



Izdevums
latviešu valodā

Tiesību akti

61. gadagājums

2018. gada 31. janvāris

Saturs

II Nelegislatīvi akti

STARPTAUTISKI NOLĪGUMI

- ★ Padomes Lēmums (ES) 2018/145 (2017. gada 9. oktobris) par to, lai Savienības vārdā noslēgtu Daudzpusējo nolīgumu starp Eiropas Kopienu un tās dalībvalstīm, Albānijas Republiku, bijušo Dienvidslāvijas Maķedonijas Republiku, Bosniju un Hercegovinu, Bulgārijas Republiku, Horvātijas Republiku, Islandes Republiku, Melnkalnes Republiku, Norvēģijas Karalisti, Rumāniju, Serbijas Republiku un Apvienoto Nāciju Organizācijas Pagaidu pārvaldes misiju Kosovā* par Eiropas Kopējās aviācijas telpas (ECAA) izveidi 1
- ★ Padomes Lēmums (ES) 2018/146 (2018. gada 22. janvāris) par to, lai Savienības vārdā noslēgtu Eiropas un Vidusjūras reģiona valstu aviācijas nolīgumu starp Eiropas Kopienu un tās dalībvalstīm, no vienas puses, un Marokas Karalisti, no otras puses 4

REGULAS

- ★ Padomes Regula (ES) 2018/147 (2018. gada 29. janvāris), ar ko Padomes Regulu (ES) Nr. 1370/2013 groza attiecībā uz kvantitatīvo ierobežojumu vājpiena pulvera iepirkšanai 6
- ★ Komisijas Deleģētā regula (ES) 2018/148 (2017. gada 27. septembris), ar ko groza II, III un IV pielikumu Eiropas Parlamenta un Padomes Regulai (ES) Nr. 978/2012 par vispārējo tarifa preferenču sistēmas piemērošanu 8
- ★ Komisijas Deleģētā regula (ES) 2018/149 (2017. gada 15. novembris), ar kuru Deleģēto regulu (ES) 2016/1238 groza attiecībā uz valsts intervencei un privātās uzglabāšanas atbalsta saņemšanai atbilstīga piena un piena produktu sastāva prasībām un kvalitātes rādītājiem 11

* Šis nosaukums neskar nostājas par statusu un atbilst ANO DP Rezolūcijai 1244 (1999) un Starptautiskās Tiesas atzinumam par Kosovas neatkarības deklarāciju.

- ★ Komisijas Īstenošanas regula (ES) 2018/150 (2018. gada 30. janvāris), ar kuru Īstenošanas regulu (ES) 2016/1240 groza attiecībā uz valsts intervencei un privātās uzglabāšanas atbalsta saņemšanai atbilstīga piena un piena produktu analīzes metodēm un kvalitātes novērtēšanu 14
- ★ Komisijas Īstenošanas regula (ES) 2018/151 (2018. gada 30. janvāris), ar ko paredz noteikumus Eiropas Parlamenta un Padomes Direktīvas (ES) 2016/1148 piemērošanai attiecībā uz tādu elementu precizēšanu, kuri jāņem vērā digitālo pakalpojumu sniedzējiem, lai pārvaldītu riskus, kas tiek radīti tīklu un informācijas sistēmu drošībai, un tādu rādītāju precizēšanu, kuri jāņem vērā, lai noteiktu, vai incidentam ir būtiska ietekme 48

LĒMUMI

- ★ Padomes Lēmums (ES) 2018/152 (2018. gada 29. janvāris), ar ko ieceļ amatā Reģionu komitejas locekļa aizstājēju, ko izvirzījusi Vācijas Federatīvā Republika 52

Labojumi

- ★ Labojums Komisijas Regulā (ES) 2017/1084 (2017. gada 14. jūnijs), ar ko Regulu (ES) Nr. 651/2014 groza attiecībā uz atbalstu ostu un lidostu infrastruktūrai, paziņošanas robežvērtībām atbalstam kultūrai un kultūrvēsturiskā mantojuma saglabāšanai un atbalstam sporta un multifunkcionālai atpūtas infrastruktūrai un reģionālā darbības atbalsta shēmām tālākajos reģionos un ar ko Regulu (ES) Nr. 702/2014 groza attiecībā uz attiecināmo izmaksu aprēķinu (OV L 156, 20.6.2017.) 53

II

(Nelegislatīvi akti)

STARPTAUTISKI NOLĪGUMI

PADOMES LĒMUMS (ES) 2018/145

(2017. gada 9. oktobris)

par to, lai Savienības vārdā noslēgtu Daudzpusējo nolīgumu starp Eiropas Kopienu un tās dalībvalstīm, Albānijas Republiku, bijušo Dienvidslāvijas Maķedonijas Republiku, Bosniju un Hercegovinu, Bulgārijas Republiku, Horvātijas Republiku, Islandes Republiku, Melnkalnes Republiku, Norvēģijas Karalisti, Rumāniju, Serbijas Republiku un Apvienoto Nāciju Organizācijas Pagaidu pārvaldes misiju Kosovā * par Eiropas Kopējās aviācijas telpas (ECAA) izveidi

EIROPAS SAVIENĪBAS PADOME,

ņemot vērā Līgumu par Eiropas Savienības darbību un jo īpaši tā 100. panta 2. punktu saistībā ar 218. panta 6. punkta a) apakšpunktu,

ņemot vērā Eiropas Komisijas priekšlikumu,

ņemot vērā Eiropas Parlamenta piekrišanu ⁽¹⁾,

tā kā:

- (1) Komisija Eiropas Kopienas un dalībvalstu vārdā risināja sarunas par daudzpusēju nolīgumu starp Eiropas Kopienu un tās dalībvalstīm un Albānijas Republiku, bijušo Dienvidslāvijas Maķedonijas Republiku, Bosniju un Hercegovinu, Bulgārijas Republiku, Horvātijas Republiku, Islandes Republiku, Melnkalnes Republiku, Norvēģijas Karalisti, Rumāniju, Serbijas Republiku un Apvienoto Nāciju Organizācijas Pagaidu pārvaldes misiju Kosovā par Eiropas Kopējās aviācijas telpas (ECAA) izveidi ("nolīgums").
- (2) Nolīgums Kopienas vārdā tika parakstīts 2006. gada 9. jūnijā, ņemot vērā tā noslēgšanu vēlāk, ievērojot Padomes un Padomē sanākušo Eiropas Savienības dalībvalstu pārstāvju Lēmumu 2006/682/EK ⁽²⁾.
- (3) Nolīgumu ir ratificējušas visas dalībvalstis.
- (4) Līdz ar to pievienošanas Savienībai Bulgārijas Republika, Rumānija un Horvātijas Republika ir kļuvušas par ES dalībvalstīm, un tādēļ tās automātiski vairs nav Asociētās puses saskaņā ar nolīgumu, ievērojot tā 31. panta 2. punktu. To būtu jāatgādina paziņojumā, kas ir iesniedzams tad, kad tiek deponēts nolīguma apstiprināšanas instruments.

* Šis nosaukums neskar nostājas par statusu un atbilst ANO DP Rezolūcijai 1244 (1999) un Starptautiskās Tiesas atzinumam par Kosovas neatkarības deklarāciju.

⁽¹⁾ OV C 81E, 15.3.2011., 5. lpp.

⁽²⁾ Padomes un Padomē sanākušo Eiropas Savienības dalībvalstu pārstāvju lēmums 2006/682/EK (2006. gada 9. jūnijs), lai parakstītu un provizoriski piemērotu Daudzpusējo nolīgumu starp Eiropas Kopienu un tās dalībvalstīm, Albānijas Republiku, Bijušo Dienvidslāvijas Maķedonijas Republiku, Bosniju un Hercegovinu, Bulgārijas Republiku, Horvātijas Republiku, Islandes Republiku, Melnkalnes Republiku, Norvēģijas Karalisti, Rumāniju, Serbijas Republiku un Apvienoto Nāciju Organizācijas Pagaidu pārvaldes misiju Kosovā par Eiropas Kopējās aviācijas telpas (EKAT) izveidi (OV L 285, 16.10.2006., 1. lpp.).

- (5) Attiecībā uz nolīguma I pielikuma grozījumiem, kas attiecas tikai uz Savienības tiesību aktu iekļaušanu minētajā pielikumā un kas ir jāpieņem Apvienotajai komitejai, kura ir izveidota saskaņā ar nolīguma 18. pantu, pilnvaras apstiprināt šādus grozījumus Savienības vārdā pēc apspriešanās ar Padomes iecelto īpašo komiteju būtu jāpiešķir Komisijai.
- (6) Visos citos gadījumos nostāja, kas jāņem Apvienotajā komitejā Savienības vārdā attiecībā uz jautājumiem, kas ietilpst Savienības kompetencē, būtu jānosaka katrā gadījumā atsevišķi saskaņā ar atbilstīgiem Līguma par Eiropas Savienības darbību (LESD) noteikumiem.
- (7) Tā kā Savienība un tās dalībvalstis ir nolīguma Puses, ir būtiski, lai starp tām būtu cieša sadarbība. Lai Apvienotajā komitejā nodrošinātu šādu ciešu sadarbību un vienotību ārējā pārstāvībā un neskarot Līgumus – jo īpaši Līguma par Eiropas Savienību 16. panta 1. punktu un LESD 218. panta 9. punktu –, nostājas, kas Savienības un dalībvalstu vārdā jāņem Apvienotajā komitejā attiecībā uz jautājumiem, kas ir gan Savienības, gan dalībvalstu kompetencē, būtu jānosaka pirms Apvienotās komitejas sanāksmes, kurā šāds jautājums tiek izskatīts.
- (8) Lēmuma 2006/682/EK 2. pantā ir iekļauti noteikumi par Apvienotajā komitejā ieņemamo nostāju noteikšanu provizoriskās nolīguma piemērošanas laikā. Ņemot vērā Tiesas 2015. gada 28. aprīļa spriedumu lietā C-28/12, Komisija pret Padomi ⁽¹⁾, šie noteikumi vairs nebūtu jāpiemēro no dienas, kad stājas spēkā šis lēmums.
- (9) Nolīgums būtu jāapstiprina Savienības vārdā,

IR PIENĒMUSI ŠO LĒMUMU.

1. pants

1. Ar šo Savienības vārdā tiek apstiprināts Daudzpusējais nolīgums starp Eiropas Kopienu un tās dalībvalstīm, Albānijas Republiku, bijušo Dienvidslāvijas Maķedonijas Republiku, Bosniju un Hercegovinu, Bulgārijas Republiku, Horvātijas Republiku, Islandes Republiku, Melnkalnes Republiku, Norvēģijas Karalisti, Rumāniju, Serbijas Republiku un Apvienoto Nāciju Organizācijas Pagaidu pārvaldes misiju Kosovā par Eiropas Kopējās aviācijas telpas (ECAA) izveidi ⁽²⁾.

2. Padomes priekšsēdētājs norīko personu vai personas, kas ir tiesīgas Savienības vārdā deponēt nolīguma ⁽³⁾ 29. panta 2. punktā minēto apstiprināšanas instrumentu un sniegt šādu paziņojumu:

“1. Tā kā 2009. gada 1. decembrī stājās spēkā Lisabonas līgums, Eiropas Savienība ir aizstājusi Eiropas Kopienu un ir tās pēctece, un no minētās dienas īsteno visas Eiropas Kopienas tiesības un uzņemas visus tās pienākumus. Tādēļ nolīguma tekstā esošās atsauces uz “Eiropas Kopienu” attiecīgos gadījumos ir lasāmas kā atsauces uz “Eiropas Savienību”.

2. Līdz ar to attiecīgo pievienošanas Eiropas Savienībai Bulgārijas Republika, Rumānija, kā arī Horvātijas Republika ir kļuvušas par Eiropas Savienības dalībvalstīm, un tādēļ vairs nav nolīguma Asociētās puses saskaņā ar tā 31. panta 2. punktu.”

2. pants

Nostāju, kas Savienībai jāņem attiecībā uz Apvienotās komitejas lēmumiem saskaņā ar nolīguma 17. pantu, kuri attiecas vienīgi uz Savienības tiesību aktu iekļaušanu nolīguma I pielikumā, ņemot vērā visas nepieciešamās tehniskās korekcijas, pieņem Komisija pēc apspriešanās ar Padomes izraudzīto īpašo komiteju.

3. pants

Lēmuma 2006/682/EK 2. pantu vairs nepiemēro no dienas, kad stājas spēkā šis lēmums.

⁽¹⁾ ECLI:EU:C:2015:282.

⁽²⁾ Nolīguma teksts ir publicēts *Eiropas Savienības Oficiālajā Vēstnesī* (OV L 285, 16.10.2006., 3. lpp.), kopā ar lēmumu par tā parakstīšanu un provizorisku piemērošanu.

⁽³⁾ Nolīguma spēkā stāšanās dienu Padomes Ģenerālsēkretariāts publicēs *Eiropas Savienības Oficiālajā Vēstnesī*.

4. pants

Šis lēmums stājas spēkā tā pieņemšanas dienā.

Luksemburgā, 2017. gada 9. oktobrī

*Padomes vārdā –
priekšsēdētājs
S. KIISLER*

PADOMES LĒMUMS (ES) 2018/146**(2018. gada 22. janvāris)****par to, lai Savienības vārdā noslēgtu Eiropas un Vidusjūras reģiona valstu aviācijas nolīgumu starp Eiropas Kopienu un tās dalībvalstīm, no vienas puses, un Marokas Karalisti, no otras puses**

EIROPAS SAVIENĪBAS PADOME,

ņemot vērā Līgumu par Eiropas Savienības darbību un jo īpaši tā 100. panta 2. punktu saistībā ar 218. panta 6. punkta a) apakšpunktu,

ņemot vērā Eiropas Komisijas priekšlikumu,

ņemot vērā Eiropas Parlamenta piekrišanu ⁽¹⁾,

tā kā:

- (1) Komisija Savienības un dalībvalstu vārdā ir risinājusi sarunas par Eiropas un Vidusjūras reģiona valstu aviācijas nolīgumu ar Marokas Karalisti ("nolīgums") saskaņā ar Padomes lēmumu, ar ko Komisiju pilnvaro sākt sarunas.
- (2) Nolīgums tika parakstīts 2006. gada 12. decembrī, ievērojot Padomes un Padomē sanākušo dalībvalstu valdību pārstāvju Lēmumu 2006/959/EK ⁽²⁾. Nolīgumu ir ratificējušas visas dalībvalstis, izņemot Bulgāriju, Rumāniju un Horvātiju. Paredzēts, ka šīs dalībvalstis pievienosies nolīgumam saskaņā ar 6. panta 2. punktu to attiecīgajos pievienošanās aktos.
- (3) Attiecībā uz nolīguma konkrētu pielikumu grozījumiem, kas jāpieņem Apvienotajai komitejai, kura izveidota saskaņā ar nolīguma 22. pantu, pilnvaras apstiprināt šādus grozījumus Savienības vārdā pēc apspriešanās ar Padomes iecelto īpašo komiteju būtu jāpiesūta Komisijai.
- (4) Visos citos gadījumos nostāja, kas jāpieņem Apvienotajā komitejā Savienības vārdā attiecībā uz jautājumiem, kas ietilpst Savienības kompetencē, būtu jānosaka katrā gadījumā atsevišķi saskaņā ar atbilstīgiem Līguma par Eiropas Savienības darbību (LESD) noteikumiem.
- (5) Tā kā Savienība un tās dalībvalstis ir nolīguma Puses, ir būtiski, lai starp tām būtu cieša sadarbība. Lai Apvienotajā komitejā nodrošinātu ciešu sadarbību un vienotību ārējā pārstāvībā un neskarot Līgumus – jo īpaši Līguma par Eiropas Savienību 16. panta 1. punktu un LESD 218. panta 9. punktu –, nostājas, kas Savienības un dalībvalstu vārdā jāpieņem Apvienotajā komitejā attiecībā uz jautājumiem, kas ir gan Savienības, gan dalībvalstu kompetencē, būtu jānosaka pirms Apvienotās komitejas sanāksmes, kurā šāds jautājums tiek izskatīts.
- (6) Lēmuma 2006/959/EK 2.līdz 5. pantā ir ietverti noteikumi par Padomes lēmumu pieņemšanu attiecībā uz dažādiem nolīgumā izklāstītiem jautājumiem, tostarp Apvienotajā komitejā ieņemamo nostāju noteikšanu un dalībvalstīm noteikto informācijas sniegšanas pienākumu nolīguma provizoriskās piemērošanas laikā. Minētie noteikumi vai nu nav nepieciešami, vai arī to piemērošana būtu jāpārtrauc, ņemot vērā Tiesas 2015. gada 28. aprīļa spriedumu lietā C-28/12, Komisija pret Padomi ⁽³⁾. Tāpēc ir lietderīgi, lai visus šos noteikumus pārtrauktu piemērot no šā lēmuma spēkā stāšanās dienas.
- (7) Nolīgums būtu jāapstiprina,

⁽¹⁾ OVC 81E, 15.3.2011., 5. lpp.

⁽²⁾ Padomes un Padomē sanākušo dalībvalstu valdību pārstāvju Lēmums 2006/959/EK (2006. gada 4. decembris), lai parakstītu un provizoriski piemērotu Eiropas un Vidusjūras reģiona valstu aviācijas nolīgumu starp Eiropas Kopienu un tās dalībvalstīm, no vienas puses, un Marokas Karalisti, no otras puses (OV L 386, 29.12.2006., 55. lpp.).

⁽³⁾ ECLI:EU:C:2015:282.

IR PIENĒMUSI ŠO LĒMUMU.

1. pants

1. Ar šo Savienības vārdā tiek apstiprināts Eiropas un Vidusjūras reģiona valstu aviācijas nolīgums starp Eiropas Kopieni un tās dalībvalstīm, no vienas puses, un Marokas Karalisti, no otras puses ⁽¹⁾.

2. Ar šo Padomes priekšsēdētājs tiek pilnvarots norīkot personu vai personas, kas ir tiesīgas Savienības vārdā nogādāt Marokas Karalistei diplomātiskās notas, kuras paredzētas nolīguma 30. pantā ⁽²⁾, un sniegt šādu paziņojumu:

“Tā kā 2009. gada 1. decembrī stājās spēkā Lisabonas līgums, Eiropas Savienība ir aizstājusi Eiropas Kopieni un ir tās pēctece, un no minētās dienas īsteno visas Eiropas Kopienas tiesības un uzņemas visus tās pienākumus. Tāpēc nolīguma tekstā esošās atsauces uz “Eiropas Kopieni” attiecīgos gadījumos ir lasāmas kā atsauces uz “Eiropas Savienību”.”

2. pants

Nostāju, kas Savienībai jāieņem Apvienotajā komitejā, kura izveidota saskaņā ar nolīguma 22. pantu, attiecībā uz grozījumiem nolīguma pielikumos, izņemot I pielikumu (Saskaņotie pakalpojumi un noteiktie maršruti) un IV pielikumu (Pārejas noteikumi), pieņem Komisija pēc apspriešanās ar Padomes izraudzīto īpašo komiteju.

3. pants

Lēmuma 2006/959/EK 2.līdz 5. pantu pārtrauc piemērot no dienas, kad stājas spēkā šis lēmums.

4. pants

Šis lēmums stājas spēkā tā pieņemšanas dienā.

Briselē, 2018. gada 22. janvārī

*Padomes vārdā –
priekšsēdētāja
F. MOGHERINI*

⁽¹⁾ Nolīguma teksts ir publicēts *Eiropas Savienības Oficiālajā Vēstnesī* (OV L 386, 29.12.2006., 57. lpp.), kopā ar lēmumu par tā parakstīšanu un provizorisku piemērošanu.

⁽²⁾ Nolīguma spēkā stāšanās dienu Padomes Ģenerālsēkretariāts publicēs *Eiropas Savienības Oficiālajā Vēstnesī*.

REGULAS

PADOMES REGULA (ES) 2018/147

(2018. gada 29. janvāris),

ar ko Padomes Regulu (ES) Nr. 1370/2013 groza attiecībā uz kvantitatīvo ierobežojumu vājpiena pulvera iepirkšanai

EIROPAS SAVIENĪBAS PADOME,

ņemot vērā Līgumu par Eiropas Savienības darbību un jo īpaši tā 43. panta 3. punktu,

ņemot vērā Eiropas Komisijas priekšlikumu,

tā kā:

- (1) Saskaņā ar paziņotajiem datiem 2017. gada jūlija beigās valsts intervences krājumos Savienībā bija 357 359 tonnas vājpiena pulvera. Papildus tam līdz intervences perioda beigām – 2017. gada 30. septembrim – iepirkšanai par fiksētu cenu tika piedāvāts 22 710 tonnu.
- (2) Piena un piena produktu nozare, kuru iespaidojis īpaši liels pieprasījums pēc sviesta, piedzīvo vēl nepieredzētu starpību starp tauku un proteīna cenām.
- (3) Sagaidāms, ka 2018. gadā piena piegāžu apjoms Savienībā palielināsies, un rezultātā pieaugs sviesta un vājpiena pulvera ražošanas apjoms.
- (4) Cenas, kādas lauksaimniekiem 2018. gadā maksās par svaigpienu, visticamāk, saglabāsies tādas, kas tāpat kā pašreiz, kad ir liels pieprasījums pēc sviesta un siera, piensaimniecības nozarei ir izdevīgas, kaut arī piena proteīna cenas ir relatīvi zemas.
- (5) Šie tirgus faktori 2018. gadam rada izņēmuma stāvokli, kas īpaši jāņem vērā attiecībā uz valsts intervences mehānisma darbību piena produktu jomā.
- (6) Padomes Regulas (ES) Nr. 1370/2013 ⁽¹⁾ 3. pantā ir noteikts kvantitatīvs ierobežojums vājpiena pulvera iepirkšanai par fiksētu cenu, kas minēta tās pašas regulas 2. pantā. Kad minētais ierobežojums ir sasniegts, iepirkšana ir jāveic konkursa procedūrā, lai noteiktu maksimālo iepirkšanas cenu.
- (7) Lai nepieļautu, ka vājpiena pulveri iepērk par fiksētu cenu situācijā, kad tas nebūtu saskaņā ar drošības tīkla mērķiem, visa valsts intervence attiecībā uz vājpiena pulveri būtu jāveic ar konkursa procedūru. Tālab būtu jānosaka, ka kvantitatīvais ierobežojums vājpiena pulvera iepirkšanai par fiksētu cenu 2018. gadam ir nulle.
- (8) Tādēļ Regula (ES) Nr. 1370/2013 būtu attiecīgi jāgroza.
- (9) Lai panāktu šajā regulā noteiktā pagaidu pasākuma tūlītēju ietekmi tirgū un lai tirgus dalībnieki būtu informēti laikus pirms nākamā intervences perioda sākuma, šai regulai būtu jāstājas spēkā nākamajā dienā pēc tās publicēšanas,

⁽¹⁾ Padomes Regula (ES) Nr. 1370/2013 (2013. gada 16. decembris) par konkrēta atbalsta un kompensāciju noteikšanas pasākumiem saistībā ar lauksaimniecības produktu tirgu kopīgo organizāciju (OV L 346, 20.12.2013., 12. lpp.).

IR PIENĒMUSI ŠO REGULU.

1. pants

Regulas (ES) Nr. 1370/2013 3. panta 1. punktam pievieno šādu daļu:

“Atkāpjoties no pirmās daļas, 2018. gadā kvantitatīvais ierobežojums vājpiena pulvera iepirkšanai par fiksētu cenu ir 0 tonnu.”

2. pants

Šī regula stājas spēkā nākamajā dienā pēc tās publicēšanas *Eiropas Savienības Oficiālajā Vēstnesī*.

Šī regula uzliek saistības kopumā un ir tieši piemērojama visās dalībvalstīs.

Briselē, 2018. gada 29. janvārī

*Padomes vārdā –
priekšsēdētājs*
R. PORODZANOV

KOMISIJAS DELEĢĒTĀ REGULA (ES) 2018/148**(2017. gada 27. septembris),****ar ko groza II, III un IV pielikumu Eiropas Parlamenta un Padomes Regulai (ES) Nr. 978/2012 par vispārējo tarifa preferenču sistēmas piemērošanu**

EIROPAS KOMISIJA,

ņemot vērā Līgumu par Eiropas Savienības darbību,

ņemot vērā Eiropas Parlamenta un Padomes 2012. gada 25. oktobra Regulu (ES) Nr. 978/2012 par vispārējo tarifa preferenču sistēmas piemērošanu un ar ko atceļ Padomes Regulu (EK) Nr. 732/2008 ⁽¹⁾, un jo īpaši tās 5. panta 3. punktu, 10. panta 5. punktu un 17. panta 2. punktu,

tā kā:

- (1) Regulas (ES) Nr. 978/2012 4. pantā noteikti kritēriji tarifa preferenču piešķiršanai atbilstoši vispārējās preferenču sistēmas ("VPS") vispārējam režīmam.
- (2) Regulas (ES) Nr. 978/2012 4. panta 1. punkta a) un b) apakšpunktā attiecīgi paredzēts, ka uz valsti, ko Pasaules Banka trīs gadus pēc kārtas klasificējusi kā valsti ar augstiem vai vidēji augstiem ienākumiem, vai valsti, kura gūst labumu no preferenciālās tirgus piekļuves režīma, kas būtībā visai tirdzniecībai nodrošina tādas pašas vai labākas tarifa preferences kā VPS, nebūtu jāattiecinā VPS.
- (3) To valstu saraksts, kurām piemēro VPS, kas minēta Regulas (ES) Nr. 978/2012 1. panta 2. punkta a) apakšpunktā, ir noteikts šīs regulas II pielikumā. Saskaņā ar Regulas (ES) Nr. 978/2012 5. panta 2. punktu katru gadu līdz 1. janvārim jāpārskata II pielikums. Pārskatīšanā būtu jāņem vērā izmaiņas saņēmējvalstu ekonomikas, attīstības un tirdzniecības apstākļos, ievērojot 4. pantā noteiktos kritērijus.
- (4) Saskaņā ar Regulas (ES) Nr. 978/2012 5. panta 2. punktu VPS saņēmējvalstij un ekonomikas dalībniekiem jādod pietiekams laiks, lai tie varētu pienācīgi pielāgoties valsts VPS statusa pārskatīšanai. Tādēļ VPS režīmu jāturpina piemērot vienu gadu pēc dienas, kad, kā minēts 4. panta 1. punkta a) apakšpunktā, stājas spēkā izmaiņas valsts statusā, un divus gadus pēc dienas, kad sāk piemērot preferenciālās tirgus piekļuves režīmu, kā minēts 4. panta 1. punkta b) apakšpunktā.
- (5) Pasaules Banka 2015., 2016. un 2017. gadā ir klasificējusi Paragvaju kā valsti ar vidēji augstiem ienākumiem. Attiecīgi Paragvaja vairs nepretendē uz Regulas (ES) Nr. 978/2012 4. panta 1. punkta a) apakšpunktā minēto VPS saņēmējvalsts statusu un tā būtu jāsvīturo no minētās regulas II pielikumā iekļautā VPS saņēmējvalstu saraksta, un piemērošanas termiņš būtu jāpārdz no 2019. gada 1. janvāra.
- (6) Preferenciālās tirgus piekļuves režīmu Kotdivuārai sāka piemērot 2016. gada 3. septembrī, Svazilendai – 2016. gada 10. oktobrī un Ganai – 2016. gada 15. decembrī. Tādēļ saskaņā ar 4. panta 1. punkta b) apakšpunktu Kotdivuāra, Svazilenda un Gana būtu jāsvīturo arī no Regulas (ES) Nr. 978/2012 II pielikuma, un piemērošanas termiņš būtu jāpārdz no 2019. gada 1. janvāra.
- (7) Regulas (ES) Nr. 978/2012 9. panta 1. punktā noteikti konkrēti atbilstības kritēriji tarifa preferenču piešķiršanai saskaņā ar īpašu veicināšanas režīmu VPS saņēmējvalstu ilgtspējīgai attīstībai un labai pārvaldībai (VPS+). Regulas (ES) Nr. 978/2012 III pielikumā ir izveidots VPS+ saņēmējvalstu saraksts.
- (8) Tā kā Paragvaja zaudē VPS saņēmējvalsts statusu no 2019. gada 1. janvāra, Paragvaja pārstāj būt arī par VPS+ saņēmēju saskaņā ar Regulas (ES) Nr. 978/2012 9. panta 1. punktu. Tāpēc Paragvaja būtu jāsvīturo no minētās regulas III pielikuma, un piemērošanas termiņš būtu jāpārdz no 2019. gada 1. janvāra.

⁽¹⁾ OVL 303, 31.10.2012., 1. lpp.

- (9) Regulas (ES) Nr. 978/2012 17. panta 1. punktā paredzēts, ka valstij, ko ANO ir klasificējusi kā vismazāk attīstīto valsti, būtu jāizmanto tarifa preferences saskaņā ar īpašo režīmu vismazāk attīstītajām valstīm ("Visi, izņemot ieročus" (EBA)). EBA saņēmējvalstu saraksts ir norādīts minētās regulas IV pielikumā.
- (10) ANO izslēdza Ekvatoriālo Gvineju no vismazāk-attīstīto valstu kategorijas 2017. gada 4. jūnijā. Attiecīgi Ekvatoriālā Gvineja vairs nepretendē uz Regulas (ES) Nr. 978/2012 17. panta 1. punktā minēto EBA saņēmējvalsts statusu un tā būtu jāsvītiro no minētās regulas IV pielikuma. Saskaņā ar Regulas (ES) Nr. 978/2012 17. panta 2. punktu Ekvatoriālās Gvinejas svītrosana no EBA saņēmējvalstu saraksta būtu jāpiemēro pēc trīs gadu pārejas perioda, sākot no dienas, kad šī regula stājas spēkā, proti, no 2021. gada 1. janvāra.
- (11) Turklāt Pasaules Banka klasificējusi Ekvatoriālo Gvineju kā valsti ar augstiem ienākumiem 2015. gadā un kā valsti ar vidēji augstiem ienākumiem 2016. un 2017. gadā. Attiecīgi Ekvatoriālā Gvineja vairs nepretendē uz Regulas (ES) Nr. 978/2012 4. panta 1. punkta a) apakšpunktā minēto VPS saņēmējvalsts statusu un tā būtu jāsvītiro no minētās regulas II pielikumā iekļautā VPS saņēmējvalstu saraksta, un piemērošanas termiņš būtu jāparedz no 2021. gada 1. janvāra,

IR PIENĒMUSI ŠO REGULU.

1. pants

Grozījumi Regulā (ES) Nr. 978/2012

Regulu (ES) Nr. 978/2012 groza šādi:

1) II pielikuma A un B slejā attiecīgi tiek svītroti šādi burtu kodi un atbilstošās valstis:

CI	Kotdivuāra
GH	Gana
PY	Paragvaja
SZ	Svazilenda

2) III pielikuma A un B slejā attiecīgi tiek svītrots šāds burtu kods un atbilstošā valsts:

PY	Paragvaja
----	-----------

3) II un IV pielikuma A un B slejā attiecīgi tiek svītrots šāds burtu kods un atbilstošā valsts:

GQ	Ekvatoriālā Gvineja
----	---------------------

2. pants

Stāšanās spēkā un piemērošana

Šī regula stājas spēkā 2018. gada 1. janvārī.

Regulas 1. panta 1. un 2. punktu piemēro no 2019. gada 1. janvāra.

Regulas 1. panta 3. punktu piemēro no 2021. gada 1. janvāra.

Šī regula uzliek saistības kopumā un ir tieši piemērojama visās dalībvalstīs.

Briselē, 2017. gada 27. septembrī

*Komisijas vārdā –
priekšsēdētājs*
Jean-Claude JUNCKER

KOMISIJAS DELEĢĒTĀ REGULA (ES) 2018/149**(2017. gada 15. novembris),****ar kuru Deleģēto regulu (ES) 2016/1238 groza attiecībā uz valsts intervencei un privātās uzglabāšanas atbalsta saņemšanai atbilstīga piena un piena produktu sastāva prasībām un kvalitātes rādītājiem**

EIROPAS KOMISIJA,

ņemot vērā Līgumu par Eiropas Savienības darbību,

ņemot vērā Eiropas Parlamenta un Padomes 2013. gada 17. decembra Regulu (ES) Nr. 1308/2013, ar ko izveido lauksaimniecības produktu tirgu kopīgu organizāciju un atceļ Padomes Regulas (EEK) Nr. 922/72, (EEK) Nr. 234/79, (EK) Nr. 1037/2001 un (EK) Nr. 1234/2007 ⁽¹⁾, un jo īpaši tās 19. panta 1. punkta a) apakšpunktu,

tā kā:

- (1) Komisijas Deleģētā regula (ES) 2016/1238 ⁽²⁾ nosaka valsts intervencei un privātās uzglabāšanas atbalsta saņemšanai atbilstīga piena un piena produktu sastāva prasības un kvalitātes rādītājus.
- (2) Ņemot vērā piena un piena produktu analīzēs un kvalitātes novērtēšanā izmantotās metodikas tehniskos uzlabojumus un tiecoties salāgot spēkā esošos Savienības noteikumus, kas saistīti ar higiēnas prasībām, ir jāpārskata un jāatjaunina dažu valsts intervencei un privātās uzglabāšanas atbalsta saņemšanai atbilstīgu piena produktu sastāva prasības un kvalitātes rādītājus.
- (3) Tāpēc Deleģētās regulas (ES) 2016/1238 IV un V pielikums būtu attiecīgi jāgroza,

IR PIENĒMUSI ŠO REGULU.

1. pants

Deleģētās regulas (ES) 2016/1238 pielikumus groza šādi:

- a) IV pielikuma II daļu aizstāj ar šīs regulas I pielikuma tekstu;
- b) V pielikuma II daļu aizstāj ar šīs regulas II pielikuma tekstu.

*2. pants*Šī regula stājas spēkā septītajā dienā pēc tās publicēšanas *Eiropas Savienības Oficiālajā Vēstnesī*.

Šī regula uzliek saistības kopumā un ir tieši piemērojama visās dalībvalstīs.

Briselē, 2017. gada 15. novembrī

Komisijas vārdā –
priekšsēdētājs
Jean-Claude JUNCKER

⁽¹⁾ OV L 347, 20.12.2013., 671. lpp.⁽²⁾ Komisijas 2016. gada 18. maijā Deleģētā regula (ES) 2016/1238, ar ko Eiropas Parlamenta un Padomes Regulu (ES) Nr. 1308/2013 papildina attiecībā uz valsts intervenci un privātās uzglabāšanas atbalstu (OV L 206, 30.7.2016., 15. lpp.).

I PIELIKUMS

“II DAĻA

Sastāva prasības un kvalitātes rādītāji

Sviests ir cieta, galvenokārt “ūdens eļļā” veida emulsija, ar turpmāk norādītajiem sastāva un kvalitātes rādītājiem.

Parametri	Sastāva un kvalitātes rādītāji
Tauki	Ne mazāk kā 82 %
Ūdens	Ne vairāk kā 16 %
Beztauku sausna	Ne vairāk kā 2 %
Tauku skābums	Ne vairāk kā 1,2 mmol/100 g tauku
Peroksīda skaitlis	Ne vairāk kā 0,3 mekv. skābekļa/1 000 g tauku
Tauki, kas nav piena tauki	Triglicerīdu analīzē nav nosakāmi
Sensoriskās īpašības	Vismaz četri no pieciem punktiem par izskatu, garšu un konsistenci”

II PIELIKUMS

“II DAĻA

Sastāva prasības un kvalitātes rādītāji

Parametri	Sastāva un kvalitātes rādītāji
Olbaltumvielas	Ne mazāk kā 34,0 % beztauku sausnā
Tauki	Ne vairāk kā 1,00 %
Ūdens	Ne vairāk kā 3,5 %
Titrējamais skābums decinormāla nātrija hidroksīda šķīdumā (ml)	Ne vairāk kā 19,5 ml
Laktāti	Ne vairāk kā 150 mg/100 g
Fosfatāzes tests	Negatīvs, t. i., ne vairāk kā 350 mU fosfatāzes aktivitātes uz litru atjaunota piena
Nešķīdības indekss	Ne vairāk kā 0,5 ml (24 °C)
Piedeguma daļiņas	Ne vairāk kā 15,0 mg, t. i., vismaz B disks
Mikroorganismi	Ne vairāk kā 40 000 KVV gramā
Paniņas ⁽¹⁾	Nav ⁽²⁾
Siera sūkalas ⁽³⁾	Nav
Skābās sūkalas ⁽³⁾	Nav ⁽⁴⁾ vai ne vairāk kā 150 mg/100 g ⁽⁵⁾
Garša un smarža	Tīra
Izskats	Balta vai iedzeltena krāsa, bez piemaisījumiem un krāsainām daļiņām

⁽¹⁾ “Paniņas” ir sviesta ražošanas blakusprodukts, ko iegūst pēc krējuma sakulšanas un cieto tauku atdalīšanas.

⁽²⁾ To, ka nav pievienotas paniņas, var noteikt, vai nu vismaz reizi nedēļā bez iepriekšēja pieteikuma veicot inspicēšanu uz vietas ražotnē, vai ar galaprodukta laboratoriskām analizēm, kas uzrāda ne vairāk kā 69,31 mg dipalmitoilfosfatidiletanolamīna (PEDP) uz 100 g.

⁽³⁾ “Sūkalas” ir siera vai kazeīna ražošanas blakusprodukts, ko iegūst skābju iedarbības, himozīna iedarbības un/vai fizikāli ķīmisku procesu rezultātā.

⁽⁴⁾ Ja veic inspicēšanu uz vietas.

⁽⁵⁾ Ja piemēro ISO 8069.”

KOMISIJAS ĪSTENOŠANAS REGULA (ES) 2018/150**(2018. gada 30. janvāris),****ar kuru Īstenošanas regulu (ES) 2016/1240 groza attiecībā uz valsts intervencei un privātās uzglabāšanas atbalsta saņemšanai atbilstīga piena un piena produktu analīzes metodēm un kvalitātes novērtēšanu**

EIROPAS KOMISIJA,

ņemot vērā Līgumu par Eiropas Savienības darbību,

ņemot vērā Eiropas Parlamenta un Padomes 2013. gada 17. decembra Regulu (ES) Nr. 1306/2013 par kopējās lauksaimniecības politikas finansēšanu, pārvaldību un uzraudzību un Padomes Regulu (EEK) Nr. 352/78, (EK) Nr. 165/94, (EK) Nr. 2799/98, (EK) Nr. 814/2000, (EK) Nr. 1290/2005 un (EK) Nr. 485/2008 atcelšanu ⁽¹⁾ un jo īpaši tās 62. panta 2. punkta i) apakšpunktu,

tā kā:

- (1) Komisijas Deleģētā regula (ES) 2016/1238 ⁽²⁾ un Komisijas Īstenošanas regula (ES) 2016/1240 ⁽³⁾ nosaka noteikumus par valsts intervenci un privātās uzglabāšanas atbalstu. Komisijas Regula (EK) Nr. 273/2008 ⁽⁴⁾ nosaka metodes, kas jāpiemēro, novērtējot to, vai piens un piena produkti atbilst atbilstības prasībām, kuras minētajās regulās noteiktas attiecībā uz valsts intervenci un privātās uzglabāšanas atbalstu.
- (2) Ņemot vērā piena un piena produktu analīzē un kvalitātes novērtēšanā izmantotās metodikas tehnisko attīstību, būtu jāizdara būtiskas izmaiņas, lai vienkāršotu [noteikumus] un atjauninātu atsauces uz ISO standartiem. Tiecoties pēc skaidrības un efektivitātes un ņemot vērā Regulas (EK) Nr. 273/2008 noteikumus izdarāmo grozījumu apmēru un tehnisko raksturu, attiecīgie minētās regulas noteikumi būtu jāiestrādā Īstenošanas regulā (ES) 2016/1240.
- (3) Lai nodrošinātu vienādu atbilstību jaunajiem standartiem un metodēm visās dalībvalstīs, būtu jāatvēl laboratorijām pietiekami daudz laika procedūru pārskatīšanai un atjaunināto metožu ieviešanai.
- (4) Tāpēc Īstenošanas regula (ES) 2016/1240 būtu attiecīgi jāgroza.
- (5) Juridiskās noteiktības labad Regula (EK) Nr. 273/2008 būtu jāatceļ.
- (6) Šajā regulā paredzētie pasākumi ir saskaņā ar Lauksaimniecības tirgu kopīgās organizācijas komitejas atzinumu,

IR PIENĒMUSI ŠO REGULU.

1. pants

Īstenošanas regulu (ES) 2016/1240 groza šādi:

1) regulas 4. pantu groza šādi:

a) panta 1. punktu groza šādi:

i) punkta d) apakšpunktu aizstāj ar šādu:

“d) attiecībā uz sviestu – šīs regulas IV pielikuma I un Ia daļa.”;

ii) punkta e) apakšpunktu aizstāj ar šādu:

“e) attiecībā uz vājpiena pulveri – šīs regulas V pielikuma I un Ia daļa.”;

⁽¹⁾ OV L 347, 20.12.2013., 549. lpp.⁽²⁾ Komisijas 2016. gada 18. maija Deleģētā regula (ES) 2016/1238, ar ko Eiropas Parlamenta un Padomes Regulu (ES) Nr. 1308/2013 papildina attiecībā uz valsts intervenci un privātās uzglabāšanas atbalstu (OV L 206, 30.7.2016., 15. lpp.).⁽³⁾ Komisijas 2016. gada 18. maija Īstenošanas regula (ES) 2016/1240, ar ko paredz noteikumus par to, kā Eiropas Parlamenta un Padomes Regulu (ES) Nr. 1308/2013 piemēro attiecībā uz valsts intervenci un privātās uzglabāšanas atbalstu (OV L 206, 30.7.2016., 71. lpp.).⁽⁴⁾ Komisijas 2008. gada 5. marta Regula (EK) Nr. 273/2008, ar kuru nosaka sīki izstrādātus noteikumus Padomes Regulas (EK) Nr. 1255/1999 piemērošanai attiecībā uz piena un piena produktu analīzi un kvalitātes vērtēšanas metodēm (OV L 88, 29.3.2008., 1. lpp.).

b) panta 2. punktu aizstāj ar šādu:

“2. Attiecīgi I, IV un V pielikumā minētās metodes, kas jāizmanto, lai noteiktu valsts intervencei atbilstīgas labības, sviesta un vājpiena pulvera kvalitāti, ir noteiktas attiecīgo Eiropas vai starptautisko standartu jaunākajās redakcijās, kas ir spēkā vismaz 6 mēnešus pirms Regulas (ES) Nr. 1308/2013 12. pantā noteiktā valsts intervences laikposma pirmās dienas.”;

2) iekļauj šādu 60.a pantu:

“60.a pants

Īpaši noteikumi par pārbaudēm, kas saistītas ar valsts intervenci un privātās uzglabāšanas atbalstu attiecībā uz pienu un piena produktiem

1. Sviesta, vājpiena pulvera un siera atbilstību privātās uzglabāšanas atbalsta saņemšanai nosaka saskaņā ar metodēm, kas izklāstītas attiecīgi VI, VII un VIII pielikumā.

Minētās metodes nosaka, atsaucoties uz attiecīgo Eiropas vai starptautisko standartu jaunākajām redakcijām, kas ir spēkā vismaz 6 mēnešus pirms Regulas (ES) Nr. 1308/2013 12. pantā noteiktā valsts intervences laikposma pirmās dienas.

2. To pārbaužu rezultātus, kas veiktas, piemērojot šajā regulā izklāstītās metodes, izvērtē saskaņā ar IX pielikumu.”;

3) pielikumus groza saskaņā ar šīs regulas pielikumu.

2. pants

Regulu (EK) Nr. 273/2008 atceļ.

3. pants

Šī regula stājas spēkā septītajā dienā pēc tās publicēšanas Eiropas Savienības Oficiālajā Vēstnesī.

Šī regula uzliek saistības kopumā un ir tieši piemērojama visās dalībvalstīs.

Briselē, 2018. gada 30. janvārī

Komisijas vārdā –
priekšsēdētājs
Jean-Claude JUNCKER

PIELIKUMS

Īstenošanas regulas (ES) 2016/1240 pielikumus groza šādi:

1) IV pielikumu groza šādi:

a) I daļas 2. punkta otro daļu aizstāj ar šādu:

“Katru paraugu novērtē atsevišķi. Atkārtota paraugu ņemšana un atkārtota vērtēšana nav atļauta.”;

b) iekļauj šādu Ia daļu:

“IA DAĻA

Valsts intervencei paredzēta nesālīta sviesta analīžu metodes

Parametrs	Metode
Tauki ⁽¹⁾	ISO 17189 vai ISO 3727 3. daļa
Ūdens	ISO 3727 1. daļa
Beztauku sausna	ISO 3727 2. daļa
Tauku skābums	ISO 1740
Peroksīda skaitlis	ISO 3976
Tauki, kas nav piena tauki	ISO 17678
Sensoriskās īpašības	ISO 22935 2. un 3. daļa un pēc tam punktu tabula

(¹) Izmantojamo metodi apstiprina maksājumu aģentūra.

Punktu tabula

Izskats		Konsistence		Smarža un garša	
Punkti	Piezīmes	Punkti	Piezīmes	Punkti	Piezīmes
5	<i>Ļoti labi</i> Nevainojams Visaugstākā kvalitāte (vienādi sauss)	5	<i>Ļoti labi</i> Nevainojama Visaugstākā kvalitāte (vienādi ziežams)	5	<i>Ļoti labi</i> Nevainojama Visaugstākā kvalitāte (pilnīgi tīra delikāta smarža)
4	<i>Labi</i> (nav acīmredzamu de- fektu)	4	<i>Labi</i> (nav acīmredzamu de- fektu)	4	<i>Labi</i> (nav acīmredzamu de- fektu)
1, 2 vai 3	Jebkāds defekts	1, 2 vai 3	Jebkāds defekts	1, 2 vai 3	Jebkāds defekts”

2) V pielikumā iekļauj šādu 1a daļu:

“1A DAĻA

Valsts intervencei paredzēta vājpiena pulvera analīžu metodes

Parametrs	Metode
Olbaltumvielas	ISO 8968 1. daļa
Tauki	ISO 1736
Ūdens	ISO 5537
Skābums	ISO 6091
Laktāti	ISO 8069
Fosfatāzes tests	ISO 11816 1. daļa
Nešķīdības indekss	ISO 8156
Piedeguma daļiņas ⁽¹⁾	ADPI
Mikroorganismi	ISO 4833 1. daļa
Paniņas	I papildinājums
Siera sūkalas ⁽²⁾	II un III papildinājums
Skābās sūkalas ⁽³⁾	ISO 8069 vai inspicēšana uz vietas
Sensoriskā vērtēšana ⁽⁴⁾	ISO 22935 2. un 3. daļa

⁽¹⁾ Piedeguma daļiņu analīzes var veikt sistemātiski. Tomēr šādas analīzes veic vienmēr, ja sensoriskā vērtēšana netiek veikta.

⁽²⁾ Izmantojamo metodi (vienu vai abas) apstiprina maksājumu aģentūra.

⁽³⁾ Izmantojamo metodi apstiprina maksājumu aģentūra.

⁽⁴⁾ Sensorisko vērtēšanu veic tad, ja to uzskata par vajadzīgu pēc riska analīzes, kuru apstiprinājusī maksājumu aģentūra.

I papildinājums

VĀJPIENA PULVERIS: FOSFATIDILSERĪNA UN FOSFATIDILETANOLAMĪNA KVANTITATĪVA NOTEIKŠANA

Metode: apgrieztās fāzes HPLC

1. MĒRĶIS UN PIEMĒROŠANAS JOMA

Šī metode apraksta procedūru fosfatidilserīna (PS) un fosfatidiletanolamīna (PE) kvantitatīvai noteikšanai vājpiena pulverī, un tā ir piemērota paniņu sausnas detektēšanai vājpiena pulverī.

2. DEFINĪCIJA

PS + PE saturs: vielas masas daļa, ko nosaka, izmantojot turpinājumā aprakstīto procedūru. Rezultātu izsaka dipalmitoilfosfatidiletanolamīna (PEDP) miligramos uz 100 g pulvera.

3. METODES PRINCIPS

Aminofosfolipīdu ekstrakcija ar metanolu no atjaunota piena. PS un PE kā *o*-ftalskābes dialdehīda (OPA) atvasinājumu noteikšana ar apgrieztās fāzes HPLC un fluorescences detektēšanu. PS un PE saturs kvantitatīva noteikšana analizējamajā paraugā, salīdzinot ar standartparaugu, kas satur zināmu daudzumu PEDP.

4. REAĢENTI

Visi reaģenti ir atzītas analītiskas tīrības pakāpes reaģenti. Izmanto destilētu ūdeni vai ūdeni ar vismaz līdzvērtīgu tīrību, ja vien nav noteikts citādi.

4.1. **Standartmateriāls: PEDP ar vismaz 99 % tīrību**

Piezīme. Standartmateriālu uzglabā – 18 °C temperatūrā.

4.2. **Reaģenti standartparauga un analizējamā parauga sagatavošanai**

4.2.1. HPLC tīrības pakāpes metanols

4.2.2. HPLC tīrības pakāpes hloroforms

4.2.3. Triptamīna monohidrohlorīds

4.3. **Reaģenti *o*-ftalskābes dialdehīda derivatizācijai**

4.3.1. Nātrija hidroksīda 12 M šķīdums ūdenī

4.3.2. Borskābes 0,4 M šķīdums ūdenī, kura pH ar nātrija hidroksīdu (4.3.1.) koriģēts uz 10,0

4.3.3. 2-merkaptotetanols

4.3.4. *o*-ftalskābes dialdehīds (OPA)4.4. **HPLC eluēšanas šķīdinātāji**

4.4.1. Eluēšanas šķīdinātājus sagatavo, izmantojot HPLC tīrības pakāpes reaģentus.

4.4.2. HPLC tīrības pakāpes ūdens

4.4.3. Pārbaudītas fluorimetriskās tīrības metanols

4.4.4. Tetrahidrofurāns

4.4.5. Nātrija dihidrogēnsfosfāts

4.4.6. Nātrija acetāts

4.4.7. Etiķskābe

5. APARATŪRA

- 5.1. **Analitiskie sviri, kuros var nosvērt ar 1 mg precizitāti un kuru iedaļas vērtība ir 0,1 mg**
- 5.2. **Vārglāzes ar 25 ml un 100 ml ietilpību**
- 5.3. **Pipetes, ar kurām var izdalīt 1 ml un 10 ml**
- 5.4. **Magnētiskais maisītājs**
- 5.5. **Mērpipetes, ar kurām var izdalīt 0,2 ml, 0,5 ml un 5 ml**
- 5.6. **Mērkolbas ar 10 ml, 50 ml un 100 ml ietilpību**
- 5.7. **Šļircis ar 20 µl un 100 µl ietilpību**
- 5.8. **Ultraskaņas vanna**
- 5.9. **Centrifūga, kas var darboties ar 27 000 × g**
- 5.10. **Stikla flakoni ar aptuveni 5 ml ietilpību**
- 5.11. **Mērcilindrs ar 25 ml ietilpību**
- 5.12. **pH metrs ar precizitāti līdz 0,1 pH vienībai**
- 5.13. **HPLC iekārta**
 - 5.13.1. *Gradienta režīma sūkņēšanas sistēma, kas spēj darboties ar 1,0 ml/min 200 bāru spiedienā*
 - 5.13.2. *Autosamplers ar derivatizācijas iespēju*
 - 5.13.3. *Kolonnas termostats, kas spēj kolonnā uzturēt 30 °C ± 1 °C temperatūru*
 - 5.13.4. *Fluorescences detektors, kas spēj darboties ar 330 nm ierosas viļņu garumu un 440 nm emisijas viļņu garumu*
 - 5.13.5. *Integrators vai datu apstrādes programma, kas spēj izmērīt smailes laukumu*
 - 5.13.6. *LiChrospher® – 100 kolonna (250 × 4,6 mm) vai līdzvērtīga kolonna, pildīta ar oktadecilsilānu (C 18), kura daļiņu izmērs ir 5 µm*

6. PARAGU ŅEMŠANA

Paraugu ņemšanu veic saskaņā ar standartu ISO 707.

7. PROCEDŪRA

7.1. **Iekšējā standartšķīduma sagatavošana**

- 7.1.1. *Mērkolbā ar 100 ml ietilpību (5.6.) iesver 30,0 ± 0,1 mg triptamīna monohlorīda (4.2.3.) un uzpilda līdz atzīmei ar metanolu (4.2.1.).*
- 7.1.2. *1 ml šā šķīduma ar pipeti (5.3.) iepilina 10 ml mērkolbā (5.6.) un uzpilda līdz atzīmei ar metanolu (4.2.1.), lai iegūtu triptamīna koncentrāciju 0,15 mM.*

7.2. **Analizējamā parauga šķīduma sagatavošana**

- 7.2.1. *Vārglāzē ar 25 ml ietilpību (5.2.) iesver 1,000 ± 0,001 g vājpiena pulvera parauga. Ar pipeti (5.3.) pievieno 10 ml destilēta ūdens, kura temperatūra ir 40 ± 1 °C, un ar magnētisko maisītāju (5.4.) maisa 30 minūtes, lai izšķīdinātu visas pičiņas.*
- 7.2.2. *Mērkolbā ar 10 ml ietilpību (5.6.) ar pipeti (5.5.) iepilina 0,2 ml atjaunota piena, ar šļirci (5.7.) pievieno 100 µl 0,15 mM triptamīna šķīduma (7.1.) un uzpilda līdz tilpumam ar metanolu (4.2.1.). Rūpīgi samaisa, apvēršot otrādi, un uz 15 minūtēm ievieto ultraskaņas vannā (5.8.).*
- 7.2.3. *Centrifugē (5.9.) 10 minūtes ar 27 000 g × g un supernatantu savāc stikla flakonā (5.10.).*

Piezīme. Līdz HPLC analīzes veikšanai analizējamā parauga šķīdums jāuzglabā 4 °C temperatūrā.

7.3. Ārējā standartšķīduma sagatavošana

7.3.1. Mērkolbā ar 50 ml ietilpību (5.6.) iesver 55,4 mg PEDP (4.1.) un, izmantojot mērcilindru (5.11.), pievieno aptuveni 25 ml hloroforma (4.2.2.). Kolbu noslēdz ar aizbāzni, uzkaršē līdz 50 °C ± 1 °C un rūpīgi maisa, līdz PEDP izšķīdis. Kolbu atdzesē līdz 20 °C, uzpilda līdz tilpumam ar metanolu (4.2.1.) un maisa, apvēršot otrādi.

7.3.2. 1 ml šā šķīduma ar pipeti (5.3.) iepilina 100 ml mērkolbā (5.6.) un uzpilda līdz tilpumam ar metanolu (4.2.1.). 1 ml šā šķīduma ar pipeti (5.3.) iepilina 10 ml mērkolbā (5.6.), pievieno 100 µl (5.7.) 0,15 mM triptamīna šķīduma (7.1.) un uzpilda līdz tilpumam ar metanolu (4.2.1.). Maisa, apvēršot otrādi.

Piezīme. Līdz HPLC analīzes veikšanai references parauga šķīdums jāuzglabā 4 °C temperatūrā.

7.4. Derivatizācijas reaģenta sagatavošana

10 ml mērkolbā (5.6.) iesver 25,0 ± 0,1 mg OPA (4.3.4.), pievieno 0,5 ml (5.5.) metanola (4.2.1.) un rūpīgi maisa, lai izšķīdinātu OPA. Uzpilda līdz atzīmei ar borskābes šķīdumu (4.3.2.) un ar šļirci (5.7.) pievieno 20 µl 2-merkaptotetanolu (4.3.3.).

Piezīme. Derivatizācijas reaģentu uzglabā 4 °C temperatūrā brūna stikla flakonā, un tas saglabājas stabils vienu nedēļu.

7.5. Noteikšana ar HPLC

7.5.1. Eluēšanas šķīdinātāji (4.4.)

Šķīdinātājs A: 0,3 mM nātrija dihidrogēnfosfāta un 3 mM nātrija acetāta šķīdums (kura pH ar etiķskābi koriģēts uz 6,5 ± 0,1); metanols: tetrahidrofurāns = 558:440:2 (v/v/v).

Šķīdinātājs B: metanols.

7.5.2. Ieteicamais eluēšanas gradients

Laiks (min)	Šķīdinātājs A (%)	Šķīdinātājs B (%)	Plūsmas ātrums (ml/min)
Sākums	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

Piezīme. Eluēšanas gradientu var nākties nedaudz mainīt, lai sasniegtu 1. attēlā redzamo izšķirtspēju.

Kolonnas temperatūra: 30 °C.

7.5.3. Injekcijas tilpums: 50 µl derivatizācijas reaģenta un 50 µl parauga šķīduma.

7.5.4. Kolonnas līdzsvarošana

Sākot ikdienas darbu, kolonnu 15 minūtes skalo ar 100 % šķīdinātāju B, tad iepilda A:B = 40:60 un 15 minūtes līdzsvaro ar 1 ml/min. Izdara tukšo testu, ievadot metanolu (4.2.1.).

Piezīme. Pirms ilgtermiņa uzglabāšanas kolonnu 30 minūtes skalo ar metanolu:hloroformu = 80:20 (v/v).

7.5.5. PS + PE satura noteikšana analizējamajā paraugā

7.5.6. Veic hromatogrāfisko analīžu sēriju, laiku starp analizēm saglabājot nemainīgu, lai iegūtu konstantus aiztures laikus. Pēc katriem 5–10 analizējamā parauga šķīdumiem ievada ārējo standartšķīdumu (7.3.), lai aprēķinātu atbildes koeficientu.

Piezīme. Pēc katrām 20–25 analizēm kolonnu tīra, vismaz 30 minūtes skalojot ar 100 % šķīdinātāju B (7.5.1.).

7.6. **Integrēšanas režīms**

7.6.1. PEDP smaile

PEDP eluējas kā viena smaile. Smailes laukumu nosaka, veicot integrēšanu starp divām iepakām.

7.6.2. Triptamīna smaile

Triptamīns eluējas kā viena smaile (1. attēls). Smailes laukumu nosaka, veicot integrēšanu starp divām iepakām.

7.6.3. PS un PE smaiļu grupas

Aprakstītajos apstākļos (1. attēls) PS eluējas kā divas nepilnīgi atdalītas galvenās smailes, pirms kurām ir zemāka smaile. PE eluējas kā trīs nepilnīgi atdalītas galvenās smailes. Katras smaiļu kopas kopējo laukumu nosaka, novelkot bāzes līniju, kā parādīts 1. attēlā.

8. REZULTĀTU APRĒĶINĀŠANA UN IZTEIKŠANA

PS un PE saturu analizējamajā paraugā aprēķina šādi:

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

kur:

C = PS vai PE saturs (mg/100 g pulvera) analizējamajā paraugā,

A₁ = standartparauga šķīduma (7.3.) PEDP smailes laukums,

A₂ = analizējamā parauga šķīduma (7.2.) PS vai PE smailes laukums,

T₁ = standartparauga šķīduma (7.3.) triptamīna smailes laukums,

T₂ = analizējamā parauga šķīduma (7.2.) triptamīna smailes laukums.

9. METODES PAREIZUMS

Piezīme. Atkārtojamības vērtības aprēķinātas saskaņā ar IDF starptautisko standartu (*).

9.1. **Atkārtojamība**

Atkārtojamības relatīvā standartnovirze, kas izsaka to neatkarīgo analītisko rezultātu mainīgumu, kurus viens un tas pats laborants iegūvis, vienu un to pašu paraugu testējot ar vienu un to pašu aparāturu tādos pašos apstākļos un īsā laika intervālā, nedrīkst pārsniegt 2 %. Ja šādos apstākļos ir veiktas divas noteikšanas, relatīvā starpība starp abiem rezultātiem nedrīkst būt lielāka par 6 % no rezultātu vidējā aritmētiskā.

9.2. Reproducējamība

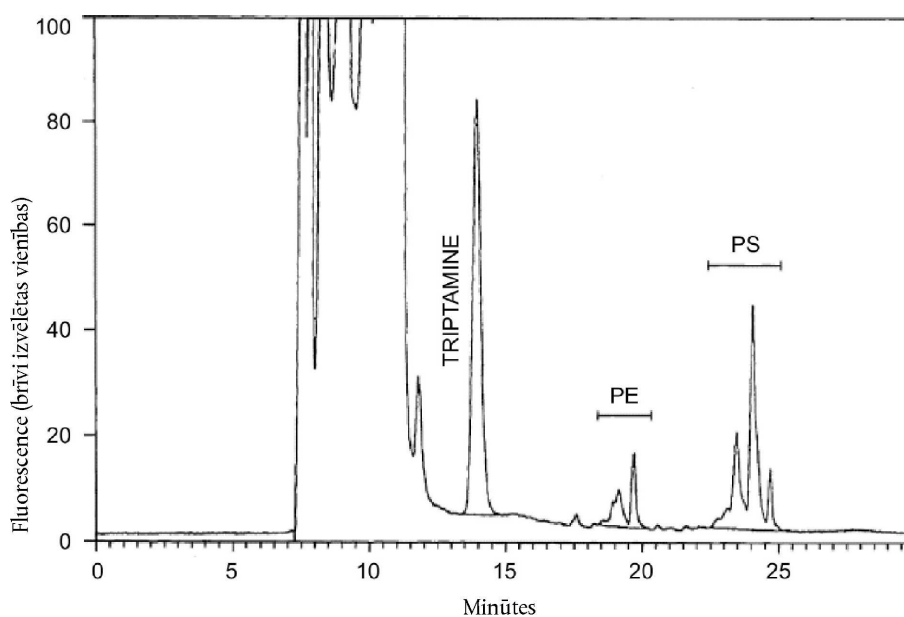
Ja laboranti dažādās laboratorijās ir veikuši divas noteikšanas, vienu un to pašu paraugu testējot ar atšķirīgu aparatūru atšķirīgos apstākļos, abu rezultātu relatīvā starpība nedrīkst būt lielāka par 11 % no rezultātu vidējā aritmētiskā.

10. ATSAUCES

- 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).

1. attēls.

HPLC attēls, kurā redzami OPA atvasinājumi fosfatidilserīns (PS) un fosfatidiletanolamīns (PE) atjaunota vājpiena pulvera metanola ekstraktā. Parādīts PS, PE un triptamīna (iekšējais standarts) smaīļu integrēšanas režīms.



II papildinājums

SIERA SŪKALU DETEKTĒŠANA INTERVENCES KRĀJUMIEM PAREDZĒTĀ VĀJPIENA PULVERĪ, NOSAKOT KAZEĪNMAKROPEPTĪDUS AR AUGSTEFEKTĪVO ŠĶIDRUMA HROMATOGRĀFIJU (HPLC)

1. DARBĪBAS JOMA UN PIEMĒROŠANAS JOMA

Ar šo metodi iespējams, nosakot kazeīnmakropeptīdus, detektēt siera sūkalas intervences krājumiem paredzētā vājpiena pulverī.

2. ATSAUCE

Starptautiskais standarts ISO 707 "Piens un piena produkti. Norādījumi par paraugu ņemšanu".

3. DEFINĪCIJA

Siera sūkalu sausnas saturu izsaka masas procentos, ko nosaka pēc kazeīnmakropeptīdu satura saskaņā ar aprakstīto procedūru.

4. PRINCIPS

- Vājpiena atjaunošana no pulvera, tauku un olbaltumvielu atdalīšana ar trihloretiķskābi, pēc tam centrifugēšana vai filtrēšana.
- Kazeīnmakropeptīdu (CMP) daudzuma noteikšana supernatantā, izmantojot augstefektīvo šķidruma hromatogrāfiju (HPLC).
- To rezultātu novērtēšana, kuri iegūti, paraugus salīdzinot ar standartparaugiem, kas sastāv no vājpiena pulvera, kuram ir vai nav pievienota zināma procentuālā daļa sūkalu pulvera.

5. REAĢENTI

Visi reaģenti ir atzītas analītiskas tīrības pakāpes reaģenti. Izmanto destilētu ūdeni vai ūdeni ar vismaz līdzvērtīgu tīrību.

5.1. **Trihloretiķskābes šķīdums**

Ūdenī izšķīdina 240 g trihloretiķskābes (CCl_3COOH) un uzpilda līdz 1 000 ml. Šķīdumam jābūt dzidram un bezkrāsainam.

5.2. **Eluenta šķīdums, pH 6,0**

Aptuveni 700 ml ūdens izšķīdina 1,74 g dikālīja hidrogēnfosfāta (K_2HPO_4), 12,37 g kālija dihidrogēnfosfāta (KH_2PO_4) un 21,41 g nātrija sulfāta (Na_2SO_4). Vajadzības gadījumā pH koriģē uz 6,0, izmantojot fosforskābes vai kālija hidroksīda šķīdumu.

Uzpilda ar ūdeni līdz 1 000 ml un homogenizē.

Piezīme. Eluenta sastāvu var atjaunināt, lai tas atbilstu standartu sertifikātam vai kolonnu pildījuma materiāla ražotāja ieteikumiem.

Eluenta šķīdumu pirms izmantošanas filtrē caur membrānas filtru, kura poru diametrs ir 0,45 μm .

5.3. **Skalošanas šķīdinātājs**

Vienu tilpumu acetonitrila (CH_3CN) sajauc ar deviņiem tilpumiem ūdens. Maisījumu pirms izmantošanas filtrē caur membrānas filtru, kura poru diametrs ir 0,45 μm .

Piezīme. Var izmantot jebkuru citu baktericīdas iedarbības skalošanas šķīdinātāju, kas nepasliktina kolonnas izšķirtspēju.

5.4. **Standartparaugi**

5.4.1. *Vājpiena pulveris, kas atbilst šīs regulas prasībām (t. i., [0])*

5.4.2. *Tas pats vājpiena pulveris, kuram piemaisīti 5 % (m/m) siera sūkalu pulvera ar standartsastāvu (t. i., [5]).*

6. APARATŪRA
- 6.1. **Analītiskie svāri**
- 6.2. **Fakultatīvi – centrifūga, kas spēj sasniegt centrālās spēku 2 200 g un ir aprīkota ar centrifūgas mēģenēm, kuras noslēdzamas ar aizbāzni vai korķi un kuru ietilpība ir aptuveni 50 ml**
- 6.3. **Mehāniskais kratītājs**
- 6.4. **Magnētiskais maisītājs**
- 6.5. **Stikla piltuves ar aptuveni 7 cm diametru**
- 6.6. **Vidēji ātras filtrācijas filtrpapīrs ar aptuveni 12,5 cm diametru**
- 6.7. **Stikla filtrēšanas iekārta ar membrānas filtru, kura poru diametrs ir 0,45 μm**
- 6.8. **Mērpipetes, ar kurām var izdalīt 10 ml (ISO 648, A klase vai ISO/R 835), vai dozēšanas sistēma, ar ko divās minūtēs var izdalīt 10,0 ml**
- 6.9. **Dozēšanas sistēma, kas spēj izdalīt 20,0 ml ūdens aptuveni 50 °C temperatūrā**
- 6.10. **Termostatējama ūdens vanna, noregulēta uz 25 °C ± 0,5 °C**
- 6.11. **HPLC iekārta ar turpmāk norādītajām sastāvdaļām**
 - 6.11.1. Sūkņi
 - 6.11.2. Rokas vai automātiskais injektors ar 15–30 μl ietilpību
 - 6.11.3. Divas secīgi savienotas TSK 2 000-SW kolonnas (garums 30 cm, iekšējais diametrs 0,75 cm) vai līdzvērtīgas kolonnas (piem., viena TSK 2 000-SWxl, viena Agilent Technologies Zorbax GF 250) un priekškolonna (3 cm × 0,3 cm), papildīta ar I 125 vai līdzvērtīgas efektivitātes materiālu.
 - 6.11.4. Termostatējama kolonnu krāsns, noregulēta uz 35 ± 1 °C
 - 6.11.5. Maināma viļņu garuma UV detektors, ar ko iespējams veikt mērījumus pie 205 nm ar jutību 0,008 Å
 - 6.11.6. Integrators, ar ko iespējams veikt integrāciju starp iepakām

Piezīme. Var strādāt ar kolonnām, kas uzglabātas istabas temperatūrā, bet to izšķirtspēja ir nedaudz mazāka. Tādā gadījumā temperatūrai katrā atsevišķā analīžu kārtā nevajadzētu atšķirties vairāk kā par ± 5 °C.
7. PARAGU ŅEMŠANA
- 7.1. Paraugus ņem saskaņā ar Starptautiskajā standartā ISO 707 noteikto kārtību. Tomēr dalībvalstis var izmantot citu paraugu ņemšanas metodi ar nosacījumu, ka tā atbilst minētā standarta principiem.
- 7.2. Paraugu uzglabā apstākļos, kas nepieļauj tā bojāšanos vai sastāva izmaiņas.
8. PROCEDŪRA
- 8.1. **Analizējamā parauga sagatavošana**

Piena pulveri pārnes traukā, kura ietilpība ir aptuveni divreiz lielāka par pulvera tilpumu un kurš aprīkots ar hermētisku vāku. Trauku tūlīt noslēdz. Piena pulveri labi samaisa, trauku vairākkārt apvēršot.
- 8.2. **Analizējamā porcija**

Centrifūgas mēģenē (6.2.) vai piemērotā kolbā ar aizbāzni (50 ml) iesver 2,000 ± 0,001 g analizējamā parauga.
- 8.3. **Tauku un olbaltumvielu atdalīšana**
 - 8.3.1. *Analizējamajai porcijai pievieno 20,0 ml silta ūdens (50 °C). Pulveri izšķīdina, piecas minūtes kratot ar mehānisko kratītāju (6.3.). Mēģeni ievieto ūdens vannā (6.10.) un ļauj temperatūrai stabilizēties līdz 25 °C.*

8.3.2. Divu minūšu laikā, enerģiski maisot ar magnētisko maisītāju (6.4.), pievieno 10,0 ml trihloretikskābes šķīduma (5.1.) aptuveni 25 °C temperatūrā. Mēģeni uz 60 minūtēm ievieto ūdens vannā (6.10.).

8.3.3. Centrifugē (6.2.) 10 minūtes ar 2 200 g vai filtrē caur filtrpapīru (6.6.), izlejot pirmos 5 ml filtrāta.

8.4. Hromatogrāfiskā noteikšana

8.4.1. HPLC iekārtā (6.11.) ievada 15–30 µl precīzi nomērīta supernatanta vai filtrāta (8.3.3.), darbojoties ar plūsmas ātrumu 1,0 ml eluenta šķīduma (5.2.) minūtē.

1. piezīme. Atkarībā no lietoto kolonnu iekšējā diametra vai kolonnu ražotāja instrukcijām var izmantot citu plūsmas ātrumu.

2. piezīme. Katrā pārtraukumā kolonnas skalo ar ūdeni. Tajās nekad neatstāj eluenta šķīdumu (5.2.).

Pirms katra vairāk nekā 24 stundu ilga pārtraukuma kolonnas skalo ar ūdeni, tad vismaz trīs stundas mazgā ar šķīdumu (5.3.), kura plūsmas ātrums ir 0,2 ml minūtē.

8.4.2. Analizējamā parauga [E] hromatogrāfiskās analīzes rezultātā iegūst hromatogrammu, kurā katru smaile identificē pēc tās aiztures laika.

II smaile:	hromatogrammas otrā smaile ar aiztures laiku aptuveni 12,5 minūtes.
III smaile:	hromatogrammas trešā smaile, kas atbilst CMP, ar aiztures laiku aptuveni 15,5 minūtes.

Kolonnas vai kolonnu izvēle var būtiski ietekmēt atsevišķo smaiļu aiztures laikus.

Integrators (6.11.6.) automātiski aprēķina katras smailes laukumu A:

A _{II} :	II smailes laukums,
A _{III} :	III smailes laukums.

Pirms kvantitatīvas interpretācijas ir svarīgi pārbaudīt katras hromatogrammas izskatu, lai konstatētu jebkādas novirzes aparatūras vai kolonnu nepareizas darbības vai analizētā parauga izcelsmes vai īpašību dēļ.

Šaubu gadījumā analīzi atkārtoti.

8.5. Kalibrēšana

8.5.1. Standartparaugiem (5.4.) precīzi piemēro 8.2.–8.4.2. punktā aprakstīto procedūru.

Izmanto svaigi sagatavotus šķīdumus, jo 8 % trihloretikskābes vidē CMP noārdās. Zudumus lēš kā 0,2 % stundā 30 °C temperatūrā.

8.5.2. Pirms paraugu hromatogrāfiskās noteikšanas kolonnas kondicionē, šķīdumā (8.5.1.) atkārtoti ievadot standartparaugu (5.4.2.), līdz CMP atbilstošās smailes laukums un aiztures laiks kļūst konstants.

8.5.3. Atbildes koeficientus R nosaka, ievadot tādu pašu filtrāta (8.5.1.) tilpumu, kāds izmantots paraugiem.

9. REZULTĀTU IZTEIKŠANA

9.1. Aprēķināšanas metode un formulas

9.1.1. Atbildes koeficientu R aprēķināšana

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

kur:

R_{II} = II smailes atbildes koeficients,

A_{II} [0] = standartparauga [0] II smailes laukums, kas iegūts atbilstoši 8.5.3. punktam.

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

kur:

- R_{III} = III smailes atbildes koeficients,
 A_{III} [0] un A_{III} [5] = standartparaugu [0] un [5] III smailes laukums, kas iegūts atbilstoši 8.5.3. punktam,
 W = sūkalu daudzums standartparaugā [5], t. i., 5.

9.1.2. *Parauga [E] smaiļu relatīvā laukumu aprēķināšana*

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

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

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

kur:

- S_{II} [E], S_{III} [E], S_{IV} [E] = parauga [E] attiecīgi II, III un IV smailes relatīvais laukums,
 A_{II} [E], A_{III} [E] = parauga [E] attiecīgi II un III smailes laukums, kas iegūts atbilstoši 8.4.2. punktam
 R_{II}, R_{III} = atbildes koeficienti, kas aprēķināti atbilstoši 9.1.1. punktam.

9.1.3. *Parauga [E] III smailes relatīvā aiztures laika aprēķināšana*

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

kur:

- RRT_{III} [E] = parauga [E] III smailes relatīvais aiztures laiks,
 RT_{III} [E] = parauga [E] III smailes aiztures laiks, kas iegūts atbilstoši 8.4.2. punktam,
 RT_{III} [5] = kontrolparauga [5] III smailes aiztures laiks, kas iegūts atbilstoši 8.5.3. punktam.

9.1.4. *Eksperimentos ir pierādīts, ka pastāv lineāra sakarība starp III smailes relatīvo aiztures laiku, t. i., RRT_{III} [E], un pievienotā sūkalu pulvera procentuālo daļu, ja tā ir līdz 10 %.*

— RRT_{III} [E] ir < 1,000, ja sūkalu saturs ir > 5 %,

— RRT_{III} [E] ir ≥ 1,000, ja sūkalu saturs ir ≤ 5 %.

Pieļaujamā RRT_{III} vērtību nenoteiktība ir ± 0,002.

Parasti RRT_{III} [0] vērtība nedaudz novirzās no 1,034. Atkarībā no kolonnu stāvokļa vērtība var tuvojies 1,000, tomēr tā vienmēr būs lielāka.

9.2. **Siera sūkalu pulvera procentuālās daļas aprēķināšana paraugā**

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

kur:

- W = siera sūkalu procentuālā daļa (m/m) paraugā [E],
 S_{III} [E] = analizējamā parauga [E] III smailes relatīvais laukums, kas iegūts atbilstoši 9.1.2. punktam,
 1,3 = III smailes vidējais relatīvais laukums, izteikts siera sūkalu gramos uz 100 g, noteikts dažādas izcelsmes vājpiena pulverī bez piemaisījumiem. Šis skaitlis ir iegūts eksperimentāli,
 S_{III} [0] = III smailes relatīvais laukums, kas ir vienāds ar R_{III} × A_{III} [0]. Šīs vērtības ir iegūtas atbilstoši 9.1.1. un 8.5.3. punktam,
 (S_{III} [0] - 0,9) = vidējā relatīvā laukuma 1,3 korekcija, kas jāveic, ja S_{III} [0] nav vienāds ar 0,9. Eksperimentāli noteiktais kontrolparauga [0] III smailes vidējais relatīvais laukums ir 0,9.

9.3. Procedūras pareizums

9.3.1. Atkārtojamība

Starpība starp rezultātiem, ko viens un tas pats analizētājs iegūvis, veicot divas noteikšanas vienlaikus vai uzreiz vienu pēc otras, ar vienu un to pašu aparāturu testējot identisku materiālu, nepārsniedz 0,2 % (m/m).

9.3.2. Reproducējamība

Starpība starp diviem atsevišķiem un neatkarīgiem rezultātiem, kas iegūti, divās dažādās laboratorijās analizējot identisku testa materiālu, nepārsniedz 0,4 % (m/m).

9.4. Interpretācija

9.4.1. Pieņem, ka paraugā nav sūkaku, ja III smailes relatīvais laukums $S_{III} [E]$, izteikts gramos siera sūkaku uz 100 g produkta, ir $\leq 2,0 + (S_{III}[0] - 0,9)$,

kur:

2,0	ir III smailes relatīvā laukuma maksimāli pieļaujamā vērtība, ņemot vērā III smailes vidējo relatīvo laukumu, t. i., 1,3, nenoteiktību, kas rodas vājpiena pulvera sastāva mainīguma dēļ, un metodes reproducējamību (9.3.2.),
$(S_{III} [0] - 0,9)$	ir korekcija, kas jāveic, ja laukums $S_{III} [0]$ nav 0,9 (skatīt 9.2. punktu).

9.4.2. Ja III smailes relatīvais laukums $S_{III} [E]$ ir $> 2,0 + (S_{III}[0] - 0,9)$ un II smailes relatīvais laukums $S_{II} [E] \leq 160$, siera sūkaku saturu nosaka, kā norādīts 9.2. punktā.

9.4.3. Ja III smailes relatīvais laukums $S_{III} [E]$ ir $> 2,0 + (S_{III}[0] - 0,9)$ un II smailes relatīvais laukums $S_{II} [E] \leq 160$, nosaka kopējo olbaltumvielu saturu (P %), tad novērtē pēc 1. un 2. grafika.

9.4.3.1. Dati, kas iegūti, analizējot tādus sausā vājpiena paraugus bez piemaisījumiem, kuriem ir augsts kopējais olbaltumvielu saturs, ir apkopoti 1. un 2. grafikā.

Nepārtrauktā līnija attēlo lineāro regresiju, kuras koeficienti ir aprēķināti ar mazāko kvadrātu metodi.

Pārtrauktā taisnā līnija norāda III smailes relatīvā laukuma augšējo robežu ar varbūtību, ka 90 % gadījumu tā netiek pārsniegta.

1. un 2. grafika pārtraukto taisno līniju vienādojumi ir šādi:

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

kur attiecīgi:

S_{III} ir III smailes relatīvais laukums, ko aprēķina pēc kopējā olbaltumvielu satura vai pēc smailes relatīvā laukuma $S_{II} [E]$,

P % ir kopējais olbaltumvielu saturs, izteikts masas procentos,

$S_{II} [E]$ ir parauga relatīvais laukums, kas aprēķināts atbilstoši 9.1.2. punktam.

Šie vienādojumi ir ekvivalenti 9.2. punktā minētajam skaitlim 1,3.

Nesakrītību (T_1 un T_2) starp atrasto relatīvo laukumu $S_{III} [E]$ un relatīvo laukumu S_{III} izsaka šādi: $T_1 = S_{III}[E] - [(0,376 P \% - 10,7) + (S_{III}[0] - 0,9)]$; $T_2 = S_{III}[E] - [(0,0123 S_{II}[E] + 0,93) + (S_{III}[0] - 0,9)]$.

9.4.3.2. Ja T_1 un/vai T_2 ir nulle vai mazāks, siera sūkalu klātbūtne nav nosakāma.

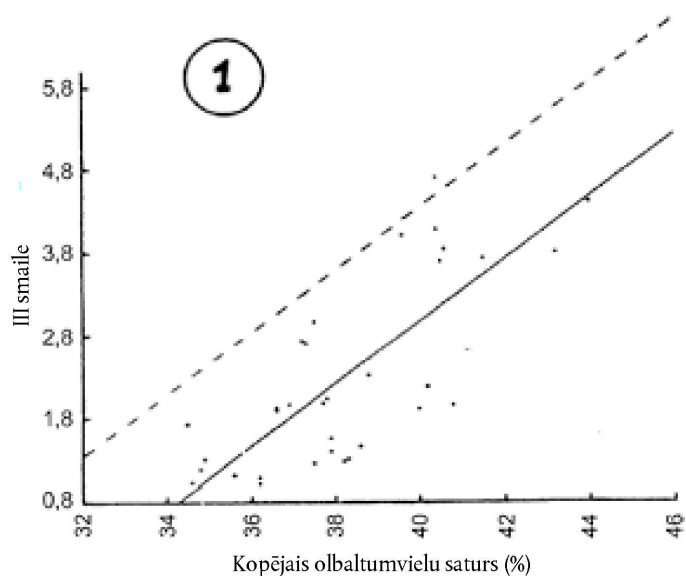
Ja T_1 un T_2 ir lielāks par nulli, paraugā ir siera sūkalas.

Siera sūkalu saturu aprēķina pēc šādas formulas: $W = T_2 + 0,91$,

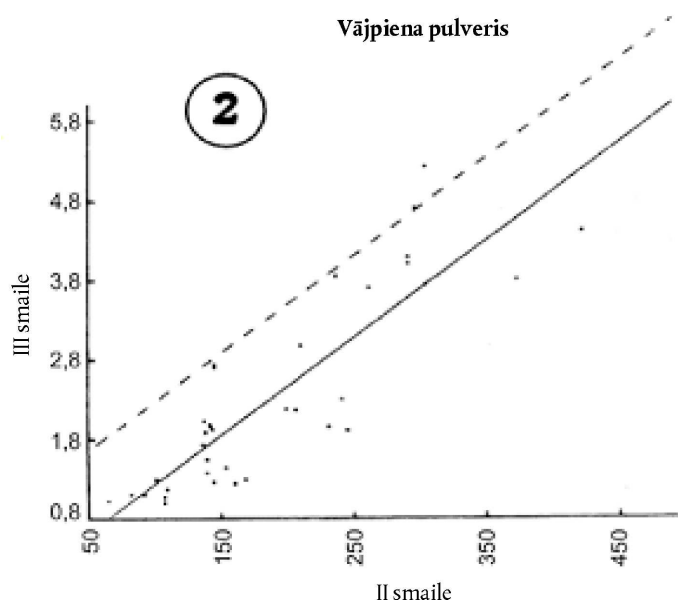
kur:

0,91 ir attālums uz vertikālās ass starp nepārtraukto un pārtraukto taisno līniju.

Vājpiena pulveris



Vājpiena pulveris



III papildinājums

SIERA SŪKALU SAUSNAS NOTEIKŠANA VĀJPIENA PULVERĪ

1. MĒRĶIS: KONSTATĒT, VAI SAUSAJAM VĀJPIENAM IR PIEVIENOTA SIERA SŪKALU SAUSNA
2. ATSAUCES: STARPTAUTISKAIS STANDARTS ISO 707
3. DEFINĪCIJA

Siera sūkaku sausnas saturu izsaka masas procentos un nosaka pēc kazeīnmakropeptīdu satura saskaņā ar aprakstīto procedūru.
4. PRINCIPS

Paraugus analizē ar apgrieztās fāzes augstefektīvo šķidrums hromatogrāfiju (HPLC procedūra), lai noteiktu kazeīnmakropeptīdu A. Rezultātu novērtē, salīdzinot ar standartparaugiem, kas sastāv no vājpiena pulvera ar zināmu procentuālo daļu sūkaku pulvera un bez tās. Rezultāti, kas pārsniedz 1 % (m/m), norāda uz siera sūkaku sausnas klātbūtni.
5. REAĢENTI

Visi reaģenti ir atzītas analītiskas tīrības pakāpes reaģenti. Izmanto destilētu ūdeni vai ūdeni ar vismaz līdzvērtīgu tīrību. Acetonitrilam jābūt ar spektroskopisku vai HPLC kvalitāti.
- 5.1. **Trihloretiķskābes šķīdums**

Ūdenī izšķīdina 240 g trihloretiķskābes (CCl_3COOH) un uzpilda līdz 1 000 ml. Šķīdumam jābūt dzidram un bezkrāsainam.
- 5.2. **Eluenti A un B**

Eluents A: 1 000 ml mērkolbā iepilda 150 ml acetonitrila (CH_3CN), 20 ml izopropanola ($\text{CH}_3\text{CHOHCH}_3$) un 1,00 ml trifluoretiķskābes (TFA, CF_3COOH). Uzpilda ar ūdeni līdz 1 000 ml.

Eluents B: 1 000 ml mērkolbā ielej 550 ml acetonitrila, 20 ml izopropanola un 1,00 ml TFA. Uzpilda ar ūdeni līdz 1 000 ml. Eluenta šķīdumu pirms izmantošanas filtrē caur membrānas filtru, kura poru diametrs ir 0,45 μm .
- 5.3. **Kolonnas glabāšana**

Pēc analīžu veikšanas kolonnu skalo ar eluentu B (gradienta režīmā) un pēc tam skalo ar acetonitrilu (30 minūtes gradienta režīmā). Kolonnu uzglabā acetonitrilā.
- 5.4. **Standartparaugi**
 - 5.4.1. Sausā vājpiena pulveris, kas atbilst intervences krājumiem noteiktajām prasībām (t. i., [0]).
 - 5.4.2. Tas pats vājpiena pulveris, kuram piemaisīti 5 % (m/m) siera sūkaku pulvera ar standartsastāvu (t. i., [5]).
 - 5.4.3. Tas pats vājpiena pulveris, kuram piemaisīti 50 % (m/m) siera sūkaku pulvera ar standartsastāvu (t. i., [50]).
6. APARATŪRA
 - 6.1. **Analītiskie svāri**
 - 6.2. **Fakultatīvi – centrifūga, kas spēj sasniegt centrālās spēku 2 200 g un ir aprīkota ar centrifūgas mēģenēm, kuras noslēdzamas ar aizbāzni vai korķi un kuru ietilpība ir aptuveni 50 ml**
 - 6.3. **Mehāniskais kratītājs**
 - 6.4. **Magnētiskais maisītājs**
 - 6.5. **Stikla piltuves ar aptuveni 7 cm diametru**

- 6.6. **Vidēji ātras filtrācijas filtrpapīrs ar aptuveni 12,5 cm diametru**
- 6.7. **Stikla filtrēšanas iekārta ar membrānas filtru, kura poru diametrs ir 0,45 μm**
- 6.8. **Mērpipetes, ar kurām var izdalīt 10 ml (ISO 648, A klase vai ISO/R 835), vai dozēšanas sistēma, ar ko divās minūtēs var izdalīt 10,0 ml**
- 6.9. **Dozēšanas sistēma, kas spēj izdalīt 20,0 ml ūdens aptuveni 50 °C temperatūrā**
- 6.10. **Termostatējama ūdens vanna, noregulēta uz 25 °C ± 0,5 °C**
- 6.11. **HPLC iekārta ar turpmāk norādītajām sastāvdaļām**
 - 6.11.1. *Binārā gradienta režīma sūkņēšanas sistēma*
 - 6.11.2. *Rokas vai automātiskais injektors ar 100 μl ietilpību*
 - 6.11.3. *Agilent Technologies Zorbax 300 SB-C3 kolonna (garums 25 cm, iekšējais diametrs 0,46 cm) vai līdzvērtīga lielporu silīkagela apgrieztais fāzes kolonna*
 - 6.11.4. *Termostatējama kolonnu krāsns, noregulēta uz 35 ± 1 °C*
 - 6.11.5. *Mainīga viļņu garuma UV detektors, kas ļauj veikt mērījumus pie 210 nm (vajadzības gadījumā var izmantot lielāku viļņu garumu līdz 220 nm) ar 0,02 Å jutību*
 - 6.11.6. *Integrators, kuru var iestatīt integrēšanai līdz kopējai bāzes līnijai vai starp ieplakām*

Piezīme. Kolonnas darbība istabas temperatūrā ir iespējama, ja istabas temperatūra svārstās ne vairāk par 1 °C, pretējā gadījumā rodas pārāk daudz CMP_A aiztures laika variāciju.

7. PARAugu ŅEMŠANA

- 7.1. **Paraugus ņem saskaņā ar Starptautiskajā standartā ISO 707 noteikto kārtību. Tomēr dalībvalstis var izmantot citu paraugu ņemšanas metodi ar nosacījumu, ka tā atbilst minētā standarta principiem.**
- 7.2. **Paraugu uzglabā apstākļos, kas nepieļauj tā bojāšanos vai sastāva izmaiņas.**

8. PROCEDŪRA

8.1. Analizējamā parauga sagatavošana

Piena pulveri pārnes traukā, kura ietilpība ir aptuveni divreiz lielāka par pulvera tilpumu un kurš aprīkots ar hermētisku vāku. Trauku tūlīt noslēdz. Piena pulveri labi samaisa, trauku vairākkārt apvēršot.

8.2. Analizējamā porcija

Centrifūgas mēģenē (6.2.) vai piemērotā kolbā ar aizbāzni (50 ml) iesver $2,00 \pm 0,001$ g analizējamā parauga.

Piezīme. Maisījumu gadījumā nosver tādu analizējamā parauga daudzumu, lai attaukotā parauga porcija atbilstu 2,00 g.

8.3. Tauku un olbaltumvielu atdalīšana

- 8.3.1. *Analizējamajai porcijai pievieno 20,0 ml silta ūdens (50 °C). Pulveri izšķīdina, piecas minūtes kratot ar mehānisko kratītāju (6.3.). Mēģeni ievieto ūdens vannā (6.10.) un ļauj temperatūrai stabilizēties līdz 25 °C.*
- 8.3.2. *Divu minūšu laikā, rūpīgi maisot ar magnētisko maisītāju (6.4.), vienmērīgi pievieno 10,0 ml trihloretiķskābes šķīduma (5.1.) aptuveni 25 °C temperatūrā. Mēģeni uz 60 minūtēm ievieto ūdens vannā (6.10.).*
- 8.3.3. *Centrifugē (6.2.) 10 minūtes ar 2 200 g vai filtrē caur filtrpapīru (6.6.), izlejot pirmos 5 ml filtrāta.*

8.4. Hromatogrāfiskā noteikšana

8.4.1. *Apgrīztās fāzes HPLC metode izslēdz iespēju iegūt viltuspozitīvus rezultātus skābo paniņu pulvera klātbūtnes dēļ.*

8.4.2. *Pirms apgrīztās fāzes HPLC analīzes ir jāoptimizē gradienta apstākļi. Gradienta režīma sistēmām, kuru mirušais tilpums (tilpums no punkta, kurā saplūst šķīdinātāji, līdz injektora cilpas tilpumam, ieskaitot) ir aptuveni 6 ml, optimālais CMP_A aiztures laiks ir 26 ± 2 minūtes. Gradienta režīma sistēmām, kuru mirušais tilpums ir mazāks (piemēram, 2 ml), optimālajam aiztures laikam vajadzētu būt 22 minūtēm.*

Ņem šķīdumus, kas sagatavoti no standartparaugiem (5.4.) bez siera sūkalām un ar 50 % siera sūkalu.

100 μ l supernatanta vai filtrāta (8.3.3.) ievada HPLC iekārtā, kas darbojas 1. tabulā dotajos izmēģinājuma gradienta apstākļos.

1. tabula

Izmēģinājuma gradienta apstākļi hromatogrāfijas optimizēšanai

Laiks (min)	Plūsma (ml/min)	% A	% B	Likne
Sākums	1,0	90	10	*
27	1,0	60	40	lineāra
32	1,0	10	90	lineāra
37	1,0	10	90	lineāra
42	1,0	90	10	lineāra

Divu hromatogrammu salīdzinājumam būtu jāparāda CMP_A smailes atrašanās vieta.

Sākotnējo šķīdinātāja sastāvu, kas izmantojams normālajam gradientam (skatīt 8.4.3.), var aprēķināt pēc šādas formulas: $\% B = 10 - 2,5 + (13,5 + (RT_{cmpA} - 26) / 6) \times 30 / 27$ $\% B = 7,5 + (13,5 + (RT_{cmpA} - 26) / 6) \times 1,11$,

kur:

RT_{cmpA} : CMP_A aiztures laiks izmēģinājuma gradienta režīmā,

10: sākotnējais % B izmēģinājuma gradienta režīmā,

2,5: % B viduspunktā mīnus % B sākumpunktā normāla gradienta režīmā,

13,5: izmēģinājuma gradienta viduspunkta laiks,

26: prasītais CMP_A aiztures laiks,

6: izmēģinājuma gradienta un normālā gradienta slīpuma attiecība,

30: % B sākumpunktā mīnus % B pēc 27 minūtēm izmēģinājuma gradienta režīmā,

27: izmēģinājuma gradienta ilgums.

8.4.3. Ņem analizējamo paraugu šķīdumus

100 μ l precīzi nomērīta supernatanta vai filtrāta (8.3.3.) ievada HPLC iekārtā, kas darbojas ar plūsmas ātrumu 1,0 ml eluenta šķīduma (5.2.) minūtē.

Eluenta sastāvu analīžu sākumā nosaka saskaņā ar 8.4.2. punktu. Parasti tas ir tuvs attiecībai A:B = 76:24 (5.2.). Tūlīt pēc ievadīšanas sākas lineārais gradients, kura rezultātā pēc 27 minūtēm tiek sasniegta par 5 % lielāka B procentuālā daļa. Pēc tam sākas lineārais gradients, kura rezultātā eluenta sastāvs piecās minūtēs sasniedz 90 % B. Šādu sastāvu saglabā piecas minūtes, pēc tam piecu minūšu laikā lineārā gradienta režīmā to maina līdz sākotnējam sastāvam. Atkarībā no sūkņēšanas sistēmas iekšējā tilpuma nākamo ievadīšanu var veikt 15 minūtes pēc sākotnējo apstākļu sasniegšanas.

1. piezīme. CMP_A aiztures laikam vajadzētu būt 26 ± 2 minūtes. To var panākt, mainot pirmā gradienta sākuma un beigu apstākļus. Tomēr % B starpība pirmā gradienta sākuma un beigu apstākļos paliek 5 % B.

2. *piezīme.* Eluentiem vajadzētu būt pietiekami degazētiem, un tiem arī būtu jāpaliek degazētiem. Tas ir būtiski, lai gradienta režīma sūknēšanas sistēma darbotos pareizi. CMP_A smailes aiztures laika standartnovirzei vajadzētu būt mazākai par 0,1 minūti ($n = 10$).

3. *piezīme.* Pēc katriem pieciem paraugiem jāievada references paraugs [5], kas jāizmanto, lai aprēķinātu jauno atbildes koeficientu R (9.1.1.).

- 8.4.4. *Analizējamā parauga [E] hromatogrāfiskās analīzes rezultātus iegūst kā hromatogrammu, kurā CMP_A smaile nosaka pēc tās aiztures laika, kas ir aptuveni 26 minūtes.*

Integrators (6.11.6.) automātiski aprēķina CMP_A smailes augstumu H . Katrā hromatogrammā jāpārbauda bāzes līnijas atrašanās vieta. Ja bāzes līnija atrodas nepareizā vietā, analīze vai integrēšana ir jāatkārto.

Piezīme. Ja CMP_A smaile ir pietiekami atdalīta no citām smailēm, bāzes līniju novelk starp ieplakām, pretējā gadījumā pret kopējo bāzes līniju novelk perpendikulus, kuru sākumpunktam jābūt tuvu pie CMP_A smailes (tātad ne pie $t = 0$ min!). Standartam un analizējamajiem paraugiem izmanto viena veida integrēšanu, un kopējas bāzes līnijas gadījumā pārbauda tās atbilstību paraugiem un standartam.

Pirms kvantitatīvas interpretācijas ir svarīgi pārbaudīt katras hromatogrammas izskatu, lai konstatētu jebkādas novirzes aparātūras vai kolonnas nepareizas darbības vai analizējamā parauga izcelsmes vai īpašību dēļ. Šābu gadījumā analīzi atkārto.

8.5. Kalibrēšana

- 8.5.1. *Standartparaugiem (5.4.1.–5.4.2.) precīzi piemēro 8.2.–8.4.4. punktā aprakstīto procedūru. Izmanto svaigi sagatavotus šķīdumus, jo CMP 8 % trihloreiķskābes vidē istabas temperatūrā noārdās. Šķīdums saglabā stabilitāti 24 stundas 4 °C temperatūrā. Ja tiek veiktas garas analīžu virknes, automatiskajā injektorā vēlams izmantot dzesējamu paraugu paplāti.*

Piezīme. 8.4.2. punktu var izlaist, ja % B sākotnējos apstākļos ir zināms no iepriekšējām analīzēm.

References parauga [5] hromatogrammai vajadzētu būt analogai 1. attēlā parādītajai. Šajā attēlā pirms CMP_A smailes ir divas mazas smailes. Ir būtiski iegūt līdzīgu atdalīšanu.

- 8.5.2. *Pirms paraugu hromatogrāfiskās noteikšanas ievada 100 µl standartparauga bez siera sūkalām [0] (5.4.1.).*

CMP_A smailes aiztures laikā hromatogrammai nebūtu jāuzrāda smaile.

- 8.5.3. *Atbildes koeficientus R nosaka, ievadot tādu pašu filtrāta (8.5.1.) tilpumu, kāds izmantots paraugiem.*

9. REZULTĀTU IZTEIKŠANA

9.1. Aprēķināšanas metode un formulas

- 9.1.1. *Atbildes koeficienta R aprēķināšana*

$$CMP_A \text{ smaile: } R = W/H,$$

kur:

R = CMP_A smailes atbildes koeficients,

H = CMP_A smailes augstums,

W = sūkļu daudzums standartparaugā [5].

9.2. Siera sūkalu pulvera procentuālās daļas aprēķināšana paraugā

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

kur:

$W(E)$ = siera sūkalu procentuālā daļa (m/m) paraugā [E],

R = CMP_A smailes atbildes koeficients (9.1.1.),

$H(E)$ = parauga (E) CMP_A smailes augstums.

Siera sūkalu sausnas klātbūtni uzskata par konstatētu, ja $W(E)$ ir lielāks par 1 % un starpība starp tā aiztures laiku un standartparauga [5] aiztures laiku ir mazāka par 0,2 minūtēm.

9.3. Procedūras pareizums

9.3.1. Atkārtojamība

Starpība starp rezultātiem, ko viens un tas pats analizētājs iegūvis, veicot divas noteikšanas vienlaikus vai uzreiz vienu pēc otras, ar vienu un to pašu aparāturu testējot identisku materiālu, nepārsniedz 0,2 % (m/m).

9.3.2. Reproducējamība

Nav noteikta.

9.3.3. Linearitāte

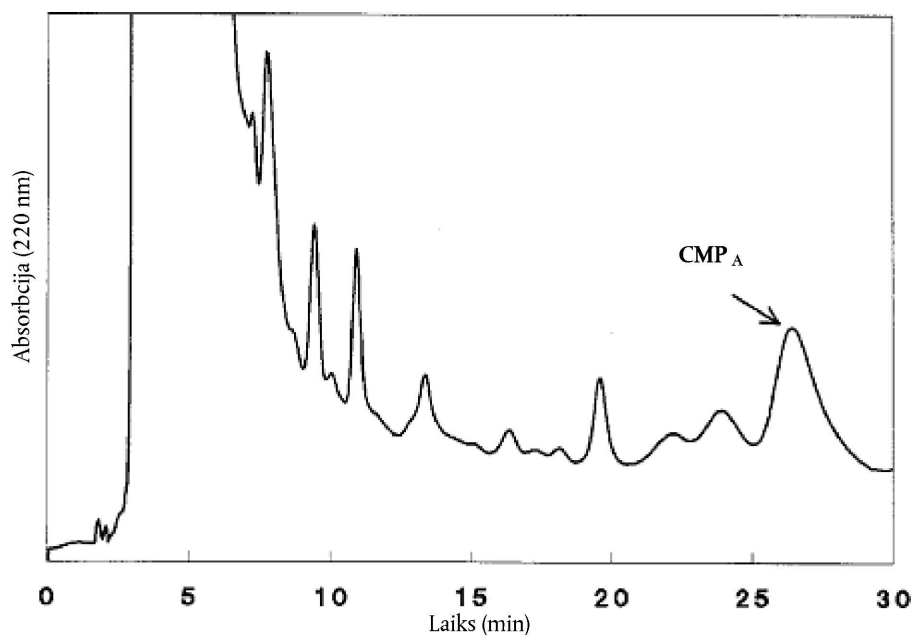
No 0 % līdz 16 % siera sūkalu jāiegūst lineāra attiecība ar korelācijas koeficientu > 0,99.

9.4. Interpretācija

1 % robeža ietver nenoteiktību reproducējamības dēļ.

1. attēls

Ni-4.6. standarts



(*) IDF starptautiskais standarts 135B/1991. Piens un piena produkti. Analītisko metožu precizitātes parametri. Starplaboratoriju pētījumu procedūras izklāsts."

3) pievieno šādus pielikumus:

“VI PIELIKUMS

Privātai uzglabāšanai paredzēta sviesta analīžu metodes

Parametrs	Metode
Tauki ⁽¹⁾	ISO 17189 vai ISO 3727 3. daļa
Ūdens	ISO 3727 1. daļa
Beztauku sausna (izņemot sāli)	ISO 3727 2. daļa
Sāls	ISO 15648

⁽¹⁾ Izmantojamo metodi apstiprina maksājumu aģentūra.

VII PIELIKUMS

Privātai uzglabāšanai paredzēta vājpiena pulvera analīžu metodes

Parametrs	Metode
Tauki	ISO 1736
Olbaltumvielas	ISO 8968 1. daļa
Ūdens	ISO 5537

VIII PIELIKUMS

Privātai uzglabāšanai paredzēta siera analīžu metodes

1. Papildinājumā izklāstīto analīžu metodi izmanto, lai pārlicinātos par to, ka siers, kas gatavots tikai no aitas piena, kazas piena vai bifelēmātes piena vai no aitas, kazas un bifelēmātes piena maisījuma, nesatur govus piena kazeīnu.

Uzskata, ka govus piena kazeīna klātbūtne ir konstatēta, ja govus piena kazeīna saturs analizētajā paraugā ir vienāds ar vai augstāks par tā saturu references paraugā, kas satur 1 % govus piena, kā noteikts papildinājumā.

2. Var lietot metodes, ar kurām detektē govus piena kazeīnu 1. punktā minētajos sieros, ja:
 - a) to detektēšanas robeža ir maksimāli 0,5 % un
 - b) ar tām nevar iegūt viltuspozitīvus rezultātus, un
 - c) govus piena kazeīns ir detektējams ar vajadzīgo jutību pat pēc ilgstošiem nogatavināšanas periodiem, kādi var gadīties parastos tirdzniecības apstākļos.

Ja minētie nosacījumi nav izpildīti, izmanto papildinājumā izklāstīto metodi.

—

Papildinājums

METODE GOVS PIENA UN KAZEINĀTA DETEKTĒŠANAI SIEROS, KAS GATAVOTI NO AITAS PIENA, KAZAS PIENA VAI BIFEĻMĀTES PIENA VAI NO AITAS, KAZAS UN BIFEĻMĀTES PIENA MAISĪJUMIEM

1. DARBĪBAS JOMA

Govs piena un kazeināta detektēšana sieros, kas gatavoti no aitas piena, kazas piena, bifeļmātes piena vai no aitas, kazas un bifeļmātes piena maisījumiem, ar γ -kazeīnu izoelektrisko fokusēšanu pēc plazminolīzes.

2. PIEMĒROŠANAS JOMA

Šī metode ir piemērota sensitīvai un specifiskai svaiga govs piena un termiski apstrādāta govs piena un kazeināta detektēšanai svaigos un nogatavinātos sieros, kas gatavoti no aitas piena, kazas piena, bifeļmātes piena vai no aitas, kazas un bifeļmātes piena maisījumiem. Tā nav piemērota, lai konstatētu, vai pienam un sieram ir piemaisīti termiski apstrādāti govs piena sūkalu olbaltumvielu koncentrāti.

3. METODES PRINCIPS

3.1. **Kazeīnu izolēšana no siera un references standartiem**3.2. **Izolēto kazeīnu šķīdināšana un šķelšana ar plazmīnu (EC.3.4.21.7.)**3.3. **Ar plazmīnu apstrādāto kazeīnu izoelektriskā fokusēšana urīnvielas klātbūtnē un olbaltumvielu iekrāsošana**3.4. **Iekrāsoto γ_3 un γ_2 kazeīna joslu (govs piena klātbūtnes pierādījums) novērtēšana, no parauga iegūtās joslas salīdzinot ar joslām, kas tajā pašā gelā iegūtas no references standartiem, kuri satur 0 % un 1 % govs piena.**

4. REAĢENTI

Ja vien nav norādīts citādi, izmanto analītiski tīras vielas. Izmanto divreiz destilētu ūdeni vai ūdeni ar līdzvērtīgu tīrību.

Piezīme. Turpmāk izklāstītās prasības attiecas uz laboratorijā sagatavotiem urīnvielu saturošiem poliakrilamīda gēliem, kuru izmēri ir 265 x 125 x 0,25 mm. Ja izmanto cita izmēra un cita veida gelu, atdalīšanas apstākļus var nākties koriģēt.

Izoelektriskā fokusēšana4.1. **Reaģenti urīnvielu saturošu poliakrilamīda gelu iegūšanai**4.1.1. *Gela izejšķīdums*

Ūdenī izšķīdina:

4,85 g akrilamīda,

0,15 g N, N'-metilēn-bis-akrilamīda (BIS),

48,05 g urīnvielas,

15,00 g glicerīna (87 masas %),

uzpilda līdz 100 ml, glabā ledusskapī brūna stikla pudelē.

Piezīme. Norādīto neirotoksisko akrilamīdu iesvaru vietā var izmantot iepriekš sajauktu akrilamīda/BIS šķīdumu, kas pieejams tirdzniecībā. Ja šāds šķīdums satur 30 % (w/v) akrilamīda un 0,8 % (w/v) BIS, norādīto iesvaru vietā izmanto 16,2 ml tilpumu. Izejšķīduma glabāšanas laiks ir ne ilgāks kā 10 dienas; ja tā vadītspēja ir lielāka par 5 μ S, to dejonizē, 30 minūtes maisot ar 2 g MB-3 amberlīta, tad filtrē caur 0,45 μ m membrānas filtru.

4.1.2. Gela šķīdums

Sagatavo gela šķīdumu, piedevas un amfolītus (*) samaisot ar gela izejšķīdumu (sk. 4.1.1.).

9,0 ml izejšķīduma,

24 mg β -alanīna,

500 μ l amfolīta pH 3,5–9,5,

250 μ l amfolīta pH 5–7,

250 μ l amfolīta pH 6–8.

Gela šķīdumu divas līdz trīs minūtes maisa un degazē ultraskaņas vannā vai vakuumā.

Piezīme. Gela šķīdumu sagatavo tieši pirms tā uzliešanas (sk. 6.2. punktu).

4.1.3. Katalizatora šķīdumi

4.1.3.1. N, N, N', N' – tetrametiletēlēndiamīns (Temed)

4.1.3.2. 40 % (w/v) amonija persulfāts (PER):

ūdenī izšķīdina 800 mg PER un uzpilda līdz 2 ml.

Piezīme. Vienmēr izmanto svaigi sagatavotu PER šķīdumu.

4.2. Kontakšķīdums

Petroleja vai šķidrās parafīns

4.3. Anoda šķīdums

Ūdenī izšķīdina 5,77 g fosforskābes (85 masas %) un atšķaida līdz 100 ml.

4.4. Katoda šķīdums

Ūdenī izšķīdina 2,00 g nātrija hidroksīda un atšķaida ar ūdeni līdz 100 ml.

Parauga sagatavošana

4.5. Reāģenti olbaltumvielu izolēšanai

4.5.1. Atšķaida etiķskābi (25,0 ml ledus etiķskābes uzpilda ar ūdeni līdz 100 ml).

4.5.2. Dihlormetāns

4.5.3. Acetons

4.6. Olbaltumvielas šķīdinošs buferšķīdums

Ūdenī izšķīdina

5,75 g glicerīna (87 masas %),

24,03 g urīnvielas,

250 mg ditiotreitola

un uzpilda līdz 50 ml.

Piezīme. Uzglabā ledusskapī, maksimālais glabāšanas laiks ir viena nedēļa.

4.7. Reaģenti kazeīnu šķelšanai ar plazmīnu**4.7.1. Amonija karbonāta buferšķīdums**

0,2 mol/l amonija hidrogēnkarbonāta šķīduma (1,58 g/100 ml ūdens), kas satur 0,05 mol/l etilēndiamīntetraetiķskābes (EDTA, 1,46 g/100 ml), ar 0,2 mol/l amonija karbonāta šķīdumu (1,92 g/100 ml ūdens), kas satur 0,05 mol/l EDTA, titrē līdz pH 8.

4.7.2. Liellopu plazmīns (EC. 3.4.21.7) ar vismaz 5 vien./ml aktivitāti.**4.7.3. ϵ -aminokapronskābes šķīdums fermentu inhibēšanai**

2,624 g ϵ -aminokapronskābes (6 amino-n-heksānskābe) izšķīdina 100 ml 40 % (v/v) etanola.

4.8. Standarti**4.8.1. Sertificētus references standartus maisījumam no aitas un kazas vājpiena, kas sarecināts ar himozīnu un satur 0 % un 1 % govs piena, var iegādāties Komisijas References materiālu un mērījumu institūtā (Institute for Reference Materials and Measurements, B-2440 Geel, Belgium).****4.8.2. Laboratorijas pagaidu standartu sagatavošana no bifelēmātes piena, kas sarecināts ar himozīnu un satur 0 % un 1 % govs piena**

Vājpienu sagatavo, 37 °C temperatūrā 20 minūtes ar 2 500 g centrifugējot neapstrādāta nefasēta bifelēmātes vai govs piena. Pēc tam mēģeni un tās saturu strauji atdzesē līdz 6–8 °C, tad pilnībā noņem virsējo tauku slāni. Lai pagatavotu 1 % standartu, 1 l vārglāzē 495 ml bifelēmātes vājpiena pievieno 5,00 ml govs vājpiena un, pievienojot atšķaidītu pienskābi (10 % w/v), koriģē pH uz 6,4. Noregulē temperatūru uz 35 °C un pievieno 100 μ l teļa himozīna (himoziņa aktivitāte 1:10 000, aptuveni 3 000 vien./ml), maisa 1 minūti, pārklāj vārglāzi ar alumīnija foliju un vienu stundu atstāj 35 °C temperatūrā, ļaujot veidoties rūgušpiena biežmasai. Kad rūgušpiena biežmasa izveidojusies, visu ar himozīnu sarecināto pienu liofilizē bez iepriekšējas homogenizācijas vai sūkļu notecināšanas. Pēc liofilizēšanas to sasmalcina, lai iegūtu viendabīgu pulveri. Lai sagatavotu 0 % standartu, veic to pašu procedūru, izmantojot tīru bifelēmātes vājpienu. Standartus uzglabā – 20 °C temperatūrā.

Piezīme. Pirms standartu sagatavošanas ir ieteicams pārbaudīt bifelēmātes piena tīrību, veicot ar plazmīnu apstrādāto kazeīnu izoelektrisko fokusēšanu.

Reaģenti olbaltumvielu iekrāsošanai**4.9. Fiksators**

Ūdenī izšķīdina 150 g trihloretīķskābes un uzpilda līdz 1 000 ml.

4.10. Atrāsājošais šķīdums

500 ml metanola un 200 ml ledus etiķskābes ar destilētu ūdeni atšķaida līdz 2 000 ml.

Piezīme. Katru dienu sagatavo svaigu atrāsājošo šķīdumu; to var sagatavot, sajaucot vienādus 50 % (v/v) metanola un 20 % (v/v) ledus etiķskābes izejšķīdumu tilpumus.

4.11. Iekrāsājošie šķīdumi**4.11.1. Iekrāsājošais šķīdums (1. izejšķīdums)**

Izmantojot magnētisko maisītāju (aptuveni 45 minūtes), 3,0 g Coomassie briljanzilā G-250 (C.I. 42655) izšķīdina 1 000 ml 90 % (v/v) metanola un izfiltrē caur diviem vidēji ātras filtrācijas kroku filtriem.

4.11.2. Iekrāsājošais šķīdums (2. izejšķīdums)

5,0 g vara sulfāta pentahidrāta izšķīdina 1 000 ml 20 % (v/v) etiķskābes.

4.11.3. Iekrāsājošais šķīdums (darba šķīdums)

Tieši pirms iekrāsošanas sajauc kopā 125 ml katra izejšķīduma (4.11.1. un 4.11.2.).

Piezīme. Iekrāsājošais šķīdums jāgatavo tā izmantošanas dienā.

5. IEKĀRTA
- 5.1. **Stikla plates (265 × 125 × 4 mm); gumijas veltnis (platums 15 cm); līmeņojams galds**
- 5.2. **Gela nesējloksne (265 × 125 mm)**
- 5.3. **Segloksne (280 × 125 mm); katrai garajai malai pielīmē līmlentes sloksni (280 × 6 × 0,25 mm) (sk. 1. attēlu)**
- 5.4. **Elektrofokusešanas kamera ar dzesēšanas plati (piem., 265 × 125 mm) un piemērotu strāvas avotu (≥ 2,5 kV) vai automātiska elektroforēzes ierīce**
- 5.5. **Termostatējams cirkulācijas kriostats, noregulēts uz 12 ± 0,5 °C**
- 5.6. **Centrifūga, noregulējama uz 3 000 g**
- 5.7. **Elektrodu plāksnes (≥ 265 mm garas)**
- 5.8. **Plastmasas pilināmās pudeles anoda un katoda šķīdumiem**
- 5.9. **Parauga aplikatori (10 × 5 mm, viskoze vai filtrpapīrs ar zemu olbaltumvielu adsorbētspēju)**
- 5.10. **Nerūsējošā tērauda vai stikla iekrāsošanas un atkrāsošanas trauki (piem., 280 × 150 mm instrumentu paplātes)**
- 5.12. **Regulējams stieņa homogenizators (vārpstas diametrs 10 mm), 8 000–20 000 apgr./min.**
- 5.13. **Magnētiskais maisītājs**
- 5.14. **Ultraskaņas vanna**
- 5.15. **Plēves sakausētājs**
- 5.16. **Mikropipetes, 25 µl**
- 5.17. **Vakuumentrifūga vai liofilizators**
- 5.18. **Termostatējama ūdens vanna, kas noregulējama uz 35 un 40 ± 1 °C, ar kratītāju**
- 5.19. **Densitometrs, kura rādījumi nolasāmi pie $\lambda = 634$ nm**
6. PROCEDŪRA
- 6.1. **Parauga sagatavošana**
- 6.1.1. *Kazeīnu izolēšana*

Centrifūgas mēģenē ar 100 ml ietilpību iesver 5 g sausās masas ekvivalentu siera vai references standarta daudzumu, pievieno 60 ml destilēta ūdens un homogenizē ar stieņa homogenizatoru (8 000–10 000 apgr./min.). Ar atšķaidītu etiķskābi (4.5.1.) koriģē pH uz 4,6 un centrifugē (5 minūtes, 3 000 g). Dekantē taukus un sūkalas, atlikumu ar 20 000 apgr./min. homogenizē 40 ml destilēta ūdens, kura pH ar atšķaidītu etiķskābi (4.5.1.) koriģēts uz 4,5, pievieno 20 ml dihlormetāna (4.5.2.), atkal homogenizē un centrifugē (5 min, 3 000 g). Ar lāpstīņu noņem kazeīna slāni, kas atrodas starp ūdens fāzi un organisko fāzi (sk. 2. attēlu), un abas fāzes dekantē. Kazeīnu rehomogenizē 40 ml destilēta ūdens (sk. iepriekš) un 20 ml dihlormetāna (4.5.2.) un centrifugē. Šo procedūru atkārto, līdz abas ekstrakcijas fāzes ir bezkrāsainas (divas līdz trīs reizes). Olbaltumvielu atlikumu homogenizē ar 50 ml acetona (4.5.3.) un filtrē caur vidēji ātras filtrācijas kroku filtrpapīru. Katru reizi atlikumu mazgā uz filtra ar divām atsevišķām 25 ml acetona porcijām un ļauj nožūt gaisā vai žāvē ar slāpekļa plūsmu, tad pietā saberž smalkā pulverī.

Piezīme. Sausie kazeīna izolāti jāglabā – 20 °C temperatūrā.

- 6.1.2. *β-kazeīnu šķelšana ar plazmīnu, lai palielinātu γ-kazeīnu koncentrāciju*

25 mg izolēto kazeīnu (6.1.1.) disperģē 0,5 ml amonija karbonāta buferšķīduma (4.7.1.) un homogenizē 20 minūtes, piemēram, apstrādājot ar ultraskaņu. Uzkaršē līdz 40 °C un pievieno 10 µl plazmīna (4.7.2.), samaisa un 40 °C temperatūrā vienu stundu inkubē, nepārtraukti kratot. Lai inhibētu fermentu, pievieno 20 µl ε-aminokapronskābes šķīduma (4.7.3.), tad pievieno 200 mg cietās urīnvielas un 2 mg ditiotreitola.

Piezīme. Lai iegūtu lielāku simetriju fokusētajās kazeīna joslās, pēc ε-aminokapronskābes pievienošanas šķīdumu ieteicams liofilizēt un tad izšķīdināt atlikumu 0,5 ml olbaltumvielas šķīdinošā buferšķīduma (4.6.).

6.2. Urīnvielu saturošu poliakrilamīda gelu sagatavošana

Ar dažu ūdens pilienu palīdzību gela nesējloksni (5.2.) izveltnē uz stikla plates (5.1.), ar papīra dvieli vai salveti nosusina lieko ūdeni. Tādā pašā veidā uz citas stikla plates izveltnē segloksni (5.3.) ar starplikām (0,25 mm). Plati novieto horizontāli uz līmeņojama galda.

Sagatavotajam un atgaisotajam gela šķīdumam (4.1.2.) pievieno 10 μ l Temed (4.1.3.1.), samaisa un pievieno 10 μ l PER šķīduma (4.1.3.2.), rūpīgi samaisa un tūlīt vienmērīgi izlej segloksnes centrā. Vienu gela nesējplates malu (ar loksnī uz leju) novieto uz segloksnes plates un lēnām pieliec, lai starp loksnēm veidotos vienmērīga gela kārtā bez gaisa pūslīšiem (3. attēls). Izmantojot plānu lāpstiņu, gela nesējplati uzmanīgi noliec pilnībā un uz tās novieto vēl trīs stikla plates smagumam. Kad polimerizācija ir beigusies (aptuveni pēc 60 minūtēm), uz gela nesējloksnes polimerizējušos gelu noņem kopā segloksni, atdalot stikla plates. Nesējloksnes otru pusi rūpīgi notīra, lai noņemtu gela atliekas un urīnvielu. Gela "sendviča" garākās malas sakausē kopā, lai izveidotos caurulīte, un to uzglabā ledusskapī (ne ilgāk par sešām nedēļām).

Piezīme. Segloksni ar starplikām var izmantot atkārtoti. Poliakrilamīda gelu var sagriezt mazākos gabalos, tas ir ieteicams, ja ir maz paraugu vai ja izmanto automātisku elektroforēzes ierīci (divi geli, izmēri 4,5 × 5 cm).

6.3. Izoelektriskā fokusēšana

Dzesēšanas termostatu iestata uz 12 °C. Gela nesējloksnes otru pusi noslauka ar petroleju, pēc tam dažus pilienus petrolejas iepilina (4.2.) dzesēšanas bloka centrā. Pēc tam uz tā izveltnē gela "sendviču" ar nesējloksni uz leju, raugoties, lai neveidotos gaisa pūslīši. Noslauka lieko petroleju un noņem segloksni. Elektrodu plāksnes samērcē ar anoda šķīdumu un katoda šķīdumu (4.3. un 4.4.), nogriež tās gela garumā un novieto paredzētajā stāvoklī (attālums starp elektrodiem 9,5 cm).

Izoelektriskās fokusēšanas apstākļi

6.3.1. Gela izmēri 265 × 125 × 0,25 mm

Solis	Laiks (min.)	Spriegums (V)	Strāvas stiprums (mA)	Jauda (W)	Voltstundas (Vh)
1. Priekšfokusēšana	30	maksimāli 2 500	maksimāli 15	konstanta 4	aptuveni 300
2. Parauga fokusēšana ⁽¹⁾	60	maksimāli 2 500	maksimāli 15	konstanta 4	aptuveni 1 000
3. Nobeiguma fokusēšana	60	maksimāli 2 500	maksimāli 5	maksimāli 20	aptuveni 3 000
	40	maksimāli 2 500	maksimāli 6	maksimāli 20	aptuveni 3 000
	30	maksimāli 2 500	maksimāli 7	maksimāli 25	aptuveni 3 000

⁽¹⁾ Parauga aplicēšana: pēc priekšfokusēšanas (1. solis) ar pipeti 18 μ l paraugšķīduma un standartšķīduma uzpilina uz parauga aplikatoriem (10 × 5 mm), novieto tos uz gela 1 mm attālumā vienu no otra un garenvirzienā 5 mm attālumā no anoda un viegli piespiež. Fokusēšanu veic iepriekš aprakstītajos apstākļos, pēc 60 minūšu ilgā parauga fokusēšanas parauga aplikatorus uzmanīgi noņem.

Piezīme. Ja maina gela biežumu vai platumu, attiecīgi jākorrigē strāvas stiprums un jauda (piemēram, ja izmanto gelu, kura izmēri ir 265 × 125 × 0,5 mm, strāvas stiprums un jauda jādivkāršo).

- 6.3.2. *Sprieguma programmas piemērs automātiskajai elektroforēzes ierīcei (2 geli, izmēri 5,0 × 4,5 cm), elektrodus novieto tieši uz gela (bez elektrodu plāksnēm)*

Solis	Spriegums	Strāvas stiprums	Jauda	Temperatūra	Voltstundas
1. Priekšfokusēšana	1 000 V	10,0 mA	3,5 W	8 °C	85 Vh
2. Parauga fokusēšana	250 V	5,0 mA	2,5 W	8 °C	30 Vh
3. Fokusēšana	1 200 V	10,0 mA	3,5 W	8 °C	80 Vh
4. Fokusēšana	1 500 V	5,0 mA	7,0 W	8 °C	570 Vh

2. solī parauga aplikatoru uzliek pie 0 Vh.

2. solī parauga aplikatoru noņem pie 30 Vh.

6.4. **Olbaltumvielu iekrāsošana**

6.4.1. *Olbaltumvielu fiksēšana*

Tūlīt pēc strāvas padeves pārtraukšanas elektrodu plāksnes noņem, un gelu tūlīt ievieto iekrāsošanas / atkrāsošanas traukā, kurā iepildīti 200 ml fiksatora (4.9.); atstāj tajā uz 15 minūtēm, nepārtraukti krata.

6.4.2. *Gela plates mazgāšana un iekrāsošana*

Kārtīgi notecina fiksatoru, gela plati mazgā divreiz pa 30 sekundēm, katru reizi izmantojot 100 ml atkrāsošanas šķīduma (4.10.). Nolej atkrāsošanas šķīdumu un piepilda trauku ar 250 ml iekrāsošanas šķīduma (4.11.3.); viegli kratot, ļauj iekrāsties 45 minūtes.

6.4.3. *Gela plates atkrāsošana*

Nolej iekrāsošanas šķīdumu, gela plati divreiz mazgā, katru reizi izmantojot 100 ml atkrāsošanas šķīduma (4.10.), tad 15 minūtes krata kopā ar 200 ml atkrāsošanas šķīduma; atkrāsošanas procedūru atkārto vismaz divas vai trīs reizes, līdz pamats ir tīrs un bezkrāsains. Pēc tam gela plati skalo ar destilētu ūdeni (2 × 2 minūtes) un žāvē gaisā (2–3 stundas) vai ar fēnu (10–15 minūtes).

1. piezīme. Fiksēšanu, mazgāšanu, iekrāsošanu un atkrāsošanu veic 20 °C temperatūrā. To neveic paaugstinātā temperatūrā.

2. piezīme. Ja dod priekšroku jutīgākai iekrāsošanai ar sudrabu (piemēram, Silver Staining Kit, Protein, Pharmacia Biotech, Code No 17-1150-01), ar plazmīnu apstrādātie kazeīna paraugi jāatšķaida līdz 5 mg/ml.

7. IZVĒRTĒŠANA

Izvērtēšanu veic, nezināma sastāva parauga olbaltumvielu joslas salīdzinot ar references standartu joslām uz tā paša gela. Govs piena detektēšanu sieros, kas gatavoti no aitas piena, kazas piena un bifeljmātes piena vai no aitas, kazas un bifeljmātes piena maisījumiem, veic, nosakot γ_3 - un γ_2 -kazeīnus, kuru izoelektriskie punkti izvietojas starp pH 6,5 un pH 7,5 (4.a, 4.b un 5. attēls). Detektēšanas robeža ir mazāka par 0,5 %.

7.1. **Vizuāla novērtēšana**

Ja veic govs piena daudzuma vizuālo novērtēšanu, paraugu un standartu koncentrācijas ieteicams koriģēt, lai aitas, kazas un/vai bifeljmātes γ_2 - un γ_3 - kazeīna koncentrācija būtu tāda pati (sk. " γ_2 E, G, B" un " γ_3 E, G, B" 4.a, 4.b un 5. attēlā). Pēc tam par govs piena daudzumu (mazāks par, vienāds ar vai lielāks par 1 %) nezināma sastāva paraugā var spriest tieši, govs piena γ_3 - un γ_2 -kazeīna koncentrāciju (sk. " γ_3 C" un " γ_2 C" 4.a, 4.b un 5. attēlā) salīdzinot ar koncentrāciju 0 % un 1 % references standartos (aitas, kazas piens) vai laboratorijas pagaidu standartos (bifeljmātes piens).

7.2. Densitometriskā novērtēšana

Lai noteiktu govju piena γ_2 - un γ_3 -kazeīna smailes laukuma attiecību pret aitas, kazas un/vai bifeļmātes piena γ_2 - un γ_3 -kazeīna smailes laukumu (sk. 5. attēlu), izmanto densitometru (5.19.), ja pieejams. Šo lielumu salīdzina ar tā 1 % references standarta (aitas, kazas piens) vai tā laboratorijas pagaidu standarta (bifeļmātes piens) γ_2 - un γ_3 -kazeīna smailes laukuma attiecību, kas analizēts uz tā paša gela.

Piezīme. Metode darbojas apmierinoši, ja 1 % references standartā iegūst skaidru pozitīvu signālu par govju piena γ_2 - un γ_3 -kazeīniem, bet 0 % references standartā to neiegūst. Ja tā nav, procedūru optimizē, precīzi ievērojot metodes norādījumus.

Paraugu uzskata par pozitīvu, ja govju piena γ_2 - un γ_3 -kazeīnu vai atbilstošo smaīļu laukumu attiecības ir vienādas ar vai lielākas par 1 % references standarta līmeni.

8. ATSAUCES

Addeo F., Moio L., Chianese L., Stingo C., Resmini P., Berner I., Krause I., Di Luccia A., Bocca A.: Use of plasmin to increase the sensitivity of the detection of bovine milk in ovine and/or caprine cheese by gel isoelectric focusing of γ_2 -caseins. *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).

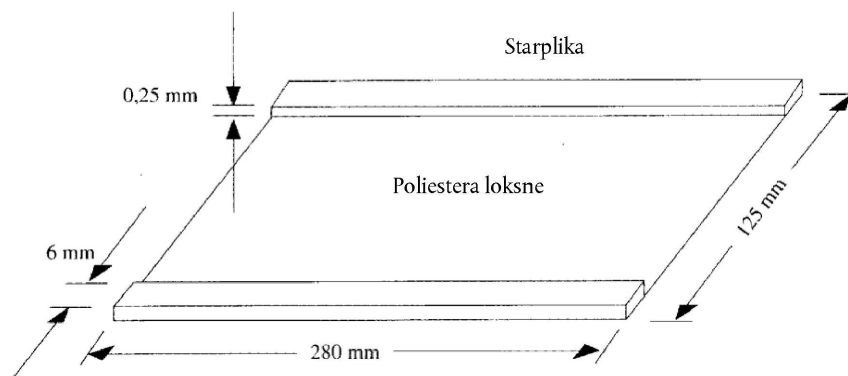
Krause I., Berner I., Klostermeyer H.: Sensitive detection of cow milk in ewe and goat milk and cheese by carrier ampholyte — and carrier ampholyte/immobilized pH gradient — isoelectric focusing of γ -caseins using plasmin as signal amplifier. in: *Electrophoresis-Forum 89* (B. J. Radola, ed.) pp 389-393, 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 μ m polyacrylamide gels on silanised glass plates or polyester films. *Electrophoresis* 1, 43-56 (1980).

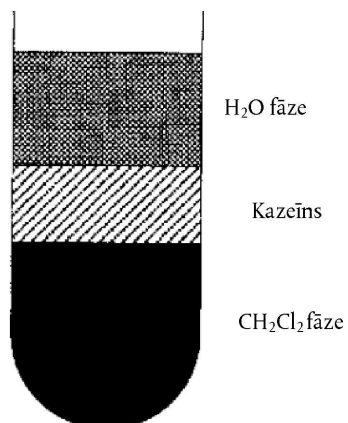
1. attēls.

Shematiskais segloksnes attēlojums



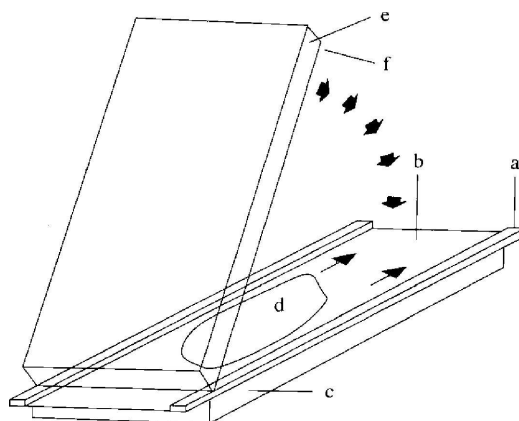
2. attēls.

Kazeīna slānis, kas pēc centrifugēšanas atrodas starp ūdens fāzi un organisko fāzi



3. attēls.

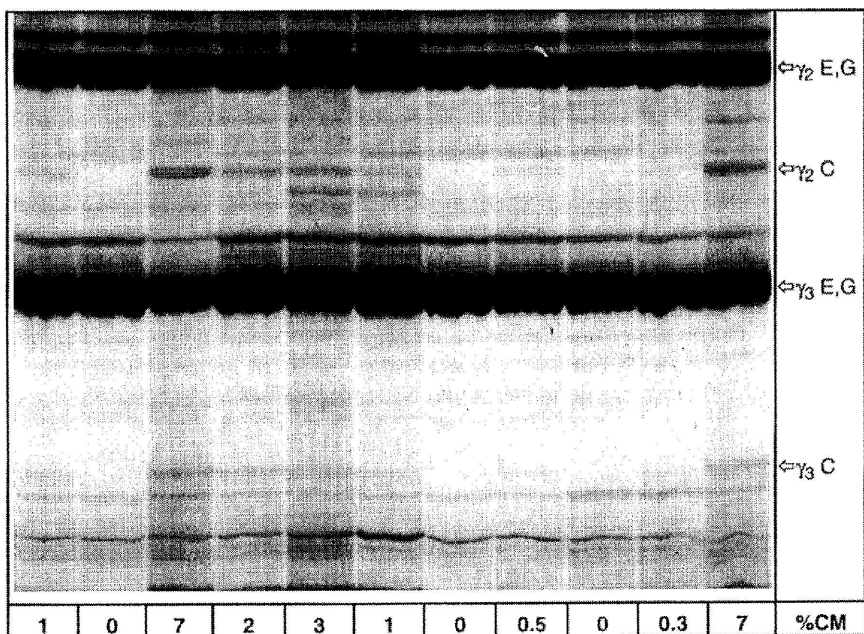
Noliešanas paņēmiens, ko izmanto ultraplānu poliakrilamīda gelu iegūšanai



a = starplika (0,25 mm), b = segloksne (5.3.), c, e = stikla plates (5.1.), d = gela šķīdums (4.1.2.), f = gela nesējloksne (5.2.)

4.a attēls

Ar plazmīnu apstrādātu kazeīnu izoelektriskā fokusēšana no siera, kas gatavots no aitas piena un kazas piena un satur dažādus govju piena daudzumus

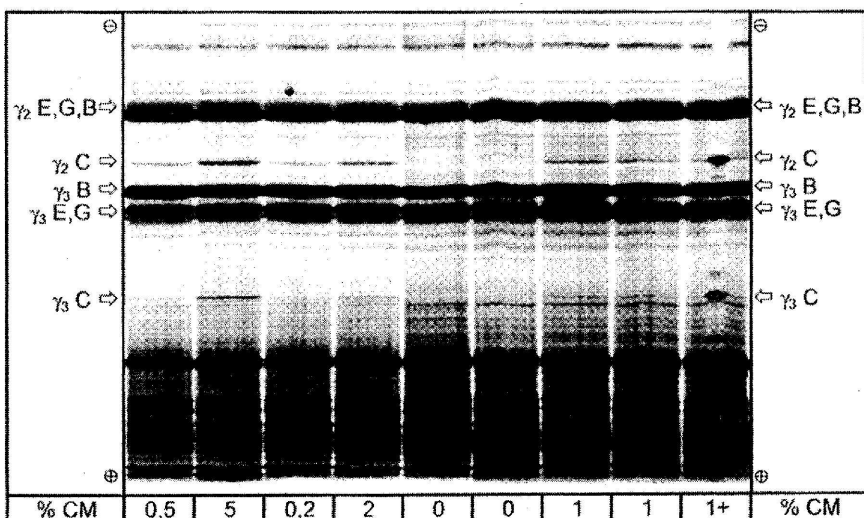


% CM = govju piena procentuālā daļa, C = govju, E = aita, G = kaza

Parādīta IEF gela augšējā daļa.

4.b attēls

Ar plazmīnu apstrādātu kazeīnu izoelektriskā fokusēšana no siera, kas gatavots no aitas, kazas un bifeļmātes piena maisījumiem, kuri satur dažādus govju piena daudzumus

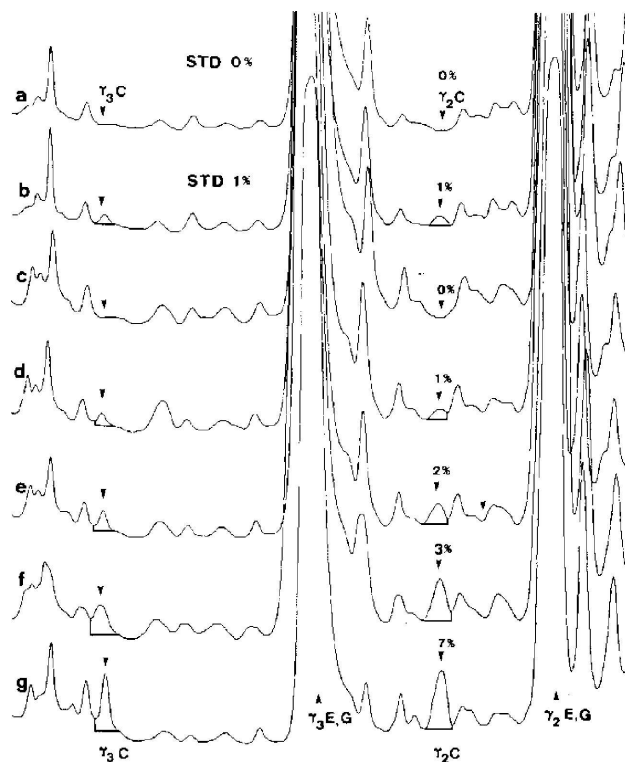


% CM = govju piena procentuālā daļa, 1+ = paraugs, kas satur 1 % govju piena un kam piemaisīts tīrs govju piena kazeīns, kurš parādās joslas vidū. C = govju, E = aita, G = kaza, B = bifeļmāte

Parādīts IEF gela kopējais atdalīšanas attēls.

5. attēls.

Standartu densitogrammu (STD) un no aitas un kazas piena maisījuma gatavota siera paraugu densitogrammu superpozīcija pēc izoelektriskās fokusēšanas



a, b = standarti, kas satur 0 % un 1 % govju piena, c–g = siera paraugi, kas satur 0 %, 1 %, 2 %, 3 % un 7 % govju piena. C = govju, E = aita, G = kaza.

IEF gela augšējā daļa skenēta pie $\lambda = 634$ nm.

IX PIELIKUMS

Analīžu izvērtēšana**1. Kvalitātes nodrošināšana**

Analīzes veic laboratorijās, kas izraudzītas saskaņā ar Regulas (EK) Nr. 882/2004 (**). 12. pantu vai ko norīkojušas dalībvalsts kompetentās iestādes.

2. Paraugu ņemšana un strīdi par analīžu rezultātiem

1. Paraugu ņemšanu veic saskaņā ar attiecīgajam produktam piemērojamo regulējumu. Ja paraugu ņemšanas noteikumi nav skaidri noteikti, izmanto ISO 707 "Piens un piena produkti. Norādījumi par paraugu ņemšanu" noteikumus.
2. Laboratorijas ziņojumos par analīžu rezultātiem iekļauj informāciju, kas ir pietiekama, lai varētu veikt rezultātu izvērtēšanu saskaņā ar papildinājumu.
3. Savienības noteikumos prasīto analīžu vajadzībām ņem dubultparaugus.
4. Ja rodas strīds par rezultātiem, maksājumu aģentūra prasa vēlreiz veikt attiecīgā produkta analīzi, un izmaksas sedz zaudētāja puse.

Minēto analīzi veic ar nosacījumu, ka ir pieejami aizzīmogoti produkta paraugu dublikāti, kurus ir pienācīgi uzglabājuši kompetentā iestāde. Pieprasījumu veikt analīzi ražotājs nosūta maksājumu aģentūrai 7 darbdienu laikā pēc pirmās analīzes rezultātu paziņošanas. Maksājumu aģentūra analīzi veic 21 darbdienu laikā pēc pieprasījuma saņemšanas.

5. Pārsūdzības rezultāts ir galīgs.
6. Ja piecu darbdienu laikā pēc paraugu ņemšanas ražotājs var pierādīt, ka paraugu ņemšana nav veikta pareizi, to atkārti, ja vien tas iespējams. Ja paraugu ņemšanu atkārtot nevar, sūtījums jāakceptē.

Papildinājums

Sūtījuma atbilstības normatīvajām robežvērtībām izvērtēšana**1. Princips**

Ja tiesību aktos par valsts intervenci un privāto uzglabāšanu ir noteiktas sīki izstrādātas paraugu ņemšanas procedūras, ievēro minētās procedūras. Visos citos gadījumos izmanto paraugu, kas sastāv no vismaz 3 parauga vienībām, kas izlases veidā paņemtas no kontrolei nodotā preču sūtījuma. Var sagatavot apvienotu paraugu. Iegūto rezultātu salīdzina ar normatīvajām robežvērtībām, aprēķinot 95 % ticamības intervālu kā divkāršu standartnovirzi; attiecīgā standartnovirze ir atkarīga no tā, vai 1) metode ir validēta starptautiskā sadarbībā ar σ_r un σ_R vērtībām, vai 2) iekšējās validācijas gadījumā ir aprēķināta iekšējā reproducējamība. Tad šis ticamības intervāls būs vienāds ar rezultāta mērījumu nenoteiktību.

2. Starptautiskā sadarbībā validēta metode

Šādā gadījumā ir noteikta atkārtojamības standartnovirze σ_r un reproducējamības standartnovirze σ_R , un laboratorija var apliecināt validētās metodes atbilstību veikspējas raksturlielumiem.

Aprēķina vidējo aritmētisko \bar{x} no n atkārtotiem mērījumiem.

Paplašināto nenoteiktību ($k = 2$) no \bar{x} aprēķina kā

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

Ja mērījuma galīgo rezultātu x aprēķina pēc formulas $x = y_1 + y_2$, $x = y_1 - y_2$, $x = y_1 \cdot y_2$ vai $x = y_1/y_2$, jāievēro parastā standartnoviržu apvienošanas procedūra.

Uzskata, ka sūtījums neatbilst augšējai normatīvajai robežvērtībai UL, ja:

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

pretējā gadījumā uzskata, ka tas atbilst UL.

Uzskata, ka preču sūtījums neatbilst apakšējai normatīvajai robežvērtībai LL, ja

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

pretējā gadījumā uzskata, ka tas atbilst LL.

3. Iekšējā validēšana ar iekšējās reproducējamības standartnovirzes aprēķināšanu

Ja tiek izmantotas šajā regulā nenorādītas metodes un precizitātes mērījumi nav veikti, veic iekšējo validēšanu. Izvērstās nenoteiktības U aprēķināšanai formulā attiecīgi σ_r un σ_R vietā lieto iekšējās atkārtojamības standartnovirzi s_r un iekšējās reproducējamības standartnovirzi s_{iR} .

Lai noteiktu atbilstību normatīvajām robežvērtībām, jāievēro 1. punktā izklāstītie noteikumi. Tomēr, ja preču sūtījums ir novērtēts kā normatīvajai robežvērtībai neatbilstošs, mērījumus atkārtoti ar šajā regulā norādīto metodi un rezultātu izvērtē saskaņā ar 1. punktu.

(*) Ir apstiprināts, ka Ampholine® pH 3,5–9,5 (*Pharmacia*) un Resolyte® pH 5–7 un pH 6–8 (*BDH, Merck*) ir īpaši piemērots, lai iegūtu vajadzīgo γ -kazeīnu atdalīšanu.

(**) Eiropas Parlamenta un Padomes 2004. gada 29. aprīļa Regula (EK) Nr. 882/2004 par oficiālo kontroli, ko veic, lai nodrošinātu atbilstības pārbaudi saistībā ar dzīvnieku barības un pārtikas aprites tiesību aktiem un dzīvnieku veselības un dzīvnieku labturības noteikumiem (OV L 165, 30.4.2004., 1.lpp.)."

KOMISIJAS ĪSTENOŠANAS REGULA (ES) 2018/151**(2018. gada 30. janvāris),**

ar ko paredz noteikumus Eiropas Parlamenta un Padomes Direktīvas (ES) 2016/1148 piemērošanai attiecībā uz tādu elementu precizēšanu, kuri jāņem vērā digitālo pakalpojumu sniedzējiem, lai pārvaldītu riskus, kas tiek radīti tīklu un informācijas sistēmu drošībai, un tādu rādītāju precizēšanu, kuri jāņem vērā, lai noteiktu, vai incidentam ir būtiska ietekme

EIROPAS KOMISIJA,

ņemot vērā Līgumu par Eiropas Savienības darbību,

ņemot vērā Eiropas Parlamenta un Padomes 2016. gada 6. jūlija Direktīvu (ES) 2016/1148 par pasākumiem nolūkā panākt vienādi augsta līmeņa tīklu un informācijas sistēmu drošību visā Savienībā ⁽¹⁾ un jo īpaši tās 16. panta 8. punktu,

tā kā:

- (1) Saskaņā ar Direktīvu (ES) 2016/1148 digitālo pakalpojumu sniedzēji saglabā rīcības brīvību veikt tehniskus un organizatoriskus pasākumus, kurus uzskata par atbilstīgiem un samērīgiem, lai pārvaldītu risku, kas tiek radīts to tīklu un informācijas sistēmu drošībai, ar nosacījumu, ka minētie pasākumi nodrošina pienācīgu drošības līmeni un tajos ņemti vērā minētajā direktīvā noteiktie elementi.
- (2) Nosakot atbilstīgus un samērīgus tehniskus un organizatoriskus pasākumus, digitālo pakalpojumu sniedzējam informācijas drošība būtu jāskata sistēmiski, izmantojot uz risku balstītu pieeju.
- (3) Lai nodrošinātu sistēmu un iekārtu drošību, digitālo pakalpojumu sniedzējiem būtu jāveic novērtēšanas un analīzes procedūras. Šīm darbībām būtu jāattiecas uz tīklu un informācijas sistēmu sistemātisku pārvaldību, fizisko un vides drošību, piegādes drošību un piekļuves kontroli.
- (4) Digitālo pakalpojumu sniedzēji būtu jānodrošina, veicot riska analīzi tīklu un informācijas sistēmu sistemātiskā pārvaldībā, identificēt konkrētus riskus un skaitliski izmērīt to būtiskumu, piemēram, identificējot svarīgākajiem objektiem radītu apdraudējumu, nosakot, kā tas var ietekmēt darbības, kā arī to, kā labāk novērst minēto apdraudējumu, izmantojot pašreizējās spējas un vajadzīgos resursus.
- (5) Cilvēkresursu politika varētu attiekties uz prasmju pārvaldību, ieskaitot aspektus, kuri saistīti ar tādu prasmju pilnveidi, kas attiecas uz drošību, un informētības uzlabošanu. Digitālo pakalpojumu sniedzēji būtu jānodrošina, lemjot par atbilstīgu politiku attiecībā uz darbības drošību, ņemot vērā izmaiņu pārvaldības, ievainojamības pārvaldības, darbības un administratīvās prakses formalizēšanas un sistēmas kartēšanas aspektus.
- (6) Politika, kas attiecas uz drošības arhitektūru, jo īpaši varētu aptvert tīklu un sistēmu nodalīšanu, kā arī konkrētus drošības pasākumus svarīgākajām darbībām, piemēram, administrēšanas darbībām. Tīklu un sistēmu nodalīšana varētu ļaut digitālo pakalpojumu sniedzējam tādus elementus kā datu plūsmas nošķirt no skaitļošanas resursiem, kas pieder klientam, klientu grupai, digitālo pakalpojumu sniedzējam vai trešām personām.
- (7) Pasākumiem, kas veikti attiecībā uz fizisko un vides drošību, būtu jānodrošina organizācijas tīklu un informācijas sistēmu drošība no kaitējuma, ko rada tādi incidenti kā zādzība, ugunsgrēks, plūdi vai cita laikapstākļu iedarbība, telesakaru vai elektroapgādes pārtraukumi.
- (8) Piegādes – piemēram, elektroenerģijas, degvielas vai dzesēšanas piegādes – drošībai būtu jāaptver piegādes ķēdes drošība, kas jo īpaši ietver ārējo darbuzņēmēju un apakšuzņēmēju drošību un to pārvaldības drošību. Svarīgāko piegāžu izsekojamība attiecas uz digitālo pakalpojumu sniedzēja spēju noteikt un reģistrēt minēto piegāžu avotus.
- (9) Digitālo pakalpojumu lietotāja jēdzienam būtu jāaptver fiziskas un juridiskas personas, kas ir tiešaistes tirdzniecības vietas vai mākondatašanas pakalpojuma klienti vai abonenti vai kas apmeklē tiešaistes meklētājprogrammas vietni, lai veiktu meklēšanu pēc atslēgvārdiem.

⁽¹⁾ OVL 194, 19.7.2016., 1. lpp.

- (10) Nosakot incidenta ietekmes būtiskumu, šajā regulā izklāstītie gadījumi būtu jāuzskata par būtisku incidentu neizsmēlošu sarakstu. No šīs regulas īstenošanas un Sadarbības grupas darba būtu jāizdara secinājumi par Direktīvas (ES) 2016/1148 11. panta 3. punkta attiecīgi i) un m) apakšpunktā minēto tādas paraugprakses informācijas vākšanu, kas attiecas uz riskiem un incidentiem, un tādas kārtības apspriešanu, kas paredzēta ziņošanai par paziņojumiem par incidentiem. Pamatojoties uz šiem secinājumiem, varētu izstrādāt visaptverošas pamatnostādnes par paziņošanas rādītāju kvantitatīvām robežvērtībām, kuras sasniedzot digitālo pakalpojumu sniedzējiem būtu jāziņo saskaņā ar Direktīvas (ES) 2016/1148 16. panta 3. punktu. Komisija attiecīgā gadījumā var arī apsvērt šajā regulā noteikto robežvērtību pārskatīšanu.
- (11) Lai kompetentās iestādes varētu tikt informētas par potenciāliem jauniem riskiem, digitālo pakalpojumu sniedzēji būtu jāmudina brīvprātīgi ziņot par visiem incidentiem, kuru īpašības tiem iepriekš nav bijušas zināmas, piemēram, par jauniem mūķiem, uzbrukuma vektoriem vai apdraudējuma radītājiem, ievainojamību un apdraudējumiem.
- (12) Šī regula būtu jāpieņem nākamajā dienā pēc Direktīvas (ES) 2016/1148 transponēšanas termiņa beigām.
- (13) Šajā regulā paredzētie pasākumi atbilst Direktīvas (ES) 2016/1148 22. pantā minētās Tīklu un informācijas sistēmu drošības komitejas atzinumam,

IR PIENĒMUSI ŠO REGULU.

1. pants

Priekšmets

Šī regula precizē elementus, kas digitālo pakalpojumu sniedzējiem jāņem vērā, nosakot un veicot pasākumus, lai nodrošinātu zināmu drošību tīklu un informācijas sistēmām, kuras tie izmanto saistībā ar Direktīvas (ES) 2016/1148 III pielikumā minēto pakalpojumu sniegšanu, un precizē rādītājus, kas jāņem vērā, lai noteiktu, vai incidentam ir būtiska ietekme uz minēto pakalpojumu sniegšanu.

2. pants

Drošības elementi

1. Direktīvas (ES) 2016/1148 16. panta 1. punkta a) apakšpunktā minētā sistēmu un iekārtu drošība ir tīklu un informācijas sistēmu un to fiziskās vides drošība, un tā iekļauj šādus elementus:
- a) tīklu un informācijas sistēmu sistemātiska pārvaldība – informācijas sistēmu kartēšana un tādu atbilstīgu politikas pasākumu kopuma izstrāde, kas attiecas uz informācijas drošības pārvaldību, ieskaitot riska analīzi, cilvēkresursus, darbību drošību, drošības arhitektūru, drošus datus un sistēmas dzīves cikla pārvaldību, kā arī attiecīgā gadījumā šifrēšanu un tās pārvaldību;
 - b) fiziskā un vides drošība – tāda pasākumu kopuma pieejamība, kas ļauj aizsargāt digitālo pakalpojumu sniedzēju tīklu un informācijas sistēmu drošību no kaitējuma, izmantojot visus apdraudējumus aptverošu uz risku balstītu pieeju, kas ņem vērā, piemēram, sistēmas atteici, cilvēka kļūdu, ļaunprātīgu darbību vai dabas parādības;
 - c) piegādes drošība – tādas atbilstīgas politikas izveide un uzturēšana, kuras mērķis ir nodrošināt svarīgāko piegāžu, kas tiek izmantotas pakalpojumu sniegšanā, pieejamību un attiecīgā gadījumā izsekojamību;
 - d) piekļuves tīklu un informācijas sistēmām kontrole – tāda pasākumu kopuma pieejamība, kas nodrošina, lai fiziskā un loģiskā piekļuve tīklu un informācijas sistēmām, ieskaitot tīklu un informācijas sistēmu administratīvo drošību, būtu atļauta un ierobežota, pamatojoties uz darbības nodrošināšanas un drošības prasībām.
2. Attiecībā uz Direktīvas (ES) 2016/1148 16. panta 1. punkta b) apakšpunktā minēto incidentu risināšanu digitālo pakalpojumu sniedzēja īstenotie pasākumi ietver:
- a) atklāšanas procesus un procedūras, kas tiek uzturētas un testētas, lai nodrošinātu laicīgu un pienācīgu informētību par anomāliem notikumiem;
 - b) procesus un politiku, kas attiecas uz ziņošanu par incidentiem un trūkumu un ievainojamības konstatēšanu tā informācijas sistēmā;

- c) reaģēšanu saskaņā ar noteiktajām procedūrām un veikto pasākumu rezultātu paziņošanu;
- d) incidenta smaguma pakāpes novērtējumu, incidenta analīzes rezultātā iegūto zināšanu dokumentēšanu un tādas attiecīgas informācijas vākšanu, kas var kalpot par pierādījumu un sekmēt nepārtrauktu uzlabojumu procesu.
3. Direktīvas (ES) 2016/1148 16. panta 1. punkta c) apakšpunktā minētā darbības nepārtrauktības pārvaldība ir organizācijas spēja uzturēt vai attiecīgā gadījumā pēc traucējumus radījuša incidenta atjaunot pakalpojumu sniegšanu pieņemamā iepriekš noteiktā līmenī, un tā ietver:
- a) tādu ārkārtas rīcības plānu izstrādi un izmantošanu, kuru pamatā ir ietekmes uz darbību analīze, kuri paredzēti digitālo pakalpojumu sniedzēju sniegto pakalpojumu nepārtrauktības nodrošināšanai un kurus regulāri novērtē un testē, piemēram, mācību pasākumos;
- b) negadījuma seku novēršanas spējas, ko regulāri novērtē un testē, piemēram, mācību pasākumos.
4. Direktīvas (ES) 2016/1148 16. panta 1. punkta d) apakšpunktā minētās uzraudzība, revīzijas un pārbaudes ietver tādas politikas izstrādi un uzturēšanu, kura attiecas uz:
- a) plānotu, secīgu novērojumu vai mērījumu veikšanu, lai novērtētu, vai tīklu un informācijas sistēmas darbojas tā, kā paredzēts;
- b) inspicēšanu un verificēšanu, lai pārbaudītu atbilstību standartam vai vadlīniju kopumam, uzskaites pareizību un efektivitātes un rezultativitātes mērķu izpildi;
- c) procesu, kas paredzēts, lai atklātu trūkumus tīklu un informācijas sistēmas drošības mehānismos, kas atbilstīgā veidā aizsargā datus un uztur funkcijas. Šādi procesi iekļauj tehniskos procesus un personālu, kas iesaistīts darba plūsmā.
5. Direktīvas (ES) 2016/1148 16. panta 1. punkta e) apakšpunktā minētie starptautiskie standarti ir standarti, ko pieņem starptautiska standartizācijas iestāde, kas minēta Eiropas Parlamenta un Padomes Regulas (ES) Nr. 1025/2012 ⁽¹⁾ 2. panta 1. punkta a) apakšpunktā. Saskaņā ar Direktīvas (ES) 2016/1148 19. pantu var izmantot arī Eiropas vai starptautiski atzītus standartus un specifikācijas, tostarp esošus dalībvalstu standartus, kas attiecas uz tīklu un informācijas sistēmu drošību.
6. Digitālo pakalpojumu sniedzēji nodrošina atbilstošu dokumentāciju, kas ir pieejama, lai kompetentā iestāde varētu pārbaudīt atbilstību drošības elementiem, kas noteikti 1., 2., 3., 4. un 5. punktā.

3. pants

Rādītāji, kas jāņem vērā, lai noteiktu, vai incidentam ir būtiska ietekme

1. Attiecībā uz incidenta skarto lietotāju – īpaši to, kuri attiecīgo pakalpojumu izmanto paši savu pakalpojumu sniegšanai, – skaitu, kas minēts Direktīvas (ES) 2016/1148 16. panta 4. punkta a) apakšpunktā, digitālo pakalpojumu sniedzējam jāspēj aplēst vai nu:
- a) tādu incidenta skarto fizisko un juridisko personu skaitu, ar kurām ir noslēgts līgums par pakalpojuma sniegšanu; vai
- b) to incidenta skarto lietotāju skaitu, kuri ir izmantojuši attiecīgo pakalpojumu, un šo skaitu nosaka, galvenokārt pamatojoties uz iepriekšējās informācijas plūsmas datiem.
2. 16. panta 4. punkta b) apakšpunktā minētais incidenta ilgums ir laika periods no brīža, kad pakalpojuma pienācīga sniegšana pārtraukta pieejamības, autentiskuma, integritātes vai konfidencialitātes ziņā, līdz atkopes brīdim.
3. Attiecībā uz Direktīvas (ES) 2016/1148 16. panta 4. punkta c) apakšpunktā minēto ģeogrāfisko izplatību attiecībā uz incidenta skarto vidi digitālo pakalpojumu sniedzējam jāspēj noteikt, vai incidents ietekmē tā pakalpojumu sniegšanu konkrētās dalībvalstīs.
4. Direktīvas (ES) 2016/1148 16. panta 4. punkta d) apakšpunktā minēto traucētas pakalpojumu darbības apmēru mēra attiecībā uz vienu vai vairākiem no šiem incidenta skartajiem aspektiem: datu vai saistīto pakalpojumu pieejamība, autentiskums, integritāte vai konfidencialitāte.

⁽¹⁾ Eiropas Parlamenta un Padomes 2012. gada 25. oktobra Regula (ES) Nr. 1025/2012 par Eiropas standartizāciju, ar ko groza Padomes Direktīvas 89/686/EEK un 93/15/EEK un Eiropas Parlamenta un Padomes Direktīvas 94/9/EK, 94/25/EK, 95/16/EK, 97/23/EK, 98/34/EK, 2004/22/EK, 2007/23/EK, 2009/23/EK un 2009/105/EK un ar ko atceļ Padomes Lēmumu 87/95/EEK un Eiropas Parlamenta un Padomes Lēmumu Nr. 1673/2006/EK (OV L 316, 14.11.2012., 12. lpp.).

5. Attiecībā uz Direktīvas (ES) 2016/1148 16. panta 4. punkta e) apakšpunktā minēto tādas ietekmes apmēru, kas radīta uz ekonomiskajām un sabiedriskajām darbībām, digitālo pakalpojumu sniedzējam, pamatojoties uz tādām norādēm kā tā un klienta līgumisko attiecību raksturs vai attiecīgā gadījumā skarto lietotāju potenciālais skaits, jāspēj secināt, vai incidents ir radījis būtiskus materiālus vai nemateriālus zaudējumus lietotājiem, piemēram, saistībā ar veselību, drošību vai kaitējumu īpašumam.

6. Piemērojot šā panta 1., 2., 3., 4. un 5. punktu, digitālo pakalpojumu sniedzējiem nav pienākuma vākt papildu informāciju, kas tiem nav pieejama.

4. pants

Incidentu būtiska ietekme

1. Uzskatāms, ka incidentam ir būtiska ietekme, ja ir radusies vismaz viena no šādām situācijām:
 - a) digitālo pakalpojumu sniedzēja sniegtais pakalpojums nav bijis pieejams vairāk kā 5 000 000 lietotājstundu, un "lietotājstunda" šajā gadījumā ir sešdesmit minūšu laikā skarto lietotāju skaits Savienībā;
 - b) incidenta rezultātā ir zudusi glabāto, nosūtīto vai apstrādāto datu vai saistīto pakalpojumu, kurus sniedz vai kam var piekļūt ar digitālo pakalpojumu sniedzēja tīklu un informācijas sistēmas palīdzību, integritāte, autentiskums vai konfidencialitāte, un tas ir ietekmējis vairāk nekā 100 000 lietotāju Savienībā;
 - c) incidents ir radījis briesmas sabiedrībai, risku sabiedrības drošībai vai draudus dzīvībai;
 - d) incidents ir radījis materiālus zaudējumus vismaz vienam lietotājam Savienībā, ja minētajam lietotājam radītie zaudējumi pārsniedz EUR 1 000 000.
2. Pamatojoties uz paraugpraksi, ko saskaņā ar Direktīvas (ES) 2016/1148 11. panta 3. punktu apzinājusi Sadarbības grupa, un apspriešanu saskaņā ar minētās direktīvas 11. panta 3. punkta m) apakšpunktu, Komisija var pārskatīt 1. punktā noteiktās robežvērtības.

5. pants

Stāšanās spēkā

1. Šī regula stājas spēkā divdesmitajā dienā pēc tās publicēšanas *Eiropas Savienības Oficiālajā Vēstnesī*.
2. To piemēro no 2018. gada 10. maija.

Šī regula uzliek saistības kopumā un ir tieši piemērojama visās dalībvalstīs.

Briselē, 2018. gada 30. janvārī

Komisijas vārdā –
priekšsēdētājs
Jean-Claude JUNCKER

LĒMUMI

PADOMES LĒMUMS (ES) 2018/152

(2018. gada 29. janvāris),

ar ko iecel amatā Reģionu komitejas locekļa aizstājēju, ko izvirzījusi Vācijas Federatīvā Republika

EIROPAS SAVIENĪBAS PADOME,

ņemot vērā Līgumu par Eiropas Savienības darbību un jo īpaši tā 305. pantu,

ņemot vērā Vācijas valdības priekšlikumu,

tā kā:

- (1) Padome 2015. gada 26. janvārī, 2015. gada 5. februārī un 2015. gada 23. jūnijā pieņēma Lēmumus (ES) 2015/116 ⁽¹⁾, (ES) 2015/190 ⁽²⁾ un (ES) 2015/994 ⁽³⁾, ar ko laikposmam no 2015. gada 26. janvāra līdz 2020. gada 25. janvārim iecel amatā Reģionu komitejas locekļus un viņu aizstājējus.
- (2) Pēc Anke SPOORENDONK kundzes pilnvaru termiņa beigām ir atbrīvojusies Reģionu komitejas locekļa aizstājēja vieta.

IR PIEŅĒMUSI ŠO LĒMUMU.

1. pants

Ar šo uz atlikušo pilnvaru laiku, proti, līdz 2020. gada 25. janvārim, Reģionu komitejā par locekļa aizstājēju tiek iecelta:

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

2. pants

Šis lēmums stājas spēkā tā pieņemšanas dienā.

Briselē, 2018. gada 29. janvārī

Padomes vārdā –
priekšsēdētājs
R. PORODZANOV

⁽¹⁾ Padomes Lēmums (ES) 2015/116 (2015. gada 26. janvāris), ar ko laikposmam no 2015. gada 26. janvāra līdz 2020. gada 25. janvārim iecel amatā Reģionu komitejas locekļus un viņu aizstājējus (OV L 20, 27.1.2015., 42. lpp.).

⁽²⁾ Padomes Lēmums (ES) 2015/190 (2015. gada 5. februāris), ar ko laikposmam no 2015. gada 26. janvāra līdz 2020. gada 25. janvārim iecel amatā Reģionu komitejas locekļus un to aizstājējus (OV L 31, 7.2.2015., 25. lpp.).

⁽³⁾ Padomes Lēmums (ES) 2015/994 (2015. gada 23. jūnijs), ar ko laikposmam no 2015. gada 26. janvāra līdz 2020. gada 25. janvārim iecel amatā Reģionu komitejas locekļus un to aizstājējus (OV L 159, 25.6.2015., 70. lpp.).

LABOJUMI

Labojums Komisijas Regulā (ES) 2017/1084 (2017. gada 14. jūnijs), ar ko Regulu (ES) Nr. 651/2014 groza attiecībā uz atbalstu ostu un lidostu infrastruktūrai, paziņošanas robežvērtībām atbalstam kultūrai un kultūrvēsturiskā mantojuma saglabāšanai un atbalstam sporta un multifunkcionālai atpūtas infrastruktūrai un reģionālā darbības atbalsta shēmām tālākajos reģionos un ar ko Regulu (ES) Nr. 702/2014 groza attiecībā uz attiecināmo izmaksu aprēķinu

(“Eiropas Savienības Oficiālais Vēstnesis” L 156, 2017. gada 20. jūnijs)

10. lappusē 1. panta 11. punktā, aizstātā 15. panta 4. punkta ievaddaļā:

tekstu: “Tālākajos reģionos darbības atbalsta shēmas kompensē darbības papildu izmaksas, kas šajos reģionos rodas vienas vai vairāku pastāvīgu Līguma 349. pantā minēto problēmu tiešā ietekmē, ja saņēmēji savu saimniecisko darbību veic tālākajā reģionā, ar nosacījumu, ka atbalsta summa gadā vienam saņēmējam saskaņā ar visām darbības atbalsta shēmām, kas īstenotas atbilstoši šai regulai, nepārsniedz nevienu no sekojošajām procentuālajām daļām:”

lasīt šādi: “Tālākajos reģionos darbības atbalsta shēmas kompensē darbības papildu izmaksas, kas šajos reģionos rodas vienas vai vairāku pastāvīgu Līguma 349. pantā minēto problēmu tiešā ietekmē, ja saņēmēji savu saimniecisko darbību veic tālākajā reģionā, ar nosacījumu, ka atbalsta summa gadā vienam saņēmējam saskaņā ar visām darbības atbalsta shēmām, kas īstenotas atbilstoši šai regulai, nepārsniedz vienu no sekojošajām procentuālajām daļām:”.

ISSN 1977-0715 (elektroniskais izdevums)
ISSN 1725-5112 (papīra izdevums)



Eiropas Savienības Publikāciju birojs
2985 Luksemburga
LUKSEMBURGA

LV