

Suvestinė redakcija nuo 2006-01-01

Įsakymas paskelbtas: Žin. 2000, Nr. [4-116](#), i. k. 1002330ISAK00000005

Nauja redakcija nuo 2006-01-01:

Nr. [3D-545](#), 2005-11-28, Žin. 2005, Nr. 144-5253 (2005-12-10), i. k. 1052330ISAK003D-545

LIETUVOS RESPUBLIKOS ŽEMĖS ŪKIO MINISTRAS

Į S A K Y M A S

DĖL ANALIZĖS METODŲ MEDAUS SUDĖČIAI NUSTATYTI PATVIRTINIMO

2000 m. sausio 10 d. Nr. 5

Vilnius

Atsižvelgdama į 2001 m. gruodžio 20 d. Tarybos direktyvos 2001/110/EB dėl medaus 5 straipsnį:

t v i r t i n u Analizės metodus medaus sudėčiai nustatyti (pridedama).

ŽEMĖS ŪKIO Ministras

Edvardas Makelis

SUDERINTA

Valstybinės kokybės inspekcijos
viršininkas

B. Pauža

1999 m. gruodžio 8 d.

SUDERINTA

Lietuvos valstybinės veterinarijos tarnybos
direktorius

K. Lukauskas

1999 m. gruodžio 27 d.

PATVIRTINTA

Lietuvos Respublikos žemės ūkio ministro
2000 m. sausio 10 d. įsakymu Nr. 5
(Lietuvos Respublikos žemės ūkio ministro
2005 m. lapkričio 28 d. įsakymo Nr. 3D-545
redakcija)

ANALIZĖS METODAI MEDAUS SUDĖČIAI NUSTATYTI

I. BENDROSIOS NUOSTATOS

1. Analizės metodai medaus sudėčiai nustatyti (toliau – analizės metodai) parengti atsižvelgiant į 2001 m. gruodžio 20 d. Tarybos direktyvą 2001/110/EB dėl medaus.

2. Medaus sudėčiai nustatyti taikomi šie tyrimų metodai: mėginių paruošimo analizei, cukrų nustatymo efektyviaja skysčių chromatografija, cukrų atskyrimo efektyviaja skysčių chromatografija, c-4 augalinių cukrų nustatymo pagal stabilų anglies izotopų santykį, medaus rūgštingumo nustatymo, diastazės aktyvumo nustatymo pagal Phadebą, savitojo elektrinio laidžio nustatymo, vandenyje netirpių medžiagų nustatymo, hidroksilmetilfurfurolo nustatymo efektyviaja skysčių chromatografija, drėgnio nustatymo, medaus botaninės sudėties nustatymo.

3. Šiuose analizės metoduose vartojamos sąvokos:

Lipčiaus medus – medus, gautas iš augalais mintančių vabzdžių (*Hemiptera* būrio) išskyrų, likusių ant augalų gyvųjų dalių arba iš augalų gyvųjų dalių išskyrų.

Medaus drėgnis – vandens kiekis meduje, išreikštas procentais.

Medaus rūgštingumas – rūgšties kiekis meduje, išreikštas miliekivalentais rūgšties kilograme.

Medus – saldi medžiaga, naminių bičių (*Apis mellifera*) gaminama iš augalų nektaro, augalų gyvųjų dalių išskyrų arba ant augalo gyvųjų dalių likusių augalais mintančių vabzdžių išskyrų, kurias bitės surenka, perdirba, papildydamos specifinėmis savo medžiagomis, sunėša į korius, padeda išgarinti drėgmę ir palieka koriuose subręsti.

Melisopalinologija – mokslas, tiriantis bičių produktuose esančių žiedadulkių botaninę sudėtį.

II. MĖGINIŲ PARUOŠIMAS ANALIZEI

4. Prieš atliekant medaus analizę, jis turi būti paruošiamas laikantis šių reikalavimų:

4.1. skystas arba presuotas medus – jeigu jame nėra kristalų, sumaišomas plakant arba kratant. Susikristalizavęs medus sudedamas į sandarą indą ir nemerkiant dedamas ant vandens vonios, šildomas 30 min. 60 °C temperatūroje. Jeigu būtina, toliau šildomas 65 °C temperatūroje, kartais supurtant kol suskystės, išmaišomas ir kiek galima greičiau, kol skystas, pasveriamas reikalingas kiekis. Medus, kuris naudojamas hidroksilmetilfurfurolo kiekiui arba diastazės aktyvumui nustatyti, nešildomas. Jeigu meduje esama pašalinių priemaišų (kiaušinėlių, vaško, medžio, bičių ar korių gabaliukų), prieš mėginio paruošimą jis pašildomas ant vandens vonios iki 40 °C temperatūros ir košiamas per marlę, įklotą į vandens srauto šildomą piltuvėlį;

4.2. korinis medus – jei jis koryje dengtas, dangteliai pašalinami. Medus galutinai atskiriamas nuo korių perkošiant per vielos tinklo sieta, kurio kvadratiniai akučių kraštinės yra 0,50 mm. Jeigu vaško dalelės praeina pro sieta, mėginys pašildomas, kaip nurodyta 2 punkte, ir košiamas

per filtrą. Jeigu medus susikristalizavęs, jis pašildomas, iki vaškas išsilydys, pamaišomas ir atvėsinaamas. Vaškui sustingus, jis pašalinamas.

III. CUKRŲ NUSTATYMAS MEDUJE EFEKTYVIOSIOS SKYSČIŲ CHROMATOGRAFIJOS METODU

5. Metodas skirtas fruktozės, gliukozės, sacharozės, turanozės ir maltozės nustatymui meduje. Metodą galima taikyti ir kitų sacharidų (melezitozės, erlozės, izomaltozės, rafinozės ir pan.) nustatymui, kaip aprašyta publikuotame originaliaame S. Bogdanovo (S. Bogdanov 1988) metode.

6. Metodo principas – nufiltravus medaus tirpalą, cukrų kiekis nustatomas efektyviosios skysčių chromatografijos metodu, naudojant refraktometrinį detektorį. Chromatografinės smailės identifikuojamos pagal jų sulaikymo trukmę. Kiekybiškai tiriamų medžiagų kiekiai nustatomi išorinio standarto metodu pagal smailių plotą arba aukštį.

7. Šiam tyrimui naudojami reagentai:

7.1. vanduo – 3-io kokybės lygio arba ekvivalentiško švarumo;

7.2. metanolis, skirtas chromatografijai;

7.3. acetonitrilas, skirtas chromatografijai;

7.4. judančioji fazė, skirta chromatografijai, – sumaišoma 80 tūrio dalių acetonitrilo su 20 tūrio dalių vandens. Prieš naudojimą iš judančiosios fazės pašalinamos dujos;

7.5. etalonų tirpalai:

7.5.1. į 100 ml matavimo kolbą pipete įpilama 25 ml metanolio. Priklausomai nuo to, koks cukrus bus analizuojamas, 40 ml vandens ištirpinami toliau nurodyti kiekiai ir perkeliama į matavimo kolbą su metanolio. Praskiedžiama vandeniu iki žymės:

fruktozės 2,000 g;

gliukozės 1,500 g;

sacharozės 0,250 g;

turanozės 0,150 g;

maltozės 0,150 g;

7.5.2. tirpalai į chromatografinius buteliukus supilami švirkštu, filtruojant per membraninį filtrą. Etaloniniai tirpalai išlieka stabilūs 4 savaites laikant juos šaldytuve $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ temperatūroje ir šešis mėnesius laikant (-18°) C temperatūroje.

8. Jei kitaip nenurodyta, visi reagentai turi būti analiziškai grynai.

9. Šiam tyrimui naudojama įranga ir priemonės:

9.1. chromatografiniai mėginių buteliukai;

9.2. ultragarsinė vonelė;

9.3. 100 ml talpos kalibruotos matavimo kolbos;

9.4. 25 ml pipetė;

9.5. membraniniai filtrai, kurių porų diametras $0,45 \mu\text{m}$;

9.6. filtrų laikiklis su atitinkamu švirkštu;

9.7. skysčių chromatografas, susidedantis iš siurblio, mėginių švirkšto, reguliuojamos temperatūros RI detektoriaus su nustatoma 30°C temperatūra, kolonelių termostato su nustatoma 30°C temperatūra. Chromatografavimas gali būti atliekamas kambario temperatūroje ir tai neturi jokios įtakos cukrų atskyrimui. Tačiau šioje temperatūroje negalima atskirti erlozės ir melezitozės;

9.8. analitinė, nerūdijančio plieno kolonėlė 4,6 × 250 mm, užpildyta silikageliu su amino grupėmis; dalelių dydis 5–7 μm.

10. Prieš pradedant tyrimą, atliekamas sistemos tinkamumo testas, kad būtų galima įsitikinti cukrų atskyrimo galimybėmis.

11. Mėginio paruošimo ir analizės procedūra:

11.1. medus tyrimui paruošiamas taip, kaip nurodyta analizės metodų II skyriuje;

11.2. mėginio tirpalo paruošimas – 0,01 g tikslumu pasveriami 5 g medaus ir ištirpinama 40 ml vandens. Į 100 ml matavimo kolbą įpilama 25 ml metanolio ir į jį supilamas vandeninis medaus tirpalas. Praskiedžiama vandeniu iki žymės. Tirpalas nufiltruojamas per membraninį filtrą į chromatografinius buteliukus. Saugojimo sąlygos tokios pat kaip etalonų tirpalų;

11.3. efektyvioji skysčių chromatografija – jei naudojama šio metodo 9.8 punkte aprašyta kolonėlė, cukrams atskirti yra optimalios šios chromatografavimo sąlygos:

11.3.1. judančiosios fazės tekėjimo debitas – 1,3 ml/min;

11.3.2. judančioji fazė: acetonitrilas – vanduo (80: 20 v/v);

11.3.3. kolonėlės ir detektoriaus temperatūra: 30°C. Jei negalima atlikti analizės 30°C temperatūroje, ji gali būti atliekama kambario temperatūroje. Šiuo atveju neįmanoma atskirti melezitozės ir erlozės;

11.3.4. įšvirkščiamas mėginio tūris: 10 μl;

11.4. į chromatografinę kolonėlę įšvirkščiami vienodi tiriamo mėginio ir etalonų tirpalų tūriai.

12. Rezultatų apskaičiavimas ir išreiškimas:

12.1. medaus cukrūs yra identifikuojami ir kiekybiškai apskaičiuojami lyginant jų sulaikymo trukmes ir smailių plotus su atitinkamų cukrų etalonų sulaikymo trukme ir smailių plotais;

12.2. atskirai nustatyto cukraus fruktozės, gliukozės, maltozės ir kt. masės dalis (W) 100 g apskaičiuojama pagal formulę:

$$W = \frac{A_1 \times V_1 \times m_1 \times 100}{A_2 \times V_2 \times m_0}, \text{ kai:}$$

A_1 – atitinkamo cukraus smailės plotas ar aukštis mėginio chromatogramoje, išreikštas ploto, ilgio ar integravimo vienetais;

A_2 – atitinkamo cukraus smailės plotas ar aukštis etalono chromatogramoje, išreikštas ploto, ilgio ar integravimo vienetais;

V_1 – visas mėginio tirpalo tūris ml;

V_2 – visas etalono tirpalo tūris ml;

m_1 – cukraus masė gramais, esanti visame etalono tirpalo tūryje (V_2);

m_0 – mėginio svoris g;

12.3. rezultatai pateikiami apvalinant iki vieno skaičiaus po kablelio (dešimtosiomis dalimis);

12.4. procedūros rezultatų glaudumas nustatytas Vokietijos standartizacijos instituto bandymais. Pakartojamumas ir atkuriamumas apskaičiuoti trijų rūšių medui, kurį analizavo visos tyrime dalyvavusios laboratorijos (1 priedas).

IV. CUKRŲ ATSKYRIMAS MEDUJE EFEKTYVIOSIOS SKYSČIŲ CHROMATOGRAFIJOS METODU

13. Cukrų atskyrimas efektyviosios skysčių chromatografijos metodu skirtas fruktozės, gliukozės ir sacharozės kiekiui meduje nustatyti.

14. Metodo principas – metodas paremtas paskelbtu originaliu AOAC 977.20 metodu. Nufiltravus medaus tirpalą, cukrų kiekis nustatomas efektyviosios skysčių chromatografijos metodu naudojant refraktometrinį detektorių. Chromatografinės smailės identifikuojamos pagal jų sulaikymo trukmę. Kiekybiškai tiriamų medžiagų kiekiai nustatomi išorinio standarto metodu pagal smailių aukštį.

15. Šiam tyrimui naudojami reagentai:

15.1. vanduo – 3-io kokybės lygio arba ekvivalentiško švarumo;

15.2. acetonitrilas, skirtas chromatografijai;

15.3. judančioji fazė, skirta chromatografijai, – sumaišoma 83 tūrio dalys acetonitrilo su 17 tūrio dalių vandens. Prieš naudojimą iš judančiosios fazės pašalinamos dujos;

15.4. etalonų tirpalai:

15.4.1. mono-, di- ir polisacharidų sulaikymo trukmė kolonėlėje priklauso nuo molekulinio masių;

15.4.2. į 100 ml matavimo kolbą įdedama 3,804 g fruktozės, 3,010 g gliukozės ir 0,602 g sacharozės, ištirpinama 50 ml vandens ir praskiedžiama acetonitrilu iki 100 ml. Etalonų tirpalo sudėtis atitinka 5 g medaus ištirpinto 50 ml vandeninio acetonitrilo tirpalo (1:1);

15.4.3. tirpalai į chromatografinius buteliukus supilami švirkštu filtruojant per membraninį filtrą.

16. Jei kitaip nenurodyta, visi reagentai turi būti analiziškai grynai.

17. Šiam tyrimui naudojama įranga ir priemonės:

17.1. chromatografas – Waters Asociacijos modelis ALC/GPC arba ekvivalentus jam modelis su 6000A modelio tirpiklių paėmimo sistema ir U6K modelio mėginių švirkštu;

17.2. detektorius – Waters Asociacijos refraktometrinis R-401 arba jam ekvivalentus modelis;

17.3. integratorius – Varian Aerograph A-25 dviejų rašiklių arba jam ekvivalentus modelis;

17.4. chromatografinė kolonėlė – 300 × 4 mm μ-Bondapak/Carbohydrate (Waters Asociacijos, Nr. 84038);

17.5. filtravimo sistema – Waters Asociacijos Nr. 26865 arba ekvivalentus rinkinys; galima naudoti 0,45 mm porų diametro membraninius filtrus;

17.6. švirkštai – 10 μl Nr. 701-N tipo;

17.7. chromatografiniai mėginių buteliukai;

17.8. 100 ml talpos kalibruotos matavimo kolbos;

17.9. 50 ml talpos kalibruotos matavimo kolbos.

18. Mėginio paruošimo ir analizės procedūra:

18.1. chromatografavimo sąlygos – fruktozė, gliukozė ir sacharozė visiškai atskiriamos ir kiekybiškai nustatomos per 20 min esant šioms sąlygoms: judančiosios fazės tekėjimo debitas – 1,0 ml/min (slėgis apie 500 psi; 3,45 MPa); temperatūra – aplinkos (apie 23°C); signalo stiprinimas nustatomas taip, kad 380 μg fruktozės chromatografinė smailė pasiektų nustatytą skalės maksimumą. Mono-, di- ir polisacharidų išplovimo iš kolonėlės eiliškumas atitinka jų molekulinį masių eiliškumą;

18.2. mėginio tirpalo paruošimas – atsveriamas 5,000 g mėginio ir perkeliama į 50 ml matavimo kolbą. Ištirpinama 25 ml vandens, tuoj pat praskiedžiama acetonitrilu iki žymės ir filtruojama per 0,45 porų diametro membraninį filtrą;

18.3. tyrimo eiga – į chromatografinę kolonėlę įšvirkščiama 10 μl etalono tirpalo. Nustatoma sulaikymo trukmė, išmatuojami smailių aukščiai ir patikrinamas atkuriamumas. Procedūra atliekama su tiriamu mėginiu.

19. Medaus cukrai yra identifikuojami ir kiekybiškai apskaičiuojami lyginant jų sulaikymo trukmes ir smailių aukščius su atitinkamų cukrų etalonų sulaikymo trukme ir smailių aukščiu.

$$\text{Cukraus dalis (proc.)} = \frac{PA}{PA'} \times \frac{V}{V_1} \times \frac{W'}{W} \times 100,$$

kai: PA – cukraus smailės aukštis mėginio chromatogramoje;

PA' – cukraus smailės aukštis etalono chromatogramoje;

V – mėginio tirpalo tūris (50 ml);

V' – etalono tirpalo tūris (100 ml);

W – mėginio svoris (5,000 g);

W' – etalono svoris.

V. C-4 AUGALINIŲ CUKRŲ NUSTATYMAS STABILŲ ANGLIES IZOTOPŲ SANTYKIO METODU

20. Metodas gali būti taikomas patikrinti netikslumus įvertinant $d^{13}\text{C}$ reikšmes tarp 23,4 ir 21,5 ‰. Metodas taip pat taikomas tirti medui su bet kuriomis $d^{13}\text{C}$ reikšmėmis.

21. Metodo principas – stabilų anglies izotopų santykio reikšmė baltymuose, išskirtuose iš medaus, yra etalonas, su kuriuo lyginama viso medaus stabilų anglies izotopų santykio reikšmė.

22. Šiam tyrimui naudojama įranga:

22.1. centrifuga su horizontaliu 4 laikiklių rotoriumi 50 ml mėgintuvėliams. Sukimo jėga – 500×g;

22.2. izotopų santykio masių spektrometras – VG 602E arba ekvivalentus modelis.

23. Šiam tyrimui naudojami reagentai:

23.1. volframo rūgšties natrio druska – 10 proc. vandeninis tirpalas;

23.2. sieros rūgštis – 0,67N. 1,88 ml H_2SO_4 praskiesta iki 100 ml.

24. Medus tyrimui paruošiamas taip, kaip nurodyta analizės metodų II skyriuje.

25. Baltymams atskirti ir išvalyti taikoma viena iš šių procedūrų:

25.1. daugkartinio (pasikartojančio) plovimo procedūra. 10–12 g medaus švariame centrifuginiame 50 ml mėgintuvėlyje užpilama 4 ml H_2O ir gerai išmaišoma. Kitame mažesniame mėgintuvėlyje sumaišoma 2,0 ml 10 proc. natrio volframoto tirpalo ir 2,0 ml 0,67N H_2SO_4 tirpalo, tuoj pat supilama į medaus tirpalą ir gerai išmaišoma. Mėgintuvėlis įdedamas į 80°C vandens vonią ir pastoviai maišant šildomas, iki susidarys matomi dribsniai ir skaidrus tirpalas. Jei nesusidaro matomi dribsniai ar tirpalas išlieka neskaidrus, kelis kartus įpilama po 2 ml 0,67N H_2SO_4 .

Susidarius dribsniams ir skaidriam tirpalui, į mėgintuvėlį pripilama vandens (iki 50 ml), sumaišoma ir centrifuguojama 5 minutes (1500×g). Tirpalas nuo nuosėdų nupilamas. Plovimo, maišymo ir centrifugavimo procedūra kartojama 5 kartus su 50 ml vandens porcijomis, kiekvieną kartą gerai išmaišant nuosėdas;

25.2. dializės procedūra. Procedūrai naudojami celiulioziniai dializės vamzdeliai 25 mm × 30 cm (tinka Sigma 250-9U), sulaikantys baltymus, kurių molekulinė masė didesnė nei 12 000.

Maišelis sudrėkinamas, vienas jo galas stipriai užrišamas. 5–7 g medaus pakaitinama iki virimo (galima mikrobangų krosnelėje), įpilama 3–5 ml vandens, supilama į maišelį, laisvas galas užrišamas ir dializuojama (plaunama) tekančiame vandenyje ne mažiau kaip 16 val. Maišelio turinys perkeliamas į 50 ml centrifuginį mėgintuvėlį ir centrifuguojama 5 min (1500×g). Tirpalas nupilamas į 100 ml kolbą. Nuosėdos išmetamos. Sumaišoma 6,0 ml 10 proc. natrio volframoto su 6,0 ml 0,67N H_2SO_4 ir supilama į dializatą. Kaitinama maišant ant karštos plytelės, iki susidarys matomi dribsniai ir skaidrus tirpalas. Jei reikia, papildomai pridedama rūgštis. Visas tirpalas supilamas į 50 ml centrifuginį mėgintuvėlį ir centrifuguojama 5 min (1500×g). Tirpalas nupilamas, nuosėdos išmaišomos, užpilamos vandeniu ir centrifuguojamos.

Gauti baltymai įdedami į porcelianinį deginimo indą. Baltymai sudeginami tuo pačiu būdu, kuris naudotas medaus sudeginimui. Jei reikia, dalis mėginio paliekama vėlesniam izotopų santykio nustatymui, išplautos nuosėdos Pastero pipete perkeliama į nedidelį užsukamą buteliuką, 2 min pakaitinamos verdančiame vandenyje ir išdžiovinamos 75°C temperatūroje (ne mažiau kaip 3 val.).

26. C-4 cukraus kiekis apskaičiuojamas pagal formulę:

$$(\text{proc.}) \text{ C-4cukrūs} = \left\{ \frac{d^{13}C_p - d^{13}C_H}{d^{13}C_p - (-9.7)} \right\} \times 100 ,$$

kai: $d^{13}C_p$ – stabilių izotopų santykio reikšmė baltymuose (proc.);

$d^{13}C_H$ – stabilių izotopų santykio reikšmė meduje (proc.);

-9,7 – vidutinė $d^{13}C$ reikšmė (kukurūzų, javų) sirupe (proc.).

Gautos neigiamos reikšmės pateikiamos kaip 0 proc.

C-4 cukrų (pirmiausiai kukurūzų ar cukranendrių) kiekis laikomos žymiu, jei gaunamos 7 proc. ar didesnės C-4 reikšmės.

Metodo parametrai – rezultatai apskaičiuoti pagal formulę, kurių ribos 2,14–13,6 proc.:

$r = 1,25\text{--}2,69$; $R = 1,92\text{--}2,69$; $RSD_r = 9,22\text{--}90,9$ proc.; $RSD_R = 14,5\text{--}92,6$ proc.

VI. MEDAUS RŪGŠTINGUMO NUSTATYMO METODAS

27. Šiuo metodu nustatomas medaus rūgštingumas. Šis metodas aprašytas CAC/12-1969 ir Maisto kodekso (*Codex Alimentarius*) komisijos rekomenduojamas kaip Europos standartas medui.

28. Medaus rūgštingumo nustatymo principas – titruojant mėginį su natrio šarmu gaunama medaus neutralizacijos kreivė. Rūgštingumas skaičiuojamas pagal titruojamo tirpalo kiekį, sunaudotą ekvivalentiniam taškui gauti.

29. Šiam tyrimui naudojami reagentai:

29.1. standartinis natrio šarmo tirpalas, 0,05 mol/l (neturintis anglies dioksido);

29.2. vanduo, neturintis anglies dioksido (prieš naudojant 3-io kokybės lygio vanduo virinamas, po to atšaldomas).

30. Jei kitaip nenurodyta, visi reagentai turi būti analiziškai grynai.

31. Šiam tyrimui naudojama įranga ir priemonės:

31.1. pH metras (0,01 matavimo tikslumo);

31.2. magnetinė maišyklė;

31.3. analitinės svarstyklės (0,0001 mažiausia padala, g);

31.4. kolbutės, 50 ml;

31.5. menzūra, 50 ml;

31.6. pipetės, 25 ml;

31.7. biuretė, graduota 0,05 ml.

32. Mėginio paruošimas analizei – į laboratoriją pristatomo medaus mėginys turi būti ne mažesnis kaip 200 g ir visada laikomas sandariame inde. Medus tyrimui paruošiamas taip, kaip nurodyta analizės metodų II skyriuje.

33. Paruošto mėginio analizė:

33.1. pasveriamas 5,00 g medaus, ištirpinama keliuose mililitruose vandens, supilama į 50 ml matavimo kolbutę, praskiedžiama vandeniu iki brūkšnio. Iš šios kolbutės pipete pritraukiama 25 ml tirpalo ir supilama į menzurą;

33.2. į menzurą įdedama magnetinė maišyklė, kuria tirpalas švelniai išmaišomas ir potenciometriškai titruojamas su natrio šarmo tirpalu. Titruojama su natrio šarmu po 0,05 ml. pH užsirašomas po kiekvieno natrio šarmo tirpalo įleidimo;

33.3. braižomas grafikas, kurio ordinačių ašyje atidedami pH pokyčiai, o abscisių ašyje – sunaudoto natrio šarmo kiekis ir nubrėžiama kreivė. Pagal kreivės išlinkimą nustatomas pH neutralizacijos taškas. Galutinė pH reikšmė nustatoma pagal dviejuose tyrimuose sunaudoto natrio šarmo kiekių vidurkį, reikalingą neutralizacijos taškui pasiekti.

34. Rezultatų apskaičiavimas ir išreiškimas:

$$\text{Rūgštingumas (mekv/kg)} = \frac{1000 \times V \times M}{m},$$

kai:

m – mėginio masė g, t. y. 0,5x mėginio svorio, paimto pagal punktą (30);

M – natrio šarmo moliaringumas mol/l;

V – sunaudoto natrio šarmo kiekis ml, pH neutralizacijos taškui pasiekti.

Rūgštingumas išreiškiamas natrio šarmo miliekvivalentais, kurių reikia neutralizuoti 1000 g paruošto medaus tirpalo.

35. Medaus mėginių statistinės rūgštingumo analizės rezultatai pateikiami 2 priede.

VII. DIASTAZĖS AKTYVUMO NUSTATYMAS PHADEBO METODU

36. Metodas gali būti taikomas visų medaus mėginių tyrimui.

37. Diastazės aktyvumo nustatymo principas – diastazės aktyvumas meduje nustatomas fotometriniu metodu. Naudojamas netirpus mėlynai nudažantis tinklinės struktūros krakmolos. Krakmolą hidrolizuoja enzimas, sudarydamas mėlynus, vandenyje tirpius junginius, kurie nustatomi fotometru nustačius 620 nm bangos ilgį. Tirpalo absorbcija yra tiesiogiai proporcinga mėginio diastazės aktyvumui.

38. Šiam tyrimui naudojami reagentai:

38.1. Phadebo (Phadebas) tabletės, kurių kokybė nustatyta farmacijos pramonėje;

38.2. natrio šarmas 0,5 M;

38.3. acetatinis buferis (0,1 M, pH 5,2): ištirpinti 13,6 g natrio acetato trihidrato 3-io kokybės lygio vandenyje. Tirpalą praskiesti 3-io kokybės lygio vandeniu iki vieno litro;

38.4. ledine acto rūgštis, skirta sureguliuoti buferio pH iki 5,2, įpilant jos 1–2 ml.

39. Šiam tyrimui naudojami prietaisai:

39.1. fotometras;

39.2. reagentų maišiklis;

39.3. termostatuojama vandens vonia;

39.4. chronometras.

40. Medus tyrimui paruošiamas taip, kaip nurodyta analizės metodų II skyriuje.

41. Paruošto mėginio analizė:

41.1. pasveriami 1,00 g medaus, ištirpinama acetatiniame buferyje, supilama į 100 ml matavimo kolbutę ir praskiedžiama iki brūkšnio. Procedūra atliekama per valandą. 5,0 ml pagaminto medaus tirpalo supilama į tiriamą kolbutę ir ji pastatoma ant vandens vonios, kurioje nustatyta 40°C temperatūra;

41.2. paruošiamas kontrolinis mėginys – į kitą kolbutę įpilama 5,0 ml acetatinio buferio, kuris šildomas kaip ir tiriamasis mėginys;

41.3. į abu tirpalus pincetu įdedamos Phadebo tabletės ir įjungiamas chronometras. Tirpalų reagentai maišikliu išmaišomi taip, kad tabletės ištirptų (apie 10 s), kolbutės vėl pastatomos ant vandens vonios. Tiksliai po 15 minučių reakcija nutraukiama, įlašinant 1 ml 0,5 M natrio šarmo tirpalo. Apie 5 s tirpalai maišomi reagentų maišykle. Abu tirpalai tuoj pat filtruojami per popierinį filtrą. Absorbcija matuojama fotometru nustačius 620 nm bangos ilgį. Palyginamasis tirpalas yra vanduo. Tirpalų matavimui naudojamos 1 cm kiuvetės;

41.4. iš tiriamojo mėginio absorbcijos dydžio atimamas kontrolinio mėginio absorbcijos dydis ($\square A_{620}$). Jeigu absorbcija yra didesnė kaip 1,0, mėginys praskiedžiamas 3-io kokybės lygio vandeniu. Skaiciuojant rezultatus, įvertinamas praskiedimas.

42. Rezultatų apskaičiavimas ir jų išreiškimas:

Diastazės skaičiaus (DS) tiesinė regresija (y) absorbcijos atžvilgiu (x) išreiškiama lygtimi:

$$DS = 28,2 \times (\Delta A_{620}) + 2,64,$$

kai: DS – diastazės skaičius;

ΔA_{620} – tiriamo mėginio ir kontrolinio mėginio absorbcijos skirtumas;

28,2 – tiesės pasvirimo kampas;

2,64 – tiesės susikirtimo su y ašimi taškas.

Po kiekvieno ΔA_{620} išmatavimo Phadebo metodu, DS apskaičiuojamas pagal pateiktą formulę.

Diastazės aktyvumas išreiškiamas diastazės skaičiumi (DS) Šadės (Gotes) vienetais ir apibrėžiamas taip: vienas diastazės vienetas atitinka enzimo, esančio 1 g medaus, aktyvumą, kuris per vieną valandą, esant 40°C temperatūrai, gali hidrolizuoti 0,01 g krakmolo.

43. Procedūros rezultatų glaudumas – nustatytas Šveicarijoje, atliekant tyrimo duomenų tikslumo įvertinimą:

43.1. trys skirtingo medaus rūšys tirtos trijose laboratorijose; didžiausias diastazės aktyvumo nuokrypis (riba) tos pačios siuntos meduje, gautas skirtingose laboratorijose nustatant su Phadebo tabletėmis, sudarė 3,7 proc.;

43.2. atliekant tos pačios rūšies medaus iš dviejų skirtingų siuntų tyrimo Phadebo tabletėmis duomenų analizę, gautas standartinis diastazės aktyvumo nuokrypis 3,7 proc. (n=24, n – analizių skaičius iš vienos siuntos);

43.3. 20-ties tablečių svorio skirtumai svyravo iki 5 proc. ribos, o standartinis nukrypimas siekė 2 proc.

44. Diastazės aktyvumo pakartojamumo (r) ir atkuriamumo (R) reikšmės nurodytos 3 priede.

VIII. SAVITOJO ELEKTRINIO LAIDŽIO NUSTATYMO METODAS

45. Šis metodas skirtas medaus savitojo elektrinio laidžio nustatymui tarp 0,1–3 mS cm⁻¹ ribų.

46. Šio metodo principas – medaus savitasis elektrinis laidis matuojamas pasvėrus 20 g medaus mėginį, apskaičiuotą pagal jo sausą svorį ir ištirpinus 100 ml vandens. Matuojama panaudojus konduktometrą su elektrodu. Savitojo elektrinio laidžio nustatymas remiasi elektros varžos nustatymu. Savitasis elektros laidis yra varžai atvirkščias dydis.

47. Šiam tyrimui naudojami reagentai:

47.1. vanduo turi būti šviežias 3-io kokybės lygio arba atitinkamos kokybės;

47.2. 0,1 M kalio chlorido tirpalo ruošimas – ištirpinama 7,4557 g kalio chlorido (KCl), išdžiovinto esant 130°C. Supilama į 1 litro matavimo kolbą, tirpalas praskiedžiamas šviežiu 3-io kokybės lygio vandeniu iki brūkšnio. Tirpalas ruošiamas naudojimo dieną. Taip pat galima naudoti 0,1 M kalio chlorido fiksanalus.

48. Naudojami reagentai turi būti analiziškai švarūs.

49. Šiam tyrimui naudojama įranga ir priemonės:

- 49.1. konduktometras, kurio žemiausia matavimo riba yra 10^{-7} S;
- 49.2. savitojo elektrinio laidžio celė, dvigubas platininis elektrodas (panardinamas elektrodas);
- 49.3. termometras, kurio padalos vertė $0,1^{\circ}\text{C}$;
- 49.4. termostatuojama vandens vonia, kurioje palaikoma $20 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$;
- 49.5. 100 ml ir 1000 ml matavimo kolbos;
- 49.6. aukštos stiklinės.

50. Prietaiso, mėginio paruošimo ir analizės procedūra:

50.1. savitojo elektrinio laidžio celės konstantos nustatymas:

50.1.1. jeigu nėra žinoma savitojo elektrinio laidžio celės konstanta, tada šis dydis nustatomas taip: į stiklinę įpilama 40 ml kalio chlorido, savitojo elektrinio laidžio celė sujungiama su konduktometru, paskalaujama su kalio chloridu ir panardinama į tirpalą. Į šį tirpalą įdėdamas termometras. Kai nusistovi 20°C temperatūra, elektrinio laidžio dydis užsirašomas milisimensais. Dauguma konduktometrų naudoja nuolatinę srovę. Norint išvengti neteisingų rezultatų dėl poliarizacijos efekto, matavimo laikas turi būti kuo trumpesnis;

50.1.2. savitojo elektrinio laidžio konstanta K apskaičiuojama pagal formulę:

$$K = 11,691 \times 1/G,$$

kai:

K – savitojo elektrinio laidžio konstanta cm^{-1} ;

G – savitasis elektrinis laidis milisimensais, išmatuotas cele;

11,69 – šviežio 3-io kokybės lygio vandens ir 0,1 M kalio chlorido tirpalo, esant 20°C temperatūrai, savitųjų elektrinių laidžių vidurkių suma.

Po konstantos nustatymo elektrodas praskalaujamas 3-io kokybės lygio vandeniu.

Kai platininis elektrodas nenaudojamas, jis laikomas 3-io kokybės lygio vandenyje;

50.2. medus tyrimui paruošiamas taip, kaip nurodyta analizės metodų II skyriuje;

50.3. mėginio tirpalo paruošimas:

50.3.1. pasveriamas 20,0 g medaus, ekvivalentiško jo sausai masei, ištirpinama 3-io kokybės lygio vandenyje. Tirpalas supilamas į 100 ml matavimo kolbą, praskiedžiamas 3-io kokybės lygio vandeniu iki brūkšnio. Jeigu būtina, galima imti mažesnį medaus kiekį ir praskiesti santykiu 1:5;

50.3.2. 40 ml tirpalo įpilama į stiklinę. Ji pastatoma 20°C temperatūros šilto vandens vonioje. Savitojo elektrinio laidžio celė praskalaujama likusiu tirpalu ir panardinama į mėginio tirpalą. Temperatūrai nusistovėjus savitasis elektrinis laidis užrašomas milisimensais;

50.3.3. jeigu matavimas atliekamas ne 20°C temperatūroje, duomenys koreguojami, kad rezultatai atitiktų gaunamus esant 20°C temperatūrai:

50.3.3.1. esant aukštesnei kaip 20°C temperatūrai – atimama 3,2 proc. reikšmės kiekvienam laipsniui;

50.3.3.2. esant žemesnei kaip 20°C temperatūrai, pridedama 3,2 proc. reikšmės kiekvienam laipsniui.

51. Savitasis elektrinis laidis skaičiuojamas taikant formulę:

$$S_H = K \times G,$$

kai:

S_H – medaus savitasis elektrinis laidis milisimensais centimetrai;

K – celės konstanta centimetrais;

G – savitasis elektrinis laidis milisimensais.

Rezultatai išreiškiami $0,01 \text{ mS cm}^{-1}$ tikslumu.

Metodo glaudumas nustatytas Vokietijos standartizacijos instituto bandymais, duomenys galioja medui, kurio savitasis elektrinis laidis yra tarp $0,1 - 3 \text{ mS cm}^{-1}$ ribų (visi duomenys išreikšti mSx cm^{-1}).

52. Statistinės medaus mėginių savitojo elektrinio laidžio analizės duomenys pateikti 4 priede.

IX. VANDENYJE NETIRPIŲ MEDŽIAGŲ NUSTATYMO MEDUJE METODAS

53. Šiuo metodu nustatomas vandenyje netirpių medžiagų kiekis meduje. Šis metodas aprašytas CAC/12-1969 ir Maisto kodekso (*Codex Alimentarius*) komisijos rekomenduojamas kaip Europos standartas medui.

54. Šiam tyrimui naudojami reagentai:

54.1. 1 proc. spiritinis florogliukonilio tirpalas;

54.2. koncentruota sieros rūgštis.

55. Visi reagentai turi būti analiziškai švarūs arba atitikti kitus kokybės reikalavimus.

56. Šiam tyrimui naudojama įranga ir priemonės:

56.1. analitinės svarstyklės, sveriančios $0,1 \text{ mg}$ tikslumu;

56.2. stiklinis filtravimo tiglis, turintis $15-40 \text{ }\mu\text{m}$ porų diametrą;

56.3. elektrinė kaitinimo krosnelė, kurioje reguliuojama temperatūra ir nustatoma 135°C ;

56.4. eksikatorius su efektyvia džiovinimo medžiaga (silikogeliu).

57. Mėginio paruošimo ir analizės procedūra:

57.1. mėginio paruošimas analizei – į laboratoriją pristatomo medaus mėginys turi būti ne mažesnis kaip 200 g ir visada laikomas sandariame inde. Medus tyrimui paruošiamas taip, kaip nurodyta analizės metodų II skyriuje;

57.2. paruošto mėginio analizė:

57.2.1. stiklinis filtravimo tiglis džiovinamas 1 val. esant 135°C elektrinėje kaitinimo krosnelėje, po to atšaldomas eksikatoriuje ir pasveriamas $0,1 \text{ mg}$ tikslumu (m_1);

57.2.2. $0,1 \text{ mg}$ tikslumu pasveriamas 20 g medaus (m_0) ir ištirpinama 200 ml vandens, kurio temperatūra 80°C ; gerai išmaišoma;

57.2.3. filtruojama per anksčiau iškaitintą ir pasvertą stiklinį filtravimo tiglį;

57.2.4. stiklinis tiglis plaunamas 80°C temperatūros vandeniu, iki jame nebus cukraus. Tiglio plovimas šiltu vandeniu yra būtinas. Moro (Mohr's) testas taikomas plovimo vandeniui patikrinti.

58. Moro testas:

58.1. florogliukonilio tirpalas įpilamas į bandomojo mėginio filtratą ir sumaišomas. Per mėgintuvėlio kraštą įlašinami keli lašai koncentruotos sieros rūgšties. Jeigu tirpale yra cukraus, spalva atsiranda tirpalų skiriamajame paviršiuje;

58.2. stiklinis tiglis džiovinamas elektrinėje kaitinimo krosnelėje 1 val. esant 135°C, po to pasveriamas 0,1 mg tikslumu;

58.3. mėginys džiovinamas elektrinėje kaitinimo krosnelėje esant 135°C, iki pastovaus svorio m_2 .

59. Rezultatų skaičiavimas:

Vandenyje netirpių medžiagų kiekis procentais apskaičiuojamas pagal formulę:

$$\text{Netirpių medžiagų kiekis (proc.)} = \frac{m_2 - m_1}{m_0} \times 100 ,$$

kai:

m_0 – analizuojamo medaus mėginio masė, g;

m_1 – sauso tiglio masė, g;

m_2 – sauso tiglio masė su netirpiomis priemaisomis, g.

60. Statistinės medaus mėginių vandenyje netirpių medžiagų analizės rezultatai (proc.) pateikti 5 priede.

X. HIDROKSILMETILFURFUROLO NUSTATYMAS MEDUJE EFEKTYVIOS SKYSČIŲ CHROMATOGRAFIJOS METODU

61. Šis tyrimo metodas taikomas visoms medaus rūšims. Kai hidroksilmetilfurfurolo (toliau – HMF) koncentracija labai didelė, imamas mažesnis medaus mėginio kiekis.

62. Metodo principas – HMF nustatomas švariame filtruotame vandeniniame medaus tirpale efektyvios skysčių chromatografijos metodu (toliau – ESCh) su atvirkštinių fazių kolonėle ir UV detektoriumi. Tiriamos medžiagos signalo intensyvumas lyginamas su etaloninio žinomos koncentracijos tirpalo signalo intensyvumu.

63. Šiam tyrimui naudojami reagentai:

63.1. judri fazė: vanduo metanolis (90 + 10 pagal tūrį,) kuris atitinka ESCh kokybės reikalavimus;

63.2. etaloniniai tirpalai: 5 – (hidroksilmetil-) furan -2 – anglies aldehidas (HMF) (pav. Merck Nr. 820 678 arba Fluka Nr. 55690), 1, 2, 5 bei 10 mg/litre vandeniniame tirpale. Tirpalas ruošiamas prieš darbą, jo likutis nesaugomas.

64. Etaloninio HMF kiekio nustatymas: paruošto etaloninio tirpalo koncentracija nustatoma pagal absorbciją prie 258 nm su UV spektrometru, 1 cm kvarco kiuvetėje lyginant kitą kiuvetę su vandeniu.

65. Etaloninio tirpalo koncentracija skaičiuojama pagal literatūroje pateikiamą moliarinę absorbciją, $a_{1cm}^{1\%}$ arba pagal absorbciją 133,57.

$$k = \frac{A}{133,57} \times 1000 \text{ mg/l,}$$

kai: k HMF koncentracija, mg/l;

A etaloninio tirpalo absorbcija.

Apskaičiuotas kiekis privalo atitikti tiekėjo nurodomą koncentraciją (technines sąlygas).

Etaloninis tirpalas yra labai higroskopiškas, todėl laikomas 4–8°C temperatūroje, azoto aplinkoje.

66. Šiam tyrimui taikoma įranga ir priemonės:

66.1. skysčių chromatografas su UV spindulių detektoriumi ir integratoriumi;

66.2. kolonėlė: atvirkštinių fazių kolonėlė C18 nuostovioji fazė, pav. Hypersil ODS 5 µm, 125x4 mm arba 250x4;

66.3. 0,45 µm membraninis filtras (pav. Dynagardo).

67. Mėginio paruošimo ir analizės procedūra:

67.1. medus tyrimui paruošiamas taip, kaip nurodyta analizės metodų II skyriuje;

67.2. tirpalo paruošimas chromatografiniam tyrimui – į laboratorinę 50 ml stiklinėlę supilama 10 g 0,1 mg tikslumu pasverto tiriamojo medaus, mėginys ištirpinamas apytikriai 25 ml vandens ir supilama į 50 ml matavimo kolbutę, praskiedžiamas vandeniu iki 50 ml. Filtruojama per 0,45 µm membraninį filtrą taip paruošiant tirpalą chromatografiniam tyrimui;

67.3. chromatografavimo sąlygos:

tekėjimo debitas: 1,0 ml/min;

išvirkščiamas tiriamojo mėginio ar etaloninio tirpalo kiekis: 20 µl;

nustatymas: UV 285 nm; diapazonas 0,2 absorbcijos vienetų.

68. Rezultatų apskaičiavimas – HMF kiekis mėginyje skaičiuojamas palyginant atitinkamų mėginių ir etaloninių tirpalų chromatogramų smailių plotus, įvertinant praskiedimą. HMF smailių plotų ir tirpalų koncentracijų priklausomybė turi būti tiesinė. Rezultatai išreiškiami miligramais kilograme, įvertinant vieną skaičių po kablelio.

69. Furfurolas, kurio būna labai mažai lyginant su HMF, nustatomas tuo pačiu metodu. Furfurolo sulaikymo trukmė apie 1,5 min ilgesnė nei HMF.

70. Medaus mėginių statistinės hidroksimetilfurfurolo (HMF) analizės rezultatai pateikti 6 priede.

XI. MEDAUS DRĖGNIO NUSTATYMO METODAS

71. Medaus drėgnio nustatymo metodas taikomas gryno, originalios spalvos medaus drėgniui nustatyti. Jis aprašytas CAC/12-1969 ir Maisto kodekso (*Codex Alimentarius*) komisijos ir rekomenduojamas kaip Europos standartas medui.

72. Metodo principas – tiriamojo mėginio refrakcijos indeksas nustatomas esant 20°C temperatūrai ir perskaičiuojamas į drėgmės kiekį pagal lenteles, kuriose drėgmės kiekis nurodomas kaip lūžimo rodiklio funkcija.

73. Šiam tyrimui reagentai nenaudojami.

74. Šiam tyrimui naudojamos įranga ir priemonės:

74.1. refraktometras, galintis įvertinti duomenis keturių skaičių po kablelio tikslumu, esant refrakcijos indeksui tarp 1,4700-1,5100 ribų, turintis priemonės vandens cirkuliacijai apie prizmę ir termometrą, kurio galas panardintas į vandenį. Termometro patikra turi būti testuota tiksliai 20°C temperatūrai;

74.2. šviesos šaltinis refraktometrui, turintis natrio lempą, turi atitikti jį pagaminusios įmonės reikalavimus;

74.3. vandens vonia su termostatu reguliuojama temperatūra, kurios pokyčiai ne didesni kaip 0,5°C, turinti siurbį vandeniui varinėti apie refraktometro prizmes;

74.4. stiklinė arba plastikinė suplotu palenktu galu lazdelė, naudojama tiriamai medaus porcijai uždėti ant prizmių.

75. Mėginio paruošimo ir analizės procedūra:

75.1. mėginio paruošimas analizei – į laboratoriją pristatomo medaus mėginys turi būti ne mažesnis kaip 200 g ir visada laikomas sandariame inde. Medus tyrimui paruošiamas taip, kaip nurodyta analizės metodų II skyriuje;

75.2. mėginio analizavimas – lūžio rodiklis išmatuojamas refraktometru, esant 20°C temperatūrai.

76. Matavimo rezultatai:

76.1. perskaičiavimas – medaus drėgnis nustatomas pagal lentelę, kurioje konkretų lūžio rodiklį atitinka drėgnis (7 priedas). Medaus drėgnis lentelėje išreikštas mėginio masės procentais;

76.2. matavimo rezultatų koregavimas – jeigu matuojant temperatūrą buvo ne 20°C, refraktometro parodymams turi būti taikomi tokie pataisymai:

76.2.1. esant aukštesnei kaip 20°C temperatūrai – pridėti po 0,00023 kiekvienam °C;

76.2.2. esant žemesnei kaip 20°C temperatūrai – atimti po 0,00023 kiekvienam °C.

77. Medaus drėgnio pagal lūžio rodiklį nustatymo duomenys nurodyti 7 priede.

78. Statistinės medaus mėginių drėgnio analizės rezultatai (proc.) nurodyti 8 priede.

XII. MEDAUS BOTANINĖS SUDĖTIES NUSTATYMO METODAS

79. Medaus botaninės sudėties nustatymo metodas taikomas atskirų augalų žiedadulkių bei lipčiaus elementų (grybų sporos, jų hifai, mielės) procentinės sudėties nustatymui medaus tirpalo nuosėdose.

80. Šiam metodui naudojama įranga ir priemonės:

80.1. mikroskopas, didinantis ne mažiau kaip 400 kartų;

80.2. centrifuga, kurios rotorius sukčių dažnis ne mažesnis kaip 3000 aps./min;

80.3. (10–20) ml konusiniai centrifuginiai mėgintuvėliai;

80.4. objektiniai mikroskopiniai stikleliai;

80.5. dengiamieji mikroskopiniai stikleliai;

80.6. mikropipetės;

80.7. svarstyklės (0,01 g tikslumo);

80.8. reagentas Kaiserio glicerolio želatina („Merck“ firmos).

81. Mėginio paruošimas – pasverama 10 g medaus, ištirpinama 20 ml distiliuoto vandens, supilama į konusinius centrifuginius mėgintuvėlius ir centrifuguojama 10 min. 3000 aps./min dažniu. Po to viršutinis tirpalo sluoksnis nupilamas, užpilama 10 ml vandens ir centrifuguojama 5 min. Viršutinis tirpalo sluoksnis nupilamas, paliekant ant nuosėdų 0,1–0,3 ml tirpalo. Nuosėdos išmaišomos.

82. Preparato paruošimas mikroskopavimui – į pipetę pritraukiama apie 0,1 ml išmaišytų nuosėdų, užlašinama ant objektinio mikroskopinio stiklelio, paskirstoma 1 cm² plote. Džiovinama ne aukštesnėje kaip 40°C temperatūroje. Ant išdžiovintų nuosėdų arba ant dengiamojo mikroskopinio stiklelio užlašinamas lašas Kaiserio glicerolio želatinos. Nuosėdos uždengiamos dengiamuoju mikroskopiniu stikleliu, džiovinama 40°C temperatūroje tol, kol nebelieka oro burbulų ir visas preparatas išdžiūsta.

83. Mikroskopavimas – žiedadulkės (Ž) identifikuojamos mikroskopu naudojant ne mažesnę kaip 400 kartų padidinimą. Perstumiant mikroskopo stielį, preparate suskaičiuojama 200–300 žiedadulkių. Jei meduje yra lipčiaus elementų (L), jie taip pat suskaičiuojami. Skirtingų augalų žiedadulkių kiekis surašomas lentelėje. Jeigu preparate yra tik dviejų augalų žiedadulkės, pakanka jų suskaičiuoti 200. Nektaro neišskiriančių augalų žiedadulkės ir lipčiaus elementai iš bendro nektaringų augalų žiedadulkių skaičiaus atimami.

Lipčiaus medaus mėginyje žiedadulkių būna mažai, nuo 50 iki 150 vienetų.

84. Meduje esančių žiedadulkių kiekis (procentais) skaičiuojamas pagal formulę:

$$\check{Z} = \frac{ax100}{b}$$

kai: $\check{Z}$ – vienos augalų rūšies žiedadulkių kiekis, proc.;

a – vienos augalų rūšies identifikuotų žiedadulkių skaičius;

b – bendras žiedadulkių skaičius.

Identifikuojami trys mėginiai. Jeigu tarp jų skirtumas yra didesnis kaip 5 proc., tiriamas ketvirtas mėginys.

Vidurkis skaičiuojamas iš trijų artimiausių rezultatų.

85. Lipčiaus elementų kiekis (procentais) skaičiuojamas pagal formulę:

$$L = \frac{cx100}{c+b},$$

kai: L – lipčiaus elementų kiekis, proc.;

c – lipčiaus elementų skaičius;

c+b – bendras lipčiaus elementų ir žiedadulkių skaičius.

Identifikuojami trys mėginiai. Jeigu tarp jų skirtumas yra didesnis kaip 5 proc., tiriamas ketvirtas mėginys.

Vidurkis skaičiuojamas iš trijų artimiausių rezultatų.

Priedo pakeitimai:

Nr. [3D-545](#), 2005-11-28, Žin., 2005, Nr. 144-5253 (2005-12-10), i. k. 1052330ISAK003D-545

Analizės metodų medaus sudėčiai nustatyti
1 priedas

PAKARTOJAMUMO (r) IR ATKURIAMUMO (R) REIKŠMĖS

Mėginio Nr.	Fruktozė g/100 g	Pakartojamumas (repeatability) r	Atkuriamumas (reproducibility) R
1	31,2	0,8	1,6
2	42,4	0,9	2,3
3	37,9	1,0	1,6

Mėginio Nr.	Gliukozė g/100 g	Pakartojamumas (repeatability) r	Atkuriamumas (reproducibility) R
1	23,0	0,9	2,1
2	28,5	0,8	1,8
3	32,0	1,1	1,4

Mėginio Nr.	Sacharozė g/100 g	Pakartojamumas (repeatability) r	Atkuriamumas (reproducibility) R
1	-	-	-
2	-	-	-
3	2,8	0,4	0,9

Mėginio Nr.	Turanozė g/100 g	Pakartojamumas (repeatability) r	Atkuriamumas (reproducibility) R
1	2,1	0,4	0,8
2	1,7	0,3	0,5
3	1,3	0,3	0,8

Mėginio Nr.	Maltozė g/100 g	Pakartojamumas (repeatability) r	Atkuriamumas (reproducibility) R
1	4,8	0,5	2,5
2	2,0	0,6	1,3
3	2,3	0,5	0,7

Papildyta priedu:

Nr. [3D-545](#), 2005-11-28, Žin., 2005, Nr. 144-5253 (2005-12-10), i. k. 1052330ISAK003D-545

MEDAUS MĖGINIŲ STATISTINĖ RŪGŠTINGUMO ANALIZĖ

Medaus mėginių statistinė rūgštingumo analizė (mekv/kg) Mėginiai	1/7	2/5	3/8	4/6
Laboratorių skaičius, likęs po atrankos	18	19	17	17
Eliminuotų laboratorijų skaičius	1	0	2	2
Priimtų rezultatų skaičius po atrankos	36	38	34	34
ANALITINIS LYGIS				
Vidutinė nustatyta reikšmė	7,0	6,05	13,5	13,5
PAKARTOJAMUMAS				
Standartinis nuokrypis S_r	1,68	1,04	0,71	0,36
Santykinis standartinis nuokrypis $RSD_r(\%)$	24	16	5,3	2,6
Pakartojamumas $r [2.8 \times S_r]$	4,7	2,9	2,0	2,6
ATKURIAMUMAS				
Standartinis nuokrypis S_R	3,0	2,2	2,5	2,5
Santykinis standartinis nuokrypis $RSD_R(\%)$	43	34	19	19
Atkuriamumas $R [2.8 \times S_R]$	8,5	6,2	7,1	7,1

PASTABA. 2 priedo lentelėje susumuoti statistiniai duomenys; rūgštingumas apskaičiuotas pagal titrą ir išreikštas mekv/kg.

Analitinė kokybės kontrolė:

A1 Pakartojamumas – absoliutūs skirtumai tarp dviejų bandymų rezultatų, gautų pakartojamumo sąlygomis, neturi būti didesni negu pakartojamumas r , išvestas iš bendrų bandymo duomenų, apibendrintų (2 lentelėje). Esant rūgštingumui daugiau negu 12 mekv/kg, r gali būti priimamas 3 mekv/kg. Tai atitinka santykinį standartinį pakartojamumo nuokrypį (pakartojamumo variacijos koeficientas), RSD_r mažesnę negu 9 proc. Esant mažesniai rūgštingumui, metodas yra mažiau tikslus (r yra daugiau kaip 5 mekv/kg), tada RSD_r yra daugiau kaip 25 proc.

A2 Atkuriamumas – absoliutūs skirtumai tarp dviejų bandymų rezultatų, gautų atkuriamumo sąlygomis, neturi būti didesni negu atkuriamumas R , apskaičiuotas iš bendrų duomenų, apibendrintų lentelėje. Vidutiniškai R gali būti 6–9 mekv/kg. Tai atitinka santykinį standartinį nuokrypį (atkuriamumo variacijos koeficientas), RSD_R yra 20–25 proc. Esant aukštesniai rūgštingumui (daugiau kaip 12 mekv/kg), galima tikėtis tikslesnių duomenų ($R=7$ mekv/kg, $CV=20$ proc.).

A3 Paklaida nebuvo nustatoma naudojant žinomų koncentracijų rūgštis. Tačiau tai nėra priežastis abejoti sistemos tikslumu.

A4 Matavimo ribos – šios ribos nenustatytos, tačiau bendri bandymų duomenys rodo, kad atskiruose tyrimuose pasiekta mažiausia rūgštingumo riba buvo 5 mekv/kg.

A5 Statistiniai duomenys, apibendrinti iš tarplaboratorinių tyrimų rezultatų.

Kiekvienas bendro tyrimo dalyvis tuo pačiu laiku išanalizavo po aštuonis medaus mėginius (keturis nežinomus mėginius po du pakartojimus iš skirtingų valstybių). Mėginių prieš analizę paruošti nereikėjo.

Papildyta priedu:

Nr. [3D-545](#), 2005-11-28, Žin., 2005, Nr. 144-5253 (2005-12-10), i. k. 1052330ISAK003D-545

Analizės metodų medaus sudėčiai nustatyti
3 priedas

**DIASTAZĖS AKTYVUMO PAKARTOJAMUMO (r) IR ATKURIAMUMO (R)
REIKŠMĖS:**

A_{620} absorbcijos reikšmė	0,212	0,314	0,414	0,588	0,704	0,705	0,734	0,970	1,294
r	0,034	0,032	0,032	0,042	0,049	0,043	0,050	0,065	0,060
R	0,107	0,134	0,161	0,202	0,273	0,311	0,250	0,336	0,428

Pakartojamumas ir atkuriamumas apskaičiuoti iš devynių rūšių medaus, kurias analizavo visos laboratorijos, dalyvaujančios tyrimuose.

Iš gautų duomenų yra apskaičiuotos koreliacijos lygtys:

$$r = 0,02 + 0,03 \times A_{620};$$

$$R = 0,04 + 0,32 \times A_{620}$$

Papildyta priedu:

Nr. [3D-545](#), 2005-11-28, Žin., 2005, Nr. 144-5253 (2005-12-10), i. k. 1052330ISAK003D-545

Analizės metodų medaus sudėčiai nustatyti
4 priedas

STATISTINĖ MEDAUS MĖGINIŲ SAVITOJO ELEKTRINIO LAIDŽIO ANALIZĖ

Mėginio Nr.	Savitojo elektrinio laidžio reikšmė	Pakartojamumas r	Atkuriamumas
1	1,52	0,020	0,120
2	0,44	0,005	0,045
3	0,22	0,002	0,020

Pakartojamumas ir atkuriamumas apskaičiuoti pagal visų laboratorijų, analizavusių tris skirtingas medaus rūšis, rezultatus. Tikimybės lygis – 95 proc.

Papildyta priedu:

Nr. [3D-545](#), 2005-11-28, Žin., 2005, Nr. 144-5253 (2005-12-10), i. k. 1052330ISAK003D-545

**STATISTINĖ MEDAUS MĖGINIŲ VANDENYJE NETIRPIŲ MEDŽIAGŲ (PROC.)
ANALIZĖ**

Mėginiai	1/7	2/5	3/8	4/6
Laboratorių skaičius, likęs po atrankos	15	16	17	16
Eliminuotų laboratorijų skaičius	4	3	2	3
Priimtų rezultatų skaičius, po atrankos	30	32	34	32
ANALITINIS LYGIS				
Vidutinė nustatyta reikšmė	0,02	0,01	0,03	0,01
PASIKARTOJAMUMAS				
Standartinis nuokrypis S_r	0,01	0,01	0,01	0
Santykinis standartinis nuokrypis $RSD_r(\%)$	27	63	26	32
Pakartojamumas $r [2.8 \times h S_r]$	0,02	0,02	0,02	0,01
ATKURIAMUMAS				
Standartinis nuokrypis S_R	0,01	0,01	0,01	0,01
Santykinis standartinis nuokrypis $RSD_R(\%)$	36	63	26	84
Atkuriamumas $R [2.8 \times h S_R]$	0,02	0,02	0,02	0,03

PASTABA. Lentelėje susumuoti statistiniai duomenys – netirpių medžiagų kiekis procentais mėginyje.

Analitinė kokybės kontrolė:

A1 Pakartojamumas – absoliutūs skirtumai tarp dviejų bandymų rezultatų, gautų pakartojamumo sąlygomis, neturi būti didesni negu pakartojamumas r , išvestas iš bendrų bandymo duomenų, apibendrintų lentelėje. Esant netirpių medžiagų kiekiui tarp 0,01–0,03 proc. ribų, r galima naudoti 0,02 proc. Tai atitinka santykinį standartinį pakartojamumo nuokrypį (pakartojamumo variacijos koeficientas), RSD_r 24–71 proc. Panašus arba tikslesnis nustatymas gaunamas esant daugiau kaip 0,5 proc. netirpių medžiagų.

A2 Atkuriamumas – absoliutūs skirtumai tarp dviejų bandymų rezultatų, gautų atkuriamumo sąlygomis, neturi būti didesni negu atkuriamumas R , išvestas iš bendrų duomenų, apibendrintų žemiau. Vidutiniškai R gali būti 0,026 proc. Tai atitinka santykinį standartinį nuokrypį (atkuriamumo variacijos koeficientas), RSD_R 31 – 93 proc.

A3 Paklaida nebuvo nustatoma tiriant mėginius, turinčius žinomą netirpių medžiagų koncentraciją. Tačiau tai nėra priežastis abejoti sistemos tikslumu.

A4 Nustatymo ribos – ši riba nebuvo nustatyta, tačiau bandymų duomenys rodo, kad tikslumas neviršijo 0,02 proc. ribos.

A5 Skirtingų laboratorijų statistiniai duomenys – kiekvienas bendro tyrimo dalyvis išanalizavo po aštuonis medaus mėginius vieną kartą (keturis mėginius iš skirtingų valstybių po du nežinomus pakartojimus). Mėginių prieš analizę paruošti nereikėjo.

Papildyta priedu:

Nr. [3D-545](#), 2005-11-28, Žin., 2005, Nr. 144-5253 (2005-12-10), i. k. 1052330ISAK003D-545

MEDAUS MĖGINIŲ STATISTINĖ HIDROKSIMETILFURFUROLO (HMF) ANALIZĖ

Mėginio Nr.	HMF mg/kg	Pakartojamumas r	Atkuriamumas R
1	5,2	0,4	1,6
2	22,8	1,2	4,9
3	42,3	2,1	7,3

Europos medaus komisija įvertino metodo glaudumą ištiriant trijų medaus rūšių mėginius tyrime bendradarbiaujančių laboratorijų. Pakartojamumas ir atkuriamumas buvo apskaičiuoti trijų rūšių medui, kurį analizavo visos tyrime dalyvavusios laboratorijos.

Palyginimas su kitais metodais – esant mažiems HMF kiekiams (apie 5 mg/kg), šiuo metodu gauti duomenys panašūs į gautus ištyrus Vaito (White) metodu, bet mažesni negu tiriant p-toluidino metodu. Esant didesnėms HMF koncentracijoms (20–40 mg/kg), reikšmės, gautos visais trimis metodais, iš esmės nesiskiria.

Papildyta priedu:

Nr. [3D-545](#), 2005-11-28, Žin., 2005, Nr. 144-5253 (2005-12-10), i. k. 1052330ISAK003D-545

Analizės metodų medaus sudėčiai nustatyti
7 priedas

MEDAUS DRĖGNIO PAGAL LŪŽIO RODIKLĮ NUSTATYMAS

Lūžio rodiklis (20°C)	Medaus drėgnis proc.	Lūžio rodiklis (20°C)	Medaus drėgnis proc.
1,5044	13,0	1,4885	19,2
1,5038	13,2	1,4880	19,4
1,5033	13,4	1,4875	19,6
1,5028	13,6	1,4870	19,8
1,5023	13,8	1,4865	20,0
1,5018	14,0	1,4860	20,2
1,5012	14,2	1,4855	20,4
1,5007	14,4	1,4850	20,6
1,5002	14,6	1,4845	20,8
1,4997	14,8	1,4840	21,0
1,4992	15,0	1,4835	21,2
1,4987	15,2	1,4830	21,4
1,4982	15,4	1,4825	21,6
1,4976	15,6	1,4820	21,8
1,4971	15,8	1,4815	22,0
1,4969	16,0	1,4810	22,2
1,4961	16,2	1,4805	22,4
1,4956	16,4	1,4800	22,6
1,4951	16,6	1,4795	22,8
1,4946	16,8	1,4790	23,0
1,4940	17,0	1,4785	23,2
1,4935	17,2	1,4780	23,4
1,4930	17,4	1,4775	23,6
1,4925	17,6	1,4770	23,8
1,4920	17,8	1,4765	24,0
1,4915	18,0	1,4760	24,2
1,4910	18,2	1,4755	24,4
1,4905	18,4	1,4750	24,6
1,4900	18,6	1,4745	24,8
1,4895	18,8	1,4740	25,0
1,4890	19,0		

Papildyta priedu:

Nr. [3D-545](#), 2005-11-28, Žin., 2005, Nr. 144-5253 (2005-12-10), i. k. 1052330ISAK003D-545

STATISTINIAI MEDAUS MĖGINIŲ DRĖGNIO ANALIZĖS REZULTATAI PROC.

Mėginiai	1/7	2/5	3/8	4/6
Laboratorių skaičius, likęs po atrankos	17	18	16	15
Eliminuotų laboratorijų skaičius	1	1	3	5
Priimtų rezultatų skaičius, po atrankos	36	36	32	30
ANALITINIS LYGIS				
Vidutinė nustatyta reikšmė	15,9	17,8	17,3	16,0
PAKARTOJAMUMAS				
Standartinis nuokrypis S_r	0,1	0,19	0,08	0,06
Santykinis standartinis nuokrypis RSD_r (proc.)	0,6	1,1	0,4	0,4
Pakartojamumas r [$2,8 \times h \times S_r$]	0,28	0,53	0,21	0,17
ATKURIAMUMAS				
Standartinis nuokrypis S_R	0,33	0,31	0,14	0,20
Santykinis standartinis nuokrypis RSD_R (proc.)	2,1	1,7	0,8	1,2
Atkuriamumas R [$2,8 \times h \times S_R$]	0,92	0,87	0,40	0,55

PASTABA. Vandens kiekis mėginyje išreikštas procentais.

Analitinė kokybės kontrolė:

A1 Pakartojamumas – absoliutūs skirtumai tarp dviejų bandymų rezultatų, gautų pakartojamumo sąlygomis, neturi būti didesni negu pakartojamumas r , išvestas iš bendrų bandymo duomenų, apibendrintų lentelėje. Medaus drėgnumui esant apie 17 proc., r galima naudoti 0,5 proc. Tai atitinka santykinį standartinį pakartojamumo nuokrypį (pakartojamumo variacijos koeficientas), RSD_r 1,0 proc.

A2 Atkuriamumas – absoliutūs skirtumai tarp dviejų bandymų rezultatų, gautų atkuriamumo sąlygomis, neturi būti didesni negu atkuriamumas R , išvestas iš bendrų duomenų, apibendrintų lentelėje. Vidutiniškai R gali būti 0,9 proc. Tai atitinka santykinį standartinį nuokrypį (atkuriamumo variacijos koeficientas), RSD_R 2,0 proc.

A3 Paklaida nebuvo nustatoma tiriant mėginius, turinčius žinomos koncentracijos drėgnumą. Tačiau tai nėra priežastis abejoti sistemos tikslumu.

A4 Nustatymo ribos – šios ribos nebuvo nustatytos, tačiau bendri bandymų duomenys rodo tikslumą, kuris atitinka ekstrapoliuotą žemesnę apytikrę drėgnumo ribą – 0,3 proc., vienam nustatymui.

A5 Skirtingų laboratorijų statistiniai duomenys – kiekvienas bendro tyrimo dalyvis išanalizavo po aštuonis medaus mėginius vieną kartą (keturis mėginius iš skirtingų valstybių po du nežinomus pakartojimus). Mėginių nereikėjo paruošti prieš analizę, kaip nurodyta analizės metodų II skyriuje.

Papildyta priedu:

Nr. [3D-545](#), 2005-11-28, Žin., 2005, Nr. 144-5253 (2005-12-10), i. k. 1052330ISAK003D-545

Pakeitimai:

1.

Lietuvos Respublikos žemės ūkio ministerija, Įsakymas

Nr. [3D-545](#), 2005-11-28, Žin., 2005, Nr. 144-5253 (2005-12-10), i. k. 1052330ISAK003D-545

Dėl žemės ūkio ministro 2000 m. sausio 10 d. įsakymo Nr. 5 "Dėl Medaus analizės metodų" pakeitimo