



Съдържание

II *Незаконодателни актове*

МЕЖДУНАРОДНИ СПОРАЗУМЕНИЯ

- ★ Решение (ЕС) 2018/145 на Съвета от 9 октомври 2017 година за сключването, от името на Съюза, на Многостранното споразумение между Европейската общност и нейните държави членки, Република Албания, Босна и Херцеговина, Република България, Република Хърватия, бившата югославска република Македония, Република Исландия, Република Черна гора, Кралство Норвегия, Румъния, Република Сърбия и Временната административна мисия на ООН в Косово* за установяване на Общоевропейско авиационно пространство (ЕСАА) 1
- ★ Решение (ЕС) 2018/146 на Съвета от 22 януари 2018 година относно сключването, от името на Съюза, на Евро-средиземноморско споразумение в областта на въздухоплаването между Европейската общност и нейните държави членки, от една страна, и Кралство Мароко, от друга страна 4

РЕГЛАМЕНТИ

- ★ Регламент (ЕС) 2018/147 на Съвета от 29 януари 2018 година за изменение на Регламент (ЕС) № 1370/2013 по отношение на количественото ограничение за изкупуване на обезмаслено мляко на прах 6
- ★ Делегиран регламент (ЕС) 2018/148 на Комисията от 27 септември 2017 година за изменение на приложения II, III и IV към Регламент (ЕС) № 978/2012 на Европейския парламент и на Съвета за прилагане на схема от общи тарифни преференции 8
- ★ Делегиран регламент (ЕС) 2018/149 на Комисията от 15 ноември 2017 година за изменение на Делегиран регламент (ЕС) 2016/1238 по отношение на изискванията към състава и качествените характеристики на млякото и млечните продукти, отговарящи на условията за публична интервенция и помощ за частно складиране 11

* Това название не засяга позициите по отношение на статута и е съобразено с Резолюция 1244/1999 на Съвета за сигурност на ООН и становището на Международния съд относно обявяването на независимост от страна на Косово.

- ★ Регламент за изпълнение (ЕС) 2018/150 на Комисията от 30 януари 2018 година за изменение на Регламент за изпълнение (ЕС) 2016/1240 по отношение на методите за анализ и оценка на качеството на млякото и млечните продукти, отговарящи на условията за публична интервенция и помощ за частно складиране 14
- ★ Регламент за изпълнение (ЕС) 2018/151 на Комисията от 30 януари 2018 година за определяне на правила за прилагане на Директива (ЕС) 2016/1148 на Европейския парламент и на Съвета по отношение на допълнителното уточняване на елементите, които трябва да се вземат предвид от доставчиците на цифрови услуги при управлението на рисковете за сигурността на мрежите и информационните системи, както и на показателите за определяне на това дали даден инцидент има съществено въздействие 48

РЕШЕНИЯ

- ★ Решение (ЕС) 2018/152 на Съвета от 29 януари 2018 година за назначаване на заместник-член, предложен от Федерална република Германия, в Комитета на регионите 52

Поправки

- ★ Поправка на Регламент (ЕС) 2017/1084 на Комисията от 14 юни 2017 г. за изменение на Регламент (ЕС) № 651/2014 по отношение на помощите за пристанищните и летищните инфраструктури, праговете за уведомяване за помощи за култура и опазване на културното наследство и помощи за спортни и мултифункционални инфраструктури за отдих, както и относно схемите за регионална оперативна помощ за най-отдалечените региони и за изменение на Регламент (ЕС) № 702/2014 по отношение на изчисляването на допустимите разходи (ОВ L 156, 20.6.2017 г.) 53

II

(Незаконодателни актове)

МЕЖДУНАРОДНИ СПОРАЗУМЕНИЯ

РЕШЕНИЕ (ЕС) 2018/145 НА СЪВЕТА

от 9 октомври 2017 година

за сключването, от името на Съюза, на Многостранното споразумение между Европейската общност и нейните държави членки, Република Албания, Босна и Херцеговина, Република България, Република Хърватия, бившата югославска република Македония, Република Исландия, Република Черна гора, Кралство Норвегия, Румъния, Република Сърбия и Временната административна мисия на ООН в Косово * за установяване на Общоевропейско авиационно пространство (ЕСАА)

СЪВЕТЪТ НА ЕВРОПЕЙСКИЯ СЪЮЗ,

като взе предвид Договора за функционирането на Европейския съюз, и по-специално член 100, параграф 2 във връзка с член 218, параграф 6, буква а) от него,

като взе предвид предложението на Европейската комисия,

като взе предвид одобрението на Европейския парламент ⁽¹⁾,

като има предвид, че:

- (1) Комисията договори, от името на Европейската общност и на държавите членки, Многостранно споразумение между Европейската общност и нейните държави членки, Република Албания, Босна и Херцеговина, Република България, Република Хърватия, бившата югославска република Македония, Република Исландия, Република Черна гора, Кралство Норвегия, Румъния, Република Сърбия и Временната административна мисия на ООН в Косово за установяване на Общоевропейско авиационно пространство (ЕСАА) („Споразумението“).
- (2) Споразумението беше подписано от името на Общността на 9 юни 2006 г., при условие че бъде сключено на по-късна дата, съгласно Решение 2006/682/ЕО на Съвета и на представителите на държавите — членки на Европейския съюз, заседаващи в рамките на Съвета ⁽²⁾.
- (3) Споразумението беше ратифицирано от всички държави членки.
- (4) С тяхното присъединяване към Съюза Република България, Румъния и Република Хърватия станаха държави членки и следователно автоматично престанаха да бъдат асоциирани страни по споразумението в съответствие с член 31, параграф 2 от него. Това следва да бъде припомнено в нотификация, която ще бъде направена при депозирането на акта за одобряване на Споразумението.

* Това название не засяга позициите по отношение на статута и е съобразено с Резолюция 1244/1999 на Съвета за сигурност на ООН и становището на Международния съд относно обявяването на независимост от страна на Косово.

⁽¹⁾ ОВ С 81 Е, 15.3.2011 г., стр. 5.

⁽²⁾ Решение 2006/682/ЕО на Съвета и на представителите на държавите членки на Европейския съюз, заседаващи в рамките на Съвета от 9 юни 2006 г. за подписване и временно прилагане на Многостранното споразумение между Европейската общност и нейните държави членки и Република Албания, Босна и Херцеговина, Република България, Република Хърватска, Бившата югославска република Македония, Република Исландия, Република Черна гора, Кралство Норвегия, Румъния, Република Сърбия и Временната административна мисия на ООН в Косово относно създаването на Общо европейско авиационно пространство (ЕСАА) (ОВ L 285, 16.10.2006 г., стр. 1).

- (5) Що се отнася до измененията на приложение I към споразумението, които са свързани единствено с включването на законодателство на Съюза в това приложение и се приемат от Съвместния комитет, създаден съгласно член 18 от него, правомощието за тяхното одобряване от името на Съюза следва да бъде предоставено на Комисията след консултация със специален комитет, назначен от Съвета.
- (6) Във всички други случаи позицията, която следва да се заеме в рамките на Съвместния комитет от името на Съюза по въпроси, попадащи в областите на компетентност на Съюза, следва да се определя за всеки отделен случай в съответствие с приложимите разпоредби на Договора за функционирането на Европейския съюз (ДФЕС).
- (7) Тъй като Съюзът и неговите държави членки заедно са страни по споразумението, тясното сътрудничество между тях е от основно значение. С цел да се осигури такова тясно сътрудничество и единство във външното представителство в Съвместния комитет и без да се засягат разпоредбите на Договорите, и по-специално член 16, параграф 1 от Договора за Европейския съюз и член 218, параграф 9 от ДФЕС, позициите, които следва да се заемат в рамките на Съвместния комитет от името на Съюза и на държавите членки по въпроси, попадащи в областите на компетентност както на Съюза, така и на държавите членки, следва да се съгласуват преди всяко заседание на Съвместния комитет, на което се разглеждат такива въпроси.
- (8) Член 2 от Решение 2006/682/ЕО съдържа разпоредби относно определянето на позициите, които следва да се заемат в Съвместния комитет в хода на временното прилагане на споразумението. С оглед на решението на Съда от 28 април 2015 г. по дело C-28/12, Комисия срещу Съвет ⁽¹⁾, тези разпоредби следва да престанат да се прилагат на датата на влизането в сила на настоящото решение.
- (9) Споразумението следва да бъде одобрено,

ПРИЕ НАСТОЯЩОТО РЕШЕНИЕ:

Член 1

1. Многостранното споразумение между Европейската общност и нейните държави членки, Република Албания, Босна и Херцеговина, Република България, Република Хърватия, бившата югославска република Македония, Република Исландия, Република Черна гора, Кралство Норвегия, Румъния, Република Сърбия и Временната административна мисия на ООН в Косово за установяване на Общоевропейско авиационно пространство се одобрява от името на Съюза ⁽²⁾.
2. Председателят на Съвета определя лицето(ата), оправомощено(и) да депозиращ(а) от името на Съюза акта за одобряване, предвиден в член 29, параграф 2 от Споразумението ⁽³⁾, и да направи следната нотификация:

„1. Вследствие на влизането в сила на Договора от Лисабон на 1 декември 2009 г. Европейският съюз заменя Европейската общност и е неин правоприемник, като от същата дата упражнява всички права и поема всички задължения на Европейската общност. Следователно позоваванията на „Европейската общност“ в текста на Споразумението следва, когато е уместно, да бъдат четени като позовавания на „Европейския съюз“.

2. С тяхното присъединяване към Европейския съюз Република България, Румъния и Република Хърватия станаха държави — членки на Европейския съюз, и в съответствие с член 31, параграф 2 от Споразумението престанаха да бъдат асоциирани страни по Споразумението.“

Член 2

Позицията, която трябва да се заеме от Съюза по отношение на решенията на Съвместния комитет по член 17 от Споразумението, отнасящи се само до включването на законодателство на Съюза в приложение I към Споразумението, при условие за извършване на всички необходими технически корекции, се приема от Комисията след консултация със специален комитет, назначен от Съвета.

Член 3

Член 2 от Решение 2006/682/ЕО спира да се прилага на датата на влизането в сила на настоящото решение.

⁽¹⁾ ECLI:EC:C:2015:282.

⁽²⁾ Споразумението е публикувано в Официален вестник на Европейския съюз (ОВ L 285, 16.10.2006 г., стр. 3) заедно с решението за подписването и временното му прилагане.

⁽³⁾ Датата на влизане в сила на Споразумението ще бъде публикувана в Официален вестник на Европейския съюз от генералния секретариат на Съвета.

Член 4

Настоящото решение влиза в сила в деня на приемането му.

Съставено в Люксембург на 9 октомври 2017 година.

За Съвета
Председател
S. KUISLER

РЕШЕНИЕ (ЕС) 2018/146 НА СЪВЕТА**от 22 януари 2018 година****относно сключването, от името на Съюза, на Евро-средиземноморско споразумение в областта на въздухоплаването между Европейската общност и нейните държави членки, от една страна, и Кралство Мароко, от друга страна**

СЪВЕТЪТ НА ЕВРОПЕЙСКИЯ СЪЮЗ,

като взе предвид Договора за функционирането на Европейския съюз, и по-специално член 100, параграф 2 във връзка с член 218, параграф 6, буква а) от него,

като взе предвид предложението на Европейската комисия,

като взе предвид одобрението на Европейския парламент ⁽¹⁾,

като има предвид, че:

- (1) Комисията договори от името на Съюза и на държавите членки Евро-средиземноморско споразумение в областта на въздухоплаването с Кралство Мароко („Споразумението“) в съответствие с решението на Съвета, с което Комисията се упълномощава да започне преговори.
- (2) Споразумението беше подписано на 12 декември 2006 г. съгласно Решение 2006/959/ЕО на Съвета и на представителите на правителствата на държавите членки, заседаващи в рамките на Съвета ⁽²⁾. Споразумението беше ратифицирано от всички държави членки, с изключение на България, Румъния и Хърватия. Предвижда се последните държави членки да се присъединят към Споразумението в съответствие с член 6, параграф 2 от актовете за присъединяване на всяка от тях.
- (3) Що се отнася до измененията на определени приложения към Споразумението, които се приемат от Съвместния комитет, създаден съгласно член 22 от него, правомощието за одобряване на такива изменения от името на Съюза следва да бъде предоставено на Комисията след консултация със специалния комитет, назначен от Съвета.
- (4) Във всички други случаи позициите, които трябва да се заемат в рамките на Съвместния комитет от името на Съюза по въпроси, попадащи в областите на компетентност на Съюза, следва да се определят за всеки отделен случай в съответствие с приложимите разпоредби на Договора за функционирането на Европейския съюз (ДФЕС).
- (5) Тъй като и Съюзът, и неговите държави членки са страни по Споразумението, тясното сътрудничество между тях е от основно значение. С цел да се осигурят тясно сътрудничество и единство във външното представителство в Съвместния комитет и без да се засягат разпоредбите на Договорите, и по-специално член 16, параграф 1 от Договора за Европейския съюз и член 218, параграф 9 от ДФЕС, позициите, които трябва да се заемат в рамките на Съвместния комитет от името на Съюза и на държавите членки по въпроси, попадащи в областите на компетентност както на Съюза, така и на държавите членки, следва да се съгласуват преди всяко заседание на Съвместния комитет, на което се разглеждат такива въпроси.
- (6) Членове 2—5 от Решение 2006/959/ЕО съдържат разпоредби относно вземането на решения от Съвета по различни въпроси, залегнали в Споразумението, включително определянето на позициите, които следва да се заемат в Съвместния комитет и задълженията на държавите членки по отношение на информацията, по време на временното прилагане на Споразумението. Част от тези разпоредби не са необходими, а прилагането на други следва да бъде прекратено с оглед на решението на Съда от 28 април 2015 г. по дело С-28/12, Комисия срещу Съвет ⁽³⁾. Следователно е целесъобразно всички тези разпоредби да спрат да се прилагат на датата на влизането в сила на настоящото решение.
- (7) Споразумението следва да бъде одобрено,

⁽¹⁾ ОВ С 81Е, 15.3.2011 г., стр. 5.

⁽²⁾ Решение 2006/959/ЕО на Съвета и на представителите на правителствата на държавите членки, заседаващи в рамките на Съвета от 4 декември 2006 г. относно подписването и временното прилагане на Евро-средиземноморско споразумение за въздухоплавателни услуги между Европейската общност и нейните държави членки, от една страна, и Кралство Мароко, от друга страна (ОВ L 386, 29.12.2006 г., стр. 55).

⁽³⁾ ECLI:ЕС:С:2015:282.

ПРИЕ НАСТОЯЩОТО РЕШЕНИЕ:

Член 1

1. Евро-средиземноморското споразумение в областта на въздухоплаването между Европейската общност и нейните държави членки, от една страна, и Кралство Мароко, от друга страна, се одобрява от името на Съюза ⁽¹⁾.
2. Председателят на Съвета се упълномощава да определи лицето(лицата), оправомощено(и) да връчи(ат) на Кралство Мароко дипломатическите ноти, предвидени в член 30 от Споразумението ⁽²⁾, и да направи следната нотификация:

„Вследствие на влизането в сила на Договора от Лисабон на 1 декември 2009 г. Европейският съюз заменя Европейската общност и е неин правопреемник, като от същата дата упражнява всички права и поема всички задължения на Европейската общност. Следователно позоваванията на „Европейската общност“ в текста на Споразумението следва, когато е уместно, да бъдат четени като позовавания на „Европейския съюз“.“

Член 2

Позициите, които трябва да се заемат от Съюза в рамките на Съвместния комитет, създаден по член 22 от Споразумението, по отношение на изменението на приложенията към Споразумението, различни от приложение I („Договорени услуги и конкретни маршрути“) и приложение IV („Преходни разпоредби“), се определят от Комисията след консултация със специален комитет, назначен от Съвета.

Член 3

Членове 2—5 от Решение 2006/959/ЕО спират да се прилагат на датата на влизането в сила на настоящото решение.

Член 4

Настоящото решение влиза в сила в деня на приемането му.

Съставено в Брюксел на 22 януари 2018 година.

За Съвета
Председател
F. MOGHERINI

⁽¹⁾ Споразумението е публикувано в Официален вестник на Европейския съюз (ОВ L 386, 29.12.2006 г., стр. 57) заедно с решението за подписването и временното му прилагане.

⁽²⁾ Датата на влизане в сила на Споразумението ще бъде публикувана в Официален вестник на Европейския съюз от генералния секретариат на Съвета.

РЕГЛАМЕНТИ

РЕГЛАМЕНТ (ЕС) 2018/147 НА СЪВЕТА

от 29 януари 2018 година

за изменение на Регламент (ЕС) № 1370/2013 по отношение на количественото ограничение за изкупуване на обезмаслено мляко на прах

СЪВЕТЪТ НА ЕВРОПЕЙСКИЯ СЪЮЗ,

като взе предвид Договора за функционирането на Европейския съюз, и по-специално член 43, параграф 3 от него,

като взе предвид предложението на Европейската комисия,

като има предвид, че:

- (1) Беше докладвано, че към края на юли 2017 г. публичните интервенционни запаси от обезмаслено мляко на прах в Съюза възлизат на 357 359 тона. До приключването на периода за интервенция на 30 септември 2017 г. за изкупуване на фиксирана цена бяха предложени допълнително 22 710 тона.
- (2) Предвид изключително голямото търсене на масло в сектора на млякото и млечните продукти се наблюдава безпрецедентна диспропорция между цените на мазнините и белтъчините.
- (3) През 2018 г. се очаква увеличаване на добива на мляко в Съюза, което ще доведе до увеличаване на производството на масло и обезмаслено мляко на прах.
- (4) Изплащаните на земеделските производители цени на суровото мляко през 2018 г. вероятно ще се задържат на нива, които гарантират рентабилността на млекопроизводството, като причината за това е настоящото голямо търсене на масло и сирене, въпреки относително ниските цени на млечните белтъчини.
- (5) Тези пазарни елементи обуславят една изключителна ситуация за 2018 г., която трябва да бъде взета предвид с оглед на прилагането на механизма за публична интервенция по отношение на млечните продукти.
- (6) В член 3 от Регламент (ЕС) № 1370/2013 на Съвета ⁽¹⁾ се определя количествено ограничение за изкупуване на обезмаслено мляко на прах на фиксираната цена, посочена в член 2 от същия регламент. След като това ограничение бъде достигнато, изкупуването следва да се извършва чрез тръжна процедура за определяне на максималната изкупна цена.
- (7) С оглед избягване на изкупуването на обезмаслено мляко на прах на фиксирана цена, когато това би било в ущърб на целите на предпазния механизъм, цялата публична интервенция по отношение на обезмасленото мляко на прах следва да се извършва чрез тръжна процедура. За тази цел за 2018 г. следва да се определи нулево количествено ограничение за изкупуване на обезмаслено мляко на прах на фиксирана цена.
- (8) Поради това Регламент (ЕС) № 1370/2013 следва да бъде съответно изменен.
- (9) За да могат мерките, предвидени в настоящия регламент, да оказват незабавно въздействие върху пазара и да се осигури възможност участниците на пазара да бъдат информирани своевременно преди началото на следващата кампания по интервенция, настоящият регламент следва да влезе в сила в деня след публикуването му,

⁽¹⁾ Регламент (ЕС) № 1370/2013 на Съвета от 16 декември 2013 г. за установяване на мерки за определянето на някои помощи и възстановявания, свързани с общата организация на пазарите на селскостопански продукти (ОВ L 346, 20.12.2013 г., стр. 12).

ПРИЕ НАСТОЯЩИЯ РЕГЛАМЕНТ:

Член 1

В член 3, параграф 1 от Регламент (ЕС) № 1370/2013 се добавя следната алинея:

„Чрез дерогация от първа алинея, през 2018 г. количественото ограничение за изкупуване на обезмаслено мляко на прах на фиксирана цена е 0 тона.“

Член 2

Настоящият регламент влиза в сила в деня след публикуването му в *Официален вестник на Европейския съюз*.

Настоящият регламент е задължителен в своята цялост и се прилага пряко във всички държави членки.

Съставено в Брюксел на 29 януари 2018 година.

За Съвета
Председател
Р. ПОРОЖАНОВ

ДЕЛЕГИРАН РЕГЛАМЕНТ (ЕС) 2018/148 НА КОМИСИЯТА**от 27 септември 2017 година****за изменение на приложения II, III и IV към Регламент (ЕС) № 978/2012 на Европейския парламент и на Съвета за прилагане на схема от общи тарифни преференции**

ЕВРОПЕЙСКАТА КОМИСИЯ,

като взе предвид Договора за функционирането на Европейския съюз,

като взе предвид Регламент (ЕС) № 978/2012 на Европейския парламент и на Съвета от 25 октомври 2012 г. за прилагане на схема от общи тарифни преференции и за отмяна на Регламент (ЕО) № 732/2008 на Съвета ⁽¹⁾, и по-специално член 5, параграф 3, член 10, параграф 5 и член 17, параграф 2 от него,

като има предвид, че:

- (1) В член 4 от Регламент (ЕС) № 978/2012 се установяват критериите за предоставяне на тарифни преференции по общия режим на Общата схема от преференции („ОСП“).
- (2) В член 4, параграф 1, букви а) и б) от Регламент (ЕС) № 978/2012 се предвижда съответно, че държава, която е била класифицирана от Световната банка през три последователни години като държава с висок доход или държава с по-висок среден доход, или държава, която се ползва по същество за целия търговски обмен от преференциален режим за достъп до пазара, с който се предвиждат същите тарифни преференции като по ОСП или по-добри, не може да се ползва от преференции по ОСП.
- (3) Списъкът на държавите — бенефициери по предвидения в член 1, параграф 2, буква а) от Регламент (ЕС) № 978/2012 общ режим на ОСП, се съдържа в приложение II към посочения регламент. В член 5, параграф 2 от Регламент (ЕС) № 978/2012 се предвижда, че приложение II трябва да бъде подлагано на преглед всяка година до 1 януари. При прегледа следва да се вземат предвид промените в икономическите или търговските условия и в условията за развитие в държавите бенефициери във връзка с критериите, посочени в член 4.
- (4) Съгласно член 5, параграф 2 от Регламент (ЕС) № 978/2012 на конкретната държава — бенефициер по ОСП, и на икономическите оператори трябва да се даде достатъчно време за организирано приспособяване към преразглеждания статут на държавата по ОСП. Поради това режимът по ОСП трябва да продължи да се прилага в продължение на една година след датата на влизане в сила на евентуалната промяна в статута на държавата, предмет на разпоредбата на член 4, параграф 1, буква а), и в продължение на две години, считано от началната дата на прилагане на преференциалния режим за достъп до пазара, предмет на разпоредбата на член 4, параграф 1, буква б).
- (5) Парагвай бе класифициран от Световната банка като държава с по-висок среден доход през 2015, 2016 и 2017 г. Поради това Парагвай вече не отговаря на условията за ползване със статут на държава — бенефициер по ОСП, в съответствие с член 4, параграф 1, буква а) от Регламент (ЕС) № 978/2012 и следва да бъде заличен от списъка на държавите — бенефициери по ОСП, в приложение II към посочения регламент, като заличаването му следва да породи действие от 1 януари 2019 г.
- (6) Режими за преференциален достъп до пазара започнаха да се прилагат по отношение на Кот д'Ивоар — на 3 септември 2016 г., Свазиленд — на 10 октомври 2016 г., и Гана — на 15 декември 2016 г. Поради това в съответствие с член 4, параграф 1, буква б) Кот д'Ивоар, Свазиленд и Гана също следва да бъдат заличени от приложение II към Регламент (ЕС) № 978/2012, като заличаването им следва да породи действие от 1 януари 2019 г.
- (7) В член 9, параграф 1 от Регламент (ЕС) № 978/2012 се установяват конкретните критерии, на които трябва да отговарят държавите — бенефициери по ОСП, за да им бъдат предоставени тарифни преференции в рамките на специалния насърчителен режим за устойчиво развитие и добро управление (ОСП+). Списъкът на държавите — бенефициери по ОСП+, се съдържа в приложение III към Регламент (ЕС) № 978/2012.
- (8) Тъй като преставя да бъде държава бенефициер по ОСП, считано от 1 януари 2019 г., Парагвай преставя да бъде държава бенефициер и по ОСП+ по силата на член 9, параграф 1 от Регламент (ЕС) № 978/2012. Поради това Парагвай следва да бъде заличен и от приложение III към посочения регламент, като заличаването му следва да породи действие от 1 януари 2019 г.

⁽¹⁾ OVL 303, 31.10.2012 г., стр. 1.

- (9) В член 17, параграф 1 от Регламент (ЕС) № 978/2012 се предвижда, че държава, която е определена от Организацията на обединените нации (ООН) за най-слабо развита държава, следва да се ползва от тарифните преференции, предвидени по специалния режим за най-слабо развитите държави (инициативата „Всичко освен оръжие“ (ВОО)). Списъкът на държавите — бенефициери по инициативата ВОО, се съдържа в приложение IV към посочения регламент.
- (10) На 4 юни 2017 г. ООН изключи Екваториална Гвинея от категорията на най-слабо развитите държави. Съответно Екваториална Гвинея вече не отговаря на условията за ползване със статут на бенефициер по инициативата ВОО съгласно член 17, параграф 1 от Регламент (ЕС) № 978/2012 и следва да бъде заличена от приложение IV към посочения регламент. В съответствие с член 17, параграф 2 от Регламент (ЕС) № 978/2012 заличаването на Екваториална Гвинея от списъка на държавите — бенефициери по инициативата ВОО, следва да породи действие след тригодишен преходен период, считано от датата на влизане в сила на настоящия регламент, т.е. от 1 януари 2021 г.
- (11) Освен това Екваториална Гвинея бе класифицирана от Световната банка като държава с висок доход през 2015 г. и като държава с по-висок среден доход през 2016 и 2017 г. Поради това Екваториална Гвинея вече не отговаря на условията за ползване със статут на държава — бенефициер по ОСП, в съответствие с член 4, параграф 1, буква а) от Регламент (ЕС) № 978/2012 и следва да бъде заличена и от списъка на държавите — бенефициери по ОСП, в приложение II към посочения регламент, като заличаването ѝ следва да породи действие от 1 януари 2021 г.,

ПРИЕ НАСТОЯЩИЯ РЕГЛАМЕНТ:

Член 1

Изменения на Регламент (ЕС) № 978/2012

Регламент (ЕС) № 978/2012 се изменя, както следва:

- 1) В приложение II от колони А и Б се заличават следните азбучни кодове и обозначените с тях държави:

CI Кот д'Ивоар

GH Гана

PY Парагвай

SZ Свазиленд

- 2) В приложение III от колони А и Б се заличават следният азбучен код и обозначената с него държава:

PY Парагвай

- 3) В приложения II и IV от колони А и Б се заличават следният азбучен код и обозначената с него държава:

GQ Екваториална Гвинея

Член 2

Влизане в сила и прилагане

Настоящият регламент влиза в сила на 1 януари 2018 г.

Член 1, точки 1 и 2 се прилага от 1 януари 2019 г.

Член 1, точка 3 се прилага от 1 януари 2021 г.

Настоящият регламент е задължителен в своята цялост и се прилага пряко във всички държави членки.

Съставено в Брюксел на 27 септември 2017 година.

За Комисията
Председател
Jean-Claude JUNCKER

ДЕЛЕГИРАН РЕГЛАМЕНТ (ЕС) 2018/149 НА КОМИСИЯТА**от 15 ноември 2017 година****за изменение на Делегиран регламент (ЕС) 2016/1238 по отношение на изискванията към състава и качествените характеристики на млякото и млечните продукти, отговарящи на условията за публична интервенция и помощ за частно складиране**

ЕВРОПЕЙСКАТА КОМИСИЯ,

като взе предвид Договора за функционирането на Европейския съюз,

като взе предвид Регламент (ЕС) № 1308/2013 на Европейския парламент и на Съвета от 17 декември 2013 г. за установяване на обща организация на пазарите на селскостопански продукти и за отмяна на регламенти (ЕИО) № 922/72, (ЕИО) № 234/79, (ЕО) № 1037/2001 и (ЕО) № 1234/2007 на Съвета ⁽¹⁾, и по-специално член 19, параграф 1, буква а) от него,

като има предвид, че:

- (1) В Делегиран регламент (ЕС) 2016/1238 на Комисията ⁽²⁾ се определят изискванията към състава и качествените характеристики на млякото и млечните продукти, които отговарят на условията за публична интервенция и помощ за частно складиране.
- (2) Предвид техническите подобрения в методиката, използвана при анализа и оценката на качеството на млякото и млечните продукти, и за да се приведат в съответствие съществуващите правила на Съюза във връзка с хигиенните изисквания, е необходимо да се преразгледат и актуализират параметрите на изискванията към състава и качествените характеристики на някои млечни продукти, отговарящи на условията за публична интервенция и помощ за частно складиране.
- (3) Поради това приложения IV и V към Делегиран регламент (ЕС) 2016/1238 следва да бъдат съответно изменени,

ПРИЕ НАСТОЯЩИЯ РЕГЛАМЕНТ:

Член 1

Приложенията към Делегиран регламент (ЕС) 2016/1238 се изменят, както следва:

- а) част II от приложение IV се заменя с текста в приложение I към настоящия регламент;
- б) част II от приложение V се заменя с текста в приложение II към настоящия регламент.

*Член 2*Настоящият регламент влиза в сила на седмия ден след деня на публикуването му в *Официален вестник на Европейския съюз*.

Настоящият регламент е задължителен в своята цялост и се прилага пряко във всички държави членки.

Съставено в Брюксел на 15 ноември 2017 година.

За Комисията
Председател
Jean-Claude JUNCKER

⁽¹⁾ ОВ L 347, 20.12.2013 г., стр. 671.⁽²⁾ Делегиран регламент (ЕС) 2016/1238 на Комисията от 18 май 2016 г. за допълване на Регламент (ЕС) № 1308/2013 на Европейския парламент и на Съвета по отношение на публичната интервенция и помощта за частно складиране (ОВ L 206, 30.7.2016 г., стр. 15).

ПРИЛОЖЕНИЕ I

„ЧАСТ II**Изисквания към състава и качествени характеристики**

Маслото представлява твърда емулсия, предимно от вида „вода в масло“ със следните съставни и качествени характеристики:

Параметри	Съдържание и качествени характеристики
Мазнини	Минимум 82 %
Вода	Най-много 16 %
Сух безмаслен остатък	Най-много 2 %
Киселинност на мазнините	Максимум 1,2 mmole/100 g мазнини
Пероксидно число	Максимум 0,3 meq кислород/1 000 g мазнини
Немлечни мазнини	Не се откриват с анализ на триглицериди
Органолептични свойства	Поне четири от общо пет точки за външен вид, вкус и консистенция“

ПРИЛОЖЕНИЕ II

„ЧАСТ II

Изисквания към състава и качествени характеристики

Параметри	Съдържание и качествени характеристики
Белтък	Минимум 34,0 % от обезмасленото сухо вещество
Мазнини	Най-много 1,00 %
Вода	Най-много 3,5 %
Титруема киселинност в ml децинормален разтвор на натриев хидроксид	Максимум 19,5 ml
Лактати	Максимум 150 mg/100 g
Тест за фосфатаза	Отрицателна, т.е. не повече от 350 mU фосфатазна активност на литър възстановено мляко
Индекс на неразтворимост	Максимум 0,5 ml (24 °C)
Прегорели частици	Максимум 15,0 mg, т.е. минимум диск B
Микроорганизми	Максимум 40 000 cfu/g
Мътеница ⁽¹⁾	Няма ⁽²⁾
Сиришна суроватка ⁽³⁾	Няма
Кисела суроватка ⁽³⁾	Няма ⁽⁴⁾ или максимум 150 mg/100 g ⁽⁵⁾
Вкус и мирис	Чисти
Външен вид	Бял или леко жълтеникав цвят, без примеси и оцветени частици

⁽¹⁾ „Мътеница“ означава страничния продукт при производството на масло, получен след избиване на сметаната и отделяне на твърдите мазнини.

⁽²⁾ Отсъствието на мътеница може да бъде установено или чрез инспекция на място на производствения обект, извършвана без предварително уведомление най-малко веднъж седмично, или чрез лабораторен анализ на крайния продукт, показващ максимум 69,31 mg PEDP (дипалмитоилфосфатидилетаноламин) на 100 g.

⁽³⁾ „Суроватка“ означава страничния продукт при производството на сирене или казеин, получен в резултат на действието на киселини, сирище и/или химични и физични процеси.

⁽⁴⁾ При извършване на проверки на място.

⁽⁵⁾ При прилагане на ISO 8069.“

РЕГЛАМЕНТ ЗА ИЗПЪЛНЕНИЕ (ЕС) 2018/150 НА КОМИСИЯТА**от 30 януари 2018 година****за изменение на Регламент за изпълнение (ЕС) 2016/1240 по отношение на методите за анализ и оценка на качеството на млякото и млечните продукти, отговарящи на условията за публична интервенция и помощ за частно складиране**

ЕВРОПЕЙСКАТА КОМИСИЯ,

като взе предвид Договора за функционирането на Европейския съюз,

като взе предвид Регламент (ЕС) № 1306/2013 на Европейския парламент и на Съвета от 17 декември 2013 г. относно финансирането, управлението и мониторинга на общата селскостопанска политика и за отмяна на регламенти (ЕИО) № 352/78, (ЕО) № 165/94, (ЕО) № 2799/98, (ЕО) № 814/2000, (ЕО) № 1290/2005 и (ЕО) № 485/2008 на Съвета ⁽¹⁾, и по-специално член 62, параграф 2, буква и) от него,

като има предвид, че:

- (1) В Делегиран регламент (ЕС) 2016/1238 на Комисията ⁽²⁾ и Регламент за изпълнение (ЕС) 2016/1240 на Комисията ⁽³⁾ се определят правилата относно публичната интервенция и помощта за частно складиране. В Регламент (ЕО) № 273/2008 на Комисията ⁽⁴⁾ се определят методите, които следва да се прилагат за оценяване дали млякото и млечните продукти отговарят на изискванията за допустимост, установени в тези регламенти относно публичната интервенция и помощта за частно складиране.
- (2) Предвид техническия напредък в методиката, използвана за анализ и оценка на качеството на млякото и млечните продукти, следва да се направят съществени промени с цел опростяване и актуализиране на позоваванията на стандартите ISO. В интерес на яснотата и ефективността и предвид обхвата и техническото естество на измененията на разпоредбите на Регламент (ЕО) № 273/2008 съответните разпоредби на посочения регламент следва да бъдат включени в Регламент за изпълнение (ЕС) 2016/1240.
- (3) За да се гарантира единното спазване на новите стандарти и методи във всички държави членки, на лабораториите следва да се предостави достатъчно дълъг срок, за да могат да преразгледат процедурите и да приложат актуализираните методи.
- (4) Поради това Регламент за изпълнение (ЕС) 2016/1240 следва да бъде съответно изменен.
- (5) По съображения за правна сигурност Регламент (ЕО) № 273/2008 следва да бъде отменен.
- (6) Мерките, предвидени в настоящия регламент, са в съответствие със становището на Комитета за общата организация на селскостопанските пазари,

ПРИЕ НАСТОЯЩИЯ РЕГЛАМЕНТ:

Член 1

Регламент за изпълнение (ЕС) 2016/1240 се изменя, както следва:

1) Член 4 се изменя, както следва:

а) параграф 1 се изменя, както следва:

i) буква г) се заменя със следното:

„г) за масло: в части I и Ia от приложение IV към настоящия регламент;“

ii) буква д) се заменя със следното:

„д) за обезмаслено мляко на прах: в части I и Ia от приложение V към настоящия регламент.“;

⁽¹⁾ ОВ L 347, 20.12.2013 г., стр. 549.⁽²⁾ Делегиран регламент (ЕС) 2016/1238 на Комисията от 18 май 2016 г. за допълнение на Регламент (ЕС) № 1308/2013 на Европейския парламент и на Съвета по отношение на публичната интервенция и помощта за частно складиране (ОВ L 206, 30.7.2016 г., стр. 15).⁽³⁾ Регламент за изпълнение (ЕС) 2016/1240 на Комисията от 18 май 2016 г. за определяне на правила за прилагането на Регламент (ЕС) № 1308/2013 на Европейския парламент и на Съвета по отношение на публичната интервенция и помощта за частно складиране (ОВ L 206, 30.7.2016 г., стр. 71).⁽⁴⁾ Регламент (ЕО) № 273/2008 на Комисията от 5 март 2008 г. за определяне на подробни правила за прилагане на Регламент (ЕО) № 1255/1999 на Съвета по отношение на методи за анализ и оценка на качеството на млякото и млечните продукти (ОВ L 88, 29.3.2008 г., стр. 1).

б) параграф 2 се заменя със следното:

„2. Методите, които се използват за определяне на качеството на допустимите за публична интервенция зърнени култури, масло и обезмаслено мляко на прах, посочени съответно в приложения I, IV и V, са установените с последните версии на съответните европейски или международни стандарти, според случая, които са в сила най-малко 6 месеца преди първия ден на периода на публична интервенция, определен в член 12 от Регламент (ЕС) № 1308/2013.“

2) Вмъква се следният член 60а:

„Член 60а

Специални разпоредби относно проверките, свързани с публичната интервенция и помощта за частно складиране за мляко и млечни продукти

1. Допустимостта на маслото, обезмасленото мляко на прах и сиренето за получаване на помощ за частно складиране се установява съгласно методите, определени съответно в приложения VI, VII и VIII.

Тези методи се установяват въз основа на последните версии на съответните европейски или международни стандарти, според случая, които са в сила най-малко 6 месеца преди първия ден на периода на публична интервенция, определен в член 12 от Регламент (ЕС) № 1308/2013.

2. Резултатите от проверките, извършвани чрез прилагане на определените в настоящия регламент методи, се оценяват в съответствие с приложение IX.“

3) Приложенията се изменят в съответствие с приложението към настоящия регламент.

Член 2

Регламент (ЕО) № 273/2008 се отменя.

Член 3

Настоящият регламент влиза в сила на седмия ден след деня на публикуването му в *Официален вестник на Европейския съюз*.

Той е задължителен в своята цялост и се прилага пряко във всички държави членки.

Съставено в Брюксел на 30 януари 2018 година.

За Комисията
Председател
Jean-Claude JUNCKER

ПРИЛОЖЕНИЕ

Приложенията към Регламент за изпълнение (ЕС) 2016/1240 се изменят, както следва:

1) Приложение IV се изменя, както следва:

а) в част I, точка 2 втора алинея се заменя със следното:

„Всяка проба трябва да бъде оценена индивидуално. Не се допуска повторно вземане на проби или повторно оценяване.“;

б) добавя се следната част Ia:

„ЧАСТ Ia

Методи за анализ на безсолно масло за публична интервенция

Параметър	Метод
Масленост ⁽¹⁾	ISO 17189 или ISO 3727 част 3
Вода	ISO 3727, част 1
Сух безмаслен остатък	ISO 3727, част 2
Киселинност на мазнината	ISO 1740
Пероксидно число	ISO 3976
Немлечни мазнини	ISO 17678
Органолептични свойства	ISO 22935, части 2 и 3, както и таблицата с точкова оценка по-долу

⁽¹⁾ Методът, който ще бъде използван, се одобрява от разплащателната агенция.

Таблица с точкова оценка

Външен вид		Консистенция		Мирис и вкус	
Точки	Бележки	Точки	Бележки	Точки	Бележки
5	Много добър Идеален тип Най-високо качество (еднакво сух)	5	Много добър Идеален тип Най-високо качество (еднакво лесно за мазане)	5	Много добър Идеален тип Най-високо качество (абсолютно чист, най- фин аромат)
4	Добър (без видими недостатъци)	4	Добър (без видими недостатъци)	4	Добър (без видими недостатъци)
1, 2 или 3	С какъвто и да е недостатък	1, 2 или 3	С какъвто и да е недостатък	1, 2 или 3	С какъвто и да е недостатък“

2) В приложение V се вмъква следната част Ia:

„ЧАСТ Ia

Методи за анализ на обезмаслено мляко на прах за публична интервенция

Параметър	Метод
Белтък	ISO 8968, част 1
Масленост	ISO 1736
Вода	ISO 5537
Киселинност	ISO 6091
Лактати	ISO 8069
Тест за фосфатаза	ISO 11816, част 1
Индекс на неразтворимост	ISO 8156
Обгорели частички ⁽¹⁾	ADPI (Американски институт по млечните продукти)
Микроорганизми	ISO 4833, част 1
Мътеница	Допълнение I
Сиришна суроватка ⁽²⁾	Допълнения II и III
Кисела суроватка ⁽³⁾	ISO 8069 или проверки на място
Сензорни проверки ⁽⁴⁾	ISO 22935, части 2 и 3

⁽¹⁾ Анализите на обгорели частички може да се извършват систематично. Те обаче се извършват винаги, когато не се провеждат сензорни проверки.

⁽²⁾ Методът, който ще бъде използван, се одобрява от разплащателната агенция (един или двата метода).

⁽³⁾ Методът, който ще бъде използван, се одобрява от разплащателната агенция.

⁽⁴⁾ Сензорни проверки се извършват, когато това се счита за необходимо след анализ на риска, одобрен от разплащателната агенция.

Допълнение I

ОБЕЗМАСЛЕНО МЛЯКО НА ПРАХ: КОЛИЧЕСТВЕНО ОПРЕДЕЛЯНЕ НА ФОСФАТИДИЛСЕРИН И ФОСФАТИДИЛЕТАНОЛАМИН**Метод: HPLC с обърнати фази.**

1. ЦЕЛ И ПРИЛОЖНО ПОЛЕ

Методът описва процедура за количествено определяне на фосфатидилсерин (PS) и фосфатидилетаноламин (PE) в обезмаслено мляко на прах (ОМП) и е подходящ за откриване на сухо вещество на мътеница в ОМП.

2. ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Съдържание на PS и PE: масов процент на субстанцията, определена чрез използване на посочената тук процедура. Резултатът е изразен в милиграми фосфатидилетаноламин дипалмитоил (PEDP) на 100 g прах.

3. ПРИНЦИП НА МЕТОДА

Извличане на аминокислотни фосфолипиди с метанол от възстановено мляко на прах. Определяне на PS и PE като о-фталдиалдехид (OPA) производни чрез HPLC с обърнати фази и флуоресцентно откриване. Определяне на количеството на PS и PE, съдържащи се в тестовата проба, чрез позоваване на стандартна проба, съдържаща познато количество PEDP.

4. РЕАГЕНТИ

Всички реагенти трябва да бъдат с признато аналитично качество. Водата трябва да е дестилирана или с най-малко еквивалентна чистота, ако не е определено друго.

4.1. **Материал за стандарта: PEDP с чистота най-малко 99 %**

Забележка: Стандартният материал трябва да бъде съхраняван при -18°C .

4.2. **Реагенти за стандартна проба и подготовка на тестовата проба**4.2.1. *Метанол за HPLC*4.2.2. *Хлороформ за HPLC*4.2.3. *Трипталмин-монохлорид*4.3. **Реагенти за о-фталдиалдехид дериватизация**4.3.1. *Натриев хидроксид, 12 М воден разтвор*4.3.2. *Борна киселина, 0,4 М воден разтвор, регулиран до рН 10,0 с натриев хидроксид (4.3.1)*4.3.3. *2-меркаптоетанол*4.3.4. *о-фталдиалдехид (OPA)*4.4. **HPLC-елуиращи разтворители**4.4.1. *Елуиращите разтворители трябва да бъдат приготвени, като се използват реагенти за HPLC.*4.4.2. *Вода за HPLC*4.4.3. *Метанол с тествана флуориметрична чистота*4.4.4. *Тетрахидрофуран*4.4.5. *Натриев дихидроген фосфат*4.4.6. *Натриев ацетат*4.4.7. *Оцетна киселина*

5. АПАРАТУРА
 - 5.1. **Аналитична везна, претегляща с точност 1 mg, с деления на 0,1 mg**
 - 5.2. **Бехерови чаши с обем от 25 и 100 ml**
 - 5.3. **Капкомери, с които могат да се подават 1 и 10 ml**
 - 5.4. **Магнитна бъркалка**
 - 5.5. **Градуирани капкомери, които могат да подават 0,2, 0,5 и 5 ml**
 - 5.6. **Мерителни колби с обем от 10, 50 и 100 ml**
 - 5.7. **Спринцовки с обем 20 и 100 μ l**
 - 5.8. **Ултразвукова баня**
 - 5.9. **Центрофуга, работеща при 27 000 \times g**
 - 5.10. **Стъклени съдове с обем около 5 ml**
 - 5.11. **Градуиран цилиндър с обем 25 ml**
 - 5.12. **Измервател на рН с точност до 0,1 рН единици**
 - 5.13. **Оборудване за HPLC**
 - 5.13.1. Градиентна полпена система с възможност да функционира с 1,0 ml/min при 200 bar
 - 5.13.2. Автоматичен уред за вземане на проби с възможност за дериватизация
 - 5.13.3. Колонен нагревател, който може да поддържа колоната на 30 °C \pm 1 °C
 - 5.13.4. Флуоресцентен детектор, работещ при 330 nm дължина на вълната при възбуждане и 440 nm дължината на вълната при емитиране.
 - 5.13.5. Интегратор или софтуер за обработка на данни, с възможност за измерване на площи на пика
 - 5.13.6. Колона LiChrospher® — 100 (250 \times 4,6 mm) или еквивалентна колона, запълнена с октадецилсилан (C 18) с размер на частиците 5 μ m
6. ВЗЕМАНЕ НА ПРОБИ

Вземането на проби трябва да се извършва в съответствие със стандарт ISO 707.
7. ПРОЦЕДУРА
 - 7.1. **Приготвяне на вътрешния стандартен разтвор**
 - 7.1.1. 30,0 \pm 0,1 mg трипталин-монохидрохлорид (4.2.3) се претеглят в 100 ml мерителна колба (5.6) и се долива до белега с метанол (4.2.1).
 - 7.1.2. Капка се 1 ml (5.3) от този разтвор в 10 ml мерителна колба (5.6) и се долива до белега с метанол (4.2.1), с оглед да се получи концентрация на трипталин от 0,15 mM.
 - 7.2. **Подготовка на разтвор на тестовата проба**
 - 7.2.1. Претегля се 1,000 \pm 0,001 g от ОМП-пробата в 25 ml бехерова чаша (5.2). Добавят се 10 ml дестилирана вода при 40 °C \pm 1 °C с капкомер (5.3) и се разбърква с магнитна бъркалка (5.4) за 30 минути, за да се разтворят всички бучки.
 - 7.2.2. От възстановеното мляко се капват 0,2 ml (5.5) в 10 ml мерителна колба (5.6), добавят се 100 μ l от 0,15 mM трипталиново разтвор (7.1) със спринцовка (5.7) и се долива до обема с метанол (4.2.1). Разбърква се внимателно с преобръщане и се извършва дисперсия с помощта на ултразвук (5.8) за 15 min.
 - 7.2.3. Центрофугира се (5.9) при 27 000 g \times g за 10 минути и супернатантът се събира в стъклен съд (5.10).

Забележка: Разтворът на тестовата проба следва да се съхранява при 4 °C, докато се извърши HPLC-анализ.

7.3. Подготовка на външния стандартен разтвор

7.3.1. 55,4 mg PEDP (4.1) се отмерват в 50 ml мерителна колба (5.6) и се добавят около 25 ml хлороформ (4.2.2), като се използва градуиран цилиндър (5.11). Затворената колба се загрева до 50 °C ± 1 °C и се разбърква внимателно, докато се разтвори PEDP. Колбата се охлажда до 20 °C, обемът се долива с метанол (4.2.1) и се разбърква с преобръщане.

7.3.2. Капва се 1 ml (5.3) от този разтвор в 100 ml мерителна колба (5.6) и се долива до обема с метанол (4.2.1). Капва се 1 ml (5.3) от този разтвор в 10 ml мерителна колба (5.6), добавят се 100 µl (5.7) от 0,15 mM триптаминол разтвор (7.1) и обемът се долива с метанол (4.2.1). Разбърква се с преобръщане.

Забележка: Разтворът на стандартната проба следва да се съхранява при 4 °C, докато се извърши HPLC-анализ.

7.4. Подготовка на дериватизиращия реагент

В 10 ml мерителна колба (5.6) се отмерват 25,0 ± 0,1 mg OPA (4.3.4), добавя се 0,5 ml (5.5) метанол (4.2.1) и се разбърква внимателно, за да се разтвори OPA. Долива се до белега с разтвор на борна киселина (4.3.2) и се добавят 20 µl от 2-меркаптоетанол (4.3.3) със спринцовка (5.7).

Забележка: Дериватизиращият реагент следва да се съхранява при 4 °C в тъмен флакон; той е годен една седмица.

7.5. Определяне чрез HPLC**7.5.1. Елуиращи разтворители (4.4)**

Разтворител А: Разтвор на 0,3 mM натриев дихидроген фосфат и разтвор на 3 mM натриев ацетат (регулиран до рН 6,5 ± 0,1 с оцетна киселина): метанол: тетраhydroфуран = 558:440:2 (v/v/v)

Разтворител Б: метанол

7.5.2. Предложен елуиращ градиент:

Време (min)	Разтворител А (%)	Разтворител Б (%)	Дебит (ml/min)
Първоначално	40	60	0
0,1	40	60	0,1
5,0	40	60	0,1
6,0	40	60	1,0
6,5	40	60	1,0
9,0	36	64	1,0
10,0	20	80	1,0
11,5	16	84	1,0
12,0	16	84	1,0
16,0	10	90	1,0
19,0	0	100	1,0
20,0	0	100	1,0
21,0	40	60	1,0
29,0	40	60	1,0
30,0	40	60	0

Забележка: Елуиращият градиент може да изисква лека модификация, с оглед да се постигне разделянето, показано на фигура 1.

Температура на колоната: 30 °C.

7.5.3. *Обем на впръскване: 50 µl дериватизиращ реагент и 50 µl разтвор на пробата*

7.5.4. *Балансиране на колоната*

При ежедневното пускане на системата колоната се промива със 100 % разтворител Б за 15 минути, след това се настройва на А:Б = 40:60 и се балансира при 1 ml/min за 15 минути. Чрез впръскването на метанол (4.2.1) се извършва празна серия.

Забележка: Преди дългосрочно съхранение колоната се промива с метанол: хлороформ = 80:20 (v/v) в продължение на 30 минути.

7.5.5. *Определяне на съдържанието на PS + PE в тестовата проба*

7.5.6. *Извършва се последователността от хроматографски анализи, като времето от серия до серия се поддържа константно с оглед да се получат константни времена на задържане. Външният стандартен разтвор (7.3) се впръсква на всеки 5—10 разтвора на тестовите проби, за да може да се оцени факторът на сигнала.*

Забележка: Колоната трябва да бъде почиствана чрез промиване със 100 % разтворител Б (7.5.1) за най-малко 30 минути на всеки 20—25 серии.

7.6. **Метод на интегриране**

7.6.1. *Пик на PEDP*

PEDP се елуира като един отделен пик. Площта на пика се определя чрез интегриране от впадина до впадина.

7.6.2. *Пик на триптамина*

Триптаминът се елуира като един отделен пик (фигура 1). Площта на пика се определя чрез интегриране от впадина до впадина.

7.6.3. *Групи на пикове PS и PE*

При описаните условия (фигура 1) PS се елуира като два основни частично неразделени пика, предшествани от по-малък пик. PE се елуира като три основни частично неразделени пика. Определя се цялата площ на всяка група пикове, като се очертава базовата линия, както е показано на фигура 1.

8. ИЗЧИСЛЯВАНЕ И ИЗРАЗЯВАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

Съдържанието на PS и PE в тестовата проба се изчислява, както следва:

$$C = 55,36 \times ((A_2)/(A_1)) \times ((T_1)/(T_2))$$

където:

C = съдържанието на PS или PE (mg/100 g прах) в тестовата проба

A₁ = площ на пика на PEDP в разтвора на стандартната проба (7.3)

A₂ = площ на пика на PS или PE в разтвора на тестовата проба (7.2)

T₁ = площ на пика на триптамин в разтвора на стандартната проба (7.3)

T₂ = площ на пика на триптамин в разтвора на тестовата проба (7.2).

9. ТОЧНОСТ НА ПРОЦЕДУРАТА

Забележка: Стойностите за повторяемост бяха изчислени в съответствие с международен стандарт IDF (*).

9.1. **Повторяемост**

Относителното стандартно отклонение на повторяемостта, което изразява варирането на резултатите от независим аналитичен анализ, получени от същия оператор чрез използване на същата апаратура и при същите условия върху същия тестов материал и в кратък период от време, не трябва да надвишава относителната стойност от 2 %. Ако при тези условия са получени две определяния, относителната разлика между двата резултата не трябва да бъде по-голяма от 6 % от средноаритметичната стойност на резултатите.

9.2. Възпроизводимост

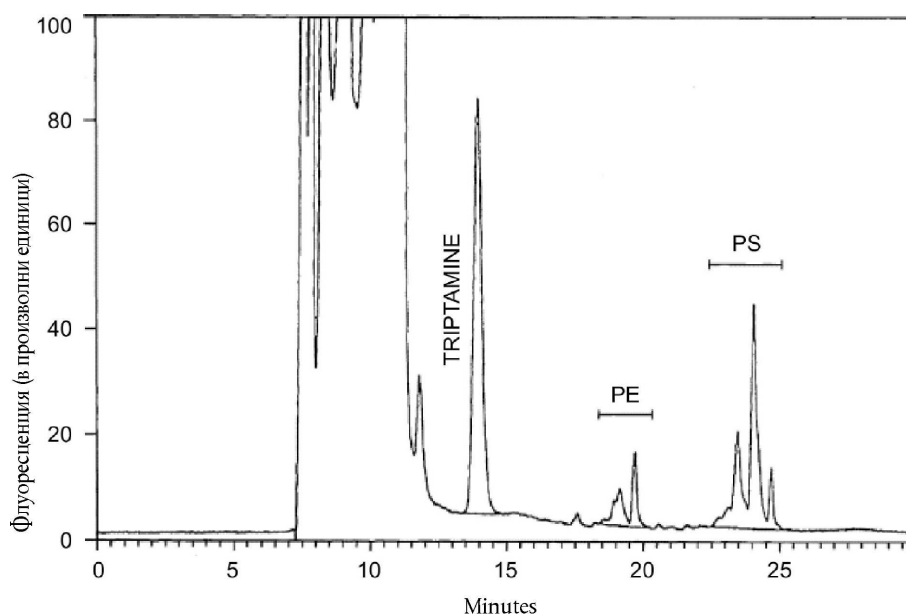
Ако са направени две определяния от оператори в различни лаборатории чрез използване на различна апаратура, при различни условия за анализа на същия тестов материал, относителната разлика между двата резултата не трябва да бъде по-голяма от 11 % от средноаритметичната стойност на резултатите.

10. ЗА СПРАВКА

- 10.1. Resmini P., Pellegrino L., Hogenboom J.A., Sadini V., Rampilli M., 'Detection of buttermilk solids in skim milk powder by HPLC quantification of aminophospholipids' (Откриване на сухо вещество на мътеница в обезмаслено мляко на прах чрез HPLC-определяне на количеството на аминокфосфолипиди). *Sci. Tecn. Latt.-Cas.*, 39,395 (1988).

Фигура 1

HPLC-модели на ОРА-производни на фосфатидилсерин (PS) и фосфатидилетаноламин (PE) в метанолов екстракт от възстановено обезмаслено мляко на прах. Представен е методът на интегриране за пиковите на PS, PE и триптамин (вътрешен стандарт)



Допълнение II

ОТКРИВАНЕ НА СИРИЩНА СУРОВАТКА В ОБЕЗМАСЛЕНО МЛЯКО НА ПРАХ, ПРЕДНАЗНАЧЕНО ЗА ОБЩЕСТВЕНО СКЛАДИРАНЕ, ЧРЕЗ ОПРЕДЕЛЯНЕТО НА КАЗЕИНОМАКРОПЕПТИДИ ЧРЕЗ ВИСОКОЕФЕКТИВНА ТЕЧНА ХРОМАТОГРАФИЯ (HPLC)

1. ОБХВАТ И ПРИЛОЖНО ПОЛЕ

Този метод позволява откриването на сирищна суроватка в обезмаслено мляко на прах, предназначено за публично складиране, чрез определянето на казеиномакропептиди.

2. ЗА СПРАВКА

Международен стандарт ISO 707 — Мляко и млечни продукти. Указания за вземане на проби

3. ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Съдържанието на сухо вещество на сирищна суроватка се дефинира като процент от масата, както е определено от казеиномакропептидното съдържание чрез описаната процедура.

4. ПРИНЦИП

- Възстановяване на обезмасленото мляко на прах, отстраняване на мазнините и протеините с трихлорооцетна киселина, последвано от центрофутиране или филтриране.
- Определяне на количеството казеиномакропептиди (СМР) в супернатанта чрез високоефективна течна хроматография (HPLC).
- Оценка на получения резултат за пробите чрез позоваване на стандартните проби, съдържащи обезмаслено мляко на прах със или без прибавяне на известен процент суроватка на прах.

5. РЕАКТИВИ

Всички реагенти трябва да бъдат с признато аналитично качество. Използваната вода трябва да е дестилирана или да е с еквивалентна степен на чистота.

5.1. **Разтвор на трихлорооцетна киселина**

240 g трихлорооцетна киселина (CCl_3COOH) се разтварят във вода и се долива до 1 000 ml. Разтворът трябва да бъде прозрачен и безцветен.

5.2. **Елуентен разтвор, рН 6,0**

1,74 g дикалиев хидроген фосфат (K_2HPO_4), 12,37 g калиев дихидроген фосфат (KH_2PO_4) и 21,41 g натриев сулфат (Na_2SO_4) се разтварят в около 700 ml вода. Регулира се, ако е необходимо, до рН 6,0, като се използва разтвор на фосфорна киселина или калиев хидроксид.

Долива се до 1 000 ml с вода и се хомогенизира.

Забележка: Съставът на елуента може да се актуализира така, че да съответства със сертификата на стандартите или с препоръките на производителя на пълнежа на колоната.

Елуентният разтвор се филтрира, преди да се използва, през мембранен филтър с 0,45 μm диаметър на порите.

5.3. **Промиващ разтворител**

Един обем ацетонитрил (CH_3CN) се смесва с девет обема вода. Преди да се използва, сместа се филтрира през мембранен филтър с 0,45 μm диаметър на порите.

Забележка: Може да бъде използван всеки друг промиващ разтворител с бактерициден ефект, който не уврежда ефективността на разделянето в колоната.

5.4. **Стандартни проби**

5.4.1. *Обезмаслено мляко на прах, което изпълнява изискванията на настоящия регламент (т.е. [0])*

5.4.2. *Същото обезмаслено мляко на прах, подправено с 5 % (m/m) сирищна суроватка на прах със стандартен състав (т.е. [5]).*

6. АПАРАТУРА
 - 6.1. Аналитична везна
 - 6.2. **Незадължително:** центрофуга, която може да достигне центробежна сила от 2 000 g, снабдена със запушени центрофужни епруветки с капацитет около 50 ml
 - 6.3. Механичен шейкър
 - 6.4. Магнитна бъркалка
 - 6.5. Стъклени фунии с диаметър около 7 cm
 - 6.6. Филтърна хартия, средно филтриране, диаметър около 12,5 cm
 - 6.7. Стъклено оборудване за филтриране с мембранен филтър с диаметър на порите 0,45 μm
 - 6.8. Градуирани пипети, които позволяват подаване на 10 ml (ISO 648, клас А, или ISO/R 835), или система, която може да подаде 10,0 ml за две минути
 - 6.9. Система за подаване, която може да подаде 20,0 ml вода при приблизително 50 °C
 - 6.10. Термостатна водна баня, регулирана на 25 \pm 0,5 °C
 - 6.11. **Оборудване за HPLC, състоящо се от:**
 - 6.11.1. Помпа
 - 6.11.2. Инжектор, ръчен или автоматичен, с капацитет от 15 до 30 μl
 - 6.11.3. Две последователно свързани колони TSK 2 000-SW (дължина 30 cm, вътрешен диаметър 0,75 cm) или еквивалентни колони (например единична TSK 2 000-SWxl, единична Agilent Technologies Zorbax GF 250) или предколони (3 cm \times 0,3 cm), запълнена с I 125 или материал с еквивалентна ефективност
 - 6.11.4. Термостатична колонна пещ, програмирана на 35 \pm 1 °C
 - 6.11.5. UV детектор с променлива дължина на вълните, позволяващ измервания при 205 nm, с чувствителност от 0,008 Å
 - 6.11.6. Интегратор с възможност за интеграция от впадина до впадина
Забележка: Възможно е да се работи с колони, държани при стайна температура, но тяхната ефективност на разделяне е малко по-ниска. В този случай в рамките на една аналитична серия температурата би следвало да варира с по-малко от \pm 5 °C.
7. ВЗЕМАНЕ НА ПРОБИ
 - 7.1. Пробите се вземат в съответствие с процедурата, определена в Международен стандарт ISO 707. Държавите членки обаче може да използват друг метод за вземане на проби, при условие че той е в съответствие с принципите на горепоменатия стандарт.
 - 7.2. Пробата се съхранява при условия, които изключват всякакво увреждане или промяна на състава.
8. ПРОЦЕДУРА
 - 8.1. **Подготовка на тестовата проба**

Млякото на прах се прехвърля в съд, снабден с уплътнен капак, и с вместимост, която е около два пъти обема на праха. Съдът се затваря веднага. Млечният прах се смесва добре чрез многократно обръщане на съда.
 - 8.2. **Маса на пробата за анализ**

Претеглят се 2,000 \pm 0,001 g от пробата за анализ в центрофужна епруветка (6.2) или подходяща запушена колба (50 ml).
 - 8.3. **Отстраняване на мазнината и протеините**
 - 8.3.1. Към тестовата доза се прибавят 20,0 ml топла вода (50 °C). Прахът се разтваря чрез разклащане за пет минути при използването на механичен шейкър (6.3). Епруветката се поставя във водната баня (6.10) и се оставя да се темперира до 25 °C.

- 8.3.2. Прибавят се 10,0 ml разтвор на трихлорооцетна киселина (5.1.) с температура около 25 °C за две минути, като същевременно се разбърква енергично с магнитната бъркалка (6.4). Епруветката се поставя във водната баня (6.10) и се оставя за 60 минути.
- 8.3.3. Центрофугира се (6.2) в продължение на 10 минути при 2 200 g или се филтрира през хартия (6.6), като се изхвърлят първите 5 ml филтрат.

8.4. Хроматографски анализ

- 8.4.1. От 15 до 30 μ l точно измерен супернатант или филтрат (8.3.3) се впръскват в апарат за HPLC (6.11), който работи при дебит 1,0 ml елуентен разтвор (5.2) на минута.

Забележка 1: Може да се използва и друг дебит в зависимост от вътрешния диаметър на използваните колони или указанията на производителя на колоните.

Забележка 2: Колоните се изплакват с вода при всяко прекъсване. Елуентният разтвор (5.2) никога не се оставя в тях.

Преди всяко прекъсване за повече от 24 часа колоните се изплакват с вода, след това се измиват с разтвор (5.3) за най-малко три часа при дебит 0,2 ml на минута.

- 8.4.2. Резултатите от хроматографския анализ на тестовата проба [E] се получават под формата на хроматограма, в която всеки пик е показан чрез времето лу на задържане RT, както следва:

Пик II:	Вторият пик на хроматограмата с RT от около 12,5 минути.
Пик III:	Третият пик на хроматограмата, съответстващ на СМР, с RT от 15,5 минути.

Изборът на колоните може съществено да повлияе на времето на задържане на отделните пикове.

Интеграторът (6.11.6) автоматично изчислява площта A на всеки пик:

A_{II} :	площ на пик II,
A_{III} :	площ на пик III.

Съществено е да се изследва вида на всяка хроматограма преди количественото тълкуване, за да се открият всякакви отклонения, които се дължат или на неправилното функциониране на апаратурата, или на колоните, или на произхода и естеството на анализираната проба.

Анализът се повтаря, ако има съмнения.

8.5. Калибриране

- 8.5.1. Процедурата, описана в точки 8.2—8.4.2, се прилага с точност за стандартните проби (5.4).

Използват се пряко приготвени разтвори, тъй като СМР се разрушават в 8 %-на трихлорооцетна среда. Загубата се оценява на 0,2 % на час при 30 °C.

- 8.5.2. Преди хроматографския анализ на пробите колоните се подготвят чрез многократно впръскване на стандартната проба (5.4.2) в разтвора (8.5.1), докато площта и времето на задържане на пика, съответстващ на СМР, станат постоянни.

- 8.5.3. Определят се факторите на сигнала R чрез впръскване на същия обем филтрата (8.5.1), както е използван за пробите.

9. ИЗРАЗЯВАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

9.1. Метод на изчисление и формули

- 9.1.1. Изчисляване на факторите на сигнала R:

Пик II:	$R_{II} = 100/(A_{II}[0])$
---------	----------------------------

където:

R_{II} = факторите на сигнала на пиковете II,

$A_{II} [0]$ = площите на пиковете II на стандартната проба [0], получени в 8.5.3.

Пик III:	$R_{III} = W/(A_{III}[5] - A_{III}[0])$
----------	---

където:

- R_{III} = Факторът на сигнала на пик III,
 $A_{III}[0]$ и $A_{III}[5]$ = площите на пиковите III на стандартните проби [0] и [5], получени съответно в 8.5.3,
 W = количеството суроватка в стандартната проба [5], т.е. 5.

9.1.2. Изчисляване на относителната площ на пиковите в пробата [E]

$$S_{II}[E] = R_{II} \times A_{II}[E]$$

$$S_{III}[E] = R_{III} \times A_{III}[E]$$

$$S_{IV}[E] = R_{IV} \times A_{IV}[E]$$

където:

- $S_{II}[E]$, $S_{III}[E]$, $S_{IV}[E]$ = относителните площи, съответно на пикове II, III и IV на пробата [E],
 $A_{II}[E]$, $A_{III}[E]$ = площите съответно на пикове II и III на проба [E], получени в 8.4.2,
 R_{II} , R_{III} = факторите на сигнала, изчислени в 9.1.1.

9.1.3. Изчисляване на относителното време на задържане на пик III на проба [E]:

$$RRT_{III}[E] = (RT_{III}[E])/(RT_{III}[5])$$

където:

- $RRT_{III}[E]$ = относителното време на задържане на пик III на проба [E],
 $RT_{III}[E]$ = времето на задържане на пик III на проба [E], получено в 8.4.2,
 $RT_{III}[5]$ = времето на задържане на пик III на контролната проба [5], получено в 8.5.3.

9.1.4. Експериментите показваха, че има линейна връзка между относителното време на задържане на пик III, т.е. $RRT_{III}[E]$, и процента на прибавена суроватка на прах до 10 %

- $RRT_{III}[E] < 1,000$, когато съдържанието на суроватка е > 5 %,
- $RRT_{III}[E] \geq 1,000$, когато съдържанието на суроватка е ≤ 5 %.

Допустимата неопределеност за стойностите на RRT_{III} е $\pm 0,002$.

Обикновено стойността на $RRT_{III}[0]$ се отклонява малко от 1,034. В зависимост от състоянието на колоните стойността може да се доближава до 1,000, но трябва винаги да бъде по-голяма.

9.2. Изчисляване на процента на сирична суроватка на прах в пробата:

$$W = S_{III}[E] - [1,3 + (S_{III}[0] - 0,9)]$$

където:

- W = процент (m/m) сирична суроватка в пробата [E];
 $S_{III}[E]$ = относителната площ на пик III на тестова проба [E], получена както в 9.1.2;
1,3 = представлява относителната средна площ на пик III, изразена в грамове сирична суроватка за 100 g, определена в неподправено обезмаслено мляко на прах от различен произход. Тази цифра бе получена експериментално;
 $S_{III}[0]$ = представлява относителната площ на пик III, която е равна на $R_{III} \times A_{III}[0]$. Тези стойности са получени съответно в 9.1.1 и в 8.5.3;
 $(S_{III}[0] - 0,9)$ = представлява корекцията, която следва да бъде направена спрямо относителната средна площ 1,3, когато $S_{III}[0]$ не е равно на 0,9. За експеримента относителната средна площ на пик III на контролната проба [0] е 0,9.

9.3. Точност на процедурата

9.3.1. Повторяемост

Разликата между резултатите от две определяния, извършени едновременно или едно след друго от същия анализатор и при използване на същата апаратура върху идентичен тестов материал, не трябва да надвишава 0,2 % m/m.

9.3.2. Възпроизводимост

Разликата между два отделни и независими резултата, получени в две различни лаборатории върху идентичен тестов материал, не трябва да надвишава 0,4 % m/m.

9.4. Тълкуване

9.4.1. Приема се, че липсва суроватка, ако относителната площ на пик III, $S_{III} [E]$, изразена в градове сирична суроватка за 100 g продукт, $e \leq 2,0 + (S_{III} [0] - 0,9)$,

където:

2,0	е допустимата максимална стойност за относителната площ на пик III, като се вземат предвид относителната средна площ на пик III, т.е. 1,3, неопределеността поради вариациите в състава на обезмасленото мляко на прах и възпроизводимостта на метода (9.3.2),
$(S_{III} [0] - 0,9)$	е корекцията, която следва да бъде направена, когато площта $S_{III} [0]$ е различна от 0,9 (вж. 9.2).

9.4.2. Ако относителната площ на пик III, $S_{III} [E]$, $e > 2,0 + (S_{III} [0] - 0,9)$ и относителната площ на пик II, $S_{II} [E]$, ≤ 160 , съдържанието на сирична суроватка се определя, както е посочено в точка 9.2.

9.4.3. Ако относителната площ на пик III, $S_{III} [E]$, $e > 2,0 + (S_{III} [0] - 0,9)$ и относителната площ на пик II, $S_{II} [E]$, ≤ 160 , се определя общото съдържание на протеин (P %); след това се изследват графики 1 и 2.

9.4.3.1. Данните, получени след анализа на пробите на неподправено обезмаслено мляко на прах с високо общо съдържание на протеин, са събрани в графики 1 и 2.

Непрекъснатата линия представлява линейна регресия, чиито коефициенти са изчислени чрез метода на най-малките квадрати.

Пунктираната права линия определя горната граница на относителната площ на пик III с вероятност, че няма да се надвишава в 90 % от случаите.

Уравненията за пунктираните прави линии на графики 1 и 2 са:

$S_{III} = 0,376 P \% - 10,7$	(графика 1),
$S_{III} = 0,0123 S_{II} [E] + 0,93$	(графика 2),

където съответно:

S_{III} е относителната площ на пик III, изчислена или съобразно общото съдържание на протеин, или съобразно относителната площ на пик $S_{II} [E]$,

P % е общото тегловно съдържание на протеин, изразено като процент,

$S_{II} [E]$ е относителната площ на пробата, изчислена в точка 9.1.2.

Тези уравнения са еквивалентни по стойност на 1,3, посочено в точка 9.2.

Разликата (T_1 и T_2) между установената относителна площ $S_{III} [E]$ и относителната площ S_{III} се изразява чрез следното: $T_1 = S_{III}[E] - [(0,376 P \% - 10,7) + (S_{III}[0] - 0,9)]$; $T_2 = S_{III}[E] - [(0,0123 S_{II}[E] + 0,93) + (S_{III}[0] - 0,9)]$.

9.4.3.2. Ако T_1 и/или T_2 са по-малки или равни на нула, не може да бъде определено присъствието на сиришна суроватка.

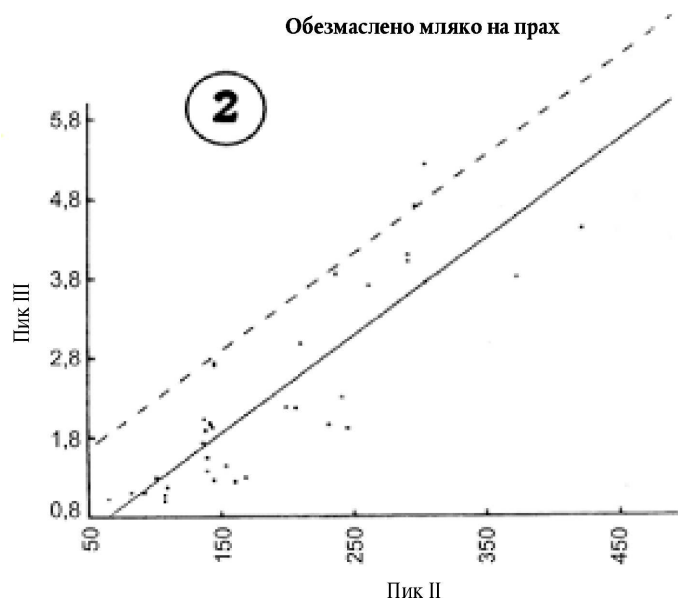
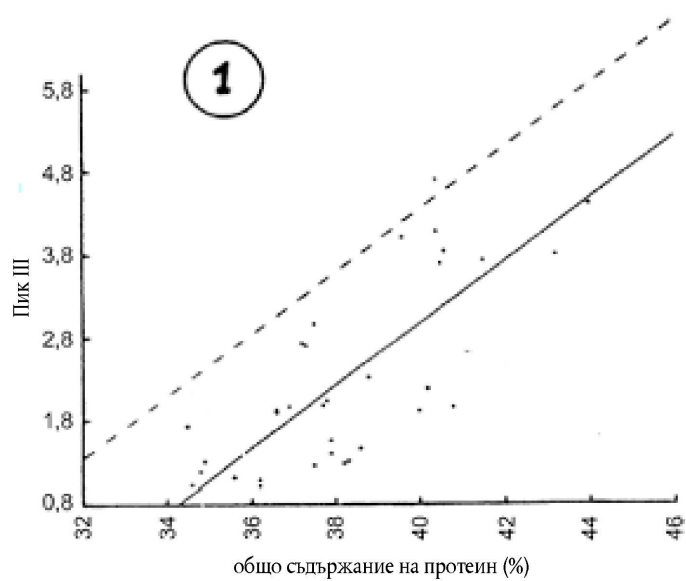
Ако T_1 и T_2 са по-големи от нула, има наличие на сиришна суроватка.

Съдържанието на сиришна суроватка се изчислява по следната формула: $W = T_2 + 0,91$

където:

0,91 е разстоянието на вертикалната ос между непрекъснатата и пунктираната прави линии.

Обезмаслено мляко на прах



Допълнение III

ОПРЕДЕЛЯНЕ НА СУХО ВЕЩЕСТВО НА СИРИЩНА СУРОВАТКА В ОБЕЗМАСЛЕНО МЛЯКО НА ПРАХ

1. ЦЕЛ: ОТКРИВАНЕ НА ПРИБАВЯНЕТО НА СУХО ВЕЩЕСТВО НА СИРИЩНА СУРОВАТКА КЪМ ОБЕЗМАСЛЕНО МЛЯКО НА ПРАХ
2. ЗА СПРАВКА: МЕЖДУНАРОДЕН СТАНДАРТ ISO 707
3. ОПРЕДЕЛЕНИЕ
Съдържанието на сухо вещество на сиришна суроватка се дефинира като масовата концентрация от казеиномакропептидното съдържание, определена чрез описаната процедура.
4. ПРИНЦИП
Пробите се анализират за казеиномакропептид А с високоефективна течна хроматография с обърнати фази (процедура за HPLC). Оценката на резултата се получава чрез позоваване на стандартни проби, съдържащи обезмаслено мляко на прах със или без известен процент суроватка на прах. Резултатите, които са по-високи от 1 % (m/m), показват наличие на сухо вещество на сиришна суроватка.
5. РЕАГЕНТИ
Всички реагенти трябва да бъдат с признато аналитично качество. Използваната вода трябва да е дестилирана или да е с еквивалентна степен на чистота. Ацетонитрилът следва да бъде със спектроскопично качество или с HPLC-качество.
 - 5.1. **Разтвор на трихлорооцетна киселина**
240 g трихлорооцетна киселина (CCl_3COOH) се разтварят във вода и се долива до 1 000 ml. Разтворът трябва да бъде прозрачен и безцветен.
 - 5.2. **Елуенти А и Б**
Елуент А: 150 ml ацетонитрил (CH_3CN), 20 ml изопропанол ($\text{CH}_3\text{CHONCH}_3$) и 1,00 ml трифлуорооцетна киселина (TFA, CF_3COOH) се поставят в 1 000 ml измерителна колба. Долива се до 1 000 ml с вода.
Елуент Б: 550 ml ацетонитрил, 20 ml изопропанол и 1,00 ml TFA се поставят в 1 000 ml измерителна колба. Долива се до 1 000 ml с вода. Елуентният разтвор се филтрира, преди да се използва, през мембранен филтър с 0,45 μm диаметър на порите.
 - 5.3. **Съхранение на колоната**
След анализа колоната се изплаква с елуент Б (чрез градиент) и впоследствие се изплаква с ацетонитрил (чрез градиент за 30 минути). Колоната се съхранява в ацетонитрил.
 - 5.4. **Стандартни проби**
 - 5.4.1. *Обезмаслено мляко на прах, което изпълнява изискванията за публично складиране (т. е. [0]).*
 - 5.4.2. *Същото обезмаслено мляко на прах, подправено с 5 % (m/m) сиришна суроватка на прах със стандартен състав (т.е. [5]).*
 - 5.4.3. *Същото обезмаслено мляко на прах, подправено с 50 % (m/m) сиришна суроватка на прах със стандартен състав (т.е. [50]).*
6. АПАРАТУРА
 - 6.1. **Аналитични везни**
 - 6.2. **Незадължително: центрофуга, която може да достигне центробежна сила от 2 200 g, снабдена със запушени центрофужни епруветки с капацитет около 50 ml**
 - 6.3. **Механичен шейкър**
 - 6.4. **Магнитна бъркалка**
 - 6.5. **Съгледени фунии с диаметър около 7 cm**

- 6.6. **Филтърна хартия, средно филтриране, диаметър около 12,5 cm**
- 6.7. **Стъклено оборудване за филтриране с мембранен филтър с диаметър на порите 0,45 μm**
- 6.8. **Градуирани капкомери, които позволяват подаване на 10 ml (ISO 648, клас А, или ISO/R 835), или система, която може да подаде 10,0 ml за две минути.**
- 6.9. **Система за подаване, която може да подаде 20,0 ml вода при приблизително 50 °C**
- 6.10. **Термостатна водна баня, регулирана на 25 \pm 0,5 °C**
- 6.11. **Оборудване за HPLC, състоящо се от:**
 - 6.11.1. Бинарна помпена система за градиентна работа
 - 6.11.2. Ръчен или автоматичен инжектор с капацитет 100 μl
 - 6.11.3. Колонa Agilent Technologies Zorbax 300 SB-C3 (дължина 25 cm, 0,46 cm вътрешен диаметър) или еквивалентна широка кварцова колонa с обрната фаза
 - 6.11.4. Термостатична колонна пещ, програмирана на 35 \pm 1 °C
 - 6.11.5. UV детектор с променлива дължина на вълните, позволяващ измервания при 210 nm (ако е необходимо, може да бъде използвана по-голяма дължина на вълните до 220 nm), с чувствителност от 0,02 Å
 - 6.11.6. Интегратор с възможност за настройка на интегрирането по обща базова линия или от впадина до впадина

Забележка: Използването на колоната при стайна температура е възможно, при условие че стайната температура не се отклонява повече от 1 °C, в противен случай се получава прекалено голямо вариране във времето на задържане на CMP_A .
7. **ВЗЕМАНЕ НА ПРОБИ**
 - 7.1. **Пробите се вземат в съответствие с процедурата, определена в Международен стандарт ISO 707. Държавите членки обаче може да използват друг метод за вземане на проби, при условие че той е в съответствие с принципите на гореупоменатия стандарт.**
 - 7.2. **Пробата се съхранява при условия, които изключват всякакво увреждане или промяна на състава.**
8. **ПРОЦЕДУРА**
 - 8.1. **Подготовка на тестовата проба**

Млякото на прах се прехвърля в съд, снабден с уплътнен капак, и с вместимост, която е около два пъти обема на праха. Съдът се затваря веднага. Млечният прах се смесва добре чрез многократно обръщане на съда.
 - 8.2. **Маса на пробата за анализ**

Претеглят се 2,00 \pm 0,001 g от пробата за анализ в центрофужна епруветка (6.2) или подходяща запушена колба (50 ml).

Забележка: Когато се анализират смеси, се претегля такова количество от тестовата проба, че обезмаслената част от пробата да съответства на 2,00 g.
 - 8.3. **Отстраняване на мазнината и протеините**
 - 8.3.1. *Към тестовата доза се прибавят 20,0 ml топла вода (50 °C). Прахът се разтваря чрез разклащане за пет минути при използването на механичен шейкър (6.3). Епруветката се поставя във водната баня (6.10) и се оставя да се теперира до 25 °C.*
 - 8.3.2. *Прибавят се 10,0 ml разтвор на трихлорооцетна киселина с температура около 25 °C (5.1) постоянно за две минути, като същевременно се разбърква енергично с магнитната бъркалка (6.4). Епруветката се поставя във водната баня (6.10) и се оставя за 60 минути.*
 - 8.3.3. *Центрофугират се (6.2) 2 200 g в продължение на 10 минути или се филтрират през хартия (6.6), като първите 5 ml филтрат се изхвърлят.*

8.4. Хроматографски анализ

- 8.4.1. HPLC-методът с обрната фаза изключва възможността да има фалшиви положителни резултати, дължащи се на наличието на кисела мътенница на прах.
- 8.4.2. Преди извършването на HPLC анализа с обрната фаза условията на градиента следва да бъдат оптимизирани. Времето на задържане от 26 ± 2 минути за SMR_A е оптимално за системите с градиент с твъртв обем от около 6 ml (обем от точката, в която разредителите се събират, до обема на пръстена на инжектора включително). Системите с градиент с по-малък твъртв обем (напр. 2 ml) следва да използват 22 минути като оптимално време за задържане.

Вземат се разтвори от стандартните проби (5.4) без и със 50 % сиришна суроватка.

100 µl супернатант или филтрат (8.3.3) се впръсква в апарата за HPLC, който функционира при условията на тестовия градиент, дадени в таблица 1.

Таблица 1

Условия на тестовия градиент за оптимизиране на хроматографията

Време (min)	Дебит (ml/min)	% А	% Б	Крива
Първоначално	1,0	90	10	*
27	1,0	60	40	линейна
32	1,0	10	90	линейна
37	1,0	10	90	линейна
42	1,0	90	10	линейна

Сравнението на двете хроматограми следва да разкрива мястото на пика на GMP_A .

Чрез използване на формулата, дадена по-долу, може да бъде изчислен първоначалният състав на разредителя, който ще се използва за нормалния градиент (вж. 8.4.3): % Б = $10 - 2,5 + (13,5 + (RT_{сmpA} - 26) / 6) * 30 / 27$ % Б = $7,5 + (13,5 + (RT_{сmpA} - 26) / 6) * 1,11$

където:

$RT_{сmpA}$: времето на задържане на SMR_A в тестовия градиент

10: първоначалният % Б на тестовия градиент

2,5: % Б на половината време минус % Б първоначално в нормалния градиент

13,5: половината време на тестовия градиент

26: изисквано време на задържане на SMR_A

6: съотношение на наклоните на тестовия и нормалния градиент

30: % Б първоначално минус % Б при 27 минути в тестовия градиент

27: време на преминаване на тестовия градиент.

8.4.3. Анализ на разтвори на тестовите проби

Впръскват се 100 µl точно измерен супернатант или филтрат (8.3.3) в апарата за HPLC, който работи при дебит 1,0 ml елуентен разтвор (5.2) в минута.

Съставът на елуента в началото на анализа се получава съгласно 8.4.2. Той обичайно е близък до А:Б = 76:24 (5.2). Непосредствено след впръскването се стартира линеен градиент, което води до 5 % по-висок процент на Б след 27 минути. След това се стартира линеен градиент, с който съставът на елуента става 90 % Б за пет минути. Този състав се поддържа пет минути, след което съставът се променя чрез линеен градиент за пет минути към първоначалния състав. В зависимост от вътрешния обем на помпената система следващото впръскване може да бъде направено 15 минути след постигането на първоначалните условия.

Забележка 1. Времето на задържане на SMR_A следва да бъде 26 ± 2 минути. Това може да бъде постигнато чрез вариране на изходните и крайните условия на първия градиент. Разликата обаче в % Б за изходните и крайните условия на първия градиент трябва да остане 5 % Б.

Забележка 2. Елуентите следва да бъдат дегазирани в достатъчна степен и да се запазят такива. Това е от основна важност за доброто функциониране на помпената система за градиента. Стандартното отклонение за времето на задържане на пика SMR_A трябва да бъде по-малко от 0,1 минути ($n = 10$).

Забележка 3. Референтната проба [5] трябва да бъде впръсквана на всеки пет проби и използвана за изчисляване на нов фактор на сигнала R (9.1.1).

- 8.4.4. *Резултатите от хроматографския анализ на тестовата проба (E) се получават под формата на хроматограма, в която пикът SMR_A се идентифицира чрез времето си на задържане от около 26 минути.*

Интеграторът (6.11.6) автоматично изчислява височината H на пика SMR_A . Във всяка хроматограма следва да се проверява мястото на базовата линия. Анализът или интегрирането трябва да бъдат повторени, ако базовата линия е определена неправилно.

Забележка: Ако пикът на SMR_A е достатъчно отделен от други пикове, следва да се използва базовата линия от впадина до впадина; в противен случай се използват перпендикулярните проекции върху обща базова линия, която би трябвало да започва близо до пика на SMR_A (следователно не при $t = 0 \text{ min!}$). За стандартния разтвор и за пробите се използва един и същ тип интегриране, а при обща базова линия се проверява нейната съгласуваност за пробите и стандартния разтвор.

Съществено е да се изследва видът на всяка хроматограма преди количественото тълкуване, за да се открият всякакви отклонения, които се дължат или на неправилното функциониране на апаратурата, или на колоната, или на произхода и естеството на анализиранията проба. Анализът се повтаря, ако има съмнения.

8.5. Калибриране

- 8.5.1. *Процедурата, описана в точки 8.2—8.4.4, се прилага с точност за стандартните проби (5.4.1—5.4.2). Използват се прясно приготвени разтвори, тъй като SMR се разрушават в 8 %-на трихлорооцетна среда при стайна температура. При 4 °C разтворът остава стабилен за 24 часа. В случай на дълги аналитични серии е желателно в автоматичния инжектор да се използва охладена подложка за проби.*

Забележка: 8.4.2. може да бъде пропусната, ако % Б при първоначалните условия е известен от предходни анализи.

Хроматограмата на референтната проба [5] следва да е аналогична с представеното на фигура 1. На тази фигура пикът на SMR_A се предхожда от два малки пика. Важно е да се получи подобно разделяне.

- 8.5.2. *Преди хроматографския анализ на пробите се впръскват 100 μl стандартна проба без сирещна суроватка [0] (5.4.1).*

Хроматограмата не следва да показва пик във времето на задържане на пика SMR_A .

- 8.5.3. *Определят се факторите на сигнала R чрез впръскване на същия обем от филтратата (8.5.1), какъвто е използван за пробите.*

9. ИЗРАЗЯВАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

9.1. Метод на изчисление и формули

- 9.1.1. *Изчисляване на фактора на сигнала R:*

$$\text{Пик на } SMR_A: R = W/H$$

където:

R = фактор на сигнала на пика на SMR_A

H = височина на пика на SMR_A

W = количество суроватка в стандартната проба [5].

9.2. Изчисляване на процента на сирична суроватка на прах в пробата

$$W(E) = R \times H(E)$$

където:

$W(E)$ = процент (m/m) сирична суроватка в пробата (E),

R = фактор на сигнала на пика на $СМР_A$ (9.1.1)

$H(E)$ = височина на пика на $СМР_A$ на пробата (E)

Ако $W(E)$ надвишава 1 % и разликата между времето на задържане и това на стандартната проба [5] е по-малка от 0,2 минути, тогава има наличие на сухо вещество на сирична суроватка.

9.3. Точност на процедурата**9.3.1. Повторяемост**

Разликата между резултатите от две определяния, извършени едновременно или едно след друго от същия анализатор и при използване на същата апаратура върху идентичен тестов материал, не трябва да надвишава 0,2 % m/m.

9.3.2. Възпроизводимост

Не е определена.

9.3.3. Линейност

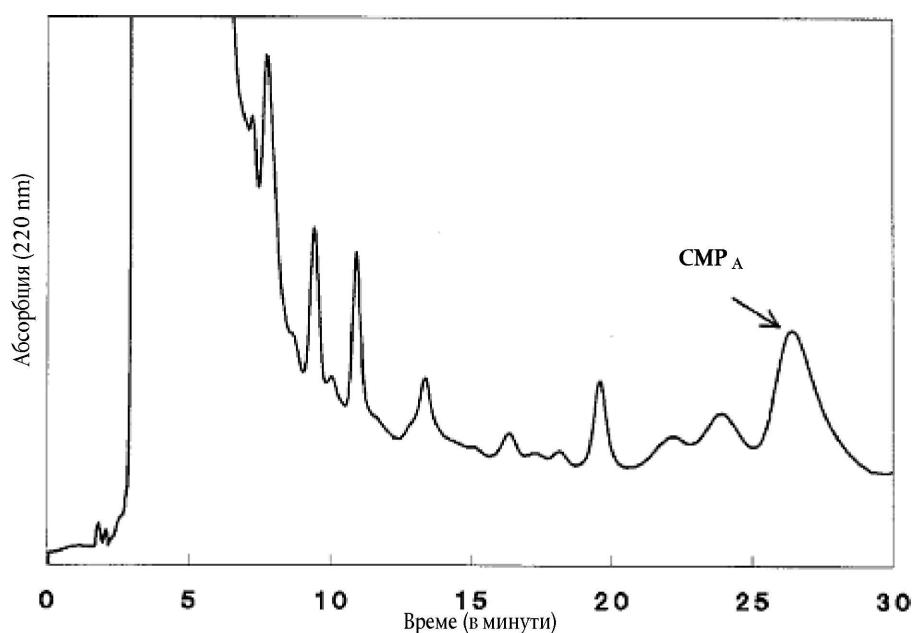
От 0 до 16 % сирична суроватка трябва да даде линейна зависимост с коефициент на корелация $> 0,99$.

9.4. Тълкуване

Границата от 1 % включва неопределеността, свързана с възпроизводимостта.

Фигура 1

Ni—4.6 стандарт



(*) Международен IDF стандарт 135В/1991 Мляко и млечни продукти. Характеристики за точност на аналитичните методи. Описание на процедурата за съвместни изследвания.

3) Добавят се следните приложения:

„ПРИЛОЖЕНИЕ VI

Методи за анализ на масло за частно складиране

Параметър	Метод
Масленост ⁽¹⁾	ISO 17189 или ISO 3727 част 3
Вода	ISO 3727, част 1
Сух безмаслен остатък (с изключение на сол)	ISO 3727, част 2
Сол	ISO 15648

⁽¹⁾ Методът, който ще бъде използван, се одобрява от разплащателната агенция.

ПРИЛОЖЕНИЕ VII

Методи за анализ на обезмаслено мляко на прах за частно складиране

Параметър	Метод
Мазнина	ISO 1736
Белтък	ISO 8968, част 1
Вода	ISO 5537

ПРИЛОЖЕНИЕ VIII

Методи за анализ на сирена за частно складиране

1. Методът за анализ, определен в допълнението, се използва, за да се гарантира, че сирене, което е произведено изключително от овче мляко, козе мляко или биволско мляко, или смес от овче, козе и биволско мляко, не съдържа казеин от краве мляко.

Счита се, че е налице казеин от краве мляко, ако съдържанието на казеин от краве мляко в анализирания проба е равно или е по-голямо от съдържанието в референтната проба, съдържаща 1 % краве мляко, както е описано в допълнението.

2. Методите за откриване на казеин от краве мляко в сирената, посочени в параграф 1, могат да бъдат използвани, при условие че:
 - а) границата на откриване е максимум 0,5 %, и
 - б) няма фалшиви положителни резултати, и
 - в) казеинът от краве мляко може да се открие посредством необходимата чувствителност, дори и след дълги периоди на узряване, които могат да възникват при обичайни търговски условия.

Ако някое от горните изисквания не е спазено, следва да се използват методите, определени в допълнението.

Допълнение

МЕТОД ЗА ОТКРИВАНЕ НА КРАВЕ МЛЯКО И КАЗЕИНАТИ В СИРЕНА ОТ ОВЧЕ МЛЯКО, КОЗЕ МЛЯКО ИЛИ БИВОЛСКО МЛЯКО, ИЛИ СМЕСИ ОТ ОВЧЕ, КОЗЕ И БИВОЛСКО МЛЯКО

1. ОБХВАТ

Откриване на краве мляко и казеинати в сирена, произведени от овче мляко, козе мляко, биволско мляко, или смеси от овче, козе и биволско мляко, чрез изоелектрическо фокусиране на γ -казеини след плазминолиза.

2. ПРИЛОЖНО ПОЛЕ

Методът е подходящ за чувствително и специфично откриване на натурално и топлинно обработвано краве мляко и казеинати в пресни и узрели сирена, произведени от овче мляко, козе мляко, биволско мляко, или смеси от овче, козе и биволско мляко. Той не е подходящ за откриване на подправяне на мляко и сирене чрез топлинно обработени концентрати на суроватъчен протеин от краве мляко.

3. ПРИНЦИП НА МЕТОДА

3.1. **Изолиране на казеини от сирене и от референтните проби.**3.2. **Разтваряне на изолираните казеини и разграждане чрез плазмин (ЕС.3.4.21.7).**3.3. **Изоелектрическо фокусиране на обработени с плазмин казеини в присъствието на уреа и оцветяване на протеините.**3.4. **Оценка на оцветените γ_3 и γ_2 -ивици на казеин (доказателство за краве мляко) чрез сравняване на получените от пробата ивици с тези, които са получени в същия гел от референтните проби, съдържащи 0 % и 1 % краве мляко.**

4. РЕАГЕНТИ

Ако не е посочено друго, трябва да бъдат използвани химикали с аналитично качество. Водата трябва да е двойно дестилирана или с еквивалента степен на чистота.

Забележка: Указанията по-долу се прилагат за лаборатория, която е подготвила полиакриламидни гелове, съдържащи уреа, с размери $265 \times 125 \times 0,25$ mm. Когато се използват други размери и типове гел, може да е необходимо коригиране на условията за отделяне.

Изоелектрическо фокусиране4.1. **Реагенти за получаване на полиакриламидни гелове, съдържащи уреа**4.1.1. *Основен разтвор на гел*

Разтварят се:

4,85 g акриламид

0,15 g N, N'-метиленабисакриламид (BIS)

48,05 g уреа

15,00 g глицерин (87 % w/w)

във вода, допълва се до 100 ml и се съхранява в бутилка от кафяво стъкло в хладилник.

Забележка: Вместо цитираните определени дози невротоксични акриламиди може да се използва готов разтвор акриламид/BIS, наличен в търговската мрежа. Когато такъв разтвор съдържа 30 % w/v акриламид и 0,8 % w/v BIS, вместо определените дози за сместа трябва да бъде използван обем от 16,2 ml. Годността на основния разтвор е максимум 10 дни; ако неговата проводимост е повече от 5 μ S, той се дейонизира чрез разклащане с 2 g Амберлит MB-3 за 30 минути, след това се филтрира през мембрана от 0,45 μ m.

4.1.2. *Разтвор на гел*

Приготвя се разтвор на гел чрез смесване на добавките и амфолити (*) с основния разтвор на гел (виж 4.1.1).

9,0 ml основен разтвор

24 mg β -аланин

500 μ l амфолит рН 3,5—9,5

250 μ l амфолит рН 5—7

250 μ l амфолит рН 6—8

Разтворът на гел се смесва и се дегазира за две до три минути в ултразвукова баня или във вакуум.

Забележка: Разтворът на гел се приготвя непосредствено преди изливането му (вж. 6.2).

4.1.3. *Катализаторни разтвори*

4.1.3.1. N, N, N' N' — тетраметилетилендиамин (Temed)

4.1.3.2. 40 % w/v амониев персулфат (PER):

800 mg PER се разтварят във вода и се долива до 2 ml

Забележка: Винаги се използва пряко приготвен разтвор на PER.

4.2. **Контактна течност**

Керосин или течен парафин

4.3. **Аноден разтвор**

5,77 g фосфорна киселина (85 % w/w) се разтваря във вода и се разрежда до 100 ml.

4.4. **Катоден разтвор**

2,00 g натриев хидроксид се разтваря във вода и се разрежда до 100 ml с вода.

Подготовка на пробите

4.5. **Реагенти за изолиране на протеин**

4.5.1. *Разредена оцетна киселина (25,0 ml ледена оцетна киселина с добавена вода до 100 ml)*

4.5.2. *Дихлорометан*

4.5.3. *Ацетон*

4.6. **Буфер за разтваряне на протеин**

Разтварят се:

5,75 g глицерин (87 % w/w)

24,03 g уреа

250 mg дитиотрейтол

във вода и се долива до 50 ml.

Забележка: Съхранява се в хладилник, максимална годност — една седмица.

4.7. Реагенти за разграждане на казеини чрез плазмин**4.7.1. Буфер — амониев карбонат**

0,2 mol/l разтвор на амониев бикарбонат (1,58 g/100 ml вода), съдържащ 0,05 mol/l етилендиаминтетраоцетна киселина (EDTA, 1,46 g/100 ml), се титрува с 0,2 mol/l разтвор на амониев карбонат (1,92 g/100 ml вода), съдържащ 0,05 mol/l EDTA, до pH 8.

4.7.2. Говежди плазмин (ЕС. 3.4.21.7) с активност най-малко 5 U/ml**4.7.3. Разтвор на ϵ -аминокапронова киселина за инхибиране на ензими**

2,624 g ϵ -аминокапронова киселина (6 амино-п-хексанова киселина) се разтварят в 100 ml 40 % (v/v) етанол.

4.8. Стандартни проби

4.8.1. Сертифицирани референтни стандартни проби от смес от подсирени овче и козе обезмаслено мляко, съдържащи 0 % и 1 % краве мляко, могат да се намерят от Института за референтни материали и метрология на Колмсията, В-2440 Гил, Белгия.

4.8.2. Подготовка на вътрешни лабораторни стандартни проби от подсирено биволско мляко, съдържащо 0 % и 1 % краве мляко

Обезмасленото мляко се приготвя чрез центрофугиране на сурово непакетирано биволско или краве мляко при 37 °C (2 500 g, 20 минути). След бързо охлаждане на съда и съдържанието му до 6—8 °C, горният слой мазнина се отстранява напълно. За подготовката на 1 %-на стандартна проба към 495 ml биволско обезмаслено мляко се добавя 5,00 ml краве обезмаслено мляко в 1 l бехерова чаша и се постига pH 6,4 чрез прибавяне на разредена млечна киселина (10 % w/v). Температурата се довежда до 35 °C и се прибавят 100 μ l телешко сирише (активност 1: 10 000, около 3 000 U/ml), разклаща се за 1 минута и бехеровата чаша се оставя покрита с алуминиево фолио при 35 °C за един час, за да може съдържанието да се съсире. След образуването на съсирека цялото подсирено мляко се суши чрез сублимиране без предварително хомогенизиране или отцеждане на суроватката. След сушенето чрез сублимиране то се смилва ситно на хомогенен прах. За подготовката на 0 %-ната стандартна проба се извършва същата процедура с използване на натурално биволско обезмаслено мляко. Стандартните проби трябва да бъдат съхранявани при – 20 °C.

Забележка: Препоръчително е да се проверява чистотата на биволското мляко чрез изоелектрическо фокусиране на третираните с плазмин казеини преди подготовката на стандартните проби.

Реагенти за оцветяване на протеин**4.9. Фиксатор**

150 g трихлорооцетна киселина се разтварят във вода и се долива до 1 000 ml.

4.10. Обезцветяващ разтвор

500 ml метанол и 200 ml ледена оцетна киселина се разреждат до 2 000 ml с дестилирана вода.

Забележка: Всеки ден се приготвя пресен обезцветяващ разтвор; той може да бъде приготвен чрез смесване на равни обеми основни разтвори на 50 % (v/v) метанол и 20 % (v/v) ледена оцетна киселина.

4.11. Оцветяващи разтвори**4.11.1. Оцветяващ разтвор (основен разтвор 1)**

3,0 g Coomassie Brilliant Blue G-250 (C.I. 42655) се разтваря в 1 000 ml 90 % (v/v) метанол, като се използва магнитна бъркалка (приблизително 45 минути), филтрира се през два нагнати филтъра със средна скорост.

4.11.2. Оцветяващ разтвор (основен разтвор 2)

5,0 g меден сулфат пентахидрат се разтваря в 1 000 ml 20 % (v/v) оцетна киселина.

4.11.3. Оцветяващ разтвор (работен разтвор)

Смесват се по 125 ml от всеки от основните разтвори (4.11.1, 4.11.2) непосредствено преди оцветяването.

Забележка: Оцветяващият разтвор следва да бъде приготвен в деня, в който се използва.

5. **ОБОРУДВАНЕ**
 - 5.1. **Стъклени плочи (265 × 125 × 4 mm); каучукова ролка (ширина 15 cm); нивелирна маса**
 - 5.2. **Лист носител на гел (265 × 125 mm)**
 - 5.3. **Покривен лист (280 × 125 mm). По двете му дължини отстрани се поставя самозалепваща лента (280 × 6 × 0,25 mm) (вж. фигура 1)**
 - 5.4. **Камера за електрофокусиране с охлаждаща плоча (напр. 265 × 125 mm) и подходящо електрическо захранване ($\geq 2,5$ kV) или автоматично устройство за електрофореза**
 - 5.5. **Криостат с циркулация, термостатно контролиран на $12 \pm 0,5$ °C**
 - 5.6. **Центрофуга, регулируема за 3 000g**
 - 5.7. **Електродни ленти (с дължина ≥ 265 mm)**
 - 5.8. **Пластмасови флакони за капене на анодните и катодните разтвори**
 - 5.9. **Апликатори за проби (10 × 5 mm, вискозна филтърна хартия или филтърна хартия с ниска абсорбция на протеин)**
 - 5.10. **Съдове от неръждаема стомана или от стъкло за оцветяване и обезцветяване (напр. 280 × 150 mm таблички за инструменти)**
 - 5.12. **Регулируем хомогенизатор (с диаметър на оста 10 mm), от 8 000 до 20 000 об./мин.**
 - 5.13. **Магнитна бъркалка**
 - 5.14. **Ултразвукова баня**
 - 5.15. **Апарат за залепване на листовете**
 - 5.16. **25 μ l микро-капкомери**
 - 5.17. **Вакуумен концентратор или сушилният чрез сублимиране**
 - 5.18. **Термостатично контролирана водна баня, регулируема за 35 и за 40 ± 1 °C с възможност за разбъркване**
 - 5.19. **Денсиметър, четящ при $\lambda = 634$ nm**
6. **ПРОЦЕДУРА**
 - 6.1. **Подготовка на пробите**
 - 6.1.1. *Изолване на казеини*

Количество, еквивалентно на 5 g сухо вещество сирене, или референтните стандартни проби се претеглят в 100 ml центрофужна епруветка, прибавя се 60 ml дестилирана вода и се хомогенизира с хомогенизатор (от 8 000 до 10 000 об./мин). Регулира се до pH 4,6 с разредена оцетна киселина (4.5.1) и се центрофутира (5 минути, 3 000 g). Мазнината и суроватката се отделят, утайката се хомогенизира при 20 000 об./мин в 40 ml дестилирана вода, регулирана до pH 4,5 с разредена оцетна киселина (4.5.1), добавят се 20 ml дихлорометан (4.5.2), отново се хомогенизира и се центрофутира (5 минути, 3 000 g). Казеиновият слой, който се намира между водната и органичната фази (вж. фигура 2), се отстранява със шпатула и двете фази се отделят. Казеинът се хомогенизира отново в 40 ml дестилирана вода (вж. по-горе) и 20 ml дихлорометан (4.5.2) и се центрофутира. Тази процедура се повтаря, докато двете фази на екстракцията останат безцветни (от два до три пъти). Утайката от протеин се хомогенизира с 50 ml ацетон (4.5.3) и се филтрира през нагънат филтърна хартия със средна скорост. Утайката върху филтъра се измива с две отделни части от 25 ml ацетон и се оставя да се изсуши на въздух или в струя азот, след което се стрива на фин прах в хаван.

Забележка: Сухият изолиран казеин следва да бъде съхраняван при -20 °C.

- 6.1.2. *Разграждане чрез плазмин на β -казеини за интензифициране на γ -казеини*

25 mg изолирани казеини (6.1.1) се разпръскват в 0,5 ml буфер с амониев карбонат (4.7.1) и се хомогенизират за 20 минути, например чрез обработка с ултразвук. Подгрява се до 40 °C и се добавя 10 μ l плазмин (4.7.2), смесва се и се инкубира за един час при 40 °C с непрекъснато разклащане. За да се инхибира ензимът, се добавя 20 μ l разтвор на ϵ -аминокапронова киселина (4.7.3), след това се добавят 200 mg твърда уреа и 2 mg дитиотрейтол.

Забележка: За да се получи по-голяма симетрия на фокусираните казеинови ивици е препоръчително разтворът да се изсуши чрез сублимиране след добавянето на ϵ -аминокапронова киселина, като след това утайките се разредят в 0,5 ml буфер за разваряване на протеин (4.6).

6.2. Приготвяне на полиакриламидни гелове, съдържащи уреа

С помощта на няколко капки вода листът носител на гел (5.2) се разстила върху стъклена плоча (5.1), като излишката навън вода се отстранява с хартиена салфетка. По същия начин покривният лист (5.3) с ограничители (0,25 mm) се разстила върху друга стъклена плоча. Плочата се поставя хоризонтално върху нивелирна маса.

Към приготвения и с отстранен въздух разтвор на гел (4.1.2) се добавят 10 µl Temed (4.1.3.1), разклаща се и се добавят 10 µl разтвор на PER (4.1.3.2), внимателно се смесва и веднага се излива равномерно в центъра на покривния лист. Единият край на плочата с носителя на гела (с листа надолу) се поставя върху плочата с покривния лист и плочата се сваля бавно надолу, така че между листовите да се образува и разстеле равномерно филм от гел, без да се образуват мехурчета (фигура 3). Плочата с носителя на гела се оставя внимателно да легне напълно с помощта на тънка шпатула и върху нея се поставят още три стъклени плочи за тежест. След завършването на полимеризацията (около 60 минути) полимеризираният гел върху плочата носител на гела и върху покривния лист се изважда чрез разделяне на стъклените плочи. Обратната страна на листа носител се почиства внимателно, за да се отстранят остатъците от гела и уреата. „Гел-сандвичът“ се навива и залепва на тръбичка и се съхранява в хладилник (максимум шест седмици).

Забележка: Покривният лист с ограничителите може да бъде използван повторно. Полиакриламидният гел може да бъде нарязан на по-малки части, което е препоръчително, когато има няколко проби или ако се използва автоматично устройство за електрофореза (два гела, с размер 4,5 × 5 cm).

6.3. Изоелектрическо фокусиране

Охлаждащият термостат се настройва на 12 °C. Обратната страна на листа носител на гел се избърсва с керосин, след това в центъра на охлаждащия блок се капват няколко капки керосин (4.2.). След това „гел-сандвичът“ се разстила върху него със страната на носителя надолу, като се внимава да не се образуват мехурчета. Излишният керосин се избърсва и покривният лист се отстранява. Електродните ленти се напояват с електродните разтвори (4.3, 4.4), изрязват се до дължината на гела и се поставят на предвидените места (разстояние на електродите 9,5 cm).

Условия за изоелектрическо фокусиране:

6.3.1. Размер на гела 265 × 125 × 0,25 mm

Стъпка	Време (min.)	Електрическо напрежение (V)	Електрически ток (mA)	Мощност (W)	Волт-часове (Vh)
1. Предварително фокусиране	30	максимум 2 500	максимум 15	постоянна 4	ок. 300
2. Фокусиране на пробата ⁽¹⁾	60	максимум 2 500	максимум 15	постоянна 4	ок. 1 000
3. Окончателно фокусиране	60	максимум 2 500	максимум 5	максимум 20	ок. 3 000
	40	максимум 2 500	максимум 6	максимум 20	ок. 3 000
	30	максимум 2 500	максимум 7	максимум 25	ок. 3 000

⁽¹⁾ Поставяне на пробата: след предварителното фокусиране (стъпка 1) върху апликаторите на проби (10 × 5 mm) се капват 18 µl от пробата и от стандартните разтвори, поставят се върху гела на разстояние 1 mm един от друг и на 5 mm надлъжно от анода и се притискат леко. Извършва се фокусирането при горните условия, като апликаторите на проби се отстраняват внимателно след 60 минути фокусиране.

Забележка: Ако плътността или ширината на геловите се променят, стойностите за електрически ток и мощност следва да се адаптират по подходящ начин (напр. удвояване на стойностите за електрически ток и за мощност, ако се използва гел с размери 265 × 125 × 0,5 mm).

- 6.3.2. *Пример за програмиране на автоматично устройство за електрофореза (2 гела с размери 5,0 × 4,5 cm); електродите без ленти се поставят на право върху гела*

Стъпка	Електрическо напрежение	Електрически ток	Мошност	Температура	Волт-часове
1. Предварително фокусиране	1 000 V	10,0 mA	3,5 W	8 °C	85 Vh
2. Фокусиране на пробата	250 V	5,0 mA	2,5 W	8 °C	30 Vh
3. Фокусиране	1 200 V	10,0 mA	3,5 W	8 °C	80 Vh
4. Фокусиране	1 500 V	5,0 mA	7,0 W	8 °C	570 Vh

В стъпка 2 апликаторът на пробата се поставя на 0 Vh.

В стъпка 2 апликаторът на пробата се отстранява при 30 Vh.

6.4. **Оцветяване на протеин**

6.4.1. *Фиксиране на протеин*

Електродните ленти се отстраняват веднага след изключване на захранването и гелът незабавно се поставя в съд за оцветяване/обезцветяване, пълен с 200 ml фиксатор (4.9); оставя се за 15 минути, като непрекъснато се разклаща.

6.4.2. *Изливане и оцветяване на плочата с гел*

Фиксаторът се оттежда внимателно и плочата с гел се измива два пъти за по 30 секунди, всеки път със 100 ml обезцветяващ разтвор (4.10). Обезцветяващият разтвор се излива и съдът се пълни с 250 ml оцветяващ разтвор (4.11.3); оставя се да се оцвети за 45 минути с леко разклащане.

6.4.3. *Обезцветяване на плочата с гел*

Оцветяващият разтвор се излива, плочата с гел се измива два пъти, като всеки път се използва по 100 ml обезцветяващ разтвор (4.10), след това се разклаща с 200 ml обезцветяващ разтвор за 15 минути и обезцветяването се повтаря най-малко два или три пъти, докато основата стане чиста и безцветна. След това плочата с гел се изплаква с дестилирана вода (2 × 2 минути) и се изсушава на въздух (от 2 до 3 часа) или със сешоар (от 10 до 15 минути).

Забележка 1: Фиксирането, измиването, оцветяването и обезцветяването се извършват при 20 °C. Да не се използват високи температури.

Забележка 2: Ако се предпочита по-чувствително сребърно оцветяване (напр. кит за сребърно оцветяване, протеин, Pharmacia Biotech, код No 17-1150-01), пробите от казеин, третирани с плазмин, следва да бъдат разреждени до 5 mg/ml.

7. ОЦЕНКА

Оценяването се извършва чрез сравняване на ивиците на протеините в непознатата проба с референтни проби върху същия гел. Откриването на краве мляко в сирена, произведени от овче мляко, козе мляко, биволско мляко, или смеси от овче, козе и биволско мляко, се извършва чрез γ_3 - и γ_2 -казеини, чийто обхват на изоелектрически точки е между pH 6,5 и pH 7,5 (фигури 4 а и б, фигура 5). Границата на откриване е по-ниска от 0,5 %.

7.1. **Визуална оценка**

За визуална оценка на количеството краве мляко се препоръчва да се адаптират концентрациите на пробите и стандартите за получаване на същото ниво на интензивност на овчи, кози и/или биволски γ_2 - и γ_3 -казеини (виж „ γ_2 E,G,V“ и „ γ_3 E,G,V“ на фигури 4 а и б и фигура 5). След това количеството на кравето мляко (по-малко от, равно на или по-голямо от 1 %) в непознатата проба може да бъде оценявано директно чрез сравняване на интензитета на крави γ_3 - и γ_2 -казеини (виж „ γ_3 C“ и „ γ_2 C“ на фигури 4 а и б и фигура 5) с тези на 0 % и 1 % референтни стандарти (овчи, кози) или вътрешнолабораторни стандарти (биволски).

7.2. Денсиметрична оценка

Ако е приложимо, за определянето на съотношението на площта на пика на крави спрямо овчи, кози и/или биволски γ_2 - и γ_3 -казеини (вж. фигура 5) се използва денсиметър (5.19). Тази стойност се сравнява със съотношението на площта на пика на γ_2 - и γ_3 -казеини от 1 % референтния стандарт (овчи, кози) или вътрешнолабораторен стандарт (биволски), анализирани върху същия гел.

Забележка: Методът функционира задоволително, ако има ясен положителен сигнал за двата крави γ_2 - и γ_3 -казеина в 1 % референтния стандарт, но не и в 0 % референтния стандарт. Ако няма, процедурата се оптимизира, като точно се спазват детайлите на метода.

Пробата се оценява като положителна, ако двата крави γ_2 - и γ_3 -казеина или съответните съотношения на площта на пиковите са равни или по-големи от нивото на 1 % референтен стандарт.

8. ЗА СПРАВКА

Addeo F., Moio L., Chianese L., Stingo C., Resmini P., Berner I., Krause I., Di Luccia A., Bocca A.: Use of plasmin to increase the sensitivity of the detection of bovine milk in ovine and/or caprine cheese by gel isoelectric focusing of γ_2 -caseins. (Използване на плазмин за увеличаване на чувствителността на откриване на краве мляко в овче и/или козе сирене с изоелектрическо фокусиране с гел на γ_2 -казеини). *Milchwissenschaft* 45, 708-711 (1990 г.).

Addeo F., Nicolai M.A., Chianese L., Moio L., Spagna Musso S., Bocca A., Del Giovine L.: A control method to detect bovine milk in ewe and water buffalo cheese using immunoblotting (Контролен метод за откриване на краве мляко в овче и биволско сирене чрез използване на имуноблотинг). *Milchwissenschaft* 50, 83-85 (1995 г.).

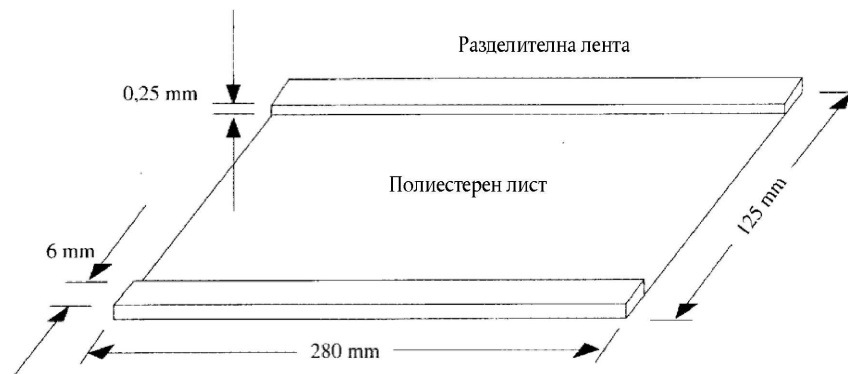
Krause I., Berner I., Klostermeyer H.: Sensitive detection of cow milk in ewe and goat milk and cheese by carrier ampholyte — and carrier ampholyte/immobilized pH gradient — isoelectric focusing of γ -caseins using plasmin as signal amplifier (Чувствително откриване на краве мляко в овче и козе мляко и сирене чрез алфолит-носител и алфолит-носител/неутрализиран рН градиент — изоелектрическо фокусиране на γ -казеини с помощта на плазмин като индикаторен фермент) в: *Electrophoresis-Forum* 89 (B. J. Radola, ed.), стр 389—393, Bode-Verlag, München (1989 г.).

Krause I., Belitz H.-D., Kaiser K.-P.: Nachweis von Kuhmilch in Schaf and Ziegenmilch bzw. -käse durch isoelektrische Fokussierung in harnstoffhaltigen Polyacrylamidgelen (Откриване на краве мляко в овче и козе мляко и сирене чрез изоелектрическо фокусиране в полиакриламидни гелове, съдържащи уреа). *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 174, 195-199 (1982).

Radola B.J.: Ultrathin-layer isoelectric focusing in 50-100 μm polyacrylamide gels on silanised glass plates or polyester films (Изоелектрическо фокусиране със съвръхтънък слой в 50-100 μm полиакриламидни гелове върху силинизирани стъклени съдове или полиестерни филми). *Electrophoresis* 1, 43-56 (1980 г.).

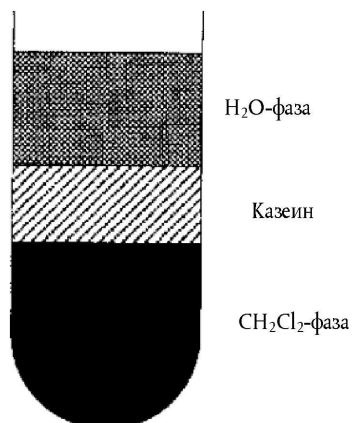
Фигура 1

Схематично представяне на покривния лист



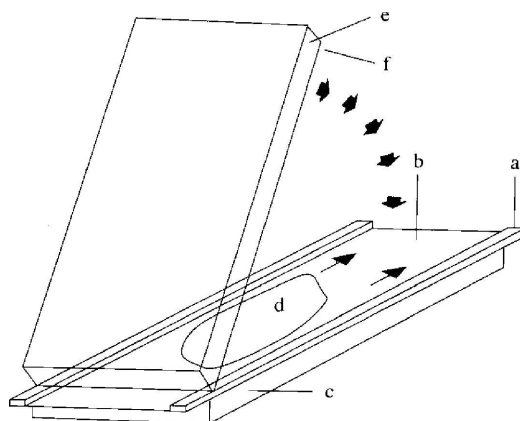
Фигура 2

Слой казеин между водната и органичната фази след центрофугиране



Фигура 3

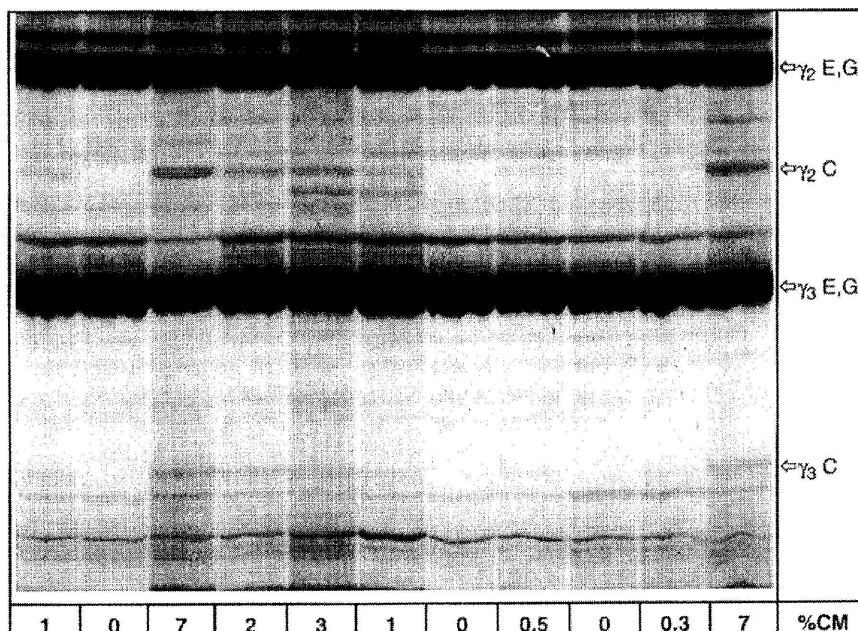
Техника на захлупване за изливане на свръхтънки полиакриламидни гелове



a = разделителна лента (0,25 mm); b = покривен лист (5.3); c, e = стъклени плочи (5.1); d = разтвор на гел (4.1.2); f = лист носител на гел (5.2)

Фигура 4а

Изоелектрическо фокусиране на третиран с плазмин казеини от сирене, произведено от овче и от козе мляко и съдържащо различни количества краве мляко

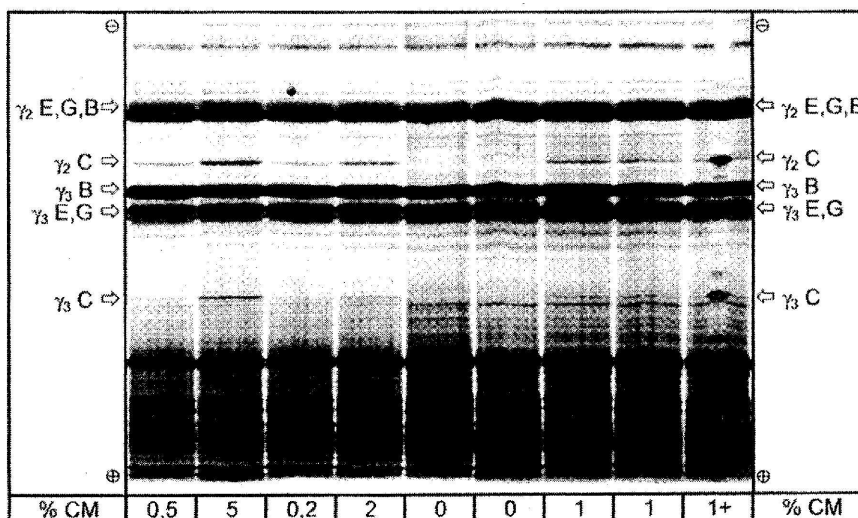


% CM = процент краве мляко, С = краве, Е = овче, G = козе

Показана е горната половина на гел IEF.

Фигура 4б

Изоелектрическо фокусиране на третиран с плазмин казеини от сирене, произведено от смеси от овче, козе и биволско мляко и съдържащо различни количества краве мляко

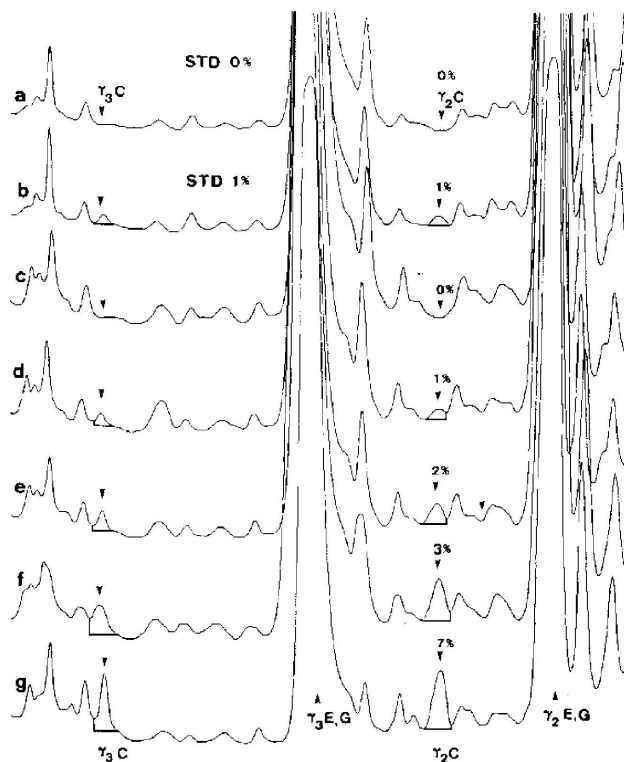


% CM = процент краве мляко; 1 + = проба, съдържаща 1 % краве мляко и прибавен чист крави казеин в средата на пътеката. С = краве, Е = овче, G = козе, В = биволско

Показано е общото разстояние на разделяне на гела IEF.

Фигура 5

Поредица денситограми на стандартните проби (STD) и пробите сирене, произведено от смес от овче и козе мляко, след изоелектрическо фокусиране



a,b = стандартни проби, съдържащи 0 и 1 % краве мляко; c-g = проби сирене, съдържащи 0, 1, 2, 3 и 7 % краве мляко. C = краве, E = овче, G = козе.

Сканирана е горната половина от гела IEF при $\lambda = 634 \text{ nm}$.

ПРИЛОЖЕНИЕ IX

Оценка на анализите**1. Осигуряване на качеството**

Анализите се извършват от лаборатории, определени в съответствие с член 12 от Регламент (ЕО) № 882/2004 (**), или определени от компетентните органи на държавата членка.

2. Вземане на проби и оспорвания на резултатите от анализите

1. Вземането на проби трябва да се извършва съгласно съответната правна уредба за разглеждания продукт. Ако не са изрично предвидени разпоредби относно вземането на проби, се прилагат разпоредбите, определени в стандарта ISO 707 — Мляко и млечни продукти. Указания за вземане на проби.
2. Лабораторните отчети за резултатите от анализа трябва да съдържат достатъчно информация, за да може да се извърши оценка на резултатите в съответствие с допълнението.
3. За анализите, които се изискват съгласно правилата на Съюза, трябва да бъдат вземани двойни проби.
4. Ако възникне спор във връзка с резултатите, разплащателната агенция трябва да изисква необходимият анализ на съответния продукт да бъде проведен отново, като разходите се поемат от губещата страна.

Горепосоченият анализ се извършва, при условие че са налични запечатани дублиращи проби от продукта, които се съхраняват по подходящ начин от компетентния орган. В рамките на 7 работни дни от съобщаването на резултатите от първия анализ производителят изпраща искане до разплащателната агенция за извършване на анализ. Разплащателната агенция извършва анализа в рамките на 21 работни дни след получаване на искането.

5. Резултатът от повторния анализ е окончателен.
 6. Ако производителят може да докаже в рамките на пет работни дни от вземането на пробата, че процедурата по вземането на пробата не е извършена коректно, вземането на пробата трябва да бъде повторено, когато това е възможно. Ако вземането на пробата не може да бъде повторено, партидата трябва да бъде приета.
-

Допълнение

Оценка на съответствието на дадена партида със законно установените гранични стойности**1. Принцип**

В случаите, в които законодателството относно публичната интервенция и помощта за частно складиране предвижда подробни процедури за вземане на проби, се следват тези процедури. Във всички останали случаи се използва проба от най-малко три единични проби, взети на случаен принцип от партидата, подлежаща на контрол. Възможно е подготвянето на съставна проба. Полученият резултат се сравнява със законно установените гранични стойности чрез изчисляване на 95 % доверителен интервал като 2 x стандартно отклонение, където съответното стандартно отклонение зависи от това дали: 1. методът е валидиран посредством международно сътрудничество със стойности за σ_r и σ_R , или 2. в случай на вътрешно валидиране, е била изчислена вътрешната възпроизводимост. Този доверителен интервал в такъв случай ще се равнява на неопределеността на резултата при измерването.

2. Методът е валидиран посредством международно сътрудничество

В такъв случай стандартното отклонение на повторемостта σ_r и стандартното отклонение на възпроизводимостта σ_R са установени и лабораторията може да докаже, че се спазват работните характеристики на валидирания метод.

Изчислява се средноаритметичната стойност \bar{x} на n пъти повторените измервания.

Изчислява се разширената неопределеност ($k = 2$) за \bar{x} с формулата

$$U = 2 \sqrt{\sigma_R^2 - \frac{n-1}{n} \sigma_r^2}$$

Ако крайният резултат x от измерването се изчислява с използването на формула от вида: $x = y_1 + y_2$, $x = y_1 - y_2$, $x = y_1 \cdot y_2$ или $x = y_1/y_2$, трябва да се спазват обичайните процедури за съчетаване на стандартни отклонения в подобни случаи.

Партидата се преценява като несъответстваща с горната законно установена гранична стойност UL, ако

$$\bar{x} - U > UL;$$

в противен случай се преценява като съответстваща на UL.

Партидата се преценява като несъответстваща с долната законно установена гранична стойност LL, ако

$$\bar{x} + U < LL;$$

в противен случай се преценява като съответстваща на LL.

3. Вътрешно валидиране с изчисляване на стандартното отклонение на вътрешната възпроизводимост

В случаите, когато се използват методи, непосочени в настоящия регламент, и не са били въведени измервания за точност, се извършва вътрешно валидиране. Във формулите за изчисляване на разширената неопределеност U се използват стандартното отклонение на вътрешната повторемост σ_{ir} и стандартното отклонение на вътрешната възпроизводимост σ_{ir} вместо съответно σ_r и σ_R .

Правилата, които трябва да се следват, за да се установи спазването на законно установените гранични стойности, са посочени в точка 1. Ако обаче партидата се прецени като несъответстваща със законно установената гранична стойност, измерванията се повтарят с метода, посочен в настоящия регламент, и резултатът се оценява съгласно точка 1.

(*) Продуктите Ampholine® pH 3,5—9,5 (Pharmacia), както и Resolyte® pH 5—7, съответно pH 6—8 (BDH, Merck), се оказват особено подходящи за получаване на исканото отделяне на γ -казеини.

(**) Регламент (ЕО) № 882/2004 г. на Европейския парламент и на Съвета от 29 април 2004 г. относно официалния контрол, провеждан с цел осигуряване на проверка на съответствието със законодателството в областта на фуражите и храните и правилата за опазване здравето на животните и хуманното отношение към животните (ОВ L 165, 30.4.2004 г., стр. 1).“

РЕГЛАМЕНТ ЗА ИЗПЪЛНЕНИЕ (ЕС) 2018/151 НА КОМИСИЯТА**от 30 януари 2018 година**

за определяне на правила за прилагане на Директива (ЕС) 2016/1148 на Европейския парламент и на Съвета по отношение на допълнителното уточняване на елементите, които трябва да се вземат предвид от доставчиците на цифрови услуги при управлението на рисковете за сигурността на мрежите и информационните системи, както и на показателите за определяне на това дали даден инцидент има съществено въздействие

ЕВРОПЕЙСКАТА КОМИСИЯ,

като взе предвид Договора за функционирането на Европейския съюз,

като все предвид Директива (ЕС) 2016/1148 на Европейския парламент и на Съвета от 6 юли 2016 г. относно мерки за високо общо ниво на сигурност на мрежите и информационните системи в Съюза ⁽¹⁾, и по-специално член 16, параграф 8 от нея,

като има предвид, че:

- (1) В съответствие с Директива (ЕС) 2016/1148 доставчиците на цифрови услуги са свободни да предприемат технически и организационни мерки, които според тях са подходящи и пропорционални, за управление на риска за сигурността на техните мрежи и информационни системи, доколкото тези мерки осигуряват подходящо ниво на сигурност, като при това се отчитат предвидените в посочената директива елементи.
- (2) При определянето на подходящи и пропорционални технически и организационни мерки съответният доставчик на цифрови услуги следва да приложи систематичен и основан на риска подход към проблема за информационната сигурност.
- (3) С цел да се гарантира сигурността на системите и съоръженията доставчиците на цифрови услуги следва да въведат процедури за оценка и анализ. Тези дейности следва да се отнасят до систематичното управление на мрежите и информационните системи, физическата сигурност и сигурността на средата, сигурността на доставките и контрола на достъпа.
- (4) При анализа на риска в рамките на системното управление на мрежите и информационните системи доставчиците на цифрови услуги следва да бъдат насърчавани да установяват специфичните рискове и да изразяват количествено тяхното значение, например като определят заплахите за активите от първостепенно значение и начина, по който те могат да засегнат операциите, както и най-добрия начин за ограничаване на тези заплахи въз основа на съществуващите възможности и необходимите ресурси.
- (5) Политиките относно човешките ресурси биха могли да бъдат насочени към управлението на различни умения, включително аспекти, свързани с развитието на умения във връзка със сигурността, и към повишаването на осведомеността. При вземането на решение за подходящ набор от политики относно сигурността на операциите доставчиците на цифрови услуги следва да бъдат насърчавани да вземат под внимание аспектите, свързани с управлението на промените и на уязвимостта, формализирането на оперативните и административните практики и картографиране на системите.
- (6) Политиките относно архитектурата за сигурност биха могли да включват по-специално разделяне на мрежите и системите, както и специфични мерки за сигурност за особено важни операции, като например административните операции. Разделянето на мрежите и системите би могло да даде възможност на даден доставчик на цифрови услуги да разграничи един от друг различни елементи, като например потоци от данни и изчислителни ресурси, които принадлежат на клиент, група от клиенти, доставчика на цифрови услуги или трети страни.
- (7) Предприетите мерки по отношение на физическата сигурност и сигурността на средата следва да предпазват мрежите и информационните системи на съответната организация от вреди, причинени от различни инциденти, като например кражба, пожар, наводнение или други метеорологични явления, както и телекомуникационни повреди или прекъсвания на електрозахранването.
- (8) Сигурността на доставките, като например на електричество, гориво или енергия за охлаждане, би могла да обхваща сигурността на веригата на доставките, което включва по-специално сигурността на изпълнителите и подизпълнителите — трети страни, както и тяхното управление. Проследимостта на доставките от първостепенно значение се отнася до способността на доставчика на цифрови услуги да установи и документира източниците на тези доставки.
- (9) Ползвателите на цифрови услуги следва да обхващат физическите и юридическите лица, които са клиенти или абонати на онлайн място за търговия или компютърна услуга „в облак“, или посещават уебсайт на онлайн търсачка, за да извършат търсене по ключови думи.

⁽¹⁾ OBL 194, 19.7.2016 г., стр. 1.

- (10) При определянето на това доколко съществено е въздействието на даден инцидент, предвидените в настоящия регламент случаи следва да се разглеждат като неизчерпателен списък на съществени инциденти. Трябва да се извлекат поуки от изпълнението на настоящия регламент и от работата на групата за сътрудничество по отношение на събирането на информация за най-добри практики относно рисковете и инцидентите и на обсъжданията на правилата за докладване на уведомленията за инциденти, както е посочено в член 11, параграф 3, букви и) и м) от Директива (ЕС) 2016/1148. В резултат е възможно да бъдат изготвени подробни насоки относно количествените прагове на показателите за уведомяване, които могат да задействат задължението на доставчиците на цифрови услуги за уведомяване в съответствие с член 16, параграф 3 от Директива (ЕС) 2016/1148. Когато е целесъобразно, Комисията може също така да реши да преразгледа актуалните прагове, установени в настоящия регламент.
- (11) С цел да се даде възможност на компетентните органи да бъдат информирани за потенциални нови рискове, доставчиците на цифрови услуги следва да бъдат насърчавани доброволно да докладват за всички инциденти, чиито характеристики са им били неизвестни преди това, като например нови методи за проникване, вектори на атака, източник на заплахата, уязвими места и опасности.
- (12) Настоящият регламент следва да се прилага от деня, следващ изтичането на крайния срок за транспониране на Директива (ЕС) 2016/1148.
- (13) Мерките, предвидени в настоящия регламент, са в съответствие със становището на Комитета по сигурност на мрежите и информационните системи, посочен в член 22 от Директива (ЕС) 2016/1148,

ПРИЕ НАСТОЯЩИЯ РЕГЛАМЕНТ:

Член 1

Предмет

С настоящия регламент допълнително се уточняват елементите, които трябва да се вземат предвид от доставчиците на цифрови услуги при определянето и предприемането на мерки за гарантиране на определено ниво на сигурност на мрежите и информационните системи, които те използват при предоставянето на услугите, посочени в приложение III към Директива (ЕС) 2016/1148, както и показателите, които трябва да се вземат предвид, за да се определи дали даден инцидент има съществено въздействие върху предоставянето на тези услуги.

Член 2

Елементи, свързани със сигурността

1. Сигурността на системите и съоръженията по член 16, параграф 1, буква а) от Директива (ЕС) 2016/1148 означава сигурността на мрежите и информационните системи и на тяхната физическа среда и включва следните елементи:
 - а) систематично управление на мрежите и информационните системи, което означава картографиране на информационните системи и създаването на набор от подходящи политики относно управлението на информационната сигурност, включително анализ на риска, човешки ресурси, сигурност на операциите, архитектура за сигурност, управление на жизнения цикъл на защитени данни и системи и когато е приложимо — криптиране и неговото управление;
 - б) физическа сигурност и сигурност на средата, което означава наличието на набор от мерки за защита на мрежите и информационните системи на доставчиците на цифрови услуги от вреди, като се използва основан на риска подход, обхващащ всякакви видове опасности, в т.ч. повреда в системата, човешка грешка, злонамерени действия или природни явления;
 - в) сигурност на доставките, което означава създаване и поддържане на подходящи политики, с цел да се гарантира достъпността и когато е приложимо — проследимостта на доставки от първостепенно значение за предоставянето на услугите;
 - г) контрол на достъпа до мрежите и информационните системи, което означава наличие на набор от мерки, които гарантират, че физическият и логическият достъп до мрежите и информационните системи, включително административната сигурност на мрежите и информационните системи, са предмет на разрешение и са ограничени въз основа на стопанските изисквания и изискванията по отношение на сигурността.
2. Относно действията при инциденти по член 16, параграф 1, буква б) от Директива (ЕС) 2016/1148 предприетите от съответния доставчик на цифрови услуги мерки трябва да включват:
 - а) процеси и процедури за откриване, които се поддържат и проверяват, за да се гарантира навременна и подходяща осведоменост за необичайни събития;
 - б) процеси и политики относно докладването на инциденти и разкриването на слабости и уязвими места в неговите информационни системи;

- в) реагиране в съответствие с установените процедури и докладване на резултатите от предприетите мерки;
- г) оценка на сериозността на инцидента, документиране на наученото от анализа на инцидента и събиране на необходимата информация, която може да послужи като доказателство и да подкрепя процеса на непрекъснато подобряване.
3. Управлението на непрекъснатостта на дейностите по член 16, параграф 1, буква в) от Директива (ЕС) 2016/1148 означава способността на дадена организация да запази или при необходимост да възстанови предоставянето на услуги на приемливи, предварително зададени нива след водещ до смущения инцидент и трябва да включва:
- а) изготвяне и използване на планове за действие при извънредни ситуации въз основа на анализ на въздействието върху стопанската дейност, за да се гарантира непрекъснатост на услугите, предоставяни от доставчиците на цифрови услуги; плановете се оценяват и проверяват редовно, например чрез провеждане на учения;
- б) способности за възстановяване след бедствия, които се оценяват и проверяват редовно, например чрез провеждане на учения.
4. Наблюдението, одитът и изпитването по член 16, параграф 1, буква г) от Директива (ЕС) 2016/1148 трябва да включват създаването и поддържането на политики относно:
- а) провеждането на планирана поредица от наблюдения или измервания за преценка дали мрежите и информационните системи работят според предназначението си;
- б) инспектиране и контрол за проверка на изпълнението на изискванията по даден стандарт или набор от насоки, точността на записите и постигането на целите за ефикасността и ефективността;
- в) процес, предназначен да разкрива недостатъците в механизмите за сигурност на дадена мрежа и информационна система, които защитават данните и поддържат предвидената функционалност. Този процес трябва да включва техническите процеси и персонала, които имат отношение към експлоатационния поток.
5. Международните стандарти по член 16, параграф 1, буква д) от Директива (ЕС) 2016/1148 означават стандарти, които са приети от международен орган по стандартизация, както е посочено в член 2, параграф 1, буква а) от Регламент (ЕС) № 1025/2012 на Европейския парламент и на Съвета ⁽¹⁾. В съответствие с член 19 от Директива (ЕС) 2016/1148 могат да се използват и европейски или международно приети стандарти и спецификации от значение за сигурността на мрежите и информационните системи, включително съществуващи национални стандарти.
6. Доставчиците на цифрови услуги гарантират, че разполагат с подходяща документация, позволяваща на компетентния орган да провери спазването на посочените в параграфи 1, 2, 3, 4 и 5 елементи, свързани със сигурността.

Член 3

Показатели, които трябва да се вземат предвид, за да се определи дали въздействието на даден инцидент е съществено

1. Относно броя ползватели, засегнати от даден инцидент, и по-специално ползвателите, които разчитат на съответната услуга за предоставяне на собствените си услуги, както е посочено в член 16, параграф 4, буква а) от Директива (ЕС) 2016/1148, съответният доставчик на цифрови услуги трябва да бъде в състояние да изготви оценка за една от следните стойности:
- а) броят на засегнатите физически и юридически лица, с които е сключен договор за предоставяне на услугата; или
- б) броят на засегнатите ползватели, използвали услугата, по-специално въз основа на данни за предишен трафик.
2. Продължителността на даден инцидент по член 16, параграф 4, буква б) означава периодът от момента на прекъсване на нормалното предоставяне на съответната услуга, що се отнася до наличието, истинността, целостта или поверителността, до момента на възстановяване на предоставянето на услугата.
3. Относно географския обхват по отношение на областта, засегната от даден инцидент, по член 16, параграф 4, буква в) от Директива (ЕС) 2016/1148 съответният доставчик на цифрови услуги трябва да бъде в състояние да определи дали инцидентът засяга предоставянето на неговите услуги в конкретни държави членки.
4. Степента на нарушаване на функционирането на съответната услуга по член 16, параграф 4, буква г) от Директива (ЕС) 2016/1148 се измерва по отношение на една или повече от следните влошени от инцидента характеристики: наличие, истинност, цялост или поверителност на данните или свързаните с тях услуги.

⁽¹⁾ Регламент (ЕС) № 1025/2012 на Европейския парламент и на Съвета от 25 октомври 2012 г. относно европейската стандартизация, за изменение на директиви 89/686/ЕИО и 93/15/ЕИО на Съвета и на директиви 94/9/ЕО, 94/25/ЕО, 95/16/ЕО, 97/23/ЕО, 98/34/ЕО, 2004/22/ЕО, 2007/23/ЕО, 2009/23/ЕО и 2009/105/ЕО на Европейския парламент и на Съвета и за отмяна на Решение 87/95/ЕИО на Съвета и на Решение № 1673/2006/ЕО на Европейския парламент и на Съвета (ОВ L 316, 14.11.2012 г., стр. 12).

5. Относно степента на въздействие върху стопанските и обществени дейности по член 16, параграф 4, буква д) от Директива (ЕС) 2016/1148 съответният доставчик на цифрови услуги трябва да бъде в състояние да формира заключение въз основа на различни показатели, като например естеството на договорните му отношения с клиента или, когато е уместно, потенциалния брой засегнати ползватели, дали инцидентът е причинил значителни материални или нематериални щети за ползвателите, като например във връзка със здравето, безопасността или имуществени вреди.

6. За целите на параграфи 1, 2, 3, 4 и 5 от доставчиците на цифрови услуги не се изисква да събират допълнителна информация, до която те нямат достъп.

Член 4

Съществено въздействие на даден инцидент

1. Счита се, че даден инцидент има съществено въздействие, когато е изпълнено поне едно от следните условия:

- а) услугата, предоставяна от даден доставчик на цифрови услуги, не е била налична за повече от 5 000 000 ползвателски часа, при което понятието „ползвателски час“ означава броят на засегнатите ползватели в Съюза в продължение на шестдесет минути;
- б) инцидентът се е отразил неблагоприятно на целостта, истинността и поверителността на съхранявани, предавани или обработвани данни или на свързаните с тях услуги, предлагани от даден доставчик на цифрови услуги или достъпни посредством негова мрежа и информационна система, като са засегнати повече от 100 000 ползватели в Съюза;
- в) инцидентът е породил риск за обществената безопасност и обществената сигурност или е застрашил човешки живот;
- г) инцидентът е причинил материални щети на поне един ползвател в Съюза, като причинените на този ползвател щети надвишават 1 000 000 евро.

2. Като се основава на най-добрите практики, събрани от групата за сътрудничество при изпълнението на нейните задачи по член 11, параграф 3 от Директива (ЕС) 2016/1148, и на обсъжданията по член 11, параграф 3, буква м) от посочената директива, Комисията може да преразглежда определените в параграф 1 прагове.

Член 5

Влизане в сила

1. Настоящият регламент влиза в сила на двадесетия ден след деня на публикуването му в *Официален вестник на Европейския съюз*.
2. Той се прилага от 10 май 2018 г.

Настоящият регламент е задължителен в своята цялост и се прилага пряко във всички държави членки.

Съставено в Брюксел на 30 януари 2018 година.

За Комисията
Председател
Jean-Claude JUNCKER

РЕШЕНИЯ

РЕШЕНИЕ (ЕС) 2018/152 НА СЪВЕТА

от 29 януари 2018 година

за назначаване на заместник-член, предложен от Федерална република Германия, в Комитета на регионите

СЪВЕТЪТ НА ЕВРОПЕЙСКИЯ СЪЮЗ,

като взе предвид Договора за функционирането на Европейския съюз, и по-специално член 305 от него,

като взе предвид предложението на правителството на Германия,

като има предвид, че:

- (1) На 26 януари 2015 г., 5 февруари 2015 г. и 23 юни 2015 г. Съветът прие решения (ЕС) 2015/116 ⁽¹⁾, (ЕС) 2015/190 ⁽²⁾ и (ЕС) 2015/994 ⁽³⁾ за назначаване на членовете и заместник-членовете на Комитета на регионите за периода от 26 януари 2015 г. до 25 януари 2020 г.
- (2) След изтичането на мандата на г-жа Анке SPOORENDONK се освободи едно място за заместник-член на Комитета на регионите,

ПРИЕ НАСТОЯЩОТО РЕШЕНИЕ:

Член 1

За заместник-член в Комитета на регионите за остатъка от мандата, а именно до 25 януари 2020 г., се назначава:

— г-жа Sabine SÜTTERLIN-WAACK, *Ministerin für Justiz, Europa, Verbraucherschutz und Gleichstellung des Landes Schleswig-Holstein.*

Член 2

Настоящото решение влиза в сила в деня на приемането му.

Съставено в Брюксел на 29 януари 2018 година.

За Съвета
Председател
Р. ПОРОЖАНОВ

⁽¹⁾ Решение (ЕС) 2015/116 на Съвета от 26 януари 2015 г. за назначаване на членовете и заместник-членовете на Комитета на регионите за периода от 26 януари 2015 г. до 25 януари 2020 г. (ОВ L 20, 27.1.2015 г., стр. 42).

⁽²⁾ Решение (ЕС) 2015/190 на Съвета от 5 февруари 2015 г. за назначаване на членовете и заместник-членовете на Комитета на регионите за периода от 26 януари 2015 г. до 25 януари 2020 г. (ОВ L 31, 7.2.2015 г., стр. 25).

⁽³⁾ Решение (ЕС) 2015/994 на Съвета от 23 юни 2015 г. за назначаване на членовете и заместник-членовете на Комитета на регионите за периода от 26 януари 2015 г. до 25 януари 2020 г. (ОВ L 159, 25.6.2015 г., стр. 70).

ПОПРАВКИ

Поправка на Регламент (ЕС) 2017/1084 на Комисията от 14 юни 2017 г. за изменение на Регламент (ЕС) № 651/2014 по отношение на помощите за пристанищните и летищните инфраструктури, праговете за уведомяване за помощи за култура и опазване на културното наследство и помощи за спортни и мултифункционални инфраструктури за отдих, както и относно схемите за регионална оперативна помощ за най-отдалечените региони и за изменение на Регламент (ЕС) № 702/2014 по отношение на изчисляването на допустимите разходи

(Официален вестник на Европейския съюз L 156 от 20 юни 2017 г.)

В член 1, точка 11 въвеждащото изречение на параграф 4 от заменения член 15

вместо: „В най-отдалечените региони схемите за оперативна помощ трябва да компенсират допълнителните оперативни разходи, възникнали в тези региони като пряко следствие от едно или няколко от постоянните неблагоприятни условия, посочени в член 349 от Договора, когато стопанската дейност на бенефициерите се намира в най-отдалечен регион и при условие че годишният размер на помощта за бенефициер по всички схеми за оперативна помощ, изпълнени по силата на настоящия регламент, не превишава нито един от следните проценти:“

да се четат: „В най-отдалечените региони схемите за оперативна помощ трябва да компенсират допълнителните оперативни разходи, възникнали в тези региони като пряко следствие от едно или няколко от постоянните неблагоприятни условия, посочени в член 349 от Договора, когато стопанската дейност на бенефициерите се намира в най-отдалечен регион и при условие че годишният размер на помощта за бенефициер по всички схеми за оперативна помощ, изпълнени по силата на настоящия регламент, не превишава един от следните проценти:“

ISSN 1977-0618 (електронно издание)
ISSN 1830-3617 (печатно издание)



Служба за публикации на Европейския съюз
2985 Люксембург
ЛЮКСЕМБУРГ

BG