ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΣ (ΕΚ) αριθ. 322/96 ΤΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ

της 22ας Φεβρουαρίου 1996

περί των λεπτομερειών εφαρμογής της δημόσιας αποθεματοποίησης του αποκορυφωμένου γάλακτος σε σκόνη

Η ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΤΩΝ ΕΥΡΩΠΑΪΚΩΝ ΚΟΙΝΟΤΗΤΩΝ,

Έχοντας υπόψη:

τη συνθήκη για την ίδρυση της Ευρωπαϊκής Κοινότητας,

τον κανονισμό (ΕΟΚ) αριθ. 804/68 του Συμβουλίου, της 27ης Ιουνίου 1968, περί κοινής οργανώσεως αγοράς στον τομέα του γάλακτος και γαλακτοκομικών προϊόντων [1], όπως τροποποιήθηκε τελευταία από τον κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 2931/95 της Επιτροπής [2], και ιδίως το άρθρο 7 παράγραφος 5 και το άρθρο 28,

Εκτιμώντας:

ότι ο κανονισμός (ΕΟΚ) αριθ. 1014/68 του Συμβουλίου, της 20ής Ιουλίου 1968, περί καθορισμού των γενικών κανόνων που διέπουν τη δημόσια αποθεματοποίηση αποκορυφωμένου γάλακτος σε σκόνη [3], όπως τροποποιήθηκε τελευταία από τον κανονισμό (ΕΟΚ) αριθ. 3577/90 [4], καταργείται από 1ης Μαρτίου 1996 βάσει του κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 1538/95 του Συμβουλίου [5]· ότι πρέπει, κατά συνέπεια, οι κανόνες που δεν έχουν ενσωματωθεί στον κανονισμό (ΕΟΚ) αριθ. 804/68 να περιληφθούν στις λεπτομέρειες εφαρμογής της δημόσιας αποθεματοποίησης αποκορυφωμένου γάλακτος σε σκόνη που προβλέπονται στον κανονισμό (ΕΟΚ) αριθ. 625/78 της Επιτροπής [6], όπως τροποποιήθηκε τελευταία από τον κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 1802/95 [7]· ότι η σπουδαιότητα των προσαρμογών που πρέπει να γίνουν στον εν λόγω κανονισμό καθώς επίσης και ο μεγάλος αριθμός τροποποιήσεων που έχουν ήδη γίνει στον κανονισμό αυτό, καθιστούν αναγκαία την αναμόρφωσή του για λόγους σαφήνειας και διαφάνειας· ότι πρέπει, κατά συνέπεια, να καταργηθεί ο κανονισμός (ΕΟΚ) αριθ. 625/78·

ότι, από τους οργανισμούς παρεμβάσεως, μπορεί να αγοραστεί μόνον αποκορυφωμένο γάλα σε σκόνη που πληροί τους όρους ελάχιστης περιεκτικότητας σε πρωτεϊνική ουσία· ότι, εξάλλου, η τιμή αγοράς μπορεί να ποικίλλει ανάλογα με την περιεκτικότητα σε πρωτεϊνική ουσία· ότι πρέπει να προσδιοριστεί η μέθοδος ανάλυσης που θα χρησιμοποιείται για τη διαπίστωση της εν λόγω περιεκτικότητας και να καθοριστεί με ακρίβεια ο τρόπος υπολογισμού της τιμής αγοράς·

ότι, για να εξασφαλιστεί ότι καμία πληρωμή για το αγορασθέν αποκορυφωμένο γάλα σε σκόνη δεν πραγματοποιήθηκε αχρεωστήτως, ενδείκνυται να καθοριστεί ότι επαληθεύεται η τήρηση όλων των απαιτούμενων όρων·

ότι έχει τεθεί σε ισχύ μέθοδος αναφοράς για την ανίχνευση βουτυρογάλακτος· ότι, με σκοπό να εξασφαλιστεί μία ενιαία εφαρμογή των μέτρων ελέγχου, πρέπει να γίνεται αναφορά στη μέθοδο αυτή ανάλυσης για τον έλεγχο του αγορασθέντος αποκορυφωμένου γάλακτος σε σκόνη από τους οργανισμούς παρέμβασης·

ότι η οδηγία 92/46/ΕΟΚ του Συμβουλίου, της 16ης Ιουνίου 1992 που ορίζει τους υγειονομικούς κανόνες για την παραγωγή και τη διάθεση στην αγορά νωπού γάλακτος, γάλακτος που υποβλήθηκε σε θερμική επεξεργασία και προϊόντων με βάση το γάλα [8], όπως τροποποιήθηκε τελευταία από την οδηγία 94/71/ΕΚ [9], προβλέπει ότι το γάλα του οποίου η περιεκτικότητα σε αντιμικροβιακές ουσίες υπερβαίνει το επιτρεπόμενο επίπεδο βάσει του κανονισμού (ΕΟΚ) αριθ. 2377/90 του Συμβουλίου [10], όπως τροποποιήθηκε τελευταία από τον κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 282/96 [11], δεν μπορεί να προορίζεται για την ανθρώπινη κατανάλωση· ότι ενδείκνυται ο έλεγχος του αγορασθέντος αποκορυφωμένου γάλακτος σε σκόνη από τους οργανισμούς παρέμβασης όσον αφορά την παρουσία αντιμικροβιακών ουσιών που χρησιμοποιούνται συνήθως· ότι πρέπει να προβλεφθεί μέθοδος ελέγχου για το σκοπό αυτό·

ότι, για τα υπόλοιπα, οι διατάξεις σχετικά με τη δημόσια αποθεματοποίηση αποκορυφωμένου γάλακτος σε σκόνη έχουν αποδειχθεί χρήσιμες και, με ορισμένες τεχνικές προσαρμογές, μπορούν να διατηρηθούν·

ότι τα γενεσιουργά αίτια της γεωργικής ισοτιμίας που εφαρμόζεται στο καθεστώς της δημόσιας αποθεματοποίησης προσδιορίζονται στον κανονισμό (ΕΟΚ) αριθ. 1756/93 της Επιτροπής [12], όπως τροποποιήθηκε τελευταία από τον κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 693/95 [13]·

ότι τα μέτρα που προβλέπονται στον παρόντα κανονισμό είναι σύμφωνα με τη γνώμη της επιτροπής διαχείρισης γάλακτος και γαλακτοκομικών προϊόντων,

ΕΞΕΔΩΣΕ ΤΟΝ ΠΑΡΟΝΤΑ ΚΑΝΟΝΙΣΜΟ:

Άρθρο 1

1. Οι οργανισμοί παρεμβάσεως αγοράζουν μόνον αποκορυφωμένο γάλα σε σκόνη που ανταποκρίνεται στον ορισμό που προβλέπεται στο άρθρο 7 παράγραφος 1 του κανονισμού (ΕΟΚ) αριθ. 804/68 και στις απαιτήσεις ποιότητας που προβλέπονται στο παράρτημα I και για τις οποίες πληρούνται οι ακόλουθες προϋποθέσεις:

α) ο έλεγχος ποιότητας διενεργείται σύμφωνα με τις μεθόδους αναλύσεως που προβλέπονται στα παραρτήματα I, V, VI και VII και με βάση τα δείγματα που λαμβάνονται σύμφωνα με τις λεπτομέρειες που προβλέπονται στο παράρτημα IV·

(1) ΕΕ αριθ. L 148 της 28. 6. 1968, σ. 13.
(2) ΕΕ αριθ. L 307 της 20. 12. 1995, σ. 10.
(3) ΕΕ αριθ. L 173 της 22. 7. 1968, σ. 4.
(4) ΕΕ αριθ. L 353 της 17. 12. 1990, σ. 23.
(5) ΕΕ αριθ. L 148 της 30. 6. 1995, σ. 17.
(6) ΕΕ αριθ. L 84 της 31. 3. 1978, σ. 19.
(7) ΕΕ αριθ. L 174 της 26. 7. 1995, σ. 27.
(8) ΕΕ αριθ. L 268 της 14. 1. 1992, σ. 1.
(9) ΕΕ αριθ. L 368 της 31. 12. 1994, σ. 33.
(10) ΕΕ αριθ. L 224 της 18. 8. 1990, σ. 1.
(11) ΕΕ αριθ. L 37 της 15. 2. 1996, σ. 9.
(12) ΕΕ αριθ. L 161 της 2. 7. 1993, σ. 48.
(13) ΕΕ αριθ. L 71 της 31. 3. 1995, σ. 52.

β) ανταποκρίνεται στους όρους που προβλέπονται στα παραρτήματα II και III όσον αφορά τη συσκευασία και τη σήμανση·

γ) δεν περιέχει άλλα προϊόντα, ιδίως βουτυρόγαλα ή ορό γάλακτος·

δ) παρασκευάστηκε κατά τη διάρκεια της περιόδου του μήνα που προηγείται της ημέρας παραλαβής της προσφοράς για πώληση από τον οργανισμό παρέμβασης ή, στην περίπτωση που προβλέπεται στο παράρτημα III στοιχείο ε) δεύτερο εδάφιο, κατά τις τέσσερις εβδομάδες που προηγούνται της εβδομάδας κατά την οποία ελήφθη η προσφορά·

ε) δεν υπερβαίνει τα ανώτατα αποδεκτά όρια ραδιενέργειας που προβλέπονται από τους κοινοτικούς κανονισμούς.

Τα επίπεδα που είναι αποδεκτά ορίζονται στο άρθρο 3 του κανονισμού (ΕΟΚ) αριθ. 737/90 του Συμβουλίου (1). Ο έλεγχος του επιπέδου ραδιενεργού μολύνσεως του προϊόντος διενεργείται μόνον αν το απαιτεί η κατάσταση και κατά τη διάρκεια της αναγκαίας περιόδου. Σε περίπτωση ανάγκης, η διάρκεια και το εύρος των μέτρων ελέγχου προκαθορίζονται σύμφωνα με τη διαδικασία που προβλέπεται στο άρθρο 30 του κανονισμού (ΕΟΚ) αριθ. 804/68.

2. Στο πλαίσιο του παρόντος κανονισμού, νοείται ως:

α) *βουτυρόγαλα:* το υπο-προϊόν παρασκευής του βουτύρου το οποίο προκύπτει μετά από απόδαρση ή απομάκρυνση των ακαθαρσιών εμπεριέχοντας την κρέμα και διαχωρίζοντας τη στερεά λιπαρά φάση·

β) *όρος γάλακτος:* το υπο-προϊόν παρασκευής του τυριού ή της καζεΐνης μέσω της δράσεως οξέων, πυτιάς ή/και φυσικοχημικών διαδικασιών.

3. Η ελάχιστη ποσότητα προσφοράς είναι 20 τόνοι. Τα κράτη μέλη μπορούν να αυξήσουν την ελάχιστη ποσότητα ή/και να προβλέψουν την προσφορά του αποκορυφωμένου γάλακτος σε σκόνη σε ακέραιους τόνους.

4. Ο οργανισμός παρέμβασης καταγράφει την ημερομηνία παραλαβής της προσφοράς πώλησης καθώς και τις ποσότητες και τις αντίστοιχες ημερομηνίες παρασκευής, καθώς και τον τόπο αποθήκευσης του προσφερόμενου αποκορυφωμένου γάλακτος σε σκόνη.

5. Μία προσφορά ισχύει μόνον εάν υπάρχει απόδειξη ότι ο υποβάλλων έχει καταβάλει εγγύηση ίση με 12 Ecu ανά τόνο προσφερόμενου αποκορυφωμένου γάλακτος σε σκόνη.

Στο πλαίσιο του παρόντος κανονισμού η διατήρηση της προσφοράς και η παράδοση του αποκορυφωμένου γάλακτος σε σκόνη στην αποθήκη που ορίζεται από τον οργανισμό παρέμβασης αποτελούν βασικές προϋποθέσεις των οποίων η εκτέλεση διασφαλίζεται από την εγγύηση αυτή. Εντούτοις, στην περίπτωση κατά την οποία προκύπτει βάσει του ελέγχου που προβλέπεται στην παράγραφο 1 στοιχείο α) ότι το αποκορυφωμένο γάλα σε σκόνη δεν πληροί τις προϋποθέσεις που προβλέπονται στην παράγραφο 1, η εγγύηση απελευθερώνεται παρ' όλα ταύτα για τις ποσότητες που δεν έχουν ακόμη παραδοθεί.

Η εγγύηση συνίσταται στο κράτος μέλος στο οποίο πραγματοποιήθηκε η προσφορά.

(1) ΕΕ αριθ. L 82 της 29. 3. 1990, σ. 1.

Άρθρο 2

1. Η επιχείρηση που προβλέπεται στο άρθρο 7 παράγραφος 1 του κανονισμού (ΕΟΚ) αριθ. 804/68 εγκρίνεται μόνον εφόσον:

α) η έγκριση χορηγείται σύμφωνα με το άρθρο 10 της οδηγίας 92/46/ΕΟΚ και η επιχείρηση διαθέτει τις κατάλληλες τεχνικές εγκαταστάσεις·

β) δεσμεύεται να τηρεί σε μόνιμη βάση τις καταχωρήσεις στοιχείων που ορίζονται από τον αρμόδιο οργανισμό παρέμβασης κάθε κράτους μέλους, σχετικά με την καταγωγή των πρώτων υλών, τις λαμβανόμενες ποσότητες αποκορυφωμένου γάλακτος, τις ποσότητες βουτυρογάλακτος και ορού γάλακτος που υποβλήθηκαν σε επεξεργασία, τον τύπο της θερμικής επεξεργασίας του αποβουτυρωμένου γάλακτος, τις ποσότητες λαμβανομένων προϊόντων, σε συσκευασία, την ταυτοποίηση και την ημερομηνία εξόδου κάθε παρτίδας αποκορυφωμένου γάλακτος σε σκόνη, βουτυρογάλακτος σε σκόνη και ορού γάλακτος σε σκόνη·

γ) δέχεται τη διενέργεια ειδικού επίσημου ελέγχου για την παραγωγή αποκορυφωμένου γάλακτος σε σκόνη που μπορεί να προσφερθεί στη δημόσια παρέμβαση·

δ) δεσμεύεται να ενημερώνει τον αρμόδιο οργανισμό που είναι επιφορτισμένος με τον έλεγχο, δύο τουλάχιστον εργάσιμες ημέρες πριν, για την πρόθεσή της να παρασκευάσει αποκορυφωμένο γάλα σε σκόνη για τη δημόσια παρέμβαση. Ωστόσο, το κράτος μέλος μπορεί να καθορίσει μία συντομότερη προθεσμία.

2. Για να διασφαλιστεί η τήρηση των διατάξεων του παρόντος κανονισμού, οι αρμόδιοι οργανισμοί διενεργούν αιφνίδιους επιτόπιους ελέγχους, ανάλογα με το πρόγραμμα παραγωγής αποκορυφωμένου γάλακτος σε σκόνη παρέμβασης των ενδιαφερόμενων εργαστηρίων παραγωγής.

Από πλευράς ελέγχων, θα πρέπει να διασφαλίζεται τουλάχιστον:

— ένας έλεγχος ανά 28 ημέρες παραγωγής για την παρέμβαση και τουλάχιστον μία φορά ανά εξάμηνο, για να εξετάζονται τα στοιχεία που προβλέπονται στην παράγραφο 1 στοιχείο β),

— ένας έλεγχος ανά εξάμηνο, για να επαληθεύεται η τήρηση των όρων εγκρίσεως που αναφέρονται στην παράγραφο 1.

3. Η έγκριση αποσύρεται στην περίπτωση που δεν πληρούνται οι όροι που προβλέπονται στην παράγραφο 1. Με αίτηση της ενδιαφερόμενης επιχείρησης, η έγκριση μπορεί να επαναχορηγηθεί μετά από περίοδο έξι μηνών και μετά από εμπεριστατωμένο έλεγχο.

Στην περίπτωση που διαπιστώνεται ότι μία επιχείρηση δεν τήρησε μία από τις δεσμεύσεις που προαναφέρονται στην παράγραφο 1 στοιχεία β), γ) και δ), πλην περιπτώσεως ανωτέρας βίας, η έγκριση αναστέλλεται για περίοδο από έναν έως δώδεκα μήνες, λαμβάνοντας υπόψη τη σοβαρότητα της παρατυπίας.

Το κράτος μέλος μπορεί να αποφασίσει να μην επιβάλει την εν λόγω αναστολή, εφόσον διαπιστώνεται ότι η παρατυπία δεν διαπράχθηκε εκ προθέσεως ή εκ σοβαράς αμελείας και ότι είναι μικρής σημασίας από την άποψη της αποτελεσματικότητας των ελέγχων που προβλέπονται στην παράγραφο 2.

4. Για τους ελέγχους που πραγματοποιούνται βάσει των παραγράφων 2 και 3 πρέπει να συντάσσεται έκθεση στην οποία να προσδιορίζονται:

— η ημερομηνία του ελέγχου,

— η διάρκειά του,

— οι εκτελεσθείσες εργασίες.

Η έκθεση του ελέγχου πρέπει να υπογράφεται από τον υπεύθυνο υπάλληλο.

5. Τα κράτη μέλη κοινοποιούν στην Επιτροπή τα μέτρα που λαμβάνονται σχετικά με τους ελέγχους που προβλέπονται στις παραγράφους 2 και 3 μέσα σε προθεσμία ενός μηνός από την υιοθέτησή τους.

Άρθρο 3

Ο οργανισμός που εξασφαλίζει τον έλεγχο της τήρησης των διατάξεων που προβλέπονται στο άρθρο 1 παράγραφος 1 συνυπογράφει, καθορίζοντας με ακρίβεια κάθε ένα από τα χαρακτηριστικά του προϊόντος που απαριθμούνται στο παράρτημα I σημείο 1, τα αποτελέσματα της ανάλυσης κάθε προσφερόμενης παρτίδας, τα οποία τελικά περιλαμβάνονται σε ένα πιστοποιητικό, που εκδίδεται μετά από αίτημα, ιδίως στην περίπτωση ανταλλαγών μεταξύ κρατών μελών ή εξαγωγής.

Άρθρο 4

1. Μετά την επαλήθευση των στοιχείων της προσφοράς, ο οργανισμός παρέμβασης εκδίδει χωρίς καθυστέρηση δελτίο παράδοσης με ημερομηνία και αριθμό πρωτοκόλλου που αναφέρει:

α) την ποσότητα που πρόκειται να παραδοθεί·

β) την προθεσμία παράδοσης του αποκορυφωμένου γάλακτος σε σκόνη·

γ) την αποθήκη στην οποία πρέπει να παραδοθεί.

2. Η παράδοση του αποκορυφωμένου γάλακτος σε σκόνη πρέπει να πραγματοποιηθεί εντός προθεσμίας 28 ημερών μετά την ημέρα παραλαβής της προσφοράς πώλησης που προβλέπεται στο άρθρο 1 παράγραφος 1 στοχείο δ). Η παράδοση είναι δυνατόν να γίνει τμηματικά.

3. Κατά την έννοια του παρόντος κανονισμού, η ημέρα ανάληψης του αποκορυφωμένου γάλακτος σε σκόνη από τον οργανισμό παρέμβασης είναι η ημέρα της εισόδου του αποκορυφωμένου γάλακτος σε σκόνη στην αποθήκη, αλλά το ενωρίτερο την επομένη της έκδοσης του δελτίου παράδοσης που προβλέπεται στην παράγραφο 1.

4. Η πληρωμή του αγορασθέντος αποκορυφωμένου γάλακτος σε σκόνη από τον οργανισμό παρέμβασης πραγματοποιείται μεταξύ της εκατοστής εικοστής και εκατοστής τεσσαρακοστής ημέρας μετά την ανάληψη του αποκορυφωμένου γάλακτος σε σκόνη, έτσι ώστε να έχει επαληθευτεί η τήρηση των προϋποθέσεων που προβλέπονται στο άρθρο 1.

5. Η τιμής αγοράς του αποκορυφωμένου γάλακτος σε σκόνη υπολογίζεται ως εξής:

— σε περίπτωση που η περιεκτικότητα σε πρωτεϊνική ουσία του ξηρού αποστάγματος χωρίς λίπος, η οποία έχει διαπιστωθεί σύμφωνα με τη μέθοδο που ενδύκνειται στο παράρτημα I, ισούται ή υπερβαίνει το 35,6 %, η τιμή αγοράς ισούται με την τιμή παρέμβασης,

— σε περίπτωση που η περιεκτικότητα αυτή είναι τουλάχιστον 31,4 % και κάτω του 35,6 %, η τιμή αγοράς ισούται με την τιμή παρέμβασης μείον ένα ποσό που υπολογίζεται με τον ακόλουθο τρόπο: τιμή παρέμβασης × [(0,356 − περιεκτικότητα σε πρωτεϊνική ουσία) × 1,75].

6. Βάσει της προσφοράς του, ο πωλητής δεσμεύεται, στην περίπτωση κατά την οποία τα αποτελέσματα του ελέγχου του αποκορυφωμένου γάλακτος σε σκόνη δεν πληρούν τις προϋποθέσεις που προβλέπονται στο άρθρο 1 παράγραφος 1:

— να πάρει πίσω το εν λόγω εμπόρευμα,

— να καταβάλει τα έξοδα αποθεματοποίησης των εν λόγω ποσοτήτων από την ημέρα της ανάληψης της ευθύνης μέχρι την ημερομηνία εξόδου.

Τα έξοδα αυτά αποθεματοποίησης καθορίζονται κατ' αποκοπή ανά τόνο με τον ακόλουθο τρόπο:

α) 21 Ecu για τα πάγια έξοδα·

β) 0,10 Ecu ανά ημέρα αποθεματοποιήσης για τα έξοδα αποθήκευσης.

Τα ποσά φέρονται σε πίστωση του λογαριασμού του Ευρωπαϊκού Ταμείου Γεωργικού Προσανατολισμού και Εγγυήσεων (ΕΓΤΠΕ), τμήμα Εγγυήσεων.

Άρθρο 5

1. Οι αποθήκες που προβλέπονται στο άρθρο 7 παράγραφος 1 τέταρτο εδάφιο του κανονισμού (ΕΟΚ) αριθ. 804/68 πρέπει να πληρούν τους ακόλουθους όρους:

α) να είναι στεγνές, σε καλή κατάσταση συντήρησης και απαλλαγμένες από τρωκτικά·

β) να μην υπάρχει παράξενη οσμή·

γ) να επιτρέπεται ο καλός αερισμός·

δ) να διαθέτουν ικανοποιητική χωρητικότητα και εξοπλισμό σε σχέση με αυτό το δυναμικό.

Οι σχετικοί κίνδυνοι με την αποθεματοποίηση αποκορυφωμένου γάλακτος σε σκόνη καλύπτονται από ασφάλεια που έχει μορφή είτε συμβατικής υποχρεώσεως των αποθετών, είτε μορφή γενικής ασφάλειας του οργανισμού παρέμβασης. Μπορεί επίσης και το κράτος μέλος να είναι ίδιος ασφαλιστής του.

2. Οι οργανισμοί παρέμβασης απαιτούν η απόθεση και η αποθεματοποίηση του αποκορυφωμένου γάλακτος σε σκόνη να πραγματοποιούνται σε παλέτες και με τρόπο ώστε να δημιουργούνται παρτίδες που είναι εύκολα ταυτοποιήσιμες και προσβάσιμες.

3. Ο αρμόδιος για τον έλεγχο οργανισμός προβαίνει σε αιφνίδιο έλεγχο για τη διαπίστωση της παρουσίας των προϊόντων στην αποθήκη όπως προβλέπεται στο άρθρο 4 του κανονισμού (ΕΟΚ) αριθ. 618/90 της Επιτροπής [1].

Άρθρο 6

1. Ο οργανισμός παρέμβασης επιλέγει την πλησιέστερη διαθέσιμη αποθήκη στον τόπο όπου αποθηκεύεται το αποκορυφωμένο γάλα σε σκόνη.

[1] ΕΕ αριθ. L 67 της 15. 3. 1990, σ. 21.

Εντούτοις, και εφόσον η επιλογή ενός άλλου αποθηκευτικού χώρου δεν προκαλεί επιπρόσθετα έξοδα αποθεματοποίησης ο οργανισμός μπορεί:

α) να επιλέγει έναν άλλο αποθηκευτικό χώρο μέσα στα όρια της απόστασης που προβλέπονται στην παράγραφο 2·

β) πέραν της αποστάσεως αυτής, να επιλέγει έναν άλλο αποθηκευτικό χώρο όταν η επιλογή αυτή έχει ως αποτέλεσμα μικρότερες διαπάνες, λαμβανομένων υπόψη των σχετικών εξόδων αποθεματοποίησης και μεταφοράς. Στην περίπτωση αυτή, ο οργανισμός παρέμβασης ενημερώνει χωρίς καθυστέρηση την Επιτροπή για την επιλογή του αυτή.

2. Η μέγιστη απόσταση που προβλέπεται στο άρθρο 7 παράγραφος 1 τρίτο εδάφιο του κανονισμού (ΕΟΚ) αριθ. 804/68 ορίζεται σε 350 χιλιόμετρα. Πέραν της αποστάσεως αυτής, τα επιπρόσθετα έξοδα μεταφοράς που επιβαρύνουν τον οργανισμό παρέμβασης καθορίζονται σε 0,05 Ecu ανά τόνο και ανά χιλιόμετρο.

Εντούτοις, στην περίπτωση που ο οργανισμός παρέμβασης που προβαίνει στην αγορά ανήκει σε ένα άλλο κράτος μέλος από εκείνο στο έδαφος του οποίου έχει αποθηκευτεί το αποκορυφωμένο γάλα σε σκόνη, τότε, για τον υπολογισμό της μεγίστης απόστασης που προβλέπεται στο πρώτο εδάφιο, δεν λαμβάνεται υπόψη η απόσταση μεταξύ της αποθήκης αποθεματοποίησης του πωλητή και των συνόρων του κράτους μέλους του οργανισμού παρέμβασης που διενεργεί την αγορά.

Άρθρο 7

Κατά τη ρευστοποίηση των αποθεμάτων, ο οργανισμός παρέμβασης σε περίπτωση παράδοσης στη θύρα της αποθήκης, διαθέτει αποκορυφωμένο γάλα σε σκόνη:

— φορτωμένο, στην αποθήκη επί μεταφορικού μέσου, χωρίς ασφάλεια μεταφοράς εάν πρόκειται για φορτηγό αυτοκίνητο ή βαγόνι σιδηροδρόμου,

— στην έξοδο της αποθήκης, εάν πρόκειται για άλλο μεταφορικό μέσο, ιδίως εμπορευματοκιβώτιο.

Τα ενδεχόμενα έξοδα τακτοποίησης και εκφόρτωσης από τις παλέτες βαρύνουν τον αγοραστή του αποκορυφωμένου γάλακτος σε σκόνη. Τα έξοδα αυτά καθορίζονται κατ' αποκοπή από το κράτος μέλος που ενημερώνει πάντα ενδιαφερόμενο μετά από αίτημά του.

Άρθρο 8

Ο κανονισμός (ΕΟΚ) αριθ. 625/78 καταργείται.

Οι παραπομπές στον κανονισμό (ΕΟΚ) αριθ. 625/78 πρέπει να νοούνται ως παραπομπές στον παρόντα κανονισμό.

Άρθρο 9

Ο παρών κανονισμός αρχίζει να ισχύει την έβδομη ημέρα από τη δημοσίευσή του στην *Επίσημη Εφημερίδα των Ευρωπαϊκών Κοινοτήτων.*

Εφαρμόζεται από την 1η Μαρτίου 1996.

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

Βρυξέλλες, 22 Φεβρουαρίου 1996.

Για την Επιτροπή

Franz FISCHLER

Μέλος της Επιτροπής

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι

ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΑΠΟΚΟΡΥΦΩΜΕΝΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΣΕ ΣΚΟΝΗ

1. **Χαρακτηριστικά:**

α) περιεκτικότητα σε πρωτεϊνική ουσία:	τουλάχιστον 31,4 % επί του ξηρού αποστάγματος χωρίς λίπος
β) περιεκτικότητα σε λιπαρές ουσίες:	1,00 % κατ' ανώτατο όριο
γ) περιεκτικότητα σε νερό:	3,5 % κατ' ανώτατο όριο
δ) οξύτητα που μετράται σε χιλιοστόλιτρα δεκατοκανονικού διαλύματος υδροξειδίου του νατρίου:	19,5 ml κατ' ανώτατο όριο
ε) περιεκτικότητα σε γαλακτικά οξέα:	150 mg ανά 100 g κατ' ανώτατο όριο
στ) προσθετικά:	κανένα
ζ) δοκιμή φωσφατάσης:	αρνητική, δηλαδή ισούται ή είναι κάτω των 4 μg φαινόλης ανά γραμμάριο ανασυσταθέντος γάλακτος
η) δείκτης αδιαλυτότητος:	0,5 ml κατ' ανώτατο όριο (24 °C)
θ) περιεκτικότητα σε καμένα μόρια:	15,0 mg κατ' ανώτατο όριο, γνωστοποιείται μέσω του Β
ι) περιεκτικότητα σε μικροοργανισμούς:	40 000 ανά g κατ' ανώτατο όριο
ια) αναζήτηση κολοβακτηριδίων:	αρνητική σε 0,1 g
ιβ) αναζήτηση βουτυρογάλακτος:	αρνητική
ιγ) αναζήτηση ορού γάλακτος:	αρνητική
ιδ) γεύση και οσμή:	θετικές
ιε) όψη:	λευκό χρώμα ή ελαφρώς κιτρινωπό, απουσία ακαθαρσιών και χρωματισμένων τμημάτων
ιστ) αντιμικροβιακές ουσίες:	αρνητική (1)

2. **Μέθοδοι ελέγχου**

α) Λαμβανομένων υπόψη των διατάξεων σχετικά με την εναρμόνιση των μεθόδων ανάλυσης, είναι υποχρεωτικές για την εφαρμογή του παρόντος κανονισμού οι μέθοδοι αναφοράς που αναφέρονται κατωτέρω:

— δοσιμετρία πρωτεϊνικής ουσίας (N x 6,38):	διεθνής κανόνας FIL 20B: 1993
— δοσιμετρία σε λιπαρές ουσίες:	διεθνής κανόνας FIL 9C: 1987
— δοσιμετρία σε νερό:	διεθνής κανόνας FIL 26A: 1993
— δοσιμετρία οξύτητας:	διεθνής κανόνας FIL 86: 1981
— δοσιμετρία σε γαλακτικά οξέα:	διεθνής κανόνας FIL 69B: 1987
— δοκιμή φωσφατάσης:	διεθνής κανόνας ISO 3356: 1975
— δείκτης αδιαλυτότητας:	διεθνής κανόνας FIL 129A: 1988
— καθορισμός της περιεκτικότητας καμένων μορίων:	πρότυπες μέθοδοι ADPI 1990
— απαρίθμηση μικροοργανισμών:	διεθνής κανόνας FIL 100B: 1991
— αναζήτηση κολοβακτηριδίων:	διεθνής κανόνας FIL 73A: 1985

β) Όσον αφορά τις έρευνες για:

— πυτία ορού γάλακτος:	δοσολογία γλυκομακροπεπτιδίων για την υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης σύμφωνα με τη μέθοδο ανάλυσης που αναφέρεται στο παράρτημα V
— οξύ ορού γάλακτος:	δοκιμές που ορίζονται από τα κράτη μέλη
— βουτυρόγαλα:	απουσία βουτυρογάλακτος είναι δυνατόν να διαπιστωθεί είτε μέσω αιφνίδιου επιτόπιου ελέγχου στο εργαστήριο παραγωγής, πυο πραγματοποιείται τουλάχιστον μία φορά ανά εβδομάδα, είτε μέσω της εργαστηριακής ανάλυσης — σύμφωνα με τη μέθοδο που αναφέρεται στο παράρτημα VI — του τελικού προϊόντος δεικνύοντας κατ' ανώτατο όριο 69,31 mg PEDP ανά 100 g
— αντιμικροβιακές ουσίες:	σύμφωνα με τη μέθοδο που περιγράφεται στο παράρτημα VII.

γ) Η δειγματοληψία πραγματοποιείται σύμφωνα με τη διαδικασία που προβλέπεται από το διεθνή κανόνα ISO 707· τα κράτη μέλη μπορούν ωστόσο να χρησιμοποιήσουν μία άλλη μέθοδο δειγματοληψίας εφόσον η τελευταία πληροί τις αρχές του προαναφερθέντος κανόνα.

---

(1) Το νωπό γάλα που χρησιμοποιήθηκε για την παρασκευή του αποκορυφωμένου γάλακτος σε σκόνη πρέπει να πληροί τις προϋποθέσεις που προβλέπονται στο παράρτημα Α κεφάλαιο ΙΙΙ μέρος Δ της οδηγίας 92/46/ΕΟΚ.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ II

ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ

1. **Συσκευασίες**

Οι συσκευασίες είναι καινούργιες, στεγνές και ακέραιες, με περιεχόμενο σε καθαρό βάρος 25 χιλιόγραμμα και με έναν τρόπο κατασκευής που να ανταποκρίνεται σε ένα από τα ακόλουθα σχήματα:

α) 4 σάκοι από χαρτί kraft, ανθεκτικότητας που ανταποκρίνεται σε βάρος τουλάχιστον 70 g/m²,

1 σάκος από λαδόχαρτο που παρεμβάλλεται, ανθεκτικότητας που ανταποκρίνεται σε βάρος τουλάχιστον 140 g/m²,

1 εσωτερική θήκη από πολυαιθυλένιο, τουλάχιστον 0,08 mm εύρος, συγκολλημένη ή με διπλή ραφή·

β) 1 σάκο από χαρτί kraft, ανθεκτικότητας που ανταποκρίνεται σε βάρος τουλάχιστον 70 g/m²,

1 σάκο από χαρτί kraft με επίστρωση πολυαιθυλενίου, ανθεκτικότητας που ανταποκρίνεται σε βάρος τουλάχιστον 80 + 15 g/m²,

3 σάκοι από χαρτί kraft ανθεκτικότητας που ανταποκρίνεται σε βάρος τουλάχιστον 70 g/m²,

1 εσωτερική θήκη από πολυαιθυλένιο, τουλάχιστον 0,08 mm εύρος, συγκολλημένη ή με διπλή ραφή·

γ) 1 εξωτερικό σάκο από χαρτί kraft, ανθεκτικότητας που ανταποκρίνεται σε βάρος τουλάχιστον 85 g/m²,

1 σάκο από χαρτί kraft με επίστρωση πολυαιθυλενίου, ανθεκτικότητας που ανταποκρίνεται σε βάρος τουλάχιστον 70 + 15 g/m²,

2 σάκοι από χαρτί kraft, ανθεκτικότητας που ανταποκρίνεται σε βάρος τουλάχιστον 70 g/m²,

1 εσωτερική θήκη από πολυαιθυλένιο, εύρους τουλάχιστον 0,12 mm συγκολλημένη ή με διπλή ραφή·

δ) 1 εξωτερικό σάκο από χαρτί kraft ημιεκτατό, ανθεκτικότητας που ανταποκρίνεται σε βάρος τουλάχιστον 95 g/m²,

1 σάκο από χαρτί kraft ημιεκτατό με επίστρωση εσωτερική από πολυαιθυλένιο, ανθεκτικότητας που ανταποκρίνεται σε βάρος τουλάχιστον 95 + 15 g/m²,

1 σάκο από χαρτί kraft ημιεκτατό, ανθεκτικότητας που ανταποκρίνεται σε βάρος τουλάχιστον 85 g/m²,

1 εσωτερική θήκη από πολυαιθυλένιο, εύρους τουλάχιστον 0,12 συγκολλημένη ή με διπλή ραφή.

2. **Γέμισμα**

Κατά το γέμισμα, ο σάκος πρέπει να είναι καλά πεπιεσμένος. Πρέπει να αποφεύγεται οπωσδήποτε η διείσδυση σκόνης χύδην μεταξύ των διαφόρων πτυχών.

3. **Διαδικασία δοκιμής**

Η συσκευασία, σύμφωνα με το σημείο 1, πρέπει να μπορεί να αντιστέκεται σε μία μέση πίεση απορρόφησης των 420 joules/m² για τρεις επιστρώσεις χαρτιού τουλάχιστον σύμφωνα με τη μέθοδο ISO 1924-2-1985.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ III

ΣΗΜΑΝΣΗ

Η συσκευασία φέρει τουλάχιστον τις ακόλουθες ενδείξεις, ενδεχομένως, με κωδικό:

α) ονομασία σε μία από τις γλώσσες της Κοινότητας «Αποκορυφωμένο γάλα σε σκόνη σπρέι»·

β) καθαρό βάρος·

γ) αριθμός παρτίδας παραγωγής·

δ) αριθμός έγκρισης του ταυτοποιεί το εργοστάσιο και το κράτος μέλος παραγωγής·

ε) ημερομηνία παραγωγής. Σε περίπτωση που το αποκορυφωμένο γάλα σε σκόνη αποθηκεύεται σε σιλό, η ημερομηνία παραγωγής αντικαθίσταται από την εβδομάδα παραγωγής.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ IV

ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ ΚΑΙ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΟΥ ΠΡΟΣΦΕΡΟΜΕΝΟΥ ΑΠΟΚΟΡΥΦΩΜΕΝΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΣΕ ΣΚΟΝΗ

1. Αριθμός των συσκευασιών που πρόκειται να επιλεχθούν τυχαίως για τη δειγματοληψία:
   — προσφορές που περιέχουν έως 800 σάκους των 25 χιλιογράμμων: 8 τουλάχιστον,
   — προσφορές που περιλαμβάνουν άνω των 800 σάκων των 25 χιλιογράμμων: 8 + 1 ανά σύνολο σάκων ή μέρος μιας επιπλέον μερίδας 800 σάκων, τουλάχιστον.
2. Βάρος δείγματος: τουλάχιστον 200 γραμμάρια λαμβάνονται από κάθε συσκευασία.
3. Ομαδοποίηση των δειγμάτων: 9 δείγματα κατ' ανώτατο όριο ομαδοποιούνται σε ένα συνολικό δείγμα.
4. Ανάλυση των δειγμάτων: κάθε συνολικό δείγμα υποβάλλεται σε ανάλυση για να επαληθευθούν όλα τα ποιοτικά χαρακτηριστικά που προβλέπονται στο παράρτημα I.
5. Κατευθυντήριες γραμμές που πρέπει να ακολουθηθούν σε περίπτωση ελαττώματος του δείγματος:
   α) σε περίπτωση που ένα σύνθετο συστατικό παρουσιάζει ελάττωμα σε μία παράμετρο, η ποσότητα που αντιπροσωπεύεται από αυτό το δείγμα απορρίπτεται·
   β) σε περίπτωση που ένα σύνθετο δείγμα παρουσιάζει ελάττωμα σε περισσότερες παραμέτρους, η ποσότητα που αντιπροσωπεύεται από το δείγμα αυτό απορρίπτεται και οι υπόλοιπες ποσότητες της προσφοράς που προέρχονται από το ίδιο εργοστάσιο υποβάλλονται σε δεύτερη δειγματοληψία για ανάλυση. Στην περίπτωση αυτή:
      — ο αριθμός των δειγμάτων που προβλέπονται στο σημείο 1 διπλασιάζεται,
      — σε περίπτωση που ένα σύνθετο δείγμα παρουσιάζει ένα ελάττωμα σε μία ή περισσότερες παραμέτρους, η ποσότητα που αντιπροσωπεύεται από το δείγμα αυτό απορρίπτεται.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ V

ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΟΡΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΤΥΠΟΥ ΠΥΤΙΑΣ ΣΤΟ ΑΠΟΚΟΡΥΦΩΜΕΝΟ ΓΑΛΑ ΣΕ ΣΚΟΝΗ, ΠΟΥ ΠΡΟΟΡΙΖΕΤΑΙ ΓΙΑ ΚΡΑΤΙΚΗ ΑΠΟΘΕΜΑΤΟΠΟΙΗΣΗ, ΜΕ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΤΩΝ ΓΛΥΚΟΜΑΚΡΟΠΕΠΤΙΔΙΩΝ ΜΕ ΥΓΡΗ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΥΨΗΛΗΣ ΑΠΟΔΟΣΕΩΣ (ΥΧΥΑ)

1. **Θέμα και τομέας εφαρμογής**

Με τη μέθοδο αυτή είναι δυνατόν να διαπιστωθεί η παρουσία ορού γάλακτος τύπου πυτίας στο αποκορυφωμένο γάλα σε σκόνη που προορίζεται για κρατική αποθεματοποίηση διά του προσδιορισμού των γλυκομακροπεπτιδίων.

2. **Αναφορές**

Διεθνές πρότυπο ISO 707 — Γάλα και γαλακτοκομικά προϊόντα — Μέθοδοι δειγματοληψίας σύμφωνα με τις ενδείξεις που αναφέρονται στο τελευταίο εδάφιο σημείο 2 στοιχείο γ) του παραρτήματος I.

3. **Ορισμός**

Περιεκτικότητα σε γλυκομακροπεπτίδια του αποκορυφωμένου γάλακτος σε σκόνη: περιεκτικότητα σε ουσίες προσδιοριζόμενη σύμφωνα με τη μέθοδο που ορίζεται παρακάτω και εκφραζόμενη σε επί τοις εκατό, ποσοστό κατά μάζα.

4. **Αρχή**

— Ανασύσταση του αποκορυφωμένου γάλακτος σε σκόνη, απομάκρυνση των λιπαρών ουσιών και των πρωτεϊνών, με τη βοήθεια τριχλωροξικού οξέος και φυγοκέντρηση.

— Ποσοτικός προσδιορισμός των γλυκομακροπεπτιδίων (GMP) του επιπλέοντος μέρους, με τη βοήθεια υγρής χρωματογραφίας υψηλής αποδόσεως (ΥΧΥΑ).

— Αξιολόγηση του αποτελέσματος σε συνάρτηση με δείγματα αναφοράς τα οποία συνίστανται από αποκορυφωμένο γάλα σε σκόνη απηλλαγμένο από γνωστό ποσοστό ορού γάλακτος σε σκόνη ή στο οποίο έχει προστεθεί γνωστό ποσοστό ορού γάλακτος σε σκόνη.

5. **Αντιδραστήρια**

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αποδεδειγμένου αναλυτικού βαθμού καθαρότητας. Το χρησιμοποιούμενο νερό είναι αποσταγμένο ή τουλάχιστον ισοδύναμης καθαρότητας.

5.1. *Διάλυμα τριχλωροξικού οξέος*

Διαλύονται 240 g τριχλωροξικού οξέος (Cl_3CCOOH) σε νερό και συμπληρώνονται μέχρι τελικού όγκου 1 000 ml.

5.2. *Διάλυμα εκλούσεως, pH 6,0*

Διαλύονται 1,74 g όξινου φωσφορικού καλίου (K_2HPO_4), 12,37 g δισόξινου φωσφορικού καλίου (KH_2PO_4) και 21,41 g θειικού νατρίου (Na_2SO_4) σε 700 ml νερού περίπου.

Εφόσον αυτό είναι αναγκαίο, προστίθεται διάλυμα φωσφορικού οξέος ή υδροξειδίου του νατρίου μέχρι pH 6,0.

Προστίθεται νερό μέχρι τελικού όγκου 1 000 ml και επακολουθεί ομογενοποίηση. Διηθείται το διάλυμα εκλούσεως, πριν από τη χρησιμοποίησή του, με τη βοήθεια ηθμού διαμέτρου πόρων 0,45 μm.

5.3. *Διάλυμα εκπλύσεως και διατηρήσεως των στηλών*

Αναμειγνύεται ένας όγκος κυανιούχου μεθυλίου ακετονιτριλίου (CH_3CN) με εννέα όγκους νερού. Διηθείται το μείγμα, προτού χρησιμοποιηθεί, σε ηθμό διαμέτρου πόρων 0,45 μm.

Σημείωση: Είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθεί οποιοδήποτε άλλο διάλυμα εκπλύσεως το οποίο έχει βακτηριοκτόνες ιδιότητες και δεν μεταβάλλει τη διαχωριστική ικανότητα των στηλών.

5.4. *Δείγματα αναφοράς*

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

5.4.2. Το ίδιο γάλα, νοθευμένο σε ποσοστό 5 % (m/m) με ορό γάλακτος σε σκόνη τύπου πυτίας, μέσης σύνθεσης, δηλαδή [5].

6. **Όργανα**

6.1. Αναλυτικός ζυγός.

6.2. Συσκευή φυγοκεντρήσεως η οποία μπορεί να επιτύχει δύναμη φυγοκεντρήσεως 2 200 g, εφοδιασμένη με πωματισμένους σωλήνες φυγοκεντρήσεως, χωρητικότητας 25 ml περίπου.

6.3. Μηχανικός αναδευτήρας.

6.4. Μαγνητικός αναδευτήρας.

6.5. Υάλινο χωνί, διαμέτρου περίπου 7 cm.

6.6. Χάρτινοι ηθμοί μέσης διηθητικής ικανότητας, διαμέτρου 12,5 cm περίπου.

6.7. Υάλινη διάταξη διηθήσεως, εφοδιασμένη με ηθμό διαμέτρου πόρων 0,45 μm.

6.8. Βαθμονομημένο σιφώνιο χωρητικότητας 10 ml, σύμφωνο με το ISO 648, κατηγορία A, ή το ISO/R 835.

6.9. Υδρόλουτρο, με θερμοστάτη ρυθμισμένο στους 25 ± 0,5 °C.

6.10. Εξοπλισμός υγρής χρωματογραφίας υψηλής αποδόσεως, ο οποίος περιλαμβάνει:

6.10.1. αντλία·

6.10.2. εγχυτήρα, χειροκίνητο ή αυτόματο, χωρητικότητας 15 έως 30 μl·

6.10.3. δύο στήλες εν σειρά TSK 2 000 SW (μήκος 30 cm, εσωτερική διάμετρος 0,75 cm) και μια στήλη αρχικής φάσεως άναντα (3 cm × 0,3 cm) εφοδιασμένη με I 125 ή με υλικό αντίστοιχης απόδοσης·

6.10.4. κλίβανο με στήλη που φέρει θερμοστάτη ρυθμιζόμενο στους 35 ± 1 °C·

6.10.5. ανιχνευτή υπεριωδών διαφόρου μήκους κύματος, με δυνατότητες διενέργειας μετρήσεων στα 205 nm, ευαισθησίας 0,008 A·

6.10.6. ολοκληρωτής με δυνατότητες ολοκλήρωσης από τη μία πτωτική περιοχή της καμπύλης στην άλλη.

Σημείωση: Είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθούν στήλες που έχουν διατηρηθεί σε θερμοκρασία του περιβάλλοντος. Η διαχωριστική τους ικανότητα όμως είναι κατά τι μικρότερη. Στην περίπτωση που χρησιμοποιηθούν, οι διακυμάνσεις θερμοκρασίας κατά την ίδια σειρά αναλύσεων πρέπει να είναι μικρότερες των ± 5 °C.

7. **Δειγματοληψία**

7.1. Διεθνές πρότυπο ISO 707 — Γάλα και γαλακτοκομικά προϊόντα — Μέθοδοι δειγματοληψίας σύμφωνα με τις ενδείξεις που αναφέρονται στο τελευταίο εδάφιο σημείο 2 στοιχείο γ) του παραρτήματος I.

7.2. Το δείγμα διατηρείται σε συνθήκες τέτοιες ώστε να μη σημειωθεί αλλοίωση ή μεταβολή της σύστασης.

8. **Τρόπος εργασίας**

8.1. *Προετοιμασία του υπό δοκιμασία μείγματος*

Μεταφέρεται το γάλα σε σκόνη σε περιέκτη διπλάσιας περίπου χωρητικότητας από τον όγκο της σκόνης, εφοδιασμένο με αεροστεγές κάλυμμα. Κλείνουμε τον περιέκτη αμέσως.

Αναδεύεται καλά το γάλα σε σκόνη διά διαδοχικών αναστροφών του περιέκτη.

8.2. *Δειγματοληψία*

Ζυγίζονται 2,000 ± 0,001 g υπό δοκιμασία δείγματος, σε σωλήνα φυγοκεντρώσεως (6.2).

8.3. *Απομάκρυνση των λιπαρών και πρωτεϊνικών ουσιών*

8.3.1. Στο δείγμα προστίθενται 20 g χλιαρού νερού (50 °C). Διαλύεται η σκόνη αναδεύοντας επί πέντε λεπτά με τη βοήθεια του αναδευτήρα (6.3). Η θερμοκρασία του σωλήνα ρυθμίζεται στους 25 °C.

8.3.2. Προστίθενται, σε διάστημα δύο λεπτών, 10,0 ml διαλύματος τριχλωροξικού οξέος (5.1) υπό μαγνητική ανάδευση (6.4). Τοποθετείται ο σωλήνας στο υδρόλουτρο (6.9) και διατηρείται επί 60 λεπτά.

8.3.3. Διενεργείται φυγοκέντρωση (6.2) στα 2 200 g επί δέκα λεπτά.

Η διήθηση επί χάρτου (6.6) και απομακρύνονται τα 5 πρώτα ml του διηθήματος.

8.4. *Χρωματογραφικός προσδιορισμός*

8.4.1. Ενίενται 15 έως 30 μl ακριβώς, υπερκείμενης στιβάδας ή διηθήματος (8.3.3) στη συσκευή υγρής χρωματογραφίας υψηλής αποδόσεως (6.10), υπό παροχή 1,0 ml διαλύματος εκλούσεως (5.2) ανά λεπτό.

Σημείωση:

1. Η θερμοκρασία του διαλύματος εκλούσεως (5.2) διατηρείται στους 85 °C καθ' όλη τη διάρκεια της χρωματογραφικής ανάλυσης προκειμένου να διατηρηθεί απαεριωμένο το διάλυμα εκλούσεως και να προβλεφθεί κάθε ανάπτυξη βακτηριδίων. Κάθε προληπτικό μέτρο με ανάλογο αποτέλεσμα είναι αποδεκτό.
2. Σε κάθε διακοπή εκπλύνονται οι στήλες με νερό.

   Δεν πρέπει να αφήνονται υπό το διάλυμα εκλούσεως (5.2).

Πριν από κάθε διακοπή πέραν των 24 ωρών, εκπλύνονται οι στήλες με νερό και στη συνέχεια καθορίζονται με το διάλυμα (5.3) για τρεις ώρες τουλάχιστον, υπό παροχή 0,2 ml ανά λεπτό.

8.4.2. Τα αποτελέσματα της χρωματογραφικής ανάλυσης του υπό δοκιμασία δείγματος [E] λαμβάνονται υπό μορφήν χρωματογράμματος, όπου κάθε κορυφή αναγνωρίζεται από το χρόνο κατακρατήσεως της (RT), δηλαδή:

Κορυφή II: δεύτερη κορυφή του χρωματογράμματος, του οποίου ο χρόνος κατακρατήσεως (RT) είναι 12,5 λεπτά περίπου.

Κορυφή III: τρίτη κορυφή του χρωματογράμματος, η οποία αντιστοιχεί στα γλυκομακροπεπτίδια (GMP), των οποίων ο χρόνος κατακρατήσεως είναι 15,5 ± 1,0 λεπτά.

Κορυφή IV: τέταρτη κορυφή του χρωματογράμματος της οποίας ο χρόνος κατακρατήσεως είναι περίπου 17,5 λεπτά.

Η ποιότητα των στηλών μπορεί να επηρεάσει το χρόνο κατακρατήσεως των διαφόρων κορυφών.

Ο ολοκληρωτής (6.10.6) υπολογίζει αυτόματα την επιφάνεια A κάθε κορυφής δηλαδή:

A_{II}: επιφάνεια της κορυφής II,

A_{III}: επιφάνεια της κορυφής III,

A_{IV}: επιφάνεια της κορυφής IV.

Προκειμένου να εντοπισθούν οι τυχόν ανωμαλείες που οφείλονται είτε στην κακή λειτουργία των οργάνων ή των στηλών είτε στην προέλευση και τη φύση του υπό ανάλυση δείγματος, είναι αναγκαίο να μελετάται η μορφή κάθε χρωματογράμματος προτού επιχειρηθεί οποιαδήποτε ποσοτική ερμηνεία. Σε περίπτωση αμφιβολιών επαναλαμβάνεται η ανάλυση.

8.5. *Προτυποποίηση*

8.5.1 Εφαρμόζεται ακριβώς στα δείγματα αναφοράς (5.4) ο τρόπος εργασίας που περιγράφεται στα σημεία 8.2 και 8.4.2.

Χρησιμοποιούνται προσφάτως παρασκευασθέντα διαλύματα, δεδομένου ότι τα γλυκομακροπεπτίδια (GMP) προσβάλλονται σε περιβάλλον τριχλωροξικού οξέως 8 %. Η περιεκτικότητά τους ελαττώνεται κατά 0,2 % περίπου ανά ώρα στους 30 °C.

8.5.2. Προτού επιχειρηθεί οποιοσδήποτε χρωματογραφικός προσδιορισμός των δειγμάτων, ενίεται επανειλημμένως στις στήλες διάλυμα (8.5.1) του δείγματος αναφοράς (5.4.2) μέχρι σταθεροποιήσεως της επιφάνειας και του χρόνου κατακρατήσεως της κορυφής που αντιστοιχεί στα γλυκομακροπεπτίδια (GMP).

8.5.3. Καθορίζονται οι συντελεστές ανταποκρίσεως R εγχέοντας τον ίδιο όγκο διηθημάτων (8.5.1) με αυτόν των δειγμάτων.

9. Έκφραση των αποτελεσμάτων

9.1. *Τρόπος υπολογισμού και τύποι*

9.1.1. Υπολογισμός των συντελεστών ανταποκρίσεως R:

Κορυφή II: $R_{II} = \frac{100}{A_{II}\,[0]}$

Κορυφή IV: $R_{IV} = \frac{100}{A_{IV}\,[0]}$

όπου:

R_{II} και R_{IV} = είναι αντιστοίχως οι συντελεστές κορυφών II και IV.

A_{II} [0] και A_{IV} [0] = είναι αντιστοίχως οι επιφάνειες των κορυφών II και IV του δείγματος αναφοράς [0] που λαμβάνονται υπό 8.5.3

Κορυφή III: $R_{III} = \frac{W}{A_{III}\,[5] - A_{III}\,[0]}$

R_{III} = ο συντελεστής ανταποκρίσεως της κορυφής III,

A_{III} [0] και A_{III} [5] = είναι αντιστοίχως οι επιφάνειες της κορυφής III στα δείγματα αναφοράς [0] και [5] που λαμβάνονται υπό 8.5.3.

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

9.1.2. Υπολογισμός της σχετικής επιφάνειας των κορυφών του δείγματος [E]

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

όπου:

S_{II} [E], S_{III} [E], S_{IV} [E] = είναι αντιστοίχως οι σχετικές επιφάνειες των κορυφών II, III και IV του δείγματος [E],

A_{II} [E], A_{III} [E], A_{IV} [E] = είναι αντιστοίχως οι επιφάνειες των κορυφών II, III και IV του δείγματος [E] οι οποίες λαμβάνονται υπό 8.4.2.

R_{II}, R_{III}, R_{IV} = είναι οι συντελεστές ανταποκρίσεως που υπολογίζονται στο σημείο 9.1.1.

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

$$RRT_{III}\,[E] = \frac{RT_{III}\,[E]}{RT_{III}\,[5]}$$

όπου:

RRT_{III} [E] = είναι ο σχετικός χρόνος κατακρατήσεως της κορυφής III του δείγματος [E].

RT_{III} [E] = είναι ο χρόνος κατακρατήσεως της κορυφής III του δείγματος [E] που λαμβάνεται υπό 8.4.2.

RT_{III} [5] = είναι ο χρόνος κατακρατήσεως της κορυφής III του δείγματος αναφοράς [5] που λαμβάνεται υπό 8.5.3.

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

— Σε περιεκτικότητα > 5 % το RRT_{III} [E] είναι < 1,000,

— Σε περιεκτικότητα ≤ 5 %, το RRT_{III} [E] είναι ≥ 1,000.

Το επιτρεπόμενο περιθώριο αβεβαιότητας για τις τιμές του RRT_{III} είναι ± 0,002.

Κανονικά, η τιμή του RRT_{III} [0] λίγο διαφέρει από 1,034. Ανάλογα με την κατάσταση των στηλών, η τιμή αυτή μπορεί να προσεγγίσει το 1,000, αλλά πρέπει πάντοτε να είναι μεγαλύτερη από αυτό.

9.2. *Υπολογισμός του επί τοις εκατό ποσοστού ορού γάλακτος σε σκόνη, τύπου πυτίας, που περιέχεται στο δείγμα:*

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

όπου:

W = το επί τοις εκατό ποσοστό m/m ορού γάλακτος τύπου πυτίας, που περιέχεται στο δείγμα [E]·

S_{III} [E] = η σχετική επιφάνεια της κορυφής III του υπό δοκιμασία δείγματος [E] που λαμβάνεται υπό 9.1.2·

1,3 = η μέση σχετική επιφάνεια της κορυφής III, εκφρασμένη σε g ανα 100 g ορού γάλακτος τύπου πυτίας, που καθορίζεται σε ανόθευτα αποκορυφωμένα γάλατα σε σκόνη διαφορετικής προελεύσεως. Ο αριθμός αυτός ελήφθη πειραματικά·

S_{III} [0] = η σχετική επιφάνεια της κορυφής III που αντιστοιχεί με $R_{III} \times A_{III}$ [0], των οποίων οι τιμές λαμβάνονται υπό 9.1.1 και 8.5.3·

(S_{III} [0] − 0,9) = είναι η διόρθωση που πρέπει να γίνει στη μέση σχετική επιφάνεια 1,3, όταν η τιμή του S_{III} [0] απέχει του 0,9. Πειραματικά, η μέση σχετική επιφάνεια της κορυφής III του δείγματος αναφοράς [0] είναι 0,9.

9.3. *Ακρίβεια της μεθόδου*

9.3.1. Επαναληψιμότητα

Η διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων δύο προσδιορισμών που διεξάγονται ταυτόχρονα ή με μικρή διαφορά μεταξύ τους, από τον ίδιο αναλυτή και με τα ίδια όργανα, επί του ίδιου δείγματος, δεν πρέπει να υπερβαίνει τα 0,2 % m/m.

9.3.2. Αναπαραγωγικότητα

Η διαφορά μεταξύ δύο μεμονωμένων και ανεξαρτήτων αποτελεσμάτων από δύο διαφορετικά εργαστήρια επί του ίδιου δείγματος, δεν πρέπει να υπερβαίνει τα 0,4 % m/m.

9.4. *Ερμηνεία*

9.4.1. Τεκμαίρεται η απουσία ορού γάλακτος εφόσον η σχετική επιφάνεια της κορυφής III, S_{III} [E], εκφρασμένη σε γραμμάρια ορού γάλακτος τύπου πυτιάς, ανά 100 γραμμάρια προϊόντος είναι $\leq 2,0 + (S_{III}\ [0] - 0,9)$

όπου

2,0 = είναι η μέγιστη τιμή για τη σχετική επιφάνεια της κορυφής III που λαμβάνει υπόψη της σχετική επιφάνεια της κορυφής III, ήτοι 1,3 του περιθωρίου αβεβαιότητας που οφείλεται στις διακυμάνσεις της συστάσεως του αποκορυφωμένου γάλακτος σε σκόνη, και την αναπαραγωγικότητα της μεθόδου (9.3.2).

$(S_{III}\ [0] - 0,9)$ = είναι η διόρθωση που πρέπει να γίνει όταν η επιφάνεια $S_{III}\ [0]$ είναι διάφορη του 0,9 (βλέπε σημείο 9.2).

9.4.2. Εάν η σχετική επιφάνεια της κορυφής III, S_{III} [E] είναι $> 2,0 + (S_{III}\ [0] - 0,9)$ και η σχετική επιφάνεια της κορυφής II, S_{II} [E] ≤ 160, υπολογίζεται η περιεκτικότητα σε ορό γάλακτος τύπου πυτιάς που υπάρχει όπως αναφέρεται στο σημείο 9.2.

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

9.4.3.1. Τα στοιχεία που λαμβάνονται μετά από ανάλυση των μη αλλοιωμένων δειγμάτων του αποκορυφωμένου γάλακτος σε σκόνη, με υψηλή η περιεκτικότητα σε ολικές αζωτούχες ουσίες συγκεντρώνονται στις γραφικές παραστάσεις 1 και 2.

Η ευθεία που εμφαίνεται με συνεχή γραμμή αντιπροσωπεύει την ευθεία της γραμμικής παλινδρομήσεως της οποίας οι συντελεστές υπολογίζονται με τη μέθοδο των ελαχίστων τετραγώνων.

Η ευθεία που εμφαίνεται με διακεκομένη γραμμή καθορίζει το ανώτατο όριο της σχετικής επιφάνειας της κορυφής III, με μια πιθανότητα να μην ξεπεραστεί στο 90 % των περιπτώσεων.

Οι ισότητες των ευθειών με διακεκομένη γραμμή των γραφικών παραστάσεων 1 και 2 ισούνται αντίστοιχα με:

$S_{III} = 0,376\ P\ \% - 10,7$ (γραφική παράσταση 1)

$S_{III} = 0,0123\ S_{II}\ [E] + 0,93$ (γραφική παράσταση 2)

όπου:

S_{III} είναι η σχετική επιφάνεια της κορυφής III υπολογιζόμενη είτε σύμφωνα με την περιεκτικότητα σε ολικές αζωτούχες ουσίες, είτε σύμφωνα με τη σχετική επιφάνεια της κορυφής S_{II} [E],

P % είναι η περιεκτικότητα σε ολικές αζωτούχες ουσίες εκφρασμένη σε σταθμισμένο ποσοστό·

S_{II} [E] είναι η σχετική επιφάνεια του δείγματος που υπολογίζεται στο σημείο 9.1.2.

Οι εξισώσεις αυτές ισούνται με τον αριθμό 1,3 που μνημονεύονται στο σημείο 9.2.

Η απόκλιση (T_1 και T_2) μεταξύ της σχετικής επιφάνειας S_{III} [E] και της σχετικής επιφάνειας S_{III} δίδεται από τις ακόλουθες σχέσεις:

$T_1 = S_{III}\ [E] - [(0,376\ P\ \% - 10,7) + (S_{III}\ [0] - 0,9)]$

$T_2 = S_{III}\ [E] - [(0,0123\ S_{II}\ [E] + 0,93) + (S_{III}\ [0] - 0,9)]$

9.4.3.2. Εάν T_1 ή/και T_2 είναι κατώτερα ή ίσα με μηδέν, δεν μπορεί να καθορισθεί η παρουσία ορού γάλακτος τύπου πυτιάς.

Εάν T_1 και T_2 είναι ανώτερα του μηδενός, το συμπέρασμα είναι η ύπαρξη ορού γάλακτος τύπου πυτιάς.

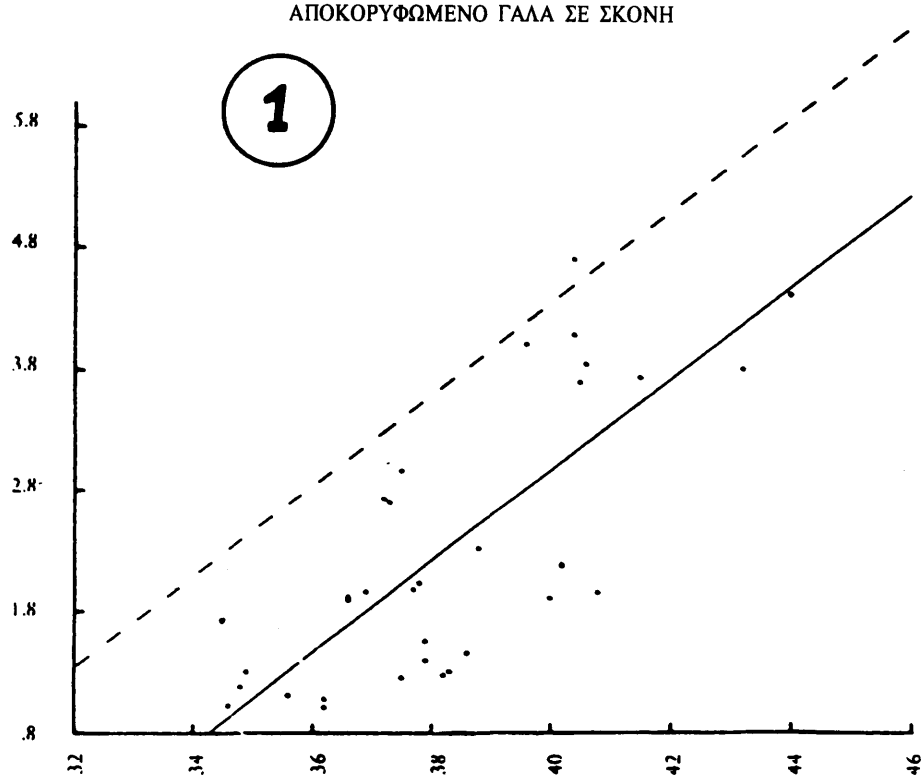
Η περιεκτικότητα σε υπάρχοντα ορό γάλακτος υπολογίζεται σύμφωνα με τον ακόλουθο τύπο:

$$W = T_2 + 0,91$$

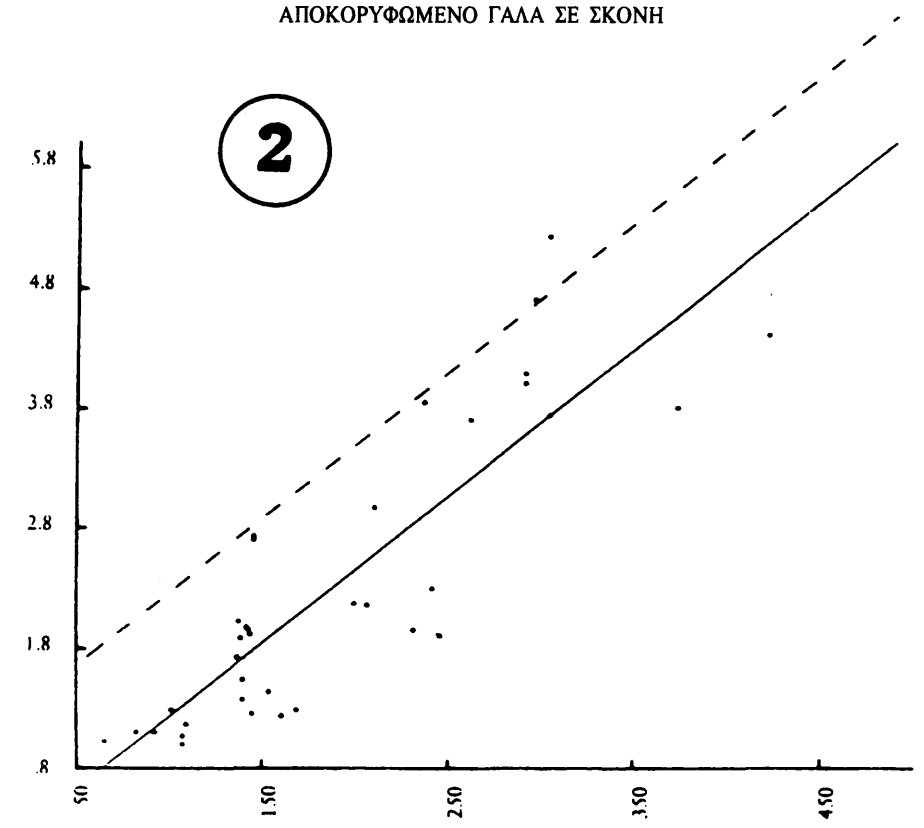
όπου

0,91 αντιπροσωπεύει την απόκλιση από τον κάθετο άξονα μεταξύ της ευθείας με συνεχή γραμμή και της ευθείας με διακεκομένη γραμμή.

ΑΠΟΚΟΡΥΦΩΜΕΝΟ ΓΑΛΑ ΣΕ ΣΚΟΝΗ



ΑΠΟΚΟΡΥΦΩΜΕΝΟ ΓΑΛΑ ΣΕ ΣΚΟΝΗ



ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ VI

ΑΠΟΚΟΡΥΦΩΜΕΝΟ ΓΑΛΑ ΣΕ ΣΚΟΝΗ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΣΕ ΦΩΣΦΑΤΙΔΥΛΣΕΡΙΝΗ ΚΑΙ ΦΩΣΦΑΤΙΔΥΛΑΙΘΑΝΟΛΑΜΙΝΗ

ΜΕΘΟΔΟΣ ΥΧΥΑ ΑΝΑΣΤΡΟΦΗΣ ΦΑΣΗΣ

1. **Θέμα και τομέας εφαρμογής**

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

2. **Ορισμός**

Περιεκτικότητα σε PS + PE: η κατανομή μάζας ουσίας προσδιορίζεται χρησιμοποιώντας τη μέθοδο που ορίζεται στο παρόν παράρτημα. Το αποτέλεσμα εκφράζεται σε mgr διπαλμιτελαϊκής φωσφατιδυλαιθανολαμίνης (PEDP) ανά 100 g σκόνης.

3. **Αρχή**

Απόσταξη αμινοφωσφολιπιδίων με μεθανόλη από ανασυσταθείσα σκόνη γάλακτος. Προσδιορισμός PS και PE ως παραγώγων της ο-φθαλδιαλδεΰδης (OPA) με ΥΧΥΑ ανάστροφης φάσης (RP) και ανίχνευση φθορισμού. Ποσοτικός προσδιορισμός της περιεκτικότητας PS και PE στο εξεταζόμενο δείγμα σε σχέση με πρότυπο δείγμα που περιέχει γνωστή ποσότητα PEDP.

4. **Αντιδραστήρια**

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αποδεδειγμένου αναλυτικού βαθμού. Το χρησιμοποιούμενο νερό είναι αποσταγμένο ή τουλάχιστον ισοδύναμης καθαρότητας.

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

Σημείωση:: Το πρότυπο υλικό πρέπει να αποθηκεύεται σε – 18 °C.

4.2. *Αντιδραστήρια για την προετοιμασία πρότυπου δείγματος και εξεταζόμενου δείγματος*

4.2.1. Μεθανόλη ΥΧΥΑ βαθμού

4.2.2. Χλωροφόρμιο ΥΧΥΑ βαθμού

4.2.3. Τρυπταμίνη — μονοϋδροχλωρίδιο

4.3. *Αντιδραστήρια για σχηματισμό παραγώγων ο-φθαλδιαλδεΰδης*

4.3.1. Υδροξείδιο του νατρίου, υδάτινο διάλυμα 12 M

4.3.2. Βορικό οξύ, υδάτινο διάλυμα 0,4 M προσαρμοσμένο σε pH 10,0 με υδροξείδιο του νατρίου (4.3.1)

4.3.3. 2-μερκαπτοαιθανόλη

4.3.4. Ο-φθαλδιαλδεΰδη (OPA)

4.4. *Διαλύτες έκπλυσης ΥΧΥΑ*
Οι διαλύτες έκπλυσης πρέπει να παρασκευάζονται χρησιμοποιώντας τα αντιδραστήρια βαθμού ΥΧΥΑ

4.4.1. Νερό ΥΧΥΑ βαθμού

4.4.2. Μεθανόλη φθορομετρικά ελεγχόμενης καθαρότητας

4.4.3. Τετραϋδροφουράνιο

4.4.4. Φωσφατικό διάλυμα διυδρογόνου του νατρίου

4.4.5. Οξικό άλας του νατρίου

4.4.6. Οξικό οξύ

5. **Όργανα**

5.1. *Αναλυτικός ζυγός*

5.2. *Μεζούρες, με χωρητικότητα 25 και 100 ml*

5.3. *Σιφώνια έγχυσης 1 και 10 ml*

5.4. *Μαγνητικός αναδευτήρας*

5.5. *Βαθμονομημένα σιφώνια έγχυσης 0,2, 0,5 και 5 ml*

5.6. *Ογκομετρικά χωνιά, με χωρητικότητα 10, 50 και 100 ml*

5.7. *Σύριγγες, χωρητικότητας 20 και 100 μl*

5.8. *Λουτρό υπερήχων*

5.9. *Φυγόκεντρος που λειτουργεί σε 27 000 x g*

5.10 *Γυάλινες φιάλες, χωρητικότητας περίπου 5 ml*

5.11. *Βαθμονομημένος κύλινδρος, χωρητικότητας 25 ml*

5.12. *pH-μετρο*

5.13. *Εξοπλισμός υγρής χρωματογραφίας υψηλής αποδόσεως*

5.13.1. Βαθμονομημένο σύστημα άντλησης, ικανό να λειτουργεί σε 1,0 ml ανά λεπτό σε 200 bar

5.13.2. Αυτόματος δειγματολήπτης με δυνατότητα σχηματισμού παραγώγων

5.13.3. Θερμαντής στήλης σε 30 °C

5.13.4. Ανιχνευτής φθορισμού σε 330 nm μήκος κύματος διέργεσης και 440 nm μήκος κύματος εκπομπής

5.13.5. Ολοκληρωτής ή ηλεκτρονικός υπολογιστής επεξεργασίας δεδομένων ικανός για μετρήσεις στην περιοχή σχηματισμού κορυφής

5.13.6. Λιχροσφαίρα — 100 στήλες (250 × 4,6 mm) ή ισοδύναμη στήλη γεμάτη με οκταδεκυλσιλάνη (C18), μέγεθος μορίου 5 μm

6. **Δειγματοληψία**

Η δειγματοληψία πρέπει να διενεργείται σύμφωνα με το πρότυπο IDF 50B 1985.

7. **Διαδικασία**

7.1. *Προετοιμασία του πρότυπου διαλύματος του εργαστηρίου*

Ζυγίζονται 30,0 ± 0,1 mg τρυπταμίνης-μονοϋδροχλωριδίου (4.2.3) σε ογκομετρικό χωνί 100 ml (5.6) και γεμίζεται έως τη χαραγή με μεθανόλη (4.2.1). Εγχύεται με πιπέτα 1 ml (5.3) του διαλύματος αυτού σε ογκομετρικό χωνί 10 ml (5.6) και γεμίζεται , ως τη χαραγή με μεθανόλη (4.2.1) έτσι ώστε να επιτευχθεί συγκέντρωση 0,15 mM τρυπταμίνης.

7.2. *Προετοιμασία του υπό δοκιμασία διαλύματος*

Ζυγίζονται 1,000 ± 0,001 g δείγματος ΑΓΣ σε μεζούρα 25 ml (5.2). Προστίθενται 10 ml αποσταγμένου νερού σε 40 °C με πιπέτα (5.3) και αναδεύονται με μαγνητικό αναδευτήρα (5.4) για 30 λεπτά με σκοπό τη διάλυση οιωνδήποτε συσσωρευμάτων. Εγχύεται με πιπέτα 0,2 ml (5.5) του ανασυσταθέντος γάλακτος σε ογκομετρικό χωνί 10 ml (5.6), προστίθενται 100 μl του διαλύματος 0,15 mM τριπταμίνης (7.1) χρησιμοποιώντας σύρριγγα (5.7) και συμπληρώνεται ο όγκος με μεθανόλη (4.2.1). Αναμειγνύονται προσεκτικά με αναστροφή και υποβάλλοντάς τα σε υπερήχους (5.8) για 15 λεπτά. Διενεργείται φυγοκέντρηση (5.9) σε 27 000 × g για 10 λεπτά και συγκεντρώνεται το υπερπλέον διάλυμα σε γυάλινη φιάλη (5.10).

Σημείωση:

Το διάλυμα του υπό δοκιμή δείγματος πρέπει να αποθηκεύεται σε 4 °C έως τη διενέργεια της ανάλυσης ΥΧΥΑ.

7.3. *Προετοιμασία του εξωτερικού πρότυπου διαλύματος*

Ζυγίζονται 55,4 mg PEDP (4.1) σε ογκομετρικό χωνί 50 ml (5.6) και προστίθενται περίπου 25 ml χλωροφορμίου (4.2.2) χρησιμοποιώντας βαθμονομημένο κύλινδρο (5.11). Θερμαίνεται το πωματισμένο χωνί σε 50 °C και αναμειγνύεται προσεκτικά έως τη διάλυση των PEDP. Ψύχεται το χωνί σε 20 °C, συμπληρώνεται ο όγκος με μεθανόλη (4.2.1) και αναμειγνύεται με αναστροφή. Εγχύεται με πιπέτα 1 ml (5.3) του διαλύματος αυτού σε ογκομετρικό χωνί 100 ml (5.6) και συμπληρώνεται ο όγκος με μεθανόλη (4.2.1). Εγχύεται με πιπέτα 1 ml (5.3) του διαλύματος αυτού σε ογκομετρικό χωνί 10 ml (5.6), προστίθενται 100 μl (5.7) του διαλύματος τρυπταμίνης 0,15 mM (7.1) και συμπληρώνεται ο όγκος με μεθανόλη (4.2.1). Αναμειγνύεται με αναστροφή.

Σημείωση:

Το πρότυπο διάλυμα δείγματος πρέπει να αποθηκεύεται σε 4 °C μέχρι τη διενέργεια της ανάλυσης ΥΧΥΑ.

7.4. *Προετοιμασία του αντιδραστηρίου σχηματισμού παραγώγων*

Ζυγίζονται 25,0 ± 0,1 mg OPA (4.3.4) σε ογκομετρικό χωνί 10 ml (5.6), προστίθενται 0,5 ml (5.5) μεθανόλης (4.2.1) και αναμειγνύονται προσεκτικά για τη διάλυση της OPA. Συμπληρώνεται ως τη χαραγή με διάλυμα βορικού οξέος (4.3.2) και προστίθενται 20 μl 2-μερκαπτοαιθανόλης (4.3.3) με σύριγγα (5.7).

Σημείωση:

Το αντιδραστήριο σχηματισμού παραγώγων πρέπει να αποθηκεύεται σε 4 °C σε σκοτεινή φιάλη και είναι σταθερό για μία εβδομάδα.

7.5. *Προσδιορισμός YXYA*

7.5.1. Διαλύτες έκπλυσης (4.4)

Διαλύτης A:

0,3 mM ορθοφωσφορικό μονονάτριο και 3 mM οξικό άλας (προσαρμοσμένα σε pH 6,5 με οξικό οξύ) : μεθανόλη : τετραϋδροφουράνιο = 558: 440: 2.

Διαλύτης B:

μεθανόλη

7.5.2. Προτεινόμενη βαθμονόμηση της έκπλυσης:

Χρόνος (λεπτά)	Διαλύτης A (%)	Διαλύτης B (%)	Δείκτης ροής (ml/λεπτό)
Αρχικό	40	60	0
0,1	40	60	0,1
5,0	40	60	0,1
6,0	40	60	1,0
6,5	40	60	1,0
9,0	36	64	1,0
10,0	20	80	1,0
11,5	16	84	1,0
12,0	16	84	1,0
16,0	10	90	1,0
19,0	0	100	1,0
20,0	0	100	1,0
21,0	40	60	1,0
29,0	40	60	1,0
30,0	40	60	0

Σημείωση:

Η βαθμονόμηση της έκπλυσης είναι δυνατόν να απαιτεί ελαφρά τροποποίηση με σκοπό να επιτευχθεί το αποτέλεσμα που δεικνύεται στο σχήμα 1.

Θερμοκρασία στήλης: 30 °C

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

7.5.4. Εξισορρόπηση στήλης

Αρχίζοντας το σύστημα σε ημερήσια βάση, εκπλύεται η στήλη με 100 % διαλύτη B για 15 λεπτά, στη συνέχεια τίθεται σε A: B = 40: 60 και ισορροπεί σε 1 ml ανά λεπτό για 15 λεπτά.

Πραγματοποιείται μία σειρά τυφλού διαλύματος με έγχυση μεθανόλης (4.2.1).

Σημείωση:

Πριν από μακράς διάρκειας αποθήκευση υποβάλετε σε έκπλυση τη στήλη με μεθανόλη : χλωροφόρμιο = 80: 20 (o/o) για 30 λεπτά.

7.5.5. Προσδιορισμός της περιεκτικότητας PS και PE στο υπό δοκιμασία δείγμα

Πραγματοποιήσατε τη σειρά των χρωματογραφικών αναλύσεων κρατώντας σταθερό από σειρά σε σειρά το χρόνο με σκοπό να λάβετε σταθερούς χρόνους κατακράτησης. Εγχύσατε το εξωτερικό πρότυπο διάλυμα (7.3) κάθε 5 έως 10 διαλύματα του υπό δοκιμασία δείγματος με σκοπό να εκτιμήσετε τον παράγοντα αντίδρασης.

Σημείωση: Η στήλη πρέπει να καθαρίζεται με έκπλυση με 100 % διαλύτη B (7.5.1) για τουλάχιστον 30 λεπτά κάθε 20 έως 25 σειρές.

7.6. *Μέθοδος ολοκλήρωσης*

7.6.1. Κορυφή PEDP

Το PEDP εγχύεται σε μία απλή κορυφή. Προσδιορίστε την περιοχή της κορυφής από καμπύλη σε καμπύλη ολοκλήρωση.

7.6.2. Κορυφή τρυπταμίνης

Η τρυπταμίνη εγχύεται ως μονή κορυφή (σχήμα 1). Προσδιορίστε την περιοχή της κορυφής με από καμπύλη σε καμπύλη ολοκλήρωση.

7.6.3. Ομάδες κορυφών PS και PE

Υπό τις περιγραφόμενες συνθήκες (σχήμα 1), η PS εγχύεται ως δύο βασικές μερικώς άλυτες κορυφές των οποίων προηγείται μία ελάσσων κορυφή. Η PE εγχύεται ως τρεις βασικές μερικώς άλυτες κορυφές. Προσδιορίστε τη συνολική περιοχή κάθε συγκέντρωσης κορυφών θέτοντας τη γραμμή βάσης όπως αναφέρεται στο σχήμα 1.

8. **Υπολογισμός και έκφραση των αποτελεσμάτων**

Η περιεκτικότητα PS και PE στο υπό διαδικασία δείγμα πρέπει να υπολογίζεται ως εξής:

$$C = 55{,}36 \times \frac{A_2}{A_1} \times \frac{T_1}{T_2}$$

όπου:

C = περιεκτικότητα PS ή PE (mg/100 g σκόνης) στο υπό δοκιμασία δείγμα

A_1 = περιοχή κορυφής PEDP του πρότυπου διαλύματος δείγματος (7.3)

A_2 = περιοχή κορυφής PS ή PE του διαλύματος του υπό δοκιμασία δείγματος (7.2)

T_1 = περιοχή κορυφής τρυπταμίνης του πρότυπου διαλύματος δείγματος (7.3)

T_2 = περιοχή κορυφής τρυπταμίνης του διαλύματος του υπό δοκιμασία δείγματος (7.2).

9. **Ακρίβεια**

Σημείωση:

Οι τιμές για την επαναληψιμότητα υπολογίστηκαν σύμφωνα με το IDF Διεθνές Πρότυπο (1). Το προσωρινό όριο αναπαραγωγικότητας υπολογίστηκε σύμφωνα με τις «κατευθυντήριες γραμμές για την ερμηνεία αναλυτικών αποτελεσμάτων και την εφαρμογή αξιολόγησης ευαισθησίας σε σχέση με το γάλα και τα γαλακτοκομικά προϊόντα που διέπονται από την κοινή οργάνωση αγοράς» (έγγραφο της Επιτροπής VI/2721/95).

9.1. *Επαναληψιμότητα*

Η σχετική πρότυπη απόκλιση της επαναληψιμότητας, η οποία εκφράζει την ποικιλότητα των διαφόρων αναλυτικών αποτελεσμάτων που προέκυψαν από τον ίδιο χειριστή που χρησιμοποιεί τα ίδια όργανα υπό τις ίδιες συνθήκες επί του ιδίου υπό δοκιμασία δείγματος και εντός σύντομου παρεμβαλλόμενου διαστήματος χρόνου, δεν πρέπει να υπερβαίνει το 2 %. Σε περίπτωση που δύο προσδιορισμοί προκύπτουν υπό αυτούς τους όρους, η σχετική διαφορά μεταξύ δύο αποτελεσμάτων δεν θα πρέπει να είναι μεγαλύτερη από 6 % του αριθμητικού μέσου των αποτελεσμάτων.

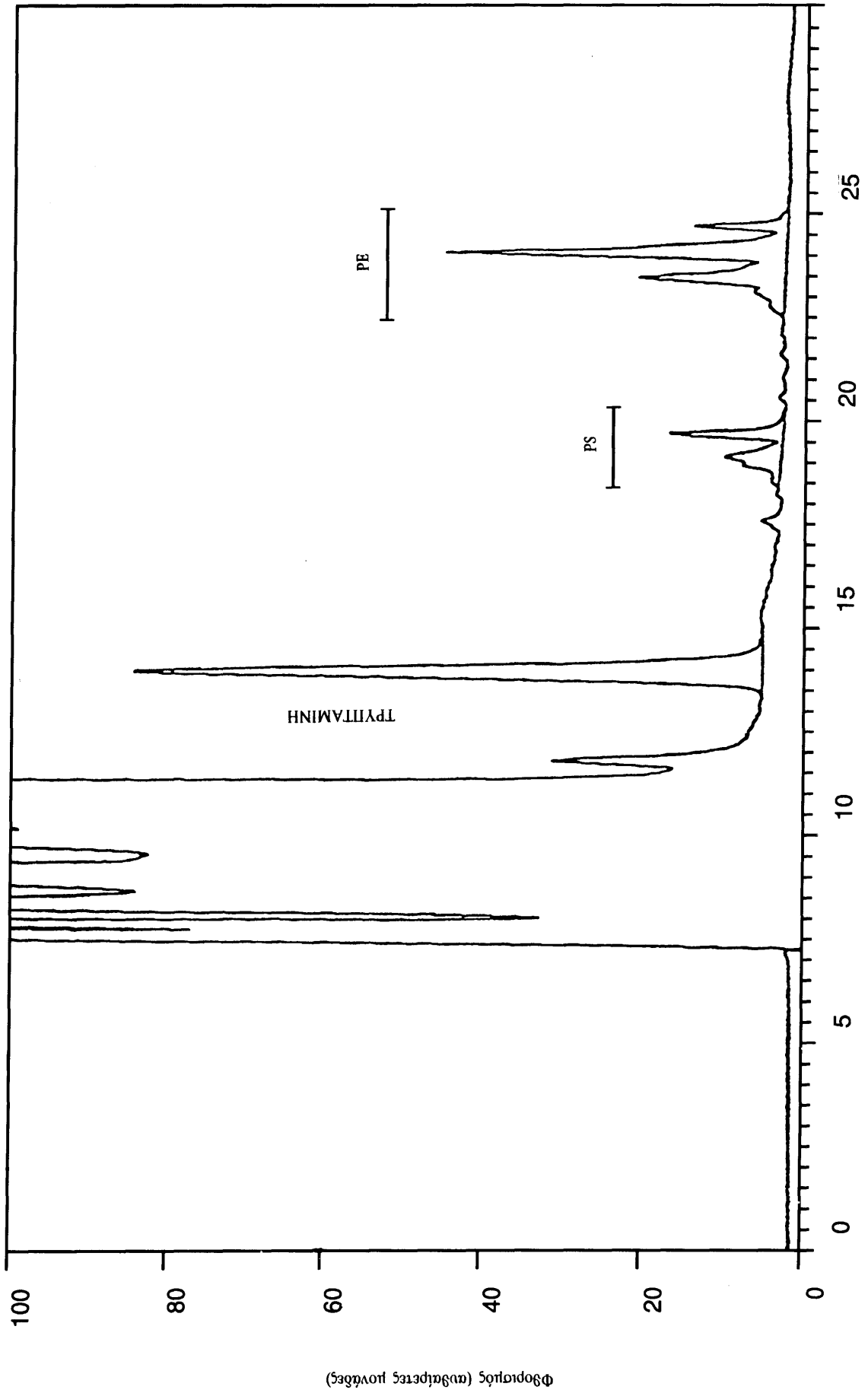
9.2. *Αναπαραγωγικότητα*

Σε περίπτωση που δύο προσδιορισμοί προκύπτουν από δύο χειριστές σε διαφορετικά εργαστήρια χρησιμοποιώντας διαφορετικά όργανα υπό διαφορετικές συνθήκες για την ανάλυση του ιδίου υπό δοκιμασία δείγματος, η σχετική διαφορά μεταξύ των δύο αποτελεσμάτων δεν πρέπει να υπερβαίνει το 11 % του αριθμητικού μέσου των αποτελεσμάτων.

10. **Βιβλιογραφία**

10.1. *Resmini P., Pellegrino L., Hogenboom J.A., Sadini V., Rampilli M. Detection of buttermilk solids in skimmilk powder by HPLG quantification of aminophospholipids. Sci. Tecn. Latt.-Cas. 39, 395 (1988).*

(1) IDF Διεθνές Πρότυπο 135B/1991. Γάλα και γαλακτοκομικά προϊόντα. Χαρακτηριστικά ακρίβειας των αναλυτικών μεθόδων. Περιγραφή συλλογικής διαδικασίας μελέτης.



Σχήμα 1: Σχεδιάγραμμα ΥΧΥΑ των παραγώγων OPA φωσφατιδυλσερίνης (PS) και φωσφατιδυλαιθανολαμίνης (PE) σε εκχύλισμα μεθανόλης ανασυσταθείσας σκόνης αποκορυφωμένου γάλακτος. Αναφέρεται ο τρόπος ολοκλήρωσης για τις κορυφές PS, PE και τρυπταμίνης (εργαστηριακό πρότυπο).

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ VII

ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΚΑΤΑΛΟΙΠΩΝ ΣΟΥΛΦΟΝΑΜΙΔΗΣ/DAPSON ΣΕ ΑΠΟΚΟΡΥΦΩΜΕΝΟ ΓΑΛΑ ΣΕ ΣΚΟΝΗ

Χρησιμοποιείται μία μικροβιακή ανασταλτική δοκιμή διαχωρισμού χρησιμοποιώντας Bacillus stearothermophilus var. calidolactis C953 ως μικρο-οργανισμό δοκιμής και η οποία είναι αρκετά ευαίσθητη για την ανίχνευση 4 μg βενζυλπενικιλλίνης ανά λίτρο γάλακτος και 100 μg σουλφαδιμιδίνης ανά λίτρο γάλακτος. Υπάρχουν εμπορικά kit δοκιμών και μπορούν να χρησιμοποιηθούν εφόσον έχουν την απαραίτητη ευαισθησία για βενζυλπενικιλλίνη και σουλφαδιμιδίνη (1).

Για τη δοκιμή, χρησιμοποιείται ανασυσταθέν αποκορυφωμένο γάλα σε σκόνη (1 g σκόνη + 9 ml απεσταγμένο ύδωρ). Η δοκιμή διενεργείται όπως περιγράφεται στο IDF (Δελτίο αριθ. 258/1991, τομέας 1, Κεφάλαιο 2), ή σύμφωνα με τις οδηγίες του παρασκευαστή του δοκιμαστικού kit.

Τα θετικά αποτελέσματα ερμηνεύονται ως εξής:

1. Επαναλάβατε τη δοκιμή προσθέτοντας πενικιλλινάση στο σύστημα δοκιμής:

   Θετικό αποτέλεσμα: ανασταλτική ουσία δεν μπορεί να ταυτοποιηθεί με αυτή τη διαδικασία.

   Αρνητικό αποτέλεσμα: ανασταλτική ουσία είναι αντιβιοτικό β-λακτάμη.

2. Επαναλάβατε τη δοκιμή προσθέτοντας π-αμινοβενζοϊκό οξύ στο σύστημα δοκιμής:

   Θετικό αποτέλεσμα: ανασταλτική ουσία δεν μπορεί να ταυτοποιηθεί με τη διαδικασία αυτή.

   Αρνητικό αποτέλεσμα: ανασταλτική ουσία είναι σουλφοναμίδη/dapson.

3. Επαναλάβατε τη δοκιμή προσθέτοντας πενικιλλινάση + π-αμινοβενζοϊκό οξύ στο σύστημα δοκιμής:

   Θετικό αποτέλεσμα: ανασταλτική ουσία δεν μπορεί να ταυτοποιηθεί με τη διαδικασία αυτή.

   Αρνητικό αποτέλεσμα: ανασταλτικές ουσίες είναι αντιβιοτικό β-λακτάμη και σουλφοναμίδη/dapson.

---

(1) *Σημαντική σημείωση:* είναι δυνατόν να προκύψουν λανθασμένα θετικά αποτελέσματα, όταν αναλύεται αποκορυφωμένο γάλα σε σκόνη. Ως εκ τούτου, είναι σημαντικό να εξακριβώνεται ότι το σύστημα δοκιμής που χρησιμοποιείται δεν παράγει λανθασμένα θετικά αποτελέσματα.