



#### Περιεχόμενα

#### II Μη νομοθετικές πράξεις

##### ΔΙΕΘΝΕΙΣ ΣΥΜΦΩΝΙΕΣ

- \* Απόφαση (ΕΕ) 2018/145 του Συμβουλίου, της 9ης Οκτωβρίου 2017, για τη σύναψη, εξ ονόματος της Ένωσης, πολυμερούς συμφωνίας μεταξύ της Ευρωπαϊκής Κοινότητας και των κρατών μελών της, της Δημοκρατίας της Αλβανίας, της Βοσνίας-Ερζεγοβίνης, της Δημοκρατίας της Βουλγαρίας, της Δημοκρατίας της Κροατίας, της πρώην Γιουγκοσλαβικής Δημοκρατίας της Μακεδονίας, της Δημοκρατίας της Ισλανδίας, της Δημοκρατίας του Μαυροβουνίου, του Βασιλείου της Νορβηγίας, της Ρουμανίας, της Δημοκρατίας της Σερβίας και της Αποστολής Προσωρινής Διοίκησης των Ηνωμένων Εθνών στο Κοσσυφοπέδιο\* για τη δημιουργία Κοινού Ευρωπαϊκού Εναέριου Χώρου (ΚΕΕΧ) ..... 1
- \* Απόφαση (ΕΕ) 2018/146 του Συμβουλίου, της 22ας Ιανουαρίου 2018, για τη σύναψη, εξ ονόματος της Ένωσης, της ευρωμεσογειακής συμφωνίας αεροπορικών μεταφορών μεταξύ της Ευρωπαϊκής Κοινότητας και των κρατών μελών της, αφενός, και του Βασιλείου του Μαρόκου, αφετέρου ..... 4

##### ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΙ

- \* Κανονισμός (ΕΕ) 2018/147 του Συμβουλίου, της 29ης Ιανουαρίου 2018, σχετικά με την τροποποίηση του κανονισμού (ΕΕ) αριθ. 1370/2013 όσον αφορά το ποσοτικό όριο για την αγορά από την παρέμβαση βουτύρου και αποκορυφωμένου γάλακτος σε σκόνη ..... 6
- \* Κατ' εξουσιοδότηση κανονισμός (ΕΕ) 2018/148 της Επιτροπής, της 27ης Σεπτεμβρίου 2017, σχετικά με την τροποποίηση των παραρτημάτων II, III και IV του κανονισμού (ΕΕ) αριθ. 978/2012 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου για την εφαρμογή συστήματος γενικευμένων δασμολογικών προτιμήσεων ..... 8
- \* Κατ' εξουσιοδότηση κανονισμός (ΕΕ) 2018/149 της Επιτροπής, της 15ης Νοεμβρίου 2017, για την τροποποίηση του κατ' εξουσιοδότηση κανονισμού (ΕΕ) 2016/1238 όσον αφορά τις απαιτήσεις ως προς τη σύνθεση και τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του γάλακτος και των γαλακτοκομικών προϊόντων που είναι επιλέξιμα για τη δημόσια παρέμβαση και την ενίσχυση για ιδιωτική αποθεματοποίηση ..... 11

\* Η ονομασία αυτή χρησιμοποιείται με την επιφύλαξη των θέσεων ως προς το καθεστώς και συνάδει με την απόφαση 1244/1999 του Συμβουλίου Ασφαλείας των Ηνωμένων Εθνών και τη γνωμοδότηση του Διεθνούς Δικαστηρίου σχετικά με τη διακήρυξη της ανεξαρτησίας του Κοσσυφοπεδίου.

- ★ Εκτελεστικός κανονισμός (ΕΕ) 2018/150 της Επιτροπής, της 30ής Ιανουαρίου 2018, για την τροποποίηση του εκτελεστικού κανονισμού (ΕΕ) 2016/1240, όσον αφορά τις μεθόδους ανάλυσης και ποιοτικής αξιολόγησης του γάλακτος και των γαλακτοκομικών προϊόντων που είναι επιλέξιμα για δημόσια παρέμβαση και ενίσχυση για ιδιωτική αποθεματοποίηση ..... 14
- ★ Εκτελεστικός κανονισμός (ΕΕ) 2018/151 της Επιτροπής, της 30ής Ιανουαρίου 2018, που θεσπίζει κανόνες για την εφαρμογή της οδηγίας (ΕΕ) 2016/1148 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου, όσον αφορά τον περαιτέρω προσδιορισμό των στοιχείων που πρέπει να λαμβάνονται υπόψη από τους παρόχους ψηφιακών υπηρεσιών για τη διαχείριση κινδύνων που απειλούν την ασφάλεια των συστημάτων δικτύου και πληροφοριών, καθώς και των παραμέτρων βάσει των οποίων καθορίζεται κατά πόσον ο αντίκτυπος συμβάντος είναι σημαντικός ..... 48

#### ΑΠΟΦΑΣΕΙΣ

- ★ Απόφαση (ΕΕ) 2018/152 του Συμβουλίου, της 29ης Ιανουαρίου 2018, για τον διορισμό ενός αναπληρωματικού μέλους, έπειτα από πρόταση της Ομοσπονδιακής Δημοκρατίας της Γερμανίας, στην Επιτροπή των Περιφερειών ..... 52

#### Διορθωτικά

- ★ Διορθωτικό στον κανονισμό (ΕΕ) 2017/1084 της Επιτροπής, της 14ης Ιουνίου 2017, για την τροποποίηση του κανονισμού (ΕΕ) αριθ. 651/2014 όσον αφορά τις ενισχύσεις για τις λιμενικές και αερολιμενικές υποδομές, τα όρια κοινοποίησης για τις ενισχύσεις για τον πολιτισμό και τη διατήρηση της κληρονομιάς και για τις ενισχύσεις για αθλητικές υποδομές και πολυλειτουργικές ψυχαγωγικές υποδομές, καθώς και τα καθεστώτα περιφερειακών ενισχύσεων λειτουργίας για τις εξόχως απόκεντρες περιοχές, και για την τροποποίηση του κανονισμού (ΕΕ) αριθ. 702/2014 όσον αφορά τον υπολογισμό των επιλέξιμων δαπανών (ΕΕ L 156 της 20.6.2017) ..... 53

## II

(Μη νομοθετικές πράξεις)

## ΔΙΕΘΝΕΙΣ ΣΥΜΦΩΝΙΕΣ

## ΑΠΟΦΑΣΗ (ΕΕ) 2018/145 ΤΟΥ ΣΥΜΒΟΥΛΙΟΥ

της 9ης Οκτωβρίου 2017

για τη σύναψη, εξ ονόματος της Ένωσης, πολυμερούς συμφωνίας μεταξύ της Ευρωπαϊκής Κοινότητας και των κρατών μελών της, της Δημοκρατίας της Αλβανίας, της Βοσνίας-Ερζεγοβίνης, της Δημοκρατίας της Βουλγαρίας, της Δημοκρατίας της Κροατίας, της πρώην Γιουγκοσλαβικής Δημοκρατίας της Μακεδονίας, της Δημοκρατίας της Ισλανδίας, της Δημοκρατίας του Μαυροβουνίου, του Βασιλείου της Νορβηγίας, της Ρουμανίας, της Δημοκρατίας της Σερβίας και της Αποστολής Προσωρινής Διοίκησης των Ηνωμένων Εθνών στο Κοσσυφοπέδιο \* για τη δημιουργία Κοινού Ευρωπαϊκού Εναέριου Χώρου (ΚΕΕΧ)

ΤΟ ΣΥΜΒΟΥΛΙΟ ΤΗΣ ΕΥΡΩΠΑΪΚΗΣ ΕΝΩΣΗΣ,

Έχοντας υπόψη τη Συνθήκη για τη λειτουργία της Ευρωπαϊκής Ένωσης, και ιδίως το άρθρο 100 παράγραφος 2, σε συνδυασμό με το άρθρο 218 παράγραφος 6 στοιχείο α),

Έχοντας υπόψη την πρόταση της Ευρωπαϊκής Επιτροπής,

Έχοντας υπόψη την έγκριση του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου <sup>(1)</sup>,

Εκτιμώντας τα ακόλουθα:

- (1) Η Επιτροπή διαπραγματεύθηκε, εξ ονόματος της Ευρωπαϊκής Κοινότητας και των κρατών μελών της, πολυμερή συμφωνία μεταξύ της Ευρωπαϊκής Κοινότητας και των κρατών μελών της, της Δημοκρατίας της Αλβανίας, της Βοσνίας-Ερζεγοβίνης, της Δημοκρατίας της Βουλγαρίας, της Δημοκρατίας της Κροατίας, της πρώην Γιουγκοσλαβικής Δημοκρατίας της Μακεδονίας, της Δημοκρατίας της Ισλανδίας, της Δημοκρατίας του Μαυροβουνίου, του Βασιλείου της Νορβηγίας, της Ρουμανίας, της Δημοκρατίας της Σερβίας και της Αποστολής Προσωρινής Διοίκησης των Ηνωμένων Εθνών στο Κοσσυφοπέδιο για τη δημιουργία Κοινού Ευρωπαϊκού Εναέριου Χώρου (ΚΕΕΧ) («η Συμφωνία»).
- (2) Η Συμφωνία υπογράφηκε εξ ονόματος της Κοινότητας στις 9 Ιουνίου 2006, με την επιφύλαξη της σύναψής της σε μεταγενέστερη ημερομηνία, σύμφωνα με την απόφαση 2006/682/ΕΚ του Συμβουλίου και των αντιπροσώπων των κρατών μελών της Ευρωπαϊκής Ένωσης, συνεληθόντων στο πλαίσιο του Συμβουλίου <sup>(2)</sup>.
- (3) Η Συμφωνία επικυρώθηκε από όλα τα κράτη μέλη.
- (4) Η Δημοκρατία της Βουλγαρίας, η Ρουμανία, και η Δημοκρατία της Κροατίας, μετά από τις αντίστοιχες προσχωρήσεις τους και σύμφωνα με το άρθρο 31 παράγραφος 2 της Συμφωνίας, έχουν καταστεί κράτη μέλη και, ως εκ τούτου, αυτοδικαίως έπαυσαν να είναι συνδεδεμένα μέρη δυνάμει της Συμφωνίας σύμφωνα με το άρθρο 31 παράγραφος 2 αυτής. Αυτό θα πρέπει να υπομνησθεί στην κοινοποίηση που θα πραγματοποιηθεί κατά τη στιγμή της κατάθεσης του εγγράφου έγκρισης της Συμφωνίας.

\* Η ονομασία αυτή χρησιμοποιείται με την επιφύλαξη των θέσεων ως προς το καθεστώς και συνάδει με την απόφαση 1244/1999 του Συμβουλίου Ασφαλείας των Ηνωμένων Εθνών και τη γνωμοδότηση του Διεθνούς Δικαστηρίου σχετικά με τη διακήρυξη της ανεξαρτησίας του Κοσσυφοπεδίου.

<sup>(1)</sup> ΕΕ C 81Ε της 15.3.2011, σ. 5.

<sup>(2)</sup> Απόφαση 2006/682/ΕΚ του Συμβουλίου και των αντιπροσώπων των κρατών μελών της Ευρωπαϊκής Ένωσης, συνεληθόντων στα πλαίσια του Συμβουλίου, της 9ης Ιουνίου 2006, σχετικά με την υπογραφή και την προσωρινή εφαρμογή της πολυμερούς συμφωνίας μεταξύ της Ευρωπαϊκής Κοινότητας και των κρατών μελών της, της Δημοκρατίας της Αλβανίας, της Βοσνίας-Ερζεγοβίνης, της Δημοκρατίας της Βουλγαρίας, της Δημοκρατίας της Κροατίας, της πρώην Γιουγκοσλαβικής Δημοκρατίας της Μακεδονίας, της Δημοκρατίας της Ισλανδίας, της Δημοκρατίας του Μαυροβουνίου, του Βασιλείου της Νορβηγίας, της Ρουμανίας, της Δημοκρατίας της Σερβίας και της Προσωρινής Διοίκησης των Ηνωμένων Εθνών στο Κοσσυφοπέδιο για τη δημιουργία Κοινού Ευρωπαϊκού Εναέριου Χώρου (ΚΕΕΧ) (ΕΕ L 285 της 16.10.2006, σ. 1).

- (5) Όσον αφορά τις τροποποιήσεις του παραρτήματος I της Συμφωνίας που αφορούν αποκλειστικά τη συμπερίληψη ενωσιακής νομοθεσίας στο εν λόγω παράρτημα, και οι οποίες πρόκειται να εγκριθούν από τη Μεικτή Επιτροπή που συνίσταται με βάση το άρθρο 18 της Συμφωνίας, η εξουσία έγκρισης των τροποποιήσεων αυτών εξ ονόματος της Ένωσης θα πρέπει να δοθεί στην Επιτροπή, κατόπιν διαβούλευσης με την ειδική επιτροπή που έχει ορίσει το Συμβούλιο.
- (6) Σε κάθε άλλη περίπτωση, η θέση που θα λαμβάνεται στη Μεικτή Επιτροπή εξ ονόματος της Ένωσης σε ό,τι αφορά ζητήματα που εμπίπτουν στην αρμοδιότητα της Ένωσης, θα πρέπει να διαμορφώνεται κατά περίπτωση σύμφωνα με τις σχετικές διατάξεις της Συνθήκης για τη λειτουργία της Ευρωπαϊκής Ένωσης.
- (7) Θεωρώντας ότι τόσο η Ευρωπαϊκή Ένωση όσο και τα κράτη μέλη της αποτελούν, ως σύνολο, συμβαλλόμενα μέρη της Συμφωνίας, η μεταξύ τους στενή συνεργασία είναι ουσιώδους σημασίας. Για να διασφαλιστεί αυτή η στενή συνεργασία και η ενότητα της εξωτερικής εκπροσώπησης στη Μεικτή Επιτροπή, και με την επιφύλαξη των Συνθηκών, ειδικότερα των άρθρων 16 παράγραφος 1 της Συνθήκης για την Ευρωπαϊκή Ένωση και 218 παράγραφος 9 ΣΛΕΕ, θα πρέπει να πραγματοποιείται, πριν από κάθε συνεδρίαση της Μεικτής Επιτροπής που εξετάζει ένα τέτοιο ζήτημα, συντονισμός των θέσεων που θα λαμβάνονται στη Μεικτή Επιτροπή, εξ ονόματος της Ένωσης και των κρατών μελών, σε ό,τι αφορά ζητήματα που εμπίπτουν στην αρμοδιότητα τόσο της Ένωσης όσο και των κρατών μελών.
- (8) Το άρθρο 2 της απόφασης 2006/682/ΕΚ περιλαμβάνει διατάξεις για τον καθορισμό των θέσεων που θα λαμβάνονται στο πλαίσιο της Μεικτής Επιτροπής κατά την προσωρινή εφαρμογή της Συμφωνίας. Λαμβάνοντας υπόψη την απόφαση του Δικαστηρίου της 28ης Απριλίου 2015 στην υπόθεση C-28/12, Επιτροπή κατά Συμβουλίου (<sup>1</sup>), οι εν λόγω διατάξεις θα πρέπει να παύσουν να ισχύουν κατά την ημερομηνία έναρξης ισχύος της παρούσας απόφασης.
- (9) Η Συμφωνία θα πρέπει να εγκριθεί,

ΕΞΕΔΩΣΕ ΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΑ ΑΠΟΦΑΣΗ:

#### Άρθρο 1

1. Η πολυμερής συμφωνία μεταξύ της Ευρωπαϊκής Κοινότητας και των κρατών μελών της, της Δημοκρατίας της Αλβανίας, της Βοσνίας-Ερζεγοβίνης, της Δημοκρατίας της Βουλγαρίας, της Δημοκρατίας της Κροατίας, της πρώην Γιουγκοσλαβικής Δημοκρατίας της Μακεδονίας, της Δημοκρατίας της Ισλανδίας, της Δημοκρατίας του Μαυροβουνίου, του Βασιλείου της Νορβηγίας, της Ρουμανίας, της Δημοκρατίας της Σερβίας και της Αποστολής Προσωρινής Διοίκησης των Ηνωμένων Εθνών στο Κοσσυφοπέδιο για τη δημιουργία Κοινού Ευρωπαϊκού Εναέριου Χώρου (ΚΕΕΧ) εγκρίνεται εξ ονόματος της Ένωσης (<sup>2</sup>).

2. Ο πρόεδρος του Συμβουλίου ορίζει το ή τα πρόσωπα που είναι αρμόδια να καταθέσουν, εξ ονόματος της Ένωσης, το έγγραφο έγκρισης που προβλέπεται στο άρθρο 29 παράγραφος 2 της Συμφωνίας (<sup>3</sup>) και προβαίνει στην ακόλουθη κοινοποίηση:

«1. Συνεπεία της έναρξης ισχύος της Συνθήκης της Λισαβόνας την 1η Δεκεμβρίου 2009, η Ευρωπαϊκή Ένωση αντικατέστησε και διαδέχθηκε την Ευρωπαϊκή Κοινότητα, και από την ημερομηνία εκείνη ασκεί όλα τα δικαιώματα και αναλαμβάνει όλες τις υποχρεώσεις της Ευρωπαϊκής Κοινότητας. Συνεπώς, οι αναφορές στην “Ευρωπαϊκή Κοινότητα” στο κείμενο της Συμφωνίας νοούνται, κατά περίπτωση, ως αναφορές στην “Ευρωπαϊκή Ένωση”.

2. Η Δημοκρατία της Βουλγαρίας, η Ρουμανία και η Δημοκρατία της Κροατίας, μετά από τις αντίστοιχες προσχωρήσεις τους και σύμφωνα με το άρθρο 31 παράγραφος 2 της Συμφωνίας, έχουν καταστεί κράτη μέλη της Ευρωπαϊκής Ένωσης και, ως εκ τούτου, σύμφωνα με το άρθρο 31 παράγραφος 2 της Συμφωνίας, αυτοδικαίως έπαυσαν να είναι συνδεδεμένα μέρη δυνάμει της Συμφωνίας.».

#### Άρθρο 2

Η θέση που λαμβάνει η Ένωση όσον αφορά αποφάσεις της Μεικτής Επιτροπής δυνάμει του άρθρου 17 της Συμφωνίας, οι οποίες αφορούν απλώς τη συμπερίληψη ενωσιακής νομοθεσίας στο παράρτημα I της Συμφωνίας, με την επιφύλαξη τυχόν απαιτούμενων τεχνικών προσαρμογών, εγκρίνεται από την Επιτροπή κατόπιν διαβούλευσης με την ειδική επιτροπή που έχει ορίσει το Συμβούλιο.

#### Άρθρο 3

Το άρθρο 2 της απόφασης 2006/682/ΕΚ παύει να ισχύει κατά την ημερομηνία έναρξης ισχύος της παρούσας απόφασης.

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

(<sup>2</sup>) Η συμφωνία έχει δημοσιευθεί στην *Επίσημη Εφημερίδα της Ευρωπαϊκής Ένωσης* (ΕΕ L 285 της 16.10.2006, σ. 3) μαζί με την απόφαση για την υπογραφή και την προσωρινή εφαρμογή.

(<sup>3</sup>) Η ημερομηνία έναρξης ισχύος της συμφωνίας θα δημοσιευθεί στην *Επίσημη Εφημερίδα της Ευρωπαϊκής Ένωσης* από την Γενική Γραμματεία του Συμβουλίου.

*Άρθρο 4*

Η παρούσα απόφαση αρχίζει να ισχύει από την ημέρα της έκδοσής της.

Λουξεμβούργο, 9 Οκτωβρίου 2017.

Για το Συμβούλιο  
Ο Πρόεδρος  
S. KISLER

---

**ΑΠΟΦΑΣΗ (ΕΕ) 2018/146 ΤΟΥ ΣΥΜΒΟΥΛΙΟΥ****της 22ας Ιανουαρίου 2018****για τη σύναψη, εξ ονόματος της Ένωσης, της ευρωμεσογειακής συμφωνίας αεροπορικών μεταφορών μεταξύ της Ευρωπαϊκής Κοινότητας και των κρατών μελών της, αφενός, και του Βασιλείου του Μαρόκου, αφετέρου**

ΤΟ ΣΥΜΒΟΥΛΙΟ ΤΗΣ ΕΥΡΩΠΑΪΚΗΣ ΕΝΩΣΗΣ,

Έχοντας υπόψη τη Συνθήκη για τη λειτουργία της Ευρωπαϊκής Ένωσης, και ιδίως το άρθρο 100 παράγραφος 2, σε συνδυασμό με το άρθρο 218 παράγραφος 6 στοιχείο α),

Έχοντας υπόψη την πρόταση της Ευρωπαϊκής Επιτροπής,

Έχοντας υπόψη την έγκριση του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου <sup>(1)</sup>,

Εκτιμώντας τα ακόλουθα:

- (1) Η Επιτροπή διαπραγματεύθηκε, εξ ονόματος της Ένωσης και των κρατών μελών, μια ευρωμεσογειακή συμφωνία αεροπορικών μεταφορών με το Βασίλειο του Μαρόκου («η Συμφωνία»), σύμφωνα με την απόφαση του Συμβουλίου που εξουσιοδοτούσε την Επιτροπή να εισέλθει σε διαπραγματεύσεις.
- (2) Η Συμφωνία υπεγράφη στις 12 Δεκεμβρίου 2006, σύμφωνα με την απόφαση 2006/959/ΕΚ του Συμβουλίου και των αντιπροσώπων των κυβερνήσεων των κρατών μελών, συνελθόντων στο πλαίσιο του Συμβουλίου <sup>(2)</sup>. Η σύμβαση έχει επικυρωθεί από όλα τα κράτη μέλη, με εξαίρεση τη Βουλγαρία, τη Ρουμανία και την Κροατία. Τα εν λόγω κράτη μέλη πρόκειται να προσχωρήσουν στη Συμφωνία σύμφωνα με το άρθρο 6 παράγραφος 2 των αντίστοιχων πράξεων προσχώρησης.
- (3) Όσον αφορά τις τροποποιήσεις ορισμένων παραρτημάτων της Συμφωνίας που πρόκειται να εγκριθούν από την Κοινή Επιτροπή που συνίσταται με βάση το άρθρο 22 της Συμφωνίας, η εξουσία έγκρισης των τροποποιήσεων αυτών εξ ονόματος της Ένωσης θα πρέπει να δοθεί στην Επιτροπή, κατόπιν διαβούλευσης με την ειδική επιτροπή που έχει ορίσει το Συμβούλιο.
- (4) Σε κάθε άλλη περίπτωση, οι θέσεις που θα λαμβάνονται στην Κοινή επιτροπή εξ ονόματος της Ένωσης σε ό,τι αφορά ζητήματα που εμπίπτουν στην αρμοδιότητα της Ένωσης, θα πρέπει να διαμορφώνονται κατά περίπτωση σύμφωνα με τις σχετικές διατάξεις της Συνθήκης για τη λειτουργία της Ευρωπαϊκής Ένωσης («ΣΛΕΕ»).
- (5) Θεωρώντας ότι τόσο η Ευρωπαϊκή Ένωση όσο και τα κράτη μέλη αποτελούν, ως σύνολο, συμβαλλόμενα μέρη της Συμφωνίας, η μεταξύ τους στενή συνεργασία είναι ουσιώδους σημασίας. Για να διασφαλιστεί η στενή συνεργασία και η ενότητα της εξωτερικής εκπροσώπησης στην Κοινή επιτροπή, και με την επιφύλαξη των Συνθηκών, ειδικότερα του άρθρου 16 παράγραφος 1 της Συνθήκης για την Ευρωπαϊκή Ένωση και του άρθρου 218 παράγραφος 9 της ΣΛΕΕ, θα πρέπει να πραγματοποιείται, πριν από κάθε συνεδρίαση της Κοινής Επιτροπής που εξετάζει ένα τέτοιο ζήτημα, συντονισμός των θέσεων που θα λαμβάνονται στην Κοινή Επιτροπή, εξ ονόματος της Ένωσης και των κρατών μελών, σε ό,τι αφορά ζητήματα που εμπίπτουν στην αρμοδιότητα τόσο της Ένωσης όσο και των κρατών μελών.
- (6) Τα άρθρα 2 έως 5 της απόφασης 2006/959/ΕΚ περιέχουν διατάξεις για τη λήψη αποφάσεων από το Συμβούλιο σχετικά με διάφορα ζητήματα που προβλέπονται στη Συμφωνία, συμπεριλαμβανομένου του καθορισμού των θέσεων που θα λαμβάνονται στο πλαίσιο της Κοινής Επιτροπής σε σχέση με τις υποχρεώσεις πληροφόρησης των κρατών μελών, κατά την προσωρινή εφαρμογή της Συμφωνίας. Σε ό,τι αφορά τις διατάξεις αυτές, είτε δεν είναι απαραίτητες είτε η εφαρμογή τους θα πρέπει να παύσει ενόψει της απόφασης του Δικαστηρίου της 28ης Απριλίου 2015 στην υπόθεση C-28/12, Επιτροπή κατά Συμβουλίου <sup>(3)</sup>. Ως εκ τούτου, είναι σκόπιμο να παύσει η ισχύς όλων των εν λόγω διατάξεων κατά την ημερομηνία έναρξης ισχύος της παρούσας απόφασης.
- (7) Η συμφωνία πρέπει να εγκριθεί,

<sup>(1)</sup> ΕΕ C 81Ε της 15.3.2011, σ. 5.

<sup>(2)</sup> Απόφαση 2006/959/ΕΚ του Συμβουλίου και των αντιπροσώπων των κυβερνήσεων των κρατών μελών που συνήλθαν στο πλαίσιο του Συμβουλίου, της 4ης Δεκεμβρίου 2006, για την υπογραφή και την προσωρινή εφαρμογή της ευρωμεσογειακής συμφωνίας αεροπορικών μεταφορών μεταξύ της Ευρωπαϊκής Κοινότητας και των κρατών μελών της, αφενός, και του Βασιλείου του Μαρόκου, αφετέρου (ΕΕ L 386 της 29.12.2006, σ. 55).

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

ΕΞΕΔΩΣΕ ΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΑ ΑΠΟΦΑΣΗ:

### Άρθρο 1

1. Εγκρίνεται, εξ ονόματος της Ένωσης, η ευρωμεσογειακή συμφωνία αεροπορικών μεταφορών μεταξύ της Ευρωπαϊκής Κοινότητας και των κρατών μελών της, αφενός, και του Βασιλείου του Μαρόκου, αφετέρου <sup>(1)</sup>.

2. Ο πρόεδρος του Συμβουλίου εξουσιοδοτείται να ορίσει το πρόσωπο ή τα πρόσωπα που είναι αρμόδια να παραδώσουν στο Βασίλειο του Μαρόκου τις διπλωματικές διακοινώσεις που προβλέπονται στο άρθρο 30 της Συμφωνίας <sup>(2)</sup> και να προβεί στην ακόλουθη δήλωση:

«Συνεπεία της έναρξης ισχύος της Συνθήκης της Λισαβόνας την 1η Δεκεμβρίου 2009, η Ευρωπαϊκή Ένωση αντικατέστησε και διαδέχθηκε την Ευρωπαϊκή Κοινότητα, και από την ημερομηνία εκείνη ασκεί όλα τα δικαιώματα και αναλαμβάνει όλες τις υποχρεώσεις της Ευρωπαϊκής Κοινότητας. Συνεπώς, οι αναφορές στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα στο κείμενο της συμφωνίας νοούνται, κατά περίπτωση, ως αναφορές “στην Ευρωπαϊκή Ένωση”.».

### Άρθρο 2

Η θέση που πρέπει να λάβει η Ένωση στο πλαίσιο της κοινής επιτροπής που συγκροτείται βάσει του άρθρου 22 της Συμφωνίας όσον αφορά την τροποποίηση των παραρτημάτων της Συμφωνίας εκτός του παραρτήματος I (συμφωνημένα δρομολόγια και καθορισμένες διαδρομές) και του παραρτήματος IV (μεταβατικές διατάξεις), εγκρίνεται από την Επιτροπή μετά από διαβούλευση με ειδική επιτροπή που ορίζεται από το Συμβούλιο.

### Άρθρο 3

Τα άρθρα 2 έως 5 της απόφασης 2006/959/EK παύουν να ισχύουν κατά την ημερομηνία έναρξης ισχύος της παρούσας απόφασης.

### Άρθρο 4

Η παρούσα απόφαση αρχίζει να ισχύει από την ημέρα της έκδοσής της.

Βρυξέλλες, 22 Ιανουαρίου 2018.

Για το Συμβούλιο

Η Πρόεδρος

F. MOGHERINI

<sup>(1)</sup> Η συμφωνία έχει δημοσιευθεί στην *Επίσημη Εφημερίδα της Ευρωπαϊκής Ένωσης* (ΕΕ L 386 της 29.12.2006, σ. 57) μαζί με την απόφαση για την υπογραφή και την προσωρινή εφαρμογή.

<sup>(2)</sup> Η ημερομηνία έναρξης ισχύος της συμφωνίας θα δημοσιευθεί στην *Επίσημη Εφημερίδα της Ευρωπαϊκής Ένωσης* από την Γενική Γραμματεία του Συμβουλίου.

# ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΙ

## ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΣ (ΕΕ) 2018/147 ΤΟΥ ΣΥΜΒΟΥΛΙΟΥ

της 29ης Ιανουαρίου 2018

σχετικά με την τροποποίηση του κανονισμού (ΕΕ) αριθ. 1370/2013 όσον αφορά το ποσοτικό όριο για την αγορά από την παρέμβαση βουτύρου και αποκορυφωμένου γάλακτος σε σκόνη

ΤΟ ΣΥΜΒΟΥΛΙΟ ΤΗΣ ΕΥΡΩΠΑΪΚΗΣ ΕΝΩΣΗΣ,

Έχοντας υπόψη τη Συνθήκη για τη λειτουργία της Ευρωπαϊκής Ένωσης, και ιδίως το άρθρο 43 παράγραφος 3,

Έχοντας υπόψη την πρόταση της Ευρωπαϊκής Επιτροπής,

Εκτιμώντας τα ακόλουθα:

- (1) Τα αποθέματα δημόσιας παρέμβασης αποκορυφωμένου γάλακτος σε σκόνη στην Ένωση ανέρχονταν σε 357 359 τόνους στα τέλη Ιουλίου 2017. Προσφέρθηκαν 22 710 τόνοι επιπλέον για αγορά σε καθορισμένη τιμή έως τη λήξη της περιόδου παρέμβασης στις 30 Σεπτεμβρίου 2017.
- (2) Στον τομέα του γάλακτος και των γαλακτοκομικών προϊόντων παρατηρείται μια άνευ προηγουμένου απόκλιση μεταξύ των τιμών των λιπαρών ουσιών και των πρωτεϊνών, ιδίως λόγω της υψηλής ζήτησης βουτύρου.
- (3) Οι παραδόσεις γάλακτος στην Ένωση αναμένεται να αυξηθούν το 2018, με αποτέλεσμα την παραγωγή μεγαλύτερων ποσοτήτων βουτύρου και αποκορυφωμένου γάλακτος σε σκόνη.
- (4) Οι τιμές του μη επεξεργασμένου γάλακτος που θα καταβληθούν στους γεωργούς το 2018 είναι πιθανό να παραμείνουν σε επίπεδο που καθιστά τη γαλακτοπαραγωγή κερδοφόρα λόγω της σημερινής μεγάλης ζήτησης για το βούτυρο και το τυρί, παρά τις σχετικά χαμηλές τιμές των πρωτεϊνών γαλακτοκομικής προέλευσης.
- (5) Οι εν λόγω παράγοντες της αγοράς συμβάλλουν στη δημιουργία μιας έκτακτης κατάστασης για το έτος 2018, η οποία θα πρέπει να ληφθεί ιδιαίτερος υπόψη όσον αφορά τη λειτουργία του μηχανισμού δημόσιας παρέμβασης για τα γαλακτοκομικά προϊόντα.
- (6) Το άρθρο 3 του κανονισμού (ΕΕ) αριθ. 1370/2013 του Συμβουλίου<sup>(1)</sup> καθορίζει ποσοτικό όριο για την αγορά βουτύρου και αποκορυφωμένου γάλακτος σε σκόνη στην καθορισμένη τιμή που αναφέρεται στο άρθρο 2 του εν λόγω κανονισμού. Μετά την κάλυψη του εν λόγω ορίου, η αγορά πραγματοποιείται μέσω διαδικασίας διαγωνισμού για τον προσδιορισμό της μέγιστης τιμής αγοράς.
- (7) Προκειμένου να αποφευχθεί η αγορά αποκορυφωμένου γάλακτος σε σκόνη σε καθορισμένη τιμή υπό συνθήκες που θα ήταν αντίθετες με τους στόχους του μηχανισμού ασφάλειας, κάθε δημόσια παρέμβαση για το αποκορυφωμένο γάλα σε σκόνη θα πρέπει να πραγματοποιείται στο πλαίσιο διαγωνισμού. Για τον σκοπό αυτό, το ποσοτικό όριο για την αγορά αποκορυφωμένου γάλακτος σε σκόνη σε καθορισμένη τιμή θα πρέπει να καθοριστεί σε μηδέν για το 2018.
- (8) Συνεπώς, ο κανονισμός (ΕΕ) αριθ. 1370/2013 θα πρέπει να τροποποιηθεί αναλόγως.
- (9) Για να διασφαλιστεί ότι το έκτακτο μέτρο που προβλέπεται στον παρόντα κανονισμό θα έχει άμεσο αντίκτυπο στην αγορά και ότι θα επιτρέψει στους φορείς της αγοράς να ενημερώνονται σε εύθετο χρόνο πριν από την έναρξη της επόμενης περιόδου παρέμβασης, ο παρών κανονισμός θα πρέπει να αρχίσει να ισχύει την επομένη της δημοσίευσής του,

<sup>(1)</sup> Κανονισμός (ΕΕ) αριθ. 1370/2013 του Συμβουλίου, της 16ης Δεκεμβρίου 2013, για τη θέσπιση μέτρων σχετικά με τον καθορισμό ορισμένων ενισχύσεων και επιτροφών που συνδέονται με την κοινή οργάνωση των αγορών γεωργικών προϊόντων (ΕΕ L 346 της 20.12.2013, σ. 12).



ΕΞΕΔΩΣΕ ΤΟΝ ΠΑΡΟΝΤΑ ΚΑΝΟΝΙΣΜΟ:

*Άρθρο 1*

Στο άρθρο 3 παράγραφος 1 του κανονισμού (ΕΕ) αριθ. 1370/2013, προστίθεται το ακόλουθο εδάφιο:

«Κατά παρέκκλιση από το πρώτο εδάφιο, το 2018 τα ποσοτικά όρια για την αγορά βουτύρου και αποκορυφωμένου γάλακτος σε σκόνη από την παρέμβαση σε καθορισμένη τιμή καθορίζονται σε 0 τόνους.».

*Άρθρο 2*

Ο παρών κανονισμός αρχίζει να ισχύει την επομένη της δημοσίευσής του στην *Επίσημη Εφημερίδα της Ευρωπαϊκής Ένωσης*.

Ο παρών κανονισμός είναι δεσμευτικός ως προς όλα τα μέρη του και ισχύει άμεσα σε κάθε κράτος μέλος.

Βρυξέλλες, 29 Ιανουαρίου 2018.

Για το Συμβούλιο  
Ο Πρόεδρος  
R. PORODZANOV

---

**ΚΑΤ' ΕΞΟΥΣΙΟΔΟΤΗΣΗ ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΣ (ΕΕ) 2018/148 ΤΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ****της 27ης Σεπτεμβρίου 2017****σχετικά με την τροποποίηση των παραρτημάτων II, III και IV του κανονισμού (ΕΕ) αριθ. 978/2012 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου για την εφαρμογή συστήματος γενικευμένων δασμολογικών προτιμήσεων**

Η ΕΥΡΩΠΑΪΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ,

Έχοντας υπόψη τη Συνθήκη για τη λειτουργία της Ευρωπαϊκής Ένωσης,

Έχοντας υπόψη τον κανονισμό (ΕΕ) αριθ. 978/2012 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου, της 25ης Οκτωβρίου 2012, για την εφαρμογή συστήματος γενικευμένων δασμολογικών προτιμήσεων και την κατάργηση του κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 732/2008 <sup>(1)</sup>, και ιδίως το άρθρο 5 παράγραφος 3, το άρθρο 10 παράγραφος 5 και το άρθρο 17 παράγραφος 2,

Εκτιμώντας τα ακόλουθα:

- (1) Το άρθρο 4 του κανονισμού (ΕΕ) αριθ. 978/2012 καθορίζει τα κριτήρια για τη χορήγηση δασμολογικών προτιμήσεων στο πλαίσιο του συστήματος γενικευμένων προτιμήσεων («ΣΓΠ»).
- (2) Το άρθρο 4 παράγραφος 1 στοιχεία α) και β) του κανονισμού (ΕΕ) αριθ. 978/2012 ορίζουν αντίστοιχα ότι μια χώρα που έχει χαρακτηριστεί από την Παγκόσμια Τράπεζα ως υψηλού ή μέσου-υψηλού εισοδήματος επί τρία συναπτά έτη ή μια χώρα που επωφελείται από προτιμησησικό καθεστώς πρόσβασης στην αγορά το οποίο παρέχει τις ίδιες ή καλύτερες δασμολογικές προτιμήσεις με το ΣΓΠ για το σύνολο ουσιαστικά των εμπορικών συναλλαγών δεν θα πρέπει να επωφελείται από το ΣΓΠ.
- (3) Ο κατάλογος των δικαιούχων χωρών του γενικού καθεστώτος ΣΓΠ που αναφέρεται στο άρθρο 1 παράγραφος 2 στοιχείο α) του κανονισμού (ΕΕ) αριθ. 978/2012 καθορίζεται στο παράρτημα II του εν λόγω κανονισμού. Το άρθρο 5 παράγραφος 2 του κανονισμού (ΕΕ) αριθ. 978/2012 προβλέπει ότι το παράρτημα II πρέπει να αναθεωρείται έως την 1η Ιανουαρίου κάθε έτους. Η επανεξέταση αυτή θα πρέπει να λαμβάνει υπόψη την εξέλιξη των οικονομικών, αναπτυξιακών ή εμπορικών συνθηκών των δικαιούχων χωρών σε σχέση με τα κριτήρια που ορίζονται στο άρθρο 4.
- (4) Σύμφωνα με το άρθρο 5 παράγραφος 2 του κανονισμού (ΕΕ) αριθ. 978/2012, πρέπει να παρέχεται επαρκής χρόνος στη δικαιούχο χώρα του ΣΓΠ και στους οικονομικούς παράγοντες για μεθοδική προσαρμογή στην αλλαγή του καθεστώτος ΣΓΠ της χώρας. Κατά συνέπεια, πρέπει να εξακολουθεί να ισχύει το καθεστώς ΣΓΠ για περίοδο ενός έτους μετά την ημερομηνία έναρξης ισχύος της αλλαγής του καθεστώτος της χώρας, σύμφωνα με το άρθρο 4 παράγραφος 1 στοιχείο α), και για δύο έτη από την ημερομηνία εφαρμογής προτιμησησικού καθεστώτος πρόσβασης στην αγορά, σύμφωνα με το άρθρο 4 παράγραφος 1 στοιχείο β).
- (5) Η Παραγουάη έχει χαρακτηριστεί από την Παγκόσμια Τράπεζα ως χώρα μέσου-υψηλού εισοδήματος το 2015, το 2016 και το 2017. Συνεπώς, η Παραγουάη δεν πληροί πλέον τις προϋποθέσεις υπαγωγής στο καθεστώς ΣΓΠ σύμφωνα με το άρθρο 4 παράγραφος 1 στοιχείο α) του κανονισμού (ΕΕ) αριθ. 978/2012 και θα πρέπει να διαγραφεί από τον κατάλογο των δικαιούχων χωρών του ΣΓΠ στο παράρτημα II του εν λόγω κανονισμού, με ισχύ από την 1η Ιανουαρίου 2019.
- (6) Το 2016 άρχισαν να εφαρμόζονται προτιμησησικά καθεστώτα πρόσβασης στην αγορά για την Ακτή Ελεφαντοστού (3 Σεπτεμβρίου), τη Σουαζιλάνδη (10 Οκτωβρίου) και την Γκάνα (15 Δεκεμβρίου). Συνεπώς, σύμφωνα με το άρθρο 4 παράγραφος 1 στοιχείο β), η Ακτή Ελεφαντοστού, η Σουαζιλάνδη και η Γκάνα θα πρέπει επίσης να διαγραφούν από το παράρτημα II του κανονισμού (ΕΕ) αριθ. 978/2012, με ισχύ από την 1η Ιανουαρίου 2019.
- (7) Το άρθρο 9 παράγραφος 1 του κανονισμού (ΕΕ) αριθ. 978/2012 ορίζει ειδικά κριτήρια επιλεξιμότητας για τη χορήγηση δασμολογικών προτιμήσεων στο πλαίσιο του ειδικού καθεστώτος παροχής κινήτρων για την αειφόρο ανάπτυξη και τη χρηστή διακυβέρνηση («ΣΓΠ+») στις δικαιούχους χώρες του ΣΓΠ. Ο κατάλογος των δικαιούχων χωρών του ΣΓΠ+ παρατίθεται στο παράρτημα III του κανονισμού (ΕΕ) αριθ. 978/2012.
- (8) Εξαιτίας του ότι παύει να είναι δικαιούχος χώρα του ΣΓΠ από την 1η Ιανουαρίου 2019, η Παραγουάη παύει επίσης να είναι δικαιούχος χώρα του ΣΓΠ+ σύμφωνα με το άρθρο 9 παράγραφος 1 του κανονισμού (ΕΕ) αριθ. 978/2012. Η Παραγουάη θα πρέπει επομένως να διαγραφεί και από το παράρτημα III του εν λόγω κανονισμού, με ισχύ από την 1η Ιανουαρίου 2019,

<sup>(1)</sup> ΕΕ L 303 της 31.10.2012, σ. 1.

- (9) Το άρθρο 17 παράγραφος 1 του κανονισμού (ΕΕ) αριθ. 978/2012 προβλέπει ότι, αν μια χώρα έχει χαρακτηριστεί από τα Ηνωμένα Έθνη ως λιγότερο αναπτυγμένη χώρα, θα πρέπει να επωφελείται από τις δασμολογικές προτιμήσεις οι οποίες παραχωρούνται στο πλαίσιο του ειδικού καθεστώτος υπέρ των λιγότερο αναπτυγμένων χωρών [δηλαδή του καθεστώτος «Όλα εκτός από όπλα» (ΟΕΟ)]. Ο κατάλογος των δικαιούχων χωρών του καθεστώτος ΟΕΟ παρατίθεται στο παράρτημα IV του εν λόγω κανονισμού.
- (10) Στις 4 Ιουνίου 2017 τα ΗΕ αφαίρεσαν την Ισημερινή Γουινέα από την κατηγορία των λιγότερο αναπτυγμένων χωρών. Κατά συνέπεια, η Ισημερινή Γουινέα δεν πληροί πλέον τις προϋποθέσεις υπαγωγής στο καθεστώς ΟΕΟ σύμφωνα με το άρθρο 17 παράγραφος 1 του κανονισμού (ΕΕ) αριθ. 978/2012 και θα πρέπει να διαγραφεί από το παράρτημα IV του εν λόγω κανονισμού. Σύμφωνα με το άρθρο 17 παράγραφος 2 του κανονισμού (ΕΕ) αριθ. 978/2012, η διαγραφή της Ισημερινής Γουινέας από τον κατάλογο των δικαιούχων χωρών του καθεστώτος ΟΕΟ θα πρέπει να εφαρμοστεί ύστερα από μεταβατική περίοδο τριών ετών από την ημερομηνία έναρξης ισχύος του παρόντος κανονισμού, δηλαδή από την 1η Ιανουαρίου 2021.
- (11) Επιπλέον, η Ισημερινή Γουινέα χαρακτηρίστηκε από την Παγκόσμια Τράπεζα ως χώρα υψηλού εισοδήματος το 2015 και ως χώρα μέσου-υψηλού εισοδήματος το 2016 και το 2017. Συνεπώς, η Ισημερινή Γουινέα δεν πληροί πλέον τις προϋποθέσεις υπαγωγής στο καθεστώς ΣΓΠ σύμφωνα με το άρθρο 4 παράγραφος 1 στοιχείο α) του κανονισμού (ΕΕ) αριθ. 978/2012 και θα πρέπει να διαγραφεί από τον κατάλογο των δικαιούχων χωρών του ΣΓΠ στο παράρτημα II του εν λόγω κανονισμού, με ισχύ από την 1η Ιανουαρίου 2021,

ΕΞΕΔΩΣΕ ΤΟΝ ΠΑΡΟΝΤΑ ΚΑΝΟΝΙΣΜΟ:

#### Άρθρο 1

#### Τροποποιήσεις του κανονισμού (ΕΕ) αριθ. 978/2012

Ο κανονισμός (ΕΕ) αριθ. 978/2012 τροποποιείται ως εξής:

- 1) Στο παράρτημα II, οι ακόλουθοι αλφαβητικοί κωδικοί και οι αντίστοιχες χώρες διαγράφονται από τις στήλες Α και Β, αντίστοιχα:

CI	Ακτή Ελεφαντοστού
GH	Γκάνα
PY	Παραγουάη
SZ	Σουαζιλάνδη

- 2) Στο παράρτημα III, ο ακόλουθος αλφαβητικός κωδικός και η αντίστοιχη χώρα διαγράφονται από τις στήλες Α και Β, αντίστοιχα:

PY	Παραγουάη
----	-----------

- 3) Στα παραρτήματα II και IV, ο ακόλουθος αλφαβητικός κωδικός και η αντίστοιχη χώρα διαγράφονται από τις στήλες Α και Β, αντίστοιχα:

GQ	Ισημερινή Γουινέα
----	-------------------

#### Άρθρο 2

#### Έναρξη ισχύος και εφαρμογή

Ο παρών κανονισμός αρχίζει να ισχύει την 1η Ιανουαρίου 2018.

Το άρθρο 1 σημεία 1) και 2) εφαρμόζονται από την 1η Ιανουαρίου 2019.

Το άρθρο 1 σημείο 3) εφαρμόζεται από την 1η Ιανουαρίου 2021.

Ο παρών κανονισμός είναι δεσμευτικός ως προς όλα τα μέρη του και ισχύει άμεσα σε κάθε κράτος μέλος.

Βρυξέλλες, 27 Σεπτεμβρίου 2017.

Για την Επιτροπή  
Ο Πρόεδρος  
Jean-Claude JUNCKER

---

## ΚΑΤ' ΕΞΟΥΣΙΟΔΟΤΗΣΗ ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΣ (ΕΕ) 2018/149 ΤΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ

της 15ης Νοεμβρίου 2017

για την τροποποίηση του κατ' εξουσιοδότηση κανονισμού (ΕΕ) 2016/1238 όσον αφορά τις απαιτήσεις ως προς τη σύνθεση και τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του γάλακτος και των γαλακτοκομικών προϊόντων που είναι επιλέξιμα για τη δημόσια παρέμβαση και την ενίσχυση για ιδιωτική αποθεματοποίηση

Η ΕΥΡΩΠΑΪΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ,

Έχοντας υπόψη τη Συνθήκη για τη λειτουργία της Ευρωπαϊκής Ένωσης,

Έχοντας υπόψη τον κανονισμό (ΕΕ) αριθ. 1308/2013 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου, της 17ης Δεκεμβρίου 2013, για τη θέσπιση κοινής οργάνωσης των αγορών γεωργικών προϊόντων και την κατάργηση των κανονισμών (ΕΟΚ) αριθ. 922/72, (ΕΟΚ) αριθ. 234/79, (ΕΚ) αριθ. 1037/2001 και (ΕΚ) αριθ. 1234/2007 του Συμβουλίου <sup>(1)</sup>, και ιδίως το άρθρο 19 παράγραφος 1 στοιχείο α),

Εκτιμώντας τα ακόλουθα:

- (1) Ο κατ' εξουσιοδότηση κανονισμός (ΕΕ) 2016/1238 της Επιτροπής <sup>(2)</sup> καθορίζει τις απαιτήσεις όσον αφορά τη σύνθεση και τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του γάλακτος και των γαλακτοκομικών προϊόντων που είναι επιλέξιμα για τη δημόσια παρέμβαση και την ενίσχυση για ιδιωτική αποθεματοποίηση.
- (2) Λόγω τεχνικών βελτιώσεων στις χρησιμοποιούμενες μεθόδους για την ανάλυση και την ποιοτική αξιολόγηση του γάλακτος και των γαλακτοκομικών προϊόντων, και προκειμένου να εναρμονιστούν οι ισχύοντες κανόνες της Ένωσης σχετικά με τις υγειονομικές απαιτήσεις, θα πρέπει να επανεξεταστούν και να επικαιροποιηθούν οι παράμετροι όσον αφορά τη σύνθεση και τα ποιοτικά χαρακτηριστικά ορισμένων γαλακτοκομικών προϊόντων που είναι επιλέξιμα για τη δημόσια παρέμβαση και την ενίσχυση για ιδιωτική αποθεματοποίηση.
- (3) Ως εκ τούτου, τα παραρτήματα IV και V του κατ' εξουσιοδότηση κανονισμού (ΕΕ) 2016/1238 θα πρέπει να τροποποιηθούν αναλόγως,

ΕΞΕΔΩΣΕ ΤΟΝ ΠΑΡΟΝΤΑ ΚΑΝΟΝΙΣΜΟ:

## Άρθρο 1

Τα παραρτήματα του κατ' εξουσιοδότηση κανονισμού (ΕΕ) 2016/1238 τροποποιούνται ως εξής:

- α) το μέρος II του παραρτήματος IV αντικαθίσταται από το κείμενο του παραρτήματος I του παρόντος κανονισμού·
- β) το μέρος II του παραρτήματος V αντικαθίσταται από το κείμενο του παραρτήματος II του παρόντος κανονισμού.

## Άρθρο 2

Ο παρών κανονισμός αρχίζει να ισχύει την έβδομη ημέρα από τη δημοσίευσή του στην *Επίσημη Εφημερίδα της Ευρωπαϊκής Ένωσης*.

Ο παρών κανονισμός είναι δεσμευτικός ως προς όλα τα μέρη του και ισχύει άμεσα σε κάθε κράτος μέλος.

Βρυξέλλες, 15 Νοεμβρίου 2017.

Για την Επιτροπή  
Ο Πρόεδρος  
Jean-Claude JUNCKER

<sup>(1)</sup> ΕΕ L 347 της 20.12.2013, σ. 671.

<sup>(2)</sup> Κατ' εξουσιοδότηση κανονισμός (ΕΕ) 2016/1238 της Επιτροπής, της 18ης Μαΐου 2016, για τη συμπλήρωση του κανονισμού (ΕΕ) αριθ. 1308/2013 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου όσον αφορά τη δημόσια παρέμβαση και την ενίσχυση για ιδιωτική αποθεματοποίηση (ΕΕ L 206 της 30.7.2016, σ. 15).

## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι

## «ΜΕΡΟΣ ΙΙ

**Απαιτήσεις όσον αφορά τη σύνθεση και τα ποιοτικά χαρακτηριστικά**

Το βούτυρο είναι στερεό γαλάκτωμα κυρίως του τύπου νερό σε έλαιο, με την ακόλουθη σύνθεση και ποιοτικά χαρακτηριστικά:

Παράμετροι	Περιεκτικότητα και ποιοτικά χαρακτηριστικά
Λιπαρές ουσίες	Τουλάχιστον 82 %
Νερό	16 % κατ' ανώτατο όριο
Στερεό υπόλειμμα χωρίς λιπαρές ουσίες	2 % κατ' ανώτατο όριο
Οξύτητα λίπους	1,2 mmol/100 g λιπαρών ουσιών κατ' ανώτατο όριο
Αριθμός υπεροξειδίων	0,3 meq οξυγόνου/1 000 g λιπαρών ουσιών κατ' ανώτατο όριο
Λίπος πλην του λίπους γάλακτος	Μη ανιχνεύσιμο με ανάλυση τριγλυκεριδίων
Γευστικά χαρακτηριστικά	Τουλάχιστον 4 βαθμοί στους 5 για την εμφάνιση, τη γεύση και τη σύσταση»

## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ II

## «ΜΕΡΟΣ II

## Απαιτήσεις όσον αφορά τη σύνθεση και τα ποιοτικά χαρακτηριστικά

Παράμετροι	Περιεκτικότητα και ποιοτικά χαρακτηριστικά
Πρωτεΐνες	34,0 % επί του στερεού υπολείμματος χωρίς λιπαρές ουσίες, κατ' ανώτατο όριο
Λιπαρές ουσίες	1,00 % κατ' ανώτατο όριο
Νερό	3,5 % κατ' ανώτατο όριο
Ογκομετρούμενη οξύτητα μετρούμενη σε χιλιοστόλιτρα δεκατοκανονικού διαλύματος υδροξειδίου του νατρίου	19,5 ml κατ' ανώτατο όριο
Γαλακτικές ενώσεις	150 mg/100 g κατ' ανώτατο όριο
Δοκιμασία φωσφατάσης	Αρνητική, δηλαδή δραστικότητα φωσφατάσης που δεν υπερβαίνει τις 350 mU ανά λίτρο ανασυσταθέντος γάλακτος
Δείκτης αδιαλυτότητας	0,5 ml κατ' ανώτατο όριο (24 °C)
Καμένα σωματίδια	15,0 mg κατ' ανώτατο όριο, δηλαδή τουλάχιστον δίσκος Β
Μικροοργανισμοί	40 000 CFU ανά γραμμάριο κατ' ανώτατο όριο
Βουτυρόγαλα (1)	Μηδέν (2)
Γλυκός ορός γάλακτος (3)	Μηδέν
Όξινος ορός γάλακτος (3)	Μηδέν (4) ή 150 mg/100 g κατ' ανώτατο όριο (5)
Γεύση και οσμή	Καθαρό
Εμφάνιση	Χρώμα λευκό ή ελαφρώς κιτρινωπό, απουσία ξένων προσμειξών και χρωματισμένων σωματιδίων

(1) Ως “βουτυρόγαλα” νοείται το υποπροϊόν της παραγωγής βουτύρου, το οποίο προκύπτει ύστερα από απόδραση της κρέμας και διαχωρισμό της στερεάς λιπαρής φάσης.

(2) Η απουσία βουτυρογάλακτος διαπιστώνεται είτε με αιφνιδιαστικό επιτόπιο έλεγχο στην εγκατάσταση παραγωγής, τουλάχιστον μία φορά εβδομαδιαίως, είτε με εργαστηριακή ανάλυση του τελικού προϊόντος, με την οποία διαπιστώνεται μέγιστη αναλογία της ουσίας διπλამτικής φωσφατιδυλαιθανολαμίνης (PEDP) 69,31 mg ανά 100 g.

(3) Ως “ορός γάλακτος” νοείται το υποπροϊόν της παραγωγής τυριού ή καζέϊνης μέσω της δράσεως οξέων, πυτιάς ή/και φυσικοχημικών διεργασιών.

(4) Όταν διενεργούνται επιτόπιοι έλεγχοι.

(5) Όταν εφαρμόζεται το πρότυπο ISO 8069».

## ΕΚΤΕΛΕΣΤΙΚΟΣ ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΣ (ΕΕ) 2018/150 ΤΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ

της 30ής Ιανουαρίου 2018

για την τροποποίηση του εκτελεστικού κανονισμού (ΕΕ) 2016/1240, όσον αφορά τις μεθόδους ανάλυσης και ποιοτικής αξιολόγησης του γάλακτος και των γαλακτοκομικών προϊόντων που είναι επιλέξιμα για δημόσια παρέμβαση και ενίσχυση για ιδιωτική αποθεματοποίηση

Η ΕΥΡΩΠΑΪΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ,

Έχοντας υπόψη τη Συνθήκη για τη λειτουργία της Ευρωπαϊκής Ένωσης,

Έχοντας υπόψη τον κανονισμό (ΕΕ) αριθ. 1306/2013 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου, της 17ης Δεκεμβρίου 2013, σχετικά με τη χρηματοδότηση, τη διαχείριση και την παρακολούθηση της κοινής γεωργικής πολιτικής και την κατάργηση των κανονισμών (ΕΟΚ) αριθ. 352/78, (ΕΚ) αριθ. 165/94, (ΕΚ) αριθ. 2799/98, (ΕΚ) αριθ. 814/2000, (ΕΚ) αριθ. 1290/2005 και (ΕΚ) αριθ. 485/2008 του Συμβουλίου <sup>(1)</sup>, και ιδίως το άρθρο 62 παράγραφος 2 στοιχείο θ),

Εκτιμώντας τα ακόλουθα:

- (1) Ο κατ' εξουσιοδότηση κανονισμός (ΕΕ) 2016/1238 της Επιτροπής <sup>(2)</sup> και ο εκτελεστικός κανονισμός (ΕΕ) 2016/1240 της Επιτροπής <sup>(3)</sup> θεσπίζουν τους κανόνες όσον αφορά τη δημόσια παρέμβαση και την ενίσχυση για ιδιωτική αποθεματοποίηση. Ο κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 273/2008 της Επιτροπής <sup>(4)</sup> καθορίζει τις μεθόδους που πρέπει να εφαρμόζονται κατά την αξιολόγηση του κατά πόσον το γάλα και τα γαλακτοκομικά προϊόντα πληρούν τις απαιτήσεις επιλεξιμότητας που προβλέπονται στους εν λόγω κανονισμούς όσον αφορά τη δημόσια παρέμβαση και την ενίσχυση για ιδιωτική αποθεματοποίηση.
- (2) Υπό το φως των τεχνικών εξελίξεων στη μεθοδολογία που χρησιμοποιείται για την ανάλυση και την ποιοτική αξιολόγηση του γάλακτος και των γαλακτοκομικών προϊόντων, θα πρέπει να επέλθουν ουσιώδεις τροποποιήσεις στον ισχύοντα κανονισμό με στόχο, αφενός, την απλούστευση και, αφετέρου, την πρόβλεψη επικαιροποίησης των παραπομπών στα πρότυπα ISO. Για λόγους σαφήνειας και αποτελεσματικότητας, και έχοντας υπόψη την έκταση και τον τεχνικό χαρακτήρα των τροποποιήσεων των διατάξεων του κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 273/2008, οι σχετικές διατάξεις του εν λόγω κανονισμού θα πρέπει να ενσωματωθούν στον εκτελεστικό κανονισμό (ΕΕ) 2016/1240.
- (3) Προκειμένου να διασφαλιστεί η ομοιόμορφη συμμόρφωση προς τα νέα πρότυπα και τις νέες μεθόδους σε όλα τα κράτη μέλη, θα πρέπει τα εργαστήρια να έχουν στη διάθεσή τους επαρκές χρονικό διάστημα για την επανεξέταση των διαδικασιών και την εφαρμογή των επικαιροποιημένων μεθόδων.
- (4) Επομένως, ο εκτελεστικός κανονισμός (ΕΕ) 2016/1240 θα πρέπει να τροποποιηθεί αναλόγως.
- (5) Για λόγους ασφάλειας δικαίου, ο κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 273/2008 θα πρέπει να καταργηθεί.
- (6) Τα μέτρα που προβλέπονται στον παρόντα κανονισμό είναι σύμφωνα με τη γνώμη της επιτροπής για την κοινή οργάνωση των γεωργικών αγορών,

ΕΞΕΔΩΣΕ ΤΟΝ ΠΑΡΟΝΤΑ ΚΑΝΟΝΙΣΜΟ:

## Άρθρο 1

Ο εκτελεστικός κανονισμός (ΕΕ) 2016/1240 τροποποιείται ως ακολούθως:

1) Το άρθρο 4 τροποποιείται ως εξής:

α) η παράγραφος 1 τροποποιείται ως εξής:

i) το στοιχείο δ) αντικαθίσταται από το ακόλουθο κείμενο:

«δ) για το βούτυρο: στα μέρη I και Ia του παραρτήματος IV του παρόντος κανονισμού»

ii) το στοιχείο ε) αντικαθίσταται από το ακόλουθο κείμενο:

«ε) για το αποκορυφωμένο γάλα σε σκόνη: στα μέρη I και Ia του παραρτήματος V του παρόντος κανονισμού»

<sup>(1)</sup> ΕΕ L 347 της 20.12.2013, σ. 549.

<sup>(2)</sup> Κατ' εξουσιοδότηση κανονισμός (ΕΕ) 2016/1238 της Επιτροπής, της 18ης Μαΐου 2016, για τη συμπλήρωση του κανονισμού (ΕΕ) αριθ. 1308/2013 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου όσον αφορά τη δημόσια παρέμβαση και την ενίσχυση για ιδιωτική αποθεματοποίηση (ΕΕ L 206 της 30.7.2016, σ. 15).

<sup>(3)</sup> Εκτελεστικός κανονισμός (ΕΕ) 2016/1240 της Επιτροπής της 18ης Μαΐου 2016, για τη θέσπιση κανόνων εφαρμογής του κανονισμού (ΕΕ) αριθ. 1308/2013 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου όσον αφορά τη δημόσια παρέμβαση και την ενίσχυση για ιδιωτική αποθεματοποίηση (ΕΕ L 206 της 30.7.2016, σ. 71).

<sup>(4)</sup> Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 273/2008 της Επιτροπής, της 5ης Μαρτίου 2008, για τη θέσπιση λεπτομερών κανόνων εφαρμογής του κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 1255/1999 του Συμβουλίου, όσον αφορά τις μεθόδους ανάλυσης και ποιοτικής αξιολόγησης του γάλακτος και των γαλακτοκομικών προϊόντων (ΕΕ L 88 της 29.3.2008, σ. 1).



β) η παράγραφος 2 αντικαθίσταται από το ακόλουθο κείμενο:

«2. Οι μέθοδοι που πρέπει να χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό της ποιότητας των σιτηρών, του βουτύρου και του αποκορυφωμένου γάλακτος σε σκόνη που είναι επιλέξιμα για δημόσια παρέμβαση και αναφέρονται στα παραρτήματα I, IV και V, αντίστοιχα, είναι εκείνες που καθορίζονται στις τελευταίες εκδόσεις των ευρωπαϊκών ή διεθνών προτύπων, κατά περίπτωση, οι οποίες ισχύουν τουλάχιστον 6 μήνες πριν από την πρώτη ημέρα της περιόδου δημόσιας παρέμβασης που ορίζεται στο άρθρο 12 του κανονισμού (ΕΕ) αριθ. 1308/2013.».

2) Παρεμβάλλεται το ακόλουθο άρθρο 60α:

«Άρθρο 60α

**Ειδική διάταξη σχετικά με τους ελέγχους που αφορούν τη δημόσια παρέμβαση και την ενίσχυση για ιδιωτική αποθεματοποίηση για το γάλα και τα γαλακτοκομικά προϊόντα**

1. Η επιλεξιμότητα του βουτύρου, του αποκορυφωμένου γάλακτος σε σκόνη και του τυριού για τη λήψη ενίσχυσης για ιδιωτική αποθεματοποίηση καθορίζεται σύμφωνα με τις μεθόδους που προβλέπονται στα παραρτήματα VI, VII και VIII αντίστοιχα.

Οι μέθοδοι αυτές καθορίζονται με βάση τις τελευταίες εκδόσεις των σχετικών ευρωπαϊκών ή διεθνών προτύπων, κατά περίπτωση, που ισχύουν τουλάχιστον 6 μήνες πριν από την πρώτη ημέρα της περιόδου δημόσιας παρέμβασης που ορίζεται στο άρθρο 12 του κανονισμού (ΕΕ) αριθ. 1308/2013.

2. Τα αποτελέσματα των ελέγχων που πραγματοποιούνται με την εφαρμογή των μεθόδων που καθορίζονται στον παρόντα κανονισμό αξιολογούνται σύμφωνα με το παράρτημα IX.».

3) Τα παραρτήματα τροποποιούνται σύμφωνα με το παράρτημα του παρόντος κανονισμού.

Άρθρο 2

Ο κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 273/2008 καταργείται.

Άρθρο 3

Ο παρών κανονισμός αρχίζει να ισχύει την έβδομη ημέρα από τη δημοσίευσή του στην *Επίσημη Εφημερίδα της Ευρωπαϊκής Ένωσης*.

Ο παρών κανονισμός είναι δεσμευτικός ως προς όλα τα μέρη του και ισχύει άμεσα σε κάθε κράτος μέλος.

Βρυξέλλες, 30 Ιανουαρίου 2018.

Για την Επιτροπή  
Ο Πρόεδρος  
Jean-Claude JUNCKER

## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Τα παραρτήματα του εκτελεστικού κανονισμού (ΕΕ) 2016/1240 τροποποιούνται ως εξής:

1) Το παράρτημα IV τροποποιείται ως εξής:

α) στο μέρος I σημείο 2, το δεύτερο εδάφιο αντικαθίσταται από το ακόλουθο κείμενο:

«Κάθε δείγμα εξετάζεται χωριστά. Δεν επιτρέπεται επαναδειγματοληψία και επαναξιολόγηση.»

β) παρεμβάλλεται το ακόλουθο μέρος Ια:

«ΜΕΡΟΣ Ια

**Μέθοδοι ανάλυσης μη αλατισμένου βουτύρου για δημόσια παρέμβαση**

Παράμετρος	Μέθοδος
Λιπαρά <sup>(1)</sup>	ISO 17189 ή ISO 3727 μέρος 3
Νερό	ISO 3727 μέρος 1
Πήγματα χωρίς λίπος	ISO 3727 μέρος 2
Οξύτητα λίπους	ISO 1740
Αριθμός υπεροξειδίων	ISO 3976
Λίπος πλην του λίπους γάλακτος	ISO 17678
Γευστικά χαρακτηριστικά	ISO 22935 μέρος 2 και 3 και πίνακας βαθμολόγησης κατωτέρω.

(<sup>1</sup>) Η εφαρμοστέα μέθοδος εγκρίνεται από τον οργανισμό πληρωμών.

**Πίνακας βαθμολόγησης**

Όψη		Σύσταση		Οσμή και γεύση	
Βαθμοί	Παρατηρήσεις	Βαθμοί	Παρατηρήσεις	Βαθμοί	Παρατηρήσεις
5	Πολύ καλή Ιδεώδης τύπος Ύψιστη ποιότητα (όμοιο με ξηρό)	5	Πολύ καλή Ιδεώδης τύπος Ύψιστη ποιότητα (ιση προς επάλειψη)	5	Πολύ καλή Ιδεώδης τύπος Ύψιστη ποιότητα (τελείως καθαρή ευγενέ- στατη οσμή)
4	Καλή (χωρίς εμφανή ελαττώ- ματα)	4	Καλή (χωρίς εμφανή ελαττώ- ματα)	4	Καλή (χωρίς εμφανή ελαττώ- ματα)
1, 2 ή 3	Κάθε ελάττωμα	1, 2 ή 3	Κάθε ελάττωμα	1, 2 ή 3	Κάθε ελάττωμα»

2) Στο παράρτημα V παρεμβάλλεται το ακόλουθο μέρος Ια:

«ΜΕΡΟΣ Ια

**Μέθοδοι ανάλυσης αποκορυφωμένου γάλακτος σε σκόνη για δημόσια παρέμβαση**

Παράμετρος	Μέθοδος
Πρωτεΐνη	ISO 8968 μέρος 1
Λιπαρά	ISO 1736
Νερό	ISO 5537
Οξύτητα	ISO 6091
Γαλακτικά οξέα	ISO 8069
Δοκιμασία φωσφατάσης	ISO 11816 μέρος 1
Δείκτης αδιαλυτότητας	ISO 8156
Καμένα σωματίδια <sup>(1)</sup>	ADPI
Μικροοργανισμοί	ISO 4833-μέρος 1
Βουτυρόγαλα	Προσάρτημα I
Γλυκός ορός γάλακτος <sup>(2)</sup>	Προσαρτήματα II και III
Όξινος ορός γάλακτος <sup>(3)</sup>	ISO 8069 ή Επιτόπιες επιθεωρήσεις
Οργανοληπτικοί έλεγχοι <sup>(4)</sup>	ISO 22935 μέρος 2 και 3

<sup>(1)</sup> Αναλύσεις καμένων σωματιδίων μπορούν να διεξάγονται συστηματικά. Ωστόσο, οι εν λόγω αναλύσεις διεξάγονται οπωσδήποτε εάν δεν πραγματοποιούνται οργανοληπτικοί έλεγχοι.

<sup>(2)</sup> Η εφαρμοστέα μέθοδος εγκρίνεται από τον οργανισμό πληρωμών (μία ή δύο μέθοδοι).

<sup>(3)</sup> Η εφαρμοστέα μέθοδος εγκρίνεται από τον οργανισμό πληρωμών.

<sup>(4)</sup> Οι οργανοληπτικοί έλεγχοι διεξάγονται όταν κρίνεται αναγκαίο μετά από ανάλυση κινδύνου που έχει εγκριθεί από τον οργανισμό πληρωμών.

## Προσάρτημα I

**ΑΠΟΚΟΡΥΦΩΜΕΝΟ ΓΑΛΑ ΣΕ ΣΚΟΝΗ: ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΣΕ ΦΩΣΦΑΤΙΔΥΛΣΕΡΙΝΗ ΚΑΙ ΦΩΣΦΑΤΙΔΥΛΑΙΘΑΝΟΛΑΜΙΝΗ****Μέθοδος: υγροχρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC) ανεστραμμένης φάσης**

## 1. ΣΚΟΠΟΣ ΚΑΙ ΠΕΔΙΟ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ

Η μέθοδος περιγράφει διαδικασία για τον ποσοτικό προσδιορισμό της φωσφατιδυλσερίνης (PS) και φωσφατιδυλαιθανολαμίνης (PE) σε αποκορυφωμένο γάλα σε σκόνη (ΑΓΣ) και είναι κατάλληλη για την ανίχνευση πηγμάτων βουτυρογάλακτος στο ΑΓΣ.

## 2. ΟΡΙΣΜΟΣ

Περιεκτικότητα σε PS + PE: το κλάσμα μάζας ουσίας το οποίο προσδιορίζεται με τη διαδικασία που ορίζεται στο παρόν παράρτημα. Το αποτέλεσμα εκφράζεται σε χιλιοστόγραμμα διπάλμητικής φωσφατιδυλαιθανολαμίνης (PEDP) ανά 100 g σκόνης.

## 3. ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Εκχύλιση αμινοφωσφολιπιδίων από ανασυσταθείσα σκόνη γάλακτος με μεθανόλη. Προσδιορισμός των PS και PE ως παραγώγων που σχηματίζονται με ο-φθαλοδιαλδεύδη (OPA), με HPLC ανεστραμμένης φάσης και ανίχνευση φθορισμού. Ποσοτικός προσδιορισμός της περιεκτικότητας του δείγματος δοκιμής σε PS και PE με σύγκριση με πρότυπο δείγμα που περιέχει γνωστή ποσότητα PEDP.

## 4. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Όλα τα αντιδραστήρια είναι αναγνωρισμένες αναλυτικής καθαρότητας. Εκτός αν ορίζεται διαφορετικά, το χρησιμοποιούμενο νερό είναι αποσταγμένο ή τουλάχιστον ισοδύναμης καθαρότητας.

4.1. **Πρότυπο υλικό: PEDP, καθαρότητας τουλάχιστον 99 %.**

Σημείωση: Το πρότυπο υλικό πρέπει να αποθηκεύεται σε  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

4.2. **Αντιδραστήρια για την προετοιμασία του πρότυπου δείγματος και του δείγματος δοκιμής**

## 4.2.1. Μεθανόλη καθαρότητας HPLC

## 4.2.2. Χλωροφόρμιο καθαρότητας HPLC

## 4.2.3. Υδροχλωρική θρυπταμίνη

4.3. **Αντιδραστήρια για σχηματισμό παραγώγων της ο-φθαλοδιαλδεύδης**

## 4.3.1. Υδροξείδιο του νατρίου, υδατικό διάλυμα 12 M

## 4.3.2. Βορικό οξύ, υδατικό διάλυμα 0,4 M, του οποίου το pH ρυθμίζεται στην τιμή 10,0 με υδροξείδιο του νατρίου (4.3.1)

## 4.3.3. 2-μερκαπτοαιθανόλη

## 4.3.4. ο-φθαλοδιαλδεύδη (OPA)

4.4. **Διαλύτες έκλυσης HPLC**

## 4.4.1. Οι διαλύτες έκλυσης παρασκευάζονται με αντιδραστήρια καθαρότητας HPLC.

## 4.4.2. Νερό καθαρότητας HPLC

## 4.4.3. Μεθανόλη ελεγμένης φθορισμομετρικής καθαρότητας

## 4.4.4. Τετραϋδροφουράνιο

## 4.4.5. Δισόξινο φωσφορικό νάτριο

## 4.4.6. Οξικό νάτριο

## 4.4.7. Οξικό οξύ.

5. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑ ΣΚΕΥΗ ΚΑΙ ΟΡΓΑΝΑ
    - 5.1. Αναλυτικός ζυγός με ακρίβεια ζύγισης 1 mg και αναγνωσιμότητα 0,1 mg
    - 5.2. Μεζούρες, με χωρητικότητα 25 και 100 ml
    - 5.3. Σιφόνια παροχής 1 και 10 ml
    - 5.4. Μαγνητικός αναδευτήρας
    - 5.5. Βαθμολογημένα σιφόνια παροχής 0,2, 0,5 και 5 ml
    - 5.6. Ογκομετρικά χωνιά, με χωρητικότητα 10, 50 και 100 ml
    - 5.7. Σύριγγες, χωρητικότητας 20 και 100 ml
    - 5.8. Λουτρό υπερήχων
    - 5.9. Φυγόκεντρος που λειτουργεί στα 27 000 × g
    - 5.10. Γυάλινα φιαλίδια χωρητικότητας περίπου 5 ml
    - 5.11. Ογκομετρικός κύλινδρος των 25 ml
    - 5.12. Πεχάμετρο με ακρίβεια 0,1 μονάδων pH
    - 5.13. Εξοπλισμός HPLC
      - 5.13.1. Βαθμονομημένο σύστημα άντλησης, ικανό να λειτουργεί σε 1,0 ml ανά λεπτό σε 200 bar
      - 5.13.2. Αυτόματος δειγματολήπτης με δυνατότητα σχηματισμού παραγώγων
      - 5.13.3. Θερμαντήρας στήλης, ικανός να διατηρεί τη θερμοκρασία της στους 30 °C ± 1 °C
      - 5.13.4. Ανιχνευτής φθορισμού με δυνατότητα λειτουργίας σε μήκος κύματος διέγερσης 330 nm και μήκος κύματος εκπομπής 440 nm
      - 5.13.5. Ολοκληρωτής ή λογισμικό επεξεργασίας δεδομένων με δυνατότητα μέτρησης εμβαδών κορυφών
      - 5.13.6. Στήλη LiChrospher® — 100 (διαστάσεις 250 × 4,6 mm) ή ισοδύναμη στήλη που έχει πληρωθεί με δεκαοκτυλοσιλάνιο (C 18), μεγέθους σωματιδίων 5 μm.
  6. ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ

Η δειγματοληψία διενεργείται σύμφωνα με το πρότυπο ISO 707.
  7. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ
    - 7.1. Παρασκευή του διαλύματος εσωτερικού προτύπου
      - 7.1.1. Σε ογκομετρική φιάλη των 100 ml (5.6) ζυγίζονται 30,0 ± 0,1 mg υδροχλωρικής θρυπταμίνης (4.2.3) και συμπληρώνεται ο όγκος μέχρι τη χαραγή με μεθανόλη (4.2.1).
      - 7.1.2. Λαμβάνεται με σιφόνιο 1 ml (5.3) του διαλύματος αυτού, φέρεται σε ογκομετρική φιάλη των 10 ml (5.6) και συμπληρώνεται ο όγκος μέχρι τη χαραγή με μεθανόλη (4.2.1), ώστε να επιτευχθεί συγκέντρωση θρυπταμίνης 0,15 mM.
    - 7.2. Παρασκευή του διαλύματος δείγματος δοκιμής
      - 7.2.1. Σε ποτήρι ζέσεως των 25 ml (5.2) ζυγίζονται 1,000 ± 0,001 g δείγματος ΑΓΣ. Προστίθενται 10 ml απεσταγμένου νερού θερμοκρασίας 40 °C ± 1 °C με σιφόνιο (5.3) και το σύνολο αναδεύεται σε μαγνητικό αναδευτήρα (5.4) επί 30 λεπτά για να διαλυθούν οι σβώλοι
      - 7.2.2. Μεταγγίζονται με σιφόνιο 0,2 ml (5.5) του ανασυσταθέντος γάλακτος σε ογκομετρική φιάλη των 10 ml (5.6), προστίθενται 100 μl διαλύματος θρυπταμίνης 0,15 mM (7.1) με τη βοήθεια σύριγγας (5.7) και συμπληρώνεται ο όγκος με μεθανόλη (4.2.1). Το σύνολο αναμειγνύεται προσεκτικά με αναστροφή και υποβάλλεται σε κατεργασία με υπερήχους (5.8) επί 15 λεπτά
      - 7.2.3. Ακολουθεί φυγόκεντρωση (5.9) στα 27 000 g × επί 10 λεπτά και συλλογή του υπερκευμένου σε γυάλινο φιαλίδιο (5.10)
- Σημείωση: Το διάλυμα του υπό δοκιμή δείγματος πρέπει να αποθηκεύεται σε 4 °C έως τη διενέργεια της ανάλυσης HPLC.

**7.3. Παρασκευή του διαλύματος εξωτερικού προτύπου**

- 7.3.1. Σε ογκομετρική φιάλη των 50 ml (5.6) ζυγίζονται 55,4 mg PEDP (4.1) και προστίθενται περίπου 25 ml χλωροφορμίου (4.2.2) με τη βοήθεια ογκομετρικού κυλίνδρου (5.11). Η φιάλη πωματίζεται, θερμαίνεται στους  $50\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  και το περιεχόμενο αναμειγνύεται προσεκτικά μέχρι να διαλυθεί η PEDP. Η φιάλη ψύχεται στους  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ , συμπληρώνεται ο όγκος με μεθανόλη (4.2.1) και το περιεχόμενο αναμειγνύεται με αναστροφή
- 7.3.2. Μεταγγίζεται με σιφόνιο 1 ml (5.3) του διαλύματος αυτού σε ογκομετρική φιάλη των 100 ml (5.6) και συμπληρώνεται ο όγκος με μεθανόλη (4.2.1). Μεταγγίζεται με σιφόνιο 1 ml (5.3) του διαλύματος αυτού σε ογκομετρική φιάλη των 10 ml (5.6), προστίθενται 100 μl (5.7) διαλύματος θρυπταμίνης 0,15 mM (7.1) και συμπληρώνεται ο όγκος με μεθανόλη (4.2.1). Το σύνολο αναμειγνύεται με αναστροφή

Σημείωση: Το πρότυπο διάλυμα δείγματος πρέπει να αποθηκεύεται σε  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  μέχρι τη διενέργεια της ανάλυσης HPLC.

**7.4. Παρασκευή του αντιδραστήριου σχηματισμού παραγώγων**

Σε ογκομετρική φιάλη των 10 ml (5.6) ζυγίζονται  $25,0 \pm 0,1$  mg OPA (4.3.4), προστίθενται 0,5 ml (5.5) μεθανόλης (4.2.1) και το σύνολο αναμειγνύεται προσεκτικά για να διαλυθεί η OPA. Συμπληρώνεται ο όγκος μέχρι τη χαραγή με διάλυμα βορικού οξέος (4.3.2) και προστίθενται 20 μl 2-μερκαπτοαιθανόλης (4.3.3) με σύριγγα (5.7).

Σημείωση: Το αντιδραστήριο σχηματισμού παραγώγων πρέπει να φυλάσσεται σε θερμοκρασία  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  σε σκοτεινόχρωμο γυάλινο φιαλίδιο και είναι σταθερό επί μία εβδομάδα.

**7.5. Προσδιορισμός με HPLC****7.5.1. Διαλύτες έκλουσης (4.4)**

Διαλύτης A: Διάλυμα δισόξινου φωσφορικού νατρίου 0,3 mM και οξικού νατρίου 3 mM (με pH ρυθμισμένο στην τιμή  $6,5 \pm 0,1$  με οξικό οξύ): μεθανόλη: τετραϋδροφουράνιο = 558:440:2 (v/v/v)

Διαλύτης B: Μεθανόλη

**7.5.2. Προτεινόμενη βαθμίδωση της έκλουσης:**

Χρόνος (λεπτά)	Διαλύτης A (%)	Διαλύτης B (%)	Ταχύτητα ροής (ml/min)
Αρχική	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

Σημείωση: Ενδέχεται να απαιτηθεί ελαφρά τροποποίηση της βαθμίδωσης της έκλουσης για να επιτευχθεί η διαχωριστική ικανότητα που εμφανίζεται στο σχήμα 1.

Θερμοκρασία στήλης:  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

7.5.3. Όγκος έγχυσης: 50 ml αντιδραστηρίου σχηματισμού παραγώγων και 50 ml διαλύματος δείγματος

7.5.4. Εξισορρόπηση της στήλης

Με εκκίνηση του συστήματος σε καθημερινή βάση, εκπλύνεται η στήλη με 100 % διαλύτη Β επί 15 λεπτά, στη συνέχεια ρυθμίζεται σε λόγο Α:Β = 40:60 και εξισορροπείται σε ταχύτητα ροής 1 ml/min επί 15 λεπτά. Εκτελείται τυφλή μέτρηση με έγχυση μεθανόλης (4.2.1).

Σημείωση: Πριν αποθηκευτεί για μεγάλο χρονικό διάστημα, η στήλη υποβάλλεται σε έκπλυση με μεθανόλη: χλωροφόρμιο = 80:20 (v/v) επί 30 λεπτά.

7.5.5. Προσδιορίζεται η περιεκτικότητα του δείγματος δοκιμής σε PS + PE.

7.5.6. Η σειρά των χρωματογραφικών αναλύσεων εκτελείται με τήρηση σταθερού χρόνου μεταξύ των διαδοχικών μετρήσεων, ώστε να επιτυγχάνονται σταθεροί χρόνοι κατακράτησης. Ανά 5-10 διαλύματα δείγματος δοκιμής, εισάγεται το διάλυμα εξωτερικού προτύπου (7.3) για τον υπολογισμό του συντελεστή απόκρισης

Σημείωση: Ανά 20-25 μετρήσεις, η στήλη πρέπει να καθαρίζεται με έκπλυση με 100 % διαλύτη Β (7.5.1) επί 30 λεπτά τουλάχιστον.

## 7.6. Τρόπος ολοκλήρωσης

7.6.1. Κορυφή της PEDP

Η PEDP εκλούεται ως μία και μόνο κορυφή. Προσδιορίζεται το εμβαδόν της κορυφής με ολοκλήρωση μεταξύ των “κοιλιάδων”.

7.6.2. Κορυφή της θρυπταμίνης

Η θρυπταμίνη εκλούεται ως μία και μόνο κορυφή (σχήμα 1). Προσδιορίζεται το εμβαδόν της κορυφής με ολοκλήρωση μεταξύ των “κοιλιάδων”.

7.6.3. Ομάδες κορυφών PS και PE

Υπό τις περιγραφόμενες συνθήκες (σχήμα 1), η PS εκλούεται ως δύο κύριες, εν μέρει μη διαχωρισμένες κορυφές, των οποίων προηγείται μία ελάσσων κορυφή. Η PE εκλούεται ως τρεις κύριες, εν μέρει μη διαχωρισμένες κορυφές. Προσδιορίζεται το συνολικό εμβαδόν κάθε ομάδας κορυφών με χάραξη της γραμμής βάσης όπως εμφανίζεται στο σχήμα 1.

## 8. ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Η περιεκτικότητα PS και PE στο υπό διαδικασία δείγμα υπολογίζονται ως εξής:

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

όπου:

C = η περιεκτικότητα του δείγματος δοκιμής σε PS ή PE (mg/100 g σκόνης)

A<sub>1</sub> = το εμβαδόν της κορυφής της PEDP του διαλύματος πρότυπου δείγματος (7.3)

A<sub>2</sub> = το εμβαδόν της κορυφής της PS ή της PE του διαλύματος δείγματος δοκιμής (7.2)

T<sub>1</sub> = το εμβαδόν της κορυφής της θρυπταμίνης του διαλύματος πρότυπου δείγματος (7.3)

T<sub>2</sub> = το εμβαδόν της κορυφής της θρυπταμίνης του διαλύματος δείγματος δοκιμής (7.2).

## 9. ΟΡΘΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Σημείωση: Οι τιμές επαναληψιμότητας υπολογίστηκαν σύμφωνα με το διεθνές πρότυπο IDF (\*).

### 9.1. Επαναληψιμότητα

Η σχετική τυπική απόκλιση σε συνθήκες επαναληψιμότητας, η οποία εκφράζει τη μεταβλητότητα των ανεξάρτητων αναλυτικών αποτελεσμάτων που προκύπτουν από τον ίδιο χειριστή με χρήση των ίδιων οργάνων υπό τις ίδιες συνθήκες, με πανομοιότυπο δείγμα δοκιμής και σε σύντομο χρονικό διάστημα, δεν πρέπει να υπερβαίνει το 2 %. Σε περίπτωση δύο προσδιορισμών υπό τις συνθήκες αυτές, η σχετική διαφορά μεταξύ των δύο αποτελεσμάτων δεν πρέπει να υπερβαίνει το 6 % του αριθμητικού μέσου των αποτελεσμάτων.

## 9.2. Αναπαραγωγιμότητα

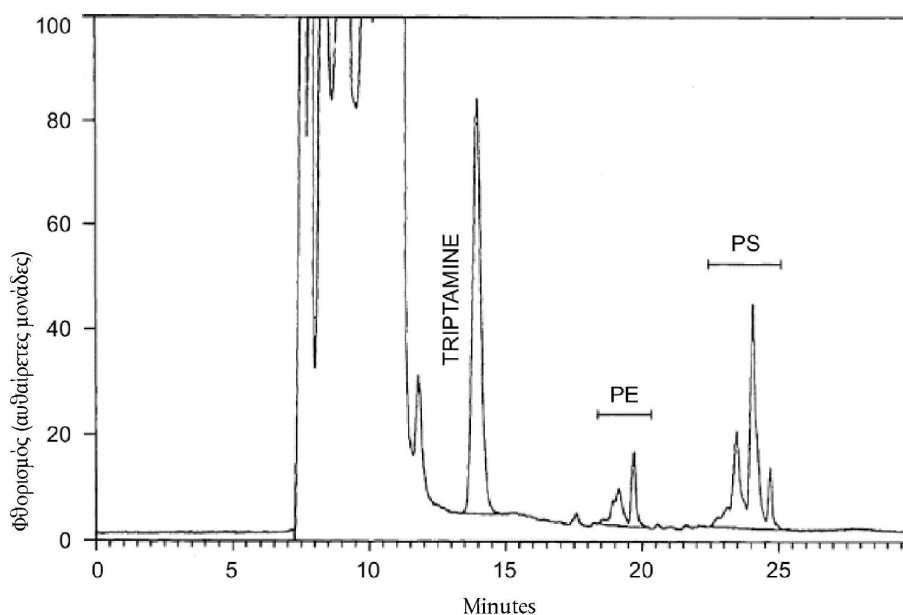
Σε περίπτωση δύο προσδιορισμών από χειριστές διαφορετικών εργαστηρίων, με διαφορετικά όργανα υπό διαφορετικές συνθήκες για την ανάλυση του ίδιου δείγματος δοκιμής, η σχετική διαφορά μεταξύ των δύο αποτελεσμάτων δεν πρέπει να υπερβαίνει το 11 % του αριθμητικού μέσου των αποτελεσμάτων.

## 10. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- 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).

Σχήμα 1

Δείγμα χρωματογραφήματος HPLC των σχηματιζόμενων με OPA παραγών φωσφατιδυλοσερίνη (PS) και φωσφατιδυλαιθανολαμίνη (PE) σε μεθανολικό εκχύλισμα ανασυσταθείσας σκόνης αποκορυφωμένου γάλακτος. Αναφέρεται ο τρόπος ολοκλήρωσης για τις κορυφές των PS, PE και θρυπταμίνης (εσωτερικό πρότυπο)





## Προσάρτημα II

**ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΓΛΥΚΟΥ ΟΡΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΣΕ ΑΠΟΚΟΡΥΦΩΜΕΝΟ ΓΑΛΑ ΣΕ ΣΚΟΝΗ ΠΟΥ ΠΡΟΟΡΙΖΕΤΑΙ ΓΙΑ ΔΗΜΟΣΙΑ ΑΠΟΘΕΜΑΤΟΠΟΙΗΣΗ, ΜΕ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΤΩΝ ΚΑΖΕΪΝΟΜΑΚΡΟΠΕΠΤΙΔΙΩΝ ΜΕ ΥΓΡΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΥΨΗΛΗΣ ΑΠΟΔΟΣΗΣ (HPLC)**

## 1. ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΚΑΙ ΠΕΔΙΟ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ

Με την παρούσα μέθοδο είναι δυνατόν να ανιχνευθεί η παρουσία γλυκού ορού γάλακτος στο αποκορυφωμένο γάλα σε σκόνη που προορίζεται για δημόσια αποθεματοποίηση, με προσδιορισμό των καζεΐνομακροπεπτιδίων.

## 2. ΠΑΡΑΠΟΜΠΗ

Διεθνές πρότυπο ISO 707 — Γάλα και προϊόντα γάλακτος — Οδηγίες δειγματοληψίας.

## 3. ΟΡΙΣΜΟΣ

Η περιεκτικότητα σε στερεό υπόλειμμα γλυκού ορού γάλακτος ορίζεται ως η κατά μάζα εκατοστιαία αναλογία που προσδιορίζεται μέσω της περιεκτικότητας σε καζεΐνομακροπεπτιδία η οποία προκύπτει από την περιγραφόμενη διαδικασία.

## 4. ΑΡΧΗ

- Ανασύσταση του αποκορυφωμένου γάλακτος σε σκόνη, απομάκρυνση του λίπους και των πρωτεϊνών με τη βοήθεια τριχλωροξικού οξέος και φυγοκέντρηση ή διήθηση
- Ποσοτικός προσδιορισμός των καζεΐνομακροπεπτιδίων (CMP) στο υπερκείμενο με υγροχρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC)
- Αξιολόγηση του αποτελέσματος που προκύπτει για τα δείγματα με σύγκριση με πρότυπα δείγματα, τα οποία συνίστανται από αποκορυφωμένο γάλα σε σκόνη με ή χωρίς προσθήκη γνωστής εκατοστιαίας αναλογίας ορού γάλακτος σε σκόνη.

## 5. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Όλα τα αντιδραστήρια είναι αναγνωρισμένης αναλυτικής καθαρότητας. Το χρησιμοποιούμενο νερό είναι απεσταγμένο ή τουλάχιστον ισοδύναμης καθαρότητας.

## 5.1. Διάλυμα τριχλωροξικού οξέος

Διαλύονται 240 g τριχλωροξικού οξέος ( $\text{CCl}_3\text{COOH}$ ) σε νερό και συμπληρώνεται ο όγκος μέχρι τα 1 000 ml. Το διάλυμα πρέπει να είναι διαυγές και άχρωμο.

## 5.2. Διάλυμα έκλυσης, pH 6,0

Διαλύονται σε περίπου 700 ml νερού 1,74 g όξινου φωσφορικού καλίου ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ), 12,37 g δισόξινου φωσφορικού καλίου ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) και 21,41 g θειικού νατρίου ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ). Εάν είναι αναγκαίο, ρυθμίζεται το pH σε 6,0 με διάλυμα φωσφορικού οξέος ή υδροξειδίου του καλίου.

Προστίθεται νερό μέχρι τελικού όγκου 1 000 ml και το διάλυμα ομογενοποιείται.

Σημείωση: Η σύσταση του διαλύματος έκλυσης μπορεί να αναπροσαρμοστεί ώστε να είναι σύμφωνη με το πιστοποιητικό των προτύπων υλικών ή με τις συστάσεις του κατασκευαστή του υλικού πλήρωσης της στήλης.

Πριν χρησιμοποιηθεί, το διάλυμα έκλυσης διηθείται μέσω διηθητικής μεμβράνης με διάμετρο πόρων 0,45 μm.

## 5.3. Διαλύτης έκπλυσης

Αναμειγνύεται ένας όγκος ακετονιτριλίου ( $\text{CH}_3\text{CN}$ ) με εννέα όγκους νερού. Πριν χρησιμοποιηθεί, το μείγμα διηθείται μέσω διηθητικής μεμβράνης με διάμετρο πόρων 0,45 μm.

Σημείωση: Μπορεί να χρησιμοποιηθεί οποιοσδήποτε άλλος διαλύτης έκπλυσης που έχει βακτηριοκτόνο δράση και δεν μεταβάλλει τη διαχωριστική ικανότητα των στηλών.

## 5.4. Πρότυπα δείγματα

5.4.1. Αποκορυφωμένο γάλα σε σκόνη το οποίο ανταποκρίνεται στις απαιτήσεις του παρόντος κανονισμού (δηλαδή [0]).

5.4.2. Το ίδιο αποκορυφωμένο γάλα σε σκόνη, νοθευμένο σε αναλογία 5 % (m/m) με σκόνη γλυκού ορού γάλακτος πρότυπης σύστασης (δηλαδή [5])

6. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑ ΣΚΕΥΗ ΚΑΙ ΟΡΓΑΝΑ
  - 6.1. Αναλυτικός ζυγός
  - 6.2. Προαιρετικά, φυγόκεντρος ικανή να επιτυγχάνει φυγόκεντρο δύναμη 2 200 g, εφοδιασμένη με πωματισμένους σωλήνες φυγοκέντρου των 50 ml περίπου
  - 6.3. Μηχανικό τάρακτρο
  - 6.4. Μαγνητικός αναδευτήρας
  - 6.5. Γυάλινες χοάνες, διαμέτρου περίπου 7 cm
  - 6.6. Χάρτινοι ηθμοί μέσης διηθητικής ικανότητας, διαμέτρου περίπου 12,5 cm
  - 6.7. Γυάλινη συσκευή διήθησης, εφοδιασμένη με διηθητική μεμβράνη διαμέτρου πόρων 0,45 μm
  - 6.8. Βαθμολογημένα σιφόνια παροχής 10 ml (ISO 648, κατηγορίας A ή ISO/R 835) ή σύστημα διανομής ικανό να παρέχει 10,0 ml σε δύο λεπτά
  - 6.9. Σύστημα διανομής ικανό να παρέχει 20,0 ml νερού θερμοκρασίας περίπου 50 °C
  - 6.10. Θερμοστατούμενο υδατόλουτρο, ρυθμισμένο στους 25 ± 0,5 °C
  - 6.11. Εξοπλισμός HPLC, ο οποίος περιλαμβάνει:
    - 6.11.1. Αντλία
    - 6.11.2. Σύστημα έγχυσης, χειροκίνητο ή αυτόματο, χωρητικότητας 15 έως 30 μl
    - 6.11.3. Δύο στήλες TSK 2 000-SW εν σειρά (μήκος 30 cm, εσωτερική διάμετρος 0,75 cm) ή ισοδύναμες στήλες (π.χ. μία TSK 2 000-SWx1 και μία Agilent Technologies Zorbax GF 250) και μια προστήλη (3 cm × 0,3 cm) με υλικό πλήρωσης I 125 ή υλικό ισοδύναμης αποτελεσματικότητας
    - 6.11.4. Θερμοστατούμενο κλίβανο στήλης, ρυθμισμένο στους 35 ± 1 °C
    - 6.11.5. Ανιχνευτή υπεριώδους ακτινοβολίας μεταβλητού μήκους κύματος, με δυνατότητα μετρήσεων στα 205 nm, με ευαισθησία 0,008 Å
    - 6.11.6. Ολοκληρωτή με δυνατότητα ολοκλήρωσης μεταξύ των “κοιλιάδων” του χρωματογραφήματος  
*Σημείωση:* Μπορούν να χρησιμοποιηθούν στήλες που διατηρούνται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος αλλά η διαχωριστική τους ικανότητα είναι κατά τι μικρότερη. Στην περίπτωση αυτή, οι διακυμάνσεις της θερμοκρασίας κατά την ίδια σειρά αναλύσεων πρέπει να είναι μικρότερες από ± 5 °C.
7. ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ
  - 7.1. Η δειγματοληψία εκτελείται με τη διαδικασία που καθορίζεται στο διεθνές πρότυπο ISO 707. Τα κράτη μέλη μπορούν ωστόσο να χρησιμοποιούν άλλη μέθοδο δειγματοληψίας, εφόσον αυτή είναι σύμφωνη με τις αρχές του προαναφερόμενου προτύπου.
  - 7.2. Το δείγμα φυλάσσεται σε συνθήκες που αποκλείουν τη φθορά ή τη μεταβολή της σύστασης
8. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ
  - 8.1. Παρασκευή του δείγματος δοκιμής  
Η σκόνη γάλακτος μεταφέρεται σε δοχείο χωρητικότητας περίπου διπλάσιας του όγκου της σκόνης, εφοδιασμένο με αεροστεγές πώμα. Το δοχείο πωματίζεται αμέσως. Η σκόνη γάλακτος αναμειγνύεται πλήρως με επανειλημμένες αναστροφές του δοχείου.
  - 8.2. Τμήμα δείγματος δοκιμής  
Σε σωλήνα φυγοκέντρου (6.2) ή κατάλληλη φιάλη με πώμα (50 ml) ζυγίζονται 2,000 ± 0,001 g δείγματος δοκιμής.
  - 8.3. Απομάκρυνση του λίπους και των πρωτεϊνών
    - 8.3.1. Στο τμήμα δείγματος προστίθενται 20,0 ml θερμού νερού (50 °C). Διαλύεται η σκόνη με ανακίνηση επί πέντε λεπτά σε μηχανικό τάρακτρο (6.3). Ο σωλήνας τοποθετείται σε υδατόλουτρο (6.10) και αφήνεται να αποκτήσει ισορροπία στους 25 °C.

8.3.2. Προστίθενται, σε διάστημα δύο λεπτών, 10,0 ml διαλύματος τριχλωροξικού οξέος (5.1) θερμοκρασίας περίπου 25 °C υπό ζωηρή ανάδευση στον μαγνητικό αναδευτήρα (6.4). Ο σωλήνας τοποθετείται σε υδατόλουτρο (6.10) όπου παραμένει επί 60 λεπτά.

8.3.3. Ακολουθεί φυγοκέντρηση (6.2) στα 2 200 g επί 10 λεπτά ή διήθηση μέσω χάρτινου ηθμού (6.6), ενώ απορρίπτονται τα πρώτα 5 ml του διηθήματος.

#### 8.4. Χρωματογραφικός προσδιορισμός

8.4.1. Εισάγονται 15 έως 30 ml υπερκειμένου ή διηθήματος (8.3.3), επακριβώς μετρημένα, στη συσκευή HPLC (6.11), η οποία λειτουργεί με ταχύτητα ροής 1,0 ml διαλύματος έκλυσης (5.2) ανά λεπτό.

Σημείωση 1. Μπορεί να εφαρμοστεί διαφορετική ταχύτητα ροής ανάλογα με τη εσωτερική διάμετρο των χρησιμοποιούμενων στηλών ή τις οδηγίες του κατασκευαστή τους.

Σημείωση 2. Σε κάθε διακοπή εκπλύνονται οι στήλες με νερό. Δεν πρέπει ποτέ να παραμένει σε αυτές το διάλυμα έκλυσης (5.2).

Πριν από κάθε διακοπή που υπερβαίνει τις 24 ώρες, εκπλύνονται οι στήλες με νερό και στη συνέχεια με το διάλυμα (5.3) τουλάχιστον επί τρεις ώρες, με ταχύτητα ροής 0,2 ml ανά λεπτό.

8.4.2. Τα αποτελέσματα της χρωματογραφικής ανάλυσης του δείγματος δοκιμής [E] λαμβάνονται υπό μορφή χρωματογραφήματος, στο οποίο κάθε κορυφή ταυτοποιείται από τον οικείο χρόνο κατακράτησης, RT, ως εξής:

Κορυφή II:	Η δεύτερη κορυφή του χρωματογραφήματος, με RT 12,5 λεπτών περίπου.
Κορυφή III:	Η τρίτη κορυφή του χρωματογραφήματος, η οποία αντιστοιχεί στα CMP, με RT 15,5 λεπτών.

Η επιλογή της ή των στηλών μπορεί να επηρεάσει σημαντικά τον χρόνο κατακράτησης των επιμέρους κορυφών.

Ο ολοκληρωτής (6.11.6) υπολογίζει αυτόματα το εμβαδόν A κάθε κορυφής:

A <sub>II</sub> :	εμβαδόν της κορυφής II,
A <sub>III</sub> :	εμβαδόν της κορυφής III,

Πριν από την ποσοτική ερμηνεία, είναι απαραίτητο να εξετάζεται η μορφή κάθε χρωματογραφήματος για τον εντοπισμό τυχόν ανωμαλιών που οφείλονται είτε σε ελαττωματική λειτουργία της συσκευής ή των στηλών είτε στην προέλευση και το είδος του αναλυθέντος δείγματος.

Σε περίπτωση αμφιβολίας επαναλαμβάνεται η ανάλυση.

#### 8.5. Βαθμονόμηση

8.5.1. Εφαρμόζεται κατά γράμμα στα πρότυπα δείγματα (5.4) η διαδικασία που περιγράφεται στα σημεία 8.2 έως 8.4.2.

Χρησιμοποιούνται διαλύματα που έχουν παρασκευασθεί πρόσφατα, δεδομένου ότι τα CMP αποικοδομούνται σε περιβάλλον τριχλωροξικού οξέος 8 %. Η σχετική απώλεια ουσίας εκτιμάται σε 0,2 % ανά ώρα στους 30 °C.

8.5.2. Πριν από τον χρωματογραφικό προσδιορισμό στα δείγματα, οι στήλες προσαρμόζονται στις συνθήκες με επανειλημμένη εισαγωγή διαλύματος (8.5.1) του πρότυπου δείγματος (5.4.2) μέχρι να σταθεροποιηθούν το εμβαδόν και ο χρόνος κατακράτησης της κορυφής που αντιστοιχεί στα CMP

8.5.3. Προσδιορίζονται οι συντελεστές απόκρισης, R, με την εισαγωγή του ίδιου όγκου διηθημάτων (8.5.1) με αυτόν των δειγμάτων

#### 9. ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

##### 9.1. Μέθοδος υπολογισμού και τύπος

9.1.1. Υπολογισμός των συντελεστών απόκρισης R:

$$\text{Κορυφή II: } R_{II} = 100/(A_{II}[0])$$

όπου:

R<sub>II</sub> = ο συντελεστής απόκρισης της κορυφής II,

A<sub>II</sub> [0] = το εμβαδόν της κορυφής II του πρότυπου δείγματος [0], που λαμβάνεται στο σημείο 8.5.3.

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

όπου:

- $R_{III}$  = ο συντελεστής απόκρισης της κορυφής III,  
 $A_{III}[0]$  and  $A_{III}[5]$  = τα εμβαδά των κορυφών III των πρότυπων δειγμάτων [0] και [5], αντίστοιχα, που λαμβάνονται στο σημείο 8.5.3,  
 $W$  = η ποσότητα ορού γάλακτος που περιέχεται στο πρότυπο δείγμα [5], δηλαδή 5.

9.1.2. Υπολογισμός του σχετικού εμβαδού των κορυφών του δείγματος [E]

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

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

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

όπου:

- $S_{II}[E]$ ,  $S_{III}[E]$ ,  $S_{IV}[E]$  = τα σχετικά εμβαδά των κορυφών II, III και IV, αντίστοιχα, του δείγματος [E],  
 $A_{II}[E]$ ,  $A_{III}[E]$  = τα εμβαδά των κορυφών II και III, αντίστοιχα, του δείγματος [E], που λαμβάνονται στο σημείο 8.4.2,  
 $R_{II}$ ,  $R_{III}$  = οι συντελεστές απόκρισης που υπολογίζονται στο σημείο 9.1.1.

9.1.3. Υπολογισμός του σχετικού χρόνου κατακράτησης της κορυφής III του δείγματος [E]:

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

όπου:

- $RRT_{III}[E]$  = ο σχετικός χρόνος κατακράτησης της κορυφής III του δείγματος [E],  
 $RT_{III}[E]$  = ο χρόνος κατακράτησης της κορυφής III του δείγματος [E] που λαμβάνεται στο σημείο 8.4.2,  
 $RT_{III}[5]$  = ο χρόνος κατακράτησης της κορυφής III του δείγματος ελέγχου [5] που λαμβάνεται στο σημείο 8.5.3.

9.1.4. Έχει αποδειχθεί πειραματικά ότι υφίσταται γραμμική σχέση μεταξύ του σχετικού χρόνου κατακράτησης της κορυφής III, δηλαδή  $RRT_{III}[E]$ , και του ποσοστού ορού γάλακτος σε σκόνη που προστίθεται μέχρι ορίου 10 %

- ο  $RRT_{III}[E]$  είναι < 1,000, όταν η περιεκτικότητα σε ορό γάλακτος είναι > 5 %,
- ο  $RRT_{III}[E]$  είναι < 1,000, όταν η περιεκτικότητα σε ορό γάλακτος είναι ≤ 5 %.

Η επιτρεπόμενη αβεβαιότητα για τις τιμές του  $RRT_{III}$  είναι ± 0,002.

Κατά κανόνα, η τιμή του  $RRT_{III}[0]$  αποκλίνει λίγο από το 1,034. Ανάλογα με τις συνθήκες των στηλών, η τιμή αυτή μπορεί να προσεγγίσει το 1,000, αλλά πάντοτε είναι μεγαλύτερη από αυτό.

9.2. Υπολογισμός της εκατοστιαίας αναλογίας σκόνης γλυκού ορού γάλακτος στο δείγμα:

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

όπου:

- $W$  = η κατά μάζα (m/m) εκατοστιαία αναλογία γλυκού ορού γάλακτος στο δείγμα [E].  
 $S_{III}[E]$  = το σχετικό εμβαδόν της κορυφής III του δείγματος δοκιμής [E], που λαμβάνεται στο σημείο 9.1.2.  
1,3 = αντιπροσωπεύει το σχετικό μέσο εμβαδόν της κορυφής III, εκφραζόμενο σε γραμμάρια γλυκού ορού γάλακτος ανά 100 g, όπως προσδιορίζεται σε ανόθευτο αποκορυφωμένο γάλα σε σκόνη ποικίλης προέλευσης. Η τιμή αυτή έχει προκύψει πειραματικά.  
 $S_{III}[0]$  = αντιπροσωπεύει το σχετικό εμβαδόν της κορυφής III, που ισούται με  $R_{III} \times A_{III}[0]$ . Οι τιμές αυτές λαμβάνονται στα σημεία 9.1.1 και 8.5.3, αντίστοιχα.  
 $(S_{III}[0] - 0,9)$  = αντιπροσωπεύει τη διόρθωση του σχετικού μέσου εμβαδού 1,3, σε περίπτωση που το  $S_{III}[0]$  δεν ισούται με 0,9. Η πειραματική τιμή του σχετικού μέσου εμβαδού της κορυφής III του δείγματος ελέγχου [0] είναι 0,9.

9.3. **Ορθότητα της διαδικασίας**9.3.1. *Επαναληψιμότητα*

Η διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων δύο προσδιορισμών που πραγματοποιήθηκαν ταυτόχρονα ή με μικρή χρονική διαφορά, σε πανομοιότυπο υλικό δοκιμής, από τον ίδιο αναλυτή με τον ίδιο εξοπλισμό δεν υπερβαίνει το 0,2 % m/m.

9.3.2. *Αναπαραγωγιμότητα*

Η διαφορά μεταξύ δύο μεμονωμένων και ανεξάρτητων αποτελεσμάτων από δύο διαφορετικά εργαστήρια, με πανομοιότυπο ελεγχόμενο υλικό, δεν υπερβαίνει το 0,4 % m/m.

9.4. **Ερμηνεία**

9.4.1. *Τεκμαίρεται η απουσία ορού γάλακτος εάν το σχετικό εμβαδόν της κορυφής III,  $S_{III}$  [E], εκφραζόμενο σε γραμμάρια γλυκού ορού γάλακτος ανά 100 γραμμάρια προϊόντος, είναι  $\leq 2,0 + (S_{III}[0] - 0,9)$*

όπου

2,0	η μέγιστη επιτρεπόμενη τιμή για το σχετικό εμβαδόν της κορυφής III, λαμβάνοντας υπόψη το σχετικό μέσο εμβαδόν της κορυφής III, δηλαδή 1,3, την αβεβαιότητα που οφείλεται σε διακυμάνσεις της σύστασης της σκόνης αποκορυφωμένου γάλακτος και την αναπαραγωγιμότητα της μεθόδου (9.3.2),
$(S_{III}[0] - 0,9)$	η διόρθωση σε περίπτωση που το εμβαδόν $S_{III}[0]$ διαφέρει από την τιμή 0,9 (βλέπε σημείο 9.2)

9.4.2. *Εάν το σχετικό εμβαδόν της κορυφής III,  $S_{III}$  [E], είναι  $> 2,0 + (S_{III}[0] - 0,9)$  και το σχετικό εμβαδόν της κορυφής II,  $S_{II}$  [E], είναι  $\leq 160$ , προσδιορίζεται η περιεκτικότητα σε γλυκό ορό γάλακτος σύμφωνα με το σημείο 9.2.*

9.4.3. *Εάν το σχετικό εμβαδόν της κορυφής III,  $S_{III}$  [E], είναι  $> 2,0 + (S_{III}[0] - 0,9)$  και το σχετικό εμβαδόν της κορυφής II,  $S_{II}$  [E], είναι  $\leq 160$ , προσδιορίζεται η περιεκτικότητα σε ολικές πρωτεΐνες (P %)· στη συνέχεια εξετάζονται οι γραφικές παραστάσεις 1 και 2.*

9.4.3.1. *Τα δεδομένα που προκύπτουν από την ανάλυση δειγμάτων ανόθευτου αποκορυφωμένου γάλακτος σε σκόνη με υψηλή περιεκτικότητα σε ολικές πρωτεΐνες συγκεντρώνονται στις γραφικές παραστάσεις 1 και 2.*

Η συνεχής γραμμή αντιπροσωπεύει τη γραμμική παλινδρόμηση, της οποίας οι συντελεστές υπολογίζονται με τη μέθοδο των ελαχίστων τετραγώνων.

Η διακεκομμένη ευθεία γραμμή καθορίζει το ανώτατο όριο του σχετικού εμβαδού της κορυφής III, με πιθανότητα μη υπέρβασης στο 90 % των περιπτώσεων.

Οι εξισώσεις των διακεκομμένων ευθειών που εμφανίζονται στις γραφικές παραστάσεις 1 και 2 είναι:

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

όπου:

$S_{III}$  είναι το σχετικό εμβαδόν της κορυφής III, υπολογιζόμενο είτε σύμφωνα με την περιεκτικότητα σε ολικές πρωτεΐνες, είτε σύμφωνα με το σχετικό εμβαδόν της κορυφής  $S_{II}$  [E],

P % είναι η περιεκτικότητα σε ολικές πρωτεΐνες, εκφραζόμενη σε εκατοστιαία αναλογία κατά βάρος,

$S_{II}$  [E] είναι το σχετικό εμβαδόν της κορυφής II του δείγματος, που υπολογίζεται στο σημείο 9.1.2.

Οι εξισώσεις αυτές ισοδυναμούν με την αριθμητική τιμή 1,3 που αναφέρεται στο σημείο 9.2.

Η απόκλιση ( $T_1$  και  $T_2$ ) μεταξύ της σχετικής επιφάνειας  $S_{III}$  [E] και της σχετικής επιφάνειας  $S_{II}$  δίδεται από τις ακόλουθες σχέσεις:  $T_1 = S_{III}[E] - [(0,376 P \% - 10,7) + (S_{III}[0] - 0,9)]$ ,  $T_2 = S_{III}[E] - [(0,0123 S_{II}[E] + 0,93) + (S_{III}[0] - 0,9)]$

9.4.3.2. Εάν  $T_1$  και/ή  $T_2$  είναι ίση με το μηδέν ή κατώτερη, δεν είναι δυνατόν να διαπιστωθεί η παρουσία γλυκού ορού γάλακτος.

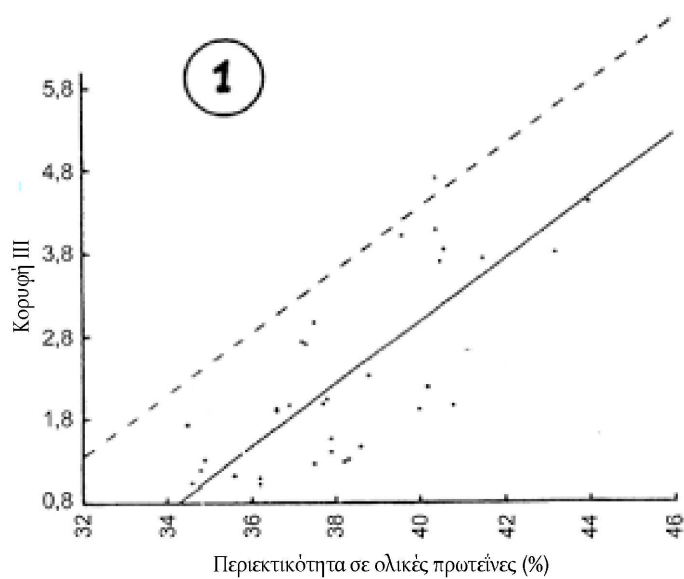
Εάν  $T_1$  και  $T_2$  είναι μεγαλύτερες του μηδενός, συμπεραίνεται παρουσία γλυκού ορού γάλακτος.

Η περιεκτικότητα σε γλυκό ορό γάλακτος υπολογίζεται με τον ακόλουθο τύπο:  $W = T_2 + 0,91$

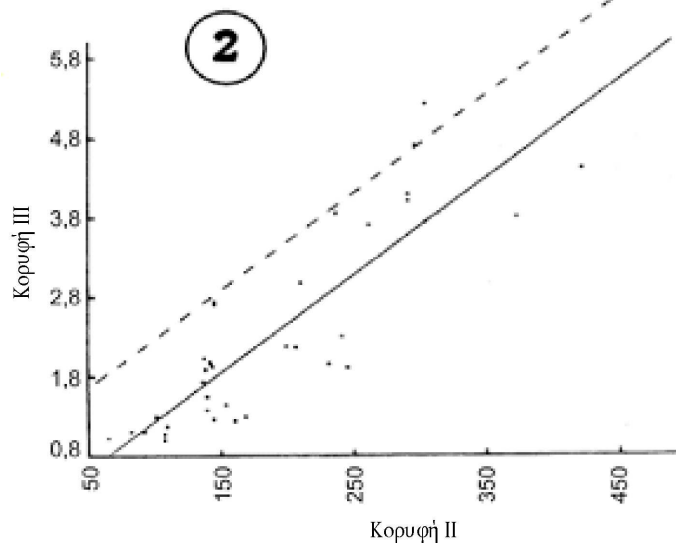
όπου:

0,91 είναι η κάθετη απόσταση μεταξύ της συνεχούς και της διακεκομμένης ευθείας γραμμής.

#### Αποκορυφωμένο γάλα σε σκόνη



#### Αποκορυφωμένο γάλα σε σκόνη



## Προσάρτημα III

**ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΣΤΕΡΕΟΥ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΟΣ ΓΛΥΚΟΥ ΟΡΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ (ΤΥΡΟΓΑΛΑ ΠΥΤΙΑΣ) ΣΤΟ ΑΠΟΚΟΡΥΦΩΜΕΝΟ ΓΑΛΑ ΣΕ ΣΚΟΝΗ**

1. ΣΚΟΠΟΣ: ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΤΗΣ ΠΡΟΣΘΗΚΗΣ ΣΤΕΡΕΟΥ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΟΣ ΓΛΥΚΟΥ ΟΡΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΣΤΟ ΑΠΟΚΟΡΥΦΩΜΕΝΟ ΓΑΛΑ ΣΕ ΣΚΟΝΗ
2. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ: ΔΙΕΘΝΕΣ ΠΡΟΤΥΠΟ ISO 707
3. ΟΡΙΣΜΟΣ  
Η περιεκτικότητα σε στερεό υπόλειμμα γλυκού ορού γάλακτος ορίζεται ως η κατά μάζα εκατοστιαία αναλογία που προσδιορίζεται μέσω της περιεκτικότητας σε καζεΐνομακροπεπτίδια η οποία προκύπτει από την περιγραφόμενη διαδικασία.
4. ΑΡΧΗ  
Τα δείγματα υποβάλλονται σε ανάλυση για την ανίχνευση καζεΐνομακροπεπτιδίου Α με υδροχρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC) ανεστραμμένης φάσης. Το αποτέλεσμα αξιολογείται με σύγκριση με πρότυπα δείγματα, τα οποία συνίστανται από αποκορυφωμένο γάλα σε σκόνη με ή χωρίς προσθήκη γνωστής εκατοστιαίας αναλογίας σκόνης ορού γάλακτος. Τα αποτελέσματα που υπερβαίνουν το 1 % (m/m) αποδεικνύουν την παρουσία στερεού υπολείμματος γλυκού ορού γάλακτος.
5. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ  
Όλα τα αντιδραστήρια είναι αναγνωρισμένης αναλυτικής καθαρότητας. Το χρησιμοποιούμενο νερό είναι απεσταγμένο ή τουλάχιστον ισοδύναμης καθαρότητας. Το ακετονιτρίλιο πρέπει να είναι καθαρότητας φασματοσκοπικής ή HPLC.
  - 5.1. **Διάλυμα τριχλωροξικού οξέος**  
Διαλύονται 240 g τριχλωροξικού οξέος (CCl<sub>3</sub>COOH) σε νερό και συμπληρώνεται ο όγκος μέχρι τα 1 000 ml. Το διάλυμα πρέπει να είναι διαυγές και άχρωμο.
  - 5.2. **Διαλύματα έκλουσης Α και Β**  
Διάλυμα έκλουσης Α: σε ογκομετρική φιάλη των 1 000 ml φέρονται 150 ml ακετονιτρίλιου (CH<sub>3</sub>CN), 20 ml ισοπροπανόλης (CH<sub>3</sub>CHOHCH<sub>3</sub>) και 1,00 ml τριφθοροξικού οξέος (CF<sub>3</sub>COOH ή TFA). Συμπληρώνεται ο όγκος μέχρι τα 1 000 ml με νερό.  
Διάλυμα έκλουσης Β: σε ογκομετρική φιάλη των 1 000 ml φέρονται 550 ml ακετονιτρίλιου, 20 ml ισοπροπανόλης και 1,00 ml TFA. Συμπληρώνεται ο όγκος μέχρι τα 1 000 ml με νερό. Πριν χρησιμοποιηθεί, το διάλυμα έκλουσης διηθείται μέσω διηθητικής μεμβράνης με διάμετρο πόρων 0,45 μm.
- 5.3. **Διατήρηση της στήλης**  
Μετά τις αναλύσεις η στήλη εκπλύνεται με το διάλυμα έκλουσης Β (με βαθμίδωση) και, στη συνέχεια, με ακετονιτρίλιο (με βαθμίδωση επί 30 λεπτά). Η στήλη φυλάσσεται σε ακετονιτρίλιο.
- 5.4. **Πρότυπα δείγματα**
  - 5.4.1. Αποκορυφωμένο γάλα σε σκόνη το οποίο ανταποκρίνεται στις απαιτήσεις για δημόσια αποθεματοποίηση (δηλαδή [0]).
  - 5.4.2. Το ίδιο αποκορυφωμένο γάλα σε σκόνη, νοθευμένο σε αναλογία 5 % (m/m) με σκόνη γλυκού ορού γάλακτος πρότυπης σύστασης (δηλαδή [5]).
  - 5.4.3. Το ίδιο αποκορυφωμένο γάλα σε σκόνη, νοθευμένο σε αναλογία 50 % (m/m) με σκόνη γλυκού ορού γάλακτος πρότυπης σύστασης (δηλαδή [50]).
6. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑ ΣΚΕΥΗ ΚΑΙ ΟΡΓΑΝΑ
  - 6.1. **Αναλυτικός ζυγός**
  - 6.2. Προαιρετικά, φυγόκεντρος ικανή να επιτυγχάνει φυγόκεντρο δύναμη 2 200 g, εφοδιασμένη με πωματισμένους σωλήνες φυγοκέντρου των 50 ml περίπου
  - 6.3. **Μηχανικό τάρακτρο**
  - 6.4. **Μαγνητικός αναδευτήρας**
  - 6.5. **Γυάλινες χοάνες, διαμέτρου περίπου 7 cm**

- 6.6. Χάρτινοι ηθμοί μέσης διηθητικής ικανότητας, διαμέτρου περίπου 12,5 cm
- 6.7. Γυάλινη συσκευή διήθησης, εφοδιασμένη με διηθητική μεμβράνη διαμέτρου πόρων 0,45 μm
- 6.8. Βαθμολογημένα σιφόνια παροχής 10 ml (ISO 648, κατηγορίας A ή ISO/R 835) ή σύστημα διανομής ικανό να παρέχει 10,0 ml σε δύο λεπτά
- 6.9. Σύστημα διανομής ικανό να παρέχει 20,0 ml νερού θερμοκρασίας περίπου 50 °C
- 6.10. Θερμοστατούμενο υδατόλουτρο, ρυθμισμένο στους 25 ± 0,5 °C
- 6.11. **Εξοπλισμός HPLC, ο οποίος περιλαμβάνει:**
- 6.11.1. Σύστημα αντλίας διπλής βαθμίδωσης
- 6.11.2. Σύστημα έγχυσης, χειροκίνητο ή αυτόματο, χωρητικότητας 100 μl
- 6.11.3. Στήλη Agilent Technologies Zorbax 300 SB-C3 (μήκος 25 cm, εσωτερική διάμετρος 0,46 cm) ή ισοδύναμη στήλη ανεστραμμένης φάσης από διοξείδιο του πυριτίου με ευρείς πόρους
- 6.11.4. Θερμοστατούμενο κλίβανο στήλης, ρυθμισμένο στους 35 ± 1 °C
- 6.11.5. Ανιχνευτή υπεριώδους ακτινοβολίας μεταβλητού μήκους κύματος, με δυνατότητα μετρήσεων στα 210 nm (εάν είναι απαραίτητο, μπορεί να χρησιμοποιηθεί μεγαλύτερο μήκος κύματος, με ανώτατο όριο τα 220 nm), ευαισθησίας 0,02 AU
- 6.11.6. Ολοκληρωτή με δυνατότητα ρύθμισης της ολοκλήρωσης στην κοινή γραμμή βάσης ή μεταξύ των “κοιλιάδων” του χρωματογραφήματος
- Σημείωση: Είναι δυνατή η λειτουργία της στήλης σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, υπό τον όρο ότι η θερμοκρασία αυτή δεν παρουσιάζει διακυμάνσεις μεγαλύτερες του 1 °C, ειδώς ο χρόνος κατακράτησης του  $CMR_A$  παρουσιάζει μεγάλη μεταβλητότητα.

## 7. ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ

- 7.1. Η δειγματοληψία εκτελείται με τη διαδικασία που καθορίζεται στο διεθνές πρότυπο ISO 707. Τα κράτη μέλη μπορούν ωστόσο να χρησιμοποιούν άλλη μέθοδο δειγματοληψίας, εφόσον αυτή είναι σύμφωνη με τις αρχές του προαναφερόμενου προτύπου.

- 7.2. Το δείγμα φυλάσσεται σε συνθήκες που αποκλείουν τη φθορά ή τη μεταβολή της σύστασης.

## 8. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

### 8.1. Παρασκευή του δείγματος δοκιμής

Η σκόνη γάλακτος μεταφέρεται σε δοχείο χωρητικότητας περίπου διπλάσιας του όγκου της σκόνης, εφοδιασμένο με αεροστεγές πώμα. Το δοχείο πωματίζεται αμέσως. Η σκόνη γάλακτος αναμειγνύεται πλήρως με επανειλημμένες αναστροφές του δοχείου.

### 8.2. Τμήμα δείγματος δοκιμής

Σε σωλήνα φυγοκέντρου (6.2) ή κατάλληλη φιάλη με πώμα (50 ml) ζυγίζονται 2,00 ± 0,001 g δείγματος δοκιμής.

Σημείωση: Στην περίπτωση των μειγμάτων, ζυγίζεται ποσότητα δείγματος δοκιμής τόση ώστε το τμήμα δείγματος μετά την απολίπανση να αντιστοιχεί σε 2,00 g.

### 8.3. Απομάκρυνση του λίπους και των πρωτεϊνών

- 8.3.1. Στο τμήμα δείγματος προστίθενται 20,0 ml θερμού νερού (50 °C). Διαλύεται η σκόνη με ανακίνηση επί πέντε λεπτά σε μηχανικό τάρρακτρο (6.3). Ο σωλήνας τοποθετείται σε υδατόλουτρο (6.10) και αφήνεται να αποκτήσει ισορροπία στους 25 °C.

- 8.3.2. Προστίθενται, σε διάστημα δύο λεπτών με σταθερό ρυθμό, 10,0 ml διαλύματος τριχλωροξικού οξέος (5.1) θερμοκρασίας περίπου 25 °C υπό ζωρή ανάδευση στον μαγνητικό αναδευτήρα (6.4). Ο σωλήνας τοποθετείται σε υδατόλουτρο (6.10) όπου παραμένει επί 60 λεπτά.

- 8.3.3. Ακολουθεί φυγοκέντρηση (6.2) στα 2 200 g επί 10 λεπτά ή διήθηση μέσω χαρτινού ηθμού (6.6), ενώ απορρίπτονται τα πρώτα 5 ml του διηθήματος.



#### 8.4. Χρωματογραφικός προσδιορισμός

- 8.4.1. Η μέθοδος HPLC ανεστραμμένης φάσης αποκλείει τη δυνατότητα ψευδοθετικών αποτελεσμάτων λόγω της παρουσίας σκόνης όξινου βουτυρογάλακτος.
- 8.4.2. Πριν από την ανάλυση με HPLC ανεστραμμένης φάσης, πρέπει να βελτιστοποιούνται οι συνθήκες βαθμίδωσης. Για συστήματα βαθμίδωσης με νεκρό όγκο περίπου 6 ml (ο όγκος από το σημείο όπου συναντώνται οι διαλύτες μέχρι και τον όγκο του βρόχου του συστήματος έγχυσης), ο βέλτιστος χρόνος κατακράτησης είναι  $26 \pm 2$  λεπτά για το CMP A. Στην περίπτωση των συστημάτων βαθμίδωσης με μικρότερο νεκρό όγκο (π.χ. 2 ml) πρέπει να χρησιμοποιούνται ως βέλτιστος χρόνος κατακράτησης τα 22 λεπτά

Λαμβάνονται διαλύματα των πρότυπων δειγμάτων (5.4) με και χωρίς γλυκό ορό γάλακτος σε αναλογία 50 %.

Εισάγονται 100 μl υπερκειμένου ή διηθήματος (8.3.3) στη συσκευή HPLC, η οποία λειτουργεί στις συνθήκες διερευνητικής βαθμίδωσης που εμφανίζονται στον πίνακα 1.

Πίνακας 1

#### Συνθήκες διερευνητικής βαθμίδωσης για τη βελτιστοποίηση της χρωματογραφίας

Χρόνος (λεπτά)	Ροή (ml/min)	% A	% B	Καμπύλη
Αρχική	1,0	90	10	*
27	1,0	60	40	γραμμική
32	1,0	10	90	γραμμική
37	1,0	10	90	γραμμική
42	1,0	90	10	γραμμική

Με σύγκριση των δύο χρωματογραφημάτων πρέπει να φαίνεται η θέση της κορυφής του  $CMP_A$ .

Με τη βοήθεια του επόμενου τύπου είναι δυνατόν να υπολογιστεί η αρχική σύσταση του διαλύτη που θα χρησιμοποιηθεί για την κανονική βαθμίδωση (βλέπε 8.4.3)  $\% B = 10 - 2,5 + (13,5 + (RT_{CMP_A} - 26) / 6) * 30 / 27$  %  
 $B = 7,5 + (13,5 + (RT_{CMP_A} - 26) / 6) * 1,11$

Όπου:

$RT_{CMP_A}$ : ο χρόνος κατακράτησης του  $CMP_A$  στη διερευνητική βαθμίδωση

10: το αρχικό % B της διερευνητικής βαθμίδωσης

2,5: το % B στο μέσο της διαδρομής μείον το % B στην έναρξη της κανονικής βαθμίδωσης

13,5: ο χρόνος στο μέσο της διαδρομής στη διερευνητική βαθμίδωση

26: απαιτούμενος χρόνος κατακράτησης για το  $CMP_A$

6: λόγος των κλίσεων της διερευνητικής και της κανονικής βαθμίδωσης

30: το % B στην έναρξη μείον το % B στα 27 λεπτά της διερευνητικής βαθμίδωσης

27: χρόνος διαδρομής της διερευνητικής βαθμίδωσης.

#### 8.4.3. Λήψη διαλυμάτων των δειγμάτων δοκιμής

Εισάγονται 100 μl υπερκειμένου ή διηθήματος (8.3.3), επακριβώς μετρημένα, στη συσκευή HPLC, η οποία λειτουργεί με ταχύτητα ροής 1,0 ml διαλύματος έκλουσης (5.2) ανά λεπτό.

Η σύσταση του διαλύματος έκλουσης στην αρχή της ανάλυσης προκύπτει από το σημείο 8.4.2. Προσεγγίζει συνήθως τον λόγο A: B = 76:24 (5.2). Αμέσως μετά την έγχυση αρχίζει μια γραμμική βαθμίδωση που δίδει μετά από 27 λεπτά ποσοστό του B μεγαλύτερο κατά 5 %. Στη συνέχεια αρχίζει μια γραμμική βαθμίδωση που οδηγεί σε σύσταση του διαλύματος έκλουσης 90 % B σε διάστημα 5 λεπτών. Η σύσταση αυτή διατηρείται επί 5 λεπτά και, στη συνέχεια, μεταβάλλεται με γραμμική βαθμίδωση επί 5 λεπτά για να επανέλθει στην αρχική. Ανάλογα με τον εσωτερικό όγκο του συστήματος αντλίας, η επόμενη έγχυση μπορεί να γίνει 15 λεπτά αφότου επιτευχθούν οι αρχικές συνθήκες.

Σημείωση 1. Ο χρόνος κατακράτησης του  $CMP_A$  πρέπει να είναι  $26 \pm 2$  λεπτά. Τούτο μπορεί να επιτευχθεί με τη μεταβολή των αρχικών και των τελικών συνθηκών της πρώτης βαθμίδωσης. Ωστόσο η διαφορά του % B για τις αρχικές και τις τελικές συνθήκες της πρώτης βαθμίδωσης παραμένει 5 %.

Σημείωση 2. Τα διαλύματα έκλουσης πρέπει να απαερώνονται επαρκώς και επίσης να διατηρούνται απαερωμένα. Αυτό είναι απαραίτητο για την καλή λειτουργία του βαθμιδωτού συστήματος αντλίας. Η τυπική απόκλιση για τον χρόνο κατακράτησης που αντιστοιχεί στην κορυφή του  $CMP_A$  πρέπει να είναι μικρότερη από 0,1 λεπτό ( $n = 10$ ).

Σημείωση 3. Ανά πέντε δείγματα πρέπει να εισάγεται το δείγμα αναφοράς [5] και να χρησιμοποιείται για τον υπολογισμό νέου συντελεστή απόκρισης R (9.1.1).

8.4.4. Τα αποτελέσματα της χρωματογραφικής ανάλυσης του δείγματος δοκιμής [E] λαμβάνονται υπό μορφή χρωματογράφηματος, στο οποίο η κορυφή του  $CMP_A$  ταυτοποιείται από τον οικείο χρόνο κατακράτησης των 26 λεπτών περίπου.

Ο ολοκληρωτής (6.11.6) υπολογίζει αυτόματα το ύψος H της κορυφής του  $CMP_A$ . Σε κάθε χρωματογράφημα πρέπει να ελέγχεται η θέση της γραμμής βάσης. Εάν η γραμμή βάσης δεν βρίσκεται στη σωστή θέση, πρέπει να επαναλαμβάνεται η ανάλυση ή η ολοκλήρωση.

Σημείωση: Εάν η κορυφή του  $CMP_A$  είναι επαρκώς διαχωρισμένη από τις υπόλοιπες κορυφές, χρησιμοποιείται η γραμμή βάσης μεταξύ των "κοιλιάδων". Σε αντίθετη περίπτωση, φέρονται κάθετοι σε κοινή γραμμή βάσης, η οποία πρέπει να αρχίζει από ένα σημείο κοντά στην κορυφή του  $CMP_A$  (συνεπώς, όχι από το σημείο  $t=0$  λεπτά!). Χρησιμοποιείται ο ίδιος τύπος ολοκλήρωσης για το πρότυπο δείγμα και για τα δείγματα δοκιμής και, στην περίπτωση της κοινής γραμμής βάσης, ελέγχεται η σταθερότητά της για τα δείγματα δοκιμής και το πρότυπο δείγμα.

Πριν από την ποσοτική ερμηνεία, είναι απαραίτητο να εξετάζεται η μορφή κάθε χρωματογράφηματος για να εντοπιστούν τυχόν ανωμαλίες που οφείλονται είτε σε ελαττωματική λειτουργία της συσκευής ή της στήλης είτε στην προέλευση και το είδος του αναλυθέντος δείγματος. Σε περίπτωση αμφιβολίας επαναλαμβάνεται η ανάλυση.

## 8.5. Βαθμονόμηση

8.5.1. Εφαρμόζεται κατά γράμμα στα πρότυπα δείγματα (5.4.1 έως 5.4.2) η διαδικασία που περιγράφεται στα σημεία 8.2 έως 8.4.4. Χρησιμοποιούνται διαλύματα που έχουν παρασκευαστεί πρόσφατα, δεδομένου ότι τα  $CMP$  αποικοδομούνται σε περιβάλλον τριχλωροξικού οξέος 8 % σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Στους 4 °C το διάλυμα παραμένει σταθερό επί 24 ώρες. Στην περίπτωση μακρών σειρών αναλύσεων είναι σκόπιμο να χρησιμοποιείται ένας ψυχόμενος δίσκος δειγμάτων στο αυτόματο σύστημα έγχυσης.

Σημείωση: Σημείωση: Το σημείο 8.4.2 μπορεί να παραλειφθεί εάν το % B στις αρχικές συνθήκες είναι γνωστό από προηγούμενες αναλύσεις.

Το χρωματογράφημα του δείγματος αναφοράς [5] πρέπει να είναι ανάλογο με το σχήμα. 1. Στο σχήμα αυτό, πριν από την κορυφή του  $CMP_A$  εμφανίζονται δύο μικρές κορυφές. Είναι απαραίτητο να επιτυγχάνεται συγκρίσιμος διαχωρισμός.

8.5.2. Πριν από τον χρωματογραφικό προσδιορισμό στα δείγματα, εισάγονται 100 μl του προτύπου δείγματος χωρίς γλυκό ορό γάλακτος [O] (5.4.1)

Το χρωματογράφημα δεν πρέπει να παρουσιάζει κορυφή στον χρόνο κατακράτησης που αντιστοιχεί στην κορυφή του  $CMP_A$ .

8.5.3. Προσδιορίζονται οι συντελεστές απόκρισης, R, με την εισαγωγή του ίδιου όγκου διηθήματος (8.5.1) με αυτόν των δειγμάτων.

## 9. ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

### 9.1. Μέθοδος υπολογισμού και τύπος

9.1.1. Υπολογισμός του συντελεστή απόκρισης R:

$$\text{Κορυφή } CMP_A: R = W/H$$

Όπου:

R = ο συντελεστής απόκρισης της κορυφής του  $CMP_A$

H = το ύψος της κορυφής του  $CMP_A$

W = η ποσότητα ορού γάλακτος που περιέχεται στο πρότυπο δείγμα [5].

## 9.2. Υπολογισμός της εκατοστιαίας αναλογίας σκόνης γλυκού ορού γάλακτος στο δείγμα

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

Όπου:

$W(E)$  = η κατά μάζα (m/m) εκατοστιαία αναλογία γλυκού ορού γάλακτος στο δείγμα [E].

$R$  = ο συντελεστής απόκρισης της κορυφής του  $CMP_A$  (9.1.1)

$H(E)$  = το ύψος της κορυφής του  $CMP_A$  του δείγματος (E)

Εάν η τιμή  $W(E)$  υπερβαίνει το 1 % και η διαφορά μεταξύ του χρόνου κατακράτησης και του αντίστοιχου χρόνου του πρότυπου δείγματος [5] είναι μικρότερη από 0,2 λεπτά, το δείγμα περιέχει στερεό υπόλειμμα γλυκού ορού γάλακτος.

## 9.3. Ορθότητα της διαδικασίας

### 9.3.1. Επαναληψιμότητα

Η διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων δύο προσδιορισμών που πραγματοποιήθηκαν ταυτόχρονα ή με μικρή χρονική διαφορά, σε πανομοιότυπο υλικό δοκιμής, από τον ίδιο αναλυτή με τον ίδιο εξοπλισμό δεν υπερβαίνει το 0,2 % m/m.

### 9.3.2. Αναπαραγωγιμότητα

Δεν έχει προσδιοριστεί.

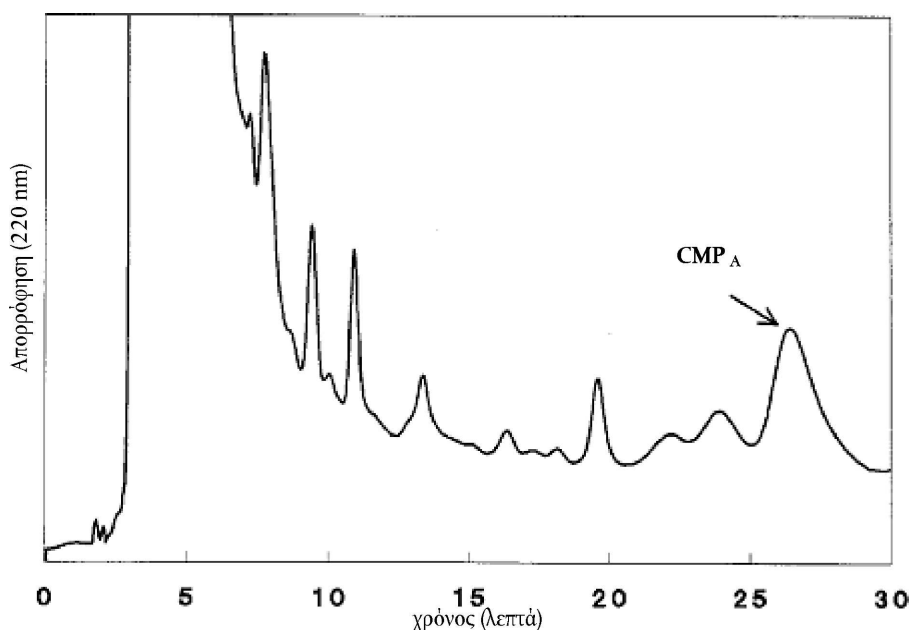
### 9.3.3. Γραμμικότητα

Στο πεδίο τιμών εκατοστιαίας αναλογίας γλυκού ορού γάλακτος 0 έως 16 % πρέπει να προκύπτει γραμμική σχέση με συντελεστή συσχέτισης μεγαλύτερο του 0,99.

## 9.4. Ερμηνεία

Το όριο 1 % περιλαμβάνει την αβεβαιότητα λόγω αναπαραγωγιμότητας.

Σχήμα 1  
πρότυπο δείγμα Ni -4.6



(\*) International IDF-Standard 135B/1991. Milk and milk products. Precision characteristics of analytical methods. Outline of collaborative study procedure (Γάλα και γαλακτοκομικά προϊόντα. Χαρακτηριστικά ακρίβειας των αναλυτικών μεθόδων. Συνοπτική περιγραφή διαδικασίας ομαδικής μελέτης).».

3) Προστίθενται τα ακόλουθα παραρτήματα:

«ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ VI

**Μέθοδοι ανάλυσης βουτύρου στο πλαίσιο ιδιωτικής αποθεματοποίησης**

Παράμετρος	Μέθοδος
Λιπαρά <sup>(1)</sup>	ISO 17189 ή ISO 3727 μέρος 3
Νερό	ISO 3727 μέρος 1
Στερεά υπολείμματα χωρίς λίπος (εξαιρουμένου του αλατιού)	ISO 3727 μέρος 2
Αλάτι	ISO 15648

(<sup>1</sup>) Η εφαρμοστέα μέθοδος εγκρίνεται από τον οργανισμό πληρωμών.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ VII

**Μέθοδοι ανάλυσης αποκορυφωμένου γάλακτος σε σκόνη στο πλαίσιο ιδιωτικής αποθεματοποίησης**

Παράμετρος	Μέθοδος
Λιπαρά	ISO 1736
Πρωτεΐνη	ISO 8968 μέρος 1
Νερό	ISO 5537

## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ VIII

**Μέθοδοι ανάλυσης τυριών στο πλαίσιο ιδιωτικής αποθεματοποίησης**

1. Εφαρμόζεται η αναλυτική μέθοδος που καθορίζεται στο προσάρτημα για να εξασφαλιστεί ότι το τυρί που παρασκευάζεται αποκλειστικά από γάλα προβάτων, αιγών ή βουβάλων και μείγματα γάλακτος προβάτων, αιγών και βουβάλων δεν περιέχει καζεΐνη αγελαδινού γάλακτος.

Η καζεΐνη αγελαδινού γάλακτος θεωρείται παρούσα εάν η περιεκτικότητα του αναλυθέντος δείγματος σε καζεΐνη αγελαδινού γάλακτος είναι ίση ή μεγαλύτερη από την περιεκτικότητα του δείγματος αναφοράς που περιέχει αγελαδινό γάλα σε αναλογία 1 %, όπως προβλέπεται στο προσάρτημα.

2. Για την ανίχνευση της καζεΐνης αγελαδινού γάλακτος στα τυριά που αναφέρονται στην παράγραφο 1, επιτρέπεται να χρησιμοποιούνται μέθοδοι υπό τους εξής όρους:
  - α) το μέγιστο όριο ανίχνευσης είναι 0,5 % και
  - β) δεν προκύπτουν ψευδοθετικά αποτελέσματα και
  - γ) η καζεΐνη αγελαδινού γάλακτος είναι ανιχνεύσιμη με την απαιτούμενη ευαισθησία, ακόμη και μετά από μακρές περιόδους ωρίμασης, οι οποίες μπορεί να παρατηρηθούν στις συνήθεις συνθήκες εμπορίας.

Εάν δεν ικανοποιείται οποιαδήποτε από τις προαναφερόμενες απαιτήσεις, χρησιμοποιείται η μέθοδος που καθορίζεται στο προσάρτημα.

---

## Προσάρτημα

**ΜΕΘΟΔΟΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΑΓΕΛΑΔΙΝΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΚΑΙ ΚΑΖΕΪΝΙΚΩΝ ΑΛΑΤΩΝ ΣΕ ΤΥΡΙΑ ΑΠΟ ΓΑΛΑ ΠΡΟΒΑΤΩΝ, ΑΙΓΩΝ Η ΒΟΥΒΑΛΩΝ ΚΑΙ ΜΕΙΓΜΑΤΑ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΠΡΟΒΑΤΩΝ, ΑΙΓΩΝ ΚΑΙ ΒΟΥΒΑΛΩΝ**

## 1. ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ

Ανίχνευση αγελαδινού γάλακτος και καζεϊνικών αλάτων σε τυριά που παρασκευάζονται από γάλα προβάτων, αιγών ή βουβάλων και μείγματα γάλακτος προβάτων, αιγών και βουβάλων με ισοηλεκτρική εστίαση γ-καζεϊνών μετά από πλασμινόλυση.

## 2. ΠΕΔΙΟ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ

Η μέθοδος είναι κατάλληλη για ευαίσθητη και εξειδικευμένη ανίχνευση φυσικού και θερμικά κατεργασμένου αγελαδινού γάλακτος και καζεϊνικών αλάτων σε νωπά και ώριμα τυριά από γάλα προβάτων, αιγών ή βουβάλων και μείγματα γάλακτος προβάτων, αιγών και βουβάλων. Η μέθοδος αυτή δεν είναι κατάλληλη για την ανίχνευση της νοθείας του γάλακτος και των τυριών με συμπυκνώματα πρωτεϊνών ορού αγελαδινού γάλακτος που έχουν υποστεί θερμική κατεργασία.

## 3. ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

## 3.1. Απομόνωση καζεϊνών από το τυρί και τα πρότυπα υλικά αναφοράς

## 3.2. Διάλυση των καζεϊνών που έχουν απομονωθεί και υποβολή σε διάσπαση με πλασμίνη (EC.3.4.21.7)

## 3.3. Ισοηλεκτρική εστίαση των κατεργασμένων με πλασμίνη καζεϊνών παρουσία ουρίας και χρώση πρωτεϊνών

3.4. Αξιολόγηση του αποτελέσματος της χρώσης των  $\gamma_3$ - και  $\gamma_2$ -καζεϊνών (ένδειξη παρουσίας αγελαδινού γάλακτος) με σύγκριση του αποτελέσματος που προκύπτει από το δείγμα με εκείνα που προκύπτουν στην ίδια πηκτή από τα πρότυπα υλικά αναφοράς που περιέχουν αγελαδινό γάλα σε αναλογία 0 % και 1 %.

## 4. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Χρησιμοποιούνται χημικές ουσίες αναλυτικής καθαρότητας, εκτός αντίθετων υποδείξεων. Το νερό είναι διασπασταγμένο ή ισοδύναμη καθαρότητας.

Σημείωση: Οι περιγραφές που ακολουθούν ισχύουν για πηκτές πολυακρυλαμιδίου με ουρία, διαστάσεων 265 × 125 × 0,25 mm, που παρασκευάζονται στο εργαστήριο. Σε περίπτωση χρήσης πηκτών άλλων διαστάσεων και τύπων, ενδέχεται να χρειαστεί προσαρμογή των συνθηκών διαχωρισμού.

**Ισοηλεκτρική εστίαση**

## 4.1. Αντιδραστήρια για την παρασκευή των πηκτών πολυακρυλαμιδίου που περιέχουν ουρία

## 4.1.1. Μητρικό διάλυμα πηκτής

Διαλύονται σε νερό:

4,85 g ακρυλαμιδίου

0,15 g N, N'-μεθυλενο-δισ-ακρυλαμιδίου (BIS)

48,05 g ουρίας

15,00 g γλυκερίνης (87 % w/w),

συμπληρώνεται ο όγκος μέχρι 100 ml και το διάλυμα φυλάσσεται στο ψυγείο μέσα σε σκοτεινόχρωμη φιάλη.

Σημείωση: Αντί των νευροτοξικών ακρυλαμιδίων στις ανωτέρω καθοριζόμενες ποσότητες, είναι προτιμότερο να χρησιμοποιείται διάλυμα προαναμεμιγμένου ακρυλαμιδίου/BIS, το οποίο διατίθεται στο εμπόριο. Εφόσον η περιεκτικότητα του εν λόγω διαλύματος σε ακρυλαμίδιο και σε BIS είναι 30 % w/v και 0,8 % w/v, αντίστοιχα, χρησιμοποιούνται για το παρασκεύασμα 16,2 ml αντί των ανωτέρω καθοριζόμενων ποσοτήτων. Ο μέγιστος χρόνος διατήρησης του μητρικού διαλύματος είναι 10 ημέρες· εάν η αγωγιμότητά του υπερβαίνει τα 5μS, αποιονίζεται με ανάδευση με 2 g Amberlite MB-3 επί 30 λεπτά και, στη συνέχεια, διηθείται μέσω μεμβράνης των 0,45 μm.

**4.1.2. Διάλυμα πηκτής**

Παρασκευάζεται διάλυμα πηκτής με ανάμιξη προσθέτων και αμφολυτών (\*) με το μητρικό διάλυμα πηκτής (βλέπε σημείο 4.1.1).

9,0 ml μητρικού διαλύματος

24 mg β-αλανίνης

500 ml αμφολύτη με pH 3,5-9,5

250 ml αμφολύτη με pH 5-7

250 ml αμφολύτη με pH 6-8

Το διάλυμα πηκτής αναμειγνύεται και στη συνέχεια απαερώνεται επί 2 έως 3 λεπτά σε λουτρό υπερήχων ή υπό κενό.

Σημείωση: Το διάλυμα πηκτής παρασκευάζεται αμέσως πριν χυθεί πάνω στην πλάκα (βλέπε σημείο 6.2).

**4.1.3. Διαλύματα καταλυτών****4.1.3.1. N, N, N', N'-τετραμεθυλ-αιθυλενοδιαμίνη (TEMED)****4.1.3.2. Διάλυμα υπερθειικού αμμωνίου (PER) 40 % w/v:**

Διαλύονται σε νερό 800 mg PER και συμπληρώνεται ο όγκος μέχρι τα 2 ml.

Σημείωση: Να χρησιμοποιείται πάντοτε πρόσφατα παρασκευασμένο διάλυμα PER.

**4.2. Λιπαντικό ρευστό**

Κηροζίνη ή υγρή παραφίνη

**4.3. Διάλυμα της ανόδου**

Διαλύονται σε νερό 5,77 g φωσφορικού οξέος (85 % w/w) και το διάλυμα αραιώνεται μέχρι τα 100 ml.

**4.4. Διάλυμα της καθόδου**

Διαλύονται σε νερό 2,00 g υδροξειδίου του νατρίου και το διάλυμα αραιώνεται με νερό μέχρι τα 100 ml.

**Προετοιμασία του δείγματος****4.5. Αντιδραστήρια για την απομόνωση των πρωτεϊνών**

4.5.1. Αραιό οξικό οξύ (25,0 ml παγόμορφου οξικού οξέος αραιώνονται με νερό μέχρι τα 100 ml)

4.5.2. Διχλωρομεθάνιο

4.5.3. Ακετόνη

**4.6. Ρυθμιστικό διάλυμα για τη διάλυση πρωτεϊνών**

Διαλύονται σε νερό

5,75 g γλυκερίνης (87 % w/w)

24,03 g ουρίας

250 mg διθειοθρεϊτόλης,

και συμπληρώνεται ο όγκος μέχρι τα 50 ml.

Σημείωση: Το διάλυμα φυλάσσεται στο ψυγείο και ο μέγιστος χρόνος διατήρησής του είναι μία εβδομάδα.

**4.7. Αντιδραστήρια για την πλασμόλυση των καζεϊνών****4.7.1. Ρυθμιστικό διάλυμα ανθρακικού αμμωνίου**

Τιτλοδοτείται διάλυμα όξινου ανθρακικού αμμωνίου 0,2 mol/l (1,58 g/100 ml νερού) που περιέχει 0,05 mol/l αιθυλενοδιαμινοτετραοξικού οξέος (EDTA, 1,46 g/100 ml) με διάλυμα ανθρακικού αμμωνίου 0,2 mol/l (1,92 g/100 ml νερού) που περιέχει 0,05 mol/l EDTA έως pH 8.

**4.7.2. Βόειος πλασμίνη (EC. 3.4.21.7), δραστηκότητας τουλάχιστον 5 U/ml****4.7.3. Διάλυμα ε-αμινοκαπρονικού οξέος για αναστολή ενζύμου**

Διαλύονται 2,624 g ε-αμινοκαπρονικού οξέος (6-αμινο-κ-εξανικό οξύ) σε 100 ml αιθανόλης 40 % (v/v).

**4.8. Πρότυπα υλικά**

**4.8.1.** Πιστοποιημένα πρότυπα υλικά αναφοράς που συνίστανται σε μείγμα αποκορυφωμένου αιγοπρόβειου γάλακτος με προσθήκη πυτιάς, το οποίο περιέχει αγελαδινό γάλα σε αναλογία 0 % και 1 %, διατίθενται από το Ινστιτούτο Υλικών και Μετρήσεων Αναφοράς της Επιτροπής, B-2440 Geel, Βέλγιο.

**4.8.2.** Παρασκευή ενδιάμεσων προτύπων υλικών του εργαστηρίου που συνίστανται σε γάλα βουβάλων με προσθήκη πυτιάς, το οποίο περιέχει αγελαδινό γάλα σε αναλογία 0 % και 1 %

Αποκορυφωμένο γάλα λαμβάνεται με φυγοκέντρηση ακατέργαστου και ασυσκεύαστου γάλακτος βουβάλων ή αγελαδινού στους 37 °C και σε 2 500 g επί 20 λεπτά. Μετά από ταχεία ψύξη του σωλήνα και του περιεχομένου του σε θερμοκρασία 6-8 °C, αφαιρείται τελείως η ανώτερη λιπαρή στιβάδα. Για την παρασκευή του προτύπου υλικού 1 %, προστίθενται 5,00 ml αποκορυφωμένου αγελαδινού γάλακτος σε 495 ml αποκορυφωμένου γάλακτος βουβάλων μέσα σε ποτήρι ζέσεως του 1 λίτρου και ρυθμίζεται το pH στην τιμή 6,4 με την προσθήκη αραιού γαλακτικού οξέος (10 % w/v). Ρυθμίζεται η θερμοκρασία στους 35 °C, προστίθενται 100 ml πυτιάς μόσχου (δραστηκότητα πυτιάς 1: 10 000, περίπου 3 000 U/ml), το σύνολο αναδεύεται επί ένα λεπτό και στη συνέχεια το ποτήρι ζέσεως, καλυμμένο με αλουμινόχαρτο, αφήνεται στους 35 °C επί μία ώρα για να σχηματισθεί το τυρόπηγμα. Αφού σχηματισθεί το τυρόπηγμα, το πηγμένο γάλα λυοφιλοποιείται χωρίς προηγούμενη ομογενοποίηση ούτε στράγγιση του ορού. Μετά τη λυοφιλίωση, λειοτριβείται προς σχηματισμό ομοιογενούς σκόνης. Για την παρασκευή του προτύπου υλικού 0 % ακολουθείται η ίδια διαδικασία με αμιγές αποκορυφωμένο γάλα βουβάλων. Τα πρότυπα υλικά φυλάσσονται σε θερμοκρασία - 20 °C.

Σημείωση: Πριν από την παρασκευή των προτύπων υλικών, συνιστάται να ελέγχεται η καθαρότητα του γάλακτος βουβάλων με ισοηλεκτρική εστίαση των καζεϊνών μετά από κατεργασία με πλασμίνη.

**Αντιδραστήρια για τη χρώση των πρωτεϊνών****4.9. Αντιδραστήριο στερέωσης**

Διαλύονται σε νερό 150 g τριχλωροξικού οξέος και συμπληρώνεται ο όγκος μέχρι τα 1 000 ml.

**4.10. Διάλυμα αποχρωματισμού**

Αραιώνονται με απεσταγμένο νερό 500 ml μεθανόλης και 200 ml παγόμορφου οξικού οξέος μέχρις όγκου 2 000 ml.

Σημείωση: Το διάλυμα αποχρωματισμού παρασκευάζεται σε ημερήσια βάση. μπορεί να παρασκευαστεί με ανάμειξη ίσων όγκων μητρικών διαλυμάτων μεθανόλης 50 % (v/v) και παγόμορφου οξικού οξέος 20 % (v/v).

**4.11. Διαλύματα χρώσης****4.11.1. Διάλυμα χρώσης (μητρικό διάλυμα 1)**

Διαλύονται 3,0 g χρωστικής Coomassie Brilliant Blue G-250 (Color Index 42655) σε 1 000 ml μεθανόλης 90 % (v/v) με τη βοήθεια μαγνητικού αναδευτήρα (45 λεπτά περίπου) και το διάλυμα διηθείται μέσω δύο πτυχωτών ηθμών μεσαίας ταχύτητας.

**4.11.2. Διάλυμα χρώσης (μητρικό διάλυμα 2)**

Διαλύονται 5,0 g πενταένυδρου θειικού χαλκού σε 1 000 ml οξικού οξέος 20 % (v/v).

**4.11.3. Διάλυμα χρώσης (διάλυμα εργασίας)**

Αναμειγνύονται 125 ml από κάθε μητρικό διάλυμα (4.11.1 και 4.11.2) αμέσως πριν από τη χρώση.

Σημείωση: Το διάλυμα χρώσης πρέπει να παρασκευάζεται την ημέρα που πρόκειται να χρησιμοποιηθεί.



5. ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ
- 5.1. Γυάλινες πλάκες (διαστάσεις 265 × 125 × 4 mm), ελαστικός κύλινδρος (πλάτος 15 cm), τραπέζι οριζοντίωσης
- 5.2. Φύλλο συγκράτησης πηκτής (διαστάσεις 265 × 125 mm)
- 5.3. Φύλλο κάλυψης (διαστάσεις 280 × 125 mm). Σε κάθε μεγάλη πλευρά επικολλάται λωρίδα αυτοκόλλητης ταινίας διαστάσεων 280 × 6 × 0,25 mm (βλέπε σχήμα 1)
- 5.4. Θάλαμος ηλεκτροεστίασης με ψυκτική πλάκα (π.χ. 265 × 125 mm) και κατάλληλο τροφοδοτικό (τάσης ≥ 2,5 kV) ή αυτόματη συσκευή ηλεκτροφόρησης
- 5.5. Κρυστάτης κυκλοφορίας, ρυθμισμένος στους 12 ± 0,5 °C
- 5.6. Φυγόκεντρος, ρυθμιζόμενη σε 3 000 g
- 5.7. Ταινίες ηλεκτροδίων (μήκος ≥ 265 mm)
- 5.8. Πλαστικές σταγονομετρικές φιάλες για το διάλυμα της ανόδου και της καθόδου
- 5.9. Εφαρμογείς δείγματος (διαστάσεις 10 × 5 mm, διηθητικός χάρτης βισκόζης ή χαμηλής προσρόφησης πρωτεϊνών)
- 5.10. Τρυβλία χρώσης και αποχρωματισμού από ανοξειδωτο χάλυβα ή γυαλί (π.χ. δίσκοι οργάνων, διαστάσεων 280 × 150 mm)
- 5.12. Ρυθμιζόμενος ομοιογενοποιητής με ράβδο (διάμετρος ατράκτου 10 mm), που λειτουργεί στις 8 000 έως 20 000 rpm
- 5.13. Μαγνητικός αναδευτήρας
- 5.14. Λουτρό υπερήχων
- 5.15. Συγκολλητής μεμβράνης
- 5.16. Μικροσιφόνια των 25 μl
- 5.17. Συμπυκνωτής κενού ή συσκευή λυοφιλίωσης
- 5.18. Θερμοστατούμενο υδατόλουτρο ρυθμιζόμενο στους 35 και 40 ± 1 °C με τάρακτρο
- 5.19. Πυκνόμετρο για μήκος κύματος λ = 634 nm

## 6. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

### 6.1. Προετοιμασία του δείγματος

#### 6.1.1. Απομόνωση καζεϊνών

Σε σωλήνα φυγόκεντρου των 100 ml ζυγίζεται ποσότητα ισοδύναμη με 5 g ξηρής μάζας τυριού ή προτύπων υλικών αναφοράς, προστίθενται 60 ml απεσταγμένου νερού και το σύνολο ομογενοποιείται σε ομογενοποιητή με ράβδο (8 000 έως 10 000 rpm). Ρυθμίζεται το pH σε 4,6 με αραιό οξικό οξύ (4.5.1) και ακολουθεί φυγόκεντρωση (5 λεπτά, 3 000 g). Το λίπος και ο ορός αποχύνονται, το υπόλειμμα ομογενοποιείται στις 20 000 rpm με 40 ml απεσταγμένου νερού του οποίου το pH έχει ρυθμιστεί σε 4,5 με αραιό οξικό οξύ (4.5.1), προστίθενται 20 ml διχλωρομεθανίου (4.5.2) και ακολουθεί νέα ομογενοποίηση και φυγόκεντρωση (5 λεπτά, 3 000 g). Αφαιρείται με στάπτολα η σταβάδα της καζεΐνης που επιπλέει μεταξύ της υδατικής και της οργανικής φάσης (βλέπε σχήμα 2) και απορρίπτονται οι δύο αυτές φάσεις. Η καζεΐνη ομογενοποιείται εκ νέου με 40 ml απεσταγμένου νερού (βλέπε ανωτέρω) και 20 ml διχλωρομεθανίου (4.5.2) και φυγοκεντρείται. Η διαδικασία αυτή επαναλαμβάνεται έως ότου και οι δύο εκχυλιστικές φάσεις είναι άχρωμες (2 έως 3 φορές). Το πρωτεϊνικό υπόλειμμα ομογενοποιείται με 50 ml ακετόνης (4.5.3) και διηθείται μέσω πτυχωτού χάρτινου ηθμού μεσαίας ταχύτητας. Το υπόλειμμα εκπλύνεται πάνω στον ηθμό δύο φορές με 25 ml ακετόνης κάθε φορά, αφήνεται να ξηρανθεί στον αέρα ή σε ρεύμα αζώτου και κατόπιν κονιοποιείται σε γουδί.

Σημείωση: Οι ξηρές απομονωμένες καζεΐνες πρέπει να φυλάσσονται σε θερμοκρασία - 20 °C.

#### 6.1.2. Πλασμινόλυση των β-καζεϊνών προς ενίσχυση των γ-καζεϊνών

Παρασκευάζεται εναιώρημα 25 mg απομονωμένων καζεϊνών (6.1.1) σε 0,5 ml ρυθμιστικού διαλύματος ανθρακικού αμμωνίου (4.7.1) και ομογενοποιείται επί 20 λεπτά, π.χ. με υπερήχους. Ακολουθεί θέρμανση στους 40 °C, προσθήκη 10 μl πλασμίνης (4.7.2), ανάμειξη και επώαση στους 40 °C επί μία ώρα με συνεχή ανακίνηση. Για την αναστολή του ενζύμου προστίθενται 20 μl διαλύματος ε-αμινοκαπρονικού οξέος (4.7.3) και, στη συνέχεια, 200 mg στερεάς ουρίας και 2 mg διθειοθρεϊτόλης.

Σημείωση: Για να προκύψουν πιο συμμετρικές ταινίες εστιασμένης καζεΐνης, συνιστάται λυοφιλίωση του διαλύματος μετά την προσθήκη του ε-αμινοκαπρονικού οξέος και, στη συνέχεια, διάλυση των υπολειμμάτων σε 0,5 ml ρυθμιστικού διαλύματος για διάλυση πρωτεϊνών (4.6).

## 6.2. Παρασκευή των πηκτών πολυακρυλαμιδίου που περιέχουν ουρία

Το φύλλο συγκράτησης πηκτής (5.2) κυλιέται με τη βοήθεια μερικών σταγόνων νερού πάνω σε γυάλινη πλάκα (5.1), ενώ η εξωτερική υγρασία απομακρύνεται με χαρτοπετσέτα ή χαρτομάντιλο. Το φύλλο κάλυψης (5.3) με αποστάτες (0,25 mm) κυλιέται κατά τον ίδιο τρόπο πάνω σε άλλη γυάλινη πλάκα. Η πλάκα τοποθετείται οριζοντίως σε τραπέζι οριζοντίωσης.

Προστίθενται 10 ml διαλύματος TEMED (4.1.3.1) στο διάλυμα πηκτής που έχει παρασκευασθεί και απαερωθεί (4.1.2), αναδεύονται και προστίθενται 10 ml διαλύματος PER (4.1.3.2). Το σύνολο αναμειγνύεται πλήρως και αμέσως χύνεται ομοιόμορφα στο κέντρο του φύλλου κάλυψης. Το ένα άκρο της πλάκας συγκράτησης πηκτής (η πλευρά με το φύλλο προς τα κάτω) τοποθετείται πάνω στην πλάκα με το φύλλο κάλυψης και χαμηλώνεται αργά, έτσι ώστε να σχηματιστεί ένα υμένιο πηκτής μεταξύ των φύλλων και να απλωθεί ομαλά χωρίς φυσαλίδες (βλέπε σχήμα 3). Η πλάκα συγκράτησης πηκτής χαμηλώνεται τελείως με προσοχή και με τη βοήθεια μιας λεπτής σπάτουλας και πάνω της τοποθετούνται τρεις ακόμη γυάλινες πλάκες σαν βάρος. Αφού ολοκληρωθεί ο πολυμερισμός (60 λεπτά περίπου), απομακρύνεται το φύλλο συγκράτησης που φέρει την πολυμερισμένη πηκτή μαζί με το φύλλο κάλυψης, με ελαφρά κτυπήματα στις γυάλινες πλάκες. Η οπίσθια πλευρά του φύλλου συγκράτησης καθαρίζεται επιμελώς για να απομακρυνθούν τα υπολείμματα πηκτής και η ουρία. Το "σάντουιτς" της πηκτής συσκευάζεται με συγκόλληση μέσα σε σωλήνα από πλαστική μεμβράνη και φυλάσσεται στο ψυγείο (έξι εβδομάδες κατ' ανώτατο όριο).

**Σημείωση:** Το φύλλο κάλυψης με τους αποστάτες μπορεί να χρησιμοποιηθεί εκ νέου. Η πηκτή πολυακρυλαμιδίου μπορεί να κοπεί σε μικρότερες διαστάσεις, κοπή που συνιστάται όταν τα δείγματα είναι λίγα ή όταν χρησιμοποιείται αυτόματη συσκευή ηλεκτροφόρησης (δύο πηκτές διαστάσεων 4,5 × 5 cm).

## 6.3. Ισοηλεκτρική εστίαση

Ο θερμοστάτης του κρουστάτη ρυθμίζεται στους 12 °C. Η οπίσθια πλευρά του φύλλου συγκράτησης πηκτής επαλείφεται με κηροζίνη και στη συνέχεια ενσταλάζονται μερικές σταγόνες κηροζίνης (4.2) στο κέντρο του ψυχόμενου τμήματος. Κυλιέται κατόπιν πάνω σ' αυτό το "σάντουιτς" της πηκτής, με το φύλλο συγκράτησης προς τα κάτω, προσέχοντας να μην σχηματιστούν φυσαλίδες. Σφουγγίζεται η τυχόν περίσσεια κηροζίνης και αφαιρείται το φύλλο κάλυψης. Διαβρέχονται οι ταινίες ηλεκτροδίων με το διάλυμα της ανόδου και της καθόδου (4.3 και 4.4), κόβονται στο μήκος της πηκτής και τοποθετούνται στις προβλεπόμενες θέσεις (απόσταση ηλεκτροδίων 9,5 cm).

### Συνθήκες ισοηλεκτρικής εστίασης:

#### 6.3.1. Διαστάσεις πηκτής 265 × 125 × 0,25 mm

Στάδιο	Χρόνος (min.)	Τάση (V)	Ένταση (mA)	Ισχύς (W)	Βολτώρας (Vh)
1. Προεστίαση	30	μέγιστη 2 500	μέγιστη 15	σταθερή 4	c. 300
2. Εστίαση δείγματος <sup>(1)</sup>	60	μέγιστη 2 500	μέγιστη 15	σταθερή 4	c. 1 000
3. Τελική εστίαση	60	μέγιστη 2 500	μέγιστη 5	μέγιστη 20	c. 3 000
	40	μέγιστη 2 500	μέγιστη 6	μέγιστη 20	c. 3 000
	30	μέγιστη 2 500	μέγιστη 7	μέγιστη 25	c. 3 000

<sup>(1)</sup> Τοποθέτηση του δείγματος: Μετά την προεστίαση (στάδιο 1), φέρονται με σιφόνιο 18 ml δείγματος και προτύπων διαλυμάτων στους εφαρμογείς δείγματος (10 × 5 mm) και οι τελευταίοι τοποθετούνται πάνω στην πηκτή ανά 1 mm, κατά μήκος της ανόδου και σε απόσταση 5 mm από αυτή, με ελαφρά πίεση. Εκτελείται η εστίαση στις ανωτέρω συνθήκες, ενώ οι εφαρμογείς δείγματος αφαιρούνται με προσοχή μετά την πάροδο των 60 λεπτών εστίασης του δείγματος.

**Σημείωση:** Σε περίπτωση μεταβολής του πάχους ή του πλάτους των πηκτών, πρέπει να προσαρμόζονται κατάλληλα οι τιμές της έντασης και της ισχύος του ρεύματος (π.χ. οι τιμές της έντασης και της ισχύος διπλασιάζονται εάν χρησιμοποιηθεί πηκτή διαστάσεων 265 × 125 × 0,5 mm).

- 6.3.2. Παράδειγμα προγραμματισμού τάσης για αυτόματη συσκευή ηλεκτροφόρησης (2 πηκτές διαστάσεων 5,0 × 4,5 cm) με ηλεκτρόδια που εφαρμόζονται κατευθείαν στην πηκτή, χωρίς ταινίες ηλεκτροδίων

Στάδιο	Τάση	Ένταση	Ισχύς	Θερμοκρασία	Βολτώρες
1. Προεστίαση	1 000 V	10,0 mA	3,5 W	8 °C	85 Vh
2. Εστίαση δείγματος	250 V	5,0 mA	2,5 W	8 °C	30 Vh
3. Εστίαση	1 200 V	10,0 mA	3,5 W	8 °C	80 Vh
4. Εστίαση	1 500 V	5,0 mA	7,0 W	8 °C	570 Vh

Ο εφαρμογέας δείγματος τοποθετείται στο στάδιο 2 στις 0 Vh.

Ο εφαρμογέας δείγματος απομακρύνεται στο στάδιο 2 στις 30 Vh.

#### 6.4. Χρώση πρωτεϊνών

##### 6.4.1. Στερέωση πρωτεϊνών

Απομακρύνονται οι ταινίες ηλεκτροδίων αμέσως μετά τη διακοπή του ρεύματος και η πηκτή τοποθετείται αμέσως σε τρυβλίο χρώσης/αποχρωματισμού που έχει πληρωθεί με 200 ml σταθεροποιητή (4.9), όπου και παραμένει επί 15 λεπτά υπό συνεχή ανακίνηση.

##### 6.4.2. Έκπλυση και χρώση της πλάκας της πηκτής

Το αντιδραστήριο στερέωσης στραγγίζεται τελείως και η πλάκα της πηκτής εκπλύνεται δύο φορές επί 30 δευτερόλεπτα με 100 ml διαλύματος αποχρωματισμού (4.10) κάθε φορά. Το διάλυμα αποχρωματισμού αποχύνεται και το τρυβλίο πληρούται με 250 ml διαλύματος χρώσης (4.11.3), το οποίο αφήνεται να ενεργήσει επί 45 λεπτά υπό ήπια ανακίνηση.

##### 6.4.3. Αποχρωματισμός της πλάκας της πηκτής

Αποχύνεται το διάλυμα χρώσης, εκπλύνεται η πλάκα της πηκτής δύο φορές με 100 ml διαλύματος αποχρωματισμού (4.10) κάθε φορά και κατόπιν ανακινείται με 200 ml διαλύματος αποχρωματισμού επί 15 λεπτά. Το στάδιο αποχρωματισμού επαναλαμβάνεται τουλάχιστον δυο-τρεις φορές, μέχρις ότου το υπόβαθρο είναι διαυγές και άχρωμο. Στη συνέχεια, η πλάκα της πηκτής εκπλύνεται με απεσταγμένο νερό (δύο φορές επί 2 λεπτά) και αφήνεται να ξηρανθεί στον αέρα (2 έως 3 ώρες) ή ξηραίνεται με στεγνωτήρα μαλλιών (10 έως 15 λεπτά).

Σημείωση 1: Η στερέωση, η έκπλυση, η χρώση και ο αποχρωματισμός εκτελούνται σε θερμοκρασία 20 °C.

Σημείωση 2: Εάν προτιμηθεί πιο ευαίσθητη μέθοδος χρώσης με άργυρο (π.χ. αντιδραστήριο Silver Staining Kit, Protein, Pharmacia Biotech, κωδικός αριθ. 17-1150-01), τα δείγματα καζείνης που έχουν υποστεί κατεργασία με πλασμίνη πρέπει να αραιωθούν μέχρι τα 5 mg/ml.

## 7. ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ

Η αξιολόγηση διεξάγεται με σύγκριση των πρωτεϊνικών ταινιών του άγνωστου δείγματος με εκείνες των προτύπων υλικών αναφοράς στην ίδια πηκτή. Το αγελαδινό γάλα ανιχνεύεται σε τυριά από γάλα προβάτων, αιγών ή βουβάλων και από μείγματα γάλακτος προβάτων, αιγών και βουβάλων μέσω των  $\gamma_3$ - και  $\gamma_2$ -καζείνων, των οποίων τα ισοηλεκτρικά σημεία κυμαίνονται μεταξύ των τιμών pH 6,5 και pH 7,5 (σχήματα 4α, 4β και 5). Το όριο ανίχνευσης είναι κατώτερο του 0,5 %.

### 7.1. Οπτική εκτίμηση

Για την οπτική εκτίμηση της ποσότητας αγελαδινού γάλακτος συνιστάται η προσαρμογή των συγκεντρώσεων των δειγμάτων και των προτύπων υλικών ώστε να προκύψει ο ίδιος βαθμός έντασης των  $\gamma_2$ - και  $\gamma_3$ -καζείνων προβάτων, αιγών και/ή βουβάλων (βλέπε " $\gamma_2$  E,G,B" και " $\gamma_3$  E, G, B" στα σχήματα 4α, 4β και 5). Κατόπιν αυτού, η ποσότητα αγελαδινού γάλακτος (μικρότερη, ίση ή μεγαλύτερη από 1 %) στο άγνωστο δείγμα μπορεί να εκτιμηθεί απευθείας με σύγκριση της έντασης των βόειων  $\gamma_3$ - και  $\gamma_2$ - καζείνων (βλέπε " $\gamma_3$  C" και " $\gamma_2$  C" στα σχήματα 4α, 4β και 5) με εκείνες των προτύπων υλικών αναφοράς με περιεκτικότητα 0 % και 1 % (προβάτων, αιγών) ή των προσωρινών προτύπων υλικών του εργαστηρίου (βουβάτων).

## 7.2. Πυκνομετρικός υπολογισμός

Εφόσον υπάρχει δυνατότητα, χρησιμοποιείται πυκνόμετρο (5.19) για τον προσδιορισμό του λόγου των εμβαδών των κορυφών των βόειων  $\gamma_2$ - και  $\gamma_3$ -καζεϊνών προς εκείνες των αιγοπροβάτων ή/και βουβάλων (βλέπε σχήμα 5). Η τιμή αυτή συγκρίνεται με το λόγο των εμβαδών των κορυφών των  $\gamma_2$ - και  $\gamma_3$ -καζεϊνών του προτύπου υλικού αναφοράς με περιεκτικότητα 1 % (προβάτων, αιγών) ή του προσωρινού πρότυπου υλικού του εργαστηρίου (βουβάλων) που αναλύθηκε στην ίδια πηκτή.

**Σημείωση:** Η μέθοδος παρέχει ικανοποιητικά αποτελέσματα, εφόσον υπάρχει σαφής θετική ένδειξη βόειων  $\gamma_2$ - και  $\gamma_3$ -καζεϊνών στο πρότυπο υλικό 1 %, όχι όμως στο πρότυπο υλικό 0 %. Σε αντίθετη περίπτωση, η διαδικασία βελτιστοποιείται με επακριβή εφαρμογή των λεπτομερειών της μεθόδου.

Ένα δείγμα κρίνεται θετικό, εάν οι βόειες  $\gamma_2$ - και  $\gamma_3$ -καζεϊνικές βοοειδών ή οι αντίστοιχοι λόγοι των εμβαδών των κορυφών είναι ίσοι ή μεγαλύτεροι από το επίπεδο του προτύπου υλικού αναφοράς 1 %.

## 8. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

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, 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, 83-85 (1995).

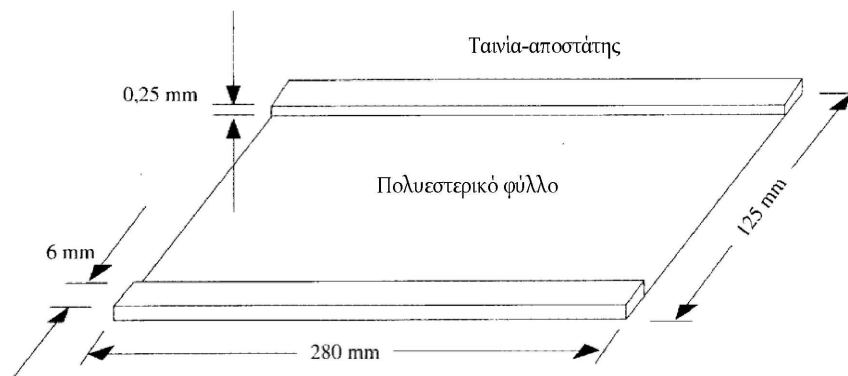
Krause I., Berner I, Klostermeyer H.: Sensitive detection of cow milk in ewe and goat milk and cheese by carrier ampholyte — and carrier ampholyte/immobilized pH gradient — isoelectric focusing of  $\gamma$ -caseins using plasmin as signal amplifier. in: *Electrophoresis-Forum* 89 (B. J. Radola, ed.) pp 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, 195-199 (1982).

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

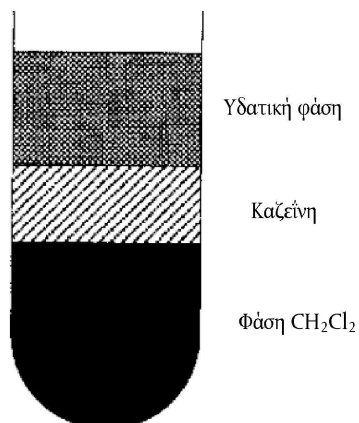
Σχήμα 1

### Σχεδιάγραμμα του φύλλου κάλυψης



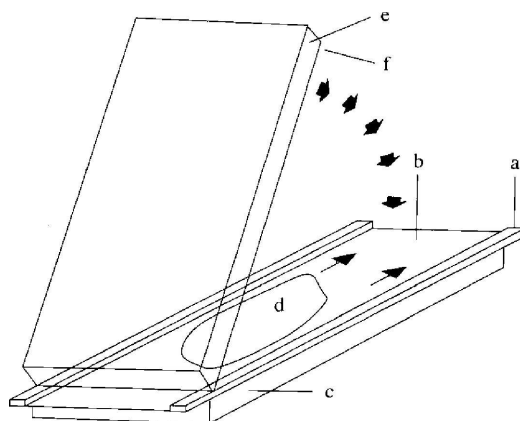
Σχήμα 2

Στιβάδα καζεΐνης που επιπλέει μεταξύ υδατικής και οργανικής φάσης μετά από φυγοκέντρηση



Σχήμα 3

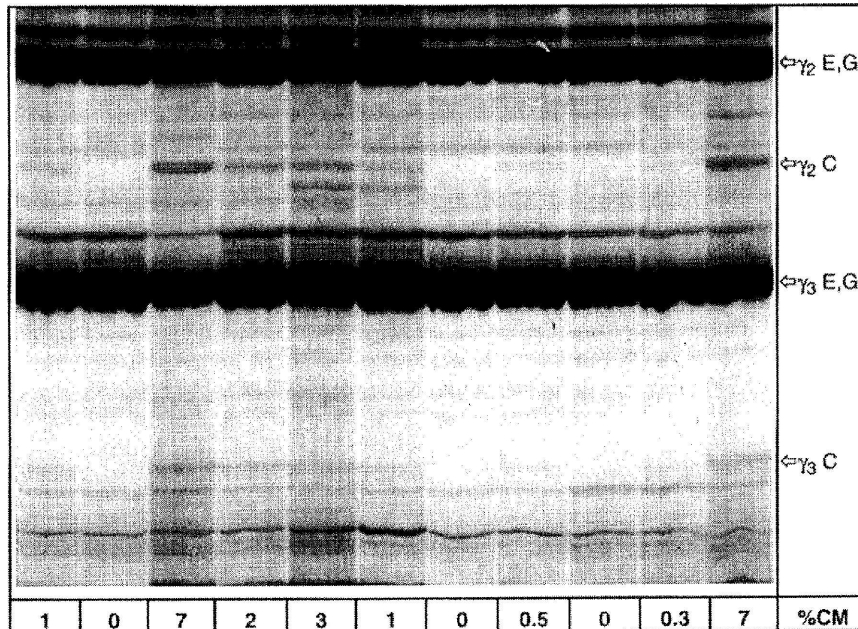
Τεχνική επικάλυψης για στρώση υπέρλεπτων πηκτών πολυακρυλαμίδιου



$a$  = ταινία-αποστάτης (0,25 mm)·  $b$  = φύλλο κάλυψης (5.3)·  $c, e$  = γυάλινες πλάκες (5.1)·  $d$  = διάλυμα πηκτής (4.1.2)·  
 $f$  = φύλλο συγκράτησης πηκτής (5.2)

Σχήμα 4α

Ισοηλεκτρική εστίαση (IEF) κατεργασμένων με πλασμίνη καζεϊνών από τυρί παραγόμενο από αιγοπρόβριο γάλα που περιέχει διαφορετικές ποσότητες αγελαδινού γάλακτος

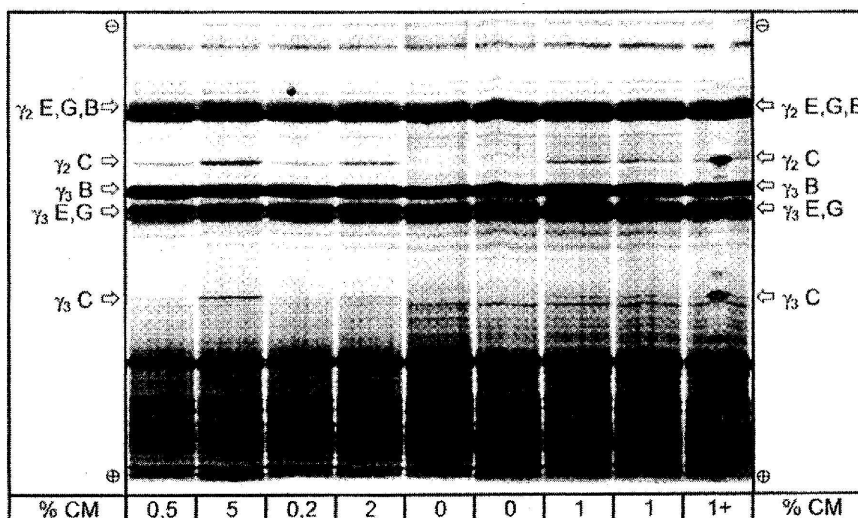


% CM = εκατοστιαία αναλογία αγελαδινού γάλακτος, C = αγελάδων, E = προβάτων, G = αιγών

Απεικονίζεται το άνω ήμισυ της πηκτής της IEF.

Σχήμα 4β

Ισοηλεκτρική εστίαση κατεργασμένων με πλασμίνη καζεϊνών από τυρί παραγόμενο από μείγματα γάλακτος προβάτων, αιγών και βουβάλων που περιέχουν διαφορετικές ποσότητες αγελαδινού γάλακτος.

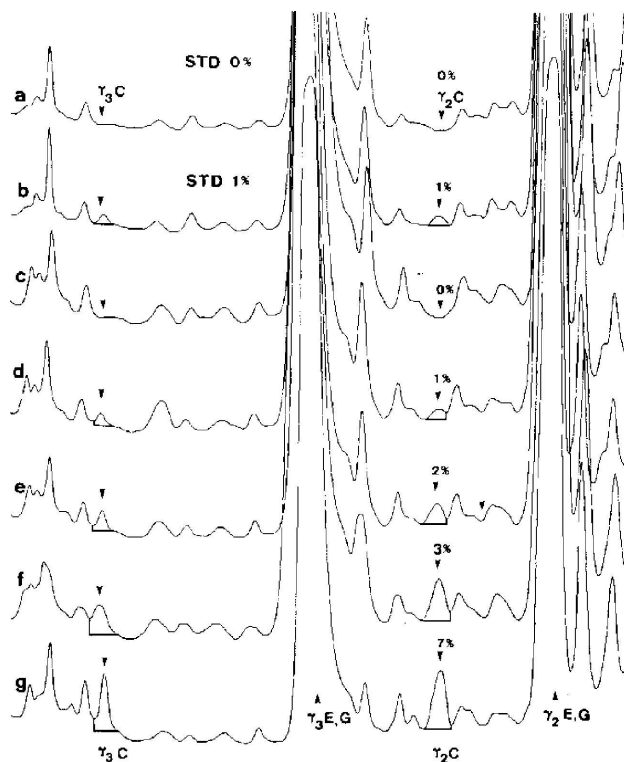


% CM = εκατοστιαία αναλογία αγελαδινού γάλακτος· 1+ = δείγμα που περιέχει αγελαδινό γάλα σε αναλογία 1 % και εμπλουτίστηκε με καθαρή βόεια καζεΐνη στο μέσο της διαδρομής, C = αγελάδων, E = προβάτων, G = αιγών, B = βουβάλων.

Απεικονίζεται η συνολική απόσταση διαχωρισμού της πηκτής της IEF.

Σχήμα 5

Υπέρθεση των πυκνογραφημάτων των προτύπων υλικών (STD) και των δειγμάτων τυριού από μείγμα πρόβειου και αίγειου γάλακτος μετά την ισοηλεκτρική εστίαση.



a, b = πρότυπα υλικά που περιέχουν αγελαδινό γάλα σε αναλογίες 0 και 1 %· c-g = δείγματα τυριού που περιέχουν αγελαδινό γάλα σε αναλογίες 0, 1, 2, 3 και 7 %· C = αγελάδων, E = προβάτων, G = αιγών.

Το άνω ήμισυ της πηκτής της IEF σαρώθηκε σε μήκος κύματος  $\lambda = 634 \text{ nm}$ .

## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΧ

**Αξιολόγηση των αναλύσεων****1. Διασφάλιση ποιότητας**

Οι αναλύσεις πραγματοποιούνται από εργαστήρια που ορίζονται σύμφωνα με το άρθρο 12 του κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 882/2004 (\*\*\*) ή που ορίζονται από τις αρμόδιες αρχές του κράτους μέλους.

**2. Δειγματοληψία και αμφισβήτηση των αποτελεσμάτων των αναλύσεων**

1. Η δειγματοληψία διενεργείται σύμφωνα με τη σχετική νομοθετική ρύθμιση για το εξεταζόμενο προϊόν. Εάν δεν προβλέπονται ρητά διατάξεις περί δειγματοληψίας, τότε ισχύουν οι διατάξεις που ορίζονται στο πρότυπο ISO 707, Γάλα και προϊόντα γάλακτος — Οδηγίες δειγματοληψίας.
2. Οι εκθέσεις του εργαστηρίου σχετικά με τα αποτελέσματα των αναλύσεων πρέπει να περιέχουν επαρκή στοιχεία για την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων σύμφωνα με το προσάρτημα.
3. Για τις αναλύσεις που απαιτούνται βάσει των κοινοτικών διατάξεων λαμβάνονται διπλά δείγματα.
4. Σε περίπτωση διαφοράς όσον αφορά τα αποτελέσματα, ο οργανισμός πληρωμών υποβάλλει εκ νέου το εν λόγω προϊόν στην αναγκαία ανάλυση και οι σχετικές δαπάνες βαρύνουν τον ηττηθέντα.

Η ανωτέρω ανάλυση πραγματοποιείται υπό τον όρο ότι υπάρχουν σφραγισμένα διπλά δείγματα του προϊόντος τα οποία φυλάσσονται καταλλήλως στην αρμόδια αρχή. Ο κατασκευαστής υποβάλλει αίτημα στον οργανισμό πληρωμών για διενέργεια της ανάλυσης εντός 7 εργάσιμων ημερών από την κοινοποίηση των αποτελεσμάτων της πρώτης ανάλυσης. Η ανάλυση διεξάγεται από τον οργανισμό πληρωμών εντός 21 εργάσιμων ημερών από την παραλαβή του αιτήματος.

5. Το αποτέλεσμα της προσφυγής είναι οριστικό.
6. Εάν ο παραγωγός μπορεί να αποδείξει, εντός πέντε εργάσιμων ημερών από τη δειγματοληψία, ότι η διαδικασία δειγματοληψίας δεν εφαρμόστηκε σωστά, αυτή επαναλαμβάνεται, εφόσον είναι δυνατόν. Εάν δεν είναι δυνατόν να επαναληφθεί η δειγματοληψία, το φορτίο γίνεται δεκτό.



## Προσάρτημα

## Αξιολόγηση της συμμόρφωσης φορτίων με το νομοθετικά κατοχυρωμένο όριο

## 1. Αρχή

Όταν οι διατάξεις που αφορούν τη δημόσια παρέμβαση και την ιδιωτική αποθεματοποίηση προβλέπουν λεπτομερείς διαδικασίες δειγματοληψίας, τότε ακολουθούνται οι εν λόγω διαδικασίες. Σε κάθε άλλη περίπτωση, χρησιμοποιείται δείγμα αποτελούμενο από τρεις τουλάχιστον μονάδες δείγματος οι οποίες έχουν ληφθεί τυχαία από το προς έλεγχο φορτίο. Επιτρέπεται η παρασκευή σύνθετου δείγματος. Το λαμβανόμενο αποτέλεσμα συγκρίνεται με τα όρια που επιβάλλει η νομοθεσία, με υπολογισμό διαστήματος εμπιστοσύνης 95 % ως του διπλάσιου της τυπικής απόκλισης, η τιμή της οποίας εξαρτάται από το κατά πόσον 1) η μέθοδος έχει επικυρωθεί με διεθνή συνεργασία και έχουν προσδιοριστεί τιμές  $\sigma_r$  και  $\sigma_R$  ή 2) προκειμένου για εσωτερική (in-house) επικύρωση, έχει υπολογιστεί εσωτερική αναπαραγωγιμότητα. Το εν λόγω διάστημα εμπιστοσύνης ισούται με την αβεβαιότητα μέτρησης του αποτελέσματος.

## 2. Η μέθοδος έχει επικυρωθεί με διεθνή συνεργασία

Στην περίπτωση αυτή έχουν καθοριστεί η τυπική απόκλιση σε συνθήκες επαναληψιμότητας  $\sigma_r$  και η τυπική απόκλιση σε συνθήκες αναπαραγωγιμότητας  $\sigma_R$  και το εργαστήριο μπορεί να αποδείξει ότι ανταποκρίνεται στα χαρακτηριστικά επιδόσεων της επικυρωμένης μεθόδου.

Υπολογίζεται ο αριθμητικός μέσος  $\bar{x}$  των αποτελεσμάτων του πλήθους μετρήσεων  $n$ .

Υπολογίζεται η διευρυμένη αβεβαιότητα ( $k = 2$ ) του  $\bar{x}$  ως

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

Εάν το τελικό αποτέλεσμα  $x$  της μέτρησης υπολογίζεται με τη βοήθεια τύπου της μορφής,  $x = y_1 + y_2$ ,  $x = y_1 - y_2$ ,  $x = y_1 \cdot y_2$ , ή  $x = y_1/y_2$ , εφαρμόζονται οι συνήθειες στις περιπτώσεις αυτές διαδικασίες συνδυασμού των τυπικών αποκλίσεων.

Το φορτίο θεωρείται μη σύμφωνο με το νομοθετικά κατοχυρωμένο ανώτατο όριο UL εάν

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

σε αντίθετη περίπτωση, θεωρείται σύμφωνο με το UL.

Το φορτίο θεωρείται μη σύμφωνο με το νομοθετικά κατοχυρωμένο κατώτατο όριο LL, εάν

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

σε αντίθετη περίπτωση, θεωρείται σύμφωνο με το LL.

## 3. Εσωτερική επικύρωση, με υπολογισμό της τυπικής απόκλισης σε συνθήκες εσωτερικής αναπαραγωγιμότητας

Στις περιπτώσεις όπου χρησιμοποιούνται μέθοδοι που δεν καθορίζονται στον παρόντα κανονισμό και δεν έχουν προσδιοριστεί μέτρα ακρίβειας, διενεργείται εσωτερική επικύρωση. Στους τύπους υπολογισμού της διευρυμένης αβεβαιότητας  $U$  χρησιμοποιούνται η τυπική απόκλιση σε συνθήκες εσωτερικής επαναληψιμότητας  $s_{ir}$  και η τυπική απόκλιση σε συνθήκες εσωτερικής αναπαραγωγιμότητας  $s_{iR}$  αντί των τιμών  $\sigma_r$  και  $\sigma_R$ , αντιστοίχως.

Οι κανόνες που πρέπει να ακολουθούνται για τον καθορισμό της συμμόρφωσης με το νομοθετικά κατοχυρωμένο όριο ορίζονται στο σημείο 1. Εάν ωστόσο κριθεί ότι το φορτίο δεν είναι σύμφωνο με το νομοθετικά κατοχυρωμένο όριο, οι μετρήσεις επαναλαμβάνονται με τη μέθοδο που καθορίζεται στον παρόντα κανονισμό και το αποτέλεσμα αξιολογείται σύμφωνα με το σημείο 1.

(\*) Τα προϊόντα Ampholine® pH 3,5-9,5 (Pharmacia) και Resolyte® pH 5-7 και pH 6-8 (BDH, Merck) έχουν αποδειχθεί ιδιαίτερα κατάλληλα για την επίτευξη του απαιτούμενου διαχωρισμού των γ-καζιόνων.

(\*\*) Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 882/2004 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου, της 29ης Απριλίου 2004, για τη διενέργεια επίσημων ελέγχων της συμμόρφωσης προς τη νομοθεσία περί ζωοτροφών και τροφίμων και προς τους κανόνες για την υγεία και την καλή διαβίωση των ζώων (ΕΕ L 165 της 30.4.2004, σ. 1).».

**ΕΚΤΕΛΕΣΤΙΚΟΣ ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΣ (ΕΕ) 2018/151 ΤΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ****της 30ής Ιανουαρίου 2018**

**που θεσπίζει κανόνες για την εφαρμογή της οδηγίας (ΕΕ) 2016/1148 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου, όσον αφορά τον περαιτέρω προσδιορισμό των στοιχείων που πρέπει να λαμβάνονται υπόψη από τους παρόχους ψηφιακών υπηρεσιών για τη διαχείριση κινδύνων που απειλούν την ασφάλεια των συστημάτων δικτύου και πληροφοριών, καθώς και των παραμέτρων βάσει των οποίων καθορίζεται κατά πόσον ο αντίκτυπος συμβάντος είναι σημαντικός**

Η ΕΥΡΩΠΑΪΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ,

Έχοντας υπόψη τη Συνθήκη για τη λειτουργία της Ευρωπαϊκής Ένωσης,

Έχοντας υπόψη την οδηγία (ΕΕ) 2016/1148 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου, της 6ης Ιουλίου 2016, σχετικά με μέτρα για υψηλό κοινό επίπεδο ασφάλειας συστημάτων δικτύου και πληροφοριών σε ολόκληρη την Ένωση <sup>(1)</sup>, και ιδίως το άρθρο 16 παράγραφος 8,

Εκτιμώντας τα ακόλουθα:

- (1) Σύμφωνα με την οδηγία (ΕΕ) 2016/1148, οι πάροχοι ψηφιακών υπηρεσιών έχουν τη δυνατότητα να λαμβάνουν τεχνικά και οργανωτικά μέτρα που θεωρούν κατάλληλα και αναλογικά για τη διαχείριση του κινδύνου που απειλεί την ασφάλεια των συστημάτων δικτύου και πληροφοριών, εφόσον τα μέτρα αυτά διασφαλίζουν κατάλληλο επίπεδο ασφάλειας και λαμβάνουν υπόψη τα στοιχεία που προβλέπει η εν λόγω οδηγία.
- (2) Κατά τον προσδιορισμό των κατάλληλων και αναλογικών τεχνικών και οργανωτικών μέτρων, ο πάροχος ψηφιακών υπηρεσιών θα πρέπει να υιοθετεί συστηματική προσέγγιση της ασφάλειας των πληροφοριών, χρησιμοποιώντας προσέγγιση βάσει κινδύνου.
- (3) Προκειμένου να κατοχυρωθεί η ασφάλεια συστημάτων και εγκαταστάσεων, οι πάροχοι ψηφιακών υπηρεσιών θα πρέπει να εκτελούν διαδικασίες αξιολόγησης και ανάλυσης. Οι δραστηριότητες αυτές θα πρέπει να αφορούν τη συστηματική διαχείριση των συστημάτων δικτύου και πληροφοριών, την υλική και περιβαλλοντική ασφάλεια, την ασφάλεια εφοδιασμού και τους ελέγχους πρόσβασης.
- (4) Κατά την ανάλυση κινδύνου στο πλαίσιο της συστηματικής διαχείρισης των συστημάτων δικτύου και πληροφοριών, οι πάροχοι ψηφιακών υπηρεσιών θα πρέπει να ενθαρρύνονται να προσδιορίζουν ειδικούς κινδύνους και να εκφράζουν ποσοτικά τη σημασία τους, για παράδειγμα εντοπίζοντας απειλές κατά περιουσιακών στοιχείων κρίσιμης σημασίας, καθώς και τον τρόπο με τον οποίο αυτές μπορούν να επηρεάσουν τις λειτουργίες, και προσδιορίζοντας ποιος είναι ο καλύτερος τρόπος αντιμετώπισης αυτών των απειλών με βάση τις υπάρχουσες ικανότητες και τους απαιτούμενους πόρους.
- (5) Οι πολιτικές για τους ανθρώπινους πόρους θα μπορούσαν να αναφέρονται σε διαχείριση δεξιοτήτων, συμπεριλαμβανομένων πτυχών που σχετίζονται με την ανάπτυξη δεξιοτήτων σχετικών με την ασφάλεια και την ευαισθητοποίηση. Κατά τη λήψη απόφασης σχετικά με την ενδεδειγμένη δέσμη πολιτικών για την ασφάλεια λειτουργίας, οι πάροχοι ψηφιακών υπηρεσιών θα πρέπει να ενθαρρύνονται να λαμβάνουν υπόψη πτυχές της διαχείρισης των αλλαγών, διαχείρισης τρωτών σημείων, τυποποίησης των επιχειρησιακών και διοικητικών πρακτικών και χαρτογράφησης του συστήματος.
- (6) Στις πολιτικές για την αρχιτεκτονική ασφάλειας θα μπορούσε να περιλαμβάνεται ιδίως ο διαχωρισμός των δικτύων και των συστημάτων, καθώς και ειδικά μέτρα ασφάλειας για κρίσιμες λειτουργίες όπως οι λειτουργίες διαχείρισης. Ο διαχωρισμός των δικτύων και των συστημάτων θα μπορούσε να επιτρέψει σε πάροχο ψηφιακών υπηρεσιών να διακρίνει ανάμεσα σε στοιχεία, όπως ροές δεδομένων και υπολογιστικούς πόρους, που ανήκουν σε πελάτες, σε ομάδα πελατών, στον πάροχο ψηφιακών υπηρεσιών ή σε τρίτα μέρη.
- (7) Τα μέτρα που έχουν ληφθεί όσον αφορά την υλική και περιβαλλοντική ασφάλεια θα πρέπει να εγγυώνται την ασφάλεια των συστημάτων δικτύου και πληροφοριών του οργανισμού από ζημία η οποία προκαλείται από συμβάντα όπως κλοπή, πυρκαγιά, πλημμύρα ή άλλα καιρικά φαινόμενα, διακοπές τηλεπικοινωνιών ή ηλεκτρικής ενέργειας.
- (8) Στην ασφάλεια του εφοδιασμού με ηλεκτρική ενέργεια, καύσιμα ή ψύξη θα μπορούσε να συγκαταλέγεται η ασφάλεια της αλυσίδας εφοδιασμού, στην οποία περιλαμβάνεται, ειδικότερα, η ασφάλεια τρίτων αντισυμβαλλόμενων και υπεργολάβων και η διαχείρισή τους. Η ιχνηλασιμότητα των κρίσιμων προμηθειών αναφέρεται στην ικανότητα του παρόχου ψηφιακών υπηρεσιών να προσδιορίζει και να καταγράφει τις πηγές αυτών των προμηθειών.
- (9) Στους χρήστες ψηφιακών υπηρεσιών θα πρέπει να συγκαταλέγονται τα φυσικά και νομικά πρόσωπα που είναι πελάτες ή συνδρομητές διαδικτυακής αγοράς ή υπηρεσίας υπολογιστικού νέφους, ή που επισκέπτονται ιστότοπο μηχανής αναζήτησης προκειμένου να πραγματοποιήσουν αναζήτηση με λέξεις-κλειδιά.

<sup>(1)</sup> ΕΕ L 194 της 19.7.2016, σ. 1.

- (10) Όταν προσδιορίζεται η σημασία του αντικτύπου ενός συμβάντος, οι περιπτώσεις που προβλέπονται στον παρόντα κανονισμό θα πρέπει να θεωρείται ότι δεν αποτελούν εξαντλητικό κατάλογο σημαντικών συμβάντων. Διδάγματα μπορούν να αντληθούν από την εφαρμογή του παρόντος κανονισμού και από τις εργασίες της ομάδας συνεργασίας σχετικά με τη συλλογή πληροφοριών για τις βέλτιστες πρακτικές για κινδύνους και συμβάντα, καθώς και από συζητήσεις σχετικά με τις λεπτομέρειες για την υποβολή κοινοποιήσεων συμβάντων που προβλέπονται στο άρθρο 11 παράγραφος 3 σημεία θ) και ιγ) της οδηγίας (ΕΕ) 2016/1148. Ως αποτέλεσμα θα μπορούσαν να προκύψουν ολοκληρωμένες κατευθυντήριες γραμμές σχετικά με ποσοτικά κατώτατα όρια των παραμέτρων κοινοποίησης που ενδέχεται να ενεργοποιούν την υποχρέωση κοινοποίησης για τους παρόχους ψηφιακών υπηρεσιών σύμφωνα με το άρθρο 16 παράγραφος 3 της οδηγίας (ΕΕ) 2016/1148. Όπου ενδείκνυται, η Επιτροπή θα μπορούσε επίσης να εξετάσει το ενδεχόμενο αναθεώρησης των κατώτατων ορίων που προβλέπονται σήμερα στον παρόντα κανονισμό.
- (11) Για να μπορούν οι αρμόδιες αρχές να ενημερώνονται σχετικά με δυνητικούς νέους κινδύνους, οι πάροχοι ψηφιακών υπηρεσιών θα πρέπει να ενθαρρύνονται να αναφέρουν αυτοβούλως κάθε συμβάν τα χαρακτηριστικά του οποίου αγνοούσαν προηγουμένως, όπως νέα προγράμματα εκμετάλλευσης ατελειών, διανύσματα επιθέσεων ή παράγοντες απειλής, τρωτά σημεία και κινδύνους.
- (12) Ο παρών κανονισμός θα πρέπει να αρχίσει να εφαρμόζεται την επόμενη ημέρα από τη λήξη της προθεσμίας μεταφοράς της οδηγίας (ΕΕ) 2016/1148 στο εθνικό δίκαιο.
- (13) Τα μέτρα που προβλέπει ο παρών κανονισμός είναι σύμφωνα με τη γνώμη της επιτροπής για την ασφάλεια συστημάτων δικτύου και πληροφοριών, που αναφέρεται στο άρθρο 22 της οδηγίας (ΕΕ) 2016/1148,

ΕΞΕΔΩΣΕ ΤΟΝ ΠΑΡΟΝΤΑ ΚΑΝΟΝΙΣΜΟ:

#### Άρθρο 1

##### Αντικείμενο

Με τον παρόντα κανονισμό προσδιορίζονται περαιτέρω τα στοιχεία τα οποία πρέπει να λαμβάνονται υπόψη από τους παρόχους ψηφιακών υπηρεσιών κατά τον προσδιορισμό και τη λήψη μέτρων για την εξασφάλιση υψηλού επιπέδου ασφάλειας των συστημάτων δικτύου και πληροφοριών τα οποία χρησιμοποιούν στο πλαίσιο της παροχής υπηρεσιών που αναφέρονται στο παράρτημα ΙΙΙ της οδηγίας (ΕΕ) 2016/1148 και προσδιορίζονται περαιτέρω οι παράμετροι που πρέπει να λαμβάνονται υπόψη για να κρίνεται κατά πόσον συμβάν έχει σημαντικό αντίκτυπο στην παροχή των εν λόγω υπηρεσιών.

#### Άρθρο 2

##### Στοιχεία ασφάλειας

1. Ως ασφάλεια των συστημάτων και των εγκαταστάσεων που αναφέρεται στο άρθρο 16 παράγραφος 1 στοιχείο α) της οδηγίας (ΕΕ) 2016/1148 νοείται η ασφάλεια των συστημάτων δικτύου και πληροφοριών και του φυσικού τους περιβάλλοντος· περιλαμβάνει τα ακόλουθα στοιχεία:

- α) συστηματική διαχείριση των συστημάτων δικτύου και πληροφοριών: χαρτογράφηση των συστημάτων πληροφοριών και θέσπιση δέσμης κατάλληλων πολιτικών για τη διαχείριση της ασφάλειας των πληροφοριών, στην οποία συμπεριλαμβάνεται η ανάλυση των κινδύνων, οι ανθρώπινοι πόροι, η ασφάλεια των λειτουργιών, η αρχιτεκτονική ασφάλειας, η ασφάλεια της διαχείρισης του κύκλου ζωής των δεδομένων και του συστήματος και, κατά περίπτωση, η κρυπτογράφηση και η διαχείρισή της.
- β) υλική και περιβαλλοντική ασφάλεια: η ύπαρξη δέσμης μέτρων για την προστασία της ασφάλειας των συστημάτων δικτύου και πληροφοριών των παρόχων ψηφιακών υπηρεσιών από ζημία με χρήση προσέγγισης βασισμένης στην επικινδυνότητα όλων των πιθανών κινδύνων, η οποία καλύπτει, για παράδειγμα, βλάβες του συστήματος, ανθρώπινα σφάλματα, κακόβουλες ενέργειες ή φυσικά φαινόμενα·
- γ) ασφάλεια προμηθειών: η δημιουργία και συντήρηση των κατάλληλων πολιτικών που διασφαλίζουν την προσβασιμότητα και, κατά περίπτωση, την ιχνηλασιμότητα των κρίσιμων προμηθειών που χρησιμοποιούνται για την παροχή των υπηρεσιών·
- δ) ελέγχους πρόσβασης στα συστήματα δικτύου και πληροφοριών: η ύπαρξη δέσμης μέτρων με τα οποία εξασφαλίζεται η φυσική και λογική πρόσβαση σε συστήματα δικτύων και πληροφοριών, συμπεριλαμβανομένης της ασφάλειας διαχείρισης των συστημάτων δικτύου και πληροφοριών, παρέχεται με εξουσιοδοτήσεις και περιορισμούς βάσει απαιτήσεων εμπορικής λειτουργίας και ασφάλειας.

2. Σε ό, τι αφορά τη διαχείριση συμβάντων που αναφέρεται στο άρθρο 16 παράγραφος 1 στοιχείο β) της οδηγίας (ΕΕ) 2016/1148, τα μέτρα που λαμβάνονται από τον πάροχο ψηφιακών υπηρεσιών περιλαμβάνουν:

- α) διεργασίες και διαδικασίες ανίχνευσης που συντηρούνται και ελέγχονται προκειμένου να εξασφαλιστεί έγκαιρη και κατάλληλη ενημέρωση για μη φυσιολογικά συμβάντα·
- β) διαδικασίες και πολιτικές για την υποβολή εκθέσεων σχετικά με συμβάντα και τον εντοπισμό αδυναμιών και τρωτών σημείων των οικείων συστημάτων πληροφοριών·

- γ) αντίδραση σύμφωνα με καθιερωμένες διαδικασίες και υποβολή εκθέσεων σχετικά με τα αποτελέσματα του ληφθέντος μέτρου·
- δ) αξιολόγηση της σοβαρότητας του συμβάντος, τεκμηρίωση των γνώσεων που αποκομίστηκαν από την ανάλυση των συμβάντων και συλλογή των σχετικών πληροφοριών που μπορούν να χρησιμεύσουν ως αποδεικτικά στοιχεία και να στηρίξουν μια διαδικασία συνεχούς βελτίωσης.
3. Ως διαχείριση της επιχειρησιακής συνέχειας που αναφέρεται στο άρθρο 16 παράγραφος 1 στοιχείο γ) της οδηγίας (ΕΕ) 2016/1148 νοείται η ικανότητα ενός οργανισμού να διατηρεί ή, κατά περίπτωση, να αποκαθιστά την παροχή των υπηρεσιών σε αποδεκτά προκαθορισμένα επίπεδα μετά από συμβάν που διαταράσσει την παροχή των υπηρεσιών, και περιλαμβάνει:
- α) την εγκατάσταση και τη χρήση σχεδίων έκτακτης ανάγκης βασισμένων σε ανάλυση του επιχειρηματικού αντίκτυπου για τη διασφάλιση της συνέχειας των υπηρεσιών που παρέχουν οι πάροχοι ψηφιακών υπηρεσιών που αξιολογούνται και ελέγχονται σε τακτική βάση, για παράδειγμα, μέσω ασκήσεων·
- β) ικανότητες ανάκαμψης μετά από καταστροφές που αξιολογούνται και ελέγχονται σε τακτική βάση, για παράδειγμα, μέσω ασκήσεων.
4. Η παρακολούθηση, οι επιθεωρήσεις και οι δοκιμές που αναφέρονται στο άρθρο 16 παράγραφος 1 στοιχείο δ) της οδηγίας (ΕΕ) 2016/1148 περιλαμβάνουν τη δημιουργία και συντήρηση των πολιτικών για:
- α) την εκτέλεση σχεδιασμένης αλληλουχίας παρατηρήσεων ή μετρήσεων με τις οποίες αξιολογείται κατά πόσον τα συστήματα δικτύου και πληροφοριών λειτουργούν όπως προβλέπεται·
- β) την επιθεώρηση και την επαλήθευση ότι πρότυπο ή σειρά κατευθυντήριων γραμμών τηρείται, ότι τα πρακτικά είναι ακριβή και ότι επιτυγχάνονται οι στόχοι σχετικά με την αποδοτικότητα και την αποτελεσματικότητα·
- γ) τη διαδικασία που προορίζεται να αποκαλύψει ελλείψεις στο πλαίσιο των μηχανισμών ασφάλειας των συστημάτων δικτύου και πληροφοριών που προστατεύουν τα δεδομένα και διατηρούν τις λειτουργικές δυνατότητες όπως προβλέπεται. Η διαδικασία αυτή περιλαμβάνει τεχνικές διαδικασίες και το προσωπικό που απασχολείται στη ροή λειτουργίας.
5. Ως διεθνή πρότυπα που αναφέρονται στο άρθρο 16 παράγραφος 1 στοιχείο ε) της οδηγίας (ΕΕ) 2016/1148 νοούνται τα πρότυπα που έχουν εκδοθεί από διεθνή φορέα τυποποίησης, όπως αναφέρεται στο άρθρο 2 παράγραφος 1 στοιχείο α) του κανονισμού (ΕΕ) αριθ. 1025/2012 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου<sup>(1)</sup>. Σύμφωνα με το άρθρο 19 της οδηγίας (ΕΕ) 2016/1148, μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν ευρωπαϊκά ή διεθνή αποδεκτά πρότυπα και προδιαγραφές για την ασφάλεια των συστημάτων δικτύου και πληροφοριών, συμπεριλαμβανομένων υφιστάμενων εθνικών προτύπων.
6. Οι πάροχοι ψηφιακών υπηρεσιών διασφαλίζουν ότι διαθέτουν κατάλληλη τεκμηρίωση ώστε να παρέχεται στην αρμόδια αρχή η δυνατότητα να επαληθεύει τη συμμόρφωση με τα στοιχεία ασφάλειας που ορίζονται στις παραγράφους 1, 2, 3, 4 και 5.

### Άρθρο 3

#### **Παράμετροι που πρέπει να λαμβάνονται υπόψη για να προσδιορίζεται κατά πόσον ο αντίκτυπος ενός συμβάντος είναι σημαντικός**

1. Όσον αφορά τον αριθμό των χρηστών που επηρεάζονται από συμβάν, ιδίως των χρηστών που εξαρτώνται από την υπηρεσία για την παροχή δικών τους υπηρεσιών, που αναφέρεται στο άρθρο 16 παράγραφος 4 στοιχείο α) της οδηγίας (ΕΕ) 2016/1148, ο πάροχος ψηφιακών υπηρεσιών είναι σε θέση να εκτιμήσει ένα από τα εξής:
- α) τον αριθμό των πληγέντων φυσικών και νομικών προσώπων με τα οποία έχει συναφθεί σύμβαση για την παροχή της υπηρεσίας· ή
- β) τον αριθμό των διγόμενων χρηστών που έχουν χρησιμοποιήσει την υπηρεσία ιδίως με βάση προηγούμενα δεδομένα κίνησης.
2. Ως διάρκεια του συμβάντος που αναφέρεται στο άρθρο 16 παράγραφος 4 στοιχείο β) νοείται η χρονική περίοδος από τη διατάραξη της κατάλληλης παροχής της υπηρεσίας, όσον αφορά τη διαθεσιμότητα, την αυθεντικότητα, την ακεραιότητα ή την εμπιστευτικότητα, μέχρι τον χρόνο της αποκατάστασης.
3. Όσον αφορά το γεωγραφικό εύρος της περιοχής που επηρεάζεται από το συμβάν που αναφέρεται στο άρθρο 16 παράγραφος 4 στοιχείο γ) της οδηγίας (ΕΕ) 2016/1148, ο πάροχος ψηφιακών υπηρεσιών είναι σε θέση να προσδιορίσει κατά πόσον το συμβάν επηρεάζει την παροχή των υπηρεσιών του σε συγκεκριμένα κράτη μέλη.
4. Η έκταση της διατάραξης της λειτουργίας της υπηρεσίας που αναφέρεται στο άρθρο 16 παράγραφος 4 στοιχείο δ) της οδηγίας (ΕΕ) 2016/1148 μετράται με βάση ένα ή περισσότερα από τα ακόλουθα χαρακτηριστικά που επηρεάζονται δυσμενώς από συμβάν: τη διαθεσιμότητα, την αυθεντικότητα, την ακεραιότητα ή την εμπιστευτικότητα των δεδομένων ή των συναφών υπηρεσιών.

<sup>(1)</sup> Κανονισμός (ΕΕ) αριθ. 1025/2012 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου, της 25ης Οκτωβρίου 2012, σχετικά με την ευρωπαϊκή τυποποίηση, την τροποποίηση των οδηγιών του Συμβουλίου 89/686/ΕΟΚ και 93/15/ΕΟΚ και των οδηγιών του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου 94/9/ΕΚ, 94/25/ΕΚ, 95/16/ΕΚ, 97/23/ΕΚ, 98/34/ΕΚ, 2004/22/ΕΚ, 2007/23/ΕΚ, 2009/23/ΕΚ και 2009/105/ΕΚ και την κατάργηση της απόφασης 87/95/ΕΟΚ του Συμβουλίου και της απόφασης αριθ. 1673/2006/ΕΚ του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου (ΕΕ L 316 της 14.11.2012, σ. 12).

5. Όσον αφορά την έκταση του αντίκτυπου στις οικονομικές και κοινωνικές δραστηριότητες που αναφέρεται στο άρθρο 16 παράγραφος 4 στοιχείο ε) της οδηγίας (ΕΕ) 2016/1148, ο πάροχος ψηφιακών υπηρεσιών είναι σε θέση να συμπεράνει, βάσει ενδείξεων όπως η φύση των συμβατικών του σχέσεων με τον πελάτη ή, κατά περίπτωση, ο δυνητικός αριθμός των επηρεαζόμενων χρηστών, κατά πόσον το συμβάν έχει προκαλέσει σημαντικές υλικές ή μη υλικές ζημιές για τους χρήστες, όπως σε σχέση με την υγεία, την ασφάλεια ή την περιουσιακή ζημία.

6. Για τους σκοπούς των παραγράφων 1, 2, 3, 4 και 5, οι πάροχοι ψηφιακών υπηρεσιών δεν απαιτείται να συλλέγουν πρόσθετες πληροφορίες στις οποίες δεν έχουν πρόσβαση.

#### Άρθρο 4

##### Σημαντικός αντίκτυπος συμβάντος

1. Συμβάν θεωρείται ότι έχει σημαντικό αντίκτυπο όταν έχει συμβεί τουλάχιστον μία από τις ακόλουθες καταστάσεις:
  - α) η υπηρεσία που παρέχεται από πάροχο ψηφιακών υπηρεσιών δεν ήταν διαθέσιμη για περισσότερες από 5 000 000 χρηστούρες· ο όρος χρηστούρα αναφέρεται στο πλήθος των θυγόμενων χρηστών στην Ένωση επί χρονικό διάστημα εξήντα λεπτών·
  - β) το συμβάν είχε ως αποτέλεσμα την απώλεια της ακεραιότητας, της αυθεντικότητας, ή της εμπιστευτικότητας των αποθηκευμένων ή μεταδοθέντων ή των επεξεργασμένων δεδομένων ή τις συναφείς υπηρεσίες που προσφέρονται ή είναι προσβάσιμες μέσω συστήματος δικτύου και πληροφοριών του παρόχου ψηφιακών υπηρεσιών, επηρεάζοντας περισσότερους από 100 000 χρήστες εντός της Ένωσης·
  - γ) το συμβάν προκάλεσε κίνδυνο για τη δημόσια ασφάλεια, τη δημόσια προστασία ή κίνδυνο απώλειας ανθρώπινων ζωών·
  - δ) το συμβάν έχει προκαλέσει υλικές ζημιές σε τουλάχιστον έναν χρήστη στην Ένωση, εφόσον η ζημία που προκλήθηκε στον εν λόγω χρήστη υπερβαίνει το 1 000 000 EUR.
2. Στηριζόμενη στις βέλτιστες πρακτικές που συγκεντρώθηκαν από την ομάδα συνεργασίας κατά την εκτέλεση των καθηκόντων της δυνάμει του άρθρου 11 παράγραφος 3 της οδηγίας (ΕΕ) 2016/1148 και από τις συζητήσεις δυνάμει του άρθρου 11 παράγραφος 3 στοιχείο ιγ) του εν λόγω κανονισμού, η Επιτροπή δύναται να αναθεωρήσει τα κατώτατα όρια που καθορίζονται στην παράγραφο 1.

#### Άρθρο 5

##### Έναρξη ισχύος

1. Ο παρών κανονισμός αρχίζει να ισχύει την εικοστή ημέρα από τη δημοσίευσή του στην *Επίσημη Εφημερίδα της Ευρωπαϊκής Ένωσης*.
2. Εφαρμόζεται από την 10η Μαΐου 2018.

Ο παρών κανονισμός είναι δεσμευτικός ως προς όλα τα μέρη του και ισχύει άμεσα σε κάθε κράτος μέλος.

Βρυξέλλες, 30 Ιανουαρίου 2018.

Για την Επιτροπή  
Ο Πρόεδρος  
Jean-Claude JUNCKER

# ΑΠΟΦΑΣΕΙΣ

## ΑΠΟΦΑΣΗ (ΕΕ) 2018/152 ΤΟΥ ΣΥΜΒΟΥΛΙΟΥ

της 29ης Ιανουαρίου 2018

για τον διορισμό ενός αναπληρωματικού μέλους, έπειτα από πρόταση της Ομοσπονδιακής Δημοκρατίας της Γερμανίας, στην Επιτροπή των Περιφερειών

ΤΟ ΣΥΜΒΟΥΛΙΟ ΤΗΣ ΕΥΡΩΠΑΪΚΗΣ ΕΝΩΣΗΣ,

Έχοντας υπόψη τη Συνθήκη για τη λειτουργία της Ευρωπαϊκής Ένωσης, και ιδίως το άρθρο 305,

Έχοντας υπόψη την πρόταση της γερμανικής κυβέρνησης,

Εκτιμώντας τα ακόλουθα:

- (1) Στις 26 Ιανουαρίου 2015, στις 5 Φεβρουαρίου 2015 και στις 23 Ιουνίου 2015 το Συμβούλιο εξέδωσε τις αποφάσεις (ΕΕ) 2015/116 <sup>(1)</sup>, (ΕΕ) 2015/190 <sup>(2)</sup> και (ΕΕ) 2015/994 <sup>(3)</sup> για τον διορισμό των τακτικών και αναπληρωματικών μελών της Επιτροπής των Περιφερειών για την περίοδο από τις 26 Ιανουαρίου 2015 έως τις 25 Ιανουαρίου 2020.
- (2) Μία θέση αναπληρωματικού μέλους της Επιτροπής των Περιφερειών έμεινε κενή λόγω της λήξης της θητείας της κ. Anke SPOORENDONK,

ΕΞΕΔΩΣΕ ΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΑ ΑΠΟΦΑΣΗ:

### Άρθρο 1

Διορίζεται αναπληρωματικό μέλος στην Επιτροπή των Περιφερειών για το εναπομένον διάστημα της τρέχουσας θητείας, ήτοι έως τις 25 Ιανουαρίου 2020:

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

### Άρθρο 2

Η παρούσα απόφαση αρχίζει να ισχύει την ημερομηνία της έκδοσής της.

Βρυξέλλες, 29 Ιανουαρίου 2018.

Για το Συμβούλιο

Ο Πρόεδρος

R. PORODZANOV

<sup>(1)</sup> Απόφαση (ΕΕ) 2015/116 του Συμβουλίου, της 26ης Ιανουαρίου 2015, για τον διορισμό των τακτικών και αναπληρωματικών μελών της Επιτροπής των Περιφερειών για την περίοδο από 26 Ιανουαρίου 2015 έως 25 Ιανουαρίου 2020 (ΕΕ L 20, της 27.1.2015, σ. 42).

<sup>(2)</sup> Απόφαση (ΕΕ) 2015/190 του Συμβουλίου, της 5ης Φεβρουαρίου 2015, για τον διορισμό τακτικών και αναπληρωματικών μελών της Επιτροπής των Περιφερειών για την περίοδο από την 26η Ιανουαρίου 2015 έως την 25η Ιανουαρίου 2020 (ΕΕ L 31, της 7.2.2015, σ. 25).

<sup>(3)</sup> Απόφαση (ΕΕ) 2015/994 του Συμβουλίου, της 23ης Ιουνίου 2015, για τον διορισμό μελών και αναπληρωτών της Επιτροπής των Περιφερειών για την περίοδο από τις 26 Ιανουαρίου 2015 έως τις 25 Ιανουαρίου 2020 (ΕΕ L 159, της 25.6.2015, σ. 70).

**ΔΙΟΡΘΩΤΙΚΑ**

**Διορθωτικό στον κανονισμό (ΕΕ) 2017/1084 της Επιτροπής, της 14ης Ιουνίου 2017, για την τροποποίηση του κανονισμού (ΕΕ) αριθ. 651/2014 όσον αφορά τις ενισχύσεις για τις λιμενικές και αερολιμενικές υποδομές, τα όρια κοινοποίησης για τις ενισχύσεις για τον πολιτισμό και τη διατήρηση της κληρονομιάς και για τις ενισχύσεις για αθλητικές υποδομές και πολυλειτουργικές ψυχαγωγικές υποδομές, καθώς και τα καθεστώτα περιφερειακών ενισχύσεων λειτουργίας για τις εξόχως απόκεντρες περιοχές, και για την τροποποίηση του κανονισμού (ΕΕ) αριθ. 702/2014 όσον αφορά τον υπολογισμό των επιλέξιμων δαπανών**

(Επίσημη Εφημερίδα της Ευρωπαϊκής Ένωσης L 156 της 20ής Ιουνίου 2017)

Στη σελίδα 3, στο άρθρο 1 σημείο 11, στην εισαγωγική φράση της παραγράφου 4 του αντικατασταθέντος άρθρου 15:

**αντί:** «Στις εξόχως απόκεντρες περιοχές, τα καθεστώτα ενισχύσεων λειτουργίας αντισταθμίζουν το πρόσθετο κόστος λειτουργίας που προκύπτει σε αυτές τις περιοχές ως άμεσο αποτέλεσμα ενός ή περισσότερων από τα μόνιμα μειονεκτήματα που αναφέρονται στο άρθρο 349 της Συνθήκης, όταν οι δικαιούχοι ασκούν την οικονομική δραστηριότητά τους σε εξόχως απόκεντρη περιοχή, υπό την προϋπόθεση ότι το ετήσιο ποσό ενίσχυσης ανά δικαιούχο δυνάμει όλων των καθεστώτων ενισχύσεων λειτουργίας που εφαρμόζονται βάσει του παρόντος κανονισμού δεν υπερβαίνει κανένα από τα ακόλουθα ποσοστά:».

**διάβαζε:** «Στις εξόχως απόκεντρες περιοχές, τα καθεστώτα ενισχύσεων λειτουργίας αντισταθμίζουν το πρόσθετο κόστος λειτουργίας που προκύπτει σε αυτές τις περιοχές ως άμεσο αποτέλεσμα ενός ή περισσότερων από τα μόνιμα μειονεκτήματα που αναφέρονται στο άρθρο 349 της Συνθήκης, όταν οι δικαιούχοι ασκούν την οικονομική δραστηριότητά τους σε εξόχως απόκεντρη περιοχή, υπό την προϋπόθεση ότι το ετήσιο ποσό ενίσχυσης ανά δικαιούχο δυνάμει όλων των καθεστώτων ενισχύσεων λειτουργίας που εφαρμόζονται βάσει του παρόντος κανονισμού δεν υπερβαίνει ένα από τα ακόλουθα ποσοστά:».

---











ISSN 1977-0669 (ηλεκτρονική έκδοση)  
ISSN 1725-2547 (έντυπη έκδοση)



**Υπηρεσία Εκδόσεων της Ευρωπαϊκής Ένωσης**  
2985 Λουξεμβούργο  
ΛΟΥΞΕΜΒΟΥΡΓΟ

**EL**