



Dansk udgave

Retsforskrifter

61. årgang

31. januar 2018

Indhold

## II Ikke-lovgivningsmæssige retsakter

### INTERNATIONALE AFTALER

- ★ Rådets afgørelse (EU) 2018/145 af 9. oktober 2017 om indgåelse på Unionens vegne af den multilaterale aftale mellem Det Europæiske Fællesskab og dets medlemsstater, Republiken Albanien, Bosnien-Hercegovina, Republiken Bulgarien, Republiken Kroatien, Den Tidligere Jugoslaviske Republik Makedonien, Republiken Island, Republiken Montenegro, Kongeriget Norge, Rumænien, Republiken Serbien og De Forenede Nationers midlertidige administrative mission i Kosovo\* om oprettelse af et fælles europæisk luftfartsområde (FELO) ..... 1
- ★ Rådets afgørelse (EU) 2018/146 af 22. januar 2018 om indgåelse på Unionens vegne af Euro-Middelhavs-aftalen om luftfart mellem Det Europæiske Fællesskab og dets medlemsstater på den ene side og Kongeriget Marokko på den anden ..... 4

### FORORDNINGER

- ★ Rådets forordning (EU) 2018/147 af 29. januar 2018 om ændring af forordning (EU) nr. 1370/2013, for så vidt angår den kvantitative begrænsning for opkøb af skummetmælkspulver ..... 6
- ★ Kommissionens delegerede forordning (EU) 2018/148 af 27. september 2017 om ændring af bilag II, III og IV til Europa-Parlamentets og Rådets forordning (EU) nr. 978/2012 om anvendelse af et arrangement med generelle toldpræferencer ..... 8
- ★ Kommissionens delegerede forordning (EU) 2018/149 af 15. november 2017 om ændring af delegeret forordning (EU) 2016/1238 for så vidt angår krav til sammensætning og kvalitets-egenskaber for mælk og mejeriprodukter, der er berettiget til offentlig intervention og støtte til privat oplagring ..... 11

\* Denne betegnelse indebærer ingen stillingtagen til Kosovos status, og den er i overensstemmelse med FN's Sikkerhedsråds resolution 1244 (1999) og Den Internationale Domstols udtalelse om Kosovos uafhængighedserklæring.

DA

De akter, hvis titel er trykt med magre typer, er løbende retsakter inden for landbrugspolitikken og har normalt en begrænset gyldighedsperiode.

Titlen på alle øvrige akter er trykt med fede typer efter en asterisk.

- ★ Kommissionens gennemførelsesforordning (EU) 2018/150 af 30. januar 2018 om ændring af gennemførelsesforordning (EU) 2016/1240 for så vidt angår metoder til analyse og kvalitetsvurdering af mælk og mejeriprodukter, der er berettiget til offentlig intervention og støtte til privat oplagring ..... 14
- ★ Kommissionens gennemførelsesforordning (EU) 2018/151 af 30. januar 2018 om regler for anvendelsen af Europa-Parlamentets og Rådets direktiv (EU) 2016/1148 for så vidt angår yderligere specifikation af de elementer, som udbydere af digitale tjenester skal tage i betragtning for at styre risiciene i forhold til sikkerheden i net- og informationssystemer, og af kriterierne for bestemmelse af, om en hændelses konsekvenser er betydelige ..... 48

#### AFGØRELSER

- ★ Rådets afgørelse (EU) 2018/152 af 29. januar 2018 om beskikkelse af en suppleant til Regionsudvalget efter indstilling fra Forbundsrepublikken Tyskland ..... 52

#### Berigtigelser

- ★ Berigtigelse til Kommissionens forordning (EU) 2017/1084 af 14. juni 2017 om ændring af forordning (EU) nr. 651/2014 for så vidt angår støtte til havne- og lufthavnsinfrastruktur, anmeldelsestærskler for støtte til kultur og bevarelse af kulturarv samt støtte til sportsinfrastruktur og multifunktionel infrastruktur til rekreative aktiviteter samt regionale driftsstøtteordninger for regionerne i den yderste periferi og om ændring af forordning (EU) nr. 702/2014 for så vidt angår beregning af støtteberettigede omkostninger (EUT L 156 af 20.6.2017) ..... 53

## II

(Ikke-lovgivningsmæssige retsakter)

## INTERNATIONALE AFTALER

## RÅDETS AFGØRELSE (EU) 2018/145

af 9. oktober 2017

**om indgåelse på Unionens vegne af den multilaterale aftale mellem Det Europæiske Fællesskab og dets medlemsstater, Republiken Albanien, Bosnien-Hercegovina, Republiken Bulgarien, Republiken Kroatien, Den Tidligere Jugoslaviske Republik Makedonien, Republiken Island, Republiken Montenegro, Kongeriget Norge, Rumænien, Republiken Serbien og De Forenede Nationers midlertidige administrative mission i Kosovo \* om oprettelse af et fælles europæisk luftfartsområde (FELO)**

RÅDET FOR DEN EUROPÆISKE UNION HAR —

under henvisning til traktaten om Den Europæiske Unions funktionsmåde, særlig artikel 100, stk. 2, sammenholdt med artikel 218, stk. 6, litra a),

under henvisning til forslag fra Europa-Kommissionen,

under henvisning til godkendelse fra Europa-Parlamentet <sup>(1)</sup>, og

ud fra følgende betragtninger:

- (1) Kommissionen har på Det Europæiske Fællesskabs og medlemsstaternes vegne ført forhandlinger om en multilateral aftale mellem Det Europæiske Fællesskab og dets medlemsstater, Republiken Albanien, Bosnien-Hercegovina, Republiken Bulgarien, Republiken Kroatien, Den Tidligere Jugoslaviske Republik Makedonien, Republiken Island, Republiken Montenegro, Kongeriget Norge, Rumænien, Republiken Serbien og De Forenede Nationers midlertidige administrative mission i Kosovo om oprettelse af et fælles europæisk luftfartsområde (FELO) («aftalen»).
- (2) Aftalen blev undertegnet på Fællesskabets vegne den 9. juni 2006 med forbehold af senere indgåelse i medfør af afgørelse 2006/682/EF truffet af Rådet og repræsentanterne for Den Europæiske Unions medlemsstater, forsamlet i Rådet <sup>(2)</sup>.
- (3) Aftalen er blevet ratificeret af alle medlemsstater.
- (4) Efter deres tiltrædelse af Unionen er Republiken Bulgarien, Rumænien og Republiken Kroatien blevet medlemsstater og ophørte dermed automatisk med at være associerede parter i henhold til aftalen, jf. aftalens artikel 31, stk. 2. Der bør mindes om dette i en meddelelse, der skal gives på tidspunktet for deponeringen af godkendelsesakten for aftalen.

\* Denne betegnelse indebærer ingen stillingtagen til Kosovos status, og den er i overensstemmelse med FN's Sikkerhedsråds resolution 1244 (1999) og Den Internationale Domstols udtalelse om Kosovos uafhængighedserklæring.

<sup>(1)</sup> EUT C 81 E af 15.3.2011, s. 5.

<sup>(2)</sup> Rådets og repræsentanterne for Den Europæiske Unions medlemsstaters afgørelse 2006/682/EF, forsamlet i Rådet den 9. juni 2006 om undertegnelse og midlertidig anvendelse af den multilaterale aftale mellem Det Europæiske Fællesskab og dets medlemsstater, Republiken Albanien, Bosnien-Hercegovina, Republiken Bulgarien, Republiken Kroatien, Den Tidligere Jugoslaviske Republik Makedonien, Republiken Island, Republiken Montenegro, Kongeriget Norge, Rumænien, Republiken Serbien og De Forenede Nationers midlertidige administrative mission i Kosovo om oprettelse af et fælles europæisk luftfartsområde (FELO) (EUT L 285 af 16.10.2006, s. 1).

- (5) Med hensyn til de ændringer af bilag I til aftalen, som alene vedrører opførelsen af EU-retsakter i nævnte bilag, og som skal vedtages af Det Blandede Udvalg, der nedsættes i henhold til artikel 18 i aftalen, bør beføjelsen til at godkende sådanne ændringer på Unionens vegne tillægges Kommissionen efter høring af et særligt udvalg, der er nedsat af Rådet.
- (6) I alle andre tilfælde bør den holdning, der på Unionens vegne skal indtages i Det Blandede Udvalg for så vidt angår spørgsmål, der hører under Unionens kompetence, fastlægges fra sag til sag i overensstemmelse med de relevante bestemmelser i traktaten om Den Europæiske Unions funktionsmåde (TEUF).
- (7) Da både Unionen og medlemsstaterne er part i aftalen, er et tæt samarbejde mellem dem afgørende. Med henblik på at sikre et sådant tæt samarbejde og enhed i Det Blandede Udvalgs optræden udadtil, og uden at dette berører traktaterne, særlig artikel 16, stk. 1, i traktaten om Den Europæiske Union og artikel 218, stk. 9, i TEUF, bør der ske en samordning af de holdninger, der skal indtages i Det Blandede Udvalg på Unionens og medlemsstaternes vegne for så vidt angår spørgsmål, der hører under både Unionens og medlemsstaternes kompetence, forud for ethvert møde i Det Blandede Udvalg om sådanne spørgsmål.
- (8) Artikel 2 i afgørelse 2006/682/EF indeholder bestemmelser om fastlæggelsen af, hvilke holdninger der skal indtages i Det Blandede Udvalg under den midlertidige anvendelse af aftalen. I lyset af Domstolens dom af 28. april 2015 i sag C-28/12, Kommissionen mod Rådet <sup>(1)</sup>, bør disse bestemmelser ophøre med at finde anvendelse på datoen for denne afgørelses ikrafttræden
- (9) Aftalen bør godkendes —

VEDTAGET DENNE AFGØRELSE:

#### Artikel 1

1. Den multilaterale aftale mellem Det Europæiske Fællesskab og dets medlemsstater, Republikken Albanien, Bosnien-Hercegovina, Republikken Bulgarien, Republikken Kroatien, Den Tidligere Jugoslaviske Republik Makedonien, Republikken Island, Republikken Montenegro, Kongeriget Norge, Rumænien, Republikken Serbien og De Forenede Nationers midlertidige administrative mission i Kosovo om oprettelse af et fælles europæisk luftfartsområde (FELO) godkendes herved på Unionens vegne <sup>(2)</sup>.

2. Formanden for Rådet udpeger den eller de personer, der er beføjet til på Unionens vegne at foranstalte deponering af den godkendelsesakt, der er omhandlet i aftalens artikel 29, stk. 2 <sup>(3)</sup>, og meddeler følgende:

»1. Som følge af Lissabontraktatens ikrafttræden den 1. december 2009 er Den Europæiske Union trådt i stedet for og har efterfulgt Det Europæiske Fællesskab og udøver fra nævnte dato alle Det Europæiske Fællesskabs rettigheder og påtager sig alle dets forpligtelser. Henvvisninger i aftalen til »Det Europæiske Fællesskab« gælder derfor i givet fald som henvvisninger til »Den Europæiske Union«.

2. Efter deres tiltrædelse af Den Europæiske Union er Republikken Bulgarien, Rumænien og Republikken Kroatien blevet medlemsstater i Den Europæiske Union og er derfor i overensstemmelse med aftalens artikel 31, stk. 2, ophørt med at være associerede parter i henhold til aftalen.«

#### Artikel 2

Unionens holdning til afgørelser, der skal træffes af Det Blandede Udvalg, jf. aftalens artikel 17, og som alene vedrører opførelsen af EU-retsakter i aftalens bilag I med forbehold for eventuelle nødvendige tilpasninger, vedtages af Kommissionen efter høring af et særligt udvalg nedsat af Rådet.

#### Artikel 3

Artikel 2 i afgørelse 2006/682/EF ophører med at finde anvendelse på datoen for denne afgørelses ikrafttræden.

<sup>(1)</sup> ECLI:EU:C:2015:282.

<sup>(2)</sup> Aftalen er offentliggjort i *Den Europæiske Unions Tidende* (EUT L 285 af 16.10.2006, s. 3) sammen med afgørelsen om undertegnelse og midlertidig anvendelse.

<sup>(3)</sup> Datoen for aftalens ikrafttræden offentliggøres i *Den Europæiske Unions Tidende* på foranledning af Generalsekretariatet for Rådet.

---

*Artikel 4*

Denne afgørelse træder i kraft på dagen for vedtagelsen.

Udfærdiget i Luxembourg, den 9. oktober 2017.

*På Rådets vegne*  
S. KIISLER  
*Formand*

---

**RÅDETS AFGØRELSE (EU) 2018/146****af 22. januar 2018****om indgåelse på Unionens vegne af Euro-Middelhavs-aftalen om luftfart mellem Det Europæiske Fællesskab og dets medlemsstater på den ene side og Kongeriget Marokko på den anden**

RÅDET FOR DEN EUROPÆISKE UNION HAR —

under henvisning til traktaten om Den Europæiske Unions funktionsmåde, særlig artikel 100, stk. 2, sammenholdt med artikel 218, stk. 6, litra a),

under henvisning til forslag fra Europa-Kommissionen,

under henvisning til godkendelse fra Europa-Parlamentet <sup>(1)</sup>, og

ud fra følgende betragtninger:

- (1) Kommissionen har på Unionens og dens medlemsstaters vegne ført forhandlinger om en Euro-Middelhavs-aftale om luftfart med Kongeriget Marokko (»aftalen«) i overensstemmelse med Rådets afgørelse om at bemyndige Kommissionen til at indlede forhandlinger.
- (2) Aftalen blev undertegnet den 12. december 2006 i medfør af afgørelse 2006/959/EF truffet af Rådet og repræsentanterne for medlemsstaternes regeringer, forsamlet i Rådet <sup>(2)</sup>. Aftalen er blevet ratificeret af alle medlemsstater med undtagelse af Bulgarien, Rumænien og Kroatien. Det er hensigten, at sidstnævnte medlemsstater tiltræder aftalen i overensstemmelse med artikel 6, stk. 2, i deres respektive tiltrædelsesakter.
- (3) Med hensyn til de ændringer af visse bilag til aftalen, som skal vedtages af det fælles udvalg, der nedsættes i henhold til artikel 22 i aftalen, bør beføjelsen til at godkende sådanne ændringer på Unionens vegne tillægges Kommissionen efter høring af det særlige udvalg, der er nedsat af Rådet.
- (4) I andre tilfælde bør de holdninger, der på Unionens vegne skal indtages i det fælles udvalg for så vidt angår spørgsmål, der henhører under Unionens kompetence, fastlægges fra sag til sag i overensstemmelse med de relevante bestemmelser i traktaten om Den Europæiske Unions funktionsmåde (»TEUF«).
- (5) Da både Unionen og medlemsstaterne sammen er parter i aftalen, er et tæt samarbejde mellem dem afgørende. Med henblik på at sikre tæt samarbejde og enhed i det fælles udvalgs optræden udadtil, og uden at dette berører traktaterne, særlig artikel 16, stk. 1, i traktaten om Den Europæiske Union og artikel 218, stk. 9, i TEUF, bør der ske en samordning af de holdninger, der skal indtages i det fælles udvalg på Unionens og medlemsstaternes vegne for så vidt angår spørgsmål, der henhører under både Unionens og medlemsstaternes kompetence, forud for ethvert møde i det fælles udvalg om sådanne spørgsmål.
- (6) Artikel 2-5 i afgørelse 2006/959/EF indeholder bestemmelser om Rådets beslutningstagning med hensyn til forskellige anliggender, der er omfattet af aftalen, herunder fastlæggelse af, hvilke holdninger der skal indtages i det fælles udvalg, og om medlemsstaternes informationspligt under den midlertidige anvendelse af aftalen. Disse bestemmelser er enten ikke nødvendige eller anvendelsen heraf bør ophøre i lyset af Domstolens dom af 28. april 2015 i sag C-28/12, Kommissionen mod Rådet <sup>(3)</sup>. Det vil derfor være hensigtsmæssigt, at disse bestemmelser ophører med at finde anvendelse på datoen for denne afgørelses ikrafttræden.
- (7) Aftalen bør godkendes—

<sup>(1)</sup> EUT C 81E af 15.3.2011, s. 5.

<sup>(2)</sup> Afgørelse 2006/959/EF truffet af Rådet og repræsentanterne for medlemsstaternes regeringer, forsamlet i Rådet, den 4. december 2006 om undertegnelse og midlertidig anvendelse af Euro-Middelhavs-aftalen om luftfart mellem Det Europæiske Fællesskab og dets medlemsstater på den ene side og Kongeriget Marokko på den anden (EUT L 386 af 29.12.2006, s. 55).

<sup>(3)</sup> ECLI:EU:C:2015:282.

VEDTAGET DENNE AFGØRELSE:

#### Artikel 1

1. Euro-Middelhavs-aftalen om luftfart mellem Det Europæiske Fællesskab og dets medlemsstater på den ene side og Kongeriget Marokko på den anden godkendes herved på Unionens vegne <sup>(1)</sup>.
2. Formanden for Rådet bemyndiges herved til at udpege den eller de personer, der er beføjet til at overgive Kongeriget Marokko de diplomatiske noter, der er omhandlet i aftalens artikel 30 <sup>(2)</sup>, og afgive følgende meddelelse:

»Som følge af Lissabontraktatens ikrafttræden den 1. december 2009 er Den Europæiske Union trådt i stedet for og har efterfulgt Det Europæiske Fællesskab og udøver fra den nævnte dato alle Det Europæiske Fællesskabs rettigheder og påtager sig alle dets forpligtelser. Henvisninger i aftalen til »Det Europæiske Fællesskab« gælder i givet fald som henvisninger til »Den Europæiske Union«.

#### Artikel 2

Kommissionen fastlægger, efter høring af et særligt udvalg nedsat af Rådet, hvilken holdning Unionen skal indtage i det fælles udvalg, der er oprettet i medfør af aftalens artikel 22, for så vidt angår ændringer af andre af aftalens bilag end bilag I (Aftalte luftfartsforbindelser og fastlagte ruter) og bilag IV (Overgangsbestemmelser).

#### Artikel 3

Artikel 2-5 i afgørelse 2006/959/EF ophører med at finde anvendelse på datoen for denne afgørelses ikrafttræden.

#### Artikel 4

Denne afgørelse træder i kraft på dagen for vedtagelsen.

Udfærdiget i Bruxelles, den 22. januar 2018.

På Rådets vegne  
F. MOGHERINI  
Formand

---

<sup>(1)</sup> Aftalen er offentliggjort i *Den Europæiske Unions Tidende* (EUT L 386 af 29.12.2006, s. 57) sammen med afgørelsen om undertegnelse og midlertidig anvendelse.

<sup>(2)</sup> Datoen for aftalens ikrafttræden offentliggøres i *Den Europæiske Unions Tidende* på foranledning af Generalsekretariatet for Rådet.

# FORORDNINGER

## RÅDETS FORORDNING (EU) 2018/147

af 29. januar 2018

### om ændring af forordning (EU) nr. 1370/2013, for så vidt angår den kvantitative begrænsning for opkøb af skummetmælkspulver

RÅDET FOR DEN EUROPÆISKE UNION HAR —

under henvisning til traktaten om Den Europæiske Unions funktionsmåde, særlig artikel 43, stk. 3,

under henvisning til forslag fra Europa-Kommissionen, og

ud fra følgende betragtninger:

- (1) De offentlige interventionslagre af skummetmælkspulver i Unionen var ved udgangen af juli 2017 på 357 359 ton. Indtil afslutningen af interventionsperioden den 30. september 2017 blev der udbudt yderligere 22 710 ton opkøb til en fast pris.
- (2) Sektoren for mælk og mejeriprodukter oplever som følge af den store efterspørgsel efter smør en hidtil uset forskel mellem fedt- og proteinpriserne.
- (3) Det forventes, at mælkeleverancerne i Unionen stiger i 2018, hvorved produktionen af smør og skummetmælkspulver vil stige.
- (4) Den afregningspris for rå mælk, som vil blive betalt til landbrugerne i 2018, forventes at ligge på et niveau, der trods de relativt lave priser for mælkeprotein gør mælkeproduktion rentabel på grund af den nuværende store efterspørgsel efter smør og ost.
- (5) Sådanne markedslementer skaber en ekstraordinær situation for 2018, der specifikt skal tages hensyn til ved anvendelsen af den offentlige interventionsordning for mejeriprodukter.
- (6) I artikel 3 i Rådets forordning (EU) nr. 1370/2013<sup>(1)</sup> fastsættes der en kvantitativ begrænsning for opkøb af skummetmælkspulver til den faste pris, der er omhandlet i artikel 2 i nævnte forordning. Når den kvantitative begrænsning er nået, foretages opkøb gennem en udbudsprocedure for at fastsætte maksimumsopkøbsprisen.
- (7) For at undgå at skummetmælkspulver opkøbes til en fast pris i en situation, hvor det ikke er foreneligt med målene med sikkerhedsnettet, bør al offentlig intervention for skummetmælkspulver ske inden for rammerne af en udbudsprocedure. Med henblik herpå bør den kvantitative begrænsning for opkøb af skummetmælkspulver til en fast pris for 2018 fastsættes til nul.
- (8) Forordning (EU) nr. 1370/2013 bør derfor ændres.
- (9) For at sikre at den midlertidige foranstaltning i henhold til denne forordning har en umiddelbar virkning på markedet, og at markedsoperatørerne rettidigt kan informeres herom før begyndelsen af den efterfølgende interventionskampagne, bør denne forordning træde i kraft dagen efter offentliggørelsen —

<sup>(1)</sup> Rådets forordning (EU) nr. 1370/2013 af 16. december 2013 om foranstaltninger til fastsættelse af støtte og restitutioner i forbindelse med den fælles markedsordning for landbrugsprodukter (EUT L 346 af 20.12.2013, s. 12).



VEDTAGET DENNE FORORDNING:

*Artikel 1*

I artikel 3, stk. 1, i forordning (EU) nr. 1370/2013 tilføjes følgende afsnit:

»Uanset første afsnit fastsættes de kvantitative begrænsninger i 2018 for opkøb af skummetmælkspulver til en fast pris til 0 ton.«

*Artikel 2*

Denne forordning træder i kraft dagen efter offentliggørelsen i *Den Europæiske Unions Tidende*.

Denne forordning er bindende i alle enkeltheder og gælder umiddelbart i hver medlemsstat.

Udfærdiget i Bruxelles, den 29. januar 2018.

*På Rådets vegne*  
R. PORODZANOV  
*Formand*

---

**KOMMISSIONENS DELEGEREDE FORORDNING (EU) 2018/148****af 27. september 2017****om ændring af bilag II, III og IV til Europa-Parlamentets og Rådets forordning (EU) nr. 978/2012 om anvendelse af et arrangement med generelle toldpræferencer**

EUROPA-KOMMISSIONEN HAR —

under henvisning til traktaten om Den Europæiske Unions funktionsmåde,

under henvisning til Europa-Parlamentets og Rådets forordning (EU) nr. 978/2012 af 25. oktober 2012 om anvendelse af et arrangement med generelle toldpræferencer og om ophævelse af Rådets forordning (EF) nr. 732/2008 <sup>(1)</sup>, særlig artikel 5, stk. 3, artikel 10, stk. 5, og artikel 17, stk. 2, og

ud fra følgende betragtninger:

- (1) Artikel 4 i forordning (EU) nr. 978/2012 indeholder kriterierne for indrømmelse af toldpræferencer under den generelle toldpræferenceordning («GSP»).
- (2) I artikel 4, stk. 1, litra a) og b), i forordning (EU) nr. 978/2012 fastsættes det, at et land, der af Verdensbanken er blevet klassificeret som højindkomstland eller højere middelindkomstland i tre på hinanden følgende år, eller et land, der er omfattet af en præferentiel markedsadgangsordning med samme toldpræferencer som GSP eller gunstigere for praktisk taget hele handelen, ikke bør være omfattet af GSP.
- (3) Listen over begunstige lande under den generelle GSP, der er omhandlet i artikel 1, stk. 2, litra a), i forordning (EU) nr. 978/2012 findes i bilag II til nævnte forordning. Ved artikel 5, stk. 2, i forordning (EU) nr. 978/2012 bestemmes det, at bilag II skal revideres inden den 1. januar hvert år. Revisionen bør tage højde for ændringer i de begunstige landes økonomiske, udviklingsmæssige eller handelsmæssige forhold, set ud fra de kriterier, der er fastsat i artikel 4.
- (4) I henhold til artikel 5, stk. 2, i forordning (EU) nr. 978/2012 skal et GSP-begunstiget land og de erhvervsdrivende have tilstrækkelig tid til at tilpasse sig ordentligt til ændringen af landets GSP-status. GSP-ordningen bør derfor fortsætte i ét år efter ikrafttrædelsen af en ændring af et lands status, jf. artikel 4, stk. 1, litra a), og i to år efter datoen for anvendelsen af en præferentiel markedsadgangsordning, jf. artikel 4, stk. 1, litra b).
- (5) Paraguay blev af Verdensbanken klassificeret som et højere middelindkomstland i 2015, 2016 og 2017. Paraguay opfylder derfor ikke længere kriterierne for GSP-begunstiget status i henhold til artikel 4, stk. 1, litra a), i forordning (EU) nr. 978/2012 og bør udgå af listen over GSP-begunstige lande i bilag II til nævnte forordning med virkning fra den 1. januar 2019.
- (6) Der er anvendt præferentielle markedsadgangsordninger med Elfenbenskysten fra den 3. september 2016, med Swaziland fra den 10. oktober 2016 og med Ghana fra den 15. december 2016. I henhold til artikel 4, stk. 1, litra b) bør Elfenbenskysten, Swaziland og Ghana derfor også udgå af bilag II til forordning (EU) nr. 978/2012 med virkning fra 1. januar 2019.
- (7) Artikel 9, stk. 1, i forordning (EU) nr. 978/2012 indeholder specifikke kriterier for indrømmelse af toldpræferencer under den særlige ansporende ordning for bæredygtig udvikling og god regeringsførelse («GSP +») til GSP-begunstige lande. Listen over GSP +-begunstige lande findes i bilag III til forordning (EU) nr. 978/2012.
- (8) Når Paraguay fra den 1. januar 2019 ikke længere er et GSP-begunstiget land, ophører landet også med at være GSP+-begunstiget i henhold til artikel 9, stk. 1, i forordning (EU) nr. 978/2012. Paraguay bør derfor udgå af bilag III til nævnte forordning med virkning fra den 1. januar 2019.

<sup>(1)</sup> EUTL 303 af 31.10.2012, s. 1.

- (9) I artikel 17, stk. 1, i forordning (EU) nr. 978/2012 fastsættes det, at et berettiget land bør indrømmes de i den særlige ordning for de mindst udviklede lande fastsatte toldpræferencer («Alt andet end våben» (EBA)), hvis dette land af De Forenede Nationer (FN) klassificeres som et mindst udviklet land. Listen over begunstigede lande findes i bilag IV til nævnte forordning.
- (10) FN ophørte med at klassificere Ækvatorialguinea som et mindst-udviklet land den 4. juni 2017. Ækvatorialguinea opfylder derfor ikke længere kriterierne for EBA-begunstiget status i henhold til artikel 17, stk. 1, i forordning (EU) nr. 978/2012 og bør udgå af bilag IV til forordningen. I overensstemmelse med artikel 17, stk. 2, til forordning (EU) nr. 978/2012 bør fjernelsen af Ækvatorialguinea fra listen over EBA-begunstigede lande finde anvendelse efter en overgangsperiode på tre år fra datoen for nærværende forordnings ikrafttræden, nemlig fra den 1. januar 2021.
- (11) Verdensbanken klassificerede desuden Ækvatorialguinea som højindkomstland i 2015 og som højere middelindkomstland i 2016 og 2017. Ækvatorialguinea opfylder derfor ikke længere kriterierne for GSP-begunstiget status i henhold til artikel 4, stk. 1, litra a), i forordning (EU) nr. 978/2012 og bør også udgå af listen over GSP-begunstigede lande i bilag II til nævnte forordning med virkning fra den 1. januar 2021 —

VEDTAGET DENNE FORORDNING:

#### Artikel 1

### Ændring af forordning (EU) nr. 978/2012

I forordning (EU) nr. 978/2012 foretages følgende ændringer:

- 1) I bilag II udgår følgende alfabetiske koder og de tilsvarende lande af henholdsvis kolonne A og B:

CI	Elfenbenskysten
GH	Ghana
PY	Paraguay
SZ	Swaziland

- 2) I bilag III udgår følgende alfabetiske kode og det tilsvarende land af henholdsvis kolonne A og B:

PY	Paraguay
----	----------

- 3) I bilag II og IV udgår følgende alfabetiske kode og det tilsvarende land af henholdsvis kolonne A og B:

GQ	Ækvatorialguinea
----	------------------

#### Artikel 2

### Ikrafttræden og anvendelse

Denne forordning træder i kraft den 1. januar 2018.

Artikel 1, nr. 1) og 2), anvendes fra den 1. januar 2019.

Artikel 1, nr. 3), anvendes fra den 1. januar 2021.

Denne forordning er bindende i alle enkeltheder og gælder umiddelbart i hver medlemsstat.

Udfærdiget i Bruxelles, den 27. september 2017.

*På Kommissionens vegne*

Jean-Claude JUNCKER

*Formand*

---

**KOMMISSIONENS DELEGEREDE FORORDNING (EU) 2018/149****af 15. november 2017****om ændring af delegeret forordning (EU) 2016/1238 for så vidt angår krav til sammensætning og kvalitetsegenskaber for mælk og mejeriprodukter, der er berettiget til offentlig intervention og støtte til privat oplagring**

EUROPA-KOMMISSIONEN HAR —

under henvisning til traktaten om Den Europæiske Unions funktionsmåde,

under henvisning til Europa-Parlamentets og Rådets forordning (EU) nr. 1308/2013 af 17. december 2013 om en fælles markedsordning for landbrugsprodukter og om ophævelse af Rådets forordning (EØF) nr. 922/72, (EØF) nr. 234/79, (EF) nr. 1037/2001 og (EF) nr. 1234/2007 <sup>(1)</sup>, særlig artikel 19, stk. 1, litra a), og

ud fra følgende betragtninger:

- (1) Kommissionens delegerede forordning (EU) 2016/1238 <sup>(2)</sup> fastsætter de krav til sammensætning og kvalitetsegenskaber for mælk og mejeriprodukter, der er berettiget til offentlig intervention og støtte til privat oplagring.
- (2) Som følge af de tekniske forbedringer i de metoder, der anvendes ved analyse og kvalitetsvurdering af mælk og mejeriprodukter, og for at tilpasse de nuværende EU-regler vedrørende hygiejnebestemmelser er det nødvendigt at revidere og ajourføre parametrene for krav til sammensætning og kvalitetsegenskaber for mælk og mejeriprodukter, der er berettiget til offentlig intervention og støtte til privat oplagring.
- (3) Bilag IV og V til delegeret forordning (EU) 2016/1238 bør derfor ændres —

VEDTAGET DENNE FORORDNING:

*Artikel 1*

I bilagene til delegeret forordning (EU) 2016/1238 foretages følgende ændringer:

- a) Bilag IV, del II, erstattes af teksten i bilag I til nærværende forordning.
- b) Bilag V, del II, erstattes af teksten i bilag II til nærværende forordning.

*Artikel 2*Denne forordning træder i kraft på syvendageden efter offentliggørelsen i *Den Europæiske Unions Tidende*.

Denne forordning er bindende i alle enkeltheder og gælder umiddelbart i hver medlemsstat.

Udfærdiget i Bruxelles, den 15. november 2017.

På Kommissionens vegne

Jean-Claude JUNCKER

Formand

<sup>(1)</sup> EUT L 347 af 20.12.2013, s. 671.<sup>(2)</sup> Kommissionens delegerede forordning (EU) 2016/1238 af 18. maj 2016 om supplerende regler til Europa-Parlamentets og Rådets forordning (EU) nr. 1308/2013 for så vidt angår offentlig intervention og støtte til privat oplagring (EUT L 206 af 30.7.2016, s. 15).

## BILAG I

## »DEL II

**Krav til sammensætning og kvalitetsegenskaber**

Smør er en fast emulsion i det væsentlige af typen vand i olie med nedenstående sammensætning og kvalitetsegenskaber:

Parametre	Indhold og kvalitetsegenskaber
Fedt	Mindst 82 %
Vand	Højst 16 %
Fedtfit tørstof	Højst 2 %
Fedtsyrer	Højst 1,2 mmol/100 g fedt
Peroxidtal	Højst 0,3 meq oxygen/1 000 g fedt
Andre fedtstoffer end mælkefedt	Ikke påviselige ved triglyceridanalyse
Organoleptiske egenskaber	Mindst 4 ud af 5 point for udseende, smag og konsistens«

## BILAG II

## »DEL II

**Krav til sammensætning og kvalitetsegenskaber**

Parametre	Indhold og kvalitetsegenskaber
Protein	Mindst 34,0 % i det fedtfrie tørstof
Fedtindhold	Højst 1,00 %
Vand	Højst 3,5 %
Surhedsgrad udtrykt i ml 0,1 normal natriumhydroxidopløsning	Højst 19,5 ml
Laktater	Højst 150 mg/100 g
Phosphatasetest	Negativ, dvs. højst 350 mU phosphataseaktivitet pr. liter rekonstitueret mælk
Uopløselighed	Højst 0,5 ml (24 °C)
Brændte partikler	Højst 15,0 mg, dvs. mindst skive B
Mikroorganismer	Højst 40 000 CFU pr. gram
Kærnemælk <sup>(1)</sup>	Negativ <sup>(2)</sup>
Løbevalle <sup>(3)</sup>	Negativ
Survalle <sup>(3)</sup>	Negativ <sup>(4)</sup> eller højst 150 mg/100 g <sup>(5)</sup>
Smag og lugt	Ren
Udseende	Hvid til let gullig farve, ingen urenheder eller brændte partikler

<sup>(1)</sup> Ved kærnemælk forstås det biprodukt, der fremkommer ved fremstilling af smør efter kærning af fløden og udskillelse af den faste fedtfase.

<sup>(2)</sup> Fravær af kærnemælk påvises ved uanmeldt kontrol mindst én gang om ugen på fabriksanlægget eller ved laboratorieanalyse af slutproduktet, som påviser højst 69,31 mg PEDP (phosphatidylethanolamindipalmitoyl) pr. 100 gram.

<sup>(3)</sup> Ved valle forstås det biprodukt, der fremkommer ved fremstilling af ost eller kasein som følge af indvirkningen fra syre, osteløbe og/eller kemisk-fysiske processer.

<sup>(4)</sup> ved gennemførelse af kontrol på stedet.

<sup>(5)</sup> ved anvendelse af ISO 8069.»

**KOMMISSIONENS GENNEMFØRELSESFORORDNING (EU) 2018/150****af 30. januar 2018****om ændring af gennemførelsesforordning (EU) 2016/1240 for så vidt angår metoder til analyse og kvalitetsvurdering af mælk og mejeriprodukter, der er berettiget til offentlig intervention og støtte til privat oplagring**

EUROPA-KOMMISSIONEN HAR —

under henvisning til traktaten om Den Europæiske Unions funktionsmåde,

under henvisning til Europa-Parlamentets og Rådets forordning (EU) Nr. 1306/2013 af 17. december 2013 om finansiering, forvaltning og overvågning af den fælles landbrugspolitik og om ophævelse af Rådets forordning (EØF) nr. 352/78, (EF) nr. 165/94, (EF) nr. 2799/98, (EF) nr. 814/2000, (EF) nr. 1290/2005 og (EF) nr. 485/2008 <sup>(1)</sup>, særlig artikel 62, stk. 2, litra i), og

ud fra følgende betragtninger:

- (1) I Kommissionens delegerede forordning (EU) 2016/1238 <sup>(2)</sup> og Kommissionens gennemførelsesforordning (EU) 2016/1240 <sup>(3)</sup> er der fastsat bestemmelser om offentlig intervention og støtte til privat oplagring. I Kommissionens forordning (EF) nr. 273/2008 <sup>(4)</sup> er fastlagt de metoder, der skal anvendes ved vurderingen af, hvorvidt mælk og mejeriprodukter opfylder de krav, der er fastsat i nævnte forordninger, for at være berettiget til offentlig intervention og støtte til privat oplagring.
- (2) I lyset af den tekniske udvikling inden for den metode, der anvendes til analyse og kvalitetsvurdering af mælk og mejeriprodukter, bør der foretages væsentlige ændringer med henblik på forenkling og ajourføring af henvisningerne til ISO-standarderne. Af hensyn til klarhed og effektivitet og under hensyn til omfanget og den tekniske karakter af ændringerne af bestemmelserne i forordning (EF) nr. 273/2008 bør de relevante bestemmelser i nævnte forordning indarbejdes i gennemførelsesforordning (EU) 2016/1240.
- (3) For at sikre ensartet overholdelse af de nye standarder og metoder på tværs af medlemsstaterne bør laboratorierne have en rimelig frist til at gennemgå procedurer og anvende de ajourførte metoder.
- (4) Gennemførelsesforordning (EU) 2016/1240 bør derfor ændres.
- (5) Af hensyn til retssikkerheden bør forordning (EF) nr. 273/2008 ophæves.
- (6) Foranstaltningerne i denne forordning er i overensstemmelse med udtalelse fra Komitéen for den Fælles Markedsordning for Landbrugsprodukter —

VEDTAGET DENNE FORORDNING:

*Artikel 1*

I gennemførelsesforordning (EU) 2016/1240 foretages følgende ændringer:

- 1) I artikel 4 foretages følgende ændringer:
  - a) Stk. 1 ændres således:
    - i) litra d) affattes således:

»d) for smør: i del I og Ia i bilag IV til denne forordning«
    - ii) litra e) affattes således:

»e) for skummetmælkspulver i del I og Ia i bilag V til denne forordning«

<sup>(1)</sup> EUT L 347 af 20.12.2013, s. 549.<sup>(2)</sup> Kommissionens delegerede forordning (EU) 2016/1238 af 18. maj 2016 om supplerende regler til Europa-Parlamentets og Rådets forordning (EU) nr. 1308/2013 for så vidt angår offentlig intervention og støtte til privat oplagring (EUT L 206 af 30.7.2016, s. 15).<sup>(3)</sup> om gennemførelsesbestemmelser til Europa-Parlamentets og Rådets forordning (EU) nr. 1308/2013 for så vidt angår offentlig intervention og støtte til privat oplagring (EUT L 206 af 30.7.2016, s. 71).<sup>(4)</sup> Kommissionens forordning (EF) nr. 273/2008 af 5. marts 2008 om gennemførelsesbestemmelser til Rådets forordning (EF) nr. 1255/1999 for så vidt angår metoder til analyse og kvalitetsvurdering af mælk og mejeriprodukter (EUT L 88 af 29.3.2008, s. 1).



b) Stk. 2 affattes således:

»2. De metoder, der skal anvendes til at fastslå kvaliteten af korn, smør og skummetmælkspulver, der er berettiget til offentlig intervention, jf. bilag I, IV og V, er dem, der er fastsat ved de seneste udgaver af de relevante europæiske eller internationale standarder, alt efter tilfældet, der er i kraft mindst seks måneder før den første dag af tidsrummet for offentlig intervention som defineret i artikel 12 i forordning (EU) nr. 1308/2013.«

2) Følgende indsættes som artikel 60a:

»Artikel 60a

**Særlige bestemmelser for kontrol vedrørende offentlig intervention og støtte til privat oplagring for mælk og mejeriprodukter**

1. Hvorvidt smør, skummetmælkspulver og ost er berettiget til støtte til privat oplagring, fastlægges i overensstemmelse med de metoder, der er angivet i bilag VI, VII og VIII.

Sådanne metoder fastlægges under henvisning til de seneste udgaver af de relevante europæiske eller internationale standarder, alt efter tilfældet, der er i kraft mindst seks måneder før den første dag af tidsrummet for offentlig intervention som defineret i artikel 12 i forordning (EU) nr. 1308/2013.

2. Resultaterne af de kontroller, der er gennemført ved anvendelse af de metoder, der er fastsat i denne forordning, vurderes i overensstemmelse med bilag IX.«

3) Bilagene ændres som anført i bilaget til denne forordning.

*Artikel 2*

Forordning (EF) nr. 273/2008 ophæves.

*Artikel 3*

Denne forordning træder i kraft på syvendedagen efter offentliggørelsen i *Den Europæiske Unions Tidende*.

Denne forordning er bindende i alle enkeltheder og gælder umiddelbart i hver medlemsstat.

Udfærdiget i Bruxelles, den 30. januar 2018.

*På Kommissionens vegne*

Jean-Claude JUNCKER

*Formand*

\_\_\_\_\_

## BILAG

I bilagene til gennemførelsesforordning (EU) 2016/1240 foretages følgende ændringer:

1) I bilag IV foretages følgende ændringer:

a) I del I, punkt 2, affattes andet underafsnit således:

»Hver prøve bedømmes enkeltvis. Det er ikke tilladt at foretage genudtagning af prøver eller gentagen vurdering.«

b) Følgende indsættes som del Ia:

»DEL IA

### Analysemetoder for usaltet smør bestemt til offentlig intervention

Parameter	Metode
Fedstof <sup>(1)</sup>	ISO 17189 eller ISO 3727 del 3
Vand	ISO 3727 del 1
Fedtfri tørstof	ISO 3727 del 2
Fedtsyrer	ISO 1740
Peroxidtal	ISO 3976
Andre fedtstoffer end mælkefedt	ISO 17678
Organoleptiske egenskaber	ISO 22935 del 2 og 3 og efterfølgende pointskala.

(<sup>1</sup>) Metoden, der anvendes, skal godkendes af betalingsorganet.

### Pointskala

Udseende		Konsistens		Lugt og smag	
Point	Bemærkninger	Point	Bemærkninger	Point	Bemærkninger
5	Meget tilfredsstillende idealtypen højeste kvalitet (ensartet tør)	5	Meget tilfredsstillende idealtypen højeste kvalitet (godt smørbar)	5	Meget tilfredsstillende idealtypen højeste kvalitet (absolut ren, fineste lugt)
4	Tilfredsstillende (ingen åbenlyse fejl)	4	Tilfredsstillende (ingen åbenlyse fejl)	4	Tilfredsstillende (ingen åbenlyse fejl)
1, 2 eller 3	Enhver fejl	1, 2 eller 3	Enhver fejl	1, 2 eller 3	Enhver fejl«

2) I bilag V indsættes følgende som del Ia:

»DEL IA

**Analysemetoder for skummetmælkspulver bestemt til offentlig intervention**

Parameter	Metode
Protein	ISO 8968 del 1
Fedtstof	ISO 1736
Vand	ISO 5537
Syreindhold	ISO 6091
Laktater	ISO 8069
Phosphatasetest	ISO 11816 del 1
Uopløselighed	ISO 8156
Brændte partikler <sup>(1)</sup>	ADPI
Mikroorganismer	ISO 4833 del 1
Kærnemælk	Tillæg I
Løbevalle <sup>(2)</sup>	Tillæg II og III
Sur valle <sup>(3)</sup>	ISO 8069 eller kontrol på stedet
Organoleptisk kontrol <sup>(4)</sup>	ISO 22935 del 2 og 3

<sup>(1)</sup> Analyser af brændte partikler kan foretages systematisk. Dog skal sådanne analyser altid foretages, hvis der ikke foretages organoleptiske bedømmelser.

<sup>(2)</sup> Metoden, der anvendes, skal godkendes af betalingsorganet (en af eller begge metoder).

<sup>(3)</sup> Metoden, der anvendes, skal godkendes af betalingsorganet.

<sup>(4)</sup> Organoleptisk kontrol udføres, hvis det på grundlag af en risikobaseret analyse, der er godkendt af betalingsorganet, anses for nødvendigt.

## Tillæg I

**SKUMMETMÆLKSPULVER: BESTEMMELSE AF PHOSPHATIDYLSERIN- OG PHOSPHATIDYLETHANOLAMININDHOLD****Metode: HPLC-metode i omvendt fase**

## 1. FORMÅL OG ANVENDELSESOMRÅDE

Denne metode er en procedure for kvantitativ bestemmelse af phosphatidylserin (PS) og phosphatidylethanolamin (PE) i skummetmælkspulver (SMP) og egner sig til påvisning af kærnemælksklumper i SMP.

## 2. DEFINITION

Indhold af PS + PE: massefordelingen af stof bestemt ved anvendelse af denne procedure. Resultatet udtrykkes som milligram phosphatidylethanolamindipalmitoyl (PEDP) pr. 100 g pulver.

## 3. METODEPRINCIP

Ekstraktion af aminophospholipider fra rekonstitueret mælkpulver ved hjælp af methanol. Bestemmelse af PS og PE som o-phthaldialdehyd (OPA) derivater ved HPLC i omvendt fase og ved fluorescenspåvisning. Kvantificering af PS- og PE-indholdet i analyseprøven ved sammenholdelse med en standardprøve indeholdende en kendt mængde PEDP.

## 4. REAGENSER

Alle reagenser skal være af anerkendt analysekvalitet. Der anvendes destilleret vand eller vand af mindst tilsvarende renhed, medmindre andet er angivet.

4.1. **Standardmateriale: PEDP, mindst 99 % rent**

*Bemærkning:* Standardmateriale skal opbevares ved – 18 °C.

4.2. **Reagenser til forberedelse af standardprøve og analyseprøve**

4.2.1. *Methanol af HPLC-renhed*

4.2.2. *Chloroform af HPLC-renhed*

4.2.3. *Tryptamin-monohydrochlorid*

4.3. **Reagenser til o-phthaldialdehyd-derivatisering**

4.3.1. *Natriumhydroxid, 12 M opløsning i vand*

4.3.2. *Borsyre, 0,4 M opløsning i vand, indstillet til pH 10,0 med natriumhydroxid (4.3.1)*

4.3.3. *2-mercaptoethanol*

4.3.4. *o-phthaldialdehyd (OPA)*

4.4. **HPLC-elueringsvæsker**

4.4.1. *Elueringsvæsker fremstilles ved anvendelse af reagenser af HPLC-renhed.*

4.4.2. *Vand af HPLC-renhed*

4.4.3. *Methanol af fluorimetri-testet renhed*

4.4.4. *Tetrahydrofuran*

4.4.5. *Natriumdihydrogenphosphat*

4.4.6. *Natriumacetat*

4.4.7. *Eddikesyre.*

## 5. APPARATUR

5.1. **Analysevægt, der kan veje med en nøjagtighed på 1 mg, og som kan aflæses med en nøjagtighed på 0,1 mg**

5.2. **Bægerglas på 25 og 100 ml**

5.3. **Pipetter på 1 og 10 ml**

5.4. **Magnetomrører**

5.5. **Målepipetter på 0,2, 0,5 og 5 ml**

5.6. **Målekolber på 10, 50 og 100 ml**

5.7. **Sprøjter på 20 og 100 µl**

5.8. **Ultralydsbad**

5.9. **Centrifuge, som arbejder ved 27 000 × g**

5.10. **Prøveglas på ca. 5 ml**

5.11. **Måleglas på 25 ml**

5.12. **pH-meter med en nøjagtighed på 0,1 pH-enhed**

5.13. **HPLC-udstyr**

5.13.1. *Gradient-pumpesystem, i stand til at arbejde ved 1,0 ml/min. ved 200 bar*

5.13.2. *Autosampler med mulighed for derivatisering*

5.13.3. *Kolonneopvarmningsenhed, som kan holde kolonnens temperatur på 30 °C ± 1 °C*

5.13.4. *Fluorescendetektor, der kan fungere på en exciteringsbølglængde på 330 nm og en emissionsbølglængde på 440 nm*

5.13.5. *Integrator eller databehandlingsprogrammel, som er i stand til at måle toparealer*

5.13.6. *En LiChrospher®-100 kolonne (250 × 4,6 mm) eller en tilsvarende kolonne pakket med octadecylisan (C 18) med en partikelstørrelse på 5 µm*

## 6. PRØVEUDTAGNING

Prøveudtagning skal ske i overensstemmelse med ISO standard 707.

## 7. FREMGANGSMÅDE

7.1. **Forberedelse af den interne standardopløsning**

7.1.1. *30,0 ± 0,1 mg tryptamin-monohydrochlorid (4.2.3) afvejes i en 100 ml målekolbe (5.6) og der fyldes op til mærket med methanol (4.2.1).*

7.1.2. *Med en pipette (5.3) overføres 1 ml af denne opløsning til en 10 ml målekolbe (5.6), og der fyldes op til mærket med methanol (4.2.1) for at opnå en 0,15 mM tryptaminkoncentration.*

7.2. **Forberedelse af analyseopløsningen**

7.2.1. *1,000 ± 0,001 g af SMP-prøven i et 25 ml bægerglas (5.2). Der tilsættes 10 ml destilleret vand ved 40 °C ± 1 °C med pipette (5.3) og omrøres med magnetomrører (5.4) i 30 minutter for at opløse alle klumper.*

7.2.2. *0,2 ml af den rekonstituerede mælk pipetteres (5.5) over i en 10 ml målekolbe (5.6), hvorefter der med en sprøjte (5.7) tilsættes 100 µl 0,15 mM tryptaminopløsning (7.1) og fyldes op til mærket med methanol (4.2.1). Der blandes omhyggeligt ved at vende kolben på hovedet flere gange; anbringelse i ultralydsbad (5.8) i 15 min.*

7.2.3. *Derefter centrifugeres (5.9) ved 27 000 g × g i 10 min., og supernatanten indsamles i et prøveglas (5.10).*

*Bemærkning: Analyseopløsningen skal opbevares ved 4 °C, til HPLC-analysen er gennemført.*

### 7.3. Forberedelse af den eksterne standardopløsning

- 7.3.1. 55,4 mg PEDP (4.1) afvejes i en 50 ml målekolbe (5.6), og der tilsættes ca. 25 ml chloroform (4.2.2) ved anvendelse af et måleglas (5.11). Den tilproppede kolbe opvarmes til  $50\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ , og der blandes omhyggeligt, indtil PEDP opløses. Derefter afkøles kolben til  $20\text{ °C}$ , og der fyldes op til mærket med methanol (4.2.1) og blandes ved at vende kolben på hovedet flere gange.
- 7.3.2. 1 ml af denne opløsning pipetteres (5.3) over i en 100 ml målekolbe (5.6), og der fyldes op til mærket med methanol (4.2.1). 1 ml af denne opløsning pipetteres (5.3) over i en 10 ml målekolbe (5.6), hvorefter der tilsættes 100 µl (5.7) 0,15 mM tryptaminopløsning (7.1) og fyldes op til mærket med methanol (4.2.1). Der blandes ved at vende kolben på hovedet flere gange.

Bemærkning: Standardanalyseopløsningen skal opbevares ved  $4\text{ °C}$  indtil HPLC-analysen.

### 7.4. Forberedelse af derivateringsreagenset

25,0 ± 0,1 mg OPA (4.3.4) afvejes i en 10 ml målekolbe (5.6), hvorefter der tilsættes 0,5 ml (5.5) methanol (4.2.1) og blandes omhyggeligt for at opløse OPA. Der fyldes op til mærket med borsyreopløsning (4.3.2) og tilsættes 20 µl 2-mercaptoethanol (4.3.3) med en sprøjte (5.7).

Bemærkning: Derivateringsreagenset skal opbevares ved  $4\text{ °C}$  i et brunt prøveglas. Det er holdbart i en uge.

### 7.5. Bestemmelse ved HPLC

#### 7.5.1. Elueringsvæsker (4.4)

Væske A: 0,3 mM natriumdihydrogenphosphat- og 3 mM natriumacetatopløsning (indstillet til pH  $6,5 \pm 0,1$  med eddikesyre); metanol: tetrahydrofuran = 558:440:2 (v/v/v)

Væske B: methanol

#### 7.5.2. Foreslået elueringsgradient:

Tid (min.)	Væske A (%)	Væske B (%)	Gennemstrømningshastighed (ml/min.)
Start	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

Bemærkning: Elueringsgradienten vil kunne skulle ændres lidt for at opnå den opløsning, der er vist i figur 1.

Kolonnetemperatur:  $30\text{ °C}$ .

7.5.3. *Injektionsvolumen: 50 µl derivateringsreagens og 50 µl prøveopløsning.*

7.5.4. *Kolonneligevægt*

Ved daglig opstart af systemet gennemskylles kolonnen med 100 % væske B i 15 min., hvorefter der indstilles A: 40:60 og bringes i ligevægt ved 1 ml/min. i 15 min. Der foretages en blindprøve ved injektion af methanol (4.2.1).

*Bemærkning:* Forud for opbevaring over længere tid gennemskylles kolonnen med methanol: chloroform = 80:20 (v/v) i 30 min.

7.5.5. *Indholdet af PS + PE i analyseprøven bestemmes.*

7.5.6. *Rækken af kromatografianalyser gennemføres under overholdelse af et konstant tidsforhold mellem de enkelte analyserunder for at opnå konstante retentionstider. Den eksterne standardopløsning (7.3) indsprøjtes for hver 5.-10. analyseopløsning for at beregne responsfaktoren.*

*Bemærkning:* Søjlen skal renses ved gennemskylning med 100 % væske B (7.5.1) i mindst 30 min. for hver 20.-25. analyserunde.

## 7.6. Integrationsmåde

7.6.1. *PEDP-top*

PEDP elueres som en enkelt top. Toparealet bestemmes ved dal-til-dal-integration.

7.6.2. *Tryptamin-top*

Tryptamin elueres som en enkelt top (figur 1). Toparealet bestemmes ved dal-til-dal-integration.

7.6.3. *Grupper af PS- og PE-toppe*

Under de beskrevne betingelser (figur 1) elueres PS som to delvis uopløste hovedtoppe efter en mindre top. PE elueres som 3 delvis uopløste hovedtoppe. Hele arealet for hver samling af toppe bestemmes ved at sætte basislinjen som rapporteret i figur 1.

## 8. BEREGNING OG ANGIVELSE AF RESULTATER

Indholdet af PS og PE i analyseprøven beregnes således:

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

hvor:

C = indhold af PS eller PE (mg/100 g pulver) i analyseprøven

A<sub>1</sub> = topareal af PEDP i standardprøveopløsningen (7.3)

A<sub>2</sub> = topareal af PS eller PE i analyseopløsningen (7.2)

T<sub>1</sub> = topareal af tryptamin i standardprøveopløsningen (7.3)

T<sub>2</sub> = topareal af tryptamin i analyseprøveopløsningen (7.2).

## 9. METODENS NØJAGTIGHED

*Bemærkning:* Værdierne for repeterbarhed blev beregnet efter den internationale IDF-standard (\*).

### 9.1. Repeterbarhed

Den relative standardafvigelse for repeterbarheden, som er et udtryk for variationen i uafhængige analyseresultater, der er opnået af samme person under anvendelse af samme apparatur på samme betingelser på samme analyseprøve inden for et kort tidsinterval, må ikke overstige 2 %. Hvis der opnås to bestemmelser under disse betingelser, bør den relative forskel mellem de to resultater ikke overstige 6 % af det aritmetiske gennemsnit af resultaterne.

## 9.2. Reproducerbarhed

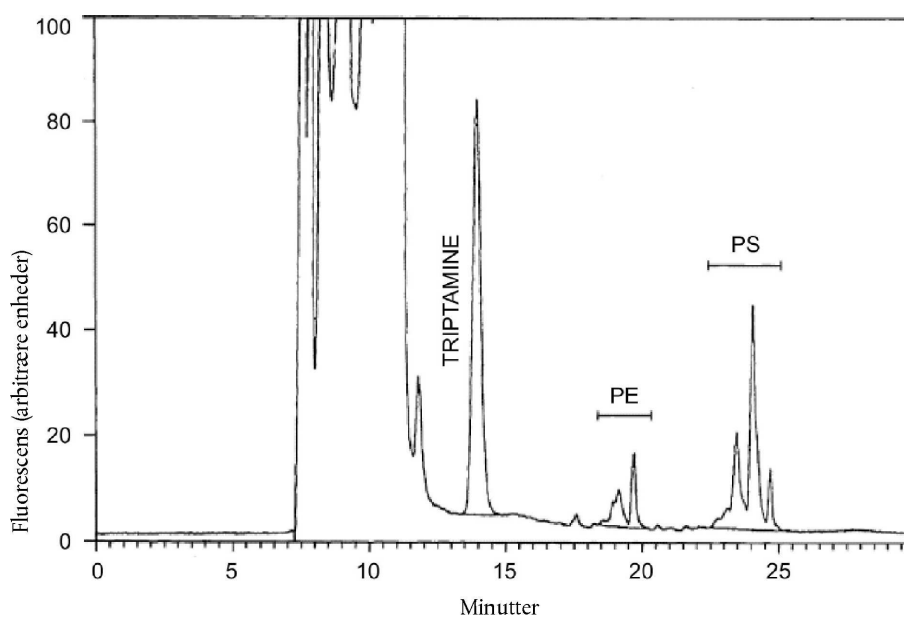
Hvis to bestemmelser foretages af laboranter i forskellige laboratorier under anvendelse af forskelligt apparatur på forskellige betingelser for analyse og samme analyseprøve, må den relative forskel mellem de to resultater ikke overstige 11 % af det aritmetiske gennemsnit af resultaterne.

## 10. LITTERATURHENVISNINGER

- 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.« *Sci. Tecn. Latt.-Cas.*, 39,395 (1988).

Figur 1

**HPLC-mønster for OPA-derivater af phosphatidylserin (PS) og phosphatidylethanolamin (PE) i methanolekstrakt af rekonstitueret skummetmælkspulver. Integrationsmåde for toppene af PS, PE og tryptamin (intern standard) rapporteres.**





## Tillæg II

**PÅVISNING AF LØBEVALLE I SKUMMETMÆLKSPULVER TIL OFFENTLIG OPLAGRING VED HJÆLP AF HØJTRYKSVÆSKEKROMATOGRAFISK BESTEMMELSE AF KASEINMAKROPEPTIDINDHOLDET (HPLC-METODE)**

## 1. FORMÅL OG ANVENDELSESOMRÅDE

Med denne metode kan det ved bestemmelse af kaseinmakropeptider påvises, om der er løbevalle til stede i skummetmælkspulver.

## 2. HENVISNING

International Standard ISO 707 — Mælk og mejeriprodukter — Vejledning i prøveudtagning.

## 3. DEFINITION

Indholdet af løbevalletørstof defineres som indholdet udtrykt i vægtprocent ved bestemmelse af indholdet af kaseinmakropeptider ved den beskrevne fremgangsmåde.

## 4. PRINCIP

- Opløsning af skummetmælkspulveret, fjernelse af fedtstoffer og proteiner ved hjælp af trichloreddikesyre efterfulgt af centrifugering eller filtrering
- Bestemmelse af mængden af kaseinmakropeptider (CMP) i supernatanten ved HPLCA
- Vurdering af resultatet i forhold til standardprøver af skummetmælkspulver, som ikke indeholder eller er tilsat en kendt mængde vallepulver.

## 5. REAGENSER

Alle reagenser skal være af anerkendt analysekvalitet. Der anvendes destilleret vand eller vand af mindst tilsvarende renhed.

5.1. **Opløsning af trichloreddikesyre**

240 g trichloreddikesyre ( $\text{CCl}_3\text{COOH}$ ) opløses i vand og fortyndes til 1 000 ml. Opløsningen skal forblive klar og farveløs.

5.2. **Elueringsvæske med pH 6,0**

1,74 g kaliumhydrogenphosphat ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ), 12,37 g kaliumdihydrogenphosphat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) og 21,41 g natriumsulfat ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) opløses i ca. 700 ml vand. Om nødvendigt indstilles pH til 6,0 ved hjælp af fortyndet phosphorsyre eller en kaliumhydroxidopløsning.

Der fyldes op til 1 000 ml med vand og blandes.

*Bemærkning:* Elueringsvæskens sammensætning kan opdateres for at efterkomme standarderne eller anbefalinger fra fabrikanten af kolonnepakningsmaterialet.

Før brugen filtreres elueringsvæsken gennem et membranfilter med porestørrelse 0,45  $\mu\text{m}$ .

5.3. **Opløsning til skylning af kolonnerne**

En volumendel acetonitril ( $\text{CH}_3\text{CN}$ ) blandes med ni volumendele vand. Før brugen filtreres opløsningen gennem et membranfilter med porestørrelse 0,45  $\mu\text{m}$ .

*Bemærkning:* Der kan til skylning anvendes andre opløsninger, der har baktericid virkning, og som ikke ændrer kolonnernes adskillelseevne.

5.4. **Standardprøver**

5.4.1. Skummetmælkspulver, der opfylder kravene i denne forordning, benævnt [0].

5.4.2. Samme pulver tilsat 5 % (m/m) løbevallepulver med normal sammensætning, benævnt [5].

6. APPARATUR
- 6.1. **Analysevægt**
- 6.2. **Centrifuge, der kan præstere en centrifugalkraft på 2 200 g, med tilhørende lukkede centrifugeglas på ca. 50 ml.**
- 6.3. **Mekanisk rysteapparat**
- 6.4. **Magnetomrører**
- 6.5. **Glastragte med diameter på ca. 7 cm**
- 6.6. **Filtrerpapir, mellemfint, med diameter på ca. 12,5 cm**
- 6.7. **Filtreringsudstyr af glas med tilhørende membranfiltre med porestørrelse 0,45 µm**
- 6.8. **Målepipetter på 10 ml (ISO 648, klasse A, eller ISO/R 835) eller et dispenseringsystem, som muliggør gennembløb af 10,0 ml på 2 min.**
- 6.9. **Dispenseringsystem, som muliggør gennembløb af 20,0 ml vand ved ca. 50 °C**
- 6.10. **Termostatstyret vandbad indstillet på 25 ± 0,5 °C**
- 6.11. **HPLC-udstyr bestående af:**
  - 6.11.1. *Pumpe*
  - 6.11.2. *Manuel eller automatisk injektionsenhed på 15-30 µl*
  - 6.11.3. *To serieforbundne kolonner, TSK 2 000 SW (længde 30 cm, indvendig diameter 0,75 cm) eller kolonner af tilsvarende effektivitet (f.eks. single TSK 2 000-SWxl, single Agilent Technologies Zorbax GF 250), og en forkolonne (3 cm × 0,3 cm) pakket med I 125 eller et lige så effektivt materiale*
  - 6.11.4. *Termostatstyret kolonneovn indstillet på 35 ± 1 °C*
  - 6.11.5. *UV-detektor med variabel bølgelængde, hvormed der ved 205 nm kan måles med en følsomhed på 0,008 Å*
  - 6.11.6. *Integrator, der kan integrere over de enkelte toppe*

*Bemærkning: Der kan arbejdes med kolonner ved stuetemperatur, men adskillelseevnen bliver i så fald lidt mindre. Temperatursvingningerne gennem en analyserække må her ikke overstige ± 5 °C.*
7. PRØVEUDTAGNING
- 7.1. **Prøveudtagningen sker efter metoden i den internationale standard ISO 707. Medlemsstaterne kan dog anvende en anden metode til prøveudtagning, hvis den følger principperne i ovennævnte standard.**
- 7.2. **Prøven opbevares under sådanne forhold, at der hverken kan ske ødelæggelse eller ændring af sammensætningen.**
8. FREMGANGSMÅDE
- 8.1. **Forberedelse af prøven**

Pulveret overføres til en beholder, der er cirka dobbelt så stor som pulverets volumen, og som har et lufttæt låg. Beholderen lukkes straks. Mælkepulveret blandes omhyggeligt ved, at beholderen vendes flere gange rundt.
- 8.2. **Analyseprøve**

I et centrifugeglas (6.2) eller en tilproppet kolbe (50 ml) afvejes 2,000 ± 0,001 g analyseprøve.
- 8.3. **Fjernelse af fedtstoffer og proteiner**
  - 8.3.1. *Der sættes 20,0 ml 50 °C varmt vand til analyseprøven. Pulveret opløses ved omrøring i 5 min. med et rysteapparat (6.3). Reagensglasset anbringes i vandbadet (6.10), og det afventes, at der indtræder en ligevægt ved 25 °C.*

8.3.2. I løbet af 2 min. tilsættes 10,0 ml trichloreddikesyreopløsning (5.1) på 25 °C under kraftig omrøring med magnetomrøreren (6.4). Reagensglasset anbringes i vandbadet (6.10), hvori det henstår i 60 minutter.

8.3.3. Der centrifugeres (6.2) ved 2 200 g i 10 min. eller filtreres gennem papirfilter (6.6), idet de første 5 ml filtrat bortkastes.

#### 8.4. Kromatografisk bestemmelse

8.4.1. Af supernatanten eller filtratet (8.3.3) indsprøjtes en nøjagtigt afmålt mængde på mellem 15 og 30 µl i HPLC-apparatet (6.11) under en gennemstrømningshastighed på 1,0 ml elueringsvæske (5.2) pr. minut.

Bemærkninger: 1. Den kan anvendes en anden gennemstrømningshastighed afhængigt af de anvendte kolonnens indvendige diameter eller kolonnefabrikantens anvisninger.

Bemærkninger: 2. Hver gang kromatograferingen afbrydes, skylles kolonnen med vand. Den må aldrig efterlades med elueringsvæske (5.2) i.

Skal kolonnerne stå ubenyttede hen i mere end 24 timer, skylles de først med vand og dernæst med opløsning (5.3) i mindst 3 timer med en gennemløbshastighed på 0,2 ml pr. minut.

8.4.2. Resultaterne af kromatograferingen af analyseprøven [E] foreligger i form af et kromatogram, hvor hver top identificeres ved sin retentionstid, RT, nemlig:

Top II:	kromatogrammets anden top, hvis retentionstid er ca. 12,5 min.
Top III:	kromatogrammets tredje top, der svarer til CMP, og hvis retentionstid er 15,5 min.

Valg af kolonne(r) kan påvirke de forskellige toppes retentionstid betydeligt.

Integratoren (6.11.6) beregner automatisk arealet A af hver top, nemlig:

$A_{II}$ :	arealet af top II
$A_{III}$ :	arealet af top III

For at afsløre eventuelle afvigelser enten som følge af, at apparaturet eller kolonnerne ikke har fungeret tilfredsstillende, eller på grund af den analyserede prøves oprindelse eller art må alle kromatogrammer bedømmes visuelt, før en kvantitativ tolkning påbegyndes.

I tvivlstilfælde gentages analysen.

#### 8.5. Kalibrering

8.5.1. Med standardprøverne (5.4) følges den i punkt 8.2 til 8.4.2 beskrevne fremgangsmåde nøje.

Der benyttes frisk fremstillede opløsninger, da CMP nedbrydes i 8 % trichloreddikesyreopløsning. Indholdet heraf falder med ca. 0,2 % pr. time ved 30 °C. Indholdet heraf falder med ca. 0,2 % pr. time ved 30 °C.

8.5.2. Før kromatografering af prøverne konditioneres kolonnerne ved gentagen indsprøjtning af opløsningen (8.5.1) af standardprøven (5.4.2), indtil den top, der svarer til CMP, har konstant areal og retentionstid.

8.5.3. Kalibreringsfaktorerne R bestemmes ved at indsprøjtne filtrat (8.5.1) i samme mængde som prøverne.

#### 9. ANGIVELSE AF RESULTATER

##### 9.1. Beregningsmetode og formler

9.1.1. Beregning af responsfaktorerne R

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

hvor:

$R_{II}$  = responsfaktoren for top II

$A_{II} [0]$  = det areal af top II for standardprøven [0], som er fremkommet under 8.5.3

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

hvor:

- $R_{III}$  = responsfaktoren for top III  
 $A_{III}[0]$  and  $A_{III}[5]$  = de arealer af top III for henholdsvis standardprøve [0] og [5], som er fremkommet under 8.5.3  
 $W$  = indholdet af valle i standardprøven [5], nemlig 5

9.1.2. *Beregning af de relative toparealer for prøven [E]*

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

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

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

hvor:

- $S_{II}[E]$ ,  $S_{III}[E]$ ,  $S_{IV}[E]$  = de relative arealer af henholdsvis top II, III og IV for prøven [E]  
 $A_{II}[E]$ ,  $A_{III}[E]$  = de arealer af henholdsvis top II og III for prøven [E], som er fremkommet under 8.4.2  
 $R_{II}$ ,  $R_{III}$  = de under 9.1.1 beregnede responsfaktorer

9.1.3. *Beregningen af de relative retentionstider for top III for prøven [E]*

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

hvor:

- $RRT_{III}[E]$  = den relative retentionstid for top III for prøven [E]  
 $RT_{III}[E]$  = retentionstiden for top III for prøven [E], som er fremkommet under 8.4.2  
 $RT_{III}[5]$  = retentionstiden for top III for standardprøven [5], som er fremkommet under 8.5.3

9.1.4. *Det er vist eksperimentelt, at den relative retentionstid for top III,  $RRT_{III}[E]$ , er ligefrem proportional med vallepulverindholdet op til 10 %*

— ved et indhold på  $> 5\%$  er  $RRT_{III}[E] < 1,000$

— ved et indhold på  $\leq 5\%$  er  $RRT_{III}[E] \geq 1,000$ .

Den tilladte usikkerhed på  $RRT_{III}$  er  $\pm 0,002$ .

Normalt afviger  $RRT_{III}[0]$ -værdien kun lidt fra 1,034. Alt efter kolonnernes tilstand kan denne værdi nærme sig, men skal altid være større end 1,000.

9.2. **Beregning af det procentvise indhold af løbevallepulver i prøven:**

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

hvor:

- $W$  = indholdet af løbevalle i prøven [E], i % m/m  
 $S_{III}[E]$  = det relative areal af top III for analyseprøven [E], som er fremkommet under 9.1.2  
1,3 = det relative middelareal af top III udtrykt i g løbevalle pr. 100 g bestemt i uforfalsket skummetmælkspulver af forskellig oprindelse. Denne værdi er bestemt eksperimentelt  
 $S_{III}[0]$  = det relative areal af top III, som er lig med  $R_{III} \times A_{III}[0]$ . Disse størrelser er bestemt under henholdsvis 9.1.1 og 8.5.3  
 $(S_{III}[0] - 0,9)$  = korrektionen af det relative middelareal 1,3, når  $S_{III}[0]$  ikke er 0,9. Det relative middelareal af top III for standardprøven [0] er bestemt eksperimentelt til 0,9.

### 9.3. Metodens nøjagtighed

#### 9.3.1. Repeterbarhed

Forskellen mellem resultaterne af to bestemmelser, der er udført samtidig eller med kort tids mellemrum af samme person, med samme apparatur og på samme prøve, må ikke overstige 0,2 % m/m.

#### 9.3.2. Reproducerbarhed

Forskellen mellem to resultater, som to forskellige laboratorier er nået frem til med samme prøve, må ikke overstige 0,4 % m/m.

### 9.4. Fortolkning

9.4.1. Der er ikke valle til stede, hvis det relative areal af top III,  $S_{III}$  [E], udtrykt i gram løbevalle pr. 100 gram produkt er  $\leq 2,0 + (S_{III}[0] - 0,9)$ ,

hvor

2,0	er den højst tilladte værdi for det relative areal af top III; der er her taget hensyn til det relative gennemsnitlige areal af top III, nemlig 1,3, usikkerheden som følge af variationer i skummetmælkspulverets sammensætning og metodens reproducerbarhed (9.3.2)
$(S_{III}[0] - 0,9)$	er korrektionen, når arealet $S_{III}[0]$ afviger fra 0,9 (jf. punkt 9.2)

9.4.2. Hvis det relative areal af top III,  $S_{III}$  [E] er  $> 2,0 + (S_{III}[0] - 0,9)$  og det relative areal af top II,  $S_{II}$  [E] er  $\leq 160$ , beregnes indholdet af løbevalle som angivet i punkt 9.2.

9.4.3. Hvis det relative areal af top III,  $S_{III}$  [E] er  $> 2,0 + (S_{III}[0] - 0,9)$  og det relative areal af top II,  $S_{II}$  [E] er  $\leq 160$ , bestemmes det samlede proteinindhold (P %); herefter undersøges figur 1 og 2.

9.4.3.1. De tal, der fremkommer efter analyse af prøver af uforfalsket skummetmælkspulver med et højt samlet proteinindhold, er anført i figur 1 og 2.

Den fuldt optrukne linje svarer til regressionslinjen, for hvilken koefficienterne beregnes ved hjælp af de mindste kvadraters metode.

Med den stiplede linje fastsættes den øvre grænse for det relative areal af top III med en sandsynlighed for ikke at blive overskredet i 90 % af tilfældene.

Ligningerne for de stiplede linjer i figur 1 og 2 er henholdsvis lig med:

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

hvor

$S_{III}$  er det relative areal af top III beregnet enten på grundlag af det samlede proteinindhold eller på grundlag af det relative areal af top  $S_{II}$  [E],

P % er det samlede proteinindhold udtrykt som vægtprocent

$S_{II}$  [E] er det i punkt 9.1.2 beregnede relative areal af prøven.

Disse ligninger svarer til det i punkt 9.2 anførte tal 1,3.

Forskellen ( $T_1$  og  $T_2$ ) mellem det fundne relative areal  $S_{III}$  [E] og det relative areal  $S_{III}$  fremgår af følgende ligninger:  $T_1 = S_{III}[E] - [(0,376 P \% - 10,7) + (S_{III}[0] - 0,9)]$   $T_2 = S_{III}[E] - [(0,0123 S_{II}[E] + 0,93) + (S_{III}[0] - 0,9)]$

9.4.3.2. Hvis  $T_1$  og/eller  $T_2$  er mindre end eller lig med nul, kan et indhold af løbevalle ikke påvises.

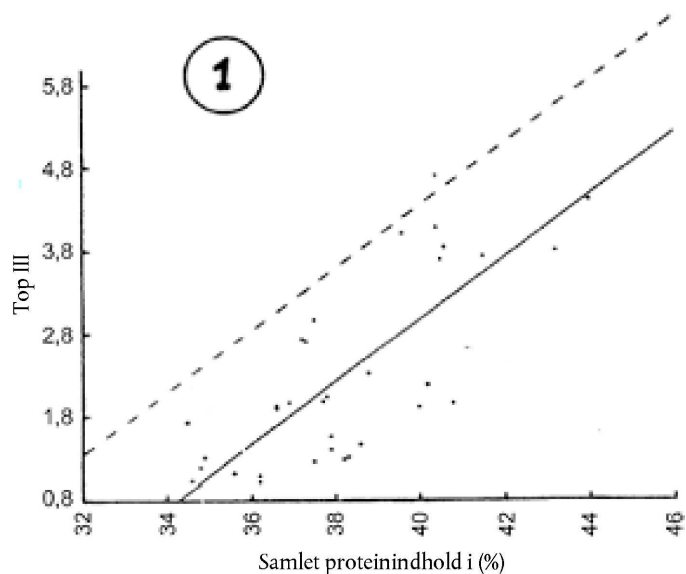
Hvis  $T_1$  og  $T_2$  er større end nul, kan det slutes, at der er løbevalle til stede.

Løbevalleindholdet beregnes ved hjælp af følgende formel:  $W = T_2 + 0,91$

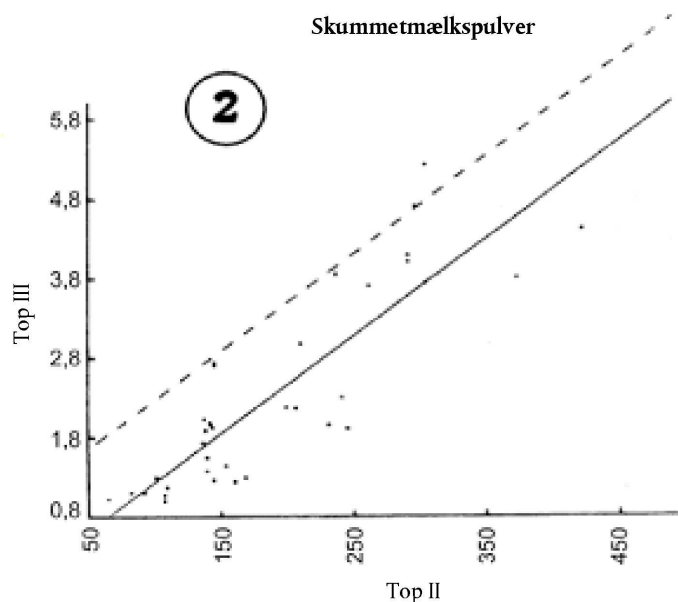
hvor:

0,91 svarer til den lodrette afstand mellem den fuldt optrukne linje og den stiplede linje.

#### Skummetmælkspulver



#### Skummetmælkspulver



## Tillæg III

**BESTEMMELSE AF LØBEVALLETØRSTOF I SKUMMETMÆLKSPULVER**

1. FORMÅL: PÅVISNING AF TILSÆTNING AF LØBEVALLETØRSTOF TIL SKUMMETMÆLKSPULVER

2. REFERENCER: INTERNATIONAL STANDARD ISO 707

3. DEFINITION

Indholdet af løbevalletørstof defineres som indholdet udtrykt i vægtprocent ved bestemmelse af indholdet af kaseinmakropeptider ved den beskrevne fremgangsmåde.

4. PRINCIP

Prøver analyseres for kaseinmakropeptid A ved højtryksvæskerkromatografi med omvendt fase (HPLC-metoden). Vurdering af resultatet i forhold til standardprøver af skummetmælkspulver med og uden et kendt procentvist indhold af vallepulver. Resultater over 1 % (m/m) er tegn på, at der er løbevalletørstof til stede.

5. REAGENSER

Alle reagenser skal være af anerkendt analysekvalitet. Der anvendes destilleret vand eller vand af mindst tilsvarende renhed. Acetonitril skal være af spektroskopisk kvalitet eller HPLC-kvalitet.

5.1. **Trichloreddikesyreopløsning**

240 g trichloreddikesyre ( $\text{CCl}_3\text{COOH}$ ) opløses i vand og fortyndes til 1 000 ml. Opløsningen skal forblive klar og farveløs.

5.2. **Elueringsvæske A og B**

Elueringsvæske A: 150 ml acetonitril ( $\text{CH}_3\text{CN}$ ), 20 ml isopropanol ( $\text{CH}_3\text{CHOHCH}_3$ ) og 1,00 ml trifluoredikesyre (TFA,  $\text{CF}_3\text{COOH}$ ) blandes i en 1 000 ml målekolbe. Derefter fyldes op til 1 000 ml med vand.

Elueringsvæske B: 550 ml acetonitril, 20 ml isopropanol og 1,00 ml TFA blandes i en 1 000 ml målekolbe. Derefter fyldes op til 1 000 ml med vand. Før brugen filtreres elueringsvæsken gennem et membranfilter med porestørrelse 0,45  $\mu\text{m}$ .

5.3. **Opbevaring af kolonnen**

Efter analyserne skylles kolonnen med elueringsvæske B (under anvendelse af en gradient), og derefter skylles den med acetonitril (under anvendelse af en gradient i 30 minutter). Kolonnen opbevares i acetonitril.

5.4. **Standardprøver**

5.4.1. Skummetmælkspulver, der opfylder kravene til offentlig oplagring, benævnt [0].

5.4.2. Samme pulver tilsat 5 % (m/m) løbevallepulver med normal sammensætning, benævnt [5].

5.4.3. Samme pulver tilsat 50 % (m/m) løbevallepulver med normal sammensætning, benævnt [50].

6. APPARATUR

6.1. **Analysevægt**

6.2. **Centrifuge, der kan præstere en centrifugalkraft på 2 200 g, med tilhørende lukkede centrifugeglas på ca. 50 ml.**

6.3. **Mekanisk rysteapparat**

6.4. **Magnetomrører**

6.5. **Glastragte med diameter på ca. 7 cm**

- 6.6. **Filtrerpapir, mellemfint, med diameter på ca. 12,5 cm**
- 6.7. **Filtreringsudstyr af glas med tilhørende membranfiltre med porestørrelse 0,45 µm**
- 6.8. **Målepipetter på 10 ml (ISO 648, klasse A, eller ISO/R 835) eller et dispenseringsystem, som muliggør gennembløb af 10,0 ml på 2 min.**
- 6.9. **Dispenseringsystem, som muliggør gennembløb af 20,0 ml vand ved ca. 50 °C**
- 6.10. **Termostatstyret vandbad indstillet på 25 ± 0,5 °C**
- 6.11. **HPLC-udstyr bestående af:**
  - 6.11.1. *Binært gradientpumpesystem*
  - 6.11.2. *Manuel eller automatisk injektionsenhed på 100 µl*
  - 6.11.3. *En Agilent Technologies Zorbax 300 SB-C3-kolonne (længde: 25 cm, indvendig diameter: 0,46 cm) eller en tilsvarende bredporet siliciumbaseret kolonne med omvendt fase*
  - 6.11.4. *Termostatstyret kolonneovn indstillet på 35 ± 1 °C*
  - 6.11.5. *UV-detektor med variabel bølgelængde, hvormed der ved 210 nm kan måles med en følsomhed på 0,02 Å (om nødvendigt kan en større bølgelængde på op til 220 nm benyttes).*
  - 6.11.6. *Integrator, der kan integrere til en fælles basislinje eller over de enkelte toppe*

*Bemærkning:* Der kan arbejdes med kolonnen ved stuetemperatur, hvis stuetemperaturen ikke svinger med mere end 1 °C. I modsat fald vil der være for stor variation i retentionstiden for  $CMP_A$ .

## 7. PRØVEUDTAGNING

- 7.1. **Prøveudtagningen sker efter metoden i den internationale standard ISO 707. Medlemsstaterne kan dog anvende en anden metode til prøveudtagning, hvis den følger principperne i ovennævnte standard.**
- 7.2. **Prøven opbevares under sådanne forhold, at der hverken kan ske ødelæggelse eller ændring af sammensætningen.**

## 8. FREMGANGSMÅDE

### 8.1. Forberedelse af prøven

Pulveret overføres til en beholder, der er cirka dobbelt så stor som pulverets volumen, og som har et lufttæt låg. Beholderen lukkes straks. Mælkepulveret blandes omhyggeligt ved, at beholderen vendes flere gange rundt.

### 8.2. Analyseprøve

I et centrifugeglas (6.2) eller en tilproppet kolbe (50 ml) afvejes 2,00 ± 0,001 g analyseprøve.

*Bemærkning:* Når det drejer sig om blandinger, afvejes en sådan mængde af analyseprøven, at den affedtede prøve svarer til 2,00 g.

### 8.3. Fjernelse af fedtstoffer og proteiner

- 8.3.1. *Der sættes 20,0 ml 50 °C varmt vand til analyseprøven. Pulveret opløses ved omrøring i 5 min. med et rysteapparat (6.3). Reagensglasset anbringes i vandbadet (6.10), og det afventes, at der indtræder en ligevægt ved 25 °C.*
- 8.3.2. *I løbet af 2 min. tilsættes 10,0 ml trichloreddikesyreopløsning (5.1) på 25 °C under kraftig omrøring med magnetomrøreren (6.4). Reagensglasset anbringes i vandbadet (6.10), hvori det henstår i 60 minutter.*
- 8.3.3. *Der centrifugeres (6.2) ved 2 200 g i 10 min. eller filtreres gennem papirfilter (6.6), idet de første 5 ml filtrat bortkastes.*



#### 8.4. Kromatografisk bestemmelse

- 8.4.1. HPLC-metoden med omvendt fase udelukker muligheden for falsk positive resultater på grund af tilstedeværelsen af syret kærnemælkspulver.
- 8.4.2. Før HPLC-analysen med omvendt fase gennemføres, må gradientbetingelserne optimeres. En retentionstid på 26 minutter  $\pm$  2 minutter for  $CMP_A$  er optimal for gradientsystemer med et dødvolumen på ca. 6 ml (volumenet fra det punkt, hvor opløsningerne blandes, til det punkt, hvor injektionssløjfen slutter). For gradientsystemer med et mindre dødvolumen (f.eks. 2 ml) bruges 22 minutter som optimal retentionstid.

Der anvendes opløsninger af standardprøverne (5.4) uden og med 50 % løbevalle.

Af supernatanten eller filtratet (8.3.3) indsprøjtes 100  $\mu$ l i HPLC-apparatet under anvendelse af de kontrolgradientvilkår, der fremgår af tabel 1.

Tabel 1

#### Kontrolgradientvilkår for optimering af kromatografien

Tid (min.)	Gennemstrømning (ml/min)	% A	% B	Kurve
Start	1,0	90	10	*
27	1,0	60	40	lineær
32	1,0	10	90	lineær
37	1,0	10	90	lineær
42	1,0	90	10	lineær

Sammenligning af de to kromatogrammer vil vise beliggenheden af toppen af  $CMP_A$ .

Ved anvendelse af nedenstående formel kan den oprindelige sammensætning af den opløsning, der skal bruges til den normale gradient (se 8.4.3), beregnes:  $\% B = 10 - 2,5 + (13,5 + (RT_{CMP_A} - 26)/6) * 30/27$   $\% B = 7,5 + (13,5 + (RT_{CMP_A} - 26)/6) * 1,11$

hvor:

$RT_{CMP_A}$ : retentionstiden for  $CMP_A$  ved anvendelse af kontrolgradienten

10: den oprindelige % B af kontrolgradienten

2,5: % B midtvejs minus % B ved begyndelsen ved anvendelse af den normale gradient

13,5: midtvejspunkt for kontrolgradienten

26: den krævede retentionstid for  $CMP_A$

6: hældningskoefficient for kontrolgradienten og den normale gradient

30: % B på begyndelsestidspunktet minus % B efter 27 minutter ved anvendelse af kontrolgradienten

27: varighed for kontrolgradienten

#### 8.4.3. Der udtages opløsninger af analyseprøverne.

Af supernatanten eller filtratet (8.3.3) indsprøjtes en nøjagtigt afmålt mængde på 100  $\mu$ l i HPLC-apparatet under en gennemstrømningshastighed på 1,0 ml elueringsvæske (5.2) pr. minut.

Sammensætningen af elueringsvæsken ved analysens begyndelse opnås fra 8.4.2. Den er normalt tæt på A: B = 76:24 (5.2). Umiddelbart efter indsprøjtningen startes en lineær gradient, således at B bliver 5 % højere efter 27 minutter. Derefter startes en lineær gradient, hvorved elueringsvæskens indhold af B kommer op på 90 % i løbet af 5 minutter. Denne sammensætning opretholdes i 5 minutter, hvorefter sammensætningen i løbet af 5 minutter ændres ved hjælp af en lineær gradient til den oprindelige sammensætning. Afhængigt af pumpe-systemets indre volumen kan den næste indsprøjtning foretages 15 minutter efter de oprindelige betingelser.

*Bemærkning 1.* Retentionstiden for  $CMP_A$  bør være 26 minutter  $\pm$  2 minutter. Dette kan opnås ved at ændre begyndelses- og slutbetingelserne for den første gradient. Imidlertid skal forskellen i % B for begyndelses- og slutbetingelserne for den første gradient fortsat være 5 % B.

*Bemærkning 2.* Elueringsvæskerne må afgasses tilstrækkeligt og skal forblive afgassede. Dette er vigtigt for gradientpumpesystemets tilfredsstillende virkning. Standardafvigelsen for retentionstiden for  $CMP_A$ -toppen skal være på under 0,1 min. ( $n = 10$ ).

*Bemærkning 3.* Efter hver femte prøve skal referenceprøven [5] indsprøjtes og benyttes til beregning af en ny responsfaktor R (9.1.1).

- 8.4.4. *Resultaterne af kromatograferingen af analyseprøven [E] foreligger i form af et kromatogram, hvor  $CMP_A$ -toppen identificeres ved sin retentionstid på ca. 26 minutter.*

Integratoren (6.11.6) beregner automatisk  $CMP_A$ -toppens højde. Basislinjens beliggenhed skal kontrolleres for hvert kromatogram. Analysen eller integrationen skal gentages, hvis basislinjens beliggenhed ikke er korrekt.

*Bemærkning:* Hvis  $CMP_A$ -toppen er tilstrækkelig adskilt fra andre toppe, bør der anvendes dal-til-dal integration, ellers anvendes linjer vinkelret på en fælles basislinje, hvis startpunkt skal ligge tæt på  $CMP_A$ -toppen (dvs. ikke ved  $t = 0$  min!). For standardprøven og prøverne anvendes samme integrationstype, og ved anvendelse af fælles basislinje kontrolleres det, at den er den samme for prøverne og standardprøven.

For at afsløre eventuelle afvigelser enten som følge af, at apparaturet eller kolonnerne ikke har fungeret tilfredsstillende, eller på grund af den analyserede prøves oprindelse eller art må alle kromatogrammer bedømmes visuelt, før en kvantitativ tolkning påbegyndes. I tvivlstilfælde gentages analysen.

## 8.5. Kalibrering

- 8.5.1. *Med standardprøverne (5.4.1 og 5.4.2) følges den i punkt 8.2 til 8.4.4 beskrevne fremgangsmåde nøje. Der benyttes frisk fremstillede opløsninger, da  $CMP$  nedbrydes i 8 % trichloredikesyreopløsning ved stuetemperatur. Ved 4 °C forbliver opløsningen stabil i 24 timer. Skal der foretages en lang række analyser, er det ønskeligt at anvende en kølet prøvebakke i den automatiske injektor.*

*Bemærkning:* 8.4.2 kan udelades, hvis % B på begyndelsesbetingelserne er kendt fra tidligere analyser.

Kromatogrammet for referenceprøven [5] skal svare til figur 1. På denne figur er der inden  $CMP_A$ -toppen to små toppe. Det er vigtigt at opnå en lignende separation.

- 8.5.2. *Før den kromatografiske bestemmelse af prøverne indsprøjtes 100 µl af standardprøven uden løbevalle [0] (5.4.1).*

Kromatogrammet må ikke indeholde nogen top ved retentionstiden for  $CMP_A$ -toppen.

- 8.5.3. *Kalibreringsfaktorerne R bestemmes ved at indsprøjte filtrat (8.5.1) i samme mængde som prøverne.*

## 9. ANGIVELSE AF RESULTATER

### 9.1. Beregningsmetode og formler

- 9.1.1. *Beregning af responsfaktoren R:*

$$CMP_A\text{-toppen: } R = W/H$$

hvor:

R = responsfaktoren for  $CMP_A$ -toppen

H = højden af  $CMP_A$ -toppen

W = mængden af valle i standardprøven [5].

## 9.2. Beregning af det procentvise indhold af løbevallepulver i prøven

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

hvor:

$W(E)$  = indholdet af løbevalle i prøven [E], i % m/m

$R$  = responsfaktoren for  $CMP_A$ -toppen (9.1.1)

$H(E)$  = højden af  $CMP_A$ -toppen af prøven [E].

Hvis  $W(E)$  er større end 1 % og forskellen mellem retentionstiden og retentionstiden for standardprøven [5] er mindre end 0,2 min., er der løbevalletørstof til stede.

## 9.3. Metodens nøjagtighed

### 9.3.1. Repeterbarhed

Forskellen mellem resultaterne af to bestemmelser, der er udført samtidig eller med kort tids mellemrum af samme person, med samme apparatur og på samme prøve, må ikke overstige 0,2 % m/m.

### 9.3.2. Reproducerbarhed

Ikke fastslået.

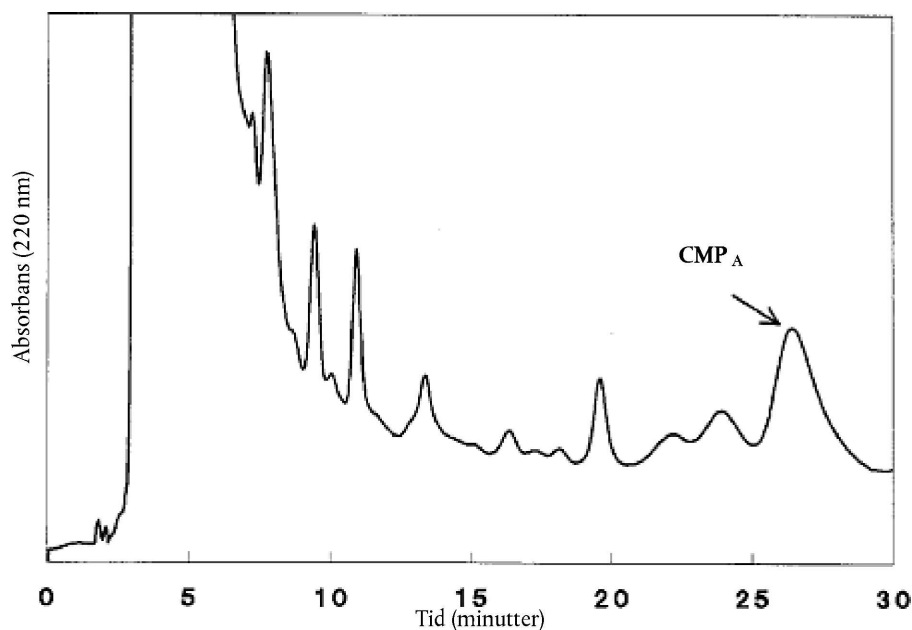
### 9.3.3. Linearitet

For mellem 0 og 16 % løbevalle skal der opnås en lineær sammenhæng med en korrelationskoefficient  $> 0,99$ .

## 9.4. Fortolkning

Grænsen på 1 % omfatter usikkerheden i forbindelse med reproducerbarhed.

Figur 1  
Ni—4.6 standard



(\*) International IDF-standard 135B/1991. Milk and milk products. Precision characteristics of analytical methods. Outline of collaborative study procedure.«

3) Følgende bilag tilføjes:

»BILAG VI

### Analysemetoder for smør i privat oplagring

Parameter	Metode
Fedtstof <sup>(1)</sup>	ISO 17189 eller ISO 3727 del 3
Vand	ISO 3727 del 1
Fedtfri tørstof, (ekskl. salt)	ISO 3727 del 2
Salt	ISO 15648

<sup>(1)</sup> Metoden, der anvendes, skal godkendes af betalingsorganet.

BILAG VII

### Analysemetoder for skummetmælkspulver i privat oplagring

Parameter	Metode
Fedtstof	ISO 1736
Protein	ISO 8968 del 1
Vand	ISO 5537

## BILAG VIII

**Analysemetoder for ost i privat oplagring**

1. Den i tillægget fastsatte referenceanalysemetode skal benyttes for at sikre, at ost udelukkende fremstillet af fåre-, gede- eller bøffelmælk eller af blandinger af fåre-, gede- og bøffelmælk ikke indeholder komælkskasein.

Komælkskasein anses for at være til stede, hvis indholdet af komælkskasein i den analyserede prøve er lig med eller overstiger indholdet i referenceprøven med 1 % komælk, jf. tillægget.

2. Til påvisning af komælkskasein i de i stk 1 omhandlede ostetyper kan bestemte metoder anvendes, forudsat at:

- a) påvisningsgrænsen højst er 0,5 %
- b) der ikke forekommer falsk positive resultater
- c) komælkskaseinet er påviseligt med den fornødne følsomhed selv efter lange modningsperioder, som det kan være tilfældet under almindelige handelsforhold.

Hvis et af ovenstående krav ikke er opfyldt, anvendes de metoder, der er fastsat i tillægget.

---

## Tillæg

**METODE TIL PÅVISNING AF KOMÆLK OG KOMÆLSKASEINAT I OST FREMSTILLET AF FÅRE-, GEDE-  
ELLER BØFFELMÆLK ELLER AF BLANDINGER AF FÅRE-, GEDE- OG BØFFELMÆLK**

## 1. FORMÅL

Påvisning af komælk og komælkskaseinat i ost fremstillet af fåre-, gede- eller bøffelmælk eller af blandinger af fåre-, gede- og bøffelmælk ved isoelektrisk fokusering af  $\gamma$ -kaseiner efter plasminolyse.

## 2. ANVENDELSESOMRÅDE

Metoden er egnet til følsom og specifik påvisning af rå og varmebehandlet komælk og komælkskaseinat i frisk og modnet ost fremstillet af fåre-, gede- eller bøffelmælk eller af blandinger af fåre-, gede- og bøffelmælk. Den er ikke egnet til påvisning af, om mælk og ost er forfalsket med varmebehandlede kovalleproteinkoncentrater.

## 3. METODEPRINCIP

## 3.1. Isolering af kaseiner fra ost og referenceopløsninger

## 3.2. Opløsning af isolerede kaseiner, som derefter underkastes plasminspaltning (EC.3.4.21.7).

## 3.3. Isoelektrisk fokusering af de plasminbehandlede kaseiner i tilstedeværelse af urea og farvning af proteinerne.

3.4. Vurdering af de farvede  $\gamma_3$ - og  $\gamma_2$ -kaseinmønstre (tegn på komælk) ved sammenligning af mønstret fra prøven med dem, der fremkom i samme gel fra referenceopløsninger med 0 % og 1 % komælk.

## 4. REAGENSER

Medmindre andet er angivet, skal der anvendes kemikalier af analysekvalitet. Vandet skal være dobbeltdestilleret eller af tilsvarende renhed.

*Bemærkning:* Nedenstående detaljer gælder for laboratoriefremstillede polyacrylamidgeler, der indeholder urea, af størrelsen 265 × 125 × 0,25 mm. Hvis der bruges gel af en anden størrelse eller type, skal separationsbetingelserne måske justeres.

***Isoelektrisk fokusering***

## 4.1. Reagenser til fremstilling af polyacrylamider, der indeholder urea

## 4.1.1. Stamopløsning

4,85 g acrylamid

0,15 g N, N'-metylen-bis-acrylamid (BIS)

48,05 g urea

15,00 g glycerol (87 % w/w)

opløses i vand, og der fyldes op til 100 ml. Opbevares i brun flaske i køleskab.

*Bemærkning:* En forblandet acrylamid/BIS-opløsning, der fås i handelen, kan anvendes i stedet for de anførte afvejede mængder af neurotoksiske acrylamider. Hvis en sådan opløsning indeholder 30 % w/v acrylamid og 0,8 % w/v BIS, skal der bruges et volumen på 16,2 ml i formuleringen i stedet for de angivne vægte. Stamopløsningens holdbarhed er højst 10 døgn. Hvis dens ledningsevne er over 5  $\mu$ S, afioniseres den ved omrøring med 2 g Amberlite MB-3 i 30 minutter og filtreres derefter gennem en 0,45  $\mu$ m membran.

#### 4.1.2. *Gelopløsning*

Der laves en gelopløsning ved blanding af additiver og amfolytter (\*) med stamopløsningen (4.1.1).

9,0 ml stamopløsning

24 mg  $\beta$ -alanin

500  $\mu$ l amfolyt pH 3,5-9,5

250  $\mu$ l amfolyt pH 5-7

250  $\mu$ l amfolyt pH 6-8.

Gelopløsningen blandes og afgasses i 2-3 minutter i et ultralydsbad eller i vakuum.

*Bemærkning:* Gelopløsningen laves straks før ophældningen (6.2).

#### 4.1.3. *Katalysatoropløsninger*

##### 4.1.3.1. N, N, N'N'-tetrametylendiamin (TEMED)

##### 4.1.3.2. 40 % w/v ammoniumpersulfat (PER):

800 mg PER opløses i vand, og der fyldes op til 2 ml.

*Bemærkning:* Der skal altid bruges frisklavet PER-opløsning.

#### 4.2. **Kontaktvæske**

Petroleum eller flydende paraffin.

#### 4.3. **Anodeopløsning**

5,77 g fosforsyre (85 % w/w) opløses i vand og fortyndes til 100 ml med vand.

#### 4.4. **Katodeopløsning**

2,00 natriumhydroxid opløses i vand og fortyndes til 100 ml med vand.

#### ***Forberedelse af prøven***

#### 4.5. **Reagenser til proteinisolering**

##### 4.5.1. *Fortyndet eddikesyre (25,0 ml iseddike fortyndet til 100 ml ved vand).*

##### 4.5.2. *Dichlormethan*

##### 4.5.3. *Acetone.*

#### 4.6. **Proteinopløsende buffer**

5,75 g glycerol (87 % w/w)

24,03 g urea

250 mg dithiothreitol

opløses i vand, og der fyldes op til 50 ml.

*Bemærkning:* Opbevares i køleskab — holdbarhed 1 uge.

#### 4.7. Reagenser til plasminspaltning af kaseiner

##### 4.7.1. Ammoniumcarbonatbuffer

En 0,2 mol/l ammoniumhydrogencarbonatopløsning (1,58 g/100 ml vand) med 0,05 mol/l ethylendiamintetraeddikesyre (EDTA, 1,46 g/100 ml) titreres med en 0,2 mol/l ammoniumcarbonatopløsning (1,92 g/100 ml vand) med 0,05 mol/l EDTA til pH 8.

##### 4.7.2. Bovin plasmin (EC. 3.4.21.7), aktivitet mindst 5 U/ml

##### 4.7.3. $\epsilon$ -Aminocaprønsyre til enzymhæmning

2,624 g  $\epsilon$ -aminocaprønsyre (6-amino-n-heksanonisyre) opløses i 100 ml 40 % (v/v) ethanol.

#### 4.8. Standardopløsninger

##### 4.8.1. Godkendte referenceopløsninger af en blanding af løbebehandlet skummet fåre- og gedemælk indeholdende 0 % og 1 % komælk kan fås hos Kommissionen, Institutet for Referencemålinger og -Materialer, B-2440 Geel, Belgien.

##### 4.8.2. Fremstilling af midlertidige laboratoriestandardopløsninger af løbebehandlet bøffelmælk indeholdende 0 % og 1 % komælk.

Skummetælken fremstilles ved centrifugering af bøffelmælk eller rå tankkomælk ved 37 °C ved 2 500 g i 20 minutter. Efter hurtig afkøling af glas og indhold til 6-8 °C fjernes det øverste fedtlag fuldstændigt. Til fremstilling af 1 %-standardopløsningen tilsættes 5,00 ml skummet komælk til 495 ml skummet bøffelmælk i et 1 l bæger. pH-værdien justeres til 6,4 ved tilsætning af fortyndet mælkesyre (10 % w/v). Temperaturen justeres til 35 °C, og 100  $\mu$ l kalveløbe tilsættes (løbeaktivitet: 1:10 000, ca. 3 000 U/ml). Der omrøres i et minut, hvorefter opløsningen henstår tildækket med alufolie ved 35 °C i en time, så ostemassen kan dannes. Når ostemassen er dannet, frysetørres al den løbebehandlede sødmælk uden forudgående homogenisering eller afdræning af vollen. Efter frysetørringen formales produktet, så der fremkommer et homogent pulver. Til fremstilling af 0 %-standardopløsningen følges samme metode med brug af skummet bøffelmælk. Standardopløsningerne skal opbevares ved -20 °C.

*Bemærkning:* Det kan tilrådes at kontrollere bøffelmælkenes renhed ved isoelektrisk fokusering af de plasminbehandlede kaseiner, inden standardopløsningerne fremstilles.

#### Reagenser til proteinfarvning

##### 4.9. Fikservæske

150 g trichloreddikesyre opløses i vand, og der fyldes op til 1 000 ml.

##### 4.10. Affarvningsopløsning

500 ml methanol og 200 ml iseddike fortyndes til 2 000 ml med destilleret vand.

*Bemærkning:* Affarvningsopløsningen frisklaves hver dag. Den kan fremstilles ved at blande lige store mængder stamopløsninger af 50 % (v/v) metanol og 20 % iseddike.

##### 4.11. Farvningsopløsninger

###### 4.11.1. Farvningsopløsning (stamopløsning 1)

3,0 g Coomassie Brilliant Blue G-250 (C.I. 42655) opløses i 1 000 ml 90 % (v/v) methanol ved hjælp af en magnetisk omrører (ca. 45 minutter) og filtreres gennem to middelhastigheds-foldefiltre.

###### 4.11.2. Farvningsopløsning (stamopløsning 2)

5,0 g kobbersulfatpentahydrat opløses i 1 000 ml 20 % (v/v) eddikesyre.

###### 4.11.3. Farvningsopløsning (arbejdsopløsning)

125 ml af hver af stamopløsningerne (4.11.1, 4.11.2) sammenblandes umiddelbart før farvningen.

*Bemærkning:* Farvningsopløsningen bør laves samme dag, den skal bruges.



5. APPARATUR
- 5.1. **Glasplader (265 × 125 × 4 mm), gummirulle (bredde 15 cm) og vandret flade**
- 5.2. **Gelbærefolie (265 × 125 mm)**
- 5.3. **Dækfolie (280 × 125 mm). Der anbringes en strimmel klæbebånd (280 × 6 × 0,25 mm) på hver langside (jf. figur 1)**
- 5.4. **Elektrofokuseringskammer med køleplade (f.eks. 265 × 125 mm) og egnet spændingskilde ( $\geq 2,5$  kV) eller automatisk elektroforeseapparat**
- 5.5. **Cirkulationskryostat, termostatstyret ved  $12 \pm 0,5$  °C**
- 5.6. **Centrifuge, justerbar til 3 000 g**
- 5.7. **Elektrodestrimler (længde  $\geq 265$  mm)**
- 5.8. **Plastråbetæller til anode- og katodeopløsninger**
- 5.9. **Analyseprøveapplikatorer (10 × 5 mm, viskose- eller lavproteinabsorberingsfilterpapir)**
- 5.10. **Farvnings- og affarvningskåle (f.eks. 280 × 150 mm instrumentbakker) af rustfrit stål eller glas**
- 5.12. **Justerbar stanghomogenisator (10 mm diameter), skala 8 000-20 000 rpm**
- 5.13. **Magnetomrører**
- 5.14. **Ultralydsbad**
- 5.15. **Filmsvejser**
- 5.16. **25 µl mikropipetter**
- 5.17. **Vakuumpkoncentrator eller frysetørret**
- 5.18. **Termostatstyret vandbad, der kan indstilles til 35 og  $40 \pm 1$  °C, med rysteaggregat**
- 5.19. **Densitometerudstyr med aflæsning ved  $\lambda = 634$  nm.**

## 6. FREMGANGSMÅDE

### 6.1. Forberedelse af prøven

#### 6.1.1. Isolering af kaseiner

En mængde svarende til 5 g tør ostemasse eller standardopløsninger afvejes i et 100 ml centrifugeglas. Der tilsættes 60 ml destilleret vand og homogeniseres med en stanghomogenisator (8 000-10 000 rpm). pH-værdien justeres til 4,6 med fortyndet eddikesyre (4.5.1), og der centrifugeres (5 minutter, 3 000 g). Fedtet og vallen afhældes, restindholdet homogeniseres i 40 ml destilleret vand (pH-værdien justeret til 4,5 med fortyndet eddikesyre (4.5.1)) ved 20 000 rpm. Der tilsættes 20 ml dichlormethan (4.5.2), homogeniseres igen og centrifugeres (5 minutter, 3 000 g). Kaseinlaget, der flyder mellem den vandige og den organiske fase (jf. figur 2), fjernes med en spatel, og begge faser afhældes. Kaseinet homogeniseres igen i 40 ml destilleret vand (som ovenfor) og 20 ml dichlormethan (4.5.2), og der centrifugeres. Dette gentages, indtil begge ekstraktionsfaser er farveløse (2-3 gange). Proteinresterne homogeniseres med 50 ml acetone (4.5.3) og filtreres gennem et middelhastigheds-foldefilterpapir. Resterne vaskes på filtret med to særskilte portioner acetone på hver 25 ml og henstår til tørring i luft eller en kvælstofstrøm, hvorefter de finknuses i en morter.

*Bemærkning:* Tørre kaseinisolater bør opbevares ved  $-20$  °C.

#### 6.1.2. Plasminspaltning af $\beta$ -kaseiner for at intensivere $\gamma$ -kaseiner

25 mg isoleret kasein (6.1.1) opslæmmes i 0,5 ml ammoniumcarbonatbuffer (4.7.1) og homogeniseres i 20 minutter, f.eks. ved ultralydsbehandling. Der opvarmes til 40 °C og tilsættes 10 µl plasmin (4.7.2), blandes og inkuberes i en time ved 40 °C under stadig omrystning. Til hæmning af enzymer tilsættes 20 µl  $\epsilon$ -aminokapronsyre (4.7.3) og derefter yderligere 200 mg fast urea og 2 mg ditionitrol.

*Bemærkning:* For at få større symmetri i de fokuserede kaseinbånd kan det tilrådes at frysetørre opløsningen efter tilsætningen af  $\epsilon$ -aminocapronsyre og derefter opløse resterne i 0,5 ml ureabuffer (4.6).

## 6.2. Fremstilling af polyacrylamidgeler, der indeholder urea

Gelbærefolien (5.2) rulles med et par dråber vand ud på en glasplade (5.1), og eventuelt overskydende vand fjernes med papirhåndklæde- eller serviet. Dækfolien (5.3) udrulles med afstandsstykker (0,25 mm) på en anden glasplade på samme måde. Pladen anbringes plant på en vandret flade. Pladen anbringes plant på en vandret flade.

10 µl TEMED (4.1.3.1) tilsættes til den tilberedte, afgassede gelopløsning (4.1.2), og efter omrystning 10 µl PER-opløsning (4.1.3.2). Opløsningen blandes grundigt og hældes straks derefter jævnt ud på midten af dækfolien. Den ene side af gelbærefolien (med bæresiden nedad) anbringes på dækfoliepladen og sænkes langsomt, således at der dannes sig en gelfilm mellem folierne, som spreder sig regelmæssigt uden bobledannelse (jf. figur 3). Gelbærefolien sænkes forsigtigt helt ned ved hjælp af en tynd spatel, og der lægges endnu tre plader oven på den, der skal tjene som vægte. Når polymeriseringen er fuldstændig (ca. 60 minutter), overføres den polymeriserede gel på gelbærefolien sammen med dækfolien, ved at glaspladerne vipkes. Bærefoliens bagside rengøres omhyggeligt for at fjerne gelrester og urea. Gelsandwichen svejses til et filmglas og opbevares i køleskab (højest 6 uger).

*Bemærkning:* Dækfolien med afstandsstykkerne kan genbruges. Polyacrylamiden kan skæres i mindre størrelser, hvad der kan anbefales, når der kun er få prøver, eller hvis der anvendes et automatisk elektroforeseapparat (2 geler, størrelse 4,5 × 5 cm).

## 6.3. Isoelektrisk fokusering

Køletermostaten indstilles til 12 °C. Gelbærefoliens bagside aftørres med petroleum, hvorefter et par dråber petroleum (4.2) dryppes på midten af køleblokken. Derpå rulles gelsandwichen (med bæresiden nedad) ud på den, men det skal undgås, at der dannes sig bobler. Eventuel overskydende petroleum tørres af, og dækfolien fjernes. Elektrodestrimlerne gennemvædes med elektrodeopløsningerne (4.3 og 4.4), tilskæres i gelens længde og anbringes de givne steder (elektrodeafstand 9,5 cm).

### Fokuseringen foretages på nedenstående betingelser:

#### 6.3.1. Gelstørrelse 265 × 125 × 0,25 mm

Trin	Tid (min.)	Spænding (V)	Strøm (mA)	Effekt (W)	Volttimer (Vh)
1. Præfokusering	30	maksimum 2 500	maksimum 15	konstant 4	ca. 300
2. Prøvefokusering <sup>(1)</sup>	60	maksimum 2 500	maksimum 15	konstant 4	ca. 1 000
3. Slutfokusering	60	maksimum 2 500	maksimum 5	maksimum 20	ca. 3 000
	40	maksimum 2 500	maksimum 6	maksimum 20	ca. 3 000
	30	maksimum 2 500	maksimum 7	maksimum 25	ca. 3 000

<sup>(1)</sup> Prøveapplikation: Efter præfokusering (første trin), afpipetteres 18 µl af prøven og standardopløsningerne over på prøveapplikatorerne (10 × 5 mm), der anbringes med en indbyrdes afstand på 1 mm og 5 mm fra anoden og trykkes let ned. Fokuseringen foretages på ovenstående betingelser, og prøveapplikatorerne borttages forsigtigt efter de 60 minutters prøvefokusering.

*Bemærkning:* Hvis gelens tykkelse eller bredde ændres, skal strøm og effekt justeres herefter (f.eks. fordobles elstrøm og effekt, hvis der benyttes en 265 × 125 × 0,5 mm gel).

- 6.3.2. *Eksempel på et spændingsprogram for et automatisk elektroforeseapparat (2 geler på 5,0 × 4,5 cm); elektroder anbringes uden strimler direkte på gelen:*

Trin	Spænding	Strøm	Effekt	Temperatur	Volttimer
1. Præfokusering	1 000 V	10,0 mA	3,5 W	8 °C	85 Vh
2. Prøvefokusering	250 V	5,0 mA	2,5 W	8 °C	30 Vh
3. Fokusering	1 200 V	10,0 mA	3,5 W	8 °C	80 Vh
4. Fokusering	1 500 V	5,0 mA	7,0 W	8 °C	570 Vh

Prøveapplikatoren anbringes på andet trin ved 0 Vh.

Prøveapplikatoren fjernes på andet trin ved 30 Vh.

#### 6.4. **Proteinfarvning**

##### 6.4.1. *Proteinfiksering*

Elektrodestrimlerne aftages, så snart der er slukket for strømmen, og gelen kommes straks i en farvnings- eller affarvningskål fyldt med 200 ml fikservæske (4.9). Den henstår i 15 minutter, men omrystes af og til.

##### 6.4.2. *Vask og farvning af gelpladen*

Fikservæsken drænes grundigt, og gelpladen vaskes i 30 sekunder to gange med 100 ml affarvningsopløsning (4.10). Affarvningsopløsningen afhældes, og skålen fyldes med 250 ml farvningsopløsning (4.11.3). Man lader farven udvikle sig i 45 minutter under forsigtig omrystning.

##### 6.4.3. *Affarvning af gelpladen*

Farvningsopløsningen afhældes, og gelpladen vaskes med 100 ml affarvningsopløsning (4.10) to gange, hvorefter der omrystes med 200 ml affarvningsopløsning i 15 minutter. Affarvningstrinnet gentages mindst 2-3 gange, indtil baggrunden er klar og ufarvet. Derefter skylles gelpladen med destilleret vand (to gange 2 minutter) og tørres i luft (2-3 timer) eller med en hårtørret (10-15 minutter).

*Bemærkning 1:* Fiksering, vask, farvning og affarvning foretages ved 20 °C. Der må ikke benyttes højere temperaturer.

*Bemærkning 2:* Hvis man foretrækker mere følsom sølvfarvning (f.eks. Silver Staining Kit, Protein, Pharmacia Biotech, Code No. 17-1150-01), skal plasminbehandlede kaseinprøver fortyndes til 5 mg/ml.

## 7. VURDERING

Vurderingen foretages ved sammenligning af proteinmønstrene i den ukendte prøve med referenceprøver på samme gel. Påvisning af komælk i ost fremstillet af fåre-, gede- eller bøffel-mælk eller af blandinger af fåre-, gede- og bøffel-mælk sker via de  $\gamma_3$ - og  $\gamma_2$ -kaseiner, hvis isoelektriske punkter ligger mellem pH 6,5 og pH 7,5 (jf. figur 4a, 4b og 5). Påvisningsgrænsen er under 0,5 %.

### 7.1. **Visuel vurdering**

Med henblik på visuel vurdering af indholdet af komælk kan det tilrådes at justere koncentrationerne af prøve- og standardkoncentrationerne, så der fremkommer samme intensitet af fåre-, gede- og/eller bøffel-  $\gamma_2$ - og  $\gamma_3$ -kaseiner (jf. » $\gamma_2$  E, G, B« og » $\gamma_3$  E, G, B« i figur 4a, 4b og 5). Derefter kan indholdet af komælk (mindre end, lig med eller højere end 1 %) i den ukendte prøve bedømmes direkte ved at sammenligne med intensiteten af de bovine  $\gamma_3$ - og  $\gamma_2$ -kaseiner (jf. » $\gamma_3$  C« og » $\gamma_2$  C« i figur 4a, 4b og 5) med 0 %- og 1 %-standardopløsningen (får, ged) eller midlertidige laboratoriestandardopløsninger (bøffel) analyseret på samme gel.

## 7.2. Densitometrisk vurdering

Om muligt benyttes densitometri (5.19) til bestemmelse af forholdet mellem toparealerne for ko-, fåre-, gede- og/eller bøffel-  $\gamma_2$ - og  $\gamma_3$ -kaseiner i figur 5. Denne værdi sammenlignes med forholdet mellem toparealerne for  $\gamma_2$ - og  $\gamma_3$ -kaseiner i 1 %-standardopløsningen (får, ged) eller midlertidige laboratoriestandardopløsninger (bøffel) analyseret på samme gel.

*Bemærkning:* Metoden fungerer tilfredsstillende, hvis der er et klart, positivt tegn på ko- $\gamma_2$ - og  $\gamma_3$ -kaseiner i 1 %-standardopløsningen, men ikke i 0 %-standardopløsningen. Hvis det ikke er tilfældet, forbedres metoden ved, at den følges ganske nøje i alle detaljer.

En prøve betragtes som positiv, hvis ko- $\gamma_2$ - og  $\gamma_3$ -kaseinerne eller de tilsvarende toparealforhold er lig med eller højere end niveauet for 1 %-standardopløsningen.

## 8. LITTERATURHENVISNINGER

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  $\gamma_2$ -caseins. *Milchwissenschaft* 45, s. 708-711 (1990).

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. *Milchwissenschaft* 50, s. 83-85 (1995).

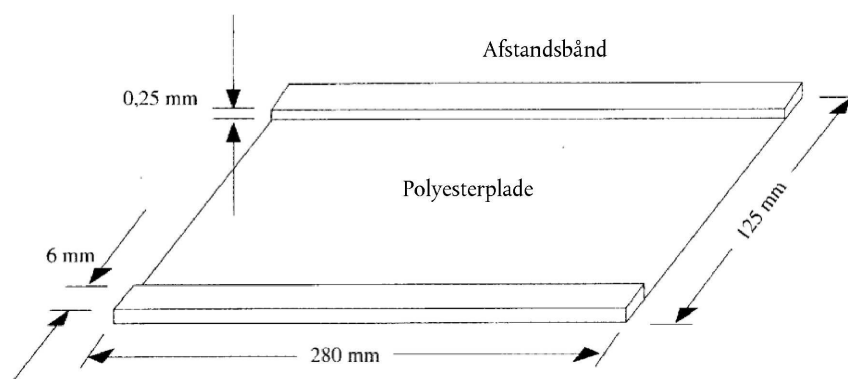
Krause I., Berner I., Klostermeyer H.: Sensitive detection of cow milk in ewe and goat milk and cheese by carrier ampholyte — and carrier ampholyte/immobilized pH gradient — isoelectric focusing of  $\gamma$ -caseins using plasmin as signal amplifier. in: *Electrophoresis-Forum 89* (B. J. Radola, ed.) s. 389-393, Bode-Verlag, München (1989).

Krause I., Belitz H.-D., Kaiser K.-P.: Nachweis von Kuhmilch in Schaf and Ziegenmilch bzw. -käse durch isoelektrische Fokussierung in harnstoffhaltigen Polyacrylamidgelen. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 174, s. 195-199 (1982).

Radola B.J.: Ultrathin-layer isoelectric focusing in 50-100  $\mu$ m polyacrylamide gels on silanised glass plates or polyester films. *Electrophoresis* 1, s. 43-56 (1980).

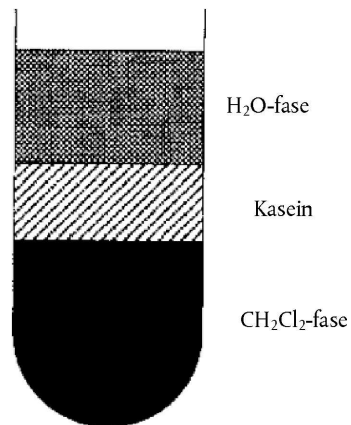
Figur 1

### Skematisk tegning af dækfolie



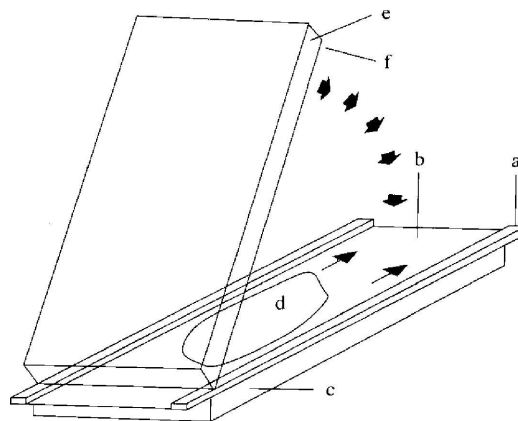
Figur 2

Kaseinlaget, der flyder mellem den vandige og den organiske fase efter centrifugering



Figur 3

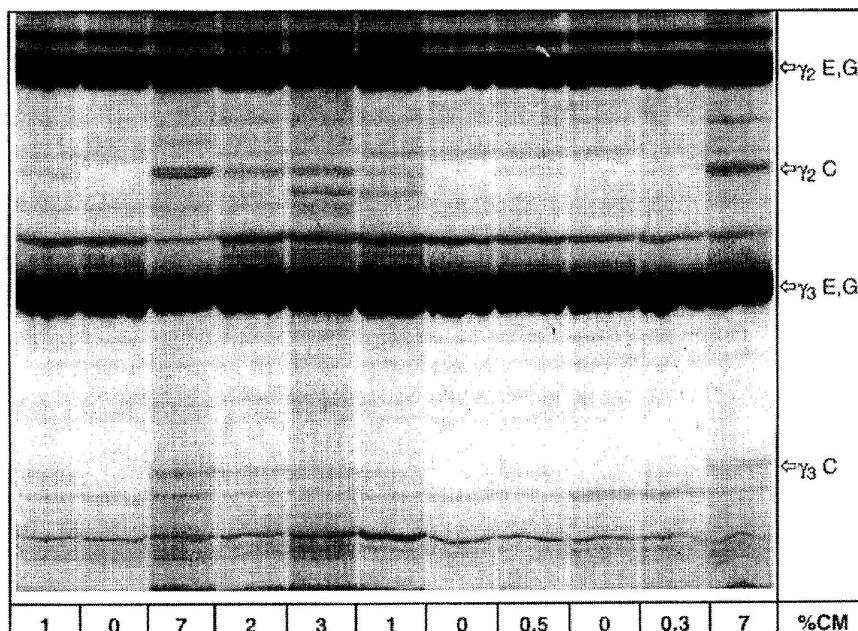
Viftemetode til støbning af ultratynde polyacrylamidgeler



a = afstandsbånd (0,25 mm); b = dækfolie (5.3); c og e = glasplader (5.1); d = gelopløsning (4.1.2); f = gelbærefolie (5.2).

Figur 4a

Isoelektrisk fokusering af plasminbehandlede kaseinater fra ost fremstillet af fåre- eller gedemælk med forskellige mængder komælk

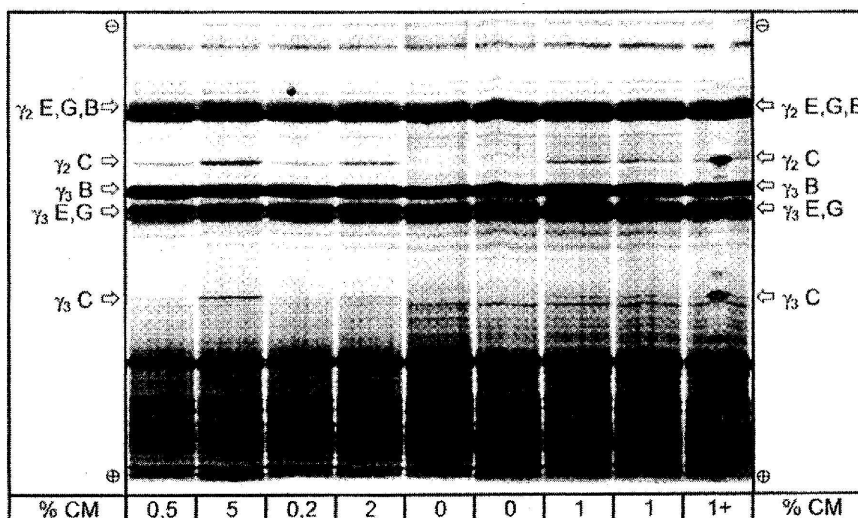


% CM = procent komælk; C = ko; E = får; G = ged.

Den øverste halvdel af IEF-gelen ses.

Figur 4b

Isoelektrisk fokusering af plasminbehandlede kaseinater fra ost fremstillet af blandinger af fåre-, gede- og bøffelmælk med forskellige mængder komælk

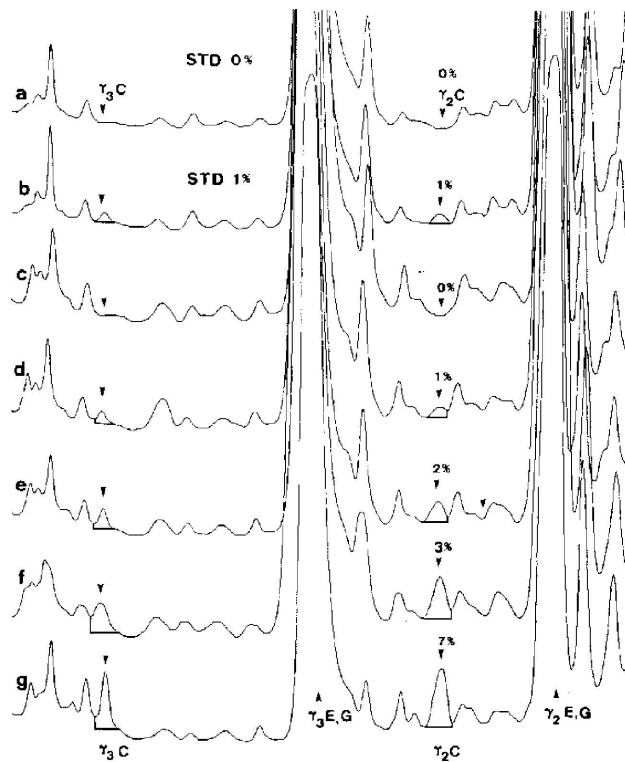


% CM = procent komælk; 1 + = prøve indeholdende 1 % komælk og tilsat rent komælkskasein midt på sporet. C = ko; E = får; G = ged; B = bøffel.

IEF-gelens totale separationsafstand ses.

Figur 5

Overlejring af densitogrammer af standardopløsninger (STD) og osteprøver fra en blanding af fåre- og gedemælk efter isoelektrisk fokusering



a og b = standardopløsninger med 0 og 1 % komælk; c til g = osteprøver med 0, 1, 2, 3 og 7 % komælk; C = ko; E = får; G = ged.

Den øverste halvdel af IEF-gelen er scannet ved  $\lambda = 634$  nm.

## BILAG IX

**Vurdering af analyserne****1. Kvalitetssikring**

Analyser skal foretages i laboratorier, der er udpeget i overensstemmelse med artikel 12 i forordning (EF) nr. 882/2004 (\*\*), eller som er udpeget af medlemsstatens kompetente myndigheder.

**2. Prøveudtagning og bestridelse af analyseresultater**

1. Prøveudtagning foretages i overensstemmelse med den relevante forskrift for det pågældende produkt. Hvis der ikke udtrykkeligt henvises til bestemmelser om prøveudtagning, anvendes bestemmelserne i ISO 707, Mælk og mælkeprodukter. Vejledning om prøveudtagning.
2. Laboratorierapporterne om analyseresultaterne skal indeholde tilstrækkelige oplysninger til at muliggøre en evaluering af resultaterne i overensstemmelse med tillægget.
3. Med henblik på de analyser, der foreskrives i Unionens lovgivning, skal der udtages dobbelte prøver.
4. I tilfælde af uenighed om resultaterne gentager betalingsorganet den nødvendige analyse af det pågældende produkt, og omkostningerne herved afholdes af den tabende part.

Ovennævnte analyse udføres, forudsat at forseglede dobbeltprøver af produktet er til rådighed og har været opbevaret korrekt hos den kompetente myndighed. Producenten fremsender en anmodning til udbetalingsorganet om at foretage analysen inden for 7 arbejdsdage efter meddelelsen af resultaterne af den første analyse. Analysen gennemføres af betalingsorganet senest 21 arbejdsdage efter modtagelsen af anmodningen.

5. Resultatet af denne analyse er endeligt.
6. Hvis producenten senest fem arbejdsdage efter prøveudtagningen kan dokumentere, at prøveudtagningsproceduren ikke er korrekt udført, skal prøveudtagningen om muligt gentages. Hvis en ny prøveudtagning ikke er mulig, accepteres sendingen.

---



## Tillæg

**Vurdering af, om en sending overholder den forskriftsmæssige grænse****1. Princip**

Hvis lovgivningen om offentlig intervention og privat oplagring omfatter detaljerede prøveudtagningsprocedurer, følges disse procedurer. I alle andre tilfælde anvendes der en prøve bestående af mindst 3 prøveenheder udtaget tilfældigt af den sending, der forevises til kontrol. En blandingsprøve kan forberedes. Resultatet sammenlignes med de forskriftsmæssige grænser ved beregning af et konfidensinterval på 95 % som to gange standardafvigelsen, hvor den relevante standardafvigelse afhænger af, 1) om metoden er valideret ved internationalt samarbejde med værdier for  $\sigma_r$  og  $\sigma_R$ , eller 2) om der ved intern validering er beregnet en intern reproducerbarhed. Konfidensintervallet er da det samme som resultatets måleusikkerhed.

**2. Metode valideret ved internationalt samarbejde**

I dette tilfælde er standardafvigelsen for repeterbarhed  $\sigma_r$  og standardafvigelsen for reproducerbarhed  $\sigma_R$  blevet fastlagt, og laboratoriet kan dokumentere overholdelse af karakteristika for den validerede metodes ydeevne.

Det aritmetiske gennemsnit  $\bar{x}$  af de  $n$  gentagne målinger beregnes.

Den ekspanderede måleusikkerhed ( $k = 2$ ) af  $\bar{x}$  som

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

Hvis det endelige måleresultat  $x$  beregnes med en formel af typen  $x = y_1 + y_2$ ,  $x = y_1 - y_2$ ,  $x = y_1 \cdot y_2$  eller  $x = y_1/y_2$ , følges de sædvanlige procedurer til kombineret af standardafvigelser i sådanne tilfælde.

Sendingen anses for ikke at overholde den øvre forskriftsmæssige grænse UL, hvis

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

ellers anses den for at overholde UL.

Sendingen anses for ikke at overholde den nedre forskriftsmæssige grænse LL, hvis

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

ellers anses den for at overholde LL.

**3. Intern validering med beregning af den interne standardafvigelse for reproducerbarhed**

Hvis der anvendes metoder, der ikke er angivet i denne forordning, og der ikke er fastlagt præcisionsmålinger, skal der foretages en intern validering. Den interne standardafvigelse for repeterbarhed  $s_r$  og den interne standardafvigelse for reproducerbarhed  $s_{iR}$  skal anvendes i stedet for henholdsvis  $\sigma_r$  og  $\sigma_R$  i formlen til beregning af den ekspanderede usikkerhed  $U$ .

De bestemmelser, der skal følges med henblik på at fastslå overholdelsen af den forskriftsmæssige grænse, er fastsat i punkt 1. Hvis sendingen imidlertid bedømmes til ikke at overholde den forskriftsmæssige grænse, gentages målingerne ved anvendelse af den metode, der er angivet i denne forordning, og det resultat, der er vurderet i overensstemmelse med punkt 1.

- (\*) Produkterne Ampholine® pH 3,5-9,5 (Pharmacia) og Resolyte® pH 5-7 og pH 6-8 (BDH, Merck) har vist sig særligt velegnede til at opnå den ønskede separation af  $\gamma$ -kaseiner.
- (\*\*) Europa-Parlamentets og Rådets forordning (EF) nr. 882/2004 af 29. april 2004 om offentlig kontrol med henblik på verifikation af, at foderstof- og fødevarerlovningen samt dyresundheds- og dyrevelfærdsbestemmelserne overholdes (EUT L 165 af 30.4.2004, s. 1.).«
-

**KOMMISSIONENS GENNEMFØRELSESFORORDNING (EU) 2018/151****af 30. januar 2018****om regler for anvendelsen af Europa-Parlamentets og Rådets direktiv (EU) 2016/1148 for så vidt angår yderligere specifikation af de elementer, som udbydere af digitale tjenester skal tage i betragtning for at styre risiciene i forhold til sikkerheden i net- og informationssystemer, og af kriterierne for bestemmelse af, om en hændelses konsekvenser er betydelige**

EUROPA-KOMMISSIONEN HAR —

under henvisning til traktaten om Den Europæiske Unions funktionsmåde,

under henvisning til Europa-Parlamentets og Rådets direktiv (EU) 2016/1148 af 6. juli 2016 om foranstaltninger, der skal sikre et højt fælles sikkerhedsniveau for net- og informationssystemer i hele Unionen <sup>(1)</sup>, særlig artikel 16, stk. 8, og

ud fra følgende betragtninger:

- (1) I henhold til direktiv (EU) 2016/1148 kan udbydere af digitale tjenester frit træffe de tekniske og organisatoriske foranstaltninger, som de finder passende og forholdsmæssige for at styre risiciene i forhold til sikkerheden i net- og informationssystemerne, for så vidt som disse foranstaltninger sikrer et passende sikkerhedsniveau under hensyntagen til de elementer, der kræves ifølge direktivet.
- (2) Når udbydere af digitale tjenester fastlægger passende og forholdsmæssige tekniske og organisatoriske foranstaltninger, bør de gribe informationssikkerhed an på en systematisk måde ved hjælp af en risikobaseret tilgang.
- (3) For at garantere systemers og faciliteters sikkerhed bør udbydere af digitale tjenester gennemføre vurderings- og analyseprocedurer. Disse aktiviteter bør omfatte systematisk forvaltning af net- og informationssystemer, fysisk og miljømæssig sikkerhed, forsyningsikkerhed og adgangskontrol.
- (4) Når udbydere af digitale tjenester gennemfører en risikoanalyse som led i den systematiske forvaltning af net- og informationssystemer, bør de tilskyndes til at kortlægge de specifikke risici og kvantificere deres betydning, f.eks. ved at påpege trusler mod kritiske aktiver og fastslå, hvordan truslerne kan påvirke driften, og de bør afgøre, hvordan man bedst kan imødegå disse trusler i betragtning af den disponible kapacitet og ressourcebehovene.
- (5) Personalepolitik kan f.eks. omfatte forvaltning af kvalifikationer, herunder aspekter vedrørende udvikling af sikkerhedsrelaterede kvalifikationer og bevidsthedsoplysning. Når udbydere af digitale tjenester træffer beslutning om et passende sæt politikker for driftssikkerhed, bør de tilskyndes til at tage hensyn til aspekter som ændringsstyring, sårbarhedsstyring, formalisering af drifts- og administrationspraksis og systemkortlægning.
- (6) Politikker for sikkerhedsarkitektur kan f.eks. omfatte adskillelse af net og systemer samt særlige sikkerhedsforanstaltninger for kritiske funktioner såsom administrative funktioner. Adskillelse af net og systemer kan gøre det muligt for en udbyder af digitale tjenester at skelne mellem elementer såsom datastrømme og IT-ressourcer, der tilhører henholdsvis en kunde, en gruppe af kunder, udbyderen af digitale tjenester eller en tredjepart.
- (7) De foranstaltninger, der træffes vedrørende fysisk og miljømæssig sikkerhed, bør sikre en organisations net- og informationssystemer mod skader forårsaget af hændelser som f.eks. tyveri, brand, oversvømmelse eller andre ugunstige vejrforhold, telekommunikations- eller strømafbrydelser.
- (8) Forsyningsikkerheden med hensyn til bl.a. elektricitet, brændstof eller køling kan f.eks. dække sikkerhed i forsyningskæden, der navnlig omfatter sikkerheden i forbindelse med tredjepartsleverandører og underkontrahenter samt disses forvaltning. Kritiske forsyningskæders sporbarhed vedrører tjenesteudbyderens evne til at udpege og dokumentere kilderne til disse forsyninger.
- (9) Brugere af digitale tjenester bør omfatte fysiske og juridiske personer, der er kunder eller abonnenter på en onlinemarkedsplads eller en cloud computing-tjeneste, eller som besøger en onlinesøgemaskines websted for at foretage søgninger på nøgleord.

<sup>(1)</sup> EUT L 194 af 19.7.2016, s. 1.

- (10) Ved bestemmelsen af, om en hændelses konsekvenser er betydelige, bør de tilfælde, der er fastsat i denne forordning, betragtes som en ikke-udtømmende liste over hændelser med betydelige konsekvenser. Der bør drages lære af gennemførelsen af denne forordning og af arbejdet i samarbejdsgruppen, for så vidt angår indsamlingen af oplysninger om bedste praksis i forbindelse med risici og hændelser og drøftelserne om metoder til rapportering af underretning om hændelser, jf. artikel 11, stk. 3, litra i) og m), i direktiv (EU) 2016/1148. Dette kan f.eks. udmunde i omfattende retningslinjer vedrørende kvantitative grænseværdier for underretningsparametre, der kan udløse underretningspligten for udbydere af digitale tjenester i henhold til artikel 16, stk. 3, i direktiv (EU) 2016/1148. Hvor det er relevant, kunne Kommissionen også overveje at tage de grænseværdier, der er fastsat i denne forordning, op til fornyet overvejelse.
- (11) For at de kompetente myndigheder kan blive underrettet om potentielle nye risici, bør udbyderne af digitale tjenester tilskyndes til frivilligt at rapportere om enhver hændelse med kendetegn, der hidtil har været ukendte for dem, såsom nye angrebsværktøjer («exploits»), angrebsvektorer eller trusselsaktører, sårbarheder og risici.
- (12) Denne forordning bør anvendes fra og med dagen efter udløbet af fristen for gennemførelse af direktiv (EU) 2016/1148.
- (13) Foranstaltningerne i denne forordning er i overensstemmelse med udtalelse fra Udvalget for Sikkerhed i Net- og Informationssystemer, jf. artikel 22 i direktiv (EU) 2016/1148 —

VEDTAGET DENNE FORORDNING:

#### Artikel 1

##### Genstand

Ved denne forordning specificeres det, hvilke elementer udbydere af digitale tjenester skal tage i betragtning, når de fastlægger og træffer foranstaltninger for at garantere et niveau af sikkerhed i net- og informationssystemer, som de anvender i forbindelse med de typer af tjenester, der er opført i bilag III til direktiv (EU) 2016/1148, og det specificeres, hvilke kriterier der skal tages i betragtning ved bestemmelsen af, om en hændelse har betydelige konsekvenser for leveringen af disse tjenester.

#### Artikel 2

##### Sikkerhedselementer

1. Ved systemers og faciliteters sikkerhed som anført i artikel 16, stk. 1, litra a), i direktiv (EU) 2016/1148 forstås sikkerheden i net- og informationssystemer og deres fysiske omgivelser, hvilket omfatter følgende elementer:
  - a) systematisk forvaltning af net- og informationssystemer, hvilket indebærer en kortlægning af informationssystemerne og fastlæggelse af et sæt passende politikker til styring af informationssikkerhed, herunder risikoanalyse, personale-ressourcer, driftssikkerhed, sikkerhedsarkitektur, sikre data og livscyklusstyring af systemer og, hvor det er relevant, kryptering og styring af en sådan kryptering
  - b) fysisk og miljømæssig sikkerhed, hvilket betyder, at der skal træffes en række foranstaltninger for at beskytte sikkerheden i de net- og informationssystemer, som udbydere af digitale tjenester anvender, mod skader gennem en risikobaseret tilgang, der dækker alle risici, herunder systemsvigt, menneskelige fejl, handlinger i ond hensigt og naturfænomener
  - c) forsyningssikkerhed, hvilket betyder, at der skal fastlægges og ajourføres passende politikker for at sikre adgang til kritiske forsyninger, der anvendes i forbindelse med levering af tjenesterne, og hvor det er relevant, sikre disse forsyningers sporbarhed
  - d) kontrol af adgangen til net- og informationssystemer, hvilket betyder, at der skal træffes en række foranstaltninger for at sikre, at fysisk og logisk adgang til net- og informationssystemer, herunder den administrative sikkerhed i net- og informationssystemer, tillades og begrænses på grundlag af forretnings- og sikkerhedsmæssige krav.
2. Med hensyn til håndtering af hændelser som anført i artikel 16, stk. 1, litra b), i direktiv (EU) 2016/1148 skal udbyderne af digitale tjenester træffe foranstaltninger, der omfatter:
  - a) opretholdelse og afprøvning af detekteringsprocesser og -procedurer, der sikrer rettidig og tilstrækkelig bevidsthed om unormale begivenheder
  - b) processer og politikker for rapportering af hændelser og konstatering af svagheder og sårbarheder i deres informationssystemer

- c) reaktion på hændelser i overensstemmelse med fastlagte procedurer og rapportering om resultaterne af de trufne foranstaltninger
- d) vurdering af hændelsernes alvor og redegørelse for den viden, der er opnået ved analyse af hændelserne, og indsamling af relevante oplysninger, som kan tjene som dokumentation og fremme en vedvarende forbedringsproces.
3. Ved styring af driftskontinuitet som anført i artikel 16, stk. 1, litra c), i direktiv (EU) 2016/1148 forstås en organisations evne til at opretholde eller, hvor det er relevant, genoprette leveringen af tjenester på et acceptabelt, forud fastsat niveau efter en forstyrrende hændelse; dette omfatter:
- a) udarbejdelse og anvendelse af beredskabsplaner på grundlag af en konsekvensanalyse for at sikre kontinuiteten i de tjenester, der leveres af udbydere af digitale tjenester; planerne skal vurderes og afprøves regelmæssigt, f.eks. gennem øvelser
- b) katastrofeberedskabskapacitet, der skal vurderes og afprøves regelmæssigt, f.eks. gennem øvelser.
4. Monitorering, audit og testning som anført i artikel 16, stk. 1, litra d), i direktiv (EU) 2016/1148 skal omfatte fastlæggelse og ajourføring af politikker for:
- a) gennemførelse af en planlagt sekvens af observationer eller målinger med henblik på at vurdere, om net- og informationssystemerne fungerer efter hensigten
- b) inspektion og verifikation med henblik på at kontrollere, om en standard eller et sæt retningslinjer følges, om registreringerne er nøjagtige, og om målene for effektivitet og virkningsfuldhed opfyldes
- c) en proces med henblik på at afsløre mangler i et net- og informationssystems sikkerhedsmekanismer til beskyttelse af data og opretholdelse af den tilsigtede funktionalitet. En sådan proces skal omfatte de tekniske processer og det personale, der indgår i driften.
5. Ved internationale standarder som anført i artikel 16, stk. 1, litra e) i direktiv (EU) 2016/1148 forstås standarder, der er vedtaget af et internationalt standardiseringsorgan, som omhandlet i artikel 2, nr. 1), litra a), i Europa-Parlamentets og Rådets forordning (EU) nr. 1025/2012<sup>(1)</sup>. I henhold til artikel 19 i direktiv (EU) 2016/1148 kan der også anvendes europæiske eller internationalt anerkendte standarder og specifikationer, der er relevante for sikkerheden i net- og informationssystemer, herunder eksisterende nationale standarder.
6. Udbydere af digitale tjenester skal sikre, at de kan stille den dokumentation til rådighed, som den kompetente myndighed behøver for at kontrollere, om de sikkerhedselementer, der er beskrevet i stk. 1-5, er opfyldt.

### Artikel 3

#### Kriterier for bestemmelse af, om en hændelses konsekvenser er betydelige

1. Hvad angår antallet af brugere, der berøres af en hændelse, navnlig brugere, som er afhængige af tjenesten med henblik på levering af deres egne tjenester, som anført i artikel 16, stk. 4, litra a), i direktiv (EU) 2016/1148 skal udbydere af digitale tjenester være i stand til at anslå enten:
- a) antallet af berørte fysiske og juridiske personer, med hvem der er indgået kontrakt om levering af tjenesten eller
- b) antallet af berørte brugere, der har benyttet tjenesten, navnlig baseret på tidligere trafikdata.
2. Ved hændelsens varighed som anført i artikel 16, stk. 4, litra b), forstås tidsrummet fra afbrydelsen af den normale levering af tjenesten, for så vidt angår tilgængelighed, autenticitet, integritet eller fortrolighed, indtil det tidspunkt, hvor tjenesten blev genoprettet.
3. Hvad angår den geografiske udbredelse med hensyn til det område, der er berørt af hændelsen, som anført i artikel 16, stk. 4, litra c), i direktiv (EU) 2016/1148 skal udbydere af digitale tjenester være i stand til at fastslå, om hændelsen påvirker leveringen af deres tjenester i bestemte medlemsstater.
4. Omfanget af afbrydelsen af tjenestens funktion som anført i artikel 16, stk. 4, litra d), i direktiv (EU) 2016/1148 skal måles for så vidt angår en eller flere af følgende egenskaber, der svækkes som følge af en hændelse: datas eller dermed forbundne tjenesters tilgængelighed, autenticitet, integritet eller fortrolighed.

<sup>(1)</sup> Europa-Parlamentets og Rådets forordning (EU) nr. 1025/2012 af 25. oktober 2012 om europæisk standardisering, om ændring af Rådets direktiv 89/686/EØF og 93/15/EØF og Europa-Parlamentets og Rådets direktiv 94/9/EF, 94/25/EF, 95/16/EF, 97/23/EF, 98/34/EF, 2004/22/EF, 2007/23/EF, 2009/23/EF og 2009/105/EF og om ophævelse af Rådets beslutning 87/95/EØF og Europa-Parlamentets og Rådets afgørelse nr. 1673/2006/EF (EUT L 316 af 14.11.2012, s. 12).

5. Hvad angår omfanget af konsekvenserne for økonomiske og samfundsmæssige aktiviteter som anført i artikel 16, stk. 4, litra e), i direktiv (EU) 2016/1148 skal udbydere af digitale tjenester på baggrund af f.eks. arten af deres kontraktforhold med kunderne, eller, hvor det er relevant, antallet af potentielt berørte brugere, kunne konkludere, om hændelsen har medført betydelige materielle eller ikke-materielle tab for brugerne, f.eks. med hensyn til sundhed, sikkerhed eller skade på ejendom.
6. Med henblik på anvendelsen af stk. 1-5 er udbydere af digitale tjenester ikke forpligtet til at indsamle yderligere oplysninger, som de ikke har adgang til.

#### Artikel 4

##### **Betydelige konsekvenser af en hændelse**

1. En hændelse anses for at have betydelige konsekvenser, hvis den har medført mindst én af følgende situationer:
- a) tjenesten, der leveres af en udbyder af digitale tjenester, var ikke tilgængelig i over 5 000 000 brugertimer, idet udtrykket »brugertime« henviser til antallet af berørte brugere i Unionen i en periode på 60 minutter
  - b) hændelsen har ført til tab af integritet, autenticitet eller fortrolighed i forbindelse med arkiverede, overførte eller behandlede data eller dermed forbundne tjenester, der tilbydes af udbyderen eller er tilgængelige via udbyderens net- og informationssystem, og dette tab berører mere end 100 000 brugere i Unionen
  - c) hændelsen har medført risiko for den offentlige sikkerhed eller tab af menneskeliv
  - d) hændelsen har forårsaget materiel skade på over 1 000 000 EUR for mindst én bruger i Unionen.
2. På grundlag af de oplysninger om bedste praksis, som samarbejdsgruppen har indsamlet under udøvelsen af sine opgaver i henhold til artikel 11, stk. 3, i direktiv (EU) 2016/1148, og drøftelserne i henhold til samme direktivs artikel 11, stk. 3, litra m), kan Kommissionen revidere de grænseværdier, der er fastsat i stk. 1.

#### Artikel 5

##### **Ikrafttræden**

1. Denne forordning træder i kraft på tyvendedagen efter offentliggørelsen i *Den Europæiske Unions Tidende*.
2. Den anvendes fra den 10. maj 2018.

Denne forordning er bindende i alle enkeltheder og gælder umiddelbart i hver medlemsstat.

Udfærdiget i Bruxelles, den 30. januar 2018.

På Kommissionens vegne  
Jean-Claude JUNCKER  
Formand

# AFGØRELSER

## RÅDETS AFGØRELSE (EU) 2018/152

af 29. januar 2018

### om beskikkelse af en suppleant til Regionsudvalget efter indstilling fra Forbundsrepublikken Tyskland

RÅDET FOR DEN EUROPÆISKE UNION HAR -

under henvisning til traktaten om Den Europæiske Unions funktionsmåde, særlig artikel 305,

under henvisning til indstilling fra den tyske regering, og

ud fra følgende betragtninger:

- (1) Rådet vedtog den 26. januar 2015, den 5. februar 2015 og den 23. juni 2015 afgørelse (EU) 2015/116 <sup>(1)</sup>, (EU) 2015/190 <sup>(2)</sup> og (EU) 2015/994 <sup>(3)</sup> om beskikkelse af medlemmer af og suppleanter til Regionsudvalget for perioden fra den 26. januar 2015 til den 25. januar 2020.
- (2) Der er blevet en plads ledig som suppleant til Regionsudvalget, efter at Anke SPOORENDONKS mandatperiode er udløbet —

VEDTAGET DENNE AFGØRELSE:

#### Artikel 1

Følgende beskikkes herved som suppleant til Regionsudvalget for den resterende del af mandatperioden, dvs. indtil den 25. januar 2020:

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

#### Artikel 2

Denne afgørelse træder i kraft på dagen for vedtagelsen.

Udfærdiget i Bruxelles, den 29. januar 2018.

På Rådets vegne  
R. PORODZANOV  
Formand

---

<sup>(1)</sup> Rådets afgørelse (EU) 2015/116 af 26. januar 2015 om beskikkelse af medlemmer af og suppleanter til Regionsudvalget for perioden fra den 26. januar 2015 til den 25. januar 2020 (EUT L 20 af 27.1.2015, s. 42).

<sup>(2)</sup> Rådets afgørelse (EU) 2015/190 af 5. februar 2015 om beskikkelse af medlemmer af og suppleanter til Regionsudvalget for perioden fra den 26. januar 2015 til den 25. januar 2020 (EUT L 31 af 7.2.2015, s. 25).

<sup>(3)</sup> Rådets afgørelse (EU) 2015/994 af 23. juni 2015 om beskikkelse af medlemmer af og suppleanter til Regionsudvalget for perioden fra den 26. januar 2015 til den 25. januar 2020 (EUT L 159 af 25.6.2015, s. 70).

**BERIGTIGELSER**

**Berigtigelse til Kommissionens forordning (EU) 2017/1084 af 14. juni 2017 om ændring af forordning (EU) nr. 651/2014 for så vidt angår støtte til havne- og lufthavnsinfrastruktur, anmeldelsestærskler for støtte til kultur og bevarelse af kulturarv samt støtte til sportsinfrastruktur og multifunktionel infrastruktur til rekreative aktiviteter samt regionale driftsstøtteordninger for regionerne i den yderste periferi og om ændring af forordning (EU) nr. 702/2014 for så vidt angår beregning af støtteberettigede omkostninger**

*(Den Europæiske Unions Tidende L 156 af 20. juni 2017)*

1) I artikel 1, stk. 11, i indledningen til stk. 4 i den erstattede artikel 15:

*I stedet for:* »I regioner i den yderste periferi kan driftsstøtteordninger kompensere for de meromkostninger ved drift, der opstår i disse regioner som en direkte følge af et eller flere af de vedvarende handicaps, der er omhandlet i traktatens artikel 349, når støttemodtagerne har deres økonomiske aktivitet i en region i den yderste periferi, og forudsat at det årlige støttebeløb, der ydes pr. støttemodtager under alle driftsstøtteordninger gennemført i henhold til denne forordning, ikke overstiger nogen af følgende procentsatser:«

*læses:* »I regioner i den yderste periferi kan driftsstøtteordninger kompensere for de meromkostninger ved drift, der opstår i disse regioner som en direkte følge af et eller flere af de vedvarende handicap, der er omhandlet i traktatens artikel 349, når støttemodtagerne har deres økonomiske aktivitet i en region i den yderste periferi, og forudsat at det årlige støttebeløb, der ydes pr. støttemodtager under alle driftsstøtteordninger gennemført i henhold til denne forordning, ikke overstiger en af følgende procentsatser:«

---











ISSN 1977-0634 (elektronisk udgave)  
ISSN 1725-2520 (papirudgave)



**Den Europæiske Unions Publikationskontor**  
2985 Luxembourg  
LUXEMBOURG

**DA**