

Suvestinė redakcija nuo 2007-05-01

Įsakymas paskelbtas: Žin. 2006, Nr. [85-3337](#), i. k. 1062330ISAK003D-303

LIETUVOS RESPUBLIKOS ŽEMĖS ŪKIO MINISTRAS

**Į S A K Y M A S
DĖL ŽALIO PIENO PIRMINIŲ KOKYBĖS RODIKLIŲ ĮVERTINIMO INSTRUKCIJOS
PATVIRTINIMO**

2006 m. liepos 25 d. Nr. 3D-303
Vilnius

Siekdama užtikrinti tikslesnį žalio pieno pirminį kokybės įvertinimą jo pirkimo vietose:

1. T v i r t i n u Žalio pieno pirminių kokybės rodiklių įvertinimo instrukciją (pridedama).

2. P r i p a ž i s t u netekusiais galios:

2.1. Lietuvos Respublikos žemės ūkio ministro 1999 m. birželio 29 d. įsakymą Nr. 287 „Dėl žalio pieno pirminių kokybės rodiklių įvertinimo instrukcijos patvirtinimo“ (Žin., 1999, Nr. [60-1963](#));

2.2. Lietuvos Respublikos žemės ūkio ministro 2005 m. sausio 13 d. įsakymą Nr. 3D-21 „Dėl žemės ūkio ministro 1999 m. birželio 29 d. įsakymo Nr. 287 „Dėl žalio pieno pirminių kokybės rodiklių įvertinimo instrukcijos patvirtinimo“ pakeitimo“ (Žin., 2005, Nr. [8-248](#)).

3. N u s t a t a u, kad šis įsakymas įsigalioja 2006 m. rugpjūčio 21 d.

ŪKIO MINISTRAS,
PAVADUOJANTIS ŽEMĖS ŪKIO MINISTRĄ

VYTAS NAVICKAS

SUDERINTA

Valstybinės maisto ir veterinarijos tarnybos 2006-07-21 raštu Nr. B6-(1.8)-1290

PATVIRTINTA

Lietuvos Respublikos žemės ūkio ministro
2006 m. liepos 25 d. įsakymu Nr. 3D-303

ŽALIO PIENO PIRMINIŲ KOKYBĖS RODIKLIŲ ĮVERTINIMO INSTRUKCIJA

I. PIRMINIS PIENO KOKYBĖS RODIKLIŲ ĮVERTINIMAS SUPIRKIMO METU

1. Žalias pienas perkamas siuntomis. Pieno siunta – tai vienu metu iš vieno gamintojo nupirktas pienas.

2. Pieno siunta gali būti pristatyta plastmasiniame, alaviniame, nerūdijančio plieno, aliumininiame ar emaliuotame uždengtame, skirtame tik maisto produktams laikyti, inde. Negali būti naudojami cinkuoti indai.

3. Priimant pieno siuntą patikrinama kiekvieno indo išorės būklė (švarumas, uždarymas ir kt.). Atidarius indą, kiek leidžia galimybės, tikrinamas jo vidus, įvertinami mechaniniai ar kiti pažeidimai. Iš nešvaraus, mechaniškai pažeisto indo pienas nepriimamas.

Po to pienas gerai išmaišomas ir įvertinama pirminė jo kokybė. Jusliniu būdu, neimant mėginio, nustatoma pieno spalva, kvapas, konsistencija, matuojama temperatūra.

4. Spalva turi būti balta arba gelsvo atspalvio. Konsistencija maišant arba perpilant pieną į svėrimo indą turi būti vienalytė. Piene neturi būti gleivių, nuosėdų, baltymų dribsnių, sviesto kruopelių ir mechaninių priemaišų. Pienas turi būti nesusaldytas, be specifinio pašarų ar kitų medžiagų prieskonio ir kvapo. Žiemą ir pavasarį galimas silpnas pašarų prieskonis.

5. Kilus įtarimui, iš gamintojo pieno siuntos imami mėginiai jusliniam skonio įvertinimui, rūgštingumui, švarumui, tankiui, neutralizuojančioms ir inhibitorinėms (slopinančiosioms) medžiagoms nustatyti.

6. *Neteko galios nuo 2007-05-01*

Punkto naikinimas:

Nr. [3D-173](#), 2007-04-19, Žin. 2007, Nr. 46-1752 (2007-04-26), i. k. 1072330ISAK003D-173

II. JUSLINIS KVAPO IR SKONIO ĮVERTINIMAS

7. Metodas taikomas žalio pieno kvapui ir skoniui įvertinti.

8. Metodo esmė – šiame skyriuje aprašytu būdu paruošto pieno kvapas ir skonis įvertinami taškais pagal 12.4 punktą.

9. Naudojama įprastinė laboratorinė įranga ir toliau išvardytos priemonės:

9.1. skysčio termometras (ne gyvsidabrio), sugraduotas 1 °C padalomis;

9.2. sekundmetis;

9.3. vandens vonia, kurioje galima palaikyti (85±5) °C temperatūrą;

9.4. džiovinimo spinta, kurioje galima palaikyti (100±5) °C temperatūrą;

9.5. elektrinė viryklė;

9.6. kūginės kolbos 100 ml tūrio;

9.7. cheminės stiklinės 50 ar 100 ml tūrio;

9.8. matavimo cilindrai 100 ml tūrio;

9.10. aliuminio folija;

9.11. prieš naudojimą 10 min. pavirintas geriamasis vanduo.

10. Indų paruošimas analizei. Pieno mėginiui ištirti naudojamos 100 ml tūrio gludintais kamščiais kolbos. Kolbos dezodoruojamos kaitinant džiovinimo spintoje (100±5) °C temperatūroje ne trumpiau kaip 30 min. Po kaitinimo kolbos atvėsinaamos iki kambario temperatūros. Kolbos, į kurias įpilami mėginiai kvapui ir skoniui įvertinti, sandariai užkemšamos. Kolba, kurioje pasterizuojant bus stebima temperatūra, paliekama atvira.

11. Pieno paruošimas analizei. Į paruoštas kolbas įpilama po (60±5) ml pieno. Pasterizuojama (85±5) °C temperatūros vandens vonioje. Vandens lygis vonioje turi būti 1–2 cm

aukštesnis už pieno lygį kolbose. Kai kolboje pasiekama 72 °C temperatūra, palaikoma 30 sek. ir atšaldoma iki (37+2) °C. Mėginio temperatūra kontroliuojama termometru atskiroje (kontrolinėje) kolboje, į kurią taip pat buvo įpilta (60+5) ml pieno.

12. Analizę atlieka komisija, susidedanti ne mažiau kaip iš 3-jų vertintojų:

12.1. mėginių kvapas ir skonis nustatomas tuoj pat po jų paėmimo arba po jų laikymo ir gabenimo, tačiau ne ilgiau kaip po 4 val., kai mėginio temperatūra (4+2) °C;

12.2. tiriami mėginiai lyginami su mėginiu, kuris neturi kvapo ir skonio ydų ir įvertintas 5 taškais;

12.3. pasiruošus tyrimui, kolba su mėginiu atkemsama ir pauostoma. Po to į sausą švrią stiklinę įpilama (20+2) ml mėginio ir paragaujama;

12.4. kvapas ir skonis vertinamas 5-ių taškų sistema (1 lentelė).

KVAPO IR SKONIO ĮVERTINIMAS TAŠKAIS

1 lentelė

Kvapo ir skonio apibūdinimas	Įvertinimas	Taškai
Pienas malonaus skonio, švelniai salstelėjęs, be specifinio pašarų ir kitų medžiagų kvapo ir prieskonio	Labai geras	5
Skonis nepakankamai išreikštas, be specifinio pašarų ir kitų medžiagų kvapo ir prieskonio	Geras	4
Silpnas pašarų prieskonis, šiek tiek rūgštelėjęs, šiek tiek negrynas, šiek tiek karstelėjęs	Patenkinamas	3
Stiprus pašarų (tarp jų svogūnų, česnakų, pelynų ir kt. žolių, suteikiančių pienui kartumo) prieskonis, pienas sudusęs, rūgštelėjęs, karstelėjęs, surstelėjęs	Blogas	2
Kartus, su pelėsių ar puvėsių prieskoniu, su naftos produktų, vaistų, plovimo ar dezinfekavimo medžiagų kvapu ir skonių	Blogas	1

12.5. pagal įvertinimo lentelę surašomas ekspertizės lapas (1 priedas);

12.6. kai dėl kvapo ir skonio vertinimo nesutariama, dėl tikslesnio įvertinimo mėginiai gali būti lyginami su specialiai paruoštais mėginiais (2 priedas);

12.7. jeigu atskirų specialistų vertinimas skiriasi daugiau nei vienu tašku, po 30 min. tyrimas kartojamas.

13. Galutinis rezultatas gaunamas išvedus gautų vertinimo taškų aritmetinį vidurkį, kuris suapvalinamas iki sveikojo skaičiaus.

14. Pienas, įvertintas mažiau nei 4 taškais, neperkamas ir grąžinamas pieno gamintojui.

III. TEMPERATŪROS MATAVIMAS

15. Metodas taikomas pieno temperatūrai matuoti stikliniais skysčio (ne gyvsidabrio) ar skaitmeniniais termometrais:

15.1. naudojant skysčio termometrą matavimo esmę sudaro skysčio tūrio pasikeitimas kintant aplinkos temperatūrai;

15.2. naudojant skaitmeninį termometrą matavimo esmę sudaro puslaidininkės medžiagos (daviklio) elektrinio laidumo pasikeitimas pagal aplinkos temperatūrą.

16. Naudojama įprastinė laboratorinė įranga ir toliau išvardytos priemonės:

16.1. stikliniai skysčio termometrai, kurių matavimo ribos nuo 0 iki 50 °C arba nuo 0 iki 100 °C ir tikslumas ±1 °C, arba skaitmeniniai termometrai su termozondais, kurių matavimo ribos nuo 0 iki 99 °C (tikslumas ±1 °C) arba nuo 0 iki 15 °C (tikslumas ±0,3 °C);

16.2. sekundmatis;

16.3. marlė;

16.4. maišyklė ir samtis.

17. Naudojamas reagentas – etilo alkoholis.

18. Prieš matuojant temperatūrą pienas išmaišomas. Temperatūra matuojama pristatymo induose, o jei indas nepilnas, pienas semiamas ne mažesniu kaip 50 ml tūrio samčiu, ne trumpesne kaip 13 cm rankena, ir temperatūra matuojama tuoj pat samtyje:

18.1. matuojant stikliniu skysčio termometru termometras panardinamas į pieną iki skalės apatinio skaičiaus ir išlaikomas ne mažiau kaip 2 min. Skalės rodmuo užrašomas neištraukus termometro iš pieno;

18.2. matuojant skaitmeniniu termometru temperatūra matuojama pagal termometro naudojimo taisyklės. Prieš kiekvieną matavimą termozondai nuvalomi marle, sudrėkinta etilo alkoholiu, ir panardinami į pieną 10–15 cm. Palaikius termozondus piene 20–25 sek., užrašomas skaitmeninės skalės rodmuo. Po to termozondai traukiami iš pieno, o termometras išjungiamas.

19. Abiem atvejais termometrų rodmenys suapvalinami iki sveikąjį skaičių 1 °C tikslumu.

20. Galutinis rezultatas gaunamas išvedus matavimų aritmetinį vidurkį.

IV. RŪGŠTINGUMO NUSTATYMAS

21. Metodai taikomi pieno tūtuojamajam ir aktyviajam rūgštingumui (pH) nustatyti.

22. Terminai ir jų apibrėžimai:

Pieno rūgštingumas Ternerio laipsniais – etaloninio natrio hidroksido tirpalo kiekis (ml), reikalingas 100 ml pieno esančioms rūgštims neutralizuoti.

Pieno rūgštingumas pieno rūgšties procentais – etaloninio natrio hidroksido tirpalo kiekis (ml), reikalingas 100 g pieno esančioms rūgštims neutralizuoti, padaugintas iš koeficiento 0,009.

Aktyvusis pieno rūgštingumas (pH) – laisvųjų vandenilio jonų koncentracija piene, išreikšta neigiamu logaritmu ir žymima pH vienetais.

23. Pieno titruojamojo rūgštingumo nustatymo metodų esmė – nustatomas bendrasis pieno rūgštingumas. Natrio hidroksido tirpalu, naudojant indikatorių fenolftaleiną, neutralizuojamos laisvosios rūgštys, rūgščiosios druskos, laisvosios baltymų rūgštinės grupės ir piene ištirpęs anglies dioksidas (CO₂).

24. Pieno titruojamojo rūgštingumo nustatymas:

24.1. Ternerio laipsniais naudojant fenolftaleino indikatorių:

24.1.1. tyrimui naudojamas degazuotas arba prieš naudojimą 10 min. pavirintas, mažiausiai 3-iojo grynumo laipsnio analizės vanduo pagal Lietuvos standartą LST EN ISO 3696 „Analizės vanduo. Apibūdinimas ir analizės metodai“ ir tik analiziškai grynai reagentai:

24.1.1.1. natrio hidroksidas, etaloninis tirpalas $c(\text{NaOH}) = (0,1 \pm 0,002) \text{ mol/l}$, be anglies dioksido priemaišų. Tirpalas apsaugomas nuo anglies dioksido absorbcijos. Gali būti gaminamas iš fiksantų;

24.1.1.2. fenolftaleino tirpalas. 1 g fenolftaleino ištirpinama nedideliame kiekyje 70 proc. etilo alkoholio ir juo skiedžiama iki 100 ml;

24.1.1.3 kobalto sulfato (CoSO₄ x 7H₂O) tirpalas. Į cheminę stiklinę pasveriamas 2,5 g kobalto sulfato, ištirpinama nedideliame kiekyje vandens. Tirpalas supilamas į 100 ml vienažymę matavimo kolbą. Cheminė stiklinė kelis kartus perplaunama vandeniu, kuris supilamas į vienažymę matavimo kolbą. Po to vandeniu skiedžiama iki žymės. Tirpalas tinka naudoti 6 mėn.;

24.1.2. naudojama įprastinė laboratorinė įranga ir toliau išvardytos priemonės:

24.1.2.1. analizinės svarstyklės, kuriomis galima pasverti $\pm 0,01 \text{ g}$ tikslumu;

24.1.2.2. vandens vonia, kurioje galima palaikyti $(38 \pm 2) ^\circ\text{C}$ temperatūrą;

24.1.2.3. spiritinis termometras, sugraduotas 1 °C padalomis;

24.1.2.4. kūginės kolbos 50, 100, 150 ir 250 ml tūrio;

24.1.2.5. stiklinės 100, 150 ir 250 ml tūrio;

24.1.2.6. piltuvėliai;

24.1.2.7. pipetės 1,5, 10,20,25 ir 50 ml tūrio;

24.1.2.8. biuretė, sugraduota 0,1 ml padalomis;

24.1.2.9. popieriaus filtrai;

24.1.2.10. sekundmatis;

24.1.2.11. stiklinės lazdelės užlydytais galais;

24.1.2.12. matavimo kolbos 100 ir 1000 ml tūrio.

24.1.3. Spalvos etalono tirpalo gaminimas. Į 100–250 ml kūginę kolbą pipete įpilama 10 ml pieno ir 20 ml distiliuoto vandens. Į tirpalą įpilama 1 ml 2,5 proc. kobalto sulfato tirpalo (24.1.1.3) ir kruopščiai išmaišoma. Gaunamas silpnai rausvas tirpalas (etalonas). Pagamintas tirpalas tinkamas analizei 12 val.

24.1.4. Pieno paruošimas analizei. Didesnis nei reikia analizei mėginio kiekis vandens vonioje pašildomas iki $(38 \pm 2)^\circ\text{C}$, išmaišomas ir atvėsinaamas iki $(20 \pm 1)^\circ\text{C}$.

24.1.5. Analizė. Analizės rezultatams turi reikšmės pieno ir distiliuoto vandens temperatūra, indikatoriaus kiekis, titravimo greitis. Todėl nustatant rūgštingumą pieno ir vandens temperatūra turi būti $(20 \pm 1)^\circ\text{C}$. Titravimo greitis vidutinis, tūtuojant tirpalas nuolat maišomas.

Į 100 arba 200 ml kūginę kolbą pipete įpilama 20 ml vandens ir 10 ml pieno. Įlašinama 3 lašai fenolftaleino tirpalo. Tirpalas kruopščiai išmaišomas ir titruojamas natrio hidroksido (NaOH) tirpalu iki silpnai rausvos spalvos, kuri turi atitikti etalono spalvą ir nepakisti per 1 min.

24.1.6. Pieno rūgštingumas Ternerio laipsniais ($^{\circ}\text{T}$) apskaičiuojamas natrio hidroksido (NaOH) etaloninio titravimo tirpalo, sunaudoto neutralizavimui, mililitrų kiekį padauginus iš koeficiento 10.

24.1.7. Galutinis rezultatas gaunamas išvedus dviejų lygiagrečių analizių rezultatų aritmetinį vidurkį 1, 0°T tikslumu.

24.1.8. Dviejų nepriklausomų atskirų tyrimų rezultatų absoliutūs skirtumai, gauti vieno analitiko per įmanomą trumpiausią laiką toje pačioje laboratorijoje su ta pačia įranga ir tuo pačiu metodu tiriant tapačius mėginius, turi neviršyti 1 $^{\circ}\text{T}$.

24.2. Pieno rūgšties procentais naudojant fenolftaleino indikatorių:

24.2.1. tyrimui naudojami reagentai ir priemonės identiški aprašytiems 24.1.1 ir 24.1.2 punktuose;

24.2.2. analizė. Atliekant analizę į 100 ml kūginę kolbą pipete įpilama 20 ml pieno, 40 ml vandens ir 2 ml fenolftaleino tirpalo. Tūtuojama etaloniniu natrio hidroksido (NaOH) tirpalu iki silpnai rausvos spalvos, kuri per 1 min. turi nepakisti. Rezultatai išreiškiami pieno rūgšties procentais 100 g pieno. Rūgštingumas (R) pieno rūgšties procentais apskaičiuojamas pagal formulę:

$$R = V \times 0,009 \times 5 \quad (1)$$

kur: V – mėginio neutralizavimui sunaudoto etaloninio natrio hidroksido (NaOH) tirpalo kiekis, ml; 0,009 – koeficientas 0,1 mol/l natrio hidroksido perskaičiuoti į pieno rūgštį. 1 ml 0,1 mol/l NaOH tirpalo atitinka 0,009 g pieno rūgšties.

25. Aktyviojo pieno rūgštingumo (pH) nustatymas:

25.1. Potenciometrinio metodu, naudojant elektrodinę sistemą su stiklo elektrodu:

25.1.1. Metodo esmė – pieno rūgštingumas, nustatytas šiuo metodu, išreiškiamas vandenilio jonų koncentracija. Piene vandenilio jonų koncentracija labai maža – $(2 \times 10)^{-7}$ viename litre. Kadangi tokius skaičius taikyti matavimams nepatogu, todėl vietoj vandenilio jonų koncentracijos naudojamas jos neigiamas logaritmas, kuris vadinamas aktyviuoju rūgštingumu ir žymimas pH. Žalio pieno pH yra apie 6,6.

25.1.2. Tyrimui naudojamas degazuotas arba prieš naudojimą 10 min. pavirintas, mažiausiai 3-iojo grynumo laipsnio analizės vanduo pagal LST EN ISO 3696 ir tik analiziškai grynai reagentai:

25.1.2.1. pH-metro reguliavimui būtina naudoti du etaloninius buferinius tirpalus, kurių pH žinomas šimtosiomis tikslumu. Vieno iš šių tirpalų pH turi būti didesnis, o antrojo – mažesnis negu tiriamojo produkto. Paprastai naudojami etaloniniai buferiniai tirpalai, pagaminti iš fiksalių, kurių pH 4,00 ir 6,88 esant 20°C . Neturint fiksalių, buferiniai tirpalai gaminami iš atitinkamų druskų:

25.1.2.1.1. buferinis tirpalas, kurio pH 4,00, kai temperatūra 20°C , ir pH 4,01, kai temperatūra 25°C . Atsveriami 10,12 g analiziškai gryno kalio hidroftalato ($\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$), kuris prieš naudojimą buvo išdžiovintas 120°C temperatūroje iki pastovios masės. Svėrinys per piltuvėlį supilamas į 1 l matavimo kolbą. Svėrimo indas keletą kartų kruopščiai perplaunamas vandeniu, kuris supilamas į kolbą. Po to perplaunamas piltuvėlis. Maišant kolbos turinį ištirpinama druska, skiedžiama vandeniu iki žymės ir vėl išmaišoma;

25.1.2.1.2. buferinis tirpalas, kurio pH 6,88, kai temperatūra 20 °C, ir pH 6,86, kai temperatūra 25 °C. Atsveriami 3,388 g analiziškai gryno kalio dihidrofosfato (KH_2PO_4) ir 3,533 g natrio hidrofosfato (Na_2HPCO_4), kurie prieš naudojimą buvo išdžiovinti 120 °C temperatūroje iki pastovios masės. Abi medžiagos supilamos į 1 l matavimo kolbą. Tolesnės operacijos tokios pačios, kaip gaminant pH 4,00 buferinį tirpalą.

Buferiniai tirpalai užkonservuojami chloroformu arba anglies tetrachloridu pripilant jų po 2 ml/1 tirpalo. Buferiniai tirpalai laikomi (20 ± 3) °C temperatūroje ne ilgiau kaip 2 mėn.; 25.1.2.2. acetonas (CH_3COCH_3).

25.1.3. Naudojama įprastinė laboratorinė įranga, nurodyta 24.1.2.2, 24.1.2.3, 24.1.2.5, 24.1.2.9, 24.1.2.10 punktuose, ir pH-metras, ne mažesnio kaip 0,01 pH vieneto tikslumo, kalibruojamas naudojant du buferinius tirpalus, kurių pH apytiksliai yra nuo 4 iki 7 ir jis žinomas $\pm 0,01$ pH vieneto tikslumu.

25.1.4. pH-metro paruošimas darbui. Prieš pradėdant darbą pH-metras sureguliuojamas pagal gamintojo instrukciją. Jis įjungiamas į tinklą 30 min. prieš darbo pradžią. Elektrodai nuplaunami vandeniu ir nušluostomi filtravimo popieriumi. Į 50–100 ml stiklinę įpilama (40 ± 5) ml buferinio tirpalo, kurio pH 4,00, o temperatūra (20 ± 1) °C. Į ją įmerkiami elektrodai ir po 10–15 sek. nustatomas prietaiso rodmuo. Jei jis skiriasi nuo buferinio tirpalo pH, prietaisas koreguojamas atitinkamu rezistoriumi. Tas pats atliekama ir su buferiniu tirpalu, kurio pH 6,88. Jei pH-metre yra pastoviosios temperatūros išlaikymo įtaisas, kalibruoti galima ir esant kitokiai nei 20 °C temperatūrai.

pH-metras buferiniais tirpalais tikrinamas kasdien. Naudojant pH-metrą ilgesnį laiką jo tikslumas tikrinamas kas 30 min., naudojant vieną arba du etaloninius buferinius tirpalus.

25.1.5. Analizė. Į 50–100 ml cheminę stiklinę įpilama (40 ± 5) ml pieno, kurio temperatūra turi būti (20 ± 2) °C. Elektrodai nuplaunami vandeniu, nušluostomi filtravimo popieriumi ir pamerkiami į tiriamąjį pieną, kad nesiektų stiklinės dugno arba sienelės. Po 3–5 sek. termometru išmatuojama temperatūra ir temperatūros nukrypimo sukeltas pH pokytis kompensuojamas atitinkamu rezistoriumi. Po 10–15 s prietaiso rodyklė sustoja ir užrašomas pH-metro rodmuo. Po kiekvieno matavimo pieno likučiai nuo elektrodų nuplaunami acetonu ir ($30\text{--}35$) °C temperatūros vandeniu. Atliekami du mėginio matavimai.

Pertraukose tarp matavimų pH-metro elektrodai laikomi įmerkti į vandenį.

25.1.6. pH-metro rodmenys skaičiuojami 0,01 pH vieneto tikslumu;

25.1.7. dviejų atskirų matavimų, atliktų per trumpą laiką rezultatų skirtumas gali viršyti toliau nurodytus dydžius tik vieną kartą iš 20 atvejų: 0,03 pH – kai analizės daro vienas analitikas; 0,1 pH – kai analizės daro du analitikai.

25.2. Aktyviojo pieno rūgštingumo (pH) nustatymas indikatoriniu metodu.

Metodas taikomas tik preliminariam žalio pieno pH nustatyti naudojant indikatorinius popierėlius. Indikatorinių popierėlių spalva įvertinama dienos šviesoje. Preliminarus žalio pieno pH nustatomas pagal indikatorinių popierėlių gamintojo pateiktą instrukciją.

V. ŠVARUMO NUSTATYMAS

26. Žalio pieno švarumas nustatomas filtravimo būdu (29 punktas) ir prietaisu „Laktis“ (30 punktas).

27. **Pieno švarumas** – tai mechaninių priemaišų kiekis piene, nustatytas filtravimo būdu.

28. Pieno švarumo nustatymo metodų esmė – tam tikro pieno kiekio filtravimas per nustatyto skersmens filtrą ir švarumo grupės nustatymas pagal matomų ant filtro mechaninių priemaišų kiekį. Švarumo grupė nustatoma lyginant su užterštumo etalonu.

29. Pieno švarumo nustatymas filtravimo būdu:

29.1. Naudojama įprastinė laboratorinė įranga ir toliau išvardytos priemonės:

29.1.1. prietaisas pieno švarumui nustatyti, kurio filtravimo paviršiaus skersmuo 27–30 mm;

29.1.2. neaustinės medžiagos filtrai 30 mm skersmens;

29.1.3. matavimo cilindras 250 ml tūrio;

29.1.4. spiritinis termometras, kurio matavimo ribos nuo 0 iki 100 °C, sugraduotas 1 °C padalomis;

29.1.5. vandens vonia, kurioje galima palaikyti (35±5) °C temperatūrą;

29.1.6. etaloniniai skrituliai.

29.2. Analizė. Į švarumo nustatymo prietaisą lygesne puse į viršų dedamas neaustinės medžiagos filtras. Iš paimto mėginio matuojama 250 ml pieno, pašildoma iki (35±5) °C temperatūros ir supilama į prietaisą. Mėginiui persifiltravus, filtras išimamas ir padedamas ant balto popieriaus lapo (pergamento).

29.3. Pagal filtro užterštumą nustatoma pieno švarumo grupė (I ar II) (2 lentelė).

29.4. Filtro spalva po filtravimo turi atitikti pieno spalvą.

PIENO ŠVARUMO GRUPĖS NUSTATYMO PALYGINAMIEJI ETALONAI

2 lentelė

Grupė	Etalono išvaizda	Etalono apibūdinimas
I		Pieno mėginyje gali būti ne daugiau kaip dvi mechaninės dalelės
II		Ant filtro yra mechaninių dalelių. Jų gali būti ne daugiau kaip 13

30. Švarumo nustatymas prietaisu „Laktis“:

30.1. Naudojama laboratorinė įranga – prietaisas „Laktis“ pieno švarumui nustatyti.

30.2. Analizė. Prietaiso „Laktis“ stūmoklis nustumiamas iki cilindro dugno. Atidengiamas filtro laikiklio dangtelis, ant grotelių uždedami vatos filtrai, dangtelis uždengiamas ir užfiksuojamas. Po to prietaiso filtro laikiklis įmerkiamas į pieną ir pienas filtruojamas traukiant rankenėlę iki galo. Tuomet pamerkta į pieną prietaiso dalis ištraukiama. Nuspaudžiamas prietaiso mygtukas koto link (kaip nurodyta prietaiso pase) ir, traukiant rankenėlę, perfiltruojamas tas pieno kiekis, kuris buvo likęs dangtelio įdubime. Perfiltravus pieno likutį, dangtelis atidengiamas, filtras išimamas ir dedamas ant balto popieriaus lapo (pergamento). Dangtelis uždaromas ir fiksuojamas, pienas iš prietaiso išstumiamas į pieno indą. Per vieną-dvi minutes švarumas įvertinamas.

30.3. Rezultatai įvertinami kaip nurodyta 29.3 p.

VI. PIENO TANKIO NUSTATYMAS

31. Metodas taikomas žalio pieno tankiui nustatyti (3–25) °C temperatūros diapazone.

32. **Pieno tankis** – pieno tūrio vieneto masė, išreikšta kg/m.

33. Metodo esmė – tankis nustatomas įmerkiant areometrą į 20 °C temperatūros pieną. Areometrui nusistovėjus, užfiksuojamas jo skalės ir mėginio paviršiaus lietimosi taškas. Šis skalės rodmuo ir yra pieno tankis. Jei pieno temperatūra yra didesnė arba mažesnė nei 20 °C, tai tankis perskaičiuojamas pagal šioje metodikoje pateiktas formules arba lenteles.

34. Naudojama įprastinė laboratorinė įranga ir toliau išvardytos priemonės:

34.1. areometras, kurio matavimo ribos nuo 1025 iki 1035 kg/m, skalės padalos vertė 0,5 kg/m³;

34.2. matavimo cilindras 31, 39 arba 50 mm skersmens ir 215, 265 arba 415 mm aukščio;

34.3. spiritinis termometras, kurio matavimo ribos nuo 0 iki 50 °C ir tikslumas ± 0,5 °C;

34.4. skaitmeniniai termometrai su termozondais, kurių matavimo ribos nuo 0 iki 50 °C ir tikslumas ±0,5 °C;

- 34.5. vandens vonia, kurioje palaikoma (40 ± 1) °C temperatūra;
- 34.6. vandens vonia, kurioje palaikoma (20 ± 1) °C temperatūra;
- 34.7. maišyklė;
- 34.8. sekundmetis.
35. Mėginiai laikomi taip, kad nepakistų jų sudėtis.
36. Mėginio paruošimas, kai pieno temperatūra 20 °C:
- 36.1. mėginys atidžiai išmaišomas mėginio indą pavartant ir įstatomas į 40 °C vandens vonią. Kai mėginio temperatūra pasiekia 40 °C, jis palaikomas dar 5 min., po to 20 °C vonioje atvėsinaamas iki 20 °C temperatūros;
- 36.2. tankis matuojamas praėjus ne mažiau kaip dviem valandom po pieno mechaninio apdorojimo (melžiant arba jį leidžiant per vamzdyną).
37. Kai mėginio temperatūra aukštesnė ar žemesnė nei 20 °C, mėginys atidžiai išmaišomas mėginio indą vis pavartant.
38. Pasiruošimas analizei:
- 38.1. areometras, termometras ir matavimo cilindras turi būti išplauti plovimo tirpalais, perplauti distiliuotu vandeniu ir išdžiovinti;
- 38.2. atliekant serijinius matavimus, matavimo cilindras gali būti praplaunamas tiriamojo pieno mėginiu;
- 38.3. paruošus areometrą matavimui, jo matuojamosios dalies negalima liesti rankomis. Areometras imamas už viršutinės dalies, kurioje nėra skalės. Paruošti areometrai ir termometrai laikomi cilindruose, uždengtuose stiklu arba polietileno plėvele.
39. Tiriamojo mėginio paruošimas. 250 ml ar 500 ml tiriamojo pieno mėginio atsargiai supilama į matavimo cilindrą. Kad pilant nesusidarytų putų, matavimo cilindras palenkiamas. Jeigu putų nepavyksta išvengti, jos nugriebiamos maišykle.
40. Analizė:
- 40.1. matavimo cilindras su tiriamuoju pieno mėginiu statomas ant horizontalaus paviršiaus. Išmatuojama tiriamojo mėginio temperatūra (t_1). Termometro rodmuo nustatomas ne anksčiau kaip praėjus 1 min. po termometro įmerkimo į mėginį;
- 40.2. paruoštas tyrimui areometras lėtai leidžiant įmerkiamas į tiriamąjį pieno mėginį tiek, kad iki matavimo skalės viršutinės ribos liktų 3–4 mm, ir paliekamas laisvai plūduriuoti. Areometras neturi liesti matavimo cilindro sienelių;
- 40.3. matavimo cilindro ir areometro padėtis turi būti taip apšviesta, kad gerai matytųsi jų skalės;
- 40.4. praėjus 1 min., kai areometras nusistovi, užrašomas pirmasis areometro skalės rodmuo (p_1). Skalės rodmuo atskaitomas pagal skalės menisko viršutinį kraštą. Po to areometras atsargiai pakeliamas ir vėl nuleidžiamas į tiriamąjį pieno mėginį ir paliekamas laisvai plūduriuoti. Analogiškai nustatomas antrasis skalės rodmuo (p_2). Nustatant skalės rodmenis analitiko akys turi būti menisko lygyje. Rodmuo gali būti atskaitomas iki pusės mažiausios skalės padalos vertės;
- 40.5. išmatavus tankį, vėl nustatoma tiriamojo mėginio temperatūra (t_2);
- 40.6. dviejų areometro skalės rodmenų p_1 ir p_2 skirtumas turi neviršyti $0,5 \text{ kg/m}^3$;
- 40.7. atliekant serijinius matavimus, baigus kiekvieno tiriamojo pieno mėginio matavimus, areometro apačia priglaudžiama prie vidinės matavimo cilindro sienelės ir nubėgus tiriamojo pieno mėginio likučiu areometras tuoj pat įmerkiamas į kitą matavimo cilindrą su tiriamuoju pieno mėginiu. Matavimai atliekami taip pat, kaip nurodyta 40.1–40.6 punktuose.
41. Kai tiriamojo pieno mėginio temperatūra 20 °C, iš dviejų temperatūros rodmenų (t_1 ir t_2) apskaičiuojamas aritmetinis vidurkis (t). Iš dviejų areometro rodmenų temperatūroje t apskaičiuojamas aritmetinis tankio vidurkis (ρ_{tvid}^{20}).
42. Kai tiriamojo pieno mėginio temperatūra kitokia nei 20 °C:
- 42.1. jeigu mažesnė nei 20 °C, tai tiriamojo mėginio tankis 20 °C temperatūroje apskaičiuojamas pagal formulę:
- $$\rho_t^{20} = \rho_t - (20 - t) \times k, \quad (2)$$
- 42.2. jeigu didesnė nei 20 °C, tai tiriamojo mėginio tankis 20 °C temperatūroje

apskaičiuojamas pagal formulę:

$$\rho_t^{20} = \rho_t + (t - 20) \times k, \quad (3)$$

kur:

ρ_t – tiriamojo pieno mėginio tankis matavimo temperatūroje, kg/m,

t – tiriamojo pieno mėginio temperatūra, °C,

k – koeficientas, kurio dydis, kai mėginio temperatūra:

nuo 3,0 °C iki 4,0 °C – 0,32;

nuo 4,5 °C iki 9,0 °C – 0,16;

nuo 9,5 °C iki 15,0 °C – 0,18;

nuo 15,5 °C iki 19,0 °C – 0,28;

nuo 19,5 °C iki 25,0 °C – 0,34;

42.3. kai pieno mėginio temperatūra didesnė arba mažesnė negu 20 °C, pieno tankio perskaičiavimas į tankį 20 °C temperatūroje pateikiamas 3–6 lentelėse.

PIENO TANKIO PERSKAIČIAVIMAS 20 °C TEMPERATŪROJE, KAI MĖGINIO TEMPERATŪRA (3,0–8,0) °C

3 lentelė

Išmatuotas tankis, kg/m ³	Perskaičiuotas tankis, kg/m ³ , 20 °C temperatūroje, kai mėginio temperatūra buvo, t °C										
	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0	5,5	6,0	6,5	7,0	7,5	8,0
1025,0	1021,34	1021,50	1021,66	1021,74	1021,82	1021,90	1021,98	1022,06	1022,14	1022,22	1022,30
1025,5	1021,84	1022,00	1022,16	1022,24	1022,32	1022,40	1022,48	1022,56	1022,64	1022,72	1022,80
1026,0	1022,34	1022,50	1022,66	1022,74	1022,82	1022,90	1022,98	1023,06	1023,14	1023,22	1023,30
1026,5	1022,84	1023,00	1023,16	1023,24	1023,32	1023,40	1023,48	1023,56	1023,64	1023,72	1023,80
1027,0	1023,34	1023,50	1023,66	1023,74	1023,82	1023,90	1023,98	1024,06	1024,14	1024,22	1024,30
1027,5	1023,84	1024,00	1024,16	1024,24	1024,32	1024,40	1024,48	1024,56	1024,64	1024,72	1024,80
1028,0	1024,34	1024,50	1024,66	1024,74	1024,82	1024,90	1024,98	1025,06	1025,14	1025,22	1025,30
1028,5	1024,84	1025,00	1025,16	1025,24	1025,32	1025,40	1025,48	1025,56	1025,64	1025,72	1025,80
1029,0	1025,34	1025,50	1025,66	1025,74	1025,82	1025,90	1025,98	1026,06	1026,14	1026,22	1026,30
1029,5	1025,84	1026,00	1026,16	1026,24	1026,32	1026,40	1026,48	1026,56	1026,64	1026,72	1026,80
1030,0	1026,34	1026,50	1026,66	1026,74	1026,82	1026,90	1026,98	1027,06	1027,14	1027,22	1027,30
1030,5	1026,84	1027,00	1027,16	1027,24	1027,32	1027,40	1027,48	1027,56	1027,64	1027,72	1027,80
1031,0	1027,34	1027,50	1027,66	1027,74	1027,82	1027,90	1027,98	1028,06	1028,14	1028,22	1028,30
1031,5	1027,84	1028,00	1028,16	1028,24	1028,32	1028,40	1028,48	1028,56	1028,64	1028,72	1028,80
1032,0	1028,34	1028,50	1028,66	1028,74	1028,82	1028,90	1028,98	1029,06	1029,14	1029,22	1029,30
1032,5	1028,84	1029,00	1029,16	1029,24	1029,32	1029,40	1029,48	1029,56	1029,64	1029,72	1029,80
1033,0	1029,34	1029,50	1029,66	1029,74	1029,82	1029,90	1029,98	1030,06	1030,14	1030,22	1030,30
1033,5	1029,84	1030,00	1030,16	1030,24	1030,32	1030,40	1030,48	1030,56	1030,64	1030,72	1030,80

1034,0	1030,3 4	1030,5 0	1030,66	1030,74	1030,8 2	1030,90	1030,98	1031,06	1031,14	1031,22	1031,30
1034,5	1030,8 4	1031,0 0	1031,16	1031,24	1031,3 2	1031,40	1031,48	1031,56	1031,64	1031,72	1031,80
1035,0	1031,3 4	1031,5 0	1031,66	1031,74	1031,8 2	1031,90	1031,98	1032,06	1032,14	1032,22	1032,30
1035,5	1031,8 4	1032,0 0	1032,16	1032,24	1032,3 2	1032,40	1032,48	1032,56	1032,64	1032,72	1032,80
1036,0	1032,3 4	1032,5 0	1032,66	1032,74	1032,8 2	1032,90	1032,98	1033,06	1033,14	1033,22	1033,30

**PIENO TANKIO PERSKAIČIAVIMAS 20 °C TEMPERATŪROJE, KAI MĖGINIO
TEMPERATŪRA (8,5–14,0) °C**

4 lentelė

Išmatuotas tankis, kg/m ³	Perskaičiuotas tankis, kg/m ³ , 20 °C temperatūroje, kai mėginio temperatūra buvo, t °C											
	8,5	9,0	9,5	10,0	10,5	11,0	11,5	12,0	12,5	13,0	13,5	14,0
1025,0	1022,3 8	1022,4 6	1022,5 5	1022,6 4	1022,7 3	1022,8 2	1022,9 1	1023,0 0	1023,0 9	1023,1 8	1023,2 7	1023,3 6
1025,5	1022,8 8	1022,9 6	1023,0 5	1023,1 4	1023,2 3	1023,3 2	1023,4 1	1023,5 0	1023,5 9	1023,6 8	1023,7 7	1023,8 6
1026,0	1023,3 8	1023,4 6	1023,5 5	1023,6 4	1023,7 3	1023,8 2	1023,9 1	1024,0 0	1024,0 9	1024,1 8	1024,2 7	1024,3 6
1026,5	1023,8 8	1023,9 6	1024,0 5	1024,1 4	1024,2 3	1024,3 2	1024,4 1	1024,5 0	1024,5 9	1024,6 8	1024,7 7	1024,8 6
1027,0	1024,3 8	1024,4 6	1024,5 5	1024,6 4	1024,7 3	1024,8 2	1024,9 1	1025,0 0	1025,0 9	1025,1 8	1025,2 7	1025,3 6
1027,5	1024,8 8	1024,9 6	1025,0 5	1025,1 4	1025,2 3	1025,3 2	1025,4 1	1025,5 0	1025,5 9	1025,6 8	1025,7 7	1025,8 6
1028,0	1025,3 8	1025,4 6	1025,5 5	1025,6 4	1025,7 3	1025,8 2	1025,9 1	1026,0 0	1026,0 9	1026,1 8	1026,2 7	1026,3 6
1028,5	1025,8 8	1025,9 6	1026,0 5	1026,1 4	1026,2 3	1026,3 2	1026,4 1	1026,5 0	1026,5 9	1026,6 8	1026,7 7	1026,8 6
1029,0	1026,3 8	1026,4 6	1026,5 5	1026,6 4	1026,7 3	1026,8 2	1026,9 1	1027,0 0	1027,0 9	1027,1 8	1027,2 7	1027,3 6
1029,5	1026,8 8	1026,9 6	1027,0 5	1027,1 4	1027,2 3	1027,3 2	1027,4 1	1027,5 0	1027,5 9	1027,6 8	1027,7 7	1027,8 6
1030,0	1027,3 8	1027,4 6	1027,5 5	1027,6 4	1027,7 3	1027,8 2	1027,9 1	1028,0 0	1028,0 9	1028,1 8	1028,2 7	1028,3 6
1030,5	1027,8 8	1027,9 6	1028,0 5	1028,1 4	1028,2 3	1028,3 2	1028,4 1	1028,5 0	1028,5 9	1028,6 8	1028,7 7	1028,8 6
1031,0	1028,3 8	1028,4 6	1028,5 5	1028,6 4	1028,7 3	1028,8 2	1028,9 1	1029,0 0	1029,0 9	1029,1 8	1029,2 7	1029,3 6
1031,5	1028,8 8	1028,9 6	1029,0 5	1029,1 4	1029,2 3	1029,3 2	1029,4 1	1029,5 0	1029,5 9	1029,6 8	1029,7 7	1029,8 6
1032,0	1029,3 8	1029,4 6	1029,5 5	1029,6 4	1029,7 3	1029,8 2	1029,9 1	1030,0 0	1030,0 9	1030,1 8	1030,2 7	1030,3 6
1032,5	1029,8 8	1029,9 6	1030,0 5	1030,1 4	1030,2 3	1030,3 2	1030,4 1	1030,5 0	1030,5 9	1030,6 8	1030,7 7	1030,8 6
1033,0	1030,3 8	1030,4 6	1030,5 5	1030,6 4	1030,7 3	1030,8 2	1030,9 1	1031,0 0	1031,0 9	1031,1 8	1031,2 7	1031,3 6
1033,5	1030,8 8	1030,9 6	1031,0 5	1031,1 4	1031,2 3	1031,3 2	1031,4 1	1031,5 0	1031,5 9	1031,6 8	1031,7 7	1031,8 6
1034,0	1031,3 8	1031,4 6	1031,5 5	1031,6 4	1031,7 3	1031,8 2	1031,9 1	1032,0 0	1032,0 9	1032,1 8	1032,2 7	1032,3 6
1034,5	1031,8 8	1031,9 6	1032,0 5	1032,1 4	1032,2 3	1032,3 2	1032,4 1	1032,5 0	1032,5 9	1032,6 8	1032,7 7	1032,8 6
1035,0	1032,3 8	1032,4 6	1032,5 5	1032,6 4	1032,7 3	1032,8 2	1032,9 1	1033,0 0	1033,0 9	1033,1 8	1033,2 7	1033,3 6

1035,5	1032,8	1032,9	1033,0	1033,1	1033,2	1033,3	1033,4	1033,5	1033,5	1033,6	1033,7	1033,8
	8	6	5	4	3	2	1	0	9	8	7	6
1036,0	1033,3	1033,4	1033,5	1033,6	1033,7	1033,8	1033,9	1034,0	1034,0	1034,1	1034,2	1034,3
	8	6	5	4	3	2	1	0	9	8	7	6

**PIENO TANKIO PERSKAIČIAVIMAS 20 °C TEMPERATŪROJE, KAI MĖGINIO
TEMPERATŪRA (14,5–19,0) °C**

5 lentelė

Išmatuotas tankis, kg/m ³	Perskaičiuotas tankis, kg/m ³ , 20 °C temperatūroje, kai mėginio temperatūra buvo, t °C										
	14,5	15,0	15,5	16,0	16,5	17,0	17,5	18,0	18,5	19,0	
1025,0	1023,45	1023,54	1023,68	1023,82	1023,96	1024,10	1024,24	1024,38	1024,52	1024,66	
1025,5	1023,95	1024,04	1024,18	1024,32	1024,46	1024,60	1024,74	1024,88	1025,02	1025,16	
1026,0	1024,45	1024,54	1024,68	1024,82	1024,96	1025,10	1025,24	1025,38	1025,52	1025,66	
1026,5	1024,95	1025,04	1025,18	1025,32	1025,46	1025,60	1025,74	1025,88	1026,02	1026,16	
1027,0	1025,45	1025,54	1025,68	1025,82	1025,96	1026,10	1026,24	1026,38	1026,52	1026,66	
1027,5	1025,95	1026,04	1026,18	1026,32	1026,46	1026,60	1026,74	1026,88	1027,02	1027,16	
1028,0	1026,45	1026,54	1026,68	1026,82	1026,96	1027,10	1027,24	1027,38	1027,52	1027,66	
1028,5	1026,95	1027,04	1027,18	1027,32	1027,46	1027,60	1027,74	1027,88	1028,02	1028,16	
1029,0	1027,45	1027,54	1027,68	1027,82	1027,96	1028,10	1028,24	1028,38	1028,52	1028,66	
1029,5	1027,95	1028,04	1028,18	1028,32	1028,46	1028,60	1028,74	1028,88	1029,02	1029,16	
1030,0	1028,45	1028,54	1028,68	1028,82	1028,96	1029,10	1029,24	1029,38	1029,52	1029,66	
1030,5	1028,95	1029,04	1029,18	1029,32	1029,46	1029,60	1029,74	1029,88	1030,02	1030,16	
1031,0	1029,45	1029,54	1029,68	1029,82	1029,96	1030,10	1030,24	1030,38	1030,52	1030,66	
1031,5	1029,95	1030,04	1030,18	1030,32	1030,46	1030,60	1030,74	1030,88	1031,02	1031,16	
1032,0	1030,45	1030,54	1030,68	1030,82	1030,96	1031,10	1031,24	1031,38	1031,52	1031,66	
1032,5	1030,95	1031,04	1031,18	1031,32	1031,46	1031,60	1031,74	1031,88	1032,02	1032,16	
1033,0	1031,45	1031,54	1031,68	1031,82	1031,96	1032,10	1032,24	1032,38	1032,52	1032,66	
1033,5	1031,95	1032,04	1032,18	1032,32	1032,46	1032,60	1032,74	1032,88	1033,02	1033,16	
1034,0	1032,45	1032,54	1032,68	1032,82	1032,96	1033,10	1033,24	1033,38	1033,52	1033,66	
1034,5	1032,95	1033,04	1033,18	1033,32	1033,46	1033,60	1033,74	1033,88	1034,02	1034,16	
1035,0	1033,45	1033,54	1033,68	1033,82	1033,96	1034,10	1034,24	1034,38	1034,52	1034,66	
1035,5	1033,95	1034,04	1034,18	1034,32	1034,46	1034,60	1034,74	1034,88	1035,02	1035,16	
1036,0	1034,45	1034,54	1034,68	1034,82	1034,96	1035,10	1035,24	1035,38	1035,52	1035,66	

**PIENO TANKIO PERSKAIČIAVIMAS 20 °C TEMPERATŪROJE, KAI MĖGINIO
TEMPERATŪRA (19,0–25,0) °C**

6 lentelė

Išmatuotas tankis, kg/m ³	Perskaičiuotas tankis, kg/m ³ , 20 °C temperatūroje, kai mėginio temperatūra buvo, t °C											
	19,5	20,0	20,5	21,0	21,5	22,0	22,5	23,0	23,5	24,0	24,5	25,0
1025,0	1024,83	1025,0	1025,17	1025,34	1025,51	1025,68	1025,85	1026,02	1026,19	1026,36	1026,53	1026,70
1025,5	1025,33	1025,5	1025,67	1025,84	1026,01	1026,18	1026,35	1026,52	1026,69	1026,86	1027,03	1027,20
1026,0	1025,83	1026,0	1026,17	1026,34	1026,51	1026,68	1026,85	1027,02	1027,19	1027,36	1027,53	1027,70
1026,5	1026,33	1026,5	1026,67	1026,84	1027,01	1027,18	1027,35	1027,52	1027,69	1027,86	1028,03	1028,20
1027,0	1026,83	1027,0	1027,17	1027,34	1027,51	1027,68	1027,85	1028,02	1028,19	1028,36	1028,53	1028,70
1027,5	1027,33	1027,5	1027,67	1027,84	1028,01	1028,18	1028,35	1028,52	1028,69	1028,86	1029,03	1029,20
1028,0	1027,83	1028,0	1028,17	1028,34	1028,51	1028,68	1028,85	1029,02	1029,19	1029,36	1029,53	1029,70
1028,5	1028,33	1028,5	1028,67	1028,84	1029,01	1029,18	1029,35	1029,52	1029,69	1029,86	1030,03	1030,20

1029,0	1028,8 3	1029,0	1029,1 7	1029,3 4	1029,5 1	1029,6 8	1029,8 5	1030,0 2	1030,1 9	1030,3 6	1030,5 3	1030,7 0
1029,5	1029,3 3	1029,5	1029,6 7	1029,8 4	1030,0 1	1030,1 8	1030,3 5	1030,5 2	1030,6 9	1030,8 6	1031,0 3	1031,2 0
1030,0	1029,8 3	1030,0	1030,1 7	1030,3 4	1030,5 1	1030,6 8	1030,8 5	1031,0 2	1031,1 9	1031,3 6	1031,5 3	1031,7 0
1030,5	1030,3 3	1030,5	1030,6 7	1030,8 4	1031,0 1	1031,1 8	1031,3 5	1031,5 2	1031,6 9	1031,8 6	1032,0 3	1032,2 0
1031,0	1030,8 3	1031,0	1031,1 7	1031,3 4	1031,5 1	1031,6 8	1031,8 5	1032,0 2	1032,1 9	1032,3 6	1032,5 3	1032,7 0
1031,5	1031,3 3	1031,5	1031,6 7	1031,8 4	1032,0 1	1032,1 8	1032,3 5	1032,5 2	1032,6 9	1032,8 6	1033,0 3	1033,2 0
1032,0	1031,8 3	1032,0	1032,1 7	1032,3 4	1032,5 1	1032,6 8	1032,8 5	1033,0 2	1033,1 9	1033,3 6	1033,5 3	1033,7 0
1032,5	1032,3 3	1032,5	1032,6 7	1032,8 4	1033,0 1	1033,1 8	1033,3 5	1033,5 2	1033,6 9	1033,8 6	1034,0 3	1034,2 0
1033,0	1032,8 3	1033,0	1033,1 7	1033,3 4	1033,5 1	1033,6 8	1033,8 5	1034,0 2	1034,1 9	1034,3 6	1034,5 3	1034,7 0
1033,5	1033,3 3	1033,5	1033,6 7	1033,8 4	1034,0 1	1034,1 8	1034,3 5	1034,5 2	1034,6 9	1034,8 6	1035,0 3	1035,2 0
1034,0	1033,8 3	1034,0	1034,1 7	1034,3 4	1034,5 1	1034,6 8	1034,8 5	1035,0 2	1035,1 9	1035,3 6	1035,5 3	1035,7 0
1034,5	1034,3 3	1034,5	1034,6 7	1034,8 4	1035,0 1	1035,1 8	1035,3 5	1035,5 2	1035,6 9	1035,8 6	1036,0 3	1036,2 0
1035,0	1034,8 3	1035,0	1035,1 7	1035,3 4	1035,5 1	1035,6 8	1035,8 5	1036,0 2	1036,1 9	1036,3 6	1036,5 3	1036,7 0
1035,5	1035,3 3	1035,5	1035,6 7	1035,8 4	1036,0 1	1036,1 8	1036,3 5	1036,5 2	1036,6 9	1036,8 6	1037,0 3	1037,2 0
1036,0	1035,8 3	1036,0	1036,1 7	1036,3 4	1036,5 1	1036,6 8	1036,8 5	1037,0 2	1037,1 9	1037,3 6	1037,5 3	1037,7 0

43. Rezultatai išreiškiami vienos dešimtosios tikslumu. Pieno tankis (ρ_{p}^{20}) turi būti nurodomas taip:

$$\rho_{\text{p}}^{20} = \rho_{\text{t}}^{20}$$

kur: ρ_{t}^{20} – tiriamojo mėginio tankis 20 C temperatūroje, kg/m³.

44. Dviejų nepriklausomų atskirų tyrimų rezultatų absoliutūs skirtumai, gauti vieno analitiko per įmanomą trumpiausią laiką toje pačioje laboratorijoje su ta pačia įranga ir tuo pačiu metodu tiriant tapačius mėginius, turi neviršyti 0,25 kg/m³.

VII. SODOS NUSTATYMAS

45. Metodai taikomi sodai piene nustatyti.

46. Sodos kokybinio nustatymo metodo esmė – bromtimolio mėlynojo indikatoriaus tirpalo spalvos pasikeitimas įpylus jį į pieną, kuriame yra sodos (natrio karbonato arba natrio vandenilio karbonato).

47. Analizei naudojamas degazuotas arba prieš naudojimą 10 min. pavirintas, mažiausiai 3-iojo grynumo laipsnio analizės vanduo pagal LST EN ISO 3696 ir tik analiziškai grynai reagentai:

47.1. etilo alkoholis;

47.2. bromtimolio mėlynojo spiritinis tirpalas. Pasverama 0,1 g bromtimolio mėlynojo ir ištirpinama nedideliame kiekyje etilo alkoholio ir juo skiedžiama iki 250 ml vienažymėje matavimo kolboje.

48. Naudojama įprastinė laboratorinė įranga ir toliau išvardytos priemonės:

48.1. analizinės svarstyklės, kuriomis galima pasverti $\pm 0,01$ g tikslumu;

48.2. sekundmatis;

48.3. pipetė, 5 ml tūrio;

48.4. vienažymė matavimo kolba, 250 ml tūrio;

48.5. mėgintuvėliai.

49. Analizė. Į sausą arba distiliuotu vandeniu perplautą mėgintuvėlį įpilama 5 ml pieno mėginio ir įlašinama 7–8 lašai bromtimolio mėlynos spiritinio tirpalo. Tirpalas lašinamas atsargiai, nutekinant lašus į mėginį mėgintuvėlio sienoje. Po 10 min. įvertinama mėgintuvėlio paviršiuje susidariusio žiedinio sluoksnio spalva.

50. Jeigu žiedinio sluoksnio spalva geltona, tai tiriamajame mėginyje sodos nėra, jeigu spalva žalia (įvairių atspalvių, nuo šviesiai iki tamsiai žalios), tai tiriamajame mėginyje yra sodos.

Tikslesniam rezultatų įvertinimui ruošiamas kontrolinis pieno, kuriame nėra sodos, mėginys.

51. Sodos kiekybinio nustatymo metodo esmė – pieno mėginio mineralizavimas jį sudeginant ir pelenų šarmingumo nustatymas titravimo būdu.

52. Analizei naudojamas degazuotas arba prieš naudojimą 10 min. pavirintas, mažiausiai 3-iojo grynumo laipsnio analizės vanduo pagal LST EN ISO 3696 ir tik analiziškai grynai reagentai:

52.1. 0,1 mol/l druskos rūgšties (HCl) tirpalas. Gaminamas iš fiksantio;

52.2. natrio hidroksido (NaOH) tirpalai:

52.2.1. 0,1 mol/l natrio hidroksido etaloninis titravimo tirpalas. Gaminamas iš fiksantio;

52.2.2. 10 proc. natrio hidroksido tirpalas. Pasveriamas 10 g natrio hidroksido ir ištirpinama 90 ml vandens;

52.3. kalcio chloridas ($\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$);

52.4. etilo alkoholis;

52.5 fenolftaleino tirpalas. 1 g fenolftaleino ištirpinama nedideliame kiekyje 70 proc. etilo alkoholio ir juo vienažymėje matavimo kolboje praskiedžiama iki 100 ml.

53. Naudojama įprastinė laboratorinė įranga ir toliau išvardytos priemonės:

53.1. analizinės svarstyklės, kuriomis galima pasverti $\pm 0,01$ g tikslumu;

53.2. pipetės 10 ml tūrio;

53.3. biuretė, sugraduota 0,1 ml padalomis;

53.4. kūginės kolbos 100, 150, 200 ir 1000 ml tūrio;

53.5. vienažymės matavimo kolbos 100 ir 1000 ml tūrio;

53.6. vandens vonia, kurioje palaikoma $(60 \pm 5)^\circ\text{C}$ temperatūra;

53.7. mufelinė krosnis;

53.8. porcelianiniai tigliai;

53.9. eksikatorius.

54. Pasiruošimas analizei:

54.1. Natrio hidroksido tirpalo pataisos koeficiento nustatymas. Į kūginę 100 ml kolbą įpilama 10 ml 0,1 mol/l druskos rūgšties tirpalo. Įlašinama 3 lašai fenolftaleino tirpalo, išmaišoma ir titruojama natrio hidroksido tirpalu iki silpnai rausvos spalvos.

Pataisos koeficientas (K) natrio hidroksido tirpalui apskaičiuojamas pagal formulę:

$$K = \frac{V_1}{V_2} \quad (4)$$

kur: V_1 – 0,1 mol/l druskos rūgšties tirpalo kiekis, ml;

V_2 – sunaudoto titravimui natrio hidroksido 0,1 mol/l tirpalo kiekis, ml.

54.2. Sočiojo kalcio chlorido tirpalo paruošimas. Pasveriamas 400 g kalcio chlorido, suberiama į 1000 ml vienažymę matavimo kolbą ir įpilama 100 ml vandens. Šildoma vandens vonioje, kol kalcio chloridas visiškai ištirpsta. Po to tirpalas atvėsinaamas iki $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$. Ant kolbos dugno nusėda susidarę kalcio chlorido kristalai. Į kolbą įlašinama 3–5 lašai fenolftaleino tirpalo ir kalcio chlorido tirpalas neutralizuojamas, įpylus 10 proc. natrio hidroksido tirpalo (52.2.2), kol nusidažo silpnai rausva spalva.

54.3. Tiglių paruošimas. Prieš naudojant tigliai perplaunami druskos rūgšties tirpalu, po to vandeniu ir kaitinami iki pastovios masės. Iškaitinti tigliai laikomi eksikatoriuje.

55. Analizė. Į tiglių sveriamas 10 g pieno mėginio ir vandens vonioje išgarinama. Po to deginama ant elektrinės viryklės. Galutinai sudeginama mufelinėje krosnyje $(500 \pm 50)^\circ\text{C}$ temperatūroje. Deginama, kol pelenai tiglyje tampa baltos spalvos.

Baigus deginti, į tiglių įpilama 10 ml druskos rūgšties tirpalo ir viskas supilama į 100 ml

kolbą. Tiglis, du kartus įpilant po 25 ml, perplaunamas virintu vandeniu ir vanduo supilamas į tą pačią kolbą. Kolba su tirpalu kaitinama ant elektrinės viryklės, kol pradeda silpnai virti. Pradėjus virti pakaitinama 1 min.

Po to tirpalas atvėsinaamas iki (20 ± 2) °C temperatūros, įlašinama 2–3 lašai fenoltaleino tirpalo ir 3–5 lašai neutralizuoto sočiojo kalcio chlorido tirpalo. Titruojama 0,1 mol/l natrio hidroksido (NaOH) etaloniniu titravimo tirpalu (52.2.1) iki silpnai rausvos spalvos, kuri per 1 min. turi nepakisti.

56. Sodos kiekis (X) procentais, perskaičiavus į natrio karbonatą, apskaičiuojamas pagal formulę:

$$X = \frac{(V_1 - V_2 \cdot K) \cdot 0,0106 \cdot 100}{m} - 0,025 \quad (5)$$

kur:

V_1 – įpilto 0,1 mol/l druskos rūgšties tirpalo kiekis, ml;

V_2 – sunaudoto titravimui 0,1 mol/l natrio hidroksido (NaOH) etaloninio tirpalo kiekis, ml;

K – natrio hidroksido (NaOH) etaloninio titravimo tirpalo pataisos koeficientas;

0,0106 – perskaičiavimo koeficientas;

m – mėginio masė gramais;

0,025 – natūraliame piene esantis sodos kiekis, proc.

57. Galutinis rezultatas yra dviejų lygiagrečių analizių vidurkis. Dviejų nepriklausomų atskirų tyrimų rezultatų absoliutūs skirtumai, gauti vieno analitiko per įmanomą trumpiausią laiką toje pačioje laboratorijoje su ta pačia įranga ir tuo pačiu metodu tiriant tapačius mėginius, turi neviršyti 0,01 proc.

VIII. VANDENILIO PEROKSIDO NUSTATYMAS

58. Metodas taikomas vandenilio peroksido kiekiui piene nustatyti.

59. Metodo esmė – vandenilio peroksido sąveika su kalio jodidu. Išsiskyręs jodas, reaguodamas su krakmolu, nusidažo mėlynai.

60. Analizei naudojamas degazuotas arba prieš naudojimą 10 min. pavirintas, mažiausiai 3-iojo grynumo laipsnio analizės vanduo pagal LST EN ISO 3696 ir tik analiziškai grynai reagentai:

60.1. koncentruota sieros rūgštis (H_2SO_4), $\rho = 1,83-1,84 \text{ g/cm}^3$;

60.2. kalio jodidas (KJ);

60.3. bulvių krakmolai.

61. Naudojama įprastinė laboratorinė įranga ir toliau išvardytos priemonės:

61.1. analizinės svarstyklės, kuriomis galima pasverti $\pm 0,01 \text{ g}$ tikslumu;

61.2. pipetės 1 ml tūrio;

61.3. stiklinės 150 ir 250 ml tūrio;

61.4. matavimo cilindrai 100 ir 500 ml tūrio;

61.5. kūginės kolbos 100 ir 250 ml tūrio;

61.6. sekundmatis;

61.7. mėgintuvėliai;

61.8. vandens vonia, kurioje palaikoma (35 ± 5) °C temperatūra.

62. Pasiruošimas analizei:

62.1. Sieros rūgšties tirpalo paruošimas. Į 3 tūrius vandens įpilamas 1 tūris koncentruotos sieros rūgšties ir gerai sumaišoma.

62.2. Kalio jodido ir krakmolo tirpalų mišinio paruošimas. Į cheminę stiklinę atsveriamas 3 g krakmolo, užpilama 20 ml vandens, išmaišoma. Po to nuolat maišant įpilama 80 ml verdančio vandens ir atšaldoma. Lygiagrečiai paruošiamas kalio jodido tirpalas. Atsveriamas 3 g kalio jodido ir ištirpinama 5–10 ml vandens. Kalio jodido tirpalas supilamas į krakmolo tirpalą. Mišinys kruopščiai išmaišomas ir laikomas tamsoje, šaldytuve. Pagamintą tirpalą galima naudoti ne ilgiau kaip 5 paras.

62.3. Mėginio paruošimas. Prieš analizę mėginys vandens vonioje pašildomas iki (35 ± 5) °C, kruopščiai išmaišomas ir atvėsinaamas iki (20 ± 2) °C temperatūros.

63. Analizė. Į mėgintuvėlį įpilama 1 ml tiriamojo pieno. Kruopščiai, nemaišant įlašinami du lašai sieros rūgšties tirpalo, 0,2 ml kalio jodido ir krakmolo tirpalų mišinio. Po 10 min. stebimas mėgintuvėlio turinio spalvos pasikeitimas.

64. Rezultatai įvertinami stengiantis nesujudinti mėgintuvėlio turinio. Jei jame pastebimos mėlynos dėmės, vadinasi, piene yra vandenilio peroksido priemaišų.

65. Metodo jautrumas yra 0,001 proc. vandenilio peroksido.

IX. AMONIAKO NUSTATYMAS

66. Metodas skirtas amoniako kiekiui žaliame piene nustatyti.

67. Metodo esmė – pieno baltymų nusodinimas rūgštimi ir išrūgų spalvos pasikeitimas, sumaišius jas su Neslerio reagentu.

68. Analizei naudojamas degazuotas arba prieš naudojimą 10 min. pavirintas, mažiausiai 3-iojo grynumo laipsnio analizės vanduo pagal LST EN ISO 3696 ir tik analiziškai grynai reagentai:

68.1. Neslerio reagentas. Laikomas tamsioje, šaltoje vietoje ne ilgiau kaip 12 mėn.

68.2. 10 proc. acto rūgšties (CH_3COOH) tirpalas. Matavimo cilindru pamatuojama 10 ml koncentruotos acto rūgšties. Į stiklinę įpilama 90 ml vandens, įpilama iš cilindro koncentruota acto rūgštis ir kruopščiai sumaišoma.

69. Naudojama įprastinė laboratorinė įranga ir toliau išvardytos priemonės:

69.1. termometras, kurio matavimo ribos nuo 0 iki 100 °C;

69.2. sekundmetis;

69.3. stiklinės 50 ir 200 ml tūrio;

69.4. matavimo cilindrai 25 ir 50 ml tūrio;

69.5. mėgintuvėliai 20 ml tūrio;

69.6. pipetės 1 ir 2 ml tūrio;

69.7. vandens vonia, kurioje galima palaikyti (40 ± 5) °C temperatūrą.

70. Analizuoti pradėdama ne anksčiau kaip 2 val. po pamelžimo. Pieno baltymams nusodinti į cheminę stiklinę matavimo cilindru pamatuojama (20 ± 2) ml mėginio ir vandens vonioje 2–3 min. pašildoma iki $(40\text{--}45)$ °C temperatūros. Į pašildytą mėginį įpilama 1 ml acto rūgšties tirpalo. Išmaišoma ir paliekama 10 min., kad koaguluotų kazeinas.

71. Pipete pamatuojama 2 ml išrūgų (svarbu, kad nepatektų kazeino dribsnių) ir supilama į mėgintuvėlį. Į tą patį mėgintuvėlį įpilama 1 ml Neslerio reagento ir tuoj pat sumaišoma. 1 min. stebimas spalvos pasikeitimas.

Matuojant Neslerio reagentą būtina naudoti specialų matavimo prietaisą arba pipetę su gumine kriauše.

72. Jeigu mėgintuvėlyje esantis mišinys tampa citrinos geltonumo spalvos, tai amoniako kiekis būdingas natūraliam pienui.

Jeigu mėgintuvėlio turinys tampa įvairaus intensyvumo oranžinis – amoniako kiekis piene didesnis už natūralų.

73. Metodo jautrumas yra 0,006–0,009 proc. amoniako.

X. INHIBITORINIŲ (SLOPINANČIŲJŲ) MEDŽIAGŲ NUSTATYMAS PIENE SPARČIAISIAIS METODAIS

74. Antibiotikų, turinčių beta-laktaminį žiedą, nustatymas naudojant preparatus *Penzym* (spartusis metodas).

74.1. Metodo esmė. Metodas pagrįstas tuo, kad naudojamas fermentas DD-karboksipeptidazė, hidrolizuojanti *R-D-Ala-D-Ala* tipo sintetinius substratus ir greitai reaguojanti su beta-laktaminį žiedą turinčiais antibiotikais, sudarydama pastovų kompleksą.

Šiuo metodu galima aptikti piene nuo 0,0025 ir daugiau kaip 0,0064 TV penicilino mililitre, naudojant preparatus *Penzym S*, ir nuo 0,005 ir daugiau kaip 0,017 TV penicilino mililitre, naudojant preparatus *Penzym*.

74.2. Naudojama įprastinė, toliau nurodyta specialioji mikrobiologijos laboratorijos įranga ir priemonės:

74.2.1 naudojant *Penzym* preparatus:

74.2.1.1. termostatas arba vandens vonia, kuriuose galima palaikyti $(47 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ temperatūrą;

74.2.1.2. pipetės, 10 μl ir 50 μl vardinio tūrio, su vienkartiniais antgaliais;

74.2.1.3. 1 ml dozavimo švirkštas (pipetė);

74.2.1.4. *Eppendorf* mėgintuvėliai, 1,5 ml, kūginiai, su kamšteliais;

74.2.2. naudojant *Penzym S* preparatus:

74.2.2.1. termostatas arba vandens vonia, kuriuose galima palaikyti $(47 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ temperatūrą;

74.2.2.2. pipetės, 10 μl ir 100 μl vardinio tūrio, su vienkartiniais antgaliais;

74.2.2.3. 1 ml dozavimo švirkštas (pipetė);

74.2.2.4. *Eppendorf* mėgintuvėliai, 1,5 ml, kūginiai, su kamšteliais.

74.2.3. *Penzym* ar *Penzym S* rinkinys (*UCB-Bioproductions* firmos, Belgija), kuriame yra:

74.2.3.1. buteliukas su fermentu DD-karboksiptidaze (toliau – reagentas Nr. 1);

74.2.3.2. buteliukas su tabletėmis, kurias sudaro visi kiti būtini reagentai (toliau – reagentas Nr. 2);

74.2.3.3. pincetas;

74.2.3.4. spalvų skalė, atitinkanti *Penzym* arba *Penzym S* rinkinį.

PASTABA. Reagentą Nr. 1 ir reagentą Nr. 2 galima laikyti 12 mėn. tamsoje, 4°C temperatūroje.

74.3. Pasiruošimas tyrimui. Tyrimui naudojamas *UCB-Bioproductions* firmos (Belgija) fermentas DD-karboksiptidazė. Prieš naudojimą į buteliuką su liofilizuotu fermentu (reagentas Nr. 1) įpilama 1 ml šalto sterilaus distiliuoto vandens. Rekomenduojama sterilų distiliuotą vandenį pilti švirkštu per guminį kamštuką ir sumaišyti neplakant. Fermento tirpalą galima laikyti 1 mėn. tamsoje, 4°C temperatūroje.

PASTABA. Rekomenduojama buteliuką su reagentu Nr. 2, išėmus iš šaldytuvo, keletą minučių palaikyti kambario temperatūroje, kad buteliuke nesikondensuotų drėgmė.

74.4. Tyrimo eiga:

PASTABA. Tyrimo metu vengti tiesioginių saulės spindulių.

74.4.1. tyrimas naudojant preparatus *Penzym*. Į *Eppendorf* mėgintuvėlius įpilama 10 μl reagento Nr. 1 ir 50 μl tiriamojo pieno, mėgintuvėliai sukamai papurtomi, kad jų turinys susimaišytų arba sumaišoma purtant mechaniniu maišytuvu. Neužkimšti mėgintuvėliai laikomi 5 min. termostate ar vandens vonioje $(47 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ temperatūroje. Tuo tarpu pasiruošiama kitam etapui: po vieną tabletę reagento Nr. 2 pincetu įdedama į kiekvieną termostate ar vandens vonioje laikomo mėgintuvėlio kamštelį. Praėjus 5 min. mėgintuvėliai užkemšami kamšteliais, tabletės sukrenta į mėgintuvėlius. Mėgintuvėliai atsargiai supurtomi, kad tabletės nusileistų ant dugno. Po to užkimšti mėgintuvėliai laikomi 8 min. termostate ar vandens vonioje $(47 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ temperatūroje. Išimtų iš termostato ar vandens vonios mėginių negalima laikyti ilgiau kaip 15 sek.;

74.4.2. tyrimas naudojant preparatus *Penzym S*. Į *Eppendorf* mėgintuvėlius įpilama 10 μl reagento Nr. 1 ir 100 μl tiriamojo pieno, mėgintuvėliai sukamai papurtomi, kad jų turinys susimaišytų arba sumaišoma purtant mechaniniu maišytuvu. Neužkimšti mėgintuvėliai laikomi 7,5 min. termostate ar vandens vonioje $(47 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ temperatūroje. Tuo tarpu pasiruošiama kitam etapui: po vieną tabletę reagento Nr. 2 pincetu įdedama į kiekvieną termostate ar vandens vonioje laikomo mėgintuvėlio kamštelį. Praėjus 7,5 min. mėgintuvėliai užkemšami kamšteliais, tabletės sukrenta į mėgintuvėlius. Mėgintuvėliai atsargiai supurtomi, kad tabletės nusileistų ant dugno. Po to užkimšti mėgintuvėliai laikomi 15 min. termostate ar vandens vonioje $(47 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ temperatūroje. Išimtų iš termostato ar vandens vonios mėginių negalima laikyti ilgiau kaip 15 sek.

74.5. Rezultatų vertinimas:

74.5.1. vertinimas, kai tyrimui buvo naudoti *Penzym* preparatai:

74.5.1.1. pirmą kartą vertinama, praėjus 8 min. nuo tabletės įdėjimo į mėgintuvėlį;

74.5.1.2. kai tabletės spalva rausva, panaši į persikų ar rausvai oranžinė, tiriamajame piene nėra antibiotikų;

74.5.1.3. kai dominuoja geltoni tonai (tarp persikų ir geltonos spalvos) – tiriamajame piene gali būti antibiotikų. Tada mėginiai papildomai laikomi termostate ar vandens vonioje dar 7 min. Išėmus mėgintuvėlius su mėginiais iš termostato ar vandens vonios, tuoj pat vertinama spalva aplink tabletę, lyginant su spalvų skale (74.2.3.4 punktas);

74.5.1.4. kai spalva rausvai oranžinė (pirmas skalės langelis) – tiriamajame piene nėra antibiotikų (mažiau kaip 0,005 TV penicilino mililitre);

74.5.1.5. kai spalva yra panaši į persikų (antras skalės langelis) – įtariama, kad tiriamajame piene antibiotikų yra apie 0,008 TV penicilino mililitre;

74.5.1.6. kai spalva geltona (trečias skalės langelis) – tiriamajame piene antibiotikų daugiau kaip 0,017 TV penicilino mililitre.

74.5.2. vertinimas, kai tyrimui buvo naudoti *Penzym S* preparatai:

74.5.2.1. išėmus mėgintuvėlius su mėginiais iš termostato ar vandens vonios, tuoj pat vertinama spalva aplink tabletę, lyginant su spalvų skale (74.2.3.4 punktas);

74.5.2.2. kai spalva persikų-oranžinė (pirmas skalės langelis) – tiriamajame piene antibiotikų nėra (mažiau kaip 0,0025 TV penicilino mililitre);

74.5.2.3. kai spalva geltonai oranžinė (antras skalės langelis) – tiriamajame piene yra antibiotikų nuo 0,005 TV iki 0,006 TV penicilino mililitre;

74.5.2.4. kai spalva geltona (trečias skalės langelis) – tiriamajame piene antibiotikų daugiau kaip 0,0064 TV penicilino mililitre.

PASTABA. Tiriami ir rezultatai vertinami pagal gamintojo (*UCB-Bioproducts* firmos, Belgija) nurodymus, naudojantis gamintojo pridėtomis spalvų skalėmis *Penzym* ir *Penzym S* rinkiniuose.

75. Antibiotikų, turinčių beta-laktaminį žiedą, nustatymas naudojant preparatus *BetaStar* (spartusis metodas).

75.1. Metodo esmė. Metodas pagrįstas specifine beta-laktaminį žiedą turinčių antibiotikų receptoriaus, susijungusio su aukso dalelėmis, ir šių antibiotikų, esančių piene, sąveika. Pirmajame etape, inkubuojant nurodytą receptoriaus kiekį su pienu, turinčiu antibiotikų, įvyksta antibiotikų sąveika su receptoriu. Antrajame etape chromatografinė indikacinė juostelė nustatoma, ar tokia sąveika buvo. Ant juostelės esantis biomolekulių ruoželis sustabdo receptoriaus molekules, kurių neužblokavo antibiotikai, ir suformuoja pirmąją (apatinę) raudoną liniją. Antroji raudona linija yra kontrolinė, palyginamoji. Jeigu antibiotikai užblokuoja visus receptorius, tai pirmoji raudona linija nesusiformuoja, o tai rodo, jog beta-laktaminį žiedą turinčių antibiotikų kiekis tiriamajame piene yra lygus arba didesnis kaip minimali jų aptikimo šiuo metodu riba.

Šiuo metodu galima aptikti mililitre pieno $0,003 \pm 0,001$ TV penicilino ir firmos gamintojos nurodytus kitų antibiotikų kiekius. *BetaStar 25* skirtas 25, o *BetaStar 100* – 100 pieno mėginių tirti.

75.2. Naudojama įprastinė, toliau nurodyta specialioji mikrobiologijos laboratorijos įranga ir priemonės:

75.2.1. naudojant preparatus *BetaStar 25*:

75.2.1.1. termostatas, kuriame galima palaikyti $(47,5 \pm 0,5)$ °C temperatūrą;

75.2.1.2. *BetaStar 25* testo rinkinys (*UCB-Bioproducts* firmos, Belgija), kurį sudaro: 25 buteliukai su liofilizuotu receptoriu, 25 vienkartiniai švirkšto antgaliai, 25 indikacinės juostelės ir automatinis dozavimo švirkštas 0,2 ml tūriui matuoti;

75.2.2. naudojant preparatus *BetaStar 100*:

75.2.2.1. termostatas, kuriame galima palaikyti $(47,5 \pm 0,5)$ °C temperatūrą;

75.2.2.2. pipetės, 25 µl, 100 µl ir 1350 µl vardinio tūrio, su vienkartiniais antgaliais;

75.2.2.3. *Eppendorf* mėgintuvėliai, 1,5 ml, kūginiai, su kamšteliais;

75.2.2.4. *BetaStar 100* testo rinkinys (*UCB-Bioproducts* firmos, Belgija), kurį sudaro: 2 buteliukai su liofilizuotu receptoriu (vienas buteliukas skirtas 50 pieno mėginių) ir 4 indeliai su 25 indikacinėmis juostelėmis kiekviename.

75.3. Pasiruošimas tyrimui:

75.3.1. *BetaStar 25* testui pasiruošimo nereikia;

75.3.2 *BetaStar 100* testo rinkinyje esančio sublimacinio džiovinimo būdu pagaminti receptoriaus milteliai prieš naudojimą turi būti ištirpinti vandenyje. Gautas tirpalas iš vieno buteliuko turi būti išpilstytas į 50 kūginių *Eppendorf* mėgintuvėlių ir sunaudotas per vieną dieną kai tirpalas laikomas nuo 2 °C iki 8 °C temperatūroje, arba per 5 dienas, kai tirpalas sušaldomas ir laikomas šaldykloje. Prieš ruošiant tirpalą buteliukas su receptoriumi supurtomas, nuimama plomba ir guminis kamštelis. Pipete į buteliuką įpilama 1350 µl šalto distiliuoto vandens, jis užkemšamas guminiu kamšteliu ir pamažu pasukiojamas, kad ištirtų milteliai. Gautas tirpalas išpilstomas po 25 µl į kūginius *Eppendorf* mėgintuvėlius. Mėgintuvėliai užkemšami ir iki naudojimo laikomi šaltai.

75.4. Tyrimo eiga:

75.4.1. tyrimas naudojant preparatus *BetaStar 25*:

75.4.1.1. iš šaldytuvo išimama dėžutė, paimamas buteliukas su receptoriumi ir atsargiai supurtoma, nuimama plomba bei guminis kamštelis;

75.4.1.2. vienkartinis antgalis uždedamas ant švirkšto. Švirkšto stūmoklis įstumiamas iki galo, antgalis įmerkiamas 1 cm į tiriamąjį pieną, stūmoklis lėtai atleidžiamas. Paimtas 0,2 ml pieno mėginys švirkštu suleidžiamas į buteliuką. Buteliukas užkemšamas guminiu kamščiu, atsargiai pamažu pasukiojamas, kol ištirps sausosios medžiagos. Laikoma 3 min. (47,5±0,5) °C temperatūroje;

75.4.1.3. sausomis, švariomis rankomis atidengiamas indelis su chromatografinėmis indikacinėmis juostelėmis. Laikant už mėlynos galo paimama viena indikacinė juostelė ir įmerkiama į tiriamąjį pieną buteliuke. Ant indikacinės juostelės esančios rodyklės turi būti nukreiptos į buteliuko dugną. Laikoma 2 min. (47,5±0,5) °C temperatūroje. Indikacinė juostelė išimama, ir analizuojami tyrimo rezultatai.

75.4.2. tyrimas naudojant preparatus *BetaStar 100*:

75.4.2.1. į kūginį *Eppendorf* mėgintuvėlį su receptoriaus tirpalu (75.3.2 p.) pipete įpilama 100 µl tiriamojo pieno, išmaišoma ir laikoma 3 min. (47,5±0,5) °C temperatūroje;

75.4.2.2. sausomis, švariomis rankomis atidengiamas indelis su chromatografinėmis indikacinėmis juostelėmis. Laikant už mėlynos galo paimama viena indikacinė juostelė ir įmerkiama į tiriamąjį pieną mėgintuvėlyje. Ant indikacinės juostelės esančios rodyklės turi būti nukreiptos į mėgintuvėlio dugną. Laikoma 2 min. (47,5±0,5) °C temperatūroje. Indikacinė juostelė išimama ir analizuojami tyrimo rezultatai.

75.5. Rezultatų vertinimas:

75.5.1. kai pirmoji (apatinė) raudona linija ant indikacinės juostelės yra ryškesnė už antrąją (palyginamąją), testas laikomas neigiamu, t. y. tiriamajame pieno mėginyje antibiotikų nėra;

75.5.2. kai pirmoji linija yra panaši arba mažiau ryški lyginant su antrąja, tai reiškia, kad tiriamajame pieno mėginyje antibiotikų yra, bet jų kiekis ne didesnis kaip minimali jų aptikimo šiuo testu riba;

75.5.3. kai pirmosios linijos nėra, testas laikomas teigiamu, – antibiotikų kiekis lygus arba didesnis kaip minimali jų aptikimo šiuo testu riba;

75.5.4. kai ant indikacinės juostelės nėra nė vienos raudonos linijos, testas laikomas negaliojančiu.

76. Antibiotikų nustatymas naudojant *SNAP* testus (spartusis metodas).

76.1. Antibiotikams nustatyti gali būti naudojami trys skirtingi *SNAP* testai: beta-laktaminį žiedą turintiems antibiotikams, tetraciklinams ir gentamicinui. Testai naudojami antibiotikams nustatyti žaliame maišytame karvių piene. Mėginiai turi būti atšaldyti ir ištirti per 3 dienas po jų surinkimo. Pieno mėginys prieš tyrimą kruopščiai sumaišomas.

PASTABA. Metodas netinka tirti nenatūralios išvaizdos ir konsistencijos pienui.

76.2. Metodo esmė. Visų *SNAP* testų veikimo principas yra konkurentinė imunofermentinė reakcija. Metodas pagrįstas tuo, kad naudojamas konjugatas (antibiotikus surišantys receptoriniai baltymai, konjuguoti su fermentu – krienų peroksidaze), kuris prijungia piene esančius antibiotikus, sudarydamas stabilius kompleksus. Šis procesas įvyksta pirmajame tyrimo etape, įpylus pieną į mėgintuvėlį su konjugatu. Jei piene nėra antibiotikų, nesurištas į kompleksus konjugatas antrajame

tyrimo etape rišasi prie antibiotikų, esančių *SNAP* prietaiso mėginio duobutėje, ir ten sudaro kompleksus (tamsiai mėlyna spalva). Tačiau jei piene buvo antibiotikų, jau mėgintuvėlyje surištas į kompleksus konjugatas grįžtamosios srovės (nuspaudus aktyvatorių) yra išplaunamas iš mėginio duobutės (šviesiai mėlyna spalva).

SNAP testų jautrumas atitinka didžiausius leistinus arba šiek tiek mažesnius antibiotikų likučių piene kiekius. *SNAP* beta-laktaminį žiedą turintiems antibiotikams nustatyti skirtais rinkiniais piene galima aptikti 0,004 (µg penicilino G mililitre. Be to, šie testai nustato ir kitus beta-laktaminį žiedą turinčius antibiotikus: ampiciliną (0,004 (ug/ml), amoksiciliną (0,004 (ug/ml), cefapiriną (0,004 (ug/ml), ceftiofurą (0,006 (ug/ml), kloksaciliną (0,03 (ug/ml), dikloksaciliną (0,025 (ug/ml). *SNAP* tetraciklinų testais galima aptikti 0,02 (µg tetraciklino mililitre, 0,03 (µg chlortetraciklino mililitre ir 0,03 (µg oksitetraciklino mililitre; *SNAP* gentamicino testais – 0,03 (µg gentamicino mililitre.

76.3. Naudojama įprastinė mikrobiologijos laboratorijos įranga, toliau nurodyta specialioji ir priemonės:

76.3.1. mėgintuvėlių šildytuvas, termostatas ar vandens vonia, kurioje palaikoma (45±5) °C temperatūra;

76.3.2. mėgintuvėlių stovas;

76.3.3. šaldytuvas, kuriame palaikoma nuo 0 °C iki 7 °C temperatūra;

76.3.4. *SNAP* testo rinkinys (*IDEXX Laboratories, Inc.*, JAV), kuriame yra: mėgintuvėlis su konjugatu, *SNAP* prietaisas ir pipetė.

PASTABA. Naudojamos priemonės laikomos šaldytuve ne ilgiau kaip 12 mėn. (tetraciklinams nustatyti naudojamos priemonės – ne ilgiau kaip 9 mėn.). Prieš naudojimą testo rinkiniai gali būti laikomi nuo 18 °C iki 29 °C temperatūroje. Nesunaudoti tyrimo metu testai turi būti vėl padedami į šaldytuvą.

Tiriant patartina naudoti šildytuvą, sukurtą specialiai *SNAP* testui (*IDEXX Laboratories, Inc.* firmos, JAV). Naudojant šį šildytuvą nereikia jokios papildomos įrangos, išskyrus šaldytuvą testams laikyti. Šildytuvas gali būti naudojamas ir pienvežyje.

76.4. Pasiruošimas tyrimui:

76.4.1. prieš tyrimą patikrinama, ar mėgintuvėlių šildytuve (vandens vonioje) yra (45±5) °C temperatūra;

76.4.2. iš maišelio išimamas *SNAP* prietaisas, pipetė ir mėgintuvėlis su konjugatu. Naujo *SNAP* prietaiso dėmės rezultatų laukelyje ir aktyvacijos apskritimas turi būti šviesiai mėlynos spalvos. Patikrinama, ar konjugato milteliai yra mėgintuvėlio dugne. Priešingu atveju mėgintuvėlis lengvai pakratomas, kad milteliai nukristų į dugną.

76.5. Tyrimo eiga:

76.5.1. *SNAP* prietaisas uždedamas ant šildytuvo arba įdedamas į termostatą. Pieno mėginys kruopščiai supurtomas. *SNAP* prietaisas viso tyrimo metu turi būti horizontalioje padėtyje;

76.5.2. 1-asis etapas. Pieno mėginys prieš tyrimą sumaišomas. Mėgintuvėlio su konjugatu (76.3.4 punktas) dangtelis nuimamas. Iš mėginio taros vidurio pipete įtraukiama (450±50) (µl tiriamojo pieno (be oro burbuliukų) iki pipetės indikacinės linijos ir supilama į mėgintuvėlį. Mėgintuvėlis pasukiojamas, kad piene ištirtų konjugatas, įstatomas į specialią įdubą mėgintuvėlių šildytuve (ar stovėlį termostate) ir laikomas 5 min. (45±5) °C temperatūroje (nustatant beta-laktamus). Negalima šildyti ilgiau kaip 6 min. Naudojant tetraciklinų ir gentamicino nustatymo *SNAP* rinkinius inkubuojama 2 min. toje pačioje temperatūroje;

76.5.3. 2-asis etapas. Pašildytas pieno mėginys su konjugatu iš mėgintuvėlio supilamas į *SNAP* prietaiso mėginio duobutę, mėgintuvėlis išmetamas. Stebima, kaip pieno mėginys slenka per rezultatų laukelį iki mėlynos aktyvacijos apskritimo (tai trunka vidutiniškai apie 30 sek., bet ne ilgiau kaip 1 min.);

76.5.4. 3-iasis etapas. Kai aktyvacijos apskritimas ima blukti, nuspaudžiamas *SNAP* testo aktyvatorius, nelaukiant, kol spalva visiškai išnyks. *SNAP* prietaisas turi būti ant šildytuvo tol, kol išryškės spalva. Beta-laktamų tyrimo rezultatai (kontrolinės ir mėginio dėmės spalva) vizualiai vertinami po 4 min. Spalvos išlieka stabilios 15 min. Tetraciklinų ir gentamicino tyrimų rezultatai

vertinami po 7 min. Spalvos išlieka stabilios dar 5 min. Visų trijų testų bendras atlikimo laikas – 9 min.

PASTABA. Naudojant specialų *SNAP STOP* tirpalą (*IDEXX Laboratories, Inc.* firmos, JAV, 200 testų, naudojimo laikas – 1 metai), spalvos išlieka stabilios 1 val.

76.6. Rezultatų vertinimas:

76.6.1. vertinant rezultatus *SNAP* prietaisas padedamas taip, kad mėginio duobutė būtų kairėje pusėje, o nuspaustas aktyvatorius – dešinėje. Taip padėjus *SNAP* prietaisą kontrolinė dėmė rezultatų laukelyje visada bus viršuje, o mėginio dėmė – apačioje;

76.6.2. kai mėginio dėmė tamsesnė už kontrolinę, tiriamajame piene nėra antibiotikų (penicilino mažiau kaip 0,004 TV/ml, tetraciklinų mažiau kaip (0,02–0,03) (ug/ml, gentamicino mažiau kaip 0,030 (ug/ml);

76.6.3. kai mėginio dėmė šviesesnė už kontrolinę ar tokios pat spalvos, tiriamajame piene yra antibiotikų (penicilino daugiau kaip 0,004 TV/ml, tetraciklinų daugiau kaip (0,02–0,03) (ug/ml, gentamicino daugiau kaip 0,030 (ug/ml).

PASTABA. Tyrimo rezultatų automatiniam vertinimui galima naudoti prietaisą *SNAP Image Reader* (*IDEXX Laboratories, Inc.* JAV).

76.7. Teigiamų tyrimo rezultatų, gautų *SNAP* beta-laktamų testais, patvirtinimas:

76.7.1. kai tiriamajame piene rasta antibiotikų, rezultatams patvirtinti atliekamas pakartotinis tyrimas:

76.7.1.1. pakartotinai tiriama naudojant keturis *SNAP* prietaisus – du tiriamajam pieno mėginiui, vieną – *teigiamam* kontroliniam mėginiui, antrą – *neigiamam* kontroliniam mėginiui;

76.7.1.2. *Teigiamas* kontrolinis mėginys – etaloninis penicilino G tirpalas, ruošiamas naudojant *IDEXX Laboratories, Inc.* (JAV) preparatą. Penicilino G preparatų rinkinį sudaro 50 buteliukų, skirtų 100 tyrimų. Buteliukai laikomi šaldytuve arba kambario temperatūroje (nuo 0 °C iki 30 °C). Prieš naudojimą į buteliuką įpilamas 1 ml žalio maišyto pieno be inhibitorių (užtenka dviem tyrimams). Palaikoma 10 min. ir sumaišoma, atsargiai apverčiant 10 kartų. Gautame tirpale – 0,005 (ug/ml penicilino G.

Teigiamas kontrolinis mėginys naudojamas įtariamiesiems teigiamiems rezultatams patvirtinti, naujai *SNAP* prietaisų partijai ir tyrėjo pasiruošimui patikrinti.

76.7.1.3. *Neigiamas* kontrolinis mėginys – pienas be inhibitorių. Mėginiui paruošti naudojamas pienas, atgamintas iš komercinio sausojo nugriebto pieno be inhibitorių, jį atgaminant steriliame distiliuotame vandenyje (10 proc. tirpalas);

76.7.2. pakartotinio tyrimo rezultatai vertinami taip: jeigu *teigiamas* kontrolinis mėginys rodo, kad antibiotikų rasta, *neigiamas* kontrolinis mėginys – antibiotikų nerasta, o vienas ar abu tiriamojo pieno mėginiai – teigiami, laikoma, kad tiriamajame piene antibiotikų rasta.

77. Antibiotikų nustatymas naudojant *ROSA* testus (spartusis metodas).

77.1. Antibiotikams nustatyti gali būti naudojami keturi skirtingi *ROSA* (Rapid One Step Assay) testai: beta-laktaminį žiedą turintiems antibiotikams (*Charm MRL™ Beta-lactam Test*), tetraciklinams (*Charm ROSA™ Tetracycline Test*), sulfametazinui (*Charm ROSA™ Sulfamethazine Test*) ir sulfadimetoksinui su sulfametazinu (*Charm SDSM ROSA™ Test for Sulfadimetoxine and Sulfamethazine*). Neigiami testo rezultatai laikomi patikimais, o teigiami rezultatai, gauti taikant šį metodą, turi būti patvirtinti pakartotiniu tyrimu kartu su *teigiamu* ir *neigiamu* kontroliniais mėginiais.

Testai naudojami antibiotikams nustatyti žaliame maišytame karvių piene. Mėginiai turi būti atšaldyti nuo 0 °C iki 7 °C ir ištirti per 3 dienas po jų surinkimo. Pieno mėginys prieš tyrimą kruopščiai išmaišomas. Metodas netinka pienui su pastebimomis baltymų nuosėdomis.

Punkto pakeitimai:

Nr. [3D-173](#), 2007-04-19, Žin., 2007, Nr. 46-1752 (2007-04-26), i. k. 1072330ISAK003D-173

77.2. Metodo esmė. *Visų ROSA* testų veikimo principas yra konkurentinė receptorinė reakcija. Pienas teka chromatografinė testo juostele, ir, jeigu jame nėra ieškomų medžiagų, atitinkamoje vietoje išryškėja T (testo) linija. Jeigu ieškomų medžiagų yra, susidaro mažesnio intensyvumo linija. T (testo) linija lyginama su C (kontrolės) linija, kuri parodo artimą didžiausiam

leistinam likučių kiekiui koncentraciją.

ROSA testų jautrumas atitinka didžiausius leistinus arba šiek tiek mažesnius antibiotikų likučius piene. Beta-laktaminį žiedą turintiems antibiotikams nustatyti skirtu specialiai Europos Sąjungos rinkai *Charm MRL Beta-lactam Test* (penicilino testu) piene galima aptikti 0,004 µg penicilino G mililitre. Taip pat šis testas reaguoja su kitais beta-laktaminį žiedą turinčiais antibiotikais: amoksicilinu, ampicilinu, cefazolinu, ceftiofuru ir jo metabolitu, cefchinomu, cefaloniumu, cefapirinu, kloksacilinu, dikloksacilinu, oksacilinu, nafcilinu. *Charm ROSA Tetracycline Test* (tetraciklinų testais) galima aptikti nuo 0,015 µg iki 0,02 µg tetraciklino mililitre, nuo 0,07 µg iki 0,1 µg chlortetraciklino mililitre ir nuo 0,07 µg iki 0,1 µg oksitetraciklino mililitre; *Charm ROSA™ Sulfamethazine Test* (sulfametazino testais) – 0,008 µg sulfametazino mililitre, *Charm SDSM ROSA™ Test for Sulfadimetoxine and Sulfamethazine* (sulfadimetoksino ir sulfametazino testais) – 0,006 µg sulfadimetoksino mililitre ir 0,008 µg sulfametazino.

77.3. Naudojama įranga ir priemonės:

77.3.1. testo juostelių šildytuvai, kuriame palaikoma (56 ± 1) °C temperatūra ir kuris turi laikmatį, pranešantį apie inkubavimo pabaigą;

77.3.2. šaldytuvas, kuriame palaikoma nuo 0 °C iki 7 °C temperatūra;

77.3.3. šaldyklė, kurioje palaikoma minus 15 °C temperatūra;

77.3.4. automatinė pipetė su vienkartiniais 300 µl lantgaliais;

77.3.5. portatyvus testų skaitytuvas (*Charm Sciences Inc.* firma, JAV);

77.3.6. ROSA testo juostelės (*Charm Sciences Inc.* firma, JAV);

77.3.7. pipetės (300 ul) pienui įpilti (vietoj jų galima naudoti automatinę pipetę su vienkartiniais 300 µl antgaliais);

77.3.8. penicilino G tabletės (arba kitos etaloninės medžiagos kitos rūšies testams) 0,004 µg penicilino G mililitre tirpalo *teigiamai* kontrolei paruošti.

PASTABA. Testo juostelės ir kontrolinės medžiagos laikomos nuo 0 °C iki 7 °C temperatūroje. Prieš naudojimą testo juostelės ne ilgiau kaip parą gali būti laikomos kambario (nuo 18 °C iki 29 °C) temperatūroje. Nepanaudotos tyrimo metu testo juostelės vėl padedamos į šaldytuvą.

77.4. Pasiruošimas tyrimui. Prieš tyrimą patikrinama, ar testų šildytuve yra (56 ± 1) °C temperatūra.

77.5. Tyrimo eiga:

77.5.1. pažymima ROSA testo juostelė;

77.5.2. atidaromas šildytuvas ir juostelė įdedama į jai skirtą vietą plokščiaja puse į viršų. Plėvelė ant juostelės iš vieno krašto atsargiai atlenkiama iki mėlynos juostos. Pipete suleidžiama (300 ± 15) µl tiriamojo pieno. Plėvelė užlenkiama, šildytuvas uždaromas. Automatiškai įsijungia laikmatis. Pasibaigus inkubavimo trukmei (po 8 – 10 min.), kol skamba garso ir mirksi šviesos signalas, testo juostelė išimama iš šildytuvo, ir jis uždaromas.

77.6. Rezultatų vertinimas:

77.6.1. juostelė laikoma nukreipus žemyn. Jeigu yra pašalinių medžiagų (pieno, pieno miltelių, dulkių ir t. t.), jos visos atsargiai nuvalomos nuo juostelės. Apžiūrint vertinamos C (kontrolės) ir T (testo) linijos. Jeigu kontrolės linija neišryškėjo, yra trūkinėjanti arba pienas dengia C arba T linijas, tyrimas laikomas negaliojančiu, ir jį reikia pakartoti;

77.6.2. jei T (testo) linija tamsesnė, ryškesnė už C (kontrolės), tiriamajame piene nėra ieškomų antibiotikų. Kai T (testo) linija šviesesnė už kontrolinę ar tokios pat spalvos, tiriamajame piene gali būti ieškomų antibiotikų (penicilino daugiau kaip 0,004 ug/ml, tetraciklinų daugiau kaip nuo 0,020 ug/ml iki 0,030 ug/ml ir t. t.);

77.6.3. laikant tyrimui panaudotas juosteles, neigiami rezultatai mažai kinta, o teigiami išryškėja. Išryškintos juostelės kambario temperatūroje išlieka patikimai nepakitusios 10 min., šaldytuve (nuo 0 °C iki 7 °C temperatūros) – 1 val., šaldyklėje (minus 15 °C ir žemesnėje temperatūroje) – 1 savaitę.

PASTABA. Tyrimo rezultatų skaitmeniniam vertinimui ir duomenų išsaugojimui galima naudoti prietaisus *ROSA Reader* (*Charm Sciences Inc.* firmos, JAV) arba *Imager* ir *LUM-T* (*Charm*

Sciences Inc. firmos, JAV).

78. Antibiotikų, turinčių beta-laktaminį žiedą, nustatymas naudojant *CHARM II* sistemą (spartusis metodas).

78.1. Metodo esmė. *CHARM II* sistema remiasi radioreceptoriniu principu. Testas skirtas beta-laktaminį žiedą turintiems antibiotikams nustatyti žaliame maišytame karvių piene.

CHARM II sistemos jautrumas beta-laktaminį žiedą turintiems antibiotikams parodytas 7 lentelėje.

7 lentelė

Antibiotiko pavadinimas	ES didžiausi leistini antibiotikų likučių kiekiai, ug/kg (angl. MRL – <i>Maximum Residue Limits</i>)	<i>CHARM II</i> sistemos metodo jautrumas, antibiotiko ug/kg
Amoksisilinas	4	5
Ampicilinas	4	4
Cefazolinas	50	15
Ceftiofuras + metabolitai	100	40
Cefchinomas	20	20
Cefapirinas	60	3
Kloksacilinas	30	30
Dikloksacilinas	30	20
Nafcilinas	30	30
Oksacilinas	30	30
Penetamatas	4	2
Penicilinas G	4	2

PASTABA. Testų jautrumas nustatytas statistiškai apskaičiuojant, kokia antibiotiko koncentracija duoda 90 proc. teigiamų rezultatų.

78.2. Testui naudojami specifiniai bakteriniai receptoriai nustatyti beta-laktaminį žiedą turinčius antibiotikus. Taip pat į pieno mėginį dedama radioaktyviu izotopu žymėtos medžiagos, pagal struktūrą ir biologinį veikimą panašios į ieškomą antibiotiką. Beta-laktaminį žiedą turintiems antibiotikams nustatyti naudojamas ^{14}C izotopu žymėtasis penicilinas. Jei tiriamajame piene mėginyje yra kurio nors beta-laktaminį žiedą turinčio antibiotiko, jis konkuruoja su žymėtoju penicilinu dėl receptorių surišimo vietų. Scinciliacijos/liuminescencijos skaitikliu nustatomas surišto žymėtojo ^{14}C izotopu penicilino kiekis, kuris lyginamas su *kontrolinio* taško verte. Kuo didesnis žymėtojo penicilino kiekis nustatomas, tuo mažiau tiriamame mėginyje beta-laktaminį žiedą turinčių antibiotikų, kuo mažesnis – tuo daugiau.

PASTABA Kompanijos „*Charm Sciences Inc.*“ tiekiamose medžiagose ^{14}C izotopo yra labai mažai. Nereikalingos sausos medžiagos gali būti išmestos į bendrą atliekų konteinerį, neženklinant radioaktyviųjų atliekų ženklų. Skystos atliekos gali būti išpiltos į bendrą kanalizaciją, užpilant vandeniu.

78.3. Naudojama įranga ir priemonės:

78.3.1. įranga, esanti komplekte:

78.3.1.1. scinciliacijos/liuminescencijos skaitiklis, modelis 6600 (*Charm Sciences Inc.*, JAV);

78.3.1.2. 13 mm x 16 mm borosilikato stiklo mėgintuvėliai su plastikiniais kamšteliais;

78.3.1.3. medvilniniai tamponėliai;

78.3.1.4. 5 ml pipetė;

78.3.1.5. 300 μl pipetė;

78.3.1.6. mėgintuvėlių šildytuvas, kuriame palaikoma nuo 63 $^{\circ}\text{C}$ iki 67 $^{\circ}\text{C}$ temperatūra;

78.3.1.7. mėgintuvėlių centrifuga (1200 g);

78.3.1.8. mėgintuvėlių purtyklė (*Vortex*).

78.3.2. įranga, kurios nėra komplekte (galima įsigyti iš *Charm Sciences Inc.*, JAV):

78.3.2.1. mėgintuvėlių žymeklis, atliekų konteineris ir tablečių išėmiklis;

78.3.2.2. graduotas cilindras (100 ml vardinio tūrio);

78.3.2.3. stiklinis termometras (padalos vertė 0,5 °C);

78.3.2.4. mėgintuvėlių stovas (dvylikai vienetų).

78.4. Naudojami reagentai ir medžiagos:

78.4.1. *Charm* // sistemos rinkinys (*Charm Sciences Inc.*, JAV), kuriame yra:

78.4.1.1. geltonos spalvos ^{14}C žymėtojo penicilino tabletės, supakuotos po vieną (kiekviena geltona tabletė turi 0,15 kilobekerelių (kBq));

78.4.1.2. žalios spalvos bakterinių receptorių tabletės, supakuotos po vieną;

78.4.1.3. scinciliacijos skystis „Opti-Fluor“ reikalingas tam, kad būtų galima išmatuoti su bakteriniais receptoriais surišto ^{14}C izotopu žymėtojo penicilino kiekį. C izotopo išspinduliuojami gama kvantai „Opti-Fluor“ transformuojami į matomos šviesos impulsus, kurie ir registruojami scinciliacijos/liuminescencijos skaitiklyje;

78.4.1.4. penicilino G etalonas 4,5 ppb (0,008 TV/ml) – *teigiamam* kontroliniam mėginiui paruošti. Prieš naudojimą etalonas ištirpinamas 100 ml pasterizuoto pieno, be beta-laktaminį žiedą turinčių antibiotikų. Tam galima naudoti ir *neigiamą* kontrolinį mėginį. Indas su ištirpintu penicilino G etalonu gerai supurtomas, įstatomas į kitą indą su ledais ir palaikomas apie 15 min. prieš tyrimą;

78.4.1.5. pieno milteliai, pagaminti iš pieno be inhibitorių, skirti *neigiamam* kontroliniam mėginiui paruošti. Prieš naudojimą milteliai ištirpinami 100 ml 37 °C temperatūros distiliuoto ar dejonizuoto vandens. Ištirpintas etalonas gerai supurtomas, įstatomas į indą su ledais ir palaikomas apie 15 min. prieš tyrimą.

PASTABA. *Neigiamam* kontroliniam mėginiui paruošti galima naudoti žalią arba pasterizuotą pieną, kurio beta-laktaminį žiedą turinčių antibiotikų kiekis, apskaičiavus 3-jų matavimų vidurkį, atitinka *neigiamo* kontrolinio mėginio vertę ± 10 proc.

78.5. Reagentai laikomi:

78.5.1. geltonos ir žalios tabletės laikomos minus 15 °C arba žemesnėje temperatūroje. Iš šaldyklės reikia išimti tiek tablečių, kiek bus sunaudota per vieną dieną. Tabletės kambario temperatūroje gali būti laikomos ne ilgiau kaip 12 val.;

78.5.2. scinciliacijos skystis „Opti-Fluor“ laikomas kambario temperatūroje;

78.5.3. sausas penicilino G etalonas *teigiamam* kontroliniam mėginiui paruošti laikomas nuo 0 °C iki 4,4 °C temperatūroje. Paruoštas *teigiamas* kontrolinis mėginys gali būti laikomas 2 dienas nuo 0 °C iki 4,4 °C temperatūroje. Išpilsčius po 6 ml į mikromėgintuvėlius ir sušaldžius (minus 15 °C temperatūroje), *teigiamas* kontrolinis mėginys gali būti laikomas 2 mėn. *Teigiamas* kontrolinis mėginys turi būti sušaldomas per 6 h po ištirpinimo. Norint atšildyti *teigiamą* kontrolinį mėginį, jis palaikomas po tekančio šilto vandens srove, supurtomas ir patikrinama, ar nesusidarė nuosėdų. Atšildytas *teigiamas* kontrolinis mėginys laikomas nuo 0 °C iki 4,4 °C temperatūroje ir turi būti sunaudotas per 24 val.

PASTABA. Pakartotinai sušaldyti negalima.

78.5.4. pieno milteliai, skirti *neigiamam* kontroliniam mėginiui paruošti, laikomi nuo 0 °C iki 4,4 °C temperatūroje. Paruoštas *neigiamas* kontrolinis mėginys gali būti laikomas 3 dienas nuo 0 °C iki 4,4 °C temperatūroje. Sušaldytas (minus 15 °C) *neigiamas* kontrolinis mėginys gali būti laikomas ne ilgiau kaip 2 mėn.

78.6. Pasiruošimas tyrimui:

78.6.1. mėginių ėmimas:

PASTABA. Būtina užtikrinti, kad laboratoriją pasiektų nepažeisti ir nesukeisti pieno mėginiai.

78.6.1.1. pieno mėginys turi būti ištirtas per 5 dienas po melžimo (saugant sandariame indelyje nuo 0 °C iki 4,4 °C temperatūroje). Prieš tyrimą mėginys gerai supurtomas;

78.6.1.2. tiriant individualių karvių pieną arba labai riebų pieną (> 5 proc. riebumo), patartina jį centrifuguoti 3 min. centrifuga, sukuriančia 1200 g pagreitį;

78.6.2. kontrolinio taško nustatymas:

78.6.2.1. *kontrolinis* taškas nustatomas 6 kartus išmatavus penicilino G etalono tirpalą (*teigiamą* kontrolinį mėginį) ir apskaičiavus gautų verčių vidurkį. Vidurkis padauginamas iš 1,25 ir

gaunamas *kontrolinis* taškas. Visų 6 matavimų vertės turi būti mažesnės už *kontrolinį* tašką. Jeigu matavimo vertės kitokios – visa procedūra kartojama iš naujo;

78.6.2.2. *neigiamo* kontrolinio mėginio matavimai atliekami 3 kartus ir apskaičiuojamas vidurkis – *nulinis* taškas. *Kontrolinis* ir *nulinis* taškai nustatomi kiekvieną kartą, gavus naujos serijos reagentus;

78.6.2.3. kiekvieną dieną išmatuojami *teigiamas* kontrolinis mėginys ir *neigiamas* kontrolinis mėginys – tokiu būdu patikrinamas analizatoriaus veikimas;

78.6.2.4. *neigiamo* kontrolinio mėginio vertė turi būti ± 20 proc. ribose, lyginant su *nuliniu* tašku;

78.6.2.5. *teigiamo* kontrolinio mėginio vertė turi būti mažesnė už *kontrolinio* taško vertę.

78.7. Tyrimo eiga:

78.7.1. mėgintuvėliai pažymimi ir į kiekvieną įdedama po žalią tabletę su bakteriniais receptoriais. Į kiekvieną mėgintuvėlį įlašinama po (300 ± 100) μ l distiliuoto (dejonizuoto) vandens. Tabletės tirpinamos, įstačius mėgintuvėlį į *Vortex* purtyklę ir leidžiant tirpalui 10 kartų pakilti iki mėgintuvėlio viršaus ir nusileisti. Pieno mėginiai bei kontroliniai mėginiai kruopščiai išmaišomi ir keičiant pipetės antgalius išpilstomi po $(5 \pm 0,25)$ ml. Pieno temperatūra turi būti nuo 0 °C iki 7 °C. Išmaišoma, įstačius mėgintuvėlius į *Vortex* purtyklę ir leidžiant tirpalui 10 kartų pakilti iki mėgintuvėlio viršaus ir nusileisti;

78.7.2. mėgintuvėliai laikomi 2 min. nuo 63 °C iki 67 °C temperatūroje;

78.7.3. mėgintuvėliai išimami iš Šildytuvo, ir į kiekvieną mėgintuvėlį įdedama po geltoną tabletę. Įstačius mėgintuvėlius į *Vortex* purtyklę, leidžiama tirpalui 10 kartų pakilti iki mėgintuvėlio viršaus ir nusileisti.

PASTABA. Tabletės įdėjimas ir ištirpinimas visuose mėgintuvėliuose turi užtrukti ne ilgiau kaip 40 sek.

78.7.4. mėgintuvėliai laikomi 2 min. nuo 63 °C iki 67 °C temperatūroje;

78.7.5. centrifuguojama 3 min. Išėmus mėgintuvėlį iš centrifugos, pienas nedelsiant nupilamas. Jeigu reikia, medvilnės tamponėliu suardomas riebalų žiedas;

78.7.6. medvilnės tamponėliu riebalų likučiai nuvalomi nuo vidinių mėgintuvėlio sienelių. Dugne esančios nuosėdos neliečiamos;

78.7.7. į kiekvieną mėgintuvėlį įlašinama po (300 ± 100) μ l distiliuoto (dejonizuoto) vandens ir gerai išmaišoma *Vortex* purtyklėje, kad nuosėdos pereitų į suspensiją;

78.7.8. į kiekvieną mėgintuvėlį įlašinama po $(3,0 \pm 0,5)$ ml scinciliacijos skysčio. Mėgintuvėlis užkemšamas ir vartomas tol, kol tirpalas taps vienalytis;

78.7.9. mėgintuvėlis įstatomas į scinciliacijos/liuminescencijos skaitiklį ir, pasirinkus C kanalą, per 60 sek. užrašomi rezultatai (skaičius per minutę, angl. *cpm*).

78.8. Rezultatų vertinimas. *Kontrolinis* taškas yra riba tarp *neigiamo* ir *įtariamo teigiamo* rezultato:

78.8.1. kai tiriamojo mėginio *cpm* vertė yra didesnė už *kontrolinį* tašką – rezultatas *neigiamas*;

78.8.2. kai tiriamojo mėginio *cpm* vertė yra mažesnė arba lygi *kontroliniam* taškui – rezultatas *įtariamas teigiamas*. Įtariamas teigiamas mėginys turi būti patvirtinamas pagal 78.9 punktą;

78.8.3. kai tiriamojo mėginio *cpm* vertė yra mažiau nei 50 *cpm* didesnė už *kontrolinį* tašką – tyrimas dar kartą kartojamas pagal 78.6–78.7 punktus;

78.8.3.1. jeigu pakartotinio tiriamojo mėginio *cpm* vertė didesnė už *kontrolinį* tašką – rezultatas *neigiamas*;

78.8.3.2. jeigu pakartotinio tiriamojo mėginio *cpm* vertė mažesnė už *kontrolinį* tašką arba jam lygi – rezultatas *įtariamas teigiamas*. Įtariamas teigiamas mėginys turi būti patvirtinamas pagal 78.9 punktą.

78.9. Patvirtinimas:

78.9.1. teigiami mėginiai tiriami kartu su kontroliniais mėginiais. Kontroliniai mėginiai turi būti paruošti iš kitų reagentų buteliukų (nenaudotų *kontroliniam* ir *nuliniam* taškui nustatyti).

Patvirtinimo rezultatai vertinami taip:

78.9.1.1. *neigiamo* kontrolinio mėginio vertė turi būti 20 proc. didesnė už *nulinį* tašką;

78.9.1.2. *teigiamo* kontrolinio mėginio vertė turi būti mažesnė už *kontrolinį* tašką;

78.9.2. jeigu kontroliniai mėginiai atitinka visas sąlygas, o tiriamojo mėginio *cpm* vertė yra mažesnė už *kontrolinį* tašką arba jam lygi – rezultatas teigiamas, t. y. tiriamasis pienas su antibiotikais.

79. Antibiotikų, turinčių beta-laktaminį žiedą, nustatymas *Delvo-X-PRESS* β L-II metodu (spartusis metodas).

79.1. Metodo esmė. Metodas pagrįstas tuo, kad naudojama atsekamoji medžiaga (*angl. tracer*), sudaryta iš receptorinių baltymų, išskirtų iš *Bacillus stearothermophilus* rūšies bakterijų, ir iš fermento – krienų peroksidazės. Tam tikras atsekamosios medžiagos kiekis sumaišomas su pieno mėginio kiekiu beta-laktamais padengtuose mėgintuvėliuose. Atsekamoji medžiaga reaguoja su *beta*-laktamais, jeigu jų yra mėginyje, o likusi laisva atsekamoji medžiaga reaguoja su *beta*-laktamais, kuriais padengti mėgintuvėliai. Pašalinus atsekamosios medžiagos ir *beta*-laktamų kompleksą plaunant, įpilamas spalvos ryškalas atsekamosios medžiagos likučiams, prisirišusiems prie *beta*-laktamų, kuriais padengti mėgintuvėliai, aptikti. Taip pat daroma ir su *beta*-laktamų etaloniniu mėginiu. Susidariusios spalvos intensyvumas atvirkščiai proporcingas *beta*-laktamų koncentracijai mėginyje. Automatiškai palyginamas pieno mėginių ir etaloninio mėginio spalvų intensyvumas ir nustatoma, rasta ar nerasta *beta*-laktamų likučių pieno mėginyje.

Šiuo metodu galima aptikti piene 0,002–0,004 μ g/ml penicilino, 0,004–0,008 μ g/ml ampicilino, amoksicilino ar ceftiofuro, 0,025–0,050 μ g/ml oksacilino bei 0,030–0,060 μ g/ml kloksacilino.

PASTABA *Delvo-X-PRESS* β L-II yra testas, skirtas tik antibiotikams, turintiems beta-laktaminį žiedą, karvių piene nustatyti.

79.2. Naudojama įranga ir priemonės:

79.2.1. ISRP darbo stotis (DSM, Nyderlandai), kurią sudaro:

79.2.1.1. klaviatūra skaitiniams duomenims apie mėginius ir vartotoją įvesti;

79.2.1.2. automatinės temperatūros kontrolės mėgintuvėlių stovas A 7 mėginiams (etaloniniam mėginiui ir 6 pieno mėginiams) inkubuoti ($64 \pm 0,2$) °C temperatūroje;

79.2.1.3. mėgintuvėlių stovas B mėginiams inkubuoti kambario temperatūroje;

79.2.1.4. automatinės greičio kontrolės (700 min^{-1}) kratytuvas mėginiams A ir B stovuose sukratyti inkubavimo metu;

79.2.1.5. inkubavimo trukmės automatinio nustatymo laikrodis su skambučiu;

79.2.1.6. 7 kanalų skaitytuvas spalvai atpažinti esant 660 nm bangos ilgiui ir rezultatams palyginti su etaloninio mėginio rodikliais;

79.2.1.7. kiekvieno etapo veiksmų ir galutinių interpretuotų rezultatų ekranas;

79.2.1.8. sujungimo su kompiuterio sistema įranga;

79.2.2. mėgintuvėlių stovas;

79.2.3. 200 μ l ir 1000 μ l pipetės su vienkartiniais antgaliais;

79.2.4. 250 ml butelis koncentruotam plovikliui atskiesti.

79.3. Naudojami reagentai ir medžiagos:

79.3.1. *Delvo-X-PRESS* β L-II rinkinys (DSM, Nyderlandai), kuriame yra:

79.3.1.1. mėgintuvėliai, padengti specialiais beta-laktamais – du maišeliai, pažymėti „T“, po 50 mėgintuvėlių;

79.3.1.2. atsekamoji medžiaga (*angl. tracer*) – buteliukas, pažymėtas „1“, ($22,0 \pm 0,5$) ml (buferinis fiziologinis ožkų serumo ir 4-amino-antipirino tirpalas, konservuotas timerozaliu, naudojamas kaip fermentus surišantis receptorinis baltymas);

79.3.1.3. etalonas – buteliukas, pažymėtas „S“ (cefalosporinas, 100 ppb buferiniame fiziologiniame tirpale, liofilizuotas);

79.3.1.4. etalono skiediklis – buteliukas, pažymėtas „D“, ($15,0 \pm 1,5$) ml vandeninio tirpalo, konservuoto timerozaliu). Visas tūris skirtas liofilizuotam etalonui buteliuke „S“ praskiesti;

79.3.1.5. spalvos ryškalas – buteliukas, pažymėtas „2“, ($120,0 \pm 1,0$) ml vandeninio

fermento tirpalo). PASTABA. Spalvos ryškumas turi būti laikomas tamsoje.

79.3.1.6. valiklis – buteliukas, pažymėtas „W“, 60 ml (koncentruotas buferinis tirpalas su gliceroliu, konservuotas benzalkonio chloridu);

79.3.1.7. naudojimo instrukcija.

79.4. Pasiruošimas tyrimui:

79.4.1. pieno mėginiai laikomi nuo 2 °C iki 8 °C temperatūroje ir ištiriami per 48 val. Gali būti laikomi ir sušaldyti, bet neturėtų būti atšildomi daugiau kaip vieną kartą;

79.4.2. *Delvo-X-PRESS* rinkinys laikomas nuo 2 °C iki 8 °C temperatūroje, nes aukštesnėje temperatūroje laikomi reagentai praranda savo aktyvumą (25 °C temperatūroje – po 2 savaitių, 40 °C temperatūroje – po 2 dienų). Kai rinkinys sunaudojamas per savaitę, nebūtina jį laikyti šaldytuve, tada prieš tyrimą reagentų pašildyti nereikia. Reikia vengti reagentų sušaldymo, nes gali padidėti stiklinių buteliukų dūžtamumas ir drėgmės koncentracija mėgintuvėliuose. Svarbu, kad mėgintuvėliai išliktų sausi;

79.4.3. rinkinys išimamas iš šaldytuvo valandą prieš tyrimą, kad reagentai ir beta-laktamais dengti mėgintuvėliai pasiektų kambario (15–25) °C temperatūrą. ISRP darbo stotis įjungama 15 min. prieš darbo pradžią, kad kaitinimo blokas įšiltų iki reikiamos inkubacijai (64,0±0,2) °C temperatūros;

79.4.4. etalono tirpalas ruošiamas iš liofilizuoto etalono (buteliukas „S“) ir etalono skiediklio (buteliukas „D“). Plovimo skystis ruošiamas iš koncentruoto valiklio (buteliukas „W“), atskiedžiant jį dejonizuoto vandeniui santykiu 1: 49;

79.4.5. padengtų beta-laktamais mėgintuvėlių tyrimui reikia tiek, kiek tirama pieno mėginių, ir vienas papildomas – etaloniniam mėginiui. Mėgintuvėliai sustatomi į stovą iš kairės į dešinę;

79.4.6. pieno mėginiai turi būti gerai sumaišyti, vengti putų ir oro burbuliukų susidarymo, nes nuo to priklauso mėginio kiekio įtraukimo į pipetę tikslumas. Tiriamieji mėginiai ir etaloninis mėginys turi būti panašios temperatūros. Todėl, tiriant šaltus pieno mėginius, geriau naudoti ir šaltą etalono tirpalą.

79.5. Tyrimo eiga:

79.5.1. į pirmą mėgintuvėlį, pažymėtą „S“, įpilama 200 µl etaloninio tirpalo. Į kitus mėgintuvėlius, pažymėtus pieno mėginių numeriais, įpilama po 200 µl kiekvieno pieno mėginio. Į visus mėgintuvėlius iš buteliuko, pažymėto „1“, įpilama po 200 µl atsekamosios medžiagos tirpalo. Patartina etalono ir atsekamosios medžiagos tirpalus pilti į mėgintuvėlius prieš pat tyrimą;

79.5.2. mėgintuvėliai 3 min. inkubuojami (64±0,2) °C temperatūroje darbo stoties A (viršutinėje) eilėje. Šio inkubavimo metu mėgintuvėlių turinys sukratomas kratymo įtaisu;

79.5.3. po inkubavimo pieno ir atsekamosios medžiagos mišinys iš mėgintuvėlių išpilamas. Mėgintuvėliai išplaunami valikliu, pripilant valiklio iki mėgintuvėlio viršaus, o po to jį išpilant. Plovimo procedūra pakartojama dar du kartus;

79.5.4. į kiekvieną mėgintuvėlį įpilama po 1 ml spalvos ryškalo iš buteliuko, pažymėto „2“. Laiko trukmė tarp tirpalo įpylimo į pirmą ir paskutinį mėgintuvėlį negali viršyti 10 s. Įpylus spalvos ryškalo, mėgintuvėliai įstatomi į darbo stoties B (apatinę) eilę ir kambario temperatūroje kratomi 3 min.;

79.5.5. spalvos intensyvumas automatiškai palyginamas su etaloninio mėginio, pažymėto „S“, spalva.

79.6. Rezultatų vertinimas:

79.6.1. po 3 min. ISRP darbo stotis automatiškai interpretuoja rezultatus. Stotis pateikia atsakymą skaičiais arba žinute:

79.6.1.1. skaičiai 00 ir didesni (+01, +02 ir t. t.) arba žinutės +, + + ir + + + reiškia, kad pieno mėginyje yra *beta-laktaminį* žiedą turinčių antibiotikų likučių;

79.6.1.2. skaičiai -01 ir mažesni (-02, -03 ir t. t.) arba žinutė OK reiškia, kad pieno mėginyje nėra *beta-laktaminį* žiedą turinčių antibiotikų likučių arba jų yra mažiau kaip nustatytas lygis;

79.6.2. darbo stotis papildomai atspausdina rezultatus su išsamia ataskaita apie pieno mėginį. Rezultatai negali būti naudojami *beta-laktamų* kiekiui nustatyti, nes tai priklauso nuo

antibiotikų tipo ir tyrimo sąlygų. Todėl vieno ir to paties mėginio, tirto su kitais mėginiais ar pakartotinai, tyrimo rezultatai, išreikšti skaičiais, skiriasi. Nors pakartotinių tyrimų rezultatai būna skirtingi, jie atitinka vertinimo „yra antibiotikų likučių“ arba „nėra antibiotikų likučių“ ribas.

PASTABA. Testas labai jautrus beta-laktaminį žiedą turintiems antibiotikams, todėl reikia vengti bet kokio užkrėtimo šiomis medžiagomis. Prieš tyrimą būtina plauti rankas ir stalo paviršių muilu ir vandeniui bei nusausti švariu medžiaginiu ar popieriniu rankšluosčiu.

Turi būti vengiama reagentų (atsekamosios medžiagos, spalvos ryškalo) užkrėtimo pieno mėginiais per pipetę.

Testo rinkinys neturi būti naudojamas pasibaigus galiojimo terminui, nurodytam ant pakuotės.

Reagentai ar mėgintuvėliai negali būti sukeisti tarp skirtingų testo rinkinių komplektų. Likusios rinkinio medžiagos turi būti išmestos.

Papildyta punktu:

Nr. [3D-472](#), 2006-12-04, Žin., 2006, Nr. 133-5042 (2006-12-07), i. k. 1062330ISAK003D-472

Žalio pieno pirminių kokybės rodiklių
įvertinimo instrukcijos
1 priedas

(Ekspertizės lapo pavyzdys)

EKSPERTIZĖS LAPAS

data

Mėginio numeris	Kvapas ir skonis	Įvertinimas taškais

(Vertintojo pareigos)

(Parašas)

(Vardas, pavardė)

KVAPO IR SKONIO PALYGINAMŲJŲ MĖGINIŲ PARUOŠIMAS

1. Tyrimui naudojamas degazuotas arba prieš naudojimą 10 min. pavirintas, mažiausiai 3-iojo grynumo laipsnio analizės vanduo pagal Lietuvos standartą LST EN ISO 3696 „Analizės vanduo. Apibūdinimas ir bandymo metodai“ ir tik analiziškai grynai reagentai:

- 1.1. amonio hidroksidas (NH_4OH), 25 proc. tirpalas;
- 1.2. valerijono (pentano) rūgštis ($\text{C}_4\text{H}_9\text{COOH}$), 1 proc. tirpalas;
- 1.3. dimetilsulfidas (CH_3SCH_3);
- 1.4. geležies sulfatas ($\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$), 0,3 proc. tirpalas;
- 1.5. chlorkalkės (CaClOCl), 10 proc. tirpalas;
- 1.6. kaprilo (oktano) rūgštis ($\text{C}_7\text{H}_{15}\text{COOH}$);
- 1.7. kaprino (dekano) rūgštis ($\text{C}_9\text{H}_{19}\text{COOH}$);
- 1.8. kaprono (heksano) rūgštis ($\text{C}_5\text{H}_{11}\text{COOH}$);
- 1.9. sviesto (butano) rūgštis ($\text{C}_3\text{H}_7\text{COOH}$);
- 1.10. žibalas;
- 1.11. vario sulfatas ($\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$), 1 proc. tirpalas;
- 1.12. geriamoji soda (NaHCO_3), 9 proc. tirpalas;
- 1.13. natrio chloridas (NaCl), 10 proc. tirpalas;
- 1.14. acto rūgštis (CH_3COOH), 1 proc. tirpalas;
- 1.15. chinino hidrochloridas ($\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_2 \times \text{HCl}$);
- 1.16. metiletilketonas (2-butanonas) ($\text{C}_4\text{H}_8\text{O}$);
- 1.17. propanolis ($\text{C}_3\text{H}_7\text{OH}$);
- 1.18. polispononas, 4 proc. tirpalas.

2. Naudojama įprastinė laboratorinė įranga ir toliau išvardytos priemonės:

- 2.1. analizinės svarstyklės, kuriomis galima pasverti $\pm 0,01$ mg tikslumu;
- 2.2. elektrinė viryklė;
- 2.3. vandens vonia, kurioje palaikoma $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ temperatūra;
- 2.4. pipetės 1,2, 5 ml;
- 2.5. vienažymės matavimo kolbos 100, 200, 500 ml;
- 2.6. kūginės kolbos su gludintais kamščiais 100 ml;
- 2.7. mikropipetės;
- 2.8. stikliniai biuksai.

3. Tirpalų paruošimas:

3.1. 10 proc. amoniako tirpalas. Į 100 ml koncentruoto (25 proc.) amoniako tirpalo ir įpilama 15 ml vandens. Tirpalas kruopščiai išmaišomas. Sandariai uždarytame inde tirpalą galima laikyti ne ilgiau kaip 1 mėn.

3.2. 1 proc. valerijono rūgšties tirpalas. Į 100 ml vienažymę matavimo kolbą įpilama 1,06 ml valerijono rūgšties. Vandeniui skiedžiama iki žymės. Sandariai uždarytame inde tirpalą galima laikyti ne ilgiau kaip 1 mėn.

3.3. 0,3 proc. geležies sulfato tirpalas. Pasveriamas 0,5487 g geležies sulfato ($\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$) ir ištirpinama 99,5 ml vandens. Tirpalą galima laikyti ne ilgiau kaip 1 mėn.

3.4. 10 proc. chlorkalkių tirpalas. Pasveriamas 12,51 g chlorkalkių, ištirpinama 87,5 ml vandens, perfiltruojama per popieriaus filtrą. Sandariai uždarytame inde tirpalą galima laikyti ne ilgiau kaip 1 mėn.

3.5. 0,5 proc. kaprono rūgšties tirpalas. Į 100 ml vienažymę matavimo kolbą įpilama 0,54 ml kaprono rūgšties, ištirpinama vandenyje, skiedžiama (vandeniu) iki žymės. Sandariai uždarytame inde tirpalą galima laikyti ne ilgiau kaip 1 mėn.

3.6. 1 proc. sviesto rūgšties tirpalas. Į 100 ml vienažymę matavimo kolbą įpilama 1 ml

sviesto rūgštis, ištirpinama vandenyje, skiedžiama iki žymės ir išmaišoma. Sandariai uždarytame inde tirpalą galima laikyti ne ilgiau kaip 1 mėn.

3.7. 1 proc. vario sulfato tirpalas. Pasveriamas 1,5644 g vario sulfato ($\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$) ir ištirpinama 98,5 ml vandens. Tirpalą galima laikyti ne ilgiau kaip 1 mėn.

3.8. 9 proc. geriamosios sodos, t. y. natrio hidrokarbonato (NaHCO_3) tirpalas. Pasveriamas 9 g natrio hidrokarbonato ir ištirpinama 91 ml distiliuoto, virinto vandens. Tirpalą galima laikyti ne ilgiau kaip 1 mėn.

3.9. 10 proc. natrio chlorido (NaCl) tirpalas. Pasveriamas 10 g natrio chlorido ir ištirpinama 90 ml vandens. Tirpalą galima laikyti ne ilgiau kaip 12 mėn.

3.10. 4 proc. polisponono tirpalas. 0,2 g polisponono ištirpinama 5 ml distiliuoto vandens. Tirpalas gaminamas prieš pat naudojimą.

3.11. 1 proc. acto rūgštis tirpalas. Į 100 ml vienažymę matavimo kolbą įpilama 0,95 ml ledinės acto rūgšties, skiedžiama vandeniu iki žymės. Sandariai uždarytame inde tirpalą galima laikyti ne ilgiau kaip 1 mėn.

3.12. 0,1 proc. chinino hidrochlorido tirpalas. Pasveriamas 0,1 g chinino hidrochlorido ir ištirpinama 99,9 ml vandens. Tirpalą galima laikyti ne ilgiau kaip 12 mėn.

3.13. Tirpalas su pašarų (šakniavaisių) prieskoniu. Į 500 ml vienažymę matavimo kolbą toliau nurodyta eile, kaskart kruopščiai sumaišant, įpilama 1,2 ml metiletiketono, 4 ml propanolio ir 0,08 ml dimetilsulfido ir vandeniu skiedžiama iki žymės. Sandariai uždarytoje kolboje tirpalą galima laikyti ne ilgiau kaip 1 mėn.

3.14. Tirpalas su pašarų (siloso) prieskoniu. Į sandariai užkemšamą kūginę kolbą įpilama 1 ml 1 proc. acto rūgštis tirpalo, 23 ml 1 proc. valerijono rūgštis tirpalo, 6 ml 1 proc. sviesto rūgštis tirpalo. Tirpalas kruopščiai sumaišomas. Sandariai uždarytame inde tirpalą galima laikyti ne ilgiau kaip 1 mėn.

4. Pieno palyginamųjų mėginių su kvapo ir skonio ydomis paruošimas. Juslinę analizę atliekantys specialistai turi žinoti galimas pieno kvapo ir skonio ydas. Dėl to dezodoruotuose induose paruošiami palyginamieji pieno mėginiai su įvairiomis ydomis (1 ir 2 lentelės).

PALYGINAMIEJI MĖGINIAI SU PAŠARŲ KVAPU IR PRIESKONIU

1 lentelė

Paruošimo būdas	Mėginio ruošimas
Distiliacijos būdas	Silosas (arba pašarai) ir vanduo masės santykiu 1:2 supilami į kolbą. Mišinys turi užpildyti apie 1/2 kolbos tūrio. Kolba užkemšama kamščiu su įstatytu stikliniu vamzdeliu. Prie vamzdelio pritvirtinama guminė žarnelė, kurios vienas galas įleidžiamas į kolbą su 50 ml pieno. Kolba kaitinama. Lakūs komponentai su vandens garais pereina į pieną. Pienas įgauna ryškų pašarų prieskonį.
Ekstrakcijos būdas	Įvairiais santykiais sumaišyti pašarai ir vanduo filtruojami. Filtratas pilamas į 50 ml pieno. Filtrato pilama tiek, kad pienas įgautų ryškų pašarų prieskonį.
Cheminių reagentų priemaišų būdas:	
1) Palyginamasis mėginys su šakniavaisių prieskoniu	Į 50 ml pieno įpilama 1 ml tirpalo su šakniavaisių prieskoniu.
2) Palyginamasis mėginys su siloso prieskoniu	Į 50 ml pieno įpilama 0,6 ml tirpalo su siloso prieskoniu

PALYGINAMIEJI MĖGINIAI SU KVAPU IR SKONIO YDOMIS

2 lentelė

Įvairios ydos	Mėginio ruošimas
1. Sūrus skonis	Į 50 ml pieno įpilama 0,5 ml 10 proc. natrio chlorido tirpalo. Gerai išmaišoma
2. Kartus skonis	Į 50 ml pieno maišant įpilama 1 ml 0,1 proc. chinino hidrochlorido tirpalo

3. Oksidacijos kvapas ir skonis:	
3.1. popieriaus kvapas ir skonis	Į 50 ml pieno įpilama 1 ml 0,3 proc. geležies sulfato tirpalo
3.2. metalo kvapas ir skonis	Į 250 ml pieno įpilama 0,2 ml 1 proc. vario sulfato tirpalo (3.7). Gera išmaišoma ir, kad atsirastų kvapas ir skonis, laikoma šaldytuve 5 °C temperatūroje 24–48 val.
4. Lipolizės kvapas ir skonis	Į 100 ml pieno mikropipete įlašinama 0,2 ml sviesto rūgštis
5. Apkartimo kvapas ir skonis	Stikliniame biukse pasverama 0,01 g kaprino rūgštis ir, įpylus nedidelį kiekį 37 °C temperatūros pieno, sumaišoma. Mišinys kruopščiai perpilamas į 200 ml vienažymę matavimo kolbą ir pienu skiedžiama iki žymės. Po to į kolbą mikropipete iš eilės įlašinama 0,01 ml sviesto rūgštis, 0,01 ml kaprino rūgštis ir 0,01 ml kaprilo rūgštis. Vienažymę matavimo kolba užkemšama ir mišinys kruopščiai sumaišomas
6. Pridusimo kvapas ir skonis	1. Į kūginę 100 ml kolbą įpilama 50 ml pieno ir nuolat maišant įpilama 2,5 ml kaprino rūgštis tirpalo. 2. Į cheminę stiklinę įpilama 50 ml pieno ir neuždengus pastatoma į eksikatorių, kuriame įdėta pelėsių. Eksikatorius dedamas į (4±2) °C temperatūros šaldytuvą ir paliekama 10–12 val. Po to į pieną įpilama 0,5 ml polisponono tirpalo ir 1,25 ml kaprino rūgštis tirpalo. Kruopščiai sumaišoma
7. Pelėsių kvapas ir skonis	Į cheminę stiklinę įpilama 50 ml pieno ir pastatoma į eksikatorių, kuriame įdėta pelėsių. Eksikatorius dedamas į (4±2) °C temperatūros šaldytuvą ir laikoma 24 valandas
8. Sodos kvapas ir skonis	Į cheminę stiklinę įpilama 50 ml pieno ir 0,5 ml sodos tirpalo. Kruopščiai sumaišoma
9. Amoniako kvapas ir skonis	Į cheminę stiklinę įpilama 50 ml pieno ir 0,1 ml amoniako tirpalo. Kruopščiai sumaišoma
10. Chlorkalkių kvapas ir skonis	Į cheminę stiklinę įpilama 50 ml pieno ir nuolat maišant įpilama 0,5 ml chlorkalkių tirpalo. Mišinys kruopščiai sumaišomas
11. Naftos produktų kvapas ir skonis	Į cheminę stiklinę įpilama 100 ml pieno ir nuolat maišant įpilama 0,1 ml žibalo arba benzino. Kruopščiai sumaišoma. Po to imama 10 ml mišinio ir sumaišoma su 90 ml pieno. Tokia procedūra pakartojama dar kartą. Tada mišinyje žibalo ar benzino kiekis yra 0,001 ml.

Tais atvejais, kai palyginamųjų mėginių naudojimo trukmė nenurodyta, jie privalo būti ruošiami prieš pat naudojimą.

Pakeitimai:

1.

Lietuvos Respublikos žemės ūkio ministerija, Įsakymas

Nr. [3D-472](#), 2006-12-04, Žin., 2006, Nr. 133-5042 (2006-12-07), i. k. 1062330ISAK003D-472

Dėl žemės ūkio ministro 2006 m. liepos 25 d. įsakymo Nr. 3D-303 "Dėl Žalio pieno pirminių kokybės rodiklių įvertinimo instrukcijos patvirtinimo" papildymo

2.

Lietuvos Respublikos žemės ūkio ministerija, Įsakymas

Nr. [3D-173](#), 2007-04-19, Žin., 2007, Nr. 46-1752 (2007-04-26), i. k. 1072330ISAK003D-173

Dėl žemės ūkio ministro 2006 m. liepos 25 d. įsakymo Nr. 3D-303 "Dėl Žalio pieno pirminių kokybės rodiklių įvertinimo instrukcijos patvirtinimo" pakeitimo

