

ДИРЕКТИВА 2003/126/ЕО НА КОМИСИЯТА

от 23 декември 2003 година

**относно аналитичния метод за определяне на съставките от животински
произход за официалния контрол върху храните за животни**

(Текст от значение за ЕИП)

КОМИСИЯТА НА ЕВРОПЕЙСКИТЕ ОБЩНОСТИ,

като взе предвид Договора за създаване на Европейската общност,

като взе предвид Директива 70/373/ ЕИО на Съвета от 20 юли 1970 г. относно въвеждането на методи на Общността за проби и анализи, за официален контрол върху храните за животни¹, и по-специално член 2 от нея,

като има предвид, че:

(1) съгласно Директива 70/373/ЕИО, официалният контрол върху храните за животни, който има за задача да установи спазването на установените със закони, подзакони и административни разпоредби условия за качеството и състава на храните за животни следва да се извършва чрез методи за взимане на проби и анализ, които са в сила в Общността;

(2) разпоредбите относно етиктирането на храните за животни и изискванията за забрана за използване на някои видове животински протеини в храните, предназначени за някои категории животни, предвиждат необходимостта от обезпечаване на надеждни методи на анализ, с които да се открива наличието на такива вещества и при необходимост да се определя тяхното процентно съдържание;

(3) методът, описан в Директива 98/88/ЕО на Комисията от 13 ноември 1998 г. за насоките за микроскопско определяне и оценка на съставки от животински произход за официалния контрол на храните за животни² е понастоящем единственият валиден метод за контрол на наличието на животински протеини, включително тези, обработвани при температура 133 °С, налягане 3 бара и за време от 20 минути, в храните за животни;

(4) едно сравнително проучване, с цел определяне на преработени животински протеини доказа неотдавна, че различните начини на прилагане на микроскопски анализи, определени в Директива 98/88/ЕО, дават като резултат значителни различия по отношение на чувствителността, специфичността и точността на метода. С цел хармонизиране и подобряване на методите за откриване на преработени животински протеини, е необходимо да се разгледат по-подробно и да се направят задължителни разпоредбите относно методите на микроскопския анализ. Необходимо е да се гарантира, че аналитиците, прилагащи този метод, са с необходимата за това подготовка,

¹ ОВ L 170, 3.8.1970 г., стр. 2. Директива , последно изменена с Регламент (ЕО) №807/2003 (ОВ L 122, 16.5.2003 г., стр. 36).

² ОВ L 318, 27.11.1998 г., стр. 45.

тъй като качеството на резултатите зависи от компетентността на анализиращия;

(5) Директива 98/88/ЕО следва да се замени;

(6) мерките, предвидени с настоящата директива са в съответствие със становището на Постоянния комитет по хранителната верига и здравето на животните,

ПРИЕ НАСТОЯЩАТА ДИРЕКТИВА:

Член 1

Когато се извършва официален анализ в рамките на програмата за координиран контрол в областта на храненето на животните, съгласно Директива 95/53/ЕО на Съвета³, с оглед на официален контрол за наличие на съставки от животински произход в храните за животни, определяне на тези съставки и оценка на количеството им, държавите-членки следят този анализ да се извършва съобразно разпоредбите, фигуриращи в приложението към настоящата директива.

Член 2

Държавите-членки трябва да гарантират, че лабораториите, които извършват официалните контролни проверки за наличие на съставки от животински произход в храните за животни, участват периодично в квалификационни проверки за методите на анализ и да се убедят, че персоналът на лабораторията, който извършва анализите е с необходимата за това квалификация.

Член 3

Директива 98/88/ЕО се отменя.

Позоваванията на отменената директива се считат за позовавания на настоящата директива.

Член 4

1. Държавите-членки въвеждат в сила необходимите законови, подзаконови и административни разпоредби, за да се съобразят с настоящата директива преди 1 юли 2004 г. Те незабавно уведомяват Комисията за текста на тези разпоредби, както и за таблицата на съответствията между тези разпоредби и настоящата директива.

³ ОВ L 265, 8.11.1995 г., стр. 17. Директива, последно изменена с Директива 2001/46/ЕО на Европейския парламент и на Съвета (ОВ L 234, 1.9.2001 г., стр. 55.)

Когато държавите-членки приемат тези разпоредби, в тях се съдържа позоваване на настоящата директива или то се извършва при официалното им публикуване. Условието и редът на позоваване се определят от държавите-членки.

2. Държавите-членки уведомяват Комисията за текста на разпоредбите от националното си законодателство, в областта регулирана от настоящата директива.

Член 5

Настоящата директива влиза в сила на двадесетия ден от датата на публикуването ѝ в *Официален вестник на Европейския съюз*.

Член 6

Адресати на настоящата директива са държавите-членки.

Съставено в Брюксел на 23 декември 2003 година.

За Комисията:
David BYRNE
Член на Комисията

ПРИЛОЖЕНИЕ

УСЛОВИЯ, КОИТО СЕ ПРИЛАГАТ ПРИ ОТКРИВАНЕТО, ОПРЕДЕЛЯНЕТО ИЛИ ОЦЕНКАТА НА СЪСТАВКИТЕ ОТ ЖИВОТИНСКИ ПРОИЗХОД В ХРАНИТЕ ЗА ЖИВОТНИ ЧРЕЗ МИКРОСКОПСКИ АНАЛИЗ

1. Цели и поле на приложение

Настоящите условия се прилагат при откриването, чрез микроскопски анализ, на съставки от животински произход (определени като преработени продукти от трупове или части от бозайници, птици и риби) в храните за животни, в рамките на програмата за координиран контрол в областта на храненето на животните съгласно Директива 95/53/ЕО на Съвета. Предвижда се, че методите, описани в настоящото приложение, се използват при всички официални изпитания, може да бъде извършено и второ изпитание по производни или друг вид методи, с цел усъвършенстване на откриването на някои типове съставки от животински произход или за определяне с по-голяма точност на произхода на съставките. Освен това, за анализа на някои специфични съставки от животински произход, като плазмата или костите в салото (вж. също точка 9) може да се използва и различен протокол, при условие, че тези анализи се провеждат в допълнение на анализите, предвидени в програмата за координирания контрол.

2. Чувствителност

В зависимост от естеството на съставките от животински произход, много малки количества могат да бъдат откривани в храните за животни (<0,1 %).

3. Принципи

За определянето се използва представителна проба, взета съгласно разпоредбите определени в Директива 76/371/ЕИО на Комисията от 1-ви март 1976 г. относно определянето на методите на Общността за взимане на проби и за официалния контрол върху храните за животни⁴, пробата е надлежно подготвена за целта. Съставя се следният протокол за третирането на храни за животни с ниска влажност. Храните за животни с влажност над 14 % се изсушават (кондензират) преди третирането им. Някои храни за животни или някои суровини, предназначени за храни на животни (например мас и масла) изискват специално третиране (вж. Точка 9). Съставките от животински произход се определят на базата на типични характеристики, които се установяват под микроскоп (а именно мускулни влакна и други части от месо, хрущяли, кости, рога, косми, четина, кръв, пера, черупки от яйца, рибешки кости, люспи). Идентификацията се отнася както за пресятата фракция (6.1) така и за концентрираната утайка (6.2) на образеца.

4. Реактиви

4.1 Фиксатори

4.1.1. Хлоралхидрат (водонаситен до 60 % об.тегло)

4.1.2. Основа (2.5 % об.тегло NaOH или 2.5 % об.тегло КОН) за пресетите фракции

⁴ ОВ L 102, 15.4.1976 г., стр. 1.

- 4.1.3. Парафиново масло или глицерол (вискозитет: 68-81) за микроскопски анализ на утайка
- 4.2. Промиващи средства
 - 4.2.1. Спирт, 96 %
 - 4.2.2. Ацетон
- 4.3. Концентриращи реактиви
 - 4.3.1. Тетрахлоретилен (плътност 1.62)
- 4.4. Оцветяващ реагент
 - 4.4.1. Йодиран разтвор/калиев йодит (да се разтворят 2 g калиев йодит в 100 ml вода и да се прибави 1 g йод, да се разклаща често).
 - 4.4.2. Ализариново червено (да се разтвори 2.5 ml солна киселина 1M в 100 ml вода и към този разтвор да се прибавят 200 g ализариново червено)
 - 4.4.3. Цистинов реактив (2 g оловен ацетат, 10 g NaOH на 100 ml H₂O).
 - 4.4.4. Йодиран разтвор калиев йодит (етанол 70 % p-p)
- 4.5. Избелващ реагент
 - 4.5.1. Готов разтвор на натриев хидрохлорид (9.6 % активен хлор)

5. Апаратура и помощни средства

- 5.1. Лабораторна везна (точност от 0,01 g, с изключение на концентрираната утайка: 0,001 g .
- 5.2. Инструмент за стриване (мелничка или хаванче, по-конкретно за животински продукти с мастно съдържание над 15 % към момента на анализа)
- 5.3. Сито с квадратни отвори с размер на отвора максимум 0,50 mm.
- 5.4. Декантационна колба или бехерова чаша с конично дъно
- 5.5. Стереомикроскоп (увеличение най-малко 40 пъти)
- 5.6. Съставен микроскоп (увеличение най-малко 400 пъти) с излъчена или поляризирана светлина.
- 5.7. Стандартна лабораторна стъклария

Цялото оборудване се почиства старателно. Декантационните колби и стъклария трябва да се измият машинно. Ситата се почистват с помощта на четка с твърд косъм.

6. Процедура

Г анулираните храни могат да бъдат предварително пресети, ако двете фракции се анализират като отделни образци.

Третира се най-малко 50 g от пробата (стрити старателно, ако е необходимо, с помощта на подходящ инструмент за смилане (5.2), с цел да се получи подходяща структура). От смления материал се вземат две представителни дози, едната за пресятата фракция (най-малко 5 g) (6.1), другата за концентрираната утайка (най-малко 5 g) (6.2). Оцветяването с реагенти (6.3) може да бъде използвано и за идентификационни цели.

С цел да бъде показан видът на животинските протеини и произхода на частиците, може да се използва помощно решаващо устройство, като например ARIES, както и еталонни проби.

6.1. Определяне на съставки от животински произход в пресетите фракции.

Най-малко 5 g от пробата трябва да се пресеят (5.3) в две фракции.

Пресятата(тите) фракция(ии), съдържаща(и) едрите частици (или представителна част от фракцията), се разстила върху съответния носител, така че да образува фин слой и методично се изследва под стереомикроскоп (5.5) при различни увеличения, за откриване на съставките от животински произход.

Предметните стъкла с препаратите на пресятата(тите) фракция(ии), които съдържат фини частици, се изследват методично под съставен микроскоп (5.6) при различни увеличения, за откриване на съставките от животински произход.

6.2. Определяне на съставки от животински произход в концентрираната утайка

Най-малко 5 g (точност от 0,01 g) от пробата се пресипват в декантационна колба или бехерова чаша с конично дъно и се обработват с най-малко 50 ml тетрафлоретилен (4.3.1). Сместа се разклаща или разбърква неколkokратно.

- ако се използва затворена декантационна колба, сместа трябва да се остави да престои достатъчно дълго време, преди да се утаи (минимум три минути) и да се отдели утайката. Неколkokратно се разклаща и се оставя отново да се утаи за минимум три минути, преди да се отдели отново утайката.

- Ако се използва отворена бехерова чаша, сместа трябва да се остави да се утаи минимум 5 минути преди да се отдели утайката.

Цялата утайка се изсушава и след това се претегля (точност от 0,001 g). Не се налага теглене, освен ако не се изисква количествена оценка. Ако утайката се състои от много едри частици може да се пресее (5.3) в две фракции. Изсушената утайка се изследва със стереомикроскоп (5.5) и със съставен микроскоп (5.6) за установяване на съставки от кости.

6.3. Използване на фиксатори и оцветяващ реагент

Идентифицирането чрез микроскоп на съставките от животински произход може да се улесни чрез използването на специални фиксатори и оцветители.

Хлорал хидрат (4.1.1.):	Чрез внимателно затопляне, клетъчните структури могат да бъдат виждани по-ясно, тъй като зърната нишесте желатинизират и нежеланото клетъчно съдържание се отстранява.
-------------------------	--

Лука (4.1.2.):	Както натриевият хлорид, така и калиевият хлорид изчистват изследвания материал, като подпомагат откриването на мускулни влакна, косми и други кератинови структури.
----------------	--

Парафиново масло и глицерол (4.1.3):	Костните съставки могат да бъдат добре идентифицирани в този запечатващ агент, тъй като повечето кухини остават запълнени с въздух
--------------------------------------	--

и се появяват като черни дупки с размери около 5-15 μm .

Йодин / разтвор от калиев йодид (4.4.1): Използван за откриване на нишесте (синьо-виолетов цвят) и протеини (жълто-оранжев цвят). Разтворите могат да бъдат разредени, ако е необходимо.

Червен разтвор на ализарин (4.4.2): Червено / розово оцветяване на кости, кости от риба и люспи. Преди изсушаване на утайката (виж раздел 6.2), цялата утайка се прехвърля в стъклена епруветка и се изплаква два пъти с приблизително 5 ml алкохол (4.2.1) (всеки път следва да се използва вортекс миксер, разтворителят се оставя да действа около една минута и се излива). Преди да се използва този оцветител, утайката се избелва, като се добавя най-малко 1 ml натриев хипохлоритен разтвор (4.5.1). Реакцията се оставя да продължи 10 минути. Епруветката се напълва с вода, утайката се оставя от две до три минути, и водата и частиците, които са в състояние на суспензия, се изливат. Утайката се изплаква още два пъти с около 10 ml вода (следва да се използва вортекс миксер, оставя се да се утаи и водата се излива всеки път). Добавят се от две до 10 или повече капки (в зависимост от количеството на утайката) червен разтвор на ализарин. Сместа се разклаща и реакцията се осъществява за няколко секунди. Оцветената утайка се изплаква два пъти с приблизително 5 ml алкохол (4.2.1), последвани от едно изплакване с ацетон (4.2.2) (всеки път следва да се използва вортекс миксер, разтворът се оставя да се утаи за около една минута и течността се излива). След това утайката е готова за изсушаване.

Реагент за цистин (4.4.3) Чрез внимателно загряване, съставките, съдържащи цистин (козина, пера и т. н.), стават черно-кафяви.

6.4. Изследване на храните за животни, които биха могли да съдържат рибни брашна

Под съставен микроскоп се изследва минимум едно предметно стъкло с препарат от пресята фина фракция и от фина фракция на утайка (виж раздели 6.1. и 6.2.)

Ако на етикета е посочено наличие на рибни брашна в съставките или ако има съмнение или бъде открито наличие на рибни брашна при първоначалния преглед, се изследват най-малко две допълнителни предметни стъкла с

препарати от пресята фина фракция на оригиналната проба и на фракция от общата утайка.

7. Изчисляване и оценка

Държавите-членки гарантират спазването на процедурите, описани по-нататък, при всеки официален анализ, целящ количествена оценка (не само наличие) на съставки от животински произход.

Изчислението може да бъде направено, само ако съставките от животински произход включват парчета от кости.

Парчетата от кости от сухоземни топлокръвни видове животни (т.е. бозайниците и птиците) се различат от различните типове рибни кости върху микроскопско предметно стъкло по типичните лакуни (вдлъбнатини). Съотношението на отделните съставки от животински произход в пробата се изчислява, като се отчита:

- Разчетното съотношение (теглови проценти) на костите в съставките от животински произход.
- Пропорцията (теглови проценти) на костите в съставките от животински произход .

Оценката трябва да се базира на изследването на най-малко три предметни стъкла (ако е възможно) и на най-малко пет полета за стъкло. В комбинираните храни за животни концентрираната утайка съдържа не само парчета от кости на сухоземни животни и рибни кости, но и други частици с високо специфично тегло, например минерали, пясък, части от вдървесени растения и др.

7.1. Разчетната стойност на процентното съдържание на парчета от кости

Процентно съдържание на парчета кости от сухоземни видове = $(S \times c)/W$

Процентно съдържание на парчета от рибни кости и люспи = $(S \times d)/W$

(S = маса на утайката (mg), c – корекционен коефициент (%) за разглежданата доза кости от сухоземни животни в утайката, d = корекционен коефициент за разглежданата доза парчета от рибни кости и люспи в утайката, W = тегло а образца, от който произлиза утайката (mg))

7.2. Разчетната стойност на съставките от животински произход

Пропорционалното участие на кости в продуктите от животински произход може да варира значително (Процентното съдържание на кости е от порядъка на 50 до 60 % за костните брашна и от порядъка на 20 до 30 % за месните брашна; в случаите с рибени брашна, съдържанието на кости и люспи варира в зависимост от категорията и произхода на рибеното брашно, но е в рамките обикновено на 10 до 20 %.)

Ако се знае съдържанието на този тип брашно в пробата, възможно е да се направят следните оценки:

Разчетно съотношение на производните съставки от продукти на животинска основа от сухоземни животни (%) = $(S \times c)/(W \times f) \times 100$

Разчетно съотношение на производните съставки от продукти на рибена основа (%) = $(S \times c)/(W \times f) \times 100$

(S = маса на утайката (mg), c – корективен коефициент (%) за разглежданата доза кости от сухоземни животни в утайката, d = корективен коефициент за разглежданата доза парчета от рибни кости и люспи в утайката, f = корективен коефициент за съдържанието на кости в съставките от животински произход в разглеждания образец, W = тегло на образца, от който произлиза утайката (mg)).

8. Излагане на резултата от изследването

Отчетът съдържа най-малко информация относно наличието на съставки, производни от сухоземни животни и рибени брашна. Отделните случаи се представят по следния начин:

8.1. Що се отнася до наличието на съставки, производни от сухоземни животни:

- В разглежданата проба, не се откриват съставки, производни на сухоземни животни, доколкото могат да бъдат видени под микроскоп,

или:

- В разглежданата проба, се откриват съставки, производни на сухоземни животни, доколкото могат да бъдат видени под микроскоп.

8.2. Що се отнася до наличието на рибени брашна

- В разглежданата проба, не се откриват съставки, производни на риба, доколкото могат да бъдат видени под микроскоп,

или:

- В разглежданата проба, се откриват съставки, производни на риба, доколкото могат да бъдат видени под микроскоп

Ако бъдат открити съставки, производни от риба или сухоземни животни, при необходимост, отчетът от изследванията може да дава количествена оценка на откритите съставки (x %, <0,1 %, между 0,1 и 0,5 %, между 0,5 и 5 % или >5 %) и да уточнява типа сухоземни животни (ако е необходимо) и идентифицираните съставки от животински произход (мускулни влакна, хрущяли, кости, рога, косми, четина, кръв, пера, яйчни черупки, кости от риба, люспи).

Ако се прави количествена оценка на съставките от животински произход, то използваният корективен коефициент f също се упоменава.

Когато се установи наличието на кости от сухоземни животни, в отчета се добавя и следната клауза:

„Не се изключва възможността гореизброените съставки да произхождат от бозайници”.

Тази допълнителна клауза не се изисква, ако парчетата кости на сухоземни животни са идентифицирани като парчета кости на птици или бозайници.

9. Незадължителен протокол от анализа на мас или масла

При анализа на мас и масла може да се използва следния протокол:

- за твърдата мас: тя трябва да се загрее до втечняването ѝ, например в микровълнова печка
- да се вземе с пипета 40 ml масти от дъното на пробата и да се накапят в центрофуга
- да се центрофугира за 10 минути при 4000 оборота/минута
- ако маса се втвърди при центрофугирането, да се загрее в печката докато пак се върне в течно състояние. Да се центрофугира отново за 5 минути при 4000 оборота/минута
- с малка лъжичка или с шпатула, половината от получените примеси се прехвърлят в малка чашка на Петри или върху микроскопско предметно стъкло, с цел да се открие под микроскоп евентуалното наличие на съставки от животински произход (мускулни влакна, пера, парчета от кости и др.). Препоръчително е използването на парафиново олио или глицерол като запечатващ агент (фиксатор) за микроскопския анализ
- остатъчните примеси се използват за подготвянето на утайката, по начина, описан в точка 6.2.