $+3^{\circ}\text{C}$.

Non può, al riguardo, ignorarsi come, sotto il profilo igienico-sanitario, i punti critici della lavorazione delle paste all'uovo debbano individuarsi proprio nelle fasi di scongelamento ed in quelle preliminari di preparazione e di utilizzazione dei «prodotti d'uovo».

Proprio in tali fasi, infatti aumenta il rischio di contaminazioni secondarie da microrganismi patogeni o potenzialmente patogeni (soprattutto stafilococchi).

Fattori di tale contaminazione sono da considerare le manipolazioni incongrue e, la mancanza di strutture protettive dei prodotti d'uovo, nonché, in particolare, la inosservanza, alla fine di ogni ciclo lavorativo, delle norme relative alle operazioni di detersione, disinfezione, lavaggio dei serbatoi, dei contenitori, delle tubazioni, delle raccorderie e di ogni altra struttura attivata per l'utilizzazione di tali prodotti.

Tanto più che, proprio nelle successive fasi di impastamento, trafilatura, incartamento, asciugamento graduale (di norma a ciclo chiuso) vengono inevitabilmente a determinarsi, nel substrato, condizioni di umidità e di temperatura favorevoli allo sviluppo dei microrganismi suindicati.

Per quanto riguarda le paste speciali farcite, è appena il caso di far rilevare che, in ottemperanza alle disposizioni suindicate (art. 8, secondo comma del D.M. 27 settembre 1967), tutti gli ingredienti di facile deperibilità ed alterabilità, impiegati per la loro produzione, devono essere mantenuti in idonee celle frigorifere, atte a consentirne la conservazione a temperature non superiori $+3^{\circ}\text{C}$ fino al momento dell'impiego. Si tratta, infatti, di temperature idonee ad evitare la moltiplicazione microbica e, conseguentemente, lo svolgersi da parte di taluni microrganismi (soprattutto stafilococchi) di attività tossigene responsabili, anche dopo adeguata cottura dell'alimento, di fenomeni enterotossici.

Particolare attenzione si ritiene debba essere osservata nella preparazione delle paste farcite (soprattutto di quelle destinate ad essere vendute fresche, in considerazione della più elevata umidità – fino al 30% -) che utilizzano come ingredienti carni suine, avicole, bovine, frammiste ad albume e tuorlo d'uovo, ovvero ricotta ed altri latticini che, come tali, richiedono in ottemperanza all'art. 8, ultimo comma del citato D.M. 27 settembre 1967, criteri e tecnologie commisurate ad una igienica e razionale lavorazione.

Misure igieniche di uguale efficacia dovranno essere adottate per la preparazione degli alimenti surgelati precucinati a base di paste alimentari farcite. Tali prodotti vengono infatti consumati previo riscaldamento a temperature che, oltretutto, possono favorire la moltiplicazione microbica e, quindi, quella di microrganismi patogeni eventualmente presenti, determinandosi in tal modo condizioni di rischio infettivo o tossinfettivo per il consumatore, a maggior ragione quando, come già accennato, si tratti di preparazioni destinate a comunità o collettività, spesso costituite da soggetti particolarmente recettivi quali malati, anziani, bambini.

Tutto quanto sopra premesso si ritiene opportuno ora fornire in allegato alcune indicazioni, relative ai valori microbici degli alimenti sopracitati, da valere, in mancanza di precisi limiti microbiologici di riferimento legalmente cogenti (trattasi

infatti di alimenti non espressamente considerati nella citata O.M. 11 ottobre 1978) come parametri indicativi della loro igienica preparazione e produzione.

Di essi l'analista potrà avvalersi nella formulazione di pareri tecnici del tutto discrezionali nel senso più ampio del termine.

A tali pareri, quindi, (sempreché il laboratorista, secondo il proprio giudizio tecnico, non ponga in rilievo difformità microbiologiche che configurino l'ipotesi di infrazione di cui all'art. 5 lettera *d*) della L. 30 aprile 1962, n. 283, per alterazione o nocività dell'alimento) può attribuirsi esclusivamente il significato di giudizio a carattere indicativo da ritenere, come tale, complementare di conseguenti e parallele valutazioni sulla effettiva igienicità della lavorazione dei prodotti di cui trattasi. Valutazioni acquisibili, ovviamente, sia attraverso diretti sopralluoghi ispettivi in sede di produzione, sia attraverso ulteriori accertamenti analitici su campione di paste alimentari statisticamente significativi.

Il riscontro di scarsi livelli igienici può comportare la sospensione dell'attività ed, in caso di recidiva, anche la revoca dell'autorizzazione, qualora – per inosservanza di precise e fondamentali disposizioni di legge – vengano rilevate vere e proprie carenze strutturali ed igienico-sanitarie di cui deve essere comunque imposta la rimozione.

É appena il caso di far rilevare che il conseguimento dei requisiti microbiologici delle paste farcite fresche artigianali, come sopra specificati, potrà più agevolmente realizzarsi oltre che con gli accorgimenti igienici precedentemente indicati, anche attraverso processi di trattamento delle farce con il calore, atti – sotto il profilo igienico-sanitario – a bonificarle e – sotto quello tecnologico – ad omogeneizzarle.

In ogni caso grande importanza assume per tutti i tipi di paste fresche sopraindicate la conservazione costante, fino all'atto di vendita, a temperature di refrigerazione non superiori a +3°C.

Per quanto riguarda le paste alimentari confezionate, appare particolarmente utile, sia per orientare eventuali ricerche epidemiologiche, sia per limitare i danni derivanti da sempre possibili incidenti di lavorazione, che le imprese produttrici provvedano a stabilire e registrare sulle confezioni un elemento di individuazione delle varie partite o lotti di fabbricazione.

ALLEGATO 1

1) *Paste all'uovo industriali secche*^(*)

prelievo 5 unità campionarie – u.c. – (5 confezioni)

- carica microbica totale
(aerobi mesofili a 32°C)
su 3 u.c. 10.000/g
su 2 u.c. 1.000.000(g)

- *St. aureus*
su 3 u.c. 100/g
su 2 u.c. 1.000/g

- *Salmonella*
assente in 25 g su tutte le u.c.

^(*) Provvisoriamente, per un periodo di sei mesi, per i nidi e le lasagne all'uovo, relativamente allo *St. aureus*, sono tollerati i seguenti valori:

—*St. aureus*
su 3 u.c. 1.000/g
su 2 u.c. 10.000/g

2) *Paste all'uovo artigianali fresche non confezionate:*

prelievo a caso da più parti di 300 g di prodotto suddividendoli in 5 u.c.

- carica microbica totale
(aerobi mesofili 32°C)
su 3 u.c. 100.000/g
su 2 u.c. 1.000.000/g
- St. aureus
su 3 u.c. 1.000/g
su 2 u.c. 10.000/g
- Salmonella
assente in 25 g su tutte le u.c.
- Coliformi
su 3 u.c. 1.000/g
su 2 u.c. 10.000/g

3) *Paste farcite industriali fresche confezionate:*

prelievo 5 unità campionarie – u.c. – (5 confezioni)

- carica microbica totale
(aerobi mesofili 32°C)
su 4 u.c. 100.000/g
su 1 u.c. 1.000.000/g
- St. aureus
su 4 u.c. 100/g
su 1 u.c. 500/g
- Salmonella
assente in 25 g su tutte le u.c.
- Cl. perfringens
su 4 u.c. 100/g
su 1 u.c. 1.000/g

4) *Paste farcite artigianali fresche non confezionate:*

prelievo a caso da più parti di 300 g di prodotto suddividendoli in 5 u.c.

- carica microbica totale
(aerobi meso filii 32°C)
su 3 u.c. 100.000/g
su 2 u.c. 1.000.000/g
- St. aureus
su 3 u.c. 1.000/g
su 2 u.c. 10.000/g
- Salmonella
assente in 25 g su tutte le u.c.

5) *Paste farcite precotte surgelate:*

prelievo 5 unità campionarie – u.c. – (5 confezioni)

- carica microbica totale
(aerobi mesofili 32°C)
su 3 u.c. 100.000/g
su 2 u.c. 300.000/g
- E. coli
assenti in 1 g

- Cl. perfringens
inferiore a 30/g
- St. aureus
inferiore a 100/g
- Salmonella
assente in 25 g su tutte le u.c.

ALLEGATO 2 ⁽¹⁾

(Omissis)

ALLEGATO 3

RICERCA DELL'ALFA-AMILASI

Principio: la ricerca della presenza dell'alfa-amilasi è legata alla sua termolabilità: quella presente nelle uova intere viene inattivata in proporzione alla temperatura e durata della pastorizzazione.

Addizionando salda d'amido a uova intere pastorizzate, l'amido viene idrolizzato dall'enzima in esso presente e aggiungendo successivamente una soluzione di iodio non appare la colorazione blu violetto tipica della reazione dell'amido con lo iodio.

L'intensità della colorazione è inversamente proporzionale alla quantità di alfa-amilasi (tanto minore quanto la quantità di questa è maggiore) e ciò permette di verificare l'efficienza del trattamento termico impiegato nella pastorizzazione.

Il metodo sotto descritto si applica alle uova intere (albume e tuorlo).

Trattamento del campione: deve essere esaminato al più presto possibile, altrimenti deve essere conservato ad una temperatura inferiore a +4°C, meglio se congelato.

In ogni caso l'analisi va eseguita su materiale che abbia raggiunto la temperatura ambiente immediatamente prima della prova.

Campioni mostranti segni di decomposizione o alterazione non possono essere sottoposti ad analisi.

Campioni contenenti zuccheri, acido citrico o citrati o qualsiasi ingrediente che contenga tali sostanze non possono essere saggiati in quanto queste interferiscono nella reazione.

Precauzioni: è importante tenere presente di:

- a) usare acqua distillata o deionizzata per la preparazione di reagenti e per le diluizioni;
- b) evitare di contaminare le uova o i reagenti con saliva;
- c) pulire ed asciugare accuratamente tutta la vetreria prima dell'uso;
- d) usare una pipetta nuova per ogni unità campionaria;
- e) evitare di contaminare le pipette con la saliva (collocare del cotone all'imboccatura analogamente a quanto si fa in microbiologia);
- f) quando una unità campionaria dà risultato positivo per la presenza di alfa-amilasi, pulire con la massima cura tutta la vetreria usata nella analisi e disinfettarla.

⁽¹⁾ Vedi ora il D.Leg.vo. 4 febbraio 1993, n. 65.

Reagenti:

a) salda d'amido: essiccare dell'amido solubile p.a. in pesafiltro a +100°C per 16 ore o a +160°C per 1 ora; far raffreddare in essiccatore. Pesare 0,70 g di amido e mescolarli con poca acqua distillata fredda fino ad ottenere una crema fluida. Trasferirla quantitativamente (lavando il recipiente con poca acqua) in un matraccio tarato da 100 ml contenente circa 50 ml di acqua distillata bollente; far bollire per 60" raffreddare rapidamente in acqua corrente, aggiungere 3 gocce di toluene e portare a segno con acqua distillata. Questa soluzione non si conserva più di 15 giorni;

b) soluzione di iodio: può essere agevolmente preparata impiegando le soluzioni titolate madri pronte per uso e facilmente reperibili in commercio seguendo attentamente le istruzioni date dal produttore per la preparazione.

Al momento dell'analisi versare 1 ml della soluzione n/10 in un matraccio tarato da 100 ml e portare a segno con acqua distillata per ottenere la soluzione n/1.000.

Volendo preparare la soluzione titolata di iodio in laboratorio, operare come segue:

preparare:

1) soluzione di iodio: sciogliere g 12,700 di iodio metallico p.a. in una soluzione di 25 g di ioduro di potassio in 30 ml di acqua distillata.

Portare a 1.000 ml con acqua distillata.

Si ottiene così una soluzione approssimativamente n/10 stabile per 6 mesi.

2) Soluzione di ioduro di potassio: sciogliere 335 g di ioduro di potassio in acqua distillata, portare a 1,000 ml in matraccio tarato.

3) Al momento dell'uso versare in un matraccio tarato da 100 ml 1 ml della soluzione 1) (iodio n/10) 1 ml della soluzione 2) (ioduro di potassio) e portare a 100 ml con acqua distillata.

Si ottiene così una soluzione di iodio n/1.000.

Avvertenza: le soluzioni di iodio devono essere tenute in bottiglie di vetro neutro scuro e con tappo smerigliato.

Le soluzioni n/1.000 vanno preparate ogni volta prima dell'uso.

c) Acido tricloroacetico: soluzione in acqua distillata al 15% (p.v.), va conservata in frigorifero a +4°C in bottiglia con tappo di vetro smerigliato.

Apparecchiature:

1) pipette a bolla a doppia tara 2,5-10 ml;

2) matracci tarati da 100 a 1.000 ml;

3) cilindro graduato da 50 ml;

4) beute con collo di 2 cm di diametro;

5) imbuti di vetro, diametro 6 cm;

6) filtri a pieghe (carta Whatman n. 12 o equivalente) diametro cm 12,5;

7) beute a collo largo da 100 ml con tappo a smeriglio;

8) bagno maria termostato da tenere alla temperatura di 44°C ± 0,5°C.

Pulizia delle vetrerie: é importante che sia effettuata con la massima cura; una disattenzione può portare a risultati errati.

1) La vetreria nuova va sempre accuratamente pulita con miscela cromica o acido cloridrico diluito, lavata poi con acqua calda, risciacquata con acqua distillata e asciugata.

2) Subito, dopo l'uso tutta la vetreria va lavata con abbondante acqua corrente per asportare ogni traccia visibile di uovo; praticare – se necessario – un ulteriore lavaggio con idrato di sodio n/10 (al 4%). Successivamente la vetreria

va lavata con miscela cromica o con HCL diluito, risciacquata con abbondante acqua corrente, poi con acqua distillata e asciugata.

3) Tutta la vetreria usata in prove che hanno rivelato la presenza di alfa-amilasi deve essere – dopo essere stata lavata in acqua corrente (e se necessario con soda) – disinfettata con una soluzione di ipoclorito di sodio (200 p.p.m. di cloro attivo) o di acido fenico, passata poi in miscela cromica o HCL diluito, risciacquata con abbondante acqua corrente, poi con acqua distillata e asciugata.

4) Tutta la vetreria necessaria per la ricerca dell'alfa-aminasi non deve essere usata per altri scopi e deve essere riposta in luogo separato dall'altra vetreria del laboratorio.

Avvertenza: la presenza – sulla vetreria – di residui di uova, di proteine, di detersivi, può falsare i risultati.

Procedimento analitico:

Introdurre 15,0 ml del campione di uova liquide (a temperatura ambiente) in una beuta da 100 ml con tappo smeriglio.

Aggiungere 2,0 ml della soluzione di amido (saldia d'amido).

Se – facilmente si verifica – le uova sono molto dense, è difficile vedere se la salda d'amido si è distribuita uniformemente nelle uova.

Poiché questo fatto è essenziale per avere un risultato veritiero, mescolare energicamente la miscela prima, durante e dopo l'incubazione, facendo la massima attenzione a che non si abbiano tracce di uovo che sfuggano alla esposizione alla temperatura di incubazione.

Mettere la beuta in bagnomaria a $+44^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ per 30 minuti.

Scaduto il tempo togliere il recipiente dal bagnomaria, agitare bene il contenuto e subito aggiungere 5 ml di questo e 5 ml di di soluzione di acido tricloracetico al 15% previamente collocati in una beuta da 100 ml.

Agitare con cura per mescolare bene. Aggiungere 15 ml di acqua distillata e mescolare accuratamente.

Filtrare su filtro a pieghe (carta Whatman n. 12 o altra equivalente) scartando la prima porzione torbida del filtrato (alternativamente riversare su filtro la prima porzione torbida).

Mettere in una beuta da 100 ml di filtrato limpido e aggiungervi 2,0 ml della soluzione n/1.000 di iodio.

Risultati:

L'assenza di alfa-amilasi è rilevata dalla comparsa immediata di una colorazione blu violetto.

Per determinare l'intensità ci si può servire di un disco comparatore standard Lovibond 4/26 portante una serie di colori tipo, adatto ad essere usato in un comparatore con cuvette da 25 mm.

I colori più intensi di quello n. 3 del disco comparatore Lovibond 4/26 o di uno standard spettrofotometrico di confronto (con cuvetta da 1 cm a una lunghezza d'onda di 585 m lo standard spettrofotometrico di confronto deve presentare, adoperando come bianco l'acqua, una densità ottica di 0,15) sono da considerare come indicanti l'inattivazione dell'alfa-amilasi e prova che la pastorizzazione è stata effettuata.