



Spis treści

II Akty o charakterze nieustawodawczym

UMOWY MIĘDZYKRAJOWE

- ★ Decyzja Rady (UE) 2018/145 z dnia 9 października 2017 r. w sprawie zawarcia, w imieniu Unii, Wielostronnej umowy między Wspólnotą Europejską i jej państwami członkowskimi, Republiką Albanii, Bośnią i Hercegowiną, Republiką Bułgarii, Republiką Chorwacji, Byłą Jugosłowiańską Republiką Macedonii, Republiką Islandii, Republiką Czarnogóry, Królestwem Norwegii, Rumunią, Republiką Serbii i Misją Tymczasowej Administracji Organizacji Narodów Zjednoczonych w Kosowie* w sprawie ustanowienia Wspólnego Europejskiego Obszaru Lotniczego 1
- ★ Decyzja Rady (UE) 2018/146 z dnia 22 stycznia 2018 r. w sprawie zawarcia, w imieniu Unii, Eurośródziemnomorskiej umowy dotyczącej usług lotniczych między Wspólnotą Europejską i jej państwami członkowskimi, z jednej strony, a Królestwem Maroka, z drugiej strony 4

ROZPORZĄDZENIA

- ★ Rozporządzenie Rady (UE) 2018/147 z dnia 29 stycznia 2018 r. zmieniające rozporządzenie (UE) nr 1370/2013 w odniesieniu do obowiązującego ograniczenia ilościowego na zakup odtłuszczonego mleka w proszku 6
- ★ Rozporządzenie delegowane Komisji (UE) 2018/148 z dnia 27 września 2017 r. zmieniające załączniki II, III i IV do rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) nr 978/2012 wprowadzającego ogólny system preferencji taryfowych 8
- ★ Rozporządzenie delegowane Komisji (UE) 2018/149 z dnia 15 listopada 2017 r. zmieniające rozporządzenie delegowane (UE) 2016/1238 w odniesieniu do wymogów dotyczących składu i cech jakościowych mleka i przetworów mlecznych kwalifikujących się do interwencji publicznej i dopłat do prywatnego przechowywania 11

* Użycie tej nazwy nie narusza stanowisk dotyczących statusu Kosowa i jest zgodne z rezolucją Rady Bezpieczeństwa ONZ 1244(1999) oraz opinią Międzynarodowego Trybunału Sprawiedliwości w sprawie deklaracji niepodległości ogłoszonej przez Kosowo.

- ★ Rozporządzenie wykonawcze Komisji (UE) 2018/150 z dnia 30 stycznia 2018 r. zmieniające rozporządzenie wykonawcze (UE) 2016/1240 w odniesieniu do metod analizy oraz oceny jakości mleka i przetworów mlecznych kwalifikujących się do interwencji publicznej i dopłat do prywatnego przechowywania 14
- ★ Rozporządzenie wykonawcze Komisji (UE) 2018/151 z dnia 30 stycznia 2018 r. ustanawiające zasady stosowania dyrektywy Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2016/1148 w odniesieniu do dalszego doprecyzowania elementów, jakie mają być uwzględnione przez dostawców usług cyfrowych w zakresie zarządzania istniejącymi ryzykami dla bezpieczeństwa sieci i systemów informatycznych, oraz parametrów służących do określenia, czy incydent ma istotny wpływ 48

DECYZJE

- ★ Decyzja Rady (UE) 2018/152 z dnia 29 stycznia 2018 r. w sprawie mianowania zastępcy członka Komitetu Regionów zaproponowanego przez Republikę Federalną Niemiec 52

Sprostowania

- ★ Sprostowanie do rozporządzenia Komisji (UE) 2017/1084 z dnia 14 czerwca 2017 r. zmieniającego rozporządzenie (UE) nr 651/2014 w odniesieniu do pomocy na infrastrukturę portową i infrastrukturę portów lotniczych, progów powodujących obowiązek zgłoszenia pomocy na kulturę i zachowanie dziedzictwa kulturowego, pomocy na infrastrukturę sportową i wielofunkcyjną infrastrukturę rekreacyjną, a także programów regionalnej pomocy operacyjnej skierowanych do regionów najbardziej oddalonych oraz zmieniającego rozporządzenie (UE) nr 702/2014 w odniesieniu do obliczania kosztów kwalifikowalnych (Dz.U. L 156 z 20.6.2017) 53

II

(Akty o charakterze nieustawodawczym)

UMOWY MIĘDZYNARODOWE

DECYZJA RADY (UE) 2018/145

z dnia 9 października 2017 r.

w sprawie zawarcia, w imieniu Unii, Wielostronnej umowy między Wspólnotą Europejską i jej państwami członkowskimi, Republiką Albanii, Bośnią i Hercegowiną, Republiką Bułgarii, Republiką Chorwacji, Byłą Jugosłowiańską Republiką Macedonii, Republiką Islandii, Republiką Czarnogóry, Królestwem Norwegii, Rumunią, Republiką Serbii i Misją Tymczasowej Administracji Organizacji Narodów Zjednoczonych w Kosowie* w sprawie ustanowienia Wspólnego Europejskiego Obszaru Lotniczego

RADA UNII EUROPEJSKIEJ,

uwzględniając Traktat o funkcjonowaniu Unii Europejskiej, w szczególności jego art. 100 ust. 2 w związku z art. 218 ust. 6 lit. a),

uwzględniając wniosek Komisji Europejskiej,

uwzględniając zgodę Parlamentu Europejskiego ⁽¹⁾,

a także mając na uwadze, co następuje:

- (1) Komisja wynegocjowała, w imieniu Wspólnoty Europejskiej i państw członkowskich, Wielostronną umowę między Wspólnotą Europejską i jej państwami członkowskimi, Republiką Albanii, Bośnią i Hercegowiną, Republiką Bułgarii, Republiką Chorwacji, Byłą Jugosłowiańską Republiką Macedonii, Republiką Islandii, Republiką Czarnogóry, Królestwem Norwegii, Rumunią, Republiką Serbii i Misją Tymczasowej Administracji Organizacji Narodów Zjednoczonych w Kosowie w sprawie ustanowienia Wspólnego Europejskiego Obszaru Lotniczego (zwaną dalej „Umową”).
- (2) Umowa ta została podpisana w imieniu Wspólnoty w dniu 9 czerwca 2006 r., z zastrzeżeniem jej zawarcia w późniejszym terminie, na podstawie decyzji 2006/682/WE Rady oraz przedstawicieli państw członkowskich Unii Europejskiej zebranych w Radzie ⁽²⁾.
- (3) Umowa została ratyfikowana przez wszystkie państwa członkowskie.
- (4) Wraz z przystąpieniem do Unii Republika Bułgarii, Rumunia oraz Republika Chorwacji stały się państwami członkowskimi i automatycznie przestały być stowarzyszonymi stronami Umowy zgodnie z art. 31 ust. 2. Należy o tym przypomnieć w notyfikacji, która ma zostać dokonana w momencie składania dokumentu zatwierdzenia Umowy.

* Użycie tej nazwy nie narusza stanowisk dotyczących statusu Kosowa i jest zgodne z rezolucją Rady Bezpieczeństwa ONZ 1244(1999) oraz opinią Międzynarodowego Trybunału Sprawiedliwości w sprawie deklaracji niepodległości ogłoszonej przez Kosowo.

⁽¹⁾ Dz.U. C 81E z 15.3.2011, s. 5.

⁽²⁾ Decyzja Rady oraz przedstawicieli państw członkowskich Unii Europejskiej zebranych w Radzie 2006/682/WE z dnia 9 czerwca 2006 r. w sprawie podpisania i tymczasowego stosowania Wielostronnej umowy między Wspólnotą Europejską i jej państwami członkowskimi, Republiką Albanii, Bośnią i Hercegowiną, Republiką Bułgarii, Republiką Chorwacji, byłą jugosłowiańską republiką Macedonii, Republiką Islandii, Republiką Czarnogóry, Królestwem Norwegii, Rumunią, Republiką Serbii i Misją Tymczasowej Administracji Organizacji Narodów Zjednoczonych w Kosowie w sprawie ustanowienia Wspólnego Europejskiego Obszaru Lotniczego (WEOL) (Dz.U. L 285 z 16.10.2006, s. 1).

- (5) Uprawnienie do zatwierdzenia w imieniu Unii zmian załącznika I do Umowy, które to zmiany dotyczą jedynie włączenia prawodawstwa Unii do tego załącznika i które przyjmuje wspólny komitet ustanowiony na podstawie art. 18 Umowy, należy przekazać Komisji po konsultacji ze specjalnym komitetem wyznaczonym przez Radę.
- (6) We wszystkich pozostałych przypadkach stanowisko, jakie ma zostać zajęte w imieniu Unii we wspólnym Komitecie w odniesieniu do kwestii wchodzących w zakres kompetencji Unii, należy ustalić oddzielnie dla każdego przypadku, zgodnie z mającymi zastosowanie odpowiednimi postanowieniami Traktatu o funkcjonowaniu Unii Europejskiej (TFUE).
- (7) Z uwagi na fakt, że zarówno Unia Europejska, jak i jej państwa członkowskie są stronami Umowy, kluczowe znaczenie ma bliska współpraca między nimi. Aby zapewnić bliską współpracę i jednolitą reprezentację we wspólnym Komitecie – oraz bez uszczerbku dla postanowień Traktatów, w szczególności art. 16 ust. 1 Traktatu o funkcjonowaniu Unii Europejskiej i art. 218 ust. 9 TFUE – koordynacja stanowisk, jakie mają zostać zajęte w imieniu Unii i państw członkowskich we wspólnym Komitecie w odniesieniu do kwestii wchodzących w zakres kompetencji Unii i państw członkowskich, powinna odbywać się przed każdym posiedzeniem wspólnego Komitetu poświęconym takiej kwestii.
- (8) Art. 2 decyzji 2006/682/WE zawiera przepisy o ustalaniu stanowisk, jakie mają zostać przyjęte we wspólnym Komitecie w okresie tymczasowego stosowania Umowy. W świetle wyroku Trybunału Sprawiedliwości z dnia 28 kwietnia 2015 r. w sprawie C-28/12 Komisja przeciwko Radzie ⁽¹⁾ należy zaprzestać stosowania tych przepisów z dniem wejścia w życie niniejszej decyzji.
- (9) Umowa powinna zostać zatwierdzona,

PRZYJMUJE NINIEJSZĄ DECYZJĘ:

Artykuł 1

1. Wielostronna umowa między Wspólnotą Europejską i jej państwami członkowskimi, Republiką Albanii, Bośnią i Hercegowiną, Republiką Bułgarii, Republiką Chorwacji, Byłą Jugosłowiańską Republiką Macedonii, Republiką Islandii, Republiką Czarnogóry, Królestwem Norwegii, Rumunią, Republiką Serbii i Misją Tymczasowej Administracji Organizacji Narodów Zjednoczonych w Kosowie w sprawie ustanowienia Wspólnego Europejskiego Obszaru Lotniczego zostaje niniejszym zatwierdzona w imieniu Unii ⁽²⁾.

2. Przewodniczący Rady wyznacza osobę lub osoby uprawnione do złożenia, w imieniu Unii, dokumentu zatwierdzenia przewidzianego w art. 29 ust. 2 Umowy ⁽³⁾ oraz do dokonania następującej notyfikacji:

„1. W wyniku wejścia w życie Traktatu z Lizbony dnia 1 grudnia 2009 r. Unia Europejska zastąpiła Wspólnotę Europejską i jest jej następcą prawnym, w związku z czym od tej daty wykonuje wszelkie prawa i ponosi wszelkie obowiązki Wspólnoty Europejskiej. W związku z tym odesłania w tekście Umowy do »Wspólnoty Europejskiej« uznaje się, w odpowiednich przypadkach, za odesłania do »Unii Europejskiej«.

2. Wraz z przystąpieniem do Unii Europejskiej Republika Bułgarii, Rumunia oraz Republika Chorwacji stały się państwami członkowskimi Unii Europejskiej i, zgodnie z art. 31 ust. 2 Umowy, w związku z tym przestały być stowarzyszonymi stronami tej Umowy.”.

Artykuł 2

Stanowisko, jakie ma zająć Unia w odniesieniu do decyzji wspólnego komitetu ustanowionego na podstawie art. 17 Umowy dotyczących jedynie włączenia prawodawstwa Unii do załącznika I do Umowy, z zastrzeżeniem wszelkich koniecznych dostosowań technicznych, przyjmowane jest przez Komisję, po konsultacji ze specjalnym komitetem wyznaczonym przez Radę.

Artykuł 3

Art. 2 decyzji 2006/682/WE przestaje mieć zastosowanie z dniem wejścia w życie niniejszej decyzji.

⁽¹⁾ ECLI:EU:C:2015:282.

⁽²⁾ Tekst Umowy został opublikowany w *Dzienniku Urzędowym Unii Europejskiej* (Dz.U. L 285 z 16.10.2006, s. 3) wraz z decyzją w sprawie jej podpisania i tymczasowego stosowania.

⁽³⁾ Data wejścia w życie Umowy zostanie opublikowana w *Dzienniku Urzędowym Unii Europejskiej* przez Sekretariat Generalny Rady.

Artykuł 4

Niniejsza decyzja wchodzi w życie z dniem jej przyjęcia.

Sporządzono w Luksemburgu dnia 9 października 2017 r.

W imieniu Rady
S. KIISLER
Przewodniczący

DECYZJA RADY (UE) 2018/146**z dnia 22 stycznia 2018 r.****w sprawie zawarcia, w imieniu Unii, Eurośródziemnomorskiej umowy dotyczącej usług lotniczych między Wspólnotą Europejską i jej państwami członkowskimi, z jednej strony, a Królestwem Maroka, z drugiej strony**

RADA UNII EUROPEJSKIEJ,

uwzględniając Traktat o funkcjonowaniu Unii Europejskiej, w szczególności jego art. 100 ust. 2 w związku z art. 218 ust. 6 lit. a),

uwzględniając wniosek Komisji Europejskiej,

uwzględniając zgodę Parlamentu Europejskiego ⁽¹⁾,

a także mając na uwadze, co następuje:

- (1) Komisja w imieniu Unii oraz państw członkowskich wynegocjowała Eurośródziemnomorską umowę z Królestwem Maroka dotyczącą usług lotniczych (zwaną dalej „Umową”), zgodnie z decyzją Rady upoważniającą Komisję do rozpoczęcia negocjacji.
- (2) Umowa została podpisana w dniu 12 grudnia 2006 r. zgodnie z decyzją 2006/959/WE Rady i przedstawiciele rządów państw członkowskich zebranych w Radzie ⁽²⁾. Umowę ratyfikowały wszystkie państwa członkowskie, z wyjątkiem Bułgarii, Rumunii i Chorwacji. Planuje się, że te trzy państwa przystąpią do Umowy zgodnie z art. 6 ust. 2 odpowiednich aktów przystąpienia.
- (3) Uprawnienie do zatwierdzenia w imieniu Unii zmian niektórych załączników do Umowy, które to zmiany przyjmuje wspólny komitet ustanowiony na podstawie art. 22 Umowy, należy przekazać Komisji po konsultacji ze specjalnym komitetem wyznaczonym przez Radę.
- (4) We wszystkich pozostałych przypadkach stanowiska, jakie mają zostać zajęte w imieniu Unii w ramach wspólnego komitetu w odniesieniu do kwestii wchodzących w zakres kompetencji Unii, należy ustalić oddzielnie dla każdego przypadku, zgodnie z odpowiednimi postanowieniami Traktatu o funkcjonowaniu Unii Europejskiej (TFUE).
- (5) Z uwagi na fakt, że zarówno Unia Europejska, jak i jej państwa członkowskie są Stronami Umowy, kluczowe znaczenie ma bliska współpraca między nimi. Aby zapewnić bliską współpracę i jednolitą reprezentację we wspólnym Komitecie – oraz bez uszczerbku dla postanowień Traktatów, w szczególności art. 16 ust. 1 Traktatu o Unii Europejskiej i art. 218 ust. 9 TFUE – koordynacja stanowisk, jakie mają zostać zajęte w imieniu Unii i państw członkowskich w ramach wspólnego komitetu w odniesieniu do kwestii wchodzących w zakres kompetencji zarówno Unii, jak i państw członkowskich, powinna odbywać się przed każdym posiedzeniem wspólnego komitetu poświęconym takim kwestiom.
- (6) Art. 2–5 decyzji 2006/959/WE zawierają przepisy o podejmowaniu przez Radę decyzji w różnych kwestiach określonych w Umowie, w tym ustalenia stanowisk, jakie mają zostać przyjęte w ramach wspólnego komitetu, i obowiązku informowania państw członkowskich w okresie tymczasowego stosowania Umowy. Przepisy te są zbędne lub należy zaprzestać ich stosowania w świetle wyroku Trybunału Sprawiedliwości z dnia 28 kwietnia 2015 r. w sprawie C-28/12 Komisja przeciwko Radzie ⁽³⁾. Słusznym jest zatem, aby wszystkie te przepisy przestały mieć zastosowanie z dniem wejścia w życie niniejszej decyzji.
- (7) Umowa powinna zostać zatwierdzona,

⁽¹⁾ Dz.U. C 81E z 15.3.2011, s. 5.

⁽²⁾ Decyzja Rady i przedstawiciele rządów państw członkowskich 2006/959/WE, zebranych w Radzie z dnia 4 grudnia 2006 r. w sprawie podpisania oraz tymczasowego stosowania Euro-śródziemnomorskiej umowy dotyczącej usług lotniczych między Wspólnotą Europejską i jej państwami członkowskimi, z jednej strony, a Królestwem Maroka, z drugiej strony (Dz.U. L 386 z 29.12.2006, s. 55).

⁽³⁾ ECLI:EU:C:2015:282.

PRZYJMUJE NINIEJSZĄ DECYZJĘ:

Artykuł 1

1. Eurośródziemnomorska umowa dotycząca usług lotniczych między Wspólnotą Europejską i jej państwami członkowskimi, z jednej strony, a Królestwem Maroka, z drugiej strony, zostaje niniejszym zatwierdzona w imieniu Unii ⁽¹⁾.
2. Przewodniczący Rady zostaje niniejszym upoważniony do wyznaczenia osoby lub osób uprawnionych) do wystosowania do Królestwa Maroka not dyplomatycznych określonych w art. 30 Umowy ⁽²⁾ oraz do złożenia następującego oświadczenia:

„W wyniku wejścia w życie Traktatu z Lizbony w dniu 1 grudnia 2009 r. Unia Europejska zastępuje Wspólnotę Europejską i jest jej następcą prawnym, i od tego dnia wykonuje wszystkie prawa i obowiązki Wspólnoty Europejskiej. W związku z tym odesłania w tekście Umowy do »Wspólnoty Europejskiej« uznaje się, w odpowiednich przypadkach, za odesłania do »Unii Europejskiej«.”.

Artykuł 2

Stanowiska, jakie Unia ma zająć w ramach wspólnego komitetu ustanowionego na mocy art. 22 Umowy, w odniesieniu do zmian załączników do Umowy innych niż załącznik I (Uzgodnione linie i określone trasy) i załącznik IV (Postanowienia przejściowe), Komisja przyjmuje po konsultacji ze specjalnym komitetem wyznaczonym przez Radę.

Artykuł 3

Art. 2–5 decyzji 2006/959/WE przestają mieć zastosowanie z dniem wejścia w życie niniejszej decyzji.

Artykuł 4

Niniejsza decyzja wchodzi w życie z dniem jej przyjęcia.

Sporządzono w Brukseli dnia 22 stycznia 2018 r.

W imieniu Rady
F. MOGHERINI
Przewodniczący

⁽¹⁾ Umowa została opublikowana w *Dzienniku Urzędowym Unii Europejskiej* (Dz.U. L 386 z 29.12.2006, s. 57) wraz z decyzją o jej podpisaniu i tymczasowym stosowaniu.

⁽²⁾ Data wejścia w życie Umowy zostanie opublikowana w *Dzienniku Urzędowym Unii Europejskiej* przez Sekretariat Generalny Rady.

ROZPORZĄDZENIA

ROZPORZĄDZENIE RADY (UE) 2018/147

z dnia 29 stycznia 2018 r.

zmieniające rozporządzenie (UE) nr 1370/2013 w odniesieniu do obowiązującego ograniczenia ilościowego na zakup odtłuszczonego mleka w proszku

RADA UNII EUROPEJSKIEJ,

uwzględniając Traktat o funkcjonowaniu Unii Europejskiej, w szczególności jego art. 43 ust. 3,

uwzględniając wniosek Komisji Europejskiej,

a także mając na uwadze, co następuje:

- (1) Publiczne zapasy interwencyjne odtłuszczonego mleka w proszku w Unii były zgłoszone w wysokości 357 359 ton na koniec lipca 2017 r. Dodatkowych 22 710 ton było oferowane do zakupu po ustalonej cenie do zakończenia okresu interwencji w dniu 30 września 2017 r.
- (2) W sektorze mleka i przetworów mlecznych występuje bezprecedensowa rozbieżność między cenami tłuszczu i białka na skutek szczególnie wysokiego popytu na masło.
- (3) Dostawy mleka w Unii powinny wzrosnąć w 2018 r., co przełoży się na wzrost produkcji masła i odtłuszczonego mleka w proszku.
- (4) Ceny surowego mleka płacone rolnikom w 2018 r. prawdopodobnie utrzymają się na poziomie, który sprawia, że chów bydła mlecznego jest opłacalny z uwagi na obecny duży popyt na masło i ser mimo stosunkowo niskich cen białka mleka.
- (5) Te czynniki rynkowe sprawiają, że sytuacja w 2018 r. będzie wyjątkowa; sytuację tę należy wziąć pod uwagę szczególnie w odniesieniu do funkcjonowania mechanizmu interwencji publicznej w stosunku do produktów mlecznych.
- (6) W art. 3 rozporządzenia Rady (UE) nr 1370/2013 ⁽¹⁾ ustanowiono ograniczenie ilościowe na zakup odtłuszczonego mleka w proszku po ustalonych cenach, o których mowa w art. 2 tego rozporządzenia. Po osiągnięciu tego ograniczenia zakupu dokonuje się w drodze procedury przetargowej, która służy określeniu maksymalnej ceny zakupu.
- (7) Aby uniknąć skupowania odtłuszczonego mleka w proszku po ustalonej cenie w sytuacji, w której nie byłoby to zgodne z celami siatki bezpieczeństwa, każda interwencja publiczna w odniesieniu do odtłuszczonego mleka w proszku powinna odbywać się w ramach procedury przetargowej. W tym celu ograniczenie ilościowe na zakup odtłuszczonego mleka w proszku po ustalonej cenie na 2018 r. powinno wynosić zero.
- (8) Należy zatem odpowiednio zmienić rozporządzenie (UE) nr 1370/2013.
- (9) Aby tymczasowy środek określony w niniejszym rozporządzeniu wywarł bezpośredni wpływ na rynek, a podmioty rynkowe mogły zostać poinformowane w odpowiednim czasie przed rozpoczęciem kolejnej kampanii interwencji, niniejsze rozporządzenie powinno wejść w życie w dniu następującym po jego opublikowaniu,

⁽¹⁾ Rozporządzenie Rady (UE) nr 1370/2013 z dnia 16 grudnia 2013 r. określające środki dotyczące ustalania niektórych dopłat i refundacji związanych ze wspólną organizacją rynków produktów rolnych (Dz.U. L 346 z 20.12.2013, s. 12).

PRZYJMUJE NINIEJSZE ROZPORZĄDZENIE:

Artykuł 1

W art. 3 ust. 1 rozporządzenia (UE) nr 1370/2013 dodaje się akapit w brzmieniu:

„Na zasadzie odstępstwa od akapitu pierwszego, w 2018 r. ograniczenie ilościowe na zakup odtłuszczonego mleka w proszku po ustalonej cenie wynosi 0 ton.”.

Artykuł 2

Niniejsze rozporządzenie wchodzi w życie następnego dnia po jego opublikowaniu w *Dzienniku Urzędowym Unii Europejskiej*.

Niniejsze rozporządzenie wiąże w całości i jest bezpośrednio stosowane we wszystkich państwach członkowskich.

Sporządzono w Brukseli dnia 29 stycznia 2018 r.

W imieniu Rady
R. PORODZANOV
Przewodniczący

ROZPORZĄDZENIE DELEGOWANE KOMISJI (UE) 2018/148**z dnia 27 września 2017 r.****zmieniające załączniki II, III i IV do rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) nr 978/2012 wprowadzającego ogólny system preferencji taryfowych**

KOMISJA EUROPEJSKA,

uwzględniając Traktat o funkcjonowaniu Unii Europejskiej,

uwzględniając rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) nr 978/2012 z dnia 25 października 2012 r. wprowadzające ogólny system preferencji taryfowych i uchylające rozporządzenie Rady (WE) nr 732/2008⁽¹⁾, w szczególności jego art. 5 ust. 3, art. 10 ust. 5 oraz art. 17 ust. 2,

a także mając na uwadze, co następuje:

- (1) W art. 4 rozporządzenia (UE) nr 978/2012 określono kryteria przyznawania preferencji taryfowych przewidzianych w rozwiązaniu ogólnym w ramach ogólnego systemu preferencji („GSP”).
- (2) Art. 4 ust. 1 lit. a) i b) rozporządzenia (UE) nr 978/2012 stanowią odpowiednio, że kraj, który został sklasyfikowany przez Bank Światowy jako kraj o wysokim dochodzie lub o średniowysokim dochodzie przez trzy kolejne lata, a także kraj, który korzysta z umowy o preferencyjnym dostępie do rynku, która zasadniczo w zakresie całego handlu zapewnia taki sam poziom preferencji taryfowych jak system GSP lub lepszy, nie powinien korzystać z preferencji w ramach GSP.
- (3) Wykaz krajów korzystających z rozwiązania ogólnego w ramach GSP, o którym mowa w art. 1 ust. 2 lit. a) rozporządzenia (UE) nr 978/2012, określono w załączniku II do tego rozporządzenia. Zgodnie z art. 5 ust. 2 rozporządzenia (UE) nr 978/2012 przeglądu załącznika II należy dokonać do dnia 1 stycznia każdego roku. W przeglądzie należy uwzględnić zmiany w gospodarce, rozwoju lub warunkach wymiany handlowej w krajach korzystających w odniesieniu do kryteriów określonych w art. 4.
- (4) Zgodnie z art. 5 ust. 2 rozporządzenia (UE) nr 978/2012 krajowi korzystającemu z systemu GSP i podmiotom gospodarczym należy zapewnić wystarczający czas na dokładne przystosowanie się do zmiany statusu danego kraju w ramach GSP. W związku z tym rozwiązanie GSP musi pozostać w mocy przez rok od dnia wejścia w życie zmiany statusu kraju, jak określono w art. 4 ust. 1 lit. a), i przez dwa lata od dnia zastosowania umowy o preferencyjnym dostępie do rynku, jak określono w art. 4 ust. 1 lit. b).
- (5) Paragwaj został sklasyfikowany przez Bank Światowy jako kraj o średniowysokim dochodzie w latach 2015, 2016 i 2017. W związku z tym Paragwaj nie kwalifikuje się już do statusu kraju korzystającego z systemu GSP zgodnie z art. 4 ust. 1 lit. a) rozporządzenia (UE) nr 978/2012 i powinien zostać wykreślony z wykazu krajów beneficjentów systemu GSP zawartego w załączniku II do tego rozporządzenia ze skutkiem od dnia 1 stycznia 2019 r.
- (6) Stosowanie preferencyjnych zasad dostępu do rynku rozpoczęto w odniesieniu do Republiki Wybrzeża Kości Słoniowej w dniu 3 września 2016 r., w odniesieniu do Suazi w dniu 10 października 2016 r., a w odniesieniu do Ghany w dniu 15 grudnia 2016 r. W związku z tym zgodnie z art. 4 ust. 1 lit. b) również Wybrzeże Kości Słoniowej, Suazi i Ghanę należy wykreślić z załącznika II do rozporządzenia (UE) nr 978/2012 ze skutkiem od dnia 1 stycznia 2019 r.
- (7) W art. 9 ust. 1 rozporządzenia (UE) nr 978/2012 ustanowiono szczególne kryteria kwalifikowalności do korzystania z preferencji taryfowych w ramach szczególnego rozwiązania motywacyjnego dotyczącego zrównoważonego rozwoju i dobrych rządów („GSP +”) dla krajów korzystających z GSP. Wykaz krajów korzystających z systemu GSP+ ustanowiono w załączniku III do rozporządzenia (UE) nr 978/2012.
- (8) Ponieważ z dniem 1 stycznia 2019 r. Paragwaj przestanie być krajem korzystającym z systemu GSP, na mocy art. 9 ust. 1 rozporządzenia (UE) nr 978/2012 Paragwaj przestanie także być krajem korzystającym z systemu GSP +. Należy zatem wykreślić Paragwaj z załącznika III do tego rozporządzenia ze skutkiem od dnia 1 stycznia 2019 r.

⁽¹⁾ Dz.U. L 303 z 31.10.2012, s. 1.

- (9) Art. 17 ust. 1 rozporządzenia (UE) nr 978/2012 stanowi, że kraj, który jest uznawany przez ONZ za kraj najsłabiej rozwinięty, powinien korzystać z preferencji taryfowych przewidzianych w ramach szczególnego rozwiązania dotyczącego krajów najsłabiej rozwiniętych (inicjatywa „Wszystko oprócz broni” (EBA)). Wykaz krajów korzystających z EBA ustanowiono w załączniku IV do tego rozporządzenia.
- (10) W dniu 4 czerwca 2017 r. ONZ wykreśliła Gwineę Równikową z kategorii krajów najsłabiej rozwiniętych. W związku z tym na mocy art. 17 ust. 1 rozporządzenia (UE) nr 978/2012 Gwinea Równikowa nie kwalifikuje się już do statusu kraju korzystającego z EBA i powinna zostać usunięta z załącznika IV do tego rozporządzenia. Zgodnie z art. 17 ust. 2 rozporządzenia (UE) nr 978/2012 decyzja o usunięciu Gwinei Równikowej z wykazu krajów korzystających z EBA powinna mieć zastosowanie po upływie trzyletniego okresu przejściowego od dnia wejścia w życie niniejszego rozporządzenia, tj. od dnia 1 stycznia 2021 r.
- (11) Gwinea Równikowa została również sklasyfikowana w 2015 r. przez Bank Światowy jako kraj o wysokim dochodzie, a w latach 2016 i 2017 jako kraj o średniowysokim dochodzie. W związku z tym Gwinea Równikowa nie kwalifikuje się już do statusu kraju korzystającego z systemu GSP zgodnie z art. 4 ust. 1 lit. a) rozporządzenia (UE) nr 978/2012 i powinna zostać wykreślona z wykazu krajów beneficjentów systemu GSP zawartego w załączniku II do tego rozporządzenia ze skutkiem od dnia 1 stycznia 2021 r.,

PRZYJMUJE NINIEJSZE ROZPORZĄDZENIE:

Artykuł 1

Zmiany do rozporządzenia (UE) nr 978/2012

W rozporządzeniu (UE) nr 978/2012 wprowadza się następujące zmiany:

1) w załączniku II w kolumnach A i B skreśla się następujące kraje i odpowiadające im kody alfabetyczne:

CI Wybrzeże Kości Słoniowej
GH Ghana
PY Paragwaj
SZ Suazi;

2) w załączniku III w kolumnach A i B usuwa się odpowiednio następujące kody alfabetyczne i odpowiadające im kraje:

PY Paragwaj;

3) w załączniku II i IV w kolumnach A i B usuwa się odpowiednio następujące kody alfabetyczne i odpowiadające im kraje:

GQ Gwinea Równikowa.

Artykuł 2

Wejście w życie i stosowanie

Niniejsze rozporządzenie wchodzi w życie z dniem 1 stycznia 2018 r.

Art. 1 ust. 1 i 2 stosuje się od dnia 1 stycznia 2019 r.

Art. 1 ust. 3 stosuje się od dnia 1 stycznia 2021 r.

Niniejsze rozporządzenie wiąże w całości i jest bezpośrednio stosowane we wszystkich państwach członkowskich.

Sporządzono w Brukseli dnia 27 września 2017 r.

W imieniu Komisji
Jean-Claude JUNCKER
Przewodniczący

ROZPORZĄDZENIE DELEGOWANE KOMISJI (UE) 2018/149**z dnia 15 listopada 2017 r.****zmieniające rozporządzenie delegowane (UE) 2016/1238 w odniesieniu do wymogów dotyczących składu i cech jakościowych mleka i przetworów mlecznych kwalifikujących się do interwencji publicznej i dopłat do prywatnego przechowywania**

KOMISJA EUROPEJSKA,

uwzględniając Traktat o funkcjonowaniu Unii Europejskiej,

uwzględniając rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) nr 1308/2013 z dnia 17 grudnia 2013 r. ustanawiające wspólną organizację rynków produktów rolnych oraz uchylające rozporządzenia Rady (EWG) nr 922/72, (EWG) nr 234/79, (WE) nr 1037/2001 i (WE) nr 1234/2007 ⁽¹⁾, w szczególności jego art. 19 ust. 1 lit. a),

a także mając na uwadze, co następuje:

- (1) Rozporządzenie delegowane Komisji (UE) 2016/1238 ⁽²⁾ ustanawia wymogi dotyczących składu i cech jakościowych mleka i przetworów mlecznych kwalifikujących się do interwencji publicznej i dopłat do prywatnego przechowywania.
- (2) W następstwie technicznych udoskonaleń metod wykorzystywanych do analizy i oceny jakości mleka i przetworów mlecznych oraz w celu dostosowania istniejących przepisów unijnych dotyczących wymogów w zakresie higieny, należy dokonać przeglądu i aktualizacji parametrów odnoszących się do wymogów dotyczących składu i cech jakościowych niektórych przetworów mlecznych kwalifikujących się do interwencji publicznej i dopłat do prywatnego przechowywania.
- (3) Należy zatem odpowiednio zmienić załączniki IV i V do rozporządzenia delegowanego (UE) 2016/1238,

PRZYJMUJE NINIEJSZE ROZPORZĄDZENIE:

Artykuł 1

W załącznikach do rozporządzenia delegowanego (UE) 2016/1238 wprowadza się następujące zmiany:

- a) część II załącznika IV zastępuje się tekstem znajdującym się w załączniku I do niniejszego rozporządzenia;
- b) część II załącznika V zastępuje się tekstem znajdującym się w załączniku II do niniejszego rozporządzenia.

Artykuł 2Niniejsze rozporządzenie wchodzi w życie siódmego dnia po jego opublikowaniu w *Dzienniku Urzędowym Unii Europejskiej*.

Niniejsze rozporządzenie wiąże w całości i jest bezpośrednio stosowane we wszystkich państwach członkowskich.

Sporządzono w Brukseli dnia 15 listopada 2017 r.

W imieniu Komisji
Jean-Claude JUNCKER
Przewodniczący

⁽¹⁾ Dz.U. L 347 z 20.12.2013, s. 671.

⁽²⁾ Rozporządzenie delegowane Komisji (UE) 2016/1238 z dnia 18 maja 2016 r. uzupełniające rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) nr 1308/2013 w odniesieniu do interwencji publicznej i dopłat do prywatnego przechowywania (Dz.U. L 206 z 30.7.2016, s. 15).

ZAŁĄCZNIK I

„CZĘŚĆ II**Wymogi dotyczące składu i cechy jakościowe**

Masło jest emulsją stałą, głównie typu woda/olej, o następującym składzie i cechach jakościowych:

Parametry	Skład i cechy jakościowe
Tłuszcz	Minimalnie 82 %
Woda	Maksymalnie 16 %
Sucha masa beztłuszczowa	Maksymalnie 2 %
Kwasowość tłuszczu	Maksymalnie 1,2 mmoli/100 g tłuszczu
Liczba nadtlenkowa	Maksymalnie 0,3 meq tlenu/1 000 g tłuszczu
Tłuszcz niemleczny	Niewykrywalny za pomocą analizy trójglicerydów
Właściwości sensoryczne	Przynajmniej cztery na pięć możliwych punktów za wygląd, smak i konsystencję”

ZAŁĄCZNIK II

„CZĘŚĆ II

Wymogi dotyczące składu i cechy jakościowe

Parametry	Skład i cechy jakościowe
Białka	Minimum 34,0 % suchej masy beztłuszczowej
Tłuszcz	Maksymalnie 1,00 %
Woda	Maksymalnie 3,5 %
Kwasowość miareczkowa w ml decynormalnego roztworu wodorotlenku sodu	Maksymalnie 19,5 ml
Mleczany	Maksymalnie 150 mg/100 g
Test na fosfatazę	Wynik ujemny, tj. aktywność fosfatazy nie większa niż 350 mU na litr mleka rekonstruowanego
Wskaźnik nierozpuszczalności	Maksymalnie 0,5 ml (24 °C)
Cząstki przypalone	Maksymalnie 15,0 mg, tj. co najmniej dysk B
Mikroorganizmy	Maksymalnie 40 000 jtk na gram
Maślanka ⁽¹⁾	Brak ⁽²⁾
Serwatka podpuszczkowa ⁽³⁾	Brak
Serwatka kwaśna ⁽³⁾	Brak ⁽⁴⁾ lub maksymalnie 150 mg/100 g ⁽⁵⁾
Smak i zapach	Czyste
Wygląd	Białe lub lekko żółtawe, bez zanieczyszczeń i cząstek kolorowych

⁽¹⁾ »Maślanka« oznacza produkt uboczny wytwarzania masła powstały po zmaśleniu śmietanki i oddzieleniu stałego tłuszczu.

⁽²⁾ Brak maślanki może być zweryfikowany albo przez niezapowiedzianą kontrolę na miejscu jednostki produkcyjnej przeprowadzaną co najmniej raz w tygodniu, albo poprzez badania laboratoryjne produktu końcowego wykazujące maksymalnie 69,31 mg PEDP (dipalmitoilofosfatydyloetanolaminy) na 100 g.

⁽³⁾ »Serwatka« oznacza produkt uboczny wytwarzania sera lub kazeiny uzyskany w wyniku działania kwasów, podpuszczki lub procesów fizyko-chemicznych.

⁽⁴⁾ W przypadku przeprowadzenia kontroli na miejscu.

⁽⁵⁾ W przypadku stosowania ISO 8069.”

ROZPORZĄDZENIE WYKONAWCZE KOMISJI (UE) 2018/150**z dnia 30 stycznia 2018 r.****zmieniające rozporządzenie wykonawcze (UE) 2016/1240 w odniesieniu do metod analizy oraz oceny jakości mleka i przetworów mlecznych kwalifikujących się do interwencji publicznej i dopłat do prywatnego przechowywania**

KOMISJA EUROPEJSKA,

uwzględniając Traktat o funkcjonowaniu Unii Europejskiej,

uwzględniając rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) nr 1306/2013 z dnia 17 grudnia 2013 r. w sprawie finansowania wspólnej polityki rolnej, zarządzania nią i monitorowania jej oraz uchylające rozporządzenia Rady (EWG) nr 352/78, (WE) nr 165/94, (WE) nr 2799/98, (WE) nr 814/2000, (WE) nr 1290/2005 i (WE) nr 485/2008 ⁽¹⁾, w szczególności jego art. 62 ust. 2 lit. i),

a także mając na uwadze, co następuje:

- (1) W rozporządzeniu delegowanym Komisji (UE) 2016/1238 ⁽²⁾ i rozporządzeniu wykonawczym Komisji (UE) 2016/1240 ⁽³⁾ ustanowiono przepisy dotyczące interwencji publicznej i dopłat do prywatnego przechowywania. Rozporządzenie Komisji (WE) nr 273/2008 ⁽⁴⁾ określa metody, które mają być stosowane przy ocenie, czy mleko i przetwory mleczne spełniają wymogi kwalifikowalności określone w tych rozporządzeniach w odniesieniu do interwencji publicznej i dopłat do prywatnego przechowywania.
- (2) W świetle postępu technicznego w metodach wykorzystywanych do analizy i oceny jakości mleka i przetworów mlecznych należy wprowadzić znaczne zmiany w celu uproszczenia i aktualizacji odniesień do norm ISO. W celu zapewnienia jasności i skuteczności oraz uwzględniając zakres oraz techniczny charakter zmian do przepisów rozporządzenia (WE) nr 273/2008, odpowiednie przepisy tego rozporządzenia należy włączyć do rozporządzenia wykonawczego (UE) 2016/1240.
- (3) W celu zapewnienia jednolitego stosowania nowych norm i metod we wszystkich państwach członkowskich laboratoria powinny mieć wystarczająco dużo czasu na dokonanie przeglądu procedur i stosowanie zaktualizowanych metod.
- (4) Należy zatem odpowiednio zmienić rozporządzenie wykonawcze (UE) 2016/1240.
- (5) W celu zachowania pewności prawa należy uchylić rozporządzenie (WE) nr 273/2008.
- (6) Środki przewidziane w niniejszym rozporządzeniu są zgodne z opinią Komitetu ds. Wspólnej Organizacji Rynków Rolnych,

PRZYJMUJE NINIEJSZE ROZPORZĄDZENIE:

Artykuł 1

W rozporządzeniu wykonawczym (UE) 2016/1240 wprowadza się następujące zmiany:

- 1) w art. 4 wprowadza się następujące zmiany:
 - a) w ust. 1 wprowadza się następujące zmiany:
 - (i) lit. d) otrzymuje brzmienie:
„d) w odniesieniu do masła: w częściach I i Ia załącznika IV do niniejszego rozporządzenia.”;
 - (ii) lit. e) otrzymuje brzmienie:
„e) w odniesieniu do odtuszczonego mleka w proszku: w częściach I i Ia załącznika V do niniejszego rozporządzenia.”;

⁽¹⁾ Dz.U. L 347 z 20.12.2013, s. 549.

⁽²⁾ Rozporządzenie delegowane Komisji (UE) 2016/1238 z dnia 18 maja 2016 r. uzupełniające rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) nr 1308/2013 w odniesieniu do interwencji publicznej i dopłat do prywatnego przechowywania (Dz.U. L 206 z 30.7.2016, s. 15).

⁽³⁾ Rozporządzenie wykonawcze Komisji (UE) 2016/1240 z dnia 18 maja 2016 r. ustalające zasady stosowania rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) nr 1308/2013 w odniesieniu do interwencji publicznej i dopłat do prywatnego przechowywania (Dz.U. L 206 z 30.7.2016, s. 71).

⁽⁴⁾ Rozporządzenie Komisji (WE) nr 273/2008 z dnia 5 marca 2008 r. ustanawiające szczegółowe zasady stosowania rozporządzenia Rady (WE) nr 1255/1999 w odniesieniu do metod analizy oraz oceny jakości mleka i przetworów mlecznych (Dz.U. L 88 z 29.3.2008, s. 1).

b) ust. 2 otrzymuje brzmienie:

„2. Metodami stosowanymi do określania jakości zbóż, masła i odtuszczonego mleka w proszku, które kwalifikują się do interwencji publicznej i o których mowa odpowiednio w załącznikach I, IV i V, są metody ustanowione w ramach najnowszych wersji odpowiednich norm europejskich lub międzynarodowych, stosownie do przypadku, które to normy obowiązują co najmniej 6 miesięcy przed pierwszym dniem okresu interwencji publicznej, jak określono w art. 12 rozporządzenia (UE) nr 1308/2013.”;

2) dodaje się art. 60a w brzmieniu:

„Artykuł 60a

Przepisy szczegółowe dotyczące kontroli w ramach interwencji publicznej oraz dopłat do prywatnego przechowywania w odniesieniu do mleka i przetworów mlecznych

1. Kwalifikowalność masła, odtuszczonego mleka w proszku i sera do otrzymania dopłat do prywatnego przechowywania ustala się zgodnie z metodami określonymi odpowiednio w załącznikach VI, VII i VIII.

Metody te ustanawia się poprzez odesłanie do najnowszych wersji odpowiednich norm europejskich lub międzynarodowych, stosownie do przypadku, które to normy obowiązują co najmniej 6 miesięcy przed pierwszym dniem okresu interwencji publicznej, jak określono w art. 12 rozporządzenia (UE) nr 1308/2013.

2. Wyniki kontroli przeprowadzonych z zastosowaniem metod określonych w niniejszym rozporządzeniu podlegają ocenie zgodnie z załącznikiem IX.”;

3) w załącznikach wprowadza się zmiany zgodnie z załącznikiem do niniejszego rozporządzenia.

Artykuł 2

Rozporządzenie (WE) nr 273/2008 traci moc.

Artykuł 3

Niniejsze rozporządzenie wchodzi w życie siódmego dnia po jego opublikowaniu w *Dzienniku Urzędowym Unii Europejskiej*.

Niniejsze rozporządzenie wiąże w całości i jest bezpośrednio stosowane we wszystkich państwach członkowskich.

Sporządzono w Brukseli dnia 30 stycznia 2018 r.

W imieniu Komisji
Jean-Claude JUNCKER
Przewodniczący

ZAŁĄCZNIK

W załącznikach do rozporządzenia wykonawczego (UE) 2016/1240 wprowadza się następujące zmiany:

1) w załączniku IV wprowadza się następujące zmiany:

a) w części I pkt 2 akapit drugi otrzymuje brzmienie:

„Każdą próbkę należy ocenić indywidualnie. Niedozwolone jest przeprowadzanie powtórnego pobierania próbek oraz powtórnej oceny.”;

b) dodaje się część Ia w brzmieniu:

„CZĘŚĆ IA

Metody analizy niesolonego masła do celów interwencji publicznej

Parametr	Metoda
Tłuszcz (1)	ISO 17189 lub ISO 3727 część 3
Woda	ISO 3727 część 1
Sucha masa beztłuszczowa	ISO 3727 część 2
Kwasowość tłuszczu	ISO 1740
Liczba nadtlenkowa	ISO 3976
Tłuszcz niemleczny	ISO 17678
Charakterystyka sensoryczna	ISO 22935 część 2 i 3 oraz punktacja jak w tabeli poniżej.

(1) Stosuje się metodę zatwierdzoną przez agencję płatniczą.

Tabela punktacji

Wygląd		Konsystencja		Zapach i smak	
Punkty	Uwagi	Punkty	Uwagi	Punkty	Uwagi
5	<i>Bardzo dobry</i> Idealny rodzaj Najwyższa jakość (równomiernie suche)	5	<i>Bardzo dobra</i> Idealny rodzaj Najwyższa jakość (możliwe równomierne rozsmarowanie)	5	<i>Bardzo dobry</i> Idealny rodzaj Najwyższa jakość (absolutnie czysty, naj- lepszy zapach)
4	<i>Dobry</i> (bez wyraźnych wad)	4	<i>Dobra</i> (bez wyraźnych wad)	4	<i>Dobry</i> (bez wyraźnych wad)
1, 2 lub 3	Jakiegolwiek wady	1, 2 lub 3	Jakiegolwiek wady	1, 2 lub 3	Jakiegolwiek wady”

2) w załączniku V dodaje się część Ia w brzmieniu:

„CZĘŚĆ IA

Metody analizy odtłuszczonego mleka w proszku do celów interwencji publicznej

Parametr	Metoda
Białko	ISO 8968 część 1
Tłuszcz	ISO 1736
Woda	ISO 5537
Kwasowość	ISO 6091
Mleczany	ISO 8069
Test na fosfatę	ISO 11816 część 1
Wskaźnik nierozpuszczalności	ISO 8156
Cząstki przypalone ⁽¹⁾	ADPI
Mikroorganizmy	ISO 4833 część 1
Maślanka	Dodatek I
Serwatka podpuszczkowa ⁽²⁾	Dodatki II i III
Serwatka kwasowa ⁽³⁾	ISO 8069 lub kontrole na miejscu
Kontrole sensoryczne ⁽⁴⁾	ISO 22935 część 2 i 3

⁽¹⁾ Analiza cząstek przypalonych może być przeprowadzana systematycznie. Analiza taka musi być jednak zawsze przeprowadzona w przypadku braku kontroli sensorycznej.

⁽²⁾ Stosuje się metodę zatwierdzoną przez agencję płatniczą (jedną lub więcej metod).

⁽³⁾ Stosuje się metodę zatwierdzoną przez agencję płatniczą.

⁽⁴⁾ Jeżeli okaże się to konieczne po przeprowadzeniu analizy ryzyka zatwierdzonej przez agencję płatniczą, przeprowadza się kontrole sensoryczne.

Dodatek I

ODTŁUSZCZONE MLEKO W PROSZKU: ILOŚCIOWE OZNACZANIE ZAWARTOŚCI FOSFATYDYLOSERYNY I FOSFATYDYLOETANOLAMINY**Metoda: HPLC z odwróconymi fazami.**

1. ZAKRES I DZIEDZINA STOSOWANIA

Metoda opisuje procedurę ilościowego oznaczania fosfatydyloseryny (PS) oraz fosfatydyloetanolaminy (PE) w odtłuszczonym mleku w proszku (OMP) i jest odpowiednia do wykrywania suchej masy maślanki w odtłuszczonym mleku w proszku.

2. DEFINICJA

Zawartość PS + PE: ułamek masowy substancji oznaczony z wykorzystaniem procedury określonej w niniejszej metodzie. Wynik wyrażony jest w miligramach dipalmitoilofosfatydyloetanolaminy (PEDP) na 100 g proszku.

3. ZASADA METODY

Ekstrakcja aminofosfolipidów z odtworzonego mleka w proszku przy użyciu metanolu. Oznaczenie PS i PE jako pochodnych dialdehydu o-ftalowego (OPA) metodą HPLC z odwróconymi fazami i detekcją fluorescencyjną. Oznaczenie ilościowe zawartości PS i PE w badanej próbce przez odniesienie do próbki wzorcowej zawierającej znaną ilość PEDP.

4. ODCZYNNIKI

Wszystkie odczynniki muszą być odczynnikami o uznanej klasie analitycznej. Stosuje się wodę destylowaną lub wodę o równoważnym stopniu czystości, jeżeli nie określono inaczej.

4.1. **Materiał wzorcowy: PEDP, czystość co najmniej 99 %**

Uwaga: Materiał wzorcowy musi być przechowywany w temperaturze – 18 °C.

4.2. **Odczynniki do przygotowania próbki wzorcowej i próbki badanej**

4.2.1. *Metanol o jakości wymaganej dla HPLC*

4.2.2. *Chloroform o jakości wymaganej dla HPLC*

4.2.3. *Monochlorowodorek tryptaminy*

4.3. **Odczynniki do derywatywacji dialdehydu o-ftalowego**

4.3.1. *Wodorotlenek sodu, roztwór wodny 12 M*

4.3.2. *Kwas borny, roztwór wodny 0,4 M, o pH doprowadzonym do 10,0 przy użyciu wodorotlenku sodu (ppkt 4.3.1)*

4.3.3. *2-merkaptoetanol*

4.3.4. *Dialdehyd o-ftalowy (OPA)*

4.4. **Rozpuszczalniki eluujące do HPLC**

4.4.1. *Rozpuszczalniki eluujące są przygotowywane przy użyciu odczynników o jakości wymaganej dla HPLC.*

4.4.2. *Woda o jakości wymaganej dla HPLC*

4.4.3. *Metanol o czystości zbadanej fluorometrycznie*

4.4.4. *Tetrahydrofuran*

4.4.5. *Diwodorofosforan sodu*

4.4.6. *Octan sodu*

4.4.7. *Kwas octowy*

5. APARATURA

5.1. **Waga analityczna, umożliwiająca ważenie z dokładnością do 1 mg, o dokładności odczytu 0,1 mg**

5.2. **Zlewki poj. 25 ml i 100 ml**

5.3. **Pipety umożliwiające dozowanie 1 ml i 10 ml**

5.4. **Mieszadło magnetyczne**

5.5. **Pipety miarowe umożliwiające dozowanie 0,2 ml, 0,5 ml i 5 ml**

5.6. **Kolby miarowe poj. 10 ml, 50 ml i 100 ml**

5.7. **Strzykawki poj. 20 μ l i 100 μ l**

5.8. **Łażnia ultradźwiękowa**

5.9. **Wirówka umożliwiająca osiągnięcie 27 000 \times g**

5.10. **Fiolki szklane poj. ok. 5 ml**

5.11. **Cylinder miarowy poj. 25 ml**

5.12. **Pehametr o dokładności pomiaru do 0,1 jednostki pH**

5.13. **Sprzęt do HPLC**

5.13.1. *Układ pompowy do elucji gradientowej umożliwiający pracę przy natężeniu 1,0 ml/min i ciśnieniu 200 barów*

5.13.2. *Automatyczny podajnik do próbek umożliwiający derywatazację*

5.13.3. *Ogrzewacz kolumnowy, umożliwiający utrzymanie kolumny w temp. 30 °C \pm 1 °C*

5.13.4. *Detektor fluorescencji, umożliwiający pracę przy długości fali wzbudzenia 330 nm i długości fali emisji 440 nm*

5.13.5. *Integrator lub oprogramowanie do przetwarzania danych umożliwiający pomiar powierzchni pików*

5.13.6. *LiChrospher® – kolumna 100 (250 \times 4,6 mm) lub równoważna kolumna wypełniona oktadecylosilanem (C 18) o uziarnieniu 5 μ m*

6. POBIERANIE PRÓBEK

Pobieranie próbek przeprowadza się zgodnie z normą ISO 707.

7. PROCEDURA

7.1. **Przygotowanie wewnętrznego roztworu wzorcowego**

7.1.1. *Odmierzyć wagowo 30,0 \pm 0,1 mg monochlorowodoru tryptaminy (ppkt 4.2.3) do kolby miarowej poj. 100 ml (ppkt 5.6) i uzupełnić do kreski metanolem (ppkt 4.2.1).*

7.1.2. *Odmierzyć pipetą 1 ml (ppkt 5.3) tego roztworu do kolby miarowej poj. 10 ml (ppkt 5.6) i uzupełnić do kreski metanolem (ppkt 4.2.1) w celu uzyskania stężenia 0,15 mM tryptaminy.*

7.2. **Przygotowanie roztworu próbki badanej**

7.2.1. *Odmierzyć wagowo 1,000 \pm 0,001 g próbki OMP do zlewki poj. 25 ml (ppkt 5.2). Odmierzyć pipetą (ppkt 5.3) 10 ml wody destylowanej o temp. 40 °C \pm 1 °C i mieszać mieszadłem magnetycznym (ppkt 5.4) przez 30 minut do całkowitego rozpuszczenia grudek.*

7.2.2. *Odmierzyć pipetą (ppkt 5.5) 0,2 ml odtworzonego mleka do kolby miarowej poj. 10 ml (ppkt 5.6), za pomocą strzykawki (ppkt 5.7) dodać 100 μ l roztworu 0,15 mM tryptaminy (ppkt 7.1) i uzupełnić do kreski metanolem (ppkt 4.2.1). Wymieszać dokładnie, odwracając kolbę i poddawać sonikacji (ppkt 5.8) przez 15 minut.*

7.2.3. *Wirować (ppkt 5.9) przy 27 000 \times g przez 10 minut i zebrać nadsącz do szklanej fiołki (ppkt 5.10).*

Uwaga: Do chwili przeprowadzenia analizy HPLC roztwór próbki badanej należy przechowywać w temp. 4 °C.

7.3. Przygotowanie zewnętrznego roztworu wzorcowego

7.3.1. Odmierzyć wagowo 55,4 mg PEDP (ppkt 4.1) do kolby miarowej poj. 50 ml (ppkt 5.6) i dodać ok. 25 ml chloroformu (ppkt 4.2.2), używając cylindra miarowego (ppkt 5.11). Podgrzać zakorkowaną kolbę do 50 °C ± 1 °C i wymieszać dokładnie aż do rozpuszczenia PEDP. Schłodzić kolbę do 20 °C, uzupełnić do kreski metanolem (ppkt 4.2.1) i wymieszać przez odwracanie.

7.3.2. Odmierzyć pipetą 1 ml (ppkt 5.3) tego roztworu do kolby miarowej poj. 100 ml (ppkt 5.6), uzupełnić do kreski metanolem (ppkt 4.2.1). Odmierzyć pipetą 1 ml (ppkt 5.3) tego roztworu do kolby miarowej poj. 10 ml (ppkt 5.6), dodać 100 µl (ppkt 5.7) roztworu 0,15 mM tryptaminy (ppkt 7.1) i uzupełnić do kreski metanolem (ppkt 4.2.1). Wymieszać przez odwracanie.

Uwaga: Do chwili przeprowadzania analizy HPLC roztwór próbki odniesienia należy przechowywać w temp. 4 °C.

7.4. Przygotowanie odczynnika do derywatyżacji

Odmierzyć wagowo 25,0 ± 0,1 mg OPA (ppkt 4.3.4) do kolby miarowej poj. 10 ml (ppkt 5.6), dodać 0,5 ml (ppkt 5.5) metanolu (ppkt 4.2.1) i wymieszać dokładnie w celu rozpuszczenia OPA. Uzupełnić do kreski roztworem kwasu borowego (ppkt 4.3.2) i dodać 20 µl 2-merkaptoetanolu (ppkt 4.3.3) za pomocą strzykawki (ppkt 5.7).

Uwaga: Odczynnik do derywatyżacji należy przechowywać w temp. 4 °C w fiolce z brązowego szkła; w takich warunkach zachowuje on stabilność przez okres jednego tygodnia.

7.5. Oznaczenie za pomocą HPLC

7.5.1. Rozpuszczalniki eluujące (ppkt 4.4)

Rozpuszczalnik A: roztwór 0,3 mM diwodorofosforanu sodu i roztwór 3 mM octanu sodu (dostosowane do pH 6,5 ± 0,1 za pomocą kwasu octowego): metanol: tetrahydrofuran = 558:440:2 (v/v/v)

Rozpuszczalnik B: metanol

7.5.2. Zalecany gradient elucji

Czas (minuty)	Rozpuszczalnik A (%)	Rozpuszczalnik B (%)	Natężenie przepływu (ml/min)
Początkowy	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

Uwaga: W celu uzyskania rozdzielczości przedstawionej na rys. 1 niezbędna może się okazać drobna modyfikacja gradientu elucji.

Temperatura kolumny: 30 °C.

7.5.3. Objętość wprowadzona: 50 µl odczynnika do derywatywacji i 50 µl roztworu próbki.

7.5.4. Równoważenie kolumny

Uruchamiając układ każdego dnia, należy przepłukiwać kolumny rozpuszczalnikiem B o stężeniu 100 % przez 15 minut, następnie ustalić rozpuszczalniki A i B w proporcji 40:60 i równoważyć przy 1 ml/min przez 15 minut. Przeprowadzić ślepią próbę poprzez wprowadzenie metanolu (ppkt 4.2.1).

Uwaga: Przed długotrwałym przechowywaniem płukać kolumnę roztworem metanolu i chloroformu w proporcji 80:20 (v/v) przez 30 minut.

7.5.5. Oznaczyć zawartość PS + PE w badanej próbce.

7.5.6. Przeprowadzić sekwencję analiz chromatograficznych, utrzymując niezmienny czas pomiędzy pojedynczymi analizami w celu uzyskania stałych czasów retencji. Wprowadzać zewnętrzny roztwór wzorcowy (ppkt 7.3) co 5–10 wprowadzeń roztworu badanej próbki w celu obliczenia współczynnika odpowiedzi.

Uwaga: Kolumna jest czyszczona przez przepłukiwanie 100 % rozpuszczalnikiem B (ppkt 7.5.1), przez co najmniej 30 minut, co 20–25 pojedynczych analiz.

7.6. Metoda całkowania

7.6.1. Pik PEDP

PEDP jest eluowana w postaci pojedynczego piku. Określić powierzchnię piku przez całkowanie wykresu między kolejnymi dolinami.

7.6.2. Pik tryptaminy

Tryptamina jest eluowana w postaci pojedynczego piku (rys. 1). Określić powierzchnię piku przez całkowanie wykresu między kolejnymi dolinami.

7.6.3. Grupy pików PS i PE

W opisanych warunkach (rys. 1) PS jest eluowana w postaci dwóch głównych, częściowo nierozdzielonych pików, poprzedzonych mniejszym pikiem. PE jest eluowana w postaci trzech głównych, częściowo nierozdzielonych pików. Określić całkowitą powierzchnię każdego skupiska pików przez ustawienie linii podstawowej zgodnie z rys. 1.

8. OBLICZANIE I PREZENTACJA WYNIKÓW

Zawartość PS i PE w próbce badanej oblicza się, jak następuje:

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

gdzie:

C = zawartość PS lub PE (mg/100 g proszku) w badanej próbce

A₁ = powierzchnia piku PEDP roztworu próbki wzorcowej (ppkt 7.3)

A₂ = powierzchnia piku PS lub PE roztworu próbki badanej (ppkt 7.2)

T₁ = powierzchnia piku tryptaminy w roztworze próbki wzorcowej (ppkt 7.3)

T₂ = powierzchnia piku tryptaminy w roztworze próbki badanej (ppkt 7.2)

9. DOKŁADNOŚĆ METODY

Uwaga: Wartości powtarzalności zostały obliczone zgodnie z międzynarodową normą IDF (*).

9.1. Powtarzalność

Względne odchylenie standardowe powtarzalności, wyrażające zmienność niezależnych wyników analitycznych otrzymanych przez ten sam podmiot, wykorzystujący tę samą aparaturę, w takich samych warunkach, na takiej samej próbce badanej oraz w krótkim odstępie czasu, nie powinno przekraczać 2 % wartości względnej. Jeżeli w tych warunkach otrzymane są dwa oznaczenia, względna różnica między dwoma wynikami nie powinna być większa niż 6 % średniej arytmetycznej wyników.

9.2. Odtwarzalność

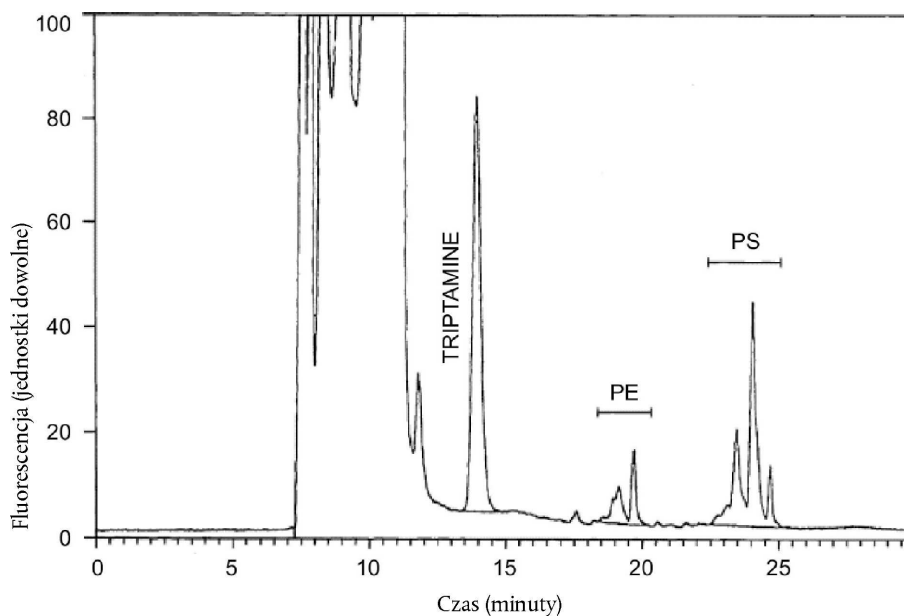
Jeżeli podczas analizy tej samej próbki badanej dwa oznaczenia są otrzymane przez podmioty w różnych laboratoriach, w różnych warunkach i przy wykorzystaniu różnej aparatury, względna różnica między dwoma wynikami nie powinna być większa niż 11 % średniej arytmetycznej wyników.

10. ODNIESIENIA

- 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).

Rys. 1

Uzyskany przy użyciu HPLC wzór pochodnych OPA fosfatydyloseryny (PS) i fosfatydyloetanolaminy (PE) w wyciągu metanolowym odtworzonego odtuszczonego mleka w proszku. Podano tryb całkowania dla pików PS, PE i tryptaminy (wzorzec wewnętrzny).



Dodatek II

WYKRYWANIE OBECNOŚCI SERWATKI PODPUSZCZKOWEJ W ODTŁUSZCZONYM MLEKU W PROSZKU PRZEZNACZONYM DO PRZECHOWYWANIA PUBLICZNEGO ZA POMOCĄ OZNACZANIA MAKROPEPTYDÓW KAZEINOWYCH METODĄ WYSOKOSPRAWNEJ CHROMATOGRAFII CIECZOWEJ (HPLC)

1. ZAKRES I DZIEDZINA STOSOWANIA

Omawiana metoda umożliwia wykrywanie obecności serwatki podpuszczkowej w odtłuszczonym mleku w proszku przeznaczonym do przechowywania publicznego za pomocą oznaczania makropeptydów kazeinowych.

2. ODNIESIENIE

Międzynarodowa norma ISO 707 – Mleko i przetwory mleczne – Wytyczne do pobierania próbek.

3. DEFINICJA

Zawartość suchej masy serwatki podpuszczkowej jest zdefiniowana jako procent masowy, określony w oparciu o zawartość makropeptydów kazeinowych w ramach opisanej procedury.

4. ZASADA

- Odtworzenie odtłuszczonego mleka w proszku, usunięcie tłuszczu i białka za pomocą kwasu trichlorooctowego, a następnie wirowanie lub sączenie,
- Oznaczenie ilości makropeptydów kazeinowych (CMP) w nadsączu metodą wysokosprawnej chromatografii cieczonej (HPLC),
- Ocena wyniku otrzymanego dla próbek poprzez odniesienie do próbek wzorcowych składających się z odtłuszczonego mleka w proszku z dodatkiem znanego udziału procentowego ilości serwatki w proszku lub bez takiego dodatku.

5. ODCZYNNIKI

Wszystkie odczynniki muszą być odczynnikami o uznanej klasie analitycznej. Stosuje się wodę destylowaną lub wodę o równoważnym stopniu czystości.

5.1. **Roztwór kwasu trichlorooctowego**

Rozpuścić 240 g kwasu trichlorooctowego (CCl_3COOH) w wodzie i uzupełnić do 1 000 ml. Roztwór powinien być klarowny i bezbarwny.

5.2. **Roztwór eluentu, pH 6,0**

Rozpuścić 1,74 g ortofosforanu dipotasu (K_2HPO_4), 12,37 g ortofosforanu potasu (KH_2PO_4) oraz 21,41 g siarczanu sodu (Na_2SO_4) w ok. 700 ml wody. W razie potrzeby doprowadzić pH do wartości 6,0, używając roztworu kwasu ortofosforowego lub wodorotlenku potasu.

Uzupełnić wodą do 1 000 ml i homogenizować.

Uwaga: Skład eluentu można aktualizować w celu zachowania zgodności z certyfikatem norm lub zaleceniami producenta materiału wypełniającego kolumnę.

Przed zastosowaniem przesączyć roztwór eluentu przez sączek membranowy o średnicy porów 0,45 μm .

5.3. **Rozpuszczalnik przepłukujący**

Zmieszać jedną objętość acetonitrylu (CH_3CN) z dziewięcioma objętościami wody. Przed użyciem przesączyć mieszaninę przez sączek membranowy o średnicy porów 0,45 μm .

Uwaga: Można zastosować każdy inny rozpuszczalnik przepłukujący o działaniu bakteriobójczym, który nie wpływa niekorzystnie na zdolność rozdzielczą kolumny.

5.4. **Próbki wzorcowe**5.4.1. *Odłuszczone mleko w proszku spełniające wymogi niniejszego rozporządzenia (tzn. [0])*5.4.2. *To samo odłuszczone mleko w proszku zafalszowane 5 % (m/m) serwatką typu podpuszczkowego w proszku o składzie standardowym (tzn. [5]).*

6. APARATURA
- 6.1. **Waga analityczna**
- 6.2. **Opcjonalnie wirówka umożliwiająca osiągnięcie siły odśrodkowej 2 200 g, wyposażona w próbki wirówkowe z korkiem lub zatyczką, poj. ok. 50 ml**
- 6.3. **Wstrząsarka mechaniczna**
- 6.4. **Mieszadło magnetyczne**
- 6.5. **Lejki szklane o średnicy ok. 7 cm**
- 6.6. **Sączi papierowe, średnia prędkość sączenia, o średnicy ok. 12,5 cm**
- 6.7. **Szklany zestaw do sączenia z sączkiem membranowym o średnicy porów 0,45 μm**
- 6.8. **Pipety miarowe pozwalające na dozowanie 10 ml (ISO 648, klasa A lub ISO/R 835) lub system dozujący umożliwiający dostarczenie 10,0 ml w ciągu dwóch minut**
- 6.9. **System dozujący umożliwiający dostarczenie 20 ml wody w temp. ok. 50 °C**
- 6.10. **Łaźnia wodna kontrolowana termostatycznie, ustawiona na 25 °C \pm 0,5 °C.**
- 6.11. **Zestaw do HPLC, w skład którego wchodzi:**
 - 6.11.1. *Pompa*
 - 6.11.2. *Dozownik, ręczny lub automatyczny, poj. 15–30 μl*
 - 6.11.3. *Dwie kolumny TSK 2 000-SW połączone szeregowo (długość 30 cm, średnica wewnętrzna 0,75 cm) lub kolumny równoważne (np. jedna kolumna TSK 2 000-SWxl, jedna kolumna Agilent Technologies Zorbax GF 250), oraz przedkolumna (3 cm \times 0,3 cm) wypełnione I 125 lub materiałem o równoważnej efektywności*
 - 6.11.4. *Piec do kolumn kontrolowany termostatycznie, ustawiony na temp. 35 °C \pm 1 °C*
 - 6.11.5. *Detektor UV o zmiennej długości fali, umożliwiający pomiary przy 205 nm, o czułości 0,008 Å*
 - 6.11.6. *Integrator umożliwiający całkowanie wykresu między kolejnymi dolinami*

Uwaga: Praca z kolumnami utrzymywanymi w temperaturze pokojowej jest możliwa, ale ich zdolność rozdzielcza jest wtedy nieco niższa. W takim wypadku temperatura nie powinna podlegać wahaniom większym niż \pm 5 °C w ramach żadnej z analiz.

7. POBIERANIE PRÓBEK
 - 7.1. *Próbki pobiera się zgodnie z procedurą określoną w międzynarodowej normie ISO 707. Państwa członkowskie mogą jednak stosować inną metodę pobierania próbek pod warunkiem, że jest ona zgodna z zasadami powyższej normy.*
 - 7.2. *Próbkę przechowywać w warunkach wykluczających spadek jakości lub zmianę składu.*
8. PROCEDURA
 - 8.1. **Przygotowanie próbki do badań**

Przenieść mleko w proszku do pojemnika o pojemności w przybliżeniu dwukrotnie większej niż objętość proszku, wyposażonego w hermetyczną pokrywę. Natychmiast zamknąć pojemnik. Wymieszać dobrze mleko w proszku poprzez wielokrotne odwracanie pojemnika do góry dnem.
 - 8.2. **Porcja badana**

Odmierzyć wagowo 2,000 \pm 0,001 g badanej próbki i umieścić w próbówce wirówkowej (ppkt 6.2) bądź w odpowiedniej kolbie z zatyczką (50 ml).
 - 8.3. **Usuwanie tłuszczu i białek**
 - 8.3.1. *Do porcji badanej dodać 20,0 ml ciepłej wody (50 °C). Rozpuścić proszek, wstrząsając przez 5 minut przy pomocy wstrząsarki mechanicznej (ppkt 6.3). Umieścić próbówkę w łaźni wodnej (ppkt 6.10) i pozostawić do wyrównania się temperatury do 25 °C.*

8.3.2. Dodawać stopniowo w ciągu dwóch minut 10,0 ml roztworu kwasu trichlorooctowego (ppkt 5.1) o temp. ok. 25 °C, mieszając jednocześnie energicznie mieszadłem magnetycznym (ppkt 6.4). Umieścić probówkę w łaźni wodnej (ppkt 6.10) i pozostawić na 60 minut.

8.3.3. Wirować (ppkt 6.2) przez 10 minut przy 2 200 g lub przesączyć przez sączonek papierowy (ppkt 6.6), odrzucając pierwsze 5 ml przesączu.

8.4. Oznaczenie chromatograficzne

8.4.1. Wprowadzić 15–30 µl dokładnie odmierzzonego nadsączonego lub przesączonego (ppkt 8.3.3) do aparatury HPLC (ppkt 6.11), pracując przy natężeniu przepływu wynoszącym 1,0 ml roztworu eluentu (ppkt 5.2) na minutę.

Uwaga 1. Można zastosować inne natężenie przepływu w zależności od średnicy wewnętrznej wykorzystywanej kolumny lub instrukcji producenta kolumny.

Uwaga 2. Podczas każdej przerwy przepłukiwać kolumny wodą. Nie należy nigdy pozostawiać roztworu eluentu (ppkt 5.2) w kolumnach.

Przed każdą przerwą dłuższą niż 24 godziny przepłukać kolumny wodą, a następnie przemywać je roztworem (ppkt 5.3) przez co najmniej trzy godziny przy natężeniu przepływu równym 0,2 ml/min.

8.4.2. Wyniki chromatograficznej analizy badanej próbki [E] otrzymuje się w postaci chromatogramu, na którym poszczególne piki określa się za pomocą ich czasu retencji RT w następujący sposób:

Pik II:	Drugi pik chromatogramu z RT wynoszącym ok. 12,5 minuty.
Pik III:	Trzeci pik chromatogramu, odpowiadający CMP, z RT wynoszącym 15,5 minuty.

Dobór kolumny lub kolumn może mieć znaczący wpływ na czasy retencji poszczególnych pików.

Integrator (ppkt 6.11.6) automatycznie oblicza powierzchnię A każdego piku.

A_{II} :	powierzchnia piku II
A_{III} :	powierzchnia piku III

Konieczne jest zbadanie wyglądu każdego chromatogramu przed dokonaniem interpretacji ilościowej w celu wykrycia ewentualnych nieprawidłowości, będących skutkiem wadliwego działania aparatury lub kolumn albo też pochodzenia i rodzaju analizowanej próbki.

W razie wątpliwości analizę należy powtórzyć.

8.5. Kalibracja

8.5.1. Do próbek wzorcowych (ppkt 5.4) zastosować dokładnie procedurę opisaną w ppkt 8.2–8.4.2.

Używać świeżo przygotowanych roztworów, ponieważ w środowisku 8 % kwasu trichlorooctowego następuje rozpad CMP. Straty szacuje się na 0,2 % na godzinę w temp. 30 °C.

8.5.2. Przed oznaczeniem chromatograficznym próbek należy przygotować kolumny, wprowadzając wielokrotnie próbkę wzorcową (ppkt 5.4.2) w roztworze (ppkt 8.5.1) do momentu, gdy powierzchnia i czas retencji piku odpowiadającego CMP są stałe.

8.5.3. Oznaczyć współczynniki odpowiedzi R poprzez wprowadzenie takiej samej objętości przesączonego (ppkt 8.5.1), jak objętość wykorzystana do próbek.

9. PREZENTACJA WYNIKÓW

9.1. Metoda obliczania i wzory

9.1.1. Obliczanie współczynników odpowiedzi R:

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

gdzie:

R_{II} = współczynniki odpowiedzi pików II,

$A_{II} [0]$ = powierzchnie pików II próbki wzorcowej [0] otrzymane w ppkt 8.5.3.

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

gdzie:

- R_{III} = współczynniki odpowiedzi pików III,
 $A_{III} [0]$ i $A_{III} [5]$ = powierzchnie pików III w próbkach wzorcowych, odpowiednio [0] i [5], otrzymane w ppkt 8.5.3.
 W = ilość serwatki w próbce wzorcowej [5], tzn. 5.

9.1.2. Obliczanie względnej powierzchni pików w próbce [E]

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

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

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

gdzie:

- $S_{II} [E]$, $S_{III} [E]$, $S_{IV} [E]$ = względne powierzchnie pików, odpowiednio, II, III i IV, w próbce [E],
 $A_{II} [E]$, $A_{III} [E]$ = powierzchnie pików, odpowiednio, II i III w próbce [E], otrzymane w ppkt 8.4.2,
 R_{II} , R_{III} = współczynniki odpowiedzi obliczone w ppkt 9.1.1.

9.1.3. Obliczanie względnego czasu retencji pików III w próbce [E]:

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

gdzie:

- $RRT_{III} [E]$ = względny czas retencji pików III w próbce [E],
 $RT_{III} [E]$ = względny czas retencji pików III w próbce [E] otrzymany w ppkt 8.4.2,
 $RT_{III} [5]$ = czas retencji pików III w próbce kontrolnej [5] otrzymany w ppkt 8.5.3.

9.1.4. Doświadczenia wykazały, że istnieje liniowa zależność między względnym czasem retencji pików III, tzn. $RRT_{III} [E]$ i zawartością procentową serwatki w proszku w zakresie do 10 %.

- $RRT_{III} [E]$ jest < 1,000, gdy zawartość serwatki wynosi > 5 %,
- $RRT_{III} [E]$ jest \geq 1,000 gdy zawartość serwatki wynosi \leq 5 %.

Dopuszczalna niepewność w odniesieniu do wartości RRT_{III} wynosi $\pm 0,002$.

Zazwyczaj wartość $RRT_{III} [0]$ odbiega nieco od 1,034. W zależności od stanu kolumn wartość ta może zbliżać się do 1,000, ale zawsze musi ją przewyższać.

9.2. Obliczanie zawartości procentowej serwatki podpuszczkowej w proszku w próbce:

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

gdzie:

- W = zawartość procentowa m/m serwatki podpuszczkowej w próbce [E];
 $S_{III} [E]$ = względna powierzchnia pików III próbki badanej [E] otrzymana w ppkt 9.1.2;
1,3 = stanowi średnią powierzchnię względną pików III wyrażoną w gramach serwatki podpuszczkowej na 100 g, oznaczoną w niezafałszowanym odtłuszczonym mleku w proszku różnego pochodzenia. Wielkość tę uzyskano doświadczalnie;
 $S_{III} [0]$ = stanowi względną powierzchnię pików III, która jest równa $R_{III} \times A_{III} [0]$. Wartości te uzyskano odpowiednio w ppkt 9.1.1 i pkt. 8.5.3;
 $(S_{III} [0] - 0,9)$ = stanowi poprawkę, jaką należy wprowadzić w odniesieniu do średniej powierzchni względnej 1,3, gdy $S_{III} [0]$ nie jest równe 0,9. Doświadczalnie określono, że średnia powierzchnia pików III próbki kontrolnej [0] wynosi 0,9.

9.3. Dokładność procedury

9.3.1. Powtarzalność

Różnica między wynikami dwóch oznaczeń wykonanych równocześnie lub w bezpośrednim następstwie przez tego samego analityka przy użyciu tej samej aparatury na identycznym materiale badanym nie może przekraczać 0,2 % m/m.

9.3.2. Odtwarzalność

Różnica między dwoma pojedynczymi i niezależnymi wynikami, otrzymanymi w dwóch różnych laboratoriach na identycznym materiale badanym, nie może przekraczać 0,4 % m/m.

9.4. Interpretacja

9.4.1. Należy przyjąć, że serwatka jest nieobecna, jeżeli względna powierzchnia pików III, $S_{III} [E]$, wyrażona w gramach serwatki podpuszczkowej na 100 g produktu, wynosi $\leq 2,0 + (S_{III} [0] - 0,9)$,

gdzie:

2,0	to maksymalna wartość dopuszczalna dla względnej powierzchni pików III przy uwzględnieniu względnej średniej powierzchni pików III, tzn. 1,3; niepewność wyniku ze zmian składu odłuszczonego mleka w proszku oraz odtwarzalności metody (ppkt 9.3.2),
$(S_{III} [0] - 0,9)$	to poprawka, jaką należy wprowadzić, jeżeli powierzchnia $S_{III} [0]$ jest różna od 0,9 (zob. ppkt 9.2)

9.4.2. Jeżeli względna powierzchnia pików III, $S_{III} [E]$, jest $> 2,0 + (S_{III} [0] - 0,9)$, a względna powierzchnia pików II, $S_{II} [E] \leq 160$, należy oznaczyć zawartość serwatki podpuszczkowej w sposób wskazany w ppkt 9.2.

9.4.3. Jeżeli względna powierzchnia pików III, $S_{III} [E]$, jest $> 2,0 + (S_{III} [0] - 0,9)$, a względna powierzchnia pików II, $S_{II} [E] \leq 160$, należy oznaczyć zawartość białka (P %); następnie zbadać wykresy 1 i 2.

9.4.3.1. Dane otrzymane po analizie próbek niezafałszowanego odłuszczonego mleka w proszku o wysokiej całkowitej zawartości białka zostały zgromadzone na wykresach 1 i 2.

Linia ciągła ilustruje regresję liniową, której współczynniki obliczane są metodą najmniejszych kwadratów.

Linia prosta przerywana wyznacza górną granicę względnej powierzchni pików III z prawdopodobieństwem nieprzekroczenia jej w 90 % przypadków.

Równania w odniesieniu do prostych linii przerywanych na wykresach 1 i 2 są następujące:

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

gdzie, odpowiednio:

S_{III} to względna powierzchnia pików III wyliczona albo według całkowitej zawartości białka, albo według względnej powierzchni pików II, $S_{II} [E]$,

P % to całkowita zawartość białka wyrażona jako zawartość procentowa, masowo,

$S_{II} [E]$ to względna powierzchnia pików próbki obliczona w ppkt 9.1.2.

Równania te odpowiadają liczbom 1,3 wymienionym w ppkt 9.2.

Rozbieżność (T_1 i T_2) między stwierdzoną względną powierzchnią $S_{III} [E]$ a względną powierzchnią S_{III} jest podawana w sposób następujący: $T_1 = S_{III}[E] - [(0,376 P \% - 10,7) + (S_{III}[0] - 0,9)]$; $T_2 = S_{III}[E] - [0,0123 S_{II}[E] + 0,93] + (S_{III}[0] - 0,9)$

9.4.3.2. Jeżeli T_1 lub T_2 są równe lub mniejsze od zera, nie można ustalić obecności serwatki podpuszczkowej.

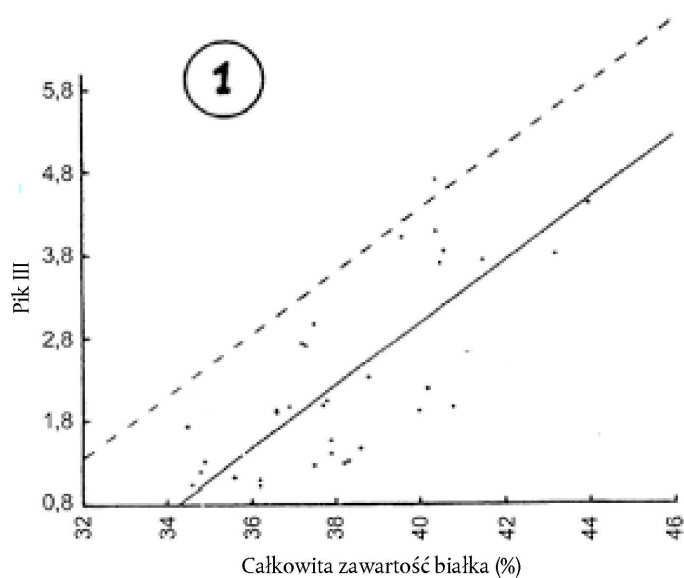
Jeżeli T_1 lub T_2 są większe od zera, serwatka podpuszczkowa jest obecna.

Zawartość serwatki podpuszczkowej jest obliczana zgodnie ze wzorem: $W = T_2 + 0,91$,

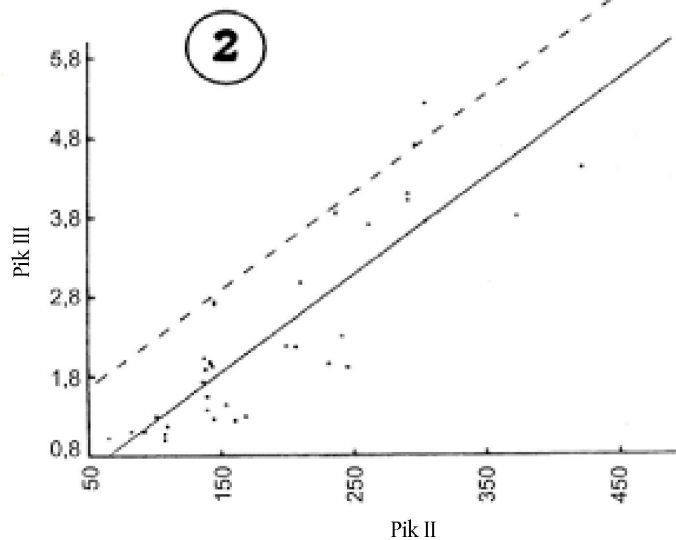
gdzie:

0,91 stanowi odległość na osi pionowej pomiędzy ciągłymi i przerywanymi liniami prostymi.

Odtłuszczone mleko w proszku



Odtłuszczone mleko w proszku



Dodatek III

OZNACZANIE SUCHEJ MASY SERWATKI PODPUSZCZKOWEJ W ODTŁUSZCZONYM MLEKU W PROSZKU

1. CEL: WYKRYCIE DODATKU SUCHEJ MASY SERWATKI PODPUSZCZKOWEJ DO ODTŁUSZCZONEGO MLEKA W PROSZKU
2. ODNIESIENIA: MIĘDZYNARODOWA NORMA ISO 707
3. DEFINICJA
Zawartość suchej masy serwatki podpuszczkowej zdefiniowana jest jako procent masowy, określony na podstawie zawartości makropeptydów kazeinowych za pomocą opisanej procedury.
4. ZASADA
Próbki poddaje się badaniu na makropeptyd kazeinowy A za pomocą procedury wysokosprawnej chromatografii cieczowej (procedura HPLC) z odwróconymi fazami. Ocena wyników otrzymywana jest poprzez odniesienie do próbek wzorcowych składających się z odtłuszczonego mleka w proszku zawierającego znany udział procentowy serwatki w proszku i odtłuszczonego mleka w proszku niezawierającego tego udziału. Wyniki wyższe niż 1 % (m/m) wskazują na obecność suchej masy serwatki podpuszczkowej.
5. ODCZYNNIKI
Wszystkie odczynniki muszą być odczynnikami o uznanej klasie analitycznej. Stosuje się wodę destylowaną lub wodę o równoważnym stopniu czystości. Acetonitryl powinien mieć jakość spektroskopową lub jakość wymaganą dla HPLC.
- 5.1. **Roztwór kwasu trichlorooctowego**
Rozpuścić 240 g kwasu trichlorooctowego (CCl_3COOH) w wodzie i uzupełnić do 1 000 ml. Roztwór powinien być klarowny i bezbarwny.
- 5.2. **Eluenty A i B**
Eluent A: Eluent A: 150 ml acetonitrylu (CH_3CN), 20 ml izopropanolu ($\text{CH}_3\text{CHOHCH}_3$) oraz 1,00 ml kwasu trifluorooctowego (TFA, CF_3COOH) umieszcza się w kolbie miarowej o poj. 1 000 ml. Uzupełnić wodą do 1 000 ml.
Eluent B: 550 ml acetonitrylu, 20 ml izopropanolu oraz 1,00 ml TFA umieszcza się w kolbie miarowej o poj. 1 000 ml. Uzupełnić wodą do 1 000 ml. Przed zastosowaniem przesączyć roztwór eluentu przez sączek membranowy o średnicy porów 0,45 μm .
- 5.3. **Konserwacja kolumny**
Po przeprowadzeniu analiz kolumna przepłukiwana jest eluentem B (metodą gradientową), a następnie przepłukiwana acetonitrylem (metodą gradientową przez 30 minut). Kolumna przechowywana jest w acetonitrylu.
- 5.4. **Próbki wzorcowe**
 - 5.4.1. *Odtłuszczone mleko w proszku spełniające wymogi przechowywania publicznego (tzn. [0]).*
 - 5.4.2. *To samo odtłuszczone mleko w proszku zafalszowane 5 % (m/m) serwatką typu podpuszczkowego w proszku o składzie standardowym (tzn. [5]).*
 - 5.4.3. *To samo odtłuszczone mleko w proszku zafalszowane 50 % (m/m) serwatką typu podpuszczkowego w proszku o składzie standardowym (tzn. [50]).*
6. APARATURA
 - 6.1. **Waga analityczna**
 - 6.2. **Opcjonalnie wirówka umożliwiająca osiągnięcie siły odśrodkowej 2 200 g, wyposażona w próbki wirówkowe z korkiem lub zatyczką, poj. ok. 50 ml**
 - 6.3. **Wstrząsarka mechaniczna**
 - 6.4. **Mieszadło magnetyczne**
 - 6.5. **Lejki szklane o średnicy ok. 7 cm**

- 6.6. **Sączki papierowe, średnia prędkość sączenia, o średnicy ok. 12,5 cm**
- 6.7. **Szklany zestaw do sączenia z sączkiem membranowym o średnicy porów 0,45 µm**
- 6.8. **Pipety miarowe pozwalające na dozowanie 10 ml (ISO 648, klasa A lub ISO/R 835) albo system dozujący umożliwiający dostarczenie 10,0 ml w ciągu dwóch minut.**
- 6.9. **System dozujący umożliwiający dostarczenie 20,0 ml wody w temp. ok. 50 °C**
- 6.10. **Łaźnia wodna kontrolowana termostatycznie, ustawiona na 25 °C ± 0,5 °C.**
- 6.11. **Zestaw do HPLC, w skład którego wchodzi:**
 - 6.11.1. Układ pompowy do dwuskładnikowej elucji gradientowej
 - 6.11.2. Dozownik, ręczny lub automatyczny, poj. 100 µl
 - 6.11.3. Kolumna Agilent Technologies Zorbax 300 SB-C3 (długość 25 cm, średnica wewnętrzna 0,46 cm) bądź równoważna kolumna do chromatografii z odwróconymi fazami z wypełnieniem na bazie krzemionki o szerokich porach.
 - 6.11.4. Piec do kolumn kontrolowany termostatycznie, ustawiony na temp. 35 °C ± 1 °C
 - 6.11.5. Detektor UV o zmiennej długości fali, umożliwiający pomiary przy 210 nm (w razie konieczności można stosować długość fal do 220 nm), o czułości 0,02 Å
 - 6.11.6. Integrator umożliwiający całkowanie względem wspólnej linii podstawowej lub wykresu między kolejnymi dolinami

Uwaga: Działanie kolumny w temperaturze pokojowej jest możliwe pod warunkiem, że temperatura pokojowa nie podlega wahaniom większym niż 1 °C, w przeciwnym razie ma miejsce zbyt duże wahanie w czasie retencji CMP_A .

7. POBIERANIE PRÓBEK

- 7.1. **Próbki pobiera się zgodnie z procedurą określoną w międzynarodowej normie ISO 707. Państwa członkowskie mogą jednak stosować inną metodę pobierania próbek pod warunkiem, że jest ona zgodna z zasadami powyższej normy.**
- 7.2. **Próbkę przechowywać w warunkach wykluczających spadek jakości lub zmianę składu.**

8. PROCEDURA

8.1. Przygotowanie próbki do badań

Przenieść mleko w proszku do pojemnika o pojemności w przybliżeniu dwukrotnie większej niż objętość proszku, wyposażonego w hermetyczną pokrywę. Natychmiast zamknąć pojemnik. Wymieszać dobrze mleko w proszku poprzez wielokrotne odwracanie pojemnika do góry dnem.

8.2. Porcja badana

Odmierzyć wagowo 2,00 ± 0,001 g badanej próbki i umieścić w próbówce wirówkowej (ppkt 6.2) bądź w odpowiedniej kolbie z korkiem (50 ml).

Uwaga: W przypadku mieszanek odmierzyć wagowo taką ilość badanej próbki, aby odtłuszczona porcja próbki odpowiadała 2,00 g.

8.3. Usuwanie tłuszczu i białek

- 8.3.1. Do porcji badanej dodać 20,0 ml ciepłej wody (50 °C). Rozpuścić proszek, wstrząsając przez 5 minut przy pomocy wstrząsarki mechanicznej (ppkt 6.3). Umieścić próbówkę w łaźni wodnej (ppkt 6.10) i pozostawić do wyrównania się temperatury do 25 °C.
- 8.3.2. Dodawać stopniowo przez dwie minuty 10,0 ml roztworu kwasu trichlorooctowego (ppkt 5.1) o temp. ok. 25 °C, mieszając jednocześnie energicznie mieszadłem magnetycznym (ppkt 6.4). Umieścić próbówkę w łaźni wodnej (ppkt 6.10) i pozostawić na 60 minut.
- 8.3.3. Wirować (ppkt 6.2) przez 10 minut przy 2 200 g lub przesączyć przez sączek papierowy (ppkt 6.6), odrzucając pierwsze 5 ml przesączu.

8.4. Oznaczenie chromatograficzne

8.4.1. Analiza HPLC z odwróconymi fazami wyklucza możliwość otrzymania wyników fałszywie dodatnich ze względu na obecność maślanki kwasowej w proszku.

8.4.2. Przed przeprowadzeniem analizy HPLC z odwróconymi fazami należy zoptymalizować warunki gradientu. Czas retencji wynoszący 26 ± 2 minuty dla CMP_A jest czasem optymalnym w systemach gradientowych z martwą objętością wynoszącą ok. 6 ml (objętość od punktu, w którym łączą się rozpuszczalniki, do pętli dozownika włącznie). W przypadku systemów gradientowych z niższą martwą objętością (np. 2 ml) należy stosować optymalny czas retencji wynoszący 22 minuty.

Pobrać roztwory próbek wzorcowych (ppkt 5.4) z dodatkiem 50 % serwatki podpuszczkowej oraz bez takiego dodatku.

Wprowadzić 100 μ l nadsącza lub przesącza (ppkt 8.3.3) do aparatury HPCL działającej w warunkach gradientu rozpoznawczego podanych w tabeli 1.

Tabela 1

Warunki gradientu rozpoznawczego dla optymalizacji chromatografii

Czas (minuty)	Przepływ (ml/min)	% A	% B	Krzywa
Początkowy	1,0	90	10	*
27	1,0	60	40	liniowa
32	1,0	10	90	liniowa
37	1,0	10	90	liniowa
42	1,0	90	10	liniowa

Porównanie dwóch chromatogramów powinno ujawnić położenie piku CMP_A .

Wykorzystując podany niżej wzór, można obliczyć początkowy skład rozpuszczalnika, który ma zostać użyty do gradientu normalnego (zob. ppkt 8.4.3) $\% B = 10 - 2,5 + (13,5 + (RT_{cmpA} - 26) / 6) * 30 / 27$ $\% B = 7,5 + (13,5 + (RT_{cmpA} - 26) / 6) * 1,11$

gdzie:

RT_{cmpA} : czas retencji CMP_A w gradiencie rozpoznawczym

10: początkowy % B gradientu rozpoznawczego

2,5: % B w punkcie środkowym minus % B w początku gradientu normalnego

13,5: czas w punkcie środkowym gradientu rozpoznawczego

26: wymagany czas retencji CMP_A

6: stosunek nachylenia gradientu rozpoznawczego i normalnego

30: % B na początku minus % B w 27 minucie gradientu rozpoznawczego

27: czas przebiegu gradientu rozpoznawczego

8.4.3. Pobranie roztworów badanych próbek:

Wprowadzić 100 μ l dokładnie odmierzonego nadsącza lub przesącza (ppkt 8.3.3) do aparatury HPCL, pracując przy natężeniu przepływu roztworu eluentu (ppkt 5.2) wynoszącej 1,0 ml na minutę.

Skład eluentu w chwili rozpoczęcia analizy otrzymuje się z ppkt 8.4.2. Zazwyczaj jest on zbliżony do A: B = 76:24 (ppkt 5.2). Natychmiast po wprowadzeniu uruchamia się gradient liniowy, który daje zwiększenie wartości procentowej B o 5 % po 27 minutach. Następnie uruchamia się gradient liniowy, który pozwala na uzyskanie składu eluentu w wysokości 90 % B w ciągu pięciu minut. Skład ten utrzymywany jest przez pięć minut, po czym zostaje zmieniony poprzez gradient liniowy w ciągu pięciu minut do składu początkowego. W zależności od wewnętrznej pojemności układu pompującego następnie wprowadzenie można wykonać 15 minut po uzyskaniu warunków początkowych.

Uwaga 1. Czas retencji CMP_A powinien wynosić 26 ± 2 minuty. Można to osiągnąć poprzez zmianę początkowych i końcowych warunków pierwszego gradientu. Jednakże różnica w % B dla początkowych i końcowych warunków pierwszego gradientu pozostaje na poziomie 5 % B.

Uwaga 2. Eluenty powinny być odgazowane w sposób wystarczający i pozostawać w takim stanie. Jest to istotne dla właściwego funkcjonowania gradientowego układu pompowego. Odchylenie standardowe dla czasu retencji pików CMP_A powinno być mniejsze niż 0,1 minuty ($n = 10$).

Uwaga 3. Po wprowadzeniu każdej serii pięciu próbek należy wprowadzić próbkę odniesienia [5] i wykorzystać ją do obliczenia nowego współczynnika odpowiedzi R. (ppkt 9.1.1).

- 8.4.4. Wyniki analizy chromatograficznej badanej próbki (E) otrzymuje się w postaci chromatogramu, na którym pik CMP_A określa się na podstawie jego czasu retencji wynoszącego ok. 26 minut.

Integrator (ppkt 6.11.6) automatycznie oblicza wysokość H pików CMP_A . W każdym chromatogramie należy sprawdzić położenie linii podstawowej. W przypadku nieprawidłowego położenia linii podstawowej analizę lub całkowanie należy powtórzyć.

Uwaga: Jeżeli pik CMP_A jest wystarczająco oddzielony od innych pików, należy zastosować wyznaczenie linii podstawowej na podstawie położenia dolin między pikami, w przeciwnym razie zastosować spuszczenie prostopadłych na wspólną linię podstawową, której punkt wyjścia powinien być położony w pobliżu pików CMP_A (co wyklucza $t = 0$ min!). W odniesieniu do wzorca i do próbek należy zastosować tę samą metodę całkowania, jak również sprawdzić, w przypadku wspólnej linii podstawowej, jej spójność w odniesieniu do próbek i do wzorca.

Przed dokonaniem interpretacji ilościowej niezbędne jest zbadanie wyglądu każdego chromatogramu w celu wykrycia ewentualnych nieprawidłowości, będących skutkiem wadliwego działania aparatury lub kolumny albo też pochodzenia i rodzaju analizowanej próbki. W razie wątpliwości analizę należy powtórzyć.

8.5. Kalibracja

- 8.5.1. Do próbek wzorcowych (ppkt 5.4.1–5.4.2) zastosować dokładnie procedurę opisaną od ppkt 8.2 do ppkt 8.4.4. Używać świeżo przygotowanych roztworów, ponieważ w środowisku 8 % kwasu trichlorooctowego w temperaturze pokojowej następuje rozkład CMP. W temp. 4 °C roztwór pozostaje stabilny przez 24 godziny. W przypadku długich serii analiz wskazane jest zastosowanie schłodzonego zasobnika na próbki w dozowniku automatycznym.

Uwaga: Podpunkt 8.4.2. można opuścić w przypadku, gdy % B w warunkach początkowych jest znany z poprzednich analiz.

Chromatogram próbki odniesienia [5] powinien być analogiczny do pokazanego na rys. 1. Na tym rysunku pik CMP_A poprzedzony jest przez dwa niewielkie piki. Istotne jest, aby uzyskać podobny rozdział.

- 8.5.2. Przed oznaczeniem chromatograficznym próbek wprowadzić 100 µl próbki wzorcowej bez serwatki podpuszczkowej [0] (ppkt 5.4.1).

Chromatogram nie powinien wykazywać pików w czasie retencji pików CMP_A .

- 8.5.3. Określić współczynniki odpowiedzi R poprzez wprowadzenie takiej samej objętości przesączu (ppkt 8.5.1), jak objętość wykorzystana do próbek.

9. PREZENTACJA WYNIKÓW

9.1. Metoda obliczania i wzory

- 9.1.1. Obliczanie współczynnika odpowiedzi R:

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

gdzie:

R = współczynnik odpowiedzi pików CMP_A

H = wysokość pików CMP_A

W = ilość serwatki w próbce wzorcowej [5].

9.2. Obliczanie zawartości procentowej serwatki podpuszczkowej w proszku w próbce

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

gdzie:

W(E) = zawartość procentowa (m/m) serwatki podpuszczkowej w próbce (E)

R = współczynnik odpowiedzi pików CMP_A (ppkt 9.1.1)

H(E) = wysokość pików CMP_A próbki (E)

W przypadku gdy wartość W(E) jest większa niż 1 %, a różnica między czasem retencji próbki badanej a czasem retencji próbki wzorcowej [5] jest mniejsza niż 0,2 minuty, wówczas stwierdzona jest obecność suchej masy serwatki podpuszczkowej.

9.3. Dokładność procedury**9.3.1. Powtarzalność**

Różnica między wynikami dwóch oznaczeń wykonanych równocześnie lub w bezpośrednim następstwie przez tego samego analityka przy użyciu tej samej aparatury na identycznym materiale badanym nie może przekraczać 0,2 % m/m.

9.3.2. Odtwarzalność

Nieustalona.

9.3.3. Liniowość

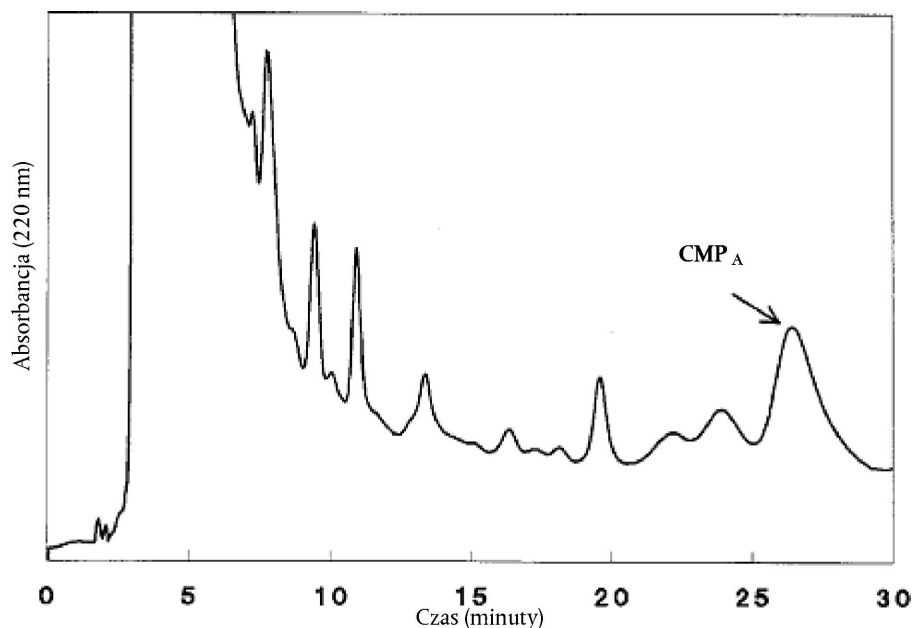
W zakresie 0–16 % serwatki podpuszczkowej należy otrzymać zależność liniową przy współczynniku korelacji > 0,99.

9.4. Interpretacja

Wartość graniczna wynosząca 1 % uwzględnia niepewność związaną z odtwarzalnością.

Rys. 1

Ni – wzorzec 4.6



(*) Norma międzynarodowa 135B/1991. Mleko i przetwory mleczne. Charakterystyka precyzji metod analitycznych. Zarys procedury współpracy badawczej.”;

3) dodaje się załączniki w brzmieniu:

„ZAŁĄCZNIK VI

Metody analizy masła do celów prywatnego przechowywania

Parametr	Metoda
Tłuszcz ⁽¹⁾	ISO 17189 lub ISO 3727 część 3
Woda	ISO 3727 część 1
Sucha masa beztłuszczowa (z wyjątkiem soli)	ISO 3727 część 2
Sól	ISO 15648

⁽¹⁾ Stosuje się metodę zatwierdzoną przez agencję płatniczą.

ZAŁĄCZNIK VII

Metody analizy odtłuszczonego mleka w proszku do celów prywatnego przechowywania

Parametr	Metoda
Tłuszcz	ISO 1736
Białko	ISO 8968 część 1
Woda	ISO 5537

ZAŁĄCZNIK VIII

Metody analizy sera do celów prywatnego przechowywania

1. Metoda analizy opisana w dodatku jest stosowana w celu zapewnienia, by ser wyprodukowany wyłącznie z mleka owczego, mleka koziego lub mleka bawolego, lub z mieszanin mleka owczego, koziego i bawolego, nie zawierał kazeiny mleka krowiego.

Uznaje się, że kazeina mleka krowiego jest obecna w produkcie, jeżeli jej zawartość w analizowanej próbce jest równa zawartości w próbce odniesienia zawierającej 1 % mleka krowiego lub od niej większa, jak określono w dodatku.

2. Metody wykrywania kazeiny mleka krowiego w serach, określone w ust. 1, mogą być stosowane, pod warunkiem że:
 - a) granica wykrywalności wynosi nie więcej niż 0,5 %; oraz
 - b) nie występują fałszywie pozytywne wyniki; oraz
 - c) kazeina mleka krowiego jest wykrywalna, z wymaganą czułością, również po upływie długich okresów dojrzewania, które mogą wystąpić w zwykłych warunkach handlowych.

Jeżeli którekolwiek ze wspomnianych powyżej wymagań nie jest spełnione, stosuje się metodę opisaną w dodatku.

Dodatek

METODA WYKRYWANIA OBECNOŚCI MLEKA KROWIEGO I KAZEINIANÓW W SERACH Z MLEKA OWCEGO, MLEKA KOZIEGO, MLEKA BAWOLEGO LUB MIESZANEK MLEKA OWCEGO, KOZIEGO I BAWOLEGO

1. ZAKRES

Wykrywanie obecności mleka krowiego i kazeinianów w serach wyprodukowanych z mleka owczego, mleka koziego, mleka bawolego lub mieszanek mleka owczego, koziego i bawolego przez wyznaczanie punktu izoelektrycznego gamma-kazeiny po plazminolizie.

2. DZIEDZINA STOSOWANIA

Metoda jest odpowiednia dla czułego i specyficznego wykrywania naturalnego oraz poddanego obróbce cieplnej mleka krowiego i kazeinianów w świeżych i dojrzałych serach wyprodukowanych z mleka owczego, mleka koziego, mleka bawolego lub mieszanin mleka owczego, koziego i bawolego. Metoda nie jest odpowiednia do wykrywania przypadków fałszowania mleka i sera przy użyciu poddanych obróbce cieplnej koncentratów białkowych serwatki pochodzącej od krów.

3. ZASADA METODY

3.1. Oddzielenie kazeiny z sera i wzorców odniesienia

3.2. Rozpuszczenie oddzielonej kazeiny i poddanie jej rozszczepieniu za pomocą plazminy (EC.3.4.21.7)

3.3. Wyznaczenie punktu izoelektrycznego kazeiny poddanej działaniu plazminy w obecności mocznika oraz barwienie białka

3.4. Ocena zabarwionych wzorów gamma3-kazeiny i gamma2-kazeiny (dowód na występowanie mleka krowiego) poprzez porównanie wzoru otrzymanego z próbki z wzorami otrzymanymi w tym samym żelu ze wzorców odniesienia zawierających 0 % i 1 % mleka krowiego

4. ODCZYNNIKI

Jeżeli nie wskazano inaczej, stosuje się chemikalia klasy analitycznej. Stosuje się wodę redestylowaną lub wodę o równoważnym stopniu czystości.

Uwaga: Poniższe dane szczegółowe odnoszą się do przygotowanych w laboratorium żeli poliakryloamidowych zawierających mocznik, o wymiarach 265 × 125 × 0,25 mm. W przypadku gdy stosuje się inne rozmiary i rodzaje żelu, niezbędne może się okazać odpowiednie dostosowanie warunków rozdzielania.

Wyznaczenie punktu izoelektrycznego

4.1. Odczynniki do produkcji żeli poliakryloamidowych zawierających mocznik.

4.1.1. Roztwór podstawowy żelu

Rozpuścić:

4,85 g akryloamidu

0,15 g N, N'-metyleno-bis-akryloamidu (BIS)

48,05 g mocznika

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

w wodzie, uzupełnić do 100 ml i przechowywać w butelce z brązowego szkła w chłodziarce.

Uwaga: Można stosować dostępny w handlu wstępnie zestawiony roztwór akryloamid/BIS zamiast podanych mas neurotoksycznych akryloamidów. W przypadku gdy taki roztwór zawiera 30 % w/v akryloamidu i 0,8 % w/v BIS, należy użyć do preparatu objętości 16,2 ml zamiast podanych mas. Okres przechowywania roztworu podstawowego wynosi maksymalnie 10 dni; jeżeli przewodnictwo roztworu jest wyższe niż 5 µS, dejonizować poprzez mieszanie z 2 g Amberlitu MB-3 przez 30 minut, a następnie przesączyć przez sączonek membranowy o średnicy porów 0,45 µm.

4.1.2. Roztwór żelu

Przygotować roztwór żelu przez wymieszanie dodatków i amfolitów (*) z podstawowym roztworem żelu (zob. ppkt 4.1.1).

9,0 ml roztworu podstawowego

24 mg beta-alaniny

500 µl amfolitu o pH 3,5–9,5

250 µl amfolitu o pH 5–7

250 µl amfolitu o pH 6–8

Wymieszać roztwór żelu i odgazowywać przez dwie do trzech minut w łaźni ultradźwiękowej lub w próżni.

Uwaga: Przygotować roztwór żelu bezpośrednio przed wlaniem (zob. ppkt 6.2).

4.1.3. Roztwory katalityczne

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

4.1.3.2. nadsiarczan amonu (PER) 40 % w/v:

rozpuścić 800 mg PER w wodzie i uzupełnić do 2 ml.

Uwaga: Zawsze stosować świeżo przygotowany roztwór PER.

4.2. Płyn kontaktowy

Nafta lub parafina ciekła.

4.3. Roztwór anodowy

Rozpuścić 5,77 g kwasu ortofosforowego (85 % w/w) w wodzie i uzupełnić do 100 ml.

4.4. Roztwór katodowy

Rozpuścić 2,00 g wodorotlenku sodu w wodzie i uzupełnić wodą do 100 ml.

Przygotowanie próbki

4.5. Odczynniki do oddzielenia białka

4.5.1. Rozcieńczyć kwas octowy (objętość 25,0 ml kwasu octowego lodowatego uzupełniona wodą do objętości 100 ml)

4.5.2. Dichlorometan

4.5.3. Aceton

4.6. Bufor do rozpuszczania białka

Rozpuścić:

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

24,03 g mocznika

250 mg ditiotreitolu

w wodzie i uzupełnić do 50 ml.

Uwaga: Przechowywać w chłodziarce; maksymalny okres przechowywania wynosi jeden tydzień.

4.7. **Odczynniki do rozszczepienia kazeiny za pomocą plazminy**

4.7.1. *Bufor z węglanem amonu*

Miareczkować roztwór wodorowęglanu amonu o stężeniu 0,2 mol/l (1,58 g/100 ml wody) zawierający 0,05 mol/l kwasu etylenodiaminotetraoctowego (EDTA, 1,46 g/100 ml) roztworem węglanu amonu o stężeniu 0,2 mol/l (1,92 g/100 ml wody) zawierającym 0,05 mol/l EDTA do osiągnięcia pH 8.

4.7.2. *Plazmina bydlęca (EC. 3.4.21.7), o aktywności co najmniej 5 U/ml*

4.7.3. *Roztwór kwasu ε-aminokapronowego do inhibicji enzymów*

Rozpuścić 2,624 g kwasu ε-aminokapronowego (kwas 6-aminoheksanowy) w 100 ml etanolu o stężeniu 40 % (v/v).

4.8. **Wzorce**

4.8.1. *Certyfikowane wzorce odniesienia mieszanki odtłuszczonego mleka owczego i koziego z dodatkiem podpuszczki, zawierające 0 % i 1 % mleka krowiego, dostępne są w Instytucie Materiałów Referencyjnych i Pomiarów przy Komisji, B-2440 Geel, Belgia*

4.8.2. *Przygotowanie laboratoryjnych wzorców pośrednich mleka bawolego z dodatkiem podpuszczki, zawierających 0 % i 1 % mleka krowiego*

Mleko odtłuszczone przygotowuje się przez odwirowanie surowego mleka bawolego lub krowiego w temp. 37 °C przy 2 500 g przez 20 minut. Po szybkim schłodzeniu próbówki wraz z jej zawartością do 6–8 °C, górna warstwa tłuszczu usuwana jest w całości. Aby przygotować wzorzec 1 % należy dodać 5,00 ml odtłuszczonego mleka krowiego do 495 ml odtłuszczonego mleka bawolego w jednolitrowej zlewce, doprowadzić pH do wartości 6,4 przez dodanie rozcieńczonego kwasu mlekowego (10 % w/v). Doprowadzić temperaturę do 35 °C i dodać 100 µl podpuszczki cielęcej (aktywność podpuszczki 1:10 000, ok. 3 000 U/ml), mieszać przez 1 minutę, po czym odstawić zlewkę przykrytą folią aluminiową na jedną godzinę w temp. 35 °C, aby uformował się twaróg. Po uformowaniu twarogu całe mleko z podpuszczką jest suszone sublimacyjnie bez uprzedniej homogenizacji lub odsączenia serwatki. Po wysuszeniu sublimacyjnym mleko jest dokładnie rozdrabniane do uzyskania jednorodnego proszku. Aby przygotować wzorzec 0 % należy przeprowadzić taką samą procedurę przy użyciu prawdziwego odtłuszczonego mleka bawolego. Wzorce przechowuje się w temp. – 20 °C.

Uwaga: Przed przygotowaniem wzorców zaleca się zbadanie mleka bawolego pod względem jego czystości poprzez wyznaczenie punktu izoelektrycznego kazeiny poddanej działaniu plazminy.

Odczynniki do barwienia białka

4.9. **Utrwalacz**

Rozpuścić 150 g kwasu trichlorooctowego w wodzie i uzupełnić do 1 000 ml.

4.10. **Roztwór odbarwiający**

Uzupełnić 500 ml metanolu i 200 ml kwasu octowego lodowatego wodą destylowaną do objętości 2 000 ml.

Uwaga: Należy przygotowywać świeży roztwór odbarwiający każdego dnia; można go przygotować poprzez zmieszanie jednakowych objętości roztworów podstawowych 50 % (v/v) metanolu i 20 % (v/v) kwasu octowego lodowatego.

4.11. **Roztwory barwiące**

4.11.1. *Roztwór barwiący (roztwór podstawowy 1)*

Rozpuścić 3,0 g barwnika Coomassie Brilliant Blue G-250 (C.I. 42655) w 1 000 ml metanolu o stężeniu 90 % (v/v) za pomocą mieszadła magnetycznego (ok. 45 minut), przesączyć przez dwa złożone sączki o średniej prędkości sączenia.

4.11.2. *Roztwór barwiący (roztwór podstawowy 2)*

Rozpuścić 5,0 g siarczynu miedzi pięciowodnego w 1 000 ml kwasu octowego o stężeniu 20 % (v/v).

4.11.3. *Roztwór barwiący (roztwór roboczy)*

Zmieszać razem 125 ml każdego z roztworów podstawowych (ppkt 4.11.1, 4.11.2) bezpośrednio przed barwieniem.

Uwaga: Roztwór barwiący powinien być przygotowany w dniu, w którym ma zostać użyty.

5. WYPOSAŻENIE
 - 5.1. Szklane płytki (265 × 125 × 4 mm); wałek gumowy (szerokość 15 cm); stół poziomujący
 - 5.2. Arkusz nośny żeluz (265 × 125 mm)
 - 5.3. Arkusz przykrywający (280 × 125 mm). Przykleić pasek taśmy klejącej (280 × 6 × 0,25 mm) wzdłuż obu dłuższych krawędzi (zob. rys. 1)
 - 5.4. Komora elektroogniskowania z płytą chłodzącą (na przykład 265 × 125 mm) oraz odpowiednim układem zasilania (≥ 2,5 kV) lub automatyczny system elektroforezy
 - 5.5. Kriostat cyrkulacyjny, regulowany termostatem w temp. 12 ± 0,5 °C
 - 5.6. Wirówka z regulacją do 3 000 g
 - 5.7. Elektrody paskowe (o długości ≥ 265 mm)
 - 5.8. Plastikowe butelki z wkraplaczem do roztworu anodowego i katodowego
 - 5.9. Aplikatory próbek (10 × 5 mm, wiskoza lub sączek papierowy o niskim współczynniku adsorpcji białka)
 - 5.10. Naczynia do barwienia i odbarwiania ze stali nierdzewnej lub ze szkła (na przykład tace na narzędzia o wymiarach 280 × 150 mm)
 - 5.12. Nastawny homogenizator obrotowy (średnica wału 10 mm), liczba obr./min od 8 000 do 20 000
 - 5.13. Mieszadło magnetyczne
 - 5.14. Łaźnia ultradźwiękowa
 - 5.15. Zgrzewarka do folii
 - 5.16. Mikropipety poj. 25 µl
 - 5.17. Koncentrator próżniowy lub suszarka sublimacyjna
 - 5.18. Łaźnia wodna kontrolowana termostycznie, nastawna do 35 °C i 40 ± 1 °C, z wytrząsarką
 - 5.19. Aparatura densytometryczna umożliwiająca odczyt przy λ = 634 nm
6. PROCEDURA
 - 6.1. Przygotowanie próbki
 - 6.1.1. Oddzielenie kazeiny

Odmierzyć wagowo równowartość 5 g suchej masy sera lub wzorców odniesienia do próbki wirówkowej poj. 100 ml, dodać 60 ml destylowanej wody i homogenizować za pomocą homogenizatora obrotowego (8 000–10 000 obr./min). Doprowadzić pH do wartości 4,6 za pomocą rozcieńczonego kwasu octowego (ppkt 4.5.1) i odwirować (5 minut, 3 000 g). Zdekantować tłuszcz i serwatkę, homogenizować pozostałość przy prędkości 20 000 obr./min w 40 ml destylowanej wody o pH dostosowanym do wartości 4,5 za pomocą rozcieńczonego kwasu octowego (ppkt 4.5.1), dodać 20 ml dichlorometanu (ppkt 4.5.2), ponownie homogenizować i odwirować (5 minut, 3 000 g). Usunąć warstwę kazeiny znajdującą się pomiędzy fazą wodną i organiczną (zob. rys. 2) za pomocą szpatułki i zdekantować obydwie fazy. Ponownie homogenizować kazeinę w 40 ml destylowanej wody (zob. wyżej) oraz 20 ml dichlorometanu (ppkt 4.5.2) i odwirować. Powtarzać tę procedurę do czasu, gdy obie fazy ekstrakcyjne staną się bezbarwne (dwa–trzy razy). Homogenizować pozostałości białka wraz z 50 ml acetonu (ppkt 4.5.3) i przesączyć przez złożony sączek papierowy o średniej prędkości sączenia. Przemyć pozostałości znajdujące się na sączku, każdorazowo za pomocą dwóch oddzielnych 25 ml porcji acetonu, i pozostawić do wysuszenia na powietrzu lub suszyć w strumieniu azotu, na koniec dokładnie sproszkować w moździerzu.

Uwaga: Oddzieloną suchą kazeinę należy przechowywać w temp. – 20 °C.

- 6.1.2. *Hydrolizowanie beta-kazeiny za pomocą plazminy w celu zwiększenia intensywności uwidocznienia gamma-kazeiny*

Zdyspergować 25 mg oddzielonej kazeiny (ppkt 6.1.1) w 0,5 ml buforu z węglanem amonu (ppkt 4.7.1) i homogenizować przez 20 minut, stosując, na przykład, obróbkę ultradźwiękową. Podgrzać do 40 °C i dodać 10 µl plazminy (ppkt 4.7.2), wymieszać i inkubować przez jedną godzinę w temp. 40 °C, nieprzerwanie wstrząsając. Aby doprowadzić do inhibicji enzymu, dodać 20 µl roztworu kwasu ε-aminokapronowego (ppkt 4.7.3), następnie dodać 200 mg mocznika w postaci stałej i 2 mg ditiotreitolu.

Uwaga: Aby otrzymać lepszą symetrię w skupionych pasmach kazeiny, zaleca się suszenie sublimacyjne roztworu po dodaniu kwasu ε-aminokapronowego, a następnie rozpuszczenie pozostałości w 0,5 ml buforu do rozpuszczania białka (ppkt 4.6).

6.2. Przygotowanie żeli poliakryloamidowych zawierających mocznik

Dodając kilka kropli wody, rozwałkować arkusz nośny żelu (ppkt 5.2) na szklanej płytce (ppkt 5.1), usuwając resztki wody ręcznikiem papierowym lub bibułą. W ten sam sposób rozwałkować arkusz przykrywający (ppkt 5.3) z przekładkami (0,25 mm) na drugiej płytce szklanej. Położyć płytkę poziomo na stole poziomującym.

Dodać 10 µl Temedu (ppkt 4.1.3.1) do przygotowanego i odpowietrzonego roztworu żelu (ppkt 4.1.2), wymieszać i dodać 10 µl roztworu PER (ppkt 4.1.3.2), starannie wymieszać i natychmiast wylać równomiernie na środek arkusza przykrywającego. Umieścić jedną krawędź płytki pokrytej arkuszem nośnym żelu (stroną pokrytą do dołu) na arkuszu przykrywającym i opuszczać ją powoli, tak aby między arkuszami uformowała się cienka powłoka żelu, rozprowadzona równomiernie i pozbawiona pęcherzyków (rys. 3). Ostrożnie opuścić płytkę pokrytą arkuszem nośnym żelu, pomagając sobie cienką szpatułką, tak by przylegała do arkusza przykrywającego, i umieścić na wierzchu trzy dodatkowe płytki szklane w charakterze obciążników. Po zakończeniu polimeryzacji (ok. 60 minut) zdjąć spolimeryzowany żel na płytkę pokrytą arkuszem nośnym żelu razem z arkuszem przykrywającym, obstukując lekko płytki szklane. Ostrożnie wyczyścić drugą stronę płytki celem usunięcia pozostałości żelu oraz mocznika. Zgrzać „kanapkę” żelu w tubie foliowej i przechowywać w chłodziarce (maksymalnie przez sześć tygodni).

Uwaga: Arkusz przykrywający z przekładkami może być użyty ponownie. Żel poliakryloamidowy może być pocięty na mniejsze fragmenty, co jest zalecane w przypadku, kiedy jest kilka próbek, lub kiedy używa się automatycznego systemu elektroforezy (dwa żele, rozmiar 4,5 × 5 cm).

6.3. Wyznaczenie punktu izoelektrycznego

Nastawić termostat chłodzący na 12 °C. Przetrzeć drugą stronę arkusza nośnego żelu naftą, po czym nanieść kilka kropel nafty (ppkt 4.2) na środkową część bloku chłodzącego. Następnie rozwałkować na nim „kanapkę” żelu, stroną pokrytą arkuszem nośnym do dołu, nie dopuszczając do powstawania pęcherzyków. Wyrzeć nadmiar nafty i usunąć arkusz przykrywający. Nasączyć elektrody paskowe roztworami elektrodowymi (ppkt 4.3, 4.4), przyciąć do długości żelu i umieścić w określonym położeniu (odległość między elektrodami 9,5 cm).

Warunki wyznaczenia punktu izoelektrycznego:

6.3.1. Rozmiar żelu 265 × 125 × 0,25 mm

Etap	Czas (minuty)	Napięcie elektryczne (V)	Natężenie elektryczne (mA)	Moc (W)	Woltogodziny (Vh)
1. Ogniskowanie wstępne	30	maksymalnie 2 500	maksymalnie 15	stała 4	ok. 300
2. Ogniskowanie próbki ⁽¹⁾	60	maksymalnie 2 500	maksymalnie 15	stała 4	ok. 1 000
3. Ogniskowanie końcowe	60	maksymalnie 2 500	maksymalnie 5	maksymalnie 20	ok. 3 000
	40	maksymalnie 2 500	maksymalnie 6	maksymalnie 20	ok. 3 000
	30	maksymalnie 2 500	maksymalnie 7	maksymalnie 25	ok. 3 000

⁽¹⁾ Zastosowanie próbki: Po ogniskowaniu wstępnym (etap 1) odmierzyć przy użyciu pipety 18 µl próbki i roztworów wzorcowych na aplikatory próbek (10 × 5 mm), rozmieścić je w odległości 1 mm od siebie na żelu i w odległości 5 mm w pozycji poziomej względem anody, po czym lekko docisnąć. Kontynuować ogniskowanie w przedstawionych powyżej warunkach, ostrożnie usuwając aplikatory próbek po 60 minutach ogniskowania próbki.

Uwaga: Jeżeli grubość lub szerokość żeli zostały zmienione, wartości natężenia elektrycznego i mocy należy odpowiednio dostosować (np. w przypadku stosowania żelu o rozmiarach 265 × 125 × 0,5 mm należy podwoić wartości natężenia elektrycznego i mocy).

- 6.3.2. Przykładowe programowanie napięcia elektrycznego dla urządzenia do automatycznej elektroforezy (dwa żele $5,0 \times 4,5$ cm), elektrody bez pasków przyłożone bezpośrednio do żelu.

Etap	Napięcie elektryczne	Natężenie elektryczne	Moc	Temperatura	Woltogodziny
1. Ogniskowanie wstępne	1 000 V	10,0 mA	3,5 W	8 °C	85 Vh
2. Ogniskowanie próbki	250 V	5,0 mA	2,5 W	8 °C	30 Vh
3. Ogniskowanie	1 200 V	10,0 mA	3,5 W	8 °C	80 Vh
4. Ogniskowanie	1 500 V	5,0 mA	7,0 W	8 °C	570 Vh

Umieścić aplikator próbki w etapie 2 przy 0 Vh.

Usunąć aplikator próbki w etapie 2 przy 30 Vh.

6.4. Barwienie białka

6.4.1. Utrwalanie białka

Usunąć paski elektrody niezwłocznie po wyłączeniu mocy i włożyć żel bezpośrednio do naczynia do barwienia/odbarwiania, wypełnionego 200 ml utrwalacza (ppkt 4.9.); pozostawić na 15 minut, stale wstrząsając.

6.4.2. Przemycanie i barwienie płytki żelu

Starannie osączyć utrwalacz i dwukrotnie przemywać płytkę żelu przez 30 sekund w 100 ml roztworu odbarwiającego (ppkt 4.10). Wylać roztwór odbarwiający i napełnić naczynie 250 ml roztworu barwiącego (ppkt 4.11.3); pozostawić do zabarwienia na 45 minut, lekko wstrząsając.

6.4.3. Odbarwianie płytki żelu

Wylać roztwór barwiący, przemyć dwukrotnie płytkę żelu, używając za każdym razem 100 ml roztworu odbarwiającego (ppkt 4.10), następnie wstrząsać z 200 ml roztworu odbarwiającego przez 15 minut i powtórzyć etap odbarwiania co najmniej dwa lub trzy razy do czasu uzyskania przezroczystego i bezbarwnego tła. Następnie płukać płytkę żelu wodą destylowaną (2×2 minuty) i suszyć na powietrzu (2–3 godziny) lub za pomocą suszarki do włosów (10–15 minut).

Uwaga 1: Czynności utrwalania, przemycania, barwienia i odbarwiania wykonywać w temp. 20 °C. Unikać podwyższonych temperatur.

Uwaga 2: Jeżeli preferowane jest bardziej czułe barwienie srebrem (na przykład zestaw do barwienia srebrem Silver Staining Kit, Protein, Pharmacia Biotech, kod nr 17-1150-01), próbki kazeiny poddanej działaniu plazminy należy rozcieńczyć do uzyskania stężenia 5 mg/ml.

7. OCENA

Ocena dokonywana jest poprzez porównanie wzorów białek nieznannej próbki z wzorcami odniesienia na tym samym żelu. Wykrywanie mleka krowiego w serach wyprodukowanych z mleka owczego, mleka koziego, mleka bawolego lub mieszanek mleka owczego, koziego i bawolego dokonywane jest za pośrednictwem gamma2-kazeiny i gamma3-kazeiny, których punkty izoelektryczne mieszczą się w zakresie od pH 6,5 do pH 7,5 (rys. 4 a, b, rys. 5). Granica wykrywalności jest niższa niż 0,5 %.

7.1. Ocena wizualna

W odniesieniu do oceny wizualnej ilości mleka krowiego zaleca się dostosowanie stężeń próbek i wzorców celem uzyskania tego samego poziomu intensywności uwidocznienia owczej, koziej lub bawolej gamma2-kazeiny i gamma3-kazeiny (zob. „ γ_2 E, G, B” i „ γ_3 E, G, B” na rys. 4 a, b i na rys. 5). Po takim dostosowaniu ilość mleka krowiego (mniejsza, równa lub większa od 1 %) w nieznannej próbce może być oceniona bezpośrednio poprzez porównanie intensywności uwidocznienia gamma2-kazeiny i gamma3-kazeiny krowiej (zob. „ γ_3 C” i „ γ_2 C” na rys. 4 a, b i na rys. 5) z intensywnością uwidocznienia gamma2-kazeiny i gamma3-kazeiny wzorców odniesienia 0 % i 1 % (owczej, koziej) lub laboratoryjnych wzorców pośrednich (bawolej).

7.2. Ocena densytometryczna

Jeżeli istnieje taka możliwość, zastosować densytometrię (ppkt 5.19) celem określenia stosunku powierzchni pików gamma2-kazeiny i gamma3-kazeiny krowiej do gamma2-kazeiny i gamma3-kazeiny owczej, koziej lub bawolej (zob. rys. 5). Porównać tę wartość do stosunku powierzchni pików gamma2-kazeiny i gamma3-kazeiny 1 % wzorca odniesienia (owczej, koziej) lub laboratoryjnego wzorca pośredniego (bawolej), poddanych analizie na tym samym żelu.

Uwaga: Metoda sprawdza się należycie w przypadkach, gdy występuje wyraźny dodatni sygnał zarówno w odniesieniu do krowiej gamma2-kazeiny, jak i krowiej gamma3-kazeiny w 1 % wzorca odniesienia, ale nie w 0 % wzorca odniesienia. Jeżeli sygnał nie występuje, należy optymalizować procedurę przestrzegając dokładnie szczegółów metody.

Próbka jest oceniana jako pozytywna, jeżeli krowia gamma2-kazeina oraz krowia gamma3-kazeina, lub stosunek powierzchni odpowiednich pików, są równe lub wyższe od poziomu 1 % wzorca odniesienia.

8. ODNIESIENIA

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).

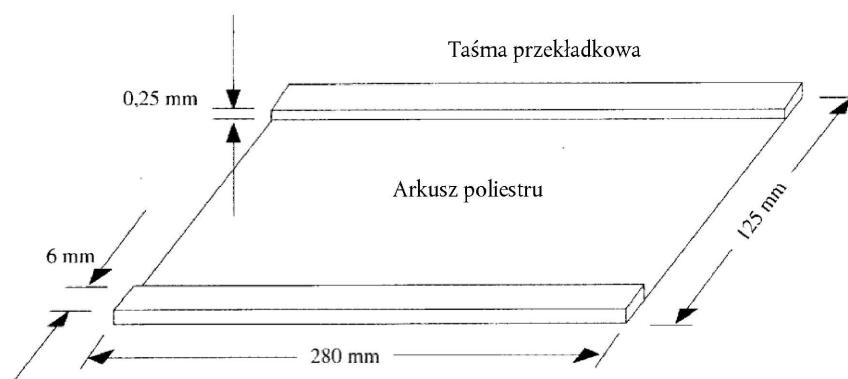
Krause I., Berner I, Klostermeyer H.: Sensitive detection of cow milk in ewe and goat milk and cheese by carrier ampholyte – and carrier ampholyte/immobilized pH gradient – isoelectric focusing of γ -caseins using plasmin as signal amplifier. in: *Electrophoresis-Forum* 89 (B.J. Radola, ed.) s. 389–393,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

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

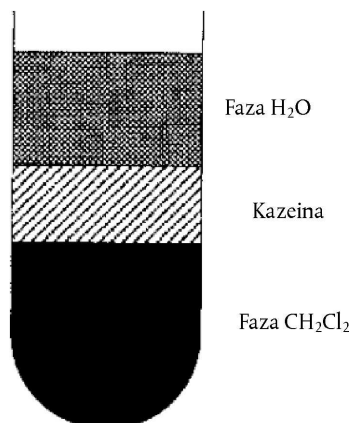
Rys. 1

Schematyczny rysunek arkusza przykrywającego



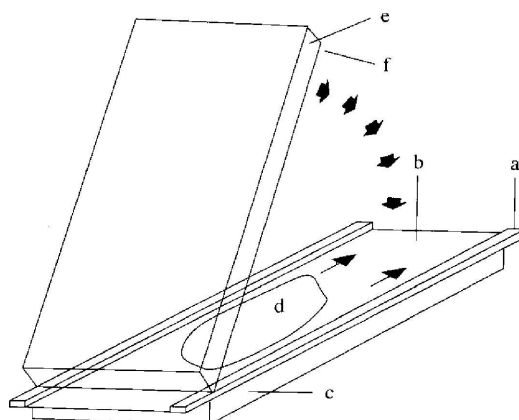
Rys. 2

Warstwa kazeiny utrzymująca się między fazą wodną i fazą organiczną po odwirowaniu



Rys. 3

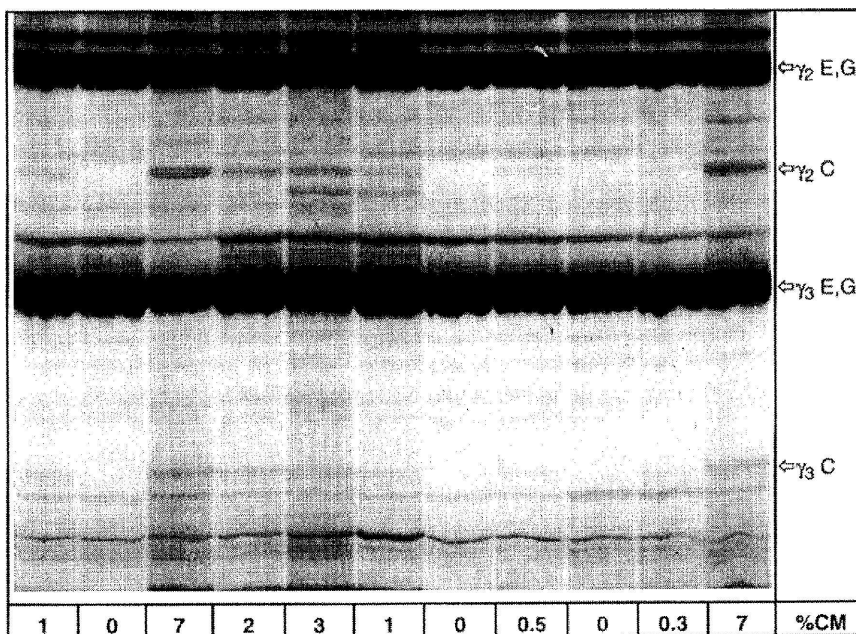
Technika „przykrywania klapą“, której celem jest otrzymanie ultracienkich żeli poliakryloamidowych



a = taśma przekładkowa (0,25 mm); b = arkusz pokrywający (ppkt 5.3.); c, e = płytki szklane (ppkt 5.1.); d = roztwór żelu (ppkt 4.1.2.); f = pojemnik transportowy arkusza żelu (ppkt 5.2.)

Rys. 4a

Wyznaczanie punktu izoelektrycznego kazeiny poddanej działaniu plazminy z sera z mleka owczego i koziego, zawierającego różne ilości mleka krowiego

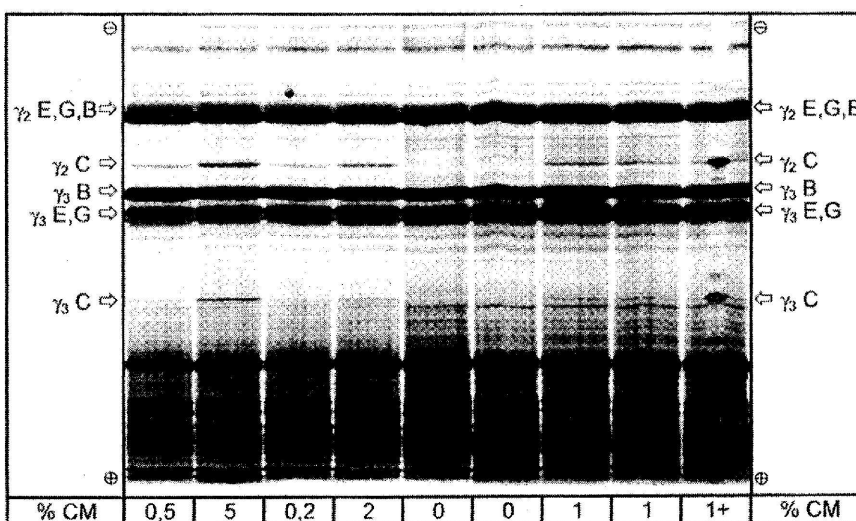


% CM = udział procentowy mleka krowiego, C = krowie, E = owcze, G = kozie

Przedstawiona jest górna połowa żelu IEF.

Rys. 4b

Wyznaczanie punktu izoelektrycznego kazeiny poddanej działaniu plazminy z sera wyprodukowanego z mieszanek mleka owczego, koziego i bawolego, zawierających różne ilości mleka krowiego

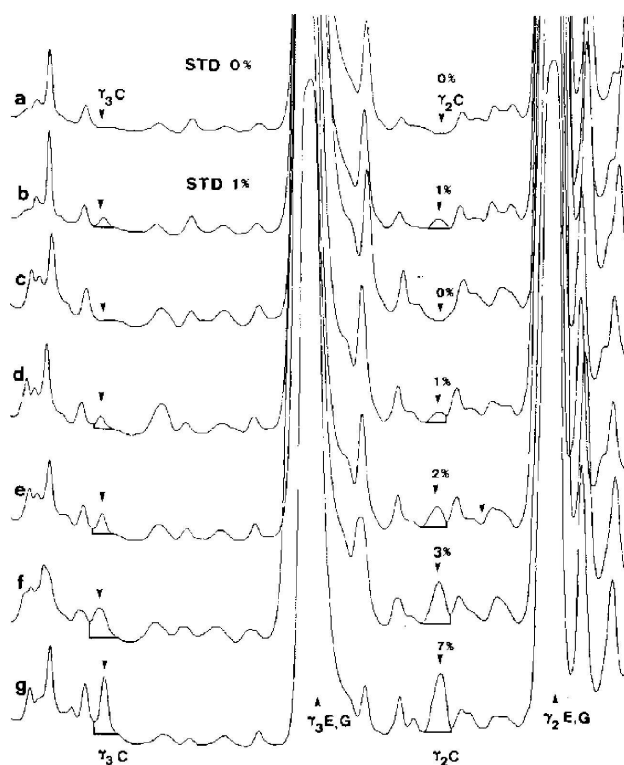


% CM = udział procentowy mleka krowiego; 1 + = próbka zawierająca 1 % mleka krowiego z dodatkiem czystej kazeiny krowiej w środku ścieżki. C = krowie, E = owcze, G = kozie, B = bawole.

Przedstawiona jest całkowita odległość rozdziału w żelu IEF.

Rys. 5

Zestawienie nałożonych densytogramów wzorców (STD) oraz próbek sera wyprodukowanego z mieszanki mleka owczego i koziego po wyznaczeniu punktu izoelektrycznego



a, b = wzorce zawierające 0 i 1 % mleka krowiego; c-g = próbki sera zawierające 0, 1, 2, 3 i 7 % mleka krowiego. C = krowie, E = owcze, G = kozie.

Górna połowa żelu IEF została zeskanowana przy $\lambda = 634$ nm.

ZAŁĄCZNIK IX

Ocena analiz**1. Zapewnianie jakości**

Analizy są przeprowadzane przez laboratoria wyznaczone zgodnie z art. 12 rozporządzenia (WE) nr 882/2004 (**) lub wyznaczone przez właściwe organy państwa członkowskiego.

2. Pobieranie próbek oraz spory dotyczące wyników analiz

1. Pobieranie próbek przeprowadzane jest zgodnie z odpowiednimi przepisami dotyczącym rozpatrywanego produktu. Jeżeli wyraźnie nie przewidziano żadnych przepisów w odniesieniu do pobierania próbek, stosuje się przepisy normy ISO 707, Mleko i przetwory mleczne – Wytyczne do pobierania próbek.
2. Laboratoryjne sprawozdania na temat wyników analiz zawierają informacje wystarczające dla oceny wyników przeprowadzanej zgodnie z dodatkiem.
3. W celu wykonania analiz wymaganych zgodnie z przepisami unijnymi pobiera się dwie próbki.
4. W przypadku pojawienia się sporu w odniesieniu do wyników agencja płatnicza zleca ponowne przeprowadzenie niezbędnej analizy danego produktu, a koszty pokrywa strona przegrywająca.

Wyżej wspomniana analiza jest przeprowadzana, pod warunkiem że zapieczętowane duplikaty próbek produktu są dostępne i były odpowiednio przechowywane przez właściwe organy. Producent przesyła do agencji płatniczej wniosek o przeprowadzenie analizy w ciągu 7 dni roboczych od ogłoszenia wyników pierwszej analizy. Agencja płatnicza wykonuje analizę w ciągu 21 dni roboczych od otrzymania wniosku.

5. Wynik uzyskany w procedurze odwoławczej jest ostatecznym wynikiem.
6. Jeżeli w ciągu pięciu dni roboczych od momentu pobrania próbek producent może udowodnić, że procedura pobierania próbek nie została przeprowadzona prawidłowo, pobranie próbek należy w miarę możliwości powtórzyć. Jeżeli pobranie próbek nie może być powtórzone, partia towaru zostaje dopuszczona.

Dodatek

Ocena zgodności partii towaru z prawnie obowiązującą wartością graniczną**1. Zasada**

W przypadku gdy w odniesieniu do interwencji publicznej i prywatnego przechowywania prawodawstwo przewiduje szczegółowe procedury pobierania próbek, procedur tych należy przestrzegać. We wszystkich pozostałych przypadkach wykorzystuje się próbkę spośród co najmniej 3 próbek pobranych wrywkowo z partii towaru przedłożonej do kontroli. Dopuszcza się przygotowanie próbki złożonej. Otrzymany wynik jest porównywany z prawnie obowiązującymi wartościami granicznymi poprzez obliczenie przedziału ufności wynoszącego 95 % jako podwójnego odchylenia standardowego, przy czym odnośne odchylenie standardowe zależy od tego, czy 1) metoda jest zwalidowana w drodze współpracy międzynarodowej z uwzględnieniem wartości σ_r i σ_R , lub 2) w przypadku walidacji wewnętrznej, czy obliczono odtwarzalność wewnętrzną. Wspomniany przedział ufności będzie wówczas równy niepewności pomiaru danego wyniku.

2. Metoda jest zwalidowana w drodze współpracy międzynarodowej

W tym przypadku odchylenie standardowe powtarzalności σ_r oraz odchylenie standardowe odtwarzalności σ_R zostały określone, a laboratorium jest w stanie wykazać zgodność z cechami wydajności zwalidowanej metody.

Należy obliczyć średnią arytmetyczną \bar{x} liczby n powtórzonych pomiarów.

Należy obliczyć niepewność rozszerzoną ($k = 2$) dla \bar{x} ze wzoru

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

Jeżeli wynik końcowy x pomiaru jest obliczany przy użyciu wzoru w postaci $x = y_1 + y_2$, $x = y_1 - y_2$, $x = y_1 \cdot y_2$ lub $x = y_1/y_2$ w takich przypadkach należy przestrzegać normalnych procedur łączenia odchyleń standardowych.

Partia towaru jest uznana za niezgodną z górną prawnie obowiązującą wartością graniczną UL, jeżeli

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

w przeciwnym razie jest ona uznana za zgodną z UL.

Partia towaru jest uznana za niezgodną z dolną prawnie obowiązującą wartością graniczną LL, jeżeli

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

w przeciwnym razie jest ona uznana za zgodną z LL.

3. Walidacja wewnętrzna uwzględniająca obliczenie wewnętrznego odchylenia standardowego odtwarzalności

W przypadkach gdy stosowane są metody nieokreślone w niniejszym rozporządzeniu, a miary precyzji nie zostały ustanowione, przeprowadza się walidację wewnętrzną. We wzorach na obliczenie niepewności rozszerzonej U niezbędne jest zastosowanie wewnętrznego odchylenia standardowego powtarzalności s_r oraz wewnętrznego odchylenia standardowego odtwarzalności s_R zamiast, odpowiednio, σ_r i σ_R .

Zasady, których należy przestrzegać w celu ustalenia zgodności z prawnie obowiązującą wartością graniczną, są określone w pkt 1. Jeżeli jednak partia towaru zostanie uznana za niezgodną z prawnie obowiązującą wartością graniczną, pomiary powtarza się przy użyciu metody określonej w niniejszym rozporządzeniu oraz wyniki ocenione zgodnie z pkt 1.

(*) Produkty Ampholine® pH 3,5–9,5 (Pharmacia) i Resolyte® pH 5–7 oraz pH 6–8 (BDH, Merck) okazały się szczególnie odpowiednie do uzyskania wymaganego rozdzielenia gamma-kazein.

(**) Rozporządzenie (WE) nr 882/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 29 kwietnia 2004 r. w sprawie kontroli urzędowych przeprowadzanych w celu sprawdzenia zgodności z prawem paszowym i żywnościowym oraz regulami dotyczącymi zdrowia zwierząt i dobrostanu zwierząt, Dz.U. L 165 z 30.4.2004, s. 1.”

ROZPORZĄDZENIE WYKONAWCZE KOMISJI (UE) 2018/151**z dnia 30 stycznia 2018 r.****ustanawiające zasady stosowania dyrektywy Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2016/1148 w odniesieniu do dalszego doprecyzowania elementów, jakie mają być uwzględnione przez dostawców usług cyfrowych w zakresie zarządzania istniejącymi ryzykami dla bezpieczeństwa sieci i systemów informatycznych, oraz parametrów służących do określenia, czy incydent ma istotny wpływ**

KOMISJA EUROPEJSKA,

uwzględniając Traktat o funkcjonowaniu Unii Europejskiej,

uwzględniając dyrektywę Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2016/1148 z dnia 6 lipca 2016 r. w sprawie środków na rzecz wysokiego wspólnego poziomu bezpieczeństwa sieci i systemów informatycznych na terytorium Unii (⁽¹⁾), w szczególności jej art. 16 ust. 8,

a także mając na uwadze, co następuje:

- (1) Zgodnie z dyrektywą (UE) 2016/1148 dostawcy usług cyfrowych mogą przedsięwziąć środki techniczne i organizacyjne, jakie uznają za właściwe i proporcjonalne, aby zarządzać ryzykiem, na jakie narażone jest bezpieczeństwo ich sieci i systemów informatycznych, o ile środki te zapewniają odpowiedni poziom bezpieczeństwa i uwzględniają elementy przewidziane we wspomnianej dyrektywie.
- (2) Przy określaniu właściwych i proporcjonalnych środków technicznych i organizacyjnych dostawcy usług cyfrowych powinni podchodzić do kwestii bezpieczeństwa informacji w sposób systematyczny, stosując podejście oparte na analizie ryzyka.
- (3) W celu zapewnienia bezpieczeństwa systemów i obiektów dostawcy usług cyfrowych powinni stosować procedury oceny i analizy. Działania te powinny dotyczyć systematycznego zarządzania sieciami i systemami informatycznymi, bezpieczeństwa fizycznego i środowiskowego, bezpieczeństwa dostaw oraz kontroli dostępu.
- (4) Należy zachęcać dostawców usług cyfrowych, aby podczas przeprowadzania analizy ryzyka w kontekście systematycznego zarządzania sieciami i systemami informatycznymi dokonywali identyfikacji konkretnych rodzajów ryzyka oraz wskazywali ich wagę, na przykład przez określenie zagrożeń dla krytycznych aktywów i tego, jak mogą one wpłynąć na operacje, oraz przez ustalenie najlepszych sposobów złagodzenia tych zagrożeń w oparciu o aktualne możliwości i potrzeby w zakresie zasobów.
- (5) Polityki w zakresie zasobów ludzkich mogą odnosić się do zarządzania umiejętnościami, w tym do aspektów dotyczących rozwoju umiejętności związanych z bezpieczeństwem oraz podnoszenia świadomości. Należy zachęcać dostawców usług cyfrowych do uwzględnienia – przy podejmowaniu decyzji w sprawie zestawu polityk w zakresie bezpieczeństwa operacji – aspektów dotyczących zarządzania zmianami, zarządzania podatnością na zagrożenia, sformalizowania praktyk operacyjnych i administracyjnych oraz mapowania systemu.
- (6) Polityki w zakresie architektury bezpieczeństwa mogą obejmować w szczególności rozdzielenie sieci i systemów, jak również szczególne środki bezpieczeństwa dotyczące operacji krytycznych, takich jak operacje administrowania. Rozdzielenie sieci i systemów mogłoby umożliwić dostawcy usług cyfrowych dokonanie rozróżnienia między elementami, takimi jak przepływy danych i zasoby obliczeniowe, które należą do klienta, grupy klientów, dostawcy usług cyfrowych lub stron trzecich.
- (7) Środki przedsięwzięte w odniesieniu do bezpieczeństwa fizycznego i środowiskowego powinny zabezpieczać sieci i systemy informatyczne organizacji przed uszkodzami powodowanymi przez takie incydenty, jak kradzież, pożar, powódź lub inne czynniki pogodowe, awarie systemów telekomunikacyjnych lub awarie zasilania.
- (8) Bezpieczeństwo dostaw w zakresie energii elektrycznej, paliw lub energii chłodniczej może obejmować bezpieczeństwo łańcucha dostaw, co uwzględnia w szczególności bezpieczeństwo wykonawców i podwykonawców zewnętrznych oraz zarządzanie nimi. Identyfikowalność krytycznych dostaw dotyczy zdolności dostawców usług cyfrowych do ustalania i rejestrowania źródeł tych dostaw.
- (9) Kategoria użytkowników usług cyfrowych powinna obejmować osoby fizyczne lub prawne, które są klientami lub abonentami internetowej platformy handlowej lub usługi przetwarzania w chmurze bądź które odwiedzają stronę wyszukiwarki internetowej w celu przeprowadzenia wyszukiwania przy pomocy słów kluczowych.

⁽¹⁾ Dz.U. L 194 z 19.7.2016, s. 1.

- (10) Ustalając istotność wpływu incydentu, przypadki określone w niniejszym rozporządzeniu należy traktować jako niewyczerpujący wykaz istotnych incydentów. Należy wyciągnąć wnioski z wykonania niniejszego rozporządzenia oraz z działalności grupy współpracy w odniesieniu do kwestii gromadzenia informacji z zakresu najlepszych praktyk dotyczących ryzyk i incydentów oraz dyskusji na temat zasad dotyczących sprawozdawczości w zakresie zgłaszania incydentów, o których mowa art. 11 ust. 3 lit. i) oraz m) dyrektywy (UE) 2016/1148. Wynikami mogą być kompleksowe wytyczne dotyczące progów ilościowych dla parametrów zgłoszeń, które mogą prowadzić do powstania obowiązku zgłoszenia dla dostawców usług cyfrowych zgodnie z art. 16 ust. 3 dyrektywy (UE) 2016/1148. W stosownych przypadkach Komisja może również rozważyć dokonanie przeglądu progów aktualnie przewidzianych w niniejszym rozporządzeniu.
- (11) Aby umożliwić właściwym organom uzyskanie informacji na temat potencjalnych nowych rodzajów ryzyka, dostawców usług cyfrowych należy zachęcać do dobrowolnego zgłaszania wszelkich incydentów, których cechy były im wcześniej nieznanne, takich jak nowe *exploits*, wektory ataku lub podmioty zagrażające bezpieczeństwu, słabe punkty i zagrożenia.
- (12) Niniejsze rozporządzenie powinno być stosowane od dnia następującego po upływie terminie transpozycji dyrektywy (UE) 2016/1148.
- (13) Środki przewidziane w niniejszym rozporządzeniu są zgodne z opinią Komitetu ds. Bezpieczeństwa Sieci i Systemów Informatycznych, o którym mowa w art. 22 dyrektywy (UE) 2016/1148,

PRZYJMUJE NINIEJSZE ROZPORZĄDZENIE:

Artykuł 1

Przedmiot

W niniejszym rozporządzeniu doprecyzowano elementy, jakie mają zostać uwzględnione przez dostawców usług cyfrowych przy określaniu i przedsięwzięciu środków mających na celu zapewnienie poziomu bezpieczeństwa sieci i systemów informatycznych wykorzystywanych przez nich w kontekście oferowania usług, o których mowa w załączniku III do dyrektywy (UE) 2016/1148, jak również parametry, które należy wziąć pod uwagę w celu ustalenia, czy incydent ma istotny wpływ na świadczenie tych usług.

Artykuł 2

Zabezpieczenia

1. Bezpieczeństwo systemów i obiektów, o których mowa w art. 16 ust. 1 lit. a) dyrektywy (UE) 2016/1148, oznacza bezpieczeństwo sieci i systemów informatycznych oraz ich środowiska fizycznego i obejmuje następujące elementy:
 - a) systematyczne zarządzanie sieciami i systemami informatycznymi, co oznacza mapowanie systemów informatycznych oraz ustanowienie zestawu odpowiednich polityk w zakresie zarządzania bezpieczeństwem informacji, w tym analiz ryzyka, zasobów ludzkich, bezpieczeństwa operacji, architektury bezpieczeństwa, zabezpieczenia danych i zarządzania cyklem życia systemu oraz, w stosownych przypadkach, szyfrowania i zarządzania nim;
 - b) bezpieczeństwo fizyczne i środowiskowe, które oznacza dostępność zestawu środków mających na celu ochronę bezpieczeństwa sieci i systemów informatycznych dostawców usług cyfrowych przed szkodami z zastosowaniem całościowego podejścia do kwestii zagrożeń opartego na analizie ryzyka, które uwzględnia np. awarie systemu, błędy ludzkie, działania złośliwe bądź zjawiska naturalne;
 - c) bezpieczeństwo dostaw oznacza ustanowienie oraz utrzymywanie odpowiednich polityk w celu zagwarantowania dostępności oraz, w stosownych przypadkach, identyfikowalności krytycznych dostaw wykorzystywanych do świadczenia usług;
 - d) kontrole dostępu do sieci i systemów informatycznych, co oznacza dostępność zestawu środków, które mają zagwarantować, że dostęp fizyczny i dostęp logiczny do sieci i systemów informatycznych, w tym administracyjne bezpieczeństwo sieci i systemów informatycznych, są uprawnione i ograniczone w oparciu o wymogi dotyczące prowadzenia działalności i bezpieczeństwa.
2. W odniesieniu do postępowania w przypadku incydentu, o którym mowa w art. 16 ust. 1 lit. b) dyrektywy (UE) 2016/1148, środki przedsięwzięte przez dostawcę usług cyfrowych obejmują:
 - a) utrzymywanie i testowanie procesów oraz procedur wykrywania w celu zapewnienia terminowej i odpowiedniej wiedzy na temat nietypowych zdarzeń;
 - b) procesy i polityki dotyczące zgłaszania incydentów oraz identyfikowania niedociągnięć i słabych punktów w jego systemach informatycznych;

- c) reagowanie zgodnie z ustanowionymi procedurami oraz składanie sprawozdań z wyników przedsięwziętych środków;
- d) ocenę powagi danego incydentu, dokumentowanie wiedzy uzyskanej z analizy incydentów oraz gromadzenie odpowiednich informacji, które mogą stanowić dowody i wspierać proces ciągłego doskonalenia.
3. Zarządzanie ciągłością działania, o którym mowa w art. 16 ust. 1 lit. c) dyrektywy (UE) 2016/1148, oznacza zdolność organizacji do utrzymania lub, w razie potrzeby, przywrócenia realizacji usług na uprzednio określonych dopuszczalnych poziomach, po wystąpieniu zakłócenia, i obejmuje:
- a) ustanowienie i stosowanie planów awaryjnych w oparciu o analizę wpływu na działalność w celu zapewnienia ciągłości usług świadczonych przez dostawców usług cyfrowych, co jest oceniane i testowane w regularnych odstępach czasu, na przykład przez ćwiczenia;
- b) zdolności w zakresie przywracania gotowości do pracy po katastrofie, które są oceniane i testowane w regularnych odstępach czasu, na przykład przez ćwiczenia.
4. Monitorowanie, audyt i testowanie, o których mowa w art. 16 ust. 1 lit. d) dyrektywy (UE) 2016/1148, obejmują ustanowienie i utrzymywanie polityk w zakresie:
- a) przeprowadzania zaplanowanej sekwencji obserwacji lub pomiarów w celu dokonania oceny, czy sieci i systemy informatyczne działają zgodnie z zamierzeniem;
- b) inspekcji i weryfikacji mających na celu sprawdzenie, czy stosuje się normę lub zbiór wytycznych, czy rejestry są dokładne, a także czy realizowane są cele w zakresie efektywności i skuteczności;
- c) procesu mającego na celu ujawnienie wad mechanizmów bezpieczeństwa sieci i systemów informatycznych, które służą ochronie danych i utrzymaniu funkcjonalności zgodnie z zamierzeniem. Tego rodzaju proces obejmuje procesy techniczne i personel zaangażowany w przepływ operacji.
5. Normy międzynarodowe, o których mowa w art. 16 ust. 1 lit. e) dyrektywy (UE) 2016/1148, oznaczają normy przyjęte przez międzynarodową jednostkę normalizacyjną, o której mowa w art. 2 ust. 1 lit. a) rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) nr 1025/2012⁽¹⁾. Zgodnie z art. 19 dyrektywy (UE) 2016/1148 stosowane mogą być również europejskie lub uznane międzynarodowe normy i specyfikacje mające znaczenie dla bezpieczeństwa sieci i systemów informatycznych, w tym istniejące normy krajowe.
6. Dostawcy usług cyfrowych zapewniają udostępnianie właściwemu organowi odpowiedniej dokumentacji do celów weryfikacji zgodności z zabezpieczeniami określonymi w ust. 1, 2, 3, 4 i 5.

Artykuł 3

Parametry, jakie należy wziąć pod uwagę w celu określenia, czy wpływ incydentu jest istotny

1. Jeśli chodzi o liczbę użytkowników, których dotyczy incydent, w szczególności użytkowników zależnych od usługi na potrzeby świadczenia ich własnych usług, o których mowa w art. 16 ust. 4 lit. a) dyrektywy (UE) 2016/1148, dostawca usług cyfrowych musi być w stanie oszacować jedną z następujących liczb:
- a) liczbę dotkniętych incydem osób fizycznych i osób prawnych, z którymi zawarto umowę na świadczenie danej usługi; lub
- b) liczbę dotkniętych incydem użytkowników, którzy korzystali z tej usługi, w oparciu w szczególności o wcześniejsze dane o ruchu.
2. Czas trwania incydentu, o którym mowa w art. 16 ust. 4 lit. b), oznacza okres, jaki upływa od zakłócenia prawidłowego świadczenia usługi pod względem jej dostępności, autentyczności, integralności lub poufności, do czasu przywrócenia stanu normalnego.
3. Jeśli chodzi o zasięg geograficzny związany z obszarem, którego dotyczy incydent, o którym mowa w art. 16 ust. 4 lit. c) dyrektywy (UE) 2016/1148, dostawca usług cyfrowych musi być w stanie ustalić, czy dany incydent ma wpływ na świadczenie jego usług w poszczególnych państwach członkowskich.
4. Zasięg zakłócenia funkcjonowania usługi, o którym mowa w art. 16 ust. 4 lit. d) dyrektywy (UE) 2016/1148, mierzy się w odniesieniu do jednego lub większej liczby następujących aspektów osłabionych w wyniku danego incydentu: dostępność, autentyczność, integralność lub poufność danych lub powiązanych usług.

⁽¹⁾ Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) nr 1025/2012 z dnia 25 października 2012 r. w sprawie normalizacji europejskiej, zmieniające dyrektywy Rady 89/686/EWG i 93/15/EWG oraz dyrektywy Parlamentu Europejskiego i Rady 94/9/WE, 94/25/WE, 95/16/WE, 97/23/WE, 98/34/WE, 2004/22/WE, 2007/23/WE, 2009/23/WE i 2009/105/WE oraz uchylające decyzję Rady 87/95/EWG i decyzję Parlamentu Europejskiego i Rady nr 1673/2006/WE (Dz.U. L 316 z 14.11.2012, s. 12).

5. W odniesieniu do zasięgu wpływu na działalność gospodarczą i społeczną, o którym mowa w art. 16 ust. 4 lit. e) dyrektywy (UE) 2016/1148, dostawca usług cyfrowych musi być w stanie – w oparciu o wskazówki, takie jak charakter jego stosunków umownych z klientem lub, w stosownych przypadkach, potencjalna liczba użytkowników dotkniętych incydem – stwierdzić, czy incydent spowodował znaczne straty materialne bądź niematerialne dla użytkowników, na przykład odnośnie do zdrowia, bezpieczeństwa lub uszkodzenia mienia.

6. Do celów ust. 1, 2, 3, 4 i 5 od dostawców usług cyfrowych nie wymaga się zbierania dodatkowych informacji, do których nie mają oni dostępu.

Artykuł 4

Istotny wpływ incydem

1. Dany incydent uznaje się za mający istotny wpływ, jeżeli zaistniała co najmniej jedna z następujących sytuacji:
 - a) usługa świadczona przez dostawcę usług cyfrowych była niedostępna przez ponad 5 000 000 użytkownikogodzin, przy czym pojęcie „użytkownikogodziny” odnosi się do liczby dotkniętych incydem użytkowników w Unii przez okres sześćdziesięciu minut;
 - b) incydent doprowadził do utraty integralności, autentyczności lub poufności przechowywanych lub przekazywanych bądź przetwarzanych danych lub powiązanych usług, oferowanych bądź dostępnych poprzez sieci i systemy informatyczne dostawcy usług cyfrowych, która dotknęła ponad 100 000 użytkowników w Unii;
 - c) incydent spowodował ryzyko dla bezpieczeństwa publicznego lub ryzyko wystąpienia ofiar śmiertelnych;
 - d) incydent wyrządził co najmniej jednemu użytkownikowi w Unii stratę materialną, której wysokość przekracza 1 000 000 EUR.
2. Opierając się na najlepszych praktykach zebranych przez grupę współpracy w wyniku realizacji jej zadań zgodnie z art. 11 ust. 3 dyrektywy (UE) 2016/1148 oraz na podstawie dyskusji wynikających z jej art. 11 ust. 3 lit. m), Komisja może dokonać przeglądu progów określonych w ust. 1.

Artykuł 5

Wejście w życie

1. Niniejsze rozporządzenie wchodzi w życie dwudziestego dnia po jego opublikowaniu w *Dzienniku Urzędowym Unii Europejskiej*.
2. Niniejsze rozporządzenie stosuje się od dnia 10 maja 2018 r.

Niniejsze rozporządzenie wiąże w całości i jest bezpośrednio stosowane we wszystkich państwach członkowskich.

Sporządzono w Brukseli dnia 30 stycznia 2018 r.

W imieniu Komisji
Jean-Claude JUNCKER
Przewodniczący

DECYZJE

DECYZJA RADY (UE) 2018/152

z dnia 29 stycznia 2018 r.

w sprawie mianowania zastępcy członka Komitetu Regionów zaproponowanego przez Republikę Federalną Niemiec

RADA UNII EUROPEJSKIEJ,

uwzględniając Traktat o funkcjonowaniu Unii Europejskiej, w szczególności jego art. 305,

uwzględniając propozycję rządu Niemiec,

a także mając na uwadze, co następuje:

- (1) W dniach 26 stycznia 2015 r., 5 lutego 2015 r. i 23 czerwca 2015 r. Rada przyjęła decyzje (UE) 2015/116 ⁽¹⁾, (UE) 2015/190 ⁽²⁾ i (UE) 2015/994 ⁽³⁾ w sprawie mianowania członków i zastępców członków Komitetu Regionów na okres od dnia 26 stycznia 2015 r. do dnia 25 stycznia 2020 r.
- (2) W związku z upływem kadencji Anke SPORENDONK zwolniło się jedno stanowisko zastępcy członka Komitetu Regionów,

PRZYJMUJE NINIEJSZĄ DECYZJĘ:

Artykuł 1

Na stanowisko zastępcy członka Komitetu Regionów do końca bieżącej kadencji, czyli do dnia 25 stycznia 2020 r., zostaje niniejszym mianowana następująca osoba:

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

Artykuł 2

Niniejsza decyzja wchodzi w życie z dniem jej przyjęcia.

Sporządzono w Brukseli dnia 29 stycznia 2018 r.

W imieniu Rady
R. PORODZANOV
Przewodniczący

⁽¹⁾ Decyzja Rady (UE) 2015/116 z dnia 26 stycznia 2015 r. w sprawie mianowania członków i zastępców członków Komitetu Regionów na okres od dnia 26 stycznia 2015 r. do dnia 25 stycznia 2020 r. (Dz.U. L 20 z 27.1.2015, s. 42).

⁽²⁾ Decyzja Rady (UE) 2015/190 z dnia 5 lutego 2015 r. w sprawie mianowania członków i zastępców członków Komitetu Regionów na okres od dnia 26 stycznia 2015 r. do dnia 25 stycznia 2020 r. (Dz.U. L 31 z 7.2.2015, s. 25).

⁽³⁾ Decyzja Rady (UE) 2015/994 z dnia 23 czerwca 2015 r. w sprawie mianowania członków i zastępców członków Komitetu Regionów na okres od dnia 26 stycznia 2015 r. do dnia 25 stycznia 2020 r. (Dz.U. L 159 z 25.6.2015, s. 70).

SPROSTOWANIA

Sprostowanie do rozporządzenia Komisji (UE) 2017/1084 z dnia 14 czerwca 2017 r. zmieniającego rozporządzenie (UE) nr 651/2014 w odniesieniu do pomocy na infrastrukturę portową i infrastrukturę portów lotniczych, progów powodujących obowiązek zgłoszenia pomocy na kulturę i zachowanie dziedzictwa kulturowego, pomocy na infrastrukturę sportową i wielofunkcyjną infrastrukturę rekreacyjną, a także programów regionalnej pomocy operacyjnej skierowanych do regionów najbardziej oddalonych oraz zmieniającego rozporządzenie (UE) nr 702/2014 w odniesieniu do obliczania kosztów kwalifikowalnych

(Dziennik Urzędowy Unii Europejskiej L 156 z dnia 20 czerwca 2017 r.)

1. Artykuł 1 pkt 11 zdanie wprowadzające w ustępie 4 artykułu, który zastąpił art. 15:

- zamiast:* „W regionach najbardziej oddalonych programy pomocy operacyjnej pokrywają dodatkowe koszty operacyjne poniesione w tych regionach i będące bezpośrednim skutkiem co najmniej jednego z trwałych niekorzystnych warunków, o których mowa w art. 349 Traktatu, jeśli beneficjenci prowadzą działalność gospodarczą w najbardziej oddalonych regionach, pod warunkiem że roczna kwota pomocy na jednego beneficjenta w ramach wszystkich programów pomocy operacyjnej realizowanych zgodnie z niniejszym rozporządzeniem nie przekracza żadnego z poniższych odsetków:”
- powinno być:* „W regionach najbardziej oddalonych programy pomocy operacyjnej pokrywają dodatkowe koszty operacyjne poniesione w tych regionach i będące bezpośrednim skutkiem co najmniej jednego z trwałych niekorzystnych warunków, o których mowa w art. 349 Traktatu, jeśli beneficjenci prowadzą działalność gospodarczą w najbardziej oddalonych regionach, pod warunkiem że roczna kwota pomocy na jednego beneficjenta w ramach wszystkich programów pomocy operacyjnej realizowanych zgodnie z niniejszym rozporządzeniem nie przekracza jednego z poniższych odsetków:”
-

ISSN 1977-0766 (wydanie elektroniczne)
ISSN 1725-5139 (wydanie papierowe)



Urząd Publikacji Unii Europejskiej
2985 Luksemburg
LUKSEMBURG

PL