

32003L0126

L 339/78

DZIENNIK URZĘDOWY UNII EUROPEJSKIEJ

24.12.2003

**DYREKTYWA KOMISJI 2003/126/WE****z dnia 23 grudnia 2003 r.****w sprawie analitycznej metody określania składników pochodzenia zwierzęcego do celów urzędowej kontroli pasz****(Tekst mający znaczenie dla EOG)**

KOMISJA WSPÓLNOT EUROPEJSKICH,

PRZYJMUJE NINIEJSZĄ DYREKTYWĘ:

uwzględniając Traktat ustanawiający Wspólnotę Europejską,

uwzględniając dyrektywę Rady 70/373/EWG z dnia 20 lipca 1970 r. w sprawie wprowadzenia wspólnotowych metod pobierania próbek i analizy do celów urzędowej kontroli pasz <sup>(1)</sup>, w szczególności jej art. 2,

a także mając na uwadze, co następuje:

- (1) Zgodnie z dyrektywą 70/373/EWG do celu sprawdzenia zgodności z wymaganiami przepisów ustawowych, wykonawczych i administracyjnych rządzących jakością i składem pasz, urzędowe kontrole pasz przeprowadza się z zastosowaniem wspólnotowych metod pobierania próbek i analizy.
- (2) Przepisy w sprawie znakowania pasz i wymagania zabraniające stosowania w paszach niektórych rodzajów protein zwierzęcych nakładają konieczność ustalenia rzetelnych metod analitycznych dotyczących ich występowania oraz, w miarę potrzeb, zawartości procentowej.
- (3) Metoda określona w dyrektywie Komisji 98/88/WE z dnia 13 listopada 1998 r. ustanawiającej wytyczne dla mikroskopowej identyfikacji i oszacowania składników pochodzenia zwierzęcego do celów urzędowej kontroli pasz <sup>(2)</sup> jest aktualnie jedyną metodą zatwierdzoną do celu kontrolowania występowania w paszach protein zwierzęcych, w tym protein poddawanych obróbce w temperaturze 133 °C/3 bar/20'.
- (4) Badanie porównawcze dotyczące określania występowania protein zwierzęcych poddanych obróbce wykazało ostatnio, że odchylenia w stosowaniu badań mikroskopowych określonych w dyrektywie 98/88/WE wynikały ze znaczących rozbieżności w czułości, specyficzności i dokładności metody. Aby ujednoczyć i poprawić określanie występowania protein zwierzęcych poddanych obróbce, przepisy dotyczące metody mikroskopowej należy ustanowić w dalszym zakresie i uczynić obowiązkowymi. Konieczne jest zapewnienie, że analitycy stosujący metodę są odpowiednio wyszkoleni, ponieważ wynik zależy od umiejętności analityka.
- (5) Dlatego też dyrektywę 98/88/WE należy zastąpić.
- (6) Środki przewidziane w niniejszej dyrektywie są zgodne z opinią Stałego Komitetu ds. Łańcucha Pokarmowego i Zdrowia Zwierząt,

**Artykuł 1**

Państwa Członkowskie postanawiają, iż, gdy urzędową analizę pasz przeprowadza się w celu urzędowego skontrolowania występowania, identyfikacji i/lub oszacowania ilości składników pochodzenia zwierzęcego w paszach, w ramach wspólnego programu inspekcji w dziedzinie żywienia zwierząt oraz zgodnie z dyrektywą Rady 95/53/WE <sup>(3)</sup>, przeprowadza się ją zgodnie z przepisami Załącznika do niniejszej dyrektywy.

**Artykuł 2**

Państwa Członkowskie zapewniają, że laboratoria przeprowadzające urzędowe kontrole w sprawie występowania składników zwierzęcych w paszach okresowo uczestniczą w badaniu biegłości dotyczącym metod analitycznych oraz, że personel laboratorium przeprowadzającego analizy jest odpowiednio szkoleny.

**Artykuł 3**

Dyrektywa 98/88/WE traci moc.

Odniesienia do uchylonej dyrektywy rozumiane są jako odniesienia do niniejszej dyrektywy.

**Artykuł 4**

1. Państwa Członkowskie wprowadzają w życie przepisy ustawowe, wykonawcze i administracyjne niezbędne do wykonania niniejszej dyrektywy najpóźniej do dnia 1 lipca 2004 r. Państwa Członkowskie niezwłocznie przekazują Komisji tekst tych przepisów oraz tabelę korelacji między tymi przepisami i niniejszą dyrektywą.

Przepisy przyjęte przez Państwa Członkowskie zawierają odniesienie do niniejszej dyrektywy lub odniesienie takie towarzyszy ich urzędowej publikacji. Metody dokonywania takiego odniesienia określane są przez Państwa Członkowskie.

2. Państwa Członkowskie przekazują Komisji teksty przepisów prawa krajowego, które przyjmują w dziedzinie objętej niniejszą dyrektywą.

<sup>(1)</sup> Dz.U. L 170 z 3.8.1970, str. 2 dyrektywa ostatnio zmieniona rozporządzeniem (WE) nr 807/2003 (Dz.U. L 122 z 16.5.2003, str. 36).

<sup>(2)</sup> Dz.U. L 318 z 27.11.1998, str. 45.

<sup>(3)</sup> Dz.U. L 265 z 8.11.1995, str. 17. Dyrektywa ostatnio zmieniona dyrektywą 2001/46/WE Parlamentu Europejskiego i Rady (Dz.U. L 234 z 1.9.2001, str. 55).

*Artykuł 5*

Niniejsza dyrektywa wchodzi w życie dwudziestego dnia po jej opublikowaniu w *Dzienniku Urzędowym Unii Europejskiej*.

*Artykuł 6*

Niniejsza dyrektywa skierowana jest do Państw Członkowskich.

Sporządzono w Brukseli, dnia 23 grudnia 2003 r.

*W imieniu Komisji*

David BYRNE

*Członek Komisji*

\_\_\_\_\_

## ZAŁĄCZNIK

**Warunki dotyczące mikroskopowego wykrywania, identyfikacji lub szacowania występowania składników pochodzenia zwierzęcego w paszach****1. Przedmiot i zakres stosowania**

Niniejsze warunki stosuje się podczas wykrywania występowania w paszach składników pochodzenia zwierzęcego (określanych, jako produkty pochodzące z obróbki korpusów oraz części ciała ssaków, drobiu i ryb) za pomocą badania mikroskopowego w ramach wspólnego programu inspekcji w dziedzinie żywienia zwierząt, zgodnie z dyrektywą Rady 95/53/WE. W celu poprawienia wykrywania niektórych rodzajów składników pochodzenia zwierzęcego lub dalszego ustalenia pochodzenia składników zwierzęcych, można przeprowadzić również drugie badanie z zastosowaniem metod wariantowych lub alternatywnych z zastrzeżeniem, że we wszystkich badaniach urzędowych zastosowano metody określone w niniejszym Załączniku. Ponadto, do badania niektórych określonych składników zwierzęcych takich, jak osocze lub kości w łoju (patrz także pkt 9) zastosować można wariantowy przebieg badania z zastrzeżeniem, że analizy te wykonuje się dodatkowo do analiz przewidzianych we wspólnym programie inspekcji.

**2. Czułość**

W zależności od rodzaju składników pochodzenia zwierzęcego możliwe jest wykrycie bardzo niewielkich ich ilości w paszach (< 0,1 %).

**3. Zasada**

Do identyfikacji stosuje się próbkę reprezentatywną pobraną zgodnie z przepisami ustanowionymi w dyrektywie Komisji 76/371/EWG z dnia 1 marca 1976 r. ustanawiającej wspólnotowe metody pobierania próbek i dokonywania analizy do celów urzędowej kontroli pasz<sup>(1)</sup>, którą odpowiednio przygotowano. Do celu obróbki paszy o niskiej zawartości wilgoci stosuje się przebieg badania podany poniżej. Przed poddaniem obróbce, paszę o zawartości wilgoci wyższej, niż 14 % poddaje się suszeniu (zagęszczanie). Specjalne pasze lub materiały paszowe (np. tłuszcze, oleje) wymagają odrębnej obróbki (patrz pkt 9). Składniki pochodzenia zwierzęcego identyfikuje się w oparciu o typowe właściwości możliwe do identyfikacji mikroskopowej (m.in. ścięgna i inne cząstki mięsa, chrząstki, kości, rogi, włosie, szczecina, krew, pierze, skorupki jaj, ości ryb, łuski). Identyfikację należy przeprowadzać zarówno na frakcji przesiewowej (6.1), jak i zagęszczonego osadu (6.2) próbki.

**4. Odczynniki****4.1. Czynniki pokrywania**

4.1.1. Wodzian chloralu (wodny, 60 % w/v)

4.1.2. Ług (NaOH 2,5 % w/v lub KOH 2,5 % w/v) dla frakcji przesiewowej

4.1.3. Olej parafinowy lub glicerol (lepkość: 68–81) dla mikroskopowych obserwacji osadu

**4.2. Czynniki sflukiwania**

4.2.1. Alkohol, 96 %

4.2.2. Aceton

**4.3. Czynniki zagęszczania**

4.3.1. Tetrachloroetylen (gęstość 1,62)

**4.4. Odczynniki barwiące**

4.4.1. Jodyna/roztwór jodku potasu (rozpuścić 2 g jodku potasu w 100 ml wody i dodać 1 g jodyny od czasu do czasu wstrząsając)

4.4.2. Czerwień alizarynowa (rozcieńczyć 2,5 ml 1M kwasu chlorowodorowego w 100 ml wody i dodać do tego roztworu 200 mg czerwieni alizarynowej)

4.4.3. Odczynnik cystyny (2 g octanu ołowiu, 10 g NaOH/100 ml H<sub>2</sub>O)

4.4.4. Jodyna/roztwór jodku potasu (rozpuszczony w 70 % alkoholu etylowym)

(<sup>1</sup>) Dz.U. L 102 z 15.4.1976, str. 1.

## 4.5. Odczynnik bielący

## 4.5.1. Komercyjny roztwór podchlorynu sodowego (9.6 % aktywnego chloru)

5. **Sprzęt i akcesoria**

5.1. Waga analityczna (dokładność do 0,01 g z wyjątkiem zągęszczonego osadu: 0,001 g)

5.2. Przyrząd do rozdrabniania (młynek lub móżdzierz, w szczególności do analizowanej paszy zawierającej &gt; 15 % tłuszczu)

5.3. Sito o kwadratowych oczkach o szerokości maksymalnej 0,50 mm

5.4. Rozdzielacz lub stożkowy separator osadu

5.5. Stereomikroskop (minimalne powiększenie 40')

5.6. Mikroskop złożony (minimalne powiększenie 400'), światło pośrednie lub spolaryzowane

5.7. Standardowe szkło laboratoryjne

Wszystkie przyrządy należy dokładnie oczyścić. Rozdzielacze i szkło należy umyć w zmywarce. Sita należy oczyścić za pomocą szczotki ze sztywnego włosia.

6. **Procedura**

Pasze granulowane można wstępnie przecedzić, jeżeli obie frakcje analizuje się, jako oddzielną próbkę.

Obróbce należy poddać co najmniej 50 g próbki (dokładnie rozdrobnionej za pomocą właściwego przyrządu do rozdrabniania (5.2), w miarę potrzeb celu uzyskania właściwej struktury). Z rozdrobnionego materiału pobiera się dwie próbki reprezentatywne, jedną do dla potrzeb frakcji przesiewowej, (co najmniej 5 g) (6.1) i jedną do sedymentacji, (co najmniej 5 g) (6.2). Dodatkowo w celu identyfikacji można zastosować barwienie za pomocą odczynników barwiących (6.3).

W celu ustalenia rodzaju protein zwierzęcych oraz pochodzenia cząstek można zastosować system wspierania decyzji typu Aries i udokumentować próbki reprezentatywne.

6.1. *Identyfikacja składników pochodzenia zwierzęcego we frakcji przesiewowej*

Przynajmniej 5 g próbki przesiewa się przez sito (5.3) w dwóch frakcjach.

Frakcje(ę) przesiewowe o dużych cząstkach (lub reprezentatywną część frakcji) nakłada się cienką warstwą na właściwe podłoże i regularnie obserwuje pod stereomikroskopem (5.5) przy różnych powiększeniach pod kątem występowania składników pochodzenia zwierzęcego.

Preparaty uzyskane podczas analizy przesiewowej zawierające drobne cząstki regularnie obserwuje się pod mikroskopem złożonym (5.6) przy różnych powiększeniach pod kątem występowania składników pochodzenia zwierzęcego.

6.2. *Identyfikacja składników pochodzenia zwierzęcego w zągęszczonym osadzie*

Przynajmniej 5 g (z dokładnością do 0,01 g) próbki przenosi się do rozdzielacza lub stożkowego separatora osadu i poddaje obróbce z zastosowaniem przynajmniej 50 ml tetrachloroetylenu (4.3.1). Mieszankę należy kilkakrotnie wstrząsnąć lub zamieszać.

— Jeżeli stosuje się rozdzielacz zamknięty, przed oddzieleniem osad pozostawia się do odstania na określony czas (przynajmniej trzy minuty). Należy ponownie wstrząsnąć i ponownie pozostawić osad do odstania na przynajmniej trzy minuty. Należy ponownie oddzielić osad.

— Jeżeli stosuje się separator otwarty, przed oddzieleniem osad należy pozostawić do odstania na przynajmniej pięć minut.

Cały osad należy osuszyć, a następnie zważyć (z dokładnością do 0,001 g). Ważenie jest konieczne jedynie w przypadku gdy wymagane jest oszacowanie. Jeżeli osad składa się z wielu dużych cząstek, można go przecedzić przez sito w dwóch frakcjach (5.3). Osuszony osad należy zbadać pod stereomikroskopem (5.5) oraz mikroskopem złożonym (5.6) pod kątem występowania składników zawierających kości.

### 6.3. Zastosowanie czynników pokrywania lub odczynników barwiących

Mikroskopową identyfikację składników pochodzenia zwierzęcego można poprzeć zastosowaniem specjalnych substancji do zatapiania oraz odczynników barwiących.

Wodzian chloralu (4.1.1):	Struktura komórkowa może być lepiej widoczna dzięki delikatnemu ogrzaniu, ponieważ ziarna skrobi ulegają żelatynizacji i usuwana jest zbędna zawartość komórek.
Ług (4.1.2):	Materiał paszowy oczyszcza wodorotlenek sodu lub potasu, co wspomaga wykrycie ścięgien, włosów i innych struktur keratynowych.
Olej parafinowy i gliceryna (4.1.3):	Składniki zawierające kości można dobrze zidentyfikować w substancji do zatapiania, ponieważ większość jamek chrzęstnych wypełnia się powietrzem i wygląda, jak czarne dziurki o wielkości 5–15 µm.
Jodyna/roztwór jodku potasu (4.4.1):	Używane do wykrywania skrobi (niebiesko-fioletowy kolor) oraz proteiny (żółto-pomarańczowy kolor). W miarę potrzeb roztwory można rozcieńczyć.
Roztwór czerwieni alizarynowej (4.4.2):	Czerwono-różowe zabarwienie kości, ości ryb i łusek. Przed osuszeniem osadu (patrz sekcja 6.2), cały osad przenosi się do szklanej probówki i dwukrotnie spłukuje około 5 ml alkoholu (4.2.1) (za każdym razem należy zastosować odwirowanie, roztwór należy odstawić na około jedną minutę, a następnie przelać). Przed użyciem tego odczynnika barwiącego osad należy zbielić dodając przynajmniej 1 ml roztworu podchlorynu sodowego (4.5.1). Reakcja powinna zachodzić przez 10 minut. Probówkę należy napęlić wodą, osad należy pozostawić do osadzenia na dwie do trzech minut, a wodę oraz wytrącone cząstki należy wylać. Osad należy dwukrotnie spłukać około 10 ml wody (za każdym razem należy zastosować odwirowanie, a wodę wylać). Dodaje się dwie do 10 lub więcej kropli czerwieni alizarynowej (w zależności od ilości pozostałości). Mieszanke należy wstrząsnąć, a reakcja powinna zachodzić przez kilka sekund. Zabarwiony osad należy dwukrotnie spłukać około 5 ml alkoholu (4.2.1), a następnie raz spłukać acetonem (4.2.2) (za każdym razem należy zastosować odwirowanie, rozpuszczalnik należy pozostawić do odstania na około jedną minutę, a następnie wylać). Osad jest gotowy do osuszania.
Odczynnik cystyny (4.4.3):	Dzięki ogrzaniu składniki zawierające cystyny (włosy, pierze itp.) nabierają czarno-brązowego zabarwienia.

### 6.4. Badanie paszy prawdopodobnie zawierającej mączkę rybną

Przynajmniej jeden preparat z drobnocząsteczkowej frakcji przesiewowej oraz drobnocząsteczkowej frakcji zagęszczonego osadu należy zbadać pod mikroskopem złożonym (patrz sekcje 6.1 i 6.2).

Jeżeli etykieta wskazuje, że składniki obejmują mączkę rybną lub, jeżeli podejrzewa się albo w badaniu wstępnym wykryto występowanie mączki rybnej, należy zbadać przynajmniej dwa dodatkowe preparaty drobnocząsteczkowej frakcji przesiewowej z próbki oryginalnej oraz całą frakcję zagęszczonego osadu.

## 7. Obliczenia i ocena

Państwa Członkowskie zapewniają, że procedury określone w tym punkcie stosuje się w celu przeprowadzenia analizy urzędowej z zamiarem oszacowania ilości (a nie tylko występowania) składników zwierzęcych.

Obliczenia można wykonać jedynie wtedy, gdy składniki pochodzenia zwierzęcego zawierają fragmenty kości.

Fragmenty kości lądowych gatunków ciepłokrwistych (np. ssaków i ptaków) można odróżnić od różnych rodzajów ości ryb w preparacie mikroskopowym w oparciu o typowe jamki chrzęstne. Proporcje składników pochodzenia zwierzęcego w materiale próbki szacuje się uwzględniając:

- przewidywaną proporcję (% wagi) fragmentów kości w zagęszczonym osadzie, oraz
- proporcję (% wagi) kości w składnikach pochodzenia zwierzęcego.

Szacunek musi się opierać na przynajmniej trzech (w miarę możliwości) preparatach oraz przynajmniej pięciu polach każdego preparatu. W przypadku mieszanki paszowej, zagęszczony osad z zasady zawiera nie tylko kości zwierząt lądowych i fragmenty ości ryb, ale także inne cząstki o wysokim ciężarze właściwym, tzn. minerały, piasek, zdrewniałe fragmenty roślin i tym podobne.

7.1. *Wartość szacunkowa procentowej zawartości fragmentów kości*

$$\% \text{ fragmentów kości zwierząt lądowych} = (S \times c)/W$$

$$\% \text{ fragmentów ości ryb i łusek} = (S \times d)/W$$

(S = ciężar osadu (mg), c = współczynnik poprawkowy (%) dla szacowanej części składników kości zwierząt lądowych w osadzie, d = współczynnik poprawkowy (%) dla szacowanej części ości ryb i fragmentów łusek w osadzie, W = ciężar materiału próbki do sedimentacji (mg)).

7.2. *Wartość szacunkowa składników pochodzenia zwierzęcego*

Proporcja kości w produktach zwierzęcych może być bardzo różna. (Procentowa zawartość kości w przypadku mączki kostnej z zasady wynosi 50–60 %, a w przypadku mączki mięsnej wynosi 20–30 %; w przypadku mączki rybnej zawartość kości i łusek waha się w zależności od kategorii i pochodzenia mączki rybnej, zazwyczaj wynosi 10–20 %).

Jeżeli znany jest rodzaj mączki zwierzęcej występującej w próbce, możliwe jest oszacowanie zawartości:

$$\text{Przewidywanej zawartości składników produktów ze zwierząt lądowych (\%)} = (S \times c)/(W \times f) \times 100$$

$$\text{Przewidywanej zawartości składników produktów rybnych (\%)} = (S \times d)/(W \times f) \times 100$$

(S = ciężar osadu (mg), c = współczynnik poprawkowy (%) dla szacowanej zawartości składników kości zwierząt lądowych w osadzie, d = współczynnik poprawkowy (%) dla szacowanej zawartości ości ryb i fragmentów łusek w osadzie, f = współczynnik poprawkowy dla zawartości kości w składnikach pochodzenia zwierzęcego w badanej próbce, W = ciężar materiału próbki do sedimentacji (mg)).

8. **Prezentacja wyniku badania**

Sprawozdanie powinno zawierać przynajmniej informacje w sprawie występowania składników uzyskanych ze zwierząt lądowych oraz mączki rybnej. Sprawozdania dotyczące poszczególnych przypadków należy składać w następujący sposób:

8.1. *W odniesieniu do występowania składników pochodzących od zwierząt lądowych:*

— z wyjątkiem wykrycia przy użyciu mikroskopu, w przedłożonej próbce nie znaleziono składników pochodzących od zwierząt lądowych,

lub:

— oprócz wykrycia przy użyciu mikroskopu, w przedłożonej próbce znaleziono składniki pochodzące od zwierząt lądowych.

8.2. *W odniesieniu do występowania mączki rybnej:*

— na tyle co jest dostrzegalne przy użyciu mikroskopu, w przedłożonej próbce nie znaleziono składników uzyskanych z ryb,

lub:

— na tyle co jest dostrzegalne przy użyciu mikroskopu, w przedłożonej próbce znaleziono składniki uzyskane z ryb.

W przypadku składników uzyskanych z ryb lub zwierząt lądowych, w miarę potrzeb, sprawozdanie z wyniku badania może wskazywać dalsze szacunki ilości wykrytych składników (x %, < 0,1 %, 0,1–0,5 %, 0,5–5 % lub > 5 %), o ile jest to możliwe dalszą specyfikacją rodzaju zwierzęcia lądowego oraz zidentyfikowanych składników zwierzęcych (ścięgna, chrząstki, kości, rogi, szczecina, pierze, krew, skorupki jaj, ości ryb, łuski).

W przypadku gdy szacuje się ilość składników zwierzęcych uwzględnia się zastosowany współczynnik poprawkowy f.

W przypadkach, gdy identyfikuje się składniki kości zwierząt lądowych, sprawozdanie zawiera dodatkową uwagę:

„Nie można wykluczyć możliwości, że wskazane powyżej składniki uzyskano ze ssaków.”

Ta dodatkowa uwaga nie jest konieczna w przypadkach, gdy fragmenty kości ze zwierząt lądowych określono, jako fragmenty kości z drobiu lub ssaków.

9. **Fakultatywny przebieg badania dotyczący analizowania tłuszczu lub oleju**

Do analizy tłuszczu lub oleju można zastosować następujący przebieg badania:

- Jeżeli tłuszcz jest w stanie stałym, podgrzewa się go do stopienia na przykład w mikrofalówce.
  - Za pomocą pipety 40 ml tłuszczu z dolnej warstwy próbki przenieść tłuszcz do cylindra wirówki.
  - Odwirowywać przez 10 minut przy prędkości 4 000 rpm.
  - Jeżeli po odwirowaniu tłuszcz jest w stanie stałym, podgrzewa się go na palniku do stopienia. Powtarzać wirowanie przez pięć minut przy prędkości 4 000 rpm.
  - Używając małej łyżeczki lub szpatułki jedną połowę przefiltrowanych zanieczyszczeń przenieść na niewielką szalkę Petriego lub szkiełko mikroskopu w celu przeprowadzenia identyfikacji mikroskopowej możliwej zawartości składników zwierzęcych (włókien, pierza, fragmentów kości). Olej parafinowy lub glicerynę zaleca się, jako substancje do zatapiania.
  - Zgodnie z opisem w pkt 6.2, pozostałe zanieczyszczenia wykorzystuje się do sedimentacji.
-