



SEJM
RZECZYPOSPOLITEJ POLSKIEJ
V kadencja
Prezes Rady Ministrów
RM 10-30-06

Druk nr 496
Warszawa, 13 kwietnia 2006 r.

Pan
Marek Jurek
Marszałek Sejmu
Rzeczypospolitej Polskiej

Szanowny Panie Marszałku

Na podstawie art. 118 ust. 1 Konstytucji Rzeczypospolitej Polskiej z dnia 2 kwietnia 1997 r. przedstawiam Sejmowi Rzeczypospolitej Polskiej projekt ustawy

- o paszach wraz z projektami aktów wykonawczych.

Projekt ma na celu wykonanie prawa Unii Europejskiej.

W załączeniu przedstawiam także opinię dotyczącą zgodności proponowanych regulacji z prawem Unii Europejskiej.

Jednocześnie uprzejmie informuję, że do prezentowania stanowiska Rządu w tej sprawie w toku prac parlamentarnych został upoważniony Minister Rolnictwa i Rozwoju Wsi.

Z poważaniem

(-) Kazimierz Marcinkiewicz

U S T A W A

z dnia

o paszach ¹⁾

Art. 1. Ustawa określa:

- 1) właściwość organów w zakresie higieny i urzędowej kontroli pasz oraz dodatków stosowanych w żywieniu zwierząt, określonych w przepisach:
 - a) rozporządzenia (WE) nr 183/2005 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 12 stycznia 2005 r. ustanawiającego wymagania dotyczące higieny pasz (Dz.Urz. UE L 35 z 8.02.2005, str. 1), zwanego dalej „rozporządzeniem nr 183/2005”,
 - b) rozporządzenia (WE) nr 1831/2003 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 22 września 2003 r. w sprawie dodatków stosowanych w żywieniu zwierząt (Dz.Urz. UE L 268 z 18.10.2003, str. 29; Dz.Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 40, str. 238), zwanego dalej „rozporządzeniem nr 1831/2003”,
 - c) rozporządzenia (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 regułami dotyczącymi zdrowia zwierząt i dobrostanu zwierząt (Dz.Urz. UE L 165 z 30.04.2004, str. 1; Dz.Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 45, str. 200), zwanego dalej „rozporządzeniem nr 882/2004”,
 - d) rozporządzenia (WE) nr 999/2001 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 22 maja 2001 r. ustanawiającego

zasady dotyczące zapobiegania, kontroli i zwalczania niektórych przenośnych gąbczastych encefalopatii (Dz.Urz. WE L 147 z 31.05.2001, str. 1, z późn. zm.; Dz.Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 32, str. 289, z późn. zm.), zwanego dalej „rozporządzeniem nr 999/2001”

– z uwzględnieniem zasad, obowiązków i wymagań, określonych w rozporządzeniu (WE) nr 178/2002 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 28 stycznia 2002 r. ustanawiającym ogólne zasady i wymagania prawa żywnościowego, powołującym Europejski Urząd do spraw Bezpieczeństwa Żywności oraz ustanawiającym procedury w zakresie bezpieczeństwa żywności (Dz.Urz. WE L 31 z 1.02.2002, str. 1, z późn. zm.; Dz.Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 15, t. 6, str. 463, z późn. zm.), zwanym dalej „rozporządzeniem nr 178/2002”;

2) właściwość organów w zakresie dotyczącym zezwoleń, oznakowania i nadzoru nad organizmami genetycznie zmodyfikowanymi przeznaczonymi do użytku paszowego oraz paszami genetycznie zmodyfikowanymi, określonym w przepisach:

a) rozporządzenia (WE) nr 1829/2003 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 22 września 2003 r. w sprawie genetycznie zmodyfikowanej żywności i paszy (Dz.Urz. UE L 268 z 18.10.2003, str. 1; Dz.Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 13, t. 32, str. 432), zwanego dalej „rozporządzeniem nr 1829/2003”,

b) rozporządzenia (WE) nr 1830/2003 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 22 września 2003 r. dotyczącego możliwości śledzenia i etykietowania organizmów zmodyfikowanych genetycznie oraz możliwości śledzenia żywności i produktów paszowych wyprodukowanych z organizmów zmodyfikowanych genetycznie i zmieniającego

dyrektywę 2001/18/WE (Dz.Urz. UE L 268 z 18.10.2003, str. 24; Dz.Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 13, t. 32, str. 455), zwanego dalej „rozporządzeniem nr 1830/2003”;

- 3) właściwość organów w sprawach transgranicznego przemieszczania organizmów genetycznie zmodyfikowanych, w zakresie dotyczącym organizmów genetycznie zmodyfikowanych przeznaczonych do użytku paszowego, określonego w przepisach rozporządzenia (WE) nr 1946/2003 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 15 lipca 2003 r. w sprawie transgranicznego przemieszczania organizmów genetycznie zmodyfikowanych (Dz.Urz. UE L 287 z 5.11.2003, str. 1; Dz.Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 15, t. 7, str. 650), zwanego dalej „rozporządzeniem nr 1946/2003”;
- 4) zasady wytwarzania i stosowania pasz leczniczych, obrotu nimi, a także wymagania dotyczące ich jakości i sposób sprawowania nadzoru nad tymi paszami oraz ich urzędowej kontroli;
- 5) wymagania dotyczące higieny pasz i wprowadzania ich do obrotu, sposób sprawowania nadzoru nad tymi paszami oraz ich urzędowej kontroli, w zakresie nieuregulowanym w przepisach wymienionych w pkt 1.

Art. 2. Ustawa nie narusza przepisów:

- 1) o weterynaryjnej kontroli granicznej;
- 2) o kontroli weterynaryjnej w handlu;
- 3) o organizmach genetycznie zmodyfikowanych;
- 4) Prawa farmaceutycznego.

Art. 3. Do postępowania w sprawach indywidualnych, rozstrzyganych w drodze decyzji administracyjnej, stosuje się przepisy Kodeksu postępowania administracyjnego, chyba że przepisy wymienione w art. 1 pkt 1 albo ustawa stanowią inaczej.

Art. 4. Użyte w ustawie określenia oznaczają:

- 1) prawo żywnościowe – prawo żywnościowe w rozumieniu art. 3 ust. 1 rozporządzenia nr 178/2002;
- 2) pasza – paszę w rozumieniu art. 3 ust. 4 rozporządzenia nr 178/2002;
- 3) pasza genetycznie zmodyfikowana – genetycznie zmodyfikowaną paszę w rozumieniu art. 2 ust. 7 rozporządzenia nr 1829/2003;
- 4) organizm genetycznie zmodyfikowany przeznaczony do użytku paszowego – genetycznie zmodyfikowany organizm do użytku paszowego w rozumieniu art. 2 ust. 9 rozporządzenia nr 1829/2003;
- 5) materiały paszowe – przeznaczone w formie nieprzetworzonej lub przetworzonej do żywienia zwierząt albo do sporządzania mieszanek paszowych zawierających dodatki paszowe lub niezawierających tych dodatków, albo jako nośniki premiksów:
 - a) produkty pochodzenia roślinnego lub zwierzęcego występujące w stanie naturalnym, świeże lub konserwowane albo przetworzone,
 - b) substancje organiczne inne niż wymienione w lit. a,
 - c) substancje nieorganiczne;
- 6) mieszanki paszowe – mieszaniny materiałów paszowych zawierające dodatki paszowe lub premiksy albo niezawierające tych dodatków lub premiksów, przeznaczone do stosowania w żywieniu zwierząt, w formie mieszanki paszowej pełnoporcjowej albo mieszanki paszowej uzupełniającej;
- 7) dodatki paszowe – dodatki paszowe w rozumieniu art. 2 ust. 2 lit. a rozporządzenia nr 1831/2003;
- 8) premiks – premiks w rozumieniu art. 2 ust. 2 lit. e rozporządzenia nr 1831/2003;

- 9) pasze lecznicze - mieszaninę jednego lub kilku dopuszczonych do obrotu, na podstawie przepisów Prawa farmaceutycznego, premiksów leczniczych z jedną lub kilkoma paszami, przeznaczoną, ze względu na swoje właściwości profilaktyczne lub lecznicze, do podawania zwierzętom w formie niezmięnionej;
- 10) mieszanka paszowa pełnoporcjowa – mieszanekę paszową przeznaczoną do bezpośredniego żywienia zwierząt, o składzie zapewniającym taką ilość składników pokarmowych, która jest niezbędna do zaspokojenia dziennych potrzeb żywieniowych zwierząt danego gatunku, w określonym wieku lub użytkowanych w określony sposób;
- 11) mieszanka paszowa uzupełniająca – mieszanekę paszową charakteryzującą się wysoką zawartością niektórych substancji, która ze względu na swój skład jest wystarczająca do zapewnienia dawki dziennej oznaczającej całkowitą ilość pasz obliczoną w odniesieniu do pasz o wilgotności 12%, niezbędną do zaspokojenia dziennych potrzeb żywieniowych zwierząt danego gatunku, w określonym wieku lub użytkowanych w określony sposób, wyłącznie w przypadku gdy jest stosowana z innymi paszami;
- 12) mieszanka paszowa dietetyczna – mieszanekę paszową zaspokajającą szczególne potrzeby żywieniowe, która ze względu na specjalny skład fizykochemiczny lub sposób przygotowania różni się od powszechnie stosowanych mieszanek paszowych i jest przeznaczona dla zwierząt, u których procesy trawienia, przyswajania i metabolizmu są lub mogą być tymczasowo zakłócone lub uległy nieodwracalnym zmianom;
- 13) podmiot działający na rynku pasz – podmiot w rozumieniu art. 3 lit. b rozporządzenia nr 183/2005;
- 14) laboratorium urzędowe – laboratorium określone w art. 12 rozporządzenia nr 882/2004;

- 15) zakład – zakład w rozumieniu art. 3 lit. d rozporządzenia nr 183/2005;
- 16) wprowadzanie do obrotu – wprowadzanie na rynek w rozumieniu art. 3 ust. 8 rozporządzenia nr 178/2002;
- 17) państwo trzecie – państwo niebędące członkiem Unii Europejskiej lub członkiem Porozumienia o Wolnym Handlu (EFTA) – będącym stroną umowy o Europejskim Obszarze Gospodarczym;
- 18) przesyłka - określoną ilość pasz lub pasz leczniczych, objętą tym samym dokumentem potwierdzającym przeprowadzenie kontroli przesyłki, przewożoną jednym środkiem transportu oraz pochodzącą z jednego państwa trzeciego lub jego części;
- 19) osoba odpowiedzialna za przesyłkę – osobę odpowiedzialną za przesyłkę w rozumieniu przepisów o weterynaryjnej kontroli granicznej;
- 20) zwierzęta – zwierzęta w rozumieniu art. 2 ust. 1 lit. e rozporządzenia (WE) nr 1774/2002 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 3 października 2002 r. ustanawiającego przepisy sanitarne dotyczące produktów ubocznych pochodzenia zwierzęcego nieprzeznaczonych do spożycia przez ludzi (Dz.Urz. WE L 273 z 10.10.2002, str. 1, z późn. zm.; Dz.Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 37, str. 92, z późn. zm.);
- 21) zwierzęta gospodarskie – zwierzęta w rozumieniu art. 2 ust. 1 lit. f rozporządzenia (WE) nr 1774/2002 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 3 października 2002 r. ustanawiającego przepisy sanitarne dotyczące produktów ubocznych pochodzenia zwierzęcego nieprzeznaczonych do spożycia przez ludzi;
- 22) zwierzęta domowe – zwierzęta w rozumieniu art. 2 ust. 1 lit. h rozporządzenia (WE) nr 1774/2002 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 3 paździer-

nika 2002 r. ustanawiającego przepisy sanitarne dotyczące produktów ubocznych pochodzenia zwierzęcego nieprzeznaczonych do spożycia przez ludzi.

Art. 5. 1. Organy Inspekcji Weterynaryjnej wykonują zadania i obowiązki związane z higieną i urzędową kontrolą pasz na zasadach, w zakresie i w sposób określony w przepisach wymienionych w art. 1 pkt 1 oraz w ustawie.

2. Minister właściwy do spraw rolnictwa, w przypadku gdy z przepisów Unii Europejskiej wydanych w trybie art. 31 ust. 2 rozporządzenia nr 183/2005 lub art. 62 ust. 3 rozporządzenia nr 882/2004 wynika obowiązek podjęcia lub wykonania przez właściwy organ określonych zadań lub czynności w zakresie higieny lub urzędowej kontroli pasz, określa, w drodze rozporządzenia:

- 1) rodzaje zadań lub czynności wskazanych w tych przepisach, wykonywanych przez organy Inspekcji Weterynaryjnej lub sposób ich wykonywania, lub
- 2) szczegółowe wymagania dotyczące higieny lub urzędowej kontroli pasz w zakresie przekazanym do uregulowania przez Rzeczpospolitą Polską lub państwa członkowskie Unii Europejskiej

– mając na względzie realizację celów określonych w prawie żywnościowym, w tym zapewnienie bezpieczeństwa pasz oraz skutecznej ich kontroli, a także zapobieganie zagrożeniom dla zdrowia publicznego, ograniczanie lub eliminowanie tych zagrożeń.

Art. 6. 1. Przy produkcji pasz, w zakresie określonym w art. 2 ust. 2 rozporządzenia nr 183/2005, powinny być spełnione wymagania zdrowotne, higieniczne, sanitarne, organizacyjne, lokalizacyjne, techniczne i technologiczne, które zostały określone w przepisach wydanych na podstawie ust. 2.

2. Minister właściwy do spraw rolnictwa może określić, w drodze rozporządzenia:

- 1) wymagania:
 - a) zdrowotne lub
 - b) higieniczne, lub

- c) sanitarne, lub
- d) organizacyjne, lub
- e) lokalizacyjne, lub
- f) techniczne, lub
- g) technologiczne, lub

2) wielkość dostaw produkcji pierwotnej pasz

– biorąc pod uwagę ochronę zdrowia publicznego i realizację celów określonych w prawie żywnościowym.

3. Do kontroli wymagań określonych w przepisach wydanych na podstawie ust. 2 stosuje się odpowiednio przepisy rozporządzenia nr 882/2004 i przepisy wydane w trybie tego rozporządzenia oraz ustawę.

Art. 7. 1. Powiatowy lekarz weterynarii, jeżeli ustawa nie stanowi inaczej, jest na terytorium Rzeczypospolitej Polskiej właściwym organem w rozumieniu rozporządzenia nr 882/2004, rozporządzenia nr 183/2005 oraz rozporządzenia nr 999/2001.

2. Powiatowy lekarz weterynarii, w zakresie zadań określonych w przepisach rozporządzenia nr 882/2004, rozporządzenia nr 183/2005, rozporządzenia nr 999/2001 oraz w przepisach wydanych w trybie tych rozporządzeń, wydaje decyzje administracyjne lub wykonuje inne czynności związane:

- 1) z rejestracją, zawieszaniem, cofaniem rejestracji i dokonywaniem zmian w rejestracji zakładów oraz zatwierdzaniem, zawieszaniem, cofaniem zatwierdzenia, warunkowym zatwierdzaniem i dokonywaniem zmian w zatwierdzaniu zakładów, w tym:
 - a) prowadzeniem rejestru zakładów, o którym mowa w art. 9 ust. 3,
 - b) przyjmowaniem oświadczeń, o których mowa w art. 17 ust. 2 i art. 18 ust. 3
- rozporządzenia nr 183/2005;
- 2) ze sprawowaniem urzędowej kontroli pasz i wykonywaniem innych zadań określonych w rozporządzeniu

nr 882/2004, w tym stosowaniem środków, o których mowa w art. 54 tego rozporządzenia.

3. Decyzje administracyjne w zakresie określonym w ust. 2 wydaje się z urzędu, chyba że przepisy rozporządzenia nr 882/2004 lub rozporządzenia nr 183/2005, lub rozporządzenia nr 999/2001, lub przepisy wydane w trybie tych rozporządzeń, lub ustawa, stanowią inaczej.

4. Minister właściwy do spraw rolnictwa określi, w drodze rozporządzenia, sprawy rozstrzygane w drodze decyzji administracyjnych przez powiatowego lekarza weterynarii, wskazując, jakie decyzje są wydawane z urzędu, a jakie na wniosek, w tym treść tych wniosków, mając na względzie realizację celów określonych w prawie żywnościowym oraz zapewnienie jednolitego sposobu przeprowadzania urzędowych kontroli pasz.

Art. 8. 1. Minister właściwy do spraw rolnictwa, jeżeli ustawa nie stanowi inaczej, w sprawach dotyczących organizmów genetycznie zmodyfikowanych przeznaczonych do użytku paszowego i pasz genetycznie zmodyfikowanych, ma kompetencje oraz wykonuje zadania i obowiązki właściwego organu krajowego państwa członkowskiego Unii Europejskiej, właściwego organu krajowego, właściwego organu w państwie członkowskim Unii Europejskiej, określonych w rozporządzeniu nr 1829/2003 i rozporządzeniu nr 1830/2003.

2. Minister właściwy do spraw rolnictwa, w sprawach dotyczących organizmów genetycznie zmodyfikowanych przeznaczonych do użytku paszowego i pasz genetycznie zmodyfikowanych, ma kompetencje oraz wykonuje zadania i obowiązki określone dla państwa członkowskiego Unii Europejskiej w art. 30 ust. 4, art. 33 ust. 1 i art. 36 rozporządzenia nr 1829/2003.

3. Minister właściwy do spraw rolnictwa ma również kompetencje oraz wykonuje zadania i obowiązki określone dla państwa członkowskiego Unii Europejskiej w art. 18 ust. 6, art. 20 ust. 2, art. 21 ust. 4 i art. 22 ust. 1 rozporządzenia nr 1829/2003.

4. Minister właściwy do spraw rolnictwa jest organem właściwym do podawania do wiadomości publicznej informacji uzyskanych w ramach postępowania w sprawach zezwolenia na wprowadzanie do obrotu,

używanie lub przetwarzanie organizmu genetycznie zmodyfikowanego przeznaczonego do użytku paszowego i paszy genetycznie zmodyfikowanej, mających zgodnie z przepisami rozporządzenia nr 1829/2003 charakter poufny, w przypadkach określonych w art. 30 ust. 6 tego rozporządzenia, oraz do udostępniania dokumentacji otrzymanej na podstawie tego rozporządzenia.

5. Minister właściwy do spraw rolnictwa, w przypadku gdy z przepisów Unii Europejskiej wydanych w trybie art. 35 rozporządzenia nr 1829/2003 lub art. 10 rozporządzenia nr 1830/2003 wynika obowiązek podjęcia lub wykonania przez państwo członkowskie Unii Europejskiej, właściwy organ, właściwy organ krajowy państwa członkowskiego Unii Europejskiej, właściwy organ krajowy, w właściwy organ w państwie członkowskim Unii Europejskiej określonych zadań lub czynności w zakresie dotyczącym organizmów genetycznie zmodyfikowanych przeznaczonych do użytku paszowego lub pasz genetycznie zmodyfikowanych, wykonuje je, jeżeli należy to do zakresu działania ministra właściwego do spraw rolnictwa, określonego w ustawie z dnia 4 września 1997 r. o działach administracji rządowej (Dz. U. z 2003 r. Nr 159, poz. 1548, z późn. zm.²⁾).

Art. 9. Główny Lekarz Weterynarii, w sprawach transgranicznego przemieszczania organizmów genetycznie zmodyfikowanych przeznaczonych do użytku paszowego lub pasz genetycznie zmodyfikowanych, ma kompetencje oraz wykonuje zadania i obowiązki określone dla państwa członkowskiego Unii Europejskiej w art. 9 ust. 1, 3 i 4 oraz art. 15 ust. 1 rozporządzenia nr 1946/2003.

Art. 10. 1. Wniosek o:

- 1) wpis do rejestru zakładów składają podmioty, o których mowa w art. 9 ust. 2 rozporządzenia nr 183/2005,
 - 2) zatwierdzenie zakładu składają podmioty, o których mowa w art. 10 rozporządzenia nr 183/2005
- w terminie co najmniej 30 dni przed dniem rozpoczęcia planowanej działalności.

2. Wniosek o wpis do rejestru zakładów albo wniosek o zatwierdzenie zakładu zawiera:

- 1) imię, nazwisko, miejsce zamieszkania i adres albo nazwę i adres siedziby wnioskodawcy;
- 2) określenie:
 - a) rodzaju i zakresu działalności, która ma być wykonywana,
 - b) lokalizacji zakładu, w którym ma być wykonywana działalność.

3. Do wniosku dołącza się:

- 1) aktualny odpis z Krajowego Rejestru Sądowego albo
- 2) zaświadczenie o wpisie do ewidencji działalności gospodarczej, albo
- 3) kopię zezwolenia na pobyt rezydenta długoterminowego WE udzielonego przez inne państwo członkowskie Unii Europejskiej – w przypadku gdy wnioskodawca będący cudzoziemcem, w rozumieniu przepisów o cudzoziemcach, zamierza wykonywać działalność gospodarczą na podstawie przepisów obowiązujących w tym zakresie w Rzeczypospolitej Polskiej, albo
- 4) kopię zaświadczenia o numerze identyfikacyjnym nadanym na podstawie przepisów o krajowym systemie ewidencji producentów, ewidencji gospodarstw rolnych oraz ewidencji wniosków o przyznanie płatności;
- 5) zaświadczenie o nadaniu wnioskodawcy numeru identyfikacji podatkowej (NIP) lub numeru identyfikacyjnego w krajowym rejestrze urzędowym podmiotów gospodarki narodowej (REGON); jeżeli wnioskodawca nie posiada obywatelstwa polskiego, we wniosku podaje się numer identyfikacji podatkowej nadany w kraju pochodzenia wnioskodawcy.

4. Powiatowy lekarz weterynarii, wydając decyzję administracyjną o zatwierdzeniu zakładu, nadaje temu zakładowi numer identyfikacyjny, o którym mowa w art. 19 ust. 2 rozporządzenia nr 183/2005.

Art. 11. 1. Powiatowy lekarz weterynarii prowadzi, na obszarze swojej właściwości, rejestr, o którym mowa w art. 9 rozporządzenia nr 183/2005, i wykaz zakładów zatwierdzonych zgodnie z art. 13 rozporządzenia nr 183/2005 oraz wykaz podmiotów wykonujących działalność podlegającą rejestracji, o których mowa w art. 31 ust. 1 lit. b rozporządzenia nr 882/2004.

2. Powiatowy lekarz weterynarii przekazuje, za pośrednictwem wojewódzkiego lekarza weterynarii, Głównemu Lekarzowi Weterynarii informacje i dane zawarte w prowadzonych wykazach, w tym informacje o każdej zmianie stanu faktycznego lub prawnego ujawnionego w tych wykazach.

3. Główny Lekarz Weterynarii, na podstawie informacji i danych określonych w ust. 2, prowadzi krajowy wykaz zakładów, o którym mowa w art. 19 rozporządzenia nr 183/2005, który przekazuje do dnia 30 września każdego roku ministrowi właściwemu do spraw rolnictwa.

4. Minister właściwy do spraw rolnictwa ogłasza, w drodze obwieszczenia, w Dzienniku Urzędowym Rzeczypospolitej Polskiej „Monitor Polski” corocznie wykaz, o którym mowa w ust. 3.

5. Minister właściwy do spraw rolnictwa określi, w drodze rozporządzenia, sposób:

- 1) prowadzenia rejestru zakładów i wykazu zatwierdzonych zakładów oraz wykazu podmiotów wykonujących działalność podlegającą rejestracji, prowadzonych przez powiatowych lekarzy weterynarii, w tym zakres danych i informacji wpisywanych do tego rejestru lub tych wykazów, które zostały uzyskane przez powiatowego lekarza weterynarii przy wykonywaniu urzędowej kontroli tych zakładów, mając na względzie rodzaj działalności objętej rejestracją i sprawną aktualizację wpisywanych informacji;

- 2) ustalania krajowego numeru referencyjnego, o którym mowa w rozporządzeniu nr 183/2005 w załączniku V w rozdziale II w ust. 3, mając na względzie możliwość identyfikacji zakładu i miejsca prowadzenia produkcji.

Art. 12. 1. Minister właściwy do spraw rolnictwa, w sprawach dotyczących pasz, jest organem właściwym w zakresie:

- 1) przekazywania informacji, o których mowa w art. 35 ust. 2 rozporządzenia nr 882/2004, art. 10 rozporządzenia nr 178/2002 i art. 12 rozporządzenia nr 183/2005;
- 2) o którym mowa w art. 13 rozporządzenia nr 178/2002;
- 3) powiadamiania Komisji Europejskiej zgodnie z art. 5 ust. 4 rozporządzenia nr 882/2004;
- 4) dokonywania oceny wytycznych krajowych i ich przekazywania stosownie do art. 21 ust. 2 i 3 rozporządzenia nr 183/2005;
- 5) składania powiadomień, o których mowa w art. 30 rozporządzenia nr 183/2005;
- 6) współpracy z Komisją Europejską i Europejskim Urzędem do spraw Bezpieczeństwa Żywności, o którym mowa w rozdziale III rozporządzenia nr 178/2002, w sprawach dotyczących wprowadzania do obrotu, przetwarzania lub stosowania dodatków paszowych, w tym do:
 - a) otrzymywania informacji, o których mowa w art. 7 ust. 1,
 - b) składania wniosku o udostępnienie informacji, o których mowa w art. 7 ust. 2 lit. b,
 - c) otrzymywania opinii, o których mowa w art. 8 ust. 5 i w art. 13 ust. 3,
 - d) składania wniosku, o którym mowa w art. 13 ust. 1 i w art. 19,

e) powiadamiania Komisji Europejskiej o zasadach i środkach, o których mowa w art. 24

– rozporządzenia nr 1831/2003.

2. Minister właściwy do spraw rolnictwa jest organem właściwym do podawania do wiadomości publicznej informacji uzyskanych w ramach współpracy, o której mowa w ust. 1 pkt 6, mających zgodnie z przepisami rozporządzenia nr 1831/2003 charakter poufny, w przypadku określonym w art. 18 ust. 6 tego rozporządzenia, oraz do udostępniania dokumentacji otrzymanej na podstawie tego rozporządzenia.

Art. 13. 1. Główny Lekarz Weterynarii, w sprawach dotyczących pasz, jest organem właściwym w zakresie:

- 1) monitorowania i kontrolowania przestrzegania prawa żywnościowego, stosownie do art. 17 ust. 2 akapit pierwszy i drugi rozporządzenia nr 178/2002;
- 2) przyjmowania informacji od podmiotów działających na rynku pasz oraz współpracy z nimi, zgodnie z art. 20 ust. 3 i 4 rozporządzenia nr 178/2002;
- 3) współpracy z Europejskim Urzędem do spraw Bezpieczeństwa Żywności w zakresie wymiany informacji, przekazywania danych i przyjmowania powiadomień uzyskanych w wyniku działalności tego urzędu, określonym w rozdziale III rozporządzenia nr 178/2002;
- 4) wykonywania zadań i przekazywania informacji w ramach systemu wczesnego ostrzegania określonego w art. 50 rozporządzenia nr 178/2002;
- 5) powiadamiania Komisji Europejskiej i innych państw członkowskich Unii Europejskiej w zakresie, o którym mowa w art. 21 ust. 4 oraz art. 23 ust. 7 rozporządzenia nr 882/2004;
- 6) podejmowania współpracy z właściwymi organami innych państw członkowskich Unii Europejskiej w przypadkach określonych w art. 37-39 rozporządzenia nr 882/2004;

- 7) powiadamiania Komisji Europejskiej i współpracy z tą Komisją oraz innymi państwami członkowskimi Unii Europejskiej w przypadku stwierdzenia działań sprzecznych z prawem paszowym, zgodnie z art. 40 rozporządzenia nr 882/2004;
- 8) podejmowania działań i współpracy w zakresie określonym w art. 45 rozporządzenia nr 882/2004 oraz powiadamiania Komisji Europejskiej i współpracy z tą Komisją w przypadku przeprowadzania kontroli, o której mowa w art. 52 tego rozporządzenia, przez państwa trzecie.

2. Główny Lekarz Weterynarii, w sprawach dotyczących pasz, jest instytucją wyznaczoną do kontaktów, o której mowa w art. 35 rozporządzenia nr 882/2004.

Art. 14. 1. Główny Lekarz Weterynarii opracowuje operacyjny plan awaryjny, o którym mowa w art. 13 ust. 1 rozporządzenia nr 882/2004, zwany dalej „planem awaryjnym”, na podstawie analizy ryzyka wystąpienia zagrożeń dla zdrowia ludzi, zwierząt oraz dla środowiska i uzgadnia go z ministrem właściwym do spraw rolnictwa.

2. Projekt planu awaryjnego jest uzgadniany także z ministrami właściwymi do spraw: środowiska, zdrowia i finansów publicznych.

3. Rada Ministrów zatwierdza, w drodze uchwały, plan awaryjny, określając źródła finansowania wskazanych w nim zadań.

4. Główny Lekarz Weterynarii przekazuje Komisji Europejskiej zatwierdzony przez Radę Ministrów plan awaryjny.

5. Do zmiany planu awaryjnego przepisy ust. 1-4 stosuje się odpowiednio.

Art. 15. 1. Zabrania się wytwarzania, wprowadzania do obrotu i stosowania w żywieniu zwierząt:

- 1) substancji o działaniu hormonalnym, tyreostatycznym i beta-agonistycznym;
- 2) substancji i produktów szkodliwie wpływających na zdrowie zwierząt, jakość produktów pochodzenia zwie-

rzęcego lub środowisko, zwanych dalej „substancjami zabronionymi”;

3) pasz:

a) zawierających substancję lub produkt, z wyłączeniem czynników patogennych, obecnych w paszy lub na jej powierzchni, które stanowią potencjalne zagrożenie dla zdrowia ludzi lub zwierząt, lub dla środowiska oraz mogą niekorzystnie wpływać na produkcję zwierzęcą, zwanych dalej „substancjami niepożądanymi”, w ilości przekraczającej ich dopuszczalną zawartość,

b) zepsutych, w szczególności o zmienionym smaku, zapachu lub wyglądzie, w wyniku procesów fermentacyjnych, gnilnych lub innych, spowodowanych:

- działaniem drobnoustrojów, grzybów lub roztoczy lub
- wpływem temperatury, światła lub wilgotności, lub
- upływem czasu;

4) materiałów paszowych zawierających pozostałości pestycydów w ilości przekraczającej ich dopuszczalną zawartość.

2. Zabrania się wytwarzania mieszanek paszowych z materiałów paszowych, które zawierają substancje niepożądane w ilości przekraczającej ich dopuszczalną zawartość.

3. Minister właściwy do spraw rolnictwa w porozumieniu z ministrem właściwym do spraw środowiska oraz ministrem właściwym do spraw zdrowia określi, w drodze rozporządzenia:

- 1) wykaz substancji zabronionych,
- 2) dopuszczalne zawartości substancji niepożądanych w paszach

– mając na względzie ochronę zdrowia ludzi i zwierząt, ochronę środowiska oraz zapewnienie właściwej jakości produktów pochodzenia zwierzęcego.

4. Minister właściwy do spraw rolnictwa w porozumieniu z ministrem właściwym do spraw środowiska oraz ministrem właściwym do spraw zdrowia może określić, w drodze rozporządzenia, dopuszczalne zawartości pozostałości pestycydów w materiałach paszowych i mieszankach paszowych, mając na względzie ochronę zdrowia ludzi i zwierząt, ochronę środowiska oraz zapewnienie właściwej jakości produktów pochodzenia zwierzęcego.

Art. 16. 1. Podmiot zamierzający prowadzić działalność w zakresie wytwarzania pasz leczniczych przeznaczonych do obrotu lub przeznaczonych na potrzeby własne składa wniosek o zatwierdzenie zakładu do wojewódzkiego lekarza weterynarii właściwego ze względu na miejsce położenia zakładu. Przepisy art. 10 ust. 1-3 stosuje się odpowiednio.

2. Wojewódzki lekarz weterynarii, o którym mowa w ust. 1, przeprowadza kontrolę w celu sprawdzenia, czy zakład spełnia następujące warunki techniczne i organizacyjne:

- 1) został w nim wdrożony system wewnętrznej kontroli jakości wytwarzanych pasz leczniczych, obejmujący określenie:
 - a) częstotliwości i sposobu pobierania próbek do badań w miejscach, w których może nastąpić pogorszenie jakości produktów,
 - b) metody przeprowadzania badań,
 - c) sposobu postępowania z produktami niespełniającymi wymagań jakościowych;
- 2) wytwórca pasz leczniczych ma plan zakładu, na którym zostały umieszczone w szczególności pomieszczenia produkcyjne, magazynowe, socjalne i sanitarne, z zaznaczeniem:
 - a) linii technologicznej wraz z miejscami, o których mowa w pkt 1 lit. a,

- b) dróg przemieszczania pasz leczniczych,
 - c) stanowisk pracy;
- 3) została wyznaczona osoba odpowiedzialna za kontrolę jakości wytwarzanych pasz leczniczych;
 - 4) został określony zakres obowiązków pracowników zatrudnionych na stanowiskach pracy związanych z procesem technologicznym;
 - 5) wytwarzanie pasz będzie prowadzone przy użyciu urządzeń, których parametry, konstrukcja i rozmieszczenie:
 - a) uniemożliwiają zanieczyszczenie pasz i zmianę kolejności lub pominięcie określonego etapu cyklu produkcyjnego,
 - b) umożliwiają ich czyszczenie po zakończeniu produkcji każdego asortymentu oraz zachowanie homogenności i utrzymanie stałej zawartości substancji czynnej w jednym gramie paszy leczniczej;
 - 6) procesem produkcji pasz leczniczych będzie kierowała osoba, która ukończyła studia wyższe na jednym z kierunków: biologia, chemia, farmacja, rolnictwo, zootechnika lub weterynaria.

3. Jeżeli zakład spełnia warunki określone w ust. 2, wojewódzki lekarz weterynarii zatwierdza, w drodze decyzji administracyjnej, zakład do wytwarzania paszy leczniczej przeznaczonej:

- 1) do obrotu,
 - 2) na potrzeby własne
- nadając numer identyfikacyjny, o którym mowa w art. 19 ust. 2 rozporządzenia nr 183/2005.

4. Zatwierdzenie, o którym mowa w ust. 3:

- 1) pkt 1 uprawnia również do wytwarzania w zakładzie przeznaczonej do wytworzenia paszy leczniczej mieszaniny jednego lub kilku dopuszczonych do obrotu, na

podstawie przepisów Prawa farmaceutycznego, premiksów leczniczych z materiałem paszowym stanowiącym nośnik dla premiksu leczniczego w stężeniu umożliwiającym wytworzenie tej paszy, zwanej dalej „produktem pośrednim”;

- 2) pkt 2 uprawnia do wytwarzania w zakładzie pasz leczniczych wyłącznie z produktu pośredniego.

Art. 17. 1. Podmiot prowadzący działalność w zakładzie, o którym mowa w art. 16 ust. 3 pkt 1, zwany dalej „wytwórcą pasz leczniczych przeznaczonych do obrotu”, prowadzi dokumentację:

- 1) użycia premiksów leczniczych do wytwarzania pasz leczniczych i przechowywania tych premiksów;
- 2) wytwarzania pasz leczniczych i produktów pośrednich, zwaną dalej „raportem wytwarzania”;
- 3) obrotu paszami leczniczymi i produktami pośrednimi, zwaną dalej „raportem obrotu”.

2. Podmiot prowadzący działalność w zakładzie, o którym mowa w art. 16 ust. 3 pkt 2, zwany dalej „wytwórcą pasz leczniczych przeznaczonych na potrzeby własne”, prowadzi dokumentację wytwarzania pasz leczniczych z produktu pośredniego, zwaną dalej „raportem wytwarzania na potrzeby własne”.

3. Wojewódzki lekarz weterynarii przekazuje Głównemu Lekarzowi Weterynarii informacje dotyczące zakładów zatwierdzonych do wytwarzania pasz leczniczych oraz wszelkich zmian dokonanych w tym zakresie.

4. Minister właściwy do spraw rolnictwa określi, w drodze rozporządzenia:

- 1) szczegółowe warunki techniczne i organizacyjne, jakie powinien spełniać zakład, w którym wytwarza się pasze lecznicze przeznaczone do obrotu oraz produkty pośrednie, a także sposób ich produkcji,
- 2) stężenie produktu pośredniego,

- 3) sposób prowadzenia raportu wytwarzania i raportu obrotu,
- 4) warunki, sposób przechowywania i wprowadzania do obrotu pasz leczniczych przeznaczonych do obrotu oraz produktów pośrednich przez wytwórcę pasz leczniczych przeznaczonych do obrotu,
- 5) sposób znakowania i transportu pasz leczniczych przeznaczonych do obrotu oraz produktów pośrednich przez wytwórcę pasz leczniczych przeznaczonych do obrotu, a także sposób dokumentowania użycia premiksów leczniczych do wytwarzania tych pasz i przechowywania tych premiksów,
- 6) warunki i sposób pobierania próbek pasz leczniczych przeznaczonych do obrotu oraz produktów pośrednich – mając na względzie zapewnienie właściwej jakości pasz leczniczych przeznaczonych do obrotu i produktów pośrednich, ich bezpieczeństwo dla zdrowia ludzi i zwierząt oraz ich skuteczność w leczeniu zwierząt.

5. Minister właściwy do spraw rolnictwa określi, w drodze rozporządzenia:

- 1) szczegółowe warunki techniczne i organizacyjne, jakie powinien spełniać zakład, w którym wytwarza się pasze lecznicze przeznaczone na potrzeby własne, oraz sposób ich produkcji,
- 2) dokumenty składające się na raport wytwarzania na potrzeby własne i sposób prowadzenia tego raportu,
- 3) warunki i sposób przechowywania pasz leczniczych przeznaczonych na potrzeby własne,
- 4) warunki i sposób pobierania próbek pasz leczniczych przeznaczonych na potrzeby własne – mając na względzie zapewnienie właściwej jakości pasz leczniczych przeznaczonych na potrzeby własne, ich bez-

pieczeństwo dla zdrowia ludzi i zwierząt oraz ich skuteczność w leczeniu zwierząt.

Art. 18. W zakresie nieuregulowanym w art. 16 i 17 do zakładów zatwierdzonych do wytwarzania pasz leczniczych stosuje się odpowiednio przepisy art. 9, 11-19 rozporządzenia nr 183/2005 oraz, w zakresie urzędowej kontroli tych pasz, przepisy rozporządzenia nr 882/2004 i przepisy wydane w trybie tego rozporządzenia oraz ustawę. Właściwym organem w rozumieniu tych przepisów jest wojewódzki lekarz weterynarii, a krajowy wykaz zakładów, o którym mowa w art. 19 rozporządzenia nr 183/2005, prowadzi Główny Lekarz Weterynarii.

Art. 19. 1. Pasze lecznicze i produkty pośrednie może wprowadzać do obrotu:

- 1) wytwórca pasz leczniczych przeznaczonych do obrotu;
- 2) podmiot, który dostarcza pasze lecznicze lub produkty pośrednie zgodnie z art. 21 ust. 1, wpisany na listę prowadzoną przez Głównego Lekarza Weterynarii, zwany dalej „dystrybutorem”.

2. Wpisu na listę, o której mowa w ust. 1 pkt 2, dokonuje się na wniosek podmiotu, który zapewni, że:

- 1) pasze lecznicze i produkty pośrednie będą przewożone środkami transportu i przechowywane w miejscach spełniających warunki techniczne niezbędne do zachowania wymaganej jakości tych pasz i produktów, w tym temperatury, w jakiej się je przechowuje;
- 2) będzie prowadzona dokumentacja obrotu paszami leczniczymi i produktami pośrednimi.

3. Wniosek, o którym mowa w ust. 2, zawiera:

- 1) imię, nazwisko, miejsce zamieszkania i adres albo nazwę i adres siedziby wnioskodawcy;
- 2) określenie:
 - a) rodzaju i zakresu działalności, która ma być wykonywana,

b) lokalizacji miejsca, w którym mają być przechowywane pasze lecznicze i produkty pośrednie.

4. Do wniosku dołącza się:

- 1) oświadczenie o zapewnieniu warunków, o których mowa w ust. 2;
- 2) aktualny odpis z Krajowego Rejestru Sądowego albo
- 3) zaświadczenie o wpisie do ewidencji działalności gospodarczej, albo
- 4) kopię zezwolenia na pobyt rezydenta długoterminowego WE udzielonego przez inne państwo członkowskie Unii Europejskiej – jeżeli wnioskodawca będący cudzoziemcem, w rozumieniu przepisów o cudzoziemcach, zamierza wykonywać działalność gospodarczą na podstawie przepisów obowiązujących w tym zakresie w Rzeczypospolitej Polskiej, albo
- 5) zaświadczenie o nadaniu wnioskodawcy numeru identyfikacji podatkowej (NIP) lub numeru identyfikacyjnego w krajowym rejestrze urzędowym podmiotów gospodarki narodowej (REGON); jeżeli wnioskodawca nie posiada obywatelstwa polskiego, we wniosku podaje się numer identyfikacji podatkowej nadany w kraju pochodzenia wnioskodawcy.

Art. 20. 1. Główny Lekarz Weterynarii:

- 1) wydaje decyzję administracyjną w sprawie wpisu na listę, o której mowa w art. 19 ust. 1 pkt 2, po zasięgnięciu opinii:
 - a) wojewódzkiego lekarza weterynarii, właściwego ze względu na miejsce, w którym mają być przechowywane pasze lecznicze i produkty pośrednie, albo
 - b) organu, innego niż Rzeczpospolita Polska, państwa członkowskiego Unii Europejskiej, sprawującego nadzór nad obrotem paszami leczniczymi i produk-

tami pośrednimi, właściwego ze względu na miejsce zamieszkania albo siedzibę dystrybutora;

- 2) wydając decyzję o wpisie na listę, o której mowa w art. 19 ust. 1 pkt 2, nadaje dystrybutorowi numer identyfikacyjny określony w art. 19 ust. 2 rozporządzenia nr 183/2005.

2. Główny Lekarz Weterynarii odmawia, w drodze decyzji administracyjnej, wpisu na listę, o której mowa w art. 19 ust. 1 pkt 2, jeżeli opinia, o której mowa w ust. 1 pkt 1, jest negatywna.

3. Główny Lekarz Weterynarii skreśla, w drodze decyzji administracyjnej, dystrybutora z listy, o której mowa w art. 19 ust. 1 pkt 2, jeżeli w wyniku kontroli zostanie ustalone, że:

- 1) pasze lecznicze lub produkty pośrednie są przewożone środkami transportu lub przechowywane w miejscach, które nie spełniają warunków technicznych zapewniających zachowanie wymaganej jakości tych pasz i produktów, lub
- 2) dystrybutor nie prowadzi dokumentacji obrotu tymi paszami lub produktami.

4. Minister właściwy do spraw rolnictwa określi, w drodze rozporządzenia:

- 1) szczegółowe warunki techniczne, jakie powinny spełniać środki transportu oraz miejsca przechowywania pasz leczniczych i produktów pośrednich, które powinien zapewnić dystrybutor,
- 2) sposób prowadzenia dokumentacji obrotu paszami leczniczymi i produktami pośrednimi,
- 3) warunki, sposób przechowywania i wprowadzania do obrotu pasz leczniczych przeznaczonych do obrotu oraz produktów pośrednich przez dystrybutora,
- 4) sposób transportu pasz leczniczych przeznaczonych do obrotu oraz produktów pośrednich przez dystrybutora

– mając na względzie zapewnienie właściwej jakości pasz leczniczych przeznaczonych do obrotu i produktów pośrednich, ich bezpieczeństwo dla zdrowia ludzi i zwierząt oraz ich skuteczność w leczeniu zwierząt.

5. Do kontroli dystrybutorów w zakresie spełniania wymagań niezbędnych do zachowania wymaganej jakości pasz leczniczych i produktów pośrednich, w tym wymagań określonych w przepisach wydanych na podstawie ust. 4, stosuje się odpowiednio przepisy rozporządzenia nr 882/2004 oraz przepisy wydane w trybie tego rozporządzenia. Właściwym organem w rozumieniu tych przepisów jest wojewódzki lekarz weterynarii.

Art. 21. 1. Pasje lecznicze i produkty pośrednie dostarcza się bezpośrednio odbiorcy wskazanemu w zleceniu wystawionym przez lekarza weterynarii świadczącego usługi z zakresu medycyny weterynaryjnej.

2. Lekarz weterynarii, o którym mowa w ust. 1, w przypadku braku dopuszczonego do obrotu premiksu leczniczego właściwego dla danego gatunku zwierząt lub leczonej jednostki chorobowej, może zlecić wytwórcy paszy leczniczej przeznaczonej do obrotu wytworzenie jej z innych dopuszczonych do obrotu premiksów leczniczych, podając w zleceniu:

- 1) dokładny skład paszy leczniczej, ze szczególnym uwzględnieniem sposobu dawkowania premiksu leczniczego;
- 2) okres karencji paszy leczniczej.

3. Minister właściwy do spraw rolnictwa określi, w drodze rozporządzenia, wzór zlecenia na wprowadzenie do obrotu pasz leczniczych i produktów pośrednich, o którym mowa w ust. 1, mając na względzie bezpieczeństwo tych pasz i produktów dla zdrowia ludzi i zwierząt oraz ich skuteczność w leczeniu zwierząt.

Art. 22. 1. Do obrotu wprowadza się materiały paszowe i mieszanki paszowe, które:

- 1) zawierają dopuszczalne ilości wody, substancji wiążących, zanieczyszczeń roślinnych i mineralnych lub ich nie zawierają;

2) nie zawierają żywych szkodników, z grupy owadów.

2. Minister właściwy do spraw rolnictwa określi, w drodze rozporządzenia, dopuszczalną zawartość wody, substancji wiążących, zanieczyszczeń roślinnych i mineralnych w materiałach paszowych i mieszankach paszowych, w zależności od rodzaju materiału paszowego i mieszanki paszowej, mając na względzie zapewnienie ich trwałości oraz zaspokojenie potrzeb żywieniowych zwierząt.

Art. 23. 1. Materiały paszowe z grup:

1) białka uzyskiwanego z mikroorganizmów należących do grup: bakterii, drożdży, glonów i grzybów,

2) niebiałkowych związków azotowych, z wyłączeniem mocznika i jego pochodnych

– wprowadza się do obrotu i stosuje w żywieniu zwierząt, w tym także jako składnik premiksów i mieszanek paszowych, jeżeli zostały dopuszczone do obrotu w Unii Europejskiej na podstawie przepisów Unii Europejskiej dotyczących niektórych produktów stosowanych w żywieniu zwierząt³⁾ i spełniają wymagania określone w tych przepisach.

2. Zabrania się sprowadzania spoza obszaru celnego Unii Europejskiej materiałów paszowych z grup, o których mowa w ust. 1, niedopuszczonych do obrotu w Unii Europejskiej oraz premiksów i mieszanek paszowych zawierających takie materiały.

3. Minister właściwy do spraw rolnictwa może wystąpić do właściwych władz Unii Europejskiej o dopuszczenie do obrotu w Unii Europejskiej materiału paszowego z grup, o których mowa w ust. 1, na wniosek podmiotu, który zamierza wprowadzać do obrotu lub stosować w żywieniu zwierząt materiał paszowy dotychczas niedopuszczony do obrotu w Unii Europejskiej, jeżeli:

1) materiał ten ma wartość odżywczą dla zwierząt jako źródło azotu lub białka;

- 2) prawidłowo stosowany nie wpłynie szkodliwie na zdrowie ludzi lub zwierząt, jakość produktów pochodzenia zwierzęcego lub na środowisko;
- 3) dla tego materiału została określona metoda postępowania analitycznego zapewniająca:
 - a) identyfikację substancji czynnej,
 - b) określenie zawartości materiału paszowego w premiksach i w paszach.
4. Wniosek, o którym mowa w ust. 3, zawiera:
 - 1) imię, nazwisko i adres albo nazwę i adres siedziby wnioskodawcy;
 - 2) określenie grupy i rodzaju materiału paszowego.
5. Do wniosku, o którym mowa w ust. 3, dołącza się dokumentację zawierającą w szczególności:
 - 1) wyniki badań potwierdzających spełnianie przez materiał paszowy wymagań, o których mowa w ust. 3 pkt 1 i 2;
 - 2) metodykę postępowania analitycznego, o której mowa w ust. 3 pkt 3, wraz z wynikami badań potwierdzającymi jej skuteczność.
6. Minister właściwy do spraw rolnictwa przekazuje Komisji Europejskiej i pozostałym państwom członkowskim Unii Europejskiej kopie wniosku o dopuszczenie materiału paszowego do obrotu w Unii Europejskiej wraz z kopiami dołączonej do niego dokumentacji, jeżeli wniosek ten i dołączona do niego dokumentacja spełniają wymagania określone w ust. 4 i 5 oraz w przepisach wydanych na podstawie ust. 7.
7. Minister właściwy do spraw rolnictwa określi, w drodze rozporządzenia, wymagania, jakie powinna spełniać dokumentacja dołączana do wniosku o dopuszczenie do obrotu w Unii Europejskiej materiału paszowego, w tym zakres dokumentacji i badań, których wyniki zamieszcza się w tej dokumentacji, w zależności od grupy i rodzaju materiału paszowego, mając na względzie obowiązujące w tym zakresie przepisy Unii Europejskiej.

Art. 24. 1. Informacji zawartych w dokumentacji dołączonej do wniosku o dopuszczenie do obrotu w Unii Europejskiej materiału paszowego nie ujawnia się, jeżeli stanowią tajemnicę produkcyjną lub handlową.

2. Przepisu ust. 1 nie stosuje się do:

- 1) nazwy i składu materiału paszowego objętego wnioskiem;
- 2) fizykochemicznych, biologicznych, farmakologicznych, toksykologicznych i ekotoksykologicznych właściwości materiału paszowego objętego wnioskiem;
- 3) metod postępowania analitycznego zapewniających identyfikację substancji czynnej i określenie zawartości materiału paszowego w premiksach i paszach;
- 4) metod badania pozostałości materiału paszowego objętego wnioskiem lub jego metabolitów w produktach pochodzenia zwierzęcego.

3. Minister właściwy do spraw rolnictwa określi, w drodze rozporządzenia, wykaz materiałów paszowych z grup, o których mowa w art. 23 ust. 1, które zostały dopuszczone do obrotu na podstawie przepisów Unii Europejskiej³⁾, mając na względzie zapewnienie zdrowia ludzi i zwierząt.

Art. 25. 1. Nazwa materiału paszowego i mieszanki paszowej powinna:

- 1) informować nabywcę o tym, jaki stanowią one rodzaj paszy;
- 2) umożliwiać ich odróżnienie od podobnych produktów.

2. Minister właściwy do spraw rolnictwa określi, w drodze rozporządzenia, materiały paszowe inne niż wymienione w art. 23 ust. 1, które mogą być wprowadzane do obrotu wyłącznie pod nazwą określoną w tym rozporządzeniu, z uwzględnieniem opisu tych materiałów i rodzaju procesów technologicznych stosowanych do ich wytwarzania oraz obowiązujących w tym zakresie przepisów Unii Europejskiej.

Art. 26. 1. Mieszanka paszowa uzupełniająca może być wprowadzona do obrotu, jeżeli zawartość witaminy D oraz dodatków paszowych z grup: sty-

mulatorów wzrostu, kokcydiostatyków i histomonostatyków oraz przeciwutlenia-
czy nie przekracza pięciokrotności maksymalnej zawartości tych dodatków
w mieszance paszowej pełnoporcjowej, ustalonej zgodnie z przepisami rozpo-
rządzenia nr 1831/2003.

2. Mieszankę paszową uzupełniającą stosuje się w żywieniu
zwierząt wyłącznie po zmieszaniu z inną paszą.

3. Minister właściwy do spraw rolnictwa może określić, w dro-
dze rozporządzenia, inne niż ustalone w ust. 1, zawartości dodatków paszo-
wych w określonych mieszankach paszowych uzupełniających, jeżeli ich zasto-
sowanie w połączeniu z innymi paszami nie będzie stwarzać zagrożenia dla
zdrowia zwierząt oraz ujemnie wpływać na jakość produktów pochodzenia zwie-
rzęcego.

Art. 27. 1. Mieszanka paszowa dietetyczna powinna zawierać mate-
riały paszowe w ilości i proporcjach zapewniających właściwe jej wykorzystanie.

2. Minister właściwy do spraw rolnictwa określi, w drodze roz-
porządzenia:

- 1) przeznaczenie mieszanek paszowych dietetycznych,
w tym gatunki lub kategorie zwierząt, u których można
je stosować,
- 2) właściwości pokarmowe mieszanek paszowych diete-
tycznych,
- 3) wymagania, jakie powinno spełniać oznakowanie mie-
szanek paszowych dietetycznych,
- 4) zalecenia, zgodnie z którymi mają być stosowane mie-
szanki paszowe dietetyczne
– mając na uwadze szczególne właściwości tych mie-
szanek oraz wymagania dotyczące kontroli pasz.

Art. 28. 1. Mieszanki paszowe wprowadza się do obrotu w szczelnych
i zamkniętych opakowaniach lub pojemnikach, których zamknięcie jest zabez-
pieczone w taki sposób, że ich otwarcie powoduje zniszczenie tego zabezpie-
czenia.

2. Mieszanki paszowe mogą być wprowadzane do obrotu:

- 1) luzem albo w niezamkniętych opakowaniach lub pojemnikach w przypadku:
 - a) gdy są:
 - dostarczane przez wytwórcę innemu wytwórcy,
 - dostarczane przez wytwórcę przedsiębiorcy zajmującemu się ich pakowaniem,
 - uzyskane przez zmieszanie ziarna lub całych owoców,
 - uzyskane z uprzednio zamkniętych opakowań lub pojemników, a ich ilość nie przekracza 50 kg,
 - b) bloków lub lizawek;
- 2) luzem albo w niezamkniętych pojemnikach, jeżeli są:
 - a) bezpośrednio dostarczane przez wytwórców posiadaczom zwierząt gospodarskich,
 - b) mieszankami paszowymi melasowanymi zawierającymi nie więcej niż 3 materiały paszowe,
 - c) mieszankami paszowymi granulowanymi.

Art. 29. 1. Do obrotu wprowadza się materiały paszowe i mieszanki paszowe oznakowane.

2. Oznakowania materiałów paszowych i mieszanek paszowych dokonuje się przez umieszczenie, w sposób widoczny, czytelny i nieusuwalny, na każdym opakowaniu materiału paszowego lub mieszanki paszowej lub dołączonej do opakowania etykietce, informacji w języku polskim określającej, w zależności od rodzaju materiału paszowego lub mieszanki paszowej, w szczególności:

- 1) ich rodzaj i nazwę;
- 2) wytwórcę i numer identyfikacyjny zakładu, w którym są wytwarzane, jeżeli został nadany;
- 3) ich masę netto, a dla płynów objętość albo masę netto;
- 4) okres ich trwałości oraz okres karencji, jeżeli został określony;

- 5) przeznaczenie, z uwzględnieniem gatunku i wieku zwierząt, dla których są przeznaczone;
- 6) kategorie grupujące kilka materiałów paszowych charakteryzujących się tym samym źródłem pochodzenia, w przypadku mieszanek paszowych przeznaczonych dla zwierząt domowych;
- 7) zawartość w nich składników pokarmowych;
- 8) datę ich produkcji albo numer serii;
- 9) sposób ich stosowania, w tym zasady ich bezpiecznego użycia.

3. W przypadku materiałów paszowych lub mieszanek paszowych przeznaczonych do wprowadzania do obrotu w innych niż Rzeczpospolita Polska państwach członkowskich Unii Europejskiej oznakowania tych materiałów lub mieszanek dokonuje się co najmniej w jednym z języków urzędowych Unii Europejskiej, wskazanym przez państwo członkowskie Unii Europejskiej, w którym te materiały lub mieszanki będą wprowadzane do obrotu, a w przypadku gdy są one przeznaczone do wywozu poza obszar celny Unii Europejskiej, oznakowania można także dokonać w języku urzędowym państwa ich przeznaczenia.

4. W przypadkach, o których mowa w art. 28 ust. 2, informacje wymienione w ust. 2 dołącza się do dokumentów przewozowych i przekazuje odbiorcy.

5. Oznakowanie materiałów paszowych i mieszanek paszowych nie może:

- 1) wprowadzać w błąd nabywcy, w szczególności co do ich tożsamości, w tym rodzaju, właściwości, pochodzenia, składu, ilości oraz sposobu produkcji lub
- 2) sugerować, że posiadają one specjalne właściwości, jeżeli ich nie posiadają, albo jeżeli inne materiały paszowe lub mieszanki paszowe również posiadają takie właściwości.

6. Materiały paszowe i mieszanki paszowe, przeznaczone dla zwierząt domowych, mogą być wprowadzane do obrotu również pod nazwą „karma”, z podaniem gatunku zwierzęcia domowego, dla którego są przeznaczone.

7. Pasze genetycznie zmodyfikowane oraz organizmy genetycznie zmodyfikowane przeznaczone do użytku paszowego znakuje się ponadto w sposób określony w przepisach rozporządzenia nr 1829/2003 oraz rozporządzenia 1830/2003.

8. Minister właściwy do spraw rolnictwa określi, w drodze rozporządzenia:

- 1) szczegółowe wymagania dotyczące oznakowania materiałów paszowych i mieszanek paszowych, w tym sposób oznakowania oraz zakres informacji, które umieszcza się na ich opakowaniu lub etykiecie dołączonej do opakowania albo dołącza do dokumentów przewozowych,
- 2) kategorie grupujące materiały paszowe charakteryzujące się tym samym źródłem pochodzenia,
- 3) limity tolerancji zawartości składników pokarmowych i dodatków paszowych
– mając na względzie zapewnienie ochrony interesów nabywców i obiektywnych kryteriów kontroli oraz obowiązujące w tym zakresie przepisy Unii Europejskiej.

9. Minister właściwy do spraw rolnictwa może określić, w drodze rozporządzenia, zakres dodatkowych informacji, które mogą być umieszczane na opakowaniu materiałów paszowych lub mieszanek paszowych lub na etykiecie dołączonej do opakowania albo dołączone do dokumentów przewozowych, mając na względzie zapewnienie ochrony interesów nabywców oraz obowiązujące w tym zakresie przepisy Unii Europejskiej.

Art. 30. 1. Materiały paszowe i mieszanki paszowe niespełniające warunków określonych w ustawie mogą być stosowane w żywieniu zwierząt wykorzystywanych wyłącznie do badań naukowych, po powiadomieniu powiatowego

lekarza weterynarii właściwego ze względu na miejsce prowadzenia tych badań.

2. Materiały paszowe i mieszanki paszowe, o których mowa w ust. 1, znakuje się w sposób wyraźnie wskazujący, że są one przeznaczone do żywienia zwierząt wykorzystywanych do badań naukowych.

3. Zwierzęta gospodarskie wykorzystywane do badań naukowych, o których mowa w ust. 1, i produkty pochodzenia zwierzęcego pozyskane od tych zwierząt lub z tych zwierząt mogą być wprowadzane do obrotu i przeznaczone do spożycia przez ludzi, jeżeli powiatowy lekarz weterynarii właściwy ze względu na miejsce prowadzenia tych badań, po przeprowadzeniu niezbędnych badań laboratoryjnych, stwierdzi, że nie będzie to miało szkodliwego wpływu na zdrowie ludzi lub zwierząt oraz na środowisko.

Art. 31. 1. Materiały paszowe, które nie spełniają wymagań, określonych w przepisach wydanych na podstawie art. 29 ust. 8 pkt 1, na skutek braku możliwości przeprowadzenia w państwie dostawcy badań niezbędnych do ich oznakowania, mogą być przywożone z państw trzecich, pod warunkiem że:

1) importer:

a) dostarczy wstępne informacje dotyczące składu materiału paszowego, wymagające potwierdzenia w wyniku przeprowadzenia badania laboratoryjnego,

b) powiadomi właściwego powiatowego lekarza weterynarii o przewidywanej dostawie takiego materiału paszowego co najmniej na 7 dni przed przewidywanym terminem dostawy;

2) materiał paszowy nie był dotychczas stosowany w żywieniu zwierząt i z takim przeznaczeniem jest wprowadzany na terytorium Rzeczypospolitej Polskiej po raz pierwszy;

3) ostateczne informacje dotyczące zawartości składników pokarmowych w tym materiale paszowym zostaną przekazane jego nabywcy oraz właściwemu powiatowo-

wemu lekarzowi weterynarii w terminie 10 dni roboczych od dnia dostarczenia tego materiału;

- 4) w oznakowaniu takiego materiału paszowego, w odniesieniu do zawartości składników pokarmowych, jest umieszczony wytłuszczonym drukiem napis o treści:

„dane tymczasowe, wymagające potwierdzenia przez (nazwa i adres laboratorium, któremu zlecono przeprowadzenie analiz), dotyczące (numer referencyjny próbki przekazanej do analizy), przed (data)”.

2. Powiatowy lekarz weterynarii przekazuje Głównemu Lekarzowi Weterynarii informacje o każdej przesyłce materiału paszowego, o którym mowa w ust. 1, oraz o działaniach podjętych w tym zakresie.

3. Główny Lekarz Weterynarii przekazuje Komisji Europejskiej informacje o okolicznościach związanych z dopuszczeniem przesyłki materiału paszowego do obrotu oraz o działaniach podjętych przez powiatowego lekarza weterynarii w tym zakresie.

Art. 32. 1. Dodatki paszowe wprowadza się do obrotu, przetwarza lub stosuje w żywieniu zwierząt, jeżeli są spełnione wymagania określone w przepisach rozporządzenia nr 1831/2003.

2. Dopuszcza się stosowanie do badań naukowych, jako dodatków paszowych, substancji określonych w art. 3 ust. 2 rozporządzenia nr 1831/2003, które nie zostały dopuszczone do obrotu, przetwarzania lub stosowania na podstawie tego rozporządzenia.

3. Badania naukowe, o których mowa w ust. 2, przeprowadza się zgodnie z zasadami i warunkami określonymi w art. 3 ust. 2 rozporządzenia nr 1831/2003, po powiadomieniu powiatowego lekarza weterynarii właściwego ze względu na miejsce prowadzenia tych badań.

4. Powiatowy lekarz weterynarii, o którym mowa w ust. 3:

- 1) nadzoruje wykorzystanie substancji określonych w art. 3 ust. 2 rozporządzenia nr 1831/2003 w prowadzeniu badań naukowych;

- 2) jest organem właściwym w sprawach stwierdzania, że zwierzęta wykorzystane do badań, o których mowa w ust. 2, mogą być przeznaczone do produkcji produktów pochodzenia zwierzęcego.

Art. 33. 1. Organy Inspekcji Weterynaryjnej sprawują nadzór nad wytwarzaniem, obrotem i stosowaniem pasz oraz pasz leczniczych.

2. Organy Inspekcji Handlowej sprawują, zgodnie z przepisami o Inspekcji Handlowej, nadzór nad obrotem detalicznym paszami przeznaczonymi dla zwierząt domowych, z wyłączeniem obrotu tymi paszami prowadzonego przez zakłady lecznicze dla zwierząt.

Art. 34. 1. Dopuszcza się wytwarzanie pasz, które mają być wywiezione poza obszar celny Unii Europejskiej i które nie spełniają warunków określonych w przepisach wymienionych w art. 1 pkt 1 lub w ustawie, przez podmiot działający na rynku pasz wykonujący już działalność w zakresie wytwarzania danego rodzaju pasz, jeżeli podmiot ten zgłosił zamiar rozpoczęcia takiego wytwarzania powiatowemu lekarzowi weterynarii właściwemu ze względu na miejsce wytwarzania tych pasz.

2. Podmiot wytwarzający pasze, o których mowa w ust. 1, zgłasza powiatowemu lekarzowi weterynarii właściwemu ze względu na miejsce wytwarzania tych pasz zaprzestanie ich wytwarzania.

3. Do zgłoszeń, o których mowa w ust. 1 i 2, stosuje się odpowiednio przepisy art. 10 ust. 1-3, przy czym zgłoszenie, o którym mowa w ust. 1, zawiera ponadto określenie rodzaju i ilości pasz oraz wskazanie państwa ich przeznaczenia.

4. Pasze, o których mowa w ust. 1, znakuje się w sposób wyraźnie wskazujący, że są przeznaczone do wywozu poza obszar celny Unii Europejskiej, i przechowuje się w odrębnych pomieszczeniach lub zbiornikach oraz przewozi się w takich zbiornikach.

Art. 35. Przepisy art. 36-41 ustawy, do dnia ogłoszenia przez Komisję Europejską wykazów przewidzianych w art. 23 ust. 1 lit. a i b rozporządzenia nr 183/2005, stosuje się do przywozu przesyłek:

- 1) dodatków paszowych z grupy:

- a) kokcydiostatyki i histomonostatyki,
 - b) stymulatory wzrostu,
 - c) witaminy, prowitaminy i inne substancje chemicznie zdefiniowane o podobnym działaniu,
 - d) pierwiastki śladowe,
 - e) enzymy,
 - f) mikroorganizmy,
 - g) karotenoidy i ksantofile,
 - h) przeciwutleniacze, dla których jest określona maksymalna zawartość w mieszankach paszowych pełnoporcjowych,
 - i) aminokwasy i ich sole,
 - j) hydroksyanalogi aminokwasów;
- 2) dodatków paszowych innych niż określone w pkt 1, dla których została ustalona ich maksymalna zawartość w mieszankach paszowych pełnoporcjowych;
- 3) materiałów paszowych z grup:
- a) białka uzyskiwanego z mikroorganizmów należących do grup bakterii, drożdży, glonów i grzybów, z wyłączeniem drożdży hodowanych na substancjach pochodzenia zwierzęcego lub roślinnego,
 - b) produktów ubocznych uzyskiwanych w procesie wytwarzania aminokwasów w drodze fermentacji;
- 4) premiksów zawierających dodatki paszowe, o których mowa w pkt 1;
- 5) mieszanek paszowych zawierających premiksy, o których mowa w pkt 4.

Art. 36. 1. Dopuszcza się przywóz przesyłek pasz wymienionych w art. 35 z zakładów państw trzecich mających przedstawicielstwo:

- 1) na terytorium Rzeczypospolitej Polskiej i wpisanych do ewidencji zakładów państw trzecich prowadzonej przez

Głównego Lekarza Weterynarii, zwanej dalej „ewidencją”;

- 2) na terytorium innego państwa członkowskiego Unii Europejskiej.
2. Zakłady państw trzecich wpisuje się do ewidencji, jeżeli:
- 1) dla przedsiębiorcy zagranicznego wykonującego działalność gospodarczą w państwie trzecim, do którego należy zakład, utworzono przedstawicielstwo z siedzibą na terytorium Rzeczypospolitej Polskiej;
 - 2) przedstawicielstwo, o którym mowa w pkt 1:
 - a) zapewni, że zakład, który reprezentuje, spełnia wymagania co najmniej równoważne wymaganiom określonym dla prowadzenia danego rodzaju działalności,
 - b) zobowiąże się do prowadzenia rejestru zgodnie z przepisami dotyczącymi prowadzenia dokumentacji, określonymi w załączniku II do rozporządzenia nr 183/2005.

Art. 37. 1. Główny Lekarz Weterynarii dokonuje wpisu zakładu do ewidencji na sporządzony w języku polskim wniosek przedstawicielstwa reprezentującego ten zakład.

2. Wniosek o wpis do ewidencji zawiera:
- 1) oznaczenie i adres przedstawicielstwa na terytorium Rzeczypospolitej Polskiej;
 - 2) określenie przedmiotu działalności gospodarczej przedsiębiorcy zagranicznego z podaniem miejsca i zakresu działalności prowadzonej w zakładzie oraz rodzaju wytwarzanych pasz;
 - 3) imię, nazwisko i adres na terytorium Rzeczypospolitej Polskiej osoby upoważnionej w przedstawicielstwie do reprezentowania przedsiębiorcy zagranicznego;

4) oświadczenie zawierające zapewnienie i zobowiązanie, o których mowa w art. 36 ust. 2 pkt 2.

3. Do wniosku o wpis do ewidencji dołącza się aktualne zaświadczenie potwierdzające wpis przedstawicielstwa do rejestru przedstawicielstw prowadzonego na podstawie przepisów o swobodzie działalności gospodarczej.

4. Główny Lekarz Weterynarii:

1) dokonując wpisu zakładu do ewidencji, nadaje temu zakładowi, w drodze decyzji administracyjnej, numer identyfikacyjny;

2) odmawia, w drodze decyzji administracyjnej, wpisu do ewidencji, jeżeli wniosek o wpis do ewidencji nie spełnia wymagań określonych w ust. 2 lub 3.

Art. 38. Ewidencja jest jawna i zawiera dane, o których mowa w art. 37 ust. 2, oraz numer identyfikacyjny zakładu.

Art. 39. 1. Główny Lekarz Weterynarii przekazuje ministrowi właściwemu do spraw rolnictwa, corocznie w terminie do dnia 30 września, dane objęte ewidencją.

2. Minister właściwy do spraw rolnictwa na podstawie informacji, o których mowa w ust. 1, ogłasza, w drodze obwieszczenia w Dzienniku Urzędowym Rzeczypospolitej Polskiej „Monitor Polski”, corocznie w terminie do dnia 30 listopada, wykaz zakładów państw trzecich, z których dopuszcza się przywóz pasz.

3. Minister właściwy do spraw rolnictwa przekazuje Komisji Europejskiej, corocznie w terminie do dnia 31 grudnia, wykaz zakładów państw trzecich, z których dopuszcza się przywóz pasz, zawierający dane dotyczące tych zakładów objęte ewidencją.

Art. 40. Główny Lekarz Weterynarii skreśla, w drodze decyzji administracyjnej, zakład z ewidencji, jeżeli:

1) w wyniku kontroli pasz pochodzących z tego zakładu zostanie ustalone, że pasze te lub zakład nie spełniają wymagań określonych w ustawie, lub

- 2) w wyniku kontroli przeprowadzonej w zakładzie przez właściwe organy Unii Europejskiej zostanie ustalone, że zakład nie spełnia wymagań, o których mowa w art. 36 ust. 2 pkt 2 lit. a, lub
- 3) przedstawicielstwo nie prowadzi rejestru, o którym mowa w art. 36 ust. 2 pkt 2 lit. b, lub prowadzi ten rejestr w sposób niezgodny z przepisami ustawy, lub
- 4) przedstawicielstwo, które reprezentuje zakład, zostanie wykreślone z rejestru przedstawicielstw prowadzonego na podstawie przepisów o swobodzie działalności gospodarczej.

Art. 41. Minister właściwy do spraw rolnictwa określi, w drodze rozporządzenia:

- 1) sposób ustalania numeru identyfikacyjnego, o którym mowa w art. 37 ust. 4 pkt 1, mając na względzie zapewnienie prawidłowej identyfikacji zakładów państw trzecich, z których mogą być przywożone pasze;
- 2) wzór ewidencji, mając na względzie przepisy Unii Europejskiej obowiązujące w tym zakresie.

Art. 42. 1. Urzędową kontrolę pasz i pasz leczniczych przeprowadza się na podstawie rocznego planu urzędowej kontroli sporządzanego przez Głównego Lekarza Weterynarii.

2. Plan urzędowej kontroli, o którym mowa w ust. 1, sporządza się na podstawie analizy ryzyka oraz wyników dotychczasowych urzędowych kontroli, uwzględniając konieczność objęcia kontrolą każdego etapu wytwarzania, obrotu oraz stosowania pasz lub pasz leczniczych, a także mając na uwadze zalecenia Komisji Europejskiej w tym zakresie.

3. Czynności kontrolne w zakresie urzędowej kontroli pasz i pasz leczniczych przeprowadza się zgodnie z przepisami o Inspekcji Weterynaryjnej.

Art. 43. 1. Główny Lekarz Weterynarii przedkłada ministrowi właściwemu do spraw rolnictwa, corocznie w terminie do ostatniego dnia lutego, spra-

wozdanie dotyczące wdrażania rocznego planu urzędowej kontroli, o którym mowa w art. 42 ust. 1.

2. Sprawozdanie, o którym mowa ust. 1, zawiera w szczególności informacje o:

- 1) liczbie i rodzajach przeprowadzonych urzędowych kontroli;
 - 2) wynikach urzędowych kontroli, wraz z ich opisem, w tym liczbie i rodzajach stwierdzonych naruszeń przepisów ustawy;
 - 3) działaniach podjętych w związku ze stwierdzonymi naruszeniami przepisów ustawy.
3. Minister właściwy do spraw rolnictwa:
- 1) przekazuje Komisji Europejskiej wykaz organów właściwych do przeprowadzania urzędowych kontroli na terytorium Rzeczypospolitej Polskiej wraz z określeniem ich właściwości rzeczowej;
 - 2) przedkłada Komisji Europejskiej, corocznie w terminie do dnia 1 kwietnia, sprawozdanie dotyczące wdrażania rocznego planu urzędowej kontroli.

Art. 44. Minister właściwy do spraw rolnictwa określi, w drodze rozporządzenia:

- 1) szczegółowe warunki i sposób pobierania próbek do badań oraz postępowania z próbkami pobranymi w ramach urzędowej kontroli, mając na względzie reprezentatywność pobranych próbek;
- 2) metodykę postępowania analitycznego w zakresie określania zawartości składników pokarmowych i dodatków paszowych w materiałach paszowych, premiksach, mieszankach paszowych i paszach leczniczych, mając na względzie przeprowadzenie analizy zgodnie z metodyką zatwierdzoną przez Unię Europejską;

- 3) wykaz laboratoriów upoważnionych do prowadzenia badań w ramach urzędowej kontroli (laboratoria urzędowe), mając na względzie zapewnienie rzetelności i obiektywności przeprowadzanych badań.

Art. 45. 1. W ramach nadzoru sprawowanego przez Inspekcję Weterynaryjną nad wytwarzaniem i stosowaniem pasz, w tym pasz leczniczych oraz obrotem nimi, działają krajowe laboratoria referencyjne określone na podstawie ust. 3 oraz krajowe laboratoria referencyjne określone na podstawie przepisów o Inspekcji Weterynaryjnej.

2. Zadania krajowych laboratoriów referencyjnych w zakresie:

- 1) ujednoczenia standardów i metod analitycznych,
- 2) organizacji okresowych testów porównawczych poszczególnych metod analitycznych, stosowanych przez laboratoria urzędowe,
- 3) sprawdzania metod analitycznych stosowanych w analizie pasz,
- 4) gromadzenia i przetwarzania danych dotyczących wyników badań laboratoryjnych

– są finansowane z budżetu państwa z części, której dysponentem jest minister właściwy do spraw rolnictwa.

3. Minister właściwy do spraw rolnictwa określi, w drodze rozporządzenia, krajowe laboratoria referencyjne będące krajowymi laboratoriami referencyjnymi, o których mowa w art. 33 ust. 1 rozporządzenia nr 882/2004, działające w zakresie innym niż określony w przepisach o Inspekcji Weterynaryjnej, a w przypadku gdy dla każdego wspólnotowego laboratorium referencyjnego zostanie określone więcej niż jedno krajowe laboratorium referencyjne, określa także sposób współpracy tych laboratoriów, mając na względzie wykonywane przez te laboratoria zadania i spełnianie przez nie wymagań określonych w art. 33 ust. 2 i 3 tego rozporządzenia, a także zapewnienie efektywnej współpracy tych laboratoriów oraz koordynację ich zadań i współpracy z innymi krajowymi laboratoriami referencyjnymi i wspólnotowymi laboratoriami referencyjnymi.

4. Minister właściwy do spraw rolnictwa przekazuje informacje, o których mowa w art. 33 ust. 4 rozporządzenia nr 882/2004.

5. Minister właściwy do spraw rolnictwa jest organem właściwym w sprawie składania wniosków, o których mowa w art. 6 ust. 4 rozporządzenia Komisji (WE) nr 378/2005 z dnia 4 marca 2005 r. w sprawie szczegółowych zasad wykonania rozporządzenia (WE) nr 1831/2003 Parlamentu Europejskiego i Rady w zakresie obowiązków i zadań laboratorium referencyjnego Wspólnoty dotyczących wniosków o wydanie zezwolenia na stosowanie dodatków paszowych (Dz.Urz. UE L 59 z 5.03.2005, str. 8).

Art. 46. 1. Wprowadzane na obszar celny Unii Europejskiej pasze lub pasze lecznicze podlegają kontroli granicznej przeprowadzanej przez granicznego lekarza weterynarii, zgodnie z zasadami określonymi w rozdziale V rozporządzenia nr 882/2004, przepisami o weterynaryjnej kontroli granicznej oraz ustawą.

2. Osoba odpowiedzialna za przesyłkę przekazuje granicznemu lekarzowi weterynarii, pisemnie lub w wersji elektronicznej, informacje o przewidywanym terminie przywozu oraz o rodzaju i ilości przesyłki, nie później niż na dzień roboczy przed dniem przywozu.

Art. 47. 1. Graniczny lekarz weterynarii po przeprowadzeniu kontroli granicznej:

- 1) wystawia dokument potwierdzający przeprowadzenie kontroli przesyłki i wpisuje w nim zakres przeprowadzonej kontroli oraz jej wyniki – jeżeli miejsce przeznaczenia przesyłki jest położone na terytorium innego niż Rzeczpospolita Polska państwa członkowskiego Unii Europejskiej;
- 2) wystawia dokument, o którym mowa w pkt 1, i wpisuje w nim zakres przeprowadzonej kontroli oraz jej wyniki oraz informuje o tym powiatowego lekarza weterynarii właściwego ze względu na miejsce przeznaczenia przesyłki – jeżeli miejsce wprowadzenia do obrotu przesyłki jest położone na terytorium Rzeczypospolitej Polskiej;

3) wpisuje numer dokumentu, o którym mowa w pkt 1, do dokumentów towarzyszących przesyłce.

2. Dokument, o którym mowa w ust. 1 pkt 1, jest przekazywany wraz z przesyłką do pierwszego miejsca jej przeznaczenia, a jeżeli przesyłka jest podzielona na części – z każdą częścią tej przesyłki.

3. W przypadku gdy kontrola graniczna przesyłki, której miejsce przeznaczenia jest położone na terytorium Rzeczypospolitej Polskiej, została dokonana w innym państwie członkowskim Unii Europejskiej, osoba odpowiedzialna za przesyłkę przedstawia dokument potwierdzający przeprowadzenie kontroli przesyłki oraz jego tłumaczenie na język polski powiatowemu lekarzowi weterynarii właściwemu ze względu na miejsce przeznaczenia przesyłki niezwłocznie po dostarczeniu przesyłki do tego miejsca.

4. Dokument, o którym mowa w ust. 1 pkt 1, jest przekazywany wraz z przesyłką również wówczas, gdy przesyłka nie pochodząca z państwa członkowskiego Unii Europejskiej opuszcza skład celny, skład wolnocłowy lub magazyn znajdujący się w wolnym obszarze celnym i jest przeznaczona do wprowadzenia na obszar celny Unii Europejskiej.

Art. 48. 1. Minister właściwy do spraw rolnictwa określi, w drodze rozporządzenia, wzór dokumentu potwierdzającego przeprowadzenie kontroli przesyłki, o którym mowa w art. 47 ust. 1 pkt 1, oraz sposób jego wystawiania i wypełniania, mając na względzie zapewnienie zgodności wzoru tego dokumentu oraz sposobu jego wystawiania i wypełniania z zasadami obowiązującymi w prawie Unii Europejskiej.

2. Minister właściwy do spraw rolnictwa w porozumieniu z ministrem właściwym do spraw administracji publicznej określi, w drodze rozporządzenia, wykaz przejść granicznych, na których może być dokonywana kontrola graniczna pasz i pasz leczniczych, oraz rodzaje pasz i pasz leczniczych, które mogą być poddawane kontroli granicznej na poszczególnych przejściach granicznych, biorąc pod uwagę podział przejść granicznych na te, w których dokonuje się wyłącznie kontroli pasz i pasz leczniczych niezawierających materiałów pochodzących z tkanek zwierząt, i te, w których dokonuje się kontroli wszystkich pasz i pasz leczniczych.

Art. 49. 1. Wojewoda, na wniosek wojewódzkiego lekarza weterynarii, może, w przypadku gdy pasza lub pasza lecznicza stanowi poważne zagrożenie dla zdrowia ludzi i zwierząt oraz dla środowiska, w drodze rozporządzenia – aktu prawa miejscowego:

- 1) ograniczyć albo zakazać wytwarzania, obrotu lub stosowania w żywieniu zwierząt tych pasz;
- 2) nakazać badanie kliniczne zwierząt oraz badanie prób laboratoryjnych pobranych od zwierzęcia lub ze zwłok zwierzęcych, jak również przeprowadzenie sekcji zwłok zwierzęcych;
- 3) nakazać leczenie zwierząt lub wykonanie innych zabiegów na zwierzętach.

2. Minister właściwy do spraw rolnictwa może, w przypadku gdy pasza lub pasza lecznicza stanowi poważne zagrożenie dla zdrowia ludzi i zwierząt oraz dla środowiska na terytorium Rzeczypospolitej Polskiej lub jego części przekraczającej obszar województwa, w drodze rozporządzenia, zarządzić środki, o których mowa w ust. 1, mając na względzie ochronę zdrowia ludzi lub zwierząt oraz ochronę środowiska.

Art. 50. 1. Jeżeli podmiot działający na rynku pasz wykonujący działalność w zakresie wytwarzania lub obrotu paszami lub paszami leczniczymi, który wprowadził paszę do obrotu, lub osoba odpowiedzialna za przesyłkę w przypadku paszy lub paszy leczniczej przywożonej z państwa trzeciego, posiadają dowody, że pasza lub pasza lecznicza nie spełniają wymagań określonych w ustawie, co stwarza poważne zagrożenie dla zdrowia ludzi lub zwierząt oraz dla środowiska, powiadamiają o tym powiatowego lekarza weterynarii.

2. Powiadomienie, o którym mowa w ust. 1, zawiera informacje:

- 1) umożliwiające identyfikację paszy lub paszy leczniczej i ustalenie miejsca, w którym aktualnie się one znajdują;
- 2) o możliwych zagrożeniach stwarzanych przez paszę lub paszę leczniczą;

3) o działaniach podjętych w celu zapobieżenia możliwemu zagrożeniu stwarzanemu przez paszę lub paszę leczniczą.

3. Przepisy ust. 1 i 2 stosuje się odpowiednio do osób kierujących laboratoriami przeprowadzającymi analizy pasz lub pasz leczniczych.

4. Powiatowy lekarz weterynarii, po otrzymaniu informacji, że pasza lub pasza lecznicza nie spełniają wymagań określonych w ustawie, niezwłocznie podejmuje działania mające na celu niedopuszczenie do wykorzystania takiej paszy lub paszy leczniczej w żywieniu zwierząt, przystępując jednocześnie do oceny ryzyka stwarzanego przez tę paszę lub paszę leczniczą polegającej na przeprowadzeniu badań mających na celu określenie:

- 1) charakteru zagrożenia, a w przypadku gdy jest to niezbędne – zawartości substancji zabronionych lub niepożądanych;
- 2) źródła zagrożenia lub pochodzenia substancji zabronionych lub niepożądanych.

5. Powiatowy lekarz weterynarii może objąć oceną ryzyka, o której mowa w ust. 4, także inne przesyłki tej samej paszy lub paszy leczniczej, które mogą zawierać substancje niepożądane w ilości przekraczającej ich dopuszczalną zawartość lub stwarzać zagrożenie wynikające z niespełniania przez pasze wymagań określonych w ustawie.

Art. 51. 1. Powiatowy lekarz weterynarii w przypadku stwierdzenia, że pasza lub pasza lecznicza stwarzają poważne zagrożenie dla zdrowia ludzi i zwierząt oraz dla środowiska:

- 1) informuje niezwłocznie:
 - a) wojewódzkiego lekarza weterynarii o potrzebie wydania rozporządzenia, o którym mowa w art. 49 ust. 1, oraz
 - b) Głównego Lekarza Weterynarii;
- 2) przeprowadza urzędową kontrolę, aby nie dopuścić do powstania zagrożenia dla innych pasz lub pasz leczniczych.

2. W informacji, o której mowa w ust. 1 pkt 1, powiatowy lekarz weterynarii podaje dane określone w art. 47 ust. 1 oraz dane pozwalające zidentyfikować zwierzęta, które były karmione tą paszą lub paszą leczniczą.

3. Główny Lekarz Weterynarii niezwłocznie przekazuje Komisji Europejskiej informację, o której mowa w ust. 1 pkt 1, wskazując działania podjęte w tym zakresie albo działania, których podjęcie jest planowane.

4. Przepisy ust. 1-3 stosuje się odpowiednio do pasz i pasz leczniczych pochodzących z państw trzecich, które zostały przywiezione na terytorium państw członkowskich Unii Europejskiej w celu wprowadzenia ich do obrotu.

5. Główny Lekarz Weterynarii informuje Komisję Europejską i inne państwa członkowskie Unii Europejskiej o ustaniu zagrożenia, o którym mowa w ust. 1.

Art. 52. 1. Minister właściwy do spraw rolnictwa w porozumieniu z ministrem właściwym do spraw środowiska po uprzednim powiadomieniu Komisji Europejskiej, może, w przypadku poważnego zagrożenia dla zdrowia ludzi i zwierząt oraz dla środowiska, w drodze rozporządzenia:

- 1) wprowadzić czasowy zakaz przywozu na terytorium Rzeczypospolitej Polskiej lub przewozu przez jej terytorium pasz lub pasz leczniczych z państw, w których to zagrożenie występuje,
- 2) określić szczególne wymagania dla pasz lub pasz leczniczych przywożonych na terytorium Rzeczypospolitej Polskiej z innych państw
 - mając na względzie ochronę zdrowia ludzi i zwierząt oraz bezpieczeństwo środowiska, a także opinię Komisji Europejskiej w zakresie zastosowania wymienionych zakazów lub ograniczeń.

2. Minister właściwy do spraw rolnictwa niezwłocznie powiadamia Komisję Europejską i inne państwa członkowskie Unii Europejskiej o wprowadzonych zakazach lub ograniczeniach.

Art. 53. 1. Kto:

- 1) wytwarza, wprowadza do obrotu lub stosuje w żywieniu zwierząt pasze niespełniające warunków określonych w rozporządzeniu nr 183/2005, przepisach wydanych w trybie tego rozporządzenia lub ustawie,
- 2) wytwarza, wprowadza do obrotu lub stosuje w żywieniu zwierząt dodatki paszowe niespełniające warunków określonych w art. 3 ust. 1 lub ust. 3-5, art. 10 ust. 1 lub ust. 7, art. 11, art. 12 ust. 1 lub art. 16 ust. 5 rozporządzenia nr 1831/2003,
- 3) wprowadza do obrotu lub stosuje jako dodatki paszowe antybiotyki inne niż kokcydiostatyki i histomonostatyki,
- 4) wytwarza, wprowadza do obrotu lub stosuje w żywieniu zwierząt pasze, zawierające substancje, o których mowa w art. 15 ust. 1 pkt 1 lub 2,
- 5) wytwarza, wprowadza do obrotu lub stosuje w żywieniu zwierząt pasze, o których mowa w art. 15 ust. 1 pkt 3 lub 4,
- 6) wytwarza mieszanki paszowe z materiałów paszowych zawierających substancje niepożądane w ilości przekraczającej ich dopuszczalną zawartość,
- 7) wprowadza do obrotu pasze genetycznie zmodyfikowane bez uzyskania zezwolenia, o którym mowa w przepisach rozporządzenia nr 1829/2003, albo dokonuje tej czynności niezgodnie z warunkami określonymi w tym zezwoleniu,
- 8) nie wycofuje z obrotu paszy genetycznie zmodyfikowanej określonej w decyzji Komisji Europejskiej albo dokonuje tej czynności niezgodnie z tą decyzją,
- 9) nie umieszcza na wprowadzanej do obrotu paszy genetycznie zmodyfikowanej oznakowania określonego w przepisach rozporządzenia nr 1829/2003 lub rozpo-

rzządzenia nr 1830/2003 albo dokonuje tej czynności niezgodnie z tymi przepisami,

- 10) nie wykonuje obowiązku monitorowania wprowadzonej do obrotu paszy genetycznie zmodyfikowanej określonego w przepisach rozporządzenia 1829/2003 albo wykonuje ten obowiązek niezgodnie z tymi przepisami,
- 11) nie przekazuje niezwłocznie Komisji Europejskiej informacji o:
 - a) nowych danych naukowych lub technicznych, które mogą mieć wpływ na ocenę bezpieczeństwa stosowania paszy genetycznie zmodyfikowanej,
 - b) zakazach lub ograniczeniach nałożonych przez właściwe organy państwa trzeciego, w którym pasza jest wprowadzana do obrotu,
- 12) nie stosuje się do decyzji, o której mowa w art. 10 ust. 1 rozporządzenia nr 1946/2003,
- 13) dokonuje transgranicznego przemieszczania organizmów genetycznie zmodyfikowanych przeznaczonych do użytku paszowego lub do ich przetwarzania w sposób niezgodny z art. 10 ust. 3 rozporządzenia nr 1946/2003,
- 14) będąc podmiotem działającym na rynku pasz wykonuje działalność bez wymaganej rejestracji lub zatwierdzenia albo bez uprzedniego zgłoszenia zamiaru rozpoczęcia tej działalności,
- 15) przeprowadza badania naukowe z zastosowaniem jako dodatku paszowego substancji, która nie została dopuszczona do obrotu, przetwarzania lub stosowania, niezgodnie z zasadami określonymi w art. 3 ust. 2 rozporządzenia nr 1831/2003 lub bez powiadomienia powiatowego lekarza weterynarii,

- 16) przeznaczają do produkcji żywności niezgodnie z przepisami ustawy zwierzęta wykorzystywane do badań naukowych z zastosowaniem jako dodatku paszowego substancji, która nie została dopuszczona do obrotu, przetwarzania lub stosowania,
- 17) wytwarza, wprowadza do obrotu lub stosuje w żywieniu zwierząt materiały paszowe z grup, o których mowa w art. 23 ust. 1, niedopuszczone do obrotu w Unii Europejskiej,
- 18) będąc wytwórcą pasz leczniczych przeznaczonych do obrotu wytwarza, przechowuje, wprowadza do obrotu lub transportuje te pasze lub produkty pośrednie niezgodnie z wymaganiami określonymi w art. 16 ust. 1, 2 lub 4, w art. 17 ust. 1 lub 4, art. 19 ust. 1 lub art. 21 ust. 1,
- 19) będąc wytwórcą pasz leczniczych przeznaczonych na potrzeby własne wytwarza lub przechowuje te pasze niezgodnie z wymaganiami określonymi w art. 16 ust. 1, 2 lub 4 lub w art. 17 ust. 2 lub 5,
- 20) będąc dystrybutorem przechowuje, wprowadza do obrotu lub transportuje pasze lecznicze niezgodnie z wymaganiami określonymi w art. 19 ust. 1 lub 4 lub art. 21 ust. 1,
- 21) nie znakuje wprowadzanych do obrotu materiałów paszowych, mieszanek paszowych lub pasz leczniczych albo znakuje je niezgodnie z wymaganiami określonymi w art. 29 ust. 2 lub w przepisach wydanych na podstawie art. 29 ust. 8,
- 22) nie znakuje wprowadzanych do obrotu dodatków paszowych lub premiksów albo znakuje je niezgodnie z przepisami art. 16 ust. 1-4 i 6 rozporządzenia nr 1831/2003,

- 23) stosuje w żywieniu zwierząt pasze niespełniające warunków określonych w ustawie w celach innych niż do badań naukowych lub bez powiadomienia powiatowego lekarza weterynarii,
 - 24) nie informuje powiatowego lekarza weterynarii o rodzaju i ilości pasz lub pasz leczniczych przywiezionych z innego państwa członkowskiego Unii Europejskiej,
 - 25) nie informuje powiatowego lekarza weterynarii o tym, że pasza lub pasza lecznicza niespełniająca wymagań określonych w ustawie mogą stwarzać poważne zagrożenie dla zdrowia ludzi, zwierząt lub dla środowiska
- podlega karze grzywny.

2. W sprawach, o których mowa w ust. 1, orzeka się na podstawie przepisów o postępowaniu w sprawach o wykroczenia.

Art. 54. W ustawie z dnia 18 grudnia 2003 r. o krajowym systemie ewidencji producentów, ewidencji gospodarstw rolnych oraz ewidencji wniosków o przyznanie płatności (Dz. U. z 2004 r. Nr 10, poz. 76) w art. 5 ust. 3 otrzymuje brzmienie:

„3. Dane indywidualne zawarte w systemie mogą być udostępniane wyłącznie organom statystyki publicznej oraz organom Inspekcji Weterynaryjnej w zakresie identyfikacji producentów, natomiast dane zbiorcze mogą być udostępniane innym organom administracji publicznej prowadzącym systemy informacyjne.”.

Art. 55. W ustawie z dnia 29 stycznia 2004 r. o Inspekcji Weterynaryjnej (Dz. U. Nr 33, poz. 287, z późn. zm.⁴⁾) wprowadza się następujące zmiany:

1) w art. 3 w ust. 2 w pkt 5 lit. c otrzymuje brzmienie:

„c) wytwarzaniem, obrotem i stosowaniem pasz, dodatków stosowanych w żywieniu zwierząt, organizmów genetycznie zmodyfikowanych przeznaczonych do użytku paszowego i pasz genetycznie zmodyfikowanych oraz nad transgranicznym przemieszczaniem organizmów

genetycznie zmodyfikowanych przeznaczonych do użytku paszowego,”;

2) w art. 23:

a) ust. 5 otrzymuje brzmienie:

„5. Krajowe laboratoria referencyjne wykonują zadania i spełniają wymagania określone w art. 33 ust. 2 i 3 rozporządzenia (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 regułami dotyczącymi zdrowia zwierząt i dobrostanu zwierząt (Dz.Urz. UE L 165 z 30.04.2004, str. 1), zwanego dalej „rozporządzeniem nr 882/2004.”,

b) ust. 7 i 8 otrzymują brzmienie:

„7. Laboratoria, o których mowa w ust. 3 pkt 1 i 2 i ust. 4, są laboratoriami urzędowymi określonymi w art. 12 rozporządzenia nr 882/2004.

8. Zadania krajowych laboratoriów referencyjnych w zakresie:

- 1) ujednoczenia standardów i metod analitycznych,
 - 2) organizacji okresowych testów porównawczych poszczególnych metod analitycznych, stosowanych przez laboratoria urzędowe,
 - 3) sprawdzania jakości preparatów diagnostycznych używanych do badań,
 - 4) gromadzenia i przetwarzania danych dotyczących wyników badań laboratoryjnych
- są finansowane z budżetu państwa z części, której dysponentem jest minister właściwy do spraw rolnictwa.”;

3) w art. 24:

a) w ust. 2 w pkt 2 wprowadzenie do wyliczenia otrzymuje brzmienie:

„opinię właściwego dla kierunku badań krajowego laboratorium referencyjnego o:”,

b) uchyla się ust. 8;

4) art. 25 otrzymuje brzmienie:

„Art. 25. 1. Minister właściwy do spraw rolnictwa określi, w drodze rozporządzenia, krajowe laboratoria referencyjne będące krajowymi laboratoriami referencyjnymi, o których mowa w art. 33 ust. 1 rozporządzenia nr 882/2004, a w przypadku gdy dla każdego wspólnotowego laboratorium referencyjnego zostanie określone więcej niż jedno krajowe laboratorium referencyjne, określa także sposób współpracy tych laboratoriów, mając na względzie wykonywane przez te laboratoria zadania i spełnianie przez nie wymagań określonych w art. 33 ust. 2 i 3 tego rozporządzenia, a także zapewnienie efektywnej współpracy tych laboratoriów oraz koordynację ich zadań i współpracy z innymi krajowymi laboratoriami referencyjnymi i wspólnotowymi laboratoriami referencyjnymi.

2. Minister właściwy do spraw rolnictwa przekazuje informacje, o których mowa w art. 33 ust. 4 rozporządzenia nr 882/2004.

3. Minister właściwy do spraw rolnictwa jest organem właściwym w sprawie składania wniosków, o których mowa w art. 6 ust. 4 rozporządzenia Komisji (WE) nr 378/2005 z dnia 4 marca 2005 r. w sprawie szczegółowych zasad wykonania rozporządzenia (WE) nr 1831/2003 Par-

lamentu Europejskiego i Rady w zakresie obowiązków i zadań laboratorium referencyjnego Wspólnoty dotyczących wniosków.”.

Art. 56. W ustawie z dnia 11 marca 2004 r. o ochronie zdrowia zwierząt oraz zwalczaniu chorób zakaźnych zwierząt (Dz. U. Nr 69, poz. 625, z 2005 r. Nr 23, poz. 188 i Nr 33, poz. 289 oraz z 2006 r. Nr 17, poz. 127) w art. 53 ust. 2 otrzymuje brzmienie:

„2. Lekarze weterynarii są obowiązani do prowadzenia dokumentacji lekarsko-weterynaryjnej z wykonywanych zabiegów leczniczych i profilaktycznych oraz stosowanych produktów leczniczych i pasz leczniczych.”.

Art. 57. W ustawie z dnia 2 lipca 2004 r. o swobodzie działalności gospodarczej (Dz. U. Nr 173, poz. 1807, z późn. zm.⁵⁾) wprowadza się następujące zmiany:

1) w art. 75 w ust. 1 uchyla się pkt 16;

2) w art. 84 pkt 6 otrzymuje brzmienie:

„6) nadzorem weterynaryjnym, na podstawie ustawy z dnia 21 sierpnia 1997 r. o ochronie zwierząt (Dz. U. z 2003 r. Nr 106, poz. 1002, z późn. zm.⁶⁾), ustawy z dnia 6 września 2001 r. – Prawo farmaceutyczne (Dz. U. z 2004 r. Nr 53, poz. 533, z późn. zm.⁷⁾), ustawy z dnia 27 sierpnia 2003 r. o weterynaryjnej kontroli granicznej (Dz. U. Nr 165, poz. 1590, z 2004 r. Nr 69, poz. 625, z 2006 r. Nr 17, poz. 127), ustawy z dnia 10 grudnia 2003 r. o kontroli weterynaryjnej w handlu (Dz. U. z 2004 r. Nr 16, poz. 145 oraz z 2006 r. Nr 17, poz. 127), ustawy z dnia 29 stycznia 2004 r. o Inspekcji Weterynaryjnej (Dz. U. Nr 33, poz. 287, z późn. zm.⁴⁾), ustawy z dnia 11 marca 2004 r. o ochronie zdrowia zwierząt oraz zwalczaniu chorób zakaźnych zwierząt (Dz. U. Nr 69, poz. 625, z 2005 r. Nr 23, poz. 188 i Nr 33, poz. 289 oraz z 2006 r. Nr 17, poz. 127), ustawy

z dnia 16 grudnia 2005 r. o produktach pochodzenia zwierzęcego (Dz. U. z 2006 r. Nr 17, poz. 127) oraz ustawy z dnia o paszach (Dz. U. Nr, poz.).”.

Art. 58. Zezwolenia na wytwarzanie pasz leczniczych, wydane na podstawie przepisów dotychczasowych, uważa się za zatwierdzenia zakładów do wytwarzania pasz leczniczych przeznaczonych do obrotu w rozumieniu ustawy.

Art. 59. Operacyjny plan gotowości, o którym mowa w art. 44j ustawy wymienionej w art. 63, staje się operacyjnym planem awaryjnym w rozumieniu art. 13 ust. 1 rozporządzenia nr 882/2004 i zachowuje moc do dnia zatwierdzenia przez Radę Ministrów planu awaryjnego zgodnie z art. 14 ust. 3 ustawy.

Art. 60. Powiadomienia i wnioski, o których mowa w art. 18 ust. 1 i 2 rozporządzenia nr 183/2005, złożone powiatowym lekarzom weterynarii zgodnie z tymi przepisami uznaje się za złożone skutecznie.

Art. 61. Ilekroć w przepisach wdrażających lub wykonujących przepisy Unii Europejskiej lub innych przepisach dotyczących środków żywienia zwierząt jest mowa o:

- 1) środkach żywienia zwierząt – należy przez to rozumieć pasze w rozumieniu art. 3 ust. 4 rozporządzenia nr 178/2002;
- 2) przepisach o środkach żywienia zwierząt – należy przez to rozumieć przepisy ustawy.

Art. 62. Przepisy wykonawcze wydane na podstawie:

- 1) art. 4 ust. 2, art. 6 ust. 4, art. 20 ust. 5, art. 30p ust. 5, art. 30s, art. 31 ust. 2, art. 32 ust. 2, art. 36 ust. 8 pkt 1, art. 38 ust. 7 i 8, art. 42 ust. 2, art. 43j pkt 1, art. 44 ust. 10, art. 44a ust. 6 i art. 44h ustawy wymienionej w art. 63 zachowują moc do dnia wejścia w życie przepisów wykonawczych wydanych na podstawie art. 15 ust. 3, art. 17 ust. 4, art. 22 ust. 2, art. 23 ust. 7, art. 24 ust. 3, art. 25 ust. 2, art. 26 ust. 3, art. 11 ust. 5 pkt 2, art. 29 ust. 8 i 9, art. 27 ust. 2, art. 41 pkt 1, art. 44, art. 45 ust. 3 i art. 48 ustawy;

- 2) art. 25 ustawy wymienionej w art. 55 zachowują moc do dnia wejścia w życie przepisów wykonawczych wydanych na podstawie art. 25 ust. 1 tej ustawy, w brzmieniu nadanym ustawą.

Art. 63. Traci moc ustawa z dnia 23 sierpnia 2001 r. o środkach żywienia zwierząt (Dz. U. z 2005 r. Nr 255, poz. 2143).

Art. 64. Ustawa wchodzi w życie z dniem ogłoszenia.

¹⁾ Niniejszą ustawą zmienia się: ustawę z dnia 18 grudnia 2003 r. o krajowym systemie ewidencji producentów, ewidencji gospodarstw rolnych oraz ewidencji wniosków o przyznanie płatności, ustawę z dnia 29 stycznia 2004 r. o Inspekcji Weterynaryjnej, ustawę z dnia 11 marca 2004 r. o ochronie zdrowia zwierząt oraz zwalczaniu chorób zakaźnych zwierząt i ustawę z dnia 2 lipca 2004 r. o swobodzie działalności gospodarczej.

Przepisy niniejszej ustawy:

1) wykonują postanowienia:

- a) rozporządzenia (WE) nr 183/2005 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 12 stycznia 2005 r. ustanawiającego wymagania dotyczące higieny pasz (Dz.Urz. UE L 35 z 8.02. 2005, str. 1),
- b) rozporządzenia (WE) nr 1831/2003 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 22 września 2003 r. w sprawie dodatków stosowanych w żywieniu zwierząt (Dz.Urz. UE L 268 z 18.10.2003, str. 29; Dz.Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 40, str. 238),
- c) rozporządzenia (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 regułami dotyczącymi zdrowia zwierząt i dobrostanu zwierząt (Dz.Urz. UE L 165 z 30.04.2004, str. 1; Dz.Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 45, str. 200) w zakresie dotyczącym pasz,
- d) rozporządzenia (WE) nr 999/2001 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 22 maja 2001 r. ustanawiającego zasady dotyczące zapobiegania, kontroli i zwalczania niektórych przenośnych gąbczastych encefalopatii (Dz.Urz. WE L 147 z 31.05.2001, str. 1, z późn. zm.; Dz.Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 32, str. 289) w zakresie dotyczącym pasz,
- e) rozporządzenia (WE) nr 1829/2003 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 22 września 2003 r. w sprawie genetycznie zmodyfikowanej żywności i paszy (Dz.Urz. UE L 268 z 18.10.2003, str. 1; Dz.Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 13, t. 32, str. 432),
- f) rozporządzenia (WE) nr 1830/2003 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 22 września 2003 r. dotyczącego możliwości śledzenia i etykietowania organizmów zmodyfikowanych genetycznie oraz możliwości śledzenia żywności i produktów paszowych wyprodukowanych z organizmów zmodyfikowanych genetycznie i zmieniającego dyrektywę 2001/18/WE (Dz.Urz. UE L 268 z 18.10.2003, str. 24; Dz.Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 13, t. 32, str. 455),
- g) rozporządzenia Komisji (WE) nr 641/2004 z dnia 6 kwietnia 2004 r. w sprawie szczegółowych zasad wykonywania rozporządzenia WE 1829/2003 r. Parlamentu Europejskiego i Rady odnoszącego się do wniosków o zatwierdzenie nowego typu żywności i paszy genetycznie zmodyfikowanej, powiadamiania o istniejących produktach oraz przypadkowym lub technicznie nieuniknionym występowaniu materiału genetycznie zmodyfikowanego, który pomyślnie przeszedł ocenę ryzyka do projektu (Dz.Urz. UE L 102 z 7.4.2004, str. 14; Dz.Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 13, t. 34, str. 36),
- h) rozporządzenia (WE) nr 178/2002 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 28 stycznia 2002 r. ustanawiającego ogólne zasady i wymagania prawa żywnościowego, powołującego Europejski Urząd do spraw Bezpieczeństwa Żywności oraz ustanawiającego procedury w zakresie bezpieczeństwa żywności (Dz.Urz. WE L 31 z 1.02.2002, str. 1, z późn. zm.; Dz.Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 15, t. 6, str. 463, z późn. zm.),
- i) rozporządzenia Komisji (WE) nr 378/2005 z dnia 4 marca 2005 r. w sprawie szczegółowych zasad wykonania rozporządzenia (WE) nr 1831/2003 Parlamentu Europejskiego i Rady w zakresie obowiązków i zadań laboratorium referencyjnego Wspólnoty dotyczących wniosków o wydanie zezwolenia na stosowanie dodatków paszowych (Dz.Urz. UE L 59 z 5.03.2005, str. 8),

-
- j) rozporządzenia (WE) nr 1946/2003 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 15 lipca 2003 r. w sprawie transgranicznego przemieszczania organizmów genetycznie zmodyfikowanych (Dz.Urz. UE L 287 z 5.11.2003, str. 1; Dz.Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 15, t. 7, str. 650);
- 2) wdrażają postanowienia:
- a) dyrektywy Komisji 70/524/EWG z dnia 23 listopada 1970 r. dotyczącej dodatków paszowych (Dz.Urz. WE L 270 z 14.12.1970, str. 1; Dz.Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 1, str. 190, z późn. zm.),
 - b) dyrektywy Komisji 71/250/EWG z dnia 15 czerwca 1971 r. ustanawiającej wspólnotowe metody analizy do celów urzędowej kontroli pasz (Dz.Urz. WE L 155 z 12.07.1971, str. 13; Dz.Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 1, str. 237, z późn. zm.),
 - c) dyrektywy Komisji 71/393/EWG z dnia 18 listopada 1971 r. ustanawiającej wspólnotowe metody analizy do celów urzędowej kontroli pasz (Dz.Urz. WE L 279 z 20.12.1971, str. 7; Dz.Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 1, str. 277, z późn. zm.),
 - d) dyrektywy Komisji 72/199/EWG z dnia 27 kwietnia 1972 r. ustalającej wspólnotowe metody analizy do celów urzędowej kontroli pasz (Dz.Urz. WE L 123 z 29.05.1972, str. 6; Dz.Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 1, str. 306, z późn. zm.),
 - e) dyrektywy Komisji 73/46/EWG z dnia 5 grudnia 1972 r. ustanawiającej wspólnotowe metody analizy do celów urzędowej kontroli pasz (Dz.Urz. WE L 083 z 30.03.1973, str. 21; Dz.Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 2 str. 12, z późn. zm.),
 - f) dyrektywy Komisji 76/372/EWG z dnia 1 marca 1976 r. ustanawiającej wspólnotowe metody analizy do celów urzędowej kontroli pasz (Dz.Urz. WE L 102 z 15.04.1976, str. 8; Dz.Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 3, str. 28, późn. zm.),
 - g) dyrektywy Rady 76/895/EWG z dnia 23 listopada 1976 r. odnoszącej się do ustalania najwyższych dopuszczalnych poziomów pozostałości pestycydów w owocach i warzywach oraz na ich powierzchni (Dz.Urz. WE L 340 z 9.12.1976, str. 26; Dz.Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 3, str. 61; Dz.Urz. WE L 102 z 19.4.1980, str. 26, z późn. zm.),
 - h) dyrektywy Komisji 78/633/EWG z dnia 15 czerwca 1978 r. ustanawiającej wspólnotowe metody analizy do celów urzędowej kontroli pasz (Dz.Urz. WE L 206 z 29.07.1978, str. 43; Dz.Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 3, str. 250, z późn. zm.),
 - i) dyrektywy Rady 79/373/EWG z dnia 2 kwietnia 1979 r. w sprawie obrotu mieszanekami paszowymi (Dz.Urz. WE L 86 z 6.04.1979, str. 30, z późn. zm.; Dz.Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 4, str. 50, z późn. zm.),
 - j) dyrektywy Komisji 80/511/EWG z dnia 2 maja 1980 r. dopuszczającej w niektórych przypadkach wprowadzanie do obrotu mieszanek paszowych w niezamkniętych szczelnie opakowaniach lub pojemnikach (Dz.Urz. UE L 126 z 21.5.1980, str. 14; Dz.Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 4, str. 192, późn. zm.),
 - k) dyrektywy Komisji 81/715/EWG z dnia 31 lipca 1981 r. ustanawiającej wspólnotowe metody analizy do celów urzędowej kontroli pasz (Dz.Urz. WE L 257 z 10.09.1981, str. 38; Dz.Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 5, str. 76),
 - l) dyrektywy Rady 82/471/EWG z dnia 30 czerwca 1982 r. dotyczącej niektórych produktów stosowanych w żywieniu zwierząt (Dz.Urz. WE L 213 z 21.07.1982, str. 8, z późn. zm.; Dz.Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 5, str. 151, z późn. zm.),
 - m) dyrektywy Komisji nr 82/475/EWG z dnia 23 czerwca 1982 r. ustanawiającej kategorii składników, które mogą być stosowane do celów etykietowania mieszanek paszowych dla zwierząt domowych (Dz.Urz. WE L 213 z 21.7.1982, str. 27; Dz.Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 5, str. 158, z późn. zm.),
 - n) dyrektywy Rady 83/228 z dnia 18 kwietnia 1983 w sprawie ustalenia wskazówek dotyczących oceny niektórych produktów stosowanych w żywieniu zwierząt (Dz.Urz. WE L 126 z 13.5.1983, str. 23; Dz.Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 5, str. 261),
 - o) dyrektywy Komisji 84/425/EWG z dnia 25 lipca 1984 r. ustanawiającej wspólnotowe metody analizy do celów urzędowej kontroli pasz (Dz.Urz. WE L 238 z 6.09.1984, str. 34; Dz.Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 6, str. 111),
 - p) dyrektywy Komisji 86/174/EWG z dnia 9 kwietnia 1986 r. określającej metodę obliczania wartości energetycznej mieszanek paszowych dla drobiu (Dz.Urz. WE L 130 z 16.5.1986, str. 53; Dz.Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 7, str. 29),
 - r) dyrektywy Rady 86/363/EWG z dnia 24 lipca 1986 r. w sprawie ustalania najwyższych dopuszczalnych poziomów pozostałości pestycydów w środkach spożywczych pochodzenia zwierzęcego i na ich powierzchni (Dz.Urz. WE L 221 z 7.8.1986, str. 43; Dz.Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 7, str. 80, z późn. zm.),
 - s) dyrektywy Rady 87/153/EWG z dnia 16 lutego 1987 r. ustalającej wskazówki dotyczące oceny dodatków stosowanych w żywieniu zwierząt (Dz.Urz. WE L 64 z 7.3.1987, str. 19; Dz.Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 7, str. 184),

-
- t) dyrektywy Rady 90/167/EWG z dnia 26 marca 1990 r. ustanawiającej warunki przygotowania, wprowadzania do obrotu i użycia pasz leczniczych we Wspólnocie (Dz.Urz. L 92 z 7.4.1990, str. 42; Dz.Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 10, str. 57),
 - u) dyrektywy Komisji 93/70/EWG z dnia 28 lipca 1993 r. ustanawiającej wspólnotowe metody analizy do celów urzędowej kontroli pasz (Dz.Urz. WE L 234 z 17.09.1993, str. 17; Dz.Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 15, str. 67),
 - w) dyrektywy Rady 93/74/EWG z dnia 13 września 1993 r. w sprawie pasz przeznaczonych do szczególnych potrzeb żywieniowych (Dz.Urz. L 237 z 22.9.1993, str. 23; Dz.Urz. Polskie wydanie specjalne rozdz. 3, t. 15, str. 74, z późn. zm.),
 - x) dyrektywy Rady 93/113/WE z dnia 14 grudnia 1993 r. dotyczącej stosowania enzymów, mikroorganizmów i ich preparatów w żywieniu zwierząt oraz obrotu nimi (Dz.Urz. L 334 z 31.12.1993, str. 17; Dz.Urz. Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 15, str. 263, z późn. zm.),
 - y) dyrektywy Komisji 93/117/WE z dnia 17 grudnia 1993 r. ustanawiającej wspólnotowe metody analizy do celów urzędowej kontroli pasz (Dz.Urz. WE L 329 z 30.12.1993, str. 54; Dz.Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 15, str. 254),
 - z) dyrektywy Komisji 94/39/WE z dnia 25 lipca 1994 r. ustanawiającej wykaz planowanych zastosowań pasz zwierzęcych przeznaczonych do szczególnych potrzeb żywieniowych (Dz.Urz. WE L 207 z 10.8.94, str. 20, z późn. zm.),
 - za) dyrektywy Rady 96/25/WE z dnia 29 kwietnia 1996 r. w sprawie obrotu materiałami paszowymi, zmieniającej dyrektywy 70/524/EWG, 74/63/EWG, 82/471/EWG i 93/74/EWG oraz uchylającej dyrektywę 77/101/ EWG (Dz.Urz. WE L 125 z 23.05.1996, str. 35, z późn. zm.; Dz.Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 19, str. 96, z późn. zm.),
 - zb) dyrektywy Rady 98/51/WE z dnia 9 lipca 1998 r. ustanawiającej niektóre środki w celu wykonania dyrektywy Rady 95/69/WE ustanawiającej warunki i środki dla zatwierdzania i rejestracji określonych zakładów i pośredników prowadzących działalność w sektorze pasz zwierzęcych (Dz.Urz. WE L 208 z 24.7.1998, str. 43; Dz.Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 23, str. 282, z późn. zm.),
 - zc) dyrektywy Komisji 98/64/WE z dnia 3 września 1998 r. ustanawiającej wspólnotowe metody analiz do oznaczenia aminokwasów, surowych olejów i tłuszczów oraz olaquindoksu w paszach i zmieniającej dyrektywę 71/393/EWG (Dz.Urz. WE L 257 z 19.09.1998, str. 14; Dz.Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 23, str. 433),
 - zd) dyrektywy Komisji 98/68/WE z dnia 10 września 1998 r. ustanawiającej dokument wzorcowy określony w art. 9 ust. 1 dyrektywy Rady 95/53/WE i niektóre reguły kontroli przy wprowadzaniu do Wspólnoty pasz z państw trzecich (Dz.Urz. WE L 261 z 24.09.1998; Dz.Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 24, str. 3),
 - ze) dyrektywy Komisji 1999/27/WE z dnia 20 kwietnia 1999 r. ustanawiającej wspólnotowe metody analiz dla oznaczania amprolium, diklaurilu i karbadoksu w paszach oraz zmieniającej dyrektywę 71/250/EWG, 73/46/EWG i uchylającej dyrektywę 74/203/EWG (Dz.Urz. WE L 118 z 06.05.1999, str. 36; Dz.Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 25, str. 235),
 - zf) dyrektywy Komisji 1999/76/WE z dnia 23 lipca 1999 r. ustanawiającej wspólnotową metodę analizy w celu oznaczania lasalocidu soli sodowej w paszach (Dz.Urz. WE L 207 z 06.08.1999, str. 13; Dz.Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 26, str. 250),
 - zg) dyrektywy Komisji 2000/45/WE z dnia 6 lipca 2000 r. ustanawiającej wspólnotowe metody analizy do celów oznaczania witaminy A, witaminy E i tryptofanu w paszach (Dz.Urz. WE L 174 z 13.07.2000, str. 32; Dz.Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 30, str. 12),
 - zh) dyrektywy 2002/32 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 7 maja 2002 r. w sprawie niepożądaných substancji w paszach zwierzęcych (Dz.Urz. UE L 140 z 30.5.2002, str. 10; Dz.Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 36, str. 3, z późn. zm.),
 - zi) dyrektywy Komisji 2002/70/WE z dnia 26 lipca 2002 r. ustanawiającej wymagania dotyczące określania poziomów dioksyn i dioksynopochodnych polichlorowanych bifenyli (PCB) w paszach (Dz.Urz. WE L 209 z 06.08.2002, str. 15; Dz.Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 36, str. 430),
 - zj) dyrektywy Komisji 2003/126/WE z dnia 23 grudnia 2003 r. w sprawie analitycznej metody określania składników pochodzenia zwierzęcego do celów urzędowej kontroli pasz (Dz.Urz. WE L 339 z 24.12.2003, str. 78),
 - zk) decyzji Komisji 2004/217/WE z dnia 1 marca 2004 r. przyjmującej wykaz materiałów, którymi obrót i których stosowanie w żywieniu zwierząt jest zakazane (Dz.Urz. WE L 67 z 5.3.2004, str. 31).
- ²⁾ Zmiany tekstu jednolitego wymienionej ustawy zostały ogłoszone w Dz. U. z 2003 r. Nr 162, poz. 1568 i Nr 190, poz. 1864, z 2004 r. Nr 19, poz. 177, Nr 69, poz. 624, Nr 91, poz. 873, Nr 238, poz. 2390 i Nr 273, poz. 2702 oraz z 2005 r. Nr 17, poz. 141, Nr 33, poz. 288, Nr 159, poz. 1548, Nr 169, poz. 1414 i 1417 i Nr 267, poz. 2258.
- ³⁾ Przepisy dyrektywy 82/471/EWG z dnia 30 czerwca 1982 r. dotyczącej niektórych produktów stosowanych w żywieniu zwierząt (Dz.Urz. WE L 213 z 21.07.1982, str. 8, z późn. zm.; Dz.Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 5, str. 151, z późn. zm.).

-
- 4) Zmiany wymienionej ustawy zostały ogłoszone w Dz. U. z 2004 r. Nr 91, poz. 877 i Nr 273, poz. 2703, z 2005 r. Nr 23, poz. 188, Nr 33, poz. 289, Nr 163, poz. 1362 i Nr 178, poz. 1480 oraz z 2006 r. Nr 17, poz. 127.
 - 5) Zmiany wymienionej ustawy zostały ogłoszone w Dz. U. z 2004 r. Nr 281, poz. 2777, z 2005 r. Nr 33, poz. 289, Nr 94, poz. 788, Nr 143, poz. 1199, Nr 175, poz. 1460 i Nr 177, poz. 1468 oraz z 2006 r. Nr 17, poz. 127.
 - 6) Zmiany wymienionej ustawy zostały ogłoszone w Dz. U. z 2004 r. Nr 69, poz. 625, Nr 92, poz. 880 i Nr 96, poz. 959 oraz z 2005 r. Nr 33, poz. 289 i Nr 175, poz. 1462.
 - 7) Zmiany tekstu jednolitego wymienionej ustawy zostały ogłoszone w Dz. U. z 2004 r. Nr 69, poz. 625, Nr 91, poz. 877, Nr 92, poz. 882, Nr 93, poz. 896, Nr 173, poz. 1808, Nr 210, poz. 2135 i Nr 273, poz. 2703 oraz z 2005 r. Nr 94, poz. 787, Nr 163, poz. 1362, Nr 179, poz. 1485 i Nr 184, poz. 1539.

UZASADNIENIE

Projekt ustawy o paszach uchyla w całości obowiązującą obecnie ustawę z dnia 23 sierpnia 2001 r. o środkach żywienia zwierząt (Dz. U. z 2005 r. Nr 255, poz. 2143).

Celem projektowanej ustawy jest właściwe wykonanie przepisów Unii Europejskiej w zakresie wytwarzania, wprowadzania do obrotu i stosowania w żywieniu zwierząt pasz i pasz leczniczych. Dotychczas materia objęta projektowaną regulacją stanowiła głównie przedmiot uregulowania dyrektyw Unii Europejskiej, które zostały wdrożone do prawa polskiego w drodze ustawy z dnia 23 sierpnia 2001 r. o środkach żywienia zwierząt.

Obecnie znaczna część materii objętej dyrektywami została uregulowana w drodze rozporządzeń Parlamentu Europejskiego i Rady bądź rozporządzeń Komisji.

Należy tu wymienić następujące rozporządzenia:

- 1) rozporządzenie (WE) nr 178/2002 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 28 stycznia 2002 r. ustanawiające ogólne zasady i wymagania prawa żywnościowego, powołujące Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności oraz ustanawiające procedury w zakresie bezpieczeństwa żywności (Dz.Urz. WE L 31 z 1.02.2002, str. 1);
- 2) rozporządzenie (WE) nr 1831/2003 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 22 września 2003 r. w sprawie dodatków stosowanych w żywieniu zwierząt (Dz.Urz. WE L 268 z 18.10.2003);
- 3) 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 regułami dotyczącymi zdrowia zwierząt i dobrostanu zwierząt (Dz.Urz. UE L 165 z 30.04.2004, str. 1);
- 4) rozporządzenie (WE) nr 183/2005 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 12 stycznia 2005 r. ustanawiające wymagania dotyczące higieny pasz (Dz.Urz. UE L 35 z 8.02.2005, str. 1);
- 5) rozporządzenie Komisji (WE) nr 378/2005 z dnia 4 marca 2005 r. w sprawie

szczegółowych zasad wykonania rozporządzenia (WE) nr 1831/2003 Parlamentu Europejskiego i Rady w zakresie obowiązków i zadań laboratorium referencyjnego Wspólnoty dotyczących wniosków o wydanie zezwolenia na stosowanie dodatków paszowych (Dz.Urz. UE L 59 z 5.03.2005, str. 8).

Wymienione wyżej przepisy dotyczą zarówno ogólnych zasad w zakresie szeroko rozumianego prawa żywnościowego i prawa paszowego (rozporządzenie nr 178/2002), urzędowych kontroli żywności i środków żywienia zwierząt (rozporządzenie nr 882/2004), jak i zagadnień dotyczących wyłącznie środków żywienia zwierząt, a zwłaszcza wymagań w zakresie higieny pasz (rozporządzenie nr 183/2005) i w sprawie szczegółowych zasad wykonania rozporządzenia (WE) nr 1831/2003 Parlamentu Europejskiego i Rady w zakresie obowiązków i zadań laboratorium referencyjnego Wspólnoty dotyczących wniosków o wydanie zezwolenia na stosowanie dodatków paszowych (rozporządzenie nr 378/2005).

Z dniem 1 stycznia 2006 r. na podstawie art. 61 ust. 1 rozporządzenia nr 882/2004 zostały uchylone następujące dyrektywy:

- 1) dyrektywa Komisji 70/373/EWG z dnia 20 lipca 1970 r. w sprawie wprowadzenia wspólnotowych metod pobierania próbek i analizy do celów urzędowej kontroli pasz (Dz.Urz. WE L 170 z 03.08.1970, str. 2, z późn. zm.) – dyrektywa ta została wdrożona do polskiego systemu prawnego przepisami ustawy z dnia 23 sierpnia 2001 r. o środkach żywienia zwierząt oraz przepisami wykonawczymi wydanymi na jej podstawie;
- 2) dyrektywa Rady 95/53/WE z dnia 25 października 1995 r. ustalająca zasady regulujące organizację kontroli urzędowych w zakresie żywienia zwierząt (Dz.Urz. UE L 265 z 8.11.1995, str. 17, z późn. zm.) – dyrektywa ta została wdrożona do polskiego systemu prawnego przepisami ustawy z dnia 23 sierpnia 2001 r. o środkach żywienia zwierząt oraz przepisami wykonawczymi wydanymi na jej podstawie, a także
- 3) decyzja Rady 98/728/WE z dnia 14 grudnia 1998 r. dotycząca wspólnotowego systemu opłat w sektorze pasz zwierzęcych (Dz.Urz. UE L 346 z 22.12.1998, str. 51).

Rozporządzenie (WE) nr 183/2005 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 12 stycznia 2005 r. ustanawiające wymagania dotyczące higieny pasz (Dz.Urz. UE L 35 z 8.02.2005, str. 1) uchyla dwie dyrektywy:

- 1) dyrektywę Rady 95/69/WE z dnia 22 grudnia 1995 r. ustanawiającą warunki i środki dla zatwierdzania i rejestracji określonych zakładów i pośredników prowadzących działalność w sektorze pasz zwierzęcych i zmieniającą dyrektywy 70/524/EWG, 74/63/EWG, 79/373/EWG i 82/471/EWG (Dz.Urz. WE L 332 z 30.12.1995, str. 15, z późn. zm.);
- 2) dyrektywę Rady 98/51/WE z dnia 9 lipca 1998 r. ustanawiającą niektóre środki w celu wykonania dyrektywy Rady 95/69/WE ustanawiającej warunki i środki dla zatwierdzania i rejestracji określonych zakładów i pośredników prowadzących działalność w sektorze pasz zwierzęcych (Dz.Urz. WE L 208 z 24.07.1998, str. 43, z późn. zm.).

Obie wymienione wyżej dyrektywy zostały implementowane do polskiego porządku prawnego przepisami ustawy o środkach żywienia zwierząt oraz przepisami aktów wykonawczych wydanymi na jej podstawie.

Przepisy rozporządzenia nr 183/2005 stosuje się od dnia 1 stycznia 2006 r. i z tym dniem wymienione przepisy ustawy i aktów wykonawczych w zakresie objętym uchylonymi dyrektywami powinny zostać zastąpione odpowiednimi przepisami.

Rozporządzenie (WE) nr 1831/2003 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 22 września 2003 r. w sprawie dodatków stosowanych w żywieniu zwierząt (Dz.Urz. WE L 268 z 18.10.2003) zostało już wykonane w polskim ustawodawstwie przepisami ustawy z dnia 25 listopada 2004 r. o zmianie ustawy o środkach żywienia zwierząt (Dz. U. Nr 281, poz. 2776), która weszła w życie z dniem 13 stycznia 2005 r.

Przepisy rozporządzeń Unii Europejskiej wiążą w całości państwa członkowskie Unii Europejskiej i na ich terytorium są stosowane bezpośrednio, z czym wiąże się również zakaz regulowania w prawie krajowym spraw uregulowanych w rozporządzeniach. Biorąc pod uwagę powyższe, należało dokonać odpowiednich zmian w ustawie z dnia 23 sierpnia 2001 r. o środkach żywienia zwierząt.

W związku z tym, że wiązałyby się to z uchycieniem znacznej części przepisów ustawy w zakresie dotyczącym środków żywienia zwierząt, przez co stałaby się ona mało czytelna, oraz zważywszy, że znaczna część przepisów została już uchylona w związku z wykonaniem rozporządzenia (WE) nr 1831/2003 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 22 września 2003 r. w sprawie dodatków stosowanych w żywieniu zwierząt (Dz.Urz. WE L 268 z 18.10.2003), wydaje się właściwym opracowanie projektu nowej ustawy.

Projekt ustawy składa się z przepisów mających dwojaki charakter. Pierwsze mają charakter kompetencyjny i stanowią wykonanie wymienionych wyżej przepisów rozporządzeń Unii Europejskiej. Drugie wdrażają postanowienia dyrektyw.

Przepisy o charakterze kompetencyjnym określają właściwość organów w zakresie higieny i urzędowej kontroli pasz oraz dodatków stosowanych w żywieniu zwierząt, określonych w przepisach: rozporządzenia nr 178/2002, rozporządzenia nr 882/2004, rozporządzenia nr 1831/2003, rozporządzenia nr 378/2005 oraz rozporządzenia nr 183/2005.

W zakresie, w jakim przepisy ustawy wdrażają postanowienia dyrektyw Unii Europejskiej, ustawa reguluje:

- 1) zasady wytwarzania i stosowania pasz leczniczych oraz obrotu nimi, a także wymagania dotyczące jakości tych pasz;
- 2) wymagania dotyczące higieny pasz i wprowadzania ich do obrotu oraz
- 3) sposób sprawowania nadzoru i urzędowej kontroli pasz oraz pasz leczniczych.

Przepisy projektowanej ustawy w ww. zakresie wdrażają postanowienia m.in. następujących dyrektyw:

- 1) 79/373/EWG z dnia 2 kwietnia 1979 r. w sprawie obrotu mieszankami paszowymi (Dz.Urz. WE L 86 z 6.04.1979, str. 30; Dz.Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz.3, t. 4, str. 50);
- 2) 82/471/EWG z dnia 30 czerwca 1982 r. dotyczącej niektórych produktów stosowanych w żywieniu zwierząt (Dz.Urz. WE L 213 z 21.07.1982, str. 8; Dz.Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz.3, t. 5, str. 151);

- 3) 96/25/WE z dnia 29 kwietnia 1996 r. w sprawie obrotu materiałami paszowymi, zmieniającej dyrektywy 70/524/EWG, 74/63/EWG, 82/471/EWG i 93/74/EWG oraz uchylającej dyrektywę 77/101/EWG (Dz.Urz. WE L 125 z 23.05.1996, str. 35; Dz.Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3 , t. 19, str. 96);
- 4) 70/524/EWG z dnia 23 listopada 1970 r. dotyczącej dodatków paszowych (Dz.Urz. WE L 270 z 14.12.1970, str. 1; Dz.Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3 , t. 1, str. 190).

Jedną z istotnych zmian, jakie wprowadzono w projekcie ustawy, jest tytuł ustawy – ustawa o paszach. Do tej pory tytuł ustawy brzmiał – ustawa o środkach żywienia zwierząt. Zmiana tytułu wynika z konieczności dostosowania nazewnictwa projektu ustawy do nazewnictwa przyjętego w wymienionych wyżej rozporządzeniach. Konsekwencją tego jest przyjęcie w całym projekcie ustawy określenia „pasz” zamiast określenia „środku żywienia zwierząt”. Inne istotne zmiany to:

- 1) wprowadzenie zamiast zezwoleń na wykonywanie działalności gospodarczej w zakresie wytwarzania środków żywienia zwierząt i pasz leczniczych oraz obrotu nimi – rejestracji i zatwierdzania zakładów – zgodnie z przepisami rozporządzenia nr 183/2005;
- 2) prowadzenie przez powiatowych lekarzy weterynarii wykazów zarejestrowanych i zatwierdzonych zakładów;
- 3) prowadzenie przez Głównego Lekarza Weterynarii krajowego wykazu zakładów – zamiast dotychczasowej ewidencji przedsiębiorców prowadzących działalność gospodarczą w zakresie wytwarzania środków żywienia zwierząt lub pasz leczniczych;
- 4) opracowywanie przez Głównego Lekarza Weterynarii operacyjnego planu awaryjnego na wypadek wystąpienia zagrożeń związanych z wytwarzaniem i wprowadzaniem do obrotu pasz i ich stosowaniem w żywieniu zwierząt – zgodnie z rozporządzeniem nr 882/2004, zamiast dotychczasowego operacyjnego planu gotowości.

Nadal pozostawiono kontrolę urzędową i nadzór nad wytwarzaniem, obrotem i stosowaniem pasz oraz pasz leczniczych w kompetencji Inspekcji

Weterynaryjnej, a nadzór nad obrotem paszami przeznaczonymi dla zwierząt domowych, z wyłączeniem zakładów leczniczych dla zwierząt – Inspekcji Handlowej.

Projektowana ustawa zmienia ustawę z dnia 18 grudnia 2003 r. o krajowym systemie ewidencji producentów, ewidencji gospodarstw rolnych oraz ewidencji wniosków o przyznanie płatności (Dz. U. z 2004 r. Nr 10, poz. 76). Proponowana zmiana umożliwi przekazywanie Inspekcji Weterynaryjnej danych indywidualnych zawartych w systemie w zakresie identyfikacji producentów. Na podstawie dotychczasowych przepisów wszelkie dane zawarte w systemie mogły być udostępniane wyłącznie organom statystyki publicznej, natomiast dane zbiorcze mogły być udostępniane innym organom administracji publicznej prowadzącym systemy informacyjne.

Ponadto projektowaną ustawą zmienia się również ustawę z dnia 11 marca 2004 r. o ochronie zdrowia zwierząt oraz zwalczaniu chorób zakaźnych zwierząt (Dz. U. Nr 69, poz. 625, z późn. zm.). Proponowana zmiana ma na celu określenie, że dokumentacja lekarsko-weterynaryjna prowadzona przez powiatowego lekarza weterynarii powinna uwzględniać także stosowane w leczeniu zwierząt pasze lecznicze.

Projektowaną ustawą zmienia się również ustawę z dnia 29 stycznia 2004 r. o Inspekcji Weterynaryjnej (Dz. U. Nr 33, poz. 287, z późn. zm.). Zmiana ta ma na celu:

- 1) rozszerzenie zakresu nadzoru sprawowanego przez Inspekcję Weterynaryjną o zagadnienia dotyczące genetycznie zmodyfikowanych organizmów do użytku paszowego i genetycznie zmodyfikowanych pasz łącznie z ich transgranicznym przemieszczaniem oraz
- 2) ujednoczenie przepisów w zakresie urzędowych laboratoriów i krajowych laboratoriów referencyjnych, określonych obecnie w rozporządzeniu nr 882/2004.

Projektowaną ustawą zmienia się również ustawę z dnia 2 lipca 2004 r. o swobodzie działalności gospodarczej (Dz. U. Nr 173, poz. 1807, z późn. zm.). Przepisy Unii Europejskiej dotyczące pasz określają jedynie wymagania, jakie powinien spełniać zakład, w którym wytwarza się pasze, oraz wymagają

zatwierdzenia lub rejestracji takich zakładów. Instytucja zatwierdzenia zakładu nie jest tożsama z zezwoleniem na prowadzenie działalności gospodarczej, gdyż zatwierdzenie dotyczy jedynie miejsca, w którym prowadzona jest taka działalność. W związku z powyższym w ww. ustawie w art. 75 w ust. 1 proponuje się skreślić pkt 16. Ponadto, ze względu na fakt, że ustawa z dnia 23 sierpnia 2001 r. o środkach żywienia zwierząt ma być uchylona projektowaną ustawą, w ww. ustawie proponuje się również dokonać zmiany art. 84 pkt 6, polegającej na zastąpieniu w treści tego artykułu uchylanej ustawy o środkach żywienia zwierząt projektowaną ustawą o paszach.

Projekt niniejszej ustawy był przedmiotem uzgodnień z członkami Rady Ministrów. Jednakże na skutek ww. uzgodnień zakres przedmiotowy projektowanej regulacji uległ rozszerzeniu przez wprowadzenie regulacji w zakresie wykonania przepisów Unii Europejskiej dotyczących organizmów genetycznie zmodyfikowanych, w tym pasz zmodyfikowanych genetycznie, tj:

- 1) rozporządzenia (WE) nr 1829/2003 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 22 września 2003 r. w sprawie genetycznie zmodyfikowanej żywności i paszy (Dz.Urz. UE L 268 z 18.10.2003, str. 1);
- 2) rozporządzenia (WE) nr 1830/2003 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 22 września 2003 r. dotyczącego możliwości śledzenia i etykietowania organizmów zmodyfikowanych genetycznie oraz możliwości śledzenia żywności i produktów paszowych wyprodukowanych z organizmów zmodyfikowanych genetycznie i zmieniającego dyrektywę 2001/18/WE (Dz.Urz. UE L 268 z 18.10.2003, str. 24);
- 3) rozporządzenia (WE) nr 1946/2003 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 15 lipca 2003 r. w sprawie transgranicznego przemieszczania organizmów genetycznie zmodyfikowanych (Dz.Urz. UE L 287 z 5.11.2003, str. 1);
- 4) rozporządzenia Komisji (WE) nr 641/2004 z dnia 6 kwietnia 2004 r. w sprawie szczegółowych zasad wykonywania rozporządzenia (WE) nr 1829/2003 Parlamentu Europejskiego i Rady odnoszącego się do wniosków o zatwierdzenie nowego typu żywności i paszy genetycznie zmodyfikowanej, powiadamiania o istniejących produktach, oraz przypadkowym lub technicznie nieuniknionym występowaniu materiału genetycznie zmodyfikowanego, który pomyślnie przeszedł ocenę ryzyka.

Powyższe rozporządzenia dotyczące organizmów genetycznie zmodyfikowanych weszły w życie przed przystąpieniem Rzeczypospolitej Polskiej do Unii Europejskiej i powinny być stosowane w naszym państwie z dniem 1 maja 2004 r.

Projekt ustawy stanowi, że minister właściwy do spraw rolnictwa, w sprawach dotyczących genetycznie zmodyfikowanych organizmów do użytku paszowego i genetycznie zmodyfikowanych pasz, wykonuje zadania, kompetencje i obowiązki właściwego organu krajowego, właściwego organu w państwie członkowskim Unii Europejskiej, określonych w rozporządzeniach nr 1829/2003 i nr 1830/2003. Natomiast w sprawach transgranicznego przemieszczania organizmów genetycznie zmodyfikowanych do użytku paszowego lub pasz genetycznie zmodyfikowanych Główny Lekarz Weterynarii wykonuje zadania, kompetencje i obowiązki państwa członkowskiego Unii Europejskiej.

Przepisy rozporządzeń Unii Europejskiej zawartych w systemie w zakresie identyfikacji producentów z zakresu organizmów genetycznie zmodyfikowanych, w tym pasz zmodyfikowanych genetycznie, są przepisami dotyczącymi nie tylko pasz zmodyfikowanych genetycznie, ale również żywności zmodyfikowanej genetycznie. Już z tego wynikać może, że zgodnie z przepisami o działach administracji rządowej – ustawa z dnia 4 września 1997 r. o działach administracji rządowej (Dz. U. z 2003 r. Nr 159, poz. 154, z późn. zm.) – rozporządzenia te powinny być wykonywane w zakresie dotyczącym żywności przez ministra właściwego do spraw zdrowia (vide art. 33 ust. 1 ustawy), a w zakresie dotyczącym środków żywienia zwierząt przez ministra właściwego do spraw rolnictwa (vide art. 22 ust. 1 ustawy). Należy jednak pamiętać, że przepisy te stanowią jeden z elementów większej całości przepisów Unii Europejskiej dotyczących organizmów genetycznie zmodyfikowanych, z których podstawowymi aktami prawnymi są:

- 1) dyrektywa 90/219/EWG z dnia 23 kwietnia 1990 r. w sprawie ograniczonego stosowania mikroorganizmów zmodyfikowanych genetycznie (Dz.Urz. WE L 117 z 8.05.1990, str. 1 i n., z późn. zm.);
- 2) dyrektywa 2001/18/WE Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 12 marca 2001 r. w sprawie zamierzonego uwalniania do środowiska organizmów zmodyfikowanych genetycznie i uchylająca dyrektywę Rady 90/220/EWG

(Dz.Urz. WE L 106 z 17.04.2001, str. 1; Dz.Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 15, t. 6, str. 77, z późn. zm.).

Akty prawne Unii Europejskiej z zakresu organizmów genetycznie zmodyfikowanych stanowią skomplikowaną materię łączącą w sobie zarówno zagadnienia związane z bezpieczeństwem zdrowia ludzi, w tym bezpieczeństwem żywności i pasz, oraz bezpieczeństwem zdrowia zwierząt i ochroną środowiska. Ze względu na tak szeroki zakres najwłaściwszym rozwiązaniem, mającym na celu implementację i wykonanie przedmiotowych przepisów Unii Europejskiej, wydawało się kompleksowe uregulowanie wszelkich kwestii dotyczących organizmów genetycznie zmodyfikowanych w jednej ustawie.

Potwierdzeniem tego jest rozwiązanie przyjęte w polskim systemie prawnym, polegające na wprowadzeniu odrębnej ustawy regulującej sprawę dotyczące GMO. Obecnie w tym zakresie obowiązuje ustawa z dnia 22 czerwca 2001 r. o organizmach genetycznie zmodyfikowanych (Dz. U. Nr 76, poz. 811, z późn. zm.), a na etapie prac rządowych znajduje się projekt ustawy – Prawo o organizmach genetycznie zmodyfikowanych. Jednocześnie zgodnie z art. 28 ust. 1 pkt 10 ustawy o działach administracji rządowej sprawy organizmów genetycznie zmodyfikowanych należą co do zasady do działu administracji rządowej – środowisko. Dział ten nie obejmuje jednak spraw związanych z wydawaniem zezwoleń na wprowadzenie do obrotu żywności i środków farmaceutycznych (zawierających lub wytworzonych z GMO). Z kolei zgodnie z art. 9 ustawy o organizmach genetycznie zmodyfikowanych organem administracji rządowej właściwym do spraw GMO jest minister właściwy do spraw środowiska.

Możliwe tu było przyjęcie dwóch rozwiązań. Pierwsze – uregulowanie kwestii dotyczących żywności i pasz objętych przepisami przedmiotowych rozporządzeń Unii Europejskiej w ustawie o organizmach genetycznie zmodyfikowanych, przez dokonanie zmian jej przepisów lub ewentualnie opracowanie nowej ustawy, z tym że należy pamiętać, że część zagadnień dotyczących żywności genetycznie zmodyfikowanej regulują przepisy ustawy z dnia 11 maja 2001 r. o warunkach zdrowotnych żywności i żywienia (Dz. U. z 2005 r. Nr 31, poz. 265). Drugim rozwiązaniem jest pozostawienie

generalnych rozwiązań z zakresu GMO w ustawie o organizmach genetycznie zmodyfikowanych i uregulowanie kwestii dotyczących żywności genetycznie zmodyfikowanej w ustawie o warunkach zdrowotnych żywności i żywienia (jak dotychczas), a kwestii dotyczących pasz genetycznie zmodyfikowanych w ustawie o środkach żywienia zwierząt. Wydaje się, że to drugie rozwiązanie wymagałoby też dokonania zmian w ustawie o działach administracji rządowej, w zakresie spraw objętych działem rolnictwo.

W obecnej wersji projektu ustawy o paszach zastosowano drugie z rozwiązań. W związku z powyższym projekt ustawy – Prawo o organizmach genetycznie zmodyfikowanych przygotowywanej przez Ministra Środowiska przez usunięcie regulacji dotyczących organizmów genetycznie zmodyfikowanych do użytku paszowego, jak i pasz genetycznie zmodyfikowanych nie ma zastosowania do tych produktów w zakresie uregulowanym w projekcie niniejszej ustawy.

Przepisy przejściowe w zakresie objętym regulacją projektowanej ustawy w większości zostały określone w przepisach Unii Europejskiej. Zgodnie z przepisami art. 18 rozporządzenia nr 183/2005:

- 1) zakłady i pośrednicy zatwierdzeni albo zarejestrowani w sposób zgodny z dyrektywą 95/69/WE mogą kontynuować swoją działalność, pod warunkiem że powiadomią o tym właściwy organ, na którego obszarze działania znajdują się ich obiekty, do dnia 1 stycznia 2006 r.;
- 2) zakłady i pośrednicy, które zgodnie z dyrektywą 95/69/WE nie podlegają rejestracji ani zatwierdzaniu, lecz które muszą zostać zarejestrowane na mocy rozporządzenia (WE) nr 183/2005, mogą kontynuować swoją działalność pod warunkiem złożenia do dnia 1 stycznia 2006 r. właściwemu organowi, na którego obszarze działania położone są ich obiekty, wniosku o rejestrację;
- 3) w terminie do dnia 1 stycznia 2008 r. wnioskodawca musi złożyć oświadczenie w formie wymaganej przez właściwy organ, że spełnia on warunki określone w rozporządzeniu (WE) nr 183/2005;
- 4) uwzględniając istniejące systemy gromadzenia danych, właściwe organy wzywają powiadamiającego lub wnioskodawcę do udzielenia jedynie takich dodatkowych informacji, które zapewniają zgodność z postanowieniami

rozporządzenia (WE) nr 183/2005. W szczególności właściwe organy mogą uznać za wniosek o rejestrację powiadomienie, o którym mowa w art. 6 rozporządzenia (WE) nr 852/2004.

Biorąc pod uwagę fakt, że ustawa wejdzie w życie po dniu, w którym upływa termin do złożenia powiadomień i wniosków określonych w art. 18 ust. 1 i 2 rozporządzenia nr 183/2005, uzasadnione jest wskazanie, że powiadomienia i wnioski złożone powiatowym lekarzom weterynarii zgodnie z tymi przepisami uznaje się za złożone ważnie.

Ponadto, w związku z koniecznością opracowania operacyjnego planu awaryjnego, w rozumieniu art. 13 ust. 1 rozporządzenia nr 882/2004, na podstawie przepisów Unii Europejskiej oraz projektowanej ustawy zachodzi konieczność zachowania w mocy obowiązującego operacyjnego planu gotowości do dnia zatwierdzenia przez Radę Ministrów nowego planu.

Zachodzi również konieczność regulacji przejściowej dotyczącej pasz leczniczych, których nie obejmują przepisy wymienionych na wstępie rozporządzeń Unii Europejskiej.

Proponuje się, aby projektowana ustawa weszła w życie z dniem ogłoszenia, w celu niezwłocznego wykonania przepisów rozporządzeń Unii Europejskiej, które wchodzi w życie z dniem 1 stycznia 2006 r. Wejście w życie projektowanej ustawy z dniem ogłoszenia nie narusza zasad demokratycznego państwa prawnego, gdyż przepisy rozporządzeń Unii Europejskiej w zakresie wykonywanym w projektowanej ustawie są stosowane bezpośrednio, a projektowana ustawa w znacznej mierze ma charakter kompetencyjny i nie nakłada nowych obowiązków na obywateli.

Projekt ustawy stanowi wykonanie przepisów Unii Europejskiej i nie podlega notyfikacji na podstawie rozporządzenia Rady Ministrów z dnia 23 grudnia 2002 r. w sprawie funkcjonowania krajowego systemu notyfikacji norm i aktów prawnych (Dz. U. Nr 239, poz. 2039 oraz z 2004 r. Nr 65, poz. 597).

OCENA SKUTKÓW REGULACJI

1. Podmioty, na które oddziałuje akt normatywny

Projektowana ustawa o paszach oddziaływać będzie na podmioty prowadzące działalność w zakresie wytwarzania lub obrotu dodatkami paszowymi, premiksami i mieszankami paszowymi. Włączenie do polskiego porządku prawnego nowych regulacji obowiązujących we Wspólnocie, dotyczących zarówno ogólnych zasad w zakresie szeroko rozumianego prawa żywnościowego i prawa paszowego (rozporządzenie nr 178/2002), urzędowych kontroli żywności i środków żywienia zwierząt (rozporządzenie nr 882/2004), jak i zagadnień dotyczących wyłącznie środków żywienia zwierząt, a zwłaszcza wymagań w zakresie higieny pasz (rozporządzenie nr 183/2005) i w sprawie szczegółowych zasad wykonania rozporządzenia (WE) nr 1831/2003 Parlamentu Europejskiego i Rady w zakresie obowiązków i zadań laboratorium referencyjnego Wspólnoty dotyczących wniosków o wydanie zezwolenia na stosowanie dodatków paszowych (rozporządzenie nr 378/2005) spowoduje, że pasze stosowane w żywieniu zwierząt nie będą:

- 1) stanowić zagrożenia dla zdrowia ludzi i zwierząt;
- 2) charakteryzować się negatywnym wpływem na bezpieczeństwo środków spożywczych pochodzenia zwierzęcego;
- 3) szkodliwie wpływać na środowisko naturalne.

2. Zakres przeprowadzonych konsultacji społecznych

W ramach prowadzonych uzgodnień projekt ustawy został przekazany do konsultacji do Federacji Związków Producentów Rolnych, Izby Gospodarczej Handlowców, Przetwórców Zbóż i Producentów Pasz, Krajowej Izby Lekarsko-Weterynaryjnej, Krajowej Izby Producentów Drobiu i Pasz, Krajowej Rady Izb Rolniczych, Krajowego Związku Rolników, Kółek i Organizacji Rolniczych, Niezależnego Samorządnego Związku Zawodowego Rolników Indywidualnych „Solidarność”, Niezależnego Samorządnego Związku Zawodowego „Solidarność”, Polskiego Związku Producentów Pasz, Związku Zawodowego Rolnictwa „Samoobrona”, „Polkarma” Polskiego Stowarzyszenia

Producentów Karmy dla Zwierząt Domowych, Krajowej Rady Drobiarstwa, Związku Zawodowego Rolników „Ojczyzna”, Polskiego Związku Hodowców i Producentów Trzody Chlewnej „Polsus”, Rady Gospodarki Żywnościowej, Polskiej Federacji Hodowców Bydła i Producentów Mleka oraz Polskiego Związku Zrzeszeń Hodowców i Producentów Drobiu.

W trakcie konsultacji uwagi do projektu ustawy zostały zgłoszone przez: Ogólnopolski Związek Zawodowy Lekarzy Weterynarii Inspekcji Weterynaryjnej, Polski Związek Producentów Pasz, Krajową Izbę Producentów Drobiu i Pasz, Izbę Gospodarczą Handlowców, Przetwórców Zbóż i Producentów Pasz oraz Stowarzyszenie Piekarzy Polskich. Zasadne uwagi dotyczące wytwarzania i obrotu paszami leczniczymi oraz produktami pośrednimi zostały uwzględnione w art. 16-19 projektu ustawy.

3. Wpływ aktu normatywnego na sektor finansów publicznych, w tym budżet państwa i budżet samorządu terytorialnego

W związku z tym, że ustawa spowoduje zwiększenie zadań dla Inspekcji Weterynaryjnej wynikających z rozszerzenia zakresu działań kontrolnych, jak i rejestracji przedsiębiorców oraz podmiotów wytwarzających i prowadzących obrót paszami, planowano zwiększenie zatrudnienia w powiatowych inspektoratach weterynarii o 304 inspektorów weterynaryjnych ds. środków żywienia zwierząt. Proponowano, aby proces zwiększenia zatrudnienia odbywał się w trzech etapach, tj. w latach 2006-2008 wg następującego schematu: w roku 2006 zwiększenie zatrudnienia o 150 etatów, w roku 2007 o 79 etatów i w roku 2008 o 75 etatów. Zgodnie z ustaleniami Rady Ministrów w dniu 14 marca 2006 r. zapewnienie zatrudnienia w celu realizacji zadań ustawy będzie uwzględnione przy tworzeniu Państwowej Inspekcji Kontroli Żywności, która powstanie z połączenia niektórych działających obecnie inspekcji.

4. Wpływ aktu na rynek pracy

Obecnie trudno jest określić wpływ na rynek pracy, gdyż będzie to uzależnione od przyjętej koncepcji utworzenia nowej Państwowej Inspekcji Kontroli Żywności oraz określenia zakresu jej działania.

5. Wpływ aktu normatywnego na konkurencyjność gospodarki i przedsiębiorczość, w tym na funkcjonowanie przedsiębiorstw

Wprowadzenie w życie przepisów ustawy spowoduje, że wytwarzane w Rzeczypospolitej Polskiej pasze będą spełniać wszelkie wymagania stanowiące o ich bezpieczeństwie dla zdrowia ludzi, zwierząt oraz dla środowiska naturalnego. W związku z powyższym pasze wyprodukowane w Rzeczypospolitej Polskiej będą mogły być wprowadzane do obrotu i stosowane w żywieniu zwierząt w innych państwach członkowskich Unii Europejskiej oraz w państwach trzecich.

6. Wpływ aktu normatywnego na rozwój regionalny

Ustawa nie będzie miała wpływu na sytuację i rozwój regionów.

7. Wskazanie źródeł finansowania, zwłaszcza, jeżeli projekt pociąga za sobą zwiększenie obciążeń budżetu państwa lub budżetów jednostek samorządu terytorialnego

Ustawa spowoduje zwiększenie zadań dla Inspekcji Weterynaryjnej wynikających ze zwiększenia zakresu działań kontrolnych, jak i z konieczności rejestracji produkcji pierwotnej pasz. Określenie źródeł finansowania realizacji tych zadań będzie uzależnione od przyjętej koncepcji utworzenia Państwowej Inspekcji Kontroli Żywności, która powstanie z połączenia niektórych działających obecnie inspekcji.



URZĄD
KOMITETU INTEGRACJI EUROPEJSKIEJ
SEKRETARZ
KOMITETU INTEGRACJI EUROPEJSKIEJ
SEKRETARZ STANU

Jarosław Pietras

Sekr.Min.JP- 565 /06/DP/md

Warszawa, 15.03. 2006 r.

**Pani
Jolanta Rusiniak
Sekretarz Rady Ministrów**

Opinia o zgodności z prawem Unii Europejskiej projektu ustawy o paszach, wyrażona na podstawie art. 2 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 8 sierpnia 1996 r. o Komitecie Integracji Europejskiej (DZ. U. Nr 106 poz. 494), przez Sekretarza Komitetu Integracji Europejskiej, Sekretarza Stanu, Jarosława Pietrasa, działającego z upoważnienia Przewodniczącego Komitetu Integracji Europejskiej.

Szanowno Pani Ministrze,

W związku z przedłożonym projektem ustawy o paszach (numer pisma RM-10-30-06), pozwalam sobie wyrazić następującą opinię:

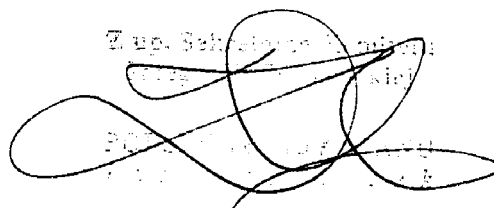
- I. Przedłożony projekt ustawy określa właściwości organów w zakresie higieny i urzędowej kontroli pasz oraz dodatków stosowanych w żywieniu zwierząt, zasady wytwarzania i stosowania pasz leczniczych oraz obrotu nimi, a także wymagania dotyczące jakości tych pasz oraz, w zakresie nieuregulowanym przepisami rozporządzeń Unii Europejskiej, wymagania dotyczące higieny pasz i wprowadzania ich do obrotu oraz sposób sprawowania nadzoru oraz urzędowej kontroli pasz i pasz leczniczych. Ponadto, w projektowanej regulacji uwzględniono także przepisy kompetencyjne związane z zezwoleniami, oznakowaniem, nadzorem i transgranicznym przemieszczaniem genetycznie zmodyfikowanych organizmów do użytku paszowego oraz genetycznie zmodyfikowanych pasz.
- II. Prawo wspólnotowe reguluje kompleksowo tę problematykę w dużej ilości aktów prawnych, z których najważniejsze rozporządzenia to:

WOLNY
RADA MINISTRÓW
Wol. 16. 03. 2006

- a) Rozporządzenie (WE) nr 183/2005 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 12 stycznia 2005 r. ustanawiające wymagania dotyczące higieny pasz (Dz. Urz. UE L 35 z 8.2.2005, str. 1)
- b) Rozporządzenie (WE) nr 1831/2003 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 22 września 2003 r. w sprawie dodatków stosowanych w żywieniu zwierząt (Dz. Urz. UE L 268 z 18.10.2003, str. 29)
- c) 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 regułami dotyczącymi zdrowia zwierząt i dobrostanu zwierząt (Dz. Urz. UE L 165 z 30.4.2004, str. 1)
- d) Rozporządzenie (WE) nr 999/2001 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 22 maja 2001 r. ustanawiające zasady dotyczące zapobiegania, kontroli i zwalczania niektórych przenośnych gąbczastych encefalopatii (Dz. Urz. WE L 147 z 31.5.2001, str. 1)
- e) Rozporządzenie (WE) nr 178/2002 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 28 stycznia 2002 r. ustanawiające ogólne zasady i wymagania prawa żywnościowego, powołujące Europejski Urząd ds. bezpieczeństwa żywności oraz ustanawiające procedury w zakresie bezpieczeństwa żywności (Dz. Urz. WE L 31 z 1.2.2002, str. 1)

W konkluzji należy stwierdzić, że projekt ustawy o paszach jest zgodny z prawem Unii Europejskiej.

Z poważaniem,



DEPARTAMENT
RADY MINISTRÓW
13 03. 20

Do uprzejmej wiadomości:
Pan Krzysztof Jurgiel
Minister Rolnictwa i Rozwoju Wsi

**ROZPORZĄDZENIE
MINISTRA ROLNICTWA I ROZWOJU WSI ¹⁾**

z dnia2006 r.

**w sprawie określenia spraw rozstrzyganych w drodze decyzji
administracyjnych przez powiatowego lekarza weterynarii**

Na podstawie art. 7 ust. 4 ustawy z dnia 2006 r. o paszach (Dz. U. Nr , poz.) zarządza się, co następuje:

§ 1.

Powiatowy lekarz weterynarii, w zakresie wykonywania przepisów rozporządzenia 183/2005 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 12 stycznia 2005 r. ustanawiającego wymagania dotyczące higieny pasz (Dz. Urz. UE L 35 z 8.02.2005, str. 1), zwanego dalej „rozporządzeniem nr 183/2005” i rozporządzenia (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 regułami dotyczącymi zdrowia zwierząt i dobrostanu zwierząt (Dz. Urz. UE L 165 z 30.04.2004, str. 1), zwanego dalej „rozporządzeniem nr 882/2004”, wydaje decyzje administracyjne z urzędu lub na wniosek.

§ 2.

1. Powiatowy Lekarz Weterynarii w zakresie wykonywania przepisów rozporządzenia 183/2005 wydaje decyzje administracyjne na wniosek w sprawach:

- 1) rejestracji zakładów, które podlegają rejestracji zgodnie z art. 9 rozporządzenia 183/2005;
- 2) dokonywania zmian w rejestracji zakładów w przypadkach określonych w art. 16 rozporządzenia 183/2005;
- 3) cofania rejestracji zakładów, które podlegają rejestracji zgodnie z art. 9 rozporządzenia 183/2005;
- 4) zatwierdzania zakładów, które podlegają zatwierdzeniu zgodnie z art. 10 rozporządzenia nr 183/2005;

- 5) dokonywania zmian w zatwierdzeniu zakładów w przypadkach określonych w art. 16 rozporządzenia 183/2005;
- 6) cofania zatwierdzania zakładów, które podlegają zatwierdzeniu zgodnie z art. 10 rozporządzenia nr 183/2005;
- 7) zatwierdzania zakładów, o których mowa w art. 17 rozporządzenia 183/2005;
- 8) cofania zatwierdzenia zakładów, o których mowa w art. 17 rozporządzenia 183/2005.

2. Powiatowy lekarz weterynarii w zakresie wykonywania przepisów rozporządzenia 183/2005 wydaje decyzje administracyjne z urzędu w sprawach:

- 1) cofania rejestracji zakładów w przypadkach, o których mowa w art. 15 lit. a lub w art. 15 lit. b rozporządzenia 183/2005;
- 2) zawieszenia rejestracji w przypadkach o których mowa w art. 14 rozporządzenia 183/2005;
- 3) warunkowego zatwierdzenia zakładu w przypadkach określonych w art. 13 ust. 2 rozporządzenia 183/2005;
- 4) cofania zatwierdzania zakładów, w przypadkach o których mowa w art. 15 lit c rozporządzenia 183/2005;
- 5) zawieszenia zatwierdzenia w przypadkach o których mowa w art. 14 rozporządzenia 183/2005;
- 6) nadania numeru identyfikacyjnego zakładowi, o którym mowa w art. 19 ust. 2 rozporządzenia 183/2005.

3. Po stwierdzeniu niewłaściwej jakości pasz w wyniku urzędowej kontroli powiatowy lekarz weterynarii w zakresie wykonywania przepisów rozporządzenia 882/2004 wydaje decyzje administracyjne z urzędu w przypadku:

- 1) podjęcia działań określonych w art. 54 ust. 2 lit. a rozporządzenia 882/2004;
- 2) podjęcia działań określonych w art. 54 ust. 2 lit. b rozporządzenia 882/2004;
- 3) podjęcia działań określonych w art. 54 ust. 2 lit. c rozporządzenia 882/2004;
- 4) podjęcia działań określonych w art. 54 ust. 2 lit. d rozporządzenia 882/2004;
- 5) podjęcia działań określonych w art. 54 ust. 2 lit. e rozporządzenia 882/2004;
- 6) podjęcia działań określonych w art. 54 ust. 2 lit. f rozporządzenia 882/2004;
- 7) podjęcia działań określonych w art. 54 ust. 2 lit. g rozporządzenia 882/2004;
- 8) podjęcia działań określonych w art. 54 ust. 2 lit. h rozporządzenia 882/2004;

§. 3.

Wzór wniosku o zatwierdzenie zakładu określa załącznik nr 1 do rozporządzenia.

§. 4.

Wzór wniosku o cofnięcie zatwierdzenia zakładu określa załącznik nr 2 do rozporządzenia.

§. 5.

Wzór wniosku o dokonanie zmian w zatwierdzeniu zakładu określa załącznik nr 3 do rozporządzenia.

§. 6.

Wzór wniosku o rejestrację zakładu określa załącznik nr 4 do rozporządzenia.

§. 7.

Wzór wniosku o cofnięcie rejestracji zakładu określa załącznik nr 5 do rozporządzenia.

§. 8.

Wzór wniosku o dokonanie zmian w rejestracji zakładu określa załącznik nr 6 do rozporządzenia.

§. 9.

Rozporządzenie wchodzi w życie po upływie 30 dni od dnia ogłoszenia.

**MINISTER
ROLNICTWA I ROZWOJU WSI**

- 1) Minister Rolnictwa i Rozwoju Wsi kieruje działem administracji rządowej – rolnictwo, na podstawie § 1 ust. 2 pkt 1 rozporządzenia Prezesa Rady Ministrów z dnia 31 października 2005 r. w sprawie szczegółowego zakresu działania Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi (Dz. U. Nr 220, poz. 1892).

Załączniki do rozporządzenia
Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi
z dnia.... 2006 r. (poz....)

Załącznik nr 1

WZÓR

.....
Miejscowość, data

.....
Imię i nazwisko lub nazwa zakładu

.....
Miejsce zamieszkania i adres
lub adres siedziby wnioskodawcy

.....
Adres do korespondencji

Właściwy organ

WNIOSEK o zatwierdzenie zakładu

Na podstawie art. 7 ust. 4 ustawy z dnia..... 2006 r. o paszach (Dz. U. Nr..., poz...)
wnoszę o zatwierdzenie zakładu w zakresie wytwarzania pasz.

1. Oznaczenie zakładu wnioskodawcy ubiegającego się o zatwierdzenie zakładu
wraz z numerem identyfikacji podatkowej NIP

.....
2. Miejsce zamieszkania i adres lub adres siedziby

.....
3. Numer identyfikacji REGON

.....
4. Lokalizacja zakładu, w którym ma być wykonywana działalność

.....
5. Rodzaj i zakres działalności

.....
6. Planowana data rozpoczęcia działalności

POUCZENIE

Do wniosku dołącza się kopie dokumentów, o których mowa w art. 10 ust. 3 ustawy o paszach.

Podpis lub pieczęć

WZÓR

.....
Miejscowość, data

.....
Imię i nazwisko, lub nazwa zakładu

.....
Miejsce zamieszkania i adres
lub adres siedziby wnioskodawcy

.....
Adres do korespondencji

Właściwy organ

WNIOSEK o cofnięcie zatwierdzenia zakładu lub jednego rodzaju prowadzonej działalności podlegającej zatwierdzeniu
Na podstawie art. 7 ust. 4 ustawy z dnia..... 2006 r. o paszach (Dz. U. Nr..., poz...) wnoszę o cofnięcie zatwierdzenia zakładu lub jednego rodzaju działalności podlegającej zatwierdzeniu ^{x)}.

1. Oznaczenie zakładu wnioskodawcy ubiegającego się o cofnięcie zatwierdzenia zakładu lub jednego rodzaju działalności podlegającej zatwierdzeniu^{x)}.

.....
2. Miejsce zamieszkania i adres lub adres siedziby

.....
3. Lokalizacja zakładu, w którym była wykonywana działalność

.....
4. Numer identyfikacji REGON

.....
5. Data pierwszego zatwierdzenia (nr decyzji , data, przez kogo wydana)

.....
6. Data zakończenia działalności

^{x)} niepotrzebne skreślić

Podpis lub pieczęć

WZÓR

.....
Miejscowość, data

.....
Imię i nazwisko, lub nazwa zakładu

.....
Miejsce zamieszkania i adres
lub adres siedziby wnioskodawcy

.....
Adres do korespondencji

Właściwy organ

WNIOSEK o dokonanie zmian w zatwierdzeniu zakładu
Na podstawie art. 7 ust. 4 ustawy z dnia..... 2006 r. o paszach (Dz. U. Nr..., poz...)
wnoszę o dokonanie zmian w zatwierdzeniu.

1. Oznaczenie zakładu wnioskodawcy ubiegającego się o dokonanie zmian w
zatwierdzeniu zakładu wraz z numerem identyfikacji podatkowej NIP

.....
2. Miejsce zamieszkania i adres lub adres siedziby

.....
3. Numer identyfikacji statystycznej REGON

.....
4. Lokalizacja zakładu, w którym ma być wykonywana działalność

.....
5. Zakres zmian

.....
5. Data pierwszego zatwierdzenia (nr decyzji, data , przez kogo wydana)

.....
6. Data rozpoczęcia działalności

POUCZENIE

Do wniosku dołącza się kopie dokumentów, o których mowa w art. 10 ust. 3 ustawy o paszach.

Podpis lub pieczęć

WZÓR

.....
Miejscowość, data

.....
Imię i nazwisko, lub nazwa zakładu

.....
Miejsce zamieszkania i adres
lub adres siedziby wnioskodawcy

.....
Adres do korespondencji

Właściwy organ

WNIOSEK o rejestrację zakładu

Na podstawie art. 7 ust. 4 ustawy z dnia..... 2006 r. o paszach (Dz. U. Nr..., poz...)
wnoszę o rejestrację zakładu w zakresie wytwarzania pasz.

1. Oznaczenie zakładu wnioskodawcy ubiegającego się o rejestrację zakładu wraz z
numerem identyfikacji podatkowej NIP

.....
2. Miejsce zamieszkania i adres lub adres siedziby

.....
3. Numer identyfikacji REGON ^{x)}

.....
4. Lokalizacja zakładu, w którym ma być wykonywana działalność

.....
5. Rodzaj i zakres działalności

.....
6. Data rozpoczęcia działalności

POUCZENIE

Do wniosku dołącza się kopie dokumentów, o których mowa w art. 10 ust. 3 ustawy o paszach.

Podpis lub pieczęć

^{x)} niepotrzebne skreślić

WZÓR

.....
Miejscowość, data

.....
Imię i nazwisko, lub nazwa zakładu

.....
Miejsce zamieszkania i adres
lub adres siedziby wnioskodawcy

.....
Adres do korespondencji

Właściwy organ

WNIOSEK o cofnięcie rejestracji zakładu lub jednego rodzaju prowadzonej działalności podlegającej rejestracji
Na podstawie art. 7 ust. 4 ustawy z dnia..... 2006 r. o paszach (Dz. U. Nr..., poz...) wnoszę o cofnięcie rejestracji zakładu lub jednego rodzaju działalności podlegającej rejestracji ^{x)}.

1. Oznaczenie zakładu wnioskodawcy ubiegającego się o cofnięcie rejestracji zakładu lub jednego rodzaju działalności podlegającej rejestracji ^{x)}.

.....
2. Miejsce zamieszkania i adres lub adres siedziby

.....
3. Lokalizacja zakładu, w którym była wykonywana działalność

.....
4. Numer identyfikacji REGON

.....
5. Nr i data pierwszej decyzji rejestracji zakładu

.....
6. Data zakończenia działalności

^{x)} niepotrzebne skreślić

Podpis lub pieczęć

WZÓR

.....
Miejscowość, data

.....
Imię i nazwisko, lub nazwa zakładu

.....
Miejsce zamieszkania i adres
lub adres siedziby wnioskodawcy

.....
Adres do korespondencji

Właściwy organ

WNIOSEK o dokonanie zmian w rejestracji zakładu
Na podstawie art. 7 ust. 4 ustawy z dnia..... 2006 r. o paszach (Dz. U. Nr..., poz...)
wnoszę o dokonanie zmian w rejestracji .

1. Oznaczenie zakładu wnioskodawcy ubiegającego się o dokonanie zmian w
rejestracji zakładu wraz z numerem identyfikacji podatkowej NIP

.....
2. Miejsce zamieszkania i adres lub adres siedziby

.....
3. Numer identyfikacji statystycznej REGON ^{x)}

.....
4. Lokalizacja zakładu, w którym ma być wykonywana działalność

.....
5. Zakres zmian

.....
5. Data pierwszej rejestracji (nr decyzji , data, przez kogo wydana)

.....
6. Data rozpoczęcia działalności

POUCZENIE

Do wniosku dołącza się kopie dokumentów, o których mowa w art. 10 ust. 3 ustawy o paszach.

Podpis lub pieczęć

UZASADNIENIE

Projekt rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi w sprawie określenia spraw rozstrzyganych w drodze decyzji administracyjnych przez powiatowego lekarza weterynarii stanowi wykonanie upoważnienia zawartego w art. 7 ust. 4 ustawy z dnia2006 r. o paszach (Dz. U. Nr, poz.).

Niniejszy projekt rozporządzenia ma na celu wykonanie przepisów Unii Europejskiej tj. następujących rozporządzeń:

- 1) 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 regułami dotyczącymi zdrowia zwierząt i dobrostanu zwierząt. (Dz. Urz. UE L 165 z 30.04.2004, str. 1),
- 2) 183/2005 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 12 stycznia 2005 r. ustanawiającego wymagania dotyczące higieny pasz (Dz. Urz. UE L 35 z 8.02. 2005, str. 1).

Rozporządzenie nie podlega procedurze notyfikacji w rozumieniu przepisów rozporządzenia Rady Ministrów z dnia 23 grudnia 2002 r. w sprawie funkcjonowania krajowego systemu notyfikacji norm i aktów prawnych (Dz. U. Nr 239, poz. 2039 oraz z 2004 r. Nr 65, poz. 597).

OCENA SKUTKÓW REGULACJI

1. Podmioty, na które oddziałuje akt normatywny

Rozporządzenie będzie oddziaływać na podmioty prowadzące działalność w zakresie wytwarzania lub obrotu paszami. Umożliwi Inspekcji Weterynaryjnej nadzorowanie spraw związanych z bezpieczeństwem pasz.

2. Wpływ aktu normatywnego na sektor finansów publicznych, w tym budżet państwa i budżety jednostek samorządu terytorialnego

Wejście w życie rozporządzenia nie wpłynie na sektor finansów publicznych, w tym budżet państwa i budżety jednostek samorządu terytorialnego.

3. Wpływ aktu normatywnego na rynek pracy

Wejście w życie rozporządzenia nie będzie miało wpływu na rynek pracy.

4. Wpływ aktu normatywnego na konkurencyjność gospodarki i przedsiębiorczość, w tym na funkcjonowanie przedsiębiorstw

Wejście w życie rozporządzenia spowoduje, że wytwarzane pasze będą spełniać wymagania określone przepisami Unii Europejskiej.

5. Wpływ aktu normatywnego na sytuację i rozwój regionalny

Wejście w życie rozporządzenia nie będzie miało wpływu na sytuację i rozwój regionów.

6. Konsultacje społeczne

W ramach prowadzonych konsultacji projekt zostanie przesłany do: Federacji Związków Producentów Rolnych, Izby Gospodarczej Handlowców, Przetwórców Zbóż i Producentów Pasz, Krajowej Izby Producentów Drobiu i Pasz, Krajowej Rady Drobiarstwa – Izby Gospodarczej, Krajowej Rady Izb Rolniczych, Krajowego Związku Rolników, Kółek i Organizacji Rolniczych, Niezależnego Samorządnego Związku Zawodowego Rolników Indywidualnych „Solidarność”, Niezależnego Samorządnego Związku Zawodowego „Solidarność”, Polskiego Związku Producentów Pasz, Związku Zawodowego Rolnictwa „Samoobrona” Związku Zawodowego Rolników Ojczyzna, Rady Gospodarki Żywnościowej, Krajowej Izby Lekarsko – Weterynaryjnej, „Polkarma” Polskiego Stowarzyszenia Producentów Karmy dla Zwierząt Domowych, Polskiego Związku Hodowców i Producentów Trzody Chlewnej „POLSUS”, Polskiej Federacji Hodowców Bydła i Producentów Mleka, Polskiego Związku Zrzeszeń Hodowców i Producentów Drobiu, Polskiego Związku Owczarskiego i Polskiego Związku Hodowców Koni.

**ROZPORZADZENIE
MINISTRA ROLNICTWA I ROZWOJU WSI¹⁾**

z dnia 2006 r.

**w sprawie sposobu prowadzenia rejestru zakładów i wykazu zatwierdzonych
zakładów oraz wykazu podmiotów wykonujących działalność podlegającą
rejestracji²⁾**

Na podstawie art. 11 ust. 5 pkt 1 ustawy z dnia 2006 r. o paszach (Dz. U. Nr ... , poz. ...) zarządza się, co następuje:

§ 1.

Określa się sposób prowadzenia rejestru zakładów i wykazu zakładów zatwierdzonych oraz wykazu podmiotów wykonujących działalność podlegającą rejestracji oraz zakres danych i informacji wpisywanych odpowiednio do rejestrów zakładów lub tych wykazów.

§ 2.

Wykaz zatwierdzonych zakładów, rejestr zakładów i wykaz podmiotów wykonujących działalność podlegającą rejestracji prowadzi się oddzielnie dla każdego rodzaju działalności podlegającej zatwierdzeniu lub rejestracji.

§ 3.

Powiatowy lekarz weterynarii wpisuje zakład do rejestru zakładów pod numerem, który poprzedzony kodem PL, składa się z 12 cyfr, z których:

- 1) pierwsza i druga cyfra stanowią cyfry kodu województwa, ustalonego w rozporządzeniu Rady Ministrów z dnia 15 grudnia 1998 r. w sprawie szczegółowych zasad prowadzenia, stosowania i udostępniania krajowego rejestru urzędowego podziału terytorialnego kraju oraz związanych z tym obowiązków organów administracji rządowej i jednostek samorządu terytorialnego (Dz. U. Nr 157, poz. 1031, z późn. zm.³⁾),
- 2) trzecia i czwarta cyfra stanowią cyfry kodu powiatu w danym województwie, ustalonego na podstawie przepisów, o których mowa w lit. a;
- 3) piąta cyfra stanowi wyróżnik „R”;
- 4) szósta, siódma cyfra stanowią wyróżnik:

- a) „up” w przypadku prowadzonej działalności produkcji pierwotnej w zakresie upraw polowych,
- b) „tp” w przypadku prowadzonej działalności produkcji pierwotnej w zakresie transportu, przechowywania pasz i czynności z tym związanych,
- c) „mm” w przypadku prowadzonej działalności produkcji pierwotnej w zakresie magazynowania materiałów paszowych lub mieszanek paszowych nie zawierających dodatków paszowych,
- d) „po” w przypadku prowadzonej działalności produkcji pierwotnej w zakresie obrotu materiałami paszowymi lub mieszankami paszowymi nie zawierającymi dodatków paszowych,
- e) „uz” w przypadku prowadzonej działalności pierwotnej w zakresie chowu i hodowli zwierząt gospodarskich,
- f) „wm” w przypadku prowadzonej działalności w zakresie wytwarzania mieszanek paszowych nie zawierających dodatków paszowych z grupy: stymulatorów wzrostu, kokcydiostatyków i histomonostatyków, witamin A, D oraz mikroelementów: miedzi, selenu;
- g) „wn” w przypadku prowadzonej działalności w zakresie wytwarzania mieszanek paszowych nieprzeznaczonych do obrotu, o której mowa w lit. f,
- h) „pp” w przypadku wytwarzania pasz przeznaczonych na potrzeby własne gospodarstwa;

5) pozostałe cyfry stanowią cyfry informujące o kolejności podejmowania działalności

§ 4 .

1. W przypadku prowadzenia w zakładzie więcej niż jednej działalności podlegającej rejestracji lub zatwierdzeniu zakład wpisuje się do rejestru zakładów lub wykazu zatwierdzonych zakładów właściwego ze względu na prowadzoną w tym zakładzie działalność główną.

2. Przepis ust. 1 stosuje się odpowiednio do wykazu podmiotów wykonujących działalność podlegającą rejestracji.

§ 5.

Zakres danych i informacji umieszczanych w wykazie zatwierdzonych zakładów określa załącznik nr 1 do rozporządzenia.

§ 6.

Zakres danych i informacji umieszczanych w rejestrze zakładów określa załącznik nr 2 do rozporządzenia.

§7.

Rozporządzenie wchodzi w życie po upływie 30 dni od dnia ogłoszenia.

MINISTER ROLNICTWA I ROZWOJU WSI

¹⁾ Minister Rolnictwa i Rozwoju Wsi kieruje działem administracji rządowej - rolnictwo, na podstawie § 1 ust. 2 pkt 1 rozporządzenia Prezesa Rady Ministrów z dnia 31 października 2005 r. w sprawie szczegółowego zakresu działania Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi (Dz. U. Nr 220, poz. 1892).

²⁾ Przepisy niniejszego rozporządzenia wdrażają postanowienia rozporządzenia (WE) nr 183/2005 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 12 stycznia 2005 r. ustanawiającego wymagania dotyczące higieny pasz (Dz. Urz. UE L 35 z 8.02.2005, str. 1).

³⁾ Zmiany wymienionego rozporządzenia zostały ogłoszone w Dz. U. z 2000 r. Nr 13, poz. 161, z 2001 r. Nr 12, poz. 100 i Nr 157, poz. 1840, z 2002 r. Nr 177, poz. 1459, z 2003 r. Nr 208, poz. 2022, z 2004 r. Nr 254, poz. 2535, z 2004 r. Nr 254, poz. 2535 oraz z 2005 r. Nr 206, poz. 1706.

Załączniki do rozporządzenia
Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi
z dnia (poz. ...)

Załącznik nr 1

ZAKRES DANYCH I INFORMACJI UMIESZCZANYCH W WYKAZIE ZATWIERDZONYCH
ZAKŁADÓW

Numer identyfikacyjny	Kod działalności *	Nazwa lub firma	Adres	Uwagi
1	2	3	4	5

- * 1) w przypadku przedsiębiorcy wytwarzającego, przeznaczone do wprowadzania do obrotu:
- a) dodatki paszowe z grup:
 - kokcydiostatyków i histomonostatyków,
 - stymulatorów wzrostu,
 - witamin, prowitamin i innych substancji chemicznie zdefiniowanych o podobnym działaniu,
 - pierwiastków śladowych,
 - enzymów,
 - mikroorganizmów,
 - karotenoidów i ksantofili,
 - przeciwutleniaczy, dla których jest określona maksymalna zawartość w mieszankach paszowych pełnoporcjowych,
 - aminokwasy i ich sole,
 - hydroksyanalogi aminokwasów,
 - b) materiały paszowe:
 - białko uzyskiwane z mikroorganizmów należących do grupy bakterii, drożdży, glonów i grzybów, z wyjątkiem drożdży hodowanych na substancjach pochodzenia zwierzęcego lub roślinnego,
 - produkty uboczne uzyskiwane w procesie wytwarzania aminokwasów w drodze fermentacji
- wpisuje się kod działalności o symbolu A;
- 2) w przypadku przedsiębiorcy wytwarzającego, przeznaczone do wprowadzania do obrotu, premiksy zawierające dodatki paszowe z grup:
- a) kokcydiostatyków i histomonostatyków,
 - b) stymulatorów wzrostu,
 - c) witamin A lub D i innych chemicznie zdefiniowanych substancji o podobnym działaniu,
 - d) pierwiastków śladowych – miedzi lub selenu
- wpisuje się kod działalności o symbolu B;
- 3) w przypadku przedsiębiorcy wytwarzającego, przeznaczone do wprowadzania do obrotu, mieszanki paszowe z udziałem premiksów zawierających dodatki paszowe z grup:
- a) kokcydiostatyków i histomonostatyków,
 - b) stymulatorów wzrostu
- wpisuje się kod działalności o symbolu C;
- 4) w przypadku podmiotu wytwarzającego, nieprzeznaczone do wprowadzania do obrotu, mieszanki paszowe z udziałem premiksów zawierających dodatki paszowe z grup:
- a) kokcydiostatyków i histomonostatyków,
 - b) stymulatorów wzrostu
- wpisuje się kod działalności o symbolu E;
- 5) w przypadku przedsiębiorcy wprowadzającego do obrotu
- a) materiały paszowe z grup, o których mowa w pkt 1 lit. b,
 - b) oraz dodatki paszowe z grup, o których mowa w pkt 1 lit. a,
 - c) premiksy zawierające dodatki paszowe z grup, o których mowa w pkt 1 lit. a
- wpisuje się kod działalności o symbolu I.

ZAKRES DANYCH I INFORMACJI UMIESZCZANYCH W REJESTRZE ZAKŁADÓW

Numer rejestracyjny	Numer decyzji, data pierwszej decyzji przez kogo wydana	Zmiany w rejestracji zakładu	Numer NIP lub REGON lub numer ewidencyjny gospodarstwa	Nazwa lub firma	adres	kod działalności*)	Uwagi
1	2	3	4	5	6	7	8

*)1) kod działalności o symbolu K wpisuje się w przypadku prowadzenia produkcji pierwotnej w zakresie upraw polowych;

2) kod działalności o symbolu L wpisuje się w przypadku prowadzenia produkcji pierwotnej w zakresie transportu, przechowywania pasz i czynności z tym związanych;

3) kod działalności o symbolu Ł wpisuje się w przypadku prowadzenia działalności pierwotnej w zakresie magazynowania materiałów paszowych lub mieszanek paszowych nie zawierających dodatków

4) kod działalności o symbolu M wpisuje się w przypadku prowadzenia produkcji pierwotnej w zakresie obrotu materiałami paszowymi lub mieszankami paszowymi nie zawierającymi dodatków paszowych;

5) kod działalności o symbolu N wpisuje się w przypadku prowadzenia produkcji pierwotnej w zakresie chowu i hodowli zwierząt gospodarskich;

6) kod działalności o symbolu O wpisuje się w przypadku przedsiębiorcy wytwarzającego pasze niezawierające dodatków paszowych z grupy:

a)kokcydiostatyków i histomonostatyków,

b)stymulatorów wzrostu,

c)witaminy A lub D,

d)miedzi lub selenu;

7) kod o symbolu działalności P wpisuje się w przypadku wytwarzania mieszanek paszowych nieprzeznaczonych do obrotu i niezawierających dodatków paszowych, o których mowa w pkt 6;

8) kod działalności o symbolu R wpisuje się w przypadku prowadzenia obrotu mieszankami paszowymi i niezawierającymi dodatków paszowych, o których mowa w pkt 6;

9) kod o symbolu działalności S przypadku podmiotu wytwarzającego materiały paszowe lub mieszanki paszowe wyłącznie na potrzeby własne gospodarstwa.

UZASADNIENIE

Projekt rozporządzenia stanowi wykonanie upoważnienia zawartego w art. 11 ust. 5 pkt 1 ustawy z dnia 2006 r. o paszach (Dz. U. Nr ..., poz. ...).

W projekcie rozporządzenia określono sposób prowadzenia rejestru zakładów prowadzących działalność podlegającą rejestracji lub zatwierdzeniu przez powiatowego lekarza weterynarii oraz określono zakres danych i informacji zamieszczanych w rejestrze lub w wykazie.

Niniejszy projekt rozporządzenia jest zgodny z przepisami rozporządzenia 183/2005 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 12 stycznia 2005 r. ustanawiającego wymagania dotyczące higieny pasz (Dz. Urz. UE L 35 z 8.02.2005, str. 1).

Rozporządzenie nie podlega notyfikacji w rozumieniu przepisów rozporządzenia Rady Ministrów z dnia 23 grudnia 2002 r. w sprawie sposobu funkcjonowania krajowego systemu notyfikacji norm i aktów prawnych (Dz. U. Nr 239, poz. 2039 oraz z 2004 r. Nr 65, poz. 597).

OCENA SKUTKÓW REGULACJI

1. Podmioty, na które będzie oddziaływał akt normatywny

Rozporządzenie będzie oddziaływać na podmioty prowadzące działalność w zakresie wytwarzania lub obrotu paszami przeznaczonymi dla zwierząt. Projekt rozporządzenia obejmuje zakresem organy Inspekcji Weterynaryjnej.

2. Wpływ aktu normatywnego na sektor finansów publicznych, w tym budżet państwa i budżety jednostek samorządu terytorialnego

Wejście w życie w/w rozporządzenia nie wpłynie na sektor finansów publicznych, w tym budżet państwa i budżety jednostek samorządu terytorialnego.

3. Wpływ aktu normatywnego na rynek pracy

Wejście w życie rozporządzenia nie wpłynie na rynek pracy.

4. Wpływ aktu normatywnego na konkurencyjność gospodarki i przedsiębiorczość, w tym na funkcjonowanie przedsiębiorstw

Wejście w życie przepisów rozporządzenia nie będzie miało wpływu na konkurencyjność wewnętrzną i zewnętrzną gospodarki. Wejście w życie przepisów umożliwi ujednoczenie zasad rejestracji zakładów lub zatwierdzania zakładów we wszystkich państwach Członkowskich.

5. Wpływ aktu normatywnego na sytuację i rozwój regionów

Rozporządzenie nie będzie miało wpływu na sytuację i rozwój regionów.

6. Konsultacje społeczne

W ramach prowadzonych konsultacji projekt zostanie przesłany do: Federacji Związków Producentów Rolnych, Izby Gospodarczej Handlowców, Przetwórców Zbóż i Producentów Pasz, Krajowej Izby Producentów Drobiu i Pasz, Krajowej Rady Drobiarstwa – Izby Gospodarczej, Krajowej Rady Izb Rolniczych, Krajowego Związku Rolników, Kółek i Organizacji Rolniczych, Niezależnego Samorządnego Związku Zawodowego Rolników Indywidualnych „Solidarność”, Niezależnego Samorządnego Związku Zawodowego „Solidarność”, Polskiego Związku Producentów Pasz, Związku Zawodowego Rolnictwa „Samoobrona” Związku Zawodowego Rolników Ojczyzna, Rady Gospodarki Żywnościowej, Krajowej Izby Lekarsko – Weterynaryjnej, „Polkarma” Polskiego Stowarzyszenia Producentów Karmy dla Zwierząt Domowych, Polskiego Związku Hodowców i Producentów Trzody Chlewnej „POL SUS”, Polskiej Federacji Hodowców Bydła i Producentów Mleka, Polskiego Związku Zrzeszeń Hodowców i Producentów Drobiu, Polskiego Związku Owczarskiego i Polskiego Związku Hodowców Koni.

ROZPORZĄDZENIE
MINISTRA ROLNICTWA I ROZWOJU WSI¹⁾

z dnia 2006 r.

w sprawie sposobu ustalania krajowego numeru referencyjnego²⁾

Na podstawie art. 11 ust. 5 pkt 2 ustawy z dnia 2006 r. o paszach (Dz. U. Nr, poz. ...) zarządza się, co następuje:

§ 1. Rozporządzenie określa sposób ustalania krajowego numeru referencyjnego, o którym mowa w rozporządzeniu nr 183/2005 w załączniku V w rozdziale II w ust. 3.

§ 2. Krajowy numer referencyjny, który jest strukturalną częścią numeru identyfikacyjnego, nadawanego przez powiatowego lekarza weterynarii zakładom lub podmiotom wykonującym działalność z zakresu pasz, która podlega odpowiednio zatwierdzeniu lub rejestracji, składa się z ośmiu znaków alfanumerycznych, z których:

- 1) pierwsza i druga cyfra stanowią cyfry kodu województwa, ustalonego w rozporządzeniu Rady Ministrów z dnia 15 grudnia 1998 r. w sprawie szczegółowych zasad prowadzenia, stosowania i udostępniania krajowego rejestru urzędowego podziału terytorialnego kraju oraz związanych z tym obowiązków organów administracji rządowej i jednostek samorządu terytorialnego (Dz. U. Nr 157, poz. 1031, z późn. zm.³⁾);
- 2) trzecia i czwarta cyfra stanowią cyfry kodu powiatu w danym województwie, ustalonego na podstawie przepisów, o których mowa w lit. a;
- 3) piąta, szósta i siódma cyfra stanowią cyfry informujące o kolejności podejmowania działalności w danym powiecie przez podmiot w zakresie wytwarzania lub prowadzenia obrotu paszami;
- 4) litera „p” stanowi wyróżnik dla prowadzonej działalności w zakresie obrotu paszami lub ich wytwarzania.

§ 3. Traci moc rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 28 stycznia 2005 r. w sprawie sposobu ustalania numeru identyfikacyjnego nadawanego przez powiatowego lekarza weterynarii (Dz. U. Nr 27, poz. 225).

§ 4. Rozporządzenie wchodzi w życie po upływie 14 dni od dnia ogłoszenia.

MINISTER ROLNICTWA I ROZWOJU WSI

¹⁾ Minister Rolnictwa i Rozwoju Wsi kieruje działem administracji rządowej - rolnictwo, na podstawie § 1 ust. 2 pkt 1 rozporządzenia Prezesa Rady Ministrów z dnia 31 października 2005 r. w sprawie szczegółowego zakresu działania Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi (Dz. U. Nr 220, poz. 1892).

²⁾ Przepisy niniejszego rozporządzenia wdrażają postanowienia rozporządzenia (WE) nr 183/2005 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 12 stycznia 2005 r. ustanawiającego wymagania dotyczące higieny pasz (Dz. Urz. UE L 35 z 8.02.2005, str. 1).

³⁾ Zmiany tekstu wymienionego rozporządzenia zostały ogłoszone w Dz. U. z 2000 r. Nr 13, poz. 161, z 2001 r. Nr 12, poz. 100 i Nr 157, poz. 1840, z 2002 r. Nr 177, poz. 1459, z 2003 r. Nr 208, poz. 2022, z 2004 r. Nr 254, poz. 2535 oraz z 2005 r. Nr 206, poz. 1706.

UZASADNIENIE

Projekt rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi w sprawie sposobu ustalania krajowego numeru referencyjnego stanowi wykonanie upoważnienia zawartego w art. 11 ust. 5 pkt 2 ustawy z dnia 2006 r. o paszach (Dz. U. Nr ..., poz. ...).

Projektowane rozporządzenie było poprzedzone rozporządzeniem Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 28 stycznia 2005 r. w sprawie sposobu ustalania numeru identyfikacyjnego nadawanego przez powiatowego lekarza weterynarii, stanowiącym wykonanie delegacji art. 36 ust. 8 pkt 1 ustawy z dnia 23 sierpnia 2001 r. o środkach żywienia zwierząt (Dz. U. z 2005 r. Nr 255, poz. 2143).

Konieczność wydania rozporządzenia podyktowana jest uchyceniem ustawy z dnia 23 sierpnia 2001 r. o środkach żywienia zwierząt (Dz. U. z 2005 r. Nr 255, poz. 2143) i wejściem w życie nowej ustawy o paszach.

Projekt rozporządzenia określa sposób ustalania krajowego numeru referencyjnego, o którym mowa w rozporządzeniu nr 183/2005 w załączniku V w rozdziale II w ust. 3, mając na względzie możliwość identyfikacji zakładu i miejsca prowadzenia produkcji.

Niniejsze rozporządzenie stanowi wykonanie przepisów Unii Europejskiej i nie podlega notyfikacji na podstawie rozporządzenia Rady Ministrów z dnia 23 grudnia 2002 r. w sprawie funkcjonowania krajowego systemu notyfikacji norm i aktów prawnych (Dz. U. Nr 239, poz. 2039 oraz z 2004 r. Nr 65, poz. 597).

OCENA SKUTKÓW REGULACJI

1. Podmioty, na które oddziałuje akt normatywny

Przedmiotowy projekt rozporządzenia będzie oddziaływać na podmioty prowadzące działalność w zakresie obrotu paszami lub wytwarzania pasz. Wdrożenie przepisów Unii Europejskiej w zakresie objętym przedmiotowym rozporządzeniem spowoduje, że wytwórca pasz będzie w pełni identyfikowalny. W związku z powyższym w przypadku stwierdzenia niewłaściwej jakości pasz możliwe będzie szybkie dotarcie do ich producenta i podjęcie działań uniemożliwiających rozprzestrzenianie się zagrożeń.

2. Wpływ aktu normatywnego na sektor finansów publicznych, w tym budżet państwa i budżety jednostek samorządu terytorialnego

Wejście w życie projektowanego rozporządzenia nie będzie miało wpływu na sektor finansów publicznych, w tym budżet państwa i budżety jednostek samorządu terytorialnego.

3. Wpływ aktu normatywnego na rynek pracy

Wejście w życie projektowanego rozporządzenia nie będzie miało wpływu na rynek pracy.

4. Wpływ aktu normatywnego na konkurencyjność gospodarki i przedsiębiorczość, w tym na funkcjonowanie przedsiębiorstw

Wejście w życie projektowanego rozporządzenia nie będzie miało wpływu na konkurencyjność gospodarki i przedsiębiorczość, w tym na funkcjonowanie przedsiębiorstw.

5. Wpływ aktu normatywnego na rozwój regionalny

Wejście w życie projektowanego rozporządzenia nie będzie miało wpływu na sytuację i rozwój regionalny.

6. Konsultacje społeczne

Projekt rozporządzenia zostanie konsultowany z Federacją Branżowych Związków Producentów Rolnych, Izbą Gospodarczą Handlowców, Przetwórców Zbóż i Producentów Pasz, Krajową Izbą Lekarsko-Weterynaryjną, Krajową Izbą Producentów Drobiu i Pasz, Krajową Radą Izb Rolniczych, Krajowym Związkiem Rolników, Kółek i Organizacji Rolniczych, Niezależnym Samorządnym Związkiem Zawodowym Rolników Indywidualnych „Solidarność”, Niezależnym Samorządnym Związkiem Zawodowym „Solidarność”, Polskim Związkiem Producentów Pasz, Krajową Radą Drobiarstwa – Izbą Gospodarczą w Warszawie, Związkiem Zawodowym Rolnictwa „Samoobrona” i Polskim Stowarzyszeniem Producentów Karmy dla Zwierząt Domowych „Polkarma”.

**ROZPORZĄDZENIE
MINISTRA ROLNICTWA I ROZWOJU WSI ¹⁾**

z dnia 2006 r.

w sprawie wykazu substancji zabronionych ²⁾

Na podstawie art. 15 ust. 3 pkt 1 ustawy z dnia 2006 r. o paszach (Dz. U. Nr... poz...) zarządza się, co następuje:

§ 1. Określa się wykaz substancji zabronionych, stanowiący załącznik do rozporządzenia.

§ 2. Traci moc rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 20 sierpnia 2004 r. w sprawie wykazu substancji zabronionych (Dz. U. Nr 196, poz.2019).

§ 3. Rozporządzenie wchodzi w życie po upływie 14 dni od dnia ogłoszenia.

Minister Rolnictwa i Rozwoju Wsi

W porozumieniu:

Minister Środowiska

Minister Zdrowia

¹⁾Minister Rolnictwa i Rozwoju Wsi kieruje działem administracji rządowej – rolnictwo, na podstawie § 1 ust. 2 pkt 1 rozporządzenia Prezesa Rady Ministrów z dnia 31 października 2005 r. w sprawie szczegółowego zakresu działania Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi (Dz. U. Nr 220, poz. 1892).

²⁾ Przepisy niniejszego rozporządzenia wdrażają postanowienia decyzji 2004/217/WE z dnia 1 marca 2004 r. ustanawiającej listę materiałów, którymi obrót lub których stosowanie w żywieniu zwierząt jest zabronione (Dz. Urz. UE L 67, z 05.03.2004; Dz. Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 43, str. 50).

WYKAZ SUBSTANCJI ZABRONIONYCH

1. Kał, mocz oraz treść przewodu pokarmowego uzyskana w wyniku jego opróżnienia lub usunięcia, niezależnie od rodzaju procesów, jakim zostały poddane i zastosowanym dodatkom.
2. Skóra poddana działaniu substancji garbujących i odpady skóry wygarbowanej.
3. Nasiona i inne materiały siewne przeznaczone do reprodukcji, które zostały poddane działaniu środków ochrony roślin oraz uzyskane z nich produkty uboczne.
4. Drewno, w tym trociny lub inne odpady otrzymane z drewna poddanego działaniu produktów stosowanych do konserwacji drewna w rozumieniu przepisów dotyczących kategorii i grup produktów biobójczych według ich przeznaczenia.
5. Pozostałości z procesu oczyszczania ścieków komunalnych, bytowych i przemysłowych, określonych w przepisach o zbiorowym zaopatrzeniu w wodę i zbiorowym odprowadzaniu ścieków, niezależnie od zastosowanych technik i technologii oczyszczania, jak i źródła pochodzenia tych ścieków.
6. Woda przemysłowa – woda pochodząca z niezależnej sieci wodociągowo-kanalizacyjnej będącej w posiadaniu przedsiębiorstwa produkującego środki spożywcze lub środki żywienia zwierząt, wykorzystywana w procesie produkcji tych środków, chyba że:
 - 1) spełnia wymagania określone w przepisach o zbiorowym zaopatrzeniu w wodę i zbiorowym odprowadzaniu ścieków;
 - 2) w przypadku przemysłu rybnego – jest czystą wodą morską, spełniającą wymagania określone w przepisach o wymaganiach weterynaryjnych przy produkcji i dla produktów rybołówstwa;
 - 3) zawiera materiały paszowe lub środki spożywcze;
 - 4) nie zawiera substancji niedozwolonych w żywieniu zwierząt.
7. Odpady komunalne, takie jak odpady kuchenne, z wyjątkiem odpadów gastronomicznych określonych w rozporządzeniu 1774/2002/WE z dnia 3 października 2002 r. ustanawiającym przepisy sanitarne dotyczące produktów pochodzenia zwierzęcego nieprzeznaczonych do spożycia przez ludzi (Dz. Urz. UE L 273, z 10.10.2002 z późn. zm.).

8. Materiały, z których są wykonane opakowania lub ich części, stosowane do pakowania produktów w przemyśle rolno-spożywczym.
9. Produkty białkowe uzyskane z drożdży z rodzaju *Candida* wyhodowanych na n-alkanach.

UZASADNIENIE

Rozporządzenie stanowi wykonanie upoważnienia zawartego w art. 15 ust. 3 pkt 1 ustawy z dnia..... 2006 r. o paszach (Dz. U. Nr ..., poz. ...).

Niniejsze rozporządzenie było poprzedzone rozporządzeniem Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 20 sierpnia 2004 r. w sprawie wykazu substancji zabronionych (Dz. U. Nr 196, poz. 2019). Konieczność wydania wskazanego rozporządzenia wynika z uchwalenia ustawy z dnia ... 2006 r. o paszach, uchylającą ustawę z dnia 23 sierpnia 2003 r. o środkach żywienia zwierząt (Dz. U. z 2005 r. Nr 255, poz. 2143).

Do czasu wejścia w życie przedmiotowego rozporządzenia obowiązywać będą zachowane czasowo w mocy, przepisy powołanego na wstępie rozporządzenia tj. z dnia 20 sierpnia 2004 r.

Przedmiotowe rozporządzenie jest zgodne z prawem Unii Europejskiej, a w szczególności z decyzją Komisji 2004/217/EC z dnia 1 marca 2004 r. ustanawiającą listę materiałów, którymi obrót lub których stosowanie w żywieniu zwierząt jest zabronione.

Rozporządzenie nie podlega obowiązkowi notyfikacji, o której mowa w rozporządzeniu Rady Ministrów z dnia 23 grudnia 2002 r. w sprawie sposobu funkcjonowania krajowego systemu notyfikacji norm i aktów prawnych (Dz. U. Nr 239, poz. 2039, z późn. zm.).

Ocena skutków regulacji

1. Podmioty, na które będzie oddziaływał akt normatywny

Rozporządzenie będzie oddziaływać na podmioty prowadzące działalność w zakresie wytwarzania lub obrotu paszami przeznaczonymi dla zwierząt.

2. Wpływ aktu normatywnego na sektor finansów publicznych, w tym budżet państwa i budżety jednostek samorządu terytorialnego

Wejście w życie w/w rozporządzenia nie wpłynie na sektor finansów publicznych, w tym budżet państwa i budżety jednostek samorządu terytorialnego.

3. Wpływ aktu normatywnego na rynek pracy

Wejście w życie rozporządzenia nie wpłynie na rynek pracy.

4. Wpływ aktu normatywnego na konkurencyjność gospodarki i przedsiębiorczość, w tym na funkcjonowanie przedsiębiorstw

Wejście w życie przepisów rozporządzenia spowoduje, że polskie podmioty będą mogły wprowadzać do obrotu pasze, przeznaczone dla zwierząt o odpowiedniej jakości co w konsekwencji oddziaływać będzie na jakość produktów pochodzenia zwierzęcego.

5. Wpływ aktu normatywnego na sytuację i rozwój regionów

Rozporządzenie nie będzie miało wpływu na sytuację i rozwój regionów.

6. Konsultacje społeczne

W ramach prowadzonych konsultacji projekt zostanie przesłany do: Federacji Związków Producentów Rolnych, Izby Gospodarczej Handlowców, Przetwórców Zbóż i Producentów Pasz, Krajowej Izby Producentów Drobiu i Pasz, Krajowej Rady Drobiarstwa – Izby Gospodarczej, Krajowej Rady Izb Rolniczych, Krajowego Związku Rolników, Kółek i Organizacji Rolniczych, Niezależnego Samorządnego Związku Zawodowego Rolników Indywidualnych „Solidarność”, Niezależnego Samorządnego Związku Zawodowego „Solidarność”, Polskiego Związku Producentów Pasz, Związku Zawodowego Rolnictwa „Samoobrona” Związku Zawodowego Rolników Ojczyzna, Rady Gospodarki Żywnościowej, Krajowej Izby Lekarsko – Weterynaryjnej, „Polkarma” Polskiego Stowarzyszenia Producentów Karmy dla Zwierząt Domowych, Polskiego Związku Hodowców i Producentów Trzody Chlewnej „POLSUS”, Polskiej Federacji Hodowców Bydła i Producentów Mleka, Polskiego Związku Zrzeszeń Hodowców i Producentów Drobiu, Polskiego Związku Owczarskiego i Polskiego Związku Hodowców Koni.

ROZPORZĄDZENIE
MINISTRA ROLNICTWA I ROZWOJU WSI¹⁾

z dnia 2006 r.

w sprawie dopuszczalnych zawartości substancji niepożądanych w paszach²⁾

Na podstawie art. 15 ust. 3 pkt 2 ustawy z dnia ... 2006 r. o paszach (Dz. U. Nr..., poz....) zarządza się, co następuje:

§ 1.

Określa się dopuszczalne zawartości substancji niepożądanych w paszach, stanowiące załącznik do rozporządzenia.

§ 2.

Traci moc rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 28 czerwca 2004 r. w sprawie dopuszczalnych zawartości substancji niepożądanych w paszach (Dz. U. Nr 162, poz. 1704 oraz z 2005 r. Nr 151, poz. 1267).

§ 3.

Rozporządzenie wchodzi w życie po upływie 14 dni od dnia ogłoszenia.

Minister Rolnictwa i Rozwoju Wsi

W porozumieniu:
Minister Środowiska

Minister Zdrowia

¹⁾ Minister Rolnictwa i Rozwoju Wsi kieruje działem administracji rządowej – rolnictwo, na podstawie § 1 ust. 2 pkt 1 rozporządzenia Prezesa Rady Ministrów z dnia 31 października 2005 r. w sprawie szczegółowego zakresu działania Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi (Dz. U. Nr 220, poz. 1892).

²⁾ Przepisy rozporządzenia wdrażają postanowienia dyrektywy 2002/32 z dnia 7 maja 2002 r. w sprawie niepożądanych substancji w paszach (Dz. Urz. UE L 140 z 30.5.2002, str. 10; Dz. Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t 36, str. 3, z późn. zm.).

Dopuszczalne zawartości substancji niepożądanych w paszach

Lp.	Substancja niepożądana	Rodzaj paszy	Dopuszczalna zawartość w mg/kg w odniesieniu do pasz o zawartości wody 12 %
1	2	3	4
1.	Arsen ¹⁾	Materiały paszowe z wyjątkiem:	2
		- mączek z trawy, z wysuszonej lucerny i z wysuszonej koniczyny, wysuszonych wyśłoków buraczanych i wysuszonych wyśłoków buraczanych melasowanych	4
		- makuchu z rdzenia palmy	4 ²⁾
		- fosforanów i wapiennych alg morskich	10
		- węgla wapnia	15
		- tlenku magnezu	20
		- pasz otrzymanych w procesie przetwarzania ryb lub innych organizmów morskich	15 ²⁾
		- mączki z wodorostów morskich i materiałów paszowych uzyskanych z wodorostów morskich	40 ²⁾
		Mieszanki paszowe pełnoporcjowe z wyjątkiem:	2
		- mieszanek paszowych pełnoporcjowych dla ryb i mieszanek paszowych pełnoporcjowych dla zwierząt futerkowych	6 ²⁾
		Mieszanki paszowe uzupełniające, z wyjątkiem	4
		- mieszanek paszowych mineralnych	12
2.	Ołów ³⁾	Materiały paszowe z wyjątkiem:	10
		- zielonki ⁴⁾	30 ^{x)}
		- fosforanów i wapiennych alg <i>morskich</i>	15
		- węgla wapnia	20
		- drożdży	5
		Dodatki należące do grupy funkcjonalnej związków pierwiastków śladowych, z wyjątkiem	100

		- tlenku cynku	400 ^{x)}
		- tlenku manganu, węgla żelaza, węgla miedzi	200 ^{x)}
		Dodatki należące do grupy funkcjonalnej lepiszczy i środków zapobiegających zbrylaniu, z wyjątkiem	30 ^{x)}
		- klinoptylolitu pochodzenia wulkanicznego	60 ^{x)}
		Premiksy	200 ^{x)}
		Mieszanki paszowe uzupełniające, z wyjątkiem	10
		- mieszanek paszowych mineralnych	15
		Mieszanki paszowe pełnoporcjowe	5
3.	Fluor ⁵⁾	Materiały paszowe z wyjątkiem:	150
		- mieszanek paszowych pochodzenia zwierzęcego z wyjątkiem skorupiaków morskich takich jak kryl morski	500
		- skorupiaki morskie takie jak kryl morski	3000
		- fosforanów	2 000
		- węgla wapnia	350
		- tlenku magnezu	600
		- wapiennych alg morskich	1 000
		Wermikulit (E 561)	3000 ^{x)}
		Mieszanki paszowe uzupełniające	
		- zawierające ≤ 4% fosforu	500
		- zawierające > 4% fosforu	125 na 1% fosforu
		Mieszanki paszowe pełnoporcjowe z wyjątkiem	150
		- mieszanek paszowych pełnoporcjowych dla bydła, owiec i kóz:	
		-- w okresie laktacji	30
		-- inne	50
		- mieszanek paszowych pełnoporcjowych dla świń	100
		- mieszanek paszowych pełnoporcjowych dla drobiu	350
		- mieszanek paszowych pełnoporcjowych dla kurcząt	250
4.	Rtęć	Materiały paszowe, z wyjątkiem:	0,1
		- mieszanek paszowych uzyskiwanych w procesie przetwarzania ryb lub innych organizmów morskich	0,5
		- węgla wapnia	0,3
		Mieszanki paszowe pełnoporcjowe, z wyjątkiem	0,1

		- mieszanek paszowych pełnoporcjowych dla psów i kotów	0,4
		Mieszanki paszowe uzupełniające z wyjątkiem mieszanek paszowych uzupełniających dla psów i kotów	0,2
5.	Azotyny	Mączka rybna	60 (wyrażone jako NaNO ₂)
		Mieszanki paszowe pełnoporcjowe, z wyjątkiem - pasz dla zwierząt domowych, oprócz ptaków i ryb akwariowych	15 (wyrażone jako NaNO ₂)
6.	Kadm ⁶⁾	Materiały paszowe pochodzenia roślinnego	1
		Materiały paszowe pochodzenia zwierzęcego	2
		Materiały paszowe pochodzenia mineralnego, z wyjątkiem	2
		- fosforanów	10
		Dodatki należące do grupy funkcjonalnej związków pierwiastków śladowych, z wyjątkiem	10
		- tlenku miedzi, tlenku manganu, tlenku cynku i monohydratu siarczanu manganowego	30 ^{x)}
		Dodatki należące do grupy funkcjonalnej lepiszczy i środków zapobiegających zbrylaniu	2
		Premiksy	15 ^{x)}
		Mieszanki paszowe mineralne - zawierające < 7% fosforu	5
		- zawierające ≥ 7% fosforu	0,75 na 1% fosforu, maksymalnie 7,5
		Mieszanki paszowe uzupełniające dla zwierząt domowych	2
		Inne mieszanki paszowe uzupełniające	0,5
		Mieszanki paszowe pełnoporcjowe dla bydła, owiec i kóz oraz mieszanki paszowe dla ryb, z wyjątkiem	1
		- mieszanek paszowych pełnoporcjowych dla zwierząt domowych	2
		- mieszanek paszowych pełnoporcjowych dla cieląt, jagniąt i koźląt oraz innych mieszanek paszowych pełnoporcjowych	0,5
7.	Aflatoksyna B1	Wszystkie materiały paszowe	0,02
		Mieszanki paszowe pełnoporcjowe dla bydła, owiec i kóz, z wyjątkiem:	0,02
		- mieszanek paszowych pełnoporcjowych dla zwierząt ras mlecznych	0,005

		- mieszanek paszowych pełnoporcjowych dla cieląt i jagniąt	0,01
		Mieszanki paszowe pełnoporcjowe dla świń i drobiu (z wyjątkiem młodych zwierząt)	0,02
		Inne mieszanki paszowe pełnoporcjowe	0,01
		Mieszanki paszowe uzupełniające dla bydła, owiec i kóz (z wyjątkiem mieszanek paszowych uzupełniających dla zwierząt ras mlecznych oraz cieląt i jagniąt)	0,02
		Mieszanki paszowe uzupełniające dla świń i drobiu (z wyjątkiem młodych zwierząt)	0,02
		Inne mieszanki paszowe uzupełniające	0,005
8.	Kwas cyjanowodorowy (kwas pruski)	Materiały paszowe, z wyjątkiem:	50
		- siemienia lnianego	250
		- makuchu lnianego	350
		- produktów z manioku i makuchu migdałowego	100
		Mieszanki paszowe pełnoporcjowe, z wyjątkiem	50
		-mieszanek paszowych pełnoporcjowych dla kurcząt	10
9.	Wolny gossypol	Materiały paszowe, z wyjątkiem:	20
		- nasion bawełny	5 000
		- makuchu z nasion bawełny i mączki z nasion bawełny	1 200
		Mieszanki paszowe pełnoporcjowe, z wyjątkiem:	20
		- mieszanek paszowych pełnoporcjowych dla bydła, owiec i kóz	500
		- mieszanek paszowych pełnoporcjowych dla drobiu (z wyjątkiem kur niosek) i cieląt	100
		- mieszanek paszowych pełnoporcjowych dla królików i świń (z wyjątkiem prosiąt)	60
10.	Teobromina	Mieszanki paszowe pełnoporcjowe, z wyjątkiem	300
		- mieszanek paszowych pełnoporcjowych dla bydła dorosłego	700
11.	Lotny olejek gorczyczny	Materiały paszowe, z wyjątkiem	100
		- makuchu rzepakowego	4 000 (wyrażony jako izotiocyjanian allilu)

		Mieszanki paszowe pełnoporcjowe, z wyjątkiem:	150 (wyrażony jako izotiocyjanian allilu)
		- mieszanek paszowych pełnoporcjowych dla bydła, owiec i kóz (z wyjątkiem młodych zwierząt)	1 000 (wyrażony jako izotiocyjanian allilu)
		- mieszanek paszowych pełnoporcjowych dla świń (z wyjątkiem prosiąt) i drobiu	500 (wyrażony jako izotiocyjanian allilu)
12.	Winylo-tiooksazolidon	Mieszanki paszowe pełnoporcjowe dla drobiu, z wyjątkiem	1 000
		- mieszanek paszowych pełnoporcjowych dla kur niosek	500
13.	Sporysz (<i>Claviceps purpurea</i>)	Wszystkie pasze zawierające zboża nierozdrobnione	1 000
14.	Nasiona chwastów oraz niezmielone i nierozdrobnione owoce zawierające alkaloidy, glukozydy lub inne substancje toksyczne, pojedynczo lub w połączeniu z: - <i>Lolium temulentum</i> L., - <i>Lolium remotum</i> Schrank, - <i>Datura stramonium</i> L.	Wszystkie pasze	3 000
			1 000
			1 000
			1 000
15.	Rącznik - <i>Ricinus communis</i> L. (wyrażone jako łuski rącznika)	Wszystkie pasze	10
16.	<i>Crotalaria</i> spp.	Wszystkie pasze	100
17.	Aldryna	} Wszystkie pasze - z wyjątkiem tłuszczów	} 0,01 0,2
18.	Dieldryna		
19.	Kamfechlor (Toksafen) – suma wskaźników kontenerów CHB 26, 50 i 62 ⁷⁾	- Ryby, pozostałe zwierzęta wodne, produkty z nich otrzymane i produkty uboczne, z wyjątkiem oleju rybnego	0,02
		- olej rybny	0,2 ^{x)}
		- pasze dla ryb	0,05 ^{x)}
20.	Chlordan (suma izomerów cis- i trans-chlordanu oraz oksychlordanu wyrażona jako chlordan)	Wszystkie pasze, z wyjątkiem	0,02
		- tłuszczów	0,05
21.	DDT (suma DDT, DDE i DDD wyrażona jako DDT)	Wszystkie pasze, z wyjątkiem	0,05
		- tłuszczów	0,5
22.	Endosulfan (suma izomerów alfa- i beta-endosulfanu oraz siarczanu endosulfanu)	Wszystkie pasze z wyjątkiem:	0,1
		- kukurydzy i produktów uzyskanych z jej przetworzenia	0,2

	wyrażona jako endosulfan)	- nasion oleistych i produktów uzyskanych z ich przetworzenia	0,5
		- mieszanek paszowych pełnoporcjowych dla ryb	0,005
23.	Endryna (suma endryny i delta-ketoi-endryny, wyrażona jako endryna)	Wszystkie pasze, z wyjątkiem	0,01
		- tłuszczów	0,05
24.	Heptachlor (suma heptachloru i epoksydu heptachloru, wyrażona jako heptachlor)	Wszystkie pasze z wyjątkiem	0,01
		- tłuszczów	0,2
25.	Heksachlorobenzen (HCB)	Wszystkie pasze, z wyjątkiem	0,01
		- tłuszczów	0,2
26.	Heksachlorocykloheksan (HCH)		
26.1	izomer alfa-HCH	Wszystkie pasze, z wyjątkiem - tłuszczów	0,02 0,2
26.2	izomer beta-HCH	Mieszanki paszowe, z wyjątkiem, - pasz dla bydła mlecznego Materiały paszowe, z wyjątkiem - tłuszczów	0,01 0,005 0,01 0,1
26.3	izomer gamma-HCH	Wszystkie pasze, z wyjątkiem - tłuszczów	0,2 2,0
27.	Dioksyne [suma polichlorowanych dibenzo-para-dioksyn (PCDD) i polichlorowanych dibenzofuranów (PCDF) wyrażona jako równoważniki toksyczności określone przez Światową Organizację Zdrowia (WHO-TEFs)]	Wszystkie materiały paszowe pochodzenia roślinnego, włącznie z olejami roślinnymi i produktami ubocznymi	0,75 ng WHO-PCDD/F-TEQ/kg ^{8) xx)}
		Substancje mineralne	1,0 ng WHO-PCDD/F-TEQ/kg ^{8) xx)}
		Glinka kaolinowa, dihydrat siarczanu wapnia, vermiculit, natrolitephonolite, glinian wapnia syntetyczny, clinoptilolit z osadu należące do grupy dodatków paszowych „Spoiwa, czynniki antyzbrylające i koagulujące”	0,75 ng WHO-PCDD/F-TEQ/kg ^{8) xx)}
		Tłuszcze zwierzęce, włącznie z tłuszczem mleka i tłuszczem jaj	2,0 ng WHO-PCDD/F-TEQ/kg ^{8) xx)}
		Inne produkty zwierząt lądowych, włącznie z mlekiem i produktami mlecznymi, oraz jaja i produkty z jaj	0,75 ng WHO-PCDD/F-TEQ/kg ^{8) xx)}
		Olej rybny	6,0 ng WHO-PCDD/F-TEQ/kg ^{8) xx)}
		Ryby i inne organizmy wodne, ich produkty i produkty uboczne ⁹⁾ z wyjątkiem: - oleju rybnego - hydrolizatów białkowych z ryb, zawierających więcej niż 20% tłuszczu - świeżych ryb przeznaczonych do bezpośredniego żywienia zwierząt domowych i utrzymywanych w cyrku oraz ogrodach zoologicznych	1,25 ng WHO-PCDD/F-TEQ/kg ^{8) xx)} 4,0 ng WHO-PCDD/F-TEQ/kg ^{8) xx)}

		Mieszanki paszowe, z wyjątkiem pasz dla zwierząt futerkowych, pasz dla zwierząt domowych i pasz dla ryb	0,75 ng WHO-PCDD/F-TEQ/kg ^{8) xx)}
		Pasze dla ryb i dla zwierząt domowych	2,25 ng WHO-PCDD/F-TEQ/kg ^{8) xx)}
		Hydrolizaty białkowe z ryb zawierające więcej niż 20% tłuszczu	2,25 ng WHO-PCDD/F-TEQ/kg ^{8) xx)}
28.	Morele – <i>Prunus armeniaca</i> L.	Wszystkie pasze	Nasiona i owoce gatunków roślin wymienionych w rubryce 2 oraz ich przetworzone pochodne mogą być obecne w paszach jedynie w ilościach śladowych, niedających się określić ilościowo
29.	Gorzkie migdały - <i>Prunus dulcis</i> (Mill.) D.A. Webb var. <i>amara</i> (DC.) Focke [= <i>Prunus amygdalus</i> Batsch var. <i>amara</i> (DC.) Focke]		
30.	Niełuskany orzech bukowy - <i>Fagus silvatica</i> (L.)		
31.	Lnianka - <i>Camelina sativa</i> (L.) Crantz		
32.	<i>Mowrah, Bassia, Madhuca</i> - <i>Madhuca longifolia</i> (L.) Macbr. (= <i>Bassia longifolia</i> L. = <i>Illiped malabrorum</i> Engl.) <i>Madhuca indica</i> Gmelin [= <i>Bassia latifolia</i> Roxb. = <i>Illipe latifolia</i> (Roscb.) F. Mueller]		
33.	Purghera - <i>Jatropha curcas</i> L.		
34.	Kroton - <i>Croton tiglium</i> L.		
35.	Gorczyca indyjska - <i>Brassica juncea</i> (L.) Czern. i Coss. ssp. <i>intergrifolia</i> (West.) Thell.		
36.	Gorczyca sarepska - <i>Brassica juncea</i> (L.) Czern. i Coss. ssp. <i>juncea</i>		
37.	Gorczyca chińska - <i>Brassica juncea</i> (L.) Czern. i Coss. ssp. <i>juncea</i> var. <i>lutea</i> Batalin		
38.	Gorczyca czarna - <i>Brassica nigra</i> (L.) Koch		
39.	Gorczyca etiopska - <i>Brassica carinata</i> A. Braun		

Objaśnienia:

- 1) Maksymalna zawartość odnosi się do arsenu całkowitego.
- 2) Dopuszczalna zawartość arsenu nieorganicznego jest niższa niż 2 mg/kg.
- 3) maksymalne poziomy odnoszą się do oznaczenia analitycznego ołowiu, gdzie ekstrakcja odbywa się w kwasie azotowym (5% w/w) podczas 30 minut w temperaturze wrzenia.
- 4) Zielonka oznacza produkty przeznaczone do żywienia zwierząt, takie jak siano, kiszonki i świeżą trawę, itp.
- 5) maksymalne poziomy odnoszą się do oznaczenia analitycznego fluoru
- 6) Maksymalne poziomy odnoszą się do oznaczenia analitycznego kadmu, gdzie ekstrakcja odbywa się w kwasie azotowym (5% w/w) podczas 30 minut w temperaturze wrzenia, dopuszcza się stosowanie podobnych metod o takiej samej sprawdzonej skuteczności ekstrakcji .
- 7) system numerowania zgodny z Parlar, z prefiksem „CHB” lub „Palar# „
 - CHB 26: 2-endo,3-exo,5-endo,6-exo, 8,8,10,10 -oktochlorobornan
 - CHB 50: 2-endo,3-exo,5-endo,6-exo, 8,8,9,10,10 -nonachlorobornan
 - CHB 62: 2,2,5,5,8,9,9,10,10 -nonachlorobornan
- 8) Górne granice stężeń są obliczane przy założeniu, że wszystkie oznaczone zawartości różnych kongenerów, niższe od granicy wykrywalności, są równe granicy wykrywalności.
- 9) Dopuszczalne zawartości nie dotyczą świeżych ryb przeznaczonych na karmę dla zwierząt futerkowych i niepoddawanych procesom przetwarzania.
- x) wskazane poziomy będą poddane przeglądowi do dnia 31 grudnia 2007 r. w celu ograniczenia maksymalnych dopuszczalnych poziomów
- xx) wskazane poziomy będą poddane przeglądowi do dnia 31 grudnia 2006 r w celu ograniczenia maksymalnych dopuszczalnych poziomów

UZASADNIENIE

Projekt rozporządzenia stanowi wykonanie upoważnienia zawartego w art. 15 ust. 3 pkt 2 ustawy z dnia ...2006 r. o paszach (Dz. U. Nr ... poz. ...).

Problematyka zawarta w niniejszym projekcie rozporządzenia jest obecnie regulowana rozporządzeniem Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 28 czerwca 2004 r. w sprawie dopuszczalnych zawartości substancji niepożądanych w paszach (Dz. U. Nr 162, poz. 1704) będącym realizacją upoważnienia wynikającego z art. 4 ust. 2 pkt 3 ustawy z dnia 23 sierpnia 2001 r. o środkach żywienia zwierząt (Dz. U. z 2005 r. Nr 255, poz. 2143).

Aktualnie obowiązujące rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi wdrażało postanowienia dyrektywy 2002/32 z dnia 7 maja 2002 r. w sprawie niepożądanych substancji w paszach (Dz. Urz. UE L 140 z 30.5.2002, str. 10), zmienionej dyrektywą 2003/57/WE z dnia 17 czerwca 2003 zmieniającą dyrektywę 2002/32/WE Parlamentu Europejskiego i Rady w sprawie niepożądanych substancji w paszach (Dz. Urz. UE L Nr 151 z 19.6.2003, str. 38) oraz dyrektywą 2003/100/WE z dnia 31 października 2003 r. zmieniającą załącznik I do dyrektywy 2002/32/WE w sprawie niepożądanych substancji w paszach (Dz. Urz. UE L Nr 285 z 1.11.2003, str. 33) oraz dyrektywy 2005/8/WE z dnia 27 stycznia 2005 r. zmieniającej załącznik I do dyrektywy 2002/32/WE w sprawie niepożądanych substancji w paszach (środkach żywienia zwierząt) (Dz. Urz. UE L Nr 27 z 29.1.2005, str. 44).

Projekt rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi ma za zadanie dostosowanie przepisów krajowych do przepisów wspólnotowych w zakresie dopuszczalnych zawartości substancji niepożądanych, zwłaszcza kadmu, ołowiu, fluoru i rtęci w paszach.

Celem wprowadzenia regulacji zawartych w projekcie rozporządzenia jest ochrona zdrowia zwierząt i właściwa jakość środków spożywczych pochodzenia zwierzęcego oraz ochrona środowiska.

Projekt rozporządzenia nie podlega notyfikacji, w rozumieniu przepisów rozporządzenia Rady Ministrów z dnia 23 grudnia 2002 r. w sprawie sposobu funkcjonowania krajowego systemu notyfikacji norm i aktów prawnych (Dz. U. Nr

239, poz. 2039 oraz z 2004 r. Nr 65, poz. 597) ponieważ zgodnie z § 5 pkt 2 tego rozporządzenia akty prawne mające na celu zapewnienie zgodności z obowiązującym prawem Wspólnoty Europejskiej nie podlegają notyfikacji.

OCENA SKUTKÓW REGULACJI

1. Podmioty na które będzie oddziaływał akt normatywny

Rozporządzenie będzie oddziaływać na podmioty prowadzące działalność w zakresie wytwarzania lub obrotu paszami. Wymagania określone w rozporządzeniu mają wpływ na bezpieczeństwo środków żywienia zwierząt dla zdrowia zwierząt, ludzi oraz środowiska naturalnego.

2. Wpływ aktu normatywnego na sektor finansów publicznych, w tym na budżet państwa i budżety jednostek samorządu terytorialnego

Wejście w życie ww. rozporządzenia nie wpłynie na sektor finansów publicznych, w tym budżet państwa i budżety jednostek samorządu terytorialnego.

3. Wpływ aktu normatywnego na rynek pracy

Wejście w życie rozporządzenia nie wpłynie na rynek pracy.

4. Wpływ aktu normatywnego na konkurencyjność gospodarki i przedsiębiorczość, w tym na funkcjonowanie przedsiębiorstw

Wejście w życie przepisów rozporządzenia spowoduje, że wytworzone w Polsce pasze i dodatki paszowe będą spełniać wymagania określone przepisami UE.

5. Wpływ aktu normatywnego na sytuację i rozwój regionów

Rozporządzenie nie będzie miało wpływu na sytuację i rozwój regionów.

6. Konsultacje społeczne

W ramach prowadzonych konsultacji projekt zostanie przesłany do: Federacji Związków Producentów Rolnych, Izby Gospodarczej Handlowców, Przetwórców Zbóż i Producentów Pasz, Krajowej Izby Producentów Drobiu i Pasz, Krajowej Rady Drobiarstwa – Izby Gospodarczej, Krajowej Rady Izb Rolniczych, Krajowego Związku

Rolników, Kółek i Organizacji Rolniczych, Niezależnego Samorządnego Związku Zawodowego Rolników Indywidualnych „Solidarność”, Niezależnego Samorządnego Związku Zawodowego „Solidarność”, Polskiego Związku Producentów Pasz, Związku Zawodowego Rolnictwa „Samoobrona” Związku Zawodowego Rolników Ojczyzna, Rady Gospodarki Żywnościowej, Krajowej Izby Lekarsko – Weterynaryjnej, „Polkarma” Polskiego Stowarzyszenia Producentów Karmy dla Zwierząt Domowych, Polskiego Związku Hodowców i Producentów Trzody Chlewnej „POLSUS”, Polskiej Federacji Hodowców Bydła i Producentów Mleka, Polskiego Związku Zrzeszeń Hodowców i Producentów Drobiu, Polskiego Związku Owczarskiego i Polskiego Związku Hodowców Koni.

(Projekt)

**ROZPORZĄDZENIE
MINISTRA ROLNICTWA I ROZWOJU WSI¹⁾**

z dnia 2006 r.

**w sprawie pasz leczniczych i produktów pośrednich przeznaczonych do
obrotu²⁾**

Na podstawie art. 17 ust. 4 ustawy z dnia 2006 r. o paszach (Dz. U. Nr ,
poz.) zarządza się, co następuje:

§ 1. Rozporządzenie określa :

- 1) szczegółowe warunki techniczne i organizacyjne, jakie powinien spełniać zakład, w którym wytwarza się pasze lecznicze przeznaczone do obrotu oraz produkty pośrednie, zwany dalej „zakładem”, a także sposób ich produkcji;
- 2) stężenie produktu pośredniego;
- 3) sposób prowadzenia raportu wytwarzania i raportu obrotu;
- 4) warunki, sposób przechowywania i wprowadzania do obrotu pasz leczniczych przeznaczonych do obrotu oraz produktów pośrednich przez wytwórcę pasz leczniczych przeznaczonych do obrotu;
- 5) sposób znakowania i transportu pasz leczniczych przeznaczonych do obrotu oraz produktów pośrednich przez wytwórcę pasz leczniczych przeznaczonych do obrotu , a także sposób dokumentowania użycia premiksów leczniczych do wytwarzania tych pasz i przechowywania tych premiksów;
- 6) warunki i sposób pobierania próbek pasz leczniczych przeznaczonych do obrotu oraz produktów pośrednich.

§ 2. 1. W zakładzie wyodrębnia się miejsca, w których jest dokonywane:

- 1) rozdrabnianie surowców;
- 2) mieszanie surowców;
- 3) pakowanie pasz leczniczych i produktów pośrednich w opakowania jednostkowe;
- 4) składowanie pasz leczniczych i produktów pośrednich transportowanych w:
 - a) opakowaniach jednostkowych,
 - b) kontenerach lub cysternach;

5) czyszczenie i odkażanie środków transportu i opakowań, w których są transportowane premiksy lecznicze, produkty pośrednie lub kontenerów i cystern, w których są transportowane pasze lecznicze.

2. W pomieszczeniu, w którym są wyodrębnione miejsca wymienione w ust. 1:

1) powinny być zainstalowane:

- a) urządzenia wentylacyjne,
- b) pułapki do wyłapywania gryzoni;

2) podłogi i ściany powinny być wykonane ze zmywalnego, gładkiego i odpornego na ścieranie materiału, łatwego do czyszczenia i odkażania;

3) powinno być zapewnione oświetlenie naturalne lub sztuczne dostosowane do rodzaju wykonywanych czynności.

§ 3. 1. Premiksy lecznicze składa się w zakładzie w oddzielnych pomieszczeniach albo opakowaniach, zabezpieczonych przed dostępem osób nieuprawnionych.

2. Opakowania, w których są składowane premiksy lecznicze, oznaczają się, umieszczając na nich, w sposób czytelny i trwały, nazwę tego premiksu.

§ 4. 1. Konstrukcja urządzenia mieszającego, w którym wytwarza się pasze lecznicze i produkty pośrednie, zwanego dalej "mieszadłem", powinna umożliwiać równomierne wymieszanie składników paszy leczniczej lub produktu pośredniego oraz utrzymanie mieszadła w czystości.

2. Po wytworzeniu paszy leczniczej lub produktu pośredniego linię produkcyjną oczyszcza się poprzez wytworzenie dwóch pełnych szarż mieszanki paszowej przeznaczonej na pierwszy okres tuczu zwierząt, dla których była przeznaczona wcześniej wyprodukowana pasza lecznicza lub produkt pośredni.

§ 5. 1. Wytwarzane pasze lecznicze i produkty pośrednie powinny tworzyć jednolitą i stałą mieszaninę z premiksem leczniczym, który jest dopuszczony do obrotu na podstawie przepisów Prawa farmaceutycznego.

2. Premiks leczniczy, o którym mowa w ust. 1, jest stosowany w procesie wytwarzania pasz leczniczych lub produktów pośrednich zgodnie z warunkami określonymi w pozwoleniu na dopuszczenie do obrotu.

3. Zawartość premiksu leczniczego w produkcie pośrednim powinna być taka, aby udział produktu pośredniego w paszy leczniczej wynosił nie mniej niż 5% i w tej ilości gwarantował zaleconą przez wytwórcę dawkę premiksu leczniczego .

§ 6. 1. Wytwórca pasz leczniczych lub produktów pośrednich zapewnia, że:

- 1) w czasie ich wytwarzania nie zachodzą niepożądane interakcje między premiksami leczniczymi, dodatkami paszowymi i paszami;
- 2) pasze lecznicze i produkty pośrednie są składowane w okresie określonym przez wytwórcę;
- 3) pasze wykorzystywane do wytwarzania pasz leczniczych nie zawierają tego samego antybiotyku lub kokcydiostatyku, który jest używany jako substancja czynna w premiksach leczniczych;
- 4) dzienna dawka premiksu leczniczego musi być zawarta w ilości paszy odpowiadającej co najmniej połowie dziennego zapotrzebowania pokarmowego zwierząt;
- 5) pasze lecznicze i produkty pośrednie są składowane w:
 - a) pomieszczeniach odizolowanych od źródeł ciepła,
 - b) sposób zabezpieczający je przed niekorzystnymi warunkami atmosferycznymi.

2. Wytwórca pasz leczniczych lub produktów pośrednich dla przeżuwaczy zapewnia, że zawierają one dawkę substancji czynnej odpowiadającą co najmniej połowie dziennego zapotrzebowania leczonego zwierzęcia na niemineralną paszę uzupełniającą.

3. Wytwórca pasz leczniczych lub produktów pośrednich jest obowiązany do przeszkolenia pracowników zatrudnionych przy ich produkcji w zakresie wykonywanych czynności.

§ 7. Wytwórca pasz leczniczych lub produktów pośrednich prowadzi wewnętrzną kontrolę jakości i przestrzegania zasad higieny w procesie ich wytwarzania, obejmującą:

- 1) bieżącą i okresową ocenę jakości wytworzonych pasz leczniczych i produktów pośrednich pod względem równomierności rozprowadzenia premiksów leczniczych;

- 2) ocenę prawidłowości i skuteczności stosowanych wewnętrznych procedur obejmujących w szczególności:
 - a) pobieranie prób do badań laboratoryjnych,
 - b) określenie badań laboratoryjnych,
 - c) analizę wyników badań laboratoryjnych i postępowanie z paszami leczniczymi i produktami pośrednimi niespełniającymi wymagań,
 - d) zabezpieczenie przed nieprawidłowym cyklem produkcyjnym,
 - e) opracowanie procedur zwalczania szkodników oraz mycia i odkażania urządzeń i pomieszczeń produkcyjnych,
 - f) określenie dróg przemieszczania osób zatrudnionych i sprzętu w części produkcyjnej zakładu,
 - g) opracowanie systemu zabezpieczeń przed wtórnym zanieczyszczeniem produktu;
- 3) ocenę poprawności stosowanych metod wytwarzania, zabezpieczających przed błędnym wymieszaniem lub dawkowaniem składników paszy leczniczej lub produktu pośredniego oraz skażeniem krzyżowym,;
- 4) kontrolę czystości i sprawności mieszadła.

§ 8. 1. Wytwórca pasz leczniczych lub produktów pośrednich prowadzi badania wytworzonych pasz leczniczych i produktów pośrednich, które mają na celu ustalenie stopnia wymieszania składników i trwałości paszy leczniczej oraz produktu pośredniego, a także ustalenie okresu ich przechowywania.

2. Badania, o których mowa w ust. 1, wytwórca wykonuje we własnym laboratorium, a w przypadku gdy go nie posiada, potwierdza wykonanie tych badań.

3. Wytwórca pasz leczniczych lub produktów pośrednich prowadzi dokumentację wykonanych badań, o których mowa w ust. 1, zawierającą informację o:

- 1) zastosowanej metodzie badań laboratoryjnych;
- 2) wynikach tych badań.

4. Dokumentację, o której mowa w ust. 3, przechowuje się przez 2 lata od dnia wykonania badań.

5. Z każdej partii wytworzonej paszy leczniczej i produktu pośredniego pobiera się próbkę archiwalną.

§ 9. 1. Pasze lecznicze i produkty pośrednie transportuje się :

- 1) w szczelnych opakowaniach albo
- 2) luzem w kontenerach lub cysternach.

2. Zamknięcie opakowań, kontenera lub cysterny, o których mowa w ust. 1, powinno być wykonane w sposób uniemożliwiający ich otwarcie bez uszkodzenia zabezpieczenia.

3. Na opakowaniach, o których mowa w ust. 1 pkt 1, umieszcza się w sposób czytelny i trwały napis „pasza lecznicza”, lub „produkt pośredni”, a ponadto:

- 1) nazwę paszy leczniczej lub produktu pośredniego ;
- 2) określenie gatunku zwierząt, dla którego są one przeznaczone.

4. W przypadku transportu w kontenerach lub cysternach dane, o których mowa w ust. 3, umieszcza się w dokumencie dołączonym do kontenera lub cysterny.

5. Do opakowania albo kontenera lub cysterny, o których mowa w ust. 1, dołącza się dokument zawierający następujące informacje:

- 1) firmę lub nazwę wytwórcy paszy leczniczej lub produktu pośredniego, jego siedzibę i adres oraz oznaczenie formy prawnej prowadzonej działalności, a w przypadku osoby fizycznej - jej imię, nazwisko, miejsce zamieszkania i adres;
- 2) imię, nazwisko lekarza weterynarii, który zalecił zastosowanie paszy leczniczej, oraz adres zakładu leczniczego dla zwierząt;
- 3) czas podawania i dawkowanie paszy leczniczej;
- 4) okres karencji paszy leczniczej;
- 5) okres trwałości paszy leczniczej lub produktu pośredniego;
- 6) warunki i temperaturę składowania paszy leczniczej lub produktu pośredniego.

6. Kontenery i cysterny, o których mowa w ust. 1 pkt 2, powinny być czyszczone przed każdym użyciem.

§ 10. Wytwórca pasz leczniczych lub produktów pośrednich prowadzi codzienny raport wytwarzania, który zawiera:

- 1) datę i godzinę dokonania wpisu;
- 2) nazwę i ilość premiksów leczniczych użytych danego dnia do wytworzenia produktów pośrednich lub pasz leczniczych;
- 3) nazwę i ilość pasz użytych danego dnia do wytworzenia pasz leczniczych;
- 4) nazwę i ilość materiałów paszowych użytych danego dnia do wytworzenia produktów pośrednich.

§ 11. Wytwórca pasz leczniczych lub produktów pośrednich prowadzi codzienny raport obrotu, który zawiera:

- 1) datę i godzinę dokonania wpisu;
- 2) nazwę i ilość premiksów leczniczych składowanych w mieszalni pasz leczniczych oraz zużytych danego dnia do wytworzenia paszy leczniczej lub produktu pośredniego;
- 3) nazwę i ilość paszy składowanej w zakładzie oraz zużytych danego dnia do wytworzenia pasz leczniczych;
- 4) nazwę i ilość materiałów paszowych użytych danego dnia do wytworzenia produktów pośrednich;
- 5) nazwę, ilość i okres karencji sprzedanej paszy leczniczej lub produktu pośredniego oraz imię i nazwisko lekarza weterynarii, który zlecił zastosowanie paszy leczniczej, oraz adres zakładu leczniczego dla zwierząt;
- 6) firmę lub nazwę posiadacza zwierzęcia, jego siedzibę i adres oraz oznaczenie formy prawnej prowadzonej działalności, a w przypadku osoby fizycznej - imię, nazwisko, miejsce zamieszkania i adres.

§ 12. 1. Raport wytwarzania i raport obrotu przechowuje się przez 3 lata od dnia dokonania wpisu.

2. Raporty, o których mowa w ust. 1, mogą być prowadzone na elektronicznych nośnikach informacji, jeżeli codziennie będą dokonywane wydruki, które po podpisaniu przez osobę kierującą procesem produkcji pasz leczniczych przechowuje się przez 3 lata od dnia dokonania wydruku.

§ 13. 1. Wytwórca pasz leczniczych lub produktów pośrednich prowadzi dokumentację użycia premiksów leczniczych, która zawiera:

- 1) datę zakupu premiksu leczniczego
- 2) nazwę premiksu leczniczego;
- 3) nazwę producenta premiksu leczniczego;
- 4) numer serii premiksu leczniczego;
- 5) wielkość opakowania;
- 6) datę ważności premiksu leczniczego;
- 7) datę użycia premiksu leczniczego do produkcji paszy leczniczej lub produktu pośredniego;

- 8) ilość użytego premiksu leczniczego do produkcji paszy leczniczej lub produktu pośredniego.

§ 14. 1. Wprowadzenie do obrotu paszy leczniczej lub produktu pośredniego następuje na podstawie zlecenia wystawionego przez lekarza weterynarii prowadzącego praktykę lekarsko – weterynaryjną.

2. Zlecenie, o którym mowa w ust. 1, wystawia lekarz weterynarii w:

- 1) pięciu egzemplarzach - w przypadku zwierząt, których tkanki lub z których produkty są przeznaczone do spożycia przez ludzi;
- 2) trzech egzemplarzach – w przypadku pozostałych zwierząt.

3. Zlecenie, o którym mowa w ust. 1, lekarz weterynarii wystawia tylko w odniesieniu do konkretnego przypadku chorobowego.

4. Zlecenie, o którym mowa w ust. 1, jest ważne 3 dni od dnia wystawienia przez lekarza weterynarii.

5. Kopię zlecenia przechowuje lekarz weterynarii, który wystawił zlecenie.

6. Lekarz weterynarii, który wystawił zlecenie na wprowadzenie do obrotu paszy leczniczej, przekazuje właścicielowi zwierząt, dla których jest przeznaczona ta pasza, oryginał zlecenia i pozostałe kopie.

7. Wytwórca paszy leczniczej po przekazaniu paszy leczniczej właścicielowi zwierzęcia, na podstawie zlecenia, o którym mowa w ust. 1, przekazuje lekarzowi weterynarii kopie zlecenia, a w przypadku zwierząt, których tkanki lub z których produkty są przeznaczone do spożycia przez ludzi, drugą kopię zlecenia odsyła sprawującemu nadzór nad wytwarzaniem paszy leczniczej powiatowemu lekarzowi weterynarii; trzecią kopię otrzymuje posiadacz leczonych zwierząt .

8. Przed wystawieniem zlecenia lekarz weterynarii upewnia się czy:

- 1) pasze lecznicze i pasze stosowane w żywieniu leczonych zwierząt nie zawierają tego samego antybiotyku lub tego samego kokcydiostatyku jako substancji czynnych;
- 2) zastosowanie określonej w zleceniu paszy leczniczej jest uzasadnione w odniesieniu do wskazanych w zleceniu gatunków zwierząt;
- 3) podawanie premiksu leczniczego zawartego w paszy leczniczej nie jest sprzeczne z wcześniej zastosowanym leczeniem.

§ 15. Traci moc rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 25 maja 2004 r. w sprawie pasz leczniczych (Dz. U. Nr 140, poz. 1489).

§ 16. Rozporządzenie wchodzi w życie po upływie 7 dni od dnia ogłoszenia.

**MINISTER ROLNICTWA
I ROZWOJU WSI**

¹⁾ Minister Rolnictwa i Rozwoju Wsi kieruje działem administracji rządowej - rolnictwo, na podstawie § 1 ust. 2 pkt. 1 rozporządzenia Prezesa Rady Ministrów z dnia 31 października 2005 r. w sprawie szczegółowego zakresu działania Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi (Dz. U. Nr 220, poz. 1892).

²⁾ Przepisy niniejszego rozporządzenia wdrażają postanowienia dyrektywy Rady 90/167/WE z dnia 26 lipca 1990 r. w sprawie ustanowienia warunków przygotowania, wprowadzania do obrotu i użycia pasz leczniczych. (Dz.Urz.WE L.092 z 7.04.1990, str. 42).

Dane dotyczące ogłoszenia dyrektywy, zamieszczone w niniejszym rozporządzeniu, dotyczą ogłoszenia tego aktu w Dzienniku Urzędowym Unii Europejskiej – wydanie specjalne.

UZASADNIENIE

Projekt rozporządzenia jest wykonaniem delegacji dla ministra właściwego do spraw rolnictwa zgodnie z art.17 ust.4 projektu upoważnienia określonego w ustawie o paszach (Dz. U. Nr , poz.).

Rozporządzenie określa szczegółowe warunki techniczne i organizacyjne jakie powinien spełniać zakład , w którym wytwarza się pasze lecznicze przeznaczone do obrotu oraz produkty pośrednie oraz sposób ich produkcji, stężenie produktu pośredniego, sposób prowadzenia raportu wytwarzania i raportu obrotu, warunki i przechowywania pasz leczniczych przeznaczonych do obrotu oraz produktów pośrednich, warunki i sposób pobierania próbek pasz leczniczych przeznaczonych na potrzeby własne.

Przedstawiony projekt rozporządzenia stanowi rozszerzenie katalogu możliwości produkcji i wprowadzania do obrotu pasz leczniczych na podstawie przepisów dyrektywy Rady nr 90/167/EWG z 26 marca 1990 ustalającej warunki zarządzające wytwarzaniem, wprowadzeniem na rynek i użytkowaniem pasz leczniczych we Wspólnocie.

Powyższa regulacja ma na celu zwiększenie możliwości ordynowania przez lekarzy weterynarii pasz leczniczych i uproszczenie zasad ich dystrybucji . Projekt ustawy stanowi wykonanie przepisów Unii Europejskiej i nie podlega notyfikacji na podstawie rozporządzenia Rady Ministrów z dnia 23 grudnia 2002 r. w sprawie funkcjonowania krajowego systemu notyfikacji norm i aktów prawnych (Dz. U. Nr 239, poz. 2039 oraz z 2004 r. Nr 65, poz. 597).

OCENA SKUTKÓW REGULACJI

1. Podmioty, na które oddziałuje akt normatywny.

Projektowane rozporządzenie oddziaływać będzie na podmioty prowadzące działalność w zakresie wytwarzania pasz leczniczych na potrzeby własne.

Proponowana regulacja ma być elementem gwarantującym bezpieczeństwo żywności pochodzenia zwierzęcego poprzez pełny monitoring wytwarzania pasz leczniczych.

2. Zakres przeprowadzonych konsultacji społecznych.

W ramach prowadzonych uzgodnień projekt rozporządzenia zostanie przekazany do konsultacji do Federacji Związków Producentów Rolnych, Izby Gospodarczej Handlowców, Przetwórców Zbóż i Producentów Pasz, Krajowej Izby Lekarsko – Weterynaryjnej, Krajowej Izby Producentów Drobiu i Pasz, Krajowej Rady Izb Rolniczych, Krajowego Związku Rolników, Kótek i Organizacji Rolniczych, Niezależnego Samorządnego Związku Zawodowego Rolników Indywidualnych „Solidarność”, Niezależnego Samorządnego Związku Zawodowego „Solidarność”, Polskiego Związku Producentów Pasz, Związku Zawodowego Rolnictwa „Samoobrona”, „Polkarma” Polskiego Stowarzyszenia Producentów Karmy dla Zwierząt Domowych, Krajowej Rady Drobiarstwa, Związku Zawodowego Rolników „Ojczyzna”, Polskiego Związku Hodowców i Producentów Trzody Chlewnej „Polsus”, Rady Gospodarki Żywnościowej, Polskiej Federacji Hodowców Bydła i Producentów Mleka oraz Polskiego Związku Zrzeszeń Hodowców i Producentów Drobiu.

3. Wpływ aktu normatywnego na sektor finansów publicznych, w tym budżet państwa i budżet samorządu terytorialnego.

Powyższa regulacja nie wpłynie na sektor finansów publicznych, w tym budżet państwa i budżet samorządu terytorialnego.

4. Wpływ aktu na rynek pracy.

Powyższa regulacja nie wpłynie na rynek pracy.

5. Wpływ aktu normatywnego na konkurencyjność gospodarki i przedsiębiorczość, w tym na funkcjonowanie przedsiębiorstw.

Wejście w życie powyższej regulacji spowoduje, że wytwarzane w Polsce pasze lecznicze i produkty pośrednie będą spełniać wszelkie wymagania stanowiące o ich bezpieczeństwie dla zdrowia ludzi, zwierząt oraz dla środowiska naturalnego. W związku z powyższym pasze lecznicze i produkty pośrednie wyprodukowane w Polsce będą mogły być wprowadzane do obrotu i stosowane w żywieniu zwierząt w innych państwach członkowskich Unii Europejskiej oraz w państwach trzecich.

6. Wpływ aktu normatywnego na rozwój regionalny.

Rozporządzenie nie będzie miało wpływu na sytuację i rozwój regionów.

7. Wskazanie źródeł finansowania, zwłaszcza, jeżeli projekt pociąga za sobą zwiększenie obciążeń budżetu państwa lub budżetów jednostek samorządu terytorialnego.

Rozporządzenie nie spowoduje istotnego zwiększenia zadań dla Inspekcji Weterynaryjnej wynikających ze zwiększenia zakresu działań kontrolnych.

**ROZPORZĄDZENIE
MINISTRA ROLNICTWA I ROZWOJU WSI¹⁾**

z dnia 2006 r.

w sprawie pasz leczniczych przeznaczonych na potrzeby własne²⁾

Na podstawie art. 17 ust. 5 ustawy z dnia o paszach (Dz. U. Nr..., poz.....), zarządza się co następuje:

§ 1. Rozporządzenie określa:

- 1) szczegółowe warunki techniczne i organizacyjne, jakie powinien spełniać zakład, w którym wytwarza się pasze lecznicze przeznaczone na potrzeby własne, zwany dalej „zakładem”, oraz sposób ich produkcji;
- 2) dokumenty składające się na raport wytwarzania na potrzeby własne i sposób prowadzenia tego raportu;
- 3) warunki i sposób przechowywania pasz leczniczych przeznaczonych na potrzeby własne;
- 4) warunki i sposób pobierania próbek pasz leczniczych przeznaczonych na potrzeby własne.

§ 2. 1. W zakładzie wydziela się miejsca, w których:

- 1) wytwarza się pasze lecznicze;
- 2) przechowuje się:
 - a) produkty pośrednie,
 - b) pasze,
 - c) pasze lecznicze.

2. W zakładzie, w zależności od wielkości produkcji, instaluje się:

- 1) urządzenia do dozowania, rozdrabniania i mieszania materiałów paszowych;
- 2) legalizowane urządzenia do ważenia o zakresie i dokładności dostosowanej do wielkości naważek;

3) urządzenia do pakowania pasz leczniczych w opakowania jednostkowe lub zbiorniki do przechowywania pasz leczniczych.

3. Zakład wyposaża się w ujęcie wody.

4. Pomieszczenia, w których dokonuje się czynności wymienionych w ust. 1:

1) zabezpiecza się przed dostępem osób nieupoważnionych;

2) wyposaża się w pułapki do wyłapywania gryzoni.

5. Podłogi i ściany pomieszczeń, w których dokonuje się czynności wymienionych w ust. 1, wykonuje się ze zmywalnego, gładkiego i odpornego na ścieranie materiału, łatwego do czyszczenia i odkażania.

6. Opakowania, w których są składowane produkty pośrednie, oznacza się, umieszczając na nich, w sposób czytelny i trwały, nazwę tego produktu.

§ 3. 1. Pasje lecznicze wytwarza się przy użyciu urządzeń wykorzystywanych do wytwarzania mieszanek paszowych, umożliwiających równomierne wymieszanie produktu pośredniego z materiałem paszowym oraz łatwe ich czyszczenie po każdorazowym użyciu.

2. Wytwórca pasz leczniczych przeznaczonych na potrzeby własne wyznacza osobę, która będzie odpowiedzialna za proces produkcji tych pasz.

§ 4. 1. Po wytworzeniu paszy leczniczej linię produkcyjną oczyszcza się poprzez:

1) wytworzenie dwóch pełnych szarż mieszanki paszowej przeznaczonej na pierwszy okres odchowu zwierząt, dla których była przeznaczona wcześniej wytworzona pasza lecznicza, lub

2) użycie jednego z surowców będącego składnikiem receptury mieszanki paszowej przeznaczonej na pierwszy okres odchowu zwierząt, dla których była przeznaczona wcześniej wytworzona pasza lecznicza.

2. Użyty do czyszczenia linii surowiec należy dokładnie oznakować oraz umieścić w wydzielonym miejscu, a następnie zużyć do produkcji mieszanki paszowej przeznaczonej na pierwszy okres odchowu zwierząt, dla których wytworzono paszę leczniczą.

§ 5. 1. Wytwórca pasz leczniczych przeznaczonych na potrzeby własne prowadzi codzienny raport wytwarzania pasz leczniczych na potrzeby własne, który zawiera:

- 1) datę wytworzenia paszy leczniczej;
- 2) nazwę produktu pośredniego użytego danego dnia do wytworzenia paszy leczniczej;
- 3) rodzaj i ilość paszy leczniczej wytworzonej danego dnia.

2. Raport wytwarzania pasz leczniczych na potrzeby własne może być prowadzony w formie elektronicznej.

3. Raport wytwarzania pasz leczniczych na potrzeby własne przechowuje się przez okres 3 lat od dnia dokonania wpisu.

§ 6. Wytwórca pasz leczniczych przeznaczonych na potrzeby własne zapewnia, aby pasze lecznicze i lecznicze produkty pośrednie były przechowywane:

- 1) w nieuszkodzonych opakowaniach lub zbiornikach;
- 2) w warunkach zapewniających ich łatwą identyfikację;
- 3) oddzielnie od innych pasz i materiałów paszowych w rozumieniu ustawy o paszach oraz dodatków w celu uniknięcia zanieczyszczenia krzyżowego;
- 4) w taki sposób, aby nie stykały się z podłożem oraz ze ścianami;
- 5) w sposób zabezpieczający je przed niekorzystnymi warunkami atmosferycznymi.

§ 7. 1. Wytwórca pasz leczniczych przeznaczonych na potrzeby własne prowadzi wewnętrzną kontrolę jakości i przestrzegania zasad higieny w procesie wytwarzania tych pasz, obejmującą:

- 1) okresową ocenę jakości wytworzonych pasz leczniczych pod względem równomierności rozprowadzenia produktów pośrednich w paszy, w tym w zakresie:
 - a) zawartości substancji czynnej w 1 g paszy leczniczej – wykonywaną raz na kwartał dla każdej substancji aktywnej,
 - b) homogenności paszy leczniczej – wykonywaną raz na rok oraz po każdej zmianie urządzeń służących do wytwarzania paszy leczniczej;
- 2) ocenę prawidłowości i skuteczności stosowanych wewnętrznych procedur obejmujących w szczególności:

- a) pobieranie prób archiwalnych,
 - b) zabezpieczenie przed nieprawidłowym cyklem produkcyjnym,
 - c) opracowanie procedur zwalczania szkodników oraz czyszczenia urządzeń i pomieszczeń produkcyjnych,
 - d) opracowanie systemu zabezpieczeń przed wtórnym zanieczyszczeniem produktu;
- 3) kontrolę czystości i sprawności urządzeń służących do wytwarzania paszy leczniczej.

2. Sposób pobierania próbek do okresowej oceny jakości wytworzonych pasz leczniczych w zakresie, o którym mowa w ust. 1 pkt 1 lit. a, jest określony w załączniku do rozporządzenia.

3. Wyniki analiz są przechowywane przez okres 2 lat.

§ 8. Rozporządzenie wchodzi w życie po upływie 14 dni od dnia ogłoszenia.

**MINISTER ROLNICTWA
I ROZWOJU WSI**

¹⁾ Minister Rolnictwa i Rozwoju Wsi kieruje działem administracji rządowej - rolnictwo, na podstawie § 1 ust. 2 pkt. 1 rozporządzenia Prezesa Rady Ministrów z dnia 31 października 2005 r. w sprawie szczegółowego zakresu działania Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi (Dz. U. Nr 220, poz. 1892).

²⁾ Przepisy niniejszego rozporządzenia wdrażają postanowienia dyrektywy Rady 90/167/WE z dnia 26 lipca 1990 r. w sprawie ustanowienia warunków przygotowania, wprowadzania do obrotu i użycia pasz leczniczych. (Dz.Urz.WE L.092 z 7.04.1990, str. 42).

Dane dotyczące ogłoszenia dyrektywy, zamieszczone w niniejszym rozporządzeniu, dotyczą ogłoszenia tego aktu w Dzienniku Urzędowym Unii Europejskiej – wydanie specjalne.

Pasze lecznicze na potrzeby własne – sposób pobierania próbek

1. Określenia

- 1.1 Próbką pierwotna – próbka paszy leczniczej pobrana z jednego miejsca partii paszy.
- 1.2 Próbką ogólna – próbka otrzymana po połączeniu i wymieszaniu próbek pierwotnych.
- 1.3 Próbką laboratoryjna – część 1.4 próbki ogólnej przeznaczona do badania laboratoryjnego.

2. Przyrządy do pobierania próbek

- 2.1 Szufelki, zgłębniki lub inne narzędzia.

3. Czystość

Podczas pobierania próbek i obchodzenia się z nimi należy zwrócić uwagę, aby zarówno partia paszy jak i próbki nie uległy zanieczyszczeniu. Narzędzia powinny być czyste, suche i wolne od obcych zapachów. Narzędzia powinny być dokładnie oczyszczone po każdym użyciu.

4. Pojemniki na próbki

- 4.1 Pojemniki na próbki powinny być takiej wielkości, aby były prawie w całości wypełnione próbką. Pojemniki powinny mieć możliwość zamknięcia, aby nie można ich było otworzyć i ponownie zamknąć bez możliwości zauważenia tego.

4.2 Czystość

Pojemniki na próbki powinny być czyste, suche i wolne od obcych zapachów.

5. Postępowanie

- 5.1 Miejsce pobrania próbek- próbki pierwotne pobieramy z różnych miejsc partii paszy leczniczej

- 5.2 Ilość próbek pierwotnych – z partii paszy leczniczej pobieramy co najmniej 3 próbki pierwotne
- 5.3 Sporządzanie próbki ogólnej - próbki pierwotne wsypujemy do jednego pojemnika, dokładnie mieszamy.
- 5.4. Sporządzanie próbki laboratoryjnej – z próbki ogólnej wydzielamy około 0,5 kg paszy leczniczej i wsypujemy do pojemnika, w którym będzie wysłana do laboratorium.

6. Ekspedycja próbek laboratoryjnych

- 6.1 – Oznakowanie próbek – każda próbka laboratoryjna musi zostać oznakowana w sposób umożliwiający jej identyfikację. Opis powinien zawierać następujące informacje:
- rodzaj paszy leczniczej,
 - nazwa (nazwisko) i adres producenta paszy leczniczej,
 - nazwa substancji aktywnej dodanej do paszy leczniczej,
 - data produkcji paszy leczniczej.
- 6.2. Oznakowaną próbkę wysyłamy do wcześniej uzgodnionego laboratorium wraz ze zleceniem wykonania analizy.

UZASADNIENIE

Projekt rozporządzenia jest wykonaniem delegacji dla ministra właściwego do spraw rolnictwa zgodnie z art.17 ust.5 projektu ustawy o paszach (Dz. U. Nr, poz.).

Projektowane rozporządzenie określa szczegółowe warunki techniczne i organizacyjne jakie powinien spełniać zakład, w którym wytwarza się pasze lecznicze przeznaczone na potrzeby własne oraz sposób ich produkcji, dokumenty składające się na raport wytwarzania na potrzeby własne i sposób prowadzenia tego raportu, warunki i sposób przechowywania pasz leczniczych przeznaczonych na potrzeby własne, warunki i sposób pobierania próbek pasz leczniczych przeznaczonych na potrzeby własne.

Przedstawiony projekt rozporządzenia stanowi rozszerzenie, w stosunku do obecnie obowiązującego stanu prawnego, katalogu możliwości produkcji pasz leczniczych na podstawie przepisów dyrektywa Rady 90/167/EWG z 26 marca 1990 ustalającej warunki zarządzające wytwarzaniem, wprowadzeniem na rynek i użytkowaniem pasz leczniczych we Wspólnocie.

Powyższa regulacja ma na celu zwiększenie możliwości ordynowania przez lekarzy weterynarii pasz leczniczych.

Projekt ustawy stanowi wykonanie przepisów Unii Europejskiej i nie podlega notyfikacji na podstawie rozporządzenia Rady Ministrów z dnia 23 grudnia 2002 r. w sprawie funkcjonowania krajowego systemu notyfikacji norm i aktów prawnych (Dz. U. Nr 239, poz. 2039 oraz z 2004 r. Nr 65, poz. 597).

OCENA SKUTKÓW REGULACJI

1. Podmioty, na które oddziałuje akt normatywny

Projektowane rozporządzenie oddziaływać będzie na podmioty prowadzące działalność w zakresie wytwarzania pasz leczniczych na potrzeby własne.

Proponowana regulacja ma być elementem gwarantującym bezpieczeństwo żywności pochodzenia zwierzęcego poprzez pełny monitoring wytwarzania pasz leczniczych.

2. Zakres przeprowadzonych konsultacji społecznych

W ramach prowadzonych uzgodnień projekt rozporządzenia zostanie przekazany do konsultacji do Federacji Związków Producentów Rolnych, Izby Gospodarczej Handlowców, Przetwórców Zbóż i Producentów Pasz, Krajowej Izby Lekarsko – Weterynaryjnej, Krajowej Izby Producentów Drobiu i Pasz, Krajowej Rady Izb Rolniczych, Krajowego Związku Rolników, Kótek i Organizacji Rolniczych, Niezależnego Samorządnego Związku Zawodowego Rolników Indywidualnych „Solidarność”, Niezależnego Samorządnego Związku Zawodowego „Solidarność”, Polskiego Związku Producentów Pasz, Związku Zawodowego Rolnictwa „Samoobrona”, „Polkarma” Polskiego Stowarzyszenia Producentów Karmy dla Zwierząt Domowych, Krajowej Rady Drobiarstwa, Związku Zawodowego Rolników „Ojczyzna”, Polskiego Związku Hodowców i Producentów Trzody Chlewnej „Polsus”, Rady Gospodarki Żywnościowej, Polskiej Federacji Hodowców Bydła i Producentów Mleka oraz Polskiego Związku Zrzeszeń Hodowców i Producentów Drobiu.

3. Wpływ aktu normatywnego na sektor finansów publicznych, w tym budżet państwa i budżet samorządu terytorialnego.

Powyższa regulacja nie wpłynie na sektor finansów publicznych, w tym budżet państwa i budżet samorządu terytorialnego.

4. Wpływ aktu na rynek pracy

Powyższa regulacja nie wpłynie na rynek pracy.

5. Wpływ aktu normatywnego na konkurencyjność gospodarki i przedsiębiorczość, w tym na funkcjonowanie przedsiębiorstw.

Wprowadzenie w życie powyższej regulacji spowoduje, że wytwarzane w Polsce pasze lecznicze i produkty pośrednie będą spełniać wszelkie wymagania stanowiące o ich bezpieczeństwie dla zdrowia ludzi, zwierząt oraz dla środowiska naturalnego. W związku z powyższym pasze lecznicze i produkty pośrednie wyprodukowane w Polsce będą mogły być wprowadzane do obrotu i stosowane w żywieniu zwierząt w innych państwach członkowskich Unii Europejskiej oraz w państwach trzecich.

6. Wpływ aktu normatywnego na rozwój regionalny

Rozporządzenie nie będzie miało wpływu na sytuację i rozwój regionów.

7. Wskazanie źródeł finansowania, zwłaszcza, jeżeli projekt pociąga za sobą zwiększenie obciążeń budżetu państwa lub budżetów jednostek samorządu terytorialnego

Rozporządzenie nie spowoduje istotnego zwiększenia zadań dla Inspekcji Weterynaryjnej wynikających ze zwiększenia zakresu działań kontrolnych jak i z konieczności rejestracji dystrybutorów pasz leczniczych i produktów pośrednich.

(Projekt)

**ROZPORZĄDZENIE
MINISTRA ROLNICTWA I ROZWOJU WSI¹⁾**

z dnia.....2006 r.

**w sprawie obrotu paszami leczniczymi i produktami pośrednimi
prowadzonego przez dystrybutorów²⁾**

Na podstawie art. 20 ust. 4 ustawy z dnia o paszach (Dz. U. Nr..., poz.....) zarządza się, co następuje:

§ 1. Rozporządzenie określa:

- 1) szczegółowe warunki techniczne, jakie powinny spełniać środki transportu oraz miejsca przechowywania pasz leczniczych i produktów pośrednich, które powinien zapewnić dystrybutor;
- 2) sposób prowadzenia dokumentacji obrotu paszami leczniczymi i produktami pośrednimi;
- 3) warunki, sposób przechowywania i wprowadzania do obrotu pasz leczniczych przeznaczonych do obrotu oraz produktów pośrednich przez dystrybutora;
- 4) sposób transportu pasz leczniczych przeznaczonych do obrotu oraz produktów pośrednich przez dystrybutora.

§ 2. 1. Wytwórca pasz leczniczych lub produktów pośrednich przekazuje dystrybutorowi wraz z dostawą pasz leczniczych lub produktów pośrednich dokument zawierający informacje:

- 1) dotyczące identyfikacji premiksów wchodzących w skład paszy leczniczej lub produktu pośredniego obejmujące:
 - a) nazwę premiksu leczniczego, nr serii i datę ważności,
 - b) firmę lub nazwę wytwórcy premiksu, jego siedzibę i adres oraz oznaczenie formy prawnej prowadzonej działalności, a w przypadku osoby fizycznej - imię, nazwisko, miejsce zamieszkania i adres,
 - c) ilość premiksu w paszy leczniczej lub produkcie pośrednim,
 - d) firmę, nazwę dostawcy premiksu, siedzibę oraz oznaczenie formy prawnej działalności;

- 2) firmę lub nazwę wytwórcy paszy leczniczej lub produktu pośredniego, jego siedzibę i adres oraz forma prowadzonej działalności;
- 3) datę i miejsce wytworzenia paszy leczniczej lub produktu pośredniego;
- 4) okres trwałości paszy leczniczej lub produktu pośredniego;
- 5) imię, nazwisko osoby kierującej procesem produkcji paszy leczniczej lub produktu pośredniego;
- 6) numer serii wytworzonej paszy leczniczej lub produktu pośredniego.

§ 3. 1. Działalność dystrybucyjna, o której mowa w § 1, prowadzona jest w specjalnie do tego celu przystosowanych pomieszczeniach lub w wydzielonych miejscach tych pomieszczeń zabezpieczonych przed dostępem osób nieuprawnionych.

2. Pomieszczenia lub wydzielone miejsce, w których są przechowywane pasze lecznicze lub produkty pośrednie:

- 1) wyposaża się w:
 - a) urządzenia wentylacyjne,
 - b) pułapki do wyłapywania gryzoni,
- 2) izoluje się od wpływów warunków atmosferycznych.

3. Do zakładu, w którym prowadzona jest działalność dystrybucyjna doprowadza się wodę, w ilości wystarczającej do prowadzenia tej działalności.

4. Ściany, sufity i podłogi pomieszczeń wykonuje się z materiałów łatwych do utrzymania w czystości

§ 4. Dystrybutor zapewnia, aby pasze lecznicze i produkty pośrednie były:

- 1) oznakowane zgodnie z przepisami;
- 2) przechowywane w oryginalnych, nieuszkodzonych opakowaniach;
- 3) przechowywane i dystrybuowane w terminie przydatności określonym przez producenta;
- 4) przechowywane zgodnie z warunkami określonymi przez producenta na opakowaniu lub etykiecie dołączonej do opakowania;
- 5) przechowywane w sposób umożliwiający ich łatwą identyfikację, w celu zapobiegania wystąpieniu pomyłek oraz pogorszenia ich jakości;
- 6) przechowywane oddzielnie od innych pasz w celu uniknięcia zanieczyszczenia krzyżowego;

- 7) przechowywane w sposób zabezpieczający je przed niekorzystnymi warunkami atmosferycznymi;
- 8) składowane na podkładach, paletach lub regałach, tak aby nie stykały się ze ścianami i podłogą.

§ 5. 1. Pasze lecznicze i produkty pośrednie przewozi się środkami transportu, które są utrzymywane w czystości i odkażane.

2. Pasze lecznicze i produkty pośrednie są transportowane oddzielnie od innych środków żywienia zwierząt.

3. Pasze lecznicze i produkty pośrednie transportuje się w oryginalnych szczelnie zamkniętych opakowaniach wytwórcy pasz leczniczych lub produktów pośrednich, zabezpieczonych dodatkowo folią, na paletach lub w kontenerach.

4. Do każdej partii transportowanej paszy leczniczej lub produktów pośrednich dołącza się kopię zlecenia na wprowadzenie do obrotu paszy leczniczej lub produktu pośredniego, wystawionego przez lekarza weterynarii świadczącego usługi z zakresu medycyny weterynaryjnej.

§ 6. 1. Dystrybutor pasz leczniczych i produktów pośrednich prowadzi codzienny raport obrotu, który zawiera:

- 1) datę dokonania wpisu;
- 2) nazwę i ilość oraz nr serii składowanej paszy leczniczej lub produktu pośredniego w magazynie;
- 3) nazwę, ilość oraz nr serii i okres karencji wprowadzonej do obrotu paszy leczniczej lub produktu pośredniego;
- 4) stan magazynowy paszy leczniczej i produktu pośredniego po dokonaniu obrotu;
- 5) numer zlecenia wystawionego przez lekarza weterynarii na wprowadzenie do obrotu paszy leczniczej lub produktu pośredniego lub numer dokumentu sprzedaży;
- 6) nazwisko lub nazwę i adres odbiorcy.

2. Raport obrotu przechowuje się przez okres 3 lat.

§ 7. 1. Dystrybutor paszy leczniczej lub produktu pośredniego dostarcza właścicielowi zwierząt pasze lecznicze lub produkty pośrednie na podstawie zlecenia

wystawionego przez lekarza weterynarii prowadzącego praktykę lekarsko – weterynaryjną.

2. Zlecenie, o którym mowa w ust.1, zachowuje ważność przez okres 3 dni od dnia wystawienia przez lekarza weterynarii.

3. Dystrybutor po dostarczeniu paszy leczniczej lub produktu pośredniego na podstawie zlecenia, o którym mowa w ust. 1, wpisuje dane i jeden wypełniony egzemplarz wysyła do właściciela zwierząt, drugi do lekarza weterynarii, który wystawił zlecenie, trzeci do powiatowego lekarza sprawującego nadzór nad zakładem dystrybucyjnym, a oryginał zatrzymuje i przechowuje przez 3 lata.

§ 8. Rozporządzenie wchodzi w życie po upływie 14 dni od dnia ogłoszenia.

**MINISTER ROLNICTWA
I ROZWOJU WSI**

¹⁾ Minister Rolnictwa i Rozwoju Wsi kieruje działem administracji rządowej - rolnictwo, na podstawie § 1 ust. 2 pkt. 1 rozporządzenia Prezesa Rady Ministrów z dnia 31 października 2005 r. w sprawie szczegółowego zakresu działania Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi (Dz. U. Nr 220, poz. 1892).

²⁾ Przepisy niniejszego rozporządzenia wdrażają postanowienia dyrektywy Rady 90/167/WE z dnia 26 lipca 1990 r. w sprawie ustanowienia warunków przygotowania, wprowadzania do obrotu i użycia pasz leczniczych. (Dz.Urz.WE L.092 z 7.04.1990, str. 42).

Dane dotyczące ogłoszenia dyrektywy, zamieszczone w niniejszym rozporządzeniu, dotyczą ogłoszenia tego aktu w Dzienniku Urzędowym Unii Europejskiej – wydanie specjalne.

UZASADNIENIE

Projekt rozporządzenia jest wykonaniem delegacji dla ministra właściwego do spraw rolnictwa zgodnie z art.20 ust.4 projektu ustawy o paszach (Dz. U. Nr..... poz.).

Rozporządzenie określa szczegółowe warunki techniczne jakie powinny spełniać środki transportu oraz miejsca przechowywani apasz leczniczych i produktów pośrednich, które powinien spełniać dystrybutor, sposób prowadzenia dokumentacji obrotu paszami leczniczymi i produktami pośrednimi, warunki ,sposób przechowywania i wprowadzania do obrotu pasz leczniczych przeznaczonych do obrotu oraz produktów pośrednich przez dystrybutora , a także sposób transportu pasz leczniczych przeznaczonych do obrotu oraz produktów pośrednich przez dystrybutora.

Przedstawiony projekt rozporządzenia stanowi rozszerzenie katalogu możliwości produkcji i wprowadzania do obrotu pasz leczniczych na podstawie zapisów wskazanych w dyrektywie Dyrektywa Rady 90/167/EWG z 26 marca 1990 ustalającej warunki zarządzające wytwarzaniem, wprowadzeniem na rynek i użytkowaniem pasz leczniczych we Wspólnocie.

Powyższa regulacja ma na celu zwiększenie możliwości ordynowania przez lekarzy weterynarii pasz leczniczych i uproszczenie zasad ich dystrybucji. Projekt ustawy stanowi wykonanie przepisów Unii Europejskiej i nie podlega notyfikacji na podstawie rozporządzenia Rady Ministrów z dnia23 grudnia 2002 r. w sprawie funkcjonowania krajowego systemu notyfikacji norm i aktów prawnych (Dz. U. Nr 239, poz. 2039 oraz z 2004 r. Nr 65, poz. 597).

OCENA SKUTKÓW REGULACJI

1. Podmioty, na które oddziałuje akt normatywny.

Projektowane rozporządzenie oddziaływać będzie na podmioty prowadzące działalność w zakresie wytwarzania i obrotu paszami leczniczymi oraz produktami pośrednimi. (stanowiąc zagrożenia dla zdrowia ludzi i zwierząt.

Proponowana regulacja ma być elementem gwarantującym bezpieczeństwo żywności pochodzenia zwierzęcego poprzez pełny monitoring dystrybucji pasz leczniczych.

2. Zakres przeprowadzonych konsultacji społecznych.

W ramach prowadzonych uzgodnień projekt rozporządzenia zostanie przekazany do konsultacji do Federacji Związków Producentów Rolnych, Izby Gospodarczej Handlowców, Przetwórców Zbóż i Producentów Pasz, Krajowej Izby Lekarsko – Weterynaryjnej, Krajowej Izby Producentów Drobiu i Pasz, Krajowej Rady Izb Rolniczych, Krajowego Związku Rolników, Kółek i Organizacji Rolniczych, Niezależnego Samorządnego Związku Zawodowego Rolników Indywidualnych „Solidarność”, Niezależnego Samorządnego Związku Zawodowego „Solidarność”, Polskiego Związku Producentów Pasz, Związku Zawodowego Rolnictwa „Samoobrona”, „Polkarma” Polskiego Stowarzyszenia Producentów Karmy dla Zwierząt Domowych, Krajowej Rady Drobiarstwa, Związku Zawodowego Rolników „Ojczyzna”, Polskiego Związku Hodowców i Producentów Trzody Chlewnej „Polsus”, Rady Gospodarki Żywnościowej, Polskiej Federacji Hodowców Bydła i Producentów Mleka oraz Polskiego Związku Zrzeszeń Hodowców i Producentów Drobiu.

3. Wpływ aktu normatywnego na sektor finansów publicznych, w tym budżet państwa i budżet samorządu terytorialnego.

Powyższa regulacja nie wpłynie na sektor finansów publicznych, w tym budżet państwa i budżet samorządu terytorialnego.

4. Wpływ aktu na rynek pracy.

Powyższa regulacja nie wpłynie na rynek pracy.

5. Wpływ aktu normatywnego na konkurencyjność gospodarki i przedsiębiorczość, w tym na funkcjonowanie przedsiębiorstw.

Wprowadzenie w życie powyższej regulacji spowoduje, że wytwarzane w Polsce pasze lecznicze i produkty pośrednie będą spełniać wszelkie wymagania stanowiące o ich bezpieczeństwie dla zdrowia ludzi, zwierząt oraz dla środowiska naturalnego. W związku z powyższym pasze lecznicze i produkty pośrednie wyprodukowane w Polsce będą mogły być wprowadzane do obrotu i stosowane w

żywieniu zwierząt w innych państwach członkowskich Unii Europejskiej oraz w państwach trzecich.

6. Wpływ aktu normatywnego na rozwój regionalny.

Rozporządzenie nie będzie miało wpływu na sytuację i rozwój regionów.

7. Wskazanie źródeł finansowania, zwłaszcza, jeżeli projekt pociąga za sobą zwiększenie obciążeń budżetu państwa lub budżetów jednostek samorządu terytorialnego

Rozporządzenie nie spowoduje istotnego zwiększenia zadań dla Inspekcji Weterynaryjnej wynikających ze zwiększenia zakresu działań kontrolnych jak i z konieczności rejestracji dystrybutorów pasz leczniczych i produktów pośrednich.

**ROZPORZĄDZENIE
MINISTRA ROLNICTWA I ROZWOJU WSI¹⁾**

z dnia 2006 r.

**w sprawie wzoru zlecenia na wprowadzanie do obrotu pasz leczniczych i
produktów pośrednich²⁾**

Na podstawie art. 21 ust.3 ustawy z dnia 2006 r. o paszach (Dz. U. Nr ,
poz.) zarządza się, co następuje:

§ 1. Określa się wzór zlecenia na wprowadzenie do obrotu pasz leczniczych i
produktów pośrednich, stanowiący załącznik do rozporządzenia.

§ 2. Rozporządzenie wchodzi w życie po upływie 7 dni od dnia ogłoszenia.

**MINISTER ROLNICTWA
I ROZWOJU WSI**

¹⁾ Minister Rolnictwa i Rozwoju Wsi kieruje działem administracji rządowej - rolnictwo, na podstawie § 1 ust. 2 pkt. 1 rozporządzenia Prezesa Rady Ministrów z dnia 31 października 2005 r. w sprawie szczegółowego zakresu działania Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi (Dz. U. Nr 220, poz. 1892).

²⁾ Przepisy niniejszego rozporządzenia wdrażają postanowienia dyrektywy Rady 90/167/WE z dnia 26 lipca 1990 r. w sprawie ustanowienia warunków przygotowania, wprowadzania do obrotu i użycia pasz leczniczych. (Dz.Urz.WE L.092 z 7.04.1990, str. 42).

Dane dotyczące ogłoszenia dyrektywy, zamieszczone w niniejszym rozporządzeniu, dotyczą ogłoszenia tego aktu w Dzienniku Urzędowym Unii Europejskiej – wydanie specjalne.

WZÓR

ZLECENIE

A. Część, którą wypełnia lekarz weterynarii

1. Imię i nazwisko lekarza weterynarii wystawiającego zlecenie, adres zakładu leczniczego dla zwierząt oraz numer wpisu na listę lekarzy weterynarii posiadających prawo wykonywania zawodu.
2. Kolejny numer zlecenia
- 1a. Adres, właściwego terytorialnie dla danego stada zwierząt, Powiatowego Lekarza Weterynarii
3. Data wystawienia zlecenia
4. Zlecam zastosowanie paszy leczniczej/produktu pośredniego * dla
- (gatunek zwierząt i grupę technologiczną)
- w ilości kg, z zastosowaniem premiksu (ilość paszy leczniczej/produktu pośredniego* w kg) leczniczego
- (nazwa premiksu leczniczego)
5. Ilość sztuk zwierząt, dla których jest przeznaczona pasza lecznicza/produkt pośredni*
6. Średni wiek i średnia waga zwierząt, dla których jest przeznaczona pasza lecznicza/produkt pośredni*
7. Firma lub nazwa posiadacza zwierzęcia, dla którego jest przeznaczona pasza lecznicza/produkt pośredni, * jego siedziba i adres oraz oznaczenie formy prawnej prowadzonej działalności, a w przypadku osoby fizycznej - imię, nazwisko, miejsce zamieszkania i adres
8. Wskazania lecznicze zastosowania paszy leczniczej
9. Czas podawania paszy leczniczej
10. Okres karencji paszy leczniczej
- 11 *. Identyfikacja premiksów leczniczych wchodzących w skład paszy leczniczej/produktu/pośredniego*:
 - a) nazwa premiksu leczniczego, numer serii i data ważności
 - b) firma lub nazwa wytwórcy premiksu leczniczego, jego siedziba i adres oraz oznaczenie formy prawnej prowadzonej działalności, a w przypadku osoby fizycznej - imię, nazwisko, miejsce zamieszkania i
 - c) numer premiksu leczniczego w Urzędowym Wykazie Produktów Leczniczych Dopuszczonych do Obrotu na terytorium Rzeczypospolitej Polskiej
 - d) ilość premiksu leczniczego w paszy leczniczej/produkcie pośrednim*
 - e) firma lub nazwa dostawcy premiksu leczniczego, jego siedziba i adres oraz oznaczenie formy prawnej prowadzonej działalności, a w przypadku osoby fizycznej - imię, nazwisko, miejsce zamieszkania i

adres

adres

12. Rodzaj paszy w paszy leczniczej/produkcie pośrednim*
.....

13. Procentowy udział paszy leczniczej w dziennej dawce pokarmowej przeżuwaczy, zaspokajający zapotrzebowanie na dodatki mineralne

14. Wskazania dotyczące stosowania paszy leczniczej: data rozpoczęcia i zakończenia podawania paszy leczniczej, przeciwwskazania, działania uboczne, interakcje z innymi środkami, inne wskazania

.....
.....

(podpis i pieczęć lekarza weterynarii wystawiającego zlecenie)

B. Część, którą wypełnia wytwórca paszy leczniczej

15. Firma lub nazwa wytwórcy paszy leczniczej, jego siedziba i adres oraz oznaczenie formy prawnej prowadzonej działalności, a w przypadku osoby fizycznej - jej imię i nazwisko oraz miejsce zamieszkania i adres

16. Data i miejsce
wytworzenia paszy
leczniczej/produktu
pośredniego*

17. Data wydania paszy leczniczej

18. Okres trwałości paszy
leczniczej

19. Imię i nazwisko osoby kierującej
procesem produkcji paszy
leczniczej/produktu pośredniego*

20. Numer partii wytworzonej paszy
leczniczej/produktu pośredniego (*pokrywający
się z numerem pobranej próby)

(podpis, pieczęć i data)

21. Potwierdzam wydanie paszy leczniczej /produktu pośredniego* zgodnie ze zleceniem

.....

(podpis osoby upoważnionej do wydania paszy leczniczej/ produktu
pośredniego*)

- Punkt 11 wypełnia nabywca premiksu leczniczego

UZASADNIENIE

Projekt rozporządzenia stanowi wykonanie upoważnienia ustawowego dla ministra właściwego do spraw rolnictwa zawartego w art. 21 ust. 3 ustawy z dnia 2006 r. o paszach (Dz. U. Nr , poz.)

Projekt rozporządzenia określa wzór zlecenia na wprowadzenie do obrotu pasz leczniczych i produktów pośrednich, stanowiącego załączniku nr 1 do rozporządzenia.

Przedstawiony w projekcie rozporządzenia wzór zlecenia, w szczególności sposób identyfikuje lekarza weterynarii ordynującego paszę leczniczą lub produkt pośredni, a także zawiera istotne informacje na temat pochodzenia, stosowania i składu przepisanej paszy leczniczej lub produktu pośredniego. Powyższa regulacja korzystnie wpłynie na bezpieczeństwo dystrybucji i stosowania pasz leczniczych i produktów pośrednich, a przede wszystkim na bezpieczeństwo produktów pochodzenia zwierzęcego.

Przepisy niniejszego rozporządzenia wdrażają postanowienia dyrektywy Rady 90/167/WE z dnia 26 lipca 1990 r. w sprawie ustanowienia warunków przygotowania, wprowadzania do obrotu i użycia pasz leczniczych

Przedmiot projektowanego rozporządzenia jest zgodny z prawem Unii Europejskiej, jak również nie wymaga notyfikacji w rozumieniu przepisów rozporządzenia Rady Ministrów z dnia 23 grudnia 2002 r. w sprawie sposobu funkcjonowania krajowego systemu notyfikacji norm i aktów prawnych (Dz. U. Nr 239, poz. 2039, z późn. zm.)

OCENA SKUTKÓW REGULACJI

1. Podmioty, na które oddziałuje projektowana regulacja.

Projektowane rozporządzenie oddziaływać będzie na lekarzy weterynarii wystawiających zlecenie na wprowadzenie do obrotu pasz leczniczych i produktów pośrednich, oraz na wytwórców pasz leczniczych. Proponowana regulacja ma być

elementem gwarantującym bezpieczeństwo żywności pochodzenia zwierzęcego poprzez pełny monitoring dystrybucji pasz leczniczych i produktów pośrednich.

2. Zakres i wyniki konsultacji społecznych.

W ramach prowadzonych uzgodnień projekt rozporządzenia zostanie przekazany do konsultacji do Federacji Związków Producentów Rolnych, Izby Gospodarczej Handlowców, Przetwórców Zbóż i Producentów Pasz, Krajowej Izby Lekarsko – Weterynaryjnej, Krajowej Izby Producentów Drobiu i Pasz, Krajowej Rady Izb Rolniczych, Krajowego Związku Rolników, Kółek i Organizacji Rolniczych, Niezależnego Samorządnego Związku Zawodowego Rolników Indywidualnych „Solidarność”, Niezależnego Samorządnego Związku Zawodowego „Solidarność”, Polskiego Związku Producentów Pasz, Związku Zawodowego Rolnictwa „Samoobrona”, „Polkarma” Polskiego Stowarzyszenia Producentów Karmy dla Zwierząt Domowych, Krajowej Rady Drobiarstwa, Związku Zawodowego Rolników „Ojczyzna”, Polskiego Związku Hodowców i Producentów Trzody Chlewnej „Polsus”, Rady Gospodarki Żywnościowej, Polskiej Federacji Hodowców Bydła i Producentów Mleka oraz Polskiego Związku Zrzeszeń Hodowców i Producentów Drobiu.

3. Wpływ regulacji na budżet państwa i budżety jednostek samorządu terytorialnego.

Projektowana regulacja nie spowoduje skutków finansowych dla budżetu państwa oraz dla budżetów jednostek samorządu terytorialnego.

4. Wpływ regulacji na konkurencyjność gospodarki i przedsiębiorczość, w tym na funkcjonowanie przedsiębiorstw.

Wejście w życie powyższej regulacji spowoduje, że wytwarzane w Polsce pasze lecznicze i produkty pośrednie będą spełniać wszelkie wymagania stanowiące o ich bezpieczeństwie dla zdrowia ludzi, zwierząt oraz dla środowiska naturalnego. W związku z powyższym pasze lecznicze i produkty pośrednie wyprodukowane w Polsce będą mogły być wprowadzane do obrotu i stosowane w żywieniu zwierząt w innych państwach członkowskich Unii Europejskiej oraz w państwach trzecich.

5. Wpływ regulacji na rynek pracy.

Projektowana regulacja nie będzie miała wpływu na rynek pracy.

6. Wpływ regulacji na sytuację i rozwój regionów.

Projektowana regulacja nie będzie miała wpływu na sytuację i rozwój regionów.

7. Wskazanie źródeł finansowania, zwłaszcza, jeżeli projekt pociąga za sobą zwiększenie obciążeń budżetu państwa lub budżetów jednostek samorządu terytorialnego

Rozporządzenie nie spowoduje istotnego zwiększenia zadań dla Inspekcji Weterynaryjnej wynikających ze zwiększenia zakresu działań kontrolnych jak i z konieczności rejestracji dystrybutorów pasz leczniczych i produktów pośrednich.

ROZPORZĄDZENIE
MINISTRA ROLNICTWA I ROZWOJU WSI ¹⁾
z dnia.....2006r.

**w sprawie dopuszczalnej zawartości wody, substancji wiążących,
zanieczyszczeń roślinnych oraz zanieczyszczeń mineralnych w paszach**

Na podstawie art. 22 ust. 2 ustawy z dnia ... 2006 r. o paszach (Dz. U. Nr..., poz...) zarządza się, co następuje:

§ 1.

1. Dopuszczalna zawartość wody w materiale paszowym wynosi 14 % jej udziału masowego w tym materiale.
2. Dopuszczalna zawartość wody w materiale paszowym może wynosić powyżej 14% jej udziału masowego w tym materiale, lub inną jej zawartość, jeżeli informacja o tym zostanie umieszczona na opakowaniu lub etykiecie dołączonej do opakowania albo dołączona do dokumentów przewozowych, zgodnie z przepisami dotyczącymi oznakowania środków żywienia zwierząt, wydanymi na podstawie art. 29 ust. 8 pkt 1 ustawy z dnia 2006 r. o paszach , zwanej dalej „ustawą”.

§ 2.

1. Dopuszczalna zawartość wody w mieszance paszowej, nie może przekraczać w:
 - 1) mieszance paszowej uzupełniającej, przeznaczonej do zaspokajania potrzeb żywieniowych młodych zwierząt po okresie skarmiania siary lub stosowanej jako zamiennik mleka w czasie pojenia zwierząt mlekiem, lub do dożywiania cieląt przeznaczonych do opasu (w preparacie mlekozastępczym) - 7% jej udziału masowego w tej mieszance;
 - 2) mieszance paszowej zawierającej co najmniej 40 % materiałów paszowych uzyskanych w procesie przetwarzania mleka – 7% jej udziału masowego w tej mieszance;
 - 3) mieszance paszowej uzupełniającej, w skład której wchodzi składniki mineralne, zawierające co najmniej 40% popiołu surowego:
 - a) w przypadku, gdy zawiera ona substancje organiczne - 10,0 % jej udziału masowego w tej mieszance,

b) w przypadku gdy nie zawiera ona substancji organicznych - 5,0% jej udziału masowego w tej mieszance;

4) pozostałych mieszankach paszowych - 14,0 % jej udziału masowego w tej mieszance.

2. Zawartość wody w mieszance paszowej może być wyższa od określonej w ust 1, jeżeli informacja o tym zostanie umieszczona na opakowaniu lub etykiecie dołączonej do opakowania, lub dołączona do dokumentów przewozowych, zgodnie z przepisami dotyczącymi oznakowania pasz , wydanymi na podstawie art. 29 ust. 8 pkt 1 ustawy.

§ 3.

Dopuszczalna zawartość substancji wiążących w materiale paszowym nie może przekraczać 3,0 % ich udziału masowego w tym materiale.

§ 4.

1. Dopuszczalna zawartość zanieczyszczeń roślinnych w materiale paszowym, w postaci nieszkodliwych pozostałości:

1) nasion roślin oleistych lub owoców roślin oleistych pochodzących z procesu ich obróbki - nie może przekraczać 0,5 % tych zanieczyszczeń w tym materiale;

2) w postaci słomy i jej odpadków, nasion gatunków roślin uprawnych lub chwastów - nie może przekraczać 5,0 % ich udziału masowego w tym materiale.

2. Dopuszczalna zawartość zanieczyszczeń roślinnych, o których mowa w ust. 1, nie może przekraczać:

1) 6,0 % udziału masowego tych zanieczyszczeń w nasionach rzepaku, makuchu rzepakowym, śrucie poekstrakcyjnej rzepakowej;

2) 7,0 % udziału masowego tych zanieczyszczeń w nasionach lnianym, makuchu lnianym, śrucie poekstrakcyjnej lnianej.

§ 5.

1. Dopuszczalna zawartość zanieczyszczeń mineralnych w paszach, wyrażona jako zawartość popiołu nierozpuszczalnego w kwasie chlorowodorowym, nie może przekraczać 2,2 % tych zanieczyszczeń w suchej masie, z tym że :

1) w materiałach paszowych nie może przekraczać:

a) 3,4 % tych zanieczyszczeń w suchej masie makuchu z nasion Nigru,

b) 5 % tych zanieczyszczeń w suchej masie w makuchu sezamowym,

c) 4,5 % tych zanieczyszczeń w suchej masie w wysłodkach buraczanych lub wysłodkach buraczanych melasowanych,

d) 4,5 % tych zanieczyszczeń w suchej masie manioku ;

2) w mieszankach paszowych zawierających głównie produkty uboczne, powstałe w procesie obróbki ryżu, nie może przekraczać 3,3 % tych zanieczyszczeń w suchej masie.

2. Dopuszczalna zawartość zanieczyszczeń mineralnych w paszach może być wyższa od określonej w ust.1, z wyłączeniem mieszanek paszowych, o których mowa w ust. 1 pkt 2, w przypadku:

1) mieszanek paszowych uzupełniających :

a) zawierających mineralne substancje wiążące,

b) mineralnych,

c) zawierających więcej niż 50 % krajanki buraczanej lub wysłodków buraczanych,

d) przeznaczonych dla ryb i zawierających więcej niż 15 % mączki rybnej,

2) materiałów paszowych, z wyłączeniem materiałów paszowych, o których mowa w ust.1 pkt 1

- jeżeli informacja o tym zostanie umieszczona na opakowaniu lub etykiecie dołączonej do opakowania, lub dołączona do dokumentów przewozowych, zgodnie z przepisami dotyczącymi oznakowania pasz, wydanymi na podstawie art. 29 ust. 8 pkt 1 ustawy .

§ 6.

Rozporządzenie wchodzi w życie po upływie 14 dni od dnia ogłoszenia.

MINISTER ROLNICTWA I ROZWOJU WSI

¹⁾ Minister Rolnictwa i Rozwoju Wsi kieruje działem administracji rządowej – rolnictwo, na podstawie § 1 ust. 2 pkt 1 rozporządzenia Prezesa Rady Ministrów z dnia 31 października 2005 r. w sprawie szczegółowego zakresu działania Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi (Dz. U. Nr 220, poz. 1892).

²⁾ Przepisy rozporządzenia wdrażają postanowienia dyrektyw:

1) 96/25/WE z dnia 29 kwietnia 1996 r. w sprawie obrotu materiałami paszowymi, zmieniającej dyrektywy 70/524/EWG, 74/63/EWG, 82/471/EWG i 93/74/EWG oraz

uchylającej dyrektywę 77/101/ EWG (Dz. Urz. WE L 125 z 23.5.1996, str. 35; Dz. Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3 , t. 19, str. 96, z późn. zm);

2) 79/373/EWG z dnia 2 kwietnia 1979 r. w sprawie obrotu mieszankami paszowymi (Dz. Urz. WE L 86 z 6.4.1979, str. 30; Dz. Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz.3, t. 4, str. 50, z późn. zm.).

UZASADNIENIE

Projekt rozporządzenia stanowi wykonanie upoważnienia zawartego w art. 22 ust. 2 ustawy o paszach (Dz. U. Nr .. , poz. ...). Aktualnie obowiązującym aktem prawnym w tym zakresie jest rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 9 kwietnia 2003 r. w sprawie dopuszczalnej zawartości wody, substancji wiążących, zanieczyszczeń roślinnych oraz zanieczyszczeń mineralnych w paszach, stanowiące wypełnienie upoważnienia zawartego w art. 20 ust. 5 ustawy o środkach żywienia zwierząt (Dz. U. z 2005 r. Nr 255, poz. 2143). Jednakże z uwagi na konieczność dostosowania polskich przepisów prawnych do obowiązujących we Wspólnocie uchwalono ustawę o paszach, uchylającą dotychczas obowiązującą ustawę z dnia 23 sierpnia 2001 r. o środkach żywienia zwierząt. W projekcie rozporządzenia określone zostały dopuszczalne zawartości wody, substancji wiążących, zanieczyszczeń roślinnych oraz zanieczyszczeń mineralnych w materiałach paszowych i mieszankach paszowych. Do czasu opublikowania przedmiotowego rozporządzenia obowiązywać będą zachowane czasowo w mocy, przepisy powołanego na wstępie rozporządzenia tj. z dnia 9 kwietnia 2003 r.

Przepisy projektu rozporządzenia:

- w § 1 określają dopuszczalną zawartość wody w materiale paszowym oraz dopuszczają jej wyższą lub inną zawartość w tym materiale paszowym, o ile zostanie oznakowana zgodnie z przepisami określonymi w ustawie o paszach zgodnie z art. 29 ust. 8 pkt 1,
- w § 2 określają dopuszczalną zawartość wody w mieszankach paszowych oraz dopuszczają jej wyższą zawartość, o ile zostanie oznakowana zgodnie z przepisami określonymi w ustawie o paszach w art. 29 ust. 8 pkt 1,
- w § 3 określają dopuszczalną zawartość substancji wiążących,
- w § 4 określają dopuszczalną zawartość zanieczyszczeń roślinnych w materiale w paszowym,
- w § 5 określają dopuszczalną zawartość zanieczyszczeń mineralnych.

W projekcie rozporządzenia określono dopuszczalną zawartość wody nie wymagającą oznakowania jak również dopuszczono możliwość stosowania materiałów paszowych i mieszanek paszowych o innych zawartościach niż określono w projekcie rozporządzenia pod warunkiem, że rzeczywista jej zawartość oraz termin

trwałości takiej mieszanki paszowej lub materiału paszowego zostanie określony na opakowaniu lub etykiecie załączonej do opakowania lub w dokumentach przewozowych. Podobnie materiały paszowe i mieszanki paszowe o wyższej zawartości zanieczyszczeń mineralnych niż określono w § 5 projektu rozporządzenia wymagają zamieszczenia informacji odnośnie rzeczywistej zawartości popiołu nierozpuszczalnego w kwasie chlorowodorowym. Wymienione zagadnienia zostaną uregulowane w rozporządzeniu Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi w sprawie szczegółowych zasad oznakowania pasz, w tym zakresu informacji, które powinny być umieszczone na ich opakowaniu lub etykiecie dołączonej do opakowania albo dołączone do dokumentów przewozowych, stanowiącego wykonanie delegacji ustawowej z art. 29 ust. 8 pkt 1 i ust. 6 (Dz. U. 123, poz. 1350).

Przy opracowaniu projektu rozporządzenia wykorzystano następujące akty prawne Unii Europejskiej:

- 1) Dyrektywę Rady Nr 79/373/EEC z dnia 2 kwietnia 1979 r. dotyczącą sprzedaży mieszanek paszowych ostatnio zmienioną Dyrektywą 2001/16/EC Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 10 kwietnia 2001 r. zmieniającą Dyrektywę Rady Nr 79/373/EEC oraz Dyrektywę Rady 96/25/EC dotyczącą obrotu materiałami paszowymi.
- 2) Dyrektywę Rady Nr 96/24/EEC z dnia 29 kwietnia 1996 r. wnosząca poprawki do dyrektywy Nr 79/373/EEC o sprzedaży mieszanek paszowych,
- 3) Dyrektywę Rady Nr 96/25/EC z dnia 29 kwietnia 1996 r. o obrocie pasz, wnoszącą poprawki do dyrektyw: 70/524/EEC, 74/63/EEC, 82/471/EEC oraz 93/74/EEC i uchylająca dyrektywę 77/101/EEC.

Projekt rozporządzenia nie zawiera przepisów technicznych i w związku z tym nie podlega notyfikacji w rozumieniu przepisów rozporządzenia Rady Ministrów z dnia 23 grudnia 2002 r. w sprawie sposobu funkcjonowania krajowego systemu notyfikacji norm i aktów prawnych (Dz. U. Nr 239, poz. 2039 oraz z 2004 r. Nr 65, poz. 597).

OCENA SKUTKÓW REGULACJI

1. Podmioty, na które będzie oddziaływał projektowany akt normatywny.

Rozporządzenie będzie oddziaływać na producentów pasz, podmioty dokonujące pakowania pasz, inne podmioty wprowadzające pasze do obrotu oraz hodowców zwierząt gospodarskich.

2. Wpływ aktu normatywnego na sektor finansów publicznych, w tym budżet państwa i budżety jednostek samorządu terytorialnego.

Wejście w życie rozporządzenia nie wpłynie na sektor finansów publicznych, w tym budżet państwa i budżety jednostek samorządu terytorialnego.

3. Wpływ aktu normatywnego na rynek pracy.

Wejście w życie rozporządzenia nie wpłynie na rynek pracy.

4. Wpływ aktu normatywnego na konkurencyjność gospodarki i przedsiębiorczość, w tym na funkcjonowanie przedsiębiorstw.

Wejście w życie przepisów rozporządzenia spowoduje, że podmioty wprowadzające do obrotu mieszanki paszowe przeznaczone dla zwierząt zobowiązane zostaną do właściwego ich oznakowania i zamieszczania informacji, które są niezbędne dla hodowli zwierząt. Informacje te mają charakter jednolity we wszystkich państwach Członkowskich.

5. Wpływ aktu normatywnego na sytuację i rozwój regionalny.

Rozporządzenie nie będzie miało wpływu na sytuację i rozwój regionalny.

6. Zakres przeprowadzonych konsultacji społecznych.

W ramach prowadzonych konsultacji projekt zostanie przesłany do: Federacji Związków Producentów Rolnych, Izby Gospodarczej Handlowców, Przetwórców Zbóż i Producentów Pasz, Krajowej Izby Producentów Drobiu i Pasz, Krajowej Rady Drobiarstwa – Izby Gospodarczej, Krajowej Rady Izb Rolniczych, Krajowego Związku Rolników, Kółek i Organizacji Rolniczych, Niezależnego Samorządnego Związku Zawodowego Rolników Indywidualnych „Solidarność”, Niezależnego Samorządnego Związku Zawodowego „Solidarność”, Polskiego Związku Producentów Pasz, Związku Zawodowego Rolnictwa „Samoobrona” Związku Zawodowego Rolników Ojczyzna, Rady Gospodarki Żywnościowej, Krajowej Izby Lekarsko – Weterynaryjnej, „Polkarma” Polskiego Stowarzyszenia Producentów Karmy dla Zwierząt Domowych, Polskiego Związku Hodowców i Producentów Trzody Chlewnej „POL SUS”, Polskiej Federacji Hodowców Bydła i Producentów Mleka, Polskiego Związku Zrzeszeń Hodowców i Producentów Drobiu, Polskiego Związku Owczarskiego i Polskiego Związku Hodowców Koni.

ROZPORZĄDZENIE
MINISTRA ROLNICTWA I ROZWOJU WSI¹⁾
z dnia **2006 r.**

w sprawie wymagań dotyczących dokumentacji dołączanej do wniosku o dopuszczenie do obrotu w Unii Europejskiej materiału paszowego z grupy białka, uzyskiwanego z mikroorganizmów należących do grup bakterii i drożdży ²⁾

Na podstawie art. 23 ust. 7 ustawy z dnia ... 2006 r. o paszach (Dz. U. Nr... , poz....) zarządza się, co następuje:

§ 1. Rozporządzenie określa wymagania dotyczące dokumentacji dołączanej do wniosku o dopuszczenie do obrotu w Unii Europejskiej materiału paszowego z grupy białka, uzyskiwanego z mikroorganizmów należących do grup bakterii i drożdży, w tym zakres tej dokumentacji oraz zakres badań, których wyniki należy zamieścić w dokumentacji.

§ 2. 1. Dokumentacja, o której mowa w § 1, zawiera:

- 1) informacje oraz wyniki badań materiału paszowego, dotyczące:
- a) tożsamości mikroorganizmu wytwarzającego ten materiał,
 - b) składu pożywki mikrobiologicznej,
 - c) procesu wytwarzania tego materiału,
 - d) właściwości tego materiału,
 - e) identyfikacji tego materiału,
 - f) warunków stosowania tego materiału,
 - g) metod badań analitycznych,
 - h) wartości odżywczej tego materiału,
 - i) tolerancji tego materiału u zwierząt docelowych,
 - j) oddziaływania toksycznego na ludzi i środowisko;
- 2) podsumowanie danych zawartych w dokumentacji oraz załączniki, w których są zawarte wymagania dotyczące zakresu dokumentacji i zakresu badań dołączanych do wniosku o dopuszczenie do obrotu w Unii Europejskiej materiału paszowego;

- 3) szczegółowe uzasadnienie - w przypadku braku wymaganych badań dotyczących materiału paszowego;
 - 4) szczegółowe informacje z wszystkich przeprowadzonych badań, ponumerowane i przedstawione w sposób, który jest określony w załączniku do rozporządzenia;
 - 5) publikacje naukowe zawierające informacje mające znaczenie dla oceny materiału paszowego.
2. Dokumentację składa się w formie papierowej i na elektronicznym nośniku informacji.
3. W przypadku konieczności uzupełnienia dokumentacji wnioskodawca dostarcza dodatkowe informacje.

§ 3. W przypadku dokumentacji dotyczącej bezpieczeństwa stosowania materiału paszowego zakres badań oddziaływania toksycznego zależy od:

- 1) charakteru materiału paszowego;
- 2) zwierzęcia docelowego;
- 3) metabolizmu materiału paszowego u zwierząt laboratoryjnych.

§ 4. Do dokumentacji, o której mowa w § 1, dołącza się:

- 1) raporty ekspertów zawierające ocenę wyników badań dotyczących jakości materiału paszowego oraz skuteczności i bezpieczeństwa jego stosowania;
- 2) próbki materiału paszowego w różnych postaciach, zawierające informacje dotyczące jego identyfikacji, które są określone w załączniku do rozporządzenia w ust. 4 w części I.

§ 5. Szczegółowe wymagania dotyczące zakresu dokumentacji dołączanej do wniosku o dopuszczenie do obrotu w Unii Europejskiej materiału paszowego z grupy białka, uzyskiwanego z mikroorganizmów należących do grup bakterii i drożdży oraz zakresu badań, których wyniki należy zamieścić w dokumentacji, są określone w załączniku do rozporządzenia.

§ 6. Przepisy § 2 – 5 do zmiany procesu wytwarzania materiału paszowego lub warunków jego stosowania stosuje się odpowiednio.

§ 7. Wymagania dotyczące dokumentacji dołączanej do wniosku o dopuszczenie do obrotu w Unii Europejskiej materiału paszowego zawierającego, składającego się lub

pochodzącego z organizmów genetycznie zmodyfikowanych (GMO), są określone w rozporządzeniu 1829/2003/WE z dnia 22 września 2003 r. w sprawie genetycznie zmodyfikowanej żywności i paszy (Dz. Urz. UE L 268, z 18.10.2003 r.).

§ 8. Traci moc rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 6 maja 2004 r. w sprawie wymagań dotyczących dokumentacji dołączanej do wniosku o dopuszczenie do obrotu w Unii Europejskiej materiału paszowego (Dz. U. Nr 122, poz. 1279).

§ 9. Rozporządzenie wchodzi w życie po upływie 14 od dnia ogłoszenia.

**MINISTER ROLNICTWA
I ROZWOJU WSI**

¹⁾ Minister Rolnictwa i Rozwoju Wsi kieruje działem administracji rządowej – rolnictwo, na podstawie § 1 ust. 2 pkt 1 rozporządzenia Prezesa Rady Ministrów z dnia 31 października 2005 r. w sprawie szczegółowego zakresu działania Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi (Dz. U. Nr 220, poz. 1892).

²⁾ Przepisy niniejszego rozporządzenia wdrażają postanowienia dyrektywy 83/228/EWG z dnia 18 kwietnia 1983 r. w sprawie ustalenia ukierunkowania w ocenie niektórych produktów używanych w żywieniu zwierząt (Dz. Urz. WE L 126, z 13.05.1983; Dz. Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t.5, str. 261).

**SZCZEGÓŁOWE WYMAGANIA DOTYCZĄCE ZAKRESU DOKUMENTACJI
DOŁĄCZANEJ DO WNIOSKU O DOPUSZCZENIE DO OBROTU W UNII
EUROPEJSKIEJ MATERIAŁU PASZOWEGO Z GRUPY BIAŁKA,
UZYSKIWANEGO Z MIKROORGANIZMÓW NALEŻĄCYCH DO GRUP BAKTERII I
DROŻDŻY ORAZ ZAKRESU BADAŃ, KTÓRYCH WYNIKI NALEŻY ZAMIEŚCIĆ W
DOKUMENTACJI**

I. Zakres dokumentacji zawierającej informacje dotyczące tożsamości mikroorganizmu, składu pożywki mikrobiologicznej, procesu wytwarzania, właściwości i identyfikacji materiału paszowego oraz warunków jego stosowania i metod postępowania analitycznego

1. Informacje dotyczące tożsamości mikroorganizmu wytwarzającego materiał paszowy obejmują:
 - 1) klasyfikację, pochodzenie, cechy morfologiczne i właściwości biologiczne mikroorganizmu oraz modyfikację genetyczną w przypadku szczepów modyfikowanych genetycznie;
 - 2) wskazanie nieszkodliwości i zachowania aktywności biologicznej mikroorganizmu w warunkach innych niż hodowlane oraz wpływ mikroorganizmu na środowisko;
 - 3) wskazanie stałości i czystości hodowanych szczepów oraz opis metod badań analitycznych stosowanych do określenia tych cech.
2. Informacje dotyczące podłoża mikrobiologicznego użytego do hodowli mikroorganizmu oraz procesu wytwarzania materiału paszowego zawierają opis:
 - 1) składu pożywki mikrobiologicznej, w tym substratu, substancji dodatkowych i innych;
 - 2) procesu wytwarzania, osuszania i oczyszczania materiału paszowego oraz procesu pozbawiania żywotności mikroorganizmu, z uwzględnieniem opisu metod badań analitycznych stosowanych w celu określenia stałości składu produktu otrzymanego z hodowli mikroorganizmu oraz zawartości zanieczyszczeń chemicznych, fizycznych i biologicznych powstałych w procesie jego wytwarzania;

3) procesów technicznych stosowanych w celu przygotowania materiału paszowego do stosowania.

3. Informacje dotyczące właściwości materiału paszowego obejmują określenie:

1) właściwości fizycznych i fizykochemicznych, a w szczególności:

a) budowę makroskopową i mikroskopową,

b) wielkość cząstek,

c) gęstość,

d) ciężar właściwy,

e) zdolność pochłaniania wody,

f) rozpuszczalność,

g) właściwości elektrostatyczne;

2) składu chemicznego obejmującego:

a) zawartość wody, białka ogólnego, tłuszczu surowego, włókna surowego, popiołu, substancji bezazotowych wyciągowych oraz granice zmienności tych składników,

b) zawartość ogólnego azotu amoniakalnego, amidowego, azotanów i azotynów, kwasów nukleinowych i azotu białkowego (białka),

c) skład jakościowy i ilościowy aminokwasów ogólnych i wolnych oraz zasad purynowych i pirymidynowych,

d) skład jakościowy i ilościowy tłuszczów ogólnych, w tym kwasów tłuszczowych, składników nieulegających zmydlaniu, barwników rozpuszczalnych w tłuszczach i fosfolipidów,

e) skład frakcji węglowodanowej,

f) skład jakościowy i ilościowy:

- frakcji mineralnej,

- witamin,

- innych składników, w tym dodatków, pozostałości substratu i rozpuszczalników oraz innych potencjalnie szkodliwych pozostałości metabolizmu pożywki użytej do hodowli mikroorganizmu i procesu wytwarzania;

3) zanieczyszczenia mikrobiologicznego materiału paszowego;

4) trwałości materiału paszowego w warunkach jego przechowywania oraz w warunkach przechowywania pasz zawierających dany materiał paszowy.

4. Informacje dotyczące identyfikacji materiału paszowego i warunków jego stosowania obejmują:

1) nazwę handlową tego materiału;

2) postać handlową tego materiału;

- 3) wskazanie zastosowania tego materiału w żywieniu zwierząt, z uwzględnieniem zawartości materiału paszowego w mieszankach paszowych pełnoporcjowych i dziennych dawkach pokarmowych dla zwierząt docelowych.
5. Informacje dotyczące metod kontroli materiału paszowego obejmują:
 - 1) opis jakościowych i ilościowych metod badań analitycznych stosowanych w rutynowej kontroli zawartości materiału paszowego w mieszankach paszowych pełnoporcjowych i uzupełniających;
 - 2) informacje na temat specyficzności, czułości, granic wykrywalności, granicy błędu i możliwych interferencji.

II. Zakres badań dotyczących skuteczności działania materiału paszowego

1. Badania ustalające wartość odżywczą materiału paszowego jako źródła azotu lub białka obejmują badania:
 - 1) chemiczne ustalające skład aminokwasowy białka materiału paszowego oraz biochemiczne i mikrobiologiczne ustalające tempo wzrostu kolonii bakterii;
 - 2) biologiczne przeprowadzane na zwierzętach laboratoryjnych w celu ustalenia wartości białka, w porównaniu z białkiem wzorcowym.
2. Badania biologiczne wykonywane na zwierzętach docelowych, w porównaniu z grupą kontrolną zwierząt, otrzymującą w tych samych warunkach bilansu żywieniowego paszę zawierającą równoważne ilości azotu białkowego, w przypadku zwierząt przeżuujących - azotu ogólnego, obejmują badania ustalające:
 - 1) wartość odżywczą materiału paszowego jako uzupełniającego źródła azotu, białka i energii w proponowanych warunkach zastosowania oraz w dawkach pokarmowych przeznaczonych dla zwierząt w różnych stanach fizjologicznych, w tym w okresie wzrostu, ciąży i nieśności;
 - 2) wpływ materiału paszowego, w proponowanych warunkach zastosowania, na:
 - a) wzrost zwierząt,
 - b) zużycie paszy,
 - c) zachorowalność,
 - d) śmiertelność;
 - 3) optymalną zawartość materiału paszowego w dawkach pokarmowych;
 - 4) wpływ materiału paszowego na jakość zdrowotną środków spożywczych pochodzenia zwierzęcego w proponowanych warunkach zastosowania.

3. Informacje dotyczące warunków badań przeprowadzanych na zwierzętach docelowych, z uwzględnieniem szczegółowego opisu tych badań, obejmują:

- 1) wskazanie zwierząt użytych w badaniach, z wyszczególnieniem: gatunku, rasy, wieku, płci i opisu sposobu identyfikowania;
- 2) liczbę testów i grup kontrolnych oraz liczbę zwierząt w każdej grupie, z uwzględnieniem możliwości dokonania analizy statystycznej przy zastosowaniu odpowiednich parametrów statystycznych;
- 3) wskazanie zawartości materiału paszowego oraz ilościowego i jakościowego składu dawki pokarmowej wraz z analizą tej dawki;
- 4) wskazanie miejsca badań, stanu fizjologicznego i ogólnego stanu zdrowia zwierząt oraz warunków chowu;
- 5) wskazanie dokładnego czasu trwania badań oraz datę wykonanych badań;
- 6) wskazanie niekorzystnych efektów, które wystąpiły w czasie doświadczenia i okres ich występowania.

III. Zakres badań dotyczących bezpieczeństwa materiału paszowego

1. Badania biologiczne wykonywane na zwierzętach docelowych (hodowlanych), w porównaniu z grupą kontrolną zwierząt, otrzymującą w tych samych warunkach bilansu żywieniowego paszę zawierającą równoważne ilości azotu białkowego, w przypadku zwierząt przeżuujących - azotu ogólnego, obejmują badania:

- 1) mające na celu ustalenie maksymalnej zawartości materiału paszowego w dziennej dawce pokarmowej niepowodującej niekorzystnych efektów;
- 2) nad wpływem materiału paszowego na rozród i płodność zwierząt;
- 3) mikrobiologiczne, obejmujące badania nad wpływem materiału paszowego na drobnoustroje flory jelitowej przewodu pokarmowego oraz zasiedlenie przewodu pokarmowego przez drobnoustroje chorobotwórcze, wykonywane z uwzględnieniem proponowanych warunków zastosowania;
- 4) laboratoryjne obejmujące badania pozostałości materiału paszowego, w tym substratu, pożywki mikrobiologicznej, rozpuszczalników i zanieczyszczeń, w środkach spożywczych pochodzenia zwierzęcego, wykonywane z uwzględnieniem proponowanych warunków zastosowania;
- 5) laboratoryjne obejmujące badania pozostałości materiału paszowego, w tym substratu, pożywki mikrobiologicznej, rozpuszczalników i zanieczyszczeń, w

wydalinach zwierząt, wykonywane z uwzględnieniem proponowanych warunków zastosowania.

2. Badania biologiczne wykonywane na zwierzętach laboratoryjnych obejmują:
 - 1) badania metaboliczne lub biochemiczne materiału paszowego w organizmie zwierząt mające na celu ustalenie jego:
 - a) wchłaniania,
 - b) rozmieszczenia,
 - c) metabolizmu,
 - d) wydalania;
 - 2) badania mające na celu ustalenie działania mutagennego w odniesieniu do zanieczyszczeń, w szczególności zanieczyszczeń mikotoksynami i zanieczyszczeń mikrobiologicznych lub pozostałości materiału paszowego, w tym substratu, pożywki do hodowli, rozpuszczalników i zanieczyszczeń, z uwzględnieniem testów monitoringowych in vitro z zastosowaniem systemów aktywacji metabolizmu;
 - 3) badania toksykologiczne ustalające przyczynę i mechanizm powstania skutków toksycznych oraz potwierdzające, że skutki działania nie wystąpiły w wyniku nieprawidłowego zbilansowania pokarmu lub przekroczenia dopuszczalnej zawartości materiału paszowego w diecie, wykonywane w porównaniu z grupą kontrolną zwierząt, otrzymującą w tych samych warunkach bilansu żywieniowego paszę zawierającą równoważne ilości azotu białkowego, w przypadku zwierząt przeżuujących - azotu ogólnego, w tym badania:
 - a) toksyczności podprzewlekłej, przy czym:
 - czas tych badań wynosi co najmniej 90 dni,
 - wykonuje się je na dwóch gatunkach zwierząt, z których jeden należy do gryzoni,
 - materiał paszowy jest podawany w dziennej dawce pokarmowej co najmniej w dwóch różnych dawkach, dobranych w sposób umożliwiający ustalenie zarówno dawki niepowodującej żadnych efektów jak i dawki powodującej niekorzystne skutki,
 - grupy zwierząt obejmują odpowiednią liczbę zwierząt obu płci,
 - badania uwzględniające grupę kontrolną, wykonuje się na małych grupach zwierząt, wyodrębnionych z grup podstawowych w odpowiednich odstępach czasu i na zwierzętach, które przeżyły do końca badań,
 - dane uzyskane w wyniku tych badań, zapisywane w odpowiednich odstępach czasu, w szczególności dotyczą wskaźnika wzrostu, pobrania paszy, hematologii,

analizy moczu, parametrów biochemicznych, śmiertelności, wagi narządów zwierzęcia, zmian ogólnych i histologicznych głównych narządów i tkanek,

– szczegółowe wyniki badań zawierają ocenę statystyczną,

b) toksyczności przewlekłej, przy czym:

– wykonuje się je na dwóch gatunkach zwierząt, z których jeden należy do gryzoni,

– materiał paszowy jest podawany w dziennej dawce pokarmowej co najmniej w dwóch różnych dawkach,

– czas badania u szczura wynosi co najmniej 2 lata, u myszy co najmniej 80 tygodni,

– grupy zwierząt obejmują odpowiednią liczbę zwierząt obu płci,

– badania zawsze uwzględniają grupę kontrolną,

c) działania rakotwórczego, przy czym:

- wyniki tych badań w szczególności dotyczą czasu i miejsca wystąpienia guzów oraz ich typów histologicznych,

- wpływ na występowanie guzów oraz występowanie lub rozwój chorób ocenia się w odniesieniu do grup kontrolnych,

- szczegółowe wyniki badań zawierają ocenę statystyczną;

4) badania nad wpływem materiału paszowego na rozród i płodność, obejmujące dwa pokolenia zwierząt, w połączeniu z badaniem działania teratogennego obejmującym badanie embriotoksyczności, przy czym:

- ocena wpływu na rozród jest dokonywana na podstawie oceny płodności zwierząt i rozwoju potomstwa,

- może być stosowana inna metoda badań, naukowo uzasadniona mająca znaczenie dla oceny materiału paszowego;

5) warunki badań przeprowadzanych na zwierzętach laboratoryjnych, z uwzględnieniem szczegółowego opisu tych badań, w tym:

a) zwierząt użytych w badaniach, z wyszczególnieniem: gatunku, rasy, szczepu i płci,

b) liczby testów i grup kontrolnych oraz liczby zwierząt w każdej grupie, z uwzględnieniem możliwości dokonania analizy statystycznej przy zastosowaniu odpowiednich parametrów statystycznych,

c) zawartości materiału paszowego oraz ilościowego i jakościowego składu dawki pokarmowej wraz z analizą tej dawki,

d) warunków chowu w czasie całego okresu badań,

e) dokładnego czasu trwania badań oraz daty wykonanych badań,

f) wskaźnika śmiertelności i daty występowania padnięć w obrębie badanych grup zwierząt,

g) czasu, w którym wystąpiły niekorzystne skutki działania wraz z ich opisem.

3. Badania mające na celu ustalenie bezpieczeństwa stosowania materiału paszowego dla środowiska w zależności od budowy chemicznej jego pozostałości, w tym substratu, pożywki, rozpuszczalników i zanieczyszczeń w wydalinach zwierząt docelowych, obejmują badania ustalające:

- 1) zachowanie pozostałości materiału paszowego w nawozie naturalnym oraz środowisku glebowym i wodnym;
- 2) wpływ pozostałości materiału paszowego na organizmy i roślinność środowiska glebowego i wodnego oraz biologię środowiska glebowego oraz biologię środowiska glebowego.

IV. Badania inne, niż wymienione w częściach II i III

Badania ustalające bezpieczeństwo stosowania materiału paszowego dla pracowników zatrudnionych przy produkcji, obsłudze lub stosowaniu materiału paszowego lub materiału paszowego włączonego do premiksów i pasz, w zależności od charakteru materiału paszowego i warunków jego zastosowania, obejmują:

- 1) badania uczuleniowe;
- 2) drażnienie skóry;
- 3) drażnienie błon śluzowych, w tym oczu, dróg oddechowych, przewodu pokarmowego.

UZASADNIENIE

Projekt rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi w sprawie wymagań dotyczących dokumentacji dołączanej do wniosku o dopuszczenie do obrotu w Unii Europejskiej materiału paszowego z grupy białka, uzyskiwanego z mikroorganizmów należących do grup bakterii i drożdży, stanowi wykonanie upoważnienia zawartego w art. 23 ust. 7 ustawy z dnia ... 2006 r. o paszach (Dz. U. Nr ..., poz. ...).

Niniejszy projekt rozporządzenia był poprzedzony rozporządzeniem Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 6 maja 2004 r. w sprawie wymagań dotyczących dokumentacji dołączanej do wniosku o dopuszczenie do obrotu w Unii Europejskiej materiału paszowego (Dz. U. Nr 122, poz. 1279), stanowiącego wypełnienie upoważnienia zawartego w art. 30p ust. 5 ustawy z dnia 23 sierpnia 2001 r. o środkach żywienia zwierząt (Dz. U. z 2005 r. Nr 255, poz. 2143). Jednakże z uwagi na konieczność dostosowanie polskich przepisów do obowiązujących we Wspólnocie uchwalono ustawę o paszach, uchylającą dotychczas obowiązującą ustawę z dnia 23 sierpnia 2001 r. o środkach żywienia zwierząt. Do czasu wejścia w życie przedmiotowego rozporządzenia obowiązywać będą zachowane czasowo w mocy, przepisy powołanego na wstępie rozporządzenia z dnia 6 maja 2004 r.

Projekt rozporządzenia nie zawiera przepisów technicznych i w związku z tym nie podlega notyfikacji w rozumieniu przepisów rozporządzenia Rady Ministrów z dnia 23 grudnia 2002 r. w sprawie sposobu funkcjonowania krajowego systemu notyfikacji norm i aktów prawnych (Dz. U. Nr 239, poz. 2039 oraz z 2004 r. Nr 65, poz. 597).

Do opracowania niniejszego projektu rozporządzenia wykorzystano dyrektywę Rady 83/228/EWG z dnia 18 kwietnia 1983 r. w sprawie ustalenia ukierunkowania w ocenie niektórych produktów używanych w żywieniu zwierząt (Dz. Urz. WE L 126, z 13.05.1983; Dz. Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3.t. 5, str. 261).

OCENA SKUTKÓW REGULACJI

1. Podmioty, na które będzie oddziaływał projektowany akt normatywny.

Rozporządzenie będzie oddziaływać na podmioty, które zamierzają wprowadzać do obrotu lub stosować w żywieniu zwierząt materiał paszowy, którego dokumentacja musi spełniać wymagania określone w przepisach Wspólnotowych. Podmioty te są zobowiązane dołączyć do wniosku o dopuszczenie do obrotu w Unii Europejskiej materiału paszowego wyniki badań oraz zawierać między innymi raporty ekspertów.

2. Wpływ aktu normatywnego na sektor finansów publicznych, w tym budżet państwa i budżety jednostek samorządu terytorialnego.

Wejście w życie rozporządzenia nie wpłynie na sektor finansów publicznych, w tym budżet państwa i budżety jednostek samorządu terytorialnego.

3. Wpływ aktu normatywnego na rynek pracy.

Wejście w życie rozporządzenia nie wpłynie na rynek pracy.

4. Wpływ aktu normatywnego na konkurencyjność gospodarki i przedsiębiorczość, w tym na funkcjonowanie przedsiębiorstw.

Wejście w życie przepisów rozporządzenia spowoduje, że podmioty wprowadzające do obrotu materiały paszowe przeznaczone dla zwierząt będą o odpowiedniej jakości, co w konsekwencji wpłynie na jakość uzyskanych produktów pochodzenia zwierzęcego jak również wpłyną na wzrost ich konkurencyjności

5. Wpływ aktu normatywnego na sytuację i rozwój regionalny.

Rozporządzenie nie będzie miało wpływu na sytuację i rozwój regionalny.

6. Zakres przeprowadzonych konsultacji społecznych.

W ramach prowadzonych konsultacji projekt zostanie przesłany do: Federacji Związków Producentów Rolnych, Izby Gospodarczej Handlowców, Przetwórców Zbóż i Producentów Pasz, Krajowej Izby Producentów Drobiu i Pasz, Krajowej Rady Drobiarstwa – Izby Gospodarczej, Krajowej Rady Izb Rolniczych, Krajowego Związku Rolników, Kółek i Organizacji Rolniczych, Niezależnego Samorządnego Związku Zawodowego Rolników Indywidualnych „Solidarność”, Niezależnego Samorządnego Związku Zawodowego „Solidarność”, Polskiego Związku Producentów Pasz, Związku Zawodowego Rolnictwa „Samoobrona” Związku Zawodowego Rolników Ojczyzna, Rady Gospodarki Żywnościowej, Krajowej Izby Lekarsko – Weterynaryjnej, „Polkarma” Polskiego Stowarzyszenia Producentów Karmy dla Zwierząt Domowych, Polskiego Związku Hodowców i Producentów Trzody Chlewnej „POLSUS”, Polskiej Federacji Hodowców Bydła i Producentów Mleka, Polskiego Związku Zrzeszeń Hodowców i Producentów Drobiu, Polskiego Związku Owczarskiego i Polskiego Związku Hodowców Koni.

ROZPORZĄDZENIE

MINISTRA ROLNICTWA I ROZWOJU WSI¹⁾

z dnia..... 2006r.

w sprawie wykazu materiałów paszowych dopuszczonych do obrotu²⁾

Na podstawie art. 24 ust. 3 ustawy z dnia2006 r. o paszach (Dz. U. Nr .., poz. ...) zarządza się, co następuje:

§ 1.

Rozporządzenie określa wykaz materiałów paszowych z grup:

- 1) białka uzyskiwanego z mikroorganizmów należących do grup: bakterii, drożdży, glonów i grzybów,
- 2) niebiałkowych związków azotowych

- które zostały dopuszczone do obrotu na podstawie przepisów Unii Europejskiej, stanowiący załącznik do rozporządzenia.

§ 2.

Traci moc rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 25 stycznia 2005 r. w sprawie wykazu materiałów paszowych dopuszczonych do obrotu (Dz. U. Nr 22, poz. 184).

§ 3.

Rozporządzenie wchodzi w życie po upływie 14 dni od dnia ogłoszenia.

MINISTER ROLNICTWA I ROZWOJU WSI

¹⁾ Minister Rolnictwa i Rozwoju Wsi kieruje działem administracji rządowej – rolnictwo, na podstawie § 1 ust. 2 pkt 1 rozporządzenia Prezesa Rady Ministrów z dnia 31 października 2005 r. w sprawie szczegółowego zakresu działania Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi (Dz. U. Nr 220, poz. 1892).

²⁾ Przepisy rozporządzenia wdrażają postanowienia dyrektywy Rady 82/471/EWG z dnia 30 czerwca 1982 r. dotyczącej niektórych produktów stosowanych w żywieniu zwierząt (Dz.Urz. WE L 213 z 21.7.1982, str. 8; Dz. Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 5, str. 151).

Załącznik do rozporządzenia
 Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi
 z dnia 2006 r. (poz.)

WYKAZ MATERIAŁÓW PASZOWYCH, KTÓRE ZOSTAŁY DOPUSZCZONE DO OBROTU NA PODSTAWIE PRZEPISÓW UNII EUROPEJSKIEJ

Nazwa grupy produktów	Nazwa produktu	Opis głównego składnika odżywczego lub tożsamość mikroorganizmu	Podłoże kultury (specyfikacje, jeżeli są)	Charakterystyczny skład preparatu	Gatunek zwierzęcia
1	2	3	4	5	6
1. BIAŁKO UZYSKIWANE Z MIKROORGANIZMÓW					
1.1.bakterie					
1.1.1. Bakterie hodowane na metanolu	1.1.1.1. Białkowy produkt uzyskany w procesie fermentacji kultury <i>Methylophilus methylophilus</i> wyhodowanej na metanolu.	<i>Methylophilus methylophilus</i> NCIB szczep 10.515	Metanol	Białko ogólne: minimum 68% Współczynnik odbicia: minimum 50	Świnie, cielęta, drób, ryby
1.1.2. Bakterie hodowane na gazie naturalnym	1.1.2.1. Białkowy produkt uzyskany w procesie fermentacji kultury: <i>Methylococcus capsulatus (Bath)</i> , <i>Alcaligenes</i>	<i>Methylococcus capsulatus (Bath)</i> NCIMB szczep 11132 <i>Alcaligenes acidovorans</i> szczep NCIMB 12387	Gaz naturalny (zawierający w przybliżeniu : 91% metanu, 5% etanu, 2% propanu, 0,5% izobutanu,	Białko ogólne: minimum 65%	Tuczniaki o masie ciała od 25 do 60kg. Cielęta o masie ciała od 80 kilogramów Łosoś

	<i>acidovorans</i> , <i>Bacillus brevis</i> i <i>Bacillus firmus</i> , i których komórki zostały unieczynnione	<i>Bacillus brevis</i> szczep NCIMB 13288 <i>Bacillus firmus</i> szczep NCIMB 13280	0,5% n-butanu, 1% innych składników) Amoniak, sole mineralne		
1.2 . Drożdże					
1.2.1.Drożdże: hodowane na substancjach pochodzenia zwierzęcego i roślinnego	Wszystkie drożdże - otrzymane z mikroorganizmów i substratów wymienionych odpowiednio w kolumnach 3 i 4 - których komórki zostały unieczynnione.	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> <i>Saccharomyces carlsbergiensis</i> <i>Kluyveromyces lactis</i> <i>Kluyveromyces fragilis</i>	Melasa, pozostałości po przetwórstwie gorzelnianym, zboża i produkty zawierające skrobię, soki owocowe, serwatkę, kwas mlekowy, hydrolizowane włókna roślinne.	–	Wszystkie gatunki zwierząt
		<i>Candida guilliermondii</i>	Melasa, pozostałości po przetwórstwie gorzelnianym, zboża i produkty zawierające skrobię, soki owocowe, serwatkę, kwas mlekowy, hydrolizowane włókna roślinne.	Zawartość suchej masy minimum 16%	Tuczniaki
1.2.2 Drożdże hodowane na substratach innych					

niż wymienione w p. 1.2.1.					
1.3. Glony	-	-			
1.4. Grzyby niższe					
1.4.1. Produkty uzyskane w wyniku wytwarzania antybiotyków w drodze fermentacji	1.4.1.1. Grzybnia, wilgotny produkt uboczny uzyskany w wyniku wytwarzania penicyliny, zakiszony za pomocą <i>Lactobacillus brevis</i> , plantarun, sake, kolenoid i <i>Streptococcus lactis</i> w celu inaktywowania penicyliny i poddany obróbce cieplnej.	Azotowy składnik <i>Penicillium chrysogenum</i> ATCC 48271	Różnego pochodzenia węglowodany i ich hydrolizaty.	Zawartość azotu wyrażona jako białko ogólne minimum 7 %.	Przeżuwacze, świnie
2. NIEBIAŁKOWE ZWIĄZKI AZOTOWE					
2.1. Sole amonowe	2.1.1. Mleczan amonu wytworzony przez fermentację <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	$\text{CH}_3\text{CHOH-COONH}_4$	Serwatka	Azot wyrażony jako białko ogólne: minimum 44%	Przeżuwacze, od początku okresu przeżuwania.
	2.1.2. Octan amonu w roztworze wodnym	$\text{CH}_3\text{COONH}_4$	—	Octan amonu: minimum 55%	Przeżuwacze, od początku okresu przeżuwania.

	2.1.3. Siarczan amonu w roztworze wodnym	(NH ₄) ₂ SO ₄	–	Siarczan amonu: 35%	Przeżuwacze, od początku okresu przeżuwania.
2.2. Produkty uboczne uzyskane w wyniku wytwarzania aminokwasów w procesie fermentacji	2.2.1. Płynne zateżone produkty uboczne uzyskane w wyniku wytwarzania kwasu L-glutaminowego w procesie fermentacji <i>Corynebacterium melassecola</i> .	Sole amonowe i inne składniki azotowe.	Sacharoza, melasa, produkty skrobiowe i ich hydrolizaty.	- Azot wyrażony jako białko ogólne: minimum 48% - Wilgotność: maksimum 28%	Przeżuwacze od początku okresu przeżuwania.
	2.2.2. Płynne zateżone produkty uboczne uzyskane w wyniku wytwarzania chlorowodoru L-lizyny w procesie fermentacji <i>Brevibacterium lactofermentum</i> .	Sole amonowe i inne składniki azotowe.	Sacharoza, melasa, produkty skrobiowe i ich hydrolizaty.	- Azot wyrażony jako białko ogólne: minimum. 45%	Przeżuwacze od początku okresu przeżuwania.

UZASADNIENIE

Projekt rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi w sprawie wykazu materiałów paszowych dopuszczonych do obrotu stanowi wykonanie upoważnienia zawartego w art. 24 ust. 3 ustawy z dnia2006 r. o paszach (Dz. U. Nr ..., poz....).

Niniejsze rozporządzenie było poprzedzone rozporządzeniem Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 25 stycznia 2005 r. w sprawie wykazu materiałów paszowych dopuszczonych do obrotu (Dz. U. Nr 22, poz. 184), stanowiącego wykonanie art. 30s ustawy z dnia 23 sierpnia 2001 r. o środkach żywienia zwierząt (Dz. U. z 2005 r. Nr 255, poz. 2143). Konieczność wydania wskazanego rozporządzenia wynika z uchwalenia ustawy z dnia ... 2006 r. o paszach, uchylającą ustawę z dnia 23 sierpnia 2003 r. o środkach żywienia zwierząt.

Do czasu wejścia w życie przedmiotowego rozporządzenia obowiązywać będą zachowane czasowo w mocy, przepisy powołanego na wstępie rozporządzenia z dnia 25 stycznia 2005 r.

Załącznik do przedmiotowego rozporządzenia określa wykaz materiałów paszowych z grup:

- 1) białka uzyskiwanego z mikroorganizmów należących do grup: bakterii, drożdży, glonów i grzybów,
- 2) niebiałkowych związków azotowych

- które zostały dopuszczone do obrotu na podstawie przepisów Unii Europejskiej.

Stosowanie materiałów paszowych określonych w załączniku do rozporządzenia jak i na warunkach określonych w tym załączniku zagwarantuje wprowadzanie do obrotu pasz zawierających te materiały, bezpiecznych dla zdrowia zwierząt i ludzi oraz środowiska naturalnego. Ponadto powyższa regulacja umożliwi bez przeszkód wprowadzanie tych pasz zarówno na rynku krajowym jak również w pozostałych państwach członkowskich.

Przedmiotowy projekt rozporządzenia wdraża postanowienia dyrektywy 82/471/EWG z dnia 30 czerwca 1982 r. dotyczącej niektórych produktów stosowanych w żywieniu zwierząt (Dz. Urz. WE L 213 z 21.7.1982) jak również uwzględnia ostatnią zmianę dotyczącą rozszerzenia katalogu możliwości stosowania drożdży wprowadzoną przez dyrektywę Komisji nr 2004/116/WE z dnia 23 grudnia 2004 r. (Dz. Urz. UE L 379/81 z 24.12.2004).

Rozporządzenie nie podlega notyfikacji w rozumieniu przepisów rozporządzenia Rady Ministrów z dnia 23 grudnia 2002 r. w sprawie sposobu funkcjonowania krajowego systemu notyfikacji norm i aktów prawnych (Dz. U. Nr 239, poz. 2039 oraz z 2004 r. Nr 65, poz. 597).

OCENA SKUTKÓW REGULACJI

1. Podmioty, na które oddziałuje akt normatywny

Przedmiotowe rozporządzenie będzie oddziaływać na podmioty prowadzące działalność gospodarczą w zakresie wytwarzania lub wprowadzania do obrotu materiałów paszowych określonych w załączniku do projektu niniejszego rozporządzenia. Celem wprowadzenia regulacji zawartych w rozporządzeniu jest zagwarantowanie, aby materiały paszowe były bezpieczne dla środowiska, dla zdrowia zwierząt i ludzi.

2. Wpływ aktu normatywnego na sektor finansów publicznych, w tym budżet państwa i budżety jednostek samorządu terytorialnego

Wejście w życie rozporządzenia nie wpłynie na sektor finansów publicznych, w tym na budżet państwa i budżety jednostek samorządu terytorialnego.

3. Wpływ aktu normatywnego na rynek pracy

Wejście w życie rozporządzenia nie wpłynie na rynek pracy.

4. Wpływ aktu normatywnego na konkurencyjność gospodarki i przedsiębiorczość, w tym na funkcjonowanie przedsiębiorstw.

Wprowadzenie w życie przepisów rozporządzenia spowoduje, że polskie podmioty będą wytwarzać i wprowadzać do obrotu pasze dla zwierząt o wysokiej jakości oraz przydatne w żywieniu zwierząt co w konsekwencji wpłynie właściwą na jakość uzyskanych produktów pochodzenia zwierzęcego.

5. Wpływ aktu normatywnego na rozwój regionalny

Rozporządzenie nie będzie miało wpływu na sytuację i rozwój regionów.

6. Zakres przeprowadzonych konsultacji społecznych.

W ramach prowadzonych konsultacji projekt zostanie przesłany do: Federacji Związków Producentów Rolnych, Izby Gospodarczej Handlowców, Przetwórców Zbóż i Producentów Pasz, Krajowej Izby Producentów Drobiu i Pasz, Krajowej Rady Drobiarstwa – Izby Gospodarczej, Krajowej Rady Izb Rolniczych, Krajowego Związku Rolników, Kółek i Organizacji Rolniczych, Niezależnego Samorządnego Związku

Zawodowego Rolników Indywidualnych „Solidarność”, Niezależnego Samorządnego Związku Zawodowego „Solidarność”, Polskiego Związku Producentów Pasz, Związku Zawodowego Rolnictwa „Samoobrona” Związku Zawodowego Rolników Ojczyzna, Rady Gospodarki Żywnościowej, Krajowej Izby Lekarsko – Weterynaryjnej, „Polkarma” Polskiego Stowarzyszenia Producentów Karmy dla Zwierząt Domowych, Polskiego Związku Hodowców i Producentów Trzody Chlewnej „POL SUS”, Polskiej Federacji Hodowców Bydła i Producentów Mleka, Polskiego Związku Zrzeszeń Hodowców i Producentów Drobiu, Polskiego Związku Owczarskiego i Polskiego Związku Hodowców Koni.

**ROZPORZĄDZENIE
MINISTRA ROLNICTWA I ROZWOJU WSI ¹⁾**

z dnia.....2006 r.

**w sprawie wykazu krajowych laboratoriów referencyjnych właściwych do
prowadzenia badań²⁾**

Na podstawie art. 25 ust. 1 ustawy z dnia 29 stycznia 2004 r. o Inspekcji Weterynaryjnej (Dz. U. Nr 33, poz. 287, z późn. zm.³⁾) zarządza się, co następuje:

§ 1. Wykaz krajowych laboratoriów referencyjnych właściwych dla badań prowadzonych w kierunku rozpoznawania chorób zakaźnych zwierząt oraz chorób odzwierzęcych określa załącznik nr 1 do rozporządzenia.

§ 2. Wykaz krajowych laboratoriów referencyjnych właściwych dla badań produktów pochodzenia zwierzęcego oraz pasz i pasz leczniczych określa załącznik nr 2 do rozporządzenia.

§ 3. Traci moc rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 21 października 2004 r. w sprawie wykazu laboratoriów referencyjnych właściwych dla poszczególnych rodzajów i kierunków badań (Dz. U. Nr 251, poz. 2513).

§ 4. Rozporządzenie wchodzi w życie po upływie 14 dni od dnia ogłoszenia.

MINISTER ROLNICTWA I ROZWOJU WSI

¹⁾ Minister Rolnictwa i Rozwoju Wsi kieruje działem administracji rządowej - rolnictwo na podstawie § 1 ust. 2 pkt 1 rozporządzenia Prezesa Rady Ministrów z dnia 31 października 2005 r. w sprawie szczegółowego zakresu działania Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi (Dz. U. Nr 220, poz. 1892).

²⁾ Przepisy niniejszego rozporządzenia wdrażają postanowienia:

- 1) dyrektywy 64/432/EWG z dnia 26 czerwca 1964 r. w sprawie problemów zdrowotnych zwierząt wpływających na handel wewnątrzspółnotowy bydłem i trzodą chlewną (Dz. Urz. WE P 121 z 29.07.1964);
- 2) dyrektywy 85/511/EWG z dnia 18 listopada 1985 r. wprowadzającej wspólnotowe środki zwalczania pryszczycy (Dz. Urz. WE L 315 z 26.11.1985);
- 3) dyrektywy 90/426/EWG z dnia 26 czerwca 1990 r. w sprawie warunków zdrowotnych zwierząt regulujących przemieszczanie i przywóz zwierząt z rodziny koniowatych z państw trzecich (Dz. Urz. WE L 224 z 18. 08. 1990);
- 4) dyrektywy 90/539/EWG z dnia 15 października 1990 r. w sprawie warunków zdrowotnych zwierząt regulujących handel wewnątrzspółnotowy i przywóz z państw trzecich drobiu i jaj wylęgowych (Dz. Urz. WE L 303 z 31.10.1990);
- 5) dyrektywy 91/67/EWG z dnia 28 stycznia 1991 r. dotyczącej warunków zdrowotnych zwierząt obowiązujących przy wprowadzaniu do obrotu zwierząt i produktów akwakultury (Dz. Urz. WE L 046 z 19.02.1991);
- 6) dyrektywy 91/492/EWG z dnia 15 lipca 1991 r. ustanawiającej warunki zdrowotne dotyczące produkcji i wprowadzania do obrotu żywych małży (Dz. Urz. WE L 268 z 24.09.1991);
- 7) dyrektywy 92/46/EWG z dnia 16 czerwca 1992 r. ustanawiającej przepisy zdrowotne dla produkcji i wprowadzania do obrotu surowego mleka, mleka poddanego obróbce termicznej i produktów na bazie mleka (Dz. Urz. WE L 268 z 14.09.1992);
- 8) dyrektywy 92/66/EWG z dnia 14 lipca 1992 r. wprowadzającej wspólnotowe środki zwalczania rzekomego pomoru drobiu (Dz. Urz. WE L 260 z 05.09.1992);
- 9) dyrektywy 92/40/EWG z dnia 19 maja 1992 r. wprowadzającej wspólnotowe środki zwalczania grypy drobiu (Dz. Urz. WE L 167 z 22.06.1992);
- 10) dyrektywy 92/117/EWG z dnia 17 grudnia 1992 r. dotyczącej środków ochrony przed określonymi chorobami odzwierzęcymi i odzwierzęcymi czynnikami chorobotwórczymi u zwierząt i w produktach pochodzenia zwierzęcego, w celu zapobieżenia zakażeniom i zatruciom przenoszonym przez żywność (Dz. Urz. WE L 062 z 15.03.1993);
- 11) dyrektywy 92/119/EWG z dnia 17 grudnia 1992 r. wprowadzającej ogólne wspólnotowe środki zwalczania niektórych chorób zwierząt i szczególne środki odnoszące się do choroby pęcherzykowej świń (Dz. Urz. WE L 062 z 15.03.1993);
- 12) dyrektywy 93/53/EWG z dnia 24 czerwca 1993 r. wprowadzającej minimalne środki wspólnotowe zwalczania niektórych chorób ryb (Dz. Urz. WE L 175 z 19.07.1993);
- 13) dyrektywy 93/24/EWG z dnia 1 czerwca 1993 r. w sprawie prowadzenia badań statystycznych dotyczących produkcji bydła (Dz. Urz. WE L 149 z 21.06.1993);
- 14) dyrektywy 96/23/WE z dnia 29 kwietnia 1996 r. w sprawie środków monitorowania niektórych substancji i ich pozostałości u żywych zwierząt i w produktach zwierzęcych oraz uchylającej dyrektywy 85/358/EWG i 86/469/EWG oraz decyzje 89/187/EWG i 91/664/EWG (Dz. Urz. WE L 125 z 23. 05.1996);
- 15) rozporządzenia 999/2001/WE z dnia 22 maja 2001 r. ustanawiającego przepisy dotyczące zapobiegania, kontroli i zwalczania niektórych pasażowalnych encefalopatii gąbczastych (Dz. Urz. WE L 147 z 31.05.2001).

³⁾ Zmiany tekstu wymienionej ustawy zostały ogłoszone w Dz. U. z 2004 r. Nr 91, poz.877 i Nr 273, poz. 2703 z 2005 r. Nr 23, poz.188, Nr 33, poz.289, Nr 163, poz. 1362 i Nr 178, poz. 1480 oraz z 2006 r. Nr 17, poz. 127.).

Załączniki do rozporządzenia
Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi
z dnia..... 2006 r. (poz.....)

Załącznik nr 1

**WYKAZ KRAJOWYCH LABORATORIÓW REFERENCYJNYCH WŁĄSCIWYCH DLA
BADAŃ PROWADZONYCH W KIERUNKU ROZPOZNAWANIA CHOROÓB
ZAKAŻNYCH ZWIERZĄT ORAZ CHOROÓB ODZWIERZĘCYCH**

Lp.	Nazwa laboratorium	Adres	Rodzaj badań	Kierunek badań
1	2	3	4	5
1	Laboratorium Zakładu Pryszczycy Państwowego Instytutu Weterynaryjnego - Państwowego Instytutu Badawczego	98-220 Zduńska Wola, ul. Wodna 7	całokształt badań	pryszczycza, choroba pęcherzykowa świń, pęcherzykowe zapalenie jamy ustnej, księgosusz, pomór małych przeżuwaczy
2	Laboratorium Zakładu Chorób Świń Państwowego Instytutu Weterynaryjnego - Państwowego Instytutu Badawczego	24-100 Puławy, Al. Partyzantów 57	całokształt badań	klasyczny pomór świń, afrykański pomór świń, choroba Aujeszkyego u świń, wirusowe zapalenie żołądka i jelit świń, leptospiroza
3	Laboratorium Zakładu Anatomii Patologicznej Państwowego Instytutu Weterynaryjnego - Państwowego Instytutu Badawczego	24-100 Puławy, Al. Partyzantów 57	Badania histopatologiczne i immunohistochemiczne	gąbczasta encefalopatia bydła, trzęsawka owiec, enterowirusowe zapalenie mózgu i rdzenia świń d. choroba cieszyńska i talfańska, gruczolakowatość płuc u owiec i kóz
4	Laboratorium Zakładu Wirusologii Państwowego Instytutu Weterynaryjnego - Państwowego Instytutu Badawczego	24-100 Puławy, Al. Partyzantów 57	całokształt badań wirusologicznych, w tym testy w kierunku gąbczastych encefalopatii bydła (BSE): Western blot i Immunoblot	wścieklizna, trzęsawka owiec, gąbczasta encefalopatia bydła, niedokrwistość zakaźna koni, wirusowe zapalenie tętnic koni, zakaźne zapalenie nosa i tchawicy/otręt bydła, choroba guzowatej skóry bydła, gorączka doliny Rift, choroba niebieskiego języka, ospa owiec i ospa kóz, afrykański pomór koni
5	Laboratorium Zakładu Biochemii Państwowego Instytutu Weterynaryjnego -	24-100 Puławy, Al. Partyzantów 57	Badania biochemiczne	enzootyczna białaczka bydła, choroba maedi-visna, wirusowe zapalenia stawów i mózgu kóz

	Państwowego Instytutu Badawczego			
6	Laboratorium Zakładu Mikrobiologii Państwowego Instytutu Weterynaryjnego - Państwowego Instytutu Badawczego	24-100 Puławy, Al. Partyzantów 57	całokształt badań	bruceloza, salmoneloza, listerioza, wąglik, kolibakterioza, gruźlica bydła, paratuberkuloza, nosacizna, zakaźne zapalenie macicy u kłacz, tularemia
7	Laboratorium Zakładu Chorób Zwierząt Mięsożernych i Futerkowych Państwowego Instytutu Weterynaryjnego - Państwowego Instytutu Badawczego	24-100 Puławy, Al. Partyzantów 57	całokształt badań	borelioza, myksomatoza, krwotoczna choroba królików
8	Laboratorium Zakładu Chorób Bydła i Owiec Państwowego Instytutu Weterynaryjnego - Państwowego Instytutu Badawczego	24-100 Puławy, Al. Partyzantów 57	całokształt badań	gorączka Q, zaraza płucna bydła, zakaźna bezmleczność u owiec i kóz, chlamydioza
9	Laboratorium Zakładu Chorób Drobiu Państwowego Instytutu Weterynaryjnego - Państwowego Instytutu Badawczego	24-100 Puławy, Al. Partyzantów 57	całokształt badań	rzekomy pomór drobiu, wysoce zjadliwa grypa ptaków d. pomór drobiu, mykoplazmoza drobiu
10	Laboratorium Pracowni Diagnostyki Wirusowych Chorób Drobiu Państwowego Instytutu Weterynaryjnego - Państwowego Instytutu Badawczego	24-100 Puławy, Al. Partyzantów 57	całokształt badań wirusologicznych	choroba Mareka
11	Laboratorium Zakładu Chorób Ryb Państwowego Instytutu Weterynaryjnego - Państwowego Instytutu Badawczego	24-100 Puławy, Al. Partyzantów 57	całokształt badań	zakaźna martwica układu krwiotwórczego ryb łososiowatych, zakaźna anemia łososia, wiosenna wiremia karpia, wirusowa posocznica krwotoczna, zakaźna martwica trzustki, bakteryjna choroba nerek ryb łososiowatych, wrzodzienica, jersinioza, dzuma raków lub infekcja <i>Aphanomyces astaci</i> u raków, bonamioza ostryg, marteiloza ostryg, infekcja wywoływana przez <i>Gyrodactylus salaris</i> u łososia atlantyckiego
12	Laboratorium Zakładu Parazytologii	24-100 Puławy, Al. Partyzantów 57	całokształt badań	echinokokoza, toksoplazmoza, zgnilec

Państwowego Instytutu Weterynaryjnego - Państwowego Instytutu Badawczego			amerykański pszczoł, zgnilec europejski, waroza, zaraza stadnicza
--	--	--	---

Załącznik nr 2

WYKAZ KRAJOWYCH LABORATORIÓW REFERENCYJNYCH WŁAŚCIWYCH DLA BADAŃ PRODUKTÓW POCHODZENIA ZWIERZĘCEGO ORAZ PASZ I PASZ LECZNICZYCH

Lp.	Nazwa laboratorium	Adres	Rodzaj badań	Kierunek badań
1	2	3	4	5
1	Laboratorium Zakładu Higieny Żywności Pochodzenia Zwierzęcego Państwowego Instytutu Weterynaryjnego - Państwowego Instytutu Badawczego	24-100 Puławy, Al. Partyzantów 57	całokształt badań mleka i przetworów mlecznych oraz całokształt badań środków żywności	badania fizyko-chemiczne i cytologiczne mleka surowego, badania mikrobiologiczne mleka i przetworów mlecznych, badania skuteczności obróbki cieplnej, włóśnie, pozostałości leków przeciwbakteryjnych (B1 - metody mikrobiologiczne i inne metody skринingowe, czynniki mikrobiologicznego skażenia żywności, w tym Salmonella spp., Listeria spp., Campylobacter spp., Escherichia coli, Staphylococcus spp., Clostridium spp., biotoksyny morskie u maź blaszkoskrzelnych, czynniki bakteriologiczne i wirusologiczne u maź blaszkoskrzelnych, pozostałości hormonów, promotorów wzrostu, tyreostatyków (A1, A2, A3, A4)
2	Laboratorium Zakładu Higieny Środków Żywienia Zwierząt Państwowego Instytutu Weterynaryjnego - Państwowego Instytutu Badawczego	24-100 Puławy, Al. Partyzantów 57	całokształt badań	Zanieczyszczenia mikrobiologiczne pasz z uwzględnieniem pałeczki Salmonella spp., substancje niepożądane, przetworzone białko zwierzęce, substancje hamujące, antybiotyki paszowe, stymulatory wzrostu, zanieczyszczenia stałe w tłuszczach paszowych z przeżuwaczy
3	Laboratorium Zakładu Farmakologii i Toksykologii Państwowego Instytutu Weterynaryjnego - Państwowego Instytutu Badawczego	24-100 Puławy, Al. Partyzantów 57	całokształt badań	1. Grupa A - substancje wykazujące działanie anaboliczne oraz substancje, których stosowanie u zwierząt jest niedozwolone: 1) stilbeny, pochodne stilbenów oraz ich

				<p>sole i estry; 2) substancje tyreostatyczne; 3) sterydy; 4) laktony kwasu rezorcynowego, w tym zeranol; 5) beta-agoniści; 6) substancje farmakologicznie czynne, które są określone w załączniku nr 4 do rozporządzenia 2377/90/EWG z dnia 26 czerwca 1990 r. ustanawiającego wspólnotową procedurę dla określania maksymalnego limitu pozostałości Weterynaryjnych Produktów Leczniczych w środkach spożywczych pochodzenia zwierzęcego (Dz. Urz. WE L 224 z 18.08.1990).</p> <p>2. Grupa B - produkty lecznicze, w tym substancje niedozwolone, które mogą być użyte do celów weterynaryjnych, zanieczyszczenia chemiczne oraz inne zanieczyszczenia:</p> <p>1) substancje przeciwbakteryjne, w tym antybiotyki, sulfonamidy, chinolony; 2) inne produkty lecznicze: a) leki przeciwrobacze, b) kokcydiostatyki i nitroimidazole, c) karbaminiany i pyretroidy, d) neuroleptyki, e) niesterydowe leki przeciwzapalne, f) inne substancje farmakologicznie czynne; 3) zanieczyszczenia chemiczne i inne zanieczyszczenia: a) pierwiastki śladowe, d) mikotoksyny,</p>
4	Laboratorium Pracowni Ochrony Radiologicznej i Badań Izotopowych Państwowego Instytutu Weterynaryjnego - Państwowego Instytutu Badawczego	24-100 Puławy, Al. Partyzantów 57	całokształt badań	nitrozoaminy, dioksyny, skażenia żywności i pasz pierwiastkami promieniotwórczymi

--	--	--	--	--

UZASADNIENIE

Projekt rozporządzenia stanowi wykonanie upoważnienia zawartego w art. 25 ust. 1 ustawy z dnia 29 stycznia 2004 r. o Inspekcji Weterynaryjnej (Dz. U. Nr 33, poz. 287, z późn. zm.)

Niniejszy projekt rozporządzenia był poprzedzony rozporządzeniem Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia z dnia 21 października 2004 r. w sprawie wykazu laboratoriów referencyjnych właściwych dla poszczególnych rodzajów i kierunków badań (Dz. U. Nr 251, poz. 2513).

Do czasu wejścia w życie niniejszego rozporządzenia obowiązywać będą zachowane czasowo w mocy, przepisy wymienionego wyżej rozporządzenia z dnia 21 października 2004 r. W załączniku nr 1 do rozporządzenia zostały określone krajowe laboratoria referencyjne właściwe dla badań prowadzonych w kierunku rozpoznawania chorób zakaźnych zwierząt oraz chorób odzwierzęcych. Natomiast w załączniku nr 2 do zostały określone krajowe laboratoria referencyjne właściwe do przeprowadzania badań pasz i pasz leczniczych.

Przeprowadzane badania próbek produktów pochodzenia zwierzęcego, pasz i pasz leczniczych mają na celu zagwarantowanie odpowiedniej jakości wytwarzanych, wprowadzanych do obrotu i stosowanych w żywieniu zwierząt pasz, produktów pochodzenia zwierzęcego, ich bezpieczeństwo dla zdrowia zwierząt, ludzi jako konsumentów produktów zwierzęcych oraz dla środowiska naturalnego.

Wskazanie krajowych laboratoriów referencyjnych w których będą przeprowadzane badania pasz i pasz leczniczych jest zgodne z upoważnieniem zawartym w art. 33 ust. 1 rozporządzenia 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 regułami dotyczącymi zdrowia zwierząt i dobrostanu zwierząt (Dz. Urz. UE L 165 z 30.04.2004, str. 1) .

Niniejsze projekt rozporządzenia wdraża następujące przepisy:

- 1) dyrektywy 64/432/EWG z dnia 26 czerwca 1964 r. w sprawie problemów zdrowotnych zwierząt wpływających na handel wewnątrzspółnotowy bydłem i trzodą chlewną (Dz. Urz. WE P 121 z 29.07.1964);
- 2) dyrektywy 85/511/EWG z dnia 18 listopada 1985 r. wprowadzającej wspólnotowe środki zwalczania pryszczycy (Dz. Urz. WE L 315 z 26.11.1985);

- 3) dyrektywy 90/426/EWG z dnia 26 czerwca 1990 r. w sprawie warunków zdrowotnych zwierząt regulujących przemieszczanie i przywóz zwierząt z rodziny koniowatych z państw trzecich (Dz. Urz. WE L 224 z 18. 08. 1990);
- 4) dyrektywy 90/539/EWG z dnia 15 października 1990 r. w sprawie warunków zdrowotnych zwierząt regulujących handel wewnątrzspółnotowy i przywóz z państw trzecich drobiu i jaj wylęgowych (Dz. Urz. WE L 303 z 31.10.1990);
- 5) dyrektywy 91/67/EWG z dnia 28 stycznia 1991 r. dotyczącej warunków zdrowotnych zwierząt obowiązujących przy wprowadzaniu do obrotu zwierząt i produktów akwakultury (Dz. Urz. WE L 046 z 19.02.1991);
- 6) dyrektywy 91/492/EWG z dnia 15 lipca 1991 r. ustanawiającej warunki zdrowotne dotyczące produkcji i wprowadzania do obrotu żywych małży (Dz. Urz. WE L 268 z 24.09.1991);
- 7) dyrektywy 92/46/EWG z dnia 16 czerwca 1992 r. ustanawiającej przepisy zdrowotne dla produkcji i wprowadzania do obrotu surowego mleka, mleka poddanego obróbce termicznej i produktów na bazie mleka (Dz. Urz. WE L 268 z 14.09.1992);
- 8) dyrektywy 92/66/EWG z dnia 14 lipca 1992 r. wprowadzającej wspólnotowe środki zwalczania rzekomego pomoru drobiu (Dz. Urz. WE L 260 z 05.09.1992);
- 9) dyrektywy 92/40/EWG z dnia 19 maja 1992 r. wprowadzającej wspólnotowe środki zwalczania grypy drobiu (Dz. Urz. WE L 167 z 22.06.1992);
- 10) dyrektywy 92/117/EWG z dnia 17 grudnia 1992 r. dotyczącej środków ochrony przed określonymi chorobami odzwierzęcymi i odzwierzęcymi czynnikami chorobotwórczymi u zwierząt i w produktach pochodzenia zwierzęcego, w celu zapobieżenia zakażeniom i zatruciom przenoszonym przez żywność (Dz. Urz. WE L 062 z 15.03.1993);
- 11) dyrektywy 92/119/EWG z dnia 17 grudnia 1992 r. wprowadzającej ogólne wspólnotowe środki zwalczania niektórych chorób zwierząt i szczególne środki odnoszące się do choroby pęcherzykowej świń (Dz. Urz. WE L 062 z 15.03.1993);
- 12) dyrektywy 93/53/EWG z dnia 24 czerwca 1993 r. wprowadzającej minimalne środki wspólnotowe zwalczania niektórych chorób ryb (Dz. Urz. WE L 175 z 19.07.1993);

- 13) dyrektywy 93/24/EWG z dnia 1 czerwca 1993 r. w sprawie prowadzenia badań statystycznych dotyczących produkcji bydła (Dz. Urz. WE L 149 z 21.06.1993);
- 14) dyrektywy 96/23/WE z dnia 29 kwietnia 1996 r. w sprawie środków monitorowania niektórych substancji i ich pozostałości u żywych zwierząt i w produktach zwierzęcych oraz uchylającej dyrektywy 85/358/EWG i 86/469/EWG oraz decyzje 89/187/EWG i 91/664/EWG (Dz. Urz. WE L 125 z 23.05.1996);
- 15) rozporządzenia 999/2001/WE z dnia 22 maja 2001 r. ustanawiającego przepisy dotyczące zapobiegania, kontroli i zwalczania niektórych pasażowalnych encefalopatii gąbczastych (Dz. Urz. WE L 147 z 31.05.2001).

Rozporządzenie nie podlega notyfikacji w rozumieniu przepisów rozporządzenia Rady Ministrów z dnia 23 grudnia 2002 r. w sprawie sposobu funkcjonowania krajowego systemu notyfikacji norm i aktów prawnych (Dz. U. Nr 239, poz. 2039 oraz z 2004 r. Nr 65, poz. 597).

OCENA SKUTKÓW REGULACJI

1. Podmioty, na które będzie oddziaływał akt normatywny

Rozporządzenie będzie oddziaływać na podmioty prowadzące działalność w zakresie wytwarzania lub obrotu produktami pochodzenia zwierzęcego, paszami przeznaczonymi dla zwierząt.

2. Wpływ aktu normatywnego na sektor finansów publicznych, w tym budżet państwa i budżety jednostek samorządu terytorialnego

Wejście w życie w/w rozporządzenia nie wpłynie na sektor finansów publicznych, w tym budżet państwa i budżety jednostek samorządu terytorialnego.

3. Wpływ aktu normatywnego na rynek pracy

Wejście w życie rozporządzenia nie wpłynie na rynek pracy.

4. Wpływ aktu normatywnego na konkurencyjność gospodarki i przedsiębiorczość, w tym na funkcjonowanie przedsiębiorstw

Wejście w życie przepisów rozporządzenia spowoduje, że polskie podmioty będą mogły wprowadzać do obrotu pasze poddane kontroli urzędowej w laboratoriach dysponujących wysoko wykwalifikowaną kadrą oraz sprzętem gwarantującym specjalistyczne przeprowadzanie tych badań.

5. Wpływ aktu normatywnego na sytuację i rozwój regionów

Rozporządzenie nie będzie miało wpływu na sytuację i rozwój regionów.

6. Konsultacje społeczne

W ramach prowadzonych konsultacji projekt zostanie przesłany do: Federacji Związków Producentów Rolnych, Izby Gospodarczej Handlowców, Przetwórców Zbóż i Producentów Pasz, Krajowej Izby Producentów Drobiu i Pasz, Krajowej Rady Drobiarstwa – Izby Gospodarczej, Krajowej Rady Izb Rolniczych, Krajowego Związku Rolników, Kółek i Organizacji Rolniczych, Niezależnego Samorządnego Związku Zawodowego Rolników Indywidualnych „Solidarność”, Niezależnego Samorządnego Związku Zawodowego „Solidarność”, Polskiego Związku Producentów Pasz, Związku Zawodowego Rolnictwa „Samoobrona” Związku Zawodowego Rolników Ojczyzna, Rady Gospodarki Żywnościowej, Krajowej Izby Lekarsko – Weterynaryjnej, „Polkarma” Polskiego Stowarzyszenia Producentów Karmy dla Zwierząt Domowych, Polskiego Związku Hodowców i Producentów Trzody Chlewnej „POLSUS”, Polskiej Federacji Hodowców Bydła i Producentów Mleka, Polskiego Związku Zrzeszeń Hodowców i Producentów Drobiu, Polskiego Związku Owczarskiego i Polskiego Związku Hodowców Koni.

**ROZPORZĄDZENIE
MINISTRA ROLNICTWA I ROZWOJU WSI ¹⁾**

z dnia 2006 r.

w sprawie materiałów paszowych wprowadzanych do obrotu ²⁾

Na podstawie art. 25 ust. 2 ustawy z dnia2006 r. o paszach (Dz. U. Nr ..., poz. ...) zarządza się, co następuje:

§ 1.

Rozporządzenie określa :

- 1) materiały paszowe oraz nazwy, pod którymi te materiały mogą być wprowadzone do obrotu, stanowiące załącznik nr 1 do rozporządzenia;
- 2) rodzaje procesów technologicznych stosowanych do wytwarzania materiałów paszowych, o których mowa w pkt 1, stanowiące załącznik nr 2 do rozporządzenia.

§ 2.

Traci moc rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 19 stycznia 2005 r. w sprawie materiałów paszowych wprowadzanych do obrotu (Dz. U. Nr 16, poz. 137).

§ 3.

Rozporządzenie wchodzi w życie po upływie 14 dni od dnia ogłoszenia.

MINISTER ROLNICTWA I ROZWOJU WSI

¹⁾ Minister Rolnictwa i Rozwoju Wsi kieruje działem administracji rządowej – rolnictwo, na podstawie § 1 ust. 2 pkt 1 rozporządzenia Prezesa Rady Ministrów z dnia 31 października 2005 r. w sprawie szczegółowego zakresu działania Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi (Dz. U. Nr 220, poz. 1892).

²⁾ Przepisy rozporządzenia wdrażają postanowienia dyrektywy Rady 96/25/WE z dnia 29 kwietnia 1996 r. w sprawie obrotu materiałami paszowymi, zmieniającej dyrektywy 70/524/EWG, 74/63/EWG, 82/471/EWG i 93/74/EWG oraz uchylającej dyrektywę 77/101/EWG (Dz. Urz. WE L 125 z 23.5.1996, str. 35; Dz. Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3 , t. 19, str. 96, z późn. zm.).

**Materiały paszowe oraz nazwy, pod którymi materiały te mogą być
wprowadzone do obrotu**

Lp.	Nazwa materiału paszowego	Opis materiału paszowego
1.	2.	3.
I. ZIARNO ZBÓŻ, ICH PRODUKTY I PRODUKTY UBOCZNE		
1.	Owies	Ziarno <i>Avena sativa</i> L. i inne uprawne odmiany owsa
2.	Płatki owsiane	Produkt uzyskiwany przez walcowanie parowanego owsa; może zawierać niewielkie ilości łuski owsianej
3.	Śruta owsiana	Produkt uzyskiwany w procesie przetwarzania obłuszczonego ziarna owsa na kaszę lub mąkę; składa się głównie z otrąb owsianych i bielma
4.	Otręby i łuski owsiane	Produkt uboczny uzyskiwany w procesie rozdrabniania i przesiewania owsa na kaszę owsianą; składa się zasadniczo z otrąb i łusek owsianych
5.	Jęczmień	Ziarno <i>Hordeum vulgare</i> L.
6.	Śruta jęczmienna	Produkt uzyskiwany w procesie przetwarzania obłuszczonego ziarna jęczmienia na kaszę perłową, grysik lub mąkę
7.	Białko jęczmienne	Wysuszony produkt uboczny uzyskiwany podczas produkcji skrobi jęczmiennej; składa się zasadniczo z białka uzyskanego w procesie oddzielania skrobi
8.	Ryż połamany	Produkt uboczny uzyskiwany przy polerowaniu lub szklwieniu ryżu <i>Oryza sativa</i> L.; zawiera głównie niewymiarowe lub połamane ziarna
9.	Otręby ryżowe (brązowe)	Produkt uboczny uzyskiwany podczas pierwszego polerowania łuskanego ryżu; składa się zasadniczo z cząstek warstwy aleuronowej, bielma i zarodków
10.	Otręby ryżowe (białe)	Produkt uboczny uzyskiwany podczas drugiego polerowania łuskanego ryżu; składa się zasadniczo z cząstek warstwy aleuronowej, bielma i zarodków
11.	Otręby ryżowe z węglanem wapnia	Produkt uboczny uzyskiwany podczas polerowania łuskanego ryżu; składa się zasadniczo ze srebrzystych łusek, cząstek warstwy aleuronowej, bielma i zarodków; zawiera zróżnicowane ilości węgla wapnia używanego w procesie polerowania
12.	Mączka paszowa z ryżu parzonego	Produkt uboczny uzyskiwany przy polerowaniu łuskanego, parzonego ryżu; składa się zasadniczo z cząstek warstwy aleuronowej, bielma i zarodków; zawiera zróżnicowane ilości węgla wapnia używanego w procesie polerowania
13.	Śruta ryżu pastewnego	Produkt uzyskiwany przez rozdrobnienie ryżu pastewnego; składa się z zielonych, mączystych lub niedojrzałych ziaren, oddzielonych w procesie mielenia ryżu łuskanego, lub z normalnych łuskanych ziaren

		o żółtym zabarwieniu lub mających plamy
14.	Makuch z ryżowych zarodków	Produkt uboczny uzyskiwany przy tłoczeniu oleju z zarodków ryżowych, do których przylegają cząstki bielma i łuski
15.	Poekstrakcyjne zarodki ryżowe	Produkt uboczny uzyskiwany przy produkcji oleju, po ekstrakcji zarodków ryżowych, do których przylegają cząstki bielma i łuski
16.	Skrobia ryżowa	Technicznie czysta skrobia ryżowa
17.	Proso	Ziarno Panicum miliaceum L.
18.	Żyto	Ziarno Secale cereale L.
19.	Śruta żytnia ⁽¹⁾	Produkt uzyskiwany z przesiewanego żyta przy produkcji mąki; składa się zasadniczo z rozdrobnionych cząstek bielma, z drobnych fragmentów zewnętrznych łusek i odpadków ziarna
20.	Mąka żytnia paszowa	Produkt uboczny produkcji mąki, uzyskiwany z rozdrobnionego i przesiewanego żyta; składa się zasadniczo z drobnych fragmentów zewnętrznych łusek i cząstek ziarna, z których usunięto mniej bielma niż z otrąb żytnich
21.	Otręby żytnie	Produkt uboczny produkcji mąki, uzyskiwany z rozdrobnionego i przesiewanego żyta; składa się z drobnych fragmentów zewnętrznych łusek i cząstek ziarna, z których usunięto większość bielma
22.	Sorgo	Ziarno Sorghum bicolor (L.) Moench s.l,
23.	Pszenica	Ziarno Triticum aestivum (L.), Triticum durum Desf. i inne uprawne odmiany pszenicy
24.	Śruta pszenna ⁽¹⁾	Produkt uzyskiwany z przesiewu rozdrobnionego ziarna pszenicy lub łuskanego orkisz przy produkcji mąki; składa się zasadniczo z cząstek bielma, z drobnymi fragmentami zewnętrznych łusek i odpadków ziarna
25.	Mąka pszenna paszowa	Produkt uboczny przy produkcji mąki, uzyskiwany z przesiewu rozdrobnionej pszenicy lub łuskanego orkisz; składa się z drobnych fragmentów zewnętrznych łusek i cząstek ziarna, z których usunięto mniej bielma niż z otrąb pszennych
26.	Otręby pszenne ⁽²⁾	Produkt uboczny przy produkcji mąki, uzyskiwany z przesiewu pszenicy lub łuskanego orkisz; składa się z rozdrobnionych zewnętrznych łusek i cząstek ziarna, z których usunięto większość bielma
27.	Kiełki pszenne	Produkt uboczny przy produkcji mąki składający się zasadniczo z kiełków pszennych, walcowanych lub otrzymany w inny sposób, do których mogą przylegać fragmenty bielma lub zewnętrznych łusek
28.	Gluten pszenny	Wysuszony produkt uboczny uzyskiwany przy produkcji skrobi pszennej; składa się zasadniczo z glutenu otrzymanego podczas oddzielania skrobi
29.	Gluten pszenny paszowy	Produkt uboczny uzyskiwany przy produkcji skrobi pszennej i glutenu; składa się z otrąb, z których usunięto częściowo zarodki lub nie, oraz glutenu, do których mogą być dodane bardzo małe ilości składników powstałych przy przesiewaniu ziarna, jak też bardzo małe ilości pozostałości pochodzących z procesu hydrolizy skrobi
30.	Skrobia pszenna	Technicznie czysta skrobia otrzymana z pszenicy
31.	Żelowana skrobia	Produkt składający się ze skrobi pszennej, znacznie spęczniałej w wyniku obróbki cieplnej

	pszenna	
32.	Orkisz	Ziarno orkiszu <i>Triticum spelta</i> L., <i>Triticum diocccum</i> Schrank, <i>Triticum monococcum</i> L.
33.	Pszenżyto	Ziarno krzyżówki <i>Triticum X Secale</i>
34.	Kukurydza	Ziarno <i>Zea mays</i> L.
35.	Śruta kukurydziana ⁽¹⁾	Produkt uzyskiwany przez rozdrabnianie ziarna kukurydzy; składa się z rozdrobnionego bielma, otrąb i łusek
36.	Otręby kukurydziane	Produkt uboczny produkcji mąki lub kaszki z kukurydzy; składa się zasadniczo z zewnętrznych łusek oraz zarodków kukurydzianych i cząstek bielma
37.	Makuch z zarodków kukurydzianych	Produkt uboczny tłoczenia oleju, uzyskiwany z tłoczenia na sucho lub na mokro zarodków kukurydzianych, do których mogą przylegać fragmenty bielma i łuski
38.	Poekstrakcyjne zarodki kukurydziane	Produkt uboczny ekstrakcji oleju na sucho lub na mokro z zarodków kukurydzianych, do których mogą przylegać fragmenty bielma i łuski
39.	Gluten paszowy kukurydziany ⁽³⁾	Produkt uboczny produkcji skrobi kukurydzianej na mokro; składa się z otrąb i z glutenu, do których mogą być dodane pokruszone ziarna kukurydzy uzyskane z przesiewu w ilości nieprzekraczającej 15% produktu lub pozostałości przesączanego płynu wykorzystywanego do produkcji alkoholu, lub inne produkty pochodne skrobi; produkt może również zawierać pozostałości po ekstrakcji oleju z zarodków kukurydzy uzyskanych również w procesie mokrym
40.	Gluten kukurydziany	Wysuszony produkt uboczny uzyskany przy produkcji skrobi kukurydzianej na mokro; składa się zasadniczo z glutenu uzyskanego podczas oddzielania skrobi
41.	Skrobia kukurydziana	Technicznie czysta skrobia uzyskana z kukurydzy
42.	Żelowana skrobia kukurydziana ⁽⁴⁾	Produkt składający się ze skrobi kukurydzianej, znacznie spęczniałej w wyniku obróbki cieplnej
43.	Słód kukurydziany	Produkt uboczny słodowania, składający się głównie z suszonych korzonków skielkowanego ziarna
44.	Młóto browarniane suszone	Produkt uboczny browarniany, uzyskiwany przez suszenie pozostałości słodowanych i niesłodowanych ziaren zbóż i innych produktów skrobiowych
45.	Wywar gorzelniczy zbożowy suszony ⁽⁵⁾	Produkt uboczny gorzelnictwa uzyskiwany przez wysuszenie stałych pozostałości sfermentowanego ziarna zbóż
46.	Wywar gorzelniczy ciemny suszony ⁽⁶⁾	Produkt uboczny gorzelnictwa uzyskiwany przez suszenie stałych pozostałości sfermentowanego ziarna zbóż, do którego dodano syrop piwny lub odparowany, przefermentowany zacier
II. NASIONA OLEISTE, OWOCE OLEISTE, ICH PRODUKTY I PRODUKTY UBOCZNE		

1.	Makuch z częściowo łuszczonech orzechów ziemnych	Produkt uboczny tłoczenia oleju z częściowo łuszczonech orzechów ziemnych <i>Arachis hypogaea</i> L. i innych gatunków <i>Arachis</i> , zawierający nie więcej niż 16 % włókna surowego w suchej masie
2.	Śruta poekstrakcyjna arachidowa z orzechów ziemnych częściowo łuszczonech	Produkt uboczny produkcji oleju, uzyskiwany przez ekstrakcję częściowo łuszczonech orzechów ziemnych, zawierający nie więcej niż 16 % włókna surowego w suchej masie
3.	Makuch z orzechów ziemnych łuszczonech	Produkt uboczny produkcji oleju, uzyskiwany przy tłoczeniu łuszczonech orzechów ziemnych
4.	Śruta poekstrakcyjna z łuszczonech orzechów ziemnych	Produkt uboczny produkcji oleju, uzyskiwany przez ekstrakcję łuszczonech orzechów ziemnych
5.	Rzepak ⁽⁷⁾	Nasiona rzepaku <i>Brassica napus</i> L. ssp. <i>oleifera</i> (Metzg.) Sinsk., Indian sarson <i>Brassica napus</i> L. Var. <i>Glauc</i> a (Roxb.) O.E. Schulz oraz rzepaku <i>Brassica napa</i> ssp. <i>oleifera</i> (Metzg.) Sinsk o minimalnej czystości botanicznej 94%
6.	Makuch rzepakowy ⁽⁷⁾	Produkt uboczny produkcji oleju uzyskiwany przez tłoczenie nasion rzepaku o minimalnej czystości botanicznej 94%
7.	Śruta poekstrakcyjna rzepakowa ⁽⁷⁾	Produkt uboczny produkcji oleju uzyskiwany przez ekstrakcję nasion rzepaku o minimalnej czystości botanicznej 94%
8.	Łuski nasion rzepaku	Produkt uboczny uzyskiwany podczas łuszczenia nasion rzepaku
9.	Śruta poekstrakcyjna z krokoszu częściowo obłuszczonego	Produkt uboczny produkcji oleju, uzyskiwany przez ekstrakcję częściowo obłuszczonech nasion krokoszu <i>Carthamus tinctorius</i> L.
10.	Makuch z kopry	Produkt uboczny produkcji oleju uzyskiwany poprzez tłoczenie wysuszonego rdzenia (bielmo nasion) i zewnętrznej łuski nasion palmy kokosowej <i>Cocos nucifera</i> L.
11.	Śruta poekstrakcyjna z kopry	Produkt uboczny produkcji oleju uzyskiwany przez ekstrakcję wysuszonego rdzenia (bielmo nasion) i zewnętrznej łuski nasion palmy kokosowej
12.	Makuch z ziarna palmy	Produkt uboczny przy produkcji oleju tłoczonego z rdzeni palmowych olejowca gwinejskiego <i>Elaeis guineensis</i> Jacq., <i>Corozo oleifera</i> (HBK) L. H. Bailey (<i>Elaeis melanococca</i> auct.), z których usunięto możliwie jak najwięcej twardej łupiny zewnętrznej

13.	Śruta poekstrakcyjna z ziarna palmy	Produkt uboczny ekstrakcji oleju z nasion palmy, z których usunięto możliwie jak najwięcej twardej łupiny zewnętrznej
14.	Nasiona soi toastowane	Nasiona soi (<i>Glycine max.</i> L. Merr.) poddane obróbce cieplnej; aktywność ureazy maksymalnie 0,4 mg N/g x minuta
15.	Śruta poekstrakcyjna sojowa toastowana	Produkt uboczny produkcji oleju z nasion soi po ekstrakcji i obróbce termicznej; aktywność ureazy maksymalnie 0,4 mg N/g x minuta
16.	Śruta poekstrakcyjna z obłuszczonych nasion soi toastowana	Produkt uboczny uzyskiwany przy ekstrakcji oleju z podgrzanych i łuszczonych nasion soi, zawierający maksymalnie 8% włókna surowego w suchej masie; aktywność ureazy maksymalnie 0,4 mg N/g x minuta
17.	Koncentrat białka sojowego	Produkt uzyskiwany z łuszczonych, odtłuszczonych nasion soi, poddany ponownej ekstrakcji redukującej zawartość związków bezazotowych
18.	Olej roślinny ⁽⁸⁾	Olej uzyskiwany z roślin
19.	Łuski z nasion soi	Produkt łuszczenia nasion soi
20.	Nasiona bawełny	Nasiona bawełny <i>Gossypium ssp.</i> , z których usunięto włókno
21.	Śruta poekstrakcyjna z nasion bawełny częściowo obłuszczonych	Produkt uboczny ekstrakcji oleju z częściowo obłuszczonych nasion bawełny, z których usunięto włókno; maksymalna zawartość włókna surowego - 22,5% w suchej masie
22.	Makuch z nasion bawełny	Produkt uboczny tłoczenia oleju z nasion bawełny, z których usunięto włókno
23.	Makuch z nasion nigru	Produkt uboczny produkcji oleju, uzyskiwany przy tłoczeniu nasion nigru, <i>Guizotia abyssinica</i> (Lf) Cass.; maksymalna zawartość popiołu nierozpuszczalnego w HCl - 3,4%
24.	Nasiona słonecznika	Nasiona słonecznika <i>Helianthus annuus</i> L.
25.	Śruta poekstrakcyjna słonecznikowa	Produkt uboczny ekstrakcji oleju z nasion słonecznika
26.	Śruta poekstrakcyjna z nasion słonecznika częściowo odtłuszczonych	Produkt uboczny produkcji oleju, uzyskiwany przy ekstrakcji nasion słonecznika, z których usunięto część łusek; maksymalna zawartość włókna surowego w suchej masie - 27,5%
27.	Nasiona lnu	Nasiona lnu <i>Linum usitatissimum</i> L. o minimalnej czystości botanicznej 93%
28.	Makuch lniany	Produkt uboczny produkcji oleju, uzyskiwany w procesie tłoczenia nasion lnu o minimalnej czystości botanicznej 93%

29.	Śruta poekstrakcyjna Iniana	Produkt uboczny ekstrakcji oleju z nasion Inu o minimalnej czystości botanicznej 93%
30.	Pulpa z oliwek	Produkt uboczny ekstrakcją prasowanych oliwek europejskich <i>Olea europea</i> L., z których usunięto maksymalną ilość pestek
31.	Makuch sezamowy	Produkt uboczny przy tłoczeniu oleju z nasion sezamu indyjskiego <i>Sesamum indicum</i> L., zawierający popiół nierozpuszczalny w HCl w ilości nie większej niż 5%
32.	Śruta poekstrakcyjna z ziarna kakaowego częściowo obłuszczonego	Produkt uboczny ekstrakcji oleju z suszonego i częściowo obłuszczonego prażonego ziarna kakaowego <i>Theobroma cacao</i> L.
33.	Łuski kakaowe	Łupiny suszonego i prażonego ziarna kakaowego <i>Theobroma cacao</i> L.
III. NASIONA ROŚLIN STRĄCZKOWYCH, ICH PRODUKTY I PRODUKTY UBOCZNE		
1.	Ciecierzycza	Nasiona <i>Cicer arietinum</i> L.
2.	Mączka z ekstrahowanych nasion guaru	Produkt uboczny ekstrakcji kleju roślinnego z nasion <i>Cyanopsis tetragonoloba</i> (L.) Taub.
3.	Soczewica	Nasiona <i>Ervum ervilia</i> L.
4.	Łędźwian siewny ⁽⁹⁾	Nasiona <i>Lathyrus sativus</i> L. poddane obróbce cieplnej
5.	Soczewica jadalna	Nasiona <i>Lens culinaris</i> a.o. Medik.
6.	Łubiny słodkie	Nasiona <i>Lupinus</i> ssp. o niskiej zawartości gorzkich nasion
7.	Fasola toastowana	Nasiona <i>Phaseolus</i> lub <i>Vigna</i> ssp. poddane obróbce cieplnej mającej na celu inaktywację toksycznych lektyn
8.	Groch	Nasiona <i>Pisum</i> ssp.
9.	Śruta grochowa	Produkt uboczny produkcji mąki grochowej; składa się z cząstek liścienia oraz małej ilości łusek
10.	Otręby grochowe	Produkt uboczny produkcji mączki grochowej; składa się głównie z łupin usuniętych podczas łuskania i czyszczenia grochu
11.	Bobik	Nasiona <i>Vicia faba</i> L. ssp. <i>Faba</i> odm. <i>equina</i> Pers. i odm. <i>minuta</i> (Alef.) Mansf.
12.	Wyka jednokwiatowa	Nasiona <i>Vicia monathos</i> Desf.
13.	Wyka siewna	Nasiona <i>Vicia sativa</i> L. odm. <i>sativa</i> i inne
IV. BULWY, ROŚLINY KORZENIOWE, PRODUKTY I PRODUKTY UBOCZNE		
1.	Wysłodki buraczane	Produkt uboczny produkcji cukru, składający się z ekstrahowanej i wysuszonej krajanki buraków cukrowych <i>Beta vulgaris</i> L. ssp. <i>Vulgaris</i> odm. <i>altissima</i> Doell.; maksymalna zawartość popiołu nierozpuszczalnego w HCl - 4,5% suchej masy
2.	Melasa buraczana	Produkt uboczny składający się z pozostałości syropu z produkcji lub rafinacji cukru z buraków
3.	Wysłodki buraczane melasowane	Produkt uboczny produkcji cukru zawierający wysuszone wysłodki, do których dodano melasę; maksymalna zawartość popiołu nierozpuszczalnego w HCl - 4,5% suchej masy

4.	Wywar melasowy z buraków cukrowych	Produkt uboczny fermentacji melasy z buraków przy produkcji alkoholu, drożdży, kwasu cytrynowego i innych substancji organicznych
5.	Cukier z buraków cukrowych ⁽¹⁰⁾	Cukier ekstrahowany z buraków cukrowych
6.	Batat	Bulwy – Wilec ziemniaczany Ipomoea Batatas (L.) Poir, niezależnie od postaci
7.	Maniok ⁽¹¹⁾ jadalny	Korzenie Manihot esculenta Crantz, niezależnie od postaci; maksymalna zawartość popiołu nierozpuszczalnego w HCl - 4,5% suchej masy
8.	Skrobia z manioku ⁽¹²⁾ ekspandowana	Skrobia uzyskana z korzeni manioku, ekspandowana w wyniku stosownej obróbki cieplnej
9.	Pulpa ziemniaczana	Produkt uboczny uzyskiwany przy produkcji skrobi ziemniaczanej (Solanum tuberosum L.)
10.	Skrobia ziemniaczana	Technicznie czysta skrobia ziemniaczana
11.	Białko ziemniaczane	Wysuszony produkt uboczny produkcji skrobi, składający się głównie z substancji białkowych otrzymanych po oddzieleniu skrobi
12.	Płatki ziemniaczane	Produkt uzyskiwany przez suszenie bębnowe umytych, obranych lub nieobrzanych, parowanych ziemniaków
13.	Koncentrat soku ziemniaczanego	Produkt uboczny produkcji skrobi ziemniaczanej, z której usunięto częściowo białko i wodę
14.	Żelowana skrobia ziemniaczana	Produkt składający się ze skrobi ziemniaczanej, w znacznej części rozłożonej w wyniku obróbki cieplnej
V. INNE NASIONA I OWOCE, ICH PRODUKTY I PRODUKTY UBOCZNE		
1.	Strąki szarańczynu	Produkt kruszenia suchych owoców (strąków) drzewa szarańczynu – Rożkowiec strąkowy Ceratonia siliqua L., z których usunięto nasiona
2.	Pulpa cytrusowa	Produkt uboczny wyciskania owoców cytrusowych Citrus ssp. podczas produkcji soku
3.	Pulpa owocowa ⁽¹³⁾	Produkt uboczny wyciskania owoców miąższowych lub pestkowych podczas produkcji soku owocowego
4.	Pulpa pomidorowa	Produkt uboczny wyciskania pomidorów Solanum lycopersicum Karst podczas produkcji soku pomidorowego
5.	Pestki winogronowe ekstrahowane	Produkt uboczny uzyskiwany podczas ekstrakcji oleju z pestek winogronowych
6.	Pulpa winogronowa	Pulpa winogronowa poddana szybkiemu suszeniu po ekstrakcji alkoholu, z której usunięto możliwie wiele szypulek i pestek
7.	Pestki winogronowe	Pestki usunięte z pulpy winogronowej, z których nie usunięto oleju
VI. PASZE Z ZIELONEK I PASZE OBJĘTOŚCIOWE		
1.	Susz z lucerny-mączka ⁽¹⁴⁾	Produkt uzyskiwany przez suszenie i mielenie młodych roślin lucerny Medicago sativa L. i Medicago odm. martyn; może zawierać do 20%

		młodych roślin koniczyny lub innych roślin paszowych wysuszonych i zmielonych jednocześnie z lucerną
2.	Miazga z lucerny	Wysuszony produkt uboczny powstały przy wyciskaniu soku z lucerny
3.	Koncentrat białkowy z lucerny	Produkt uzyskiwany przez sztuczne wysuszenie frakcji soku z lucerny, który odwirowano i ogrzano w celu oddzielenia białka
4.	Susz z koniczyny-mączka ⁽¹⁴⁾	Produkt uzyskiwany przez suszenie i mielenie młodych roślin koniczyny <i>Trifolium ssp.</i> ; może zawierać do 20% młodych roślin lucerny lub innych roślin paszowych wysuszonych i zmielonych jednocześnie z koniczyną
5.	Susz z traw-mączka ⁽¹⁵⁾	Produkt uzyskiwany przez wysuszenie i zmielenie młodych traw paszowych
6.	Słoma zbożowa ⁽¹⁶⁾	Słoma zbóż
7.	Słoma zbożowa po obróbce ⁽¹⁷⁾	Produkt uzyskiwany w wyniku odpowiedniej obróbki słomy zbóż
VII. INNE ROŚLINY, ICH PRODUKTY I PRODUKTY UBOCZNE		
1.	Melasa z trzciny cukrowej	Produkt uboczny składający się z resztek syropu zebranego podczas produkcji lub rafinacji cukru z trzciny cukrowej <i>Saccharum officinarum</i> L.
2.	Wywar melasowy z trzciny cukrowej	Produkt uboczny fermentacji melasy z trzciny cukrowej przy produkcji alkoholu, drożdży, kwasu cytrynowego i innych substancji organicznych
3.	Cukier z trzciny cukrowej ⁽¹⁸⁾	Cukier ekstrahowany z trzciny cukrowej
4.	Mączka z wodorostów morskich	Produkt uzyskiwany przez suszenie i kruszenie morskich wodorostów, zwłaszcza morskizynu; produkt może być płukany w celu obniżenia zawartości jodu
VIII. PRODUKTY MLECZNE		
1.	Mleko w proszku odtłuszczone	Produkt uzyskiwany przez suszenie mleka po prawie całkowitym odtłuszczeniu
2.	Maślanka w proszku	Produkt uzyskiwany przez suszenie cieczy pozostałej po produkcji masła
3.	Serwatka w proszku	Produkt uzyskiwany przez suszenie cieczy pozostałej po produkcji sera, twarogu i kazeiny lub w innych podobnych procesach
4.	Serwatka w proszku o niskiej zawartości cukru	Produkt uzyskiwany przez suszenie serwatki, z której usunięto częściowo laktozę
5.	Białko serwatki w proszku ⁽¹⁹⁾	Produkt uzyskiwany przez suszenie związków białkowych wytrąconych z serwatki lub mleka
6.	Kazeina w proszku	Produkt uzyskiwany z odtłuszczonego mleka lub maślanki przez suszenie kazeiny wytrąconej przy użyciu kwasów lub podpuszczki

7.	Laktoza w proszku	Cukier oddzielony z mleka lub serwatki przez czyszczenie i suszenie
IX. PRODUKTY ZWIERZĘCE ZE ZWIERZĄT LĄDOWYCH		
1.	Mączka mięsna ⁽²⁰⁾	Produkt otrzymywany przez ogrzewanie, suszenie i mielenie całości lub części zwierząt ciepłokrwistych, z których tłuszcz został częściowo wytopiony lub usunięty; produkt zasadniczo wolny od kopyt, rogów, sierści, włosów i piór, jak też treści z przewodu pokarmowego o minimalnej zawartości białka surowego - 50% suchej masy; maksymalna zawartość fosforu całkowitego - 8%
2.	Mączka mięsno-kostna ⁽²²⁾	Produkt otrzymywany przez ogrzewanie, suszenie i mielenie całości lub części zwierząt ciepłokrwistych, z których tłuszcz został częściowo wytopiony lub usunięty; produkt zasadniczo wolny od kopyt, rogów, sierści, włosów i piór, jak też treści przewodu pokarmowego
3.	Mączka kostna	Produkt otrzymywany przez ogrzewanie, suszenie i mielenie kości zwierząt ciepłokrwistych, z których tłuszcz został częściowo wytopiony lub usunięty; produkt zasadniczo wolny od kopyt, rogów, sierści, włosów i piór, jak też treści przewodu pokarmowego
4.	Skwarki	Produkt otrzymywany przy produkcji łoju wołowego, smalcu i innych wytopionych lub wyciskanych tłuszczów pochodzenia zwierzęcego
5.	Mączka drobiowa ⁽²²⁾	Produkt uzyskiwany przez ogrzewanie, suszenie i mielenie produktów ubocznych uboju drobiu; produkt zasadniczo wolny od piór
6.	Mączka z piór hydrolizowana	Produkt uzyskiwany przez poddanie hydrolizie piór drobiowych, ich suszenie i mielenie
7.	Suszona krew	Produkt uzyskiwany przez suszenie krwi z uboju zwierząt ciepłokrwistych; produkt nie może zawierać ciał obcych
8.	Tłuszcz zwierzęcy ⁽²¹⁾	Produkt składający się z tłuszczu zwierząt ciepłokrwistych
X. RYBY, INNE ORGANIZMY MORSKIE, ICH PRODUKTY I PRODUKTY UBOCZNE		
1.	Mączka rybna ⁽²²⁾	Produkt uzyskiwany z przetwórstwa ryb lub ich części, z którego usunięto część oleju, do którego mogą być dodane części rozpuszczalne
2.	Koncentrat z rozpuszczalnych części ryb	Produkt otrzymywany przy produkcji mączki rybnej, który został oddzielony i stabilizowany przez zakwaszenie lub wysuszenie
3.	Olej rybny	Olej uzyskiwany z ryb lub ich części
4.	Rafinowany i utwardzony olej rybny	Olej uzyskiwany z ryb lub ich części, rafinowany i poddany uwodornieniu
XI. SUBSTANCJE MINERALNE		
1.	Węglan wapnia ⁽²³⁾	Produkt uzyskiwany przez mielenie materiałów będących źródłem węglanu wapnia, takich jak wapień, muszle ostryg lub małży, jak też przez wytrącanie z kwaśnego roztworu
2.	Węglan wapniowo-magnezowy	Naturalna mieszanina węglanu wapnia i węglanu magnezu

3.	Kwaśny węglan wapnia z alg morskich (Maerl)	Produkt naturalny uzyskiwany z wapiennych alg, mielonych lub granulowanych
4.	Tlenek magnezu	Technicznie czysty tlenek magnezu (MgO)
5.	Siarczan magnezu	Technicznie czysty siarczan magnezu (MgSO ₄ ·7H ₂ O)
6.	Fosforan dwuwapniowy ⁽²⁴⁾	Wodorofosforan wapnia wytrącony z kości lub źródeł nieorganicznych (CaHPO ₄ ·xH ₂ O)
7.	Fosforan jedno-, dwuwapniowy	Produkt uzyskiwany chemicznie, składający się z równych części fosforanu dwuwapniowego i jednowapniowego (CaHPO ₄ – Ca(H ₂ PO ₄) ₂ ·H ₂ O)
8.	Fosforan odfluorowany	Produkt uzyskiwany przez mielenie oczyszczonych i odfluorowanych fosforanów naturalnych
9.	Odżelowana mączka kostna	Odżelowane, sterylizowane i zmielone kości, z których usunięto tłuszcz
10.	Fosforan jednowapniowy	Technicznie czysty dwuwodorofosforan wapnia (Ca(H ₂ PO ₄) ₂ ·xH ₂ O)
11.	Fosforan wapniowo-magnezowy	Technicznie czysty fosforan wapniowo-magnezowy
12.	Fosforan jednoamonowy	Technicznie czysty fosforan jednoamonowy (NH ₄ H ₂ PO ₄)
13.	Chlorek sodu ⁽²³⁾	Technicznie czysty chlorek sodu (NaCl) lub produkt uzyskany przez mielenie naturalnych źródeł chlorku sodu, takich jak sól kamienna lub morska
14.	Propionian magnezu	Technicznie czysty propionian magnezu
15.	Fosforan magnezu	Produkt składający się z technicznie czystego fosforanu magnezowego dwuzasadowego (MgHPO ₄ ·xH ₂ O)
16.	Fosforan sodowo-wapniowo-magnezowy	Produkt składający się z fosforanu sodowo-wapniowo-magnezowego
17.	Fosforan jednosodowy	Technicznie czysty fosforan jednosodowy (NaH ₂ PO ₄ ·H ₂ O)
18.	Wodorowęglan sodu	Technicznie czysty wodorowęglan sodu (NaHCO ₃)
XII. RÓŻNE		
1.	Produkty przemysłu piekarniczego i zakładów wytwarzających makarony oraz ich produkty uboczne ⁽²⁵⁾	Produkt lub produkt uboczny wypieku chleba, łącznie z pokruszonymi produktami piekarniczymi, herbatnikami lub makaronem

2.	Produkty przemysłu cukierniczego i produkty uboczne ⁽²⁵⁾	Produkt lub produkt uboczny produkcji słodczy i cukierków, w tym czekolady
3.	Wyroby i produkty uboczne uzyskiwane w cukierniach przy produkcji ciast i lodów ⁽²⁵⁾	Produkt lub produkt uboczny uzyskiwany podczas produkcji ciast cukierniczych, ciastek lub lodów
4.	Kwasy tłuszczowe	Produkt uboczny uzyskiwany podczas traktowania ługiem lub przez destylację olejów nieokreślonego pochodzenia roślinnego lub zwierzęcego
5.	Sole kwasów tłuszczowych ⁽²⁶⁾	Produkt uzyskiwany przez zmydlanie kwasów tłuszczowych wodorotlenkiem wapnia, sodu lub potasu

Objaśnienia:

- (1) produkty zawierające ponad 40 % skrobi mogą być określone jako „bogate w skrobię”;
- (2) w przypadku gdy materiał paszowy został poddany procesowi mielenia do nazwy można dodać wyraz "drobne";
- (3) nazwę można zastąpić wyrazami "gluten kukurydziany paszowy";
- (4) nazwę można zastąpić wyrazami " skrobia kukurydziana ekstrudowana ";
- (5) nazwę można uzupełnić o nazwę gatunków ziarna;
- (6) nazwę można zastąpić wyrazami „suche ziarno i substancje rozpuszczalne z gorzelnii” lub uzupełnić o nazwę gatunków ziarna;
- (7) w uzasadnionym przypadku można dodać wyrazy "o niskiej zawartości glukozyolanów";
- (8) nazwę należy uzupełnić przez dodanie nazwy rośliny;
- (9) nazwę należy uzupełnić wskazaniem metody obróbki cieplnej;
- (10) nazwa materiału paszowego może być zastąpiona wyrazem "sacharoza";
- (11) nazwę można zastąpić wyrazem "tapioka";
- (12) nazwę można zastąpić wyrazami "skrobia z tapioki";
- (13) nazwę należy uzupełnić o nazwę gatunku owoców;
- (14) wyraz "mączka" można zastąpić wyrazem "granulat" lub określić sposób suszenia;
- (15) do nazwy można dodać nazwę rośliny paszowej;
- (16) w nazwie należy wskazać nazwę gatunku zboża;
- (17) nazwę należy uzupełnić wskazaniem rodzaju obróbki chemicznej, której poddano słomę;
- (18) nazwa materiału paszowego może być zastąpiona wyrazem "sacharoza";
- (19) nazwę można zastąpić wyrazami "albumina mleka w proszku";
- (20) produkty zawierające ponad 13% tłuszczu w suchej masie należy kwalifikować jako "bogate w tłuszcz";
- (21) nazwę należy uzupełnić szczegółowym opisem rodzaju tłuszczu zwierzęcego w zależności od jego pochodzenia lub procesu technologicznego (np. łój wołowy, smalec, tłuszcz kostny);
- (22) produkty zawierające ponad 75% białka surowego w suchej masie należy kwalifikować jako "bogate w białko";
- (23) rodzaj źródła węgla wapnia albo chlorku sodu może być wskazany dodatkowo lub zamiast nazwy;
- (24) w nazwie może być zawarte określenie technologii produkcji;
- (25) nazwę można zmienić lub uzupełnić w celu określenia procesu w przetwórstwie spożywczym, w wyniku którego uzyskano materiał paszowy;
- (26) nazwę należy uzupełnić określeniem rodzaju soli, jaka została uzyskana.

Rodzaje procesów technologicznych stosowanych do wytwarzania materiałów paszowych

L.p.	Nazwa procesu technologicznego	Opis procesu technologicznego	Nazwa zwyczajowa produktu uzyskanego w wyniku zastosowania procesu technologicznego
1	2	3	4
1.	Zagęszczanie	Zwiększenie zawartości niektórych składników przez suszenie lub zastosowanie innych procesów technologicznych	Koncentrat
2.	Łuszczenie ⁽¹⁾	Całkowite lub częściowe usuwanie zewnętrznych powłok z ziarna, nasion, owoców, orzechów i innych	Łuszczony, częściowo obłuszczony
3.	Suszenie	Usuwanie wody metodami sztucznymi lub naturalnymi	Wysuszony (na słońcu lub sztucznie)
4.	Ekstrakcja	Usuwanie tłuszczu lub oleju z określonego materiału za pomocą rozpuszczalnika organicznego lub za pomocą wodnego rozpuszczalnika cukru i innych składników rozpuszczalnych w wodzie. W przypadku stosowania rozpuszczalnika organicznego, uzyskany produkt powinien być technicznie oczyszczony z danego rozpuszczalnika	Ekstrahowany, poekstrakcyjny (w przypadku materiałów tłuszczowych); melasa, pulpa (w przypadku produktów zawierających cukier lub inne składniki rozpuszczalne w wodzie)
5.	Ekstruzja	Przeciskanie materiału przez otwór pod ciśnieniem (również wstępne żelowanie)	Ekstradowany
6.	Płatkowanie	Walcowanie wilgotnego materiału poddanego obróbce cieplnej	Płatki
7.	Mielenie	Fizyczne przetwarzanie ziarna zbóż w celu zmniejszenia wielkości cząsteczek i ułatwienia rozdzielenia na frakcje (głównie mąkę, otręby i śrutę)	Mąka, otręby, śruta, mąka paszowa
8.	Ogrzewanie	Ogólne określenie obejmujące szereg procesów obróbki cieplnej, prowadzonej w określonych warunkach, w celu oddziaływania na wartość żywieniową lub strukturę materiału	Toastowany, gotowany, ogrzewany
9.	Uwodornienie	Przekształcanie glicerydów nienasyconych w glicerydy nasycone (olejów i tłuszczu)	Utwardzony, częściowo utwardzony
10.	Hydroliza	Rozbicie składników chemicznych na prostsze przez działanie wodą, enzymami lub kwasami/ zasadami	Hydrolizowany

11.	Wyciskanie	Usuwanie poprzez wyciskanie (za pomocą prasy śrubowej lub innej), z jednoczesnym niewielkim podgrzaniem lub bez, tłuszczu/ oleju z materiałów zawierających duże ilości oleju, soku z owoców lub innych produktów roślinnych	Wyłok (w przypadku materiałów zawierających olej); pulpa, miazga (w przypadku owoców itp.); wyciskana pulpa (w przypadku buraków cukrowych)
12.	Granulowanie	Specjalne kształtowanie materiału w wyniku ściskania przez matrycę	Granulat, granulowany
13.	Wstępne żelowanie	Modyfikacja skrobi w celu znacznego poprawienia jej właściwości pęcznienia w zimnej wodzie	Żelowany, preparowany
14.	Rafinacja	Pełne lub częściowe usuwanie zanieczyszczeń w cukrach, olejach, tłuszczach i innych naturalnych materiałach w drodze obróbki fizykochemicznej	Rafinowany, częściowo rafinowany
15.	Mielenie na mokro	Mechaniczne rozdzielanie elementów składowych ziarna, przez zanurzenie w wodzie z dodatkiem dwutlenku siarki lub bez, w celu ekstrakcji skrobi	Kiełki, gluten, skrobia
16.	Rozgniatanie	Mechaniczne przetwarzanie ziarna lub innych materiałów paszowych w celu zmniejszenia ich wymiarów	Rozdrobniony, rozdrabnianie
17.	Odcukrzanie	Całkowite lub częściowe usuwanie jedno- i dwusacharydów z melasy i innego materiału zawierającego cukier metodami chemicznymi lub fizycznymi	Odcukrzony, częściowo odcukrzony

⁽¹⁾ Wyraz "łuszczenie" można zastąpić wyrazem "wyłuskiwanie" albo "obłuskiwanie" i wówczas do nazwy uzyskanego produktu dodaje się wyraz "wyłuskany" lub "obłuskany".

UZASADNIENIE

Projekt rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi w sprawie materiałów paszowych wprowadzanych do obrotu stanowi wykonanie upoważnienia zawartego w art. 25 ust. 2 ustawy z dnia ...2006 r. o paszach (Dz. U. Nr , poz....) Niniejszy projekt rozporządzenia był poprzedzony rozporządzeniem Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 19 stycznia 2005 r. w sprawie materiałów paszowych wprowadzanych do obrotu (Dz. U. Nr 16, poz. 137). Do czasu wejścia w życie projektowanego rozporządzenia obowiązywać będą zachowane czasowo w mocy, przepisy wyżej powołanego rozporządzenia z dnia 19 stycznia 2005 r.

Projekt rozporządzenia zawiera wykaz materiałów paszowych, które mogą być wprowadzone do obrotu wyłącznie pod nazwą określoną w niniejszym rozporządzeniu i opis tych materiałów oraz rodzaje procesów technologicznych stosowanych do wytwarzania tych materiałów paszowych.

Przedmiotowy projekt rozporządzenia wdraża przepisy dyrektywy 96/25/WE z dnia 29 kwietnia 1996 r. w sprawie obrotu materiałami paszowymi, zmieniającej dyrektywy 70/524/EWG, 74/63/EWG, 82/471/EWG i 93/74/EWG oraz uchylającej dyrektywę 77/101/ EWG dotyczącą wprowadzenia do obrotu materiałów paszowych (Dz. Urz. WE L 261, z 23.05.1996; Dz. Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3 , t. 19, str. 96, z późn. zm.)

Rozporządzenie nie podlega notyfikacji w rozumieniu przepisów rozporządzenia Rady Ministrów z dnia 23 grudnia 2002 r. w sprawie sposobu funkcjonowania krajowego systemu notyfikacji norm i aktów prawnych (Dz. U. Nr 239, poz. 2039 oraz z 2004 r. Nr 65, poz. 597).

OCENA SKUTKÓW REGULACJI

1. Podmioty, na które oddziałuje akt normatywny

Rozporządzenie zostało opracowane w celu umożliwienia producentom i importerom pasz dostosowanie się do regulacji prawnych obowiązujących we Wspólnocie. Regulacje zawarte w rozporządzeniu nie będą miały wpływu na zakres obowiązków przedsiębiorców prowadzących działalność w zakresie wytwarzania pasz.

2. Wpływ aktu normatywnego na sektor finansów publicznych, w tym budżet

państwa i budżety jednostek samorządu terytorialnego

Wejście w życie w/w rozporządzenia nie wpłynie na sektor finansów publicznych, w tym budżet państwa i budżety jednostek samorządu terytorialnego.

3. Wpływ aktu normatywnego na rynek pracy

Wejście w życie rozporządzenia nie wpłynie na rynek pracy

4. Wpływ aktu normatywnego na konkurencyjność gospodarki i przedsiębiorczość, w tym na funkcjonowanie przedsiębiorstw

Wprowadzanie do obrotu materiałów paszowych pod nazwą określoną w rozporządzeniu umożliwi jednolite stosowania nazewnictwa w poszczególnych państwach Członkowskich. Materiał paszowy wprowadzany do obrotu na podstawie dyrektywy 96/25 będzie nazywany identycznie w państwach UE i będzie spełniał takie same wymagania.

5. Wpływ aktu normatywnego na rozwój regionalny

Rozporządzenie nie będzie miało wpływu na sytuację i rozwój regionów.

6. Konsultacje społeczne

W ramach prowadzonych konsultacji projekt zostanie przesłany do: Federacji Związków Producentów Rolnych, Izby Gospodarczej Handlowców, Przetwórców Zbóż i Producentów Pasz, Krajowej Izby Producentów Drobiu i Pasz, Krajowej Rady Drobiarstwa – Izby Gospodarczej, Krajowej Rady Izb Rolniczych, Krajowego Związku Rolników, Kółek i Organizacji Rolniczych, Niezależnego Samorządnego Związku Zawodowego Rolników Indywidualnych „Solidarność”, Niezależnego Samorządnego Związku Zawodowego „Solidarność”, Polskiego Związku Producentów Pasz, Związku Zawodowego Rolnictwa „Samoobrona” Związku Zawodowego Rolników Ojczyzna, Rady Gospodarki Żywnościowej, Krajowej Izby Lekarsko – Weterynaryjnej, „Polkarma” Polskiego Stowarzyszenia Producentów Karmy dla Zwierząt Domowych, Polskiego Związku Hodowców i Producentów Trzody Chlewnej „POLSUS”, Polskiej Federacji Hodowców Bydła i Producentów Mleka, Polskiego Związku Zrzeszeń Hodowców i Producentów Drobiu, Polskiego Związku Owczarskiego i Polskiego Związku Hodowców Koni.

ROZPORZĄDZENIE
MINISTRA ROLNICTWA I ROZWOJU WSI ¹⁾
z dnia2006 r.
w sprawie mieszanek paszowych dietetycznych ²⁾

Na podstawie art. 27 ust. 2 ustawy z dnia 2006 r. o paszach (Dz. U. Nr, poz....) zarządza się, co następuje:

§ 1.

Rozporządzenie określa przeznaczenie, właściwości pokarmowe, gatunki lub kategorie zwierząt, dla których przeznaczone są mieszanki paszowe dietetyczne, zwane dalej „mieszankami”, dodatkowe wymagania w zakresie oznakowania oraz zalecenia dotyczące ich stosowania.

§ 2.

Oznakowanie mieszanek zawiera informacje, o których mowa w art. 29 ust. 2 ustawy z dnia.... 2006 r. o paszach , a ponadto informacje dodatkowe określone w załączniku do rozporządzenia.

§ 3 .

Przeznaczenie, właściwości pokarmowe, gatunki lub kategorie zwierząt, dla których są one przeznaczone, dodatkowe wymagania w zakresie oznakowania oraz zlecenia dotyczące ich stosowania są określone w załączniku do rozporządzenia,

§ 4 .

Traci moc rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 24 lutego 2003 r. w sprawie w sprawie mieszanek paszowych dietetycznych (Dz. U. Nr 50, poz. 431).

§ 5.

Rozporządzenie wchodzi w życie po upływie 14 dni od dnia ogłoszenia.

MINISTER ROLNICTWA I ROZWOJU WSI

¹⁾ Minister Rolnictwa i Rozwoju Wsi kieruje działem administracji rządowej – rolnictwo, na podstawie § 1 ust. 2 pkt 1 rozporządzenia Prezesa Rady Ministrów z dnia 31 października 2005 r. w sprawie szczegółowego zakresu działania Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi (Dz. U. Nr 220, poz. 1892).

²⁾ Przepisy rozporządzenia wdrażają postanowienia:

1) dyrektywy Komisji 94/39/WE z dnia 25 lipca 1994 r. ustanawiającej wykaz planowanych zastosowań pasz zwierzęcych przeznaczonych do szczególnych potrzeb żywieniowych (Dz. Urz. WE L 207 z dnia 10.8.94, str. 20; Dz. Urz. Polskie wydanie specjalne rozdz. 3, t. 16, str. 340, z późn. zm.);

2) dyrektywy Komisji 93/74/EWG w sprawie pasz specjalnego przeznaczenia żywieniowego (Dz. Urz. L 237, z 22.9.1993 str. 23; Dz. Urz. Polskie wydanie specjalne rozdz. 3, t. 15, str. 74, z późn. zm.).

PRZEZNACZENIE, WŁAŚCIWOŚCI POKARMOWE, GATUNKI LUB KATEGORIE ZWIERZĄT, DODATKOWE WYMAGANIA W ZAKRESIE OZNAKOWANIA ORAZ ZLECENIAMI DOTYCZĄCYMI STOSOWANIA MIESZANEK PASZOWYCH DIETETYCZNYCH

Przeznaczenie	Istotne właściwości żywieniowe	Gatunek lub kategoria zwierząt	Dodatkowe wymagania dotyczące oznakowania	Zalecany czas stosowania	Pozostałe przepisy
1	2	3	4	5	6
Wspomaganie funkcji nerek w przypadku ich chronicznej niewydolności ⁽¹⁾	- Niska zawartość fosforu i ograniczona zawartość białka jednakże wysokiej jakości	Psy i koty	- Określenie źródła białka - Zawartość wapnia - Zawartość fosforu - Zawartość potasu - Zawartość sodu - Zawartość niezbędnych kwasów tłuszczowych (jeśli są dodane)	Początkowo do 6 miesięcy ⁽²⁾	Na opakowaniu, pojemniku lub w etykiecie należy zamieścić wskazówkę o treści : “Przed użyciem lub przed przedłużeniem okresu stosowania zaleca się konsultację z lekarzem weterynarii”. Wskazanie w instrukcji użycia: “Należy zapewnić w sposób ciągły dostęp do wody do picia”
Rozpuszczanie kamieni fosforanowych (struvite) ⁽³⁾	- Właściwości zakwaszania moczu, niski poziom magnezu i ograniczona zawartość białka lecz wysokiej jakości	Psy	- Określenie źródła białka - Zawartość wapnia - Zawartość sodu - Zawartość magnezu - Zawartość potasu - Zawartość chlorków - Zawartość siarki - Zawartość i rodzaj substancji zakwaszających moczu	Od 5 do 12 tygodni	Wskazanie w instrukcji użycia: “Należy zapewnić w sposób ciągły dostęp do wody do picia”. Na opakowaniu, pojemniku lub etykiecie należy zamieścić wskazówkę o treści: “Przed użyciem zaleca się konsultację z lekarzem weterynarii”

	- Właściwości zakwaszania moczu i niska zawartość magnezu	Koty	- Zawartość wapnia - Zawartość fosforu - Zawartość sodu - Zawartość magnezu - Zawartość potasu - Zawartość chlorków - Zawartość siarki - Zawartość tauryny - Rodzaj i zawartość substancji zakwaszających mocz		
Zapobieganie ponownemu tworzeniu się kamieni fosforanowych	- Właściwości zakwaszania moczu i umiarkowana zawartość magnezu	Psy i koty	- Zawartość wapnia - Zawartość fosforu - Zawartość sodu - Zawartość magnezu - Zawartość potasu - Zawartość chlorków - Zawartość siarki - Zawartość i rodzaj substancji zakwaszających mocz	Do 6 miesięcy	Na opakowaniu, pojemniku lub etykiecie należy zamieścić wskazówkę o treści: "Przed użyciem zaleca się konsultację z lekarzem weterynarii"
Zapobieganie tworzenia się kamieni moczanowych	- Niska zawartość puryn oraz niska zawartość białka jednakże wysokiej jakości	Psy i koty	- określenie źródła białka	Do 6 miesięcy, jednak w przypadku nieodwracalnych zaburzeń metabolizmu kwasu moczowego – do końca życia	Na opakowaniu, pojemniku lub etykiecie należy zamieścić wskazówkę o treści: "Przed użyciem zaleca się konsultację z lekarzem weterynarii"
Zapobieganie tworzenia się kamieni szczawianowych	- Niska zawartość wapnia, niska zawartość witaminy D oraz właściwości alkalizowania moczu	Psy i koty	- Zawartość fosforu - Zawartość wapnia - Zawartość sodu - Zawartość magnezu - Zawartość potasu - Zawartość chlorków - Zawartość siarki - Zawartość witaminy D	Do 6 miesięcy	Na opakowaniu, pojemniku lub etykiecie należy zamieścić wskazówkę o treści: "Przed użyciem zaleca się konsultację z lekarzem weterynarii"

			<ul style="list-style-type: none"> - Zawartość hydroksyproliny - Zawartość i rodzaj substancji alkalizujących mocz 		
Zapobieganie tworzenia się kamieni cystynowych	<ul style="list-style-type: none"> - Niska zawartość białka, umiarkowana zawartość aminokwasów siarkowych i właściwości alkalizowania moczu 	<i>Psy i koty</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Zawartość aminokwasów siarkowych - Zawartość sodu - Zawartość potasu - Zawartość chlorków - Zawartość siarki - Rodzaj i zawartość substancji alkalizujących mocz 	Początkowo do 1 roku	<p>Na opakowaniu, pojemniku lub etykiecie należy zamieścić wskazówkę o treści:</p> <p>“Przed użyciem lub przedłużeniem okresu stosowania zaleca się konsultację z lekarzem weterynarii”</p>
Zapobieganie nietolerancji składników pokarmowych ⁽⁴⁾	<ul style="list-style-type: none"> - Wybrane źródła białka i/albo - Wybrane źródła węglowodanów 	<i>Psy i koty</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Określenie źródła białka - Zawartość niezbędnych kwasów tłuszczowych (jeśli są dodane) - Źródło węglowodanów - zawartość niezbędnych kwasów tłuszczowych (jeżeli są dodane) 	Od 3 do 8 tygodni: w przypadku ustąpienia objawów nietolerancji niniejszą paszę można stosować przez czas nieokreślony	-
Zapobieganie ostrym zaburzeniom braku wchłaniania jelitowego	<ul style="list-style-type: none"> - Podwyższona zawartość elektrolitów i łatwo strawnych składników 	<i>Psy i koty</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Zawartość i rodzaj łatwo strawnych składników oraz właściwości wynikające ze sposobu ich obróbki - Zawartość sodu. - Zawartość potasu - Zawartość i rodzaj substancji osłaniających (jeżeli są dodane) 	Od 1 do 2 tygodni	<p>Na opakowaniu, pojemniku lub etykiecie należy zamieścić wskazówki o następującej treści:</p> <p>„Przeznaczone do stosowania w przebiegu ostrej biegunki oraz w okresie rekonwalescencji”.</p> <p>“Przed użyciem zaleca się konsultację z lekarzem weterynarii”</p>

Złagodzenie stanów braku trawienia	- Łatwo strawne składniki pokarmowe oraz niska zawartość tłuszczu	Psy i koty	- Zawartość i rodzaj łatwo strawnych składników paszy wraz ze sposobem ich obróbki	Od 3 do 12 tygodni, lecz w przypadku chronicznego zapalenia trzustki okres ten jest niewystarczający	Na opakowaniu, pojemniku lub etykiecie należy zamieścić wskazówkę o treści: "Przed użyciem zaleca się konsultację z lekarzem weterynarii"
Wspomaganie akcji serca w przypadku chronicznej niewydolności mięśnia sercowego.	- Niska zawartość sodu i zwiększona proporcja K/Na	Psy i koty	- Zawartość sodu - Zawartość potasu - Zawartość magnezu	Początkowo do 6 miesięcy	Na opakowaniu, pojemniku lub etykiecie należy zamieścić wskazówkę o treści: "Przed użyciem lub przed przedłużeniem okresu stosowania zaleca się konsultację z lekarzem weterynarii"
Regulacja zaopatrywania w glukozę (<i>Diabetes mellitus</i>)	- Niska zawartość węglowodanów stanowiących źródło do szybkiego uwalniania glukozy	Psy i koty	- Źródło węglowodanów - Właściwości węglowodanów wynikające ze sposobu ich obróbki - Zawartość skrobi - Zawartość cukrów - Zawartość fruktozy (jeżeli jest dodana). - Zawartość niezbędnych kwasów tłuszczowych. - Źródła, zawartość i rodzaj kwasów tłuszczowych o krótkiej i średniej długości łańcucha węglowego (jeżeli są dodane)	Początkowo do 6 miesięcy	Na opakowaniu, pojemniku lub etykiecie należy zamieścić wskazówkę o treści: "Przed użyciem lub przed przedłużeniem okresu stosowania zaleca się konsultację z lekarzem weterynarii"
Wspomaganie czynności wątroby w wypadku jej chronicznej niewydolności	- umiarkowana zawartość wysokiej jakości białek,	Psy	- źródło i zawartość białka, - zawartość niezbędnych kwasów tłuszczowych, - rodzaj i zawartość łatwo strawnych węglowodanów wraz	Początkowo do 6 miesięcy	Na opakowaniu, pojemniku lub etykiecie należy zamieścić wskazówkę o treści: "Przed użyciem lub przedłużeniem okresu stosowania zaleca się konsultację z lekarzem weterynarii".

	<ul style="list-style-type: none"> - niska zawartość tłuszczu, - wysoka zawartość niezbędnych kwasów tłuszczowych, - wysoka zawartość łatwo strawnych węglowodanów, - umiarkowana zawartość białek wysokiej jakości - umiarkowana zawartość tłuszczu - wysoka zawartość niezbędnych kwasów tłuszczowych 	Koty	<ul style="list-style-type: none"> ze sposobem obróbki, jeśli stosowne - zawartość sodu, - zawartość miedzi ogółem - źródło i zawartość białka - zawartość niezbędnych kwasów tłuszczowych - zawartość sodu - zawartość miedzi ogółem 	Początkowo do 6 miesięcy	<p>Wskazanie w instrukcji użycia: “Należy zapewnić w sposób ciągły wodę do picia”</p> <p>Na opakowaniu, pojemniku lub etykiecie należy zamieścić wskazówkę o treści: “Przed użyciem lub przedłużeniem okresu stosowania zaleca się konsultację z lekarzem weterynarii”. Wskazanie w instrukcji użycia: “Należy zapewnić w sposób ciągły wodę do picia”</p>
Wspomaganie przemiany tłuszczów w przypadku nadmiernej zawartości tłuszczów	- Niska zawartość tłuszczu i wysoka zawartość niezbędnych kwasów tłuszczowych	Psy i koty	<ul style="list-style-type: none"> - zawartość niezbędnych kwasów tłuszczowych - zawartość kwasów tłuszczowych n-3 (jeśli są dodane) 	Początkowo do 2 miesięcy	Na opakowaniu, pojemniku lub etykiecie należy zamieścić wskazówkę o treści: “Przed użyciem lub przed przedłużeniem okresu stosowania zaleca się konsultację z lekarzem weterynarii”
Zmniejszanie poziomu miedzi w wątrobie	- Niska zawartość miedzi	Psy	- zawartość miedzi ogółem	Początkowo do 6 miesięcy	Na opakowaniu, pojemniku lub etykiecie należy zamieścić wskazówkę o treści: “Przed użyciem lub przedłużeniem okresu stosowania zaleca się konsultację z lekarzem weterynarii”
Redukcja nadmiernej masy ciała	- Niska wartość energetyczna	Psy i koty	- Wartość energetyczna (obliczona metodami obowiązującymi w UE)	Do momentu znaczącego spadku masy ciała	W instrukcji stosowania należy określić rekomendowaną ilość w dziennej dawce
Dieta wyrównawcza w okresie rekonwalescencji (6)	- wysoka wartość energetyczna, wysoka koncentracja niezbędnych i łatwo strawnych składników pokarmowych	Psy i koty	- Rodzaj i zawartość składników łatwo strawnych wraz z metodami ich obróbki jeżeli jest to konieczne.	Do momentu osiągnięcia określonego celu.	W przypadku pasz specjalnego przeznaczenia które wymagają podania w formie wlewu przez sondę na opakowaniu, pojemniku lub etykiecie należy zamieścić wskazówkę o treści „Podawać pod nadzorem lekarza

			<ul style="list-style-type: none"> - Wartość energetyczna paszy (obliczona metodami obowiązującymi w UE). - Zawartość kwasów tłuszczowych n-3 i n-6 (jeżeli są dodane) 		weterynarii”
Wspomaganie funkcji skóry w wypadku dermatozy i wypadania sierści	- Wysoka zawartość niezbędnych kwasów tłuszczowych	Psy i koty	- zawartość niezbędnych kwasów tłuszczowych	Do 2 miesięcy	Na opakowaniu, pojemniku lub etykiecie należy zamieścić wskazówkę o treści: “Przed użyciem zaleca się konsultację z lekarzem weterynarii”
Zmniejszenie ryzyka wystąpienia gorączki wywołanej zastojem mleka w okresie zasuszenia	<ul style="list-style-type: none"> - Niska zawartość wapnia i/lub: - Niski stosunek kationy/aniony 	Krowy mleczne	<ul style="list-style-type: none"> - Zawartość wapnia - Zawartość fosforu - Zawartość magnezu - Zawartość wapnia - Zawartość fosforu - Zawartość sodu - Zawartość potasu - Zawartość chlorków - Zawartość siarki 	Od 1 do 4 tygodni przed ocieleniem	Wskazanie w instrukcji użycia “Zaprzestać podawania po ocieleniu”
Zmniejszenie niebezpieczeństwa wystąpienia ketozy ⁽⁷⁾ ⁽⁸⁾	- Składniki stanowiące źródło energii	Krowy mleczne i owce	<ul style="list-style-type: none"> - Rodzaj i zawartość składników dostarczających źródeł energii wytwarzających glukozę - Zawartość propano-1,2-diolu (jeśli dodany jako prekursor glukozy) - Zawartość glicerolu (jeśli jest dodany jako prekursor glukozy) 	<p>Od 3 do 6 tygodni po wycieleniu ⁽⁹⁾</p> <p>Ostatnie 6 tygodni przed i pierwsze 3 tygodnie po wykoceniu ⁽¹⁰⁾</p>	

Zmniejszenie niebezpieczeństwa wystąpienia tężyczki (hypomagnezemia – niedobór magnezu we krwi)	- Wysoka zawartość magnezu i łatwo przyswajalnych węglowodanów, umiarkowana zawartość białka oraz niska zawartość potasu	Przeżuwacze	- Skrobia - Cukry ogółem - magnez - sól - potas	Od 3 do 10 tygodni w okresie szybkiego wzrostu traw	W instrukcji użycia należy podać wskazówki dotyczące równoważenia racji dziennych z uwzględnieniem włókna i łatwo przyswajalnych źródeł energii. W przypadku pasz dla owiec wskazać na opakowaniu, pojemniku lub etykiecie: “Szczególnie wskazane dla owiec karmiących”
Zmniejszenie niebezpieczeństwa wystąpienia kwasicy	- Zmniejszona zawartość łatwo fermentujących węglowodanów i wysoka zdolność buforowania	Przeżuwacze	- Skrobia - Cukry ogółem	Maksymalnie przez okres 2 miesięcy ⁽¹⁾	W instrukcji użycia należy podać wskazówki dotyczące równoważenia racji dziennych z uwzględnieniem włókna i źródeł łatwo fermentujących węglowodanów. W przypadku pasz dla krów mlecznych wskazać na opakowaniu, pojemniku lub etykiecie: “Szczególnie zalecane dla krów wysokowydajnych”. W przypadku pasz dla bydła opasowego na opakowaniu, pojemniku lub etykiecie wskazać: “Szczególnie wskazane przy tuczu intensywnym.....” ⁽¹²⁾
Stabilizacja równowagi wodno-elektrolitowej	- Głównie elektrolity i łatwo przyswajalne węglowodany	Cielęta Prosięta Jagnięta Kozłęta Żrebięta	- Źródło węglowodanów - Zawartość sodu - Zawartość potasu - Zawartość chlorków	Od 1 do 7 dni (od 1 do 3 dni jeżeli jest to jedyny sposób żywienia)	Wskazanie na opakowaniu, pojemniku lub etykiecie: - „W wypadku zagrożenia, w trakcie lub po przebytych zaburzeniach trawiennych (biegunka)”. - „Przed użyciem zaleca się konsultację z lekarzem weterynarii”
Zmniejszenie niebezpieczeństwa tworzenia się kamieni moczowych	- Niska zawartość fosforu, magnezu oraz właściwości zakwaszania moczu	Przeżuwacze	- Zawartość wapnia - Zawartość fosforu - Zawartość sodu - Zawartość magnezu - Zawartość potasu - Zawartość chlorków - Zawartość siarki - Rodzaj i zawartość	Do 6 tygodni	Wskazanie na opakowaniu, pojemniku lub etykiecie: “Przeznaczone szczególnie podczas intensywnego żywienia młodych zwierząt”. Wskazanie w instrukcji użycia: “Należy zapewnić w sposób ciągły wodę do picia”

			substancji zakwaszających mocz		
Łagodzenie reakcji stresowych	- Wysoka zawartość magnezu i/lub: - Wysoko strawne składniki	Tuczniki	- zawartość magnezu - Łatwo strawne składniki wraz z ewentualnym sposobem ich obróbki - Zawartość kwasów tłuszczowych n-3 (jeśli są dodane)	Od 1 do 7 dni	Wskazówki, w jakich sytuacjach można podawać tę karmę oraz jej właściwości żywieniowe
Stabilizacja fizjologicznych czynności trawiennych	- obniżona zdolność buforowania i wysoko strawne składniki - łatwo strawne składniki	Prosięta Tuczniki	- składniki łatwo strawne wraz z ewentualnym sposobem ich obróbki - zdolności buforujące - źródło substancji ściągających (jeśli są dodane) - źródło substancji osłaniających (jeśli są dodane) - składniki łatwo strawne wraz z ewentualnym sposobem ich obróbki - źródło substancji ściągających (jeśli są dodane) - źródło substancji osłaniających (jeśli są dodane)	Od 2 do 4 tygodni	Wskazanie na opakowaniu, pojemniku lub etykiecie: "W przypadku zagrożenia, w trakcie oraz po przebytych zaburzeniach trawiennych"
Zmniejszenie niebezpieczeństwa wystąpienia zaparc	- Składniki pobudzające perystaltykę jelit	Maciory	- Składniki pobudzające perystaltykę jelit	Od 10 do 14 dni przed oraz 10 do 14 dni po porodzie	--

Zmniejszenie niebezpieczeństwa wystąpienia stłuszczenia wątroby	Niska wartość energetyczna z wysokim procentowym udziałem energii metabolizowanej z tłuszczów charakteryzujących się wysokim udziałem wielonienasyconych kwasów tłuszczowych	Kury nioski	-Wartość energetyczna (obliczona wg metody UE) * -Procentowy udział energii metabolizowanej z tłuszczów -Zawartość wielonienasyconych kwasów tłuszczowych	Do 12 tygodni	-- * Drób - ME w MJ/kg = ilość białka surowego w (%) x 0,1551 + ilość tłuszczu surowego w (%) x 0,3431 + ilość skrobi w (%) x 0,1669 + ilość cukru ogółem w (%) (wyrażonego jako sacharoza) x 0,1301
Łagodzenie syndromu złego wchłaniania	- Niska zawartość nasyconych kwasów tłuszczowych i wysoka zawartość witamin rozpuszczalnych w tłuszczach	Drób z wyjątkiem gęsi i gołębi	-Procentowy udział nasyconych kwasów tłuszczowych w stosunku do ogólnej ilości kwasów tłuszczowych -Zawartość witaminy A -Zawartość witaminy D zawartość witaminy E -Zawartość witaminy K	W okresie pierwszych 2 tygodni po wylęgu	--
Zapobieganie chronicznym zaburzeniom trawiennym w jelicie cienkim	- Zawartość węglowodanów, białek i tłuszczów o wysokim stopniu strawności w jelicie ślepym	Koniowate ⁽¹³⁾	- źródło i zawartość wysoko strawnych węglowodanów, białek i tłuszczów, wraz z ich właściwościami wynikającymi ze sposobu ich obróbki	Początkowo do 6 miesięcy	Wskazówki dotyczące sytuacji, w jakich wskazane jest użycie tej mieszanki paszowej dietetycznej oraz sposób postępowania podczas zmniejszania jej dawki. Wskazanie na opakowaniu, pojemniku lub etykiecie: "Przed użyciem lub przed przedłużeniem okresu stosowania zaleca się konsultację z lekarzem weterynarii"

Zapobieganie zaburzeniom trawiennym jelita grubego	- Wysoka zawartość włókna	Koniowate	- Źródło włókna, - zawartość kwasów tłuszczowych n - 3 (jeśli są dodane)	Początkowo do 6 miesięcy	Wskazówki dotyczące sytuacji, w jakich można podawać tą mieszankę paszową dietetyczną i sposób skarmiania. Wskazanie na opakowaniu, pojemniku lub etykiecie: "Przed użyciem lub przed przedłużeniem okresu stosowania zaleca się konsultację z lekarzem weterynarii"
Ograniczenie reakcji na stres	- wysoko strawne składniki	Koniowate	- zawartość magnezu, - zawartość i rodzaj wysoko strawnych składników włącznie ze sposobem ich obróbki, - zawartość kwasów tłuszczowych n – 3 (o ile są dodane)	Od 2 do 4 tygodni	Wskazania muszą bardzo precyzyjnie określać sytuacje w których stosowanie tej paszy jest właściwe
Wyrównanie utraty elektrolitów w przypadku nadmiernego pocenia się	- Głównie elektrolity oraz łatwo przyswajalne węglowodany	Koniowate	- zawartość wapnia - zawartość sodu - zawartość magnezu - zawartość potasu - zawartość chlorków - zawartość glukozy	Od 1 do 3 dni	Wskazówki dotyczące sytuacji w których stosowanie tej paszy jest zalecane. Gdy pasza stanowi znaczącą ilość w dawce dziennej, wskazówka powinna dotyczyć zapobiegania wystąpieniu nagłych zmian w naturze tej paszy. Oznaczenie w instrukcji stosowania: "Należy zapewnić w sposób ciągły dostęp do wody do picia"
Dieta wyrównawcza w okresie rekonwalescencji	- Wysoka koncentracja łatwo strawnych składników pokarmowych	Koniowate	- Składniki łatwo strawne wraz ze sposobem ich obróbki - Zawartość kwasów tłuszczowych n-3 i n-6 (jeżeli są dodane)	Jeżeli takie postępowanie jest nieodzowne	Wskazania w instrukcji użycia dotyczące sytuacji w których zastosowanie tej paszy jest zalecane. W przypadku pasz specjalnego przeznaczenia do podawania przez sondę na opakowaniu, pojemniku lub etykiecie należy zamieścić następującą informację: „Podawać pod nadzorem lekarza weterynarii”
Podtrzymywanie czynności wątroby w przypadku jej chronicznej	- Niska zawartość białek lecz o wysokiej jakości oraz łatwo strawnych	Koniowate	- Źródła białka i włókna - Rodzaj i zawartość łatwo strawnych węglowodanów wraz	Początkowo do 6 miesięcy	Wskazanie w instrukcji użycia dotycząca sposobu w jaki pasza ta będzie zastosowana w wielu małych posiłkach w ciągu dnia.

niewydolności	węglowodanów		ze sposobem ich obróbki, - Zawartość metioniny, - Zawartość choliny, - Zawartość kwasów tłuszczowych n-3 (jeżeli są dodane)		Wskazanie na opakowaniu, pojemniku lub etykiecie: "Przed użyciem lub przed przedłużeniem okresu stosowania zaleca się konsultację z lekarzem weterynarii"
Podtrzymywanie czynności nerek w przypadku ich chronicznej niewydolności	- Niska zawartość białka lecz o wysokiej jakości oraz niska zawartość fosforu	Koniowate	- Źródła białka, - Zawartość wapnia, - Zawartość fosforu, - Zawartość potasu, - Zawartość magnezu, - Zawartość sodu	Początkowo do 6 miesięcy	Wskazanie na opakowaniu, pojemniku lub etykiecie: "Przed użyciem lub przed przedłużeniem okresu stosowania zaleca się konsultację z lekarzem weterynarii" W instrukcji stosowania należy zamieścić zapis o treści: "Należy zapewnić w sposób ciągły wodę do picia"

- ¹⁾ – Producent może określić również przydatność w przypadku przejściowej niewydolności nerek
- ²⁾ – Jeżeli zalecenia odnoszą się do przejściowej niewydolności nerek, wówczas okres stosowania powinien wynosić od 2 do 4 tygodni.
- ³⁾ – W przypadku mieszanek paszowych dietetycznych przeznaczonych dla kotów określenia o treści „choroby dolnych dróg moczowych kotów” lub „syndrom urologiczny kotów – F.S.U.” mogą stanowić uzupełnienie celu dietetycznego mieszanki paszowej dietetycznej.
- ⁴⁾ – W przypadku mieszanek paszowych dietetycznych zalecanych w przypadkach nietolerancji zalecenie szczególnej nietolerancji może być zastąpione przez wskazanie „składnika i środka odżywczego”.
- ⁵⁾ - Producent może uzupełnić cel dietetyczny poprzez zamieszczenie zalecenia „zewnątrz wydzielnicza niewydolność trzustki”.
- ⁶⁾ – W przypadku mieszanek paszowych dietetycznych dla kotów producent może uzupełnić cel dietetyczny o zamieszczenie zalecenia o treści”
- ⁷⁾ – Określenie „ketoza” może być zastąpione określeniem „acetonemia”.
- ⁸⁾ – Producenci mogą również zalecić stosowanie w okresie rekonwalescencji po przebyciu ketozy.
- ⁹⁾ – W przypadku stosowania w żywieniu krów mlecznych
- ¹⁰⁾ – W przypadku stosowania w żywieniu owiec
- ¹¹⁾ – W przypadku stosowania w żywieniu krów mlecznych: „maksimum dwa miesiące od początku laktacji”.
- ¹²⁾ – Określić rodzaj zwierząt przeżywających

¹³⁾ – W przypadku mieszanek paszowych przygotowywanych specjalnie dla specyficznych wymagań bardzo starych zwierząt (łatwo strawne składniki) zalecenie o treści „dla starych zwierząt” powinno być uzupełnione przez wskazanie gatunku lub grupy technologicznej zwierząt.

UZASADNIENIE

Projekt rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi w sprawie wykazu materiałów paszowych dopuszczonych do obrotu stanowi wykonanie upoważnienia zawartego w art. 27 ust. 2 ustawy z dnia2006 r. o paszach (Dz. U. Nr ..., poz.).

Aktualnie obowiązującym w tym zakresie jest rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 24 lutego 2003 r. w sprawie dietetycznych mieszanek paszowych (Dz. U. Nr 50, poz. 431), stanowiące wykonanie art. 42 ust. 2 ustawy z dnia 23 sierpnia 2001 r. o środkach żywienia zwierząt (Dz. U. z 2005 r. Nr 255, poz. 2143). Konieczność wydania projektowanego rozporządzenia wynika z uchwalenia ustawy z dnia ... 2006 r. o paszach, uchylającej ustawę z dnia 23 sierpnia 2003 r. o środkach żywienia zwierząt.

Do czasu wejścia w życie przedmiotowego rozporządzenia obowiązywać będą zachowane czasowo w mocy, przepisy powołanego na wstępie rozporządzenia z dnia 24 lutego 2003 r.

W załączniku do rozporządzenia określono cel i właściwości mieszanek dietetycznych oraz dodatkowe oznaczenie na etykietach, gatunek zwierząt u których można je stosować, okres stosowania oraz dodatkowe informacje i wskazówki dotyczące ich prawidłowego stosowania w żywieniu zwierząt u których procesy trawienia , przyswajania i metabolizmu są lub mogą być czasowo zakłócone lub uległy nieodwracalnym zmianom. Ponadto powyższa regulacja umożliwi bez przeszkód wprowadzanie tych pasz zarówno na rynku krajowym jak również w pozostałych państwach członkowskich.

Przedmiotowy projekt rozporządzenia wdraża postanowienia dyrektywy:

- dyrektywy Komisji 94/39/WE z dnia 25 lipca 1994 r. ustanawiającej wykaz planowanych zastosowań pasz zwierzęcych przeznaczonych do szczególnych potrzeb żywieniowych (Dz. Urz. WE L 207 z dnia 10.8.94, str. 20; Dz. Urz. Polskie wydanie specjalne rozdz. 3, t. 16, str. 340, z późn. zm.);
- dyrektywy Komisji 93/74/EWG w sprawie pasz specjalnego przeznaczenia żywieniowego (Dz. Urz. L 237, z 22.9.1993 str. 23; Dz. Urz. Polskie wydanie specjalne rozdz. 3, t. 15, str. 74, z późn. zm.).

Rozporządzenie nie podlega notyfikacji w rozumieniu przepisów rozporządzenia Rady Ministrów z dnia 23 grudnia 2002 r. w sprawie sposobu funkcjonowania krajowego systemu notyfikacji norm i aktów prawnych (Dz. U. Nr 239, poz. 2039 oraz z 2004 r. Nr 65, poz. 597).

OCENA SKUTKÓW REGULACJI

1. Podmioty, na które oddziałuje akt normatywny

Przedmiotowe rozporządzenie będzie oddziaływać na podmioty prowadzące działalność gospodarczą w zakresie wytwarzania lub wprowadzania do obrotu mieszanek paszowych dietetycznych określonych w załączniku do projektu niniejszego rozporządzenia.

2. Wpływ aktu normatywnego na sektor finansów publicznych, w tym budżet państwa i budżety jednostek samorządu terytorialnego

Wejście w życie rozporządzenia nie wpłynie na sektor finansów publicznych, w tym na budżet państwa i budżety jednostek samorządu terytorialnego.

3. Wpływ aktu normatywnego na rynek pracy

Wejście w życie rozporządzenia nie wpłynie na rynek pracy.

4. Wpływ aktu normatywnego na konkurencyjność gospodarki i przedsiębiorczość, w tym na funkcjonowanie przedsiębiorstw.

Wprowadzenie w życie przepisów rozporządzenia spowoduje, że przedmiotem obrotu będą pasze, które ze względu na skład fizykochemiczny lub sposób przygotowania będą dostosowane do potrzeb zwierząt, u których procesy trawienia, przyswajania i metabolizmu są lub mogą być tymczasowo zakłócone albo uległy nieodwracalnym zmianom.

5. Wpływ aktu normatywnego na rozwój regionalny

Rozporządzenie nie będzie miało wpływu na sytuację i rozwój regionów.

6. Zakres przeprowadzonych konsultacji społecznych.

W ramach prowadzonych konsultacji projekt zostanie przesłany do: Federacji Związków Producentów Rolnych, Izby Gospodarczej Handlowców, Przetwórców Zbóż i Producentów Pasz, Krajowej Izby Producentów Drobiu i Pasz, Krajowej Rady Drobiarstwa – Izby Gospodarczej, Krajowej Rady Izb Rolniczych, Krajowego Związku

Rolników, Kółek i Organizacji Rolniczych, Niezależnego Samorządnego Związku Zawodowego Rolników Indywidualnych „Solidarność”, Niezależnego Samorządnego Związku Zawodowego „Solidarność”, Polskiego Związku Producentów Pasz, Związku Zawodowego Rolnictwa „Samoobrona” Związku Zawodowego Rolników Ojczyzna, Rady Gospodarki Żywnościowej, Krajowej Izby Lekarsko – Weterynaryjnej, „Polkarma” Polskiego Stowarzyszenia Producentów Karmy dla Zwierząt Domowych, Polskiego Związku Hodowców i Producentów Trzody Chlewnej „POLSUS”, Polskiej Federacji Hodowców Bydła i Producentów Mleka, Polskiego Związku Zrzeszeń Hodowców i Producentów Drobiu, Polskiego Związku Owczarskiego i Polskiego Związku Hodowców Koni.

ROZPORZĄDZENIE
MINISTRA ROLNICTWA I ROZWOJU WSI¹⁾

z dnia 2006 r.

w sprawie oznakowania pasz²⁾

Na podstawie art. 29 ust. 8 pkt 1 ustawy z dnia 2006 r. o paszach (Dz. U. Nr ..., poz. ...) zarządza się, co następuje:

§ 1. Rozporządzenie określa szczegółowe wymagania dotyczące oznakowania pasz wprowadzanych do obrotu, w tym zakres informacji umieszczanych na ich opakowaniu lub etykiecie dołączonej do opakowania albo dołączonych do dokumentów przewozowych, zwanych dalej "informacjami obowiązkowymi".

§ 2. Informacje obowiązkowe wyraźnie oddziela się od innych informacji, które mogą być umieszczane na opakowaniu pasz lub etykiecie dołączonej do tego opakowania.

§ 3. 1. Informacje obowiązkowe o materiałach paszowych wprowadzanych do obrotu zawierają:

- 1) określenie o treści „materiał paszowy”;
- 2) nazwę materiału paszowego:
 - a) zgodną z nazwą określoną w rozporządzeniu Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia2006 r. w sprawie materiałów paszowych wprowadzanych do obrotu (Dz.U. Nr, poz.),
 - b) niewprowadzającą nabywcy w błąd co do tożsamości materiału paszowego - w przypadku materiałów paszowych innych niż określone w rozporządzeniu, o którym mowa w lit. a;
- 3) masę netto, a w przypadku materiałów paszowych płynnych - objętość lub masę netto;

4) deklarację o zawartości składników pokarmowych w materiale paszowym, w zależności od rodzaju tego materiału, zawierającą informacje określone w załączniku nr 1 do rozporządzenia;

5) imię, nazwisko, miejsce zamieszkania i adres albo nazwę, siedzibę i adres wytwórcy materiału paszowego, a w przypadku:

a) białka uzyskiwanego z mikroorganizmów należących do grupy bakterii, drożdży, glonów i grzybów,

b) niebiałkowych związków azotowych

- również imię, nazwisko, miejsce zamieszkania i adres albo nazwę, siedzibę i adres podmiotu wprowadzającego te materiały paszowe do obrotu, jeżeli nie jest on wytwórcą tego materiału;

6) numer zatwierdzenia na wytwarzanie materiałów paszowych, w przypadku materiałów paszowych, o których mowa w pkt 5;

7) numer serii;

8) w przypadku materiałów paszowych pochodzących z tkanek zwierząt:

a) imię, nazwisko, miejsce zamieszkania i adres albo nazwę, siedzibę i adres wytwórcy materiału paszowego,

b) imię, nazwisko, miejsce zamieszkania i adres albo nazwę i miejsce prowadzenia działalności gospodarczej podmiotu odpowiedzialnego za informacje obowiązkowe, jeżeli nie jest on wytwórcą tego materiału;

c) numer zatwierdzenia na wytwarzanie materiałów paszowych;

9) zawartość wody wyrażoną w stosunku do masy materiału paszowego, w przypadku zawartości wody w materiale paszowym większej niż 14 %, oraz oznaczenie okresu trwałości tego materiału paszowego;

10) zawartość zanieczyszczeń mineralnych nierozpuszczalnych w kwasie chlorowodorowym wyrażoną jako popiół nierozpuszczalny w kwasie chlorowodorowym, w przypadku zawartości tego popiołu większej niż 2,2 % w suchej masie materiału paszowego.

2. W przypadku materiałów paszowych, o których mowa w ust. 1 pkt 5, zakres informacji obowiązkowych, w zależności od rodzaju materiału paszowego, jest określony w załączniku nr 2 do rozporządzenia.

3. W przypadku materiałów paszowych poddanych działaniu dodatków paszowych należących do grupy spoiwa, czynników antyzbrylających i koagulujących, informacje

obowiązkowe o materiałach paszowych, poza informacjami określonymi w ust. 1, zawierają:

1) rodzaj i ilość zastosowanego dodatku paszowego - w przypadku czynników koagulujących;

2) rodzaj użytego dodatku paszowego należącego do grupy sioła.

4. W przypadku materiałów paszowych pochodzenia zwierzęcego, innych niż siara, mleko, jaja oraz produkty jajeczne i produkty mleczne lub żelatyna pochodząca od zwierząt innych niż przeżuwacze, oznakowanie materiałów paszowych, oprócz informacji, o których mowa w ust. 1, zawiera napis o treści "Ten materiał paszowy zawiera białko uzyskane z tkanek zwierząt, którego stosowanie w żywieniu przeżuwaczy jest zabronione".

§ 4. 1. W przypadku gdy dana partia materiału paszowego znajdująca się w obrocie jest dzielona na mniejsze partie, to informacje, o których mowa w § 3, odnoszące się do partii początkowej, umieszcza się na oznakowaniu każdej partii powstałej w wyniku tego podziału.

2. W przypadku gdy podmiot dokona zmiany składu materiału paszowego znajdującego się w obrocie, wprowadza on odpowiednią korektę w oznakowaniu tego materiału paszowego.

§ 5. Informacje obowiązkowe o materiałach paszowych, o których mowa w § 3 ust. 1 pkt 2 lit. a, mogą nie zawierać informacji określonych w:

1) § 3 ust. 1 pkt 4 i 10 w przypadku gdy:

a) nabywca oświadczy na piśmie, przed zawarciem umowy, że nie wymaga tych informacji,

b) materiały paszowe pochodzenia zwierzęcego lub roślinnego, świeże lub konserwowane, poddane lub niepoddane obróbce wstępnej, w ilościach do 10 kg, przeznaczone dla zwierząt domowych, są dostarczane bezpośrednio przez zbywcę użytkownikowi końcowemu na terytorium Rzeczypospolitej Polskiej;

2) § 3 ust. 1 pkt 1, 3 i 4 oraz 7-10, w przypadku gdy materiały paszowe pochodzenia zwierzęcego lub roślinnego w stanie naturalnym, świeże lub konserwowane, poddane lub niepoddane obróbce wstępnej i niezawierające dodatków paszowych, z wyjątkiem dodatków paszowych z grupy konserwantów, są dostarczane przez rolnika

bezpośrednio rolnikowi prowadzącemu chów lub hodowlę zwierząt na terytorium Rzeczypospolitej Polskiej.

§ 6. Informacje obowiązkowe o produktach ubocznych uzyskanych z materiałów paszowych, o których mowa w § 3 ust. 1 pkt 2 lit. a, pochodzenia zwierzęcego lub roślinnego, w których zawartość wody przekracza 50 %, mogą nie zawierać informacji określonych w § 3 ust. 1 pkt 3, 4, 9 i 10.

§ 7. 1. Informacje obowiązkowe o mieszance paszowej zawierają:

- 1) wskazanie materiałów paszowych wchodzących w skład tej mieszanki;
- 2) określenie jej rodzaju przy użyciu określeń:
 - a) mieszanka paszowa pełnoporcjowa,
 - b) mieszanka paszowa pełnoporcjowa albo karma pełnoporcjowa - w przypadku mieszanki paszowej dla zwierząt domowych,
 - c) mieszanka paszowa uzupełniająca,
 - d) mieszanka paszowa uzupełniająca albo karma uzupełniająca - w przypadku mieszanki paszowej dla zwierząt domowych,
 - e) mieszanka paszowa - w przypadku mieszanki paszowej pełnoporcjowej lub uzupełniającej dla zwierząt domowych innych niż psy i koty,
 - f) mieszanka paszowa mineralna – w przypadku mieszanki uzupełniającej, w skład której wchodzi głównie składniki mineralne, zawierającej co najmniej 40% popiołu surowego,
 - g) mieszanka paszowa melasowana – w przypadku mieszanki paszowej uzupełniającej, uzyskanej z melasy i zawierającej co najmniej 14 % cukru ogólnego w przeliczeniu na sacharozę,
 - h) pełnoporcjowy preparat mlekozastępczy,
 - i) uzupełniający preparat mlekozastępczy, przeznaczony do zaspokajania potrzeb żywieniowych młodych zwierząt po okresie skarmiania siary lub stosowany jako zamiennik mleka w czasie pojenia zwierząt mlekiem, lub przeznaczony do dożywiania cieląt przeznaczonych do opasu;
- 3) określenie gatunku lub kategorii zwierząt, dla których ta mieszanka jest przeznaczona;
- 4) sposób stosowania uwzględniający jej przeznaczenie;

5) określenie zawartości wody, jeżeli zawartość wody przekracza:

- a) 5 % - w przypadku mieszanki mineralnej niezawierającej substancji organicznych,
- b) 7 % - w przypadku preparatu mlekozastępczego i innej mieszanki paszowej, która zawiera więcej niż 40 % składników uzyskanych w procesie przetwarzania mleka,
- c) 10 % - w przypadku mieszanki mineralnej zawierającej substancje organiczne,
- d) 14 % - w przypadku pozostałych mieszanek paszowych;

6) określenie zawartości zanieczyszczeń mineralnych nierozpuszczalnych w kwasie chlorowodorowym, wyrażoną jako popiół nierozpuszczalny w kwasie chlorowodorowym, w przypadku gdy zawartość tego popiołu w materiale paszowym jest większa niż 2,2 % - w przypadku mieszanki paszowej:

- a) zawierającej mineralne substancje wiążące,
- b) mineralnej,
- c) zawierającej więcej niż 50 % krajanki buraczanej lub wysłodków buraczanych,
- d) przeznaczonej dla ryb i zawierającej więcej niż 15 % mączki rybnej;

7) deklarację o zawartości składników pokarmowych w tej mieszance, w zależności od jej rodzaju oraz gatunku lub kategorii zwierząt, zawierającą informacje określone w załączniku nr 3 do rozporządzenia;

8) imię, nazwisko, miejsce zamieszkania i adres albo nazwę, siedzibę i adres wytwórcy, podmiotu dokonującego pakowania albo innego podmiotu wprowadzającego mieszankę paszową do obrotu odpowiedzialnego za informacje umieszczane na oznakowaniu;

9) masę netto, a w przypadku mieszanki paszowej płynnej - objętość lub masę netto;

10) wskazanie okresu przechowywania poprzez umieszczenie:

- a) określenia o treści "użyć przed", a następnie podanie dnia, miesiąca i roku - w przypadku mieszanki paszowej podatnej na działanie mikroorganizmów,
- b) określenia o treści "najlepsze przed", a następnie podanie miesiąca i roku - w przypadku pozostałych mieszanek paszowych,
- c) daty wskazującej najkrótszy termin trwałości - w przypadku gdy jest wymagany minimalny okres przechowywania lub upływu terminu trwałości;

11) numeru serii;

12) numeru rejestracji lub zatwierdzenia na wytwarzanie tej mieszanki.

2. W przypadku informacji o zawartości żelaza w uzupełniających preparatach mlekozastępczych dla cieląt o masie ciała poniżej 70 kg, zawartość ta powinna

wynosić minimum 30 mg w jednym kg mieszanki paszowej pełnoporcjowej o zawartości wody 12%.

3. W przypadku mieszanki paszowej zawierającej materiały paszowe pochodzenia zwierzęcego, inne niż siara, mleko, jaja oraz produkty jajeczne i produkty mleczne lub żelatyna pochodząca od zwierząt innych niż przeżuwacze, oznakowanie mieszanek paszowych, oprócz informacji, o których mowa w ust. 1, zawiera napis o treści „Ta mieszanka paszowa zawiera białko uzyskane z tkanek zwierząt, którego stosowanie w żywieniu przeżuwaczy jest zabronione”.

§ 8. 1. Informacje obowiązkowe o mieszankach paszowych, w skład których wchodzi dodatki paszowe, oprócz informacji, o których mowa w § 7, zawierają:

- 1) w przypadku stymulatorów wzrostu, kokcydiostatyków i histomonostatyków:
 - a) nazwę dodatku paszowego zgodną z treścią wpisu do rejestru dodatków paszowych prowadzonego na podstawie przepisów Unii Europejskiej, zwanego dalej „rejestrem”,
 - b) numer zatwierdzenia na prowadzenie działalności gospodarczej w zakresie wytwarzania mieszanek paszowych zawierających premiksy z udziałem stymulatorów wzrostu, kokcydiostatyków i histomonostatyków,
 - c) zawartość substancji czynnej,
 - d) określenie daty upływu okresu trwałości lub okresu przechowywania liczonego od dnia produkcji;
- 2) w przypadku przeciwutleniaczy:
 - a) w mieszankach paszowych dla zwierząt gospodarskich - nazwę dodatku paszowego zgodną z treścią wpisu do rejestru,
 - b) w mieszankach paszowych dla zwierząt domowych – określenie o treści „z przeciwutleniaczem”, a następnie nazwę dodatku paszowego zgodną z treścią wpisu do rejestru;
- 3) w przypadku barwników i pigmentów użytych w celu zabarwienia pasz lub produktów pochodzenia zwierzęcego:
 - a) w paszach dla zwierząt domowych - określenie o treści "barwnik" albo "zabarwione", a następnie nazwę dodatku paszowego zgodną z treścią wpisu do rejestru,

b) w paszach dla zwierząt gospodarskich - nazwę dodatku paszowego zgodną z treścią wpisu do rejestru;

4) w przypadku witaminy E:

a) nazwę dodatku paszowego zgodną z treścią wpisu do rejestru,

b) zawartość alfa-tokoferolu,

c) określenie daty upływu okresu trwałości lub okresu przechowywania liczonego od dnia produkcji;

5) w przypadku witaminy A lub D:

a) nazwę dodatku paszowego zgodną z treścią wpisu do rejestru,

b) zawartość substancji czynnej,

c) określenie daty upływu okresu trwałości lub okresu przechowywania liczonego od dnia produkcji;

6) w przypadku miedzi:

a) nazwę dodatku paszowego zgodną z treścią wpisu do rejestru,

b) zawartość substancji czynnej wyrażonej jako miedź (Cu);

7) w przypadku konserwantów:

a) w paszach dla zwierząt domowych – określenie o treści "konserwant" albo "konserwowane przy użyciu", a następnie nazwę dodatku paszowego zgodną z treścią wpisu do rejestru,

b) w paszach dla zwierząt gospodarskich - nazwę dodatku paszowego zgodną z treścią wpisu do rejestru;

8) w przypadku enzymów:

a) nazwy składników czynnych z podaniem ich aktywności enzymatycznej zgodne z treścią wpisu do rejestru,

b) numer identyfikacyjny nadany przez Międzynarodowy Związek Biochemii (International Union of Biochemistry),

c) jednostki aktywności wyrażane w mikromolach produktu wydzielanego na minutę przez 1 g preparatu enzymatycznego, w tym:

- jednostki aktywności na 1 g - w przypadku sypkich preparatów enzymatycznych,

- jednostki aktywności na 1 ml - w przypadku płynnych preparatów enzymatycznych,

d) numer wpisu do rejestru,

e) datę upływu okresu trwałości lub okresu przechowywania liczonego od dnia produkcji;

9) w przypadku mikroorganizmów:

a) informacje o identyfikacji szczepów mikroorganizmów, zgodnie z treścią wpisu do rejestru, w tym:

- numer ewidencyjny szczepu mikroorganizmu,
- liczbę jednostek tworzących kolonie (CFU na g),

b) numer wpisu do rejestru,

c) datę upływu okresu trwałości lub okresu przechowywania liczonego od dnia produkcji.

2. W przypadku pasz w opakowaniach o masie netto nie większej niż 10 kg, przeznaczonych dla zwierząt domowych, zawierających dodatki paszowe wpisane do rejestru i należących do grup barwników, konserwantów lub przeciwutleniaczy, informacje obowiązkowe o mieszankach paszowych mogą zawierać określenie o treści "z przeciwutleniaczem" albo "zabarwione barwnikiem" albo "z barwnikiem" oraz "konserwowane przy użyciu" albo "z konserwantem", a następnie napis o treści "dodatki UE", jeżeli jednocześnie zostaną umieszczone informacje zawierające:

- 1) numer serii wytworzonej paszy lub
- 2) nazwę zastosowanych dodatków paszowych - na prośbę nabywcy.

§ 9. 1. Informacje o dodatkach paszowych wchodzących w skład mieszanki paszowej umieszcza się obok pozostałych informacji obowiązkowych o tej mieszance.

2. Jeżeli w informacjach, o których mowa w ust. 1, podaje się ilość, to ilość ta odnosi się do zawartości dodatku paszowego wchodzącego w skład mieszanki paszowej.

3. W przypadku wprowadzenia zmian zawartości dodatków paszowych wchodzących w skład mieszanki paszowej zawartość tych dodatków nie powinna przekraczać ustalonego maksymalnego poziomu dla tej mieszanki.

4. Jeżeli data upływu okresu trwałości została określona dla poszczególnych dodatków paszowych wchodzących w skład paszy, to wskazuje się jedną datę dla wszystkich dodatków paszowych, która jest datą najwcześniejszego upływu okresu trwałości danego dodatku wchodzącego w skład paszy.

§ 10. Informacje obowiązkowe o mieszance paszowej pełnoziarnistej sporządzonej z całych ziaren zbóż mogą nie zawierać deklaracji o zawartości składników pokarmowych, o której mowa w § 7 ust. 1 pkt 7.

§ 11. W przypadku mieszanek paszowych zawierających nie więcej niż trzy materiały paszowe można nie umieszczać informacji wymienionych w § 7 ust. 1 pkt 3 i 4, jeżeli zostaną umieszczone informacje obowiązkowe o tych materiałach paszowych.

§ 12. Zakres informacji obowiązkowych o materiałach paszowych wchodzących w skład mieszanki paszowej z grup:

1) białka uzyskiwanego z mikroorganizmów należących do grupy bakterii, drożdży, glonów i grzybów,

2) niebiałkowych związków azotowych

- jest określony w załączniku nr 4 do rozporządzenia.

§ 13. 1. Materiały paszowe wchodzące w skład mieszanki paszowej dla zwierząt domowych wymienia się podając nazwę własną materiału ze wskazaniem ich zawartości lub nazwaniem ich w porządku malejącym wagowo.

2. W przypadku mieszanki paszowej dla zwierząt domowych zamiast nazwy własnej zastosowanego materiału paszowego można wskazać kategorię materiałów paszowych charakteryzujących się tym samym źródłem pochodzenia.

3. W przypadku gdy w skład mieszanki paszowej wchodzi materiały paszowe nie należące do żadnej z kategorii, o których mowa w ust. 2, umieszcza się ich nazwę, a obok podaje wagę uporządkowaną od największej do najmniejszej.

§ 14. 1. Materiały paszowe wchodzące w skład mieszanki paszowej dla zwierząt gospodarskich wymienia się podając nazwę własną materiału paszowego, a obok jego zawartość procentową uporządkowaną od największej do najmniejszej.

2. W odniesieniu do udziału procentowego materiałów paszowych wchodzących w skład mieszanki paszowej dla zwierząt gospodarskich dopuszcza się odchylenie wynoszące 15 % deklarowanej ilości.

§ 15. W przypadku materiałów paszowych i mieszanek paszowych w opakowaniach o masie netto do 10 kg, dostarczanych nabywcy końcowemu, informacje, jakie powinny być zawarte na oznakowaniu tych materiałów i mieszanek paszowych, mogą być przekazane temu nabywcy w formie pisemnej.

§ 16. Informacje, o których mowa w § 7 i 11, umieszcza się w obramowanym polu i wyraźnie oddziela od pozostałych informacji umieszczonych na opakowaniu mieszanek paszowych lub etykiecie dołączonej do tego opakowania albo dołączonych do dokumentów przewozowych.

§ 17. Informacje dotyczące okresu przechowywania, masy netto lub objętości, numeru serii i numeru zgłoszenia lub zezwolenia na wytwarzanie mieszanek paszowych mogą być umieszczone poza miejscem przeznaczonym do umieszczania informacji obowiązkowych, jeżeli zostanie podane na opakowaniu lub etykiecie dołączonej do opakowania, w którym miejscu znajdują się te informacje.

§ 18. Traci moc rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 1 lipca 2005 r. w sprawie oznakowania pasz (Dz. U. Nr 133, poz. 1123).

§ 19. Rozporządzenie wchodzi w życie po upływie 30 dni od dnia ogłoszenia.

MINISTER ROLNICTWA I ROZWOJU WSI

¹⁾ Minister Rolnictwa i Rozwoju Wsi kieruje działem administracji rządowej – rolnictwo, na podstawie § 1 ust. 2 pkt 1 rozporządzenia Prezesa Rady Ministrów z dnia 31 października 2005 r. w sprawie szczegółowego zakresu działania Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi (Dz. U. Nr 220, poz. 1892).

²⁾ Przepisy rozporządzenia wdrażają postanowienia :

1) dyrektywy 79/373/EWG z dnia 2 kwietnia 1979 r. w sprawie obrotu mieszankami paszowymi (Dz. Urz. WE L 86 z 6.4.1979, str. 30; Dz. Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz.3, t. 4, str. 50);

2) dyrektywy 82/471/EWG z dnia 30 czerwca 1982r. dotyczącej niektórych produktów stosowanych w żywieniu zwierząt (Dz. Urz. WE L 213 z 21.7.1982, str. 8; Dz. Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz.3, t. 5, str. 151);

3) dyrektywy 96/25/WE z dnia 29 kwietnia 1996 r. w sprawie obrotu materiałami paszowymi, zmieniającej dyrektywy 70/524/EWG, 74/63/EWG, 82/471/EWG i 93/74/EWG oraz uchylającej dyrektywę 77/101/ EWG (Dz. Urz. WE L 125 z 23.5.1996, str. 35; Dz. Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3 , t. 19, str. 96).

Załączniki do rozporządzenia
Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi
z dnia..... poz.

ZAŁĄCZNIK Nr 1

Deklaracja o zawartości składników pokarmowych w materiale paszowym

A. Materiały paszowe wprowadzane do obrotu pod nazwą określoną w rozporządzeniu Ministra Rolnictwa z dnia r. w sprawie materiałów paszowych wprowadzanych do obrotu (Dz. U. Nr , poz.)

Lp.	Nazwa materiału paszowego	Deklarowana zawartość składników pokarmowych
I. ZIARNO ZBÓŻ, ICH PRODUKTY I PRODUKTY UBOCZNE		
1	2	3
1	Owies	-
2	Płatki owsiane	Skrobia
3	Śruta owsiana	Włókno surowe
4	Otręby i łuski owsiane	Włókno surowe
5	Jęczmień	-
6	Śruta jęczmienna	Włókno surowe
7	Białko jęczmienne	Białko ogólne, Skrobia
8	Ryż połamany	Skrobia
9	Otręby ryżowe (brązowe)	Włókno surowe
10	Otręby ryżowe (białe)	Włókno surowe
11	Otręby ryżowe z węglanem wapnia	Włókno surowe, Węglan wapnia
12	Mączka paszowa z ryżu parzonego	Włókno surowe, Węglan wapnia
13	Śruta ryżu pastewnego	Skrobia
14	Makuch z zarodków ryżowych	Włókno surowe, Białko ogólne, Tłuszcz surowy
15	Poekstrakcyjne zarodki ryżowe	Białko ogólne
16	Skrobia ryżowa	Skrobia
17	Proso	-
18	Żyto	-
19	Śruta żytnia	Skrobia
20	Mąka żytnia paszowa	Skrobia
21	Otręby żytnie	Włókno surowe
22	Sorgo	-
23	Pszenica	-
24	Śruta pszenna	Skrobia
25	Mąka pszenna paszowa	Włókno surowe
26	Otręby pszenne	Włókno surowe
27	Kiełki pszenne	Białko ogólne, Tłuszcz surowy
28	Gluten pszenny	Białko ogólne
29	Gluten pszenny paszowy	Białko ogólne,

		Skrobia
30	Skrobia pszenna	Skrobia
31	Żelowana skrobia pszenna	Skrobia
32	Orkisz	-
33	Pszenżyto	-
34	Kukurydza	-
35	Śruta kukurydziana	Włókno surowe
36	Otręby kukurydziane	Włókno surowe
37	Makuch z zarodków kukurydzianych	Białko ogólne, Tłuszcz surowy
38	Poekstrakcyjne zarodki kukurydziane	Białko ogólne
39	Gluten paszowy kukurydziany	Białko ogólne, Skrobia, Tłuszcz surowy, jeżeli jest > 4,5%
40	Gluten kukurydziany	Białko ogólne
41	Skrobia kukurydziana	Skrobia
42	Żelowana skrobia kukurydziana	Skrobia
43	Słód kukurydziany	Białko ogólne
44	Młóto browarniane suszone	Białko ogólne
45	Wywar gorzelniczny zbożowy suszony	Białko ogólne
46	Wywar gorzelniczny ciemny suszony	Białko ogólne
II. NASIONA OLEISTE, OWOCE OLEISTE, ICH PRODUKTY I PRODUKTY UBOCZNE		
1	Makuch z orzechów ziemnych i częściowo łuszczonech	Białko ogólne, Tłuszcz surowy, Włókno surowe
2	Śruta poekstrakcyjna arachidowa z orzechów ziemnych częściowo łuszczonech	Białko ogólne, Włókno surowe
3	Makuch z orzechów ziemnych łuszczonech	Białko ogólne, Tłuszcz surowy, Włókno surowe
4	Śruta poekstrakcyjna z łuszczonech orzechów ziemnych	Białko ogólne, Włókno surowe
5	Rzepak	-
6	Makuch rzepakowy	Włókno surowe, Białko ogólne, Tłuszcz surowy
7	Śruta poekstrakcyjna rzepakowa	Białko ogólne
8	Łuski nasion rzepaku	Włókno surowe
9	Śruta poekstrakcyjna z krokoszu częściowo obłuszczonego	Włókno surowe Białko ogólne
10	Makuch z kopry	Włókno surowe, Białko ogólne, Tłuszcz surowy
11	Śruta poekstrakcyjna z kopry	Białko ogólne
12	Makuch z ziarna palmy	Włókno surowe,

		Białko ogólne, Tłuszcz surowy
13	Śruta poekstrakcyjna z ziarna palmy	Włókno surowe, Białko ogólne
14	Nasiona soi toastowane	-
15	Śruta poekstrakcyjna sojowa toastowana	Białko ogólne, Włókno surowe, jeżeli jest >8%
16	Śruta poekstrakcyjna z obłuszczonych nasion soi toastowała	Białko ogólne
17	Koncentrat białka sojowego	Białko ogólne
18	Olej roślinny	Wilgotność, jeżeli jest >1%
19	Łuski z nasion soi	Włókno surowe
20	Nasiona bawełny	Włókno surowe, Białko ogólne, Tłuszcz surowy
21	Śruta poekstrakcyjna z nasion bawełny częściowo obłuszczonych	Włókno surowe, Białko ogólne
22	Makuch z nasion bawełny	Włókno surowe, Białko ogólne, Tłuszcz surowy
23	Makuch z nasion nigru	Włókno surowe, Białko ogólne, Tłuszcz surowy
24	Nasiona słonecznika	-
25	Śruta poekstrakcyjna słonecznikowa	Białko ogólne
26	Śruta poekstrakcyjna z nasion słonecznika częściowo odłuszczonych	Włókno surowe, Białko ogólne
27	Nasiona lnu	-
28	Makuch lniany	Włókno surowe, Białko ogólne, Tłuszcz surowy
29	Śruta poekstrakcyjna lniana	Białko ogólne
30	Pulpa z oliwek	Włókno surowe, Białko ogólne
31	Makuch sezamowy	Włókno surowe, Białko ogólne, Tłuszcz surowy
32	Śruta poekstrakcyjna z ziarna kakaowego, częściowo obłuszczonego	Włókno surowe, Białko ogólne
33	Łuski kakaowe	Włókno surowe
III. NASIONA ROŚLIN STRĄCZKOWYCH, ICH PRODUKTY I PRODUKTY UBOCZNE		
1	Ciecierzycza	-
2	Mączka z ekstrahowanych nasion	Białko ogólne

	guaru	
3	Soczewica	-
4	Lędwian siewny	-
5	Soczewica jadalna	-
6	Łubiny słodkie	-
7	Fasola toastowana	-
8	Groch	-
9	Śruta grochowa	Białko ogólne, Włókno surowe
10	Otręby grochowe	Włókno surowe
11	Bobik	-
12	Wyka jednokwiatowa	-
13	Wyka siewna	-
IV. BULWY, KORZENIOWE, PRODUKTY I PRODUKTY UBOCZNE		
1	Wysłodki buraczane	Popiół nierozpuszczalny w HCl, jeżeli jest > 3,5% suchej masy, Całkowity cukier, w przeliczeniu na sacharozę, jeżeli jest >10,5%
2	Melasa buraczana	Całkowity cukier w przeliczeniu na sacharozę, Wilgotność, jeżeli jest >28%
3	Wysłodki buraczane melasowane	Popiół nierozpuszczalny w HCl, jeżeli jest > 3,5% suchej masy, Cukier całkowity w przeliczeniu na sacharozę
4	Wywar melasowy z buraków cukrowych	Białko ogólne, Wilgotność, jeżeli jest >35%
5	Cukier z buraków cukrowych	Sacharoza
6	Batat	Skrobia
7	Maniok jadalny	Skrobia, Popiół nierozpuszczalny w HCl, jeżeli jest > 3,5% suchej masy
8	Skrobia z manioku ekspandowana	Skrobia
9	Pulpa ziemniaczana	-
10	Skrobia ziemniaczana	Skrobia
11	Białko ziemniaczane	Białko ogólne
12	Płatki ziemniaczane	Skrobia, Włókno surowe
13	Koncentrat soku ziemniaczanego	Białko ogólne, Popiół surowy
14	Żelowana skrobia ziemniaczana	Skrobia
V. INNE NASIONA I OWOCE, ICH PRODUKTY I PRODUKTY UBOCZNE		
1	Strąki szarańczynu	Włókno surowe
2	Pulpa cytrusowa	Włókno surowe
3	Pulpa owocowa	Włókno surowe
4	Pulpa pomidorowa	Włókno surowe
5	Pestki winogronowe ekstrahowane	Włókno surowe, jeżeli jest > 45%
6	Pulpa winogronowa	Włókno surowe, jeżeli jest > 25%

7	Pestki winogronowe	Tłuszcz surowy, Włókno surowe, jeżeli jest > 45%
VI. PASZE Z ZIELONEK I PASZE OBJĘTOŚCIOWE		
1	Susz z lucerny- mączka	Białko ogólne, Włókno surowe, Popiół nierozpuszczalny w HCl, jeżeli jest > 3,5% suchej masy
2	Miazga z lucerny	Białko ogólne
3	Koncentrat białkowy z lucerny	Karoten, Białko ogólne
4	Susz z koniczyny - mączka	Popiół nierozpuszczalny w HCl, jeżeli jest > 3,5% suchej masy, Białko ogólne, Włókno surowe
5	Susz z traw – mączka	Popiół nierozpuszczalny w HCl, jeżeli jest > 3,5% suchej masy, Białko ogólne, Włókno surowe
6	Słoma zbożowa	-
7	Słoma zbożowa po obróbce	Sód, jeżeli do obróbki użyto NaOH
VII. INNE ROŚLINY, ICH PRODUKTY I PRODUKTY UBOCZNE		
1	Melasa z trzciny cukrowej	Całkowity cukier w przeliczeniu na sacharozę, Wilgotność, jeżeli jest > 30%
2	Wywar melasowy z trzciny cukrowej	Białko ogólne, Wilgotność, jeżeli jest >35%
3	Cukier z trzciny cukrowej	Sacharoza
4	Mączka z wodorostów morskich	Popiół surowy
VIII. PRODUKTY MLECZNE		
1	Mleko w proszku odtłuszczone	Białko ogólne, Wilgotność, jeżeli jest > 5%
2	Maślanka w proszku	Białko ogólne, Tłuszcz surowy, Laktoza, Wilgotność, jeżeli jest >6%
3	Serwatka w proszku	Białko ogólne, Laktoza, Wilgotność, jeżeli jest >8%, Popiół surowy
4	Serwatka w proszku o niskiej zawartości cukru	Białko ogólne, Laktoza, Wilgotność, jeżeli jest >8%, Popiół surowy
5	Białko serwatki w proszku	Białko ogólne, Wilgotność, jeżeli jest > 8%
6	Kazeina w proszku	Białko ogólne, Wilgotność, jeżeli jest >10%
7	Laktoza w proszku	Laktoza, Wilgotność, jeżeli jest >5%
IX. PRODUKTY ZWIERZĘCE ZE ZWIERZĄT LĄDOWYCH		

1	Mączka mięsna	Białko ogólne, Tłuszcz surowy, Wilgotność, jeżeli jest >8%, Popiół surowy
2	Mączka mięsno-kostna	Białko ogólne, Tłuszcz surowy, Wilgotność, jeżeli jest >8%, Popiół surowy
3	Mączka kostna	Białko ogólne, Wilgotność, jeżeli jest >8%, Popiół surowy
4	Skwarki	Białko ogólne, Wilgotność, jeżeli jest >8%, Tłuszcz surowy
5	Mączka drobiowa	Białko ogólne, Tłuszcz surowy, Wilgotność, jeżeli jest >8%, Popiół surowy, Popiół nierozpuszczalny w HCL, jeżeli jest > 3,3%
6	Mączka z piór hydrolizowana	Białko ogólne, Wilgotność, jeżeli jest >8%, Popiół nierozpuszczalny w HCL, jeżeli jest > 3,4%
7	Suszona krew	Białko ogólne, Wilgotność, jeżeli jest >8%
8	Tłuszcz zwierzęcy	Wilgotność, jeżeli jest >1%
X. RYBY, INNE ORGANIZMY MORSKIE, ICH PRODUKTY I PRODUKTY UBOCZNE		
1	Mączka rybna	Białko ogólne, Tłuszcz surowy, Wilgotność, jeżeli jest >8%, Popiół surowy, jeżeli jest >20%
2	Koncentrat z rozpuszczalnych części ryb	Białko ogólne, Tłuszcz surowy, Wilgotność, jeżeli jest >5%
3	Olej rybny	Wilgotność, jeżeli jest >1%
4	Rafinowany i utwardzony olej rybny	Liczba jodowa, Wilgotność, jeżeli jest >1%
XI. SUBSTANCJE MINERALNE		
1	Węglan wapnia	Wapń , Popiół nierozpuszczalny w HCl, jeżeli jest > 5%
2	Węglan wapniowo-magnezowy	Wapń, Magnez
3	Kwaśny węglan wapnia z alg morskich (Maerl)	Wapń, Popiół nierozpuszczalny w HCl, jeżeli jest > 5%
4	Tlenek magnezu	Magnez
5	Siarczan magnezu	Magnez, Siarka

6	Fosforan dwuwapniowy	Wapń, Fosfor całkowity
7	Fosforan jedno-,dwuwapniowy	Wapń, Fosfor całkowity
8	Fosforan odfluorowany	Wapń, Fosfor całkowity
9	Odzielowana mączka kostna	Wapń, Fosfor całkowity
10	Fosforan jednowapniowy	Wapń, Fosfor całkowity
11	Fosforan wapniowo-magnezowy	Wapń, Fosfor całkowity, Magnez
12	Fosforan jednoamonowy	Azot całkowity, Fosfor całkowity
13	Chlorek sodu	Sód
14	Propionian magnezu	Magnez
15	Fosforan magnezu	Fosfor całkowity, Magnez
16	Fosforan sodowo-wapniowo-magnezowy	Wapń, Fosfor całkowity, Magnez, Sód
17	Fosforan jednosodowy	Fosfor całkowity, Sód
18	Wodorowęglan sodu	Sód
XII. RÓŻNE		
1	Produkty przemysłu piekarniczego i zakładów wytwarzających makarony oraz ich produkty uboczne	Skrobia, Cukier całkowity w przeliczeniu na sacharozę
2	Produkty przemysłu cukierniczego i produkty uboczne	Cukier całkowity w przeliczeniu na sacharozę
3	Wyroby i produkty uboczne uzyskiwane w cukierniach przy produkcji ciast i lodów	Skrobia, Cukier całkowity w przeliczeniu na sacharozę, Tłuszcz surowy
4	Kwasy tłuszczowe	Tłuszcz surowy, Wilgotność, jeżeli jest >1%
5	Sole kwasów tłuszczowych	Tłuszcz surowy, Wapń (lub odpowiednio sód lub potas)

B. Pozostałe materiały paszowe

Lp.	Nazwa materiału paszowego	Deklarowana zawartość składników pokarmowych
1	2	3
1.	Ziarna zbóż	-
2.	Produkty i produkty uboczne z ziarna zbóż	Skrobia, jeżeli jest >20%, Białko ogólne, jeżeli jest >10%,

		Tłuszcz surowy, jeżeli jest >5%, Włókno surowe
3.	Nasiona oleiste, owoce oleiste	-
4.	Produkty i produkty uboczne z nasion oleistych i owoców oleistych	Białko ogólne, jeżeli jest >10%, Tłuszcz surowy, jeżeli jest >5%, Włókno surowe
5.	Nasiona roślin strączkowych	-
6.	Produkty i produkty uboczne z nasion warzyw	Białko ogólne, jeżeli jest >10%, Włókno surowe
7.	Bulwy, korzeniowe	-
8.	Produkty i produkty uboczne z bulw i korzeniowych	Skrobia, Włókno surowe, Popiół nierozpuszczalny w HCl, jeżeli jest >3,5%
9.	Inne produkty i produkty uboczne z przetwórstwa buraków cukrowych	Włókno surowe, jeżeli jest > 15%, Cukier całkowity, w przeliczeniu na sacharozę, Popiół nierozpuszczalny w HCl, jeżeli jest >3,5%
10.	Inne nasiona i owoce, produkty i produkty uboczne z nich otrzymywane	Białko ogólne, Tłuszcz surowy, jeżeli jest >10%, Włókno surowe
11.	Pasze z zielonek i pasze objętościowe	Białko ogólne, jeżeli jest >10%, Włókno surowe
12.	Inne rośliny, produkty i produkty uboczne z nich otrzymywane	Białko ogólne, jeżeli jest >10%, Włókno surowe
13.	Produkty i produkty uboczne z przetwórstwa trzciny cukrowej	Włókno surowe, jeżeli jest > 15%, Cukier całkowity, w przeliczeniu na sacharozę
14.	Produkty i produkty uboczne z mleka	Białko ogólne, Wilgotność, jeżeli jest >5%, Laktoza, jeżeli jest >10%
15.	Produkty pochodzące od zwierząt lądowych	Białko ogólne, jeżeli jest >10%, Tłuszcz surowy, jeżeli jest >5%, Wilgotność, jeżeli jest >8%
16.	Ryby, inne organizmy morskie, produkty i produkty uboczne z nich otrzymywane	Białko ogólne, jeżeli jest >10%, Tłuszcz surowy, jeżeli jest >5%, Wilgotność, jeżeli jest >8%
17.	Substancje mineralne	Odpowiednie substancje mineralne
18.	Różne	Skrobia, jeżeli jest >30%, Białko ogólne, jeżeli jest >10%, Tłuszcz surowy, jeżeli jest >10%, Włókno surowe, Cukier całkowity, w przeliczeniu na sacharozę, jeżeli jest >10%

Objaśnienie

Poziomy wskazane, lub takie, które mają zostać zadeklarowane, odnoszą się do masy materiału paszowego, jeżeli przepisy odrębne nie stanowią inaczej.

Załącznik nr 2

ZAKRES INFORMACJI UMIESZCZANYCH NA OPAKOWANIU LUB ETYKIECIE DOŁĄCZONEJ DO OPAKOWANIA ALBO DOŁĄCZONYCH DO DOKUMENTÓW PRZEWOZOWYCH MATERIAŁÓW PASZOWYCH Z GRUP: BIAŁKA UZYSKIWANEGO Z MIKROORGANIZMÓW NALEŻĄCYCH DO GRUPY BAKTERII, DROŹDŹY, GLONÓW I GRZYBÓW ORAZ NIEBIAŁKOWYCH ZWIĄZKÓW AZOTOWYCH

Lp.	Nazwa grupy produktu ¹⁾	Nazwa produktu	Deklarowana zawartość składników pokarmowych	Wskazania szczególne
1	2	3	4	5
I. BIAŁKO UZYSKIWANE Z MIKROORGANIZMÓW NALEŻĄCYCH DO GRUPY BAKTERII, DROŹDŹY, GLONÓW I GRZYBÓW				
1	Białkowy produkt uzyskany w procesie fermentacji kultury <i>Methylophilus methylotrophus</i> wyhodowanej na metanolu	Białkowy produkt uzyskany w procesie fermentacji kultury <i>Methylophilus methylotrophus</i> wyhodowanej na metanolu	- białko ogólne, - popiół surowy, - tłuszcz surowy, - zawartość wody	- wskazania dotyczące stosowania produktu, - informacja „unikać wdychania”
2	Białkowy produkt uzyskany w procesie fermentacji kultury: <i>Methylococcus capsulatus</i> (Bath), <i>Alcaligenes acidovorans</i> , <i>Bacillus brevis</i> i <i>Bacillus firmus</i> wyhodowanych na gazie ziemnym, których komórki zostały unieczynnione	Białkowy produkt uzyskany w procesie fermentacji kultury: <i>Methylococcus capsulatus</i> (Bath), <i>Alcaligenes acidovorans</i> , <i>Bacillus brevis</i> i <i>Bacillus firmus</i> wyhodowanych na gazie ziemnym	- białko ogólne, - popiół surowy, - tłuszcz surowy, - zawartość wody	- wskazania dotyczące stosowania produktu, - maksymalna zawartość w paszy: a) 8% tuczniaki, b) 8% cielęta, c) 19% łosoś (słodkowodny), d) 33% łosoś (morski), - informacja „unikać wdychania”

3	Drożdże uzyskane z mikroorganizmów: <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Saccharomyces carlsbergiensis</i> , <i>Kluyveromyces lactis</i> , <i>Kluyveromyces fragilis</i> , <i>Candida guilliermondii</i> i substratów: melasy, pozostałości po przetwórstwie gorzelnianym, zboża i produktów zawierających skrobię, soków owocowych, serwatki, kwasu mlekowego, hydrolizowanych włókien roślinnych - których komórki zostały unieczynnione	Drożdże	-	-
4	<i>Glony</i>	Glony	-	-
5	GGrzybnia, wilgotny produkt uboczny uzyskany w wyniku wytwarzania penicyliny, zakiszony za pomocą <i>Lactobacillus brevis</i> , plantarun, sake, kolenoid i <i>Streptococcus lactis</i> w celu inaktywowania penicyliny oraz poddana obróbce cieplnej	Zakiszona grzybnia uzyskana podczas produkcji penicyliny	- zawartość azotu, wyrażona jako białko ogólne, - popiół surowy, - zawartość wody	- gatunek lub kategoria zwierząt
NIEBIAŁKOWE ZWIĄZKI AZOTOWE				
6	Mleczan amonu wytworzony przez fermentację <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	Mleczan amonu wytworzony przez fermentację	- azot wyrażony jako białko ogólne, - popiół surowy, - zawartość wody	- gatunek lub kategoria zwierząt
	Octan amonu w roztworze wodnym	Octan amonu	- azot, - zawartość wody	- gatunek lub kategoria zwierząt
	Siarczan amonu w roztworze wodnym	Siarczan amonu	- azot, - zawartość wody	- gatunek zwierząt - w przypadku młodych przeżuwaczy zawartość produktu w racji dziennej nie może przekroczyć 0,5%

7	Płynne zatężone produkty uboczne uzyskane w wyniku wytwarzania kwasu L-glutaminowego w procesie fermentacji <i>Corynebacterium melassecola</i>	Produkty uboczne uzyskane przy produkcji kwasu L-glutaminowego	- azot wyrażony jako białko ogólne, - popiół surowy, - zawartość wody	- gatunek lub kategoria zwierząt
	Płynne zatężone produkty uboczne uzyskane w wyniku wytwarzania chlorowodorku L-lizyny w procesie fermentacji <i>Brevibacterium lactofermentum</i>	Produkty uboczne uzyskane przy produkcji chlorowodorku L- lizyny	- azot wyrażony jako białko ogólne, - popiół surowy, - zawartość wody	- gatunek lub kategoria zwierząt

¹⁾Informacje umieszczane na opakowaniu lub na etykiecie dołączonej do opakowania lub dołączone do dokumentów przewozowych nie obejmują informacji zawartych w kolumnie nr 2.

Załącznik nr 3

Deklaracja o zawartości składników pokarmowych w mieszance paszowej

Lp.	Rodzaj mieszanki paszowej	Deklarowana zawartość składników pokarmowych	Gatunek lub kategoria zwierząt
1	2	3	4
1.	Mieszanka paszowa pełnoporcjowa	- białko ogólne, - oleje i tłuszcz surowy, - włókno surowe, - popiół surowy	zwierzęta z wyłączeniem zwierząt domowych, innych niż psy i koty
		- lizyna, - metioniny	świnie, drób
		- fosfor	ryby z wyłączeniem ryb ozdobnych
2.	Mieszanka paszowa uzupełniająca – mineralna	- wapń, - fosfor, - sód	wszystkie zwierzęta
		magnez	przeżuwacze
3.	Mieszanka paszowa uzupełniająca – melasowana	- białko ogólne, - włókno surowe, - cukier całkowity (jako sacharoza), - popiół surowy	wszystkie zwierzęta
		magnez $\geq 0,5\%$	przeżuwacze
4.	Mieszanka paszowa uzupełniająca – inna	- białko ogólne, - olej i tłuszcz surowy, - włókno surowe, - popiół surowy, - wapń $\geq 5\%$, - fosfor $\geq 2\%$, - magnez $\geq 0,5\%$,	zwierzęta, z wyłączeniem zwierząt domowych, innych niż psy i koty, zwierzęta inne niż zwierzęta domowe, zwierzęta inne niż zwierzęta domowe, przeżuwacze,
		- lizyna, - metionina	świnie, drób

Objaśnienie

Poziomy, które są wskazane lub mają być zadeklarowane, odnoszą się do wagi mieszanki paszowej, jeżeli przepisy odrębne nie stanowią inaczej.

Załącznik nr 4

**ZAKRES INFORMACJI OBOWIĄZKOWYCH O MATERIAŁACH PASZOWYCH WCHODZĄCYCH W SKŁAD
MIESZANEK PASZOWYCH Z GRUP BIAŁKA UZYSKIWANEGO Z MIKROORGANIZMÓW NALEŻĄCYCH DO GRUPY
BAKTERII, DROŹDŻY, GLONÓW , GRZYBÓW ORAZ NIEBIAŁKOWYCH ZWIĄZKÓW AZOTOWYCH**

Lp	Nazwa grupy produktu ¹⁾	Nazwa produktu	Wskazania szczególne
1	2	3	4
I. BIAŁKO UZYSKIWANE Z MIKROORGANIZMÓW NALEŻĄCYCH DO GRUPY BAKTERII, DROŹDŻY, GLONÓW I GRZYBÓW			
1	Białkowy produkt uzyskany w procesie fermentacji kultury <i>Methylophilus methylotrophus</i> wyhodowanej na metanolu	-	- ilość produktu zawartego w mieszance paszowej
2	Białkowy produkt uzyskany w procesie fermentacji kultury: <i>Methylococcus capsulatus</i> (Bath), <i>Alcaligenes acidovorans</i> , <i>Bacillus brevis</i> i <i>Bacillus firmus</i> , których komórki zostały unieczynnione	Białkowy produkt uzyskany z bakteryjnej fermentacji gazu ziemnego	- ilość produktu zawartego w mieszance paszowej

3	<p>Wszystkie drożdże - otrzymane z mikroorganizmów: <i>Saccharomyces cerevisiae</i>, <i>Saccharomyces carlsbergiensis</i>, <i>Kluyveromyces lactis</i>, <i>Kluyveromyces fragilis</i>, <i>Candida guilliermondii</i>, i substratów: melasy, pozostałości po przetwórstwie gorzelnianym, zboża i produktów zawierających skrobię, soków owocowych, serwatki, kwasu mlekowego, hydrolizowanych włókien roślinnych, których komórki zostały unieczynnione</p>	Drożdże	-
4	Głony	glony	-
5	Grzybnia, wilgotny produkt uboczny uzyskany w wyniku wytwarzania penicyliny, zakiszony za pomocą <i>Lactobacillus brevis</i> , <i>plantarum</i> , sake, kolenoid i <i>Streptococcus lactis</i> w celu inaktywowania penicyliny oraz poddanej obróbce cieplnej	Zakiszona grzybnia uzyskana podczas produkcji penicyliny	-
II. NIEBIAŁKOWE ZWIĄZKI AZOTOWE			
1	Mleczan amonu wytworzony przez fermentację <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	Mleczan amonu wytworzony przez fermentację	<ul style="list-style-type: none"> - ilość produktu zawartego w mieszance paszowej, - % całkowitej ilości białka ogólnego dostarczonego przez azot niebiałkowy, - wskazanie w instrukcjach użycia poziomu całkowitej ilości azotu niebiałkowego, której nie powinno się przekraczać w dziennej porcji dla każdego gatunku lub kategorii zwierząt

	Octan amonu w roztworze wodnym	Octan amonu	<ul style="list-style-type: none"> - ilość produktu zawartego w mieszance paszowej, - % całkowitej ilości białka ogólnego dostarczonego przez azot niebiałkowy, - wskazanie w instrukcjach użycia poziomu całkowitej ilości azotu niebiałkowego, której nie powinno się przekraczać w dziennej porcji dla każdego gatunku lub kategorii zwierząt
	Siarczan amonu w roztworze wodnym	Siarczan amonu	<ul style="list-style-type: none"> - ilość produktu zawartego w mieszance paszowej, - % całkowitej ilości białka ogólnego dostarczonego przez azot niebiałkowy, - wskazanie w instrukcjach użycia poziomu całkowitej ilości azotu niebiałkowego, której nie powinno się przekraczać w dziennej porcji dla każdego gatunku lub kategorii zwierząt, - w przypadku młodych przeżuwaczy dzienna dawka nie może przekroczyć 0,5%
2	Płynne zatężone produkty uboczne uzyskane w wyniku wytwarzania kwasu L-glutaminowego w procesie fermentacji Corynebacterium melassecola	Produkty uboczne uzyskane przy produkcji kwasu L-glutaminowego	<ul style="list-style-type: none"> - % całkowitej ilości białka ogólnego dostarczonego przez azot niebiałkowy, - wskazanie w instrukcjach użycia poziomu całkowitej ilości azotu niebiałkowego, której nie powinno się przekraczać w dziennej porcji dla każdego gatunku lub kategorii zwierząt
	Płynne zatężone produkty uboczne uzyskane w wyniku wytwarzania chlorowodorku L-lizyny w procesie fermentacji Brevibacterium lactofermentum	Produkty uboczne uzyskane przy produkcji chlorowodorku L- lizyny	<ul style="list-style-type: none"> - % całkowitej ilości białka ogólnego dostarczonego przez azot niebiałkowy, - wskazanie w instrukcjach użycia poziomu całkowitej ilości azotu niebiałkowego, której nie powinno się przekraczać w dziennej porcji dla każdego gatunku lub kategorii zwierząt

¹⁾Informacje umieszczane na opakowaniu lub na etykiecie dołączonej do opakowania lub dołączone do dokumentów przewozowych nie obejmują informacji zawartych w kolumnie nr 2.

UZASADNIENIE

Rozporządzenie stanowi wykonanie upoważnienia zawartego w art. 29 ust. 8 pkt 1 ustawy z dnia ... 2006 r. o paszach (Dz. U. Nr ..., poz.).

Mając na względzie dostosowanie polskich przepisów prawnych do obowiązujących w krajach Unii Europejskiej, w rozporządzeniu określone zostały szczegółowe zasady dotyczące oznakowania pasz wprowadzanych do obrotu, w tym zakres informacji, które powinny być umieszczone na ich opakowaniu lub etykiecie dołączonej do opakowania albo dołączone do dokumentów przewozowych.

Przepisy rozporządzenia w :

- § 3 dotyczą oznakowania materiałów paszowych wprowadzanych do obrotu,
- § 7 dotyczą oznakowania mieszanek paszowych wprowadzanych do obrotu,
- § 8 dotyczą oznakowania mieszanek paszowych zawierających dodatki paszowe.

Szczegółowy zakres informacji w zależności od stosowanego rodzaju materiału paszowego i kategorii lub gatunku zwierząt został określony w załączniku nr 1 oraz 2 do rozporządzenia.

W załączniku nr 3 do rozporządzenia został określony zakres informacji umieszczanych na opakowaniu lub etykiecie dołączonej do opakowania lub dokumentów przewozowych w zależności od rodzaju mieszanki paszowej i kategorii lub gatunku zwierząt.

W załączniku nr 4 do rozporządzenia został określony zakres informacji umieszczanych na opakowaniu lub etykiecie dołączonej do opakowania albo dołączonych do dokumentów przewozowych w przypadku materiałów paszowych wchodzących w skład mieszanki paszowej, z grup :

- 1) białka uzyskiwanego z mikroorganizmów należących do grupy bakterii, drożdży, glonów i grzybów,
- 2) niebiałkowych związków azotowych.

Przy opracowaniu projektu rozporządzenia wykorzystano następujące akty prawne Unii Europejskiej:

- 1) dyrektywę 79/373/EWG z dnia 2 kwietnia 1979 r. dotyczącą sprzedaży mieszanek paszowych ostatnio zmienioną dyrektywą 2001/16/EC z dnia 10 kwietnia 2001 r. zmieniającą dyrektywę nr 79/373/EWG oraz dyrektywę 96/25/WE dotyczącą obrotu

materiałami paszowymi (Dz. Urz. WE L 86 z 6.4.1979, str. 30; Dz. Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz.3, t. 4, str. 50);

2) dyrektywę nr 82/471/EWG z dnia 30 czerwca 1982 r. dotyczącą niektórych środków żywienia zwierząt (Dz. Urz. WE L 213 z 21.7.1982, str. 8; Dz. Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz.3, t. 5, str. 151);

3) dyrektywę nr 96/25/EWG z dnia 29 kwietnia 1996 r. o obrocie pasz, wnoszącą poprawki do dyrektyw:70/524/EWG, 74/63/EWG, 82/471/EWG oraz 93/74/EWG i uchylającą dyrektywę 77/101/EWG (Dz. Urz. WE L 125 z 23.5.1996, str. 35; Dz. Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3 , t. 19, str. 96);

4) dyrektywę 70/524/EWG z dnia 23 listopada 1970 r. dotyczącą dodatków paszowych (Dz. Urz. WE L 270 z 14.12.1970, str. 1; Dz. Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3 , t. 1, str. 190).

OCENA SKUTKÓW REGULACJI

1. Podmioty, na które oddziałuje akt normatywny

Zawarte uregulowania mają na celu realizację przepisów ustawy z dnia 2006 r. o paszach (Dz. U. Nr ... poz.), a w szczególności art. 15, wykluczającego stosowanie pasz mogących szkodliwie wpłynąć na zdrowie zwierząt, jakość produktów pochodzenia zwierzęcego i środowisko. Celem regulacji jest ujednoczenie wymagań odnośnie oznakowania pasz wprowadzanych do obrotu. W celu wykluczenia błędów hodowlanych należy rzetelnie informować nabywcę o jakości danego środka żywienia zwierząt, a to w konsekwencji będzie miało wpływ na zdrowie zwierząt, ludzi i jakość produktów pochodzenia zwierzęcego. Umieszczane informacje powinny być umieszczane w sposób widoczny, czytelny i nieusuwalny na każdym opakowaniu pasz lub dołączonej do opakowania etykiecie w języku polskim. Prawidłowe oznakowanie pasz powinno zapewnić bezpieczne ich stosowanie, a także wprowadzanie do obrotu pasz o wysokiej jakości oraz przydatnych w żywieniu zwierząt.

2. Wpływ aktu normatywnego na sektor finansów publicznych, w tym budżet państwa i budżety jednostek samorządu terytorialnego

Wejście w życie w/w rozporządzenia nie wpłynie na sektor finansów publicznych, w tym budżet państwa i budżety jednostek samorządu terytorialnego.

3. Wpływ aktu normatywnego na rynek pracy

Wejście w życie rozporządzenia nie wpłynie na rynek pracy.

4. Wpływ aktu normatywnego na konkurencyjność gospodarki i przedsiębiorczość, w tym na funkcjonowanie przedsiębiorstw

Wejście w życie przepisów rozporządzenia spowoduje, że wytworzone pasze będą oznakowywane tak samo jak w pozostałych krajach członkowskich UE.

5. Wpływ aktu normatywnego na rozwój regionalny

Rozporządzenie nie będzie miało wpływu na sytuację i rozwój regionów.

6. Zakres przeprowadzonych konsultacji społecznych.

W ramach prowadzonych konsultacji projekt zostanie przesłany do: Federacji Związków Producentów Rolnych, Izby Gospodarczej Handlowców, Przetwórców Zbóż i Producentów Pasz, Krajowej Izby Producentów Drobiu i Pasz, Krajowej Rady Drobiarstwa – Izby Gospodarczej, Krajowej Rady Izb Rolniczych, Krajowego Związku Rolników, Kółek i Organizacji Rolniczych, Niezależnego Samorządnego Związku Zawodowego Rolników Indywidualnych „Solidarność”, Niezależnego Samorządnego Związku Zawodowego „Solidarność”, Polskiego Związku Producentów Pasz, Związku Zawodowego Rolnictwa „Samoobrona” Związku Zawodowego Rolników Ojczyzna, Rady Gospodarki Żywnościowej, Krajowej Izby Lekarsko – Weterynaryjnej, „Polkarma” Polskiego Stowarzyszenia Producentów Karmy dla Zwierząt Domowych, Polskiego Związku Hodowców i Producentów Trzody Chlewnej „POLSUS”, Polskiej Federacji Hodowców Bydła i Producentów Mleka, Polskiego Związku Zrzeszeń Hodowców i Producentów Drobiu, Polskiego Związku Owczarskiego i Polskiego Związku Hodowców Koni.

ROZPORZĄDZENIE
MINISTRA ROLNICTWA I ROZWOJU WSI¹⁾
z dnia.....2006 r.
w sprawie kategorii materiałów paszowych²⁾

Na podstawie art. 29 ust. 8 pkt 2 ustawy z dnia 2006 r. o paszach (Dz. U. Nr ..., poz. ...,) zarządza się, co następuje:

§ 1.

Rozporządzenie określa kategorie grupujące materiały paszowe charakteryzujące się tym samym źródłem pochodzenia, stanowiące załącznik do rozporządzenia.

§ 2.

Traci moc rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 13 stycznia 2005 r. w sprawie kategorii materiałów paszowych (Dz. U. Nr 14, poz. 119).

§ 3.

Rozporządzenie wchodzi w życie po upływie 14 dni od dnia ogłoszenia.

MINISTER ROLNICTWA I ROZWOJU WSI

¹⁾ Minister Rolnictwa i Rozwoju Wsi kieruje działem administracji rządowej – rolnictwo, na podstawie § 1 ust. 2 pkt 1 rozporządzenia Prezesa Rady Ministrów z dnia 31 października 2005 r. w sprawie szczegółowego zakresu działania Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi (Dz. U. Nr 220, poz. 1892).

²⁾ Przepisy rozporządzenia wdrażają postanowienia dyrektywy Komisji nr 82/475/EWG z dnia 23 czerwca 1982 r. ustanawiającej kategorie składników, które mogą być stosowane do celów etykietowania mieszanek paszowych dla zwierząt domowych (Dz. Urz. WE L 213 z 21. 7. 1982, str. 27; Dz. Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz.3, t.5, str. 158, późn. zm.).

KATEGORIE GRUPUJĄCE MATERIAŁY PASZOWE CHARAKTERYZUJĄCE SIĘ TYM SAMYM ŹRÓDŁEM POCHODZENIA

Materiały paszowe przeznaczone dla zwierząt domowych

1. Materiały paszowe pochodzenia zwierzęcego:

1) mięso i produkty pochodzenia zwierzęcego - wszystkie części ciała zwierząt rzeźnych, świeże lub poddane działaniu odpowiednich procesów oraz wszystkie produkty i ich pochodne otrzymane w wyniku procesów przetwarzania tusz lub części tusz zwierząt rzeźnych;

2) mleko i produkty mleczne - wszystkie produkty mleczne, świeże lub konserwowane przez zastosowanie odpowiednich procesów oraz produkty otrzymywane w procesie ich przetwarzania;

3) jaja i produkty z jaj - wszystkie produkty z jaj, świeże lub konserwowane przez zastosowanie odpowiednich procesów oraz produkty uboczne powstałe po ich przetworzeniu;

4) mięczaki i skorupiaki - wszystkie gatunki mięczaków, skorupiaków i małż, świeże lub konserwowane przez zastosowanie odpowiednich procesów i produkty powstałe po ich przetworzeniu;

5) owady - wszystkie gatunki owadów w każdym stadium rozwojowym;

6) ryby i produkty rybne - ryby lub ich części, świeże lub konserwowane przez zastosowanie odpowiednich procesów oraz produkty powstałe po ich przetworzeniu.

2. Materiały paszowe pochodzenia roślinnego:

1) zboża - wszystkie gatunki zbóż, niezależnie od metody ich obróbki lub produkty skrobiowe otrzymywane z bielma;

2) warzywa - wszystkie gatunki warzyw i roślin strączkowych, świeże lub konserwowane poprzez zastosowanie odpowiednich procesów;

3) produkty pochodzenia roślinnego - produkty pochodne otrzymywane w procesie przetwarzania produktów roślinnych, a w szczególności zbóż, warzyw, roślin strączkowych i nasion roślin oleistych;

4) roślinne ekstrakty białkowe - wszystkie produkty pochodzenia roślinnego o skoncentrowanej zawartości białka, uzyskane przez zastosowanie odpowiednich

procesów technologicznych; produkty te zawierają nie mniej niż 50 % białka ogólnego w suchej masie, którego struktura mogła ulec zmianie;

5) drożdże - wszystkie drożdże, których komórki zostały zabite i wysuszone;

6) cukry - wszystkie rodzaje cukrów;

7) owoce - wszystkie rodzaje owoców, świeże lub konserwowane przez poddanie ich działaniu odpowiednich procesów;

8) orzechy - zawartość orzechów pozbawionych łupin;

9) nasiona - wszystkie rodzaje nasion w całości lub grubo zmielone;

10) glony - glony świeże lub konserwowane przez zastosowanie odpowiednich procesów.

3. Materiały paszowe pochodzenia mineralnego - wszystkie substancje nieorganiczne odpowiednie do stosowania w żywieniu zwierząt.

4. Materiały paszowe pochodzenia mieszanego:

1) oleje i tłuszcze - wszystkie oleje i tłuszcze zwierzęce lub roślinne;

2) produkty piekarnicze - wszelkiego rodzaju pieczywo, ciasto, herbatniki i makarony.

UZASADNIENIE

Projekt rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi w sprawie kategorii materiałów paszowych stanowi wykonanie upoważnienia zawartego w art. 29 ust. 8 pkt 2 ustawy z dnia 2006 r. o paszach (Dz. U. Nr ... , poz. ...). Niniejszy projekt rozporządzenia był poprzedzony rozporządzeniem Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 13 stycznia 2005 r. w sprawie w sprawie kategorii materiałów paszowy (Dz. U. Nr 14, poz. 119).

Do czasu wejścia w życie przedmiotowego rozporządzenia obowiązywać będą zachowane czasowo w mocy, przepisy wyżej powołanego rozporządzenia tj. z dnia 1 lutego 2005 r.

Załącznik do przedmiotowego projektu rozporządzenia określa kategorie grupujące materiały paszowe, przeznaczone dla zwierząt domowych, charakteryzujące się tym samym źródłem pochodzenia. Kategorie materiałów paszowych określone w załączniku do rozporządzenia mogą być zamieszczane na opakowaniu, etykiecie dołączanej do opakowania lub w dokumentach przewozowych, wprowadzanych do obrotu, mieszanek paszowych przeznaczonych dla zwierząt domowych.

Wyodrębnione zostały cztery źródła pochodzenia materiałów paszowych tzn. zwierzęce, roślinne, mineralne oraz mieszane, do których przyporządkowano odpowiednie materiały paszowe.

Przedmiot regulacji jest objęty zakresem Dyrektywy Rady nr 79/373 z dnia 2 kwietnia 1979 r. w sprawie obrotu mieszanekami paszowymi, w której określono sposób oznakowania mieszanek paszowych. Przedmiotowe rozporządzenie jest zgodne z Dyrektywą Komisji Nr 82/475/EWG z dnia 23 czerwca 1982 r. ustanawiającą kategorie składników, które mogą stosowane do celów etykietowania mieszanek paszowych dla zwierząt domowych, zmienioną przez Dyrektywę Komisji nr 98/67/EWG z dnia 7 września 1998 r. zmieniającą dyrektywę 80/511/EWG, 82/475/EWG i Dyrektywę Rady 96/25/WE oraz uchylającą dyrektywę 92/87/EWG.

Rozporządzenie nie podlega notyfikacji w rozumieniu przepisów rozporządzenia Rady Ministrów z dnia 23 grudnia 2002 r. w sprawie sposobu funkcjonowania krajowego systemu notyfikacji norm i aktów prawnych (Dz. U. Nr 239, poz. 2039 oraz z 2004 r. Nr 65, poz. 597).

OCENA SKUTKÓW REGULACJI

1. Podmioty, na które będzie oddziaływał akt normatywny

Rozporządzenie będzie oddziaływać na podmioty prowadzące działalność w zakresie wytwarzania lub obrotu paszami przeznaczonymi dla zwierząt domowych. W przypadku materiałów paszowych, stosowanych do produkcji pasz, przedmiotowe rozporządzenie pozostawi producentowi możliwość wyboru deklarowania zastosowanych materiałów paszowych według odpowiednich kategorii na opakowaniu lub na etykiecie załączonej do opakowania.

2. Wpływ aktu normatywnego na sektor finansów publicznych, w tym budżet państwa i budżety jednostek samorządu terytorialnego

Wejście w życie w/w rozporządzenia nie wpłynie na sektor finansów publicznych, w tym budżet państwa i budżety jednostek samorządu terytorialnego.

3. Wpływ aktu normatywnego na rynek pracy

Wejście w życie rozporządzenia nie wpłynie na rynek pracy.

4. Wpływ aktu normatywnego na konkurencyjność gospodarki i przedsiębiorczość, w tym na funkcjonowanie przedsiębiorstw

Wejście w życie przepisów rozporządzenia spowoduje, że polskie podmioty będą mogły wprowadzać do obrotu pasze, przeznaczone dla zwierząt domowych, oznakowane zgodnie z obowiązującymi, w pozostałych państwach członkowskich, zasadami.

5. Wpływ aktu normatywnego na sytuację i rozwój regionów

Rozporządzenie nie będzie miało wpływu na sytuację i rozwój regionów.

6. Konsultacje społeczne

W ramach prowadzonych konsultacji projekt zostanie przesłany do: Federacji Związków Producentów Rolnych, Izby Gospodarczej Handlowców, Przetwórców Zbóż i Producentów Pasz, Krajowej Izby Producentów Drobiu i Pasz, Krajowej Rady Drobiarstwa – Izby Gospodarczej, Krajowej Rady Izb Rolniczych, Krajowego Związku Rolników, Kółek i Organizacji Rolniczych, Niezależnego Samorządnego Związku Zawodowego Rolników Indywidualnych „Solidarność”, Niezależnego Samorządnego Związku Zawodowego „Solidarność”, Polskiego Związku Producentów Pasz, Związku Zawodowego Rolnictwa „Samoobrona” Związku Zawodowego Rolników Ojczyzna, Rady Gospodarki Żywnościowej, Krajowej Izby Lekarsko – Weterynaryjnej, „Polkarma” Polskiego Stowarzyszenia Producentów Karmy dla Zwierząt Domowych, Polskiego Związku Hodowców i Producentów Trzody Chlewnej „POLSUS”, Polskiej Federacji Hodowców Bydła i Producentów Mleka, Polskiego Związku Zrzeszeń

Hodowców i Producentów Drobiu, Polskiego Związku Owczarskiego i Polskiego Związku Hodowców Koni.

ROZPORZĄDZENIE
MINISTRA ROLNICTWA I ROZWOJU WSI¹⁾
z dnia.....2006 r.
w sprawie kategorii materiałów paszowych²⁾

Na podstawie art. 29 ust. 8 pkt 2 ustawy z dnia 2006 r. o paszach (Dz. U. Nr ..., poz. ...,) zarządza się, co następuje:

§ 1.

Rozporządzenie określa kategorie grupujące materiały paszowe charakteryzujące się tym samym źródłem pochodzenia, stanowiące załącznik do rozporządzenia.

§ 2.

Traci moc rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 13 stycznia 2005 r. w sprawie kategorii materiałów paszowych (Dz. U. Nr 14, poz. 119).

§ 3.

Rozporządzenie wchodzi w życie po upływie 14 dni od dnia ogłoszenia.

MINISTER ROLNICTWA I ROZWOJU WSI

¹⁾ Minister Rolnictwa i Rozwoju Wsi kieruje działem administracji rządowej – rolnictwo, na podstawie § 1 ust. 2 pkt 1 rozporządzenia Prezesa Rady Ministrów z dnia 31 października 2005 r. w sprawie szczegółowego zakresu działania Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi (Dz. U. Nr 220, poz. 1892).

²⁾ Przepisy rozporządzenia wdrażają postanowienia dyrektywy Komisji nr 82/475/EWG z dnia 23 czerwca 1982 r. ustanawiającej kategorie składników, które mogą być stosowane do celów etykietowania mieszanek paszowych dla zwierząt domowych (Dz. Urz. WE L 213 z 21. 7. 1982, str. 27; Dz. Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz.3, t.5, str. 158, późn. zm.).

KATEGORIE GRUPUJĄCE MATERIAŁY PASZOWE CHARAKTERYZUJĄCE SIĘ TYM SAMYM ŹRÓDŁEM POCHODZENIA

Materiały paszowe przeznaczone dla zwierząt domowych

1. Materiały paszowe pochodzenia zwierzęcego:

- 1) mięso i produkty pochodzenia zwierzęcego - wszystkie części ciała zwierząt rzeźnych, świeże lub poddane działaniu odpowiednich procesów oraz wszystkie produkty i ich pochodne otrzymane w wyniku procesów przetwarzania tusz lub części tusz zwierząt rzeźnych;
- 2) mleko i produkty mleczne - wszystkie produkty mleczne, świeże lub konserwowane przez zastosowanie odpowiednich procesów oraz produkty otrzymywane w procesie ich przetwarzania;
- 3) jaja i produkty z jaj - wszystkie produkty z jaj, świeże lub konserwowane przez zastosowanie odpowiednich procesów oraz produkty uboczne powstałe po ich przetworzeniu;
- 4) mięczaki i skorupiaki - wszystkie gatunki mięczaków, skorupiaków i małż, świeże lub konserwowane przez zastosowanie odpowiednich procesów i produkty powstałe po ich przetworzeniu;
- 5) owady - wszystkie gatunki owadów w każdym stadium rozwojowym;
- 6) ryby i produkty rybne - ryby lub ich części, świeże lub konserwowane przez zastosowanie odpowiednich procesów oraz produkty powstałe po ich przetworzeniu.

2. Materiały paszowe pochodzenia roślinnego:

- 1) zboża - wszystkie gatunki zbóż, niezależnie od metody ich obróbki lub produkty skrobiowe otrzymywane z bielma;
- 2) warzywa - wszystkie gatunki warzyw i roślin strączkowych, świeże lub konserwowane poprzez zastosowanie odpowiednich procesów;
- 3) produkty pochodzenia roślinnego - produkty pochodne otrzymywane w procesie przetwarzania produktów roślinnych, a w szczególności zbóż, warzyw, roślin strączkowych i nasion roślin oleistych;
- 4) roślinne ekstrakty białkowe - wszystkie produkty pochodzenia roślinnego o skoncentrowanej zawartości białka, uzyskane przez zastosowanie odpowiednich

procesów technologicznych; produkty te zawierają nie mniej niż 50 % białka ogólnego w suchej masie, którego struktura mogła ulec zmianie;

5) drożdże - wszystkie drożdże, których komórki zostały zabite i wysuszone;

6) cukry - wszystkie rodzaje cukrów;

7) owoce - wszystkie rodzaje owoców, świeże lub konserwowane przez poddanie ich działaniu odpowiednich procesów;

8) orzechy - zawartość orzechów pozbawionych łupin;

9) nasiona - wszystkie rodzaje nasion w całości lub grubo zmielone;

10) glony - glony świeże lub konserwowane przez zastosowanie odpowiednich procesów.

3. Materiały paszowe pochodzenia mineralnego - wszystkie substancje nieorganiczne odpowiednie do stosowania w żywieniu zwierząt.

4. Materiały paszowe pochodzenia mieszanego:

1) oleje i tłuszcze - wszystkie oleje i tłuszcze zwierzęce lub roślinne;

2) produkty piekarnicze - wszelkiego rodzaju pieczywo, ciasto, herbatniki i makarony.

UZASADNIENIE

Projekt rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi w sprawie kategorii materiałów paszowych stanowi wykonanie upoważnienia zawartego w art. 29 ust. 8 pkt 2 ustawy z dnia 2006 r. o paszach (Dz. U. Nr ... , poz. ...). Niniejszy projekt rozporządzenia był poprzedzony rozporządzeniem Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 13 stycznia 2005 r. w sprawie w sprawie kategorii materiałów paszowy (Dz. U. Nr 14, poz. 119).

Do czasu wejścia w życie przedmiotowego rozporządzenia obowiązywać będą zachowane czasowo w mocy, przepisy wyżej powołanego rozporządzenia tj. z dnia 1 lutego 2005 r.

Załącznik do przedmiotowego projektu rozporządzenia określa kategorie grupujące materiały paszowe, przeznaczone dla zwierząt domowych, charakteryzujące się tym samym źródłem pochodzenia. Kategorie materiałów paszowych określone w załączniku do rozporządzenia mogą być zamieszczane na opakowaniu, etykiecie dołączanej do opakowania lub w dokumentach przewozowych, wprowadzanych do obrotu, mieszanek paszowych przeznaczonych dla zwierząt domowych.

Wyodrębnione zostały cztery źródła pochodzenia materiałów paszowych tzn. zwierzęce, roślinne, mineralne oraz mieszane, do których przyporządkowano odpowiednie materiały paszowe.

Przedmiot regulacji jest objęty zakresem Dyrektywy Rady nr 79/373 z dnia 2 kwietnia 1979 r. w sprawie obrotu mieszanekami paszowymi, w której określono sposób oznakowania mieszanek paszowych. Przedmiotowe rozporządzenie jest zgodne z Dyrektywą Komisji Nr 82/475/EWG z dnia 23 czerwca 1982 r. ustanawiającą kategorie składników, które mogą stosowane do celów etykietowania mieszanek paszowych dla zwierząt domowych, zmienioną przez Dyrektywę Komisji nr 98/67/EWG z dnia 7 września 1998 r. zmieniającą dyrektywę 80/511/EWG, 82/475/EWG i Dyrektywę Rady 96/25/WE oraz uchylającą dyrektywę 92/87/EWG.

Rozporządzenie nie podlega notyfikacji w rozumieniu przepisów rozporządzenia Rady Ministrów z dnia 23 grudnia 2002 r. w sprawie sposobu funkcjonowania krajowego systemu notyfikacji norm i aktów prawnych (Dz. U. Nr 239, poz. 2039 oraz z 2004 r. Nr 65, poz. 597).

OCENA SKUTKÓW REGULACJI

1. Podmioty, na które będzie oddziaływał akt normatywny

Rozporządzenie będzie oddziaływać na podmioty prowadzące działalność w zakresie wytwarzania lub obrotu paszami przeznaczonymi dla zwierząt domowych. W przypadku materiałów paszowych, stosowanych do produkcji pasz, przedmiotowe rozporządzenie pozostawi producentowi możliwość wyboru deklarowania zastosowanych materiałów paszowych według odpowiednich kategorii na opakowaniu lub na etykiecie załączonej do opakowania.

2. Wpływ aktu normatywnego na sektor finansów publicznych, w tym budżet państwa i budżety jednostek samorządu terytorialnego

Wejście w życie w/w rozporządzenia nie wpłynie na sektor finansów publicznych, w tym budżet państwa i budżety jednostek samorządu terytorialnego.

3. Wpływ aktu normatywnego na rynek pracy

Wejście w życie rozporządzenia nie wpłynie na rynek pracy.

4. Wpływ aktu normatywnego na konkurencyjność gospodarki i przedsiębiorczość, w tym na funkcjonowanie przedsiębiorstw

Wejście w życie przepisów rozporządzenia spowoduje, że polskie podmioty będą mogły wprowadzać do obrotu pasze, przeznaczone dla zwierząt domowych, oznakowane zgodnie z obowiązującymi, w pozostałych państwach członkowskich, zasadami.

5. Wpływ aktu normatywnego na sytuację i rozwój regionów

Rozporządzenie nie będzie miało wpływu na sytuację i rozwój regionów.

6. Konsultacje społeczne

W ramach prowadzonych konsultacji projekt zostanie przesłany do: Federacji Związków Producentów Rolnych, Izby Gospodarczej Handlowców, Przetwórców Zbóż i Producentów Pasz, Krajowej Izby Producentów Drobiu i Pasz, Krajowej Rady Drobiarstwa – Izby Gospodarczej, Krajowej Rady Izb Rolniczych, Krajowego Związku Rolników, Kółek i Organizacji Rolniczych, Niezależnego Samorządnego Związku Zawodowego Rolników Indywidualnych „Solidarność”, Niezależnego Samorządnego Związku Zawodowego „Solidarność”, Polskiego Związku Producentów Pasz, Związku Zawodowego Rolnictwa „Samoobrona” Związku Zawodowego Rolników Ojczyzna, Rady Gospodarki Żywnościowej, Krajowej Izby Lekarsko – Weterynaryjnej, „Polkarma” Polskiego Stowarzyszenia Producentów Karmy dla Zwierząt Domowych, Polskiego Związku Hodowców i Producentów Trzody Chlewnej „POLSUS”, Polskiej Federacji Hodowców Bydła i Producentów Mleka, Polskiego Związku Zrzeszeń

Hodowców i Producentów Drobiu, Polskiego Związku Owczarskiego i Polskiego Związku Hodowców Koni.

**ROZPORZĄDZENIE
MINISTRA ROLNICTWA I ROZWOJU WSI ¹⁾**

z dnia.....2006 r.

**w sprawie limitów tolerancji zawartości składników pokarmowych
i dodatków paszowych ²⁾**

Na podstawie art. 29 ust. 8 pkt 3 ustawy z dnia2006 r. o paszach (Dz. U. Nr ..., poz. ...) zarządza się, co następuje:

§ 1.

Określa się limity tolerancji zawartości składników pokarmowych i dodatków paszowych, stanowiące załącznik do rozporządzenia.

§ 2.

Traci moc rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 1 lutego 2005 r. w sprawie limitów tolerancji zawartości składników pokarmowych i dodatków paszowych (Dz. U. Nr 27, poz. 227).

§ 3.

Rozporządzenie wchodzi w życie po upływie 14 dni od dnia ogłoszenia.

**MINISTER ROLNICTWA
I ROZWOJU WSI**

¹⁾ Minister Rolnictwa i Rozwoju Wsi kieruje działem administracji rządowej – rolnictwo, na podstawie § 1 ust. 2 pkt 1 rozporządzenia Prezesa Rady Ministrów z dnia 31 października

2005 r. w sprawie szczegółowego zakresu działania Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi (Dz. U. Nr 220, poz. 1892).

²⁾ Przepisy rozporządzenia wdrażają postanowienia:

1) dyrektywy Rady 96/25/WE z dnia 29 kwietnia 1996 r. w sprawie obrotu materiałami paszowymi, zmieniającą dyrektywy 70/524/EWG, 74/63/EWG, 82/471/EWG i 93/74/EWG oraz uchylającą dyrektywę 77/101/EWG (Dz. Urz. WE L 125 z 23.5.1996, str. 35; Dz. Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 19, str. 96, z późn. zm.);

2) dyrektywy Rady 79/373/EWG z dnia 2 kwietnia 1979 r. w sprawie obrotu mieszankami paszowymi (Dz. Urz. WE L 86 z 6.4.1979, str. 30; Dz. Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 4, str. 50, z późn. zm.).

Limity tolerancji zawartości składników pokarmowych i dodatków paszowych

L.p.	Nazwa składnika pokarmowego albo dodatku paszowego	Jednostka składnika pokarmowego albo dodatku paszowego ¹⁾	Zawartość składnika pokarmowego albo dodatku paszowego ²⁾	Limity tolerancji zawartości składnika pokarmowego albo dodatku paszowego ³⁾	
				w przypadku stwierdzenia mniejszej zawartości składnika pokarmowego albo dodatku paszowego	w przypadku stwierdzenia większej zawartości składnika pokarmowego albo dodatku paszowego
1	2	3	4	5	6
I. Składniki pokarmowe albo dodatki paszowe w materiałach paszowych					
1.	Białko ogólne	g	poniżej 100	10 g	-
			Od 100 do 200	10 %	-
			powyżej 200	20 g	-
2.	Cukier ogółem, cukry redukujące, sacharoza, laktoza, glukoza (dekstroza)	g	poniżej 50	5 g	-
			Od 50 do 200	10 %	-
			powyżej 200	20 g	-
3.	Skrobia, inulina	g	poniżej 100	10 g	-
			Od 100 do 300	10 %	-

1	2	3	4	5	6
			powyżej 300	30 g	-
4.	Tłuszcz surowy	g	poniżej 50	6 g	-
			Od 50 do 150	12 %	-
			powyżej 150	18 g	-
5.	Włókno surowe	g	poniżej 60	-	9 g
			Od 60 do 140	-	15 %
			powyżej 140	-	21g
6.	Popiół surowy	g	poniżej 50	-	5 g
			Od 50 do 100	-	10 %
			powyżej 100	-	10 g
7.	Woda	g	poniżej 50	-	5 g
			Od 50 do 100	-	10 %
			powyżej 100	-	10 g

1	2	3	4	5	6
8.	Fosfor, magnez, wapń	g	poniżej 20	2 g	-
			Od 20 do 150	10 %	-
			powyżej 150	15 g	-
9.	Węglan wapnia, sód	g	poniżej 20	-	2 g
			Od 20 do 150	-	10 %
			powyżej 150	-	15 g
10.	Chlorki wyrażone jako NaCl, popiół nierozpuszczalny w kwasie chlorowodorowym	g	poniżej 30	-	3 g
			Od 30	-	10 %
11.	Karoten	mg	bez względu na zawartość	30 %	-
12.	Ksantofile	mg	bez względu na zawartość	30 %	-
13.	Witamina A	jednostka międzynarodowa ⁴⁾	bez względu na zawartość	30 %	-
14.	Lizyna, metionina	g	bez względu na zawartość	20 %	-
15.	Lotne związki azotowe, wolny amoniak	mg	bez względu na zawartość	-	20 %
16.	Substancje nierozpuszczalne w eterze naftowym	mg	poniżej 20	-	2 g
			Od 20 do 150	-	10 %
			powyżej 150	-	-

1	2	3	4	5	6
17.	Liczba kwasowa ⁵⁾		poniżej 2	-	0,2
			Od 2 do 15	-	10 %
			powyżej 15	-	1,5
II. Składniki pokarmowe albo dodatki paszowe w mieszankach paszowych przeznaczonych dla zwierząt gospodarskich					
1.	Białko ogólne	g	poniżej 100	10 g	20 g
			Od 100 do 200	10%	20 %
			powyżej 200	20 g	40 g
2.	Tłuszcz surowy	g	poniżej 80	8 g	16 g
			Od 80 do 150	10 %	20 %
			powyżej 150	15 g	30 g
3.	Skrobia, cukier ogółem wraz ze skrobią	g	poniżej 100	10 g	20 g
			Od 100 do 250	10 %	20 %
			powyżej 250	25 g	50 g
4.	Cukier ogółem	g	poniżej 100	10 g	20 g
			Od 100 do 200	10 %	20 %
			powyżej 200	20 g	40 g

1	2	3	4	5	6
5.	Potas, magnez, sód	g	poniżej 7	1 g	3 g
			Od 7 do 50	15 %	45 %
			powyżej 50 do 75	7,5 g	22,5 g
			powyżej 75 do 150	10 %	30 %
			powyżej 150	15 g	45 g
6.	Wapń, fosfor	g	poniżej 10	1,5 g	4,5 g
			Od 10 do 60	15 %	45 %
			powyżej 60 do 120	9 g	27 g
			powyżej 120 do 160	7,5 %	22,5 %
			powyżej 160	12 g	36 g
7.	Metionina, lizyna, Treonina	g	bez względu na zawartość	15 %	-
8.	Cystyna, tryptofan	g	bez względu na zawartość	20 %	-
9.	Woda	g	poniżej 50	-	5 g
			Od 50 do 100	-	10 %
			powyżej 100	-	10 g
10.	Włókno surowe	g	poniżej 60	27 g	9 g
			Od 60 do 120	45 %	15 %
			powyżej 120	54 g	18 g

1	2	3	4	5	6
11.	Popiół surowy	g	poniżej 50	15 g	5 g
			Od 50 do 100	30 %	10 %
			powyżej 100	30 g	10 g
12.	Popiół nierozpuszczalny w kwasie chlorowodorowym	g	poniżej 40	-	4 g
			Od 40 do 100	-	10 %
			powyżej 100	-	10 g
III. Składniki pokarmowe albo dodatki paszowe w mieszankach paszowych przeznaczonych dla zwierząt domowych					
1.	Białko ogólne	g	poniżej 125	20 g	40 g
			Od 125 do 200	16 %	32 %
			powyżej 200	32 g	64 g
2.	Tłuszcz surowy	g	bez względu na zawartość	25 g	25 g
3.	Woda	g	poniżej 200	-	15 g
			Od 200 do 400	-	7,5 %
			powyżej 400	-	30 g
4.	Włókno surowe	g	bez względu na zawartość	30 g	10 g
5.	Popiół surowy	g	bez względu na zawartość	45 g	15 g

1	2	3	4	5	6
IV. Dodatki paszowe w paszach					
1.	Dodatki paszowe	mg	poniżej 0,5	40 %	40 %
		jednostka międzynarodowa ⁴⁾	poniżej 500	40 %	40 %
		mg	od 0,5 do 1	0,2 mg	0,2 mg
		jednostka międzynarodowa ⁴⁾	od 500 do 1000	200 jednostek międzynarodowych	200 jednostek międzynarodowych
		mg	powyżej 1 do 50	20 %	20 %
		jednostka międzynarodowa ⁴⁾	powyżej 1000 do 50 000	20 %	20 %
		mg	powyżej 50 do 100	10 mg	10 mg
		jednostka międzynarodowa ⁴⁾	powyżej 50 000 do 100 000	10 000 jednostek międzynarodowych	10 000 jednostek międzynarodowych
		mg	powyżej 100 do 500	10 %	10 %
		jednostka międzynarodowa ⁴⁾	powyżej 100 000 do 500 000	10 %	10 %
		mg	powyżej 500 do 1000	50 mg	50 mg
		jednostka międzynarodowa ⁴⁾	Powyżej 500 000 do 1000 000	50 000 jednostek międzynarodowych	50 000 jednostek międzynarodowych
		mg	powyżej 1 000	5 %	5 %
		jednostka międzynarodowa ⁴⁾	powyżej 1 000 000	5 %	5 %

- 1) jednostka masy składnika pokarmowego albo dodatku paszowego została podana w 1 kilogramie materiału paszowego, mieszanki paszowej, dodatku paszowego w paszy
- 2) dotyczy zawartości składnika pokarmowego albo dodatku paszowego podanej na opakowaniu pasz, na dołączonej do opakowania etykiecie albo w informacji dołączonej do dokumentów przewozowych
- 3) wartości określone jako limity tolerancji zawartości składnika pokarmowego albo dodatku paszowego oznaczają dopuszczalną różnicę między zawartością składników pokarmowych albo dodatków paszowych stwierdzoną w wyniku przeprowadzonych badań laboratoryjnych, a zawartością tych składników albo dodatków podaną na opakowaniu paszy, na dołączonej do opakowania tych środków etykiecie albo w informacji dołączonej do dokumentów przewozowych, w przypadku mieszanek paszowych wprowadzanych do obrotu luzem albo w niezamkniętych opakowaniach lub w pojemnikach
- 4) definicje jednostek aktywności witaminy A i D
 - a) jednostka międzynarodowa (j.m.) witaminy A odpowiada:
 - 0,300 μg retinolu
 - 0,344 μg octanu retinolu
 - 0, 550 μg palmitynianu retinolu
 - 359 μg propionianu retinolu
 - b) jednostka międzynarodowa (j.m.) witaminy D₃ odpowiada:
 - 0, 025 μg cholekalcyferolu
- 5) liczba kwasowa została podana jako liczba niemianowana i wyraża ilość wodorotlenku potasu (KOH) niezbędną do zobojętnienia wolnych kwasów organicznych zawartych w 1 gramie materiału paszowego

UZASADNIENIE

Projekt rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi w sprawie limitów tolerancji zawartości składników pokarmowych i dodatków paszowych stanowi wykonanie upoważnienia zawartego w art. 29 ust. 8 pkt 3 ustawy z dnia 2006 r. o paszach (Dz. U. Nr ...,poz...). Aktualnie obowiązującym aktem prawnym w tym zakresie jest rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 1 lutego 2005 r. w sprawie limitów tolerancji zawartości składników pokarmowych i dodatków paszowych (Dz. U. Nr 27, poz. 277), stanowiące wykonanie art. 38 ust. 7 pkt 3 ustawy z dnia 23 sierpnia 2001 r. o środkach żywienia zwierząt (Dz. U. z 2005 r. Nr 255, poz. 2143). Konieczność wydania projektowanego rozporządzenia wynika z uchwalenia ustawy z dnia ... 2006 r. o paszach, uchylającą ustawę z dnia 23 sierpnia 2003 r. o środkach żywienia zwierząt (Dz. U. z 2005 r. Nr 255, poz. 2143).

Do czasu wejścia w życie przedmiotowego rozporządzenia obowiązywać będą zachowane czasowo w mocy, przepisy powołanego na wstępie rozporządzenia z dnia 1 lutego 2005 r.

Limity tolerancji dotyczą różnicy zawartości składników pokarmowych i dodatków paszowych oznaczonych w próbkach pasz pobranych w ramach nadzoru nad wytwarzaniem i stosowaniem pasz oraz nad obrotem nimi, a wartościami deklarowanymi na opakowaniu, na dołączonej do opakowania etykiecie lub w informacji dołączonej do dokumentów przewozowych, w przypadku mieszanek paszowych wprowadzanych do obrotu luzem albo w niezamkniętych opakowaniach lub pojemnikach.

Przedmiotowy projekt rozporządzenia jest zgodny z dyrektywami Unii Europejskiej, a w szczególności z:

- dyrektywą Rady 96/25/WE z dnia 29 kwietnia 1996 r. w sprawie obrotu materiałami paszowymi, zmieniającą dyrektywy 70/524/EWG, 74/63/EWG, 82/471/EWG i 93/74/EWG oraz uchylającą dyrektywę 77/1001/EWG,
- dyrektywy Rady 79/373/EWG z dnia 2 kwietnia 1979 r. w sprawie obrotu mieszanekami paszowymi (Dz. Urz. WE L 86 z 6.4.1979, str. 30; Dz. Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 4, str. 50, z późn. zm.).

Rozporządzenie nie podlega notyfikacji na podstawie rozporządzenia Rady Ministrów z dnia 23 grudnia 2002 r. w sprawie sposobu funkcjonowania krajowego

systemu notyfikacji norm i aktów prawnych (Dz. U. Nr 239, poz. 2039 oraz z 2004 r. Nr 65, poz. 597).

OCENA SKUTKÓW REGULACJI

1. Podmioty, na które oddziałuje akt normatywny

Rozporządzenie będzie oddziaływać na podmioty prowadzące działalność w zakresie wytwarzania lub obrotu paszami przeznaczonymi dla zwierząt.

Celem wprowadzenia regulacji zawartych w rozporządzeniu jest zagwarantowanie aby deklaracje dotyczące zawartości składników pokarmowych i dodatków paszowych zamieszczone w oznakowaniu pasz, na dołączonej do opakowania etykiecie lub w informacji dołączonej do dokumentów przewozowych, w przypadku mieszanek paszowych wprowadzanych do obrotu luzem albo w niezamkniętych opakowaniach lub pojemnikach - mogły być urzędowo weryfikowane w jednolity sposób. Ponadto ujednoczenie parametrów w ocenie pasz wytwarzanych, wprowadzanych do obrotu i stosowanych w żywieniu zwierząt zapewni ochronę interesów nabywców pasz.

2. Wpływ aktu normatywnego na sektor finansów publicznych, w tym budżet państwa i budżety jednostek samorządu terytorialnego.

Wejście w życie rozporządzenia nie wpłynie na sektor finansów publicznych, w tym budżet państwa i budżety jednostek samorządu terytorialnego.

3. Wpływ aktu normatywnego na rynek pracy.

Wejście w życie rozporządzenia nie wpłynie na rynek pracy.

4. Wpływ aktu normatywnego na konkurencyjność gospodarki i przedsiębiorczość, w tym na funkcjonowanie przedsiębiorstw.

Wejście w życie przepisów rozporządzenia spowoduje, że podmioty będą wytwarzać i wprowadzać do obrotu pasze dla zwierząt o wysokiej jakości oraz przydatnych w żywieniu zwierząt co w konsekwencji wpłynie na jakość uzyskanych produktów pochodzenia zwierzęcego.

5. Wpływ aktu normatywnego na sytuację i rozwój regionalny.

Rozporządzenie nie będzie miało wpływu na sytuację i rozwój regionalny.

6. Zakres przeprowadzonych konsultacji społecznych.

W ramach prowadzonych konsultacji projekt zostanie przesłany do: Federacji Związków Producentów Rolnych, Izby Gospodarczej Handlowców, Przetwórców Zbóż i Producentów Pasz, Krajowej Izby Producentów Drobiu i Pasz, Krajowej Rady Drobiarstwa – Izby Gospodarczej, Krajowej Rady Izb Rolniczych, Krajowego Związku Rolników, Kółek i Organizacji Rolniczych, Niezależnego Samorządnego Związku Zawodowego Rolników Indywidualnych „Solidarność”, Niezależnego Samorządnego Związku Zawodowego „Solidarność”, Polskiego Związku Producentów Pasz, Związku Zawodowego Rolnictwa „Samobrona” Związku Zawodowego Rolników Ojczyzna, Rady Gospodarki Żywnościowej, Krajowej Izby Lekarsko – Weterynaryjnej, „Polkarma” Polskiego Stowarzyszenia Producentów Karmy dla Zwierząt Domowych, Polskiego Związku Hodowców i Producentów Trzody Chlewnej „POL SUS”, Polskiej Federacji Hodowców Bydła i Producentów Mleka, Polskiego Związku Zrzeszeń Hodowców i Producentów Drobiu, Polskiego Związku Owczarskiego i Polskiego Związku Hodowców Koni.

**ROZPORZĄDZENIE
MINISTRA ROLNICTWA I ROZWOJU WSI¹⁾**

z dnia 2006 r.

**w sprawie sposobu ustalania numeru identyfikacyjnego zakładów państw
trzecich, z których mogą być przywożone pasze²⁾**

Na podstawie art. 41 pkt 1 ustawy z dnia 2006 r.
o paszach (Dz. U. Nr , poz.) zarządza się, co następuje:

§ 1. Numer identyfikacyjny nadawany zakładom państw trzecich, z których mogą być przywożone pasze, prowadzących działalność gospodarczą, w zakresie wytwarzania pasz, która na terytorium Rzeczypospolitej Polskiej wymaga zatwierdzenia powiatowego lekarza weterynarii, składa się z:

- 1) symbolu „α”;
- 2) kodu państwa trzeciego określonego w Polskiej Normie PN-EN ISO 3166-1:2002 Kody nazw krajów i ich jednostek administracyjnych - Część 1: Kody krajów;
- 3) ośmiu znaków alfanumerycznych, z których:
 - a) pierwsza i druga cyfra stanowią cyfry kodu województwa właściwego ze względu na adres przedstawicielstwa, które reprezentuje zakład, ustalonego w rozporządzeniu Rady Ministrów z dnia 15 grudnia 1998 r. w sprawie szczegółowych zasad prowadzenia, stosowania i udostępniania krajowego rejestru urzędowego podziału terytorialnego kraju oraz związanych z tym obowiązków organów administracji rządowej i jednostek samorządu terytorialnego (Dz. U. Nr 157, poz. 1031, z późn. zm.³⁾),
 - b) trzecia i czwarta cyfra stanowią cyfry kodu powiatu właściwego ze względu na adres przedstawicielstwa, które reprezentuje zakład, ustalonego na podstawie przepisów, o których mowa w lit. a,
 - c) piąta i szósta cyfra stanowią cyfry informujące o kolejności wpisu zakładu do ewidencji zakładów państw trzecich, z których mogą być przywożone pasze,

- d) litery „pp” stanowią wyróżnik dla przedstawicielstwa, które reprezentuje zakład działający na terytorium Rzeczypospolitej Polskiej.

§ 2. Numer identyfikacyjny nadawany zakładom państw trzecich, z których mogą być przywożone pasze, prowadzących działalność gospodarczą, w zakresie wytwarzania pasz, która na terytorium Rzeczypospolitej Polskiej podlega rejestracji powiatowego lekarza weterynarii, składa się z:

- 1) kodu państwa trzeciego określonego w Polskiej Normie PN-EN ISO 3166-1:2002 Kody nazw krajów i ich jednostek administracyjnych - Część 1: Kody krajów;
- 2) ośmiu znaków alfanumerycznych, o których mowa w § 1 pkt 3.

§ 3. Rozporządzenie wchodzi w życie po upływie 14 dni od dnia ogłoszenia.

MINISTER ROLNICTWA I ROZWOJU WSI

¹⁾ Minister Rolnictwa i Rozwoju Wsi kieruje działem administracji rządowej - rolnictwo, na podstawie § 1 ust. 2 pkt 1 rozporządzenia Prezesa Rady Ministrów z dnia 31 października 2005 r. w sprawie szczegółowego zakresu działania Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi (Dz. U. Nr 220, poz. 1892).

²⁾ Przepisy niniejszego rozporządzenia wdrażają postanowienia:

1) Dyrektywy Komisji 98/51/WE z dnia 9 lipca 1998 r. ustanawiającej niektóre środki w celu wykonania dyrektywy Rady 95/69/WE ustanawiającej warunki i środki dla zatwierdzania i rejestracji określonych zakładów i pośredników prowadzących działalność w sektorze pasz zwierzęcych (Dz.Urz. WE L 208 z 24.7.1998, str. 43; Dz.Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 23, str. 282);

2) Dyrektywy Rady 95/69/WE z dnia 22 grudnia 1995r. ustanawiającej warunki i środki dla zatwierdzania i rejestracji określonych zakładów i pośredników prowadzących działalność w sektorze pasz zwierzęcych i zmieniającej dyrektywy 70/524/EWG, 74/63/EWG, 79/373/EWG i 82/471/EWG (Dz.Urz. WE L 332 z 30.12.1995, str. 15; Dz. Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 18, str. 365, z późn. zm.).

³⁾ Zmiany tekstu wymienionego rozporządzenia zostały ogłoszone w Dz. U. z 2000 r. Nr 13, poz. 161, z 2001 r. Nr 12, poz. 100 i Nr 157, poz. 1840, z 2002 r. Nr 177, poz. 1459, z 2003 r. Nr 208, poz. 2022, z 2004 r. Nr 254, poz. 2535, z 2004 r. Nr 254, poz. 2535 oraz z 2005 r. Nr 206, poz. 1706.

UZASADNIENIE

Projekt rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi w sprawie sposobu ustalania numeru identyfikacyjnego zakładów państw trzecich, z których mogą być przywożone pasze, stanowi wykonanie upoważnienia zawartego w art. 41 pkt 1 ustawy z dnia 2006 r. o paszach (Dz.U. Nr ..., poz.).

Konieczność wydania nowego rozporządzenia podyktowana jest uchynieniem ustawy o środkach żywienia zwierząt i zastąpienie jej ustawą z dnia 2006 r. o paszach.

Projekt rozporządzenia określa sposób ustalania numeru identyfikacyjnego zakładom państw trzecich, z których mogą być przywożone pasze, nadawanego przez powiatowego lekarza weterynarii.

Przedmiotowy projekt rozporządzenia wdraża postanowienia:

- 1) Dyrektywy Komisji 98/51/WE z dnia 9 lipca 1998 r. ustanawiającej niektóre środki w celu wykonania dyrektywy Rady 95/69/WE ustanawiającej warunki i środki dla zatwierdzania i rejestracji określonych zakładów i pośredników prowadzących działalność w sektorze pasz zwierzęcych (Dz.Urz. WE L 208 z 24.07.1998);
- 2) Dyrektywy Rady 95/69/WE z dnia 22 grudnia 1995r. ustanawiającej warunki i środki dla zatwierdzania i rejestracji określonych zakładów i pośredników prowadzących działalność w sektorze pasz zwierzęcych i zmieniającej dyrektywy 70/524/EWG, 74/63/EWG, 79/373/EWG i 82/471/EWG (Dz.Urz. WE L 332 z 30.12.1995).

Projekt rozporządzenia, w związku z tym, że wdraża postanowienia przepisów Unii Europejskiej nie podlega notyfikacji na podstawie rozporządzenia Rady Ministrów z dnia 23 grudnia 2002 r. w sprawie sposobu funkcjonowania krajowego systemu notyfikacji norm i aktów prawnych (Dz. U. Nr 239, poz. 2039 oraz z 2004 r. Nr 65, poz. 597).

Ocena skutków regulacji

1. Podmioty, na które oddziałuje akt normatywny

Regulacja będzie oddziaływać na podmioty prowadzące działalność gospodarczą w zakresie wprowadzania do obrotu pasz z państw trzecich na terytorium państw członkowskich Unii Europejskiej. Prowadzenie ewidencji zakładów państw trzecich zapewni pełną kontrolę nad przedsiębiorcami zagranicznymi wykonującymi działalność gospodarczą w państwie trzecim, do których należy zakład, a którzy utworzyli przedstawicielstwo z siedzibą na terytorium Rzeczypospolitej Polskiej. Ponieważ przedstawicielstwo, o którym mowa powyżej ma obowiązek zapewnienia, że zakład, który reprezentuje, spełnia wymagania, co najmniej równoważne wymaganiom określonym dla prowadzenia danego rodzaju działalności w przepisach ustawy z dnia 2006 r. o paszach (Dz. U. Nr, poz.), wprowadzane przez nich pasze nie będą:

- stanowić zagrożenia dla zdrowia ludzi i zwierząt,

- wpływały negatywnie na bezpieczeństwo środków spożywczych pochodzenia zwierzęcego,
- szkodliwie wpływać na środowisko naturalne.

2. Wpływ aktu normatywnego na sektor finansów publicznych, w tym budżet państwa i budżety jednostek samorządu terytorialnego

Wejście w życie rozporządzenia nie będzie miało wpływu na sektor finansów publicznych, w tym budżet państwa i budżety jednostek samorządu terytorialnego.

3. Wpływ aktu normatywnego na rynek pracy

Wejście w życie rozporządzenia nie będzie miało wpływu na rynek pracy.

4. Wpływ aktu normatywnego na konkurencyjność gospodarki i przedsiębiorczość, w tym na funkcjonowanie przedsiębiorstw

Wejście w życie rozporządzenia nie będzie miało wpływu na konkurencyjność gospodarki i przedsiębiorczość, w tym na funkcjonowanie przedsiębiorstw

5. Wpływ aktu normatywnego na rozwój regionalny

Wejście w życie rozporządzenia nie będzie miało wpływu na sytuację i rozwój regionów.

6. Konsultacje społeczne

W ramach prowadzonych uzgodnień projekt rozporządzenia zostanie skonsultowany z Federacją Branżowych Związków Producentów Rolnych, Izbą Gospodarczą Handlowców, Przetwórców Zbóż i Producentów Pasz, Krajową Izbą Lekarsko-Weterynaryjną, Krajową Izbą Producentów Drobiu i Pasz, Krajową Radą Izb Rolniczych, Krajowym Związkiem Rolników, Kółek i Organizacji Rolniczych, Niezależnym Samorządnym Związkiem Zawodowym Rolników Indywidualnych „Solidarność”, Niezależnym Samorządnym Związkiem Zawodowym „Solidarność”, Polskim Związkiem Producentów Pasz, Krajową Radą Drobiarstwa – Izbą Gospodarczą w Warszawie, Związkiem Zawodowym Rolnictwa „Samoobrona” i Polskim Stowarzyszeniem Producentów Karmy dla Zwierząt Domowych „Polkarma”.

**ROZPORZĄDZENIE
MINISTRA ROLNICTWA I ROZWOJU WSI¹⁾**

z dnia 2006 r.

**w sprawie wzoru ewidencji zakładów państw trzecich, z których mogą być
przywożone pasze²⁾**

Na podstawie art. 41 pkt 2 ustawy z dnia 2006 r. o paszach (Dz. U. Nr, poz.) zarządza się, co następuje:

§ 1. Określa się wzór ewidencji zakładów państw trzecich, z których mogą być przywożone pasze, podlegających na terytorium Rzeczypospolitej Polskiej:

- 1) zatwierdzeniu powiatowego lekarza weterynarii, stanowiący załącznik nr 1 do rozporządzenia;
- 2) rejestracji powiatowego lekarza weterynarii, stanowiący załącznik nr 2 do rozporządzenia.

§ 2. Rozporządzenie wchodzi w życie po upływie 14 dni od dnia ogłoszenia.

MINISTER ROLNICTWA I ROZWOJU WSI

¹⁾ Minister Rolnictwa i Rozwoju Wsi kieruje działem administracji rządowej - rolnictwo, na podstawie § 1 ust. 2 pkt 1 rozporządzenia Prezesa Rady Ministrów z dnia 31 października 2005 r. w sprawie szczegółowego zakresu działania Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi (Dz. U. Nr 220, poz. 1892).

²⁾ Przepisy niniejszego rozporządzenia wdrażają postanowienia:

1) dyrektywy Komisji 98/51/WE z dnia 9 lipca 1998 r. ustanawiającej niektóre środki w celu wykonania dyrektywy Rady 95/69/WE ustanawiającej warunki i środki dla zatwierdzania i rejestracji określonych zakładów i pośredników prowadzących działalność w sektorze pasz zwierzęcych (Dz.Urz. WE L 208 z 24.7.1998, str. 43; Dz.Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 23, str. 282);

2) dyrektywy Rady 95/69/WE z dnia 22 grudnia 1995r. ustanawiającej warunki i środki dla zatwierdzania i rejestracji określonych zakładów i pośredników prowadzących działalność w sektorze pasz zwierzęcych i zmieniającej dyrektywy 70/524/EWG, 74/63/EWG, 79/373/EWG i 82/471/EWG (Dz.Urz. WE L 332 z 30.12.1995, str. 15; Dz. Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 18, str. 365, z późn. zm.).

WZÓR EWIDENCJI ZAKŁADÓW PAŃSTW TRZECICH, Z KTÓRYCH MOGĄ BYĆ PRZYWOŻONE PASZE,
PODLEGAJĄCYCH NA TERYTORIUM RZECZYPOSPOLITEJ POLSKIEJ ZATWIERDZENIU POWIATOWEGO
LEKARZA WETERYNARII

Numer identyfikacyjny zakładu	Określenie przedmiotu działalności gospodarczej przedsiębiorcy zagranicznego przy użyciu kodu działalności *	Nazwa lub firma przedsiębiorcy zagranicznego oraz oznaczenie jego przedstawicielstwa na terytorium Rzeczypospolitej Polskiej **	Miejsce działalności prowadzonej w zakładzie z podaniem jego adresu oraz adres na terytorium Rzeczypospolitej Polskiej przedstawicielstwa przedsiębiorcy zagranicznego, do którego należy zakład	Uwagi ***
1	2	3	4	5

*1) w przypadku zakładów wytwarzających, przeznaczone do wprowadzania do obrotu:

a) dodatki paszowe z grup:

- kokcydiostatyków i histomonostatyków,
- stymulatorów wzrostu,
- witamin, prowitamin i innych substancji chemicznie zdefiniowanych o podobnym działaniu,
- pierwiastków śladowych,
- enzymów,
- mikroorganizmów,
- karotenoidów i ksantofili,
- przeciwutleniaczy, dla których jest określona maksymalna zawartość w mieszankach paszowych pełnoporcjowych,
- aminokwasy i ich sole,
- hydroksyanalogi aminokwasów,

b) materiały paszowe:

- białko uzyskiwane z mikroorganizmów należących do grupy bakterii, drożdży, glonów i grzybów, z wyłączeniem drożdży hodowanych na substancjach pochodzenia zwierzęcego lub roślinnego,
 - produkty uboczne uzyskiwane w procesie wytwarzania aminokwasów w drodze fermentacji,
- wpisuje się kod działalności o symbolu A;

2) w przypadku zakładów wytwarzających, przeznaczone do wprowadzania do obrotu, premiksy zawierające dodatki paszowe z grup:

- a) kokcydiostatyków i histomonostatyków;
- b) stymulatorów wzrostu;
- c) witamin A lub D i innych substancji chemicznie zdefiniowanych o podobnym działaniu;
- d) pierwiastków śladowych – miedzi lub selenu

- wpisuje się kod działalności o symbolu B;

3) w przypadku zakładów wytwarzających, przeznaczone do wprowadzania do obrotu, mieszanki paszowe z udziałem premiksów zawierających dodatki paszowe z grup:

- a) kokcydiostatyków i histomonostatyków;
- b) stymulatorów wzrostu;

- wpisuje się kod działalności o symbolu C.

** 1) obok nazwy lub firmy przedsiębiorcy zagranicznego podaje się nazwę zakładu, jeżeli jest ona inna niż nazwa lub firma przedsiębiorcy zagranicznego;

2) obok oznaczenia przedstawicielstwa przedsiębiorcy zagranicznego należy podać imię, nazwisko i adres na terytorium Rzeczypospolitej Polskiej osoby upoważnionej w przedstawicielstwie do reprezentowania przedsiębiorcy zagranicznego.

*** oprócz innych uwag wpisuje się informację o złożeniu oświadczenia, o którym mowa w art. 37 ust. 2 pkt 4 ustawy z dnia 2006 r. o paszach (Dz. U. Nr, poz.).

WZÓR EWIDENCJI ZAKŁADÓW PAŃSTW TRZECICH, Z KTÓRYCH MOGĄ BYĆ PRZYWOŻONE PASZE,
 PODLEGAJACYCH NA TERYTORIUM RZECZYPOSPOLITEJ POLSKIEJ REJESTRACJI POWIATOWEGO
 LEKARZA WETERYNARII

Numer identyfikacyjny zakładu	Określenie przedmiotu działalności gospodarczej przedsiębiorcy zagranicznego przy użyciu kodu działalności *	Nazwa lub firma przedsiębiorcy zagranicznego oraz oznaczenie jego przedstawicielstwa na terytorium Rzeczypospolitej Polskiej **	Miejsce działalności prowadzonej w zakładzie z podaniem jego adresu oraz adres na terytorium Rzeczypospolitej Polskiej przedstawicielstwa przedsiębiorcy zagranicznego, do którego należy zakład	Uwagi ***
1	2	3	4	5

*1) w przypadku zakładów wytwarzających, przeznaczone do wprowadzania do obrotu, dodatki paszowe, inne niż dodatki z grup:

- a) kokcydiostatyków i histomonostatyków,
- b) stymulatorów wzrostu,
- c) witamin, prowitamin i innych substancji chemicznie zdefiniowanych o podobnym działaniu,
- d) pierwiastków śladowych,
- e) enzymów,
- f) mikroorganizmów,
- g) karotenoidów i ksantofili,
- h) przeciwutleniaczy,
- i) aminokwasy i ich sole,
- j) hydroksyanalogi aminokwasów

dla których została ustalona ich maksymalna zawartość w mieszankach paszowych pełnoporcjowych – wpisuje się kod działalności o symbolu A;

2) w przypadku zakładów wytwarzających, przeznaczone do wprowadzania do obrotu, premiksy zawierające dodatki paszowe z grup:

- a) witamin i chemicznie zdefiniowanych substancji o podobnym działaniu, innych niż witaminy A i D,
- b) pierwiastków śladowych innych niż miedź i selen,
- c) enzymów,
- d) mikroorganizmów,
- e) karotenoidów i ksantofili,
- f) przeciwutleniaczy, dla których jest określona maksymalna zawartość w mieszankach paszowych pełnoporcjowych

– wpisuje się kod działalności o symbolu B;

3) w przypadku zakładów wytwarzających, przeznaczone do wprowadzania do obrotu, mieszanki paszowe z udziałem premiksów zawierających dodatki paszowe z grup:

- a) witamin, prowitamin i innych substancji chemicznie zdefiniowanych o podobnym działaniu,
- b) pierwiastków śladowych,
- c) enzymów,
- d) mikroorganizmów,
- e) karotenoidów i ksantofili,
- f) przeciwutleniaczy, dla których jest określona maksymalna zawartość w mieszankach paszowych pełnoporcjowych

– wpisuje się kod działalności o symbolu C.

**1) obok nazwy lub firmy przedsiębiorcy zagranicznego podaje się nazwę zakładu, jeżeli jest ona inna niż nazwa lub firma przedsiębiorcy zagranicznego;

2) obok oznaczenia przedstawicielstwa przedsiębiorcy zagranicznego należy podać imię, nazwisko i adres na terytorium Rzeczypospolitej Polskiej osoby upoważnionej w przedstawicielstwie do reprezentowania przedsiębiorcy zagranicznego.

*** oprócz innych uwag wpisuje się informację o złożeniu oświadczenia, o którym mowa w art. 37 ust. 2 pkt 4 ustawy z dnia 2006 r. o paszach (Dz. U. Nr, poz.).

UZASADNIENIE

Projekt rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi w sprawie wzoru ewidencji zakładów państw trzecich, z których mogą być przywożone pasze stanowi wykonanie upoważnienia zawartego w art. 41 pkt 2 ustawy z dnia 2006 r. o paszach (Dz. U. Nr., poz.).

Konieczność wydania przedmiotowego rozporządzenia podyktowana jest uchynieniem ustawy z dnia 23 sierpnia 2001 r. o środkach żywienia zwierząt i zastąpienie jej ustawą z dnia2006 r. o paszach.

Projekt rozporządzenia określa wzór ewidencji zakładów państw trzecich, z których mogą być przywożone pasze, mając na względzie przepisy Unii Europejskiej obowiązujące w tym zakresie.

Przy opracowaniu przedmiotowego zarządzenia wykorzystano następujące postanowienia:

- 1) Dyrektywy Komisji 98/51/WE z dnia 9 lipca 1998 r. ustanawiającej niektóre środki w celu wykonania dyrektywy Rady 95/69/WE ustanawiającej warunki i środki dla zatwierdzania i rejestracji określonych zakładów i pośredników prowadzących działalność w sektorze pasz zwierzęcych (Dz.Urz. WE L 208 z 24.07.1998);
- 2) Dyrektywy Rady 95/69/WE z dnia 22 grudnia 1995r. ustanawiającej warunki i środki dla zatwierdzania i rejestracji określonych zakładów i pośredników prowadzących działalność w sektorze pasz zwierzęcych i zmieniającej dyrektywy 70/524/EWG, 74/63/EWG, 79/373/EWG i 82/471/EWG (Dz.Urz. WE L 332 z 30.12.1995).

Przepisy projektu rozporządzenia wdrażają przepisy Unii Europejskiej, w związku z tym projekt nie podlega notyfikacji na podstawie rozporządzenia Rady Ministrów z dnia 23 grudnia 2002 r. w sprawie funkcjonowania krajowego systemu notyfikacji norm i aktów prawnych (Dz. U. Nr 239, poz. 2039 oraz z 2004 r. Nr 65, poz. 597).

Ocena skutków regulacji

1. Podmioty, na które oddziałuje akt normatywny

Regulacja oddziałuje, na podmioty prowadzące działalność gospodarczą w zakresie wprowadzania do obrotu pasz z państw trzecich na terytorium państw członkowskich Unii Europejskiej. Włączenie do polskiego porządku prawnego postanowień Dyrektyw, o których mowa powyżej w celu określenia wzoru wykazu zakładów państw trzecich, z których mogą być przywożone pasze, który jest jednolity dla wszystkich Państw Członkowskich Unii Europejskiej, umożliwi dostosowanie w tym zakresie polskich przepisów prawnych do wymogów Unii Europejskiej i spowoduje, że podmioty te będą łatwe do zidentyfikowania co równocześnie umożliwi im swobodne funkcjonowanie na obszarze Unii Europejskiej, gwarantując jednocześnie, że pasze od nich pochodzące nie będą:

- stanowić zagrożenia dla zdrowia ludzi i zwierząt,

- charakteryzować się negatywnym wpływem na bezpieczeństwo produktów pochodzenia zwierzęcego,
- szkodliwie wpływać na środowisko naturalne.

2. Wpływ aktu normatywnego na sektor finansów publicznych, w tym budżet państwa i budżety jednostek samorządu terytorialnego

Wejście w życie projektowanego rozporządzenia nie będzie miało wpływu na sektor finansów publicznych, w tym budżet państwa i budżety jednostek samorządu terytorialnego.

3. Wpływ aktu normatywnego na rynek pracy

Wejście w życie projektowanego rozporządzenia nie będzie miało wpływu na rynek pracy.

4. Wpływ aktu normatywnego na konkurencyjność gospodarki i przedsiębiorczość, w tym na funkcjonowanie przedsiębiorstw

Wejście w życie projektowanego rozporządzenia nie będzie miało wpływu na konkurencyjność gospodarki i przedsiębiorczość, w tym na funkcjonowanie przedsiębiorstw.

5. Wpływ aktu normatywnego na rozwój regionalny

Wejście w życie projektowanego rozporządzenia nie będzie miało wpływu na sytuację i rozwój regionalny.

6. Konsultacje społeczne

Projekt rozporządzenia zostanie konsultowany z Federacją Branżowych Związków Producentów Rolnych, Izbą Gospodarczą Handlowców, Przetwórców Zbóż i Producentów Pasz, Krajową Izbą Lekarsko-Weterynaryjną, Krajową Izbą Producentów Drobiu i Pasz, Krajową Radą Izb Rolniczych, Krajowym Związkiem Rolników, Kółek i Organizacji Rolniczych, Niezależnym Samorządnym Związkiem Zawodowym Rolników Indywidualnych „Solidarność”, Niezależnym Samorządnym Związkiem Zawodowym „Solidarność”, Polskim Związkiem Producentów Pasz, Krajową Radą Drobiarstwa – Izbą Gospodarczą w Warszawie, Związkiem Zawodowym Rolnictwa „Samoobrona” i Polskim Stowarzyszeniem Producentów Karmy dla Zwierząt Domowych „Polkarma”.

ROZPORZĄDZENIE

MINISTRA ROLNICTWA I ROZWOJU WSI¹⁾

z dnia 2006 r.

w sprawie szczegółowych warunków i sposobu pobierania próbek do badań oraz postępowania z pobranymi próbkami w ramach urzędowej kontroli²⁾

Na podstawie art. 44 pkt 1 ustawy z dnia 2006 r. o paszach (Dz. U. Nr , poz.) zarządza się, co następuje:

§ 1. Ilekroć w rozporządzeniu jest mowa o:

- 1) partii – oznacza to określoną ilość paszy, jednolitą pod względem rodzaju i jakości, wytworzoną według tej samej receptury;
- 2) próbce pierwotnej – oznacza to próbkę pobraną losowo i jednorazowo z jednego miejsca partii;
- 3) próbce ogólnej – oznacza to próbkę otrzymaną w wyniku połączenia i wymieszania próbek pierwotnych pobranych z jednej partii;
- 4) próbce zredukowanej – oznacza to reprezentatywną część próbki ogólnej otrzymaną w wyniku jej podziału;
- 5) średniej próbce laboratoryjnej – oznacza to część próbki zredukowanej albo część próbki ogólnej.

§ 2. Próbkę pierwotną pobiera się w sposób:

- 1) zapewniający uzyskanie próbek mających właściwości organoleptyczne i fizykochemiczne charakterystyczne dla danej partii;
- 2) niepowodujący zanieczyszczenia partii, z której są pobierane;
- 3) dostosowany do postaci i rodzaju paszy oraz wielkości partii, z której są pobierane;
- 4) zapewniający możliwie taką samą masę próbek pobranych z danej partii.

§ 3. 1. Próbkę pierwotną pobiera się za pomocą:

- 1) szufelki o płaskim dnie i prostopadłych ściankach bocznych;
- 2) sondy z otwieranymi okienkami lub przegrodami, której wymiary są dostosowane do charakterystyki partii i do rodzaju paszy;
- 3) mechanicznej sondy do pobierania próbek;

- 4) otwartej rurki, butelki albo próbnika, które służą do pobierania próbek paszy w postaci płynnej lub półpłynnej.
2. Próbkę ogólną i próbki zredukowane dzieli się za pomocą rozdzielaczy stożkowych lub wielokanalikowych lub przyrządów dzielących na ćwiartki (krzyżaki).
 3. Narzędzia, o których mowa w ust. 1 i 2, powinny:
 - 1) być wykonane z materiałów niepowodujących zmian fizykochemicznych próbki;
 - 2) mieć kształt i rodzaj powierzchni dostosowany do rodzaju paszy, z której pobierane są próbki;
 - 3) być osuszone i wolne od zanieczyszczeń.

§ 4. 1. Minimalna liczba pobieranych próbek pierwotnych z nieopakowanej paszy w postaci stałej wynosi:

- 1) 7 próbek pierwotnych, w przypadku partii nie większej niż 2,5 t;
 - 2) pierwiastek kwadratowy z iloczynu liczby 20 i ilości ton stanowiących partię, nie więcej jednak niż 40 próbek pierwotnych, w przypadku partii większej niż 2,5 t; jeżeli obliczona liczba próbek pierwotnych nie stanowi liczby całkowitej, należy zaokrąglić ją do następującej po niej liczby całkowitej.
2. Minimalna liczba opakowań lub pojemników, z których pobiera się próbki pierwotne z opakowanej paszy w postaci stałej, płynnej albo półpłynnej, wynosi:
 - 1) w przypadku opakowań lub pojemników, jeżeli masa lub objętość ich zawartości jest większa niż kilogram albo litr:
 - a) wszystkie opakowania lub pojemniki, jeżeli partia zawiera do 4 opakowań lub pojemników,
 - b) 4 opakowania lub 4 pojemniki, jeżeli partia zawiera od 5 do 16 opakowań lub pojemników,
 - c) pierwiastek kwadratowy z liczby opakowań lub pojemników stanowiących partię, nie więcej jednak niż 20 opakowań lub pojemników, jeżeli partia zawiera ponad 16 opakowań lub pojemników; jeżeli obliczona liczba opakowań lub pojemników nie stanowi liczby całkowitej, należy zaokrąglić ją do następującej po niej liczby całkowitej;
 - 2) w przypadku opakowań lub pojemników, jeżeli masa lub objętość ich zawartości jest nie większa niż kilogram albo litr - 4 opakowania lub 4 pojemniki.
 3. Minimalna liczba próbek pierwotnych pobieranych w celu kontroli substancji niepożądanych lub substancji, które mogą być rozmieszczone niejednolicie, w

szczególności takich jak aflatoksyny, sporysz, rącznik pospolity oraz krotalaria, z nieopakowanej paszy, w zależności od jej masy lub objętości, odpowiada minimalnej liczbie pobieranych próbek pierwotnych, o której mowa w ust. 1.

4. Minimalna liczba opakowań lub pojemników, z których pobiera się próbki pierwotne w celu kontroli substancji niepożądanych lub substancji, które mogą być rozmieszczone niejednolicie, w szczególności takich jak aflatoksyny, sporysz, rącznik pospolity oraz krotalaria, wynosi:

- 1) wszystkie opakowania lub pojemniki, jeżeli partia zawiera do 4 opakowań lub pojemników;
 - 2) 4 opakowania lub 4 pojemniki, jeżeli partia zawiera od 5 do 16 opakowań lub pojemników;
 - 3) pierwiastek kwadratowy z liczby opakowań lub pojemników stanowiących partię, nie więcej jednak niż 40 opakowań lub pojemników, jeżeli partia zawiera ponad 16 opakowań lub pojemników; jeżeli obliczona liczba opakowań lub pojemników nie stanowi liczby całkowitej, należy zaokrąglić ją do następującej po niej liczby całkowitej.
5. Z każdej części partii w postaci bloków lub lizawek, liczącej po 25 sztuk, pobiera się jedną próbkę pierwotną, nie więcej jednak niż 4 próbki z całej partii.

§ 5. 1. Próbki z nieopakowanej paszy w postaci stałej pobiera się następująco:

- 1) partię dzieli się, teoretycznie, na takie same części, których liczba odpowiada minimalnej liczbie pobieranych próbek pierwotnych, o której mowa w § 4 ust 1;
 - 2) pobiera się co najmniej jedną próbkę pierwotną z każdej części, o której mowa w pkt 1.
2. Próbki z partii przemieszczanej (załadunek lub rozładunek), nieopakowanej paszy w postaci stałej pobiera się za pomocą zainstalowanych w przewodach sond mechanicznych lub przez zanurzenie narzędzi do pobierania próbek w strumieniu paszy, z całej głębokości i szerokości tego strumienia.
3. Z partii opakowanej paszy w postaci stałej, płynnej albo półpłynnej pobiera się co najmniej jedną próbkę pierwotną bezpośrednio z każdego opakowania lub pojemnika albo w trakcie ich opróżniania.
4. Pobieranie próbek pierwotnych z partii opakowanej, płynnej albo półpłynnej, jednorodnej lub możliwej do ujednorodnienia paszy obejmuje:
- 1) wymieszanie zawartości opakowania lub pojemnika, z którego będą pobierane próbki pierwotne;
 - 2) pobranie próbek pierwotnych bezpośrednio z opakowania lub pojemnika albo w

trakcie ich opróżniania.

5. W przypadku partii opakowanej, płynnej albo półpłynnej, nieulegającej ujednorodnieniu paszy:
 - 1) próbki pierwotne pobiera się bezpośrednio z różnych poziomów opakowania lub pojemnika lub w trakcie ich opróżniania, przy czym pierwszą frakcję odrzuca się;
 - 2) całkowita objętość próbek pierwotnych nie powinna być mniejsza niż 10 l.
6. W razie pobierania próbek pierwotnych z opakowanej albo nieopakowanej paszy celu kontroli zawartości substancji niepożądanych lub substancji, które mogą być rozmieszczone niejednolicie, w szczególności takich jak aflatoksyny, sporysz, rącznik pospolity oraz krotalaria:
 - 1) partię dzieli się, teoretycznie, na takie same części, zwane dalej „częściami partii”, których liczba odpowiada minimalnej liczbie próbek ogólnych, o której mowa w § 6 ust. 2;
 - 2) liczbę pobieranych próbek pierwotnych rozdziela się możliwie równo na wszystkie części partii;
 - 3) próbki pierwotne pobiera się z każdej części partii;
 - 4) próbki pierwotne pobrane z różnych części partii nie mogą być łączone, zaś próbki pierwotne pobrane z jednej części partii łączy się przez ich staranne wymieszanie w celu otrzymania próbki ogólnej;
 - 5) masa próbek pierwotnych pobranych z jednej części partii nie powinna być mniejsza niż 4 kg.
7. W przypadku bloku lub lizawki o masie:
 - 1) większej niż kilogram – próbkę pierwotną stanowi odcięta część bloku lub lizawki;
 - 2) nie większej niż kilogram - próbkę pierwotną stanowi jeden blok albo jedna lizawka.

§ 6. 1. Pobrane próbki pierwotne należy połączyć i wymieszać w jedną dla każdej partii próbkę ogólną; nie dotyczy to próbek pierwotnych, o których mowa w § 5 ust. 6.

2. Minimalna liczba próbek ogólnych partii badanej w celu kontroli zawartości substancji niepożądanych lub substancji, które mogą być rozmieszczone niejednolicie wynosi:

- 1) w przypadku nieopakowanej paszy:
 - a) 1 - jeżeli partia ma masę do tony,
 - b) 2 - jeżeli partia ma masę powyżej tony do 10 t,

- c) 3 - jeżeli partia ma masę powyżej 10 do 40 t,
 - d) 4 - jeżeli partia ma masę powyżej 40 t;
- 2) w przypadku opakowanej paszy:
- a) 1 - jeżeli partia liczy do 16 opakowań lub pojemników,
 - b) 2 - jeżeli partia liczy od 17 do 200 opakowań lub pojemników,
 - c) 3 - jeżeli partia liczy od 201 do 800 opakowań lub pojemników,
 - d) 4 - jeżeli partia liczy powyżej 800 opakowań lub pojemników.
3. Minimalna masa lub objętość próbki ogólnej wynosi:
- 1) w przypadku partii nieopakowanej paszy występującej w postaci stałej – 4 kg;
 - 2) w przypadku partii opakowanej paszy:
 - a) 4 opakowania lub 4 pojemniki, jeżeli pasza występuje w postaci stałej, płynnej albo półpłynnej, a masa lub objętość zawartości opakowania lub pojemnika jest nie większa niż kilogram albo litr,
 - b) 4 kg lub 4 l, jeżeli pasza występuje w postaci stałej, płynnej albo półpłynnej, a masa lub objętość zawartości opakowania lub pojemnika jest większa niż kilogram albo litr;
 - 3) w przypadku partii paszy występującej w postaci bloków lub lizawek:
 - a) 4 bloki lub 4 lizawki, jeżeli masa bloku lub lizawki jest nie większa niż kilogram,
 - b) 4 kg, jeżeli masa bloku lub lizawki jest większa niż kilogram.

§ 7. 1. Próbkę ogólną miesza się, rozdrabniając wszelkie zbrylenia.

2. Jeżeli z zakresu badań wynika potrzeba zredukowania próbki ogólnej, to redukuje się ją w sposób pozwalający zachować jej reprezentatywność – nie mniej niż do 2 kg lub 2 l, w celu otrzymania próbki zredukowanej.

§ 8. 1. Próbkę ogólną albo próbkę zredukowaną dzieli się na nie mniej niż 3 części, o takiej samej masie, stanowiące średnie próbki laboratoryjne.

2. Masa lub objętość średniej próbki laboratoryjnej nie powinna być mniejsza niż 500g lub 500 ml.

3. Średnią próbkę laboratoryjną pakuje się i zabezpiecza przed zmianami jakościowymi i ilościowymi.

§ 9. 1. Opakowanie średniej próbki laboratoryjnej oraz jego zamknięcie powinny być szczelne, czyste, suche i bezwonne oraz zabezpieczać średnią próbkę laboratoryjną przed zmianami jakościowymi i ilościowymi.

2. Zamknięcie opakowania zabezpiecza się w taki sposób, aby niemożliwe było jego otwarcie bez naruszenia tego zabezpieczenia.

§ 10. 1. Opakowanie średniej próbki laboratoryjnej powinno zostać opatrzone informacją zawierającą w szczególności:

- 1) nazwę paszy, z której utworzono średnią próbkę laboratoryjną;
- 2) wielkość partii, z której utworzono średnią próbkę laboratoryjną;
- 3) dane umożliwiające identyfikację partii, z której utworzono średnią próbkę laboratoryjną;
- 4) datę i miejsce utworzenia średniej próbki laboratoryjnej;
- 5) imię i nazwisko osoby, która utworzyła średnią próbkę laboratoryjną;
- 6) numer protokołu pobrania próbek do badań, o którym mowa w §11 ust 1.

2. Informacja, o której mowa w ust. 1, powinna być umieszczona w sposób trwały, uniemożliwiający zmianę jej treści lub zniszczenie.

§ 11. 1. Po utworzeniu średniej próbki laboratoryjnej sporządza się protokół pobrania próbek do badań.

2. Co najmniej jedną średnią próbkę laboratoryjną wraz z protokołem dostarcza się niezwłocznie po jej utworzeniu do laboratorium upoważnionego do prowadzenia badań w ramach kontroli urzędowej.

§ 12. Traci moc rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 17 czerwca 2004 r. w sprawie szczegółowych warunków i sposobu pobierania próbek środków żywienia zwierząt i pasz leczniczych do badań oraz postępowania z pobranymi próbkami w ramach kontroli urzędowej (Dz. U. Nr 158, poz. 1654).

§ 13. Rozporządzenie wchodzi w życie po upływie 14 dni od dnia ogłoszenia.

MINISTER ROLNICTWA I ROZWOJU WSI

¹⁾ Minister Rolnictwa i Rozwoju Wsi kieruje działem administracji rządowej - rolnictwo, na podstawie § 1 ust. 2 pkt 1 rozporządzenia Prezesa Rady Ministrów z dnia 31 października 2005 r. w sprawie szczegółowego zakresu działania Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi (Dz. U. Nr 220, poz. 1892).

²⁾ Przepisy niniejszego rozporządzenia wdrażają postanowienia dyrektywy 76/371/EWG z dnia 1 marca 1976 r. ustalającej wspólnotowe metody pobierania próbek w celu urzędowej kontroli pasz (Dz. Urz. WE L 102 z 15.04.1976, str. 1; Dz. Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 3, str. 21).

UZASADNIENIE

Projekt rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi w sprawie szczegółowych warunków i sposobu pobierania próbek do badań oraz postępowania z pobranymi próbkami w ramach kontroli urzędowej, stanowi wykonanie upoważnienia zawartego w art. 44 pkt 1 ustawy z dnia 2006 r. o paszach (Dz. U. Nr...., poz. ...).

Projektowane rozporządzenie było poprzedzone rozporządzeniem Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 17 czerwca 2004 r. w sprawie szczegółowych warunków i sposobu pobierania próbek środków żywienia zwierząt i pasz leczniczych do badań oraz postępowania z pobranymi próbkami w ramach kontroli urzędowej, stanowiącym wykonanie delegacji art. 44 ust. 10 pkt 1 ustawy z dnia 23 sierpnia 2001 r. o środkach żywienia zwierząt (Dz. U. z 2005 r. Nr 255, poz. 2143).

Konieczność wydania nowego rozporządzenia podyktowana jest uchycieniem ustawy o środkach żywienia zwierząt i zastąpienie jej ustawą z dnia2006 r. o paszach.

Projekt rozporządzenia dostosowuje prawo polskie do regulacji prawnych obowiązujących w Unii Europejskiej w zakresie wytwarzania i wprowadzania do obrotu właściwej jakości pasz, które nie powodują zagrożeń dla zwierząt, dla jakości środków spożywczych pochodzenia zwierzęcego i środowiska. W związku z powyższym uregulowania zawarte w projekcie rozporządzenia będą miały pozytywny wpływ na bezpieczeństwo zdrowotne ludności.

Szczegółowe warunki i sposób pobierania próbek pasz uregulowano zgodnie z przepisami dyrektywy Nr 76/371/EWG z dnia 1 marca 1976 r. ustalającej wspólnotowe metody pobierania próbek w celu urzędowej kontroli pasz.

Ponieważ przepisy projektu rozporządzenia wdrażają przepisy Unii Europejskiej, projekt nie podlega notyfikacji w rozumieniu przepisów rozporządzenia Rady Ministrów z dnia 23 grudnia 2002 r. w sprawie sposobu funkcjonowania krajowego systemu notyfikacji norm i aktów prawnych (Dz. U. Nr 239, poz. 2039 oraz z 2004 r. Nr 65, poz. 597).

OCENA SKUTKÓW REGULACJI

1. Podmioty, na które oddziałuje akt normatywny

Przedmiotowa regulacja będzie oddziaływać na powiatowych lekarzy weterynarii upoważnionych do prowadzenia urzędowej kontroli pasz. Z przepisów

przedmiotowego rozporządzenia będą mogły skorzystać także instytucje, dla których niezbędne jest uzyskanie próbek reprezentatywnych dla określonej partii towarów, w tym do pobierania tzw. próbek archiwalnych.

Wdrożenie przepisów Unii Europejskiej w zakresie objętym przedmiotowym rozporządzeniem spowoduje, że pasze stosowane w żywieniu zwierząt nie będą stanowiły zagrożenia dla zdrowia ludzi i zwierząt, charakteryzować się negatywnym wpływem na bezpieczeństwo środków spożywczych pochodzenia zwierzęcego oraz szkodliwie wpływać na środowisko naturalne.

2. Wpływ aktu normatywnego na sektor finansów publicznych, w tym budżet państwa i budżety jednostek samorządu terytorialnego

Wejście w życie rozporządzenia nie będzie miało wpływu na sektor finansów publicznych, w tym budżet państwa i budżety jednostek samorządu terytorialnego.

3. Wpływ aktu normatywnego na rynek pracy

Wejście w życie rozporządzenia nie będzie miało wpływu na rynek pracy.

4. Wpływ aktu normatywnego na konkurencyjność gospodarki i przedsiębiorczość, w tym na funkcjonowanie przedsiębiorstw

Wejście w życie rozporządzenia nie będzie miało wpływu na konkurencyjność gospodarki i przedsiębiorczość, w tym na funkcjonowanie przedsiębiorstw.

5. Wpływ aktu normatywnego na rozwój regionalny

Wejście w życie rozporządzenia nie będzie miało wpływu na sytuację i rozwój regionalny.

6. Konsultacje społeczne

Projekt rozporządzenia zostanie konsultowany z Federacją Branżowych Związków Producentów Rolnych, Izbą Gospodarczą Handlowców, Przetwórców Zbóż i Producentów Pasz, Krajową Izbą Lekarsko-Weterynaryjną, Krajową Izbą Producentów Drobiu i Pasz, Krajową Radą Izb Rolniczych, Krajowym Związkiem Rolników, Kółek i Organizacji Rolniczych, Niezależnym Samorządnym Związkiem Zawodowym Rolników Indywidualnych „Solidarność”, Niezależnym Samorządnym Związkiem Zawodowym „Solidarność”, Polskim Związkiem Producentów Pasz, Krajową Radą Drobiarstwa – Izbą Gospodarczą w Warszawie, Związkiem Zawodowym Rolnictwa „Samoobrona” i Polskim Stowarzyszeniem Producentów Karmy dla Zwierząt Domowych „Polkarma”.

ROZPORZĄDZENIE
MINISTRA ROLNICTWA I ROZWOJU WSI¹⁾

z dnia.....2006 r.

w sprawie metodyki postępowania analitycznego w zakresie określania zawartości składników pokarmowych i dodatków paszowych w materiałach paszowych, premiksach, mieszankach paszowych i paszach leczniczych²⁾

Na podstawie art. 44 pkt 2 ustawy z dnia 2006 r. o paszach (Dz. U. Nr....., poz.....) zarządza się, co następuje:

§ 1. Ustala się metodykę postępowania analitycznego w zakresie określania zawartości składników pokarmowych i dodatków paszowych w materiałach paszowych, premiksach, mieszankach paszowych i paszach leczniczych, stanowiącą załącznik do rozporządzenia.

§ 2. Traci moc rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 6 marca 2006 r. w sprawie metodyki postępowania analitycznego w zakresie określania zawartości składników pokarmowych i dodatków paszowych w materiałach paszowych, premiksach, mieszankach paszowych i paszach leczniczych (Dz. U. Nr....., poz.....).

§ 3. Rozporządzenie wchodzi w życie po upływie 14 dni od dnia ogłoszenia.

MINISTER ROLNICTWA
I ROZWOJU WSI

¹⁾ Minister Rolnictwa i Rozwoju Wsi kieruje działem administracji rządowej - rolnictwo, na podstawie § 1 ust. 2 pkt 1 rozporządzenia Prezesa Rady Ministrów z dnia 31 października 2005 r. w sprawie szczegółowego zakresu działania Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi (Dz. U. Nr 220, poz. 1892).

2) Przepisy niniejszego rozporządzenia wdrażają postanowienia:

- 1) dyrektywy Komisji 71/250/EWG z dnia 15 czerwca 1971 r. ustanawiającej wspólnotowe metody analizy do celów urzędowej kontroli pasz (Dz. Urz. WE L 155 z 12.07.1971, str. 13; Dz. Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 1, str. 237);
- 2) dyrektywy Komisji 71/393/EWG z dnia 18 listopada 1971 r. ustanawiającej wspólnotowe metody analizy do celów urzędowej kontroli pasz (Dz. Urz. WE L 279 z 20.12.1971, str. 7; Dz. Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 1, str. 277);
- 3) dyrektywy Komisji 72/199/EWG z dnia 27 kwietnia 1972 r. ustanawiającej wspólnotowe metody analizy do celów urzędowej kontroli pasz (Dz. Urz. WE L 123 z 29.05.1972, str. 6; Dz. Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 1, str. 306).
- 4) dyrektywy Komisji 73/46/EWG z dnia 5 grudnia 1972 r. ustanawiającej wspólnotowe metody analizy do celów urzędowej kontroli pasz (Dz. Urz. WE L 83 z 30.03.1973, str. 21; Dz. Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 2, str. 12);
- 5) dyrektywy Komisji 76/372/EWG z dnia 1 marca 1976 r. ustanawiającej wspólnotowe metody analizy do celów urzędowej kontroli pasz (Dz. Urz. WE L 102 z 15.04.1976, str. 8; Dz. Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 3, str. 28);
- 6) dyrektywy Komisji 78/633/EWG z dnia 15 czerwca 1978 r. ustanawiającej wspólnotowe metody analizy do celów urzędowej kontroli pasz (Dz. Urz. WE L 206 z 29.07.1978, str. 43; Dz. Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 3, str. 250);
- 7) dyrektywy Komisji 81/715/EWG z dnia 31 lipca 1981 r. ustanawiającej wspólnotowe metody analizy do celów urzędowej kontroli pasz (Dz. Urz. WE L 257 z 10.09.1981, str. 38; Dz. Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 5, str. 76);
- 8) dyrektywy Komisji 84/425/EWG z dnia 25 lipca 1984 r. ustanawiającej wspólnotowe metody analizy do celów urzędowej kontroli pasz (Dz. Urz. WE L 238 z 6.09.1984, str. 34; Dz. Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 6, str. 111);
- 9) dyrektywy Komisji 93/70/EWG z dnia 28 lipca 1993 r. ustanawiającej wspólnotowe metody analizy do celów urzędowej kontroli pasz (Dz. Urz. WE L 234 z 17.09.1993, str. 17; Dz. Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 15, str. 67);
- 10) dyrektywy Komisji 93/117/WE z dnia 17 grudnia 1993 r. ustanawiającej wspólnotowe metody analizy do celów urzędowej kontroli pasz (Dz. Urz. WE L 329 z 30.12.1993, str. 54; Dz. Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 15, str. 254);
- 11) dyrektywy Komisji 98/64/WE z dnia 3 września 1998 r. ustanawiającej wspólnotowe metody analiz do oznaczenia aminokwasów, surowych olejów i tłuszczów oraz olaquindoksu w paszach i zmieniającej dyrektywę 71/393/EWG (Dz. Urz. WE L 257 z 19.09.1998, str. 14; Dz. Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 23, str. 433);
- 12) dyrektywy Komisji 1999/27/WE z dnia 20 kwietnia 1999 r. ustanawiającej wspólnotowe metody analiz dotyczących oznaczania amprolium, diklaurilu i karbadoksu w paszach oraz zmieniającej dyrektywy 71/250/EWG, 73/46/EWG i uchylającej dyrektywę 74/203/EWG (Dz. Urz. WE L 118 z 6.05.1999, str. 36; Dz. Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 25, str. 235);

- 13) dyrektywy Komisji 1999/76/WE z dnia 23 lipca 1999 r. ustanawiającej wspólnotową metodę analizy w celu oznaczania lasalocidu-soli sodowej w paszach (Dz. Urz. WE L 207 z 6.08.1999, str. 13; Dz. Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 26, str. 250);
- 14) dyrektywy Komisji 2000/45/WE z dnia 6 lipca 2000 r. ustanawiającej wspólnotowe metody analizy do celów oznaczania witaminy A, witaminy E i tryptofanu w paszach (Dz. Urz. WE L 174 z 13.07.2000, str. 32; Dz. Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 30, str. 12);
- 15) dyrektywy Komisji 2002/70/WE z dnia 26 lipca 2002 r. ustanawiającej wymagania dotyczące oznaczania poziomów dioksyn i dioksynopodobnych PCB w paszach (Dz. Urz. WE L 209 z 6.08.2002, str. 15; Dz. Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 36, str. 430);
- 16) dyrektywy Komisji 2003/126/WE z dnia 23 grudnia 2003 r. w sprawie analitycznej metody określania składników pochodzenia zwierzęcego do celów urzędowej kontroli pasz (Dz. Urz. UE L 339 z 24.12.2003, str. 78).

Dane dotyczące ogłoszenia dyrektyw dotyczą ich ogłoszenia w Polskim wydaniu specjalnym Dziennika Urzędowego Unii Europejskiej.

METODYKA POSTĘPOWANIA ANALITYCZNEGO W ZAKRESIE OKREŚLANIA ZAWARTOŚCI SKŁADNIKÓW POKARMOWYCH I DODATKÓW PASZOWYCH

W MATERIAŁACH PASZOWYCH, PREMIKSACH, MIESZANKACH PASZOWYCH I PASZACH LECZNICZYCH

Spis treści

ROZDZIAŁ 1 **Postanowienia ogólne dotyczące metodyki postępowania analitycznego w
zakresie określania zawartości składników pokarmowych i dodatków
paszowych w materiałach paszowych, premiksach, mieszankach
paszowych i paszach leczniczych**

- 1.1. **Przygotowanie próbek do badań**
- 1.2. **Wytyczne dotyczące odczynników i aparatury używanej w metodyce postępowania
analitycznego**
- 1.3. **Stosowanie metodyki postępowania analitycznego i wyrażanie wyników**

ROZDZIAŁ 2 **Badanie podstawowych składników pokarmowych**

- 2.1. Oznaczanie białka surowego metodą Kjeldahla
- 2.2. Oznaczanie surowych białek rozpuszczonych pepsyną i kwasem chlorowodorowym
 - 2.2.1. Oznaczanie aktywności pepsyny
- 2.3. Oznaczanie wilgotności
- 2.4. Oznaczanie wilgotności olejów i tłuszczów
- 2.5. Oznaczanie popiołu surowego
- 2.6. Oznaczanie popiołu nierozpuszczalnego w kwasie chlorowodorowym
- 2.7. Oznaczanie włókna surowego
- 2.8. Oznaczanie surowego oleju i tłuszczu
- 2.9. Oznaczanie skrobi metodą polarymetryczną
- 2.10. Oznaczanie cukrów
- 2.11. Oznaczanie laktozy

ROZDZIAŁ 3 **Badanie aminokwasów**

- 3.1. Oznaczanie aminokwasów
- 3.2. Oznaczanie tryptofanu

ROZDZIAŁ 4 Badanie składników mineralnych

- 4.1. Oznaczanie wapnia
- 4.2. Oznaczanie sodu
- 4.3. Oznaczanie potasu
- 4.4. Oznaczanie chlorków
- 4.5. Oznaczanie magnezu
- 4.6. Oznaczanie całkowitej zawartości fosforu metodą fotometryczną
- 4.7. Oznaczanie węglanów
- 4.8. Oznaczanie żelaza, miedzi, manganu i cynku

ROZDZIAŁ 5 Badanie witamin

- 5.1. Oznaczanie witaminy A metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej
- 5.2. Oznaczanie witaminy E metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej

ROZDZIAŁ 6 Badanie stymulatorów wzrostu

- 6.1. Oznaczanie wirginiamicyny metodą dyfuzji w żelu agarowym
- 6.2. Oznaczanie Zn-bacytracyny metodą dyfuzji w żelu agarowym
- 6.3. Oznaczanie flawofosfolipolu metodą dyfuzji w żelu agarowym
- 6.4. Oznaczanie spiramycyny metodą dyfuzji w żelu agarowym
- 6.5. Oznaczanie awoparcyny metodą dyfuzji w żelu agarowym
- 6.6. Oznaczanie soli sodowej monenzyny metodą dyfuzji w żelu agarowym
- 6.7. Oznaczanie-tylozyny metodą dyfuzji w żelu agarowym
- 6.8. Oznaczanie karbadoksu
- 6.9. Oznaczanie olaquindoksu

ROZDZIAŁ 7 Badanie kokcydiostatyków i innych produktów leczniczych

- 7.1. Oznaczanie metylobenzoquatu
- 7.2. Oznaczanie halofuginonu
- 7.3. Oznaczanie robenidyny
- 7.4. Oznaczanie amprolium metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej
- 7.5. Oznaczanie diklazurilu
- 7.6. Oznaczanie soli sodowej lasalocidu metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej

ROZDZIAŁ 8 Badanie substancji i materiałów niepożądanych i szkodliwych

- 8.1. Oznaczanie aflatoksyny B₁ metodą jednokierunkowej chromatografii cienkowarstwowej

- 8.2. Oznaczanie aflatoksyny B₁ metodą wysokosprawnej chromatografii ciekowej
- 8.3. Oznaczanie kwasu cyjanowodorowego
- 8.4. Szacowanie aktywności ureazy w produktach sojowych
- 8.5. Oznaczanie gossypolu
- 8.6. Wytyczne dotyczące mikroskopowej identyfikacji i oznaczania składników pochodzenia zwierzęcego
- 8.7. Oznaczanie lotnych związków azotowych
- 8.8. Oznaczanie poziomów dioksyn i dioksynopodobnych PCB

ROZDZIAŁ 9

Badanie niebiałkowych związków azotowych

Oznaczanie mocznika

ROZDZIAŁ 1

POSTANOWIENIA OGÓLNE DOTYCZĄCE METODYKI POSTĘPOWANIA ANALITYCZNEGO W ZAKRESIE OKREŚLANIA ZAWARTOŚCI SKŁADNIKÓW POKARMOWYCH I DODATKÓW PASZOWYCH W MATERIAŁACH PASZOWYCH, PREMIKSACH, MIESZANKACH PASZOWYCH I PASZACH LECZNICZYCH

1.1. PRZYGOTOWANIE PRÓBEK DO BADAŃ

1. CEL I ZAKRES STOSOWANIA METODY

W rozdziale opisano tryb postępowania przy przygotowaniu próbki do badań ze średniej próbki laboratoryjnej, przesyłanej do laboratorium upoważnionego do prowadzenia badań w ramach kontroli urzędowej zgodnie z przepisami rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 17 czerwca 2004 r. w sprawie szczegółowych warunków i sposobu pobierania próbek środków żywienia zwierząt i pasz leczniczych do badań oraz postępowania z pobranymi próbkami w ramach kontroli urzędowej (Dz. U. Nr 158, poz. 1654).

Próbkę do badań przygotowuje się, tak aby odważone ilości, zgodnie z metodyką postępowania analitycznego były jednorodne i reprezentatywne w odniesieniu do średniej próbki laboratoryjnej.

2. ZALECANE ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

Wszystkie konieczne czynności powinny być wykonywane w taki sposób, aby zapobiec zanieczyszczeniu i zmianie składu próbki do badań. Rozdrabnianie, mieszanie, przesiewanie powinno być wykonywane możliwie szybko, przy ograniczonym dostępie powietrza i światła do próbki do badań. Młynki i rozdrabniacze powodujące nagrzewanie próbki do badań podczas pracy nie powinny być stosowane. W przypadku środków żywienia zwierząt szczególnie wrażliwych na ciepło zaleca się ręczne rozdrabnianie. Ponadto zastosowany sprzęt nie powinien stanowić źródła zanieczyszczenia środka żywienia zwierząt mikroelementami.

W przypadku gdy przygotowanie próbki do badań nie może być przeprowadzone bez znacznych zmian poziomu wilgotności średniej próbki laboratoryjnej, oznaczyć poziom jej wilgotności przed i po przygotowaniu próbki do badań, zgodnie z metodą oznaczania wilgotności.

3. SPOSÓB POSTĘPOWANIA

Średnia próbka laboratoryjna jest dokładnie mieszana mechanicznie albo ręcznie, a następnie dzielona, na dwie równe części i jeżeli jest to wymagane, stosuje się metodę dzielenia na ćwiartki. Jedną z uzyskanych części średniej próbki laboratoryjnej umieścić w odpowiednim, czystym i suchym pojemniku, wyposażonym w hermetyczny korek, a pozostałą lub reprezentatywną część średniej próbki laboratoryjnej o masie, co najmniej 100 g przygotować w sposób opisany poniżej.

3.1. Pasze, które mogą być zmielone

W przypadku gdy w metodyce postępowania analitycznego nie ustalono inaczej, po zmieleniu, jeżeli to konieczne, całą próbkę przesiać przez sito o oczkach w kształcie kwadratu i boku wielkości 1 mm, zgodnie z zaleceniem ISO R565. Unikać nadmiernego rozdrobnienia.

Przesianą próbkę zamieszać i umieścić w odpowiednim, czystym i suchym pojemniku wyposażonym w hermetyczny korek. Bezpośrednio przed odważeniem próbki do badań, zamieszać powtórnie.

3.2. Pasze, które mogą być zmielone po wysuszeniu

W przypadku gdy w metodyce postępowania analitycznego nie ustalono inaczej, wysuszyć

próbkę w celu obniżenia poziomu wilgotności od 8 do 12%, zgodnie ze wstępną procedurą

suszenia opisaną w metodyce oznaczania wilgotności. Następnie postępować w sposób

określony w ust. 3.1.

3.3. Pasze płynne lub półpłynne

Próbkę umieścić w odpowiednim, czystym i suchym pojemniku wyposażonym w hermetyczny korek. Bezpośrednio przed odważeniem próbki do badań, dokładnie zamieszać.

3.4. Inne pasze

Próbki, które nie mogą być przygotowane w jeden z wyżej opisanych sposobów, powinny być

przygotowane w sposób, który zapewni, że odważone ilości wymagane do metodyki

postępowania analitycznego są jednorodne i reprezentatywne dla średniej próbki laboratoryjnej.

4. PRZECHOWYWANIE PRÓBEK DO BADAŃ

Próbki przechowuje się w temperaturze, która nie spowoduje zmiany ich składu. Próbki przeznaczone do badania witamin lub substancji, które są szczególnie wrażliwe na światło, przechowuje się w brązowych, szklanych pojemnikach.

1.2. WYTYCZNE DOTYCZĄCE ODCZYNNIKÓW I APARATURY UŻYWANEJ W METODYCE POSTĘPOWANIA ANALITYCZNEGO

1.2.1. Jeżeli nie zaznaczono inaczej w metodyce postępowania analitycznego, wszystkie stosowane odczynniki powinny posiadać stopień czystości do analizy. W przypadku oznaczania mikroelementów, czystość odczynników sprawdza się przez wykonywanie ślepej próby. Zależnie od uzyskanych wyników, dalsze oczyszczanie odczynników może być konieczne.

1.2.2. W przypadku gdy w metodyce postępowania analitycznego nie podano konkretnego rozpuszczalnika lub rozcieńczalnika, w przypadku czynności wymagających przygotowania roztworów, rozcieńczania, splukiwania lub przemywania stosować wodę. Jako podstawową przyjąć zasadę, że powinna być stosowana woda destylowana lub demineralizowana. W szczególnych przypadkach, wymienianych w metodach oznaczania, mogą być zalecone specjalne sposoby oczyszczania wody.

1.2.3. Oprócz aparatury i sprzętu wymienionego w metodyce postępowania analitycznego, stosować aparaturę i sprzęt, powszechnie stosowany w laboratorium, ponieważ w metodyce postępowania analitycznego wymieniona została tylko ta aparatura i sprzęt, która wymaga szczególnego zastosowania. Wszystkie urządzenia powinny być czyste zwłaszcza wtedy, gdy są oznaczane bardzo małe ilości substancji.

1.3. STOSOWANIE METODYKI POSTĘPOWANIA ANALITYCZNEGO I WYRAŻANIE WYNIKÓW

1.3.1. Jedna metoda oznaczania jest zalecana do analizy zawartości każdej substancji w środku żywienia zwierząt. Jeżeli mogą być zastosowane inne metody oznaczania tej samej substancji, metoda, przy użyciu której wykonywano oznaczenie, powinna być wymieniona w sprawozdaniu z badań.

1.3.2. Wynik podany w sprawozdaniu z badań powinien stanowić średnią wartość, z co najmniej dwóch oznaczeń, wykonanych z oddzielnych części tej samej próbki do badań i powinien charakteryzować się zadawalającą powtarzalnością. Wynik powinien być wyrażony w sposób podany w metodyce postępowania analitycznego, zawierać odpowiednią liczbę cyfr znaczących i – jeżeli to konieczne – powinien być skorygowany do wilgotności średniej próbki laboratoryjnej przed przygotowaniem.

1.3.3. W przypadku substancji niepożądanych, o których mowa w rozporządzeniu Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 28 czerwca 2004 r. w sprawie dopuszczalnych zawartości substancji niepożądanych w paszach (Dz. U. Nr 162, poz. 1704 oraz z 2005 r. Nr 151, poz. 1267), w tym dioksyn i dioksynopodobnych polichlorowanych bifenyli (PCB), uznaje się, że produkt przeznaczony do żywienia zwierząt jest niezgodny pod względem ustalonej zawartości maksymalnej, w przypadku gdy wynik analizy wskazuje na przekroczenie zawartości maksymalnej z uwzględnieniem rozszerzonej niepewności pomiaru

i poprawki na stopień odzysku. Badane stężenie po uwzględnieniu poprawki i odjęciu rozszerzonej niepewności pomiaru stanowi podstawę oceny zgodności. Ma to zastosowanie jedynie w przypadkach, gdy stosowana metoda analizy pozwala na ustalenie wartości niepewności pomiaru i stopnia odzysku i dlatego nie jest to możliwe między innymi w przypadku analizy mikroskopowej.

Wynik analizy przedstawia się, jeżeli stosowana metoda analizy pozwala na ustalenie wartości niepewności pomiaru i stopnia odzysku w sposób następujący:

- 1) jako skorygowany lub nieskorygowany na stopień odzysku, powinien być wskazany sposób przedstawienia sprawozdania oraz stopień odzysku;
- 2) jako $x \pm U$, gdzie x oznacza wynik analizy, a U rozszerzoną niepewność pomiaru, stosując współczynnik rozszerzenia $k=2$, który daje wynik w przedziale ufności 95 %.

ROZDZIAŁ 2

BADANIE PODSTAWOWYCH SKŁADNIKÓW POKARMOWYCH

2.1. OZNACZANIE BIAŁKA SUROWEGO METODĄ KJELDAHLA

1. CEL I ZAKRES STOSOWANIA METODY

Metoda służy do oznaczania zawartości białka surowego w paszach na podstawie zawartości azotu oznaczonego metodą Kjeldahla.

2. SPOSÓB PRZEPROWADZENIA METODY

Próbka jest mineralizowana kwasem siarkowym w obecności katalizatora. Kwaśny roztwór jest alkalizowany przy użyciu wodorotlenku sodu. Amoniak oddestylowany z zasadowego roztworu jest zbierany w znanej ilości roztworu kwasu siarkowego, którego nadmiar jest następnie miareczkowany roztworem wodorotlenku sodu.

3. ODCZYNNIKI I ROZTWORY

- 3.1. Siarczan potasu.
- 3.2. Katalizator: tlenek miedzi(II) CuO lub siarczan miedzi(II) $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ pentahydrat.
- 3.3. Granulowany cynk.
- 3.4. Kwas siarkowy, $\rho_{20} = 1,84$ g/ml.
- 3.5. Kwas siarkowy $c(1/2 \text{H}_2\text{SO}_4) = 0,5$ mol/l.
- 3.6. Kwas siarkowy $c(1/2 \text{H}_2\text{SO}_4) = 0,1$ mol/l.
- 3.7. Czerwień metylowa, wskaźnik:
Rozpuścić 300 mg czerwieni metylowej w 100 ml etanolu, $\sigma = 95 - 96\%$ (V/V).
- 3.8. Wodorotlenek sodu (może być techniczny), roztwór o stężeniu 40 g w 100ml (m/V : 40%).
- 3.9. Wodorotlenek sodu, roztwór o stężeniu $c = 0,25$ mol/l.
- 3.10. Wodorotlenek sodu, roztwór o stężeniu $c = 0,1$ mol/l.
- 3.11. Granulowany pumeks, przemyty kwasem chlorowodorowym i wyprażony.
- 3.12. Acetamid (temperatura topnienia = 114°C , $N = 10,36\%$).
- 3.13. Sacharoza, niezawierająca azotu.

4. APARATURA I SPRZĘT

Aparatura i sprzęt odpowiedni do przeprowadzenia mineralizacji, destylacji i miareczkowania według metody Kjeldahla.

5. SPOSÓB POSTĘPOWANIA

5.1. Mineralizacja

Odważyć, z dokładnością do 0,001 g, 1g próbki i przenieść do kolby aparatu do mineralizacji. Dodać 15 g siarczanu potasu, o którym mowa w ust. 3.1, odpowiednią ilość katalizatora, o którym mowa w ust. 3.2, czyli od 0,3 do 0,4 g tlenku miedzi(II) lub od 0,9 do 1,2 g pentahydratu siarczanu miedzi(II), 25 ml kwasu siarkowego, o którym mowa w ust. 3.4, kilka granul pumeksu, o którym mowa w ust. 3.11, i zamieszać. Początkowo ogrzewać kolbę ostrożnie, w razie konieczności mieszając od czasu do czasu, aż do zwęglenia substancji organicznej i zaniku piany; następnie zwiększyć intensywność ogrzewania aż do trwałego wrzenia roztworu. Ogrzewanie jest właściwe, jeżeli wrzący kwas kondensuje na ściankach kolby. Zapobiegać miejscowemu przegrzewaniu się materiału i przylepianiu organicznych cząstek do tych miejsc. Od chwili, gdy roztwór stanie się klarowny i przyjmie jasnozieloną barwę, kontynuować ogrzewanie przez 2 godziny, a następnie pozostawić do schłodzenia.

5.2. Destylacja

Ostrożnie dodać do kolby ilość wody wystarczającą do całkowitego rozpuszczenia siarczanów. Pozostawić do schłodzenia, a następnie dodać kilka granulek cynku, o których mowa w ust. 3.3.

Umieścić w odbieralniku aparatu destylacyjnego odmierzone 25 ml kwasu siarkowego, o którym mowa w ust. 3.5 lub w ust. 3.6, zależnie od przewidywanej zawartości azotu. Dodać kilka kropli wskaźnika czerwieni metylowej, o którym mowa w ust. 3.7.

Podłączyć kolbę mineralizacyjną do chłodnicy aparatu do destylacji i zanurzyć koniec chłodnicy w cieczy znajdującej się w kolbie odbieralnika na głębokość co najmniej 1 cm. Przy wykonywaniu tej czynności uwzględnić ust. 8.3. Ostrożnie włączyć 100 ml roztworu wodorotlenku sodu, o którym mowa w ust. 3.8, do kolby mineralizacyjnej, nie dopuszczając do strat

amoniaku. Przy wykonywaniu tej czynności uwzględnić ust. 8.1. Ogrzewać kolbę aż do całkowitego oddestylowania amoniaku.

5.3. Miareczkowanie

Odmiareczkować nadmiar kwasu siarkowego w kolbie odbieralnika roztworem wodorotlenku sodu, o którym mowa w ust. 3.9 lub w ust. 3.10, w zależności od stężenia zastosowanego kwasu siarkowego, do uzyskania punktu końcowego.

5.4. Ślepa próba

W celu potwierdzenia, że zastosowane odczynniki nie zawierają azotu, przeprowadzić ślepe próby, w skład której wchodzi mineralizacja, destylacja i miareczkowanie, stosując 1 g sacharozy, o której mowa w ust. 3.13, zamiast próbki.

6. OBLICZANIE WYNIKÓW

Zawartość białka surowego obliczyć według następującego wzoru:

$$\frac{(V_0 - V_1) \times c \times 0,014 \times 100 \times 6,25}{m}$$

m

gdzie:

V_0 – objętość w ml wodorotlenku sodu, o którym mowa w ust. 3.9 lub w ust. 3.10 zużytego do ślepej próby,

V_1 – objętość w ml wodorotlenku sodu, o którym mowa w ust. 3.9 lub w ust. 3.10 zużytego do miareczkowania próbki,

c – stężenie w mol/l roztworu wodorotlenku sodu, o którym mowa w ust. 3.9 lub w ust. 3.10,

m – masa w g próbki.

7. SPRAWDZENIE METODY

7.1. Powtarzalność

Różnica pomiędzy wynikami dwóch równoległych oznaczeń wykonanych dla tej samej próbki nie powinna przekraczać:

– 0,2% wartości bezwzględnej, dla zawartości białka surowego poniżej 20%,

– 1,0% najwyższego wyniku, dla zawartości białka surowego od 20% do 40%,

– 0,4% wartości bezwzględnej, dla zawartości białka surowego powyżej 40%.

7.2. Dokładność

Przeprowadzić analizę, w skład której wchodzi mineralizacja, destylacja i miareczkowanie, stosując od 1,5 do 2,0 g acetanilidu, o którym mowa w ust. 3.12, w obecności 1 g sacharozy, o której mowa w ust. 3.13; 1 g acetanilidu zużywa 14,80 ml kwasu siarkowego, o którym mowa w ust. 3.5. Stopień odzysku powinien wynosić co najmniej 99%.

8. OBJAŚNIENIA

8.1. Do oznaczania można stosować prosty sprzęt laboratoryjny, urządzenia półautomatyczne lub całkowicie zautomatyzowane. W przypadku konieczności przeniesienia zastosowanego urządzenia pomiędzy etapami mineralizacji i destylacji, czynność ta powinna być wykonana bez jakichkolwiek strat reagentów. Jeżeli kolba aparatu destylacyjnego nie jest wyposażona we wkraplacz, dodać wodorotlenek sodu natychmiast przed podłączeniem kolby do chłodnicy, pozwalając, aby ciecz spływała powoli po ściankach.

8.2. Jeżeli roztwór przechodzi w postać stałą, ponownie przeprowadzić oznaczenie, stosując większe ilości kwasu siarkowego, o którym mowa w ust. 3.4, niż podano wyżej.

8.3. W przypadku analizy produktów o niskiej zawartości azotu, objętość kwasu siarkowego, o którym mowa w ust. 3.6, która ma zostać dodana do kolby odbieralnika może, w miarę potrzeby, być zmniejszona do 10 lub 15 ml i uzupełniona wodą do objętości 25 ml.

2.2. OZNACZANIE SUROWYCH BIAŁEK ROZPUSZCZONYCH PEPSYNĄ I KWASEM CHLOROWODOROWYM

1. CEL I ZAKRES STOSOWANIA METODY

Metoda służy do oznaczania frakcji surowych białek rozpuszczonych, w określonych warunkach, pepsyną i kwasem chlorowodorowym. Metodę stosuje się do analizowania wszystkich pasz.

2. SPOSÓB PRZEPROWADZENIA METODY

Próbkę ogrzewa się przez 48 godzin w temperaturze 40°C w roztworze chlorowodoru pepsyny. Zawiesinę filtruje się, a następnie oznacza zawartość azotu w filtracie, zgodnie z metodą oznaczania białka surowego metodą Kjeldahla.

3. ODCZYNNIKI I ROZTWORY

3.1. Kwas chlorowodorowy, d = 1,125.

3.2. Kwas chlorowodorowy 0,075 N.

3.3. Pepsyna o aktywności 2,0 jednostek na mg (U/mg). Aktywność pepsyny określona została w metodzie opisanej w rozdziale 2 w części 2.2.1. i powinna być określona zgodnie z tą metodą.

3.4. Około 0,2% (m/V) świeżo przygotowanego roztworu pepsyny w kwasie chlorowodorowym, o którym mowa w ust. 3.2, o aktywności 400 jednostek na litr (U/l).

3.5. Emulsja zapobiegająca spienieniu, proponuje się zastosować silikon.

3.6. Wszystkie odczynniki i roztwory określone w metodzie oznaczania białka surowego metodą Kjeldahla, opisanej w rozdziale 2 w części 2.1 w ust. 3.

4. APARATURA I SPRZĘT

4.1. Łaźnia wodna lub inkubator nastawiona na 40°C ± 1°C.

4.2. Kolba Kjeldahla.

4.3. Zestaw do destylacji.

5. SPOSÓB POSTĘPOWANIA

5.1. Przygotowanie roztworu

Przy przygotowaniu roztworu uwzględnić ust. 8.2.

Odważyć, z dokładnością do 1 mg, 2 g próbki i umieścić w kolbie miarowej o pojemności 500 ml. Dodać 450 ml roztworu pepsyny, o którym mowa w ust. 3.4, uprzednio podgrzanego do 40°C i zawartość wstrząsnąć, aby uniknąć zbrzylenia. Sprawdzić, czy pH zawiesiny jest mniejsze niż 1,7. Kolbę umieścić w łaźni wodnej lub w inkubatorze, o którym mowa w ust. 4.1, i pozostawić na 48 godzin. Wstrząsnąć po 8 godzinach, 24 godzinach i 32 godzinach.

Po upływie 48 godzin dodać 15 ml kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust. 3.1, i ostudzić do 20°C. Uzupełnić wodą do pełnej objętości kolby i przefiltrować.

5.2. Mineralizacja

Odmierzyć 250 ml filtratu i umieścić w kolbie Kjeldahla. Dodać 15 g siarczanu potasu, odpowiednią ilość katalizatora- 0,3 do 0,4 g tlenku miedzi(II) lub 0,9 do 1,2 g pentahydratu siarczanu miedzi(II), 25 ml kwasu siarkowego $\rho_{20} = 1,84$ g/ml, kilka granul pumeksu-przemytego kwasem chlorowodorowym i wyprażonego. Zamieszać je i doprowadzić do wrzenia. Jeżeli pojawi się piana, dodać kilka kropli emulsji zapobiegającej spienieniu. Kontynuować wrzenie aż do niemal całkowitego odparowania wody. Ostrożnie usunąć resztki wody, zmniejszając intensywność grzania.

Kiedy roztwór stanie się klarowny i bezbarwny lub jasno zielony, w przypadku użycia katalizatora miedziowego, kontynuować ogrzewanie jeszcze przez godzinę, a następnie pozostawić do ostygnięcia.

5.3. Destylacja i miareczkowanie

Postępować według metody oznaczania białka surowego metodą Kjeldahla, opisaną w rozdziale 2 w części 2.1 w ust. 5.2 i 5.3.

5.4. Ślepa próba

Przeprowadzić ślepa próbę według tego samego sposobu postępowania, lecz bez odważki analitycznej.

6. OBLICZANIE WYNIKÓW

Odjąć objętość kwasu chlorowodorowego użytego w ślepej próbie od objętości zużytej przez badaną próbkę. 1 ml kwasu chlorowodorowego 0,1 N odpowiada 1,4 mg azotu.

Pomnożyć ilość uzyskaną dla azotu przez współczynnik 6,25. Wyniki przedstawić jako zawartość procentową próbki.

7. SPRAWDZENIE METODY

7.1. Powtarzalność

Różnica pomiędzy wynikami dwóch równoległych oznaczeń wykonanych dla tej samej próbki nie powinna przekraczać:

– 0,4 wartości bezwzględnej, dla zawartości surowych białek rozpuszczonych pepsyną i kwasem chlorowodorowym do 20%,
– 2,0% wartości względnej, dla zawartości surowych białek rozpuszczonych pepsyną i kwasem chlorowodorowym powyżej 20% do 40%,

– 0,8 wartości bezwzględnej, dla zawartości surowych białek rozpuszczonych pepsyną i kwasem chlorowodorowym powyżej 40%.

8. OBJAŚNIENIA

8.1. Wartości otrzymane tą metodą nie mają bezpośredniego związku z przyswajalnością *in*

vivo.

8.2. Produkty o zawartości oleju lub tłuszczu przekraczającej 10% poddać odtuszczeniu poprzez ekstrakcję przy użyciu eteru ropy naftowej w temperaturze wrzenia od 40 do 60 °C.

2.2.1. OZNACZANIE AKTYWNOŚCI PEPSYNY

1. CEL I ZAKRES STOSOWANIA METODY

Metoda służy do oznaczania aktywności pepsyny wykorzystywanej w oznaczaniu frakcji surowych białek rozpuszczonych, w określonych warunkach, pepsyną i kwasem chlorowodorowym.

2. OBJAŚNIENIA

Jednostka aktywności pepsyny - to taka ilość tego enzymu, która uwalnia w czasie minuty, w warunkach, w jaki jest przeprowadzana ta metoda, taką ilość grup hydroksyarylowych, która po zabarwieniu odczynnikami Folin-Ciocalteu ma gęstość optyczną odpowiadającą 1 μ mol tyrozyny potraktowanej w ten sam sposób.

3. SPOSÓB PRZEPROWADZENIA METODY

Hemoglobinę traktuje się roztworem pepsyny w kwasie chlorowodorowym. Niezhydrolizowaną frakcję białek strąca się kwasem trichlorooctowym. Do filtratu dodaje się wodorotlenek sodu i odczynnik Folin-Ciocalteu. Pomiaru absorbancji tego roztworu dokonuje się przy długości fali 750 nm a odpowiadającą mu ilość tyrozyny odczytuje się z krzywej kalibracyjnej.

4. ODCZYNNIKI I ROZTWORY

Stosować wyłącznie odczynniki o znanej czystości analitycznej i destylowaną lub dejonizowaną wodę lub wodę o równoważnej czystości.

- 4.1. Kwas chlorowodorowy 0,2 N.
- 4.2. Kwas chlorowodorowy 0,06 N.
- 4.3. Kwas chlorowodorowy 0,025 N.
- 4.4. Roztwór 5% (m/V) kwasu trichlorooctowego.
- 4.5. Roztwór wodorotlenku sodu 0,5 N.
- 4.6. Odczynnik Folin-Ciocalteu:
Umieścić 100g dwuhydratu wolframanu(VI) sodu ($\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), 25g dwuhydratu molibdenianu(VI) sodu ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) i 700 ml wody w kolbie okrągłodennej ze szlifem o pojemności 2 litrów. Dodać 50 ml kwasu ortofosforowego ($d = 1,71$) i 100 ml stężonego kwasu chlorowodorowego ($d = 1,19$). Kolbę podłączyć do chłodnicy zwrotnej, doprowadzić roztwór do wrzenia i utrzymywać w stanie wrzenia delikatnie gotując przez 10 godzin. Pozostawić do ostygnięcia, odłączyć chłodnicę zwrotną, dodać 175 g dwuhydratu siarczanu(VI) litu ($\text{Li}_2\text{SO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), 50 ml wody, 1 ml bromu. Aby usunąć nadmiar bromu, roztwór gotować przez 15 minut.

Pozostawić do ostygnięcia, następnie przelać roztwór do kolby miarowej o pojemności 1 litra. Uzupełnić wodą do pełnej objętości kolby, zamieszać i filtrować. Dopuszczalny jest każdy kolor roztworu z wyjątkiem zielonkawego. Przed użyciem jedną objętość odczynnika rozcieńczyć dwoma objętościami wody.

4.7. Roztwór hemoglobiny:

Odważyć hemoglobinę, około 2 g substratu białkowego oznaczonego zgodnie z metodą Ansona, która odpowiada 354 mg azotu¹⁾, a następnie umieścić w kolbie o pojemności 200 ml z dopasowanym szlifem. Dodać kilka ml kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust. 4.2, połączyć kolbę z pompą próżniową i wstrząsać zawartość aż do zupełnego rozpuszczenia hemoglobiny. Odłączyć pompę i ciągle wstrząsając, rozcieńczać kwasem chlorowodorowym, o którym mowa w ust. 4.2, do uzyskania objętości 100 ml. Roztwór przygotować bezpośrednio przed użyciem.

4.8. Roztwór wzorcowy tyrozyny:

W celu uzyskania podstawowego roztworu wzorcowego, w kolbie miarowej o pojemności 1 litra rozpuścić 181,2 mg tyrozyny w rozcieńczonym kwasie chlorowodorowym, o którym mowa w ust. 4.1, i uzupełnić do pełnej objętości kolby tym kwasem.

Następnie pobrać pipetą 20,0 ml podstawowego roztworu wzorcowego do kolby miarowej o pojemności 100 ml. Rozcieńczyć zawartość kwasem chlorowodorowym, o którym mowa w ust. 4.1, i uzupełnić do pełnej objętości kolby tym kwasem. 1 ml tego roztworu zawiera 0,2 μmola tyrozyny.

5. APARATURA I SPRZĘT

- 5.1. Łaźnia wodna, z termostatem umożliwiającym utrzymanie temperatury $25^\circ\text{C} \pm 0,1^\circ\text{C}$.
- 5.2. Spektrometr.
- 5.3. Chronometr z odczytem co 1 sekundę.
- 5.4. Pehametr.
- 5.5. Szklana bagietka z jednej strony wyciągnięta.

6. SPOSÓB POSTĘPOWANIA

6.1. Przygotowanie roztworu

Przy przygotowaniu roztworu uwzględnić ust. 8.1.

Rozpuścić 150 mg pepsyny w 100 ml kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust. 4.2. Odpipetować 2 ml tego roztworu do kolby miarowej o pojemności 50 ml i uzupełnić rozcieńczonym kwasem chlorowodorowym, o którym mowa w ust. 4.3, do pełnej objętości kolby. Sprawdzone pH-metrem, pH roztworu, powinno wynosić $1,6 \pm 0,1$. Kolbę zanurzyć w łaźni wodnej, o której mowa w ust. 5.1.

6.2. Hydroliza

Odpipetować 5,0 ml roztworu hemoglobiny, o którym mowa w ust. 4.7, do probówki. Probówkę umieścić w łaźni wodnej, o której mowa w ust. 5.1, dodać 1 ml roztworu pepsyny otrzymanego w sposób określony w ust. 6.1 i wymieszać szklaną bagietką, o której mowa w ust. 5.5, około 10 razy w obydwie strony. Probówkę umieścić w łaźni wodnej ustawionej na $25^\circ\text{C} \pm 0,1^\circ\text{C}$ i trzymać przez 10 minut, licząc od dodania roztworu pepsyny. Temperaturę i czas dokładnie kontrolować. Następnie dodać 10,0 ml roztworu kwasu trichlorooctowego, o którym mowa w ust. 4.4, uprzednio podgrzanego do temperatury 25°C , wymieszać i przefiltrować przez suchy filtr.

6.3. Wywołanie barwy i pomiar gęstości optycznej

Odpipetować 5,0 ml filtratu do kolby Erlenmeyera o pojemności 50 ml, dodać 10,0 ml roztworu wodorotlenku sodu, o którym mowa w ust. 4.5, i wstrząsając dodać 3 ml rozcieńczonego odczynnika Folin-Ciocalteu, o którym mowa w ust. 4.6. Po upływie od 5 do 10 minut zmierzyć gęstość optyczną roztworu względem wody przy długości fali 750 nm, używając spektrometru i 1 cm kuwet.

6.4. Ślepa próba

Dla każdego oznaczania przeprowadzić ślepa próbę w następujący sposób:

Odpipetować 5,0 ml roztworu hemoglobiny, o którym mowa w ust. 4.7, do probówki. Probówkę umieścić w łaźni wodnej, o której mowa w ust. 5.1, dodać 10,0 ml roztworu kwasu trichlorooctowego, o którym mowa w ust. 4.4, uprzednio ogrzanego do temperatury 25°C , wymieszać i dodać 1,0 ml roztworu pepsyny otrzymanego w sposób określony w ust. 6.1. Zmieszać szklaną bagietką i wstawić probówkę do łaźni wodnej, o której mowa w ust. 5.1, o temperaturze 25°C na 10 minut. Wymieszać i przefiltrować przez suchy filtr. Następnie postępować w sposób określony w ust. 6.3.

¹⁾ Oznaczyc zawartość azotu, stosując półmikrometodę Kjeldahla. Teoretyczna zawartość azotu wynosi 17,7%.

6.5. Krzywa kalibracyjna

Do kolb Erlenmeyera o pojemności 50 ml odmierzyć kolejno 1,0 ml, 2,0 ml, 3,0 ml, 4,0 ml i 5,0 ml podzieloną ilość wzorcowego roztworu tyrozyny, o której mowa w ust. 4.8, co odpowiada kolejno 0,2 μmol , 0,4 μmol , 0,6 μmol , 0,8 μmol i 1,0 μmol tyrozyny. Uzupełnić partię roztworem odniesienia wolnym od tyrozyny. Uzupełnić do objętości 5 ml kwasem chlorowodorowym, o którym mowa w ust. 4.1. Do każdej kolby dodać po 10,0 ml roztworu wodorotlenku sodu, o którym mowa w ust. 4.5, i ciągle wstrząsając po 3,0 ml rozcieńczonego odczynnika Folin-Ciocalteu, o którym mowa w ust. 4.6. Po upływie od 5 do 10 minut zmierzyć gęstość optyczną roztworu względem wody przy długości fali 750 nm, używając spektrometru i 1 cm kuwet. Wykreślić krzywą kalibracyjną w układzie zależności gęstości optycznej od ilości tyrozyny.

7. OBLICZANIE WYNIKÓW

Z krzywej kalibracyjnej odczytać, w μmol ach, ilość tyrozyny, która odpowiada gęstości optycznej zabarwionego roztworu, skorygowaną o wynik ślepej próby.

Aktywność pepsyny wyrażoną w μmol ach tyrozyny na mg i na minutę, w temperaturze 25°C, obliczyć według następującego wzoru:

$$\text{Jednostki w mg (U/mg)} = \frac{0,32 a}{P}$$

gdzie:

a – jest ilością tyrozyny odczytaną z krzywej kalibracyjnej w μmol ,

P – jest ilością pepsyny odważoną w mg, dodanej w ilości, o której mowa w ust. 6.2.

8. OBJAŚNIENIA

8.1. Ilość rozpuszczonej pepsyny powinna być tak dobrana, aby podczas ostatecznego pomiaru fotometrycznego otrzymać natężenie optyczne $0,35 \pm 0,035$.

8.2. Dwie jednostki aktywności pepsyny na mg otrzymane z użyciem tej metody odpowiadają:

3,64 milijednostkom Ansona na mg (μmol tyrozyny na mg na minutę w temperaturze 35,5°C) lub

36 400 handlowym jednostkom na g (μmol tyrozyny na g w czasie 10 minut w temperaturze 35,5°C).

2.3. OZNACZANIE WILGOTNOŚCI

1. CEL I ZAKRES STOSOWANIA METODY

Metoda służy do oznaczania wilgotności pasz. Metody nie stosuje się do badania produktów mlecznych występujących jako materiały paszowe, związki mineralne, mieszaniny składające się głównie ze związków mineralnych oraz nasion i owoców roślin oleistych określonych w rozporządzeniu Rady nr 865/2004 z dnia 29 kwietnia 2004 r. w sprawie wspólnej organizacji rynku oliwy z oliwek i oliwek stołowych oraz zmieniającym rozporządzenie (EWG) nr 827/68 (Dz.Urz. L 161 z 30.04.2004, str. 97; Dz. Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 45, str. 153).

2. SPOSÓB PRZEPROWADZENIA METODY

Próbka jest suszona w warunkach dostosowanych do właściwości pasz. Obniżenie masy jest określane poprzez ważenie. Konieczne jest przeprowadzenie wstępnego suszenia, w przypadku gdy pasze stałe zawierają duże ilości wilgotności.

3. APARATURA I SPRZĘT

3.1. Rozdrabniacz wykonany z materiałów niepochłaniających wilgotności, łatwy do czyszczenia, pozwalający na szybkie rozdrobnienie materiału bez nadmiernego ogrzewania, ograniczający do minimum kontakt z powietrzem, spełniający wymagania określone w ust. 4.1.1 i w ust. 4.1.2, w tym chłodzony wodą mikrorozdrabniacz młotkowy, składany stożkowy młynek, rozdrabniacze wolnoobrotowe lub wyposażone w koło zębate.

3.2. Waga analityczna, ważąca z dokładnością do 0,5 mg.

3.3. Suche pojemniki z nierdzewnego metalu lub szkła z przykrywkami umożliwiającymi hermetyczne zamknięcie, o powierzchni roboczej umożliwiającej równomierne rozrowadzenie badanej próbki w warstwie 0,3 g/cm².

3.4. Suszarka elektryczna z termostatem ($\pm 1^\circ\text{C}$), dobrze wentylowana i pozwalająca na szybką regulację temperatury.²⁾

3.5. Termostатовana suszarka próżniowa zaopatrzona w pompę olejową oraz mechanizm umożliwiający nawiew gorącego powietrza lub wprowadzenie czynnika suszącego, proponuje się zastosować tlenek wapnia.

3.6. Eksykator z płytką z grubego perforowanego metalu lub porcelany, zawierający efektywny czynnik suszący.

4. SPOSÓB POSTĘPOWANIA

Czynności opisane w tej części powinny być wykonywane szybko po otwarciu opakowania próbki. Analiza powinna być wykonana co najmniej w dwóch powtórzeniach.

4.1. Przygotowanie

4.1.1. Pasje inne niż te określone w ust. 4.1.2 i w ust. 4.1.3 pobrać w ilości co najmniej 50 g. Jeżeli to konieczne, rozdrobnić lub podzielić w taki sposób, aby zapobiec jakimkolwiek zmianom w zawartości wilgotności, uwzględniając ust. 7.

4.1.2. Zboża i kasze

Pobrać co najmniej 50 g próbki. Rozdrobnić na cząstki, które przechodzą przez oczka sita o średnicy 0,5 mm co najmniej w 50% i pozostają w ilości nie większej niż 10% na sicie o oczkach o średnicy 1 mm.

4.1.3. Pasje ciekłe lub w postaci pasty, pasze z przewagą olejów lub tłuszczów

Pobrać 25 g próbki, zważyć z dokładnością do 10 mg, dodać odpowiednią ilość bezwodnego piasku, odważonego z dokładnością do 10 mg, i zmieszać do uzyskania homogennego produktu.

²⁾ W celu suszenia ziarna zbóż, mąki, kasz i mączek stosować suszarki, które po wstępnym nastawieniu na temperaturę 131°C powrócą do tej temperatury w czasie krótszym niż 45 minut po umieszczeniu w nich maksymalnej liczby próbek do jednoczesnego wysuszenia. Wentylacja powinna być taka, aby wyniki suszenia maksymalnej liczby próbek pszenicy pospolitej po 2 godzinach nie różniły się więcej niż 0,15% w porównaniu do wyników uzyskanych po 4 godzinach suszenia.

4.2. Suszenie

4.2.1. Pasze inne niż te określone w ust. 4.2.2 i w ust. 4.2.3

Zważyć naczynko z przykrywką, o którym mowa w ust. 3.3, z dokładnością do 0,5 mg. Odważyć do naczynka, z dokładnością do 1 mg, około 5 g próbki i równo rozmieścić. Wstawić naczynko bez przykrywki do suszarki podgrzanej do temperatury 103°C. Aby zapobiec nadmiernemu spadkowi temperatury, umieścić naczynko w suszarce tak szybko jak to możliwe. Suszyć przez 4 godziny od czasu, gdy suszarka osiągnie ponownie temperaturę 103°C. Nałożyć przykrywkę na naczynko, wyjąć je z suszarki, pozostawić do schłodzenia w ekcykatorze, o którym mowa w ust. 3.6 na 30 do 45 minut i zważyć z dokładnością do 1 mg. Pasze z przeważającym udziałem oleju lub tłuszczu suszyć ponownie w suszarce przez 30 minut w temperaturze 130°C. Różnica pomiędzy dwoma ważeniami nie powinna przekraczać 0,1% wilgotności.

4.2.2. Zboża, mąki, kasze i mączki

Zważyć naczynko z przykrywką, o którym mowa w ust. 3.3, z dokładnością do 0,5 mg. Odważyć do naczynka, z dokładnością do 1 mg, około 5 g rozdrobnionej próbki i równo rozmieścić. Wstawić naczynko bez przykrywki do suszarki podgrzanej do temperatury 130°C. Aby zapobiec nadmiernemu spadkowi temperatury, umieścić naczynko w suszarce tak szybko jak to możliwe. Suszyć przez 2 godziny, licząc od czasu, gdy suszarka ponownie osiągnie temperaturę 130°C. Nałożyć przykrywkę na naczynko, wyjąć je z suszarki, pozostawić w ekcykatorze, o którym mowa w ust. 3.6, na od 30 do 45 minut w celu schłodzenia i zważyć z dokładnością do 1 mg.

4.2.3. Mieszanki paszowe zawierające ponad 4% sacharozę lub laktozę: materiały paszowe takie jak, chleb świętojański, hydrolizowane produkty zbożowe, słód jęczmienny, susz buraczany, hydrolizaty rybne i cukrowe, mieszanki z ponad 25% udziałem soli mineralnych zawierających wodę krystalizacyjną.

Zważyć naczynko z przykrywką, o którym mowa w ust. 3.3, z dokładnością do 0,5 mg. Odważyć do naczynka, z dokładnością do 1 mg, około 5 g próbki i równo rozmieścić. Wstawić naczynko bez przykrywki do suszarki próżniowej, o której mowa w ust. 3.5, podgrzanej do temperatury od 80 do 85°C. Aby zapobiec nadmiernemu spadkowi temperatury, umieścić naczynko w suszarce tak szybko jak to możliwe. Podwyższyć ciśnienie do 100 Torr i pozostawić na 4 godziny pod działaniem tego ciśnienia, osuszając powietrze albo stosując czynnik suszący, około 300 g na 20 próbek. W drugim przypadku odłączyć pompę próżniową po uzyskaniu odpowiedniego ciśnienia. Czas suszenia liczyć od chwili, gdy suszarka osiągnie ponownie temperaturę od 80 do 85°C. Ostrożnie zrównać ciśnienie w suszarce z ciśnieniem atmosferycznym. Otworzyć suszarkę, szybko nałożyć przykrywkę na naczynko i usunąć je z suszarki. Pozostawić do schłodzenia w ekcykatorze, o którym mowa w ust. 3.6, przez od 30 do 45 minut i zważyć z dokładnością do 1 mg. Suszyć ponownie w suszarce próżniowej przez 30 minut w temperaturze od 80 do 85°C i zważyć powtórnie. Różnica pomiędzy dwoma ważeniami nie powinna przekraczać 0,1% wilgotności.

4.3. Suszenie wstępne

4.3.1. Pasze inne niż te określone w ust. 4.3.2

Pasze stałe o wysokim poziomie wilgotności, trudne do rozdrabniania, poddać wstępnemu suszeniu w następujący sposób: Odważyć 50 g nierozdrobnionej próbki, przy czym pasze sprasowane lub zbrylone mogą wymagać wstępnego rozdrobnienia), z dokładnością do 10 mg do odpowiedniego naczynia w tym na płytkę aluminiową o wymiarach 20 cm x 12 cm z obwódka o wysokości 0,5 cm. Suszyć w suszarce w temperaturze 60 do 70°C, aż poziom wilgotności obniży się do 8 – 12%. Wyjąć próbkę z suszarki, pozostawić bez przykrycia do schłodzenia w laboratorium przez godzinę i zważyć z dokładnością do 10 mg. Szybko rozdrobnić, postępując w sposób określony w ust. 4.1.1, i suszyć w sposób określony w ust. 4.2.1 lub w ust. 4.2.3 w zależności od rodzaju paszy.

4.3.2. Zboża

Ziarno zbóż o wilgotności wyższej niż 17% poddać wstępnemu suszeniu w następujący sposób:

Odważyć 50 g nierozdrobnionego, ziarna z dokładnością do 10 mg, do odpowiedniego naczynia w tym na płytkę aluminiową o wymiarach 20 cm x 12 cm z obwódka o wysokości 0,5 cm. Suszyć w suszarce przez 5 do 7 minut w temperaturze 130°C. Wyjąć próbkę z suszarki, pozostawić bez przykrycia do schłodzenia w laboratorium przez 2 godziny i zważyć z dokładnością do 10 mg. Szybko rozdrobnić, postępując w sposób określony w ust. 4.1.2, i suszyć w sposób określony w ust. 4.2.2.

5. OBLICZANIE WYNIKÓW

Poziom wilgotności, w procentach wagowych, obliczyć według następujących wzorów:

5.1. Suszenie bez wstępnego podsuszania

$$(E - m) \times 100 / E$$

gdzie:

E – początkowa masa w g badanej próbki,

m – masa w g badanej próbki po wysuszeniu.

5.2. Suszenie z podsuszaniem

$$[(M' - m) M / M' + E - M] \times 100 / E = 100 (1 - Mm / EM')$$

gdzie:

E – początkowa masa w g badanej próbki,

M – masa w g badanej próbki po wstępnym podsuszaniu,

M' – masa w g badanej próbki po rozdrobnieniu,

m – masa w g badanej próbki po wysuszeniu.

6. SPRAWDZENIE METODY

Powtarzalność

Różnica pomiędzy wynikami dwóch równoległych oznaczeń wykonanych dla tej samej próbki nie powinna przekraczać 0,2% wilgotności.

7. OBJAŚNIENIA

Jeżeli rozdrabnianie próbki jest konieczne i wpływa na poziom wilgotności w produkcji, wyniki analizy składników paszowych powinny być skorygowane o poziom wilgotności w początkowym stanie próbki.

2.4. OZNACZANIE WILGOTNOŚCI OLEJÓW I TŁUSZCZÓW

1. CEL I ZAKRES STOSOWANIA METODY

Metoda służy do oznaczania zawartości wody i substancji lotnych w tłuszczach i olejach pochodzenia zwierzęcego oraz roślinnego.

2. SPOSÓB PRZEPROWADZENIA METODY

Próbka jest suszona do stałej masy w temperaturze 103°C. Ubytek masy jest określany metodą wagową.

3. APARATURA I SPRZĘT

- 3.1. Naczynie z płaskim dnem wykonane z materiału nierdzewnego, o średnicy od 8 do 9 cm i wysokości około 3 cm.
- 3.2. Termometr rtęciowy z wzmocnionym zbiornikiem i nadmiarową rurką w górnym końcu, z podziałką od 80°C do 110°C lub więcej i o długości około 10 cm.
- 3.3. Łaźnia piaskowa lub elektryczna płyta grzewcza.
- 3.4. Eksykator zawierający efektywny środek suszący.
- 3.5. Waga analityczna.

4. SPOSÓB POSTĘPOWANIA

Odważyć, z dokładnością do 1 mg, około 20 g homogennej próbki do suchego, zważonego naczynia, o którym mowa w ust. 3.1 zawierającego termometr, o którym mowa w ust. 3.2. Ogrzewać na łaźni piaskowej lub płycie grzewczej, o których mowa w ust. 3.3, ciągle mieszając termometrem, tak aby uzyskać wzrost temperatury do 90°C w czasie około 7 minut.

Zmniejszyć ogrzewanie, obserwując częstotliwość odrywania się pęcherzyków powietrza od dna naczynia. Temperatura nie może przekroczyć 105°C. Kontynuować mieszanie, pocierając dno naczynia do czasu, aż przestaną się tworzyć pęcherzyki.

W celu całkowitego odparowania wilgotności, ogrzewać próbkę kilka razy do temperatury 103°C ± 2°C, schładzając do 93°C pomiędzy kolejnymi ogrzewaniami. Następnie schłodzić próbkę do temperatury pokojowej w eksykatorze, o którym mowa w ust. 3.4, i zważyć. Powtarzać ogrzewanie, dopóki ubytek masy pomiędzy dwoma kolejnymi ważeniami nie będzie większy niż 2 mg.

Wzrost masy próbki po powtórnych ogrzewaniu wskazuje na utlenienie się tłuszczu. W takim przypadku do obliczenia wyniku wziąć ostatnią masę próbki, zanim wzrosła jej masa.

5. OBLICZANIE WYNIKÓW

Wilgotność, w procentach wagowych, obliczyć według następującego wzoru:

$$(M_1 - M_2) \times 100 / M_0$$

gdzie:

M_0 – masa w g badanej próbki,

M_1 – masa w g naczynia z zawartością przed ogrzewaniem,

M_2 – masa w g naczynia z zawartością po ogrzewaniu.

Wyniki oznaczania niższe od 0,05% zapisać używając określenia „niższe od 0,05%”.

6. SPRAWDZENIE METODY

Powtarzalność:

Różnica wilgotności pomiędzy wynikami dwóch równoległych oznaczeń wykonanych dla tej samej próbki nie powinna przekraczać 0,05 % wartości bezwzględnej.

2.5. OZNACZANIE POPIOŁU SUROWEGO

1. CEL I ZAKRES STOSOWANIA METODY

Metoda służy do oznaczania zawartości popiołu surowego w paszach.

2. SPOSÓB PRZEPROWADZENIA METODY

Spopielanie próbki w temperaturze 550°C i ważenie uzyskanego popiołu.

3. ODCZYNNIKI I ROZTWORY

- 3.1. Azotan amonu, roztwór 20 % (m/V).

4. APARATURA I SPRZĘT

- 4.1. Płyta grzewcza.
- 4.2. Elektryczny piec do spalań z termostatem.
- 4.3. Tygły do spalań platynowe lub ze stopu platyny i złota o zawartości 10 % Pt, 90 % Au, prostokątne o wymiarach 60 x 40 x 25 mm lub okrągłe o średnicy 60 – 75 mm i wysokości 20 – 25 mm.

5. SPOSÓB POSTĘPOWANIA

Odważyć, z dokładnością do 1 mg, około 5 g próbki lub 2,5 g w przypadku substancji pęczniejących i umieścić w wyprażonym tygły do spalań o stałej masie. Tygiel postawić na płycie grzewczej i ogrzewać stopniowo aż do zwęglenia. Następnie wstawić go do pieca o temperaturze ustawionej na 550°C ± 5°C. Utrzymywać w tej temperaturze aż do uzyskania popiołu o barwie białej, jasnoszarej lub jasnoczerwonej, świadczącej o niewystępowaniu cząsteczek węglowych. Umieścić tygiel w eksykatorze, pozostawić do ochłodzenia i zważyć.

6. OBLICZANIE WYNIKÓW

Zawartość popiołu surowego X, obliczyć w procentach według następującego wzoru:

$$X (\%) = \frac{(a - b) \times 100}{m}$$

gdzie:

a – masa w g tygla z próbką po spaleniu,

b – masa w g tygła,
m – masa w g próbki.

Różnica zawartości popiołu surowego pomiędzy wynikami dwóch równoległych oznaczeń wykonanych w tej samej próbce nie może przekraczać 5% wartości względnej.

7. OBJAŚNIENIA

7.1. Substancje, które trudno się spopielać, powinny być wstępnie spopielać, przez co najmniej 3 godziny, schłodzone a następnie dodać do nich, ostrożnie, w taki sposób, aby nie spowodować strat popiołu i tworzenia się zbryleń, kilka kropli 20% roztworu azotanu amonu. Po wysuszeniu kontynuować zwęglanie w piecu. Powtarzać czynność aż do całkowitego spopielenia.

7.2. W przypadku gdy badane produkty trudno poddają się postępowaniu określone w ust. 7.1, postępuje się w następujący sposób:

Po spopieleniu przez 3 godziny popiół umieścić w ciepłej wodzie i przefiltrować przez mały, bezpopiołowy filtr. Spopielić filtr z zawartością w tygłu. Filtrat umieścić w schłodzonym tygłu, odparować do sucha, spopielić i zważyć.

7.3. W przypadku olejów i tłuszczów odważka powinna wynosić 25 g. Zwęglać w tygłu odpowiedniej wielkości, przenosząc płomień na substancję skrawkiem bezpopiołowej bibuły filtracyjnej. Po spalaniu pozostałość zwilżyć małą ilością wody. Wysuszyć i spopielać w sposób określony w ust. 5.

2.6. OZNACZANIE POPIOŁU NIEROZPUSZCZALNEGO W KWASIE CHLOROWODOROWYM

1. CEL I ZAKRES STOSOWANIA METODY

Metoda służy do oznaczania zawartości substancji mineralnych nierozpuszczalnych w kwasie chlorowodorowym w paszach. W zależności od rodzaju próbki stosuje się dwie metody:

1.1. Metoda A – mająca zastosowanie do materiałów paszowych i do większości mieszanek paszowych.

1.2. Metoda B – mająca zastosowanie do mieszanek paszowych mineralnych, mieszanin oraz do mieszanek paszowych zawierających substancje nierozpuszczalne w kwasie chlorowodorowym w ilości powyżej 1%, co sprawdza się, stosując wcześniej metodę A.

2. SPOSÓB PRZEPROWADZENIA METODY

2.1. Metoda A: próbka jest spopielać, popiół gotowany w kwasie chlorowodorowym, a nierozpuszczalna pozostałość jest filtrowana i ważona.

2.2. Metoda B: próbka jest traktowana kwasem chlorowodorowym. Roztwór filtruje się, pozostałość spopiela i z otrzymanym popiołem postępuje się w sposób opisany w metodzie A.

3. ODCZYNNIKI I ROZTWORY

3.1. Kwas chlorowodorowy, roztwór 3 N.

3.2. 20% roztwór w m/V kwasu trichlorooctowego.

3.3. 1% roztwór w m/V kwasu trichlorooctowego.

4. APARATURA I SPRZĘT

4.1. Płyta grzewcza.

4.2. Elektryczny piec muflowy z termostatem.

4.3. Tygły do spalań platynowe lub ze stopu platyny i złota o zawartości 10% Pt, 90% Au prostokątne o wymiarach 60 x 40 x 25 mm lub okrągłe o średnicy 60 – 75 mm i wysokości 20 – 25mm.

5. SPOSÓB POSTĘPOWANIA

5.1. Metoda A

Spopielić próbkę metodą opisaną przy oznaczaniu popiołu surowego. Popiół uzyskany z tej analizy może być także wykorzystany do badania.

Przenieść popiół do zlewki o pojemności od 250 do 400 ml przy użyciu 75 ml kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust. 3.1. Powoli doprowadzić do wrzenia i gotować ostrożnie przez 15 minut. Przekładować gorący roztwór przez bibułę bez popiołu i przemywać pozostałość gorącą wodą aż reakcja z kwasem przestanie być widoczna. Filtr z osadem wysuszyć i spopielić w uprzednio wytarowanym tygłu w temperaturze nie niższej od 550°C i nie wyższej od 700°C. Ostudzić w eksykatorze i zważyć.

5.2. Metoda B

Odważyć 5 g próbki, z dokładnością do 1 mg, i umieścić w zlewce o pojemności od 250 do 400 ml. Dodać kolejno 25 ml wody i 25 ml kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust. 3.1, wymieszać i odczekać, aż roztwór przestanie się burzyć. Dodać kolejne 50 ml kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust. 3.1. Odczekać do ulotnienia się gazu, następnie umieścić zlewkę we wrzącej łaźni wodnej i trzymać ją tam przez 30 minut lub dłużej w celu całkowitej hydrolizy skrobi.

Gorący roztwór przefiltrować przez bibułę bez popiołu i przemyć 50 ml gorącej wody, uwzględniając ust. 7. Filtr z osadem umieścić w tygłu do spalań, wysuszyć i spopielać w temperaturze nie niższej od 550°C i nie wyższej od 700°C. Popiół umieścić w zlewce o pojemności 250 do 400 ml przy użyciu 75 ml kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust. 3.1. Powoli doprowadzić do wrzenia i gotować ostrożnie przez 15 minut. Przekładować gorący roztwór przez bibułę bez popiołu i przemywać pozostałość gorącą wodą aż reakcja z kwasem przestanie być widoczna. Filtr z osadem wysuszyć i spopielić w uprzednio wytarowanym tygłu w temperaturze nie niższej od 550°C i nie wyższej od 700°C. Ostudzić w eksykatorze i zważyć.

6. OBLICZANIE WYNIKÓW

Masę pozostałości obliczyć odejmując tarę. Wynik wyrazić jako udział procentowy w próbce.

7. OBJAŚNIENIA

Jeżeli filtracja ma trudny przebieg, zaleca się powtórne przeprowadzenie analizy zastępując 50 ml kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust. 3.1, 50 ml kwasu trichlorooctowego, o którym mowa w ust. 3.2, i przemywając filtr ciepłym roztworem kwasu trichlorooctowego, o którym mowa w ust. 3.3.

2.7. OZNACZANIE WŁÓKNA SUROWEGO

1. CEL I ZAKRES STOSOWANIA METODY

Metoda służy do oznaczania w paszach zawartości nietłuszczowych substancji organicznych, które nie rozpuszczają się ani w środowisku kwaśnym, ani zasadowym i które zwyczajowo określa się mianem włókna surowego.

2. SPOSÓB PRZEPROWADZENIA METODY

Próbkę, w razie konieczności odtłuszczoną, gotuje się w roztworach kwasu siarkowego i wodorotlenku potasu o odpowiednim stężeniu. Pozostałość jest rozdzielana przez filtrację na filtrze ze szklanego spieku, przemywana, suszona, ważona i spopielenia w temperaturze od 475 do 500 °C. Ubytek masy po spopieleniu odpowiada zawartości włókna surowego w badanej próbce.

3. ODCZYNNIKI I ROZTWORY

3.1. Kwas siarkowy, $c = 0,13 \text{ mol/l}$.

3.2. Odczynnik przeciwpieniący, proponuje się zastosować n-oktanol.

3.3. Materiał wspomagający filtrowanie (Celite 545 lub podobny), wyprażony w temperaturze 500°C przez 4 godziny, przy

uwzględnieniu ust. 8.6.

3.4. Aceton.

3.5. Eter naftowy, o temperaturze wrzenia od 40 do 60°C.

3.6. Kwas chlorowodorowy, $c = 0,5 \text{ mol/l}$.

3.7. Roztwór wodorotlenku potasu, $c = 0,23 \text{ mol/l}$.

4. APARATURA I SPRZĘT

4.1. Urządzenie grzewcze do roztwarzania kwasem siarkowym lub roztworem wodorotlenku potasu, wyposażone w podstawkę mocującą tygiel filtracyjny, o którym mowa w ust. 4.2, i rurkę odprowadzającą z kranem służącą do ujęcia cieczy i próżni, ewentualnie ze sprzężonym powietrzem. Przed użyciem, każdego dnia podgrzać urządzenie przemywając wrzącą wodą przez 5 minut.

4.2. Szklany tygiel filtracyjny ze spiekami o porach od 40 do 90 μm . Przed pierwszym użyciem ogrzewać przez kilka minut w temperaturze 500°C i schłodzić, uwzględniając ust. 8.6.

4.3. Cylinder o pojemności co najmniej 270 ml z chłodnicą zwrotną, przystosowany do gotowania.

4.4. Suszarka z termostatem.

4.5. Piec muflowy z termostatem.

4.6. Urządzenie do ekstrakcji składające się z podstawki mocującej tygiel filtracyjny, o którym mowa w ust. 4.2, i z rurki odprowadzającej z kranem służącej do ujęcia cieczy i próżni.

4.7. Pierścienie łączące, służące do połączenia urządzenia grzewczego, o którym mowa w ust.

4.1, tygla filtracyjnego, o którym mowa w ust. 4.2, cylindra, o którym mowa w ust. 4.3 oraz

do połączenia urządzenia ekstrakcyjnego do ekstrakcji na zimno, o którym mowa w ust. 4.6 i

tygla.

5. SPOSÓB POSTĘPOWANIA

Odważyć, z dokładnością do 0,001 g, 1 g przygotowanej próbki do tygla, o którym mowa w ust. 4.2, uwzględniając informacje określone w ust. 8.1, ust. 8.2, ust. 8.3, i dodać 1 g materiału wspomagającego filtrowanie, o którym mowa w ust. 3.3.

Podłączyć tygiel, o którym mowa w ust. 4.2, do urządzenia grzewczego, o którym mowa w ust. 4.1, a następnie przyłączyć cylinder, o którym mowa w ust. 4.3, do wcześniej wspomnianego tygla. Wlać 150 ml wrzącego kwasu siarkowego, o którym mowa w ust. 3.1, do cylindra połączonego z tygłem i, w razie potrzeby, dodać kilka kropli odczynnika przeciwpieniącego, o którym mowa w ust. 3.2.

Doprowadzić ciecz do wrzenia w czasie 5 ± 2 minut i gotować przez 30 minut.

Otworzyć kran rurki odprowadzającej, o której mowa w ust. 4.1, i w warunkach próżni, filtrować kwas siarkowy przez tygiel filtracyjny i przemyć pozostałość trzykrotnie 30 ml porcjami wrzącej wody, upewniając się, że pozostałość przefiltrowano do sucha po każdym przemyciu.

Zamknąć ujście kranu i wlać 150 ml wrzącego roztworu wodorotlenku potasu, o którym mowa w ust. 3.7, do cylindra połączonego z tygłem i dodać kilka kropli odczynnika przeciwpieniącego, o którym mowa w ust. 3.2. Doprowadzić ciecz do wrzenia w czasie 5 ± 2 minut i gotować przez 30 minut. Przekłamać i powtórzyć procedurę przemywania wykorzystaną w odniesieniu do kwasu siarkowego.

Po ostatnim przemyciu i wysuszeniu odłączyć tygiel i jego zawartości i podłączyć go do urządzenia do zimnej ekstrakcji, o którym mowa w ust. 4.6. W warunkach próżni przemycić pozostałość w tyglu trzema kolejnymi porcjami 25 ml acetonu, o którym mowa w ust. 3.4, upewniając się, że pozostałość przefiltrowano do sucha po każdym przemyciu.

Wysuszyć tygiel do stałej masy w suszarce ustawionej na temperaturę 130°C. Po każdym suszeniu schłodzić w ekcykatorze i niezwłocznie zważyć. Umieścić tygiel w piecu muflowym i spopielać do stałej masy w temperaturze od 475 do 500°C przez co najmniej 30 minut.

Przed ważeniem, po każdym ogrzewaniu najpierw schłodzić w piecu, a następnie w ekcykatorze.

Przeprowadzić test ślepej próby bez próbki. Ubytek masy po spopieleniu nie może przekraczać 4 mg.

6. OBLICZANIE WYNIKÓW

Procentową zawartość włókna surowego w próbce, obliczyć według następującego wzoru:

$$\frac{(b - c) \times 100}{a}$$

a

gdzie:

a – masa próbki, w g,

b – ubytek masy po spopieleniu, w trakcie oznaczania, w g,

c – ubytek masy po spopieleniu w trakcie ślepej próby, w g.

7. SPRAWDZENIE METODY

7.1. Powtarzalność

Różnica pomiędzy wynikami dwóch równoległych oznaczeń wykonanych dla tej samej próbki nie powinna przekraczać:

– 0,3% wartości bezwzględnej, dla zawartości włókna surowego poniżej 10%,

– 3% względem wyższego wyniku, dla zawartości włókna surowego równej lub wyższej niż 10%.

8. OBJAŚNIENIA

8.1. Pasze zawierające ponad 10% tłuszczu surowego przed oznaczeniem odtłuścić eterem naftowym, o którym mowa w ust.

3.5. Podłączyć tygiel filtracyjny, o którym mowa w ust. 4.2, wraz z jego zawartością do elementu służącego do ekstrakcji na zimno, o którym mowa w ust. 4.6, zastosować próżnię i przemycić pozostałość trzykrotnie 30 ml porcjami eteru naftowego, upewniając się, że pozostałość jest sucha. Podłączyć tygiel wraz z jego zawartością do urządzenia grzewczego, o którym mowa w ust. 4.1, i postępować w sposób określony w ust. 5.

8.2. Pasze zawierające tłuszcze, które nie mogą być bezpośrednio ekstrahowane eterem naftowym, o którym mowa w ust. 3.5, odtłuścić, w sposób określony w ust. 8.1, i ponownie odtłuścić po gotowaniu w kwasie.

Po gotowaniu z kwasem, a następnie przemyciu podłączyć tygiel wraz z jego zawartością do zestawu do elementu służącego do ekstrakcji na zimno, o którym mowa w ust. 4.6, i przemycić trzykrotnie 30 ml acetonu, a następnie trzykrotnie 30 ml porcjami eteru naftowego. Przefiltrować w warunkach próżni do sucha i postępować w sposób określony w ust. 5, rozpoczynając postępowanie z wodorotlenkiem potasu.

8.3. W przypadku gdy pasze zawierają ponad 5% węglanów, wyrażonych jako węglan wapnia, podłączyć tygiel, o którym mowa w ust. 4.2, z odważoną próbką do urządzenia grzewczego, o którym mowa w ust. 4.1. Przemycić próbkę trzykrotnie 30 ml porcjami kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust. 3.6. Po dodaniu każdej porcji kwasu pozostawić próbkę na około minutę przed filtrowaniem. Przemycić 30 ml wody i postępować w sposób określony w ust. 5.

8.4. Jeżeli używana jest aparatura stojąca, a w szczególności kilka tygli jest podłączonych do jednego urządzenia grzewczego, nie wykonywać dwóch pojedynczych oznaczeń tej samej próbki w tej samej partii.

8.5. Jeżeli po gotowaniu filtrowanie roztworu kwasowego i zasadowego jest trudne, przepuścić sprężone powietrze przez rurkę podłączaną do urządzenia grzewczego i następnie kontynuować filtrowanie.

8.6. Temperatura spopielenia nie powinna przekraczać 500°C ze względu na wytrzymałość szklanego tygla. Postępować w taki sposób, aby uniknąć szoku termicznego podczas ogrzewania i schładzania.

2.8. OZNACZANIE SUROWEGO OLEJU I TŁUSZCZU

1. CEL I ZAKRES STOSOWANIA METODY

Metoda służy do oznaczania zawartości surowych olejów i tłuszczów w paszach. Metody nie stosuje się do analizy nasion i owoców roślin oleistych określonych w rozporządzeniu Rady nr 865/2004 z dnia 29 kwietnia 2004 r. w sprawie wspólnej organizacji rynku oliwy z oliwek i oliwek stołowych oraz zmieniającym rozporządzenie (EWG) nr 827/68 (Dz.Urz. L 161 z 30.04.2004, str. 97; Dz. Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 45, str. 153).

Zastosowanie dwóch sposobów postępowania opisanych poniżej zależy od rodzaju i składu paszy oraz celu prowadzenia oznaczeń.

1.1. Postępowanie A – Bezpośrednio ekstrahowane oleje i tłuszcze.

Postępowanie ma zastosowanie do materiałów paszowych pochodzenia roślinnego, z wyjątkiem tych, które zostały objęte zakresem postępowania B.

1.2. Postępowanie B – Całkowite surowe oleje i tłuszcze.

Postępowanie ma zastosowanie do materiałów paszowych pochodzenia zwierzęcego i wszystkich mieszanek paszowych. Jest stosowane do tych wszystkich materiałów, z których oleje i tłuszcze nie mogą być w całości wyekstrahowane bez uprzedniej hydrolizy, a w szczególności do glutenu, drożdży, białka ziemniaczanego i produktów poddanych przetwarzaniu, w szczególności poprzez ekstruzję, płatkowanie, ogrzewanie.

1.3. Interpretacja wyników

We wszystkich przypadkach, gdy wynik otrzymany przy zastosowaniu postępowania B jest wyższy od otrzymanego przy zastosowaniu postępowania A, traktować wynik otrzymany przy zastosowaniu postępowania B jako rzeczywisty.

2. SPOSÓB PRZEPROWADZENIA METODY

2.1. Postępowanie A

Próbka jest poddawana ekstrakcji eterem naftowym. Roztwór jest odparowywany, a pozostałość jest suszona i ważona.

2.2. Postępowanie B

Próbka jest ogrzewana kwasem chlorowodorowym. Mieszanina jest oziębiana i filtrowana. Pozostałość jest przemywana i suszona, a następnie poddawana oznaczeniu przy zastosowaniu postępowania A.

3. ODCZYNNIKI I ROZTWORY

3.1. Eter naftowy o zakresie temperatur wrzenia od 40 do 60°C. Wartość bromowa powinna być mniejsza niż 1, a pozostałość po odparowaniu mniejsza od 2 mg/100ml.

3.2. Siarczan sodu bezwodny.

3.3. Kwas chlorowodorowy, $c = 3 \text{ mol HCl/l}$.

3.4. Materiał wspomagający filtrację, proponuje się zastosować Kieselguhr, Hyflo-supercel.

4. APARATURA I SPRZĘT

4.1. Aparat do ekstrakcji. Jeżeli jest wyposażony w syfon tak jak aparat Soxhleta, szybkość skraplania powinna wynosić około 10 cykli na godzinę. Jeżeli aparat nie ma syfonu, wówczas szybkość skraplania powinna wynosić około 10 ml na minutę.

4.2. Gilzy do ekstrakcji, niezawierające substancji rozpuszczalnych w eterze naftowym i o porowatości odpowiadającej wymaganiom określonym w ust. 4.1.

4.3. Suszarka albo suszarka próżniowa z możliwością ustawienia temperatury suszenia na $75^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ lub suszarka nawiewna z możliwością ustawienia temperatury na $100^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$.

5. SPOSÓB POSTĘPOWANIA

5.1. Postępowanie A

Przy postępowaniu A uwzględnić ust. 8.1.

Odważyć 5 g próbki, z dokładnością do 1 mg, przenieść do gilzy ekstrakcyjnej, o której mowa w ust. 4.2, i przykryć beztluszczowym zwitkiem waty bawełnianej.

Umieścić gilzę w aparacie do ekstrakcji, o którym mowa w ust. 4.1, i ekstrahować przez 6 godzin eterem naftowym, o którym mowa w ust. 3.1. Zebrać ekstrakt eterowy do suchej, zważonej kolby zawierającej kawałki pumeksu.³⁾

Oddestylować rozpuszczalnik. Suszyć pozostałość, umieszczając kolbę w suszarce, o której mowa w ust. 4.3, na 1,5 godziny. Ochłodzić w eksykatorze i zważyć. Suszyć ponownie przez 30 minut w celu zapewnienia stałej masy olejów i tłuszczu, przy czym straty masy pomiędzy dwoma kolejnymi ważeniami nie powinny przekraczać 1 mg.

5.2. Postępowanie B

Przy uwzględnieniu ust. 8.2, odważyć 2,5 g próbki, z dokładnością do 1 mg, umieścić w zlewce o pojemności 400 ml lub w kolbie stożkowej o pojemności 300 ml i dodać 100 ml kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust. 3.3, oraz kawałki pumeksu. Przykryć zlewkę szkiełkiem zegarkowym lub dopasować kolbę stożkową z chłodnicą zwrotną. Doprowadzić mieszaninę do spokojnego wrzenia w małym płomieniu palnika lub na płytce grzewczej i utrzymywać wrzenie przez godzinę. Nie dopuszczać do osadzania się produktu na ścianach naczynia.

Ochłodzić i dodać materiał wspomagający filtrację, o którym mowa w ust. 3.4, w ilości zapobiegającej jakimkolwiek stratom oleju i tłuszczu podczas filtracji. Przefiltrować przez zwilżony, beztluszczowy podwójny filtr papierowy. Przemywać pozostałość zimną wodą do uzyskania obojętnego filtratu. Sprawdzić, czy filtrat nie zawiera śladów olejów lub tłuszczów. Ich obecność wskazuje na konieczność przeprowadzenia przed hydrolizą ekstrakcji eterem naftowym przy zastosowaniu postępowania A.

Umieścić na szkiełku zegarkowym podwójny filtr papierowy z pozostałością i suszyć przez 1,5 godziny w suszarce nawiewnej, o której mowa w ust. 4.3, w temperaturze $100^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$.

Umieścić podwójny filtr papierowy zawierający suchą pozostałość w gilzie ekstrakcyjnej, o której mowa w ust. 4.2, i przykryć beztluszczowym zwitkiem waty bawełnianej. Umieścić gilzę w aparacie do ekstrakcji, o którym mowa w ust. 4.1, i postępować w sposób określony w ust. 5.1.

6. WYRAŻENIE WYNIKÓW

W przypadku postępowania A i B masę pozostałości wyrazić jako procent wagowy próbki.

7. SPRAWDZENIE METODY

7.1. Powtarzalność

Różnica pomiędzy wynikami dwóch równoległych oznaczeń wykonanych dla tej samej próbki nie powinna przekraczać:

- 0,2% w wartości bezwzględnej, dla zawartości oleju i tłuszczu poniżej 5%,
- 4,0% względem najwyższego wyniku, dla zawartości oleju i tłuszczu od 5 do 10%,
- 0,4% w wartości bezwzględnej, dla zawartości oleju i tłuszczu powyżej 10%.

8. OBJAŚNIENIA

8.1. Jeżeli produkty mają wysoką zawartość olejów i tłuszczów, które są trudne do rozdrobnienia lub osiągnięcia homogenności badanej próbki, postępować w sposób podany poniżej.

Odważyć 20 g próbki, z dokładnością do 1 mg, i zmieszać z 10 g lub więcej bezwodnego siarczanu sodu, o którym mowa w ust. 3.2. Ekstrahować eterem naftowym, o którym mowa w ust. 3.1, jak określono w ust. 5.1. Otrzymany ekstrakt uzupełnić do objętości 500 ml eterem, o którym mowa w ust. 3.1, i zmieszać. Pobrać 50 ml roztworu i przenieść do małej, suchej i zważonej kolby zawierającej kawałki pumeksu.³⁾ Oddestylować rozpuszczalnik. Suszyć pozostałość, umieszczając kolbę w suszarce, o której mowa w ust. 4.3, na 1,5 godziny. Ochłodzić w eksykatorze i zważyć. Suszyć ponownie przez 30 minut w celu zapewnienia stałej masy olejów i tłuszczu przy czym straty masy pomiędzy dwoma kolejnymi ważeniami nie mogą przekraczać 1 mg.

Usunąć rozpuszczalnik z pozostałości po ekstrakcji w gilzie, rozdrobnić pozostałość na 1 mm cząstki, ponownie umieścić w gilzie, nie dodawać siarczanu sodu. Umieścić gilzę w aparacie do ekstrakcji, o którym mowa w ust. 4.1.

³⁾ W przypadkach gdy tłuszcz lub olej powinien być poddany dalszym badaniom jakościowym, zastąpić pumeks kuleczkami szklanymi.

Umieścić gilzę w aparacie do ekstrakcji, o którym mowa w ust. 4.1, i ekstrahować przez 6 godzin eterem naftowym, o którym mowa w ust. 3.1. Zebrać ekstrakt eterowy do suchej, zważonej kolby zawierającej kawałki pumeksu.³⁾ Oddestylować rozpuszczalnik. Suszyć pozostałość, umieszczając kolbę w suszarce, o której mowa w ust. 4.3, na 1,5 godziny. Ochłodzić w eksykatorze i zważyć. Suszyć ponownie przez 30 minut w celu zapewnienia stałej masy olejów i tłuszczu, przy czym straty masy pomiędzy dwoma kolejnymi ważeniami nie mogą przekraczać 1 mg.

Zawartość oleju i tłuszczu, obliczyć w procentach wagowych próbki według następującego wzoru:

$$(10 a + b) \times 5$$

gdzie:

a – masa w g pozostałości po pierwszej ekstrakcji, podzielonej części ekstraktu,

b – masa w g pozostałości po drugiej ekstrakcji.

8.2. Dla produktów o niskiej zawartości olejów i tłuszczów próbkę można zwiększyć do 5 g.

8.3. W przypadku karmy dla zwierząt domowych o wysokiej zawartości wody może wystąpić potrzeba zmieszania tej karmy przed hydrolizą i ekstrakcją z bezwodnym siarczanem sodu przy zastosowaniu postępowania B.

8.4. W przypadku postępowania B określonego w ust. 5.2 do przemywania pozostałości po filtracji lepiej użyć wody gorącej zamiast zimnej.

8.5. W przypadku niektórych pasz czas suszenia wynoszący 1,5 godziny może być przedłużony. Unikać jednak nadmiernego suszenia, gdyż może to prowadzić do zaniżania wyników. Można również stosować kuchenki mikrofalowe.

8.6. Jeżeli zawartość surowego oleju lub tłuszczu jest większa niż 15%, zaleca się wstępną ekstrakcję przy zastosowaniu postępowania A przed hydrolizą i powtórna ekstrakcję przy zastosowaniu postępowania B. W pewnym stopniu postępowanie to zależy od rodzaju paszy i rodzaju oleju lub tłuszczu w paszy.

2.9. OZNACZANIE SKROBI METODĄ POLARYMETRYCZNĄ

1. CEL I ZAKRES STOSOWANIA METODY

Metoda służy do polarymerycznego oznaczania zawartości skrobi i wysokocząsteczkowych produktów jej rozkładu w paszach w celu sprawdzenia zgodności z rozporządzeniem Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 12 maja 2005 r. w sprawie dodatkowych informacji umieszczanych na oznakowaniu pasz (Dz.U. Nr 92, poz. 773).

2. SPOSÓB PRZEPROWADZENIA METODY

Metoda składa się z dwóch oznaczeń. W pierwszym ciepła próbka jest traktowana

rozcieńczonym kwasem chlorowodorowym. Po sklarowaniu i przefiltrowaniu mierzy się

polarymetrycznie skręcalność optyczną roztworu.

W drugim oznaczeniu próbka jest ekstrahowana 40% etanolem. Po zakwaszeniu filtratu

kwasem chlorowodorowym, sklarowaniu i przefiltrowaniu mierzy się tak jak w pierwszym

oznaczeniu skręcalność optyczną.

Różnica pomiędzy dwoma pomiarami, pomnożona przez znany współczynnik, daje zawartość

skrobi w próbce.

3. ODCZYNNIKI I ROZTWORY

3.1. Kwas chlorowodorowy, 25% (w/w) $d = 1,126$ g/ml.

3.2. Kwas chlorowodorowy, (m/V) 1,128%.

Stężenie sprawdzić poprzez miareczkowanie przy użyciu roztworu wodorotlenku sodu 0,1 mol/l w obecności czerwieni metylowej 0,1% (m/V) w 94% (V/V) etanolu. 10 ml = 30,94 ml NaOH o stężeniu 0,1 mol/l.

3.3. Roztwór Carreza I:

Rozpuścić w wodzie 21,9 g octanu cynku, $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$ i 3 g lodowatego kwasu octowego. Uzupełnić do objętości 1 litra wodą.

3.4. Roztwór Carreza II:

Rozpuścić w wodzie 10,6 g heksacyjanożelazianu(II) potasu $[K_4Fe(CN)_6] \cdot 3H_2O$. Uzupełnić do objętości 1 litra wodą.

3.5. Etanol, 40% (V/V), $d = 0,948$ g/ml w temperaturze 20°C.

4. APARATURA I SPRZĘT

4.1. Kolba Erlenmeyera o pojemności 250 ml ze szlifem szklanym i chłodnicą zwrotną.

4.2. Polarymetr lub sacharymetr.

5. SPOSÓB POSTĘPOWANIA

5.1. Przygotowanie próbki

Rozdrobnić próbkę, tak aby przesiewała się przez oczka sita o średnicy 0,5 mm.

5.2. Oznaczanie całkowitej skręcalności optycznej (P lub S), przy uwzględnieniu ust. 7.1.

Odważyć, z dokładnością do 1 mg, 2,5 g rozdrobnionej próbki i umieścić w kolbie miarowej o pojemności 100 ml. Dodać 25 ml kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust. 3.2, wstrząsnąć do równomiernego rozproszczenia próbki i dodać następną porcję 25 ml kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust. 3.2. Kolbę zanurzyć we wrzącej łaźni wodnej. Aby zapobiec aglomeracji, przez pierwsze 3 minuty nieprzerwanie wstrząsać kolbą. Systematycznie uzupełniać wodę w łaźni, ale tak aby woda pozostawała w stanie wrzenia, gdy jest w niej zanurzona kolba. Nie wyjmować kolby z wody w trakcie wstrząsania. Po 15 minutach wyjąć kolbę z łaźni wodnej, dodać 30 ml zimnej wody i natychmiast schłodzić do temperatury 20°C.

Dodać 5 ml roztworu Carreza I, o którym mowa w ust. 3.3, i wstrząsać przez minutę. Następnie dodać 5 ml roztworu Carreza II, o którym mowa w ust. 3.4, i ponownie wstrząsać przez minutę. Uzupełnić wodą do pełnej objętości kolby, zmieszać i przefiltrować. W tym rzadkim przypadku, gdy filtrat nie jest idealnie klarowny, powtórzyć oznaczanie przy użyciu większej ilości roztworów Carreza I i II, proponuje się zastosować 10 ml.

Zmierzyć skręcalność optyczną roztworu w 200 mm rurce przy zastosowaniu polarymetru lub sacharymetru.

5.3. Oznaczanie skręcalności optycznej (P' lub S') produktów rozpuszczonych w 40% etanolu.

Odważyć, z dokładnością do 1 mg, 5 g próbki, umieścić w kolbie miarowej o pojemności 100 ml i dodać około 80 ml etanolu, o którym mowa w ust. 3.5, uwzględniając ust. 7.2. Pozostawić kolbę na godzinę w temperaturze pokojowej, wstrząsając w tym czasie sześciokrotnie kolbą, tak aby próbka została dobrze zmieszana z etanolem. Uzupełnić etanolem, o którym mowa w ust. 3.5, do pełnej objętości kolby, zmieszać i przefiltrować. Pobrać pipetą 50 ml filtratu, co jest równe 2,5 g próbki do kolby Erlenmeyera o pojemności 250 ml, dodać 2,1 ml kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust. 3.1, i energicznie wstrząsnąć. Przymocować chłodnicę zwrotną do kolby Erlenmeyera i zanurzyć kolbę tę we wrzącej łaźni wodnej. Po 15 minutach wyjąć kolbę Erlenmeyera z łaźni, przenieść zawartość do kolby miarowej o pojemności 100 ml, spłukać kolbę Erlenmeyera niewielką ilością zimnej wody i schłodzić do temperatury 20°C. Sklarować przy użyciu roztworów Carreza I, o którym mowa w ust. 3.3, i Carreza II, o którym mowa w ust. 3.4, uzupełnić wodą do pełnej objętości kolby, zmieszać, przefiltrować i zmierzyć skręcalność optyczną, w sposób określony w drugim i trzecim akapicie ust. 5.2.

6. OBLICZANIE WYNIKÓW

Zawartość skrobi obliczyć w procentach według następujących wzorów:

6.1. Pomiary przy użyciu polarymetru

$$\text{Zawartość skrobi (\%)} = 2000 (P - P') / [\alpha]_{D}^{20}$$

gdzie:

P – całkowita skręcalność optyczna w stopniach kątowych,

P' – skręcalność optyczna w stopniach kątowych substancji rozpuszczonych w 40% (V/V) etanolu,

$[\alpha]_{D}^{20}$ – określona skręcalność optyczna czystej skrobi. Umowne wartości liczbowe przyjęte dla współczynnika są następujące:

+ 185,9° : skrobia ryżowa

+ 185,4° : skrobia ziemniaczana

+ 184,6° : skrobia kukurydziana

+ 182,7° : skrobia pszenna

+ 181,5° : skrobia jęczmienna

+ 181,3° : skrobia owsiana

+ 184,0° : inne typy skrobi i jej mieszaniny w mieszkankach paszowych.

6.2. Pomiary przy użyciu sacharymetru

$$\text{Zawartość skrobi (\%)} = 2000 / [\alpha]_{D}^{20} \times [(2N \times 0,665) \times (S - S') / 100] - [26,6 N \times (S - S') / [\alpha]_{D}^{20}]$$

gdzie:

S – całkowita skręcalność optyczna w stopniach sacharymetru,

S' – skręcalność optyczna w stopniach sacharymetru substancji rozpuszczonych w 40% (V/V) etanolu,

N – masa w g sacharozy w 100 ml wody ulegająca skręcalności optycznej 100 stopni sacharymetrycznych, podczas pomiaru przy użyciu rurki o długości 200 mm:

16,29 – dla sacharymetrów francuskich,

26,00 – dla sacharymetrów niemieckich,

20,00 – dla sacharymetrów połączonych,

$[\alpha]_{D}^{20}$ – określona skręcalność optyczna czystej skrobi przy uwzględnieniu ust. 6.1.

6.3. Powtarzalność

Różnica pomiędzy wynikami dwóch równoległych oznaczeń wykonanych dla tej samej próbki nie powinna przekraczać:

– 0,4% w wartości bezwzględnej, dla zawartości skrobi poniżej 40% i

– 1,1% odpowiednio, dla zawartości skrobi równej lub wyższej niż 40%.

7. OBJAŚNIENIA

7.1. Jeżeli próbka zawiera więcej niż 6% węglanów, w przeliczeniu na węglan wapnia, zniszczyć je przy użyciu odpowiedniej ilości rozcieńczonego kwasu siarkowego przed określeniem całkowitej skręcalności optycznej.

7.2. W przypadku produktów o wysokiej zawartości laktozy, takich jak mleko w proszku serum lub półtłuste mleko w proszku, postępować w następujący sposób: po dodaniu 80 ml etanolu, o którym mowa w ust. 3.5, przymocować chłodnicę zwrotną do kolby i kolbę tę zanurzyć w łaźni wodnej o temperaturze 50°C na 30 minut. Pozostawić do ochłodzenia i kontynuować analizę w sposób określony w ust. 5.3.

7.3. Następujące materiały paszowe, w przypadku obecności w znacznych ilościach w paszy, powodują interferencje podczas określania zawartości skrobi metodą polarymetryczną i mogą wpływać na otrzymywanie nieprawidłowych wyników:

- produkty z buraków cukrowych takie, jak wysłodki buraczane, melasa buraczana, wysłodki buraczane melasowane, wywar buraczany melasowany,
- miazga (pulpa, wysłodki) cytrusowa,
- siemię lniane, ekspelery z siemienia lnianego, siemię lniane ekstrahowane,
- nasiona rzepaku, ekspelery z nasion rzepaku, ekstrahowane nasiona rzepaku, łuski nasion rzepaku,
- nasiona słonecznika, ekstrahowane nasiona słonecznika, nasiona słonecznika częściowo łuskane, ekstrahowane,
- ekspelery kopry, kopra ekstrahowana,
- miazga (pulpa) ziemniaczana,
- drożdże odwodnione,
- produkty bogate w inulinę, a w szczególności chipsy i mączka z karczochów jerozolimskich,
- skwarki.

2.10. OZNACZANIE CUKRÓW

1. CEL I ZAKRES STOSOWANIA METODY

Metoda służy do oznaczania zawartości cukrów redukujących i całkowitej zawartości cukrów po inwersji wyrażonych jako glukoza lub w razie potrzeby jako sacharoza przeliczając przez współczynnik 0,95. Metoda jest stosowana do mieszanek paszowych. Dla innych pasz stosuje się specjalne metody. W razie potrzeby laktozę mierzy się oddzielnie uwzględniając ją w obliczeniach.

2. SPOSÓB PRZEPROWADZENIA METODY

Cukry ekstrahuje się w rozcieńczonym etanolu. Otrzymany roztwór klaruje się roztworami Carreza I i II. Po wyeliminowaniu etanolu zawartość cukrów przed i po inwersji oznacza się metodą Luff-Schoorla.

3. ODCZYNNIKI I ROZTWORY

3.1. Etanol, 40% (V/V), $d = 0,948$ g/ml przy temperaturze 20°C, obojętny wobec fenoloftaleiny.

3.2. Roztwór Carreza I:

Rozpuścić w wodzie 21,9 g octanu cynku, $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$ i 3 g lodowatego kwasu octowego. Uzupełnić do objętości 1 litra wodą.

3.3. Roztwór Carreza II:

Rozpuścić w wodzie 10,6 g heksacyjanożelazianu(II) potasu $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$. Uzupełnić do objętości 1 litra wodą.

3.4. Roztwór 0,1% (m/V) oranżu metylowego.

3.5. Kwas chlorowodorowy 4 N.

3.6. Kwas chlorowodorowy 0,1 N.

3.7. Roztwór wodorotlenku sodu 0,1 N.

3.8. Odczynnik Luff-Schoorla:

Ostrożnie mieszając dodać roztwór kwasu cytrynowego, o którym mowa w ust. 3.8.2, do roztworu węglanu sodu, o którym mowa w ust. 3.8.3. Następnie dodać roztwór siarczanu miedzi, o którym mowa w ust. 3.8.1, i uzupełnić do objętości 1 litra wodą. Zostawić na noc do osadzenia i przefiltrować. Sprawdzić normalność otrzymanego odczynnika (Cu 0,1 N, Na_2CO_3 2N). pH roztworu powinno wynosić około 9,4.

3.8.1. Roztwór siarczanu miedzi:

Rozpuścić 25 g siarczanu miedzi $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, wolnego od żelaza, w 100 ml wody.

3.8.2. Roztwór kwasu cytrynowego:

Rozpuścić 50 g kwasu cytrynowego $C_6H_8O_7 \cdot H_2O$ w 50 ml wody.

3.8.3. Roztwór węglanu sodu:

Rozpuścić 143,8 g bezwodnego węglanu sodu w około 300 ml ciepłej wody. Pozostawić do schłodzenia.

3.9. Roztwór tiosiarczanu(VI) sodu 0,1 N.

3.10. Roztwór skrobi:

Do 1 litra wrzącej wody dodać 5 g skrobi rozpuszczonej w 30 ml wody. Gotować 3 minuty, pozostawić do schłodzenia, a jeżeli to konieczne dodać 10 mg jodku rtęci jako środka konserwującego.

3.11. Kwas siarkowy 6 N.

3.12. 30% (m/V) roztwór jodku potasu.

3.13. Granulki pumeksu gotowane w kwasie chlorowodorowym, przemyte wodą i wysuszone.

3.14. 3-metylobutan-1-ol.

4. APARATURA I SPRZĘT

Mikser lub tumbler: od 35 do 40 obr/min.

5. SPOSÓB POSTĘPOWANIA

5.1. Ekstrakcja próbek

Odważyć 2,5 g próbki, z dokładnością do 1 mg, i umieścić w kolbie miarowej o pojemności 250 ml. Dodać 200 ml etanolu, o którym mowa w ust. 3.1, zmieszać w mikserze przez godzinę. Dodać 5 ml roztworu Carreza I, o którym mowa w ust. 3.2 i mieszać przez minutę. Dodać 5 ml roztworu Carreza II, o którym mowa w ust. 3.3 i ponownie mieszać przez minutę. Uzupełnić do pełnej objętości kolby etanolem, o którym mowa w ust. 3.1, homogenizować i przefiltrować. Pobrać 200 ml filtratu i odparować do około połowy objętości w celu usunięcia większości etanolu. Przenieść ilościowo pozostałość po odparowaniu do kolby miarowej o pojemności 200 ml przy użyciu ciepłej wody, schłodzić, uzupełnić do pełnej objętości

kolby wodą, homogenizować i, jeżeli to konieczne, przefiltrować. Roztwór ten będzie użyty do oznaczenia zawartości cukrów redukujących i, po inwersji, całkowitej zawartości cukrów.

5.2. Oznaczanie cukrów redukujących

Używając pipety pobrać nie więcej niż 25 ml roztworu zawierającego mniej niż 60 mg cukrów redukujących wyrażonych jako glukoza. Jeżeli to konieczne, uzupełnić do objętości 25 ml wodą destylowaną i oznaczyć zawartość cukrów redukujących metodą Luff-Schoorla. Wynik wyrazić jako procentową zawartość glukozy w próbce.

5.3. Oznaczenie całkowitej zawartości cukrów po inwersji

Używając pipety pobrać 50 ml roztworu i przenieść go do kolby miarowej o pojemności 100 ml. Dodać kilka kropli roztworu oranżu metylowego, o którym mowa w ust. 3.4, i następnie, ostrożnie mieszając, dodać kwas chlorowodorowy, o którym mowa w ust. 3.5, aż do zmiany barwy cieczy na czerwoną. Dodać 15 ml kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust. 3.6, zanurzyć kolbę we wrzącej łaźni wodnej na 30 minut. Szybko schłodzić do temperatury około 20°C i dodać 15 ml roztworu wodorotlenku sodu, o którym mowa w ust. 3.7. Uzupełnić kolbę do objętości 1 litra wodą i homogenizować. Pobrać nie więcej niż 25 ml roztworu zawierającego mniej niż 60 mg cukrów redukujących wyrażonych jako glukoza. Jeżeli to konieczne, uzupełnić kolbę do objętości 25 ml wodą destylowaną i oznaczyć zawartość cukrów redukujących metodą Luff-Schoorla. Wynik wyrazić jako procentową zawartość glukozy lub, jeżeli to konieczne – sacharozy, mnożąc przez współczynnik 0,95.

5.4. Miareczkowanie metodą Luff-Schoorla

Używając pipety pobrać 25 ml odczynnika Luff-Schoorla, o którym mowa w ust. 3.8, i przenieść go do kolby Erlenmayera o pojemności 300 ml, dodać 25 ml klarownego roztworu cukru. Dodać 2 granulki pumeksu, o których mowa w ust. 3.13, ogrzewać nad średnim płomieniem, ręcznie mieszając i doprowadzić ciecz do wrzenia w czasie około 2 minut. Natychmiast postawić kolbę na siatce azbestowej z otworem o średnicy około 6 cm, pod którym pali się płomień. Płomień powinien być tak ustawiony, aby ogrzewane było tylko dno kolby. Dopasować chłodnicę zwrotną do kolby Erlenmayera. Gotować 10 minut. Schłodzić natychmiast zimną wodą i po około 5 minutach miareczkować w następujący sposób:

Dodać 10 ml roztworu jodku potasu, o którym mowa w ust. 3.12, i od razu po tej czynności, zachowując ostrożność ze względu na ryzyko powstania piany, dodać 25 ml kwasu siarkowego, o którym mowa w ust. 3.11. Miareczkować roztworem tiosiarczynu(VI) sodu, o którym mowa w ust. 3.9, do pojawienia się mętnej żółtej barwy, dodać wskaźnik skrobiowy, o którym mowa w ust. 3.10, i dokończyć miareczkowanie.

Przeprowadzić takie samo miareczkowanie na mieszaninie 25 ml odczynnika Luff-Schoorla, o której mowa w ust. 3.8, i 25 ml wody, po dodaniu 10 ml roztworu jodku potasu, o którym mowa w ust. 3.12, i 25 ml kwasu siarkowego, o którym mowa w ust. 3.11, bez gotowania.

6. OBLICZANIE WYNIKÓW

Wykorzystując tabelę 1, określić ilość glukozy w mg, która odpowiada różnicy między wynikami dwóch miareczkowań, wyrażonych w mg tiosiarczynu(VI) sodu 0,1 N.

Wynik wyrazić jako udział procentowy w próbce.

Tabela 1. Wartości dla 25 ml odczynnika Luff-Schoorla, ml $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1 N, 2 minuty ogrzewania, 10 minut wrzenia

$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1 N	Glukoza, fruktoza, cukry inwertowane $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$		Laktoza $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$		Maltoza $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$		$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1 N
	ml	mg	różnica	mg	różnica	mg	
1	2,4	2,4	3,6	3,7	3,9	3,9	1
2	4,8	2,4	7,3	3,7	7,8	3,9	2
3	7,2	2,5	11,0	3,7	11,7	3,9	3
4	9,7	2,5	14,7	3,7	15,6	4,0	4
5	12,2	2,5	18,4	3,7	19,6	3,9	5
6	14,7	2,5	22,1	3,7	23,5	4,0	6
7	17,2	2,6	25,8	3,7	27,5	4,0	7
8	19,8	2,6	29,5	3,7	31,5	4,0	8
9	22,4	2,6	33,2	3,8	35,5	4,0	9
10	25,0	2,6	37,0	3,8	39,5	4,0	10
11	27,6	2,7	40,8	3,8	43,5	4,0	11
12	30,3	2,7	44,6	3,8	47,5	4,1	12
13	33,0	2,7	48,4	3,8	51,6	4,1	13
14	35,7	2,8	52,2	3,8	55,7	4,1	14
15	38,5	2,8	56,0	3,9	59,8	4,1	15
16	41,3	2,9	59,9	3,9	63,9	4,1	16
17	44,2	2,9	63,8	3,9	68,0	4,2	17
18	47,1	2,9	67,7	4,0	72,2	4,3	18
19	50,0	3,0	71,7	4,0	76,5	4,4	19
20	53,0	3,0	75,7	4,1	80,9	4,5	20

21	56,0	3,1	79,8	4,1	85,4	4,6	21
22	59,1	3,1	83,9	4,1	90,0	4,6	22
23	62,2		88,0		94,6		23

7. SPOSÓB POSTĘPOWANIA

7.1. W przypadku pasz bogatych w melasę i innych pasz, które nie są szczególnie homogenizowane, odważyć 20 g próbki i umieścić z 500 ml wody w kolbie miarowej o pojemności 1 litra. Mieszać przez godzinę w mikserze. Sklarować odczynnikami Carreza I, o których mowa w ust. 3.2, i Carreza II, o których mowa w ust. 3.3, w sposób określony w ust. 5.1 przy użyciu czterokrotnie większych ilości każdego odczynnika. Uzupełnić kolbę do objętości 80% etanolem (V/V).

Homogenizować i przefiltrować. Usunąć etanol, w sposób określony w ust. 5.1. Jeżeli nie ma dekstrynowanej skrobi, uzupełnić do pełnej objętości kolby wodą destylowaną.

7.2. W przypadku melasy i materiałów paszowych bogatych w cukier i prawie wolnych od skrobi takich jak chleb świętojański, suszone krajane buraki ćwikłowe, odważyć 5 g próbki, umieścić w kolbie miarowej o pojemności 250 ml, dodać 200 ml wody destylowanej, mieszać w mikserze przez godzinę lub jeśli to konieczne dłużej. Roztwór klarować odczynnikami Carreza I, o których mowa w ust. 3.2, i Carreza II, o których mowa w ust. 3.3, w sposób określony w ust. 5.1. Uzupełnić zimną wodą do pełnej objętości kolby, homogenizować i przefiltrować. Następnie postępować w sposób określony w ust. 5.3, w celu określenia zawartości cukrów.

8. OBJAŚNIENIA

8.1. Aby zapobiec powstawaniu piany, dodaje się niezależnie od objętości około 1 ml 3-metylobutan-1-olu, o którym mowa w ust. 3.14, przed gotowaniem z odczynnikami Luff-Schoorla.

8.2. Różnica pomiędzy zawartością całkowitą cukrów po inwersji, wyrażonych jako glukoza, a zawartością cukrów redukujących, wyrażonych jako glukoza, pomnożona przez 0,95 daje procentową zawartość sacharozy.

8.3. Aby oznaczyć zawartość cukrów redukujących, z wyłączeniem laktozy, można zastosować dwie następujące metody:

8.3.1. Dla szacunkowych obliczeń pomnożyć zawartość laktozy oznaczoną inną metodą przez 0,675 i uzyskany wynik odjąć od zawartości cukrów redukujących.

8.3.2 Aby dokładnie obliczyć zawartość cukrów redukujących, z wyłączeniem laktozy, ta sama próbka powinna być użyta do dwóch końcowych oznaczeń. Jedną analizę przeprowadza się na części roztworu otrzymanego w sposób określony w ust. 5.1, drugą na części roztworu otrzymanego podczas oznaczania laktozy metodą służącą do jej oznaczania (po fermentacji innych rodzajów cukrów i sklarowaniu).

W obu przypadkach ilość cukru jest oznaczana metodą Luff-Schoorla i przeliczana na 1 mg glukozy. Jedna wartość jest odejmowana od drugiej a różnica jest wyrażana jako udział procentowy próbki.

Przykład.

Dwie pobrane objętości odpowiadają próbce o masie próbki 250 mg, dla każdego oznaczenia.

W pierwszym przypadku 17 ml 0,1 N roztworu tiosiarczanu(VI) sodu odpowiada 44,2 mg zużytej glukozy, w drugim 11 ml odpowiada 27,6 mg glukozy.

Różnica wynosi 16,6 mg glukozy.

Zawartość cukrów redukujących (z wyłączeniem laktozy), w przeliczeniu na glukozę, wynosi:

$$\frac{4 \times 16,6}{10} = 6,64\%$$

2.11. OZNACZANIE LAKTOZY

1. CEL I ZAKRES STOSOWANIA METODY

Metoda służy do oznaczania zawartości laktozy w paszach zawierających ponad 0,5% laktozy.

2. SPOSÓB PRZEPROWADZENIA METODY

Cukry są rozpuszczane w wodzie. Roztwór poddawany jest fermentacji w obecności drożdży *Saccharomyces cerevisiae*, które nie rozkładają laktozy. Po sklarowaniu i przefiltrowaniu zawartość laktozy w filtracie jest oznaczana metodą Luff-Schoorla.

3. ODCZYNNIKI I ROZTWORY

3.1. Suspensja drożdży *Saccharomyces cerevisiae*:

25 g świeżych drożdży umieścić w 100 ml wody. Zawiesinę przechowywać w lodówce nie dłużej niż przez tydzień od jej sporządzenia.

3.2. Roztwór Carreza I:

Rozpuścić w wodzie 21,9 g octanu cynku, $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$ i 3 g lodowatego kwasu octowego. Uzupełnić kolbę do objętości 1 litra wodą.

3.3. Roztwór Carreza II:

Rozpuścić w wodzie 10,6 g heksacyjanożelazianu(II) potasu $[K_4Fe(CN)_6] \cdot 3H_2O$. Uzupełnić kolbę do objętości 1 litra wodą.

3.4. Odczynnik Luff-Schoorla:

Ostrożnie mieszając dodać roztwór kwasu cytrynowego, o którym mowa w ust. 3.4.2, do roztworu węglańku sodu, o którym mowa w ust. 3.4.3. Następnie dodać roztwór siarczanu miedzi, o którym mowa w ust. 3.4.1, i uzupełnić kolbę do objętości 1 litra wodą. Zostawić na noc do osadzenia i przefiltrować. Sprawdzić normalność otrzymanego odczynnika (Cu 0,1 N, Na₂CO₃ 2 N). pH roztworu powinno wynosić około 9,4.

3.4.1. Roztwór siarczanu miedzi:

Rozpuścić 25 g siarczanu miedzi CuSO₄ · 5H₂O wolnego od żelaza w 100 ml wody.

3.4.2. Roztwór kwasu cytrynowego:

Rozpuścić 50 g kwasu cytrynowego C₆H₈O₇ · H₂O w 50 ml wody.

3.4.3. Roztwór węglańku sodu:

Rozpuścić 143,8 g bezwodnego węglańku sodu w około 300 ml ciepłej wody. Pozostawić do schłodzenia.

3.5. Granulki pumeksu gotowane w kwasie chlorowodorowym, przemyte wodą i wysuszone.

3.6. 30% roztwór jodku sodu (m/V).

3.7. Kwas siarkowy 6 N.

3.8. Roztwór tiosiarczanu sodu 0,1 N.

3.9. Roztwór skrobi:

Do 1 litra wrzącej wody dodać 5 g skrobi rozpuszczonej w 30 ml wody. Gotować 3 minuty, pozostawić do schłodzenia, a jeżeli to konieczne dodać 10 mg jodku rtęci jako środka konserwującego.

4. APARATURA I SPRZĘT

4.1. Łaźnia wodna z termostatem umożliwiającym utrzymanie temperatury od 38 do 40°C.

5. SPOSÓB POSTĘPOWANIA

Odważyć 1 g próbki, z dokładnością do 1 mg, i umieścić w kolbie miarowej o pojemności 100 ml. Dodać od 25 do 30 ml wody. Umieścić kolbę we wrzącej łaźni wodnej na 30 minut, a następnie schłodzić do temperatury około 35°C. Dodać 5 ml zawiesiny drożdży, o której mowa w ust. 3.1, i homogenizować. Pozostawić kolbę na 2 godziny w łaźni wodnej o temperaturze od 38 do 40°C. Schłodzić do temperatury około 20°C.

Dodać 2,5 ml roztworu Carreza I, o którym mowa w ust. 3.2, i mieszać przez 30 sekund, następnie dodać 2,5 ml roztworu Carreza II, o którym mowa w ust. 3.3, i ponownie mieszać przez 30 sekund. Uzupełnić kolbę do objętości 1 litra wodą, zmieszać i przefiltrować. Używając pipety pobrać nie więcej niż 25 ml filtratu, który zawiera od 40 do 80 mg laktozy, i umieścić go w kolbie Erlenmeyera o pojemności 300 ml. W miarę potrzeby uzupełnić kolbę do objętości 25 ml wodą.

W ten sam sposób przeprowadzić test ślepej próby z 5 ml suspensji drożdżowej, o której mowa w ust. 3.1.

Oznaczyć zawartość laktozy według Luff-Schoorla, w następujący sposób:

Dodać 25 ml odczynnika Luff-Schoorla, o którym mowa w ust. 3.4, i dwie granulki pumeksu, o którym mowa w ust. 3.5. Ogrzewać nad średnim płomieniem, ręcznie mieszając i doprowadzić ciecz do wrzenia w czasie około 2 minut. Natychmiast postawić kolbę Erlenmeyera na siatce azbestowej z otworem o średnicy około 6 cm, pod którym pali się płomień. Płomień powinien być tak ustawiony aby ogrzewane było tylko dno kolby Erlenmeyera. Dopasować chłodnicę zwrotną do kolby Erlenmeyera. Gotować 10 minut. Schłodzić natychmiast zimną wodą i po około 5 minutach miareczkować w następujący sposób:

Dodać 10 ml roztworu jodku sodu, o którym mowa w ust. 3.6, i niezwłocznie, zachowując ostrożność ze względu na ryzyko powstania piany, dodać 25 ml kwasu siarkowego, o którym mowa w ust. 3.7. Miareczkować roztworem tiosiarczanu sodowego, o którym mowa w ust. 3.8, do pojawienia się mętnej żółtej barwy, dodać kilka kropli wskaźnika skrobiowego, o którym mowa w ust. 3.9 i dokończyć miareczkowanie.

Przeprowadzić takie samo miareczkowanie na odmierzonej mieszance 25 ml odczynnika Luff-Schoorla, o którym mowa w ust. 3.4, i 25 ml wody, po dodaniu 10 ml roztworu jodku sodu, o którym mowa w ust. 3.6, i 25 ml kwasu siarkowego, o którym mowa w ust. 3.7, bez gotowania.

6. OBLICZANIE WYNIKÓW

Wykorzystując tabelę 1 określić ilość laktozy w mg, która odpowiada różnicy między wynikami dwóch miareczkowań, wyrażonych w ml roztworu tiosiarczanu sodu 0,1 N.

Wynik wyrazić jako udział procentowy bezwodnej laktozy w próbce.

7. OBJAŚNIENIA

W przypadku produktów zawierających ponad 40% fermentujących cukrów dodać więcej niż 5 ml zawiesiny drożdży, o której mowa w ust. 3.1.

ROZDZIAŁ 3

BADANIE AMINOKWASÓW

3.1. OZNACZANIE AMINOKWASÓW

1. CEL I ZAKRES STOSOWANIA METODY

Metoda służy do oznaczania zawartości wolnych, syntetycznych i naturalnych, oraz całkowitych, związanych i wolnych peptydów, aminokwasów w paszach przy użyciu analizatora aminokwasów. Metoda ma zastosowanie do następujących aminokwasów: cystyny (cysteiny), metioniny, lizyny, treoniny, alaniny, argininy, kwasu asparaginowego, kwasu glutaminowego, glicyny, histydyny, izoleucyny, leucyny, fenyloalaniny, proliny, seryny, tyrozyny i waliny.

Metoda nie pozwala odróżnić soli aminokwasów, a także form D i L aminokwasów. Nie można jej stosować do oznaczania tryptofanu lub hydroksyanalogów aminokwasów.

2. SPOSÓB PRZEPROWADZENIA METODY

2.1. Wolne aminokwasy

Wolne aminokwasy są ekstrahowane rozcieńczonym kwasem chlorowodorowym. Wyekstrahowane jednocześnie makrocząsteczki związków azotowych są wytrącane kwasem sulfosalicylowym i usuwane przez filtrowanie. Filtrowany roztwór jest dostosowany do pH 2,20. Aminokwasy są oddzielane w drodze chromatografii jonowymiennej i oznaczane przy zastosowaniu reakcji z ninhydriną, poprzez fotometryczną detekcję przy 570 nm.

2.2. Aminokwasy całkowite

Wybór sposobu postępowania zależy od oznaczanych aminokwasów. Cystynę (cysteinę) i metioninę przed hydrolizą poddać utlenianiu, odpowiednio do kwasu cysteinowego i sulfonu metioniny. Tyrozyna powinna być oznaczana w hydrolizatach próbek niepoddanych utlenieniu. Wszystkie inne aminokwasy wymienione w ust. 1 mogą być oznaczane albo w próbie utlenionej albo niepoddanej utlenianiu.

Utlenianie jest przeprowadzane w temperaturze 0°C przy użyciu mieszaniny kwasu nadmanganowego i fenolu. Nadmiar odczynnika utleniającego jest rozkładany przy użyciu dwusiarczku sodu. Utleniona lub niepoddana utlenianiu próbka jest hydrolizowana kwasem chlorowodorowym ($c = 6 \text{ mol/l}$) przez 23 godziny. Hydrolizat jest dostosowany do pH 2,20. Aminokwasy są oddzielane w drodze chromatografii jonowymiennej i oznaczane na drodze reakcji z ninhydriną, poprzez fotometryczną detekcję przy 570 nm lub w przypadku proliny 440 nm.

3. ODCZYNNIKI I ROZTWORY

Stosować wodę destylowaną lub podobnej czystości o przewodności $< 10 \mu\text{S}$.

3.1. Nadtlenek wodoru, $w = 30\%$.

3.2. Kwas mrówkowy, $w = 98 - 100\%$.

3.3. Fenol.

3.4. Dwusiarczyn sodu.

3.5. Wodorotlenek sodu.

3.6. Kwas 5-sulfosalicylowy dwuhydrat.

3.7. Kwas chlorowodorowy, gęstość około $1,18 \text{ g/ml}$.

3.8. Cytrynian trisodu, dwuhydrat.

3.9. 2,2' Tiodwuetanol (tiodwuglikol).

3.10. Chlorek sodu.

3.11. Ninhydryna.

3.12. Eter naftowy o temperaturze wrzenia $40 - 60^\circ\text{C}$.

3.13. Norleucyna lub inny związek odpowiedni do stosowania jako wzorzec wewnętrzny.

3.14. Azot gazowy ($< 10 \text{ ppm}$ tlenu).

3.15. 1-oktanol.

3.16. Aminokwasy.

3.16.1. Substancje wzorcowe określone w ust. 1. Czyste związki, niezawierające wody krystalizacyjnej. Suszyć w warunkach próżni w obecności P_2O_5 lub H_2SO_4 przez tydzień przed użyciem.

3.16.2. Kwas cysteinowy.

3.16.3. Sulfon metioniny.

3.17. Roztwór wodorotlenku sodu, $c = 7,5 \text{ mol/l}$:

Rozpuścić 300 g wodorotlenku sodu, o którym mowa w ust. 3.5, w wodzie i uzupełnić kolbę do objętości 1 litra wodą.

3.18. Roztwór wodorotlenku sodu, $c = 1 \text{ mol/l}$:

Rozpuścić 40 g wodorotlenku sodu, o którym mowa w ust. 3.5, w wodzie i uzupełnić kolbę do objętości 1 litra wodą.

3.19. Roztwór wodny kwasu mrówkowego i fenolu:

Zmieszać 889 g kwasu mrówkowego, o którym mowa w ust. 3.2, z 111 g wody i dodać 4,73 g fenolu, o którym mowa w ust. 3.3.

3.20. Mieszanina hydrolizująca, $c = 6 \text{ mol HCl/l}$, zawierająca 1 g fenolu/l:

Dodać 1 g fenolu, o którym mowa w ust. 3.3, do 492 ml kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust. 3.7, i uzupełnić kolbę do objętości 1 litra wodą.

3.21. Mieszanina ekstrakcyjna, $c = 0,1 \text{ mol HCl/l}$, zawierająca 2% tiodwuglikolu:

Pobrać 8,2 ml kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust. 3.7, rozpuścić w około 900 ml wody, dodać 20 ml tiodwuglikolu, o którym mowa w ust. 3.9, i uzupełnić kolbę do objętości 1 litra wodą, nie mieszać bezpośrednio odczynników określonych w ust. 3.7 i ust. 3.9.

3.22. Kwas 5-sulfosalicylowy, $\beta = 6\%$:

Rozpuścić 60 g kwasu 5-sulfosalicylowego, o którym mowa w ust. 3.6, w wodzie i uzupełnić kolbę do objętości 1 litra wodą.

3.23. Mieszanina utleniająca (kwas nadmanganowy – fenol):

Zmieszać w małej zlewce 0,5 ml nadtlenku wodoru, o którym mowa w ust. 3.1, z 4,5 ml roztworu kwasu mrówkowego i fenolu, o którym mowa w ust. 3.19. Inkubować w temperaturze od 20 do 30°C przez godzinę w celu utworzenia kwasu nadmanganowego, następnie schłodzić w lodowej łaźni wodnej przez 15 minut przed dodaniem do próbki.

Wykonując powyższe czynności unikać kontaktu ze skórą i nosić odzież ochronną.

3.24. Bufor cytrynianowy, $c = 0,2 \text{ mol Na}^+ / \text{l}$, pH 2,20:

Rozpuścić 19,61 g cytrynianu sodu, o którym mowa w ust. 3.8, 5 ml tiodwuglikolu, o którym mowa w ust. 3.9, 1 g fenolu, o którym mowa w ust. 3.3 i 16,50 ml kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust. 3.7 w około 800 ml wody. Dostosować pH do 2,20. Uzupełnić kolbę do objętości 1 litra wodą.

3.25. Bufor wymywający, przygotowany zgodnie z warunkami stosowanego analizatora, o którym mowa w ust. 4.9.

3.26. Odczynnik ninhydrynowy, przygotowany zgodnie z warunkami stosowanego analizatora, o którym mowa w ust. 4.9.

3.27. Wzorcowe roztwory aminokwasów, które należy przechowywać w temperaturze poniżej 5°C.

3.27.1. Podstawowy wzorcowy roztwór aminokwasów, o których mowa w ust. 3.16.1, każdy o stężeniu $c = 2,5 \mu\text{mol/ml}$, w kwasie chlorowodorowym. Mogą być stosowane gotowe wzorce.

3.27.2. Podstawowe wzorcowe roztwory kwasu cysteinowego i sulfonu metioniny, $c = 1,25 \mu\text{mol/ml}$.

Rozpuścić 0,2115 g kwasu cysteinowego, o którym mowa w ust. 3.16.2 i 0,2265, sulfonu metioniny, o którym mowa w ust. 3.16.3 w buforze cytrynianowym, o którym mowa w ust. 3.24, w kolbie miarowej o pojemności 1 litra i uzupełnić do pełnej objętości kolby buforem cytrynianowym. Przechowywać w temperaturze poniżej 5°C nie dłużej niż 12 miesięcy. Roztworu nie stosuje się jeżeli podstawowy wzorcowy roztwór, o którym mowa w ust. 3.27.1, zawiera kwas cysteinowy i sulfon metioniny.

3.27.3. Podstawowy wzorcowy roztwór wzorca wewnętrznego, proponuje się zastosować norleucynę, $c = 20 \mu\text{mol/ml}$.

Rozpuścić 0,6560 g norleucyny, o której mowa w ust. 3.13, w buforze cytrynianowym, o którym mowa w ust. 3.24, w kolbie miarowej i uzupełnić kolbę do objętości 250 ml buforem cytrynianowym. Przechowywać w temperaturze poniżej 5°C nie dłużej niż 6 miesięcy.

3.27.4. Kalibracyjny roztwór wzorca aminokwasów do użycia z hydrolizatami, $c = 5 \text{ nmol}/50 \mu\text{l}$ kwasu cysteinowego i sulfonu metioniny i $c = 10 \text{ nmol}/50 \mu\text{l}$ innych aminokwasów.

Rozpuścić 2,2 g chlorku sodu, o którym mowa w ust. 3.10, w zlewce o pojemności 100 ml z 30 ml buforu cytrynianowego, o którym mowa w ust. 3.24. Dodać 4,00 ml podstawowego roztworu wzorcowego aminokwasów, o którym mowa w ust. 3.27.1, 4,00 ml podstawowego roztworu wzorcowego kwasu cysteinowego i sulfonu metioniny, o których mowa w ust. 3.27.2 i, jeżeli jest stosowany, 0,50 ml podstawowego roztworu wzorcowego wzorca wewnętrznego, o którym mowa w ust. 3.27.3. Dostosować pH do 2,20 przy użyciu wodorotlenku sodu, o którym mowa w ust. 3.18.

Przenieść ilościowo do kolby miarowej o pojemności 50 ml, uzupełnić do pełnej objętości kolby buforem cytrynianowym, o którym mowa w ust. 3.24, i zmieszać.

Przechowywać w temperaturze poniżej 5°C nie dłużej niż 3 miesiące.

Przy wykonywaniu powyższych czynności uwzględnić ust. 9.1.

3.27.5. Kalibracyjny roztwór wzorca aminokwasów do stosowania z hydrolizatami przygotowanymi w sposób określony w ust. 5.3.3.1, i do użycia z ekstraktami, o których mowa w ust. 5.2. Roztwór kalibracyjny przygotowywać w sposób określony w ust. 3.27.4, z pominięciem chlorku sodu.

Przechowywać w temperaturze poniżej 5°C nie dłużej niż 3 miesiące.

4. APARATURA I SPRZĘT

4.1. Kolba okrągłodenna o pojemności 100 lub 250 ml z chłodnicą zwrotną.

4.2. Butelka ze szkła borokrzemowego o pojemności 100 ml z nakrętką pokrytą gumą lub teflonem, proponuje się zastosować Duran, Scott, do stosowania w suszarce.

4.3. Suszarka z silnym nawiewem i możliwością regulacji temperatury z dokładnością większą niż $\pm 2^\circ\text{C}$.

4.4. Pehametr z pomiarem do trzech miejsc po przecinku.

4.5. Filtr membranowy (0,2 μm).

4.6. Wirówka.

4.7. Obrotowa wyparka próżniowa.

4.8. Mieszadło magnetyczne lub mechaniczna wytrząsarka.

4.9. Analizator aminokwasów lub wyposażenie do HPLC z kolumną jonowymienną, z przystawką do ninhydryny, postkolumnową derywatywizującą i detektorem fotometrycznym.

Kolumna jest wypełniona sulfonowaną żywicą polistyrenową mającą zdolność rozdziału aminokwasów od siebie i od innych składników reagujących z ninhydryną. Przepływ buforu i ninhydryny jest przeprowadzany przez pompy o stabilności przepływu $\pm 0,5\%$ w czasie testowania kalibracyjnych roztworów, jak i analizy próbek.

W niektórych analizatorach aminokwasów mogą być stosowane metody hydrolizy, w których hydrolizat zawiera stężenie sodu $c = 0,8 \text{ mol/l}$ i zawiera całą pozostałość kwasu mrówkowego z etapu utleniania. Inne analizatory nie dają zadowalającego rozdziału niektórych aminokwasów, jeżeli hydrolizat zawiera nadmiar kwasu mrówkowego lub wysokie stężenie jonów sodowych. W tym przypadku objętość kwasu jest zmniejszana przez odparowanie po hydrolizie do objętości około 5 ml i przed ustaleniem pH. Odparowywanie powinno być prowadzone w warunkach próżni w temperaturze nie wyższej niż 40°C.

5. SPOSÓB POSTĘPOWANIA

5.1. Przygotowanie próbek

Rozdrobnić próbkę, tak aby przesiewała się przez oczka sita o średnicy 0,5 mm. Próbki o dużej zawartości wilgotności przed rozdrobnieniem wysuszyć albo suchym powietrzem o temperaturze nieprzekraczającej 50°C albo przez zamrożenie. Próbki o wysokiej zawartości tłuszczu przed rozdrobnieniem poddaje się ekstrakcji eterem naftowym, o którym mowa w ust. 3.12.

5.2. Oznaczanie wolnych aminokwasów w paszach i premiksach

Odważyć, z dokładnością do 0,2 mg, od 1 do 5 g próbki przygotowanej w sposób określony w ust. 5.1 do kolby stożkowej i dodać 100,0 ml mieszaniny ekstrakcyjnej, o której mowa w ust. 3.21. Wstrząsać mieszaninę przez 60 minut, używając wytrząsarki mechanicznej lub mieszadła magnetycznego, o którym mowa w ust. 4.8. Odstawić do sedymentacji osadu i pobrać pipetą 10,0 ml supernatantu roztworu do zlewki o objętości 100 ml.

Dodać, mieszając, 5,0 ml roztworu kwasu sulfosalicylowego, o którym mowa w ust. 3.22, i kontynuować mieszanie przy użyciu mieszadła magnetycznego przez 5 minut. Przefiltrować lub odwirować supernatant w celu usunięcia osadu. Umieścić 10,0 ml otrzymanego roztworu w zlewce o objętości 100 ml, dostosować pH do 2,20 przy użyciu roztworu wodorotlenku sodu, o którym mowa w ust. 3.18, przenieść do wolumetrycznej kolby, o której mowa w ust. 4.1, o odpowiedniej pojemności, przy użyciu buforu cytrynianowego, o którym mowa w ust. 3.24, i uzupełnić roztworem buforu cytrynianowego do pełnej objętości tej kolby.

Jeżeli jest stosowany wzorec wewnętrzny, dodać 1,0 ml roztworu wzorca wewnętrznego, o którym mowa w ust. 3.27.3, na każde 100 ml końcowego roztworu i uzupełnić roztworem buforu cytrynianowego, o którym mowa w ust. 3.24, do pełnej objętości kolby, o której mowa w ust. 4.1.

Przeprowadzić rozdział chromatograficzny w sposób określony w ust.5.4.

Jeżeli ekstrakty nie będą oznaczane tego samego dnia, przechowywać je w temperaturze poniżej 5°C.

5.3. Oznaczanie całkowitej zawartości aminokwasów

5.3.1. Utlenianie

Odważyć, z dokładnością do 0,2 mg, od 0,1 g do 1 g próbki przygotowanej w sposób określony w ust. 5.1 do:

- kolby okrągłodennej o pojemności 100 ml, o której mowa w ust. 4.1, do hydrolizy otwartej określonej w ust. 5.3.2.3 lub
- kolby okrągłodennej o pojemności 250 ml, o której mowa w ust. 4.1, jeżeli wymagane jest niskie stężenie sodu w przypadku określonym w ust. 5.3.3.1, lub
- butelki o pojemności 100 ml z nakrętką, o których mowa w ust. 4.2, w przypadku hydrolizy zamkniętej określonej w ust. 5.3.2.4.

Odważona próbka powinna zawierać około 10 mg azotu, a poziom wilgotności nie powinien przekraczać 100 mg.

Umieścić kolbę lub butelkę w lodowej łaźni wodnej i oziębic do temperatury 0°C, dodać 5 ml mieszaniny utleniającej, o którym mowa w ust. 3.23 i zmieszać używając szklanej bagietki z wygiętym końcem. Uszczelnić kolbę lub butelkę wraz z bagietką przy zastosowaniu hermetycznego filmu, umieścić wraz z lodową łaźnią wodną w lodówce o temperaturze 0°C i pozostawić na 16 godzin. Po 16 godzinach wyjąć z lodówki i rozłożyć nadmiar odczynnika utleniającego przez dodanie 0,84 g dwusiarczynu sodu, o którym mowa w ust. 3.4. Następnie postępować w sposób określony w ust. 5.3.2.1.

5.3.2. Hydroliza

5.3.2.1. Hydroliza próbek utlenionych

Do utlenionej próbki, przygotowanej w sposób określony w ust. 5.3.1, dodać 25 ml mieszaniny hydrolizującej, o której mowa w ust. 3.20, zwracając uwagę, aby zmyć pozostałości próbki przywierające do bocznych ścianek naczynia i bagietki. W zależności od sposobu przeprowadzonej hydrolizy, postępować w sposób określony w ust. 5.3.2.3 lub ust. 5.3.2.4.

5.3.2.2. Hydroliza próbek nieutlenionych

Odważyć, z dokładnością do 0,2 mg, od 0,1 g do 1 g próbki, otrzymanej w sposób określony w ust. 5.1 do kolby okrągłodennej o pojemności 100 ml lub 250 ml, o której mowa w ust. 4.1, lub do butelki z nakrętką o pojemności 100 ml, o którym mowa w ust. 4.2. Odważona próbka powinna zawierać około 10 mg azotu. Ostrożnie dodać 25 ml mieszaniny hydrolizującej, o której mowa w ust. 3.20, i zmieszać z próbką. Następnie postępować w sposób określony w ust. 5.3.2.3 lub ust. 5.3.2.4.

5.3.2.3. Hydroliza otwarta

Do kolby z mieszaniną, przygotowaną w sposób określony w ust. 5.3.2.1 lub ust. 5.3.2.2, dodać 3 szklane perelki i gotować utrzymując stan wrzenia ze zwrotem skroplin przez 23 godziny. Po zakończonej hydrolizie przemyć chłodnicę od dołu 5 ml buforu cytrynianowego, o którym mowa w ust. 3.24. Odłączyć kolbę i schłodzić w łaźni lodowej. Następnie postępować w sposób określony w ust. 5.3.3.

5.3.2.4. Hydroliza zamknięta

Umieścić butelkę zawierającą mieszaninę, przygotowaną w sposób określony w ust. 5.3.2.1 lub ust. 5.3.2.2, w suszarce, o którym mowa w ust. 4.3, w temperaturze 110°C. W czasie pierwszej godziny hydrolizy, aby uniknąć gwałtownego wzrostu ciśnienia, w wyniku powstawania substancji gazowych, i wybuchu, umieścić nakrętkę na naczyniu. **Nie zamykać naczynia korkiem.** Po godzinie dokręcić nakrętkę i pozostawić w suszarce, o której mowa w ust. 4.3, przez 23 godziny. Po zakończeniu hydrolizy wyjąć butelkę z suszarki, ostrożnie odkręcić nakrętkę i umieścić butelkę w lodowej łaźni wodnej. Pozostawić do schłodzenia.

W zależności od sposobu dostosowania pH, o którym mowa w ust. 5.3.3, przenieść ilościowo zawartość butelki do zlewki lub kolby okrągłodennej o pojemności 250 ml, stosując bufor cytrynianowy, o którym mowa w ust. 3.24. Następnie postępować w sposób określony w ust. 5.3.3.

5.3.3 Dostosowanie pH

W zależności od tolerancji analizatora aminokwasów, o którym mowa w ust. 4.9, na sól, pH dostosowuje się w sposób określony w ust. 5.3.3.1 lub ust. 5.3.3.2.

5.3.3.1. Dla systemów chromatograficznych, o których mowa w ust. 4.9 wymagających niskiego stężenia sodu:

Wskazane jest zastosowanie roztworu podstawowego wzorca wewnętrznego, o którym mowa w ust. 3.27.3, gdy analizatory aminokwasów wymagają niskiego stężenia sodu, w przypadku gdy należy zredukować objętość kwasu.

W tym przypadku dodać 2,00 ml roztworu podstawowego wzorca wewnętrznego, o którym mowa w ust. 3.27.3, do hydrolizatu przed odparowaniem.

Dodać 2 krople 1-oktanolu, o którym mowa w ust. 3.15 do hydrolizatu otrzymanego w sposób określony w ust. 5.3.2.3 lub ust. 5.3.2.4.

Stosując obrotową wyparkę próżniową, o której mowa w ust. 4.7, zmniejszyć objętość do 5 – 10 ml, w warunkach próżni w temperaturze 40°C. Jeżeli objętość roztworu zostanie przypadkowo zredukowana poniżej 5 ml, hydrolizat wyrzucić i powtórzyć analizę.

Dostosować pH do 2,20 przy użyciu roztworu wodorotlenku sodu, o którym mowa w ust. 3.18, i postępować w sposób określony w ust. 5.3.4.

5.3.3.2. Dla wszystkich innych analizatorów aminokwasów, o których mowa w ust. 4.9

Pobrać hydrolizaty otrzymane w sposób określony w ust. 5.3.2.3 lub ust. 5.3.2.4 i częściowo je zneutralizować, mieszając ostrożnie dodając, 17 ml roztworu wodorotlenku sodu, o którym mowa w ust. 3.17, zwracając uwagę, aby temperatura roztworu nie przekraczała 40°C.

Dostosować pH do 2,20 w temperaturze pokojowej, dodając roztwór wodorotlenku sodu, o którym mowa w ust. 3.17, a pod koniec roztwór wodorotlenku sodu, o którym mowa w ust. 3.18. Następnie postępować w sposób określony w ust. 5.3.4.

5.3.4. Przygotowanie roztworu próbki do analizy chromatograficznej

Przenieść ilościowo hydrolizaty o pH dostosowanym w sposób określony w ust. 5.3.3.1 lub ust. 5.3.3.2 przy użyciu buforu cytrynianowego, o którym mowa w ust. 3.24, do kolby miarowej o pojemności 200 ml i uzupełnić do pełnej objętości kolby buforem cytrynianowym, o którym mowa w ust. 3.24.

Jeżeli wcześniej nie dodawano wzorca wewnętrznego, dodać 2,00 ml roztworu wzorca wewnętrznego, o którym mowa w ust. 3.27.3, i uzupełnić buforem cytrynianowym, o którym mowa w ust. 3.24, do pełnej objętości kolby. Dokładnie zmieszać.

Następnie wykonać analizę chromatograficzną, o której mowa w ust. 5.4.

Jeżeli roztwory próbek nie będą analizowane tego samego dnia, przechowywuje się je w temperaturze poniżej 5°C.

5.4. Chromatografia

Przed analizą chromatograficzną doprowadzić ekstrakt, otrzymany w sposób określony w ust. 5.2 lub hydrolizat otrzymany w sposób określony w ust. 5.3.4 do temperatury pokojowej. Wstrząsnąć mieszaniną i przefiltrować jej odpowiednią ilość przez filtr membranowy, o którym mowa w ust. 4.5. Otrzymany klarowny roztwór jest przeznaczony do chromatografii jonowymiennej przy wykorzystaniu analizatora aminokwasów, o którym mowa w ust. 4.9.

Dozowanie wykonuje się ręcznie lub automatycznie. Na kolumnę nanosi się takie same ilości roztworów z dokładnością $\pm 0,5\%$ zarówno w przypadku analizy wzorców, jak i badanych próbek, z wyjątkiem gdy jest stosowany wzorzec wewnętrzny, oraz aby stosunek sodu do aminokwasu w roztworze badanej próbki był podobny jak w roztworze wzorcowym.

Częstość przeprowadzania kalibracji zależy od stabilności odczynnika ninhydrynowego i od systemu analitycznego. Wzorzec lub próbka są wymywane buforem cytrynianowym, o którym mowa w ust. 3.24, tak aby powierzchnia pików wzorca odpowiadała 30 – 200% powierzchni pików badanej próbki aminokwasu.

Analiza chromatograficzna aminokwasów będzie różnić się nieznacznie w zależności od typu stosowanego analizatora i żywicy. Wybrany system powinien mieć zdolność oddzielenia od siebie aminokwasów oraz od innych substancji dających z ninhydryną reakcje. W badanym zakresie stosowany system chromatograficzny powinien dawać liniową odpowiedź na zmiany ilości aminokwasów dodawanych na kolumnę.

W czasie analizy chromatograficznej opisany poniżej stosunek doliny do wysokości pików odnosi się do przypadku, gdy jest analizowany równomolowy roztwór, oznaczanego aminokwasu. Równomolowy roztwór aminokwasu powinien zawierać co najmniej 30% maksymalnej zawartości każdego aminokwasu, który można aktualnie oznaczyć z użyciem danego analizatora aminokwasów, o którym mowa w ust. 4.9.

Dla oddzielenia treoniny od seryny stosunek doliny do wysokości pików niższego z pokrywających się aminokwasów na chromatografie nie powinien przekraczać 2:10, w przypadku, gdy oznaczane są tylko cystyna (cysteina), metionina, treonina i lizyna, nie wystarczające oddzielenie od sprzężonych pików będzie ujemnie wpływało na oznaczenie. Dla wszystkich innych aminokwasów rozdział powinien być lepszy niż 1:10.

System powinien zapewniać oddzielenie lizyny od „artefaktów lizyny” i od ornityny.

6. OBLICZANIE WYNIKÓW

Powierzchnię pików próbki i wzorca mierzy się dla każdego pojedynczego aminokwasu, a zawartość aminokwasu w g/kg próbki jest obliczana według następującego wzoru:

$$\frac{A \times E \times MW \times F}{B \times W \times 1000} = \text{g aminokwasu na kg próbki}$$

Jeżeli jest stosowany wzorzec wewnętrzny, wyrażenie mnożymy przez D/C.

gdzie:
A – powierzchnia pików hydrolizatu lub ekstraktu,
B – powierzchnia pików, wzorcowego roztworu kalibracyjnego,
C – powierzchnia pików, wzorca wewnętrznego w hydrolizacie lub ekstrakcie,
D – powierzchnia pików wzorca wewnętrznego, roztworu wzorca kalibracyjnego,
MW – masa cząsteczkowa oznaczanego aminokwasu,
E – stężenie wzorca w $\mu\text{mol/ml}$,
W – masa próbki w g przeliczona na masę oryginalnej próbki w przypadku odtłuszczenia lub podsuszania,
F – hydrolizat ogółem w ml otrzymany w sposób określony w ust. 5.3.4 lub obliczona ogólna objętość w ml rozcieńczonego ekstraktu.

Cystyna i cysteina są oznaczane jako kwas cysteinowy w hydrolizatach utlenionej próbki, ale są obliczane jak cystyna - $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}_2$, MW 240,30 przez zastosowanie MW 120,15 (= 0,5 x 240,30).

Metionina jest oznaczana jako sulfon metioniny w hydrolizatach utlenionej próbki, ale jest obliczana jak metionina przez zastosowanie MW metioniny: 149,21.

Dodana wolna metionina jest oznaczana po ekstrakcji jako metionina, przy czym dla obliczeń stosowana jest taka sama wartość MW.

Ogólna objętość rozcieńczonych ekstraktów (F) w przypadku oznaczania zawartości wolnych aminokwasów, o którym mowa w ust. 5.2, obliczyć według następującego wzoru:

$$F = 100 \text{ ml} \times \frac{(10 \text{ ml} + 5 \text{ ml})}{10 \text{ ml}} \times \frac{V \text{ ml}}{10 \text{ ml}}$$

gdzie:

V – objętość końcowego ekstraktu.

7. OCENA METODY

Międzynarodowe badania porównawcze metody były przeprowadzone w 1990 r. przy użyciu czterech pasz w tym mieszanki paszowej dla świń, mieszanki paszowej dla brojlerów, koncentratu białkowego i premiksu. Po odrzuceniu wyników odbiegających, średnie wyniki i odchylenia standardowe są przedstawione w poniższej tabeli 2:

Tabela 2. Średnie wielkości w g/kg

Material badany	Aminokwas
-----------------	-----------

	Treonina	Cystyna / cysteina	Metionina	Lizyna
Mieszanka paszowa dla świń	6,94 n = 15	3,01 n = 17	3,27 n = 17	9,55 n = 13
Mieszanka paszowa dla brojlerów	9,31 n = 16	3,92 n = 18	5,08 n = 18	13,93 n = 16
Koncentrat białkowy	22,32 n = 16	5,06 n = 17	12,01 n = 17	47,74 n = 15
Premiks	58,42 n = 16	–	90,21 n = 16	98,03 n = 16

n = liczba uczestniczących laboratoriów

7.1. Powtarzalność

Powtarzalność wyrażona jako „odchylenie standardowe wewnątrz laboratorium” omawianego powyżej porównawczego badania jest przedstawiona w tabeli 3 i 4.

Tabela 3. Odchylenie standardowe wewnątrz laboratorium (S_r) w g/kg

Material badany	Aminokwas			
	Treonina	Cystyna / cysteina	Metionina	Lizyna
Mieszanka paszowa dla świń	0,13 n = 15	0,10 n = 17	0,11 n = 17	0,26 n = 13
Mieszanka paszowa dla brojlerów	0,20 n = 16	0,11 n = 18	0,16 n = 18	0,28 n = 16
Koncentrat białkowy	0,48 n = 16	0,13 n = 17	0,27 n = 17	0,99 n = 15
Premiks	1,30 n = 16	–	2,19 n = 16	2,06 n = 16

n = liczba uczestniczących laboratoriów

Tabela 4. Współczynnik zmienności (%) dla odchylenia standardowego wewnątrz laboratorium (S_r)

Material badany	Aminokwas			
	Treonina	Cystyna / cysteina	Metionina	Lizyna
Mieszanka paszowa dla świń	1,9 n = 15	3,3 n = 17	3,4 n = 17	2,8 n = 13
Mieszanka paszowa dla brojlerów	2,1 n = 16	2,8 n = 18	3,1 n = 18	2,1 n = 16
Koncentrat białkowy	2,7 n = 16	2,6 n = 17	2,2 n = 17	2,4 n = 15
Premiks	2,2 n = 16	–	2,4 n = 16	2,1 n = 16

n = liczba uczestniczących laboratoriów

7.2. Odtwarzalność

Wyniki odchylenia standardowego między laboratoriami otrzymane w wyniku przeprowadzenia omawianego powyżej porównawczego badania są przedstawione w tabeli 5 i 6.

Tabela 5. Odchylenie standardowe między laboratoriami (S_R) w g/kg

Material badany	Aminokwas			
	Treonina	Cystyna / cysteina	Metionina	Lizyna

Mieszanka paszowa dla świń	0,28 n = 15	0,30 n = 17	0,23 n = 17	0,30 n = 13
Mieszanka paszowa dla brojlerów	0,48 n = 16	0,34 n = 18	0,55 n = 18	0,75 n = 16
Koncentrat białkowy	0,85 n = 16	0,62 n = 17	1,57 n = 17	1,24 n = 15
Premiks	2,49 n = 16	–	6,20 n = 16	6,62 n = 16

n = liczba uczestniczących laboratoriów

Tabela 6. Współczynnik zmienności (%) dla odchylenia standardowego między laboratoriami (S_R)

Materiał badany	Aminokwas			
	Treonina	Cystyna / cysteina	Metionina	Lizyna
Mieszanka paszowa dla świń	4,1 n = 15	9,9 n = 17	7,0 n = 17	3,2 n = 13
Mieszanka paszowa dla brojlerów	5,2 n = 16	8,8 n = 18	10,9 n = 18	5,4 n = 16
Koncentrat białkowy	3,8 n = 16	12,3 n = 17	13,0 n = 17	3,0 n = 15
Premiks	4,3 n = 16	–	6,9 n = 16	6,7 n = 16

n = liczba uczestniczących laboratoriów

8. SPRAWDZENIE METODY

Prawidłowe stosowanie metody weryfikować poprzez wykonywanie powtarzalnych oznaczeń certyfikowanych materiałów odwoławczych, jeżeli takie są dostępne. Zalecana jest także kalibracja z zastosowaniem certyfikowanych kalibracyjnych roztworów aminokwasów.

9. OBJAŚNIENIA

9.1. Z powodu różnic pomiędzy analizatorami aminokwasów końcowe stężenia kalibracyjnych roztworów aminokwasów wzorcowych określonych w ust. 3.27.4 i ust. 3.27.5 oraz hydrolizatu określonego w ust. 5.3.4 traktować jako przykładowe.

Zakres liniowej odpowiedzi aparatu powinien zostać sprawdzony dla wszystkich aminokwasów.

Roztwór wzorcowy jest rozcieńczany buforem cytrynianowym, tak aby otrzymać powierzchnię pików o średnim zasięgu.

9.2. Jeżeli do analizy produktów hydrolizy wykorzystywany jest wysokosprawy chromatograf cieczowy, zoptymalizować warunki doświadczalne analizy zgodnie z zaleceniami producenta.

9.3. Przy stosowaniu tej metody do pasz zawierających więcej niż 1% chlorków w tym koncentraty, mieszanki mineralne, mieszanki paszowe uzupełniające, wyniki oznaczania metioniny mogą być zaniżone i należy stosować specjalne postępowanie.

3.2. OZNACZANIE TRYPTOFANU

1. CEL I ZAKRES STOSOWANIA METODY

Metoda służy do oznaczania zawartości całkowitego i wolnego tryptofanu w paszach. Metoda nie wyróżnia form D i L.

2. SPOSÓB PRZEPROWADZENIA METODY

W celu oznaczenia całkowitego tryptofanu próbka jest hydrolizowana w środowisku zasadowym przy użyciu nasyconego roztworu wodorotlenku baru i ogrzewana do 110°C przez 20 godzin. Po hydrolizie dodany jest wzorec wewnętrzny.

W celu oznaczenia wolnego tryptofanu próbka jest ekstrahowana w warunkach lekko kwaśnych w obecności wzorca wewnętrznego.

Tryptofan i wzorec wewnętrzny w hydrolizacie lub w ekstrakcie jest oznaczony metodą HPLC z detekcją fluorescencyjną.

3. ODCZYNNIKI I ROZTWORY

3.1. Woda podwójnie destylowana lub woda o porównywalnej jakości o przewodnictwie < 10 $\mu\text{S}/\text{cm}$).

- 3.2. Substancja wzorcowa: tryptofan (czystość / zawartość $\geq 99\%$) suszony w próżni nad pięciotlenkiem fosforu.
- 3.3. Substancja wzorcowa wewnętrzna: α -metylo-tryptofan (czystość / zawartość $\geq 99\%$) suszony w próżni nad pięciotlenkiem fosforu.
- 3.4. Wodorotlenek baru, oktahydrat
Nie wystawiać $\text{Ba}(\text{OH})_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ na nadmierne działanie powietrza, aby uniknąć tworzenia się BaCO_3 , który mógłby utrudniać oznaczenie. Uwzględnić ust. 9.3.
- 3.5. Wodorotlenek sodu.
- 3.6. Kwas ortofosforowy, $w = 85\%$.
- 3.7. Kwas chlorowodorowy, $\rho_{20} = 1,19 \text{ g/ml}$.
- 3.8. Metanol do HPLC.
- 3.9. Eter naftowy o temperaturze wrzenia od 40 do 60°C.
- 3.10. Roztwór wodorotlenku sodu, $c = 1 \text{ mol/l}$:
Rozpuścić 40,0 g wodorotlenku sodu, o którym mowa w ust. 3.5, w wodzie i uzupełnić do objętości 1 litra wodą.
- 3.11. Kwas chlorowodorowy, $c = 6 \text{ mol/l}$:
Odmierzyć 492 ml kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust. 3.7, i uzupełnić do objętości 1 litra wodą.
- 3.12. Kwas chlorowodorowy, $c = 1 \text{ mol/l}$:
Odmierzyć 82 ml kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust. 3.7, i uzupełnić do objętości 1 litra wodą.
- 3.13. Kwas chlorowodorowy, $c = 0,1 \text{ mol/l}$:
Odmierzyć 8,2 ml kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust. 3.7, i uzupełnić do objętości 1 litra wodą.
- 3.14. Kwas ortofosforowy, $c = 0,5 \text{ mol/l}$:
Odmierzyć 34 ml kwasu ortofosforowego, o którym mowa w ust. 3.6, i uzupełnić do objętości 1 litra wodą.
- 3.15. Stężony roztwór tryptofanu, o którym mowa w ust. 3.2, $c = 2,50 \mu\text{mol/ml}$:
W kolbie miarowej o pojemności 500 ml rozpuścić 0,2553 g tryptofanu, o którym mowa w ust. 3.2, w kwasie chlorowodorowym, o którym mowa w ust. 3.13 i uzupełnić do objętości kwasem chlorowodorowym, o którym mowa w ust. 3.13. Przechowywać w temperaturze -18°C nie dłużej niż 4 tygodnie.
- 3.16. Stężony roztwór wzorca wewnętrznego, $c = 2,50 \mu\text{mol/ml}$:
W kolbie miarowej o pojemności 500 ml rozpuścić 0,2728 g α -metylo-tryptofanu, o którym mowa w ust. 3.3 w kwasie chlorowodorowym, o którym mowa w ust. 3.13, i uzupełnić do pełnej objętości kolby tym kwasem. Przechowywać w temperaturze -18°C nie dłużej niż 4 tygodnie.
- 3.17. Kalibracyjny roztwór wzorcowy tryptofanu i wzorca wewnętrznego:
Odmierzyć 2,00 ml stężonego roztworu tryptofanu, o którym mowa w ust. 3.15, i 2,00 ml stężonego roztworu wzorca wewnętrznego (α -metylo-tryptofanu), o którym mowa w ust. 3.16. Rozcieńczyć wodą, o której mowa w ust. 3.1, i metanolem, o którym mowa w ust. 3.8, w przybliżeniu do tej samej objętości i tego samego stężenia metanolu (10 – 30%) jak w końcowym hydrolizacie.
Roztwór przygotowuje się bezpośrednio przed użyciem.
Chronić przed bezpośrednim działaniem światła podczas przygotowywania.
- 3.18. Kwas octowy.
- 3.19. 1,1,1-trichloro-2-metylo-2-propanol.
- 3.20. Etanoloamina $> 98\%$.
- 3.21. Roztwór 1 g 1,1,1-trichloro-2-metylo-2-propanolu, o którym mowa w ust. 3.19, w 100 ml metanolu, o którym mowa w ust. 3.8.
- 3.22. Faza ruchoma do HPLC: mieszanina 3,00 g kwasu octowego, o którym mowa w ust. 3.18, 900 ml wody, o której mowa w ust. 3.1 i 50,0 ml roztworu, o którym mowa w ust. 3.21. Dostosować pH do 5,00 stosując etanoloaminę, o której mowa w ust. 3.20. Uzupełnić do objętości 1 litra wodą.

4. APARATURA I SPRZĘT

- 4.1. Wyposażenie HPLC z detektorem spektrofotometrycznym.
- 4.2. Kolumna do chromatografii cieczowej, 125 mm x 4 mm, C_{18} , wypełnienie 3 μm lub równoważne.
- 4.3. Pehametr.
- 4.4. Kolby propylenowe o pojemności 125 ml, z szeroką szyjką i wkręcaną nakrętką.
- 4.5. Filtr membranowy, 0,45 μm .
- 4.6. Autoklaw, 110 (± 2) $^\circ\text{C}$, 1,4 ($\pm 0,1$) bar.
- 4.7. Wstrząsarka mechaniczna lub mieszadło magnetyczne.
- 4.8. Mieszadło Vortex.

5. SPOSÓB POSTĘPOWANIA

- 5.1. Przygotowanie próbek
Rozdrobnić próbkę tak, aby przesiewała się przez oczka sita o średnicy 0,5 mm. Próbki o dużej zawartości wilgotności przed rozdrobnieniem wysuszyć albo na powietrzu w temperaturze nieprzekraczającej 50°C albo przez wymrażanie. Próbki o wysokiej zawartości tłuszczu przed rozdrobnieniem poddać ekstrakcji eterem naftowym, o którym mowa w ust. 3.9.
- 5.2. Oznaczanie wolnego tryptofanu (ekstrakt)
Odważyć, z dokładnością do 1 mg, od 1 g do 5 g próbki przygotowanej w sposób określony w ust. 5.1 do kolby stożkowej. Dodać 100,0 ml kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust. 3.13, i 5,00 ml stężonego roztworu wzorca wewnętrznego, o którym mowa w ust. 3.16. Wstrząsać lub mieszać przez 60 minut przy użyciu wstrząsarki mechanicznej lub mieszadła magnetycznego, o których mowa w ust. 4.7. Pozostawić do oddzielenia się osadu i przenieść pipetą 10,0 ml supernatantu roztworu do zlewki. Dodać 5 ml kwasu ortofosforowego, o którym mowa w ust. 3.14. Dostosować pH do 3,0 przy użyciu wodorotlenku sodu, o którym mowa w ust. 3.10. Dodać taką ilość metanolu, o którym mowa w ust. 3.8, aby uzyskać stężenia od 10 do 30% metanolu w końcowej objętości. Przenieść do kolby miarowej o odpowiedniej pojemności i rozcieńczyć wodą do objętości właściwej dla chromatografii, odpowiadającej objętości kalibracyjnego roztworu wzorcowego, określonego w ust. 3.17.

Przefiltrować kilka ml roztworu przez filtr membranowy 0,45 µm, o którym mowa w ust. 4.5, przed dozowaniem na kolumnę HPLC. Przeprowadzić chromatografię w sposób określony w ust. 5.4.

Roztwór wzorcowy i ekstrakty chronić przed bezpośrednim działaniem światła słonecznego. Jeżeli niemożliwe jest dokonanie analizy ekstraktów tego samego dnia, ekstrakty przechowywać w temperaturze 5°C nie dłużej niż przez 3 dni.

5.3. Oznaczanie całkowitego tryptofanu (hydrolizat)

Odważyć, z dokładnością do 0,2 mg, od 0,1 do 1 g próbki, otrzymanej w sposób określony w ust. 5.1, do kolby propylenowej, o której mowa w ust. 4.4. Odważona próbka powinna zawierać około 10 mg azotu. Dodać 8,4 g oktahydratu wodorotlenku baru, o którym mowa w ust. 3.4, i 10 ml wody. Mieszać przy użyciu mieszadła Vortex, o którym mowa w ust. 4.8 lub mieszadła magnetycznego, o którym mowa w ust. 4.7. Pozostawić osłonięty teflonem magnes w mieszaninie. Spłukać ściany naczynia przy użyciu 4 ml wody. Nałożyć nakrętkę i zamknąć luźno naczynie. Przenieść kolbę do autoklawu, o którym mowa w ust. 4.6, z wrzącą wodą i parą i utrzymywać ją w czasie od 30 do 60 minut. Zamknąć autoklaw i autoklawować w temperaturze 110°C (±2)°C przez 20 godzin.

Przed otwarciem autoklawu obniżyć temperaturę nieco poniżej 100°C. W celu uniknięcia krystalizacji Ba(OH)₂ · 8H₂O dodać do ciepłej mieszaniny 30 ml wody o temperaturze pokojowej. Łagodnie wstrząsać lub mieszać. Dodać 2,00 ml stężonego roztworu wzorca wewnętrznego (α-metylo-tryptofanu), o którym mowa w ust. 3.16. Studzić naczynia w łaźni wodnej lub lodowej przez 15 minut.

Następnie dodać 5 ml kwasu ortofosforowego, o którym mowa w ust. 3.14. Utrzymując naczynie w zimnej łaźni, zobojętnić przy użyciu kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust. 3.11, mieszając, i dostosować pH do 3,0 przy użyciu kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust. 3.12. Dodać ilość metanolu niezbędną do uzyskania stężenia od 10 do 30% metanolu w końcowej objętości. Przenieść do kolby miarowej o odpowiedniej pojemności i rozcieńczyć wodą do objętości, niezbędnej dla chromatografii, proponuje się zastosować 100 ml. Duran, Scott. Dodanie metanolu nie powinno powodować wytrącania.

Przefiltrować kilka ml roztworu przez filtr membranowy 0,45 µm, o którym mowa w ust. 4.5, przed dozowaniem na kolumnę HPLC. Przeprowadzić chromatografię w sposób określony w ust. 5.4.

Roztwór wzorcowy i produkty hydrolizy chronić przed bezpośrednim działaniem światła słonecznego. Jeżeli niemożliwe jest dokonanie analizy produktów hydrolizy tego samego dnia, produkty hydrolizy przechowywać w temperaturze 5°C nie dłużej niż przez 3 dni.

5.4. Oznaczanie HPLC

Poniższe parametry izokratycznej elucji są przykładowe. Przy oznaczaniu HPLC uwzględnić ust. 9.1 i ust. 9.2:

Kolumna do chromatografii cieczowej, o której mowa w 125 mm x 4 mm, C₁₈, wypełnienie 3 µm lub równoważne ust. 4.2:

Temperatura kolumny:	temperatura pokojowa
Faza ruchoma, o której mowa w ust. 3.22:	Mieszanina 3,00 g kwasu octowego, o którym mowa w ust. 3.18, 900 ml wody, o której mowa w ust. 3.1, i 50,0 ml roztworu, o którym mowa w ust. 3.21. Dostosować pH do 5,00 przy użyciu etanoloaminy, o której mowa w ust. 3.20. Uzupełnić do objętości 1 litra wodą, o której mowa w ust. 3.1
Szybkość przepływu:	1 ml/min
Całkowity czas analizy chromatograficznej:	około 34 minuty
Długość fali przy detekcji:	wzbudzenie: 280 nm, emisja: 356 nm
Dozowana objętość:	20 µl

Dopuszczalne jest zastosowanie innych parametrów gwarantujących uzyskanie równoważnych wyników.

6. OBLICZANIE WYNIKÓW

$$\frac{A \times B \times C \times D \times E \times MW}{F \times G \times H \times 10000 \times W} = \text{g tryptofanu na 100 g próbki}$$

gdzie:

A – powierzchnia pików wzorca wewnętrznego, kalibracyjny roztwór wzorcowy, o którym mowa w ust. 3.17,

B – powierzchnia pików tryptofanu, ekstraktu, o którym mowa w ust. 5.2, lub hydrolizatu, o którym mowa w ust. 5.3,

C – objętość w ml (2 ml) stężonego roztworu tryptofanu, o którym mowa w ust. 3.15, dodanego do roztworu kalibracyjnego, o którym mowa w ust. 3.17,

D – stężenie w µmol/ml (= 2,50) stężonego roztworu tryptofanu, o którym mowa w ust. 3.15, dodanego do roztworu kalibracyjnego, o którym mowa w ust. 3.17,

E – objętość w ml stężonego roztworu wzorca wewnętrznego, o którym mowa w ust. 3.16 dodanego przy ekstrakcji (= 5,00 ml), o której mowa w ust. 5.2 lub do hydrolizatu (= 2,00 ml), o którym mowa w ust. 5.3,

F – powierzchnia pików wzorca wewnętrznego, ekstraktu, o którym mowa w ust. 5.2, lub hydrolizatu, o którym mowa w ust. 5.3,

G – powierzchnia pików tryptofanu, kalibracyjnego roztworu wzorca, o którym mowa w ust. 3.17,

H – objętość w ml stężonego roztworu wzorca wewnętrznego, o którym mowa w ust. 3.16, dodanego do kalibracyjnego roztworu wzorcowego, o którym mowa w ust. 3.17,

W – naważka próbki w g, skorygowana względem masy wyjściowej, w przypadku gdy była podsuszana lub odfuszczana,

MW – ciężar cząsteczkowy tryptofanu (= 204,23).

7. SPRAWDZENIE METODY

Powtarzalność

Różnica pomiędzy wynikami dwóch równoległych oznaczeń wykonanych dla tej samej próbki nie powinna przekraczać 10% względem najwyższego wyniku.

8. WYNIKI BADAŃ MIĘDZYLABORATORYJNYCH

We Wspólnocie przeprowadzono badania porównawcze (czwarte porównanie wyników różnych laboratoriów), w których trzy próbki były analizowane przez 12 laboratoriów w celu sprawdzenia metody hydrolizy. Na każdej próbce powtórzono analizę pięciokrotnie. Jej wyniki są przedstawione w tabeli 7.

Tabela 7. Tabela badań porównawczych wykonanych w celu sprawdzenia metody hydrolizy

	Próbka 1 Pasza dla świń	Próbka 2 Pasza dla świń uzupełniona L-tryptofanem	Próbka 3 Koncentrat paszowy dla świń
L	12	12	12
n	50	55	50
Średnia [g/kg]	2,42	3,40	4,22
s_r [g/kg]	0,05	0,05	0,08
r [g/kg]	0,14	0,14	0,22
CV_r [%]	1,9	1,6	1,9
s_R [g/kg]	0,15	0,20	0,09
R [g/kg]	0,42	0,56	0,25
CV_R [%]	6,3	6,0	2,2

L – liczba laboratoriów; n – liczba pojedynczych zachowanych wyników eliminujących wartości oddalone (według Cochra, próba wartości oddalonych Dixon); s_r – odchylenie standardowe powtarzalności; s_R – odchylenie standardowe odtwarzalności; r – powtarzalność wyników; R – odtwarzalność wyników; CV_r – współczynnik zmienności powtarzalności; CV_R – współczynnik zmienności odtwarzalności.

W kolejnym badaniu porównawczym we Wspólnocie (trzecie porównanie wyników różnych laboratoriów), dwie próbki były analizowane przez 13 laboratoriów w celu sprawdzenia metody ekstrakcji wolnego tryptofanu. Na każdej próbce powtórzono analizę pięciokrotnie. Jej wyniki są przedstawione w tabeli 8.

Tabela 8. Tabela badań porównawczych wykonanych w celu sprawdzenia metody ekstrakcji wolnego tryptofanu.

	Próbka 4 Mieszanka pszenicy i soi	Próbka 5 Mieszanka pszenicy i soi (= próbka 4) z dodatkiem tryptofanu (0,457 g/kg)
L	12	12
n	55	60
Średnia [g/kg]	0,391	0,931
s_r [g/kg]	0,005	0,012
r [g/kg]	0,014	0,034
CV_r [%]	1,34	1,34
s_R [g/kg]	0,018	0,048
R [g/kg]	0,050	0,134
CV_R [%]	4,71	5,11

L – liczba laboratoriów; n – liczba pojedynczych zachowanych wyników eliminujących wartości oddalone (według Cochra, próba wartości oddalonych Dixon); s_r – odchylenie standardowe powtarzalności; s_R – odchylenie standardowe odtwarzalności; r – powtarzalność wyników; R – odtwarzalność wyników; CV_r – współczynnik zmienności powtarzalności; CV_R – współczynnik zmienności odtwarzalności.

W kolejnym badaniu porównawczym we Wspólnocie cztery próbki były analizowane przez 7 laboratoriów w celu sprawdzenia metody hydrolizy tryptofanu. Na każdej próbce powtórzono analizę pięciokrotnie. Jej wyniki są przedstawione w tabeli 9.

Tabela 9. Tabela badań porównawczych wykonanych w celu sprawdzenia metody hydrolizy tryptofanu.

	Próbka 1 Mieszanka paszowa dla świń (CRM 117)	Próbka 2 Nisko tłuszczowa mączka rybna (CRM 118)	Próbka 3 Mączka sojowa (CRM 119)	Próbka 4 Odtłuszczone mleko w proszku (CRM 120)
L	7	7	7	7
n	25	30	30	30
Średnia [g/kg]	2,064	8,801	6,882	5,236
s_r [g/kg]	0,021	0,101	0,089	0,040

r [g/kg]	0,059	0,283	0,249	0,112
CV _r [%]	1,04	1,15	1,30	0,76
s _R [g/kg]	0,031	0,413	0,283	0,221
R [g/kg]	0,087	1,156	0,792	0,619
CV _R [%]	1,48	4,69	4,11	4,22

L – liczba laboratoriów; n – liczba pojedynczych zachowanych wyników eliminujących wartości oddalone (według Cochra, próba wartości oddalonych Dixona); s_r – odchylenie standardowe powtarzalności; s_R – odchylenie standardowe odtwarzalności; r – powtarzalność wyników; R – odtwarzalność wyników; CV_r – współczynnik zmienności powtarzalności; CV_R – współczynnik zmienności odtwarzalności.

9. OBJAŚNIENIA

9.1. Lepszy rozdział tryptofanu i α-metylo-tryptofanu może nastąpić przy uwzględnieniu następujących parametrów:
Izokratyczna elucja po gradientowym czyszczeniu kolumny:

Kolumna do chromatografii cieczowej:	125 mm x 4 mm, C ₁₈ , wypełnienie 5 μm lub równoważne		
Temperatura kolumny:	32°C		
Faza ruchoma:	A: Mieszanina, w stosunku 95 + 5 (V+V): 0,01 mol/l KH ₂ PO ₄ i metanolu B: Metanol		
Program gradientowy:	0 min	100% A	0% B
	15 min	100% A	0% B
	17 min	60% A	40% B
	19 min	60% A	40% B
	21 min	100% A	0% B
	33 min	100% A	0% B
Szybkość przepływu:	1,2 ml/min		
Całkowity czas analizy chromatograficznej:	około 33 minuty		

9.2. Analiza chromatograficzna będzie się zmieniać w zależności od typu HPLC i materiału użytego do wypełnienia kolumny. Wybrany system powinien umożliwić uzyskanie oddzielającej linii bazowej pomiędzy tryptofanem i wzorcem wewnętrznym. Produkty degradacji powinny zostać dobrze oddzielone od tryptofanu i wzorca wewnętrznego. Hydroлизаты bez wzorca wewnętrznego powinny być poddane analizie w celu sprawdzenia linii bazowej stosownie do wzorca wewnętrznego względem zanieczyszczeń. Czas analizy powinien być wystarczająco długi dla elucji wszystkich produktów degradacji, w przeciwnym razie ostatnie eluujące piki na chromatogramie mogą zakłócać kolejną analizę.

W zakresie badanych stężeń układ chromatograficzny powinien zapewniać liniową odpowiedź. Liniową odpowiedź mierzyć przy stałym (normalnym) stężeniu wzorca wewnętrznego i zmieniających się stężeniach tryptofanu. Wielkość pików tryptofanu i wzorca wewnętrznego powinna zawierać się w liniowym zakresie układu HPLC z detekcją fluorescencyjną. Jeżeli piki tryptofanu lub wzorca wewnętrznego są zbyt małe lub zbyt duże, analiza powinna być powtórzona, przy zmienionej wielkości próbki lub jej objętości końcowej.

9.3. Wodorotlenek baru

Ze względu na fakt, że wodorotlenek baru z czasem jest coraz trudniejszy do rozpuszczenia, wpływa to na nieklarowność roztworu do oznaczania HPLC, która może być przyczyną zanizania wyników oznaczania tryptofanu.

ROZDZIAŁ 4

BADANIE SKŁADNIKÓW MINERALNYCH

4.1. OZNACZANIE WAPNIA

1. CEL I ZAKRES STOSOWANIA METODY

Metoda służy do oznaczania całkowitej zawartości wapnia w paszach.

2. SPOSÓB PRZEPROWADZENIA METODY

Wapń jest spopieleny, popiół traktowany jest kwasem chlorowodorowym a wapń wytrącany jako szczawian wapnia. Osad jest rozpuszczany w kwasie siarkowym i miareczkowany kwasem szczawiovym, który powstaje wraz z roztworem manganianu(VII) potasu.

3. ODCZYNNIKI I ROZTWORY

- 3.1. Kwas chlorowodorowy, $d = 1,14$.
- 3.2. Kwas azotowy, $d = 1,40$.
- 3.3. Kwas siarkowy, $d = 1,13$.
- 3.4. Amoniak, $d = 0,98$.
- 3.5. Zimny nasycony roztwór szczawianu amonu.
- 3.6. 30% roztwór kwasu cytrynowego, (m/V).
- 3.7. 5% roztwór chlorku amonu, (m/V).
- 3.8. 0,04% roztwór zieleni bromokrezolowej, (m/V).
- 3.9. Roztwór manganianu(VII) potasu 0,1 N.

4. APARATURA I SPRZĘT

- 4.1. Elektryczny piec mufłowy z termostatem i możliwością cyrkulacji powietrza.
- 4.2. Tygły do spalań platynowe, kwarcowe lub porcelanowe.
- 4.3. Szklane tygły ze spiekami o porowatości G_4 .

5. SPOSÓB POSTĘPOWANIA

Odważyć około 5 g próbki, z dokładnością do 1 mg, spopielić w temperaturze 550°C i przenieść popiół do zlewki o pojemności 250 ml.

Dodać 40 ml kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust. 3.1, 60 ml wody i kilka kropli kwasu azotowego, o którym mowa w ust. 3.2. Doprowadzić do wrzenia i utrzymywać w temperaturze wrzenia przez 30 minut. Schłodzić i przenieść roztwór do kolby miarowej o pojemności 250 ml. Przepłukać i uzupełnić do pełnej objętości kolby wodą, homogenizować i przefiltrować.

Przy zastosowaniu pipety przenieść do zlewki o pojemności 250 ml podzielną część roztworu zawierającą od 10 do 40 mg wapnia zgodnie z przewidywaną zawartością. Dodać 1 ml roztworu kwasu cytrynowego, o którym mowa w ust. 3.6, i 5 ml roztworu chlorku amonu, o którym mowa w ust. 3.7.

Uzupełnić do objętości około 1 litra wodą. Doprowadzić do wrzenia, dodać 8 do 10 kropli roztworu zieleni bromokrezolowej, o którym mowa w ust. 3.8 i 30 ml gorącego roztworu szczawianu amonu, o którym mowa w ust. 3.5. Jeżeli pojawi się osad, rozpuścić go, dodając kilka kropli kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust. 3.1.

Zobojętniać bardzo wolno amoniakiem, o którym mowa w ust. 3.4, ciągle mieszając, do dostosowania pH od 4,4 do 4,6, co sygnalizowane jest zmianą barwy wskaźnika. Umieścić zlewkę we wrzącej łaźni wodnej i utrzymywać przez 30 minut do strącenia osadu. Usunąć zlewkę z łaźni wodnej. Pozostawić na godzinę do odstania osadu i przefiltrować przez tygiel filtracyjny, o którym mowa w ust. 4.3.

Przemywać wodą zlewkę i tygiel do całkowitego usunięcia nadmiaru szczawianu amonowego. Nieobecność chlorków w roztworze po przemyciu świadczy o tym, że osad został zupełnie przemity.

Osad wytrącony na filtrze rozpuścić w 50 ml gorącego kwasu siarkowego, o którym mowa w ust. 3.3. Spłukać tygiel gorącą wodą i uzupełnić filtrat do około 100 ml. Podgrzać do temperatury od 70 do 80°C i miareczkować, kroplami, roztworem manganianu(VII) potasu, o którym mowa w ust. 3.9, do pojawienia się różowego zabarwienia utrzymującego się co najmniej przez minutę.

6. OBLICZANIE WYNIKÓW

1 ml 0,1 N manganianu(VII) potasu odpowiada 2,004 mg wapnia.

Wynik wyrazić jako udział procentowy próbki.

7. OBJAŚNIENIA

7.1. Przy małych zawartościach wapnia postępować w następujący sposób:

Osad szczawianu wapnia przefiltrować przez filtr bezpopiołowy. Po przemyciu filtr wysuszyć i spopielić w platynowym tygłku w temperaturze 550°C . Rozpuścić pozostałość w kilku kroplach kwasu siarkowego, o którym mowa w ust. 3.3, odparować do sucha, wstawić ponownie do pieca, w którym panuje temperatura 550°C i po wyjęciu z pieca zważyć. Jeżeli W jest masą otrzymanego siarczanu wapnia, to podzielną część zawartości wapnia pobrana jako próbka stanowi $W \times 0,2944$.

7.2. Jeżeli próbka składa się jedynie z substancji mineralnych, rozpuścić ją w kwasie chlorowodorowym bez uprzedniego spopielenia. W przypadku produktów takich jak fosforan(V) wapniowo - glinowy, które trudno rozpuszczają się w kwasie, przed rozpuszczeniem stopić je w procesie alkalicznym w następujący sposób:

W tygłku platynowym umieścić analizowaną próbkę i dokładnie ją zmieszać z mieszaniną o masie równej pięciokrotnej masy próbki, składającej się z równych ilości węglanu potasu i węglanu sodu. Delikatnie ogrzewać do całkowitego stopienia mieszaniny. Schłodzić i rozpuścić w kwasie chlorowodorowym.

7.3. Jeżeli próbka zawiera podwyższoną zawartość magnezu, powtórnie strącić szczawian wapnia.

4.2. OZNACZANIE SODU

1. CEL I ZAKRES STOSOWANIA METODY

Metoda służy do oznaczania zawartości sodu w paszach.

2. SPOSÓB PRZEPROWADZENIA METODY

Próbka jest spopieleniana, a popiół rozpuszczany w kwasie chlorowodorowym. Zawartość sodu w roztworze jest oznaczana metodą fotometrii płomieniowej w obecności chlorku cezu i azotanu glinu. Dodatek tych substancji w dużym stopniu eliminuje interferencje innych pierwiastków.

3. ODCZYNNIKI I ROZTWORY

- 3.1. Kwas chlorowodorowy, $d = 1,12$.
- 3.2. Chlorek cezu.
- 3.3. Azotan glinu $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$.
- 3.4. Chlorek sodu, bezwodny.

3.5. Czynniki obciążający:

Rozpuścić w wodzie 50 g chlorku cezu, o którym mowa w ust. 3.2, i 250 g azotanu glinu, o którym mowa w ust. 3.3, uzupełnić do objętości 1 litra wodą i homogenizować. Przechowywać w plastikowej butelce.

3.6. Roztwór wzorcowy sodu:

Rozpuścić w wodzie 2,542 g chlorku sodu, o którym mowa w ust. 3.4, dodać 5 ml kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust. 3.1, uzupełnić do objętości 1 litra wodą i homogenizować. Przechowywać w plastikowej butelce. 1 ml tego roztworu zawiera 1,0 mg sodu.

4. APARATURA I SPRZĘT

4.1. Tygły do spalań platynowe, kwarcowe lub porcelanowe, z pokrywkami.

4.2. Elektryczny piec mufłowy z termostatem.

4.3. Fotometr płomieniowy.

5. SPOSÓB POSTĘPOWANIA

5.1. Analiza próbki

Odważyć 10 g próbki, z dokładnością do 10 mg, umieścić w tyglu, o którym mowa w ust. 4.1,

i spopielać przez 3 godziny w temperaturze 450°C. Nie dopuścić do zapalenia się próbki. Po

schłodzeniu przenieść popiół ilościowo do kolby miarowej o pojemności 500 ml używając od

250 do 300 ml wody, a następnie 50 ml kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust.

3.1. Po ustaniu wydzielania dwutlenku węgla roztwór ogrzać i utrzymywać przez 2 godziny w

temperaturze około 90°C, od czasu do czasu mieszając. Po schłodzeniu do temperatury

pokojowej uzupełnić do pełnej objętości kolby wodą, wstrząsnąć i przefiltrować. W kolbie

miarowej o pojemności 100 ml umieścić podzielną część filtratu zawierającą nie więcej niż

1,0 mg sodu, dodać 10,0 ml czynnika obciążającego, o którym mowa w ust. 3.5, uzupełnić do

pełnej objętości kolby wodą i homogenizować. W przypadku wyższej zawartości sodu

rozcieńczyć w odpowiedniej proporcji analizowany roztwór przed dodaniem czynnika

obciążającego. W tabeli 10 podano przykład dla próbki o masie około 10 g.

Tabela 10. Przykład dla próbki o masie około 10 g

Zakładana zawartość sodu w próbce (% Na)	Współczynnik rozcieńczenia	Podzielna część roztworu, w ml
do 0,1	–	50
powyżej 0,1 do 0,5	–	10
powyżej 0,5 do 1,0	–	5
powyżej 1,0 do 5,0	1 : 10	10

powyżej 5,0 do 10,0	1 : 10	5
powyżej 10,0 do 20,0	1 : 20	5

Dokonać pomiaru fotometrycznego przy długości fali 589 nm. Obliczyć wynik, korzystając z krzywej kalibracyjnej.

5.2. Krzywa kalibracyjna

Odmierzyć 10 ml roztworu wzorcowego, o którym mowa w ust. 3.6, i umieścić w kolbie miarowej o pojemności 250 ml. Uzupelnąć wodą do pełnej objętości kolby i homogenizować. W kolbach miarowych o pojemności 100 ml odmierzyć kolejno 5, 10, 15, 20 i 25 ml tego roztworu, co odpowiada 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 i 1,0 mg zawartości sodu. Do partii kolb dodać dodatkową kolbę niezawierającą roztworu wzorcowego. Dodać do każdej kolby 10 ml czynnika obciążającego, o którym mowa w ust. 3.5, uzupełnić wodą do pełnej objętości kolby i homogenizować. Przeprowadzić oznaczenie w sposób określony w ust. 5.1. Krzywa kalibracyjna ma przebieg liniowy względem stężenia sodu 1 mg w 100 ml roztworu.

6. OBLICZANIE WYNIKÓW

Wynik wyrazić jako udział procentowy w próbce.

7. OBJAŚNIENIA

7.1. W przypadku produktów zawierających ponad 4% sodu wskazane jest spopielenie substancji przez 2 godziny w tyglu z pokrywką. Po schłodzeniu dodać wody, utworzyć z popiołu zawiesinę przy zastosowaniu drucika platynowego, wysuszyć i ponownie spopielać przez 2 godziny w tyglu z pokrywką.

7.2. Jeżeli próbka zawiera wyłącznie substancje mineralne rozpuścić ją bez spopielenia.

4.3. OZNACZANIE POTASU

1. CEL I ZAKRES STOSOWANIA METODY

Metoda służy do oznaczania zawartości potasu w paszach.

2. SPOSÓB PRZEPROWADZENIA METODY

Próbka jest spopieleniana, a popiół rozpuszczany w kwasie chlorowodorowym. Zawartość potasu w roztworze jest oznaczana metodą fotometrii płomieniowej w obecności chlorku cezu i azotanu glinu. Dodatek tych substancji w dużym stopniu eliminuje interferencje innych pierwiastków.

3. ODCZYNNIKI I ROZTWORY

3.1. Kwas chlorowodorowy, $d = 1,12$.

3.2. Chlorek cezu.

3.3. Azotan glinu $Al(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$.

3.4. Chlorek potasu, bezwodny.

3.5. Czynniki obciążający:

Rozpuścić w wodzie 50 g chlorku cezu, o którym mowa w ust. 3.2, i 250 g azotanu glinu, o którym mowa w ust. 3.3, uzupełnić do objętości 1 litra wodą i homogenizować. Przechowywać w plastikowej butelce.

3.6. Roztwór wzorcowy potasu:

Rozpuścić w wodzie 1,907 g chlorku potasu, o którym mowa w ust. 3.4, dodać 5 ml kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust. 3.1, uzupełnić do objętości 1 litra wodą i homogenizować. Przechowywać w plastikowej butelce. 1 ml tego roztworu zawiera 1 mg potasu.

4. APARATURA I SPRZĘT

4.1. Tygle do spaleń platynowe, kwarcowe lub porcelanowe, z pokrywkami.

4.2. Elektryczny piec muflowy z termostatem.

4.3. Fotometr płomieniowy.

5. SPOSÓB POSTĘPOWANIA

5.1. Analiza próbki.

Odważyć 10 g próbki, z dokładnością do 10 mg, umieścić w tyglu, o którym mowa w ust. 4.1, i spopielać przez 3 godziny w temperaturze 450°C. Po schłodzeniu przenieść popiół ilościowo do kolby miarowej o pojemności 500 ml używając od 250 do 300 ml wody, a następnie dodać 50 ml kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust. 3.1. Po całkowitym ustaniu wydzielania dwutlenku węgla ogrzać roztwór i utrzymywać przez 2 godziny w temperaturze około 90°C, od czasu do czasu mieszając. Po schłodzeniu do temperatury pokojowej uzupełnić wodą do pełnej objętości kolby, wstrząsnąć i przefiltrować. W kolbie miarowej o pojemności 100 ml umieścić podzielną część filtratu zawierającą nie więcej niż 1 mg potasu, dodać 10,0 ml czynnika obciążającego, o którym mowa w ust. 3.5, uzupełnić wodą do pełnej objętości kolby i homogenizować. W przypadku wyższej zawartości potasu rozcieńczyć w odpowiedniej proporcji analizowany roztwór przed dodaniem czynnika obciążającego. W tabeli 11 podano przykład dla próbki o masie około 10 g.

Tabela 11. Przykład dla próbki o masie około 10 g

Zakładana zawartość potasu w próbce (% K)	Współczynnik rozcieńczenia	Podzielna część roztworu, w ml
do 0,1	–	50
powyżej 0,1 do 0,5	–	10
powyżej 0,5 do 1,0	–	5
powyżej 1,0 do 5,0	1 : 10	10
powyżej 5,0 do 10,0	1 : 10	5
powyżej 10,0 do 20,0	1 : 20	5

Dokonać pomiaru fotometrycznego przy długości fali 768 nm. Obliczyć wynik, korzystając z krzywej kalibracyjnej.

5.2. Krzywa kalibracyjna.

Odmierzyć 10 ml roztworu wzorcowego, o którym mowa w ust. 3.6, i umieścić w kolbie miarowej o pojemności 250 ml. Uzupełnić wodą do pełnej objętości kolby i homogenizować. W kolbach miarowych o pojemności 100 ml odmierzyć kolejno 5, 10, 15, 20 i 25 ml tego roztworu, co odpowiada 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 i 1,0 mg zawartości potasu. Do partii kolb dodać dodatkową kolbę niezawierającą roztworu wzorcowego. Do każdej kolby dodać 10 ml czynnika obciążającego, o którym mowa w ust. 3.5, uzupełnić wodą do pełnej objętości kolby i homogenizować. Przeprowadzić oznaczenie w sposób określony w ust. 5.1. Krzywa kalibracyjna ma przebieg liniowy względem stężenia potasu 1 mg na 100 ml roztworu.

6. OBLICZANIE WYNIKÓW

Wynik wyrazić jako udział procentowy w próbce.

7. OBJAŚNIENIA

Dodawanie czynnika obciążającego, o którym mowa w ust. 3.5, w celu wyeliminowania interferencji innych pierwiastków nie zawsze jest konieczne.

4.4. OZNACZANIE CHLORKÓW

1. CEL I ZAKRES STOSOWANIA METODY

Metoda służy do oznaczania zawartości chloru w chlorkach rozpuszczalnych w wodzie, umownie wyrażanego jako chlorku sodu w paszach.

2. SPOSÓB PRZEPROWADZENIA METODY

Chlorki są rozpuszczane w wodzie. Jeżeli badany produkt zawiera substancje organiczne, roztwór jest klarowany. Po nieznacznym zakwaszeniu kwasem azotowym chlorki strąca się w postaci chlorku srebra przy użyciu roztworu azotanu srebra. Nadmiar azotanu srebra jest miareczkowany roztworem tiocyjanianu amonu według metody Volharda.

3. ODCZYNNIKI I ROZTWORY

3.1. Roztwór tiocyjanianu amonu, 0,1 N.

3.2. Roztwór azotanu srebra, 0,1 N.

3.3. Nasycony roztwór siarczynu(VI) amonu i żelaza.

3.4. Kwas azotowy, $d = 1,38$.

3.5. Eter dwuetylowy.

3.6. Aceton.

3.7. Roztwór Carreza I:

Rozpuścić w wodzie 21,9 g octanu cynku, $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$ i 3 g lodowatego kwasu octowego. Uzupełnić do objętości 1 litra wodą.

3.8. Roztwór Carreza II:

Rozpuścić w wodzie 10,6 g heksacyjanożelazianu(II) potasu $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$. Uzupełnić do objętości 1 litra wodą.

3.9. Węgiel aktywny, wolny od chlorków i nieabsorbujący chlorków.

4. APARATURA I SPRZĘT

Mikser lub tumbler: od 35 do 40 obr/min.

5. SPOSÓB POSTĘPOWANIA

5.1. Przygotowanie roztworu

Zależnie od rodzaju próbki, przygotować roztwór, w sposób określony w jednej z metod opisanych w ust. 5.1.1, w ust. 5.1.2 lub w ust. 5.1.3.

W tym samym czasie przeprowadzić ślepą próbę pomijając analizowaną próbkę.

5.1.1. Próbki niezawierające substancji organicznej

Odważyć, z dokładnością do 1 mg, nie więcej niż 10 g próbki zawierającej nie więcej niż 3 g chloru w postaci chlorków. Odważyć umieścić z 400 ml wody o temperaturze około 20°C w kolbie miarowej o pojemności 500 ml. Mieszać przez 30 minut w mikserze, uzupełnić do pełnej objętości kolby, homogenizować i przefiltrować.

5.1.2. Próbki zawierające substancje organiczne, z wyłączeniem przypadków opisanych w ust. 5.1.3.

Odważyć około 5 g próbki, z dokładnością do 1 mg, i wraz z 1 g węgla aktywnego umieścić w kolbie miarowej o pojemności 500 ml. Dodać 400 ml wody o temperaturze około 20°C i 5 ml roztworu Carreza I, o którym mowa w ust. 3.7, wymieszać i dodać 5 ml roztworu Carreza II, o którym mowa w ust. 3.8. Mieszać przez 30 minut w mikserze, uzupełnić do pełnej objętości kolby, homogenizować i przefiltrować.

5.1.3. Pasze po obróbce cieplnej, makucho lniane, mączka lniana, produkty bogate w mączkę lnianą i inne produkty bogate w śluz lub substancje koloidalne w tym dekstryna skrobi.

Przygotować roztwór w sposób określony w ust. 5.1.2, ale nie filtrować. Zdekantować, jeżeli jest to konieczne odwirować, pobrać 100 ml płynnego supernatantu i przenieść go do kolby miarowej o pojemności 200 ml. Zmieszać z acetonem, o którym mowa w ust. 3.6, i uzupełnić do pełnej objętości kolby tym samym rozpuszczalnikiem, homogenizować i przefiltrować.

5.2. Miareczkowanie

Przy użyciu pipety przenieść do kolby Erlenmeyera, w zależności od przewidywanej zawartości chlorku, od 25 do 100 ml filtratu, otrzymanego w sposób określony w ust. 5.1.1, ust. 5.1.2 lub ust. 5.1.3. Podzielna część nie powinna zawierać więcej niż 150 mg chloru. Rozcieńczyć w razie potrzeby wodą do objętości nie mniejszej niż 50 ml, dodać 5 ml kwasu azotowego, o którym mowa w ust. 3.4, 20 ml nasyconego roztworu, o którym mowa w ust. 3.3, i 2 krople roztworu tiocyjanianu amonu, o którym mowa w ust. 3.1, przeniesionego przy zastosowaniu biurety wypełnionej do znaku zero. Przy zastosowaniu biurety przenieść roztwór azotanu srebra, o którym mowa w ust. 3.2, tak aby nadmiar wyniósł 5 ml. Dodać 5 ml eteru dwuetylowego, o którym mowa w ust. 3.5 i mocno wstrząsać do skoagulowania się osadu.

Nadmiar azotanu srebra miareczkować roztworem tiocyjanianu amonu, o którym mowa w ust. 3.1, aż do uzyskania czerwono-brązowego odcienia utrzymującego się przez minutę.

6. OBLICZANIE WYNIKÓW

Ilość chlorku (W), wyrażonego jako chlorek sodu, znajdującą się w filtracie pobranym do miareczkowania, obliczyć według następującego wzoru:

$$W = 5,845 (V_1 - V_2) \text{ mg}$$

gdzie:

V_1 – objętość w ml dodanego 0,1 N roztworu azotanu srebra,

V_2 – objętość w ml użytego 0,1 N roztworu tiocyjanianu amonu do miareczkowania.

Jeżeli ślepa próba wykaże, że 0,1 N roztwór azotanu srebra został zużyty, odjąć jego objętość od objętości ($V_1 - V_2$).

7. OBJAŚNIENIA

7.1. Można zastosować miareczkowanie potencjometryczne.

7.2. W przypadku produktów bogatych w oleje i tłuszcze najpierw odtłuścić je eterem dwuetylowym lub eterem naftowym.

7.3. W przypadku mączki rybnej, miareczkowanie można prowadzić metodą Mohra.

4.5. OZNACZANIE MAGNEZU

1. CEL I ZAKRES STOSOWANIA METODY

Metoda służy do oznaczania zawartości magnezu w paszach. Metoda powinna być stosowana do oznaczania zawartości magnezu poniżej 5%.

2. SPOSÓB PRZEPROWADZENIA METODY

Próbka jest spopiela i rozpuszczana w rozcieńczonym kwasie chlorowodorowym. Jeżeli próbka zawiera substancje nieorganiczne, jest rozpuszczana bezpośrednio w rozcieńczonym kwasie chlorowodorowym. Roztwór jest rozcieńczany, a zawartość magnezu oznaczana metodą spektrofotometrii absorpcji atomowej przy 285,2 nm przez porównanie z roztworami wzorcowymi.

3. ODCZYNNIKI I ROZTWORY

3.1. Kwas chlorowodorowy, $d = 1,16$.

3.2. Stężony kwas chlorowodorowy, $d = 1,19$.

3.3. Drut lub wstążka magnezowa, lub heptahydrat siarczanu magnezu wysuszony w temperaturze pokojowej.

3.4. Roztwór soli strontu (chlorek lub azotan), przy 2,5% strontu (m/V), (76,08 g $SrCl_2 \cdot 6H_2O$ lub 60,38 g $Sr(NO_3)_2$).

3.5. Wzorcowy roztwór magnezu:

Odważyć, z dokładnością do 1 mg, 1 g magnezu, o którym mowa w ust. 3.3, oczyszczonego z powłoki tlenku lub równoważną ilość (10,143 g) heptahydratu siarczynu magnezu, o którym mowa w ust. 3.3. Odważkę umieścić w kolbie miarowej o pojemności 1 l, dodać 80 ml kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust. 3.1, pozostawić do rozpuszczenia i uzupełnić wodą do pełnej objętości. 1ml tego roztworu zawiera 1000 mg magnezu.

4. APARATURA I SPRZĘT

- 4.1. Platynowe, kwarcowe lub porcelanowe tygle do spalań.
- 4.2. Elektryczny piec muflowy z termostatem.
- 4.3. Spektrofotometr absorpcji atomowej.

5. SPOSÓB POSTĘPOWANIA

5.1. Przygotowanie roztworu próbki

5.1.1. Pasze składające się wyłącznie z substancji mineralnych

Odważyć 5 g próbki, z dokładnością do 1 mg, i umieścić w kolbie miarowej o pojemności 500 ml zawierającej od 250 do 300 ml wody. Dodać 40 ml kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust. 3.1, doprowadzić ciecz do wrzenia i podtrzymywać stan wrzenia łagodnie gotując przez 30 minut. Schłodzić, uzupełnić do pełnej objętości wodą, zmieszać i przefiltrować przez suchy karbowany filtr do suchej zlewki. Odrzucić pierwsze 30 ml filtratu. W przypadku obecności krzemu, 5 g próbki potraktować od 15 do 30 ml kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust. 3.2, odparować do sucha na łaźni wodnej i przenieść do suszarki ustawionej na temperaturę 105°C na około godzinę. Pozostałość potraktować 10 ml kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust. 3.1, i przenieść do kolby miarowej o pojemności 500 ml przy użyciu ciepłej wody. Pozostawić do schłodzenia i uzupełnić wodą do pełnej objętości kolby. Zmieszać i przefiltrować przez suchy karbowany filtr do suchej zlewki. Odrzucić pierwsze 30 ml filtratu.

5.1.2. Pasze składające się głównie z substancji mineralnych

Odważyć 5 g próbki, z dokładnością do 1 mg, i umieścić w tyglu, spopielać w temperaturze 550°C w piecu muflowym aż do uzyskania popiołu wolnego od cząsteczek węglowych, a następnie schłodzić. W celu usunięcia krzemionki dodać do popiołu od 15 do 30 ml kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust. 3.2, odparować do sucha na łaźni wodnej i umieścić na godzinę w suszarce w temperaturze 105°C. Pozostałość potraktować 10 ml kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust. 3.1, i przenieść do kolby miarowej o pojemności 500 ml przy użyciu ciepłej wody. Pozostawić do schłodzenia i uzupełnić do objętości wodą. Zmieszać i przefiltrować przez suchy karbowany filtr do suchej zlewki. Odrzucić pierwsze 30 ml filtratu.

5.1.3. Pasze składające się głównie z substancji organicznych

Odważyć 5 g próbki, z dokładnością do 1 mg, i umieścić w tyglu, spopielać w piecu muflowym w temperaturze 550°C aż do uzyskania popiołu wolnego od cząsteczek węglowych. W celu wytrącenia nierozpuszczalnej krzemionki popiół potraktować 5 ml kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust. 3.2, odparować do sucha na łaźni wodnej i umieścić na godzinę w suszarce w temperaturze 105°C. Popiół potraktować 5 ml kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust. 3.1, i przenieść do kolby miarowej o pojemności 250 ml przy użyciu ciepłej wody, doprowadzić do wrzenia, pozostawić do schłodzenia i uzupełnić wodą do pełnej objętości kolby. Zmieszać i przefiltrować przez suchy karbowany filtr do suchej zlewki. Odrzucić pierwsze 30 ml filtratu.

5.2. Pomiar metodą absorpcji atomowej

Rozcieńczając wodą roztwór wzorcowy, o którym mowa w ust. 3.5, przygotować co najmniej 5 roztworów odniesienia o wzrastających stężeniach odpowiadających optymalnemu zakresowi pomiaru na spektrofotometrze. Do każdego roztworu dodać po 10 ml roztworu soli strontu, o którym mowa w ust. 3.4, i uzupełnić do objętości 100 ml wodą. Rozcieńczyć wodą jedną podzieloną część filtratu otrzymanego w sposób określony w ust. 5.1.1, ust. 5.1.2 lub ust. 5.1.3, tak aby otrzymać stężenie magnezu mieszczące się w zakresie stężeń roztworów odniesienia. Stężenie kwasu chlorowodorowego tego roztworu nie powinno przekraczać 0,4 N. Dodać 10 ml roztworu soli strontu, o którym mowa w ust. 3.4, i następnie uzupełnić do objętości 1 litra wodą. Zmierzyć absorpcję roztworu badanego i roztworów odniesienia przy 285,2 nm.

6. OBLICZANIE WYNIKÓW

Zawartość magnezu w próbce obliczamy przez porównanie z roztworami odniesienia. Wynik wyrazić w procentach próbki.

7. SPRAWDZENIE METODY

Powtarzalność

Różnica pomiędzy wynikami dwóch równoległych oznaczeń wykonanych dla tej samej próbki nie powinna przekraczać 5% wartości względnej.

4.6. OZNACZANIE CAŁKOWITEJ ZAWARTOŚCI FOSFORU METODĄ FOTOMETRYCZNĄ

1. CEL I ZAKRES STOSOWANIA METODY

Metoda służy do oznaczania zawartości całkowitego fosforu w paszach. Metoda powinna być stosowana do analizy pasz o niskiej zawartości fosforu. W niektórych przypadkach, zwłaszcza w przypadku produktów bogatych w fosfor, dopuszcza się stosowanie metody wagowej.

2. SPOSÓB PRZEPROWADZENIA METODY

Próbka jest mineralizowana poprzez suche spalanie zwłaszcza w przypadku pasz organicznych lub przez rozpuszczenie kwasem zwłaszcza w przypadku związków mineralnych i pasz ciekłych, a następnie wprowadzona do kwaśnego roztworu. Roztwór jest traktowany odczynnikiem molibdenowanadowym. Gęstość optyczna utworzonego żółtego roztworu mierzona jest w spektrofotometrze przy 430 nm.

3. ODCZYNNIKI I ROZTWORY

- 3.1. Węglan wapnia.
- 3.2. Kwas chlorowodorowy, $d = 1,1$ (około 6 N).
- 3.3. Kwas azotowy, $d = 1,045$.
- 3.4. Kwas azotowy, od $d = 1,38$ do 1,42.
- 3.5. Kwas siarkowy, $d = 1,84$.

3.6. Odczynnik molibdenowanadowy:

Zmieszać 200 ml roztworu heptamolibdenianu amonu, o którym mowa w ust. 3.6.1, 200 ml roztworu wanadanu amonu, o którym mowa w ust. 3.6.2, i 134 ml kwasu azotowego, o którym mowa w ust. 3.4, w kolbie miarowej o pojemności 1 litra. Uzupełnić do pełnej objętości kolby wodą.

3.6.1. Roztwór heptamolibdenianu(VI) amonu:

Rozpuścić w gorącej wodzie 100 g heptamolibdenianu(VI) amonu $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$. Dodać 10 ml amoniaku ($d = 0,91$) i uzupełnić do objętości 1 litra wodą.

3.6.2. Roztwór wanadanu(V) amonu:

2,35 g wanadanu(V) amonu NH_4VO_3 rozpuścić w 400 ml gorącej wody. Stale mieszając, dodawać powoli 20 ml rozcieńczonego kwasu azotowego (7 ml HNO_3 (3.4) + 13 ml H_2O) i uzupełnić do objętości 1 litra wodą.

3.7. Roztwór wzorcowy fosforu o stężeniu 1 mg/ml:

Rozpuścić 4,387 g dwuwodorofosforanu potasu KH_2PO_4 w wodzie. Uzupełnić do objętości 1 litra wodą.

4. APARATURA I SPRZĘT

4.1. Tyle kwarcowe lub porcelanowe.

4.2. Piec muflowy z termostatem nastawianym na temperaturę 550°C.

4.3. Kolba Kjeldahla o pojemności 250 ml.

4.4. Kolby i pipety miarowe.

4.5. Spektrofotometr.

4.6. Probówki o średnicy 16 mm z korkiem o średnicy do 14,5 mm i o pojemności od 25 do 30 ml.

5. SPOSÓB POSTĘPOWANIA

5.1. Przygotowanie roztworu

W zależności od rodzaju próbki, przygotować roztwór w sposób określony w ust. 5.1.1 lub ust. 5.1.2.

5.1.1. Kolejność wykonywania czynności

Odważyć co najmniej 1 g próbki z dokładnością do 1 mg. Umieścić próbkę w kolbie Kjeldahla, dodać 20 ml kwasu siarkowego, o którym mowa w ust. 3.5, wstrząsnąć do nasycenia całkowitego kwasem i niedopuszczenia do przyklejania cząstek do ścianek kolby, podgrzać i utrzymywać w stanie wrzenia przez 10 minut. Nieznacznie schłodzić, dodać 2 ml kwasu azotowego, o którym mowa w ust. 3.4, ostrożnie podgrzać, ponownie nieznacznie schłodzić i dodać nieco więcej kwasu azotowego, o którym mowa w ust. 3.4, a następnie doprowadzić do wrzenia. Powtarzać tę czynność aż do uzyskania bezbarwnego roztworu. Schłodzić, dodać trochę wody, zdekantować ciecz do kolby miarowej o pojemności 500 ml, spłukać kolbę Kjeldahla gorącą wodą. Schłodzić, uzupełnić wodą do pełnej objętości kolby, homogenizować i przefiltrować.

5.1.2. Probki zawierające substancje organiczne, wolne od dwuwodorofosforanu magnezu i wapnia.

Odważyć około 2,5 g próbki, z dokładnością do 1 mg, i umieścić w tyglu. Zmieszać dokładnie próbkę z 1 g węglanu wapnia, o którym mowa w ust. 3.1. Spopielać w piecu w temperaturze $550 \pm 5^\circ\text{C}$ do uzyskania popiołu o jasnej lub szarej barwie, w którym dopuszcza się niewielkie ilości węgla drzewnego. Przenieść popiół do zlewki o pojemności 250 ml. Dodać 20 ml wody i kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust. 3.2, aż do zaprzestania pienienia się. Następnie dodać 10 ml kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust. 3.2. Umieścić zlewkę na łaźni piaskowej i odparować do sucha do powstania nierozpuszczalnej krzemionki. Pozostałość rozpuścić w 10 ml kwasu azotowego, o którym mowa w ust. 3.3, i gotować na łaźni piaskowej przez 5 minut, nie doprowadzając do zupełnego odparowania cieczy. Przenieść ciecz do kolby miarowej o pojemności 500 ml, spłukując kilkakrotnie zlewkę gorącą wodą. Pozostawić do schłodzenia, uzupełnić wodą do pełnej objętości kolby, homogenizować i przefiltrować.

5.2. Wywołanie zabarwienia i gęstości optycznej

Rozcieńczyć podzielną część filtratu otrzymanego w sposób określony w ust. 5.1.1 lub ust. 5.1.2 do uzyskania stężenia fosforu nie większego niż 40 $\mu\text{g/ml}$. Umieścić 10 ml tego roztworu w probówce, o której mowa w ust. 4.6 i dodać 10 ml odczynnika molibdenowanadowego, o którym mowa w ust. 3.6. Homogenizować i pozostawić co najmniej na 10 minut w temperaturze 20°C. Zmierzyć gęstość optyczną w spektrofotometrze przy 430 nm w stosunku do roztworu otrzymanego przez dodanie 10 ml odczynnika molibdenowanadowego, o którym mowa w ust. 3.6, do 10 ml wody.

5.3. Krzywa kalibracyjna

Z roztworu wzorcowego, o którym mowa w ust. 3.7, przygotować roztwory zawierające odpowiednio 5, 10, 20, 30 i 40 μg fosforu w 1 ml. Pobrać 10 ml każdego z tych roztworów i dodać do nich po 10 ml odczynnika molibdenowanadowego, o którym mowa w ust. 3.6. Homogenizować i pozostawić co najmniej na 10 minut w temperaturze 20°C. Zmierzyć gęstość optyczną w sposób określony w ust. 5.2.

Wykreślić krzywą kalibracyjną, odkładając wartości gęstości optycznej w stosunku do odpowiadającym jej ilości fosforu. W zakresie stężeń od 0 do 40 $\mu\text{g/ml}$ krzywa jest liniowa.

6. OBLICZANIE WYNIKÓW

Określić zawartość fosforu w badanej próbce przy zastosowaniu krzywej kalibracyjnej.

Wynik wyrazić jako udział procentowy w próbce.

7. SPRAWDZENIE METODY

Powtarzalność

Różnica pomiędzy wynikami dwóch równoległych oznaczeń wykonanych dla tej samej próbki nie powinna przekraczać 3% wartości względnej, dla zawartości fosforu poniżej 5% i 0,15% wartości bezwzględnej, dla zawartości fosforu równej lub wyższej niż 5%.

4.7. OZNACZANIE WĘGLANÓW

1. CEL I ZAKRES STOSOWANIA METODY

Metoda służy do oznaczania zawartości węglanów, umownie wyrażanych jako na węglan wapnia, w większości pasz.

W niektórych przypadkach zwłaszcza w przypadku węgla żelaza zastosować inną metodę badawczą.

2. SPOSÓB PRZEPROWADZENIA METODY

Węglany rozkłada się kwasem chlorowodorowym. Powstały dwutlenek węgla zbiera się do próbki miarowej, a jego objętość jest porównywana z objętością uwolnioną ze znanej ilości węgla wapnia w tych samych warunkach.

3. ODCZYNNIKI I ROZTWORY

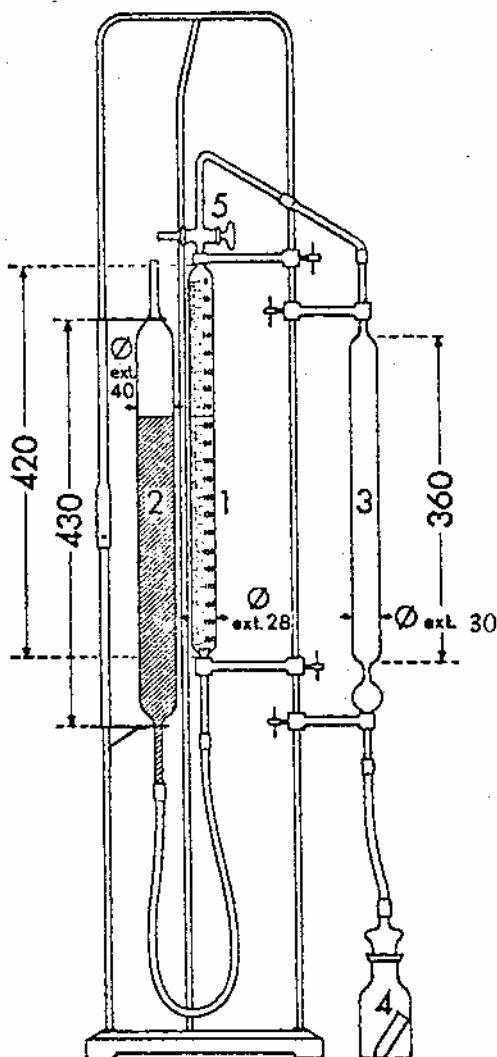
3.1. Kwas chlorowodorowy, $d = 1,10$.

3.2. Węglan wapnia.

3.3. Kwas siarkowy, około 0,1 N, zabarwiony czerwiecią metylową.

4. APARATURA I SPRZĘT

Zestaw Scheiblera-Dietricha (rys. 1) lub podobny.



Rysunek 1. Aparat Scheiblera-Dietricha do oznaczania CO₂. Skala 1:8. Wymiary podane w mm.

5. SPOSÓB POSTĘPOWANIA

W zależności od zawartości węglanów w próbce, zważyć próbkę o masie:

1) 0,5 g w przypadku produktu zawierającego powyżej 50 do 100% węglanów, wyrażonych jako węglan wapnia,

2) 1 g w przypadku produktu zawierającego od 40 do 50% węglanów, wyrażonych jako węglan wapnia,

3) 2 do 3 g w przypadku innych produktów.

Próbkę umieścić w specjalnej kolbie aparatu, oznaczonej cyfrą 4 na rysunku 1, wyposażonej w małą próbkę wykonaną z nietłukącego się szkła zawierającą 10 ml kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust. 3.1 i podłączyć kolbę do aparatury. Kran trójdrożny, oznaczony cyfrą 5 na rysunku 1 ustawić, tak aby rurka, oznaczona cyfrą 1 na rysunku 1 była podłączona z wyjściem. Używając ruchomej rurki, oznaczonej cyfrą 2 na rysunku 1, wypełnionej barwnym kwasem siarkowym, o którym mowa w ust. 3.3, i połączonej z wykalibrowaną rurką, oznaczoną cyfrą 1 na rysunku 1, doprowadzić poziom cieczy do znaku zero, który wyznaczony jest na podziałce. Przekręcić kran, oznaczony cyfrą 5 na rysunku 1 tak, aby podłączyć rurkę, oznaczoną cyfrą 1 na rysunku 1 z rurką, oznaczoną cyfrą 3 na rysunku 1, i sprawdzić, czy poziom cieczy doprowadzony został do znaku zero.

Przechylając kolbę, oznaczoną cyfrą 4 na rysunku 1, powoli wlewać kwas chlorowodorowy, o którym mowa w ust. 3.1, do próbki. Wyrównać ciśnienie, obniżając rurkę, oznaczoną cyfrą 2 na rysunku 1. Potrząsać kolbą, oznaczoną cyfrą 4 na rysunku 1, dopóki nie ustanie wydzielanie dwutlenku węgla.

Przywrócić ciśnienie, doprowadzając ciecz w rurce, oznaczonej cyfrą 1 i 2 na rysunku 1 do tego samego poziomu. Po kilku minutach, kiedy ustali się objętość gazu, wykonać odczyt.

Przeprowadzić test kontrolny w tych samych warunkach z 0,5 g węglanu wapnia, o którym mowa w ust. 3.2.

6. OBLICZANIE WYNIKÓW

Zawartość węglanów podaną w g, wyrazić jako procentową zawartość węglanu wapnia w próbce, według następującego wzoru:

$$\frac{V \times 100}{T \times 2W}$$

gdzie:

V – ilość CO₂ w ml uwolniona z próbki,

T – ilość CO₂ w ml uwolniona z 0,5 g CaCO₃,

W – masa w g próbki.

7. OBJAŚNIENIA

7.1. Jeżeli próbka jest większa niż 2 g, do kolby, oznaczonej cyfrą 4 na rysunku 1 wlać najpierw 15 ml wody destylowanej i zmieszać przed rozpoczęciem badania. Do testu kontrolnego zastosować taką samą objętość wody.

7.2. Jeżeli objętość zastosowanej aparatury różni się od objętości aparatu Scheiblera-Dietricha, dopasować porcje badanej próbki i substancji kontrolnej i obliczyć wyniki.

4.8. OZNACZANIE ŻELAZA, MIEDZI, MANGANU I CYNKU

1. CEL I ZAKRES STOSOWANIA METODY

Metoda służy do oznaczania zawartości żelaza, miedzi, manganu i cynku w paszach. Dolne granice oznaczalności metody wynoszą dla:

żelaza (Fe): 20 mg/kg,

miedzi (Cu): 10 mg/kg,

manganu (Mn): 20 mg/kg,

cynku (Zn): 20 mg/kg.

2. SPOSÓB PRZEPROWADZENIA METODY

Próbkę wprowadza się do roztworu kwasu chlorowodorowego po zniszczeniu ewentualnej substancji organicznej. Mikroelementy: żelazo, miedź, mangan i cynk są oznaczane, po odpowiednim rozcieńczeniu, przy użyciu spektrometrii absorpcji atomowej.

3. ODCZYNNIKI I ROZTWORY

Do przygotowania odczynników i roztworów używanych w postępowaniu analitycznym stosuje się wodę wolną od oznaczanych kationów, otrzymaną w drodze podwójnej destylacji w destylarce ze szkła borokrzemowego lub kwarcowego lub otrzymaną w wyniku podwójnego traktowania na żywicy jonowymiennych.

Stosować odczynniki czyste do analizy. Nieobecność oznaczanych pierwiastków w stosowanych odczynnikach i roztworach powinna być sprawdzana poprzez ślepą próbę. Odczynnik, jeżeli to konieczne, poddaje się oczyszczeniu przed zastosowaniem.

Zamiast przygotowania wzorcowych roztworów opisanych poniżej, dopuszcza się stosowanie innych dostępnych wzorcowych roztworów, pod warunkiem, że zostały one sprawdzone przed użyciem.

3.1. Kwas chlorowodorowy (d = 1,19).

3.2. Kwas chlorowodorowy (6 N).

3.3. Kwas chlorowodorowy (0,5 N).

3.4. Kwas fluorowodorowy od 38 do 40% (V/V), o zawartości żelaza poniżej 1 mg Fe/litr i pozostałości po odparowaniu poniżej 10 mg (jako siarczanu)/litr.

3.5. Kwas siarkowy (d = 1,84).

3.6. Nadtlenek wodoru - około 100 objętości tlenu; 30% wagowych.

3.7. Roztwór wzorcowy żelaza (1000 µg Fe/ml) przygotowany w następujący sposób:

Rozpuścić 1 g drutu żelaznego w 200 ml kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust. 3.2, dodać 16 ml nadtlenu wodoru, o którym mowa w ust. 3.6, i uzupełnić do objętości 1 litra wodą.

3.7.1. Roboczy roztwór wzorcowy żelaza (100 µg Fe/ml) przygotowany przez rozcieńczenie roztworu wzorcowego, o którym mowa w ust. 3.7, wodą w stosunku 1 : 9.

3.8. Roztwór wzorcowy miedzi (1000 µg Cu/ml) przygotowany w następujący sposób:

Rozpuścić 1 g sproszkowanej miedzi w 25 ml kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust. 3.2, dodać 5 ml nadtlenu wodoru, o którym mowa w ust. 3.6, i uzupełnić do objętości 1 litra wodą.

3.8.1. Roztwór wzorcowy roboczy miedzi (10 µg Cu/ml) przygotowany przez rozcieńczenie roztworu wzorcowego, o którym mowa w ust. 3.8, wodą w stosunku 1 : 9, a następnie przez ponowne rozcieńczenie uzyskanego roztworu wodą w takim samym stosunku.

3.9. Roztwór wzorcowy manganu (1000 µg Mn/ml) przygotowany w następujący sposób:

Rozpuścić 1 g sproszkowanego manganu w 25 ml kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust. 3.2, i uzupełnić do objętości 1 litra wodą.

3.9.1. Roztwór wzorcowy roboczy manganu (10 µg Mn/ml) przygotowany przez rozcieńczenie roztworu wzorcowego, o którym mowa w ust. 3.9, wodą w stosunku 1 : 9, a następnie przez ponowne rozcieńczenie uzyskanego roztworu wodą w takim samym stosunku.

3.10. Roztwór wzorcowy cynku (1000 µg Zn/ml) przygotowany w następujący sposób:

Rozpuścić 1 g cynku w postaci paska lub listka w 25 ml kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust. 3.2, i uzupełnić do objętości 1 litra wodą.

3.10.1. Roztwór wzorcowy roboczy cynku (10 µg Zn/ml) przygotowany przez rozcieńczenie roztworu wzorcowego, o którym mowa w ust. 3.10, wodą w stosunku 1 : 9, a następnie przez ponowne rozcieńczenie uzyskanego roztworu wodą w takim samym stosunku.

3.11. Roztwór chlorku lantanu przygotowany w następujący sposób:

Rozpuścić 12 g tlenku lantanu w 150 ml wody, dodać 100 ml kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust. 3.2, i uzupełnić do objętości 1 litra wodą.

4. APARATURA I SPRZĘT

4.1. Piec muflowy z regulacją temperatury i rejestratorem.

4.2. Naczynie szklane z odpornego borokrzemowego szkła; zalecane jest stosowanie sprzętu wyłącznie do oznaczania mikroelementów.

4.3. Tygle platynowe lub kwarcowe.

4.4. Spektrofotometr absorpcji atomowej o czułości i precyzji w zakresie prezentowanej metody.

5. SPOSÓB POSTĘPOWANIA

5.1. Próbkę zawierającą substancję organiczną

5.1.1. Spopielenie i przygotowanie roztworu do analizy

Zielonki świeże lub suszone mogą zawierać duże ilości krzemionki roślinnej, która może zawierać mikroelementy i którą należy usunąć. Dlatego też w przypadku analizy takich pasz, zastosować następujące, zmodyfikowane postępowanie.

Postępować w sposób określony w ust. 5.1.1.1 do etapu filtrowania. Przemyć dwukrotnie wrzącą wodą filtr zawierający nierozpuszczalną pozostałość i umieścić w platynowym tyglu, o którym mowa w ust. 4.3. Spopielać w piecu muflowym w temperaturze poniżej 550 °C do całkowitego zaniku cząstek węgla. Pozostawić do schłodzenia, dodać kilka kropli wody, a następnie 10 do 15 ml kwasu fluorowodorowego, o którym mowa w ust. 3.4, a następnie odparować do sucha w temperaturze około 150 °C. Jeżeli krzemionka widoczna jest nadal w pozostałości, powtórnie rozpuścić pozostałość w kilku ml kwasu fluorowodorowego, o którym mowa w ust. 3.4, i odparować do sucha. Dodać 5 kropli kwasu siarkowego, o którym mowa w ust. 3.5, i ogrzewać aż do zaniku białych dymów. Po dodaniu 5 ml kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust. 3.2, i około 30 ml wody podgrzać, przefiltrować roztwór do kolby miarowej o pojemności 250 ml i uzupełnić do pełnej objętości kolby wodą tak, aby uzyskać stężenie HCl około 0,5 N. Kontynuować oznaczanie w sposób określony w ust. 5.1.2.

5.1.1.1. Odważyć od 5 do 10 g próbki, z dokładnością do 0,2 mg, i umieścić w kwarcowym lub platynowym tyglu, o którym mowa w ust. 4.3, przy czym masę próbki, która ma być spopieleną szacuje się na podstawie przybliżonej zawartości mikroelementu w paszy, w stosunku do czułości stosowanego spektrofotometru. W przypadku pasz ubogich w mikroelementy może zaistnieć konieczność rozpoczęcia oznaczania od odważenia od 10 do 20 g próbki i sporządzenia roztworu o końcowej objętości 100 ml, wysuszyć w suszarce w temperaturze 105 °C i wstawić tygiel do zimnego pieca muflowego, o którym mowa w ust. 4.1. Zamknąć piec tak, aby było prowadzone bez dostępu powietrza lub tlenu i stopniowo podwyższać temperaturę do 450 – 475 °C w czasie około 90 minut. Utrzymywać tę temperaturę od 4 do 16 godzin, najlepiej przez noc, w celu usunięcia związków węglowych, następnie otworzyć piec i pozostawić do schłodzenia gdzie temperatura według wskazań pirometru nie powinna być wyższa niż 475 °C.

Przemyć tygiel przy użyciu około 5 ml kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust. 3.1 a do zlewki dodawać powoli i ostrożnie pozostałą część kwasu, gdyż może zajść gwałtowna reakcja w wyniku powstania dwutlenku węgla. Dodawać kwas chlorowodorowy, o którym mowa w ust. 3.1, kroplami, mieszając, do zaniku burzenia się mieszaniny. Odparować do sucha, od czasu do czasu mieszając szklaną bagietką.

Następnie dodać do pozostałości 15 ml kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust. 3.2, a następnie około 120 ml wody. Zamieszać szklaną bagietką, która powinna pozostać w zlewce i przykryć zlewkę szkiełkiem zegarkowym.

Doprowadzić ostrożnie do wrzenia i pozostawić w tym stanie aż do całkowitego rozpuszczenia rozpuszczalnych cząstek popiołu. Przefiltrować przez bezpopiołowy filtr i zebrać filtrat w kolbie miarowej o pojemności 250 ml. Spłukać zlewkę i filtr przy użyciu 5 ml gorącego kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust. 3.2, i dwukrotnie wrzącą wodą. Uzupełnić kolbę miarową, o której mowa powyżej, do pełnej objętości wodą tak, aby uzyskać stężenie HCl około 0,5 N.

5.1.1.2. Jeżeli pozostałość na filtrze jest czarna (węgiel), wstawić z powrotem do pieca i ponownie spopielać w temperaturze 450 – 475 °C. Spopielenie, które wymaga od 3 do 5 godzin, uważa się za zakończone, gdy popiół będzie miał barwę białą lub białawą. Rozpuścić pozostałość w około 2 ml kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust. 3.1, odparować do sucha i dodać 5 ml kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust. 3.2. Podgrzać, przefiltrować roztwór do kolby miarowej i uzupełnić do pełnej objętości kolby wodą tak, aby uzyskać stężenie HCl około 0,5 N.

Przy oznaczaniu mikroelementów należy postępować tak, aby nie dopuścić do zanieczyszczenia, zwłaszcza cynkiem, miedzią i żelazem. Dlatego sprzęt stosowany podczas przygotowania próbki powinien być wolny od zanieczyszczeń tymi metalami.

W celu zmniejszenia ogólnego ryzyka zanieczyszczenia wykonywać oznaczenie w środowisku wolnym od kurzu, dokładnie czyszcząc wyposażenie i myjąc naczynia szklane. Zwłaszcza przy oznaczaniu cynku występuje ryzyko zanieczyszczeń, w szczególności z naczyń szklanych, odczynników, kurzu.

5.1.2. Spektrofotometryczne oznaczanie

5.1.2.1. Przygotowanie roztworów do kalibracji

Dla każdego z oznaczanych mikroelementów przygotować, z roboczych roztworów wzorcowych określonych w ust. 3.7.1, ust. 3.8.1, ust. 3.9.1 i ust. 3.10.1, roztwory do kalibracji o stężeniu kwasu chlorowodorowego około 0,5 N i, – w przypadku żelaza, manganu i cynku – chlorek lantanu o stężeniu 0,1% La (m/V). Wybrane stężenia mikroelementów powinny mieścić się w zakresie czułości stosowanego spektrofotometru. W tabelach 12 - 15 podano przykładowy skład typowych zakresów stężeń kalibracyjnych roztworów; w zależności od typu i czułości stosowanego spektrofotometru może zachodzić konieczność wyboru innych stężeń.

Tabela 12. Żelazo

µg Fe/ml	0	0,5	1	2	3	4	5
ml roboczego roztworu wzorcowego, o którym mowa w ust. 3.7.1 (1 ml = 100 µg Fe) + ml HCl, o którym mowa w ust. 3.2	0 7	0,5 7	1 7	2 7	3 7	4 7	5 7
+ 10 ml roztworu chlorku lantanu, o którym mowa w ust. 3.11 i uzupełnić wodą do objętości 100 ml							

Tabela 13. Miedź

µg Cu/ml	0	0,1	0,2	0,4	0,6	0,8	1,0
ml roboczego roztworu wzorcowego, o którym mowa w ust. 3.8.1 (1 ml = 10 µg Cu) + ml HCl, o którym mowa w ust. 3.2	0 8	1 8	2 8	4 8	6 8	8 8	10 8
uzupełnić wodą do objętości 100 ml							

Tabela 14. Mangan

µg Mn/ml	0	0,1	0,2	0,4	0,6	0,8	1,0
ml roboczego roztworu wzorcowego, o którym mowa w ust. 3.9.1 (1 ml = 10 µg Mn) + ml HCl, o którym mowa w ust. 3.2	0 7	1 7	2 7	4 7	6 7	8 7	10 7
+ 10 ml roztworu chlorku lantanu, o którym mowa w ust. 3.11 i uzupełnić wodą do objętości 100 ml							

Tabela 15. Cynk

µg Zn/ml	0	0,05	0,1	0,2	0,4	0,6	0,8
ml roztworu wzorcowego roboczego, o którym mowa w ust. 3.10.1 (1 ml = 10 µg Zn) + ml HCl, o którym mowa w ust. 3.2	0 7	0,5 7	1 7	2 7	4 7	6 7	8 7
+ 10 ml roztworu chlorku lantanu, o którym mowa w ust. 3.11 i uzupełnić wodą do objętości 100 ml							

5.1.2.2. Przygotowanie roztworu do analizy

W przypadku oznaczania miedzi, może być wykorzystany roztwór przygotowany w sposób określony w ust. 5.1.1. W przypadku konieczności dostosowania jego stężenia do zakresu stężeń kalibracyjnych roztworów, pobrać pipetą podzielną część roztworu do kolby miarowej o pojemności 100 ml i uzupełnić kwasem chlorowodorowym, o którym mowa w ust. 3.3, do pełnej objętości kolby.

Przy oznaczaniu żelaza, manganu i cynku pobrać pipetą podzielną część roztworu przygotowanego w sposób określony w ust. 5.1.1 do kolby miarowej o pojemności 100 ml, dodać 10 ml roztworu chlorku lantanu, o którym mowa w ust. 3.11, i uzupełnić do pełnej objętości kolby kwasem chlorowodorowym, o którym mowa w ust. 3.3. Przy przygotowaniu roztworu do analizy uwzględnić ust. 8.

5.1.2.3. Ślepa próba

Ślepa próbę przeprowadzić zgodnie z kolejnością wykonywania czynności metody, pomijając te czynności, w których materiał próbki został pominięty.

Nie stosować roztworu kalibracyjnego „0” jako ślepej próby.

5.1.2.4. Pomiar absorpcji atomowej

Zmierzyć absorpcję atomową kalibracyjnych roztworów i badanego roztworu przy użyciu utleniającego płomienia powietrzno-acetylenowego przy następujących długościach fal:

Fe : 248,3 nm,

Cu : 324,8 nm,

Mn : 279,5 nm,

Zn : 213,8 nm,

Każdy pomiar przeprowadzić czterokrotnie.

5.2. Pasze mineralne

Jeżeli próbka paszy nie zawiera substancji organicznych, wcześniejsze spoielenie nie jest konieczne. Postępować w sposób określony w ust. 5.1.1.1, poczynając od akapitu drugiego. Można pominąć etap odparowania z kwasem fluorowodorowym.

6. OBLICZANIE WYNIKÓW

Przy zastosowaniu krzywej kalibracyjnej obliczyć zawartość oznaczanego mikroelementu w roztworze do analizy i wyrazić wynik w mg mikroelementu na kg próbki (ppm).

7. SPRAWDZENIE METODY**7.1. Powtarzalność**

Różnica pomiędzy wynikami dwóch równoległych oznaczeń wykonanych dla tej samej próbki nie powinna przekraczać:

- 5 mg/kg wartości bezwzględnej, dla zawartości mikroelementu do 50 mg/kg,
- 10% wyższego wyniku, dla zawartości mikroelementu powyżej 50 do 100 mg/kg,
- 10 mg/kg wartości bezwzględnej, dla zawartości mikroelementu powyżej 100 do 200 mg/kg,
- 5% wyższego wyniku, dla zawartości mikroelementu powyżej 200 mg/kg.

8. OBJAŚNIENIA

Obecność znacznych ilości fosforanów może interferować przy oznaczaniu żelaza, manganu i cynku. Takie interferencje powinny być skorygowane przez dodanie chlorku lantanu, o którym mowa w ust. 3.11. Jeżeli jednak w próbce stosunek

wagowy $Ca + Mg / P > 2$, to dodanie roztworu chlorku lantanu, o którym mowa w ust. 3.11, do analizowanego roztworu i kalibracyjnych roztworów może być pominięte.

ROZDZIAŁ 5

BADANIE WITAMIN

5.1. OZNACZANIE WITAMINY A METODĄ WYSOKOSPRAWNEJ

CHROMATOGRAFII CIECZOWEJ

1. CEL I ZAKRES STOSOWANIA METODY

Metoda służy do oznaczania zawartości witaminy A (retinol) w paszach i premiksach. Metoda pozwala na oznaczenie witaminy A obejmującej wszystkie formy alkoholowe-*trans*-retinolu i wszystkie jej izomery *cis*. Zawartość witaminy A jest wyrażana w jednostkach międzynarodowych (IU) na kg. Jedna IU odpowiada aktywności 0,300 μg wszystkich form alkoholowych *trans*-witaminy A lub 0,344 μg wszystkich form octanowych - *trans* witaminy A lub 0,550 μg wszystkich form palmitynianowych - *trans* witaminy A.

Granica oznaczalności metody wynosi 2000 IU witaminy A/kg.

2. SPOSÓB PRZEPROWADZENIA METODY

Próbka jest hydrolizowana w etanolowym roztworze wodorotlenku potasu, a witamina A ekstrahowana eterem naftowym. Rozpuszczalnik jest usuwany przez odparowanie, a pozostałość rozpuszczana w metanolu i, w razie konieczności, rozcieńczana do wymaganego stężenia. Zawartość witaminy A jest oznaczana metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej z fazą odwróconą (RP-HPLC) przy wykorzystaniu detektora UV lub detektora fluorescencyjnego. Parametry chromatograficzne zostały tak dobrane, że nie zachodzi rozdział pomiędzy wszystkimi formami alkoholowymi *trans*-witaminy A i jej *cis* izomerami.

3. ODCZYNNIKI I ROZTWORY

3.1. Etanol, $\sigma = 96\%$.

3.2. Eter naftowy, zakres wrzenia od 40°C do 60°C.

3.3. Metanol.

3.4. Roztwór wodorotlenku potasu, $\beta = 50 \text{ g}/100 \text{ ml}$.

3.5. Roztwór askorbinianu sodu, $\beta = 10 \text{ g}/100 \text{ ml}$, przy uwzględnieniu ust. 7.7.

3.6. Siarczek sodu, $\text{Na}_2\text{S} \cdot x \text{ H}_2\text{O}$ ($x = 7-9$).

3.6.1. Roztwór siarczku sodu, $c = 0,5 \text{ mol/l}$ w glicerolu, $\beta = 120 \text{ g/l}$ (dla $x = 9$), przy uwzględnieniu ust. 7.8.

3.7. Roztwór fenoloftaleiny, $\beta = 2 \text{ g}/100 \text{ ml}$ w etanolu, o którym mowa w ust. 3.1.

3.8. 2-propanol.

3.9. Faza ruchoma do HPLC: mieszanina, w której proponuje się zastosować stosunek 980 + 20 ($v + v$): metanolu, o którym mowa w ust. 3.3, i wody. Dokładny współczynnik zostanie określony przez charakterystykę stosowanej kolumny.

3.10. Azot, wolny od tlenu.

3.11. Wszystkie formy octanowe-*trans*-witaminy A, o specjalnej czystości i certyfikowanej aktywności, proponuje się zastosować 2,80 x 10⁶ IU/g.

3.11.1. Roztwór podstawowy wszystkich form octanowych-*trans*-witaminy A. Odważyć, z dokładnością do 0,1 mg, 50 mg octanu witaminy A, o którym mowa w ust. 3.11, do kolby miarowej o pojemności 100 ml. Rozpuścić w 2-propanolu, o którym mowa w ust. 3.8, i uzupełnić tym samym rozpuszczalnikiem do pełnej objętości kolby. Nominalne stężenie tego roztworu wynosi 1400 IU witaminy A w 1 ml. Dokładną zawartość oznaczyć w sposób określony w ust. 5.6.3.1.

3.12. Wszystkie formy palmitynianowe-*trans*-witaminy A, o specjalnej czystości i certyfikowanej aktywności, proponuje się zastosować 1,80 x 10⁶ IU/g.

3.12.1. Roztwór podstawowy wszystkich form palmitynianowych-*trans*-witaminy A. Odważyć, z dokładnością do 0,1 mg, 80 mg palmitynianu witaminy A, o którym mowa w ust. 3.12, do kolby miarowej o pojemności 100 ml. Rozpuścić w 2-propanolu, o którym mowa w ust. 3.8 i uzupełnić tym samym rozpuszczalnikiem do pełnej objętości tej kolby. Nominalne stężenie tego roztworu wynosi 1400 IU witaminy A w 1 ml. Dokładną zawartość oznaczyć w sposób określony w ust. 5.6.3.2.

3.13. 2,6-dwu-tetr-butyl-4-metylofenol (BHT), przy uwzględnieniu ust. 7.5.

4. APARATURA I SPRZĘT

4.1. Rotacyjna wyparka próżniowa.

4.2. Szkło laboratoryjne oranżowe.

4.2.1. Kolba płaskodenna lub stożkowa o pojemności 500 ml, ze szlifem.

4.2.2. Kolby miarowe o wąskich szyjkach o pojemnościach 10, 25, 100 i 500 ml, ze szklanymi korkami.

4.2.3. Rozdzielacze stożkowe o pojemności 1 l, ze szklanymi korkami.

4.2.4. Kolba gruszkowa o pojemności 250 ml, ze szlifem.

4.3. Chłodnica zwrotna kulkowa o długości płaszcza 300 mm, z połączeniami szlifowanymi, z nasadką do podłączenia gazu.

4.4. Karbowany filtr bibułowy do rozdzielania faz o średnicy 185 mm, proponuje się zastosować Schleicher & Schuell 597 HY ½.

4.5. Wyposażenie HPLC z systemem dozowania.

4.5.1. Kolumna do chromatografii cieczowej, 250 mm x 4 mm, C₁₈, wypełnienie 5 lub 10 µm lub równoważne, przy czym kryterium poprawności: pojedynczy pik dla wszystkich izomerów retinolu w warunkach HPLC.

4.5.2. Detektor UV lub fluorescencyjny, z możliwością zmiany długości fali.

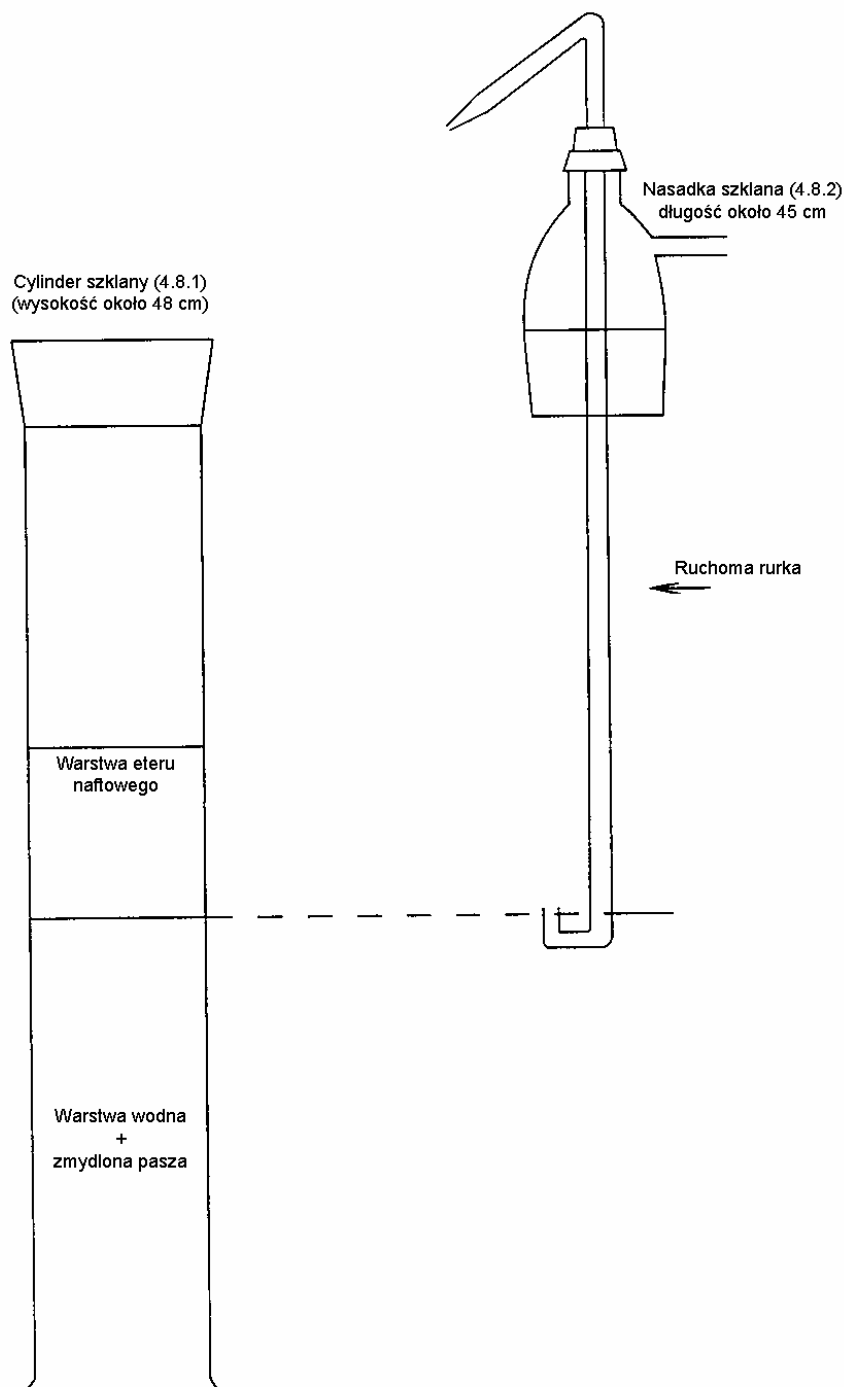
4.6. Spektrofotometr z kwarcowymi kuwetami o długości drogi optycznej 10 mm.

4.7. Łaźnia wodna z mieszadłem magnetycznym.

4.8. Aparat do ekstrakcji (rys. 2) zawierający:

4.8.1. Cylinder szklany o pojemności 1 litra, ze szlifem i korkiem.

4.8.2. Nasadka szklana ze szlifem z bocznikiem i ruchomą nastawną rurką przesuwającą się przez środek nasadki. Zaleca się, aby nastawna rurka miała zakończenie w kształcie litery U i przeciwny otwór skierowany ku górze, tak aby górna warstwa cieczy w cylindrze mogła być przeniesiona do rozdzielacza stożkowego.



Rysunek 2. Aparat do ekstrakcji, o którym mowa w ust. 4.8

Cylinder szklany, o którym mowa w ust. 4.8.1, o wysokości około 48 cm

Warstwa eteru naftowego

Warstwa wodna + zmydlona pasza

Nasadka szklana, o której mowa w ust. 4.8.2, o długości około 45 cm

Ruchoma rurka

5. SPOSÓB POSTĘPOWANIA

Z uwagi na fakt, że witamina A jest wrażliwa na światło (UV) i utlenianie zaleca się, aby wszystkie czynności były przeprowadzane bez dostępu światła, z zastosowaniem szkła oranżowego lub szkła zabezpieczonego folią aluminiową i tlenu, płukanie strumieniem azotu. Zaleca się, aby podczas ekstrakcji powietrze nad cieczą było zastąpione azotem. Zapobiegać zbyt wysokiemu ciśnieniu, zwalniając od czasu do czasu korki.

5.1. Przygotowanie próbki

Rozdrobnić próbkę, tak aby przesiewała się przez oczka sita o średnicy 1 mm, uważając, aby podczas rozdrabniania nie wydzielano się ciepło. Aby zapobiec stratom witaminy A, rozdrabnianie powinno być przeprowadzone tuż przed ważeniem i zmydleniem.

5.2. Zmydlenie

W zależności od zawartości witaminy A, zważyć, z dokładnością do 0,01 g, od 2 do 25 g próbki do kolby płaskodennej lub stożkowej, o której mowa w ust. 4.2.1. Dodać kolejno, mieszając, 130 ml etanolu, o którym mowa w ust. 3.1, około 100 mg BHT, o którym mowa w ust. 3.13, 2 ml roztworu askorbinianu sodu, o którym mowa w ust. 3.5, i 2 ml roztworu siarczku sodu, o którym mowa w ust. 3.6. Założyć chłodnicę, o której mowa w ust. 4.3, na kolbę i umieścić kolbę w łaźni wodnej z mieszałem magnetycznym, o której mowa w ust. 4.7. Ogrzać do wrzenia i skraplać przez 5 minut. Następnie dodać 25 ml roztworu wodorotlenku potasu, o którym mowa w ust. 3.4, przez chłodnicę, o której mowa w ust. 4.3, i skraplać przez następne 25 minut, mieszając w trakcie powolnego przepływu azotu. Następnie spłukać chłodnicę około 20 ml wody i schłodzić zawartość kolby do temperatury pokojowej.

5.3. Ekstrakcja

Przenieść, dekantując, zmydlony roztwór, ilościowo spłukując 250 ml wody, do rozdzielacza o pojemności 1 l, o którym mowa w ust. 4.2.3 lub do aparatu do ekstrakcji, o którym mowa w ust. 4.8. Spłukać kolbę po zmydleniu kolejno 25 ml etanolu, o którym mowa w ust. 3.1 i 100 ml eteru naftowego, o którym mowa w ust. 3.2 i przenieść popłuczyny do rozdzielacza lub do zestawu do ekstrakcji, o którym mowa w ust. 4.8. Proporcja wody i etanolu w łączonych roztworach powinna wynosić około 2:1. Wstrząsać energicznie przez 2 minuty i pozostawić w celu wytrącenia osadu na 2 minuty.

5.3.1. Ekstrakcja przy użyciu rozdzielacza stożkowego, o którym mowa w ust. 4.2.3

Po rozdzieleniu warstw, przy uwzględnieniu ust. 7.3, przenieść warstwę eteru naftowego do innego rozdzielacza, o którym mowa w ust. 4.2.3. Powtórzyć ekstrakcję dwukrotnie, używając 100 ml eteru naftowego, o którym mowa w ust. 3.2, i dwukrotnie używając 50 ml eteru naftowego, o którym mowa w ust. 3.2.

Przemyć dwukrotnie połączone ekstrakty w rozdzielaczu stożkowym 100 ml porcjami wody, ostrożnie mieszając, aby zapobiec powstawaniu zawiesiny, a następnie wielokrotnie wstrząsając powtórzyć przemywanie kolejnymi 100 ml porcjami wody, aż woda pozostanie bezbarwna po dodaniu roztworu fenoloftaleiny, o którym mowa w ust. 3.7. Wystarczy zwykle czterokrotne przemycie. Aby usunąć suspensję wodną filtrować przemyty ekstrakt przez suchy karbowany filtr do rozdzielania faz, o którym mowa w ust. 4.4, do kolby miarowej o pojemności 500 ml, o której mowa w ust. 4.2.2. Spłukać rozdzielacz i filtr przy użyciu 50 ml eteru naftowego, o którym mowa w ust. 3.2, uzupełnić eterem naftowym, o którym mowa w ust. 3.2, do pełnej objętości kolby i dobrze zmieszać.

5.3.2. Ekstrakcja przy użyciu aparatu do ekstrakcji, o którym mowa w ust. 4.8

Jeżeli warstwy zostaną rozdzielone, przy uwzględnieniu ust. 7.3, zastąpić korek szklanego cylindra, o którym mowa w ust. 4.8.1, nasadką szklaną ze szlifem, o której mowa w ust. 4.8.2, i ustawić niższy koniec rurki w kształcie litery U, tak aby znajdował się tuż ponad granicą rozdziału faz. Przez aplikację ciśnienia azotu dopływającego przez nasadkę przenieść górną warstwę eteru naftowego do rozdzielacza o pojemności 1 l, o którym mowa w ust. 4.2.3. Do szklanego cylindra dodać 100 ml eteru naftowego, o którym mowa w ust. 3.2, zamknąć i dobrze wstrząsać. Pozostawić do rozdzielania się faz i przenieść górną warstwę do rozdzielacza w sposób opisany powyżej. Powtórzyć postępowanie ekstrakcyjne, stosując kolejną porcję 100 ml eteru naftowego, o którym mowa w ust. 3.2, a następnie stosując dwukrotnie porcje 50 ml eteru naftowego, o którym mowa w ust. 3.2, a następnie dodać warstwy eteru naftowego do rozdzielacza.

Przemyć połączone ekstrakty eteru naftowego, w sposób określony w ust. 5.3.1 i postępować w sposób określony w ust. 5.3.1.

5.4. Przygotowanie roztworu próbki do HPLC

Pobrać pipetą podzielną część roztworu eteru naftowego, otrzymanego w sposób określony w ust. 5.3.1 lub w ust. 5.3.2, do kolby gruszkowej, o której mowa w ust. 4.2.4. Odparować rozpuszczalnik prawie do sucha na rotacyjnej wyparce próżniowej, o której mowa w ust. 4.1 przy obniżonym ciśnieniu na łaźni wodnej w temperaturze nie wyższej niż 40°C. Przywrócić ciśnienie atmosferyczne przez wpuszczenie azotu, o którym mowa w ust. 3.10 i zdjąć kolbę z rotacyjnej wyparki próżniowej. Usunąć pozostały rozpuszczalnik strumieniem azotu, o którym mowa w ust. 3.10 i szybko rozpuścić pozostałość w od 10 do 100 ml metanolu, o którym mowa w ust. 3.3. Stężenie witaminy A powinno wynosić od 5 IU/ml do 30 IU/ml.

5.5. Oznaczanie HPLC

Witamina A jest rozdzielana na kolumnie z fazą odwróconą C₁₈, o której mowa w ust. 4.5.1, a stężenie jest mierzone przy użyciu detektora UV (325 nm) lub detektora fluorescencyjnego o czułości - wzbudzenie: 325 nm, emisja: 475 nm, o którym mowa w ust. 4.5.2.

Zadozować podzielną część metanolowego roztworu, proponuje się zastosować 20 µl tego roztworu, otrzymanego w sposób określony w ust. 5.4 i wymywać fazą ruchomą, o której mowa w ust. 3.9. Obliczyć średnią wysokość (powierzchnię) piku kilku kolejnych dozowań tego samego roztworu próbki i średnie wysokości (powierzchnię) piku kilku dozowań kalibracyjnych roztworów, o którym mowa w ust. 5.6.2.

Podane niżej parametry oznaczania są przykładowe.

Kolumna do chromatografii cieczowej, o której mowa w ust. 4.5.1: 250 mm x 4 mm, C₁₈, wypełnienie 5 lub 10 µm lub równoważne

Faza ruchoma, o której mowa w ust. 3.9: Mieszanina, w której proponuje się zastosować stosunek

980 + 20 (v + v): metanolu, o którym mowa w ust. 3.3 i wody

Szybkość przepływu:

1 – 2 ml/min

Detektor, o którym mowa w ust. 4.5.2:

Detektor fluorescencyjny - wzbudzenie: 325 nm, emisja: 475 nm, lub Detektor UV - 325 nm

Dopuszczalne jest zastosowanie innych parametrów gwarantujących uzyskanie równoważnych wyników.

5.6. Kalibracja

5.6.1. Przygotowanie roboczych roztworów wzorcowych

Pobrać pipetą 20 ml podstawowego roztworu octanowej witaminy A, o którym mowa w ust. 3.11.1, lub 20 ml podstawowego roztworu palmitynianowej witaminy A, o którym mowa w ust. 3.12.1, do kolby płaskodennej lub stożkowej, o której mowa w ust. 4.2.1, i hydrolizować, w sposób określony w ust. 5.2, lecz bez dodawania BHT. Następnie ekstrahować eterem naftowym, o którym mowa w ust. 3.2, w sposób określony w ust. 5.3 i uzupełnić do objętości 500 ml eterem naftowym, o którym mowa w ust. 3.2. Odparować 100 ml tego ekstraktu na rotacyjnej wyparce próżniowej, przy uwzględnieniu ust. 5.4, prawie do sucha, usunąć pozostały rozpuszczalnik strumieniem azotu, o którym mowa w ust. 3.10, i ponownie rozpuścić pozostałość w 10,0 ml metanolu, o którym mowa w ust. 3.3. Nominalne stężenie tego roztworu wynosi 560 IU witaminy A na 1ml. Oznaczyć dokładną zawartość ekstraktu w sposób określony w ust. 5.6.3.3. Roztwór wzorcowy roboczy przygotować bezpośrednio przed użyciem.

Przenieść pipetą 2,0 ml tego roboczego roztworu wzorcowego do kolby miarowej o pojemności 20 ml, uzupełnić metanolem, o którym mowa w ust. 3.3, do pełnej objętości kolby i zmieszać. Nominalne stężenie tego rozcieńczonego roboczego roztworu wzorcowego wynosi 56 IU witaminy A na 1 ml.

5.6.2. Przygotowanie kalibracyjnych roztworów i krzywej kalibracyjnej

Przenieść 1,0, 2,0, 5,0 i 10,0 ml rozcieńczonego roboczego roztworu wzorcowego do partii kolb miarowych o pojemności 20 ml, uzupełnić metanolem, o którym mowa w ust. 3.3, do pełnej objętości kolb i zmieszać. Nominalne stężenia tych roztworów wynoszą 2,8, 5,6, 14,0 i 28,0 IU witaminy A na 1ml.

Zadocować kilka razy 20 µl każdego z roztworów kalibracyjnych i określić średnie wysokości (powierzchnie) piku. Wykorzystując średnie wysokości (powierzchnie) piku, wykreślić krzywą kalibracyjną, uwzględniając wyniki kontroli UV, o których mowa w ust. 5.6.3.3.

5.6.3. Standaryzacja UV wzorcowych roztworów

5.6.3.1. Roztwór podstawowy octanowej witaminy A

Pobrać pipetą 2,0 ml roztworu podstawowego octanowej witaminy A, o którym mowa w ust. 3.11.1 do kolby miarowej o pojemności 50 ml, o której mowa w ust. 4.2.2 i uzupełnić 2-propanolem, o którym mowa w ust. 3.8, do pełnej objętości kolby. Nominalne stężenie tego roztworu wynosi 56 IU witaminy A na 1 ml. Pobrać pipetą 3,0 ml tego rozcieńczonego roztworu octanowej witaminy A do kolby miarowej o pojemności 25 ml i uzupełnić 2-propanolem, o którym mowa w ust. 3.8, do pełnej objętości kolby. Nominalne stężenie tego roztworu wynosi 6,72 IU witaminy A na ml. Zmierzyć spektrum UV tego roztworu względem 2-propanolu, o którym mowa w ust. 3.8, w spektrofotometrze, o którym mowa w ust. 4.6, pomiędzy 300 nm a 400 nm. Maksimum wygaśnięcia powinno znajdować się pomiędzy 325 a 327 nm.

Obliczenie zawartości witaminy A:

$$\text{IU witaminy A/1ml} = E_{326} \times 19,0$$

1%

(E — dla octanowej witaminy A = 1530 przy 326 nm w 2-propanolu)

1 cm

5.6.3.2. Roztwór podstawowy palmitynianowej witaminy A

Pobrać pipetą 2,0 ml roztworu podstawowego palmitynianowej witaminy A, o którym mowa w ust. 3.12.1 do kolby miarowej o pojemności 50 ml, o którym mowa w ust. 4.2.2 i uzupełnić do pełnej objętości kolby 2-propanolem, o którym mowa w ust. 3.8. Nominalne stężenie tego roztworu wynosi 56 IU witaminy A na 1 ml. Pobrać pipetą 3,0 ml tego rozcieńczonego roztworu palmitynianowej witaminy A do kolby miarowej o pojemności 25 ml i uzupełnić do pełnej objętości kolby 2-propanolem, o którym mowa w ust. 3.8. Nominalne stężenie tego roztworu wynosi 6,72 IU witaminy A na 1ml. Zmierzyć spektrum UV tego roztworu względem 2-propanolu, o którym mowa w ust. 3.8 w spektrofotometrze, o którym mowa w ust. 4.6 pomiędzy 300 nm a 400 nm. Maksimum wygaśnięcia powinno znajdować się pomiędzy 325 a 327 nm.

Obliczenie zawartości witaminy A:

$$\text{IU witaminy A/1ml} = E_{326} \times 19,0$$

1%

(E — dla palmitynianowej witaminy A = 957 przy 326 nm w 2-propanolu)

1 cm

5.6.3.3. Robocze roztwory wzorcowe witaminy A

Pobrać pipetą 3,0 ml nierozcieńczonego roboczego roztworu wzorcowego witaminy A, przygotowanego w sposób określony w ust. 5.6.1, do kolby miarowej o pojemności 50 ml, o której mowa w ust. 4.2.2, i uzupełnić 2-propanolem, o którym mowa w ust. 3.8, do pełnej objętości kolby. Pobrać pipetą 5,0 ml tego roztworu do kolby miarowej o pojemności 25 ml i uzupełnić do pełnej objętości kolby 2-propanolem, o którym mowa w ust. 3.8. Nominalne stężenie tego roztworu wynosi 6,72 IU witaminy A na 1ml. Zmierzyć spektrum UV tego roztworu względem 2-propanolu, o którym mowa w ust. 3.8 w spektrofotometrze, o którym mowa w ust. 4.6, pomiędzy 300 nm a 400 nm. Maksimum wygaśnięcia powinno znajdować się pomiędzy 325 a 327 nm.

Obliczenie zawartości witaminy A:

$$\text{IU witaminy A/ 1ml} = E_{325} \times 18,3$$

1%

(E — dla alkoholowej witaminy A = 1821 przy 325 nm w 2-propanolu)

1 cm

6. OBLICZANIE WYNIKÓW

Na podstawie średniej wysokości (powierzchni) pików witaminy A roztworu próbki określić stężenie roztworu próbki w IU/ml odnosząc się do wykresu kalibracyjnego, o którym mowa w ust. 5.6.2.

Zawartość witaminy A w IU/kg próbki obliczyć według następującego wzoru:

$$w = \frac{500 \times \beta \times V_2 \times 1000}{V_1 \times m} \text{ [IU /kg]}$$

gdzie:

β – stężenie w IU/ml witaminy A w roztworze próbki, o którym mowa w ust. 5.4,

V_1 – objętość w ml roztworu próbki, o którym mowa w ust. 5.4,

V_2 – objętość w ml pobranej podzielnej części z roztworu próbki, o którym mowa w ust. 5.4,

m – masa w g próbki.

7. OBJAŚNIENIA

7.1. W przypadku próbek o niskim stężeniu witaminy A wskazane jest połączenie ekstraktów eteru naftowego dwóch zmydlanych naważek o wadze 25 g każda, w jeden roztwór próbki przeznaczony do oznaczania HPLC.

7.2. Próbką pobrana do analizy nie powinna zawierać więcej niż 2 g tłuszczu.

7.3. Jeżeli nie dochodzi do rozdzielania faz, dodać około 10 ml etanolu, o którym mowa w ust. 3.1, aby rozbić emulsję.

7.4. W przypadku oleju z wątroby dorsza i innych czystych tłuszczów zaleca się przedłużenie czasu zmydlania do 45 – 60 minut.

7.5. Zamiast BHT może być użyty hydrochinon.

7.6. Przy zastosowaniu zwykłej kolumny możliwe jest oddzielenie izomerów retinolu.

7.7. Zamiast roztworu askorbinianu sodu można zastosować około 150 mg kwasu askorbinowego.

7.8. Zamiast roztworu siarczku sodu można zastosować około 50 mg EDTA.

8. SPRAWDZENIE METODY

8.1. Powtarzalność

Różnica pomiędzy wynikami dwóch równoległych oznaczeń wykonanych dla tej samej próbki nie powinna przekraczać 15% względem wyższego wyniku.

9. WYNIKI BADAŃ MIĘDZYLABORATORYJNYCH

Wyniki badań międzylaboratoryjnych przeprowadzonych przez grupę roboczą do spraw pasz Verband Deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten (VDLUFA). W tabeli 16 podano wyniki tych badań.

Tabela 16. Wyniki badań porównawczych.

	Premiks	Pasza z premiksem	Mieszanka paszowa mineralna	Pasza białkowa	Prosięta
L	13	12	13	12	13
n	48	45	47	46	49
Średnia [IU/kg]	17,02 x 10 ⁶	1,21 x 10 ⁶	537 100	151 800	18 070
s _r [IU/kg]	0,51 x 10 ⁶	0,039 x 10 ⁶	22 080	12 280	682
r [IU/kg]	1,43 x 10 ⁶	0,109 x 10 ⁶	61 824	34 384	1 910
CV _r [%]	3,0	3,5	4,1	8,1	3,8
s _R [IU/kg]	1,36 x 10 ⁶	0,069 x 10 ⁶	46 300	23 060	3 614
R [IU/kg]	3,81 x 10 ⁶	0,193 x 10 ⁶	129 640	64 568	10 119
CV _R [%]	8,0	6,2	8,6	15	20

L – liczba laboratoriów; n – liczba pojedynczych wartości; s_r – odchylenie standardowe dla powtarzalności; s_R – odchylenie standardowe odtwarzalności; r – powtarzalność wyników; R – odtwarzalność wyników; CV_r – współczynnik zmienności powtarzalności; CV_R – współczynnik zmienności odtwarzalności.

5.2. OZNACZANIE WITAMINY E METODĄ WYSOKOSPRAWNEJ

CHROMATOGRAFII CIECZOWEJ

1. CEL I ZAKRES STOSOWANIA METODY

Metoda służy do oznaczania zawartości witaminy E w paszach i premiksach. Zawartość witaminy E jest wyrażana w mg octanu DL- α -tokoferolu na kg. 1 mg octanu DL- α -tokoferolu odpowiada 0,91 mg DL- α -tokoferolu (witamina E).

Granica oznaczalności metody wynosi 2 mg witaminy E/kg.

2. SPOSÓB PRZEPROWADZENIA METODY

Próbka jest hydrolizowana etanolemowym roztworem wodorotlenku potasu, a witamina E jest ekstrahowana eterem naftowym. Rozpuszczalnik jest usuwany przez odparowanie, a pozostałość rozpuszczana w metanolu i, w razie konieczności,

rozcieńczana do wymaganego stężenia. Zawartość witaminy E jest oznaczana metodą wysokosprawnej chromatografii ciekowej z fazą odwróconą (RP-HPLC) przy wykorzystaniu detektora UV lub detektora fluorescencyjnego.

3. ODCZYNNIKI I ROZTWORY

3.1. Etanol, $\sigma = 96\%$.

3.2. Eter naftowy, zakres wrzenia od 40°C do 60°C .

3.3. Metanol.

3.4. Roztwór wodorotlenku potasu, $\beta = 50 \text{ g}/100 \text{ ml}$.

3.5. Roztwór askorbinianu sodu, $\beta = 10 \text{ g}/100 \text{ ml}$, przy uwzględnieniu ust. 7.7.

3.6. Siarczek sodu, $\text{Na}_2\text{S} \cdot x \text{H}_2\text{O}$ ($x = 7-9$).

3.6.1. Roztwór siarczku sodu, $c = 0,5 \text{ mol/l}$ w glicerolu, $\beta = 120 \text{ g/l}$ (dla $x = 9$) przy uwzględnieniu ust. 7.8.

3.7. Roztwór fenoloftaleiny, $\beta = 2 \text{ g}/100 \text{ ml}$ w etanolu, o którym mowa w ust. 3.1.

3.8. Faza ruchoma do HPLC: mieszanina, w której proponuje się zastosować stosunek $980 + 20$ ($v + v$): metanolu, o którym mowa w ust. 3.3, i wody. Dokładny współczynnik jest określony przez charakterystykę stosowanej kolumny.

3.9. Azot, wolny od tlenu.

3.10. Octan DL- α -tokoferolu, o specjalnej czystości i certyfikowanej aktywności.

3.10.1. Roztwór podstawowy octanu DL- α -tokoferolu:

Odważyć, z dokładnością do 0,1 mg, 100 mg octanu DL- α -tokoferolu, o którym mowa w ust. 3.10, do kolby miarowej o pojemności 100 ml. Rozpuścić w etanolu, o którym mowa w ust. 3.1, i uzupełnić do objętości tym samym rozpuszczalnikiem. 1 ml tego roztworu zawiera 1 mg octanu DL- α -tokoferolu. W przypadku kontroli UV uwzględnić ust. 5.6.1.3, natomiast w przypadku stabilizacji uwzględnić ust. 7.4.

3.11. DL- α -tokoferol, o specjalnej czystości i certyfikowanej aktywności.

3.11.1. Odważyć, z dokładnością do 0,1 mg, 100 mg DL- α -tokoferolu, o którym mowa w ust. 3.10, do kolby miarowej o pojemności 100 ml. Rozpuścić w etanolu, o którym mowa w ust. 3.1, i uzupełnić do objętości tym samym rozpuszczalnikiem. 1 ml tego roztworu zawiera 1 mg DL- α -tokoferolu. W przypadku kontroli UV uwzględnić ust. 5.6.2.3, natomiast w przypadku stabilizacji uwzględnić ust. 7.4.

3.12. 2,6-dwu-tetr-butyl-4-metylofenol (BHT), przy uwzględnieniu ust. 7.5.

4. APARATURA I SPRZĘT

4.1. Rotacyjna wyparka próżniowa

4.2. Szkło laboratoryjne oranżowe.

4.2.1. Kolba płaskodenne lub stożkowa o pojemności 500 ml, ze szlifem.

4.2.2. Kolby miarowe o wąskich szyjkach o pojemnościach 10, 25, 100 i 500 ml, ze szklanymi korkami.

4.2.3. Rozdzielacze stożkowe o pojemności 1 l, ze szklanymi korkami.

4.2.4. Kolba gruszkowa o pojemności 250 ml, ze szlifem.

4.3. Chłodnica zwrotna kulkowa o długości płaszcza 300 mm, z połączeniami szlifowanymi, z nasadką do podłączenia gazu.

4.4. Karbowany filtr bibułowy do rozdzielania faz o średnicy 185 mm, proponuje się zastosować Schleicher & Schuell 597 HY $\frac{1}{2}$.

4.5. Wyposażenie HPLC z systemem dozowania.

4.5.1. Kolumna do chromatografii ciekowej, 250 mm x 4 mm, C_{18} , wypełnienie 5 lub 10 μm lub równoważne.

4.5.2. Detektor UV lub fluorescencyjny, z możliwością zmiany długości fali.

4.6. Spektrofotometr z kwarcowymi kuwetami o długości drogi optycznej 10 mm.

4.7. Łaźnia wodna z mieszadłem magnetycznym.

4.8. Aparat do ekstrakcji (rys. 2) zawierający:

4.8.1. Cylinder szklany o pojemności 1 litra, ze szlifem i korkiem.

4.8.2. Nasadka szklana ze szlifem z boczniakiem i ruchomą nastawną rurką przesuwającą się przez środek nasadki. Zaleca się, aby nastawna rurka miała zakończenie w kształcie litery U i przeciwny otwór skierowany ku górze, tak aby górna warstwa cieczy w cylindrze mogła być przeniesiona do rozdzielacza stożkowego.

5. SPOSÓB POSTĘPOWANIA

Z uwagi na fakt, że witamina E jest wrażliwa na światło (UV) i utlenianie zaleca się, aby wszystkie czynności były przeprowadzane bez dostępu światła, z zastosowaniem szkła oranżowego lub szkła zabezpieczonego folią aluminiową i tlenu, płukanie strumieniem azotu. Zaleca się, aby podczas ekstrakcji powietrze nad cieczą było zastąpione azotem. Zapobiegać zbyt wysokiemu ciśnieniu, zwalniając od czasu do czasu korki.

5.1. Przygotowanie próbki

Rozdrobnić próbkę, tak aby przesiewała się przez oczka sita o średnicy 1 mm, uważając, aby podczas rozdrabniania nie wydzielano ciepła. Aby zapobiec stratom witaminy E, rozdrabnianie powinno być przeprowadzone tuż przed ważeniem i zmydleniem.

5.2. Zmydlenie

W zależności od zawartości witaminy E zważyć, z dokładnością do 0,01 g, od 2 do 25 g próbki do kolby płaskodennej lub stożkowej, o której mowa w ust. 4.2.1. Dodać kolejno, mieszając, 130 ml etanolu, o którym mowa w ust. 3.1, około 100 mg BHT, o którym mowa w ust. 3.12, 2 ml roztworu askorbinianu sodu, o którym mowa w ust. 3.5 i 2 ml roztworu siarczku sodu, o którym mowa w ust. 3.6. Założyć chłodnicę, o której mowa w ust. 4.3, na kolbę i umieścić kolbę na łaźni wodnej, o której mowa w ust. 4.7. Ogrzać do wrzenia i skraplać przez 5 minut. Następnie dodać 25 ml roztworu wodorotlenku potasu, o którym mowa w ust. 3.4, przez chłodnicę, o której mowa w ust. 4.3 i skraplać przez następne 25 minut, mieszając pod powolnym przepływem azotu. Następnie spłukać chłodnicę około 20 ml wody i schłodzić zawartość kolby do temperatury pokojowej.

5.3. Ekstrakcja

Przenieść, dekantując, zmydlony roztwór, ilościowo spłukując 250 ml wody, do rozdzielacza, o którym mowa w ust. 4.2.3, lub do aparatu do ekstrakcji, o którym mowa w ust. 4.8. Spłukać kolbę po zmydleniu kolejno 25 ml etanolu, o którym mowa w ust. 3.1, i 100 ml eteru naftowego, o którym mowa w ust. 3.2, i przenieść popłuczyny do rozdzielacza lub do aparatu do

ekstrakcji. Proporcja wody i etanolu w łączonych roztworach powinna wynosić około 2:1. Wstrząsać energicznie przez 2 minuty i pozostawić na 2 minuty.

5.3.1. Ekstrakcja przy użyciu rozdzielacza stożkowego, o którym mowa w ust. 4.2.3

Po rozdzielaniu warstw, przy uwzględnieniu ust. 7.3 przenieść warstwę eteru naftowego do innego rozdzielacza, o którym mowa w ust. 4.2.3. Powtórzyć ekstrakcję dwukrotnie, używając 100 ml eteru naftowego, o którym mowa w ust. 3.2, i używając dwukrotnie 50 ml eteru naftowego, o którym mowa w ust. 3.2.

Przemyć dwukrotnie połączone ekstrakty w rozdzielaczu stożkowym 100 ml porcjami wody, ostrożnie mieszając, aby zapobiec powstawaniu zawiesiny, a następnie powtórzyć przemywanie kolejnymi 100 ml porcjami wody, aż woda pozostanie bezbarwna po dodaniu roztworu fenoloftaleiny, o którym mowa w ust. 3.7. Wystarczy zwykle czterokrotne przemycie. Aby usunąć suspensję wodną filtrować przemyty ekstrakt przez suchy karbowany filtr do rozdzielania faz, o którym mowa w ust. 4.4, do kolby miarowej o pojemności 500 ml, o której mowa w ust. 4.2.2. Spłukać rozdzielacz przy użyciu 50 ml eteru naftowego, o którym mowa w ust. 3.2, uzupełnić do objętości eterem naftowym, o którym mowa w ust. 3.2, i dobrze zmieszać.

5.3.2. Ekstrakcja przy użyciu aparatu do ekstrakcji, o którym mowa w ust. 4.8

Jeżeli warstwy zostaną rozdzielone, przy uwzględnieniu ust. 7.3, zastąpić korek szklanego cylindra, o którym mowa w ust. 4.8.1 nasadką szklaną ze szlifem, o której mowa w ust. 4.8.2 i ustawić niższy koniec rurki w kształcie litery U, tak aby znajdował się tuż ponad granicą rozdziału faz. Przez aplikację ciśnienia azotu dopływającego przez nasadkę przenieść górną warstwę eteru naftowego do rozdzielacza, o którym mowa w ust. 4.2.3. Do szklanego cylindra dodać 100 ml eteru naftowego, o którym mowa w ust. 3.2, zamknąć i dobrze wstrząsnąć. Pozostawić do rozdzielania się faz i przenieść górną warstwę do rozdzielacza w sposób opisany powyżej. Powtórzyć postępowanie ekstrakcyjne stosując kolejną porcję 100 ml eteru naftowego, o którym mowa w ust. 3.2, a następnie stosując dwukrotnie porcje 50 ml eteru naftowego, o którym mowa w ust. 3.2, a następnie dodać warstwy eteru naftowego.

Przemyć połączone ekstrakty eteru naftowego, w sposób określony w ust. 5.3.1 i postępować w sposób określony w ust. 5.3.1.

5.4. Przygotowanie roztworu próbki do HPLC

Pobrać pipetą część eteru naftowego roztworu, otrzymanego w sposób określony w ust. 5.3.1 lub ust. 5.3.2, do kolby, o której mowa w ust. 4.2.4. Odparować rozpuszczalnik prawie do sucha na rotacyjnej wyparce próżniowej, o której mowa w ust. 4.1, przy obniżonym ciśnieniu na łaźni wodnej w temperaturze nie wyższej niż 40°C. Przywrócić ciśnienie atmosferyczne przez wpuszczenie azotu, o którym mowa w ust. 3.9, i zdjąć kolbę z rotacyjnej wyparki próżniowej. Usunąć pozostały rozpuszczalnik strumieniem azotu, o którym mowa w ust. 3.9, i szybko rozpuścić pozostałość w od 10 do 100 ml metanolu, o którym mowa w ust. 3.3. Stężenie DL- α -tokoferolu wynosiło od 5 μ g/ml do 30 μ g/ml.

5.5. Oznaczanie HPLC

Witamina E jest rozdzielana na kolumnie z fazą odwróconą C₁₈, o której mowa w ust. 4.5.1, a stężenie jest mierzone przy użyciu detektora UV (292 nm), o którym mowa w ust. 4.5.2, lub detektora fluorescencyjnego o czułości - wzbudzenie: 295 nm, emisja: 330 nm, o którym mowa w ust. 4.5.2.

Zadostawiać podzielną część metanolowego roztworu, proponuje się zastosować 20 μ l tego roztworu, otrzymanego w sposób określony w ust. 5.4 i wymywać fazą ruchomą, o której mowa w ust. 3.8. Obliczyć średnie wysokości (powierzchnie) piku kilku kolejnych dozowań tego samego roztworu próbki i średnie wysokości (powierzchnie) piku kilku dozowań kalibracyjnych roztworów, o których mowa w ust. 5.6.2.

Warunki HPLC

Podane niżej parametry oznaczania są przykładowe.

Kolumna do chromatografii cieczowej, o której mowa w ust. 4.5.1:	250 mm x 4 mm, C ₁₈ , wypełnienie 5 lub 10 μ m lub równoważne
Faza ruchoma, o której mowa w ust. 3.8:	Mieszanina, w której proponuje się zastosować stosunek 980 + 20 (v + v): metanolu, o którym mowa w ust. 3.3 i wody
Szybkość przepływu:	1 – 2 ml/min
Detektor, o którym mowa w ust. 4.5.2:	Detektor fluorescencyjny - wzbudzenie: 295 nm, emisja: 330 nm, lub detektor UV - 292 nm

Dopuszczalne jest zastosowanie innych parametrów gwarantujących uzyskanie równoważnych wyników.

5.6. Kalibracja (octanu DL- α -tokoferolu lub DL- α -tokoferol)

5.6.1. Wzorzec octanu DL- α -tokoferolu

5.6.1.1. Przygotowanie roboczego roztworu wzorcowego

Pobrać pipetą 25 ml podstawowego roztworu octanu DL- α -tokoferolu, o którym mowa w ust. 3.10.1 do kolby płaskodennej lub stożkowej, o której mowa w ust. 4.2.1, i hydrolizować, w sposób określony w ust. 5.2. Następnie ekstrahować eterem naftowym, o którym mowa w ust. 3.2, w sposób określony w ust. 5.3 i uzupełnić do objętości 500 ml eterem naftowym, o którym mowa w ust. 3.2. Odparować 25 ml tego ekstraktu na rotacyjnej wyparce próżniowej, przy uwzględnieniu ust. 5.4, prawie do sucha, usunąć pozostały rozpuszczalnik strumieniem azotu, o którym mowa w ust. 3.9, i ponownie rozpuścić pozostałość w 25,0 ml metanolu, o którym mowa w ust. 3.3. Nominalne stężenie tego roztworu wynosi 45,5 μ g DL- α -tokoferolu na 1ml, co odpowiada 50 μ g octanu DL- α -tokoferolu na 1 ml. Roztwór wzorcowy roboczy przygotowuje się bezpośrednio przed użyciem.

5.6.1.2. Przygotowanie kalibracyjnych roztworów i krzywej kalibracyjnej

Przenieść 1,0, 2,0, 4,0 i 10,0 ml roboczego roztworu wzorcowego do kolb miarowych o pojemności 20 ml, uzupełnić do objętości metanolem, o którym mowa w ust. 3.3, i zmieszać. Nominalne stężenia tych roztworów wynoszą 2,5, 5,0, 10,0 i 25,0 μ g na 1ml octanu

DL- α -tokoferolu, co odpowiada 2,28, 4,55, 9,10 i 22,8 μ g na 1ml DL- α -tokoferolu.

Zadozować kilka razy 20 µl każdego roztworu kalibracyjnego i określić średnie wysokości (powierzchnie) pików.

Wykorzystując średnie wysokości (powierzchnie) pików, wykreślić krzywą kalibracyjną.

5.6.1.3. Standaryzacja UV roztworu podstawowego octanu DL- α -tokoferolu, o którym mowa w ust. 3.10.1

Rozcieńczyć 5,0 ml roztworu podstawowego octanu DL- α -tokoferolu, o którym mowa w ust. 3.10.1, w 25,0 ml etanolu i zmierzyć spektrum UV tego roztworu względem etanolu, o którym mowa w ust. 3.1, w spektrofotometrze, o którym mowa w ust. 4.6, pomiędzy 250 nm i 320 nm.

Maksimum absorpcji powinno wystąpić przy 284 nm:

$$E \frac{1\%}{1 \text{ cm}} = 43,6 \text{ przy } 284 \text{ nm w etanolu}$$

Przy tym rozcieńczeniu wartość wygaśnięcia powinna wynosić od 0,84 do 0,88.

5.6.2. Wzorzec DL- α -tokoferolu

5.6.2.1. Przygotowanie roboczego roztworu wzorcowego

Pobrać pipetą 2,0 ml podstawowego roztworu wzorcowego DL- α -tokoferolu, o którym mowa w ust. 3.11.1, do kolby miarowej o pojemności 50 ml, rozpuścić w metanolu, o którym mowa w ust. 3.3, i uzupełnić do objętości metanolem.

Nominalne stężenie tego roztworu wynosi 40 µg

DL- α -tokoferolu na 1 ml, co odpowiada 44,0 µg octanu DL- α -tokoferolu na 1 ml. Wzorcowy roztwór roboczy przygotowuje się bezpośrednio przed użyciem.

5.6.2.2. Przygotowanie kalibracyjnych roztworów i krzywej kalibracyjnej

Przenieść 1,0, 2,0, 4,0 i 10,0 ml roboczego roztworu wzorcowego do kolb miarowych o pojemności 20 ml, uzupełnić do objętości metanolem, o którym mowa w ust. 3.3 i zmieszać. Nominalne stężenia tych roztworów wynoszą 2,0, 4,0, 8,0 i 20,0 µg/ml DL- α -tokoferolu, czyli 2,20, 4,40, 8,79 i 22,0 µg/ml octanu DL- α -tokoferolu.

Zadozować kilka razy 20 µl każdego roztworu kalibracyjnego i określić średnie wysokości (powierzchnie) pików. Wykorzystując średnie wysokości (powierzchnie) pików, wykreślić krzywą kalibracyjną.

5.6.2.3. Standaryzacja UV roztworu podstawowego DL- α -tokoferolu, o którym mowa w ust. 3.11.1

Rozcieńczyć 2,0 ml roztworu podstawowego DL- α -tokoferolu, o którym mowa w ust. 3.11.1, w 25,0 ml etanolu i zmierzyć spektrum UV tego roztworu względem etanolu, o którym mowa w ust. 3.1, w spektrofotometrze, o którym mowa w ust. 4.6, pomiędzy 250 nm i 320 nm.

Maksimum absorpcji powinno wystąpić przy 292 nm.

$$E \frac{1\%}{1 \text{ cm}} = 75,8 \text{ przy } 292 \text{ nm w etanolu}$$

Przy tym rozcieńczeniu wartość wygaśnięcia powinna wynosić 0,6.

6. OBLICZANIE WYNIKÓW

Na podstawie średniej wysokości (powierzchni) pików witaminy E roztworu próbki określić stężenie roztworu próbki w µg/ml, obliczonej jako octan DL- α -tokoferolu, z krzywej wzorcowej, o której mowa w ust. 5.6.1.2, lub w ust. 5.6.2.2.

Zawartość witaminy E w mg/kg próbki obliczyć według następującego wzoru:

$$w = \frac{500 \times \beta \times V_2}{V_1 \times m} \text{ [mg/kg]}$$

gdzie:

β – stężenie w µg/ml witaminy E w roztworze próbki, o której mowa w ust. 5.4,

V_1 – objętość w ml roztworu próbki, o którym mowa w ust. 5.4,

V_2 – objętość w ml podzielonej pobranej części z roztworu próbki, o którym mowa w ust. 5.4,

m – masa w g próbki.

7. OBJAŚNIENIA

7.1. W przypadku próbek o niskim stężeniu witaminy E wskazane jest połączenie ekstraktów eteru naftowego z dwóch zmydlonych naważek o wadze 25 g każda, w jeden roztwór próbki przeznaczony do oznaczania HPLC.

7.2. Próbką pobrana do analizy nie powinna zawierać więcej niż 2 g tłuszczu.

7.3. Jeżeli nie dochodzi do rozdzielenia faz, dodać około 10 ml etanolu, o którym mowa w ust. 3.1, aby usunąć emulsję.

7.4. Po pomiarze spektrofotometrycznym roztworu octanu DL- α -tokoferolu lub DL- α -tokoferolu, wykonanym odpowiednio w sposób określony w ust. 5.6.1.3 lub w ust. 5.6.2.3, dodać 10 mg BHT, o którym mowa w ust. 3.12, do roztworu, o którym mowa w ust. 3.10.1, lub w ust. 3.11.1 i roztwór przechowywać w lodówce nie dłużej niż 4 tygodnie.

7.5. Zamiast BHT może być użyty hydrochinon.

7.6. Przy zastosowaniu zwykłej kolumny możliwe jest oddzielenie α -, β -, γ - i δ -tokoferolu.

7.7. Zamiast roztworu askorbinianu sodu można zastosować około 150 mg kwasu askorbinowego.

7.8. Zamiast roztworu siarczku sodu można zastosować około 50 mg EDTA.

8. SPRAWDZENIE METODY

8.1. Powtarzalność

Różnica pomiędzy wynikami dwóch równoległych oznaczeń wykonanych dla tej samej próbki nie powinna przekraczać 15% względem wyższego wyniku.

9. WYNIKI BADAŃ MIĘDZYLABORATORYJNYCH

Wyniki badań międzylaboratoryjnych przeprowadzonych przez grupę roboczą do spraw pasz Verband Deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten (VDLUFA). W tabeli 17 podano wyniki tych badań.

Tabela 17. Wyniki badań porównawczych.

	Premiksy	Pasza z premikem	Mieszanka paszowa mineralna	Pasza białkowa	Prosięta
L	12	12	12	12	12
n	48	48	48	48	48
Średnia [mg/kg]	17 380	1 187	926	315	61,3
s_r [mg/kg]	384	45,3	25,2	13,0	2,3
R [mg/kg]	1 075	126,8	70,6	36,4	6,4
CV_r [%]	2,2	3,8	2,7	4,1	3,8
s_R [mg/kg]	830	65,0	55,5	18,9	7,8
r [mg/kg]	2 324	182,0	155,4	52,9	21,8
CV_R [%]	4,8	5,5	6,0	6,0	12,7

L – liczba laboratoriów; n – liczba pojedynczych wartości; s_r – odchylenie standardowe

powtarzalności; s_R – odchylenie standardowe odtwarzalności; r – powtarzalność wyników; R

– odtwarzalność wyników; CV_r – współczynnik zmienności powtarzalności; CV_R –

współczynnik zmienności odtwarzalności

ROZDZIAŁ 6

BADANIE STYMULATORÓW WZROSTU

6.1. OZNACZANIE WIRGINIAMYCYNINY METODĄ DYFUZJI W ŻELU AGAROWYM

1. CEL I ZAKRES STOSOWANIA METODY

Metoda służy do oznaczania zawartości wirginiamycyny w paszach i premiksach. Dolna granica oznaczalności metody wynosi 2 mg/kg (2 ppm).

1 mg wirginiamycyny odpowiada 1000 jednostek angielskich.

2. SPOSÓB PRZEPROWADZENIA METODY

Próbka jest ekstrahowana metanolowym roztworem Tween 80. Ekstrakt dekantuje się lub odwirowuje i rozcieńcza. Aktywność antybiotyczna ekstraktu jest oznaczana przez pomiar dyfuzji wirginiamycyny w podłożu agarowym zaszczipionym *Micrococcus luteus*. Dyfuzja objawia się tworzeniem stref zahamowania mikroorganizmu. Średnica tych stref jest wprost proporcjonalna do logarytmu stężenia w antybiotyku w zakresie stosowanych stężeń antybiotyku.

3. MIKROORGANIZM: *Micrococcus luteus* ATCC 9341 (NCTC 8340, NCIB 8553)

3.1. Utrzymanie kultury macierzystej

Szczepić *Micrococcus luteus* na skosy agarowe podłoża do hodowli mikroorganizmów, o którym mowa w ust. 4.1. Inkubować przez 24 godziny w temperaturze 30°C. Przechowywać kulturę bakteryjną w lodówce w temperaturze 4°C i przeszczepiać na nowe skosy agarowe co 2 tygodnie.

3.2. Przygotowanie zawiesiny bakteryjnej

Zebrać kulturę macierzystą ze świeżo przygotowanego skosu agarowego, o którym mowa w ust. 3.1, przy użyciu od 2 do 3 ml roztworu chlorku sodu, o którym mowa w ust. 4.3. Uzyskaną suspensją szczepić 250 ml podłoża do hodowli mikroorganizmów, o którym mowa w ust. 4.1 umieszczonego w kolbie Roux i inkubować przez 18 do 20 godzin w temperaturze 30°C. Zebrać hodowlę i umieścić w 25 ml roztworu chlorku sodu, o którym mowa w ust. 4.3, i zmieszać. Rozcieńczyć suspensję w stosunku 1 : 10 roztworem chlorku sodu, o którym mowa w ust. 4.3. Transmisja światła przez suspensję, mierzona przy 650 nm w 1 cm naczynku w stosunku do roztworu chlorku sodu, o którym mowa w ust. 4.3, powinna wynosić około 75%. Suspensja może być przechowywana przez tydzień w temperaturze około 4°C.

Mogą być zastosowane inne metody, jeżeli pozwalają uzyskać zawiesinę bakteryjną o podobnym składzie.

4. PODŁOŻA I ODCZYNNIKI

4.1. Podłoża do hodowli mikroorganizmów i ich analiza

Pepton mięsa	6,0 g
Trypton	4,0 g
Ekstrakt drożdżowy	3,0 g
Ekstrakt mięsny	1,5 g

Glukoza	1,0 g
Agar	10,0 do 20,0 g
Woda	1 l
pH	6,5 (po sterylizacji)

Mogą być zastosowane inne dostępne podłoża o podobnym składzie, dające takie same wyniki.

4.2. Bufor fosforanowy, pH 6

Wodorofosforan dwupotasu K_2HPO_4 – 2,0 g

Dwuwodorofosforan potasu KH_2PO_4 – 8,0 g

Woda do 1 l.

4.3. 0,8% roztwór chlorku sodu, (m/V):

Rozpuścić 8 g chlorku sodu w wodzie i rozcieńczyć do objętości 1 l. Sterylizować.

4.4. Metanol.

4.5. Mieszanina buforu fosforanowego, o którym mowa w ust. 4.2 i metanolu, o którym mowa w ust. 4.4: 80/20 (V/V).

4.6. Tween 80, metanolowy roztwór 0,5% (m/V):

Rozpuścić 5 g Tween 80 w metanolu, o którym mowa w ust. 4.4, i rozcieńczyć metanolem do objętości 1 l.

4.7. Substancja wzorcowa: wirginiamycyna o znanej aktywności.

5. ROZTWORY WZORCOWE

Rozpuścić dokładnie odważoną ilość substancji wzorcowej, o której mowa w ust. 4.7, w metanolu, o którym mowa w ust. 4.4, i rozcieńczyć metanolem, o którym mowa w ust. 4.4, do uzyskania roztworu podstawowego zawierającego 1000 μg wirginiamycyny w 1 ml.

Roztwór przechowywany w zamkniętej kolbie w temperaturze 4°C zachowuje stabilność do 5 dni.

Z tego podstawowego roztworu przygotować, metodą kolejnych rozcieńczeń przy użyciu mieszaniny, o której mowa w ust.

4.5, następujące roztwory:

S_8	1	$\mu\text{g/ml}$
S_4	0,5	$\mu\text{g/ml}$
S_2	0,25	$\mu\text{g/ml}$
S_1	0,125	$\mu\text{g/ml}$

6. PRZYGOTOWANIE EKSTRAKTU I ROZTWORÓW DO OZNACZANIA

6.1. Ekstrakcja

6.1.1. Produkty o zawartości wirginiamycyny do 100 mg/kg

Odważyć 50 g próbki, dodać 200 ml roztworu, o którym mowa w ust. 4.6, i wstrząsać przez 30 minut. Pozostawić w celu osadzenia lub odwirować, pobrać 20 ml supernatantu roztworu i odparować do około 5 ml w wyparce rotacyjnej w temperaturze nie przekraczającej 40°C. Rozcieńczyć pozostałość w mieszaninie, o której mowa w ust. 4.5, aby otrzymać oczekiwaną zawartość wirginiamycyny 1 $\mu\text{g/ml}$ (= U_8).

6.1.2. Produkty o zawartości wirginiamycyny wyższej niż 100 mg/kg

Odważyć próbkę o masie nie większej niż 10,0 g i zawierającej od 1 do 50 mg wirginiamycyny, dodać 100 ml roztworu, o którym mowa w ust. 4.6 i wstrząsać przez 30 minut. Pozostawić w celu osadzenia lub odwirować, następnie rozcieńczyć supernatant roztworu mieszaniną, o której mowa w ust. 4.5, aby otrzymać oczekiwaną zawartość wirginiamycyny 1 $\mu\text{g/ml}$ (= U_8).

6.2. Roztwory do oznaczania

Z roztworu U_8 przygotować roztwór: U_4 , którego oczekiwana zawartość wynosi 0,5 $\mu\text{g/ml}$, U_2 , którego oczekiwana zawartość wynosi 0,25 $\mu\text{g/ml}$, U_1 , którego oczekiwana zawartość wynosi 0,125 $\mu\text{g/ml}$ metodą kolejnych rozcieńczeń (1 + 1) przy użyciu mieszaniny, o której mowa w ust. 4.5.

7. SPOSÓB POSTĘPOWANIA

7.1. Szczepianie analizowanego podłoża

Szczepić podłoże do hodowali mikroorganizmów, o którym mowa w ust. 4.1, zawiesiną bakteryjną, o której mowa w ust. 3.2, w temperaturze około 50°C. Uwzględniając wstępne próby przeszczepu na płytki z analizowanym podłożem, o którym mowa w ust. 4.1, określić wymaganą ilość bakteryjnej zawiesiny, przy której występują największe i wyraźne strefy zahamowania dla różnych stężeń wirginiamycyny.

7.2. Przygotowanie płytek

Dyfuzyja w agarze jest prowadzona na płytkach przy czterech stężeniach wzorcowych roztworów (S_8 , S_4 , S_2 , S_1) i czterech stężeniach analizowanych roztworów (U_8 , U_4 , U_2 , U_1). Te cztery stężenia ekstraktu i wzorca powinny być umieszczone na każdej płytce. W tym celu, wybrać płytki o takich rozmiarach, aby można było w podłożu agaru zrobić 8 wgłębień o średnicy od 10 do 13 mm i o odległości pomiędzy środkami wgłębień nie mniejszej niż 30 mm. Badania mogą być prowadzone na szklanych płytkach z umieszczonym na ich górnej powierzchni aluminiowym lub plastikowym pierścieniem o średnicy 200 mm i wysokości 20 mm.

Rozlać na płytki taką ilość podłoża, o którym mowa w ust. 4.1, zaszczerpionego w sposób określony w ust. 7.1, aby otrzymać warstwę o grubości około 2 mm, co odpowiada 60 ml wylanym na płytkę o średnicy 200 mm. Pozostawić w pozycji poziomej, a następnie zrobić wgłębienia i umieścić w nich objętości analizowanych i wzorcowych roztworów, od 0,10 do 0,15 ml na wgłębienie, odpowiednio do średnicy. Aplikować każde stężenie co najmniej czterokrotnie; tak aby każde oznaczenie odpowiadało pomiarowi 32 stref zahamowania.

7.3. Inkubacja

Inkubować płytki przez od 16 do 18 godzin w temperaturze 30°C \pm 2°C.

8. OBLICZANIE WYNIKÓW

Zmierzyć średnicę stref zahamowania z dokładnością do 0,1 mm. Nanieść średnią wartość pomiarów dla każdego stężenia na papier o skali półlogarytmicznej, pokazując zależność logarytmu stężeń od średnicy stref zahamowania. Wykreślić linie o najlepszej zgodności zarówno dla roztworu wzorcowego jak i ekstraktu, proponuje się zastosować następujący przykład.

Wyznaczyć punkt o „najlepszej zgodności” dla najniższego poziomu wzorcowego (SL) według następującego wzoru:

$$(a) \quad SL = \frac{7 S_1 + 4 S_2 + S_4 - 2 S_8}{10}$$

Wyznaczyć punkt o „najlepszej zgodności” dla najwyższego poziomu wzorcowego (SH) według następującego wzoru:

$$(b) \quad SH = \frac{7 S_8 + 4 S_4 + S_2 - 2 S_1}{10}$$

Podobnie obliczyć punkty o „najlepszej zgodności” dla najniższego poziomu ekstraktu (UL) oraz dla najwyższego poziomu ekstraktu (UH), zastępując w powyższych wzorach S_1, S_2, S_4, S_8 przez U_1, U_2, U_4, U_8 .

Nanieść obliczone wartości SL i SH na ten sam papier i połączyć je uzyskując linię o „najlepszej zgodności” dla roztworu wzorcowego. Podobnie nanieść wartości UL i UH i połączyć je uzyskując linię dla ekstraktu.

W przypadku braku interferencji linie powinny być równoległe. W praktyce linie mogą być uznane za równoległe, jeżeli wartości (SH-SL) i (UH-UL) nie różnią się więcej niż o 10% od ich średniej wartości.

Jeżeli linie nie spełniają warunku równoległości, wówczas w obliczeniach można pominąć albo U_1 i S_1 albo U_8 i S_8 . Do obliczenia wartości SL, SH, UL i UH można zastosować alternatywne wzory, dające alternatywne linie o „najlepszej zgodności”:

$$(a') \quad SL = \frac{5 S_1 + 2 S_2 - S_4}{6} \quad \text{lub} \quad \frac{5 S_2 + 2 S_4 - S_8}{6}$$

$$(b') \quad SH = \frac{5 S_4 + 2 S_2 - S_1}{6} \quad \text{lub} \quad \frac{5 S_8 + 2 S_4 - S_2}{6}$$

i podobnie dla UL i UH. Zadowalające są takie same kryteria równoległości, jakie zastosowano powyżej. W końcowym sprawozdaniu z badań odnotować, że wyniki obliczono na podstawie 3 poziomów.

Jeżeli linie spełniają warunek równoległości, obliczyć logarytm względnej aktywności (log A) według jednego z następujących wzorów, w zależności od liczby poziomów, według których oceniano równoległość:

Dla 4 poziomów

$$(c) \quad \log A = \frac{(U_1 + U_2 + U_4 + U_8 - S_1 - S_2 - S_4 - S_8) \times 0,602}{U_4 + U_8 + S_4 + S_8 - U_1 - U_2 - S_1 - S_2}$$

Dla 3 poziomów

$$(d) \quad \log A = \frac{(U_1 + U_2 + U_4 - S_1 - S_2 - S_4) \times 0,401}{U_4 + S_4 - U_1 - S_1}$$

lub

$$(d') \quad \log A = \frac{(U_2 + U_4 + U_8 - S_2 - S_4 - S_8) \times 0,401}{U_8 + S_8 - U_2 - S_2}$$

Aktywność ekstraktu próbki = aktywność odpowiedniego wzorca x aktywność względna

$$U_8 = S_8 \times A$$

Jeżeli względna aktywność nie mieści się w przedziale od 0,5 do 2,0, powtórzyć oznaczanie, wprowadzając odpowiednią korektę stężenia ekstraktu lub, jeżeli nie jest to możliwe, dostosowując stężenia wzorcowych roztworów. Jeżeli względna aktywność nie mieści się nadal w wymaganym przedziale, to uzyskane wyniki należy traktować jako przybliżone i odnotować w końcowym sprawozdaniu z badań.

Jeżeli linie uznane zostaną za niespełniające warunku równoległości, powtórzyć oznaczenie. Jeżeli warunek równoległości nie jest nadal spełniany, oznaczenie uznaje się za niezadowalające.

Wynik wyrazić w mg wirginiamycyny na kg paszy.

9. SPRAWDZENIE METODY

9.1. Powtarzalność

Różnica pomiędzy wynikami dwóch równoległych oznaczeń wykonanych dla tej samej próbki nie powinna przekraczać:

- 2 mg/kg w wartości bezwzględnej, dla zawartości wirginiamycyny do 10 mg/kg,
- 20% względem wartości najwyższej, dla zawartości wirginiamycyny powyżej 10 do 25 mg/kg,
- 5 mg/kg w wartości bezwzględnej, dla zawartości wirginiamycyny powyżej 25 do 50 mg/kg,
- 10% względem wartości najwyższej, dla zawartości wirginiamycyny powyżej 50 mg/kg.

6.2. OZNACZANIE ZN-BACYTRACYNY METODĄ DYFUZJI W ŻELU AGAROWYM

1. CEL I ZAKRES STOSOWANIA METODY

Metoda służy do oznaczania zawartości Zn-bacytracyny w paszach i premiksach. Dolna granica oznaczalności metody wynosi 5 mg/kg (5 ppm).

1 mg Zn-bacytracyny paszowej odpowiada 42 międzynarodowym jednostkom (i.u.).

2. SPOSÓB PRZEPROWADZENIA METODY

Próbka jest poddawana ekstrakcji przy pH 2 przy użyciu mieszaniny metanolu, wody, kwasu chlorowodorowego i roztworu siarczku sodu. Dodanie siarczku sodu służy do strącania rozpuszczalnych soli miedzi, które mogą interferować przy oznaczaniu. Ekstrakt jest dostosowywany do pH 6,5, stężony, jeżeli to konieczne, i rozcieńczany. Aktywność antybiotyczna ekstraktu jest oznaczana przez pomiar dyfuzji Zn-bacytracyny w podłożu agarowym zaszczerpionym *Micrococcus luteus* (flavus). Dyfuzja objawia się tworzeniem stref zahamowania mikroorganizmu. Średnica tych stref jest wprost proporcjonalna do logarytmu stężenia antybiotyku, w zakresie stosowanych stężeń antybiotyku.

3. MIKROORGANIZM: *Micrococcus luteus* (FLAVUS) ATCC 10240

3.1. Utrzymanie kultury macierzystej

Szczepić *Micrococcus luteus* (flavus) na skosy agarowe podłoża do hodowli mikroorganizmów, o którym mowa w ust. 4.1. Inkubować przez 24 godziny w temperaturze 30°C. Przechowywać kulturę bakteryjną w lodówce w temperaturze 4°C i przeszczepiać na nowe skosy agarowe co 2 tygodnie.

3.2. Przygotowanie zawiesiny bakteryjnej

Zebrać kulturę macierzystą ze świeżo przygotowanego skosu agarowego, o którym mowa w ust. 3.1, przy użyciu od 2 do 3 ml roztworu chlorku sodu, o którym mowa w ust. 4.3. Uzyskaną suspensją szczepić 250 ml podłoża do hodowli mikroorganizmów, o którym mowa w ust. 4.1, umieszczonego w kolbie Roux i inkubować przez 18 do 20 godzin w temperaturze 30°C. Zebrać hodowlę i umieścić w 25 ml roztworu chlorku sodu, o którym mowa w ust. 4.3, i zmieszać. Rozcieńczyć suspensję w stosunku 1 : 10 roztworem chlorku sodu, o którym mowa w ust. 4.3. Transmisja światła przez suspensję, mierzona przy 650 nm w 1 cm naczynku w stosunku do roztworu chlorku sodu, o którym mowa w ust. 4.3, powinna wynosić około 75%. Suspensja może być przechowywana przez tydzień w temperaturze około 4°C.

Mogą być zastosowane inne metody, jeżeli pozwalają uzyskać zawiesinę bakteryjną o podobnym składzie.

4. PODŁOŻA I ODCZYNNIKI

4.1. Podłoża do hodowli mikroorganizmów

Pepton mięsa	6,0 g
Trypton	4,0 g
Ekstrakt drożdżowy	3,0 g
Ekstrakt mięsny	1,5 g
Głukoza	1,0 g
Agar	10,0 do 20,0 g
Woda	1 l
pH	6,5 do 6,6 (po sterylizacji).

Mogą być zastosowane inne dostępne podłoża o podobnym składzie, dające takie same wyniki.

4.2. Analiza podłoża

Trypton	10,0 g
Ekstrakt drożdżowy	3,0 g
Ekstrakt mięsny	1,5 g
Głukoza	1,0 g
Agar	10,0 do 20,0 g
Tween 80	1 ml
Woda	1 l
pH	6,5 (po sterylizacji).

Mogą być zastosowane inne dostępne podłoża o podobnym składzie, dające takie same wyniki.

4.3. Roztwór chlorku sodu, 0,8% (m/V):

Rozpuścić 8 g chlorku sodu w wodzie i rozcieńczyć do objętości 1 l. Sterylizować.

4.4. Mieszanina: metanolu, wody i kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust. 4.6: 80/17,5/2,5 (V/V/V).

4.5. Bufor fosforanowy, pH 6,5

Wodorofosforan dwupotasu K_2HPO_4	22,15 g
Dwuwodorofosforan potasu KH_2PO_4	27,85 g
Woda	do 1 000 ml

4.6. Kwas chlorowodorowy (d = od 1,18 do 1,19).

4.7. Kwas chlorowodorowy, roztwór 0,1 M.

4.8. Wodorotlenek sodu (1 M).

4.9. Siarczek sodu, roztwór w przybliżeniu 0,5 M.

4.10. Roztwór purpury bromokrezolowej, 0,04% (m/V):

Rozpuścić 0,1 g purpury bromokrezolowej w 18,5 ml 0,01M roztworu wodorotlenku sodu. Uzupełnić do objętości 2,5 litra wodą i zmieszać.

4.11. Substancja wzorcowa: Zn-bacytracyna o znanej aktywności (i.u.).

5. ROZTWORY WZORCOWE

Odważyć taką ilość wzorca Zn-bacytracyny, o którym mowa w ust. 4.11, która odpowiada 1050 i.u. zgodnie z podaną aktywnością. Dodać 5 ml 0,1 M kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust. 4.7, i pozostawić na 15 minut. Dodać 30 ml wody, dostosować do pH 4,5 przy użyciu około 4 ml buforu fosforanowego, o którym mowa w ust. 4.5, uzupełnić do objętości 50 ml wodą i dobrze zmieszać (1 ml = 21 i.u.).

Z tego roztworu przygotować, metodą kolejnych rozcieńczeń przy użyciu buforu fosforanowego, o którym mowa w ust. 4.5, następujące roztwory:

S_8	0,42	i.u./ ml
-------	------	----------

S ₄	0,21	i.u./ ml
S ₂	0,105	i.u. /ml
S ₁	0,0525	i.u./ ml.

6. PRZYGOTOWANIE EKSTRAKTU I ROZTWORÓW DO OZNACZANIA

6.1. Ekstrakcja

6.1.1. Premiksy i materiały paszowe pochodzenia mineralnego

Odważyć od 2,0 do 5,0 g próbki, dodać 29,0 ml mieszaniny, o którym mowa w ust. 4.4, 1 ml roztworu siarczku sodu, o którym mowa w ust. 4.9, i krótko wstrząsnąć. Sprawdzić, czy pH wynosi około 2. Wstrząsać przez 10 minut, dodać 30 ml buforu fosforanowego, o którym mowa w ust. 4.5, ponownie wstrząsać przez 15 minut i odwirować. Pobrać odpowiednią ilość supernatantu roztworu i dostosować pH do 6,5 przy użyciu roztworu wodorotlenku sodu, o którym mowa w ust. 4.8, sprawdzając przy użyciu pehametru lub wobec roztworu purpury bromokrezolowej, o którym mowa w ust. 4.10, jako wskaźnika. Rozcieńczyć buforem fosforanowym, o którym mowa w ust. 4.5, aby otrzymać oczekiwaną zawartość Zn-bacytracyny 0,42 i.u./ml (= U₈).

6.1.2. Koncentraty białkowe

Odważyć próbkę o masie 10,0 g, dodać 49,0 ml mieszaniny, o której mowa w ust. 4.4, 1 ml roztworu siarczku sodu, o którym mowa w ust. 4.9, i krótko wstrząsać. Sprawdzić, czy pH wynosi około 2. Wstrząsać przez 10 minut. Dodać 50 ml buforu fosforanowego, o którym mowa w ust. 4.5, wstrząsać przez 15 minut i odwirować. Pobrać odpowiednią ilość supernatantu roztworu i dostosować pH do 6,5 przy użyciu roztworu wodorotlenku sodu, o którym mowa w ust. 4.8, sprawdzając przy użyciu pehametru lub wobec roztworu purpury bromokrezolowej, o którym mowa w ust. 4.10, jako wskaźnika. Odparować do połowy objętości w wyparce rotacyjnej w temperaturze nie wyższej niż 35°C. Rozcieńczyć buforem fosforanowym, o którym mowa w ust. 4.5, aby otrzymać oczekiwaną zawartość Zn-bacytracyny 0,42 i.u./ml (= U₈).

6.1.3. Pozostałe pasze

Odważyć 10 g próbki zaś w przypadku, gdy oczekiwana zawartość Zn-bacytracyny wynosi 5 mg/kg, odważyć 20,0 g. Dodać mieszaninę składająca się z 24,0 ml mieszaniny, o której mowa w ust. 4.4, i 1,0 ml roztworu siarczku sodu, o którym mowa w ust. 4.9, i homogenizować przez 10 minut. Dodać 25 ml buforu fosforanowego, o którym mowa w ust. 4.5, wstrząsać przez 15 minut i odwirować. Pobrać 20 ml supernatantu roztworu i dostosować pH do 6,5 przy użyciu roztworu wodorotlenku sodu, o którym mowa w ust. 4.8, sprawdzając przy użyciu pehametru lub wobec roztworu purpury bromokrezolowej, o którym mowa w ust. 4.10, jako wskaźnika. Odparować do objętości około 4 ml w wyparce rotacyjnej w temperaturze nie wyższej niż 35°C. Rozcieńczyć pozostałość buforem fosforanowym, o którym mowa w ust. 4.5, aby otrzymać oczekiwaną zawartość Zn-bacytracyny 0,42 i.u./ml (= U₈).

6.2. Roztwory do oznaczenia

Z roztworu U₈ przygotować roztwory: U₄, którego oczekiwana zawartość wynosi 0,21 i.u./ml, U₂, którego oczekiwana zawartość wynosi 0,105 i.u./ml, U₁, którego oczekiwana zawartość wynosi 0,0525 i.u./ml metodą kolejnych rozcieńczeń (1 + 1) przy użyciu buforu fosforanowego, o którym mowa w ust. 4.5.

7. SPOSÓB POSTĘPOWANIA

7.1. Szczepienie analizowanego podłoża

Analizowane podłoże, o którym mowa w ust. 4.2 szczepić zawiesiną bakteryjną, o której mowa w ust. 3.2, w temperaturze około 50°C. Poprzez wstępne próby przeszczepu na płytki z analizowanym podłożem, o którym mowa w ust. 4.2, określić wymaganą ilość bakteryjnej zawiesiny, przy której występują największe i wyraźne strefy zahamowania dla różnych stężeń Zn-bacytracyny.

7.2. Przygotowanie płytek

Dyfuzja w agarze jest prowadzona na płytkach przy czterech stężeniach wzorcowych roztworów (S₈, S₄, S₂, S₁) i czterech stężeniach badanych roztworów (U₈, U₄, U₂, U₁). Cztery stężenia ekstraktu i wzorca powinny być umieszczone na każdej płytce. W tym celu, wybrać płytki o takich rozmiarach, aby można było w podłożu agaru zrobić 8 wgłębień o średnicy od 10 do 13 mm i o odległości pomiędzy środkami wgłębień nie mniejszej niż 30 mm. Badania mogą być prowadzone na szklanych płytkach z umieszczonym na ich górnej powierzchni aluminiowym lub plastikowym pierścieniem o średnicy 200 mm i wysokości 20 mm.

Rozlać na płytki taką ilość podłoża, o którym mowa w ust. 4.2, zaszczerpionego w sposób określony w ust. 7.1, aby otrzymać warstwę o grubości około 2 mm, co odpowiada 60 ml na płytkę o średnicy 200 mm. Pozostawić w pozycji poziomej, a następnie zrobić wgłębienia i umieścić w nich objętości analizowanych i wzorcowych roztworów, od 0,10 do 0,15 ml na wgłębienie, odpowiednio do średnicy. Aplikować każde stężenie co najmniej czterokrotnie; tak aby każde oznaczenie odpowiadało pomiarowi 32 stref zahamowania.

7.3. Inkubacja

Inkubować płytki przez od 16 do 18 godzin w temperaturze 30°C ± 2°C.

8. OBLICZANIE WYNIKÓW

Zmierzyć średnicę stref zahamowania z dokładnością do 0,1 mm. Nanieść średnią wartość pomiarów dla każdego stężenia na papier o skali półlogarytmicznej, pokazując zależność logarytmu stężeń od średnicy stref zahamowania. Wykreślić linie o „najlepszej zgodności” zarówno dla roztworu wzorcowego jak i ekstraktu, proponuje się zastosować następujący przykład.

Wyznaczyć punkt o „najlepszej zgodności” dla najniższego poziomu wzorcowego (SL) według następującego wzoru:

$$(a) \quad SL = \frac{7 S_1 + 4 S_2 + S_4 - 2 S_8}{10}$$

Wyznaczyć punkt o „najlepszej zgodności” dla najwyższego poziomu wzorcowego (SH) według następującego wzoru:

$$(b) \quad SH = \frac{7 S_8 + 4 S_4 + S_2 - 2 S_1}{10}$$

Podobnie obliczyć punkty o „najlepszej zgodności” dla najniższego poziomu ekstraktu (UL) oraz dla najwyższego poziomu ekstraktu (UH), zastępując w powyższych wzorach S₁, S₂, S₄, S₈ przez U₁, U₂, U₄, U₈.

Nanieść obliczone wartości SL i SH na ten sam papier i połączyć je uzyskując linię o „najlepszej zgodności” dla roztworu wzorcowego. Podobnie nanieść wartości UL i UH i połączyć je uzyskując linię dla ekstraktu.

W przypadku braku interferencji linie powinny być równoległe. W praktyce linie mogą być uznane za równoległe, jeżeli wartości (SH-SL) i (UH-UL) nie różnią się więcej niż o 10% od ich średniej wartości.

Jeżeli linie nie spełniają warunku równoległości, wówczas w obliczeniach można pominąć albo U_1 i S_1 albo U_8 i S_8 . Do obliczenia wartości SL, SH, UL i UH można zastosować alternatywne wzory, dające alternatywne linie o „najlepszej zgodności”:

$$(a') \text{ SL} = \frac{5 S_1 + 2 S_2 - S_4}{6} \quad \text{lub} \quad \frac{5 S_2 + 2 S_4 - S_8}{6}$$

$$(b') \text{ SH} = \frac{5 S_4 + 2 S_2 - S_1}{6} \quad \text{lub} \quad \frac{5 S_8 + 2 S_4 - S_2}{6}$$

i podobnie dla UL i UH. Zadowalające są takie same kryteria równoległości, jakie zastosowano powyżej. W końcowym sprawozdaniu z badań odnotować, że wyniki obliczono na podstawie 3 poziomów, według których oceniano równoległość.

Jeżeli linie spełniają warunek równoległości, obliczyć logarytm względnej aktywności ($\log A$) według jednego z następujących wzorów, w zależności od liczby poziomów, według których oceniano równoległość:

Dla 4 poziomów

$$(c) \log A = \frac{(U_1 + U_2 + U_4 + U_8 - S_1 - S_2 - S_4 - S_8) \times 0,602}{U_4 + U_8 + S_4 + S_8 - U_1 - U_2 - S_1 - S_2}$$

Dla 3 poziomów

$$(d) \log A = \frac{(U_1 + U_2 + U_4 - S_1 - S_2 - S_4) \times 0,401}{U_4 + S_4 - U_1 - S_1}$$

lub

$$(d') \log A = \frac{(U_2 + U_4 + U_8 - S_2 - S_4 - S_8) \times 0,401}{U_8 + S_8 - U_2 - S_2}$$

Aktywność ekstraktu próbki = aktywność odpowiedniego wzorca x aktywność względna

$$U_8 = S_8 \times A$$

Jeżeli względna aktywność nie mieści się w przedziale od 0,5 do 2,0, powtórzyć oznaczenie, wprowadzając odpowiednią korektę stężenia ekstraktu lub, jeżeli nie jest to możliwe, dostosowując stężenia wzorcowych roztworów. Jeżeli względna aktywność nie mieści się nadal w wymaganym przedziale, to uzyskane wyniki należy traktować jako przybliżone i odnotować w końcowym sprawozdaniu z badań.

Jeżeli linie uznane zostaną za niespełniające warunku równoległości, powtórzyć oznaczenie. Jeżeli warunek równoległości nie jest nadal spełniany, oznaczenie uznaje się za niezadowalające.

Wynik wyrazić w mg Zn-bacytracyny na kg paszy.

9. SPRAWDZENIE METODY

9.1. Powtarzalność

Różnica pomiędzy wynikami dwóch równoległych oznaczeń wykonanych dla tej samej próbki nie powinna przekraczać:

- 2 mg/kg w wartości bezwzględnej, dla zawartości Zn-bacytracyny do 10 mg/kg,
- 20% względem wartości najwyższej, dla zawartości Zn-bacytracyny powyżej 10 do 25 mg/kg,
- 5 mg/kg w wartości bezwzględnej, dla zawartości Zn-bacytracyny powyżej 25 do 50 mg/kg,
- 10% względem wartości najwyższej, dla zawartości Zn-bacytracyny powyżej 50 mg/kg.

6.3. OZNACZANIE FLAWOFOSFOLIPOLU METODĄ DYFUZJI W ŻELU AGAROWYM

1. CEL I ZAKRES STOSOWANIA METODY

Metoda służy do oznaczania zawartości flawofosfolipolu w paszach, koncentratkach i premiksach. Dolna granica oznaczalności metody wynosi 1 mg/kg (1 ppm).

2. SPOSÓB PRZEPROWADZENIA METODY

Próbka jest ekstrahowana rozcieńczonym metanolem poprzez ogrzewanie pod chłodnicą zwrotną. Po odwirowaniu ekstrakt zostaje oczyszczony, jeżeli jest to konieczne, poprzez traktowanie żywicami jonowymiennymi i rozcieńczenie. Jego aktywność antybiotyczna jest oznaczana przez pomiar dyfuzji flawofosfolipolu w zaszczipionym podłożu agarowym *Staphylococcus aureus*. Dyfuzja jest widoczna poprzez tworzenie postaci stref zahamowania mikroorganizmu. Średnica tych stref jest wprost proporcjonalna do logarytmu stężenia antybiotyku w zakresie stosowanych stężeń antybiotyku.

3. MIKROORGANIZM: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 P

3.1. Utrzymanie kultury macierzystej

Szczepić *Staphylococcus aureus* na skosy agarowe podłoża do hodowli mikroorganizmów, o którym mowa w ust. 4.1. Inkubować przez 24 godziny w temperaturze 37°C. Przechowywać kulturę bakteryjną w lodówce w temperaturze około 4°C i przeszczepiać na nowe skosy agarowe raz w miesiącu.

3.2. Przygotowanie zawiesiny bakteryjnej

Odstawić dwie probówki zawierające kulturę macierzystą, o której mowa w ust. 3.1, i przeszczepiać je raz w tygodniu. Inkubować przez 24 godziny w temperaturze 37°C i przechowywać w lodówce w temperaturze około 4°C. Na 24 godziny przed oznaczaniem przenieść tę hodowlę od 2 do 4 probówek zawierających skosy podłoża do hodowli mikroorganizmów, o którym mowa w ust. 4.1. Inkubować przez 16 do 18 godzin w temperaturze 37°C. Przechowywać suspensję hodowli w roztworze chlorku sodu, o którym mowa w ust. 4.3. Transmisja światła suspensji mierzona przy 578 nm w 1 cm naczynku w stosunku do roztworu chlorku sodu, o którym mowa w ust. 4.3, powinna wynosić około 40%.

Mogą być zastosowane inne metody, jeżeli pozwalają uzyskać zawiesinę bakteryjną o podobnym składzie.

4. PODŁOŻA I ODCZYNNIKI

4.1. Podłoże do hodowli mikroorganizmów

Pepton mięsa	6,0 g
Trypton	4,0 g
Ekstrakt drożdżowy	3,0 g
Ekstrakt mięsny	1,5 g
Glukoza	1,0 g
Agar	15,0 g
Woda	1 l
pH	6,5 (po sterylizacji).

Mogą być zastosowane inne dostępne podłoża o podobnym składzie, dające takie same wyniki, w tym oxoid antibiotic medium 1 (CM 327) z dodatkiem agaru oxoid Nr 3 (L 13).

4.2. Analiza podłoża

4.2.1. Warstwa bazowa

Pepton mięsa	6,0 g
Ekstrakt drożdżowy	3,0 g
Ekstrakt mięsny	1,5 g
Agar	10,0 g
Woda	1 l
pH	6,5 (po sterylizacji).

Mogą być zastosowane inne dostępne podłoża o podobnym składzie, dające takie same wyniki, w tym oxoic antibiotic medium 2 (CM 335) z dodatkiem agaru Nr 3 (L 13).

4.2.2. Warstwa do posiewu

Sporządzić w sposób określony w ust. 4.1 z dodatkiem 2,0 g emulsji silikonowej zapobiegającej pienieniu proponuje się zastosować SE2 z Wacker Chemic Gm bH Monachium.

4.3. Roztwór chlorku sodu, 0,4% (m/V):

Rozpuścić 4 g chlorku sodu w wodzie i rozcieńczyć do objętości 1 l; poddać sterylizacji.

4.4. Metanol, czysty.

4.5. Metanol, 50% (V/V):

Rozcieńczyć 500 ml metanolu, o którym mowa w ust. 4.4, przy użyciu wody o objętości 500 ml.

4.6. Metanol, 80% (V/V):

Rozcieńczyć 800 ml metanolu, o którym mowa w ust. 4.4, przy użyciu wody o objętości 200 ml.

4.7. Tris(hydroksymetylo)aminometan.

4.8. Roztwór metanolowego chlorku potasu 1,5% (m/V):

Rozcieńczyć 1,5 g chlorku potasu w 20 ml wody, uzupełnić metanolem, o którym mowa w ust. 4.4, do objętości 100 ml.

4.9. Wymiennik kationowy:

Dowex 50 W x 8, 20 do 50 mesh, forma sodowa (kat. Serva Nr 41600) lub podobna.

4.10. Wymiennik anionowy:

Dowex 1 x 2, 50 do 100 mesh, forma chlorkowa (kat. Serva Nr 41010) lub podobna. Przed użyciem utrzymywać od 14 do 16 godzin w 80% metanolu, o którym mowa w ust. 4.6.

4.11. Wata szklana.

4.12. Papierek wskaźnikowy (pH od 6,6 do 8,1).

4.13. Kwas askorbinowy.

4.14. Substancja wzorcowa: flawomycyna o znanej aktywności.

5. APARATURA I SPRZĘT

5.1. Kolumna chromatograficzna o średnicy wewnętrznej 9 mm, długości od 150 do 200 mm, zakończona kranem na węższym, dolnym końcu i szlifem szklanym umożliwiającym podłączenie wkraplacza, o którym mowa w ust. 5.2, w górnym końcu.

5.2. Wkraplacz o pojemności 250 ml, z kranem i szlifem szklanym.

5.3. Kolba stożkowa o pojemności 250 ml ze szlifem szklanym.

5.4. Chłodnica zwrotna ze szlifem szklanym.

6. ROZTWORY WZORCOWE

Rozpuścić substancję wzorcową, o której mowa w ust. 4.14, w 50% metanolu, o którym mowa w ust. 4.5, i rozcieńczyć, uzyskując roztwór podstawowy zawierający 100 µg flawofosfolipolu w 1 ml. Roztwór przechowywany w zamkniętej kolbie w temperaturze 4°C zachowuje stabilność do 2 miesięcy.

Z roztworu podstawowego przygotować metodą kolejnych rozcieńczeń 50% metanolem, o którym mowa w ust. 4.5 następujące roztwory:

S ₈	0,2	µg/ml
S ₄	0,1	µg/ml

S₂ 0,05 µg/ml

S₁ 0,025 µg/ml.

7. PRZYGOTOWANIE EKSTRAKTU

7.1. Ekstrakcja

7.1.1. Koncentraty, premiksy i materiały paszowe pochodzenia mineralnego

Odważyć od 2,0 do 5,0 g próbki i dodać około 150 mg kwasu askorbinowego, o którym mowa w ust. 4.13. Homogenizować z 150 ml 50% metanolu, o którym mowa w ust. 4.5, w kolbie stożkowej, o której mowa w ust. 5.3 i dostosować pH do 8,1 – 8,2, przy użyciu około 400 mg tris(hydroksymetylo)aminometanu, o którym mowa w ust. 4.7. Sprawdzić pH papierkiem wskaźnikowym, o którym mowa w ust. 4.12. Pozostawić na 15 minut, następnie ponownie dostosować pH do 8,1 – 8,2 przy użyciu tris(hydroksymetylo)aminometanu, o którym mowa w ust. 4.7, i gotować przez 10 minut pod chłodnicą zwrotną, o której mowa w ust. 5.4, stale mieszając. Pozostawić do schłodzenia, odwirować mieszaninę i zdekantować ekstrakt.

7.1.2. Pozostałe pasze

Odważyć od 5,0 do 30,0 g próbki zawierającej co najmniej 30 µg flawofosfolipolu. Homogenizować z 150 ml 50% metanolu, o którym mowa w ust. 4.5, w kolbie stożkowej, o której mowa w ust. 5.3, i dostosować pH do 8,1 – 8,2, przy użyciu około 400 mg tris(hydroksymetylo)aminometanu, o którym mowa w ust. 4.7. Sprawdzić pH papierkiem wskaźnikowym, o którym mowa w ust. 4.12. Pozostawić na 15 minut, następnie ponownie dostosować pH do 8,1 – 8,2 przy użyciu tris(hydroksymetylo)aminometanu, o którym mowa w ust. 4.7, i gotować przez 10 minut pod chłodnicą zwrotną, o której mowa w ust. 5.4, stale wstrząsając. Pozostawić do schłodzenia, odwirować mieszaninę i zdekantować ekstrakt.

7.2. Oczyszczanie, które może być pominięte w przypadku analizy koncentratów, premiksów i materiałów paszowych pochodzenia mineralnego

Zmieszać 110 ml ekstraktu z 11 g wymiennika kationowego, o którym mowa w ust. 4.9, gotować przez minutę pod chłodnicą zwrotną, o której mowa w ust. 5.4, stale mieszając. Oddzielić wymiennik kationowy przez odwirowanie lub filtrowanie. Zmieszać 100 ml ekstraktu z 150 ml metanolu, o którym mowa w ust. 4.4, i roztwór przechowywać przez od 12 do 15 godzin w temperaturze 4°C. Odfiltrować kłaczkowatą masę po ostygnięciu.

Umieścić zwitek waty szklanej, o którym mowa w ust. 4.11, na dole kolumny chromatograficznej, o której mowa w ust. 5.1, umieścić w kolumnie 5 ml wymiennika anionowego, o którym mowa w ust. 4.10 i przemyć kolumnę, stosując 100 ml 80% metanolu, o którym mowa w ust. 4.6. Przy użyciu wkraplacza, o którym mowa w ust. 5.2, nanieść na kolumnę filtrat o objętości co najmniej 100 ml, zawierający około 16 µg flawofosfolipolu, przy czym 200 ml dla 30 g próbki paszy przy 1 ppm. Przed wprowadzeniem na kolumnę, jeżeli to konieczne, rozcieńczyć filtrat 80% metanolem, o którym mowa w ust. 4.6, w celu otrzymania oczekiwanej zawartości flawomycyny 16 µg/100 ml. Dostosować wielkość przepływu na około 2 ml na minutę. Odrzucić eluent. Następnie przemywać kolumnę 50 ml metanolu, o którym mowa w ust. 4.6, i ponownie odrzucić eluent.

Eluować flawofosfolipol roztworem chlorku potasu metanolowego, o którym mowa w ust. 4.8, utrzymując przepływ na około 2 ml na minutę. Zebrać 50 ml eluatu w kolbie miarowej, dodać 30 ml wody i zmieszać. Zawartość flawofosfolipolu w tym roztworze powinna wynosić 0,2 µg/ml (= U₈).

7.3. Roztwory do oznaczania

Gdy etap oczyszczania został pominięty, rozcieńczyć otrzymany ekstrakt w sposób określony w ust. 7.1.1 przy użyciu metanolu, o którym mowa w ust. 4.5, aby otrzymać oczekiwaną zawartość flawofosfolipolu 0,2 µg/ml (= U₈).

Z roztworu U₈ przygotować roztwór: U₄, którego oczekiwana zawartość wynosi 0,1 µg/ml, U₂, którego oczekiwana zawartość wynosi 0,05 µg/ml i U₁, którego oczekiwana zawartość wynosi 0,025 µg/ml metodą kolejnych rozcieńczeń (1 + 1) przy użyciu metanolu, o którym mowa w ust. 4.5.

8. SPOSÓB POSTĘPOWANIA

8.1. Szczepienie podłoża

Szczepić podłoże, o którym mowa w ust. 4.2.2, zawiesiną bakteryjną, o której mowa w ust. 3.2, w temperaturze około 50°C. Poprzez wstępne próby przeszczepu na płytki z analizowanym podłożem, o którym mowa w ust. 4.2.2, określić wymaganą ilość bakteryjnej zawiesiny, przy której występują największe i wyraźne strefy zahamowania dla różnych stężeń flawofosfolipolu (około 30 ml/l).

8.2. Przygotowanie przeszczepu na płytki

Dyfuzja w agarze jest prowadzona na płytkach przy czterech stężeniach wzorcowych roztworów (S₈, S₄, S₂, S₁) i czterech stężeniach analizowanych podłoży (U₈, U₄, U₂, U₁). Te cztery stężenia ekstraktu i wzorca powinny być umieszczone na każdej płytce. W tym celu, wybrać płytki o takich rozmiarach, aby można było w podłożu agaru zrobić 8 wgłębień o średnicy od 10 do 13 mm i o odległości pomiędzy środkami wgłębień nie mniejszej niż 30 mm. Badania mogą być prowadzone na szklanych płytkach z umieszczonym na ich górnej powierzchni aluminiowym lub plastikowym pierścieniem o średnicy 200 mm i wysokości 20 mm.

Rozlać na płytki taką ilość podłoża, o którym mowa w ust. 4.2.1, aby otrzymać warstwę o grubości około 1,5 mm, co odpowiada 45 ml na płytkę o średnicy 200 mm. Pozostawić w pozycji poziomej, a następnie nanieść górną warstwę podłoża, o którym mowa w ust. 4.2.2, szczepioną w sposób określony w ust. 8.1, aby uzyskać warstwę o grubości 1 mm, co odpowiada 30 ml na płytkę o średnicy 200 ml. Ponownie pozostawić w pozycji poziomej, zrobić wgłębienia i umieścić w nich objętości analizowanych i wzorcowych roztworów, od 0,10 do 0,15 ml na wgłębienie, odpowiednio do średnicy.

Aplikować każde stężenie co najmniej czterokrotnie, tak aby każde oznaczenie odpowiadało pomiarowi 32 stref zahamowania.

8.3. Inkubacja

Inkubować płytki przez 16 do 18 godzin w temperaturze od 28 do 30°C.

9. OBLICZANIE WYNIKÓW

Zmierzyć średnicę stref zahamowania z dokładnością do 0,1 mm. Nanieść średnią wartość pomiarów dla każdego stężenia na papier o skali półlogarytmicznej, pokazując zależność logarytmu stężeń od średnicy stref zahamowania. Wykreślić linie o „najlepszej zgodności” zarówno dla roztworu wzorcowego jak i ekstraktu, proponuje się zastosować następujący przykład.

Wyznaczyć punkt o „najlepszej zgodności” dla najniższego poziomu wzorcowego (SL) według następującego wzoru:

$$(a) \quad SL = \frac{7 S_1 + 4 S_2 + S_4 - 2 S_8}{10}$$

Wyznaczyć punkt o „najlepszej zgodności” dla najwyższego poziomu wzorcowego (SH) według następującego wzoru:

$$(b) \quad SH = \frac{7 S_8 + 4 S_4 + S_2 - 2 S_1}{10}$$

Podobnie obliczyć punkty o „najlepszej zgodności” dla najniższego poziomu ekstraktu (UL) oraz dla najwyższego poziomu ekstraktu (UH), zastępując w powyższych wzorach S_1, S_2, S_4, S_8 przez U_1, U_2, U_4, U_8 .

Nanieść obliczone wartości SL i SH na ten sam papier i połączyć je uzyskując linię o „najlepszej zgodności” dla roztworu wzorcowego. Podobnie nanieść wartości UL i UH i połączyć je uzyskując linię dla ekstraktu.

W przypadku braku interferencji linie powinny być równoległe. W praktyce linie mogą być uznane za równoległe, jeżeli wartości (SH-SL) i (UH-UL) nie różnią się więcej niż o 10% od ich średniej wartości.

Jeżeli linie nie spełniają warunku równoległości, wówczas w obliczeniach można pominąć albo U_1 i S_1 albo U_8 i S_8 . Do obliczenia wartości SL, SH, UL i UH można zastosować alternatywne wzory, dające alternatywne linie o „najlepszej zgodności”:

$$(a') \quad SL = \frac{5 S_1 + 2 S_2 - S_4}{6} \quad \text{lub} \quad \frac{5 S_2 + 2 S_4 - S_8}{6}$$

$$(b') \quad SH = \frac{5 S_4 + 2 S_2 - S_1}{6} \quad \text{lub} \quad \frac{5 S_8 + 2 S_4 - S_2}{6}$$

i podobnie dla UL i UH. Zadowalające są takie same kryteria równoległości, jakie zastosowano powyżej. W końcowym sprawozdaniu z badań odnotować, że wyniki obliczono na podstawie 3 poziomów, według których oceniano równoległość.

Jeżeli linie spełniają warunek równoległości, obliczyć logarytm względnej aktywności ($\log A$), według jednego z następujących wzorów.

Dla 4 poziomów

$$(c) \quad \log A = \frac{(U_1 + U_2 + U_4 + U_8 - S_1 - S_2 - S_4 - S_8) \times 0,602}{U_4 + U_8 + S_4 + S_8 - U_1 - U_2 - S_1 - S_2}$$

Dla 3 poziomów

$$(d) \quad \log A = \frac{(U_1 + U_2 + U_4 - S_1 - S_2 - S_4) \times 0,401}{U_4 + S_4 - U_1 - S_1}$$

lub

$$(d') \quad \log A = \frac{(U_2 + U_4 + U_8 - S_2 - S_4 - S_8) \times 0,401}{U_8 + S_8 - U_2 - S_2}$$

Aktywność rzeczywista = aktywność przypuszczalna x aktywność względna.

$$U_8 = S_8 \times A$$

Jeżeli linie nie spełniają warunku równoległości, powtórzyć oznaczenie. Jeżeli warunek równoległości nie jest nadal spełniany, obliczyć logarytm względnej aktywności ($\log A$) według wzoru (c). Otrzymany w ten sposób wynik uważać za przybliżony i odnotować to w końcowym sprawozdaniu.

10. SPRAWDZENIE METODY

10.1. Powtarzalność

Różnica pomiędzy wynikami dwóch równoległych oznaczeń wykonanych dla tej samej próbki nie powinna przekraczać:

- 0,5 mg/kg w wartościach bezwzględnych, dla zawartości flawofosfolipolu od 1 do 2 mg/kg,
- 25% względem najwyższej wartości dla zawartości flawofosfolipolu powyżej 2 do 10 mg/kg,
- 20% względem najwyższej wartości dla zawartości flawofosfolipolu powyżej 10 do 25 mg/kg,
- 5 mg/kg w wartościach bezwzględnych, dla zawartości flawofosfolipolu powyżej 25 do 50 mg/kg,
- 10% względem najwyższej wartości dla zawartości flawofosfolipolu powyżej 50 mg/kg.

6.4. OZNACZANIE SPIRAMYCYNY METODĄ DYFUZJI W ŻELU AGAROWYM

1. CEL I ZAKRES STOSOWANIA METODY

Metoda służy do oznaczania zawartości spiramycyny w paszach i premiksach. Dolna granica oznaczalności metody wynosi 1 mg/kg (1 ppm). 1 mg spiramycyny odpowiada 3200 międzynarodowym jednostkom (IU).

2. SPOSÓB PRZEPROWADZENIA METODY

Metoda polega na ekstrakcji próbki przy użyciu mieszaniny metanolu i roztworu buforu fosforanowo-wodorowęglanowego o pH 8. Ekstrakt jest dekantowany lub odwirowywany, a następnie rozcieńczany. Aktywność antybiotyczna ekstraktu jest oznaczana przez pomiar dyfuzji spiramycyny w podłożu agaru zaszczerpionym *Micrococcus luteus*. Dyfuzja objawia się tworzeniem stref zahamowania mikroorganizmu. Średnica tych stref jest wprost proporcjonalna do logarytmu stężenia antybiotyku w zakresie stosowanych stężeń antybiotyku.

3. MIKROORGANIZM: *Micrococcus luteus* ATCC 9341 (NCTC 8340, NCIB 8553)

3.1. Utrzymanie kultury macierzystej

Szczepić *Micrococcus luteus* na skosy agarowe podłoża do hodowli mikroorganizmów, o którym mowa w ust. 4.1. Inkubować przez 24 godziny w temperaturze 30°C. Przechowywać kulturę bakteryjną w lodówce w temperaturze około 4°C i przeszczepiać na nowe skosy agarowe co 2 tygodnie.

3.2. Przygotowanie zawiesiny bakteryjnej

Zebrać kulturę macierzystą ze świeżo przygotowanego skosu agarowego, o którym mowa w ust. 3.1 przy użyciu od 2 do 3 ml roztworu chlorku sodu, o którym mowa w ust. 4.3. Uzyskaną suspensją szczepić 250 ml podłoża do hodowli mikroorganizmów, o którym mowa w ust. 4.1, umieszczonego w kolbie Roux i inkubować przez 18 do 20 godzin w temperaturze 30°C. Zebrać hodowlę i umieścić w 25 ml roztworu chlorku sodu, o którym mowa w ust. 4.3, i zmieszać. Rozcieńczyć suspensję w stosunku 1 : 10 roztworem chlorku sodu, o którym mowa w ust. 4.3. Transmisja światła przez suspensję, mierzona przy 650 nm w 1 cm naczynku w stosunku do roztworu chlorku sodu, o którym mowa w ust. 4.3, powinna wynosić około 75%. Suspensja może być przechowywana przez tydzień w temperaturze około 4°C.

Mogą być zastosowane inne metody, jeżeli pozwalają uzyskać zawiesinę bakteryjną o podobnym składzie.

4. PODŁOŻA I ODCZYNNIKI

4.1. Podłoże do hodowli mikroorganizmów

Pepton mięsa	6,0 g
Trypton	4,0 g
Ekstrakt drożdżowy	3,0 g
Ekstrakt mięsny	1,5 g
Glukoza	1,0 g
Agar	10,0 do 20,0 g
Woda	1 l
pH	6,5 do 6,6 (po sterylizacji).

Mogą być zastosowane inne dostępne podłoża o podobnym składzie, dające takie same wyniki.

4.2. Analiza podłoża

Trypton	5,0 g
Ekstrakt drożdżowy	4,0 g
Ekstrakt mięsny	3,0 g
Agar	10,0 do 20,0 g
Woda	1 l
pH	8,0 (po sterylizacji).

Mogą być zastosowane inne dostępne podłoża o podobnym składzie, dające takie same wyniki.

4.3. Roztwór chlorku sodu, 0,8% (m/V).

Rozpuścić 8 g chlorku sodu w wodzie i rozcieńczyć do objętości 1 l. Sterylizować.

4.4. Bufor fosforanowo-węglanowy, pH 8,0:

Wodorofosforan dwupotasu K_2HPO_4	16,7 g
Dwuwodorofosforan potasu KH_2PO_4	0,5 g
Wodorowęglan sodu $NaHCO_3$	20,0 g
Woda	do 1 l.

4.5. Mieszanina: metanolu i buforu fosforanowo - węglanowego, o którym mowa w ust. 4.4, w stosunku 50/50 (V/V).

4.6. Substancja wzorcowa: spiramycyna o znanej aktywności (IU).

5. ROZTWORY WZORCOWE

Rozpuścić substancję wzorcową, o której mowa w ust. 4.6, w mieszaninie, o której mowa w ust. 4.5, i rozcieńczyć tą samą mieszaniną, aby uzyskać roztwór podstawowy zawierający 1000 IU spiramycyny w 1 ml. Roztwór przechowywany w zamkniętej kolbie w temperaturze 4°C zachowuje stabilność do 5 dni.

Z tego roztworu przygotować, metodą kolejnych rozcieńczeń przy użyciu mieszaniny, o której mowa w ust. 4.5, następujące roztwory:

S_8	1 IU/ ml
S_4	0,5 IU/ ml
S_2	0,25 IU/ ml
S_1	0,125 IU/ ml

6. PRZYGOTOWANIE EKSTRAKTU I ROZTWORÓW DO OZNACZANIA

6.1. Ekstrakcja

Odważyć 20,0 g próbki w przypadku pasz i od 1,0 do 20,0 g w przypadku premiksów. Dodać 100 ml mieszaniny, o której mowa w ust. 4.5, i wstrząsać przez 30 minut. Odwirować lub zdekantować i rozcieńczyć roztwór supernatantu przy użyciu mieszaniny, o której mowa w ust. 4.5, aby otrzymać oczekiwaną zawartość spiramycyny 1 IU/ ml (= U_8).

W przypadku spodziewanych zawartości spiramycyny niższych niż 2,5 mg/kg paszy przeprowadzić ekstrakcję w następujący sposób. Odważyć 20,0 g próbki. Dodać 100 ml mieszaniny, o której mowa w ust. 4.5, i wstrząsać przez 30 minut. Wirować przez kilka minut, pobrać 50 ml supernatantu i odparować do objętości około 4 ml w wyparce rotacyjnej w temperaturze nie wyższej niż 40°C. Rozcieńczyć pozostałość mieszaniną, o której mowa w ust. 4.5, aby otrzymać oczekiwaną zawartość spiramycyny 1 IU/ ml (= U_8).

6.2. Roztwory do badań

Z roztworu U_8 przygotować roztwór: U_4 , którego oczekiwana zawartość wynosi 0,5 IU/ ml, U_2 , którego oczekiwana zawartość wynosi 0,25 IU/ ml i U_1 , którego oczekiwana zawartość wynosi 0,125 IU/ ml metodą kolejnych rozcieńczeń (1 + 1) przy użyciu mieszaniny, o której mowa w ust. 4.5.

7. SPOSÓB POSTĘPOWANIA

7.1. Szczepienie analizowanego podłoża

Szczepić podłoże do hodowali mikroorganizmów, o którym mowa w ust. 4.2 zawiesiną bakteryjną, o której mowa w ust. 3.2, w temperaturze około 50°C. Uwzględniając wstępne próby przeszczepu na płytki z analizowanym podłożem, o którym mowa w ust. 4.1, określić wymaganą ilość bakteryjnej zawiesiny, przy której występują największe i wyraźne strefy zahamowania dla różnych stężeń spiramycyny.

7.2. Przygotowanie płytek

Dyfuzyja w agar jest prowadzona na płytkach przy czterech stężeniach wzorcowych roztworów (S_8, S_4, S_2, S_1) i czterech stężeniach analizowanych roztworów (U_8, U_4, U_2, U_1). Te cztery stężenia ekstraktu i wzorca powinny być umieszczone na każdej płytce. W tym celu, wybrać płytki o takich rozmiarach, aby można było w podłożu agaru zrobić 8 wgłębień o średnicy od 10 do 13 mm i o odległości pomiędzy środkami wgłębień nie mniejszej niż 30 mm. Badania mogą być prowadzone na szklanych płytkach z umieszczonym na ich górnej powierzchni aluminiowym lub plastikowym pierścieniem o średnicy 200 mm i wysokości 20 mm.

Rozlać na płytki taką ilość podłoża, o którym mowa w ust. 4.2, zaszczerzonego w sposób określony w ust. 7.1, aby otrzymać warstwę o grubości około 2 mm, co odpowiada 60 ml na płytkę o średnicy 200 mm. Pozostawić w pozycji poziomej, a następnie zrobić wgłębienia i umieścić w nich objętości analizowanych i wzorcowych roztworów, od 0,10 do 0,15 ml na wgłębienie, odpowiednio do średnicy. Aplikować każde stężenie co najmniej czterokrotnie; tak aby każde oznaczenie odpowiadało pomiarowi 32 stref zahamowania.

7.3. Inkubacja

Inkubować płytki przez od 16 do 18 godzin w temperaturze 30°C ± 2°C.

8. OBLICZANIE WYNIKÓW

Zmierzyć średnicę stref zahamowania z dokładnością do 0,1 mm. Nanieść średnią wartość pomiarów dla każdego stężenia na papier o skali półlogarytmicznej, pokazując zależność logarytmu stężeń od średnicy stref zahamowania. Wykreślić linie o „najlepszej zgodności” zarówno dla roztworu wzorcowego jak i ekstraktu, proponuje się zastosować następujący przykład.

Wyznaczyć punkt o „najlepszej zgodności” dla najniższego poziomu wzorcowego (SL) według następującego wzoru:

$$(a) \quad SL = \frac{7 S_1 + 4 S_2 + S_4 - 2 S_8}{10}$$

Wyznaczyć punkt o „najlepszej zgodności” dla najwyższego poziomu wzorcowego (SH) według następującego wzoru:

$$(b) \quad SH = \frac{7 S_8 + 4 S_4 + S_2 - 2 S_1}{10}$$

Podobnie obliczyć punkty o „najlepszej zgodności” dla najniższego poziomu ekstraktu (UL) oraz dla najwyższego poziomu ekstraktu (UH), zastępując w powyższych wzorach S_1, S_2, S_4, S_8 przez U_1, U_2, U_4, U_8 .

Nanieść obliczone wartości SL i SH na ten sam papier i połączyć je uzyskując linię o „najlepszej zgodności” dla roztworu wzorcowego. Podobnie nanieść wartości UL i UH i połączyć je uzyskując linię dla ekstraktu.

W przypadku braku interferencji linie powinny być równoległe. W praktyce linie mogą być uznane za równoległe, jeżeli wartości (SH-SL) i (UH-UL) nie różnią się więcej niż o 10% od ich średniej wartości.

Jeżeli linie nie spełniają warunku równoległości, wówczas w obliczeniach można pominąć albo U_1 i S_1 albo U_8 i S_8 . Do obliczenia wartości SL, SH, UL i UH można zastosować alternatywne wzory, dające alternatywne linie o „najlepszej zgodności”:

$$(a') \quad SL = \frac{5 S_1 + 2 S_2 - S_4}{6} \quad \text{lub} \quad \frac{5 S_2 + 2 S_4 - S_8}{6}$$

$$(b') \quad SH = \frac{5 S_4 + 2 S_2 - S_1}{6} \quad \text{lub} \quad \frac{5 S_8 + 2 S_4 - S_2}{6}$$

i podobnie dla UL i UH. Zadowalające są takie same kryteria równoległości, jakie zastosowano powyżej. W końcowym sprawozdaniu z badań odnotować, że wyniki obliczono na podstawie 3 poziomów, według których oceniono równoległość.

Jeżeli linie spełniają warunek równoległości, obliczyć logarytm względnej aktywności (log A) według jednego z następujących wzorów, w zależności od liczby poziomów, według których oceniano równoległość:

Dla 4 poziomów

$$(c) \quad \log A = \frac{(U_1 + U_2 + U_4 + U_8 - S_1 - S_2 - S_4 - S_8) \times 0,602}{U_4 + U_8 + S_4 + S_8 - U_1 - U_2 - S_1 - S_2}$$

Dla 3 poziomów

$$(d) \quad \log A = \frac{(U_1 + U_2 + U_4 - S_1 - S_2 - S_4) \times 0,401}{U_4 + S_4 - U_1 - S_1}$$

lub

$$(d') \log A = \frac{(U_2 + U_4 + U_8 - S_2 - S_4 - S_8) \times 0,401}{U_8 + S_8 - U_2 - S_2}$$

Aktywność rzeczywista = aktywność przypuszczalna x aktywność względna

$$U_8 = S_8 \times A$$

Jeżeli względna aktywność nie mieści się w przedziale od 0,5 do 2,0 powtórzyć oznaczanie, wprowadzając odpowiednią korektę stężenia ekstraktu lub, jeżeli nie jest to możliwe, dostosowując stężenia wzorcowych roztworów. Jeżeli względna aktywność nie mieści się nadal w wymaganym przedziale, to uzyskane wyniki należy traktować jako przybliżone i odnotować w końcowym sprawozdaniu z badań.

Jeżeli linie uznane zostaną za niespełniające warunku równoległości, powtórzyć oznaczenie. Jeżeli warunek równoległości nie jest nadal spełniany, oznaczenie uznaje się za niezadowalające.

Wynik wyrazić w mg spiramycyny na kg paszy.

9. SPRAWDZENIE METODY

9.1. Powtarzalność

Różnica pomiędzy wynikami dwóch równoległych oznaczeń wykonanych dla tej samej próbki nie powinna przekraczać:

- 2 mg/kg w wartościach bezwzględnych, dla zawartości spiramycyny do 10 mg/kg,
- 20% względem najwyższej wartości, dla zawartości spiramycyny powyżej 10 do 25 mg/kg,
- 5 mg/kg w wartościach bezwzględnych, dla zawartości spiramycyny powyżej 25 do 50 mg/kg,
- 10% względem wartości najwyższej, dla zawartości spiramycyny powyżej 50 mg/kg.

6.5. OZNACZANIE AWOPARCYNINY METODĄ DYFUZJI W ŻELU AGAROWYM

1. CEL I ZAKRES STOSOWANIA METODY

Metoda służy do oznaczania zawartości awoparcyny w paszach i premiksach. Dolna granica oznaczalności metody wynosi 2 mg/kg (2 ppm). Obecność antybiotyków politerowych może interferować przy oznaczaniu.

2. SPOSÓB PRZEPROWADZENIA METODY

Metoda polega na ekstrakcji awoparcyny przy użyciu mieszaniny acetonu, wody i kwasu chlorowodorowego. Aktywność antybiotyczna ekstraktu jest oznaczana przez pomiar dyfuzji awoparcyny w podłożu agaru zaszczipionym *Bacillus subtilis*. Dyfuzja objawia się tworzeniem stref zahamowania mikroorganizmu. Średnica tych stref jest wprost proporcjonalna do logarytmu stężenia antybiotyku, w zakresie stosowanych stężeń antybiotyku.

3. MIKROORGANIZM: *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (NCIB 8054)

3.1. Utrzymanie kultury macierzystej

Szczepić *Bacillus subtilis* na skosy agarowe podłoża do hodowli mikroorganizmów, o którym mowa w ust. 4.1. Inkubować przez noc w temperaturze 30°C. Przechowywać kulturę bakteryjną w lodówce w temperaturze około 4°C i przeszczepiać na nowe skosy agarowe raz w miesiącu.

3.2. Przygotowanie zawiesiny bakteryjnej

Zebrać kulturę macierzystą ze świeżo przygotowanego skosu agarowego, o którym mowa w ust. 3.1, przy użyciu od 2 do 3 ml sterylnej wody. Uzyskaną suspensją szczepić 300 ml podłoża do hodowli mikroorganizmów, o którym mowa w ust. 4.1, umieszczonego w kolbie Roux i inkubować przez od 3 do 5 dni w temperaturze 30°C. Zebrać hodowlę 15 ml etanolu, o którym mowa w ust. 4.2, po uprzednim sprawdzeniu pod mikroskopem i zmieszać. Suspensja może być przechowywana co najmniej przez 5 miesięcy w temperaturze około 4°C.

Mogą być zastosowane inne metody, jeżeli pozwalają uzyskać zawiesinę bakteryjną o podobnym składzie.

4. PODŁOŻA I ODCZYNNIKI

4.1. Podłoże do hodowli mikroorganizmów

Pepton mięsa	6,0 g
Trypton	4,0 g
Ekstrakt drożdżowy	3,0 g
Ekstrakt mięsny	1,5 g
Głukoza	1,0 g
Agar	15,0 g
Woda	1 l
pH	6,5 (po sterylizacji).

Mogą być zastosowane inne dostępne podłoża o podobnym składzie, dające takie same wyniki.

4.2. Etanol 20% (V/V):

Rozcieńczyć 200 ml etanolu w wodzie o objętości 800 ml.

4.3. Kwas chlorowodorowy (d = od 1,18 do 1,19).

4.4. Roztwór wodorotlenku sodu, 2 M.

4.5. Bufor fosforanowy, 0,1 M:

Dwuwodorofosforan potasu KH_2PO_4	13,6 g
Woda	do 1 000 ml
pH dostosować do	4,5

4.6. Mieszanina: acetonu, wody i kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust. 4.3, w stosunku 65/32,5/2,5 (V/V/V).

4.7. Substancja wzorcowa: awoparcyna o znanej aktywności.

5. ROZTWORY WZORCOWE

Rozpuścić w buforze fosforanowym, o którym mowa w ust. 4.5, 10 mg substancji wzorcowej, o którym mowa w ust. 4.7, a następnie rozcieńczać tym buforem tak, aby otrzymać roztwór podstawowy zawierający 100 µg awoparcyny w 1ml. Roztwór przechowywany w zamkniętej kolbie, w lodówce, w temperaturze 4°C zachowuje stabilność do 7 dni.

5.1. Dla premiksów

Z roztworu podstawowego przygotować, metodą kolejnych rozcieńczeń przy użyciu buforu fosforanowego, o którym mowa w ust. 4.5, następujące roztwory:

$$S_8 \quad 4,0 \quad \mu\text{g/ml}$$

$$S_4 \quad 2,0 \quad \mu\text{g/ml}$$

$$S_2 \quad 1,0 \quad \mu\text{g/ml}$$

$$S_1 \quad 0,5 \quad \mu\text{g/ml}$$

5.2. Dla pasz

Z roztworu podstawowego przygotować, metodą kolejnych rozcieńczeń przy użyciu buforu fosforanowego, o którym mowa w ust. 4.5, następujące roztwory:

$$S_8 \quad 2,0 \quad \mu\text{g/ml}$$

$$S_4 \quad 1,0 \quad \mu\text{g/ml}$$

$$S_2 \quad 0,5 \quad \mu\text{g/ml}$$

$$S_1 \quad 0,25 \quad \mu\text{g/ml}$$

6. PRZYGOTOWANIE EKSTRAKTU I ROZTWORÓW DO OZNACZANIA

6.1. Premiksy

Odważyć, z dokładnością do 10 mg, taką ilość próbki, w której zawartych jest od 10 do 100 mg awoparcyny. Umieścić ją w kolbie miarowej o pojemności 100 ml zawierającej 60 ml mieszaniny, o której mowa w ust. 4.6, a następnie mieszać i wstrząsać przez 15 minut przy zastosowaniu wstrząsarki mechanicznej. Sprawdzić pH i jeżeli to konieczne dostosować je do 2, przy użyciu kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust. 4.3. Uzpełnić kolbę do objętości mieszaniną, o której mowa w ust. 4.6, i zmieszać. Przefiltrować porcję przez odpowiedni filtr, proponuje się zastosować filtr Whatman Nr 1, odrzucając pierwsze 5 ml filtratu. Pobrać podzielną część próbki i dostosować pH do 4,5 przy użyciu roztworu wodorotlenku sodu, o którym mowa w ust. 4.4. Rozcieńczyć roztwór buforem, o którym mowa w ust. 4.5, aby otrzymać oczekiwane stężenie awoparcyny 4 µg/ml (= U_8).

Z tego roztworu przygotować roztwór: U_4 , którego oczekiwana zawartość wynosi 2 µg/ml, U_2 , którego oczekiwana zawartość wynosi 1 µg/ml i U_1 , którego oczekiwana zawartość wynosi 0,5 µg/ml metodą kolejnych rozcieńczeń (1 + 1) przy użyciu buforu fosforanowego, o którym mowa w ust. 4.5.

6.2. Pasze

Odważyć próbkę o masie 50 g i wstrząsać przez 30 minut ze 100 ml mieszaniny, o której mowa w ust. 4.6, przy zastosowaniu wstrząsarki mechanicznej. Sklarować ekstrakt przez odwirowanie, używając zakorkowanych probówek. Następnie pobrać podzielną część sklarowanego ekstraktu, przy uwzględnieniu tabeli 18 i dostosować pH do 4,5 przy użyciu roztworu wodorotlenku sodu, o którym mowa w ust. 4.4. Rozcieńczyć tę podzielną część buforem, o którym mowa w ust. 4.5, aby otrzymać oczekiwaną wartość U_8 . Uwzględnić tabelę 18.

Z tego roztworu przygotować roztwór: U_4 , którego oczekiwana zawartość wynosi 1 µg/ml, U_2 , którego oczekiwana zawartość wynosi 0,5 µg/ml, U_1 , którego oczekiwana zawartość wynosi 0,25 µg/ml metodą kolejnych rozcieńczeń (1 + 1) buforem, o którym mowa w ust. 4.5.

Tabela 18. Przykład dla roztworu U_8

Przewidywany poziom awoparcyny, mg/kg	5	7,5	10	15	20	40
Masa próbki, g ($\pm 0,1$ g)	50	50	50	50	50	50
Objętość w ml mieszaniny, o której mowa w ust. 4.6	100	100	100	100	100	100
Objętość w ml sklarowanego ekstraktu	20	15	20	15	20	10
Końcowa objętość w ml U_8	25	25	50	50	100	100
Oczekiwane stężenie w µg/ml U_x	2	około 2	2	około 2	2	2

7. SPOSÓB POSTĘPOWANIA

7.1. Szczepienie analizowanego podłoża

Szczepić podłoże do hodowali mikroorganizmów, o którym mowa w ust. 4.1, zawiesiną bakteryjną, o której mowa w ust. 3.2, w temperaturze od 50 do 60°C. Uwzględniając wstępne próby przeszczepu na płytce z analizowanym podłożem, o którym mowa w ust. 4.1, określić wymaganą ilość bakteryjnej zawiesiny, przy której występują największe i wyraźne strefy zahamowania dla różnych stężeń awoparcyny.

7.2. Przygotowanie płytek

Dyfuzja w agarze jest prowadzona na płytkach przy czterech stężeniach wzorcowych roztworów (S_8 , S_4 , S_2 , S_1) i czterech stężeniach analizowanych roztworów (U_8 , U_4 , U_2 , U_1). Te cztery stężenia ekstraktu i wzorca powinny być umieszczone na każdej płytce. W tym celu, wybrać płytki o takich rozmiarach, aby można było w podłożu agaru zrobić 8 wgłębień o średnicy od 10 do 13 mm i o odległości pomiędzy środkami wgłębień nie mniejszej niż 30 mm. Badania mogą być prowadzone na szklanych płytkach z umieszczonym na ich górnej powierzchni aluminiowym lub plastikowym pierścieniem o średnicy 200 mm i wysokości 20 mm.

Rozlać na płytki taką ilość podłoża, o którym mowa w ust. 4.1, zaszczerpionego w sposób określony w ust. 7.1, aby otrzymać warstwę o grubości około 2 mm, co odpowiada 60 ml na płytkę o średnicy 200 mm. Pozostawić w pozycji poziomej, a

następnie zrobić wgłębienia i umieścić w nich objętości analizowanych i wzorcowych roztworów, od 0,10 do 0,15 ml na wgłębienie, odpowiednio do średnicy. Aplikować każde stężenie co najmniej czterokrotnie; tak aby każde oznaczenie odpowiadało pomiarowi 32 stref zahamowania.

7.3. Inkubacja

Inkubować płytki przez od 16 do 18 godzin w temperaturze 30°C.

8. OBLICZANIE WYNIKÓW

Zmierzyć średnicę stref zahamowania z dokładnością do 0,1 mm. Nanieść średnią wartość pomiarów dla każdego stężenia na papier o skali półlogarytmicznej, pokazując zależność logarytmu stężeń od średnicy stref zahamowania. Wykreślić linie o „najlepszej zgodności” zarówno dla roztworu wzorcowego jak i ekstraktu, proponuje się zastosować następujący przykład.

Wyznaczyć punkt o „najlepszej zgodności” dla najniższego poziomu wzorcowego (SL) według następującego wzoru:

$$(a) \quad SL = \frac{7 S_1 + 4 S_2 + S_4 - 2 S_8}{10}$$

Wyznaczyć punkt o „najlepszej zgodności” dla najwyższego poziomu wzorcowego (SH) według następującego wzoru:

$$(b) \quad SH = \frac{7 S_8 + 4 S_4 + S_2 - 2 S_1}{10}$$

Podobnie obliczyć punkty o „najlepszej zgodności” dla najniższego poziomu ekstraktu (UL) oraz dla najwyższego poziomu ekstraktu (UH), zastępując w powyższych wzorach S_1, S_2, S_4, S_8 przez U_1, U_2, U_4, U_8 .

Nanieść obliczone wartości SL i SH na ten sam papier i połączyć je uzyskując linię o „najlepszej zgodności” dla roztworu wzorcowego. Podobnie nanieść wartości UL i UH i połączyć je uzyskując linię o „najlepszej zgodności” dla ekstraktu.

W przypadku braku interferencji linie powinny być równoległe. W praktyce linie mogą być uznane za równoległe, jeżeli wartości (SH-SL) i (UH-UL) nie różnią się więcej niż o 10% od ich średniej wartości.

Jeżeli linie nie spełniają warunku równoległości, wówczas w obliczeniach można pominąć albo U_1 i S_1 albo U_8 i S_8 . Do obliczenia wartości SL, SH, UL i UH można zastosować alternatywne wzory, dające alternatywne linie o „najlepszej zgodności”:

$$(a') \quad SL = \frac{5 S_1 + 2 S_2 - S_4}{6} \quad \text{lub} \quad \frac{5 S_2 + 2 S_4 - S_8}{6}$$

$$(b') \quad SH = \frac{5 S_4 + 2 S_2 - S_1}{6} \quad \text{lub} \quad \frac{5 S_8 + 2 S_4 - S_2}{6}$$

i podobnie dla UL i UH. Zadowalające są takie same kryteria równoległości, jakie zastosowano powyżej. W końcowym sprawozdaniu z badań odnotować, że wyniki obliczono na podstawie 3 poziomów, według których oceniano równoległość.

Jeżeli linie spełniają warunek równoległości, obliczyć logarytm względnej aktywności (log A) według jednego z następujących wzorów.

Dla 4 poziomów

$$(c) \quad \log A = \frac{(U_1 + U_2 + U_4 + U_8 - S_1 - S_2 - S_4 - S_8) \times 0,602}{U_4 + U_8 + S_4 + S_8 - U_1 - U_2 - S_1 - S_2}$$

Dla 3 poziomów

$$(d) \quad \log A = \frac{(U_1 + U_2 + U_4 - S_1 - S_2 - S_4) \times 0,401}{U_4 + S_4 - U_1 - S_1}$$

lub

$$(d') \quad \log A = \frac{(U_2 + U_4 + U_8 - S_2 - S_4 - S_8) \times 0,401}{U_8 + S_8 - U_2 - S_2}$$

Aktywność rzeczywista = aktywność przypuszczalna x aktywność względna

Jeżeli względna aktywność nie mieści się w przedziale od 0,5 do 2,0, powtórzyć oznaczenie, wprowadzając odpowiednią korektę stężenia ekstraktów lub, jeżeli nie jest to możliwe, wzorcowych roztworów. Jeżeli względna aktywność nie mieści się nadal w wymaganym przedziale, to uzyskane wyniki należy traktować jako przybliżone i odnotować w końcowym sprawozdaniu z badań.

Jeżeli linie uznane zostaną za niespełniające warunku równoległości, powtórzyć oznaczenie. Jeżeli warunek równoległości nie jest nadal spełniany, oznaczenie uznaje się za niezadowalające.

9. SPRAWDZENIE METODY

9.1. Powtarzalność

- Różnica pomiędzy wynikami dwóch równoległych oznaczeń wykonanych dla tej samej próbki nie powinna przekraczać:
- 2 mg/kg w wartości bezwzględnej, dla zawartości awoparcyny od 2 do 10 mg/kg,
 - 20% względem najwyższej wartości, dla zawartości awoparcyny powyżej 10 do 25 mg/kg,
 - 5 mg/kg w wartości bezwzględnej, dla zawartości awoparcyny powyżej 25 do 50 mg/kg,
 - 10% względem najwyższej wartości, dla zawartości awoparcyny powyżej 50 mg/kg.

6.6. OZNACZANIE SOLI SODOWEJ MONENZYNY METODĄ DYFUZJI W ŻELU AGAROWYM

1. CEL I ZAKRES STOSOWANIA METODY

Metoda służy do oznaczania zawartości soli sodowej monenzyny w paszach i premiksach. Dolna granica oznaczalności metody wynosi 10 mg/kg (10 ppm). 1 mg soli sodowej monenzyny odpowiada 1000 UK jednostek.

2. SPOSÓB PRZEPROWADZENIA METODY

Metoda polega na ekstrakcji próbki 90% metanolem. Następnie, w zależności od zawartości monenzyny w próbce, ekstrakt poddać odpowiedniemu postępowaniu. Aktywność antybiotyczna jest oznaczana przez pomiar dyfuzji monenzyny sodowej w podłożu agaru w ośrodku agarowym zaszczerpionym *Bacillus subtilis*. Dyfuzja objawia się tworzeniem stref zahamowania mikroorganizmu. Średnica tych stref jest wprost proporcjonalna do logarytmu stężenia antybiotyku w zakresie stosowanych stężeń antybiotyku. Czulość tej metody zmniejszają jony sodu.

3. MIKROORGANIZM: *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (NCIB 8054)

3.1. Utrzymanie kultury macierzystej

Szczepić *Bacillus subtilis* na skosy agarowe podłoża do hodowli mikroorganizmów, o którym mowa w ust. 4.1. Inkubować przez noc w temperaturze 30°C. Przechowywać kulturę bakteryjną w lodówce w temperaturze około 4°C i przeszczepiać na nowe skosy agarowe raz w miesiącu.

3.2. Przygotowanie zawiesiny bakteryjnej

Zebrać kulturę macierzystą ze świeżo przygotowanego agaru, o którym mowa w ust. 3.1, przy użyciu od 2 do 3 ml sterylnej wody. Uzyskaną suspensją szczepić 300 ml podłoża do hodowli mikroorganizmów, o którym mowa w ust. 4.1, umieszczonego w kolbie Roux i inkubować od 3 do 5 dni w temperaturze 30°C. Po uprzednim sprawdzeniu pod mikroskopem zebrać hodowlę 15 ml etanolu, o którym mowa w ust. 4.3, i zmieszać. Suspensja ta może być przechowywana co najmniej przez 5 miesięcy w temperaturze około 4°C.

Mogą być zastosowane inne metody, jeżeli pozwalają uzyskać zawiesinę bakteryjną o podobnym składzie.

4. PODŁOŻA I ODCZYNNIKI

4.1. Podłoże do hodowli mikroorganizmów

Trypton	10,0 g
Ekstrakt drożdżowy	3,0 g
Ekstrakt mięsny	1,5 g
Glukoza	1,0 g
Agar	10,0 – 20,0 g
Woda	1 l
pH	6,5 (po sterylizacji).

Mogą być zastosowane inne dostępne podłoża o podobnym składzie, dające takie same wyniki.

4.2. Analizowane podłoże

Glukoza	10,0 g
Ekstrakt drożdżowy	2,5 g
Wodorofosforan dwupotasowy K_2HPO_4	0,69 g
Dwuwodorofosforan potasowy KH_2PO_4	0,45 g
Agar	10,0 – 20,0 g
Woda	1 l
pH	6 (po sterylizacji).

4.3. Etanol 20% (V/V):

Rozcieńczyć 200 ml etanolu wodą o objętości 800 ml.

4.4. Metanol, bezwodny.

4.5. Metanol 90% (V/V):

900 ml metanolu, o którym mowa w ust. 4.4, rozcieńczyć wodą o objętości 100 ml.

4.6. Metanol 50% (V/V):

500 ml metanolu, o którym mowa w ust. 4.4, rozcieńczyć wodą o objętości 500 ml.

4.7. Tlenek glinu, granulata (alcoa F, 20 mesh; aktywowany glin UG1: F. Lancaster & Co. lub podobne).

4.8. Substancja wzorcowa: sól sodowa monenzyny o znanej aktywności, proponuje się zastosować tę z International Laboratory for Biological Standards, Central Veterinary Laboratory, Weybridge, UK-Surrey KT 15 3 NB).

5. APARATURA I SPRZĘT

5.1. Rotacyjna wyparka próżniowa z okrągłodenną kolbą o pojemności 250 ml.

5.2. Szklana kolumna chromatograficzna o średnicy wewnętrznej 25 mm, długości 400 mm, otwartym końcu o średnicy 2 mm.

5.3. Szklana kolumna chromatograficzna o średnicy wewnętrznej 11 mm, długości około 300 mm, otwartym końcu o średnicy 2 mm.

6. ROZTWORY WZORCOWE

Rozpuścić taką ilość substancji wzorcowej, o której mowa w ust. 4.8, w metanolu, o którym mowa w ust. 4.4, aby otrzymać roztwór podstawowy zawierający 800 µg monenzyny w 1 ml. Roztwór przechowywany w zamkniętej kolbie w temperaturze 4°C zachowuje stabilność do 2 tygodni.

Z roztworu podstawowego przygotować, metodą kolejnych rozcieńczeń metanolem, o którym mowa w ust. 4.6, następujące roztwory:

S_8	8,0	µg/ml
S_4	4,0	µg/ml
S_2	2,0	µg/ml
S_1	1,0	µg/ml

7. PRZYGOTOWANIE EKSTRAKTU

7.1. Ekstrakcja

7.1.1. Premiksy

Odważyć 2 g próbki, dodać 100 ml metanolu, o którym mowa w ust. 4.5, zhomogenizować i wirować przez kilka minut. Roztwór supernatantu rozcieńczyć 50% metanolem, tak aby uzyskać zawartość monenzyny 8 µg/ml (= U_8).

7.1.2. Pasze zawierające 50 i więcej ppm monenzyny

Odważyć próbkę o masie od 10 do 20 g, dodać 100 ml metanolu, o którym mowa w ust. 4.5, homogenizować przez 15 minut i odstawić.

Wąski koniec kolumny, o której mowa w ust. 5.2, zatkać watą bawełnianą i dodać tlenek glinu, o którym mowa w ust. 4.7, delikatnie dozując aż kolumna napełni się do wysokości 75 – 80 mm.

Dekantować ekstrakt na kolumnie tlenku glinu i zebrać filtrat. 30 ml filtratu rozcieńczyć wodą do objętości 50 ml. Przeprowadzić następne rozcieńczenie metanolem, o którym mowa w ust. 4.6, tak aby otrzymać oczekiwaną zawartość monenzyny 8 µg/ml (= U_8).

7.1.3. Pasze zawierające od 10 ppm do poniżej 50 ppm monenzyny

Odważyć próbkę o masie od 10 do 20 g, dodać 100 ml metanolu, o którym mowa w ust. 4.5, homogenizować przez 15 minut. Wirować w celu sklarowania.

W przypadku próbki zawierającej 20 ppm monenzyny pobrać 40 ml supernatantu cieczy. W przypadku próbki zawierającej 10 ppm, pobrać 80 ml i odparować do wysuszenia na rotacyjnej wyparce próżniowej, o której mowa w ust. 5.1, w temperaturze nie wyższej niż 40°C. Pozostałość rozpuścić w 10 ml metanolu, o którym mowa w ust. 4.5.

Wąski koniec kolumny, o której mowa w ust. 5.3, zatkać bawełnianą watą i dodać tlenek glinu, o którym mowa w ust. 4.7, delikatnie dozując aż kolumna napełni się do wysokości 75 – 80 mm.

Dekantować pozostałość roztworu metanolowego na kolumnie tlenku glinu i zebrać filtrat. Przemyć kolumnę 10 ml metanolu, o którym mowa w ust. 4.5, i roztwór pochodzący z przemycia połączyć z filtratem.

Roztwór odparować do sucha na rotacyjnej wyparce próżniowej, o której mowa w ust. 5.1, w temperaturze nie wyższej niż 40°C. Pozostałość rozpuścić w 10 ml metanolu, o którym mowa w ust. 4.4, i uzupełnić wodą do objętości 20 ml. Roztwór odwirowywać przy 4000 obr/min przez co najmniej 5 minut. Następne rozcieńczenie sporządzić przy użyciu metanolu, o którym mowa w ust. 4.6, tak aby otrzymać oczekiwaną zawartość monenzyny 8 µg/ml (= U_8).

7.2. Roztwory badane

Z roztworu U_8 , poprzez odpowiednie rozcieńczenia (1+1) przy użyciu 50% metanolu, przygotować roztwór: U_4 , którego oczekiwana zawartość wynosi 4 µg/ml, U_2 , którego oczekiwana zawartość wynosi 2 µg/ml, U_1 , którego oczekiwana zawartość wynosi 1 µg/ml.

8. SPOSÓB POSTĘPOWANIA

8.1. Szczepianie analizowanego podłoża

Szczepić podłoże do hodowali mikroorganizmów, o którym mowa w ust. 4.2, zawieszoną bakteryjną, o której mowa w ust. 3.2, w temperaturze od 50 do 60°C. Uwzględniając wstępne próby przeszczerpu na płytce z analizowanym podłożem, o którym mowa w ust. 4.2, określić wymaganą ilość bakteryjnej zawiesiny, przy której występują największe i wyraźne strefy zahamowania dla różnych stężeń wirginiamycyny.

8.2. Przygotowanie płytek

Dyfuzja w agarze jest prowadzona na płytkach przy czterech stężeniach wzorcowych roztworów (S_8 , S_4 , S_2 , S_1) i czterech stężeniach analizowanych roztworów (U_8 , U_4 , U_2 , U_1). Te cztery stężenia ekstraktu i wzorca powinny być umieszczone na każdej płytce. W tym celu, wybrać płytki o takich rozmiarach, aby można było w podłożu agaru zrobić 8 wgłębień o średnicy od 10 do 13 mm i o odległości pomiędzy środkami wgłębień nie mniejszej niż 30 mm. Badania mogą być prowadzone na szklanych płytkach z umieszczonym na ich górnej powierzchni aluminiowym lub plastikowym pierścieniem o średnicy 200 mm i wysokości 20 mm.

Rozlać na płytki taką ilość podłoża, o którym mowa w ust. 4.2, zaszczerpionego w sposób określony w ust. 8.1, aby otrzymać warstwę o grubości około 2 mm, co odpowiada 60 ml na płytkę o średnicy 200 mm. Pozostawić w pozycji poziomej, a następnie zrobić wgłębienia i umieścić w nich objętości analizowanych i wzorcowych roztworów, od 0,10 do 0,15 ml na wgłębienie, odpowiednio do średnicy. Aplikować każde stężenie co najmniej czterokrotnie, tak aby każde oznaczenie odpowiadało pomiarowi 32 stref zahamowania.

8.3. Inkubacja

Inkubować płytki przez 18 godzin w temperaturze od 35 do 37°C.

9. OBLICZANIE WYNIKÓW

Zmierzyć średnicę stref zahamowania z dokładnością do 0,1 mm. Nanieść średnią wartość pomiarów dla każdego stężenia na papier o skali półlogarytmicznej, pokazując zależność logarytmu stężeń od średnicy stref zahamowania. Wykreślić linie o „najlepszej zgodności” zarówno dla roztworu wzorcowego jak i ekstraktu, proponuje się zastosować następujący przykład.

Wyznaczyć punkt o „najlepszej zgodności” dla najniższego poziomu wzorcowego (SL) według następującego wzoru:

$$7 S_1 + 4 S_2 + S_4 - 2 S_8$$

$$(a) \quad SL = \frac{\quad}{10}$$

Wyznaczyć punkt o „najlepszej zgodności” dla najwyższego poziomu wzorcowego (SH) według następującego wzoru:

$$(b) \quad SH = \frac{7 S_8 + 4 S_4 + S_2 - 2 S_1}{10}$$

Podobnie obliczyć punkty o „najlepszej zgodności” dla najniższego poziomu ekstraktu (UL) oraz dla najwyższego poziomu ekstraktu (UH), zastępując w powyższych wzorach S_1, S_2, S_4, S_8 przez U_1, U_2, U_4, U_8 .

Nanieść obliczone wartości SL i SH na ten sam papier i połączyć je uzyskując linię o „najlepszej zgodności” dla roztworu wzorcowego. Podobnie nanieść wartości UL i UH i połączyć je uzyskując linię o „najlepszej zgodności” dla ekstraktu.

W przypadku braku interferencji linie powinny być równoległe. W praktyce linie mogą być uznane za równoległe, jeżeli wartości (SH-SL) i (UH-UL) nie różnią się więcej niż o 10% od ich średniej wartości.

Jeżeli linie nie spełniają warunku równoległości, wówczas w obliczeniach można pominąć albo U_1 i S_1 albo U_8 i S_8 . Do obliczenia wartości SL, SH, UL i UH można zastosować alternatywne wzory, uzyskując alternatywne linie o „najlepszej zgodności”:

$$(a') \quad SL = \frac{5 S_1 + 2 S_2 - S_4}{6} \quad \text{lub} \quad \frac{5 S_2 + 2 S_4 - S_8}{6}$$

$$(b') \quad SH = \frac{5 S_4 + 2 S_2 - S_1}{6} \quad \text{lub} \quad \frac{5 S_8 + 2 S_4 - S_2}{6}$$

i podobnie dla UL i UH. Zadowalające są takie same kryteria równoległości, jakie zastosowano powyżej. W końcowym sprawozdaniu z badań odnotować, że wyniki obliczono na podstawie 3 poziomów, według których oceniano równoległość.

Jeżeli linie spełniają warunek równoległości, obliczyć logarytm względnej aktywności (log A) według jednego z następujących wzorów:

Dla 4 poziomów

$$(c) \quad \log A = \frac{(U_1 + U_2 + U_4 + U_8 - S_1 - S_2 - S_4 - S_8) \times 0,602}{U_4 + U_8 + S_4 + S_8 - U_1 - U_2 - S_1 - S_2}$$

Dla 3 poziomów

$$(d) \quad \log A = \frac{(U_1 + U_2 + U_4 - S_1 - S_2 - S_4) \times 0,401}{U_4 + S_4 - U_1 - S_1}$$

lub

$$(d') \quad \log A = \frac{(U_2 + U_4 + U_8 - S_2 - S_4 - S_8) \times 0,401}{U_8 + S_8 - U_2 - S_2}$$

Aktywność rzeczywista = aktywność przypuszczalna x aktywność względna

Jeżeli względna aktywność nie mieści się w przedziale od 0,5 do 2,0, powtórzyć oznaczenie, wprowadzając odpowiednią korektę stężeń ekstraktu lub, jeżeli nie jest to możliwe, wzorcowych roztworów. Jeżeli względna aktywność nie mieści się nadal w wymaganym przedziale, to uzyskane wyniki należy traktować jako przybliżone i odnotować w końcowym sprawozdaniu z badań.

Jeżeli proste uznane zostaną za niespełniające warunku równoległości, powtórzyć oznaczenie. Jeżeli warunek równoległości nie jest nadal spełniany, oznaczenie uznaje się za niezadowalające.

10. SPRAWDZENIE METODY

10.1. Powtarzalność

Różnica pomiędzy wynikami dwóch równoległych oznaczeń wykonanych dla tej samej próbki nie powinna przekraczać:

- 20% względem najwyższego wyniku, dla zawartości soli sodowej monenzyny od 10 do 25 mg/kg,
- 5 mg/kg w wartości bezwzględnej, dla zawartości soli sodowej monenzyny powyżej 25 do 50 mg/kg,
- 10% względem najwyższego wyniku, dla zawartości soli sodowej monenzyny powyżej 50 mg/kg.

6.7. OZNACZANIE TYLOZYNY METODĄ DYFUZJI W ŻELU AGAROWYM

1. CEL I ZAKRES STOSOWANIA METODY

Metoda służy do oznaczenia zawartości tylozyny w paszach, koncentratkach i premiksach, przy zawartości wyższej niż 2,0 ppm.

2. SPOSÓB PRZEPROWADZENIA METODY

Próbka jest traktowana roztworem buforu fosforanowego o pH 8, wcześniej ogrzany do temperatury 80 °C, a następnie ekstrahowana metanolem. Po odwirowaniu, ekstrakt zostaje rozcieńczony. Aktywność antybiotyczna jest oznaczana przez pomiar dyfuzji tylozyny w podłożu agarowym zaszczipionym *Sarcina lutea*. Dyfuzja objawia się tworzeniem stref

zahamowania mikroorganizmu. Średnica tych stref zahamowania jest wprost proporcjonalna do logarytmu stężenia antybiotyku.

3. MIKROORGANIZM: *Sarcina lutea* ATTC nr 9341

3.1. Utrzymanie kultury macierzystej

Szczepić *Sarcina lutea* na skosy agarowe podłoża do hodowli mikroorganizmów, o którym mowa w ust. 4.1. Dostosować pH do 7,0. Inkubować przez noc w temperaturze około 35°C. Przechowywać kulturę bakteryjną w lodówce i przeszczepiać na nowe skosy agarowe raz w miesiącu.

3.2. Przygotowanie zawiesiny bakteryjnej

Zebrać kulturę macierzystą ze świeżo przygotowanego skosu agarowego, o którym mowa w ust. 3.1, przy użyciu od 2 do 3 ml roztworu soli fizjologicznej, o której mowa w ust. 4.4. Uzyskaną suspensją szczepić 250 ml podłoża do hodowli mikroorganizmów, o którym mowa w ust. 4.1, umieszczonego w kolbie Roux, dostosowanej do pH 7,0. Inkubować przez 24 godziny w temperaturze 35°C. Zebrać hodowlę i umieścić w 25 ml roztworu soli fizjologicznej, o której mowa w ust. 4.4. Homogenizować i rozcieńczyć suspensję tak, aby transmisja światła przez suspensję, mierzona przy 650 nm wynosiła około 75%.

Suspensja przechowywana w lodówce zachowuje trwałość przez tydzień.

Poprzez wstępne próby przeszczepu na płytki z analizowanym podłożem, o którym mowa w ust. 4.1, określić wymaganą ilość inokulatu, przy której występują największe i wyraźne strefy zahamowania dla różnych stężeń tylozyny. Podłoże do hodowli mikroorganizmów szczepić w temperaturze od 48 do 50 °C.

4. PODŁOŻE I ODCZYNNIKI

4.1. Podłoże podstawowe

Glukoza	1 g
Pepton trypsynowy	10 g
Ekstrakt mięsny	1,5 g
Ekstrakt drożdżowy	3 g
Agar - w zależności od jakości	10 g do 20 g
Woda	destylowana do 1 000 ml

Bezpośrednio przed użyciem, pH podłoża dostosować do 7,0, co jest niezbędne do utrzymania szczepu macierzystego i suspensji bakteryjnej, a w przypadku oznaczania, pH dostosować do 8,0.

Mogą być zastosowane inne dostępne podłoża o podobnym składzie, dające takie same wyniki.

4.2. Roztwór buforu fosforanowego, pH 8

Dwuwodorofosforan potasu KH_2PO_4	0,523g
Wodorofosforan dwupotasu K_2HPO_4	16,730g
Woda	destylowana do 1 000 ml

4.3. Roztwór buforu fosforanowego, pH 7

Dwuwodorofosforan potasu KH_2PO_4	5,5g
Wodorofosforan dwupotasu K_2HPO_4	13,6g
Woda	destylowana do 1 000 ml

4.4. Sterylny roztwór soli fizjologicznej.

4.5. Czysty metanol.

4.6. 40% (v/v) metanol.

4.7. Mieszanina roztworu buforu fosforanowego, o którym mowa w ust. 4.2, i czystego metanolu; w stosunku objętościowym 60 : 40.

4.8. Substancja wzorcowa: tylozyna o znanej aktywności.

5. ROZTWORY WZORCOWE

Suszyć substancję wzorcową, o której mowa w ust. 4.8, przez 3 godziny w piecu próżniowym (5 mm słupa rtęci) w temperaturze 60°C. Następnie odważyć do kolby miarowej 10-50 mg tej substancji, rozpuścić w 5 ml metanolu, o którym mowa w ust. 4.5, i rozcieńczyć roztworem buforu fosforanowego, o którym mowa w ust. 4.3, aby otrzymać roztwór podstawowy tylozyny o stężeniu 1 000 µg w 1ml.

Z otrzymanego roztworu podstawowego przygotować roztwór wzorcowy roboczy S_8 zawierający 2,0 µg tylozyny w 1ml, rozcieńczając mieszaniną, o której mowa w ust. 4.7.

Następnie z tego roztworu przygotować, metodą kolejnych rozcieńczeń (1+1), przy użyciu mieszaniny, o której mowa w ust. 4.7, następujące stężenia:

S_4 1,0 µg/ml

S_2 0,5 µg/ml

S_1 0,25 µg/ml

6. EKSTRAKCJA

W przypadku koncentratu przygotować próbkę o wadze 10 g, w przypadku premiksu lub paszy o wadze 20 g. Dodać 60 ml roztworu buforu fosforanowego, o którym mowa w ust. 4.2, wcześniej ogrzanego do temperatury 80 °C i homogenizować przez 2 minuty używając kuchennego miksera lub urządzenia o podobnym działaniu.

Pozostawić na 10 minut, dodać 40 ml metanolu, o którym mowa w ust. 4.5, i homogenizować przez 5 minut. Ekstrakt odwirować i rozcieńczyć podzielną część mieszaniną, o której mowa w ust. 4.7, aby otrzymać stężenie tylozyny wynoszące

około 2,0 µg w 1ml (=U₈). Następnie przygotować stężenia U₄, U₂ i U₁, metodą kolejnych rozcieńczeń (1+1) przy użyciu mieszaniny, o której mowa w ust. 4.7.

W przypadku stężeń niższych niż 10 ppm, odparować ekstrakt do sucha na wyparce rotacyjnej w temperaturze 35 °C, a następnie pozostałość rozpuścić w metanolu, o którym mowa w ust. 4.6.

7. SPOSÓB POSTĘPOWANIA

7.1. Szczepienie podłoża do hodowli mikroorganizmów

Szczepić podłoże, o którym mowa w ust. 4.1, o pH = 8 zawiesiną bakteryjną, o której mowa w ust. 3.2, w temperaturze od 48 do 50 °C.

7.2. Przygotowanie płytek

Dyfuzja w agarze jest prowadzona na płytkach przy czterech stężeniach wzorcowych roztworów (S₈, S₄, S₂, S₁) i czterech stężeniach ekstraktu (U₈, U₄, U₂, U₁). Te cztery stężenia ekstraktu i wzorca powinny być umieszczone na każdej płytce. W tym celu, wybrać płytki o takich rozmiarach, aby można było w podłożu agaru zrobić 8 wgłębień o średnicy od 10 do 13 mm. Obliczyć ilość szczepionego podłoża, o którym mowa w ust. 7.1, potrzebnego do jednolitego pokrycia tacki warstwą o grubości około 2 mm. Badania mogą być prowadzone na szklanych płytkach z umieszczonym na ich górnej powierzchni aluminiowym lub plastikowym pierścieniem o średnicy 200 mm i wysokości 20 mm.

Do każdego wgłębienia odpipetować odmierzone objętości roztworu antybiotyku, od 0,10 do 0,15 ml na wgłębienie, odpowiednio do średnicy. Aplikować każde stężenie co najmniej czterokrotnie, tak aby każde oznaczenie odpowiadało pomiarowi 32 stref zahamowania.

7.3. Inkubacja

Inkubować płytki przez noc w temperaturze od 35 do 37°C.

8. OBLICZANIE WYNIKÓW

Zmierzyć średnicę stref zahamowania, najlepiej metodą rzutowania. Nanieść średnie wartości na papier o skali półlogarytmicznej, zaznaczając zależność stężenia logarytmu i odpowiadającą mu średnicę stref zahamowania. Wyznaczyć linie dla roztworu wzorcowego i dla ekstraktu. Linie nie powinny w żadnym punkcie przecinać się ze sobą, lecz przebiegać równoległe.

Logarytm aktywności względnej obliczyć według następującego wzoru:

$$(U_1 + U_2 + U_4 + U_8 - S_1 - S_2 - S_4 - S_8) \times 0,602$$

$$U_4 + U_8 + S_4 + S_8 - U_1 - U_2 - S_1 - S_2$$

Aktywność rzeczywista = aktywność przypuszczalna x aktywność względna

9. SPRAWDZENIE METODY

Powtarzalność

Różnica pomiędzy wynikami dwóch równoległych oznaczeń wykonanych dla tej samej próbki nie powinna przekraczać 10% w wartości względnej.

6.8. OZNACZANIE KARBADOKSU

(metylo 3-(2-chinoksalinylo)metyleno)pikrynian N¹,N⁴-dwutlenek)

1. CEL I ZAKRES STOSOWANIA METODY

Metoda służy do oznaczania zawartości karbadoksu w paszach, premiksach i preparatach. Granica wykrywalności wynosi 1 mg/kg, a granica oznaczalności wynosi 10 mg/kg.

2. SPOSÓB PRZEPROWADZENIA METODY

Próbka jest równoważona wodą i poddawana ekstrakcji przy użyciu mieszaniny metanolu i acetonitrylu. W przypadku pasz podzielna część przefiltrowanego ekstraktu zostaje oczyszczona na kolumnie z tlenkiem glinu. W przypadku premiksów i preparatów podzielna część przefiltrowanego ekstraktu zostaje rozcieńczona do odpowiedniego stężenia wodą, metanolem i acetonitrylem. Zawartość karbadoksu oznacza się metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej w układzie faz odwróconych (HPLC) przy użyciu detektora UV.

3. ODCZYNNIKI I ROZTWORY

3.1. Metanol.

3.2. Acetonitryl, do HPLC.

3.3. Kwas octowy, w = 100%.

3.4. Tlenek glinu: obojętny, stopień aktywności I.

3.5. Metanol – acetonitryl 1 + 1 (v + v).

Zmieszać 500 ml metanolu, o którym mowa w ust. 3.1, z 500 ml acetonitrylu, o którym mowa w ust. 3.2.

3.6. Kwas octowy, $\sigma = 10\%$.

Rozcieńczyć 10 ml kwasu octowego, o którym mowa w ust. 3.3, wodą do objętości 100 ml.

3.7. Octan sodu, CH_3COONa .

3.8. Woda do HPLC.

3.9. Roztwór buforu octanowego, $c = 0,01 \text{ mol/l}$, $\text{pH} = 6,0$.

Rozpuścić 0,82 g octanu sodu, o którym mowa w ust. 3.7, w 700 ml wody, o której mowa w ust. 3.8, i dostosować pH do wartości 6,0 kwasem octowym, o którym mowa w ust. 3.6. Przenieść do kolby miarowej o pojemności 1 litra, uzupełnić wodą, o której mowa w ust. 3.8, do pełnej objętości kolby, i zmieszać.

3.10. Faza ruchoma do HPLC.

Zmieszać 825 ml roztworu buforu octanowego, o którym mowa w ust. 3.9, i 175 ml acetonitrylu, o którym mowa w ust. 3.2. Przefiltrować przez filtr membranowy, o którym mowa w ust. 4.5, i odgazować roztwór, do tej czynności proponuje się zastosować łaźnię ultradźwiękową przez 10 minut.

3.11. Substancja wzorcowa:

Czysty karbadoks: metylo 3-(2-chinoksalinyłometyleno)pikrynian N^1 , N^4 -dwutlenek, E 850.

3.11.1. Roztwór wzorcowy podstawowy karbadoksu, $100 \mu\text{g/ml}$, przy uwzględnieniu ust. 5.

Odważyć, z dokładnością do 0,1 mg, 25 mg substancji wzorcowej, o której mowa w ust. 3.11, do kolby miarowej o pojemności 250 ml. Rozpuścić w mieszaninie metanolu i acetonitrylu, o której mowa w ust. 3.5, na łaźni ultradźwiękowej, o której mowa w ust. 4.7. Po zastosowaniu ultradźwięków doprowadzić roztwór do temperatury pokojowej, uzupełnić do pełnej objętości kolby mieszaniną metanolu i acetonitrylu, o której mowa w ust. 3.5, i zmieszać. Kolbę owinąć folią aluminiową lub zastosować ciemne szklane naczynie laboratoryjne i przechowywać w lodówce. Roztwór w temperaturze do 4°C zachowuje stabilność przez miesiąc.

3.11.2. Roztwory kalibracyjne.

Przenieść 2,0, 5,0, 10,0 i 20,0 ml roztworu wzorcowego podstawowego karbadoksu, o którym mowa w ust. 3.11.1, do partii kolb miarowych o pojemności 100 ml. Dodać 30 ml wody, uzupełnić mieszaniną metanolu i acetonitrylu, o której mowa w ust. 3.5, do pełnej objętości kolb i zmieszać. Kolbę owinąć folią aluminiową. Roztwory te odpowiadają odpowiednio 2,0, 5,0, 10,0 i 20,0 $\mu\text{g/ml}$ karbadoksu. Roztwory kalibracyjne sporządza się bezpośrednio przed użyciem.

Do oznaczenia karbadoksu w paszach zawierających poniżej 10 mg/kg, sporządza się roztwory kalibracyjne o stężeniu poniżej 2,0 $\mu\text{g/ml}$.

3.12. Mieszanina wody i mieszaniny metanolu z acetonitrylem, o której mowa w ust. 3.5, w stosunku $300 + 700 (v + v)$.

Zmieszać 300 ml wody z 700 ml mieszaniny metanolu i acetonitrylu, o której mowa w ust. 3.5.

4. APARATURA I SPRZĘT

4.1. Wstrząsarka laboratoryjna lub mieszadło magnetyczne.

4.2. Filtr szklany, Whatman GF/A lub podobny.

4.3. Szklana kolumna o długości od 300 do 400 mm, wewnętrznej średnicy około 10 mm, ze spiekami szklanym oraz zaworem odpływowym.

Dopuszcza się użycie szklanej kolumny z kurkiem lub ze ściętym końcem, w takim przypadku w dolnym końcu umieszcza się zwitek waty szklanej, ubity szklanym prętem.

4.4. Sprzęt do HPLC z systemem do dozowania umożliwiającym dozowanie $20 \mu\text{l}$.

4.4.1. Kolumna do chromatografii cieczowej o wymiarach $300 \text{ mm} \times 4 \text{ mm}$, C_{18} , wypełnienie $10 \mu\text{m}$ lub równoważne.

4.4.2. Detektor UV z regulacją długości fal lub detektor diodowy pracujący w zakresie do 225 do 400 nm.

4.5. Filtr membranowy, $0,22 \mu\text{m}$.

4.6. Filtr membranowy, $0,45 \mu\text{m}$.

4.7. Łaźnia ultradźwiękowa.

5. SPOSÓB POSTĘPOWANIA

Z uwagi na fakt że, karbadoks jest wrażliwy na działanie światła zaleca się, aby wszystkie czynności były przeprowadzane przy ograniczonym dostępie światła lub z zastosowaniem szkła oranżowego lub szkła zabezpieczonego folią aluminiową.

5.1. Wskazówki ogólne

5.1.1. Ślepa próba paszy

Do badania odzysku przeprowadzić analizę ślepej próby paszy w celu sprawdzenia, czy nie zawiera ona ani karbadoksu ani i substancji interferujących.

Ślepa próba paszy powinna być podobna do badanej próbki, a jej analiza nie powinna potwierdzać obecności karbadoksu i substancji interferujących.

5.1.2. Badanie odzysku

Badanie odzysku przeprowadzić analizując ślepą próbę paszy, o której mowa w ust. 5.1.1, fortyfikowaną przez dodanie znanej ilości karbadoksu, o wadze zbliżonej do tej, która znajduje się w próbce. Aby fortyfikować na poziomie 50 mg/kg dodać 5,0 ml roztworu wzorcowego podstawowego karbadoksu, o którym mowa w ust. 3.11.1, do kolby stożkowej o pojemności 200 ml. Odparować roztwór w strumieniu azotu do objętości około 0,5 ml. Dodać 10 g ślepej próby paszy, zmieszać i pozostawić na 10 minut przed przejściem do etapu ekstrakcji, o którym mowa w ust. 5.2.

Jeżeli nie można przeprowadzić badania ślepej próby paszy podobnej do badanej próbki, uwzględniając ust. 5.1.1, badanie odzysku można przeprowadzić, stosując metodę dodawania wzorca. W tym przypadku przeznaczona do analizy próbka jest fortyfikowana przez dodanie znanej ilości karbadoksu, o wadze zbliżonej do tej, która znajduje się w analizowanej próbce. Próbkę tę poddaje się analizie wraz z niefortyfikowaną próbką, a odzysk może być obliczony przez odjęcie od próbki fortyfikowanej masy próbki niefortyfikowanej.

5.2. Ekstrakcja

5.2.1. Pasze

Odważyć, z dokładnością do 0,01 g, około 10 g próbki i przenieść do kolby stożkowej o pojemności 200 ml. Dodać 15,0 ml wody, zmieszać i równoważyć przez 5 minut. Dodać 35,0 ml mieszaniny metanolu i acetonitrylu, o której mowa w ust. 3.5, zamknąć korkiem i wstrząsać przez 30 minut przy zastosowaniu wstrząsarki lub mieszadła magnetycznego, o których mowa

w ust. 4.1. Przefiltrować roztwór przez filtr szklany, o którym mowa w ust. 4.2. Roztwór zachowuje się do etapu oczyszczania, o którym mowa w ust. 5.3.

5.2.2. Premiksy o zawartości od 0,1 do 2,0% karbadoksu

Odważyć, z dokładnością do 0,01 g, około 1 g niezmielonej próbki i przenieść do kolby stożkowej o pojemności 200 ml. Dodać 15,0 ml wody, zmieszać i równoważyć przez 5 minut. Dodać 35 ml mieszaniny metanolu i acetonitrylu, o której mowa w ust. 3.5, zamknąć korkiem i wstrząsać przez 30 minut przy użyciu wstrząsarki lub mieszadła magnetycznego, o których mowa w ust. 4.1. Przefiltrować ten roztwór przez filtr szklany, o którym mowa w ust. 4.2. Pipetą przenieść podzielną część filtratu do kolby miarowej o pojemności 50 ml. Dodać 15,0 ml wody, uzupełnić do pełnej objętości kolby mieszaniną metanolu z acetonitrylem, o której mowa w ust. 3.5 i zmieszać. Stężenie karbadoksu w roztworze końcowym powinno wynieść około 10 µg/ml. Podzielną część roztworu przefiltrować przez filtr, o którym mowa w ust. 4.6. Przystąpić do oznaczania HPLC, o którym mowa w ust. 5.4.

5.2.3. Preparaty o zawartości powyżej 2,0% karbadoksu

Odważyć, z dokładnością do 0,001 g, około 0,2 g niezmielonej próbki i przenieść do kolby stożkowej o pojemności 250 ml. Dodać 45,0 ml wody, zmieszać i równoważyć przez 5 minut. Dodać 105,0 ml mieszaniny metanolu z acetonitrylem, o której mowa w ust. 3.5, zamknąć korkiem i homogenizować. Poddać próbkę działaniu ultradźwięków przez 15 minut, a następnie wstrząsać przy zastosowaniu wstrząsarki lub mieszadła magnetycznego, o których mowa w ust. 4.1, przez 15 minut. Przefiltrować roztwór przez filtr szklany, o którym mowa w ust. 4.2. Rozcieńczyć podzielną część filtratu mieszaniną wody i mieszaniną metanolu z acetonitrylem, o której mowa w ust. 3.12 aby uzyskać ostateczne stężenie karbadoksu od 10 do 15 µg/ml, w przypadku preparatów 10%, współczynnik rozcieńczania wynosi 10. Podzielną część przefiltrować przez filtr, o którym mowa w ust. 4.6. Przystąpić do analizy HPLC, o której mowa w ust. 5.4.

5.3. Oczyszczanie

5.3.1. Przygotowanie kolumny tlenku glinu

Odważyć 4 g tlenku glinu, o którym mowa w ust. 3.4, i przenieść do szklanej kolumny, o której mowa w ust. 4.3.

5.3.2. Czyszczenie próbki

Umieścić 15 ml odfiltrowanego ekstraktu, o którym mowa w ust. 5.2.1, w kolumnie z tlenkiem glinu i usunąć pierwsze 2 ml eluatu. Następnie zebrać kolejne 5 ml i przefiltrować podzielną część przez filtr, o którym mowa w ust. 4.6. Przystąpić do oznaczania HPLC, o którym mowa w ust. 5.4.

5.4. Oznaczanie HPLC

5.4.1. Parametry

Podane niżej parametry oznaczania są przykładowe.

Kolumna do chromatografii cieczowej, o której mowa w ust. 4.4.1: 300 mm x 4 mm, C₁₈, wypełnienie 10 µm lub równoważne

Faza ruchoma, o której mowa w ust. 3.10: Mieszanina, w stosunku 825 + 175 (v + v): buforu octanowego, o którym mowa w ust. 3.9, i acetonitrylu, o którym mowa w ust. 3.2

Szybkość przepływu: 1,5 – 2 ml/min

Długość fali przy detekcji: 365 nm

Dozowana objętość: 20 µl

Dopuszczalne jest zastosowanie innych parametrów gwarantujących uzyskanie równoważnych wyników.

Sprawdzić stabilność systemu chromatograficznego, dozując kilka razy roztwór kalibracyjny, o którym mowa w ust. 3.11.2, zawierający 5,0 µg/ml, aż do uzyskania stałych wysokości (powierzchni) piku i czasów retencji.

5.4.2. Krzywa kalibracyjna

Zadobować kilka razy każdego z wzorcowych roztworów, o których mowa w ust. 3.11.2, i określić wysokości (powierzchnie) piku dla każdego stężenia. Wykreślić krzywą kalibracyjną, odkładając średnie wysokości (powierzchnie) piku kalibracyjnych roztworów na osi rzędnych oraz odpowiadające im stężenia w µg/ml na osi odciętych.

5.4.3. Roztwór próbki

Zadobować kilka razy ekstrakt próbki otrzymany dla pasz, o których mowa w ust. 5.2.1, dla premiksów, o których mowa w ust. 5.2.2 oraz dla preparatów, o których mowa w ust. 5.2.3 i określić średnią wysokość (powierzchnię) piku dla pików karbadoksu.

6. OBLICZANIE WYNIKÓW

Na podstawie średniej wysokości (powierzchni) pików karbadoksu roztworu próbki, określić stężenie roztworu próbki w µg/ml odnosząc się do wykresu kalibracyjnego, o którym mowa w ust. 5.4.2.

6.1. Pasze

Zawartość karbadoksu w próbce, wyrażoną w mg/kg, obliczyć według następującego wzoru:

$$w = \frac{\delta \times V_1}{m} \text{ [mg/kg]}$$

gdzie:

δ – stężenie w µg/ml karbadoksu w ekstrakcie próbki, o którym mowa w ust. 5.3.2,

V₁ – objętość w ml ekstraktu, w przypadku pasz, proponuje się zastosować 50 ml,

m – masa w g próbki.

6.2. Premiksy i preparaty

Zawartość karbadoksu w próbce, wyrażoną w mg/kg, obliczyć według następującego wzoru:

$$w = \frac{\delta \times V_2 \times f}{m} \text{ [mg/kg]}$$

gdzie:

δ – stężenie w $\mu\text{g/ml}$ karbadoksu w ekstrakcie próbki, o którym mowa w ust. 5.2.2, lub w ust. 5.2.3,

V_2 – objętość ekstraktu w ml, 50 ml w przypadku premiksów lub 150 ml w przypadku preparatów,

f – współczynnik rozcieńczenia zgodny z ust. 5.2.2 w przypadku premiksów lub zgodny z ust. 5.2.3 w przypadku preparatów,

m – masa w g próbki.

7. SPRAWDZENIE METODY

7.1. Sprawdzenie tożsamości

Tożsamość analitu może być potwierdzona przez kochromatografię lub zastosowanie detektora diodowego, przy użyciu którego porównuje się widma ekstraktu próbki i roztworu kalibracyjnego, o którym mowa w ust. 3.11.2, zawierającego 10,0 $\mu\text{g/ml}$ karbadoksu.

7.1.1. Kochromatografia

Ekstrakty próbki fortyfikuje się przez dodanie odpowiedniej ilości roztworu kalibracyjnego, o którym mowa w ust. 3.11.2. Ilość dodanego karbadoksu powinna odpowiadać ilości karbadoksu w ekstrakcie próbki.

Powinna zwiększyć się tylko wysokość pików karbadoksu po uwzględnieniu zarówno dodanej ilości jak i stopnia rozcieńczenia ekstraktu. Szerokość pików w połowie jego wysokości powinna mieścić się w granicach $\pm 10\%$ pierwotnej szerokości.

7.1.2. Detekcja diodowa

Wyniki ocenia się według następujących kryteriów:

1) długość fali odpowiadająca maksymalnej absorpcji próbki i widm wzorcowych zapisana w punkcie wierzchołka pików zarejestrowanego na chromatogramie powinna być taka sama, po uwzględnieniu marginesu określonego zdolnością rozdzielczą systemu detekcji. W przypadku detekcji diodowej zdolność rozdzielcza mieści się zazwyczaj w granicach $\pm 2 \text{ nm}$.

2) w zakresie pomiędzy 225 a 400 nm próbka i widma wzorcowe zapisane w punkcie wierzchołka pików na chromatogramie nie powinny się różnić dla tych części widma w zakresie od 10 do 100% względnej absorpcji. Kryterium uważa się za spełnione, jeżeli występują te same maksymalne wartości i w ramach żadnego z obserwowanych punktów, rozbieżność między dwoma widmami nie jest większa niż 15% absorpcji wzorcowego analitu.

3) w zakresie od 225 do 400 nm widma wartości rosnących, szczytowych i malejących ekstraktu próbki nie powinny różnić się od siebie dla tych części widma w zakresie od 10 do 100% absorpcji względnej. Kryterium uważa się za spełnione, jeżeli występują te same maksymalne wartości i w ramach żadnego z obserwowanych punktów, rozbieżność między dwoma widmami nie jest większa niż 15% widma wartości szczytowej.

Jeżeli jedno z tych kryteriów nie jest spełnione, obecność analitu nie jest potwierdzona.

7.2. Powtarzalność

Różnica pomiędzy wynikami dwóch równoległych oznaczeń wykonanych dla tej samej próbki nie powinna przekraczać 15% najwyższego wyniku, dla zawartości karbadoksu równej lub wyższej niż 10 mg/kg.

7.3. Odzysk

W przypadku fortyfikacji ślepej próby paszy lub próby paszy odzysk powinien wynosić co najmniej 90%.

8. WYNIKI BADAŃ MIĘDZYLABORATORYJNYCH

W ramach współpracy ośmiu laboratoriów, przeprowadzono analizę sześciu próbek pasz, czterech premiksów i trzech preparatów. Analizę każdej próbki przeprowadzono dwukrotnie⁴⁾. W tabeli 19 i 20 podano wyniki przeprowadzonych badań porównawczych.

Tabela 19. Wyniki badań porównawczych dla pasz.

	Próbka 1	Próbka 2	Próbka 3	Próbka 4	Próbka 5	Próbka 6
L	8	8	8	8	8	8
n	15	14	15	15	15	15
Średnia (mg/kg)	50,0	47,6	48,2	49,7	46,9	49,7
S_r (mg/kg)	2,90	2,69	1,38	1,55	1,52	2,12
CV_r (%)	5,8	5,6	2,9	3,1	3,2	4,3
S_R (mg/kg)	3,92	4,13	2,23	2,58	2,26	2,44
CV_R (%)	7,8	8,7	4,6	5,2	4,8	4,9
Zawartość nominalna (mg/kg)	50,0	50,0	50,0	50,0	50,0	50,0

Tabela 20. Wyniki badań porównawczych dla premiksów i preparatów.

	Premiksy				Preparaty		
	A	B	C	D	A	B	C
L	7	7	7	7	8	8	8
n	14	14	14	14	16	16	16
Średnia (mg/kg)	8,89	9,29	9,21	8,76	94,6	98,1	104
S_r	0,37	0,28	0,28	0,44	4,1	5,1	7,7
CV_r (%)	4,2	3,0	3,0	5,0	4,3	5,2	7,4

⁴⁾ Bardziej szczegółowe informacje dotyczące tej analizy można znaleźć w *Dzienniku AOAC International*, Tom 71, 1988, s. 484 - 490.

S _R (mg/kg)	0,37	0,28	0,40	0,55	5,4	6,4	7,7
CV _R	4,2	3,0	4,3	6,3	5,7	6,5	7,4
Zawartość nominalna (mg/kg)	10,0	10,0	10,0	10,0	100	100	100

L – liczba laboratoriów; n – liczba pojedynczych wartości; s_r – odchylenie standardowe powtarzalności; CV_r – współczynnik zmienności powtarzalności; S_R – odchylenie standardowe odtwarzalności; CV_R – współczynnik zmienności odtwarzalności.

6.9. OZNACZANIE OLAQUINDOKSU

2-[N-2'-(hydroksyetyl)karbamoil]-3-metylochinoksalino-N¹,N⁴-dioksyd

1. CEL I ZAKRES STOSOWANIA METODY

Metoda służy do oznaczania zawartości olaquindoksu w paszach. Dolna granica oznaczalności metody wynosi 5 mg/kg.

2. SPOSÓB PRZEPROWADZENIA METODY

Próbka jest ekstrahowana mieszaniną wody i metanolu. Zawartość olaquindoksu jest oznaczana metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) z fazą odwróconą przy użyciu detektora UV.

3. ODCZYNNIKI I ROZTWORY

3.1. Metanol.

3.2. Metanol do HPLC.

3.3. Woda, do HPLC.

3.4. Faza ruchoma do HPLC:

Mieszanina: w stosunku 900 + 100 (V + V): wody, o której mowa w ust. 3.3, i metanolu, o którym mowa w ust. 3.2.

3.5. Substancja wzorcowa: czysty olaquindoks (2-[N-2'-(hydroksyetyl)karbamoil]-3-metylochinoksalino-N¹,N⁴-dioksyd, E 851.

3.5.1. Roztwór wzorcowy podstawowy olaquindoksu, 250 µg/ml.

Odważyć, z dokładnością do 0,1 mg, 50 mg olaquindoksu, o którym mowa w ust. 3.5, do kolby miarowej o pojemności 200 ml i dodać około 190 ml wody. Następnie umieścić kolbę w łaźni ultradźwiękowej, o której mowa w ust. 4.1, na 20 minut. Po zastosowaniu ultradźwięków roztwór doprowadzić do temperatury pokojowej, uzupełnić wodą do pełnej objętości kolby i zmieszać. Przykryć kolbę folią aluminiową i przechowywać w lodówce. Roztwór powinien być przygotowywany raz w miesiącu.

3.5.2. Roztwór wzorcowy pośredni olaquindoksu, 25 µg/ml.

Przenieść 10 ml podstawowego roztworu wzorcowego, o którym mowa w ust. 3.5.1, do kolby miarowej o pojemności 100 ml, uzupełnić do pełnej objętości kolby fazą ruchomą, o której mowa w ust. 3.4, i zmieszać. Przykryć kolbę folią aluminiową. Roztwór powinien być przygotowywany codziennie.

3.5.3. Roztwory kalibracyjne.

Do kolb miarowych o pojemności 50 ml przenieść 1,0, 2,0, 5,0, 10,0, 15,0 i 20,0 ml pośredniego roztworu wzorcowego, o którym mowa w ust. 3.5.2. Uzupełnić do pełnej objętości kolb fazą ruchomą, o której mowa w ust. 3.4, i zmieszać. Przykryć kolbę folią aluminiową. Roztwory te odpowiadają odpowiednio 0,5, 1,0, 2,5, 5,0, 7,5, i 10 µg olaquindoksu / ml.

Roztwory powinny być przygotowywane codziennie.

4. APARATURA I SPRZĘT

4.1. Łaźnia ultradźwiękowa.

4.2. Wstrząsarka mechaniczna.

4.3. Aparat do HPLC z detektorem o zmiennej długości fali lub detektorem diodowym.

4.3.1. Kolumna do chromatografii cieczowej o wymiarach 250 mm x 4 mm, C₁₈, wypełnienie 10 µm lub równoważne.

4.4. Filtr membranowy, 0,45 µm.

5. SPOSÓB POSTĘPOWANIA

Z uwagi na fakt że, olaquindoks jest wrażliwy na działanie światła zaleca się, aby wszystkie czynności były przeprowadzane przy ograniczonym dostępie światła lub z zastosowaniem szkła oranżowego.

5.1. Wskazówki ogólne

5.1.1. Podać analizie ślepą próbę paszy w celu potwierdzenia braku olaquindoksu i substancji interferujących.

5.1.2. Badanie odzysku przeprowadzić, analizując ślepą próbę paszy fortyfikowaną przez dodanie znanej ilości olaquindoksu, o wadze zbliżonej do tej, która znajduje się w próbce. Aby fortyfikować na poziomie 50 mg/kg przenieść 10 ml podstawowego roztworu wzorcowego, o którym mowa w ust. 3.5.1, do kolby stożkowej o pojemności 250 ml i odparować roztwór do około 0,5 ml. Dodać 50 g ślepej próby paszy, dokładnie zmieszać i pozostawić na 10 minut, kilkakrotnie mieszając przed przejściem do etapu ekstrakcji, o którym mowa w ust. 5.2.

Ślepa próba paszy powinna być podobna do badanej próbki, a jej analiza nie powinna potwierdzać obecności olaquindoksu.

5.2. Ekstrakcja

Odważyć, z dokładnością 0,01 g, około 50 g próbki. Przenieść do kolby stożkowej o pojemności 1 l, dodać 100 ml metanolu, o którym mowa w ust. 3.1 i umieścić kolbę na 5 minut w łaźni ultradźwiękowej, o której mowa w ust. 4.1. Dodać 410 ml wody i pozostawić w łaźni ultradźwiękowej na następne 15 minut. Wyjąć kolbę z łaźni i wstrząsać nią przez 30 minut przy użyciu wstrząsarki mechanicznej, o której mowa w ust. 4.2, następnie przefiltrować przez pośladowany filtr. Przenieść 10 ml filtratu do kolby miarowej o pojemności 20 ml, uzupełnić do pełnej objętości kolby wodą i zmieszać. Przefiltrować podzielną część przez filtr membranowy, o którym mowa w ust. 4.4, przy uwzględnieniu ust. 9. Przystąpić do oznaczania HPLC, o którym mowa w ust. 5.3.

5.3. Oznaczanie HPLC

5.3.1. Parametry

Podane niżej parametry oznaczania są przykładowe.

Kolumna chromatograficzna, o której mowa w ust. 4.3.1:	250 mm x 4 mm, C ₁₈ , wypełnienie 10 µm lub równoważne
Faza ruchoma, o której mowa w ust. 3.4:	mieszanina, w stosunku 900 + 100 (v + v): wody, o której mowa w ust. 3.3 i metanolu, o którym mowa w ust. 3.2
Szybkość przepływu:	1,5 – 2 ml/min
Długość fali przy detekcji:	380 nm
Dozowana objętość:	20 µl – 100 µl

Sprawdzić stabilność systemu chromatograficznego, dozując kilkakrotnie roztwór kalibracyjny, o którym mowa w ust. 3.5.3 zawierający 2,5 µg/ml, aż do uzyskania stałych wysokości pików i czasów retencji.

Dopuszczalne jest zastosowanie innych parametrów gwarantujących uzyskanie równoważnych wyników.

5.3.2. Krzywa kalibracyjna

Zadawać kilka razy każdy z kalibracyjnych roztworów, o których mowa w ust. 3.5.3, i określić średnie wysokości (powierzchnie) pików dla każdego stężenia. Wykreślić krzywą kalibracyjną, odkładając średnie wysokości (powierzchnie) pików kalibracyjnych roztworów na osi rzędnych oraz odpowiadające im stężenia w µg/ml na osi odciętych.

5.3.3. Roztwór próbki

Zadawać kilka razy ekstrakt próbki, o którym mowa w ust. 5.2, stosując taką samą objętość jak przy kalibracyjnych roztworach, i określić średnią wysokość (powierzchnię) pików dla pików olaquindoksu.

6. OBLICZANIE WYNIKÓW

Na podstawie średniej wysokości (powierzchni) pików olaquindoksu roztworu próbki, określić stężenie roztworu próbki w µg/ml odnosząc się do wykresu kalibracyjnego, o którym mowa w ust. 5.3.2.

Zawartość olaquindoksu, w próbce w mg/kg obliczyć według następującego wzoru:

$$w = \frac{c \times 1000}{m}$$

gdzie:

c – stężenie w µg/ml olaquindoksu w ekstrakcie próbki, o którym mowa w ust. 5.2,

m – masa w g próbki, o której mowa w ust. 5.2.

7. SPRAWDZENIE METODY

7.1. Sprawdzenie tożsamości

Tożsamość analitu może być potwierdzona przez kochromatografię lub zastosowanie detektora diodowego, przy użyciu którego porównuje się widma ekstraktu próbki, o którym mowa w ust. 5.2, i roztworu kalibracyjnego, o którym mowa w ust. 3.5.3, zawierającego 5 µg/ml.

7.1.1. Kochromatografia

Ekstrakt próbki, o którym mowa w ust. 5.2, fortyfikuje się przez dodanie odpowiedniej ilości roztworu kalibracyjnego, o którym mowa w ust. 3.5.3. Ilość dodanego olaquindoksu powinna odpowiadać ilości olaquindoksu w ekstrakcie próbki.

Powinno zwiększyć się tylko wysokość pików olaquindoksu po uwzględnieniu zarówno dodanej ilości jak i rozcieńczenia ekstraktu. Szerokość pików w połowie jego wysokości powinna mieścić się w granicach ±10% pierwotnej szerokości pików niefortyfikowanego ekstraktu próbki.

7.1.2. Detekcja diodowa

Wyniki ocenia się według następujących kryteriów:

1) długość fali odpowiadająca maksymalnej absorpcji próbki i widm wzorcowych zapisana w punkcie wierzchołka pików zarejestrowanego na chromatogramie powinna być taka sama, po uwzględnieniu marginesu określonego zdolnością rozdzielczą systemu detekcji. W przypadku detekcji diodowej zdolność rozdzielcza mieści się zazwyczaj w granicach ±2 nm.

2) w zakresie pomiędzy 220 a 400 nm próbka i widma wzorcowe zapisane w punkcie wierzchołka pików na chromatogramie nie powinny się różnić dla tych części widma w zakresie od 10 do 100% względnej absorpcji. Kryterium uważa się za spełnione, jeżeli występują te same maksymalne wartości i w ramach żadnego z obserwowanych punktów, rozbieżność między dwoma widmami nie jest większa niż 15% absorpcji wzorcowego analitu.

3) w zakresie od 220 do 400 nm widma wartości rosnących, szczytowych i malejących ekstraktu próbki nie powinny różnić się od siebie dla tych części widma w zakresie od 10 do 100% absorpcji względnej. Kryterium uważa się za spełnione, jeżeli występują te same maksymalne wartości i w ramach żadnego z obserwowanych punktów, rozbieżność między dwoma widmami nie jest większa niż 15% widma wartości szczytowej.

Jeżeli jedno z tych kryteriów nie jest spełnione, obecność analitu nie zostanie potwierdzona.

7.2. Powtarzalność

Różnica pomiędzy wynikami dwóch równoległych oznaczeń wykonanych dla tej samej próbki nie powinna przekraczać 15% najwyższego wyniku, dla zawartości olaquindoksu od 10 mg/kg do 200 mg/kg.

7.3. Odzysk

Odzysk olaquindoksu dodanego do ślepej próby paszy nie może być niższy od 90%.

8. WYNIKI BADAŃ MIĘDZYLABORATORYJNYCH

W ramach współpracy trzynastu laboratoriów, przeprowadzono analizę czterech próbek. Były to próbki pobrane z paszy dla prosiąt, w tym jedna ślepa próba. W tabeli 21 podano wyniki przeprowadzonych badań porównawczych.

Tabela 21. Wyniki badań porównawczych.

	Próbka 1	Próbka 2	Próbka 3	Próbka 4
L	13	10	11	11
n	40	40	44	44
Średnia (mg/kg)	–	14,6	48,0	95,4
S _r (mg/kg)	–	0,82	2,05	6,36
S _R (mg/kg)	–	1,62	4,28	8,42
CV _r (%)	–	5,6	4,3	6,7
CV _R (%)	–	11,1	8,9	8,8
Nominalna zawartość (mg/kg)	–	15	50	100
Odzysk (%)	–	97,3	96,0	95,4

L – liczba laboratoriów; n – liczba pojedynczych wartości; S_r – odchylenie standardowe powtarzalności; S_R – odchylenie standardowe odtwarzalności wyników; CV_r – współczynnik zmienności powtarzalności; CV_R – współczynnik zmienności powtarzalności.

9. OBJAŚNIENIA

Metoda nie była sprawdzana dla pasz zawierających więcej niż 100 mg/kg olaquindoksu, zakłada się jednak otrzymanie zadowalających wyników poprzez zmniejszenie odważki analitycznej lub rozcieńczenie ekstraktu, o którym mowa w ust. 5.2, w celu otrzymania stężenia w zakresie krzywej kalibracyjnej, o którym mowa w ust. 5.3.2.

ROZDZIAŁ 7

BADANIE KOKCYDIOSTATYKÓW I INNYCH PRODUKTÓW LECZNICZYCH

7.1. OZNACZANIE METYLOBENZOQUATU

(7-benzylloksy-6-butylo-3-metoksykarbonylo-4-chinolon)

1. CEL I ZAKRES STOSOWANIA METODY

Metoda służy do oznaczania zawartości metylobenzoquatu w paszach. Dolna granica oznaczalności metody wynosi 1 mg/kg.

2. SPOSÓB PRZEPROWADZENIA METODY

Metylobenzoquat ekstrahuje się z próbki metanolem w roztworze kwasu metanosulfonowego. Ekstrakt oczyszcza się dwuchlorometanem metodą chromatografii jonowymiennej, a następnie ponownie dwuchlorometanem. Zawartość metylobenzoquatu jest oznaczana metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej z odwróconą fazą (HPLC) przy użyciu detektora UV.

3. ODCZYNNIKI I ROZTWORY

3.1. Dwuchlorometan.

3.2. Metanol do HPLC.

3.3. Faza ruchoma HPLC:

Mieszanina, w stosunku 75 + 25 (v+v): metanolu, o którym mowa w ust. 3.2, i wody do HPLC.

Przefiltrować przez filtr, o którym mowa w ust. 4.5, i odgazować roztwór, przy czym proponuje się poddać roztwór działaniu ultradźwięków przez 10 minut.

3.4. Roztwór kwasu metanosulfonowego, s=2%.

Rozcieńczyć 20,0 ml kwasu metanosulfonowego metanolem, o którym mowa w ust. 3.2, do objętości 1 litra.

3.5. Roztwór kwasu chlorowodorowego, s=10%

Rozcieńczyć 100 ml kwasu chlorowodorowego ($\rho_{20} = 1,18$ g/ml) wodą do objętości 1 litra.

3.6. Żywica kationowowymienna Amberlit CG-120 (Na), 100 do 200 oczek.

Żywicę częściowo przygotowuje się przed użyciem sporządzając zawiesinę ze 100 g żywicy i 500 ml roztworu kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust. 3.5, i ogrzewać na płycie grzewczej do wrzenia, ciągle mieszając. Pozostawić do schłodzenia i zdekantować kwasem. Przefiltrować w warunkach próżni na filtrze z bibuły. Żywicę przemyć dwukrotnie 500 ml porcjami wody, a następnie 250 ml metanolu, o którym mowa w ust. 3.2. Przemyć ponownie żywicę 250 ml metanolu i wysuszyć, przepuszczając powietrze przez warstwę żywicy na filtrze. Wysuszoną żywicę przechowywać w zakorkowanej butelce.

3.7. Substancja wzorcowa: czysty metylobenzoquat (7-benzylloksy-6-butylo-3-metoksykarbonylo-4-chinolon)

3.7.1. Roztwór wzorcowy podstawowy metylobenzoquatu, 500 µg/ml.

Odważyć 50 mg substancji wzorcowej, o której mowa w ust. 3.7, z dokładnością do 0,1 mg, rozpuścić w roztworze kwasu metanosulfonowego, o którym mowa w ust. 3.4, w kolbie miarowej o pojemności 100 ml, uzupełnić tym kwasem do pełnej objętości kolby i zmieszać.

3.7.2. Roztwór wzorcowy pośredni metylobenzoquatu, 50 µg/ml.

Do kolby miarowej o pojemności 50 ml przenieść 5 ml podstawowego roztworu wzorcowego metylobenzoquatu, o którym mowa w ust. 3.7.1, uzupełnić metanolem, o którym mowa w ust. 3.2, do pełnej objętości kolby i zmieszać.

3.7.3. Roztwory wzorcowe do kalibracji.

Do kolb miarowych o pojemności 25 ml przenieść kolejno 1,0, 2,0, 3,0, 4,0 i 5,0 ml pośredniego roztworu wzorcowego metylobenzoquatu, o którym mowa w ust. 3.7.2. Uzupełnić zawartość do pełnej objętości kolb fazą ruchomą, o której mowa

w ust. 3.3, i zmieszać. Roztwory te mają odpowiednio stężenia 2,0, 4,0, 6,0, 8,0 i 10,0 µg/ml metylobenzoquatu. Roztwory te przygotować bezpośrednio przed użyciem

4. APARATURA I SPRZĘT

4.1 Wstrząsarka laboratoryjna.

4.2. Próżniowa wyparka rotacyjna.

4.3. Kolumna szklana (250 mm x 15 mm) z kranem i zbiornikiem o pojemności około 200 ml.

4.4. Sprzęt do HPLC z detektorem UV o zmiennej długości fali miarowej lub z detektorem diodowym.

4.4.1. Kolumna do chromatografii cieczowej: 300 mm x 4 mm, C₁₈, wypełnienie 10 µm lub równoważne.

4.5. Filtry membranowe, 0,22 µm.

4.6. Filtry membranowe, 0,45 µm.

5. SPOŚÓB POSTĘPOWANIA

5.1. Wskazówki ogólne

5.1.1. Poddać analizie ślełą próbę paszy w celu sprawdzenia czy nie zawiera ona zarówno metylobenzoquatu ani substancji interferujących.

5.1.2. Przeprowadzić badanie odzysku, analizując ślełą próbę paszy fortyfikowaną przez dodanie znanej ilości metylobenzoquatu, o wadze zbliżonej do tej, która znajduje się w analizowanej próbce. Aby fortyfikować na poziomie 15 mg/kg, dodać 600 µl wzorcowego roztworu podstawowego, o którym mowa w ust. 3.7.1, do 20 g ślepej próby paszy, zmieszać i odczekać 10 minut do rozpoczęcia ekstrakcji, o której mowa w ust. 5.2.

Ślepa próba paszy powinna być podobna do badanej próbki, a jej analiza nie powinna potwierdzać obecności metylobenzoquatu.

5.2. Ekstrakcja

Odważyć około 20 g przygotowanej próby z dokładnością do 0,01 g i umieścić w kolbie stożkowej o pojemności 250 ml. Dodać 100,0 ml roztworu kwasu metanosulfonowego, o którym mowa w ust. 3.4, i wstrząsać mechanicznie przy zastosowaniu wstrząsarki, o której mowa w ust. 4.1, przez 30 minut. Roztwór filtrować przez filtr z bibuły i zachować filtrat do rozdziału w układzie ciecz – ciecz, o którym mowa w ust. 5.3.

5.3. Rozdział w układzie ciecz – ciecz

Do rozdzielacza o pojemności 500 ml zawierającego 100 ml roztworu kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust. 3.5, wprowadzić 25 ml otrzymanego wcześniej filtratu, o którym mowa w ust. 5.2. Dodać do rozdzielacza 100 ml dwuchlorometanu, o którym mowa w ust. 3.1, i wstrząsać przez minutę. Pozostawić do rozdzielenia się warstw, a następnie dolną warstwę (dwuchlorometanową) spuścić do kolby okrągłodennej o pojemności 500 ml. Powtórzyć ekstrakcję fazy wodnej, dodając dwie następne porcje 40 ml dwuchlorometanu i połączyć je z pierwszym ekstraktem w kolbie okrągłodennej. Odparować ekstrakt dwuchlorometanu do sucha na próżniowej wyparce rotacyjnej, o której mowa w ust. 4.2, przy zmniejszonym ciśnieniu w temperaturze 40°C. Pozostałość rozpuścić w od 20 do 25 ml metanolu, o którym mowa w ust. 3.2, zamknąć kolbę i zachować całość ekstraktu do chromatografii jonowymiennej, o której mowa w ust. 5.4.

5.4. Chromatografia jonowymienna

5.4.1. Przygotowanie kolumny kationowo wymiennej

Dolny koniec kolumny, o której mowa w ust. 4.3, zatkać zwitkiem waty szklanej. Przygotować zawieszinę 5 g żywicy kationitowo-wymiennej, o której mowa w ust. 3.6, i 50 ml kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust. 3.5. Wlać ją do kolumny i pozostawić do ustabilizowania się. Zlać nadmiar kwasu znad powierzchni żywicy i przemywać kolumnę wodą do obojętnego odczynu wycieku wobec lakmusu. Przenieść 50 ml metanolu, o którym mowa w ust. 3.2, do kolumny i pozwoić, aby przesączył się do powierzchni żywicy.

5.4.2. Chromatografia kolumnowa

Filtrat uzyskany w sposób o którym mowa w ust. 5.3, przenieść ostrożnie pipetą do kolumny. Kolbę okrągłodenną przemyć dwoma porcjami od 5 do 10 ml metanolu, o którym mowa w ust. 3.2, a następnie roztwór z przemycia nanieść na kolumnę. Poczekać aż ekstrakt dojdzie do powierzchni żywicy, następnie przemyć kolumnę 50 ml metanolu, zapewniając, że szybkość wzbierania ekstraktu nie jest większa niż 5 ml na minutę. Wyciek odrzucić. Metylobenzoquat wymyć z kolumny przy użyciu 150 ml roztworu kwasu metanosulfonowego, o którym mowa w ust. 3.4, i zebrać eluat w kolbie stożkowej o pojemności 250 ml.

5.5. Rozdział w układzie ciecz – ciecz

Otrzymany eluat w sposób określony w ust. 5.4.2, przenieść do rozdzielacza o pojemności 1 litra. Przemyc kolbę stożkową od 5 do 10 ml metanolu, o którym mowa w ust. 3.2, i roztwór po przemyciu dołączyć do zawartości rozdzielacza. Dodać 300 ml roztworu kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust. 3.5, i 130 ml dwuchlorometanu, o którym mowa w ust. 3.1. Wstrząsać przez minutę i pozostawić do rozdzielenia faz. Dolną warstwę (dwuchlorometan) przenieść do kolby okrągłodennej o pojemności 500 ml. Powtórzyć ekstrakcję fazy wodnej następnymi dwoma porcjami 70 ml dwuchlorometanu i ekstrakt dołączyć do zawartości pierwszej kolby okrągłodennej.

Ekstrakt dwuchlorometanu odparować do sucha na próżniowej wyparce rotacyjnej, o której mowa w ust. 4.2, przy zmniejszonym ciśnieniu w temperaturze 40°C. Pozostałość rozpuścić w kolbie zawierającej około 5 ml metanolu, o którym mowa w ust. 3.2, i roztwór przenieść ilościowo do kolby miarowej o pojemności 10 ml. Przemyc 2 razy kolbę okrągłodenną następnymi dwoma porcjami 1 do 2 ml metanolu, a następnie przenieść do kolby miarowej. Uzupelnąć metanolem do pełnej objętości kolby i zmieszać. Podzielna część jest filtrowana przez filtr membranowy, o którym mowa w ust. 4.6. Roztwór zachować do oznaczania HPLC, o którym mowa w ust. 5.6.

5.6. Oznaczanie HPLC

5.6.1. Parametry

Podane niżej parametry oznaczania są przykładowe.

Kolumna do chromatografii cieczowej, o której mowa w ust. 4.4.1:	300 mm x 4 mm, C ₁₈ , wypełnienie 10 µm lub równoważne
Faza ruchoma do HPLC:	mieszanina, w stosunku 75 + 25 (V+V): metanolu, o którym mowa w ust. 3.2 i wody do HPLC
Szybkość przepływu:	od 1 do 1,5 ml/min

Długości fali przy detekcji:

265 nm

Dozowana objętość:

od 20 do 50 µl

Sprawdzić stabilność układu chromatograficznego, dozując kilkakrotnie roztwór wzorcowy do kalibracji, o którym mowa w ust. 3.7.3, zawierający 4 µg/ml, aż do ustalenia stałych wysokości (powierzchni) piku i czasów retencji.

Dopuszczalne jest zastosowanie innych parametrów gwarantujących uzyskanie równoważnych wyników.

5.6.2. Krzywa kalibracyjna

Zadobować kilka razy każdy z kalibracyjnych roztworów, o których mowa w ust. 3.7.3, i określić wysokości (powierzchnie) piku dla każdego stężenia. Wykreślić krzywą kalibracyjną, odkładając średnie wysokości (powierzchnie) piku kalibracyjnych roztworów na osi rzędnych oraz odpowiadające im stężenia w µg/ml na osi odciętych.

5.6.3. Badany roztwór próbki

Zadobować kilka razy ekstrakt próbki, o którym mowa w ust. 5.5, stosując taka samą objętość jak przy kalibracyjnych roztworach, i wyznaczyć średnią wysokość (powierzchnię) piku metylobenzoquatu.

6. OBLICZANIE WYNIKÓW

Na podstawie średniej wysokości (powierzchni) pików metylobenzoquatu roztworu próbki, określić stężenie roztworu próbki w µg/ml odnosząc się do wykresu kalibracyjnego, o którym mowa w ust. 5.6.2.

Zawartość metylobenzoquatu w (mg/kg) w próbce obliczyć według następującego wzoru:

$$w = \frac{c \times 200}{m}$$

gdzie:

c – stężenie w µg/ml metylobenzoquatu w roztworze próbki,

m – masa w g badanej próbki.

7. SPRAWDZENIE METODY

7.1. Sprawdzanie tożsamości

Tożsamość analitu może być potwierdzona przez kochromatografię lub zastosowanie detektora diodowego, przy użyciu którego porównuje się widma ekstraktu próbki i roztworu kalibracyjnego, o którym mowa w ust. 3.7.3, zawierającym 10 µg/ml metylobenzoquatu.

7.1.1. Kochromatografia

Ekstrakt próbki jest fortyfikowany przez dodanie odpowiedniej ilości pośredniego roztworu wzorcowego, o którym mowa w ust. 3.7.2. Ilość dodanego metylobenzoquatu powinna być podobna do ilości metylobenzoquatu w ekstrakcie próbki.

Powinna zwiększyć się tylko wysokość piku metylobenzoquatu, po uwzględnieniu zarówno dodanej ilości jak i rozcieńczenia ekstraktu. Szerokość piku w połowie jego wysokości nie powinna przekraczać około 10% pierwotnej szerokości.

7.1.2. Detekcja diodowa

Wyniki sprawdza się według następujących kryteriów:

1) długość fali odpowiadająca maksymalnej absorpcji próbki i widm wzorcowych zapisana w punkcie wierzchołka piku zarejestrowanego na chromatogramie powinna być taka sama, po uwzględnieniu marginesu określonego zdolnością rozdzielczą systemu detekcji. W przypadku detekcji diodowej zdolność rozdzielcza mieści się zazwyczaj w granicach 2 nm.

2) w zakresie pomiędzy 220 a 350 nm próbka i widma wzorcowe zapisane w punkcie wierzchołka piku na chromatogramie nie powinny się różnić dla tych części widma w zakresie od 10 do 100% względnej absorpcji. Kryterium uważa się za spełnione, jeżeli występują te same maksymalne wartości i w ramach żadnego z obserwowanych punktów, rozbieżność między dwoma widmami nie jest większa niż 15% absorpcji wzorcowego analitu.

3) w zakresie od 220 do 350 nm widma wartości rosnących, szczytowych i malejących ekstraktu próbki nie powinny różnić od siebie dla tych części widma w zakresie od 10 do 100% absorpcji względnej. Kryterium uważa się za spełnione, jeżeli występują te same maksymalne wartości i w ramach żadnego z obserwowanych punktów, rozbieżność między dwoma widmami nie jest większa niż 15% widma wartości szczytowej.

Jeżeli jedno z tych kryteriów nie jest spełnione, obecność analitu nie zostanie potwierdzona.

7.2. Powtarzalność

Różnica pomiędzy wynikami dwóch równoległych oznaczeń wykonanych dla tej samej próbki nie powinna przekraczać 10% względem wyższego wyniku, dla zawartości metylobenzoquatu od 4 do 20 mg/kg.

7.3. Odzysk

W przypadku fortyfikowanej ślepej próby odzysk nie powinien być mniejszy niż 90%.

8. WYNIKI BADAŃ MIĘDZYLABORATORYJNYCH

W ramach współpracy dziesięciu laboratoriów, przeprowadzono analizę pięciu próbek. Analizę każdej próbki przeprowadzono dwukrotnie. W tabeli 22 podano wyniki przeprowadzonych badań porównawczych.

Tabela 22. Wyniki badań porównawczych.

	Ślepa próba	Mączka 1	Granulat 1	Mączka 2	Granulat 2
Średnia (mg/kg)	n.w.	4,50	4,50	8,90	8,70

S _r (mg/kg)	-	0,30	0,20	0,60	0,50
CV _r (%)	-	6,70	4,40	6,70	5,70
S _R (mg/kg)	-	0,40	0,50	0,90	1,0
CV _R (%)	-	8,90	11,10	10,10	11,50
Odzysk (%)	-	92,00	93,00	92,00	89,00

n.w. – nie wykryto; S_r – odchylenie standardowe powtarzalności; CV_r – współczynnik zmienności powtarzalności;
S_R – odchylenie standardowe odtwarzalności; CV_R – współczynnik zmienności odtwarzalności

7.2. OZNACZANIE HALOFUGINONU

(dl-trans-7-bromo-6-chloro-3-[3-(3-hydroksy-2-piperydylo)acetylo]-chinazolin-4-(3H)-1 bromowoderek)

1. CEL I ZAKRES STOSOWANIA METODY

Metoda służy do oznaczania zawartości halofuginonu w paszach. Dolna granica oznaczalności wynosi 1 mg/kg.

2. SPOSÓB PRZEPROWADZENIA METODY

Po potraktowaniu gorącą wodą, halofuginon ekstrahuje się w postaci wolnej zasady w octanie etylowym, a następnie rozdziela jako chlorowoderek w wodnym roztworze kwasu. Ekstrakt jest oczyszczany przy wykorzystaniu chromatografii jonowymiennej. Zawartość halofuginonu określa się metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej w układzie faz odwróconych (HPLC) przy użyciu detektora UV.

3. ODCZYNNIKI I ROZTWORY

3.1. Acetonitryl do HPLC.

3.2. Żywica Amberlite XAD-2.

3.3. Octan amonu.

3.4. Octan etylu.

3.5. Lodowaty kwas octowy.

3.6. Substancja wzorcowa halofuginonu (dl-trans-7-bromo-6-chloro-3-[3-(3-hydroksy-2-piperydylo)acetylo]-chinazolin-4-(3H)-1 bromowoderek, E 764).

3.6.1. Roztwór wzorcowy podstawowy halofuginonu, 100 µg/ml:

Odważyć, z dokładnością do 0,1 mg, 50 mg halofuginonu, o którym mowa w ust. 3.6, do kolby miarowej o pojemności 500 ml, rozpuścić w roztworze buforu octanu amonu, o którym mowa w ust. 3.18, uzupełnić do pełnej objętości kolby roztworem buforu i zmieszać. Roztwór jest stabilny przez 3 tygodnie, jeżeli jest przechowywany bez dostępu światła w temperaturze 5°C.

3.6.2. Roztwory kalibracyjne.

Do partii kolb miarowych o pojemności 100 ml przenieść kolejno 1,0, 2,0, 3,0, 4,0, i 6,0 ml roztworu wzorcowego podstawowego halofuginonu, o którym mowa w ust. 3.6.1. Po uzupełnieniu do pełnej objętości kolb fazą ruchomą, o której mowa w ust. 3.21 zmieszać. Roztwory te odpowiadają odpowiednio 1,0, 2,0, 3,0, 4,0 i 6,0 µg/ml halofuginonu. Roztwory te przygotować bezpośrednio przed użyciem.

3.7. Kwas chlorowodorowy (ρ₂₀ = około 1,16 g/ml).

3.8. Metanol.

3.9. Azotan srebra.

3.10. Askorbinian sodu.

3.11. Węglan sodu.

3.12. Chlorek sodu.

3.13. EDTA (etylenodwuaminocteroowy kwas, sól dwusodowa).

3.14. Woda do HPLC.

3.15. Roztwór węglanu sodu, v = 10 g/100 ml.

3.16. Roztwór chlorku sodu nasyconego węglanem sodu, v = 5g/100 ml.

Rozpuścić 50 g węglanu sodu, o którym mowa w ust. 3.11, w wodzie, rozcieńczyć do objętości 1 litra i dodać chlorek sodu, o którym mowa w ust. 3.12, aż do otrzymania roztworu nasyconego.

3.17. Kwas chlorowodorowy, stężenie około 0,1 mol/l.

Rozcieńczyć 10 ml kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust. 3.7, wodą do objętości 1 litra.

3.18. Roztwór buforu octanu amonu, około 0,25 mol/l.

Rozpuścić 19,3 g octanu amonu, o którym mowa w ust. 3.3, i 30 ml kwasu octowego, o którym mowa w ust. 3.5, w wodzie, o której mowa w ust. 3.14, i rozcieńczyć do objętości 1 litra.

3.19. Przygotowanie żywicy Amberlit XAD-2.

Żywicę, o której mowa w ust. 3.2 przemywać odpowiednią ilością wody aż do zaniku wszystkich jonów chlorku, co sprawdza się roztworem azotanu srebra, o którym mowa w ust. 3.20, w odrzuconej fazie wodnej. Następnie przemyć żywicę 50 ml metanolu, o którym mowa w ust. 3.8, odrzucić metanol i przechowywać żywicę w świeżym metanolu.

3.20. Roztwór azotanu srebra około 0,1 mol/l.

Rozpuścić 0,17 g azotanu srebra, o którym mowa w ust. 3.9, w 10 ml wody.

3.21. Faza ruchoma do HPLC.

Zmieszać 500 ml acetonitrylu, o którym mowa w ust. 3.1, z 300 ml roztworu buforu octanu amonu, o którym mowa w ust. 3.18, i 1200 ml wody, o której mowa w ust. 3.14. Przy użyciu kwasu octowego, o którym mowa w ust. 3.5, dostosować do pH 4,3. Przelfiltrować przez filtr membranowy, o którym mowa w ust. 4.8, a następnie odgazować roztwór, do tej czynności proponuje się zastosować łaźnię ultradźwiękową przez 10 minut. Roztwór ten jest stabilny przez miesiąc, jeżeli jest przechowywany bez dostępu światła, w zamkniętym naczyniu.

4. APARATURA I SPRZĘT

4.1. Łaźnia ultradźwiękowa.

4.2. Rotacyjna wyparka warstewkowa.

4.3. Wirówka.

4.4. Wyposażenie do HPLC z detektorem UV o zmiennej długości fali lub z detektorem diodowym.

4.4.1. Kolumna do chromatografii cieczowej o wymiarach 300 mm x 4 mm, C₁₈, wypełnienie 10 µm, lub równoważne.

4.5. Kolumna szklana o wymiarach 300 mm x 10 mm z kranem i filtrem ze spiekanego szkła.

4.6. Filtry z włóknem szklanym o średnicy 150 mm.

4.7. Filtry membranowe 0,45 µm.

4.8. Filtry membranowe 0,22 µm.

5. SPOSÓB POSTĘPOWANIA

Halofuginon w formie wolnej zasady jest niestabilny w roztworach zasadowych i octanu etylowego. Nie powinien pozostawać w octanie etylu dłużej niż 30 minut.

5.1. Wskazówki ogólne

5.1.1. Ślepią próbę paszy przeanalizować w celu sprawdzenia czy nie zawiera ona ani halofuginonu, ani innych substancji interferujących.

5.1.2. Badanie odzysku przeprowadzić analizując ślepią próbę paszy fortyfikowaną przez dodanie znanej ilości halofuginonu, o wadze zbliżonej do tej, która znajduje się w próbce. Aby fortyfikować na poziomie 3 mg/kg, dodać 300 ml podstawowego roztworu wzorcowego halofuginonu, o którym mowa w ust. 3.6.1, do 10 g ślepej próby paszy, zmieszać i pozostawić na 10 minut przed przejściem do etapu ekstrakcji, o którym mowa w ust. 5.2.

Ślepa próba paszy powinna być podobna do badanej próbki, a jej analiza nie powinna potwierdzać obecności halofuginonu.

5.2. Ekstrakcja

Odważyć, z dokładnością do 0,1 g, 10 g przygotowanej próbki i umieścić w probówce wirówkowej o pojemności 200 ml. Dodać 0,5 g askorbinianu sodu, o którym mowa w ust. 3.10, 0,5 g EDTA, o którym mowa w ust. 3.13, 20 ml wody i zmieszać. Probówkę umieścić na 5 minut w łaźni wodnej o temperaturze 80°C. Po schłodzeniu do temperatury pokojowej dodać 20 ml roztworu węglanu sodu, o którym mowa w ust. 3.15, i zmieszać. Niezwłocznie dodać 100 ml octanu etylowego, o którym mowa w ust. 3.4, i ręcznie, energicznie wstrząsać przez 15 sekund. Następnie umieścić probówkę w łaźni ultradźwiękowej, o której mowa w ust. 4.1, na trzy minuty i odkorkować. Wirować przez 2 minuty i zdekantować fazę octanu etylowego przez filtr, o którym mowa w ust. 4.6, do rozdzielacza o pojemności 500 ml. Powtórzyć ekstrakcję tej próbki drugą porcją 100 ml octanu etylowego. Przemywać połączone ekstrakty przez minutę 50 ml roztworu chlorku sodu nasyconego węglanem sodu, o którym mowa w ust. 3.16, i odrzucić warstwę wodną.

Warstwę organiczną ekstrahować przez minutę 50 ml kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust. 3.17. Dolną kwasową warstwę spuścić do rozdzielacza o pojemności 250 ml. Przez 1,5 minuty powtarzać ekstrakcję warstwy organicznej przy użyciu następnej ilości 50 ml kwasu chlorowodorowego i połączyć z ekstraktem uzyskanym z pierwszego procesu. Przemyć połączone ekstrakty kwasu, wirując z 10 ml octanu etylowego, o którym mowa w ust. 3.4, przez około 10 sekund.

Warstwę wodną przenieść ilościowo do kolby okrągłodennej o pojemności 250 ml i odrzucić warstwę organiczną. Znajdujący się jeszcze w roztworze kwasu octan etylowy odparować na rotacyjnej wyparce warstewkowej, o której mowa w ust. 4.2. Temperatura wody w łaźni nie powinna przekraczać 40°C. W warunkach próżni przy około 25 milibarów cały pozostały octan etylu zostanie usunięty w czasie 5 minut w temperaturze 38°C.

5.3. Oczyszczanie

5.3.1. Przygotowanie kolumny z Amberlitem

Dla każdej próbki ekstraktu przygotować kolumnę XAD-2. Przygotowany Amberlit o masie 10 g, o którym mowa w ust. 3.19, umieścić w szklanej kolumnie, o której mowa w ust. 4.5, z metanolem, o którym mowa w ust. 3.8. Wprowadzić mały zwitek szklanej waty w górną część podłoża żywicy. Wydrenować metanol z kolumny, a następnie przemyć żywicę 100 ml wody, zatrzymując proces w momencie, gdy ciecz dotrze do górnej części powierzchni żywicy. Pozostawić kolumnę do ustabilizowania na 10 minut przed użyciem. Nie dopuścić do osuszenia kolumny.

5.3.2. Oczyszczanie próbki

Ekstrakt uzyskany w sposób określony w ust. 5.2 przenieść ilościowo na górną powierzchnię kolumny z Amberlitem przygotowanej w sposób określony w ust. 5.3.1 i eluować, odrzucając eluat. Szybkość elucji nie powinna przekraczać 20 ml/min. Przemyć kolbę okrągłodenną 20 ml kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust. 3.17. Użyć tego kwasu do przemycia kolumny z żywicą. Usunąć wszystkie pozostałości roztworu kwasu strumieniem powietrza. Wylać popłuczyny. Dodać 100 ml metanolu, o którym mowa w ust. 3.8, na kolumnę i pozostawić od 5 do 10 ml w celu wymycia, zebrać eluat w kolbę okrągłodenną o pojemności 250 ml. Pozostawić pozostały metanol na 10 minut w celu ustabilizowania z żywicą, a następnie kontynuować elucję, której szybkość nie powinna przekraczać 20 ml/min, zbierając eluat do tej samej kolby okrągłodennej. Odparować metanol na rotacyjnej wyparce, o której mowa w ust. 4.2, przy czym temperatura wody w łaźni nie powinna być wyższa niż 40°C. Za pomocą fazy ruchomej, o której mowa w ust. 3.21, przenieść ilościowo pozostałość do kolby miarowej o pojemności 10 ml. Uzupełnić do pełnej objętości kolby fazą ruchomą i zmieszać. Podzielna część jest

filtrowana przez filtr membranowy, o którym mowa w ust. 4.7. Roztwór zastosować do oznaczania HPLC, o której mowa w ust. 5.4.

5.4. Oznaczanie HPLC

5.4.1. Parametry

Podane niżej parametry oznaczania są przykładowe.

Kolumna do chromatografii cieczowej, o której mowa w ust. 4.4.1: 300 mm x 4 mm, C₁₈, wypełnienie 10 µm lub równoważne

Faza ruchoma do HPLC, o której mowa w ust. 3.21: Zmieszać 500 ml acetonitrylu, o którym mowa w ust. 3.1 z 300 ml buforowego octanu amonu, o którym mowa w ust. 3.18 i 1200 ml wody.
Przy użyciu kwasu octowego, o którym mowa w ust. 3.5 dostosować pH do 4,3. Filtrować przez filtr, o którym mowa w ust. 4.8, a następnie odgazować roztwór, do tej czynności proponuje się zastosować łaźnię ultradźwiękową przez 10 minut.

Szybkość przepływu: od 1,5 do 2 ml/min

Długość fali przy detekcji: 243 nm

Dozowana objętość od 40 do 100 µl

Sprawdzić stabilność układu chromatograficznego, dozując kilka razy roztwór kalibracyjny, o którym mowa w ust. 3.6.2, o stężeniu 3,0 µg/ml, aż do uzyskania stałych wysokości (powierzchni) pików i czasów retencji.

Dopuszczalne jest zastosowanie innych parametrów gwarantujących uzyskanie równoważnych wyników.

5.4.2. Krzywa kalibracyjna

Zadawać kilka razy każdy z kalibracyjnych roztworów, o których mowa w ust. 3.6.2, i określić wysokości (powierzchnie) pików dla każdego stężenia. Wykreślić krzywą kalibracyjną, odkładając średnie wysokości (powierzchnie) pików kalibracyjnych roztworów na osi rzędnych i odpowiadające im stężenia w µg/ml na osi odciętych.

5.4.3. Roztwór próbki

Zadawać kilka razy ekstrakt próbki, o którym mowa w ust. 5.3.2, stosując taką samą objętość jak przy kalibracyjnych roztworach, i określić średnią wysokość (powierzchnie) pików halofuginonu.

6. OBLICZANIE WYNIKÓW

Na podstawie średniej wysokości (powierzchni) pików halofuginonu roztworu próbki, określić stężenie roztworu próbki w µg/ml odnosząc się do wykresu kalibracyjnego, o którym mowa w ust. 5.4.2.

Zawartość halofuginonu w mg/kg w próbce obliczyć według następującego wzoru:

$$W = c \times 10/m$$

gdzie:

c – stężenie w µg/ml halofuginonu w roztworze próbki, odczytane z wykresu kalibracyjnego,

m – masa w g odważki próbki.

7. SPRAWDZENIE METODY

7.1. Sprawdzanie tożsamości

Tożsamość analitu może być potwierdzona przez kochromatografię lub zastosowanie detektora diodowego, przy użyciu którego porównuje się widma ekstraktu próbki i roztworu kalibracyjnego, o którym mowa w ust. 3.6.2, zawierającego 6 µg/ml.

7.1.1. Kochromatografia

Ekstrakt próbki jest fortyfikowany przez dodanie odpowiedniej ilości roztworu kalibracyjnego, o którym mowa w ust. 3.6.2. Ilość dodanego halofuginonu powinna być podobna do tej w ekstrakcie próbki.

Powinno zwiększyć się tylko wysokość pików halofuginonu, po uwzględnieniu zarówno dodanej ilości jak i rozcieńczenia ekstraktu. Szerokość pików w połowie jego wysokości powinna mieścić się w granicach ± 10% pierwotnej szerokości.

7.1.2. Detekcja diodowa

Wyniki sprawdza się według następujących kryteriów:

1) długość fali odpowiadająca maksymalnej absorpcji próbki i widm wzorcowych zapisana w punkcie wierzchołka pików zarejestrowanego na chromatogramie powinna być taka sama, po uwzględnieniu marginesu określonego zdolnością rozdzielczą systemu detekcji. W przypadku detekcji diodowej zdolność rozdzielcza mieści się zazwyczaj w granicach 2 nm.

2) w zakresie pomiędzy 225 a 300 nm próbka i widma wzorcowe zapisane w punkcie wierzchołka pików na chromatogramie nie powinny się różnić dla tych części widma w zakresie od 10 do 100% lub względnej absorbancji. Kryterium uważa się za spełnione, jeżeli występują te same maksymalne wartości i w ramach żadnego z obserwowanych punktów, rozbieżność między dwoma widmami nie jest większa niż 15% absorbancji wzorcowego analitu.

3) w zakresie od 225 do 300 nm widma wartości rosnących, szczytowych i malejących ekstraktu próbki nie powinny różnić się od siebie dla tych części widma w zakresie od 10 do 100% absorbancji względnej. Kryterium uważa się za spełnione, jeżeli występują te same maksymalne wartości i w ramach żadnego z obserwowanych punktów, rozbieżność między dwoma widmami nie jest większa niż 15% widma wartości szczytowej.

Jeżeli jedno z tych kryteriów nie jest spełnione, obecność analitu nie zostanie potwierdzona.

7.2. Powtarzalność

Różnica pomiędzy wynikami dwóch równoległych oznaczeń wykonanych dla tej samej próbki nie powinna przekraczać 0,5 mg/kg, dla zawartości halofuginonu do 3 mg/kg.

7.3. Odzysk

W przypadku fortyfikowanej ślepej próby odzysk nie powinien być mniejszy niż 80%.

8. WYNIKI BADAŃ MIĘDZYLABORATORYJNYCH

W ramach współpracy ośmiu laboratoriów, przeprowadzono analizę⁵⁾ trzech próbek. W tabeli 23 podano wyniki przeprowadzonych badań porównawczych.

Tabela 23. Wyniki badań porównawczych.

	Próbka A (Ślepa) przy odbiorze	Próbka B (Mączka)		Próbka C (Granulki)	
		przy odbiorze	po dwóch miesiącach	przy odbiorze	po dwóch miesiącach
Średnia (mg/kg)	n.w.	2,80	2,42	2,89	2,45
S _R	-	0,45	0,43	0,40	0,42
CV _R (%)	-	16	18	14	17
rec. (%)		86	74	88	75

n.w. – nie wykryto; S_R – odchylenie standardowe powtarzalności; CV_R – współczynnik zmienności; rec. – odzysk

7.3. OZNACZANIE ROBENIDYNY

(chlorowodorek 1,3-bis[(4-chlorobenzylideno)amino]guanidyny)

1. CEL I ZAKRES STOSOWANIA METODY

Metoda służy do oznaczania zawartości robenidyny w paszach. Dolna granica oznaczalności metody wynosi 5 mg/kg.

2. SPOSÓB PRZEPROWADZENIA METODY

Próbkę poddaje się ekstrakcji zakwaszonym metanolem. Ekstrakt osusza się a podzielną część oczyszcza na kolumnie z tlenkiem glinu. Robenidynę z kolumny wymywa się metanolem, zateża i uzupełnia do odpowiedniej objętości fazą ruchomą. Robenidynę oznacza się metodą chromatografii cieczowej (HPLC) z odwróconymi fazami przy użyciu detektora UV.

3. ODCZYNNIKI I ROZTWORY

3.1. Metanol.

3.2. Zakwaszony metanol:

W kolbie miarowej o pojemności 500 ml umieścić 4 ml kwasu chlorowodorowego ($\rho_{20} = 1,18 \text{ g/ml}$), uzupełnić zawartość do pełnej objętości kolby metanolem, o którym mowa w ust. 3.1, i zmieszać. Roztwór przygotowuje się bezpośrednio przed użyciem.

3.3. Acetonitryl, do HPLC.

3.4. Sito molekularne:

Typ 3A, granulki 8-12 mesh (granulki z glinokrzemianu krystalicznego 1,6 – 2,5 mm, średnica porów 0,3 mm)

3.5. Tlenek glinu pierwszego stopnia aktywności kwasowej do chromatografii:

100 g tlenku glinu umieścić w naczyniu i dodać 2 ml wody. Naczynie zakorkować i wstrząsać przez około 20 minut.

Przechowywać w dobrze zamkniętym naczyniu.

3.6. Roztwór dwuwodorofosforanu potasu, $c = 0,25 \text{ mol/l}$:

3,40 g dwuwodorofosforanu potasu rozpuścić w wodzie w kolbie miarowej o pojemności 1 litra, uzupełnić do pełnej objętości kolby i zmieszać.

3.7. Wodorofosforan dwusodu, $c = 0,025 \text{ mol/l}$:

3,55 g bezwodnego lub 4,45 g dwuhydratu, lub 8,95 g dekahydratu wodorofosforanu dwusodu rozpuścić w wodzie do HPLC w kolbie miarowej o pojemności 1 litra, uzupełnić do pełnej objętości kolby wodą do HPLC i zmieszać.

3.8. Faza ruchoma do HPLC.

Zmieszać razem: 650 ml acetonitrylu, o którym mowa w ust. 3.3, 250 ml wody do HPLC, 50 ml roztworu dwuwodorofosforanu potasu, o którym mowa w ust. 3.6, 50 ml roztworu wodorofosforanu dwusodu, o którym mowa w ust. 3.7. Filtrować przez filtr, o którym mowa w ust. 4.6 i odgazować roztwór, proponuje się zastosować ultradźwięki przez 10 minut.

3.9. Substancja wzorcowa.

Czysta robenidyna: chlorowodorek 1,3-bis[(4-chlorobenzylideno)amino]chlorowodorku guanidyny, E 750.

3.9.1. Roztwór wzorcowy podstawowy robenidyny: 300 $\mu\text{g/ml}$:

Odważyć, z dokładnością do 0,1 mg, 30 mg substancji wzorcowej robenidyny, o której mowa w ust. 3.9. Rozpuścić w zakwaszonym metanole, o którym mowa w ust. 3.2, w kolbie miarowej o pojemności 100 ml, uzupełnić do pełnej objętości kolby tym rozpuszczalnikiem i zmieszać. Kolbę owinąć folią aluminiową i przechowywać w ciemnym miejscu.

3.9.2. Roztwór wzorcowy pośredni robenidyny: 12 $\mu\text{g/ml}$.

10 ml podstawowego roztworu wzorcowego robenidyny, o którym mowa w ust. 3.9.1, przenieść do kolby miarowej o pojemności 250 ml, uzupełnić do pełnej objętości kolby fazą ruchomą, o której mowa w ust. 3.8, i zmieszać. Kolbę owinąć folią aluminiową i przechowywać w ciemnym miejscu.

3.9.3. Roztwory kalibracyjne.

Do kolb miarowych o pojemności 50 ml przenieść kolejno 5,0, 10,0, 15,0, 20,0 i 25,0 ml roztworu wzorcowego pośredniego robenidyny, o którym mowa w ust. 3.9.2. Uzupełnić do pełnej objętości kolb fazą ruchomą, o której mowa w

⁵⁾The Analyst 108 z 1983 r., str. 1252-1256.

ust. 3.8, i mieszać. Roztworom tym odpowiada kolejno 1,2, 2,4, 3,6, 4,8, 6,0 µg/ml robenidyny. Roztwory przygotować bezpośrednio przed użyciem.

4. APARATURA I SPRZĘT

4.1. Kolumna szklana.

Przygotować kolumnę ze szkła oranżowego wyposażoną w kran i zbiorniczek o pojemności około 150 ml, średnicy wewnętrznej od 10 do 15 mm i długości 250 mm.

4.2. Wstrząsarka laboratoryjna.

4.3. Rotacyjna wyparka warstwowa.

4.4. Wyposażenie do HPLC z detektorem UV lub diodowym pracującym w zakresie 250 do 400 nm.

4.4.1. Kolumna do chromatografii cieczowej o wymiarach 300 mm x 4 mm, C₁₈, wypełnienie 10 µm lub równoważne.

4.5. Filtr szklany (Whatman GF/A lub podobny).

4.6. Filtry membranowe, 0,22 µm.

4.7. Filtry membranowe, 0,45 µm.

5. SPOSÓB POSTĘPOWANIA

Z uwagi na fakt, że robenidyna jest wrażliwa na światło zaleca się, aby wszystkie czynności były przeprowadzane bez dostępu światła, z zastosowaniem szkła oranżowego.

5.1. Wskazówki ogólne

5.1.1. Ślepa próba paszy powinna być przebadana w celu sprawdzenia czy nie zawiera ona ani robenidyny, ani innych substancji interferujących.

5.1.2. Przeprowadzić badanie odzysku, analizując ślepa próbę paszy, o której mowa w ust. 5.1.1, fortyfikowanej przez dodanie znanej ilości robenidyny, o wadze zbliżonej do tej, która znajduje się w analizowanej próbce. Aby fortyfikować na poziomie 60 mg/kg przenieść 3,0 ml roztworu wzorcowego podstawowego robenidyny, o którym mowa w ust. 3.9.1, do kolby stożkowej o pojemności 250 ml. Odparować roztwór w strumieniu azotu do około 0,5 ml. Dodać 15 g ślepej próby paszy, starannie mieszać i pozostawić na 10 minut przed przejściem do etapu ekstrakcji, o którym mowa w ust. 5.2.

Ślepa próba paszy powinna być podobna do badanej próbki, a jej analiza nie powinna potwierdzać obecności robenidyny.

5.2. Ekstrakcja

Odważyć, z dokładnością do 0,01 g, 15 g wcześniej przygotowanej próbki. Odważkę umieścić w kolbie stożkowej o pojemności 250 ml i dodać 100,0 ml zakwaszonego metanolu, o którym mowa w ust. 3.2, zakorkować i wstrząsać przez godzinę na wytrząsarce, o której mowa w ust. 4.2. Roztwór ten filtrować przez filtr szklany, o którym mowa w ust. 4.5, a filtrat zebrać do kolby stożkowej o pojemności 150 ml. Dodać 7,5 g sita molekularnego, o którym mowa w ust. 3.4, zamknąć i wstrząsać przez 5 minut. Natychmiast filtrować przez filtr szklany. Roztwór poddać oczyszczeniu, w sposób określony w ust. 5.3.

5.3. Oczyszczenie

5.3.1. Przygotowanie kolumny z tlenkiem glinu.

Umieścić w dolnym końcu szklanej kolumny chromatograficznej, o której mowa w ust. 4.1, zwitek szklanej waty i wbić ją używając szklanego pręcika. Odważyć 11,0 g tlenku glinu, o którym mowa w ust. 3.5, i przenieść go do kolumny. Zwrócić uwagę, aby w czasie wykonywania tej czynności zminimalizować narażenie na działanie powietrza atmosferycznego. Delikatnie postukać napełnioną kolumnę od dolnej strony w celu osadzenia tlenku glinu.

5.3.2. Oczyszczanie próbki

Używając pipety przenieść do kolumny 5 ml ekstraktu próbki otrzymanego w sposób określony w ust. 5.2. Zakończenie pipety przyłożyć blisko do ścianki kolumny i pozwolić, aby roztwór został wchłonięty przez tlenek glinu. Wymyć robenidynę z kolumny przy użyciu 100 ml metanolu, o którym mowa w ust. 3.1, przy szybkości przepływu od 2 do 3 ml na minutę, a eluat zebrać do kolby okrągłodennej o pojemności 250 ml. Na rotacyjnej wyparce, o której mowa w ust. 4.3, odparować roztwór metanolu do sucha, przy pomniejszonym ciśnieniu w temperaturze 40°C. Pozostałość ponownie rozpuścić w od 3 do 4 ml fazy ruchomej, o której mowa w ust. 3.8, i przenieść ilościowo do kolby miarowej o pojemności 10 ml. Kolbę przemyć kilkakrotnie 1 do 2 ml porcjami fazy ruchomej a popłuczyny wlać do kolby miarowej. Uzupełnić do pełnej objętości kolby tym samym rozpuszczalnikiem i mieszać. Podzielna część jest filtrowana przez filtr, o którym mowa w ust. 4.7. Roztwór zastosować do oznaczania HPLC, o której mowa w ust. 5.4.

5.4. Oznaczanie HPLC

5.4.1. Parametry

Podane niżej parametry oznaczania są przykładowe.

Kolumna do chromatografii cieczowej, o której mowa w ust. 4.4.1: 300 mm x 4 mm, C₁₈, wypełnienie 10 µm lub równoważne

Faza ruchoma do HPLC, o której mowa w ust. 3.8:

Zmieszać: 650 ml acetonitrylu, o którym mowa w ust. 3.3, 250 ml wody czystej do HPLC, 50 ml roztworu dwuwodorofosforanu potasu, o którym mowa w ust. 3.6, 50 ml roztworu wodorofosforanu dwusodu, o którym mowa w ust. 3.7. Filtrować przez filtr, o którym mowa w ust. 4.6 i odgazować roztwór, proponuje się zastosować ultradźwięki przez 10 minut.

Szybkość przepływu:

1,5 do 2 ml/min

Długości fali przy detekcji:

317 nm

Dozowana objętość:

20 do 50 µl

Sprawdzić stabilność układu chromatograficznego, dozując kilka razy roztwór kalibracyjny, o którym mowa w ust. 3.9.3 zawierający 3,6 µg/ml, aż do uzyskania stałych wysokości pików i czasów retencji.

Dopuszczalne jest zastosowanie innych parametrów gwarantujących uzyskanie równoważnych wyników.

5.4.2. Krzywa kalibracyjna

Zadawać kilka razy każdy z kalibracyjnych roztworów, o których mowa w ust. 3.9.3 i określić wysokości (powierzchnie) pików dla każdego stężenia. Wykreślić krzywą kalibracyjną, odkładając średnie wysokości (powierzchnie) pików kalibracyjnych roztworów na osi rzędnych i odpowiadające im stężenia w µg/ml na osi odciętych.

5.4.3. Roztwór próbki

Zadawać kilka razy ekstraktu próbki, o którym mowa w ust. 5.3.2, stosując taką samą objętość jak przy roztworach kalibracyjnych i określić średnią wysokość (powierzchnię) pików dla pików robenidyny.

6. OBLICZANIE WYNIKÓW

Na podstawie średniej wysokości (powierzchni) pików robenidyny roztworu próbki, określić stężenie roztworu próbki w µg/ml, odnosząc się do wykresu kalibracyjnego, o którym mowa w ust. 5.4.2.

Zawartość robenidyny (w mg/kg) w próbce obliczyć według następującego wzoru:

$$w = \frac{c \times 200}{m}$$

gdzie:

c – stężenie w µg/ml robenidyny w roztworze próbki odczytane z wykresu,

m – masa w g badanej próbki.

7. SPRAWDZENIE METODY

7.1. Sprawdzanie tożsamości

Tożsamość analitu może być potwierdzona przez kochromatografię lub zastosowanie detektora diodowego, przy użyciu którego porównuje się widma ekstraktu próbki i roztworu kalibracyjnego, o którym mowa w ust. 3.9.3, zawierającego 6 µg/ml.

7.1.1. Kochromatografia

Ekstrakt próbki jest fortyfikowany przez dodanie odpowiedniej ilości roztworu kalibracyjnego, o którym mowa w ust. 3.9.3. Ilość dodanej robenidyny powinna być porównywalna do ilości robenidyny w ekstrakcie próbki.

Powinno zwiększyć się tylko wysokość pików robenidyny, po uwzględnieniu zarówno dodanej ilości jak i rozcieńczenia ekstraktu. Szerokość pików w połowie jego wysokości powinna mieścić się w granicach ± 10% pierwotnej szerokości.

7.1.2. Detekcja diodowa

Wyniki sprawdza się według następujących kryteriów:

1) długość fali odpowiadająca maksymalnej absorpcji próbki i widm wzorcowych zapisana w punkcie wierzchołka pików zarejestrowanego na chromatogramie powinna być taka sama, po uwzględnieniu marginesu określonego zdolnością rozdzielczą systemu detekcji. W przypadku detekcji diodowej zdolność rozdzielcza mieści się zazwyczaj w granicach 2 nm.

2) w zakresie pomiędzy 250 a 400 nm próbka i widma wzorcowe zapisane w punkcie wierzchołka pików na chromatogramie nie powinny się różnić dla tych części widma w zakresie od 10 do 100% względnej absorpcji. Kryterium uważa się za spełnione, jeżeli występują te same maksymalne wartości i w ramach żadnego z obserwowanych punktów, rozbieżność między dwoma widmami nie jest większa niż 15% absorpcji wzorcowego analitu.

3) w zakresie od 250 do 400 nm widma wartości rosnących, szczytowych i malejących ekstraktu próbki nie powinny różnić się od siebie dla tych części widma w zakresie od 10 do 100% absorpcji względnej. Kryterium uważa się za spełnione, jeżeli występują te same maksymalne wartości i w ramach żadnego z obserwowanych punktów, rozbieżność między dwoma widmami nie jest większa niż 15% widma wartości szczytowej.

Jeżeli jedno z tych kryteriów nie jest spełnione, obecność analitu nie zostanie potwierdzona.

7.2. Powtarzalność

Różnica pomiędzy wynikami dwóch równoległych oznaczeń wykonanych dla tej samej próbki nie powinna przekraczać 10% najwyższego wyniku, dla zawartości robenidyny powyżej 15 mg/kg.

7.3. Odzysk

W przypadku fortyfikowanej ślepej próby paszy odzysk powinien być nie mniejszy niż 85%.

8. WYNIKI BADAŃ MIĘDZYLABORATORYJNYCH

W ramach współpracy 12 laboratoriów, przeprowadzono analizę czterech próbek paszy dla drobiu i królików, w postaci mączki lub granulatu. Analizę każdej próbki przeprowadzono dwukrotnie. W tabeli 24 podano wyniki przeprowadzonych badań porównawczych.

Tabela 24. Wyniki badań porównawczych.

	Pasza dla drobiu		Pasza dla królików	
	Mączka	Granulat	Mączka	Granulat
Średnia (mg/kg)	27,00	27,99	43,6	40,1
S _r (mg/kg)	1,46	1,26	1,44	1,66
CV _r (%)	5,4	4,5	3,3	4,1

S _R (mg/kg)	4,36	3,36	4,61	3,91
CV _R (%)	16,1	12,0	10,6	9,7
Odzysk (%)	90,0	93,3	87,2	80,2

S_r – odchylenie standardowe powtarzalności; CV_r – współczynnik zmienności powtarzalności; S_R – odchylenie standardowe odtwarzalności; CV_R – współczynnik zmienności odtwarzalności.

7.4. OZNACZANIE AMPROLIUM METODĄ WYSOKOSPRAWNEJ CHROMATOGRAFII CIECZOWEJ (chlorowodorek chlorku 1-[(4-amino-2-propylopirymidyno-5-yl)metyl]-2-metylo-pirydyny)

1. CEL I ZAKRES STOSOWANIA METODY

Metoda służy do oznaczania zawartości amprolium w paszach i premiksach. Granica wykrywalności wynosi 1 mg/kg, granica oznaczalności wynosi 25 mg/kg.

2. SPOSÓB PRZEPROWADZENIA METODY

Próbka jest ekstrahowana mieszaniną metanolu i wody. Po rozcieńczeniu fazą ruchomą i filtrowaniu przez filtr membranowy zawartość amprolium jest oznaczana metodą kationowo wymienną wysokosprawnej chromatografii cieczerwowej HPLC przy wykorzystaniu detektora UV.

3. ODCZYNNIKI I ROZTWORY

3.1. Metanol.

3.2. Acetonitryl, do HPLC.

3.3. Woda, do HPLC.

3.4. Roztwór dwuwodorofosforanu sodu, roztwór c = 0,1 mol/l.

Rozpuścić 13,80 g monohydratu dwuwodorofosforanu sodu w wodzie, o której mowa w ust. 3.3, w kolbie miarowej o pojemności 1 litra, uzupełnić wodą do pełnej objętości kolby i zmieszać.

3.5. Roztwór nadchloranu sodu, c = 1,6 mol/l.

Rozpuścić 224,74 g monohydratu nadchloranu sodu w wodzie, o której mowa w ust. 3.3 w kolbie miarowej o pojemności 1 litra, uzupełnić wodą do pełnej objętości kolby i zmieszać.

3.6. Faza ruchoma do HPLC, przy uwzględnieniu ust. 9.1.

Mieszanina, w stosunku 450 + 450 + 100 (v + v + v): acetonitrylu, o którym mowa w ust. 3.2, roztworu dwuwodorofosforanu sodu, o którym mowa w ust. 3.4, oraz roztworu nadchloranu sodu, o którym mowa w ust. 3.5. Przed użyciem przefiltrować przez filtr, o którym mowa w ust. 4.3, i odgazować roztwór, do tej czynności proponuje się zastosować łaźnię ultradźwiękową co najmniej przez 15 minut.

3.7. Substancja wzorcowa:

Czyste amprolium, chlorowodorek chlorku 1-[(4-amino-2-propylopirymidyno-5-yl)metyl]-2-metylo-pirydyny, E 750, przy uwzględnieniu ust. 9.2.

3.7.1. Roztwór wzorcowy podstawowy amprolium, 500 µg/ml.

Odważyć, z dokładnością do 0,1 mg, 50 mg amprolium, o którym mowa w ust. 3.7, do kolby miarowej o pojemności 100 ml, rozpuścić w 80 ml metanolu, o którym mowa w ust. 3.1, i umieścić kolbę na 10 minut w łaźni ultradźwiękowej, o której mowa w ust. 4.4. Następnie doprowadzić roztwór do temperatury pokojowej, uzupełnić wodą do pełnej objętości kolby i zmieszać. Roztwór przechowywany w temperaturze 4°C zachowuje stabilność do miesiąca.

3.7.2. Pośredni wzorcowy roztwór amprolium, 50 µg/ml.

Przenieść pipetą 5 ml roztworu wzorcowego podstawowego, o którym mowa w ust. 3.7.1, do kolby miarowej o pojemności 50 ml, uzupełnić do pełnej objętości kolby roztworem do ekstrakcji, o którym mowa w ust. 3.8, i zmieszać. Roztwór przechowywany w temperaturze 4°C zachowuje stabilność do miesiąca.

3.7.3. Roztwory kalibracyjne.

Przenieść 0,5, 1,0, i 2,0 ml pośredniego wzorcowego roztworu, o którym mowa w ust. 3.7.2, do partii kolb miarowych o pojemności 50 ml. Uzupełnić do pełnej objętości kolb fazą ruchomą, o którym mowa w ust. 3.6, i zmieszać. Roztwory te odpowiadają odpowiednio 0,5, 1,0 i 2,0 µg/ml amprolium. Roztwory sporządzić bezpośrednio przed użyciem.

3.8. Rozpuszczalnik ekstrakcyjny

Mieszanina metanolu, o którym mowa w ust. 3.1, i wody, w stosunku 2 + 1 (v + v).

4. APARATURA I SPRZĘT

4.1. Zestaw do HPLC z dozownikiem, umożliwiającym dozowanie 100 µl cieczy.

4.1.1. Kolumna do chromatografii cieczerwowej o wymiarach 125 mm x 4 mm, z Nucleosil 10 SA, wypełnienie 10 µm lub równoważne.

4.1.2. Detektor UV z regulacją długości fal lub detektor diodowy.

4.2. Filtr membranowy, PTFE, 0,45 µm.

4.3. Filtr membranowy, 0,22 µm.

4.4. Łaźnia ultradźwiękowa.

4.5. Wstrząsarka mechaniczna lub mieszadło magnetyczne.

5. SPOSÓB POSTĘPOWANIA

5.1. Wskazówki ogólne

5.1.1. Ślepa próba paszy

W celu zbadania odzysku, o którym mowa w ust. 5.1.2, przeprowadzić analizę ślepej próby paszy, aby sprawdzić, że nie zawiera ona ani amprolium ani substancji interferujących.

Ślepa próba paszy powinna być podobna do badanej próbki, a jej analiza nie powinna potwierdzać obecności amprolium i substancji interferujących.

5.1.2. Badanie odzysku

Badanie odzysku przeprowadzić, analizując ślepą próbę paszy fortyfikowaną przez dodanie znanej ilości amprolium, o wadze zbliżonej do tej, która znajduje się w analizowanej próbce. Aby fortyfikować na poziomie 100 mg/kg dodać 10,0 ml roztworu wzorcowego podstawowego, o którym mowa w ust. 3.7.1, do kolby stożkowej o pojemności 250 ml i odparować roztwór do objętości około 0,5 ml. Dodać 50 g ślepej próby paszy, zmieszać i pozostawić na 10 minut, mieszając kilkakrotnie przed przejściem do etapu ekstrakcji, o którym mowa w ust. 5.2.

Jeżeli nie można przeprowadzić badania ślepej próby paszy podobnej do badanej próbki, o której mowa w ust. 5.1.1, badanie odzysku można przeprowadzić, stosując metodę dodawania wzorca. W tym przypadku przeznaczona do analizy próbka jest fortyfikowana przez dodanie znanej ilości amprolium, o wadze zbliżonej do tej, która znajduje się w analizowanej próbce. Próbkę tę poddaje się analizie wraz z niefortyfikowaną próbką, a odzysk może być obliczony przez odjęcie od masy próbki fortyfikowanej masy próbki niefortyfikowanej.

5.2. Ekstrakcja

5.2.1. Premiksy o zawartości poniżej 1% amprolium i pasze

Odważyć, z dokładnością do 0,01 g, 5 do 40 g próbki, w zależności od zawartości amprolium, do kolby stożkowej o pojemności 500 ml i dodać 200 ml rozpuszczalnika ekstrakcyjnego, o którym mowa w ust. 3.8. Umieścić kolbę w łaźni ultradźwiękowej na 15 minut. Wyjąć kolbę z łaźni i wstrząsać nią przez godzinę na wstrząsarce lub mieszadło magnetycznym, o którym mowa w ust. 4.5. Rozcieńczyć podzielną część ekstraktu fazą ruchomą, o którym mowa w ust. 3.6, do zawartości amprolium od 0,5 do 2 µg/ml i zmieszać przy uwzględnieniu ust. 9.3. Przefiltrować od 5 do 10 ml tego rozcieńczonego roztworu przez filtr membranowy, o którym mowa w ust. 4.2. Przystąpić do oznaczania HPLC, o którym mowa w ust. 5.3.

5.2.2. Premiksy o zawartości od 1% amprolium

Odważyć, z dokładnością do 0,001 g, od 1 do 4 g premiksu, w zależności od zawartości amprolium, do kolby stożkowej o pojemności 500 ml, dodać 200 ml rozpuszczalnika ekstrakcyjnego, o którym mowa w ust. 3.8. Umieścić kolbę w łaźni ultradźwiękowej, o której mowa w ust. 4.4, na 15 minut. Wyjąć kolbę z łaźni i wstrząsać nią przez godzinę na wstrząsarce lub mieszadło magnetycznym, o którym mowa w ust. 4.5. Rozcieńczyć podzielną część ekstraktu fazą ruchomą, o której mowa w ust. 3.6, do zawartości amprolium od 0,5 do 2 µg/ml i zmieszać. Przefiltrować od 5 do 10 ml tego rozcieńczonego roztworu przez filtr, o którym mowa w ust. 4.2. Przystąpić do oznaczania HPLC, o którym mowa w ust. 5.3.

5.3. Oznaczanie HPLC

5.3.1. Parametry

Podane niżej parametry oznaczania są przykładowe.

Kolumna do chromatografii cieczowej, o której mowa w ust. 4.1.1: 125 mm x 4 mm, wymienny kation Nucleosil 10 SA, wypełnienie 10 µm lub równoważne

Faza ruchoma, o której mowa w ust. 3.6: Mieszanina: w stosunku 450 + 450 + 100 (v + v + v): acetonitrylu, o którym mowa w ust. 3.2, roztworu dwuwodorofosforanu sodu, o którym mowa w ust. 3.4 i roztworu nadchloranu sodu, o którym mowa w ust. 3.5

Szybkość przepływu: 0,7 – 1 ml/min

Długość fali przy detekcji: 264 nm

Dozowana objętość: 100 µl

Sprawdzić stabilność systemu chromatograficznego, dozując kilkakrotnie roztwór kalibracyjny, o którym mowa w ust. 3.7.3 zawierający 1,0 µg/ml, aż do uzyskania stałych wysokości pików i czasów retencji.

Dopuszczalne jest zastosowanie innych parametrów gwarantujących uzyskanie równoważnych wyników.

5.3.2. Krzywa kalibracyjna

Zadozować kilka razy każdy z kalibracyjnych roztworów, o których mowa w ust. 3.7.3 i określić średnie wysokości (powierzchnie) pików dla każdego stężenia. Wykreślić krzywą kalibracyjną, odkładając średnie wysokości (powierzchnie) pików kalibracyjnych roztworów na osi rzędnych i odpowiadające im stężenia w µg/ml na osi odciętych.

5.3.3. Roztwór próbki

Zadozować kilka razy ekstrakt próbki, o którym mowa w ust. 5.2, stosując taką samą objętość jak przy kalibracyjnych roztworach i określić średnią wysokość (powierzchnię) pików dla pików amprolium.

6. OBLICZANIE WYNIKÓW

Na podstawie średniej wysokości (powierzchni) pików amprolium roztworu próbki, określić stężenie roztworu próbki w µg/ml, odnosząc się do wykresu kalibracyjnego, o którym mowa w ust. 5.3.2.

Zawartość amprolium w mg/kg próbki obliczyć według następującego wzoru:

$$w = \frac{V \times \delta \times f}{m} \text{ [mg/kg]}$$

gdzie:

V – objętość w ml rozpuszczalnika ekstrakcyjnego, o którym mowa w ust. 3.8; zgodnie z ust. 5.2 proponuje się zastosować 200 ml,

δ – stężenie w $\mu\text{g/ml}$ amprolium w ekstrakcie próbki, o którym mowa w ust. 5.2,

f – współczynnik rozcieńczania zgodny z ust. 5.2,

m – masa w g próbki.

7. SPRAWDZENIE METODY

7.1. Sprawdzenie tożsamości

Tożsamość analitu może być potwierdzona przez kochromatografię lub zastosowanie detektora diodowego, przy użyciu którego porównuje się widma ekstraktu próbki, o którym mowa w ust. 5.2, i roztworu wzorcowego, o którym mowa w ust. 3.7.3 zawierającego 2,0 $\mu\text{g/ml}$.

7.1.1. Kochromatografia

Ekstrakt próbki, o którym mowa w ust. 5.2, fortyfikuje się przez dodanie odpowiedniej ilości roztworu kalibracyjnego, o którym mowa w ust. 3.7.3. Ilość dodanego amprolium powinna odpowiadać ilości amprolium znajdującego się w ekstrakcie próbki.

Powinna zwiększyć się tylko wysokość pików amprolium, po uwzględnieniu zarówno dodanej ilości, jak i rozcieńczenia ekstraktu. Szerokość pików w połowie jego wysokości powinna mieścić się w granicach $\pm 10\%$ pierwotnej szerokości pików amprolium niefortyfikowanego ekstraktu próbki.

7.1.2. Detekcja diodowa

Wyniki sprawdza się według następujących kryteriów:

1) długość fali odpowiadająca maksymalnej absorpcji próbki i widm wzorcowych zapisana w punkcie wierzchołka pików zarejestrowanego na chromatogramie powinna być taka sama, po uwzględnieniu marginesu określonego zdolnością rozdzielczą systemu detekcji. W przypadku detekcji diodowej zdolność rozdzielcza mieści się zazwyczaj w granicach ± 2 nm.

2) w zakresie pomiędzy 210 a 320 nm próbka i widma wzorcowe zapisane w punkcie wierzchołka pików na chromatogramie nie powinny się różnić dla tych części widma w zakresie od 10 do 100% względnej absorpcji. Kryterium uważa się za spełnione, jeżeli występują te same maksymalne wartości i w ramach żadnego z obserwowanych punktów, rozbieżność między dwoma widmami nie jest większa niż 15% absorpcji wzorcowego analitu.

3) w zakresie od 210 do 320 nm widma wartości rosnących, szczytowych i malejących ekstraktu próbki nie powinny różnić się od siebie dla tych części widma w zakresie od 10 do 100% absorpcji względnej. Kryterium uważa się za spełnione, jeżeli występują te same maksymalne wartości i w ramach żadnego z obserwowanych punktów, rozbieżność między dwoma widmami nie jest większa niż 15% widma wartości szczytowej.

Jeżeli jedno z tych kryteriów nie jest spełnione, obecność analitu nie zostanie potwierdzona.

7.2. Powtarzalność

Różnica pomiędzy wynikami dwóch równoległych oznaczeń wykonanych dla tej samej próbki nie powinna przekraczać:

1) 15% względem wyższej wartości, dla zawartości amprolium od 25 do 500 mg/kg,

2) 0,75 mg/kg, dla zawartości amprolium powyżej 500 do 1000 mg/kg,

3) 7,5% względem wyższej wartości, dla zawartości amprolium powyżej 1000 mg/kg.

7.3. Odzysk

W przypadku fortyfikacji (ślepej) próby paszy odzysk powinien wynosić co najmniej 90%.

8. WYNIKI BADAŃ MIĘDZYLABORATORYJNYCH

W ramach współpracy kilku laboratoriów, przeprowadzono analizę trzech pasz dla drobiu (próbki 1-3), paszy mineralnej (próbka 4) i premiksu (próbka 5). W tabeli 25 podano wyniki przeprowadzonych badań porównawczych.

Tabela 25. Wyniki badań porównawczych.

	Próbka 1 (ślepa)	Próbka 2	Próbka 3	Próbka 4	Próbka 5
L	14	14	14	14	15
n	56	56	56	56	60
średnia [mg/kg]	-	45,5	188	5 129	25 140
s_r [mg/kg]	-	2,26	3,57	178	550
CV_r [%]	-	4,95	1,90	3,46	2,20
s_R [mg/kg]	-	2,95	11,8	266	760
CV_R [%]	-	6,47	6,27	5,19	3,00
Zawartość nominalna [mg/kg]	-	50	200	5 000	25 000

L – liczba laboratoriów; n – liczba pojedynczych oznaczeń; s_r – odchylenie standardowe powtarzalności; CV_r – współczynnik zmienności powtarzalności; s_R – odchylenie standardowe odtwarzalności; CV_R – współczynnik zmienności odtwarzalności.

9. OBJAŚNIENIA

9.1. Jeżeli próbka zawiera tiaminę, pik tiaminy na chromatogramie ukazuje się na krótko przed pikiem amprolium. W tej metodzie amprolium i tiamina powinny być rozdzielone. Jeżeli amprolium i tiamina nie zostaną rozdzielone w kolumnie, o której mowa w ust. 4.1.1, użytej w tej metodzie, zastąpić do 50% acetonitrylu fazy ruchomej, o której mowa w ust. 3.6, metanolem.

9.2. Widmo roztworu amprolium: ($c = 0,02$ mol/l) w kwasie chlorowodorowym ($c = 0,1$ mol/l) wykazuje maksima przy 246 nm i 262 nm. Absorbancja powinna wynieść 0,84 przy 246 nm i 0,80 przy 262 nm.

9.3. Ekstrakt zawsze rozcieńczyć fazą ruchomą, gdyż w przeciwnym razie czas retencji pików amprolium może się znacznie przesunąć, z uwagi na zmiany siły jonowej.

7.5. OZNACZANIE DIKLAZURILU

(+)-4-chlorofenylo[2,6-dwuchloro-4-(2,3,4,5-tetrahydro-3,5-dioksa-1,2,4-triazyno-2-yl)fenylo]acetonitryl)

1. CEL I ZAKRES STOSOWANIA METODY

Metoda służy do oznaczania zawartości diklazurilu w paszach i premiksach. Granica wykrywalności wynosi 0,1 mg/kg, granica oznaczalności 0,5 mg/kg.

2. SPOSÓB PRZEPROWADZENIA METODY

Po dodaniu wzorca wewnętrznego próbka jest ekstrahowana zakwaszonym metanolem. W przypadku pasz, podzielna część ekstraktu zostaje oczyszczona na wypełnieniu ekstrakcyjnym fazy stałej. Diklazuril jest eluowany z wypełnienia mieszaniną zakwaszonego metanolu i wody. Po odparowaniu pozostałość jest rozpuszczana w DMF/woda. W przypadku premiksów ekstrakt jest odparowywany, a pozostałość rozpuszczana w DMF/woda. Zawartość diklazurilu jest oznaczana w układzie podwójnego gradientu faz odwróconych wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) z zastosowaniem detektora UV.

3. ODCZYNNIKI I ROZTWORY

3.1. Woda, do HPLC.

3.2. Octan amonu.

3.3. Kwaśny siarczan tetrabutylamoniowy (TBHS).

3.4. Acetonitryl, do HPLC.

3.5. Metanol do HPLC.

3.6. N,N - dwumetyloformamid (DMF).

3.7. Kwas chlorowodorowy, $\rho_{20} = 1,19$ g/ml.

3.8. Substancja wzorcowa: diklazuril II-24 (+)-4-chlorofenylo[2,6-dwuchloro-4-(2,3,4,5-tetrahydro-3,5-dioksa-1,2,4-triazyno-2-yl)fenylo]acetonitryl o gwarantowanej czystości, E 771.

3.8.1. Roztwór wzorcowy podstawowy diklazurilu, 500 μ g/ml.

Odważyć, z dokładnością do 0,1 mg, 25 mg substancji wzorcowej diklazurilu, o której mowa w ust. 3.8, do kolby miarowej o pojemności 50 ml. Rozpuścić w DMF, o którym mowa w ust. 3.6, uzupełnić do pełnej objętości kolby tym samym DMF i zmieszać. Kolbę owinać folią aluminiową lub użyć kolby ze szkła oranżowego i przechowywać w lodówce. W temperaturze do 4°C roztwór jest stabilny przez miesiąc.

3.8.2. Roztwór wzorcowy diklazurilu, 50 μ g/ml.

Przenieść 5,00 ml roztworu wzorcowego podstawowego, o którym mowa w ust. 3.8.1 do kolby miarowej o pojemności 50 ml, uzupełnić do pełnej objętości kolby DMF, o którym mowa w ust. 3.6, i zmieszać. Kolbę owinać folią aluminiową lub użyć kolbę ze szkła oranżowego i przechowywać w lodówce. W temperaturze do 4°C roztwór jest stabilny przez miesiąc.

3.9. Substancja wzorcowa wewnętrzna: 2,6-dwuchloro- α -(4-chlorofenylo)-4-(4,5dihydro-3,5-dioksa-1,2,4-triazyno-2(3H)-yl) α -metylobenzeno-acetonitryl.

3.9.1. Roztwór wewnętrznego wzorca podstawowego, 500 μ g/ml.

Odważyć, z dokładnością do 0,1 mg, 25 mg substancji wzorcowej wewnętrznej, o której mowa w ust. 3.9, do kolby miarowej o pojemności 50 ml. Rozpuścić w DMF, o którym mowa w ust. 3.6, uzupełnić do pełnej objętości kolby tym samym DMF i zmieszać. Kolbę owinać folią aluminiową lub użyć kolby ze szkła oranżowego i przechowywać w lodówce. W temperaturze do 4°C roztwór jest stabilny przez miesiąc.

3.9.2. Roztwór wzorca wewnętrznego, 50 μ g/ml.

Przenieść 5,00 ml roztworu wewnętrznego wzorca podstawowego, o którym mowa w ust. 3.9.1 do kolby miarowej o pojemności 50 ml, uzupełnić do pełnej objętości kolby DMF, o którym mowa w ust. 3.6, i zmieszać. Kolbę owinać folią aluminiową lub użyć kolby ze szkła oranżowego i przechowywać w lodówce. W temperaturze do 4°C roztwór zachowuje stabilność przez miesiąc.

3.9.3. Roztwór wzorca wewnętrznego dla premiksów, p/1000 mg/ml (p = nominalna zawartość diklazurilu w premiksie w mg/kg).

Odważyć, z dokładnością do 0,1 mg, p/10 mg substancji wzorca wewnętrznego do kolby miarowej o pojemności 100 ml, rozpuścić w DMF, o którym mowa w ust. 3.6, w łaźni ultradźwiękowej, uzupełnić do pełnej objętości kolby tym samym DMF i zmieszać. Kolbę owinać folią aluminiową lub użyć kolby ze szkła oranżowego i przechowywać w lodówce. Roztwór przechowywany w temperaturze 4°C zachowuje stabilność do miesiąca.

3.10. Roztwór kalibracyjny, 2 μ g/ml.

Odmierzyć pipetą 2,00 ml roztworu wzorcowego diklazurilu, o którym mowa w ust. 3.8.2 i 2,00 ml roztworu wzorca wewnętrznego, o którym mowa w ust. 3.9.2 do kolby miarowej o pojemności 50 ml. Dodać 16 ml DMF, o którym mowa w ust. 3.6, uzupełnić wodą do pełnej objętości kolby i zmieszać. Roztwór ten sporządzać bezpośrednio przed użyciem.

3.11. C₁₈, wypełnienie ekstrakcyjne fazy stałej proponuje się zastosować Bond Elut, rozmiar: 1 cc, masa sorbentu: 100 mg.

3.12. Rozpuszczalnik ekstrakcyjny: zakwaszony metanol.

Odmierzyć pipetą 5,0 ml kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust. 3.7 do 1 litra metanolu, o którym mowa w ust. 3.5, i zmieszać.

3.13. Faza ruchoma do HPLC.

Eluent A: octan amonu – roztwór kwaśnego siarczanu tetrabutylamonu.

3.13.1. Rozpuścić 5 g octanu amonu, o którym mowa w ust. 3.2, i 3,4 g TBHS, o którym mowa w ust. 3.3, w litrze wody, o której mowa w ust. 3.1, i zmieszać.

3.13.2. Eluent B: acetonitryl, o którym mowa w ust. 3.4.

3.13.3. Eluent C: metanol, o którym mowa w ust. 3.5.

4. APARATURA I SPRZĘT

4.1. Wstrząsarka mechaniczna.

4.2. Sprzęt do HPLC przy potrójnym gradiencie.

4.2.1. Kolumna do chromatografii cieczowej, Hypersil ODS, wypełnienie 3 μ m, 100 mm x 4,6 mm lub równoważne.

4.2.2. Detektor UV z regulacją długości fali lub detektor diodowy.

4.3. Rotacyjna wyparka próżniowa.

- 4.4. Filtr membranowy 0,45 µm.
 4.5. Rozdzielnik próżni do jednoczesnej próżniowej izolacji.
 4.6. Łaźnia ultradźwiękowa.

5. SPOSÓB POSTĘPOWANIA

5.1. Wskazówki ogólne

5.1.1. Ślepa próba paszy

Przeprowadzić analizę ślepej próby paszy w celu sprawdzenia, czy czy nie zawiera ona ani diklazurilu ani substancji interferujących.

Ślepa próba paszy powinna być podobna do badanej próbki, a jej analiza nie powinna potwierdzać obecności diklazurilu i substancji interferujących.

5.1.2. Badanie odzysku

Badanie odzysku przeprowadzić analizując ślepą próbę paszy, fortyfikowaną przez dodanie znanej ilości diklazurilu, o wadze zbliżonej do tej, która znajduje się w próbce. Aby fortyfikować na poziomie 1 mg/kg dodać 0,1 ml roztworu wzorcowego podstawowego, o którym mowa w ust. 3.8.1, do 50 g ślepej próby paszy, zmieszać i pozostawić na 10 minut, kilkakrotnie mieszając, przed przejściem do etapu ekstrakcji, o którym mowa w ust. 5.2.

Jeżeli nie można przeprowadzić badania ślepej próby paszy podobnej do badanej próbki, o której mowa w ust. 5.1.1, badanie odzysku można przeprowadzić, stosując metodę dodawania wzorca. W tym przypadku przeznaczona do analizy próbka jest fortyfikowana przez dodanie znanej ilości diklazurilu, o wadze zbliżonej do tej, która znajduje się w analizowanej w próbce. Próbkę tę poddaje się analizie wraz z niefortyfikowaną próbką, a odzysk może być obliczony przez odjęcie od próbki fortyfikowanej masy próbki niefortyfikowanej.

5.2. Ekstrakcja

5.2.1. Pasze

Odważyć, z dokładnością do 0,01 g, około 50 g próbki. Przenieść do kolby stożkowej o pojemności 500 ml, dodać 1,0 ml roztworu wzorca wewnętrznego, o którym mowa w ust. 3.9.2, 200 ml rozpuszczalnika ekstrakcyjnego, o którym mowa w ust. 3.12, i zamknąć kolbę korkiem. Wstrząsać mieszaninę na wstrząsarce, o której mowa w ust. 4.1, przez noc. Pozostawić na 10 minut do odstania. Przebrać 20 ml podzielnej części supernatantu do odpowiedniego szklanego naczynia i rozcieńczyć 20 ml wody. Przenieść ten roztwór na wypełnienie ekstrakcyjne, o którym mowa w ust. 3.11, i przepuścić przez to wypełnienie, stosując rozdzielnik próżni, o którym mowa w ust. 4.5. Przepłukać wypełnienie 25 ml mieszaniny rozpuszczalnika ekstrakcyjnego, o którym mowa w ust. 3.12, i wody, 65 + 35 (V + V). Odrzucić zebrane frakcje i eluować związki, stosując 25 ml mieszaniny rozpuszczalnika ekstrakcyjnego, o którym mowa w ust. 3.12, i wody, 80 + 20 (V + V). Odparować tę frakcję do osuszenia przy zastosowaniu rotacyjnej wyparki próżniowej, o której mowa w ust. 4.3 w temperaturze 60°C. Rozpuścić suchą pozostałość w 1,0 ml DMF, o którym mowa w ust. 3.6, dodać 1,5 ml wody, o której mowa w ust. 3.1, i zmieszać. Przechowywać przez filtr, o którym mowa w ust. 4.4. Przystąpić do oznaczania HPLC, o którym mowa w ust. 5.3.

5.2.2. Premiksy

Odważyć, z dokładnością do 0,001 g, około 1 g próbki. Przenieść do kolby stożkowej o pojemności 500 ml, dodać 1,0 ml roztworu wzorca wewnętrznego, o którym mowa w ust. 3.9.3, 200 ml rozpuszczalnika ekstrakcyjnego, o którym mowa w ust. 3.12 i zamknąć kolbę korkiem. Wstrząsać mieszaninę na wstrząsarce, o której mowa w ust. 4.1, przez noc. Pozostawić na 10 minut do odstania. Przenieść podzielną część 10000/p ml (p = nominalna zawartość diklazurilu w premiksie w mg/kg) supernatantu do kolby okrągłodennej o odpowiedniej pojemności. Odparować do osuszenia, pod obniżonym ciśnieniem, w temperaturze 60°C przy użyciu rotacyjnej wyparki próżniowej, o której mowa w ust. 4.3. Ponownie rozpuścić suchą pozostałość w 10,0 ml DMF, o którym mowa w ust. 3.6, dodać 15,0 ml wody, o której mowa w ust. 3.1, i zmieszać. Przystąpić do analizy HPLC, o której mowa w ust. 5.3.

5.3. Oznaczanie HPLC

5.3.1. Parametry

Podane niżej parametry oznaczania są przykładowe.

Kolumna do chromatografii cieczowej, o której mowa w ust. 4.2.1: 100 mm x 4,6 mm, Hypersil ODS wypełnienie 3 µm lub równoważne

Faza ruchoma, o której mowa w ust. 3.13: Eluent A, o którym mowa w ust. 3.13.1: wodny roztwór octanu amonu i kwaśnego siarczanu tetrabutylamoniumowego
 Eluent B, o którym mowa w ust. 3.13.2: acetonitryl
 Eluent C, o którym mowa w ust. 3.13.3: metanol

Elucja: – gradient liniowy
 – warunki początkowe: A + B + C = 60 + 20 + 20 (v + v + v)
 – po 10 minutach frakcjonowanie przez 30 minut do: A + B + C = 45 + 20 + 35 (v + v + v)
 Płukać eluentem B przez 10 minut

Szybkość przepływu: 1,5 – 2 ml/min

Długość fali przy detekcji: 280 nm

Dozowana objętość: 20 µl

Sprawdzić stabilność systemu chromatograficznego, dozując kilkakrotnie roztwór kalibracyjny, o którym mowa w ust. 3.10 zawierający 2,0 µg/ml, aż do uzyskania stałych wysokości piku i czasów retencji.

Dopuszczalne jest zastosowanie innych parametrów gwarantujących uzyskanie równoważnych wyników.

5.3.2. Roztwór kalibracyjny

Zadozować kilka razy 20 µl roztworu kalibracyjnego, o którym mowa w ust. 3.10, i określić średnią wysokość (powierzchnię) piku diklazarilu i wewnętrzne wzorcowe pików.

5.3.3. Roztwór próbki

Zadozować kilka razy 20 µl roztworu próbki, o którym mowa w ust. 5.2.1 lub ust. 5.2.2, i określić średnią wysokość (powierzchnię) piku diklazarilu i wewnętrzne wzorcowe pików.

6. OBLICZANIE WYNIKÓW

6.1. Pasze

Zawartość diklazarilu w próbce w (mg/kg) obliczyć według następującego wzoru:

$$w = \frac{h_{d,s} \times h_{i,c}}{h_{i,s} \times h_{d,c}} \times \frac{\delta_{d,c} \times 10V}{m} \quad [\text{mg/kg}]$$

gdzie:

$h_{d,s}$ – wysokość (powierzchnia) piku diklazarilu w roztworze próbki, o którym mowa w ust. 5.2.1,

$h_{i,s}$ – wysokość (powierzchnia) piku wzorca wewnętrznego w roztworze próbki, o którym mowa w ust. 5.2.1,

$h_{d,c}$ – wysokość (powierzchnia) piku diklazarilu w roztworze kalibracyjnym, o którym mowa w ust. 3.10,

$h_{i,c}$ – wysokość (powierzchnia) piku wzorca wewnętrznego w roztworze kalibracyjnym, o którym mowa w ust. 3.10,

$\delta_{d,c}$ – stężenie w µg/ml diklazarilu w roztworze kalibracyjnym, o którym mowa w ust. 3.10,

m – masa w g próbki,

V – objętość ekstraktu próbki zgodna z ust. 5.2.1, proponuje się zastosować 2,5 ml.

6.2. Premiksy

Zawartość diklazarilu w próbce w mg/kg obliczyć według następującego wzoru:

$$W = \frac{h_{d,s} \times h_{i,c}}{h_{i,s} \times h_{d,c}} \times \frac{\delta_{d,c} \times 0,02 V \times p}{m} \quad [\text{mg/kg}]$$

gdzie:

$h_{d,c}$ – wysokość (powierzchnia) piku diklazarilu w roztworze kalibracyjnym, o którym mowa w ust. 3.10,

$h_{i,c}$ – wysokość (powierzchnia) piku wzorca wewnętrznego w roztworze kalibracyjnym, o którym mowa w ust. 3.10,

$h_{d,s}$ – wysokość (powierzchnia) piku diklazarilu w roztworze próbki, o którym mowa w ust. 5.2.2,

$h_{i,s}$ – wysokość (powierzchnia) piku wzorca wewnętrznego w roztworze próbki, o którym mowa w ust. 5.2.2,

$\delta_{d,c}$ – stężenie diklazarilu w roztworze kalibracyjnym, o którym mowa w ust. 3.10,

m – masa w g próbki,

V – objętość ekstraktu próbki zgodna z ust. 5.2.2, proponuje się zastosować 25 ml,

p – nominalna zawartość w mg/kg diklazarilu w premiksie.

7. SPRAWDZENIE METODY

7.1. Sprawdzenie tożsamości

Tożsamość analitu może być potwierdzona przez kochromatografię lub zastosowanie detektora diodowego, przy użyciu którego porównuje się widma ekstraktu próbki, o którym mowa w ust. 5.2.1, lub w ust. 5.2.2 i roztworu kalibracyjnego, o którym mowa w ust. 3.10.

7.1.1. Kochromatografia

Ekstrakt próbki, o którym mowa w ust. 5.2.1, lub w ust. 5.2.2 fortyfikuje się przez dodanie odpowiedniej ilości roztworu kalibracyjnego, o którym mowa w ust. 3.10. Ilość dodanego diklazarilu powinna odpowiadać ilości diklazarilu znajdującej się w ekstrakcie próbki.

Powinna zwiększyć się tylko wysokość piku diklazarilu i piku wzorca wewnętrznego, po uwzględnieniu zarówno dodanej ilości jak i stopnia rozcieńczenia ekstraktu. Szerokość piku w połowie jego wysokości powinna mieścić się w granicach $\pm 10\%$ pierwotnej szerokości piku diklazarilu lub piku wzorca wewnętrznego niefortyfikowanego ekstraktu próbki.

7.1.2. Detekcja diodowa

Wyniki sprawdza się według następujących kryteriów:

1) długość fali odpowiadająca maksymalnej absorpcji próbki i widm wzorcowych zapisana w punkcie wierzchołka piku zarejestrowanego na chromatogramie powinna być taka sama, po uwzględnieniu marginesu określonego zdolnością rozdzielczą systemu detekcji. W przypadku detekcji diodowej zdolność rozdzielcza mieści się zazwyczaj w granicach ± 2 nm.

2) w zakresie pomiędzy 230 a 320 nm próbka i widma wzorcowe zapisane w punkcie wierzchołka piku na chromatogramie nie powinny się różnić dla tych części widma w zakresie od 10 do 100% względnej absorbancji. Kryterium uważa się za spełnione, jeżeli występują te same maksymalne wartości i w ramach żadnego z obserwowanych punktów, rozbieżność między dwoma widmami nie jest większa niż 15% absorbancji wzorcowego analitu.

3) w zakresie od 230 do 320 nm widma wartości rosnących, szczytowych i malejących ekstraktu próbki nie powinny różnić się od siebie dla tych części widma w zakresie od 10 do 100% absorbancji względnej. Kryterium uważa się za spełnione, jeżeli występują te same maksymalne wartości i w ramach żadnego z obserwowanych punktów, rozbieżność między dwoma widmami nie jest większa niż 15% widma wartości szczytowej.

Jeżeli jedno z tych kryteriów nie jest spełnione, obecność analitu nie zostanie potwierdzona.

7.2. Powtarzalność

Różnica pomiędzy wynikami dwóch równoległych oznaczeń wykonanych dla tej samej próbki nie powinna przekraczać:

1) 30% względem wyższej wartości, dla zawartości diklazarilu od 0,5 do 2,5 mg/kg,

2) 0,75 mg/kg, dla zawartości diklazarilu powyżej 2,5 do 5 mg/kg,

3) 15% względem wyższej wartości, dla zawartości diklazarilu powyżej 5 mg/kg.

7.3. Odzysk

W przypadku fortyfikacji ślepej próby lub próby paszy odzysk powinien wynosić co najmniej 80%.

8. WYNIKI BADAŃ MIĘDZYLABORATORYJNYCH

W ramach współpracy jedenastu laboratoriów, przeprowadzono analizę pięciu próbek. Były to próbki z dwóch premiksów; jeden był wymieszany z głównym składnikiem organicznym (O 100), a drugi z głównym składnikiem

nieorganicznym (A 100). Zawartość teoretyczna diklaurilu wynosiła 100 mg/kg. Trzy mieszanki pasz dla drobiu zostały sporządzone przez trzech różnych producentów (NL) (L1/Z1/K1). Teoretyczna zawartość diklaurilu wynosiła 1 mg/kg. Analizę każdej próbki przeprowadzono raz lub dwukrotnie.⁶⁾ W tabeli 26 podano wyniki przeprowadzonych badań porównawczych.

Tabela 26. Wyniki badań porównawczych.

	Próbka 1 A 100	Próbka 2 O 100	Próbka 3 L 1	Próbka Z 1	Próbka 5 K 1
L	11	11	11	11	6
n	19	18	19	19	12
Średnia	100,8	103,5	0,89	1,15	0,89
S _r (mg/kg)	5,88	7,64	0,15	0,02	0,03
CV _r (%)	5,83	7,38	17,32	1,92	3,34
S _R (mg/kg)	7,59	7,64	0,17	0,11	0,12
CV _R (%)	7,53	7,38	18,61	0,67	13,65
Zawartość nominalna (mg/kg)	100	100	1	1	1

L – liczba laboratoriów; n – liczba pojedynczych wartości; s_r – odchylenie standardowe powtarzalności; CV_r – współczynnik zmienności powtarzalności; S_R – odchylenie standardowe odtwarzalności; CV_R – współczynnik zmienności odtwarzalności.

9. OBJAŚNIENIA

Upřednio wykazać, że relacja diklaurilu jest liniowa w zakresie mierzonych stężeń.

7.6. OZNACZANIE SOLI SODOWEJ LASALOCIDU METODĄ WYSOKOSPRAWNEJ CHROMATOGRAFII CIECZOWEJ

(sól sodowa polieterowego monokarboksyłowego kwasu wytwarzanego przez *Streptomyces lasaliensis*)

1. CEL I ZAKRES STOSOWANIA METODY

Metoda służy do oznaczania zawartości soli sodowej lasalocidu w paszach i premiksach. Granica wykrywalności metody wynosi 5 mg/kg, granica oznaczalności wynosi 30 mg/kg.

2. SPOSÓB PRZEPROWADZENIA METODY

Sól sodowa lasalocidu jest ekstrahowana z próbki zakwaszonym metanolem i oznaczana metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej z fazą odwróconą (HPLC) przy wykorzystaniu detektora spektrofluorometrycznego.

3. ODCZYNNIKI I ROZTWORY

3.1. Dwuwodorofosforan potasu (KH₂PO₄).

3.2. Kwas ortofosforowy, w = 85 %.

3.3. Roztwór kwasu ortofosforowego, σ = 20 %.

Rozcieńczyć 23,5 ml kwasu ortofosforowego, o którym mowa w ust. 3.2, wodą do objętości 100 ml.

3.4. 6-metylo-2-heptyloamina(1,5-dwumetyloheksyloamina), w = 99 %.

3.5. Metanol do HPLC.

3.6. Kwas chlorowodorowy, ρ₂₀ = 1,19 g/ml.

3.7. Roztwór buforu fosforanowego, c = 0,01 mol/l.

Rozpuścić 1,36 g KH₂PO₄, o którym mowa w ust. 3.1, w 500 ml wody, o której mowa w ust. 3.11, dodać 3,5 ml kwasu ortofosforowego, o którym mowa w ust. 3.2, i 10,0 ml 6-metylo-2-heptyloaminy, o której mowa w ust. 3.4. Dostosować pH do 4,0 przy użyciu roztworu kwasu ortofosforowego, o którym mowa w ust. 3.3, i rozcieńczyć wodą, o której mowa w ust. 3.11 do objętości 1 litra.

3.8. Zakwaszony metanol.

Przenieść 5,0 ml kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust. 3.6 do kolby miarowej o pojemności 1 litra, uzupełnić do pełnej objętości kolby metanolem, o którym mowa w ust. 3.5 i zmieszać. Roztwór przygotować bezpośrednio przed użyciem.

3.9. Faza ruchoma HPLC: mieszanina, w stosunku 5 + 95 (v+v): buforu fosforanowego, o którym mowa w ust. 3.7, i metanolu, o którym mowa w ust. 3.5.

Zmieszać 5 ml roztworu buforu fosforanowego, o którym mowa w ust. 3.7 z 95 ml metanolu, o którym mowa w ust. 3.5.

3.10. Substancja wzorcowa soli sodowej lasalocidu o gwarantowanej czystości, C₃₄H₅₃O₈Na (sól sodowa polieterowego monokarboksyłowego kwasu wytwarzanego przez *Streptomyces lasaliensis*), E 763.

3.10.1. Podstawowy roztwór wzorcowy soli sodowej lasalocidu, 500 µg/ml.

Zważyć, z dokładnością do 0,1 mg, 50 mg soli sodowej lasalocidu, o której mowa w ust. 3.10, do kolby miarowej o pojemności 100 ml, rozpuścić w zakwaszonym metanole, o którym mowa w ust. 3.8, uzupełnić do pełnej objętości kolby tym samym rozpuszczalnikiem i zmieszać. Roztwór przygotować bezpośrednio przed użyciem.

3.10.2. Roztwór wzorcowy pośredni soli sodowej lasalocidu, 50 µg/ml.

Odpipetować 10,0 ml podstawowego roztworu wzorcowego soli sodowej lasalocidu, o którym mowa w ust. 3.10.1 do kolby miarowej o pojemności 100 ml, uzupełnić do pełnej objętości kolby zakwaszonym metanolem, o którym mowa w ust. 3.8 i zmieszać. Roztwór przygotować bezpośrednio przed użyciem.

3.10.3. Roztwory kalibracyjne.

⁶⁾ Bardziej szczegółowe informacje dotyczące tej analizy można znaleźć w *Dzienniku AOAC International*, Tom 77, nr 6, 1994, s. 1359 - 1361.

Do kolb miarowych o pojemności 50 ml przenieść 1,0, 2,0, 4,0, 5,0 i 10,0 ml roztworu wzorcowego pośredniego, o którym mowa w ust. 3.10.2. Uzupełnić do pełnej objętości kolb zakwaszonym metanolem, o którym mowa w ust. 3.8 i zmieszać. Roztwory te odpowiadają odpowiednio 1,0, 2,0, 4,0, 5,0 i 10,0 µg soli sodowej lasalocidu w 1 ml. Roztwory przygotować bezpośrednio przed użyciem.

3.11. Woda do HPLC.

4. APARATURA I SPRZĘT

4.1. Łaźnia ultradźwiękowa, lub wibracyjna łaźnia wodna, z możliwością kontroli temperatury.

4.2. Filtry membranowe, 0,45 µm.

4.3. Zestaw HPLC z systemem dozowania, umożliwiający dozowanie 20 µl.

4.3.1. Kolumna do chromatografii cieczerwowej: 125 mm x 4 mm, faza odwrócona C₁₈, wypełnienie 5 µm lub równoważne.

4.3.2. Spektrofluorymetr o zmiennej fali, z możliwością ustawienia czułości – wzbudzenia, emisji.

5. SPOSÓB POSTĘPOWANIA

5.1. Objasnienia

5.1.1. Ślepa próba

W celu przeprowadzenia badania odzysku, o którym mowa w ust. 5.1.2, przeprowadzić analizę ślepej próby paszy w celu sprawdzenia, że badana pasza nie zawiera ani lasalocidu, ani interferujących substancji. Pasza użyta do ślepej próby powinna być podobna do próbki paszy badanej i nie powinna zawierać ani lasalocidu sodu, ani interferujących substancji.

5.1.2. Badanie odzysku

Badanie odzysku przeprowadzić analizując ślepą próbę paszy fortyfikowaną przez dodanie znanej ilości soli sodowej lasalocidu, o wadze zbliżonej do tej, która znajduje się w próbce. Aby fortyfikować na poziomie 100 mg/kg, dodać 10,0 ml podstawowego roztworu wzorcowego, o którym mowa w ust. 3.10.1, do kolby stożkowej o pojemności 250 ml i odparować roztwór do objętości około 0,5 ml. Dodać 50 g ślepej próby paszy, zmieszać i pozostawić na 10 minut, kilkakrotnie mieszając, przed przejściem do etapu ekstrakcji, o którym mowa w ust. 5.2.

Jeżeli nie można przeprowadzić badania ślepej próby paszy, o której mowa w ust. 5.1.1, która jest podobna do badanej próbki, badanie odzysku można przeprowadzić, stosując metodę dodawania wzorca. W tym przypadku przeznaczona do analizy próbka jest fortyfikowana przez dodanie znanej ilości soli sodowej lasalocidu, o wadze zbliżonej do tej, która znajduje się w analizowanej próbce. Próbkę tę poddaje się analizie wraz z niefortyfikowaną próbką, a odzysk może być obliczony przez odjęcie od próbki fortyfikowanej masy próbki niefortyfikowanej.

5.2. Ekstrakcja

5.2.1. Pasze

Zważyć, z dokładnością do 0,01 g, od 5 g do 10 g próbki do wyposażonej w korek kolby stożkowej o pojemności 250 ml. Dodać przy użyciu pipety 100 ml zakwaszonego metanolu, o którym mowa w ust. 3.8. Zamknąć luźno korkiem i zamieszać w celu rozproszenia. Umieścić kolbę w łaźni ultradźwiękowej, o której mowa w ust. 4.1, w temperaturze około 40°C na 20 minut, następnie wyjąć i schłodzić do temperatury pokojowej. Pozostawić kolbę na mniej więcej godzinę, dopóki suspensja nie opadnie, następnie przefiltrować podzielną część przez filtr membranowy, o którym mowa w ust. 4.2, do odpowiedniego naczynia. Przystąpić do oznaczania HPLC, o którym mowa w ust. 5.3.

5.2.2. Premiksy

Zważyć, z dokładnością do 0,001 g, około 2 g nierozdrobnionego premiksu do kolby miarowej o pojemności 250 ml. Dodać 100,0 ml zakwaszonego metanolu, o którym mowa w ust. 3.8, i zamieszać w celu rozproszenia. Umieścić kolbę z zawartością w łaźni ultradźwiękowej, o której mowa w ust. 4.1, w temperaturze około 40°C na 20 minut, następnie wyjąć i schłodzić do temperatury pokojowej. Rozcieńczyć do pełnej objętości kolby zakwaszonym metanolem, o którym mowa w ust. 3.8 i dokładnie zmieszać. Pozostawić kolbę na około godzinę, dopóki suspensja nie opadnie, następnie przefiltrować podzielną część przez filtr membranowy, o którym mowa w ust. 4.2. Rozcieńczyć odpowiednią objętość klarownego filtratu przy użyciu zakwaszonego metanolu, o którym mowa w ust. 3.8, w celu otrzymania finalnego testowego roztworu zawierającego około 4 µg/ml soli sodowej lasalocidu. Przystąpić do oznaczania HPLC, o którym mowa w ust. 5.3.

5.3. Oznaczanie HPLC

5.3.1. Parametry

Podane niżej parametry oznaczania są przykładowe.

Kolumna do chromatografii cieczerwowej, o której mowa w ust. 4.3.1:	125 mm x 4 mm, faza odwrócona C ₁₈ , wypełnienie 5 µm lub równoważne
Faza ruchoma, o której mowa w ust. 3.9:	Mieszanina, w stosunku 5 + 95 (v+v): buforu fosforanowego, o którym mowa w ust. 3.7 i metanolu, o którym mowa w ust. 3.5
Szybkość przepływu:	1,2 ml/min
Długość fali przy detekcji:	wzbudzenie: 310 nm, emisja: 419 nm
Dozowana objętość:	20 µl

Sprawdzić stabilność systemu chromatograficznego, dozując kilkakrotnie roztwór kalibracyjny, o którym mowa w ust. 3.10.3 zawierający 4,0 µg/ml, aż do uzyskania stałych wysokości (powierzchni) pików i czasów retencji.

Dopuszczalne jest zastosowanie innych parametrów gwarantujących uzyskanie równoważnych wyników.

5.3.2. Krzywa kalibracyjna

Zadozować kilka razy każdy z kalibracyjnych roztworów, o których mowa w ust. 3.10.3 kilka razy i określić średnie wysokości (powierzchnie) pików dla każdego stężenia. Wykreślić krzywą kalibracyjną, odkładając średnie wysokości (powierzchnie) pików na osi rzędnych oraz odpowiadające im stężenia w µg/ml na osi odciętych.

5.3.3. Roztwór próbki

Zadozować kilka razy ekstrakt próbki, o którym mowa w ust.5.2.1 lub w ust. 5.2.2, stosując taką samą objętość jak przy kalibracyjnych roztworach, i określić średnią wysokość (powierzchnię) pików dla pików soli sodowej lasalocidu.

6. OBLICZANIE WYNIKÓW

Na podstawie średniej wysokości (powierzchni) pików otrzymanej po zadozowaniu roztworu próbki, o którym mowa w ust. 5.3.3, określić stężenie soli sodowej lasalocidu w $\mu\text{g/ml}$ odnosząc się do wykresu kalibracyjnego.

6.1. Pasze

Zawartość soli sodowej lasalocidu, w mg/kg , w próbce obliczyć według następującego wzoru:

$$w = \frac{\beta \times V_1}{m} [\text{mg/kg}]$$

gdzie:

β – stężenie w $\mu\text{g/ml}$ soli sodowej lasalocidu w roztworze próbki, o której mowa w ust. 5.2.1,
 V_1 – objętość w ml ekstraktu próbki, o której mowa w ust. 5.2.1, proponuje się zastosować 100 ml,
 m – masa w g próbki.

6.2. Premiksy

Zawartość soli sodowej lasalocidu, w mg/kg , w próbce obliczyć według następującego wzoru:

$$w = \frac{\beta \times V_2 \times f}{m} [\text{mg/kg}]$$

gdzie:

β – stężenie w $\mu\text{g/ml}$ soli sodowej lasalocidu w roztworze próbki, o której mowa w ust. 5.2.2,
 V_1 – objętość w ml ekstraktu próbki, o której mowa w ust. 5.2.2, proponuje się zastosować 250 ml,
 f – współczynnik rozcieńczenia zgodny z ust. 5.2.2,
 m – masa w g próbki.

7. SPRAWDZENIE WYNIKÓW

7.1. Sprawdzenie tożsamości

Metody bazujące na detekcji spektrofluorometrycznej są mniej podatne na interferencje niż metody z zastosowaniem detekcji UV. Tożsamość analitu może być potwierdzona przez kochromatografię.

7.1.1 Kochromatografia

Ekstrakt próbki, o którym mowa w ust. 5.2.1 lub ust. 5.2.2 jest fortyfikowany przez dodanie odpowiedniej ilości roztworu kalibracyjnego, o którym mowa w ust. 3.10.3. Ilość dodanej soli sodowej lasalocidu powinna odpowiadać ilości soli sodowej lasalocidu w ekstrakcie próbki.

Tylko wysokość pików soli sodowej lasalocidu powinna się uwidocznić w stopniu zależnym od ilości dodanej soli sodowej lasalocidu i rozcieńczenia ekstraktu. Szerokość pików w połowie wysokości powinna mieścić się w zakresie $\pm 10\%$ oryginalnej szerokości pików niefortyfikowanego ekstraktu.

7.2. Powtarzalność

Różnica pomiędzy wynikami dwóch równoległych oznaczeń wykonanych dla tej samej próbki nie powinna przekraczać:

- 1) 15% względem wyższej wartości, dla zawartości soli sodowej lasalocidu od 30 do 100 mg/kg ,
- 2) 15 mg/kg , dla zawartości soli sodowej lasalocidu powyżej 100 do 200 mg/kg ,
- 3) 7,5% względem wyższej wartości, dla zawartości soli sodowej lasalocidu powyżej 200 mg/kg .

7.3. Odzysk

W przypadku fortyfikowanej ślepej próby paszy lub próby paszy, odzysk nie powinien być niższy od 80%. W przypadku fortyfikowanych próbek premiksów odzysk nie powinien być niższy od 90%.

8. WYNIKI BADAŃ MIĘDZYLABORATORYJNYCH

W ramach współpracy dwunastu laboratoriów⁷⁾, przeprowadzono analizę 2 premiksów (próbki 1 i 2) oraz 5 pasz (próbki 3-7). Analizę każdej próbki przeprowadzono dwukrotnie. W tabeli 27 podano wyniki przeprowadzonych badań porównawczych.

Tabela 27. Wyniki badań porównawczych.

	Próbka 1	Próbka 2	Próbka 3	Próbka 4	Próbka 5	Próbka 6	Próbka 7
	Premiks dla kurcząt	Premiks dla indyków	Śrutki dla indyków	Granulki dla kurcząt	Pasza dla indyków	Pasza dla drobiu A	Pasza dla drobiu B
L	12	12	12	12	12	12	12
n	23	23	23	23	23	23	23
Średnia (mg/kg)	5 050	16 200	76,5	78,4	92,9	48,3	32,6
Sr (mg/mg)	107	408	1,71	2,23	2,27	1,93	1,75
Cvr (%)	2,12	2,52	2,24	2,84	2,44	4,00	5,37
SR (mg/kg)	286	883	3,85	7,32	5,29	3,47	3,49

⁷⁾ The Analyst nr 120 z 1995 r., str. 2175-2180.

CVR (%)	5,66	5,45	5,03	9,34	5,69	7,18	10,70
Zawartość nominalna (mg/kg)	5 000*	16 000*	80*	105*	120*	50⁺	35⁺

L – liczba laboratoriów; n – liczba poszczególnych wyników; S_r – standardowe odchylenie powtarzalności; S_R – standardowe odchylenie odtwarzalności wyników; CV_r – odchylenie standardowe zmienne powtarzalności, %; CV_R – odchylenie standardowe zmienne odtwarzalności, %; * zawartość zadeklarowana przez producenta; ⁺ pasza przygotowana w laboratorium.

ROZDZIAŁ 8

BADANIE SUBSTANCJI I MATERIAŁÓW NIEPOŻĄDANYCH I SZKODLIWYCH

8.1. OZNACZANIE AFLATOKSYNY B₁ METODĄ JEDNOKIERUNKOWEJ CHROMATOGRAFII CIENKOWARSTWOWEJ

1. CEL I ZAKRES STOSOWANIA METODY

Metoda służy do oznaczania zawartości aflatoksyny B₁ w materiałach paszowych i paszach. Metody nie można stosować w obecności pulpy cytrusowej. Dolna granica oznaczalności metody wynosi 0,01 mg/ kg (10 ppb). Jeżeli występują substancje interferujące konieczne jest powtórzenie oznaczania metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej HPLC.

2. SPOSÓB PRZEPROWADZENIA METODY

Próbka jest poddawana ekstrakcji chloroformem. Ekstrakt jest filtrowany, a jego podzielna część poddawana jest oczyszczaniu przy użyciu kolumny chromatograficznej na żelu krzemionkowym. Eluat jest odparowywany, a pozostałość rozpuszczana ponownie w ściśle określonej objętości chloroformu lub mieszaniny benzenu i acetonitrylu. Podzielna część tego roztworu jest poddawana chromatografii cienkowarstwowej (TLC). Jakość aflatoksyny B₁ jest oznaczana poprzez naświetlanie chromatogramu promieniami UV, albo wizualnie albo fluorodensytometrycznie, przez porównanie ze znaną ilością wzorcowej aflatoksyny B₁. Tożsamość aflatoksyny B₁ wyekstrahowanej z paszy powinna być potwierdzona poprzez wskazanie metody.

3. ODCZYNNIKI I ROZTWORY

Wszystkie odczynniki powinny mieć „czystość do analizy”, jeżeli nie zaznaczono inaczej.

- 3.1. Aceton.
- 3.2. Chloroform, stabilizowany 96% etanolem w ilości od 0,5 do 1,0% (V/V) .
- 3.3. N-heksan.
- 3.4. Metanol.
- 3.5. Eter dwuetylowy bezwodny, wolny od nadtlenków.
- 3.6. Mieszanina benzenu i acetonitrylu: 98/2 (V/V).
- 3.7. Mieszanina chloroformu, o którym mowa w ust. 3.2, i metanolu, o którym mowa w ust. 3.4: 97/3 (V/V).
- 3.8. Żel krzemionkowy do chromatografii kolumnowej, wielkość cząsteczki od 0,05 do 0,20 mm.
- 3.9. Wata bawełniana odtłuszczona chloroformem lub wata szklana.
- 3.10. Siarczan sodu bezwodny, granulowany.
- 3.11. Obojętny gaz, proponuje się zastosować azot.
- 3.12. Kwas chlorowodorowy 1 N.
- 3.13. Kwas siarkowy 50% (V/V).
- 3.14. Kieselguhr (hyflosupelsel), przemywany kwasem.
- 3.15. Żel krzemionkowy G-HR lub podobny, do TLC.
- 3.16. Roztwór wzorcowy zawierający około 0,1 µg aflatoksyny B₁ w 1 ml chloroformu, o którym mowa w ust. 3.2 lub mieszanina benzenu i acetonitrylu, o której mowa w ust. 3.6, przygotowane i sprawdzone w sposób określony w ust. 7.
- 3.17. Roztwór wzorcowy do testów jakościowych zawierający około 0,1 µg aflatoksyny B₁ i B₂ w ml chloroformu, o którym mowa w ust. 3.2, lub mieszanina benzenu i acetonitrylu, o której mowa w ust. 3.6. Stężenia aflatoksyn są przykładowe. Stężenia te powinny być tak dobrane, aby otrzymać taką samą intensywność fluorescencji dla obu aflatoksyn.
- 3.18. Rozpuszczalniki rozwijające:
 - 3.18.1. Chloroform, o którym mowa w ust. 3.2 / aceton, o którym mowa w ust. 3.1: 9/1 (V/V), zbiornik nienasycony.
 - 3.18.2. Eter dwuetylowy, o którym mowa w ust. 3.5 / metanol, o którym mowa w ust. 3.4 / woda: 96/3/1 (V/V/V), zbiornik nienasycony.
 - 3.18.3. Eter dwuetylowy, o którym mowa w ust. 3.5 / metanol, o którym mowa w ust. 3.4 / woda: 94/4,5/1,5 (V/V/V), zbiornik nasycony.
 - 3.18.4. Chloroform, o którym mowa w ust. 3.2 / metanol, o którym mowa w ust. 3.4: 94/6 (V/V), zbiornik nasycony.
 - 3.18.5. Chloroform, o którym mowa w ust. 3.2 / metanol, o którym mowa w ust. 3.4: 97/3 (V/V), zbiornik nasycony.

4. APARATURA I SPRZĘT

- 4.1. Rozdrabniacz.
- 4.2. Wstrząsarka lub mieszadło magnetyczne.
- 4.3. Karbowany filtr papierowy Schleicher i Schull Nr 588 lub podobny, średnica 24 cm.

4.4. Kolumna szklana do chromatografii o średnicy wewnętrznej 22 mm, długości 300 mm, z kurkiem PTFE i zbiornikiem o pojemności 250 ml.

4.5. Rotacyjna wyparka próżniowa z kolbą okrągłodenną o pojemności 500 ml.

4.6. Kolba stożkowa, o pojemności 500 ml, z korkiem szklanym.

4.7. Zestaw do chromatografii cienkowarstwowej.

4.8. Płytki szklane do chromatografii cienkowarstwowej, 200 x 200 mm. Suspensja przygotowana w następujący sposób, zapewnia pokrycie 5 takich płytek:

Umieścić 30 g żelu krzemionkowego, o którym mowa w ust. 3.15, w kolbie stożkowej, dodać 60 ml wody, zamknąć korkiem i wstrząsać przez minutę, nanieść suspensję na płytki, tak aby uzyskać jednolitą warstwę grubości 0,25 mm, pozostawić na powietrzu do wysuszenia, a następnie przechowywać w eksykatorze zawierającym żel krzemionkowy. Przed użyciem aktywować płytki przez przetrzymywanie ich przez godzinę w suszarce o temperaturze 110°C.

Mogą być stosowane gotowe do użycia płytki, jeżeli dają wyniki podobne do tych uzyskanych, na płytkach przygotowanych w sposób wyżej opisany.

4.9. Lampa UV o długości fali 360 nm. Intensywność promieniowania powinna umożliwić, z odległości 10 cm, rozróżnienie plamki zawierającej 1 ng aflatoksyny B₁ nałożonej na płytkę TLC.

4.10. Probówki miarowe o pojemności 10 ml, z polietylenowymi korkami.

4.11. Spektrofotometr UV.

4.12. Fluorodensytmeter (do wyboru).

5. SPOSÓB POSTĘPOWANIA

5.1. Przygotowanie próbki

Rozdrobnić próbkę, tak aby przechodziła przez oczka sita o średnicy 1 mm, zgodnie z zaleceniami ISO R 565.

Jeżeli próbki zawierają więcej niż 5% tłuszczów, odtłuścić je eterem naftowym o temperaturze wrzenia od 40 do 60°C, a uzyskane wyniki przedstawić w odniesieniu do masy nieodtłuszczonej próbki.

5.2. Ekstrakcja

Umieścić 50 g rozdrobnionej, homogennej próbki w kolbie stożkowej, o której mowa w ust. 4.6. Dodać 25 g Kieselguhr, o którym mowa w ust. 3.14, 25 ml wody i 250 ml chloroformu, o którym mowa w ust. 3.2. Zamknąć kolbę, wstrząsać lub mieszać przez 30 minut przy użyciu wstrząsarki lub mieszadła magnetycznego, o których mowa w ust. 4.2, i przefiltrować przez filtr, o którym mowa w ust. 4.3. Odrzucić pierwsze 10 ml filtratu, a następnie zebrać 50 ml.

5.3. Oczyszczanie na kolumnie

Umieścić w dolnym końcu szklanej kolumny chromatograficznej, o której mowa w ust. 4.4 zwitek bawełnianej lub szklanej waty, o której mowa w ust. 3.9, napęlić dwie trzecie rurki chloroformem, o którym mowa w ust. 3.2 i dodać 5 g siarczanu sodu, o którym mowa w ust. 3.10.

Sprawdzić, czy górna powierzchnia siarczanu sodu jest płaska, następnie dodać małymi porcjami 10 g żelu krzemionkowego, o którym mowa w ust. 3.8. Lekko mieszać po każdym dodaniu w celu usunięcia pęcherzyków powietrza. Pozostawić na 15 minut, a następnie ostrożnie dodać 15 g siarczanu sodu, o którym mowa w ust. 3.10. Pozwolić, aby poziom cieczy obniżył się do chwili, aż znajdzie się tuż nad warstwą siarczanu sodu.

Zmieszać 50 ml ekstraktu zebranego w sposób określony w ust. 5.2 z 100 ml n-heksanu, o którym mowa w ust. 3.3, i przenieść ilościowo tę mieszaninę na kolumnę. Pozwolić, aby poziom cieczy obniżył się, aż znajdzie się nad warstwą siarczanu sodu. Popłuczyny odrzucić. Następnie dodać 100 ml eteru dwuetylowego, o którym mowa w ust. 3.5, i znowu pozwolić, aby poziom cieczy obniżył się, aż znajdzie się nad warstwą siarczanu sodu. W czasie tych czynności uważać, aby szybkość przepływu wynosiła od 8 do 12 ml na minutę i aby wypełnienie kolumny nie pozostawało suche. Odrzucić wyciek. Następnie wymyć kolumnę przy użyciu 150 ml mieszaniny chloroformu i metanolu, o której mowa w ust. 3.7, i zebrać cały eluat.

Odparować końcowy eluat prawie do sucha w rotacyjnej wyparce próżniowej, o której mowa w ust. 4.5, w temperaturze nie wyższej niż 50°C w strumieniu obojętnego gazu, o którym mowa w ust. 3.11. Przenieść ilościowo pozostałość, przy użyciu chloroformu, o którym mowa w ust. 3.2, lub mieszaniny benzenu i acetonitrylu, o której mowa w ust. 3.6, do próbki, o której mowa w ust. 4.10. Zateńczyć roztwór w strumieniu obojętnego gazu, o którym mowa w ust. 3.11, a następnie uzupełnić do objętości 2 ml chloroformem, o którym mowa w ust. 3.2 lub mieszaniną benzenu i acetonitrylu, o której mowa w ust. 3.6.

5.4. Chromatografia cienkowarstwowa

Nanieść na płytkę TLC, o której mowa w ust. 4.8, w odległości 2 cm od dolnej krawędzi w odstępach co 2 cm, wskazane poniżej objętości roztworu wzorcowego i ekstraktu:

1) 10, 15, 20, 30 i 40 µl roztworu wzorcowego aflatoksyny B₁, o którym mowa w ust. 3.16,

2) 10 µl ekstraktu otrzymanego w sposób określony w ust. 5.3 i, nałożonego w tym samym punkcie, 20 µl roztworu wzorcowego, o którym mowa w ust. 3.16,

3) 10 i 20 µl ekstraktu otrzymanego w sposób określony w ust. 5.3.

Rozwinać chromatogram w ciemności, stosując jeden z rozpuszczalników rozwijających, o których mowa w ust. 3.18. Wybór rozpuszczalnika powinien być dokonany wcześniej poprzez nałożenie 25 µl roztworu wzorcowego do testów jakościowych, o którym mowa w ust. 3.17, na płytkę i sprawdzenie, że aflatoksyna B₁ i B₂ po wywołaniu są całkowicie rozdzielone.

Pozwolić, aby rozpuszczalniki odparowały w ciemności, a następnie naświetlić płytkę światłem UV, umieszczając ją w odległości 10 cm od źródła światła, o którym mowa w ust. 4.9. Plamki aflatoksyny B₁ charakteryzują się niebieską fluorescencją.

5.5. Oznaczanie ilościowe

Oznaczyć zawartość wizualnie lub przy użyciu fluorodensytmeteru, w sposób opisany poniżej.

5.5.1. Pomiar wizualny

Oznaczyć ilość aflatoksyny B₁ w ekstrakcie przez dobranie intensywności fluorescencji plamek ekstraktu z intensywnością fluorescencji plamek roztworu wzorcowego. Interpolować, jeżeli to konieczne. Fluorescencja otrzymana przez nałożenie ekstraktu na roztwór wzorcowy powinna być bardziej intensywna niż fluorescencja 10 µl ekstraktu i nie powinna być bardziej widoczna niż jedna plamka. Jeżeli intensywność fluorescencji 10 µl ekstraktu jest większa niż 40 µl roztworu

wzorcowego, rozcieńczyć ekstrakt 10 lub 100 razy chloroformem, o którym mowa w ust. 3.2, lub mieszaniną benzenu i acetonitrylu, o której mowa w ust. 3.6, przed ponownym poddaniem go chromatografii cienkowarstwowej.

5.5.2. Pomiar fluorodensytometryczny

Zmierzyć intensywność fluorescencji plamek aflatoksyny B₁ w fluorodensytometrze, o którym mowa w ust. 4.12, o czułości – wzbudzenie: 365 nm, emisja: 443 nm. Oznaczyć ilość aflatoksyny B₁ w plamkach ekstraktu przez porównanie ich intensywności fluorescencji z intensywnością fluorescencji plamki wzorcowej aflatoksyny B₁.

5.6. Potwierdzenie tożsamości aflatoksyny B₁

Potwierdzić tożsamość aflatoksyny B₁ w ekstrakcie w sposób opisany poniżej.

5.6.1. Traktowanie kwasem siarkowym

Rozpylić kwas siarkowy, o którym mowa w ust. 3.13, na chromatogram otrzymany w sposób określony w ust. 5.4. Pod wpływem naświetlania promieniami UV fluorescencja plamek aflatoksyny B₁ powinna zmienić barwę z niebieskiej na żółtą.

5.6.2. Dwukierunkowa chromatografia powodująca tworzenie aflatoksyny B₁– hemiacetalu (aflatoksyny B_{2a}).

Czynności opisane poniżej przeprowadza się w sposób określony na rys.3.

5.6.2.1. Nanoszenie roztworów

Wyciąć dwie proste linie na płytce, o której mowa w ust. 4.8, równoległe do dwóch przyległych boków, w odległości 6 cm od każdego z nich, aby ograniczyć migrację czoła rozpuszczalnika. Nałożyć następujące roztwory na płytkę, stosując kapilarne pipety lub mikrostrzykawki:

1) w punkcie A: oczyszczony ekstrakt próbki otrzymany w sposób określony w ust. 5.3, zawierający około 2,5 nm aflatoksyny B₁,

2) w punkcie B i C: 25 µl wzorcowego roztworu, o którym mowa w ust. 3.16.

5.6.2.2. Rozwinięcie

Rozwijać chromatogram w kierunku I w ciemności, wykorzystując rozpuszczalnik rozwijający, o którym mowa w ust. 3.18.1 (1 cm warstwa w nienasyconym zbiorniku) do chwili, gdy czoło rozpuszczalnika osiągnie ograniczającą linię.

Wyjąć płytkę ze zbiornika i pozostawić w celu wyschnięcia w ciemności, w temperaturze pokojowej, przez 5 minut. Następnie rozpylić kwas chlorowodorowy, o którym mowa w ust. 3.12, wzdłuż pasa o wysokości 2,5 cm, pokrywającego punkty A i B (zakresowane pole na rys. 3), aż do ściemnienia, zabezpieczając pozostałą część płytki szklaną szybą. Pozostawić na 10 minut w ciemności i wysuszyć w strumieniu powietrza w temperaturze otoczenia. Następnie rozwinąć chromatogram w kierunku II w ciemności, stosując rozpuszczalnik rozwijający, o którym mowa w ust. 3.18.1 (1 cm warstwa w nienasyconym zbiorniku) do chwili, gdy czoło rozpuszczalnika osiągnie ograniczającą linię. Wyjąć płytkę ze zbiornika i wysuszyć w temperaturze otoczenia.

5.6.2.3. Interpretacja chromatogramu

Zbadać chromatogram pod lampą UV, o której mowa w ust. 4.9, i sprawdzić czy pojawiły się:

1) niebieska fluorescencja plamki aflatoksyny B₁ pochodząca z roztworu wzorcowego nałożonego w punkcie C (migracja w kierunku I).

2) niebieska fluorescencja plamki nieprzereagowanej (z kwasem chlorowodorowym) aflatoksyny B₁ i intensywniejszej, niebieskiej fluorescencji plamki aflatoksyny B₁ – hemiacetalu, pochodzących z roztworu wzorcowego nałożonego w punkcie B (migracja w kierunku II).

3) plamki porównywalne z tymi opisanymi w pkt. 2, pochodzące z ekstraktu próbki nałożonego w punkcie A. Położenie tych plamek zostało określone najpierw przez odległość migracji aflatoksyny B₁ z punktu A w kierunku I (takiej samej, jaką przebył wzorec nałożony w punkcie C), a następnie przez odległość migracji z tego punktu w kierunku II aflatoksyny B₁ – hemiacetalu (takiej samej, jaką przebył wzorec nałożony w punkcie B). Intensywności fluorescencji plamek hemiacetalu pochodzących z ekstraktu i wzorca nałożonego w punkcie B powinny pasować do siebie.

6. OBLICZANIE WYNIKÓW

6.1. Na podstawie pomiarów wizualnych

Zawartość w µg/kg aflatoksyny B₁ w próbce (ppb) obliczyć według następującego wzoru:

$$\frac{S \times Y \times V}{W \times X}$$

gdzie:

Y i X stanowią odpowiednio objętości w µl roztworu wzorcowego aflatoksyny B₁, o którym mowa w ust. 3.16, i ekstraktu o podobnej intensywności fluorescencji,

S – stężenie w µg/ml aflatoksyny B₁, w roztworze wzorcowym, o którym mowa w ust. 3.16,

V – końcowa objętość w µl ekstraktu, uwzględniająca konieczne rozcieńczenia,

W – masa w g próbki, odpowiadająca objętości ekstraktu poddanego oczyszczeniu na kolumnie.

6.2. Na podstawie pomiarów fluorodensytometrycznych

Zawartość w µg/kg aflatoksyny B₁ w próbce, obliczyć według następującego wzoru:

$$\frac{S \times V}{W \times Y}$$

gdzie:

Y – objętość w µl, ekstraktu naniesionego na płytkę (10 lub 20 µl),

S – ilość w ng aflatoksyny B₁ w ekstrakcie naniesionym na płytkę (proporcjonalna do pobranej objętości Y), obliczona na podstawie pomiarów,

V – końcowa objętość w µl ekstraktu, uwzględniająca konieczne rozcieńczenia,

W – masa w g próbki, odpowiadająca objętości ekstraktu poddanego oczyszczeniu na kolumnie.

7. PRZYGOTOWANIE I SPRAWDZANIE ROZTWORU WZORCOWEGO, O KTÓRYM MOWA W UST. 3.16

7.1. Oznaczanie stężenia aflatoksyny B₁

Przygotować roztwór wzorcowy aflatoksyny B₁ w chloroformie, o którym mowa w ust. 3.2, lub w mieszaninie benzenu i acetonitrylu, o której mowa w ust. 3.6, o stężeniu od 8 do 10 µg/ml. Określić spektrum absorpcji w zakresie od 330 do 370 nm przy użyciu spektrofotometru, o którym mowa w ust. 4.11.

Zmierzyć gęstość optyczną (A) przy 363 nm w przypadku roztworu chloroformu lub przy 348 nm w przypadku roztworu w mieszaninie benzenu i acetonitrylu.

Stężenie w µg/ml aflatoksyny B₁ roztworu obliczyć według następujących wzorów:

$$\frac{312 \times A \times 1000}{20600} \quad \text{dla roztworu chloroformu}$$

$$\frac{312 \times A \times 1000}{19800} \quad \text{dla roztworu w mieszaninie benzenu i acetonitrylu}$$

Odpowiednio rozcieńczyć, chroniąc przed światłem dziennym, w celu otrzymania roboczego roztworu wzorcowego o stężeniu aflatoksyny B₁ około 0,1 µg/ml. Roztwór przechowywany w lodówce w temperaturze 4°C zachowuje trwałość przez 2 tygodnie.

7.2. Badanie czystości chromatograficznej

Nanieść na płytkę, o której mowa w ust. 4.8, 5 µl roztworu wzorcowego zawierającego aflatoksynę B₁, o którym mowa w ust. 7.1, w ilości od 8 do 10 µg/ml. Rozwinąć chromatogram w sposób określony w ust. 5.4. W świetle UV chromatogram powinien wykazywać tylko jedną plamkę, a w strefie pierwotnego naniesienia roztworu wzorcowego nie powinny być widoczne ślady fluorescencji.

8. SPRAWDZENIE METODY

Powtarzalność

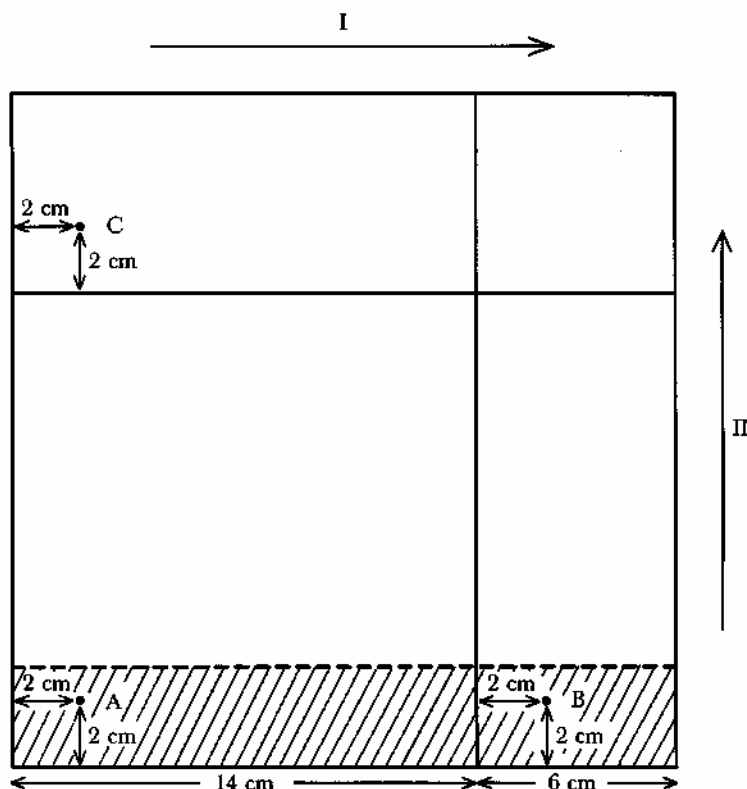
Różnica pomiędzy wynikami dwóch równoległych oznaczeń wykonanych dla tej samej próbki nie powinna przekraczać:

- 1) 25% najwyższej wartości, dla zawartości aflatoksyny B₁ od 10 do 20 µg/kg,
- 2) 5 µg wartości bezwzględnej, dla zawartości aflatoksyny B₁ powyżej 20 do 50 µg/kg,
- 3) 10% najwyższej wartości, dla zawartości aflatoksyny B₁ powyżej 50 µg/kg.

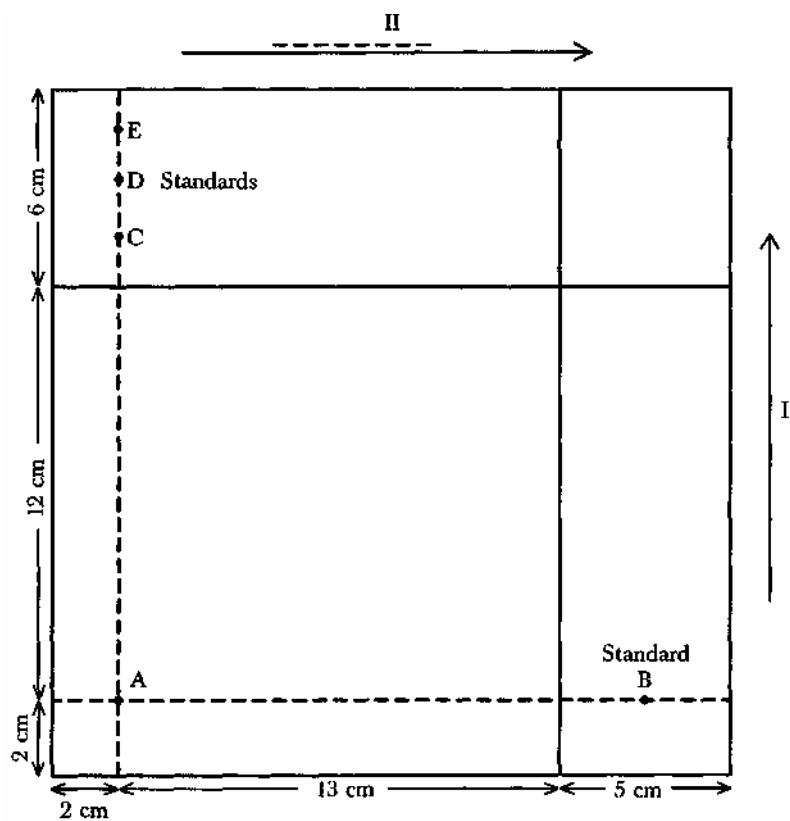
9. ODTWARZALNOŚĆ

Odtwarzalność wyników metody będąca zmiennością pomiędzy wynikami badania tej samej próbki uzyskanymi przez 2 lub więcej laboratoriów, powinna wynosić:

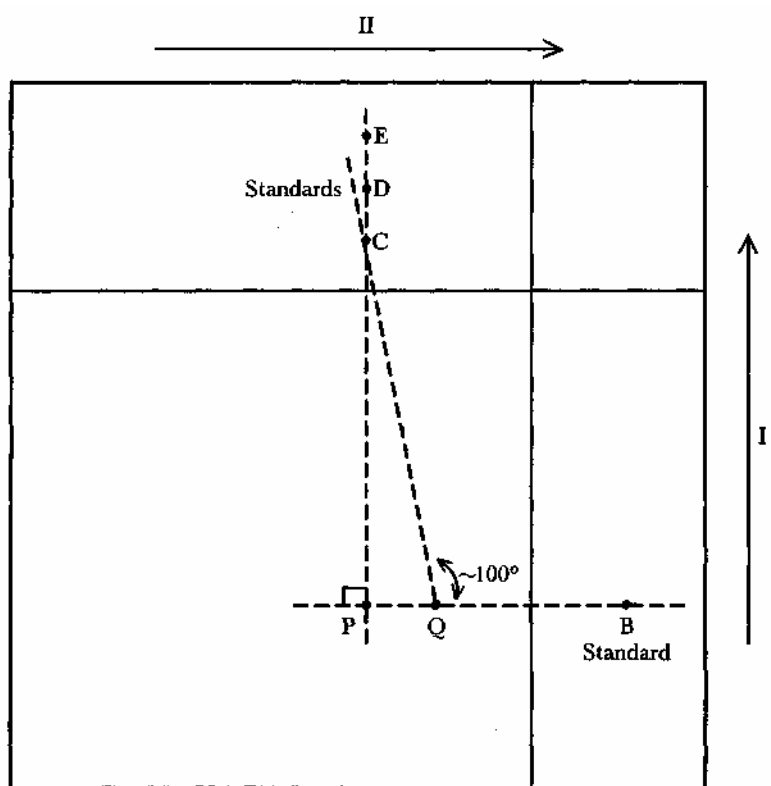
- 1) ± 50% średniej wartości, dla zawartości aflatoksyny B₁ od 10 do 20 µg/kg,
- 2) ± 10 µg/kg wartości bezwzględnej, dla zawartości aflatoksyny B₁ powyżej 20 do 50 µg/kg,
- 3) ± 20% średniej wartości, dla zawartości aflatoksyny B₁ powyżej 50 µg/kg.



Rysunek 3.



Rysunek 4.



Rysunek 5.

8.2. OZNACZANIE AFLATOKSYNY B₁ METODĄ WYSOKOSPRAWNEJ CHROMATOGRAFII CIECZOWEJ

1. CEL I ZAKRES STOSOWANIA METODY

Metoda służy do oznaczania zawartości aflatoksyny B₁ w paszach, łącznie z paszami zawierającymi pulpe cytrusową. Dolna granica oznaczalności metody wynosi 0,001 mg/kg (1 ppb).

2. SPOSÓB PRZEPROWADZENIA METODY

Próbka jest ekstrahowana chloroformem. Ekstrakt jest filtrowany, a jego podzielna część jest oczyszczana na Florisilu i C₁₈. Końcowy rozdział i oznaczenie jest prowadzone przy zastosowaniu wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) przy zastosowaniu odwróconej fazy kolumnowej C₁₈, po której następuje derywatyżacja pokolumnowa przy użyciu jodu wody jodowej i fluoroscencyjna detekcja.

Mikotoksyny są niezwykle toksycznymi substancjami. Czynności z ich użyciem powinny być wykonywane pod digestorium. Szczególne środki ostrożności powinny być podjęte przy czynnościach z toksynami w suchej postaci, ze względu na ich właściwości elektrostatyczne i powodująca rozprzestrzenianie się ich w środowisku pracy.

3. ODCZYNNIKI I ROZTWORY

3.1. Chloroform stabilizowany wagowo od 0,5 do 1,0% alkoholem etylowym. Uwzględnić ust. 10.2.

3.2. Metanol do HPLC, do przygotowania roztworu, o którym mowa w ust. 3.6.

3.3. Aceton.

3.4. Acetonitryl, do HPLC.

3.5. Rozpuszczalniki eluujące: przygotować na dzień przed użyciem lub usunąć powietrze z rozpuszczalników stosując ultradźwięki.

3.5.1. Mieszanina acetonu, o którym mowa w ust. 3.3, i wody, 98 + 2 (V + V).

3.5.2. Mieszanina wody i metanolu, o którym mowa w ust. 3.2, 80 + 20 (V + V).

3.5.3. Mieszanina wody i acetonu, o którym mowa w ust. 3.3, 85 + 15 (V + V).

3.6. Faza ruchoma do HPLC.

Mieszanina, w stosunku 130 + 70 + 40 (v + v + v): wody, metanolu, o którym mowa w ust. 3.2, i acetonitrylu, o którym mowa w ust. 3.4.

Skład fazy ruchomej rozpuszczalnika może wymagać dostosowania, zależnie od charakterystyki użytej kolumny HPLC.

3.7. Nasycony roztwór jodu:

Dodać 2 g jodu do 400 ml wody. Mieszać co najmniej przez 90 minut i filtrować przez filtr membranowy, o którym mowa w ust. 4.15. W celu przeciwdziałania fotodegradacji chronić nasycony roztwór przed światłem.

3.8. Kwas przemyty Celitem 545 lub podobnym.

3.9. Wypełnienie Florisil (Waters SEP-PAK) lub podobne.

3.10. Wypełnienie C₁₈ (Waters SEP-PAK) lub podobne.

3.11. Obojętny gaz, proponuje się zastosować azot.

3.12. Roztwór wzorcowy aflatoksyny B₁ w chloroformie, stężenie 10 µg/ml. Sprawdzić stężenie roztworu w następujący sposób: oznaczyć spektrum absorpcji roztworu pomiędzy 330 i 370 nm przy użyciu spektrofotometru, o którym mowa w ust. 4.23, zmierzyć absorbancję (A) w maksimum przy 363 nm. Stężenie aflatoksyny B₁ w µg/ml roztworu obliczyć według następującego wzoru:

$$\text{Stężenie (µg/ml)} = \frac{312 \times A \times 1000}{22300} = 13,991 \times A$$

3.12.1. Wzorcowy roztwór podstawowy aflatoksyny B₁ w chloroformie.

Przenieść ilościowo 2,5 ml roztworu wzorcowego aflatoksyny B₁, o którym mowa w ust. 3.12, do kolby miarowej o pojemności 50 ml i uzupełnić do pełnej objętości tej kolby chloroformem, o którym mowa w ust. 3.1. Przechowywać ten roztwór w chłodnym miejscu w temperaturze 4°C w ciemności, szczelnie zamknięty i owinięty w folię.

3.13. Aflatoksyna B₁, roztwory kalibracyjne do HPLC.

Do przygotowania tych roztworów stosować naczynia szklane myte kwasem, przy uwzględnieniu ust. 4.

3.13.1. Roztwór kalibracyjny 4 ng/ml.

Kolbę miarową zawierającą wzorcowy roztwór podstawowy, o którym mowa w ust. 3.12.1, owiniętą w aluminiową folię pozostawić przez kilka godzin do osiągnięcia temperatury pokojowej. Przenieść 400 µl roztworu wzorcowego podstawowego zawierającego 200 ng aflatoksyny B₁, do kolby miarowej o pojemności 50 ml i odparować roztwór do sucha w strumieniu obojętnego gazu, o którym mowa w ust. 3.11.

Rozpuścić pozostałość w około 20 ml mieszaniny wody i acetonu, o której mowa w ust. 3.5.3, uzupełnić do pełnej objętości kolby mieszaniną wody i acetonu, dobrze zmieszać.

3.13.2. Roztwór kalibracyjny 3 ng/ml.

Przenieść ilościowo 7,5 ml roztworu kalibracyjnego, o którym mowa w ust. 3.13.1 do kolby miarowej o pojemności 10 ml, uzupełnić do pełnej objętości kolby mieszaniną wody i acetonu, o której mowa w ust. 3.5.3, i dobrze zmieszać.

3.13.3. Roztwór kalibracyjny 2 ng/ml.

Przenieść ilościowo 25 ml roztworu kalibracyjnego, o którym mowa w ust. 3.13.1 do kolby miarowej o pojemności 50 ml, uzupełnić do pełnej objętości kolby mieszaniną wody i acetonu, o którym mowa w ust. 3.5.3, i dobrze zmieszać.

Ten roztwór jest także wzorcem odniesienia, stosowanym do wielokrotnych wstrzyknięć podczas HPLC, o której mowa w ust. 5.5.

3.13.4. Roztwór kalibracyjny 1 ng/ml.

Przenieść ilościowo 2,5 ml roztworu kalibracyjnego, o którym mowa w ust. 3.13.1, do kolby miarowej o pojemności 10 ml, uzupełnić do pełnej objętości kolby mieszaniną wody i acetonu, o której mowa w ust. 3.5.3, i dobrze zmieszać.

3.14. Ampułki zawierające mieszaninę aflatoksyn B₁, B₂, G₁ i G₂ o stężeniach odpowiednio 1,0, 0,5, 1,0 i 0,5 µg/ml, w ml chloroformu.

3.14.1. Roztwór testowy do chromatografii.

Przenieść zawartość ampułki, o której mowa w ust. 3.14, do próbówki zamykanej szklanym korkiem lub do naczynka z nakrętką. Następnie przenieść 40 µl tego roztworu do próbówki, o której mowa w ust. 4.22, opłukanej kwasem. Odparować chloroform w strumieniu obojętnego gazu, o którym mowa w ust. 3.11, i powtórnie rozpuścić w 10 ml mieszaniny wody i acetonu, o której mowa w ust. 3.5.3.

3.15. Odczynniki do potwierdzającego testu, o którym mowa w ust. 6.

3.15.1. Chlorek sodu, roztwór nasycony.

3.15.2. Siarczan sodu bezwodny, granulowany.

4. APARATURA I SPRZĘT

Stosowanie naczyń szklanych, które nie były myte kwasem, do sporządzania wodnych roztworów aflatoksyn może być przyczyną zaniżonych wyników. Szczególną uwagę zwrócić na nowy sprzęt szklany oraz sprzęt używany, taki jak naczynka do automatycznego podajnika próbek, pipety Pasteura. Sprzęt laboratoryjny, który ma kontakt z wodnymi roztworami aflatoksyn, powinien być moczony w rozcieńczonym kwasie, proponuje się zastosować kwas siarkowy o stężeniu 2 mol/l, przez kilka godzin, następnie dokładnie płukany destylowaną wodą w celu usunięcia pozostałości kwasu, proponuje się płukać trzy razy a następnie sprawdzić pH papierkiem. W praktyce, stosowanie tych zaleceń jest niezbędne w przypadku używania kolb okrągłodennych, o których mowa w ust. 4.4, kolb miarowych, cylindrów miarowych, naczynek lub próbek stosowanych do kalibracyjnych roztworów i końcowych ekstraktów, zwłaszcza naczynek do automatycznego podajnika próbek i pipet Pasteura, jeżeli są używane do przenoszenia kalibracyjnych roztworów lub ekstraktów.

4.1. Rozdrabniacz.

4.2. Sito o oczkach o średnicy 1 mm, zgodnie z ISO R 565.

4.3. Mechaniczna wstrząsarka.

4.4. Rotacyjna wyparka próżniowa, wyposażona w kolbę okrągłodenną o pojemności od 150 do 250 ml.

4.5. Wysokosprawny chromatograf cieczowy, dozownik z pętlą umożliwiającą zadozowanie 250 ml, zgodnie z instrukcją użytkowania dotyczącą częściowego lub całkowitego napełniania petli.

4.6. Analityczna kolumna do HPLC: wypełnienie C₁₈, 3 µm lub 5 µm.

4.7. Bezpulsacyjna pompa dostarczająca odczynnik jodowy do derywatywacji pokolumnowej.

4.8. Zawór Valco o zerowej objętości martwej w kształcie litery T, ze stali nierdzewnej (1/16" · 0,75mm).

4.9. Spirala reakcyjna teflonowa lub ze stali nierdzewnej o wymiarach: 3000 x 0,5 mm do 5000 x 0,5 mm, odpowiednich do połączenia z kolumnami HPLC 5 µm lub 3 µm.

4.10. Łaźnia wodna z termostatem umożliwiającym utrzymanie temperatury 60 °C ± 0,1°C.

4.11. Detektor fluorescencyjny o czułości – wzbudzenie: 365 nm, emisja: 435 nm, a w przypadku aparatów wyposażonych w filtry – emisja długości fali jest powyżej 400 nm. Możliwy poziom oznaczalności powinien wynosić co najmniej 0,05 ng aflatoksyny B₁. Wskazana jest możliwość uzyskania ciśnienia zwrotnego, zwłaszcza przy użyciu restryktora, spirali teflonowej lub ze stali nierdzewnej podłączonej u wylotu detektora w celu usunięcia pęcherzyków powietrza z naczynka przepływowego.

4.12. Rejestrator.

4.13. Proponuje się elektroniczny integrator.

4.14. Karbowany filtr bibułowy o średnicy porów 24 cm, Macherey-Nagel 617 1/4 lub o podobnych parametrach.

4.15. Filtr membranowy o średnicy porów 0,45 µm, Milipore HAWP04700 lub o podobnych parametrach.

4.16. Kolba stożkowa ze szklanym korkiem o pojemności 500 ml.

4.17. Kolumna szklana o średnicy wewnętrznej około 1 cm, o długości około 30 cm, wyposażona w końcówkę Luera.

4.18. Kurek zamykający Luera odporny na chloroform, proponuje się zastosować Bio-rad 7328017, Analytichem Al 6078, J.T.Baker 4514 lub o podobnych parametrach.

4.19. Strzykawka odporna na działanie substancji chemicznych, wyposażona w 10 ml nasadkę Luera.

4.20. Strzykawka do HPLC, odpowiednia do zadozowania 250 µl, przy uwzględnieniu ust. 4.5.

4.21. Mikrostrzykawka 100 µl do przygotowania kalibracyjnych roztworów, która powinna być sprawdzona przed użyciem w celu ustalenia, czy jej dokładność mieści się w przedziale 2%.

4.22. Kalibrowane próbówki z korkiem szklanym o pojemności 10 ml.

4.23. Spektrofotometr, umożliwiający pomiary absorbancji w zakresie widma UV.

4.24. Wyposażenie do przeprowadzenia testu sprawdzającego, o którym mowa w ust. 6.

4.24.1. Rozdzielacz o pojemności 100 ml, wyposażony w teflonowy kurek, umyty kwasem.

4.24.2. Blok grzewczy, zapewniający temperaturę od 40 do 50 °C.

5. SPOSÓB POSTĘPOWANIA

5.1. Przygotowanie próbki.

Rozdrobnić próbkę, tak aby przechodziła przez sito, o którym mowa w ust. 4.2.

5.2. Badana część próbki.

Odważyć 50 g przygotowanej próbki do kolby stożkowej, o której mowa w ust. 4.16.

5.3. Ekstrakcja

Do odważki, o której mowa w ust. 5.2 dodać 25 g Celitu, o którym mowa w ust. 3.8, 250 ml chloroformu, o którym mowa w ust. 3.1 i 25 ml wody. Zamknąć kolbę i wstrząsać przez 30 minut na mechanicznej wstrząsarce, o której mowa w ust. 4.3. Filtrować przez filtr, o którym mowa w ust. 4.14. Zebrać 50 ml filtratu. Jeżeli konieczne, pobrać podzielną część filtratu i rozcieńczyć do 50 ml chloroformem, tak aby stężenie aflatoksyny B₁ nie było wyższe niż 4 ng/ml.

5.4. Oczyszczanie powinno być prowadzone bez istotnych przerw

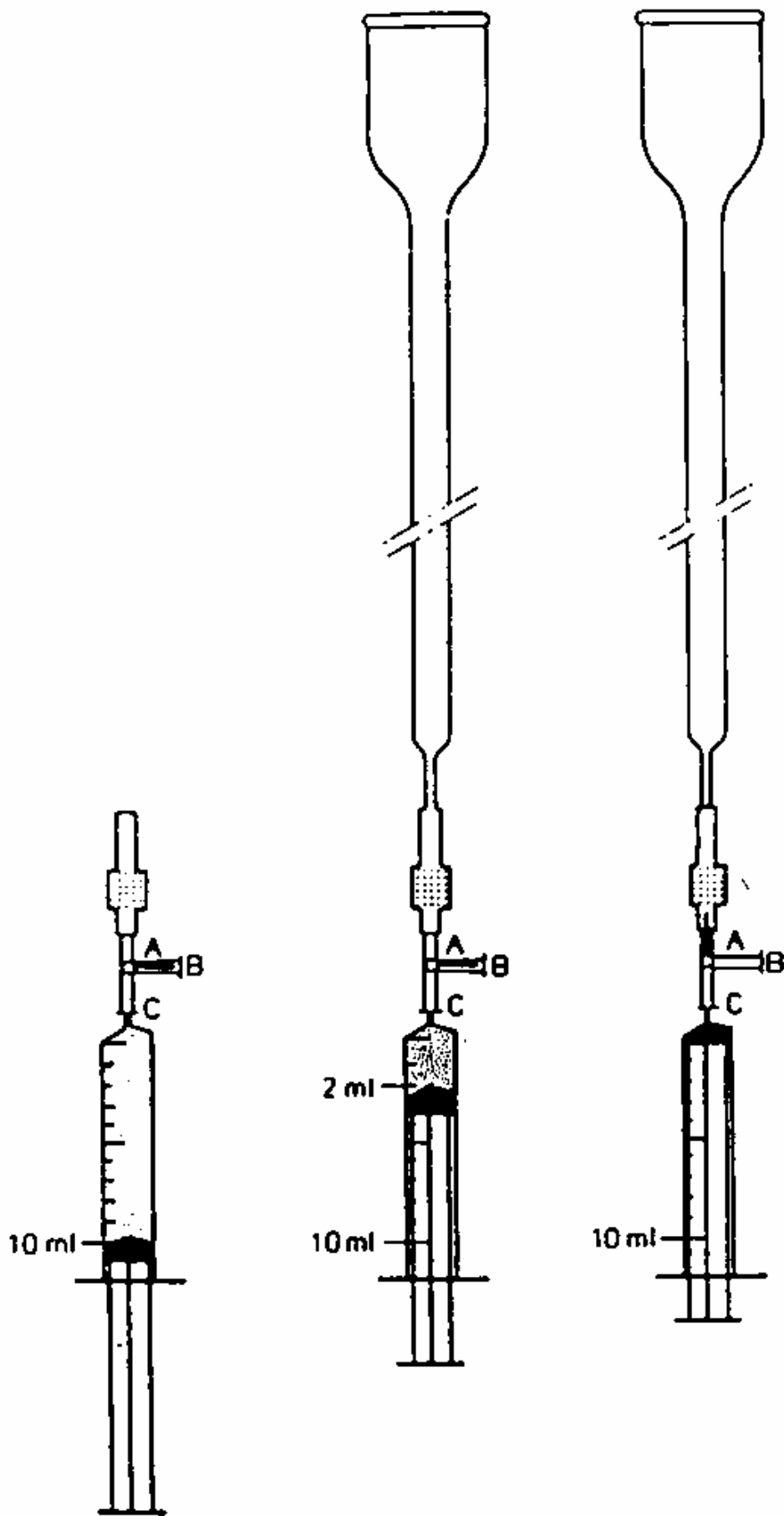
W czasie wykonywania analizy chronić pomieszczenia laboratoryjne przed dostępem światła dziennego. Można to uzyskać poprzez założenie na okna folii pochłaniającej promieniowanie UV z równoczesnym ograniczeniem dostępu światła słonecznego oraz poprzez założenie zasłon lub żaluzji w połączeniu ze sztucznym światłem, dopuszcza się stosowanie światła jarzeniowego.

Roztwory zawierające aflatoksynę powinny być chronione przed dostępem światła, poprzez przechowywanie ich w ciemności albo poprzez stosowanie aluminiowych folii.

5.4.1. Oczyszczanie Florisil SEP-PAK

5.4.1.1. Przygotowanie zestawu wypełnionej kolumny.

Podłączyć kurek zamykający, o którym mowa w ust. 4.18 do krótszej końcówki mikrokolumny z wypełnieniem Florisil, o którym mowa w ust. 3.9 (rys. 6). Przemyc wypełnienie i usunąć środek pomocniczy stosując 10 ml chloroformu, o którym mowa w ust. 3.1, i szybko przepuszczając 8 ml przez kurek zamykający, przy użyciu strzykawki, o której mowa w ust. 4.19. Podłączyć dłuższą końcówkę mikrokolumny z wypełnieniem do szklanej kolumny, o której mowa w ust. 4.17, i przepuścić pozostałe 2 ml chloroformu przez wypełnienie do kolumny. Zamknąć kurek zamykający. Odłączyć strzykawkę.



Rysunek 6. Zestaw kolumnowy z mikrokolumną
5.4.1.2. Oczyszczanie

Wprowadzić filtrat otrzymany w sposób określony w ust. 5.3 do wypełnionej kolumny i osuszonej grawitacyjnie. Spłukać kolumnę przy użyciu 5 ml chloroformu, o którym mowa w ust. 3.1, i 20 ml metanolu, o którym mowa w ust. 3.2. Odrzucić eluaty. W czasie tych czynności nie wolno dopuścić, aby wypełnienie mikrokolumny pozostawało suche.

Wymyć aflatoksynę B₁ przy użyciu 40 ml mieszaniny acetonu i wody, o której mowa w ust. 3.5.1, i zebrać całość eluatu do kolby okrągłodennej rotacyjnej wyparki, o której mowa w ust. 4.4. Zateńczyć eluat na rotacyjnej wyparce, o którym mowa w ust. 4.4, w temperaturze od 40 do 50°C aż do całkowitego oddestylowania acetonu. Po zastosowaniu tego procesu **w kolbie pozostaje około 0,5 ml cieczy. Badania wykazały, że dalsze odparowywanie nie jest szkodliwe, a w 0,5 ml pozostałości nie występują istotne ilości acetonu. Pozostałości acetonu mogą powodować straty aflatoksyny B₁ na wypełnieniu C₁₈.**

Dodać 1 ml metanolu, o którym mowa w ust. 3.2, poruszać kolbą ruchem okrężnym w celu rozpuszczenia aflatoksyny B₁ na ścianach kolby, dodać 4 ml wody i zmieszać. Odłączyć i odrzucić wypełnienie. Spłukać wodą kolumnę szklaną i przystąpić do etapu oczyszczania wypełnienia C₁₈.

5.4.2. Oczyszczanie SEP-PAK C₁₈.

5.4.2.1. Przygotowanie zestawu wypełnionej kolumny.

Podłączyć kurek zamykający, o którym mowa w ust. 4.18, do krótszej końcówki mikrokolumny z wypełnieniem C₁₈, o którym mowa w ust. 3.10 (rys. 6). Sprawdzić wypełnienie i usunąć środek pomocniczy stosując 10 ml metanolu, o którym mowa w ust. 3.2, szybko przepuszczając przez kurek zamykający przy użyciu strzykawki, o której mowa w ust. 4.19. Pęcherzyki powietrza w wypełnieniu są widoczne jako jasne punkty na szarym tle. Pobrać 10 ml wody i przepuścić 8 ml przez wypełnienie nie dopuszczając do wprowadzenia powietrza do wypełnienia przy przejściu od metanolu do wody. Podłączyć dłuższą końcówkę wypełnienia do kolumny szklanej, o której mowa w ust. 4.17, i przepuścić pozostałe 2 ml wody przez wypełnienie w kolumnie. Zamknąć kurek zamykający. Odłączyć strzykawkę.

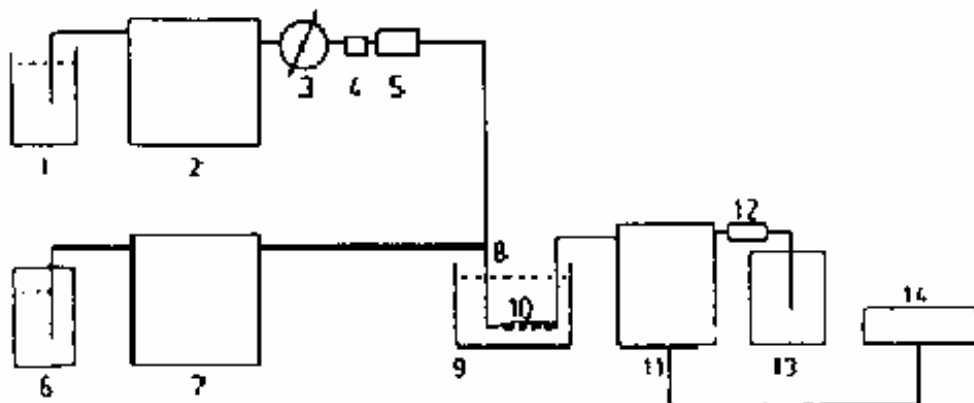
5.4.2.2. Oczyszczanie

Przenieść ilościowo ekstrakt uzyskany w sposób określony w ust. 5.4.1.2 do kolumny szklanej, o której mowa w ust. 4.17, spłukując kolbę dwukrotnie przy użyciu 5 ml mieszaniny wody i metanolu, o której mowa w ust. 3.5.2 i osuszyć grawitacyjnie. Podczas tych czynności zwrócić uwagę, aby wypełnienie kolumny nie pozostawało suche. Jeżeli w pobliżu wypełnienia utworzą się pęcherzyki powietrza przerwać przepływ i uderzyć w górny koniec kolumny w celu usunięcia powietrza, a następnie kontynuować analizę. Eluować przy użyciu 25 ml mieszaniny wody i metanolu. Odrzucić eluat. Eluować aflatoksynę B₁ przy użyciu 50 ml mieszaniny wody i acetonu, o której mowa w ust. 3.5.3, i zebrać całość eluatu do kolby miarowej o pojemności 50 ml. Uzupelnąć wodą do pełnej objętości kolby i zmieszać. Uzyskany roztwór jest stosowany do chromatografii, o której mowa w ust. 5.5.

Filtracja końcowego ekstraktu przed chromatografią HPLC zwykle nie jest konieczna. Jeżeli jednak okaże się to niezbędne, nie stosować filtrów celulozowych ze względu na możliwe straty aflatoksyny B₁. Można stosować filtry teflonowe.

5.5. Wysokosprawna chromatografia cieczowa.

Sposób połączenia zestawu jest podany na rys. 7. Pozwolić na ustabilizowanie się warunków pracy aparatu.

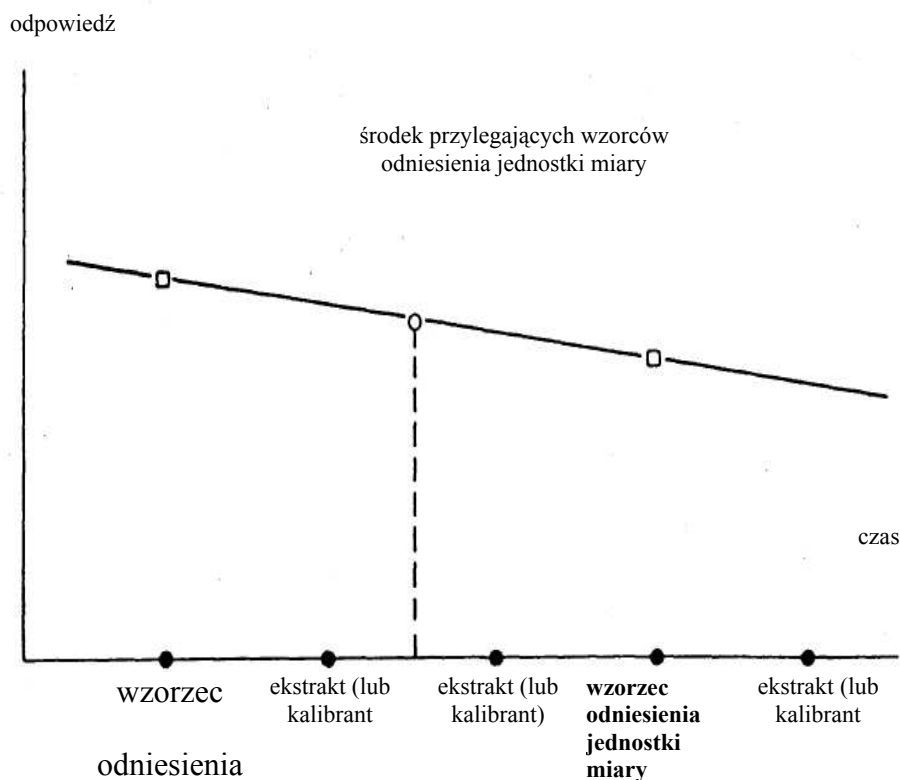


Rysunek 7. Przepływowy diagram systemu LC z derywatyzacją pokolumnową

1. Faza ruchoma
2. Pompa
3. Zawór dozownika
4. Przedkolumna
5. Kolumna analityczna do HPLC
6. Nasycony roztwór jodu
7. Pompa odczynnikowa
8. Łącznik T
9. Termostatowana łaźnia
10. Spirala reakcyjna
11. Detektor fluorescencyjny
12. Restryktor
13. Odciek
14. Rejestrator lub integrator

Szybkości przepływu fazy ruchomej i odczynnika przedkolumnowego są tylko wskaźnikowe. Parametry te powinny być ustalone w zależności od charakterystyki kolumny HPLC.

Przy oznaczaniu aflatoksyny B₁ sygnał detektora zależy od temperatury, dlatego kompensacja powinna być wykonana dla dryfu (rys. 8). Dozując określone ilości wzorca odniesienia aflatoksyny B₁, o którym mowa w ust. 3.13.3 w regularnych odstępach czasu zwłaszcza co trzecie wstrzyknięcie, wartości piku aflatoksyny B₁ pomiędzy tymi wzorcami odniesienia mogą być skorygowane poprzez uśrednienie odpowiedzi, pod warunkiem, że różnice pomiędzy kolejnymi odpowiedziami wzorców odniesienia są bardzo małe (< 10%). Dlatego dozowania powinny być prowadzone bez przerw. Jeżeli przerwa jest nieunikniona, ostatnie dozowanie przed przerwą i pierwsze dozowanie po przerwie powinno być uznawane jako wzorzec odniesienia, o którym mowa w ust. 3.13.3. Z uwagi na prostoliniowość krzywej kalibracyjnej i przechodzenie jej przez punkt wyjściowy, zawartości aflatoksyny B₁ w ekstraktach próbki są określane bezpośrednio przez odniesienie do przyległych wzorców.



Rysunek 8. Kompensacja dryfu przy oznaczaniu aflatoksyny B₁ poprzez dozowanie wzorca odniesienia, o którym mowa w ust. 3.13.3, w regularnych odstępach

5.5.1. Ustawianie pompy HPLC

Ustawić pompę HPLC, o której mowa w ust. 4.5, na przepływ 0,5 lub 0,3 ml/min odpowiednio dla 5 µm lub 3 µm kolumny HPLC, o której mowa w ust. 4.6, stosując fazę ruchomą, o której mowa w ust. 3.6.

5.5.2. Ustawianie pompy pokolumnowej

Ustawić pompę, o której mowa w ust. 4.7, na przepływ nasyconego, wodnego roztworu jodu, o którym mowa w ust. 3.7, od 0,2 do 0,4 ml/min. Uwzględnić ogólną regułę: przepływy około 0,4 lub 0,2 ml/min są zalecane w powiązaniu z odpowiednimi przepływami 0,5 i 0,3 ml/min fazy ruchomej, o której mowa w ust. 3.6.

5.5.3. Detektor fluorescencyjny

Ustawić detektor fluorescencyjny, o którym mowa w ust. 4.11, o czułości – wzbudzenie: 365 nm, emisja: 435 nm, a w aparatach wyposażonych w filtry powyżej 400 nm. Ustawić wzmacnienie detektora na takim poziomie, aby wychylenie pisaka wynosiło 80% skali dla 1 ng aflatoksyny B₁.

5.5.4. Dozownik

W przypadku wszystkich roztworów dozować 250 µl ilości, zgodnie z instrukcją obsługi dozownika.

5.5.5. Sprawdzenie chromatograficznego rozdzielania

Zadozować roztwór testowy do chromatografii, o którym mowa w ust. 3.14.1. Doliny powinny stanowić mniej niż 5% sumy wysokości piku przyległych pików.

5.5.6. Sprawdzanie stabilności układu

Przed każdą serią analiz, dozować kolejno wzorzec odniesienia, o którym mowa w ust. 3.13.3, aż do uzyskania stałych powierzchni piku, przy czym piki aflatoksyny B₁ nie mogą się różnić więcej niż 6%. Przeprowadzić niezwłocznie sprawdzian liniowości, o którym mowa w ust. 5.5.7.

5.5.7. Sprawdzenie liniowości

Dozować roztwory kalibracyjne aflatoksyny B₁, o których mowa od ust. 3.13.1, do ust. 3.13.4. Za każdym trzecim razem dozować wzorzec odniesienia, o którym mowa w ust. 3.13.3, w celu korekty dryfu w odpowiedzi przy czym **odpowiedzi piku dla wzorca referencyjnego wzorca nie powinny się różnić więcej niż o 10% w czasie 90 minut**. Skorygować dryf zgodnie ze wzorem opisanym w ust. 7. Wykres kalibracyjny powinien być liniowy i przechodzić przez punkt wyjściowy w granicach podwójnego wzorcowego błędu szacowania Y. Znalezione wartości nie mogą się różnić więcej niż o 3% od wartości

nominalnych. Jeżeli te warunki są spełnione, kontynuować oznaczanie. Jeżeli nie, określić i skorygować źródła rozbieżności przed dalszym oznaczaniem.

5.5.8. Dozowanie próbek ekstraktów

Dozować oczyszczone próbki ekstraktów, o których mowa w ust. 5.4.2.2. Po zadozowaniu każdego dwóch próbek ekstraktu, powtarzać dozowanie wzorca odniesienia, o którym mowa w ust. 3.13.3, w szczególności zgodnie z poniższą sekwencją: wzorzec odniesienia, ekstrakt, ekstrakt, wzorzec odniesienia, ekstrakt, ekstrakt, wzorzec odniesienia.

6. TEST POTWIERDZAJĄCY

6.1. Dalszy etap postępowania z ekstraktem, o którym mowa w ust. 5.4.2.2

Dodać 5 ml roztworu chlorku sodu, o którym mowa w ust. 3.15.1 do końcowego ekstraktu otrzymanego w sposób określony w ust. 5.4.2.2. Ekstrahować trzykrotnie stosując każdorazowo po 2 ml chloroformu, o którym mowa w ust. 3.1 w czasie minuty, w rozdzielaczu, o którym mowa w ust. 4.24.1. Nanosić chloroformowe ekstrakty na około 1 g warstwę siarczanu sodu, o którym mowa w ust. 3.15.2 i zbierać w probówce o pojemności 10 ml. Do ekstrakcji zastosować mały rozdzielacz o średnicy 4 cm, przy czym około 1 g siarczanu sodu nałożyć na zwitek waty.

Przemyć warstwę siarczanu sodu przy użyciu kilku ml chloroformu i zebrać popłuczyny w tej samej testowej probówce. Odparować chloroformowy ekstrakt do sucha z tej samej próbki przy użyciu bloku grzewczego, o którym mowa w ust. 4.24.2 i ponownie rozpuścić w ml chloroformu.

6.2. Przygotowanie cienkowarstwowej chromatografii połączonej z derywatyzacją

Postępować w sposób określony w rozdziale 8 w części 8.1, w ust. 5.6.2.

7. OBLICZANIE WYNIKÓW

Zawartość aflatoksyny B₁ w µg/ kg w próbce obliczyć według następującego wzoru:

$$\text{zawartość aflatoksyny B}_1 \text{ w } \mu\text{g/ kg} = \frac{m \times V_{\text{ext}}}{V_m \times M \times V_f / V_c}$$

gdzie:

m - ilość aflatoksyny B₁ w ng odpowiadająca zarejestrowanemu pikowi, obliczona w następujący sposób:

$$m = \frac{P(\text{próbka})}{P(\text{st}_1) + P(\text{st}_2)} \times 2 r(\text{st})$$

P (próbka) - powierzchnia pików aflatoksyny B₁ dla próbki,

P (st₁) - powierzchnia pików aflatoksyny B₁ odpowiadająca poprzedniemu zadozowaniu wzorca odniesienia, o którym mowa w ust. 3.13.3,

P (st₂) - powierzchnia pików aflatoksyny B₁ odpowiadająca następnemu zadozowaniu wzorca odniesienia, o którym mowa w ust. 3.13.3,

r (st) - ilość w ng aflatoksyny B₁ zadozowana na kolumnę z wzorca odniesienia, o którym mowa w ust. 3.13.3,

V_m - objętość w ml zadozowanego na kolumnę ekstraktu próbki,

V_{ext} - końcowa objętość w ml ekstraktu próbki, uwzględniająca wszelkie rozcieńczenia w toku postępowania określonego w ust. 5.3,

M - masa w g próbki,

V_f - objętość w ml filtratu przeniesiona na wypełnienie Florisil, o którym mowa w ust. 5.4.1.2,

V_c - objętość w ml chloroformu użyta do ekstrakcji próbki.

Jeżeli sposób postępowania jest zgodny z podanym, wzór upraszcza się do postaci:

$$\text{Zawartość aflatoksyny B}_1 \text{ w } \mu\text{g/ kg} = 20 \times m$$

7.1. Obliczanie wyników można prowadzić na podstawie pomiaru wysokości pików.

8. POWTARZALNOŚĆ

Powtarzalność przy uwzględnieniu ust. 10.1.

9. ODTWARZALNOŚĆ

Odtwarzalność przy uwzględnieniu ust. 10.1.

10. OBJAŚNIENIA

10.1. Precyzja

Międzynarodowe badania międzylaboratoryjne⁸⁾ były prowadzone na mieszkach paszowych. Pozwoliły one uzyskać dane o powtarzalności i odtwarzalności, które zamieszczono w tabeli 28. Termin powtarzalności (r) tutaj jest stosowany jako największy przedział, w którym dwa wyniki oznaczeń aflatoksyny B₁ wykonane w tej samej próbce, w powtarzalnych warunkach w tym samym laboratorium, nie różnią się z prawdopodobieństwem 95%. Termin odtwarzalności (R) jest definiowany podobnie, w przypadku porównania dwóch różnych laboratoriów. Zgodnie z normą ISO 3534 – 1977, 2,35⁹⁾ i Decyzją Rady 89/610/EEC (Dz. Urz. WE L 351 z 2.12.1989, str. 39) wartości r i R również podano w tabeli 28 w kategoriach współczynników zmienności.

Tabela 28. Wyniki badań międzylaboratoryjnych, przeprowadzonych w 15 laboratoriach.

Powtarzalność (r) i odtwarzalność (R) wyrażone jako proporcje i odpowiednie współczynniki zmienności.

Poziom	r	R	CV _r (*)	CV _R
µg/ kg			%	%
8 i 14	1,4	1,7	11	18

(*) CV – współczynnik zmienności

⁸⁾ Egmond, H.P. van, Heisterkamp, S.H. and Paulsch, W.E. (1991). Food Additives and Contaminants 8, 17-29.

⁹⁾ ISO 3534-1977

10.2. Stabilizacja chloroformu, o którym mowa w ust. 3.1

Charakterystyki absorpcji na Florisilu mogą się zmienić przy stosowaniu stabilizatorów innych niż etanol. Jeżeli zalecany chloroform jest niedostępny, sprawdzić wynik analizy w sposób określony w ust. 10.3.

10.3. Dokładność

Poprawność wykonania oznaczenia przy użyciu niniejszej metody może być sprawdzona poprzez wykonywanie wielokrotnych pomiarów certyfikowanego materiału odniesienia. Jeżeli taki materiał nie jest dostępny, metodyka oznaczania powinna być zweryfikowana poprzez badanie fortyfikowanej ślepej próbki paszy. Odchylenie średniej od wartości rzeczywistej, wyrażonej w procentach tej wartości, powinno zawierać się w przedziale od -20 do +10% w stosunku do rzeczywistej wartości.

8.3. OZNACZANIE KWASU CYJANOWODOROWEGO

1. CEL I ZAKRES STOSOWANIA METODY

Metoda służy do oznaczania zawartości kwasu cyjanowodorowego, występującego w postaci wolnej, jak również w połączeniu z glukozydami, w paszach, a w szczególności w produktach pochodzących z nasion lnu, mąki maniuoku i niektórych gatunków fasoli.

2. SPOSÓB PRZEPROWADZENIA METODY

Po utworzeniu zawiesiny próbki w wodzie, pod wpływem enzymów uwalnia się kwas cyjanowodorowy, który zbierany jest przez parę destylacyjną, a następnie umieszczany w odpowiedniej objętości zakwaszonego roztworu azotanu srebra. Powstały cyjanek srebra oddziela się na filtrze, a nadmiar azotanu srebra miareczkuje się roztworem tiocyjanianu amonu.

3. ODCZYNNIKI I ROZTWORY

3.1. Zawiesina ze słodkich migdałów. Rozdrobnić 20 wyłuskanych słodkich migdałów i wrzucić do 100 ml wody o temperaturze od 37 do 40°C. Sprawdzić, czy w zawiesinie nie ma kwasu cyjanowodorowego w ten sposób, że 10 ml zawiesiny nanieść na sodowy papierik pikrynowy lub wykonując ślepa próbę, w sposób określony w ust. 5.

3.2. Roztwór octanu sodu, 10% (m/V), obojętny wobec fenoloftaleiny.

3.3. Emulsja przeciwpieniąca, proponuje się zastosować silikon.

3.4. Kwas azotowy, $d = 1,4$.

3.5. Roztwór azotanu srebra o stężeniu 0,02 N.

3.6. Roztwór tiocyjanianu amonu o stężeniu 0,02 N.

3.7. Nasycony roztwór siarczanu żelaza i amonu.

3.8. Amoniak, $d = 0,958$.

4. APARATURA I SPRZĘT

4.1. Suszarka z termostatem ustawionym na 38°C.

4.2. Aparatura do destylacji z parą wodną, ze skraplaczem.

4.3. Kolby płaskodenne ze szklanymi korkami, o pojemności 1 litra.

4.4. Łaźnia olejowa.

4.5. Biureta z podziałką w zakresie 1/20 ml.

5. SPOSÓB POSTĘPOWANIA

Odważyć 20 g próbki, z dokładnością do 5 mg, umieścić w kolbie płaskodennej o pojemności 1 litra, dodać kolejno 50 ml wody i 10 ml zawiesiny słodkich migdałów, o której mowa w ust. 3.1. Zamknąć kolbę i umieścić na 16 godzin w suszarce w temperaturze 38°C. Następnie ochłodzić do temperatury pokojowej i dodać 80 ml wody, 10 ml roztworu octanu sodu, o którym mowa w ust. 3.2, i kroplę emulsji przeciwpieniącej, o której mowa w ust. 3.3.

Połączyć kolbę z aparaturą do destylacji z parą wodną i umieścić w łaźni olejowej, którą uprzednio rozgrzewa się do temperatury nieco powyżej 100°C. Oddestylować od 200 do 300 ml cieczy z parą wodną i łagodnie ogrzewać kolbę. Destylat zebrać w kolbie Erlenmeyera osłoniętej od światła i zawierającej 50 ml roztworu azotanu srebra, o którym mowa w ust. 3.5, i 1 ml kwasu azotowego, o którym mowa w ust. 3.4. Upewnić się, że koniec chłodnicy jest zanurzony w roztworze azotanu srebra.

Zawartość kolby Erlenmeyera przenieść do kolby miarowej o pojemności 500 ml i uzupełnić wodą do pełnej objętości kolby, wymieszać i przefiltrować. Odrzucić 250 ml filtratu i dodać około 1 ml roztworu siarczanu żelaza i amonu, o którym mowa w ust. 3.7, a nadmiar azotanu srebra miareczkować roztworem tiocyjanianu amonu, o którym mowa w ust. 3.6, z biurety z podziałką w zakresie 1/20 ml.

Ślepa próbę przeprowadza się w ten sam sposób, używając 10 ml zawiesiny słodkich migdałów, o której mowa w ust. 3.1, pomijając analizowaną próbkę.

6. OBLICZANIE WYNIKÓW

Jeżeli ślepa próba wykaże, że roztwór azotanu srebra został zużyty, odjąć jego objętość od objętości zużytej przez destylat z próbki. 1 ml AgNO_3 0,02 N odpowiada 0,54 mg HCN. Wynik wyrazić w procentach wagowych.

7. OBJAŚNIENIA

Jeżeli próbka zawiera znaczne ilości siarczków, a w szczególności w przypadku fasoli, wytrąca się czarny osad siarczku srebra, który zostaje na filtrze wraz z osadem cyjanu srebra. Tworzenie się siarczku srebra powoduje straty roztworu azotanu srebra 0,02 N i wartość tę należy odjąć od objętości użytej do obliczania zawartości HCN. Czynność tę wykonać w sposób opisany poniżej. Pozostały na filtrze osad potraktować 50 ml amoniaku, o którym mowa w ust. 3.8, w celu rozpuszczenia cyjanu srebra. Pozostałość przemyć rozcieńczonym amoniakiem i następnie oznaczyć w niej zawartość srebra. Przeliczyć otrzymaną wartość na ilość ml roztworu azotanu srebra 0,02 N.

Zawartość HCN w próbce można też oznaczyć, miareczkując zakwaszony amoniakalny filtrat kwasem azotowym.

8.4. SZACOWANIE AKTYWNOŚCI UREAZY W PRODUKTACH SOJOWYCH

1. CEL I ZAKRES STOSOWANIA METODY

Metoda służy do oznaczania aktywności ureazy w produktach sojowych oraz do wykazania, czy te produkty były poddawane obróbce cieplnej przez wystarczająco długi okres.

2. SPOSÓB PRZEPROWADZENIA METODY

Aktywność ureazy jest określana na podstawie oznaczenia ilości uwolnionego azotu amonu z roztworu mocznika, w przeliczeniu na 1 g produktu na minutę, w temperaturze 30°C.

3. ODCZYNNIKI I ROZTWORY

3.1. Kwas chlorowodorowy 0,1 N.

3.2. Roztwór wodorotlenku sodu 0,1 N.

3.3. Obciążający roztwór fosforanowy 0,05 M, zawierający w 1 litr 4,45 g dwuhydratu wodorofosforanu dwusodu ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) i 3,40 g dwuwodorofosforanu potasu (KH_2PO_4).

3.4. Obciążający roztwór mocznika, świeżo przygotowany, zawierający 30,0 g mocznika w 1 litrze obciążającego roztworu fosforanowego, o którym mowa w ust. 3.3, przy pH od 6,9 do 7,0.

4. APARATURA I SPRZĘT

4.1. Aparatura do miareczkowania potencjometrycznego lub pehametr o wysokiej czułości (0,02 pH), z mieszadłem magnetycznym.

4.2. Łaźnia wodna z termostatem umożliwiającym utrzymanie temperatury 30°C.

4.3. Probówki ze szlifowanymi korkami o wymiarach 150 x 18 mm.

5. SPOSÓB POSTĘPOWANIA

Rozdrobnić około 10 g próbki, tak aby przesiewała się przez oczka sita o średnicy 0,2 mm. Można w tym celu użyć młynka do kawy. Odważyć 0,2 g rozdrobnionej próbki, z dokładnością do 1 mg, i umieścić w probówce ze szlifowanym korkiem, następnie dodać 10 ml obciążającego roztworu mocznika, o którym mowa w ust. 3.4. Natychmiast zamknąć korkiem i wstrząsnąć energicznie. Probówkę umieścić w łaźni wodnej nastawionej na 30°C i utrzymywać w niej przez 30 minut. Natychmiast dodać 10 ml kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust. 3.1, szybko schłodzić do temperatury 20°C i przenieść ilościowo zawartość próbki do naczynia do miareczkowania, przemywając dwukrotnie wodą w ilości po 5 ml. Stosując elektrodę szklaną, o której mowa w ust. 4.1, natychmiast miareczkować elektrometrycznie roztworem wodorotlenku sodu, o którym mowa w ust. 3.2, do uzyskania pH 4,7.

Przeprowadzić test ślepej próby w następujący sposób: szybko umieścić 0,2 g próbki, odważonej z dokładnością do 1 mg, w probówce ze szlifowanym korkiem, dodać 10 ml kwasu chlorowodorowego, o którym mowa w ust. 3.1, a następnie 10 ml obciążającego roztworu mocznika, o którym mowa w ust. 3.4. Szybko schłodzić probówkę w łaźni lodowej i pozostawić na 30 minut. Przenieść zawartość próbki do naczynia do miareczkowania, używając roztworu wodorotlenku sodu, o którym mowa w ust. 3.2, do uzyskania pH 4,7.

6. OBLICZANIE WYNIKÓW

Aktywność ureazy obliczyć według następującego wzoru:

$$\frac{\text{mg N}}{\text{g} \times \text{min}} \text{ w temperaturze } 30^\circ\text{C} = \frac{1,4 (b - a)}{30 \times E}$$

gdzie:

a – objętość ml roztworu 0,1 N wodorotlenku sodu zużytego przez próbkę,

b – objętość w ml roztworu 0,1 N wodorotlenku sodu zużytego w ślepej próbie,

E – masa w g próbki.

7. OBJAŚNIENIA

7.1. Metoda jest odpowiednia do oznaczania aktywności ureazy do 1 mg N/g/min w temperaturze 30°C. W przypadku produktów o większej aktywności ureazy zmniejszyć masę próbki do 50 mg.

7.2. Produkty zawierające więcej niż 10% tłuszczu surowego powinny być najpierw odfuszczone na zimno.

8.5. OZNACZANIE GOSSYPOŁU

1. CEL I ZAKRES STOSOWANIA METODY

Metoda służy do oznaczania zawartości wolnego gossypolu, całkowitego gossypolu i chemicznie związanych substancji w nasionach bawełny, w makuchach, w mączce z nasion bawełny i w mieszankach paszowych zawierających te substancje w ilości ponad 20 ppm.

2. SPOSÓB PRZEPROWADZENIA METODY

Gossypol ekstrahuje się w obecności 3-aminopropan-1-olu lub mieszaniny propan-2-olu i heksanu w przypadku oznaczania wolnego gossypolu lub dwumetyloformamidem w przypadku oznaczenia całkowitego gossypolu. Gossypol reagując z aniliną, tworzy gossypol-dianilinę, której gęstość optyczna mierzona jest przy 440 nm.

3. ODCZYNNIKI I ROZTWORY

3.1. Mieszanina 1-propan-2-ol-heksan:

Zmieszać 60 części objętościowych propan-2-olu z 40 częściami objętościowymi n-heksanu.

3.2. Rozpuszczalnik A:

Umieścić w kolbie o pojemności 1 litra około 500 ml mieszaniny propan-2-ol-heksanu, o której mowa w ust. 3.1, 2 ml 3-aminopropan-1-olu, 8 ml lodowatego kwasu octowego i 50 ml wody. Uzupełnić do pełnej objętości kolby mieszaniną propan-2-ol - heksan, o której mowa w ust. 3.1. Odczynnik jest stabilny przez tydzień.

3.3. Rozpuszczalnik B:

Odpipetować 2 ml 3-aminopropan-1-olu i 10 ml lodowatego kwasu octowego do kolby miarowej o pojemności 100 ml. Schłodzić do temperatury pokojowej i uzupełnić do pełnej objętości kolby N,N-dwumetyloformamidem. Odczynnik jest stabilny przez tydzień.

3.4. Anilina:

Jeżeli gęstość optyczna ślepej próby przekracza 0,022, przedestylować anilinę nad proszkiem cynku, odrzucając pierwsze i ostatnie 10% frakcji destylatu. Schłodzić i przechowywać w brązowej butelce zamkniętej korkiem. Odczynnik można przechowywać przez kilka miesięcy.

3.5. Roztwór A wzorcowego gossypolu:

27,9 mg octanu gossypolu umieścić w kolbie miarowej o pojemności 250 ml. Rozpuścić i uzupełnić zawartość kolby do pełnej objętości kolby rozpuszczalnikiem A, o którym mowa w ust. 3.2. Odpipetować 50 ml tego roztworu do kolby miarowej o pojemności 250 ml i uzupełnić rozpuszczalnikiem A do pełnej objętości kolby. Stężenie gossypolu w tym roztworze wynosi 0,02 mg/ml. Przed użyciem pozostawić na godzinę w temperaturze pokojowej.

3.6. Roztwór B wzorcowego gossypolu:

27,9 mg octanu gossypolu umieścić w kolbie miarowej o pojemności 50 ml. Rozpuścić i uzupełnić do pełnej objętości kolby rozpuszczalnikiem B, o którym mowa w ust. 3.3. Stężenie gossypolu w tym roztworze wynosi 0,5 mg/ml.

Wzorcowe roztwory gossypolu A i B nadają się do użycia przez 24 godziny, jeżeli są chronione przed światłem.

4. APARATURA I SPRZĘT

4.1. Mikser lub tumbler: około 35 obr/min.

4.2. Spektrofotometr.

5. SPOSÓB POSTĘPOWANIA

5.1. Analiza próbeki

Masa próbki pobrana do analizy zależy od przewidywanej zawartości gossypolu w próbce. Zalecana jest praca na małych ilościach próby i stosunkowo dużej ilości filtratu po to, aby otrzymać wystarczającą ilość gossypolu do precyzyjnego oznaczenia fotometrycznego. W przypadku oznaczenia wolnego gossypolu w nasionach bawełny, w makuchach i mączce z nasion bawełny masa próbki do analizy nie powinna przekraczać 1 g. W przypadku mieszanek paszowych może wynosić do 5 g. W większości przypadków wystarczające jest 10 ml podzielnej części filtratu. Powinien on zawierać od 50 do 100 µg gossypolu. Jeżeli oznaczamy całkowity gossypol, ilość badanej próbki powinna wynosić od 0,5 do 5g, wówczas 2 ml podzielnej części filtratu będzie zawierać od 40 do 200 µg gossypolu. Analizę przeprowadzać w temperaturze pokojowej, za którą uważa się temperaturę około 20°C.

5.2. Oznaczanie wolnego gossypolu

Umieścić próbkę w kolbie ze szlifowaną szyjką o pojemności 250 ml. Dno kolby pokryć pokruszonym szkłem. Przy użyciu pipety dodać 50 ml rozpuszczalnika A, o którym mowa w ust. 3.2, zamknąć kolbę korkiem i mieszać przez godzinę w mikserze. Filtrować przez suchy filtr, a filtrat zebrać do małej kolby ze szlifowaną szyjką. Podczas filtracji przykryć lejek szkiełkiem zegarkowym. Odmierzyć pipetą dwie identyczne podzielne części filtratu zawierające od 50 do 100 µg gossypolu i umieścić w dwóch kolbach miarowych o pojemności 25 ml (A i B). Jeżeli to konieczne, uzupełnić zawartość kolby do 10 ml rozpuszczalnikiem A, o którym mowa w ust. 3.2. Następnie uzupełnić zawartość kolby (A) do pełnej objętości kolby mieszaniną propan-2-ol-heksan, o której mowa w ust. 3.1. Roztwór ten będzie użyty jako roztwór odniesienia względem pomiaru roztworu próbki. Odpipetować po 10 ml rozpuszczalnika A, o którym mowa w ust. 3.2, do dwóch kolb miarowych o pojemności 25 ml (C i D). Zawartość kolby C uzupełnić do pełnej objętości kolby mieszaniną propan-2-ol-heksan, o której mowa w ust. 3.1. Roztwór ten będzie używany jako roztwór odniesienia względem pomiaru roztworu ślepej próby.

Dodać po 2 ml aniliny, o której mowa w ust. 3.4 do każdej z kolb (D) i (B). Ogrzewać na wrzącej łaźni przez 30 minut, do wywołania reakcji barwnej. Schłodzić do temperatury pokojowej, uzupełnić do pełnej objętości kolby mieszaniną propan-2-ol-heksan, o której mowa w ust. 3.1, homogenizować i odstawić na godzinę.

Oznaczyć gęstość optyczną roztworu ślepej próby (D), używając odpowiedniego roztworu (C) jako roztworu odniesienia oraz gęstość optyczną roztworu próbki (B) przez porównanie z odpowiednim roztworem (A), jako roztworem odniesienia w spektrofotometrze przy 440 nm, stosując 1 cm szklane kuwety.

Od odpowiadającej gęstości optycznej wartości roztworu próbki odjąć wartość gęstości optycznej roztworu ślepej próby. Przy użyciu tej różnicy obliczyć zawartość wolnego gossypolu, w sposób określony w ust. 6.

5.3. Oznaczanie całkowitego gossypolu

Próbkę zawierającą od 1 do 5 mg gossypolu umieścić w kolbie miarowej o pojemności 50 ml i dodać 10 ml rozpuszczalnika B, o którym mowa w ust. 3.3. W tym samym czasie przygotować ślepą próbkę, umieszczając 10 ml rozpuszczalnika B, o którym mowa w ust. 3.3, w następnej kolbie miarowej o pojemności 50 ml. Ogrzewać obie kolby przez 30 minut na wrzącej łaźni wodnej. Następnie schłodzić do temperatury pokojowej i uzupełnić do pełnej objętości kolby mieszaniną propan-2-ol-heksan, o której mowa w ust. 3.1. Homogenizować i odstawić na 10 do 15 minut. Następnie filtrować, a filtrat zebrać do kolb ze szlifowaną szyjką.

Odpipetować po 2 ml filtratu próbki do każdej z dwu 25 ml kolb miarowych. Uzupełnić zawartość kolby o pojemności 25 ml do pełnej jej objętości mieszaniną propan-2-ol-heksan, o której mowa w ust. 3.1. Roztwory te będą używane jako roztwory odniesienia.

Dodać po 2 ml aniliny, o której mowa w ust. 3.4, do dwu następnych kolb miarowych. Ogrzewać obie kolby przez 30 minut na wrzącej łaźni wodnej do wywołania reakcji barwnej. Schłodzić do temperatury pokojowej, uzupełnić do objętości 25 ml mieszaniną propan-2-ol-heksan, o której mowa w ust. 3.1, homogenizować i pozostawić na godzinę.

Oznaczyć gęstość optyczną, tak jak dla wolnego gossypolu, o którym mowa w ust. 5.2. Przy użyciu tej wartości obliczyć zawartość całkowitego gossypolu, w sposób określony w ust. 6.

6. OBLICZANIE WYNIKÓW

Wyniki mogą być obliczone na podstawie określonej gęstości optycznej, o której mowa w ust. 6.1 lub na podstawie odniesienia do krzywej kalibracyjnej, o którym mowa w ust. 6.2.

6.1. Wyniki obliczane na podstawie określonej gęstości optycznej.
W podanych warunkach, określone gęstości optyczne są następujące:

$$\text{Wolny gossypol} \quad E \frac{1\%}{1 \text{ cm}} = 625$$

$$\text{Całkowity gossypol} \quad E \frac{1\%}{1 \text{ cm}} = 600$$

Zawartość wolnego lub całkowitego gossypolu w próbce jest określona według następującego wzoru:

$$\text{Gossypol \%} = \frac{E \times 1250}{E \frac{1\%}{1 \text{ cm}} \times p \times a}$$

gdzie:

E – skorygowana gęstość optyczna określona w ust. 5.2,

p – masa w g próbki,

a – podzielna część filtratu w ml.

6.2. Wyniki obliczane na podstawie krzywej kalibracyjnej

6.2.1. Wolny gossypol

Przygotować dwie partie po 5 kolb miarowych o pojemności 25 ml. Do każdej partii kolb wprowadzić pipetą odpowiednio 2,0, 4,0, 6,0, 8,0 i 10,0 ml roztworu A wzorcowego gossypolu, o którym mowa w ust. 3.5. Uzupełnić do objętości 10 ml rozpuszczalnikiem A, o którym mowa w ust. 3.2. Uzupełnić każdą partię kolbą miarową o pojemności 25 ml zawierającą jedynie 10 ml rozpuszczalnika A, o którym mowa w ust. 3.2, będącą kolbą ślepej próby.

Uzupełnić do objętości 25 ml kolby w pierwszej partii, stanowiącej partię odniesienia, włączając kolbę ślepej próby, mieszaniną izopropanol-heksanu, o której mowa w ust. 3.1.

Dodać po 2 ml aniliny, o której mowa w ust. 3.4 do każdej kolby drugiej partii, stanowiącej partię wzorcową, włączając kolbę ślepej próby. Ogrzewać przez 30 minut na wrzącej łaźni wodnej do wywołania reakcji barwnej. Schłodzić do temperatury pokojowej, uzupełnić do pełnej objętości kolby mieszaniną 1-propan-2-ol-heksanu, o której mowa w ust. 3.1, homogenizować i odstawić na godzinę.

Oznaczyć w sposób określony w ust. 5.2 gęstość optyczną roztworów w partii wzorcowej przez porównanie z odpowiadającymi im roztworami w partii odniesienia. Wykreślić krzywą kalibracyjną, nanosząc gęstości optyczne względem ilości gossypolu w µg.

6.2.2. Całkowity gossypol

Przygotować 6 kolb miarowych o pojemności 50 ml. Do pierwszej kolby dodać 10 ml rozpuszczalnika B, o którym mowa w ust. 3.3, a do pozostałych odpowiednio 2,0, 4,0, 6,0, 8,0 i 10,0 ml roztworu B wzorcowego gossypolu, o którym mowa w ust. 3.6. Każdą kolbę uzupełnić do objętości 10 ml rozpuszczalnikiem B, o którym mowa w ust. 3.3. Ogrzewać przez 30 minut na wrzącej łaźni wodnej. Schłodzić do temperatury pokojowej, uzupełnić do pełnej objętości kolby mieszaniną izopropanol-heksan, o której mowa w ust. 3.1, i wymieszać.

Do każdej z dwóch partii po 6 kolb miarowych o pojemności 25 ml wprowadzić po 2 ml wyżej wspomnianych roztworów. Sześć kolb pierwszej partii, stanowiących partię odniesienia, uzupełnić do objętości 25 ml mieszaniną izopropanol-heksan, o której mowa w ust. 3.1.

Do każdej kolby drugiej partii, stanowiącej partię wzorcową, dodać po 2 ml aniliny, o której mowa w ust. 3.4. Ogrzewać przez 30 minut na wrzącej łaźni wodnej. Schłodzić do temperatury pokojowej, uzupełnić do pełnej objętości kolby mieszaniną izopropanol-heksanu, o której mowa w ust. 3.1, homogenizować i odstawić na godzinę.

Oznaczyć w sposób określony w ust. 5.2 gęstość optyczną roztworów w partii wzorcowej przez porównanie z odpowiadającymi im roztworami w partii odniesienia. Wykreślić krzywą kalibracyjną, nanosząc gęstości optyczne względem ilości gossypolu w µg.

7. SPRAWDZENIE METODY

7.1. Powtarzalność

Różnica pomiędzy wynikami dwóch równoległych oznaczeń wykonanych dla tej samej próbki nie powinna przekraczać:

- 1) 15% w wartości względnej, dla zawartości gossypolu poniżej 500 ppm,
- 2) 75 ppm, w wartości bezwzględnej, dla zawartości gossypolu powyżej 500 do 750 ppm,
- 3) 10% w wartości względnej, dla zawartości gossypolu powyżej 750 ppm.

8.6. WYTICZNE DOTYCZĄCE MIKROSKOPOWEJ IDENTYFIKACJI I OZNACZANIA SKŁADNIKÓW POCHODZENIA ZWIERZĘCEGO

1. CEL I ZAKRES STOSOWANIA METODY

Metoda służy do oznaczania zawartości składników pochodzenia zwierzęcego, za które uważa się produkty pozyskane podczas przetwarzania tusz lub części tusz ssaków, drobiu i ryb, w paszach przy zastosowaniu badania mikroskopowego. Dodatkowo, w celu zwiększenia wykrywalności lub aby określić pochodzenie pewnych rodzajów składników pochodzenia zwierzęcego można przeprowadzić inne badanie, stosując metody alternatywne. W przypadku badania zawartości

specyficznych składników pochodzenia zwierzęcego, takich jak badania zawartości plazmy lub kości w łoju, można ponadto zastosować postępowanie, o którym mowa w ust. 9.

2. CZUŁOŚĆ

Metodą mogą być wykrywane bardzo małe ilości, poniżej 0,1%, składników pochodzenia zwierzęcego zależnie od rodzaju tych składników w paszach.

3. SPOSÓB PRZEPROWADZENIA METODY

Do badań wykorzystywana jest reprezentatywna próbka, która podlega odpowiedniemu przygotowaniu. Metoda ma zastosowanie do pasz o wilgotności do 14%. Pasza o wilgotności powyżej 14% powinna być przed obróbką wysuszona (zagęszczona). Pasze lub materiały paszowe takie jak tłuszcze i oleje wymagają określonej obróbki, o której mowa w ust. 9. Składniki pochodzenia zwierzęcego są identyfikowane na podstawie typowych, mikroskopowo identyfikowalnych cech charakterystycznych, zwłaszcza włókien mięśniowych i innych cząstek tkanki mięsnej, chrząstki, kości, rogów, włosów, szczeciny, krwi, piór, skorup jaj, ości ryb, łusek. Identyfikacji poddać zarówno frakcję sitową, o której mowa w ust. 6.1, jak i zagęszczony osad, o którym mowa w ust. 6.2.

4. ODCZYNNIKI I ROZTWORY

4.1. Odczynniki zanurzeniowe.

4.1.1. Hydrat chloralu (roztwór wodny, 60% m/V) .

4.1.2. Lug (NaOH 2,5%, m/V lub KOH 2,5%, m/V) do badania frakcji sitowych.

4.1.3. Olej parafinowy lub gliceryna o lepkości od 68 do 81 do badania osadu.

4.2. Odczynniki chemiczne do płukania.

4.2.1. Alkohol, 96%.

4.2.2. Aceton.

4.3. Odczynnik zagęszczający.

4.3.1. Czerochloroetylen o gęstości 1,62.

4.4. Odczynniki barwiące.

4.4.1. Roztwór jodu w jodku potasu:

Rozpuścić 2 g jodku potasu w 100 ml wody i dodać 1 g jodu, często wstrząsając.

4.4.2. Czerwień alizarynowa, która uzyskuje się poprzez rozcieńczenie 2,5 ml 1M kwasu chlorowodorowego w 100 ml wody i dodanie 200 mg czerwienu alizarynowej.

4.4.3. Odczynnik cystynowy (2 g octanu ołowiu, 10 g NaOH/100 ml H₂O).

4.4.4. Roztwór jodu w jodku potasu rozpuszczony w 70% etanolu.

4.5. Odczynnik bielący.

4.5.1. Handlowy roztwór podchlorynu sodowego będący 9,6% aktywnym chlorem.

5. APARATURA I SPRZĘT

5.1. Waga analityczna ważąca z dokładnością do 0,01 g, a w przypadku badania zagęszczonego osadu ważąca z dokładnością do 0,001 g.

5.2. Sprzęt do rozdrabniania, młynek lub móżdziej, szczególnie w przypadku paszy zawierającej powyżej 15% tłuszczu.

5.3. Sito o oczkach w kształcie kwadratu i szerokości 0,50 mm.

5.4. Rozdzielacz lub zlewka osadowa ze stożkowym dnem.

5.5. Mikroskop stereoskopowy (powiększenie minimum 40 x).

5.6. Mikroskop optyczny (powiększenie minimum 400 x), światło przechodzące lub spolaryzowane.

5.7. Standardowe szkło laboratoryjne.

Cały sprzęt szklany powinien być starannie umyty. Rozdzielacze i szkło wymagają mycia w zmywarce. Sita czyści się przy użyciu szczotki o twardej włosiu.

6. SPOSÓB POSTĘPOWANIA

Granulowane pasze mogą być wstępnie przesiane, jeżeli obie frakcje są analizowane jako oddzielna próbka.

Obróbce poddać co najmniej 50 g próbki, starannie zmielonej, przy zastosowaniu sprzętu do rozdrabniania, o którym mowa w ust. 5.2, jeżeli to konieczne aby uzyskać odpowiednie rozdrobnienie. Ze zmielonego materiału pobrać dwie reprezentatywne próbki, każda o masie co najmniej 5 g, jedną do badania frakcji sitowej, o której mowa w ust. 6.1, a drugą do badania zagęszczonego osadu, o którym mowa w ust. 6.2. Dodatkowo, aby ułatwić identyfikację, można zastosować barwienie odczynnikami barwiącymi, o których mowa w ust. 6.3.

Aby wykazać charakter białek zwierzęcych i pochodzenie cząsteczek, można zastosować system Aries.

6.1. Identyfikacja składników pochodzenia zwierzęcego we frakcjach sitowych

Przesiać przez sito, o którym mowa w ust. 5.3, co najmniej 5 g próbki w celu otrzymania dwóch frakcji.

Frakcję sitową lub reprezentatywną jej część, zawierającą duże cząstki rozsypać równomiernie na odpowiednim podłożu i przeglądać systematycznie pod mikroskopem stereoskopowym, o którym mowa w ust. 5.5, stosując różne powiększenia, poszukując składników pochodzenia zwierzęcego.

Preparaty wykonane z frakcji sitowej drobnej przeglądać systematycznie pod mikroskopem optycznym, o którym mowa w ust. 5.6, stosując różne powiększenia, poszukując składników pochodzenia zwierzęcego.

6.2. Identyfikacja składników pochodzenia zwierzęcego w zagęszczonym osadzie

Odważyć co najmniej 5 g próbki, z dokładnością do 0,01 g, przenieść do rozdzielacza lub zlewki osadowej o stożkowym dnie, dodać co najmniej 50 ml czerochloroetyleny, o którym mowa w ust. 4.3.1. Mieszaninę wielokrotnie wstrząsać lub mieszać.

Jeżeli jest stosowany zamknięty rozdzielacz, osad pozostawić co najmniej na 3 minuty przed oddzieleniem osadu. Powtórzyć wstrząsanie i pozostawić osad co najmniej na 3 minuty. Osad powinien oddzielić się ponownie.

Jeżeli stosuje się zlewkę otwartą, osad powinien być pozostawiony co najmniej na 5 minut, zanim się oddzieli.

Cały uzyskany osad wysuszyć i następnie zważyć, z dokładnością do 0,001 g. Ważenie jest konieczne tylko w przypadku ilościowego oznaczania. Jeżeli osad zawiera wiele dużych cząstek, może być przesiany przez sito, o którym mowa w ust. 5.3, w dwóch frakcjach. Z badać wysuszony osad na obecność składników kostnych pod mikroskopem stereoskopowym, o którym mowa w ust. 5.5, i mikroskopem optycznym, o którym mowa w ust. 5.6.

6.3. Stosowanie odczynników zanurzeniowych i barwiących

Identyfikacja mikroskopowa składników pochodzenia zwierzęcego może być wspomagana przez zastosowanie specjalnych środków zanurzeniowych i odczynników do barwienia.

Hydrat chloralu, o którym mowa w ust. 4.1.1: Ostrożnie ogrzewając, można zobaczyć wyraźniej struktury komórkowe, ponieważ ziarna skrobi żelują i niepożądana zawartość komórek zostaje usunięta.

Lug, o którym mowa w ust. 4.1.2: Wodorotlenek sodu albo wodorotlenek potasu oczyszcza materiał paszowy, wspomagając wykrycie włókien mięśniowych, włosów i innych keratynowych struktur.

Olej parafinowy i gliceryna, o których mowa w ust. 4.1.3: Składniki kostne mogą być dobrze zidentyfikowane, gdyż większość lakun wypełnia się powietrzem i są widoczne jako czarne otwory o rozmiarach od 5 do 15 µm.

Roztwór jodu w jodku potasu, o którym mowa w ust. 4.4.1: Stosowany do wykrywania zawartości skrobi (kolor niebiesko-fioletowy) i białka (kolor żółtopomarańczowy). Roztwory można rozcieńczyć, jeżeli to konieczne.

Roztwór czerwieni alizarynowej, o której mowa w ust. 4.4.2: Czerwonoróżowe zabarwienie kości, ości ryb i łusek. Przed wysuszeniem, o którym mowa w ust. 6.2, cały osad przenieść do szklanej probówki i przepłukać dwukrotnie około 5 ml alkoholu, o którym mowa w ust. 4.2.1. Za każdym razem stosować wytrząsarke typu Vortex, pozostawić rozpuszczalnik przez minutę do osadzenia osadu i następnie go odlać. Przed zastosowaniem tego odczynnika, osad wybielić przez dodanie co najmniej 1 ml roztworu podchlorynu sodowego, o którym mowa w ust. 4.5.1. Pozwolić na przebieg reakcji przez 10 minut. Probówkę napęlić wodą, osad powinien osadzać się przez od 2 do 3 minut, a wodę z zawieszonymi cząsteczkami wylać. Osad przepłukać dwukrotnie około 10 ml wody. Zastosować wirowanie, pozwolić na osadzenie się osadu i za każdym razem wylać wodę. Dodać od 2 do 10 lub więcej kropli w zależności od ilości pozostałego, roztworu czerwieni alizarynowej. Mieszanie wytrząsać i pozwolić na przebieg reakcji przez kilka sekund. Zabarwiony osad przepłukać dwukrotnie około 5 ml alkoholu, o którym mowa w ust. 4.2.1, a następnie raz acetonem, o którym mowa w ust. 4.2.2. Za każdym razem stosować wirowanie, doprowadzić do osadzania się rozpuszczalnika przez minutę i wylać go. Osad jest wówczas gotowy do wysuszenia.

Odczynnik cystynowy, o którym mowa w ust. 4.4.3: Po ostrożnym ogrzewaniu, składniki zawierające cystynę zwłaszcza włosy i pióra, przybierają czarnobrązową barwę.

6.4. Badanie paszy na obecność mączki rybnej

Z badać pod mikroskopem optycznym co najmniej 1 preparat z frakcji sitowej drobnej i z frakcji osadu, o którym mowa w ust. 6.1 i ust. 6.2.

Jeżeli na etykiecie jest informacja, że w składzie jest mączka rybna lub gdy istnieje podejrzenie występowania mączki rybnej lub została ona wykryta w badaniu wstępnym, zbadać dodatkowo co najmniej 2 preparaty z drobnej frakcji sitowej i cały osad.

7. OBLICZANIE WYNIKÓW

W przypadku przeprowadzania oceny ilościowej składników pochodzenia zwierzęcego postępować w sposób poniżej opisany.

Obliczenia ilościowe mogą być przeprowadzane tylko w przypadku, jeżeli składniki pochodzenia zwierzęcego zawierają fragmenty kostne.

Fragmenty kostne lądowych gatunków zwierząt stałocieplnych (ssaków i ptaków) można odróżnić od różnych typów ości rybnych na podstawie występowania typowych lakun. Proporcję składników pochodzenia zwierzęcego w materiale próbki szacuje się, biorąc pod uwagę:

- 1) oszacowaną proporcję (% wagowy) fragmentów kości w zagęszczonym osadzie,
- 2) proporcję kości (%wagowy) w składnikach pochodzenia zwierzęcego.

Szacowania składników pochodzenia zwierzęcego w materiale próbki dokonać z wykorzystaniem co najmniej trzech preparatów, jeżeli to możliwe, zawierających co najmniej 5 pól każdy. W mieszkach paszowych, zagęszczony osad zawiera zwykle nie tylko fragmenty kości zwierząt lądowych i fragmenty ości ryb, ale także inne drobiny o specyficznym ciężarze właściwym, w szczególności związki mineralne, piasek, fragmenty zdrewniałych roślin.

7.1. Oszacowanie procentowej zawartości fragmentów kości oraz fragmentów ości i łusek ryb

$$\% \text{ zawartość fragmentów kości zwierząt lądowych} = \frac{S \times c}{W}$$

$$\% \text{ zawartość fragmentów ości i łusek ryb} = \frac{S \times d}{W}$$

gdzie:

S – masa w mg osadu,

c – współczynnik korekcyjny (%) dla szacowanej części kości zwierząt lądowych w osadzie,

d – współczynnik korekcyjny (%) dla szacowanej części ości i łusek ryb w osadzie,

W – masa w mg materiału próbki służącej do wytworzenia osadu.

7.2. Szacowanie zawartości składników pochodzenia zwierzęcego

Proporcja kości w produktach zwierzęcych może znacznie się zmieniać. Zawartość kości w przypadku mączek kostnych wynosi od 50 do 60%, a w przypadku mączek mięsnych od 20 do 30%. W przypadku mączek rybnych zawartości ości i łusek zmieniają się, w zależności od kategorii i pochodzenia mączki rybnej i wynoszą zwykle od 10 do 20%.

Jeżeli rodzaj mączki zwierzęcej obecnej w próbce jest znany, możliwe jest szacunkowe określenie zawartości:

$$\text{Szacunkowa zawartość składników produktów pochodzących od zwierząt lądowych (\%)} = \frac{S \times c}{W \times f} \times 100$$

$$\text{Szacunkowa zawartość składników produktów rybnych} = \frac{S \times d}{W \times f} \times 100$$

gdzie:

S – masa w mg osadu,

c – współczynnik korekcyjny (%) dla szacowanej części kości zwierząt lądowych w osadzie,

d – współczynnik korekcyjny (%) dla szacowanej części ości ryb i łusek w osadzie,

f – współczynnik korekcyjny (%) dla proporcji kości w składnikach pochodzenia zwierzęcego w badanej próbce,

W – masa w mg materiału próbki służącej do wytworzenia osadu.

8. WYRAŻANIE WYNIKÓW

Sprawozdanie powinno zawierać co najmniej informacje o występowaniu składników pochodzenia zwierzęcego ze zwierząt lądowych i z mączki rybnej. Informacje sformułować w podany niżej sposób:

8.1. W odniesieniu do występowania składników pochodzących ze zwierząt lądowych:

1) nie stwierdzono, przy użyciu mikroskopu, w badanej próbce żadnych składników pochodzących ze zwierząt lądowych, albo

2) stwierdzono, przy użyciu mikroskopu, w badanej próbce składniki pochodzące ze zwierząt lądowych.

8.2. W odniesieniu do występowania mączki rybnej:

1) nie stwierdzono, przy użyciu mikroskopu, w badanej próbce żadnych składników pochodzących z mączki rybnej, albo:

2) stwierdzono, przy użyciu mikroskopu, w badanej próbce składniki pochodzące z mączki rybnej.

W przypadku gdy zostanie stwierdzone występowanie składników pochodzących z ryb lub ze zwierząt lądowych, w sprawozdaniu z badań, jeżeli to konieczne, wskazać oszacowaną ilość znalezionych składników (x%, < 0,1%, 0,1–0,5%, 0,5–5% lub >5%), dalszą specyfikację typu zwierzęcia lądowego, jeżeli to jest możliwe, oraz zidentyfikowane składniki zwierzęce, w tym włókna mięśniowe, chrząstka, kości, rogi, sierść, szczecina, pióra, krew, skorupy jaj, ości ryb, łuski.

W przypadku gdy szacuje się ilość składników zwierzęcych, wymienić zastosowany współczynnik korekcyjny f.

W przypadku gdy zidentyfikowane są składniki kostne zwierząt lądowych, w sprawozdaniu umieścić dodatkową informację o następującej treści:

„Nie można wykluczyć, że powyższe składniki pochodzą od ssaków”.

Dodatkowa informacja nie jest konieczna, w przypadku gdy fragmenty kostne zwierząt lądowych zostały wyszczególnione jako fragmenty kości drobiu lub ssaków.

9. PROCEDURA W PRZYPADKU ANALIZY TŁUSZCZU LUB OLEJU

W celu dokonania analizy tłuszczu lub oleju można zastosować następującą procedurę:

Jeżeli tłuszcz występuje w postaci stałej, ogrzewać zwłaszcza w kuchence mikrofalowej, aż do uzyskania postaci płynnej.

Przy użyciu pipety przenieść 40 ml tłuszczu z dna próbki do próbki wirówkowej.

Wirować przez 10 minut przy 4 000 obr/min.

Jeżeli tłuszcz jest zestalony po odwirowaniu, ogrzać go jeszcze raz zwłaszcza używając kucharki mikrofalowej, aż do uzyskania postaci płynnej. Ponownie wirować przez 5 minut przy 4 000 obr/min.

Przy użyciu małej łyżki lub łopatki laboratoryjnej, przenieść połowę zdekantowanych zanieczyszczeń na płytkę Petriego lub na szkiełko mikroskopowe w celu dokonania mikroskopowej identyfikacji ewentualnej zawartości składników pochodzenia zwierzęcego, takich jak włókna mięśniowe, pióra, fragmenty kostne. Jako środek zanurzeniowy stosowany w badaniach mikroskopowych zaleca się olej parafinowy lub glicerynę.

Pozostałe zanieczyszczenia poddać sedymentacji w sposób określony w ust. 6.2.

8.7. OZNACZANIE LOTNYCH ZWIĄZKÓW AZOTOWYCH

A. METODA MIKRODYFUZYJNA

1. CEL I ZAKRES STOSOWANIA METODY

Metoda służy do oznaczania w paszach zawartości lotnych związków azotowych, w przeliczeniu na amoniak.

2. SPOSÓB PRZEPROWADZENIA METODY

Próbka jest ekstrahowana wodą, a uzyskany roztwór klarowany i filtrowany. Lotne zasady azotowe są oddzielane metodą mikrodyfuzji przy użyciu roztworu węglanu potasu, zbierane w roztworze kwasu borowego i miareczkowane kwasem siarkowym.

3. ODCZYNNIKI I ROZTWORY

3.1. Kwas trójchlorooctowy, roztwór 20% (m/V).

3.2. Wskaźnik:

Rozpuścić 33 mg zieleni bromokrezolowej i 65 mg czerwieni metylowej w 100 ml alkoholu etylowego o stężeniu od 95 do 96% (m/ V).

3.3. Kwas borowy, roztwór:

W kolbie miarowej o pojemności 1 litra rozpuścić 10 g kwasu borowego w 200 ml etanolu o stężeniu 95 – 96% (m/V) i 700 ml wody. Dodać 10 ml wskaźnika, o którym mowa w ust. 3.2. Zamieszać i, jeżeli to konieczne, doprowadzić barwę roztworu do jasnoczerwonej przez dodanie roztworu wodorotlenku sodu. 1 ml tego roztworu będzie pochłaniał maksymalnie 300 μg NH_3 .

3.4. Węglan potasu, roztwór nasycony:

Rozpuścić 10 g węglanu potasu w 100 ml wrzącej wody. Schłodzić i przefiltrować.

3.5. Kwas siarkowy o stężeniu 0,02 N.

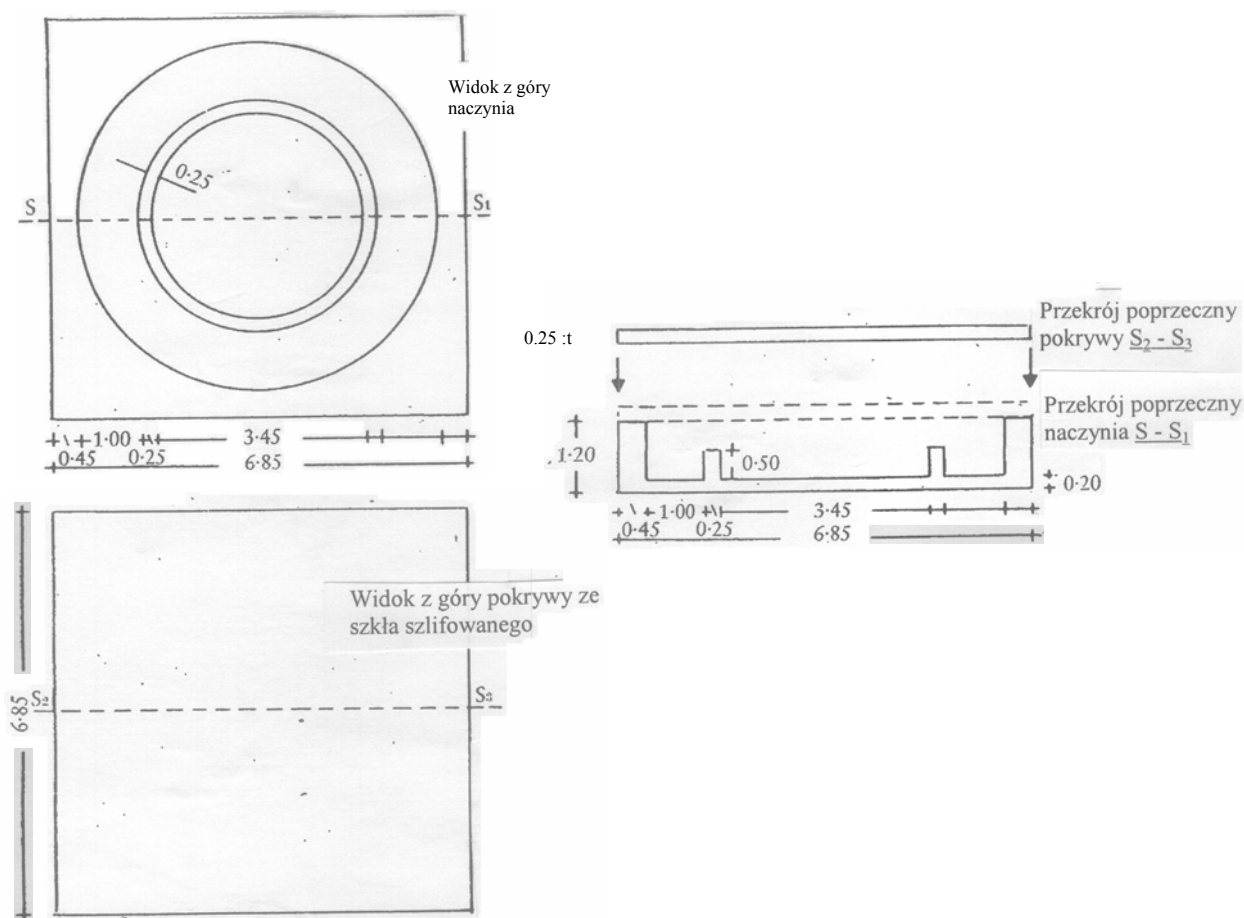
4. APARATURA I SPRZĘT

4.1. Mikser lub tumbler: od 35 do 40 obr/min.

4.2. Naczynko Conwaya, szklane lub plastikowe (rys. 9).

4.3. Mikrobiureta ze skalą 1/100 ml.

Rysunek 9. Naczynko Conway'a
Skala 1:1



5. SPOSÓB POSTĘPOWANIA

Odważyć 10 g próbki, z dokładnością do 1 mg, do kolby miarowej o pojemności 200 ml i dodać 100 ml wody. Miksować w mikserze przez 30 minut. Dodać 50 ml roztworu kwasu trójchlorooctowego, o którym mowa w ust. 3.1, uzupełnić wodą do pełnej objętości kolby, energicznie wstrząsnąć i przefiltrować przez karbowany filtr. Dodać przy użyciu pipety 1 ml roztworu kwasu borowego, o którym mowa w ust. 3.3, do środkowej części naczynka Conwaya i 1 ml filtratu próbki na obrzeże naczynka. Przykryć częściowo nasmarowaną przykrywką. Dodać kroplami 1 ml nasyconego roztworu węgla potasu, o którym mowa w ust. 3.4, na obrzeże naczynka i szybko zamknąć pokrywę, tak aby naczynko było hermetyczne. Obracać ostrożnie naczynkiem w płaszczyźnie poziomej, aby doprowadzić do zmieszania dwóch odczynników. Inkubować przez co najmniej 4 godziny w temperaturze pokojowej lub godzinę w temperaturze 40°C. Miareczkować lotne zasady zaabsorbowane w kwasie bornym, stosując roztwór kwasu siarkowego, o którym mowa w ust. 3.5, przy użyciu mikrobiurety, o której mowa w ust. 4.3. Ślepą próbę przeprowadzić w ten sam sposób.

6. OBLICZANIE WYNIKÓW

1 ml H_2SO_4 o stężeniu 0,02 N odpowiada 0,34 mg amoniaku. Przedstawić wynik w procentach wagowych.

7. SPRAWDZENIE METODY

Powtarzalność

Różnica pomiędzy wynikami dwóch równoległych oznaczeń wykonanych dla tej samej próbki nie powinna przekraczać:

- 1) 10% wartości względnej, dla zawartości amoniaku poniżej 1,0%,
- 2) 0,1% wartości bezwzględnej, dla zawartości amoniaku równej lub wyższej niż 1,0%.

8. OBJAŚNIENIA

Jeżeli zawartość amoniaku w próbce przekracza 0,6%, rozcieńczyć filtrat.

B. METODA DESTYLACYJNA

1. CEL I ZAKRES STOSOWANIA METODY

Metoda służy do oznaczania zawartości lotnych związków azotowych, w przeliczeniu na amoniak, w mączkach rybnych niezawierających mocznika. Metoda ma zastosowanie dla zawartości amoniaku mniejszej niż 0,25%.

2. SPOSÓB PRZEPROWADZENIA METODY

Próbka jest ekstrahowana wodą, a uzyskany roztwór klarowany i filtrowany. Lotne zasady azotowe są oddzielane w punkcie wrzenia poprzez dodanie tlenku magnezu i zbierane w określonej ilości kwasu siarkowego, którego nadmiar jest miareczkowany przy użyciu roztworu wodorotlenku sodu.

3. ODCZYNNIKI I ROZTWORY

- 3.1. Kwas trójchlorooctowy, roztwór 20% (m/V).
- 3.2. Tlenek magnezu.
- 3.3. Emulsja zapobiegająca spienieniu, proponuje się zastosować silikon.
- 3.4. Kwas siarkowy, roztwór 0,1 N.
- 3.5. Wodorotlenek sodu, roztwór 0,1 N.
- 3.6. Czerwień metylowa, roztwór 0,3% (m/V) w alkoholu etylowym 95 – 96% (V/V).

4. APARATURA I SPRZĘT

- 4.1. Mikser lub tumbler: od 35 do 40 obr/min.
- 4.2. Aparat do destylacji typu Kjeldahla.

5. SPOSÓB POSTĘPOWANIA

Odważyć 10 g próbki, z dokładnością do 1 mg, do kolby miarowej o pojemności 200 ml i dodać 100 ml wody. Miksować w mikserze przez 30 minut. Dodać 50 ml roztworu kwasu trójchlorooctowego, o którym mowa w ust. 3.1, uzupełnić do pełnej objętości kolby wodą, energicznie wstrząsnąć i filtrować przez karbowany filtr. Pobrać taką ilość klarownego filtratu, która odpowiada spodziewanej zawartości lotnych związków azotowych, co zwykle odpowiada objętości 100 ml. Rozcieńczyć do 200 ml, dodać 2 g tlenku magnezu, o którym mowa w ust. 3.2, i kilka kropli emulsji zapobiegającej spienieniu, o której mowa w ust. 3.3. Roztwór powinien wykazywać alkaliczność wobec papierka lakmusowego, w przeciwnym razie dodać nieco tlenku magnezu, o którym mowa w ust. 3.2. Destylować około 150 ml roztworu w aparacie Kjeldahla i zebrać destylat w kolbie Erlenmeyera zawierającej od 25 do 50 ml kwasu siarkowego, o którym mowa w ust. 3.4. W czasie destylacji chronić roztwór przed przegrzaniem. Gotować roztwór kwasu siarkowego przez 2 minuty, schłodzić i odmiareczkować nadmiar kwasu wodorotlenkiem sodu, o którym mowa w ust. 3.5, w obecności czerwieni metylowej, o której mowa w ust. 3.6. Ślepą próbę przeprowadzić w ten sam sposób.

6. OBLICZANIE WYNIKÓW

1 ml H_2SO_4 o stężeniu 0,1 N odpowiada 1,7 mg amoniaku. Wynik podać w procentach wagowych próbki.

7. SPRAWDZENIE METODY

Powtarzalność

Różnica pomiędzy wynikami dwóch równoległych oznaczeń, wykonanych dla tej samej próbki, nie powinna przekraczać 10% wartości względnej.

8.8. OZNACZANIE POZIOMÓW DIOKSYN I DIOKSYNOPODOBNYCH PCB

1. CEL I ZAKRES STOSOWANIA METODY

Metoda służy do oznaczania w paszach zawartości dioksyn ([polichlorowanych dibenzo-p-dioksyn \(PCDD\)](#) i [polichlorowanych dibenzofuranów \(PCDF\)](#)) oraz dioksynopodobnych [polichlorowanych bifenyli \(PCB\)](#).

2. MONITOROWANIE OBECNOŚCI DIOKSYN

[Monitorowanie](#) obecności dioksyn w [paszach](#) wykonuje się przy zastosowaniu strategii uwzględniającej zastosowanie metody skринingowej (przesiewowej) w celu wyselekcjonowania próbek zawierających dioksyny i dioksynopodobne PCB na poziomie od 30% do 40% niższym lub wyższym od poziomu zainteresowania. Stężenia dioksyn w tych próbkach, które zawierają znaczące ich poziomy powinny zostać [oznaczone](#) lub potwierdzone przy zastosowaniu metody dostarczającej pełnej lub uzupełniającej informacji, pozwalającej na identyfikację i kwantyfikację dioksyn oraz dioksynopodobnych PCB na poziomie zainteresowania.

Metody skринingowe (przesiewowe) służą do wykrywania występowania dioksyn i dioksynopodobnych PCB na poziomie zainteresowania. Metody te są wydajne, pozwalają na analizę dużej liczby próbek i są stosowane do oddzielenia wielu próbek potencjalnie pozytywnych. Są tak zaprojektowane, aby ograniczały liczbę wyników fałszywie negatywnych.

Metody potwierdzające są metodami dostarczającymi pełnej lub uzupełniającej informacji, pozwalają na identyfikację i kwantyfikację dioksyn oraz dioksynopodobnych PCB na poziomie zainteresowania.

3. OBJAŚNIENIA

Ze względu na występowanie złożonych mieszanin różnych kongenerów dioksyn w próbkach środowiskowych i równoległych (włączając w to próbki [pasz](#)), w celu ułatwienia oceny ryzyka, wprowadzono pojęcie tzw. współczynników równoważnej toksyczności - TEF (Toxicity Equivalency Factors). Współczynniki te zostały opracowane w celu wyrażenia stężeń w postaci równoważników toksyczności - TEQ (Toxicity Equivalent) wobec 2,3,7,8-TCDD w przypadku mieszanin PCDD i PCDF posiadających podstawniki w pozycjach 2,3,7,8, a ostatnio także niektórych PCB posiadających podstawnik chloru w pozycjach non-orto i mono-orto, które posiadają podobną do dioksyn aktywność, przy uwzględnieniu tabeli 29.

[W celu obliczenia](#) całkowitego stężenia związków dioksynopodobnych, wyrażonego w wartości TEQ, [stężenia poszczególnych kongenerów](#) oznaczonych w danej [próbce](#) mnoży się przez ich TEF, a następnie sumuje.

Koncepcja „górną granicy” (upperbound) wymaga, aby wkład do TEQ każdego nieoznaczonego ilościowo kongeneru stanowiła jego granica oznaczenia ilościowego.

Koncepcja „dolnej granicy” (lowerbound) wymaga, aby wkład do TEQ każdego nieoznaczonego ilościowo kongeneru stanowiło zero.

Koncepcja „średniej granicy” (mediumbound) wymaga, aby wkład do TEQ każdego nieoznaczonego ilościowo kongeneru stanowiła połowa granicy oznaczania ilościowego.

Akceptowalnym limitem kwantyfikacji poszczególnego kongeneru jest stężenie analitu w ekstrakcie próbki, które wywołuje instrumentalną reakcję na impuls dla dwóch różnych jonów, rejestrowaną przy współczynniku S/N (sygnał/szum) w stosunku 3:1 dla sygnału mniej wrażliwego i przy spełnieniu podstawowych wymagań, takich jak, czas retencji oraz stosunek izotopów, zgodnie z procedurą oznaczania metodą EPA, o której mowa w ust. 8.7.

Tabela 29. Tabela dioksynopodobnych (PCB)

Kongener	Wartość TEF	Kongener	Wartość TEF
Dibenzo-p-dioksyny (PCDD)		„Dioksynopodobne” PCB: Non-orto PCB + Mono-orto PCB	
2,3,7,8-TCDD	1	Non-orto PCB	
1,2,3,7,8-PeCDD	1	PCB 77	0,0001
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0,1	PCB 81	0,0001
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0,1	PCB 126	0,1
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0,1	PCB 169	0,01
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0,01		
OCDD	0,0001		
Dibenzofurany (PCDF)		Mono-orto PCB	
2,3,7,8-TCDF	0,1	PCB 105	0,0001
1,2,3,7,8-PeCDF	0,05	PCB 114	0,0005
2,3,4,7,8-PeCDF	0,5	PCB 118	0,0001
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0,1	PCB 123	0,0001
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0,1	PCB 156	0,0005
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0,1	PCB 157	0,0005
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0,1	PCB 167	0,00001
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0,01	PCB 189	0,0001
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0,01		
OCDF	0,0001		

Użyte skróty oznaczają: T – tetra (cztero); Pe – penta (pięć); Hx – hexa (sześć); Hp – hepta (siedmio); O – octa (ośmio); CDD – chlorodibenzo-p-dioksyna; CDF – chlorodibenzofuran; CB – chlorobifenyl.

4. WYMAGANIA W ZAKRESIE SPOSOBU POBIERANIA I PRZYGOTOWANIA PRÓBEK DO ANALIZY

Próbki przeznaczone do oznaczenia zawartości poziomów dioksyn (PCDD/PCDF) oraz dioksynopodobnych polichlorowanych bifenyli (PCB) w paszach, przy uwzględnieniu tabeli 29 pobiera się zgodnie z przepisami rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 17 czerwca 2004 r. w sprawie szczegółowych warunków i sposobu pobierania próbek środków żywienia zwierząt i pasz leczniczych do badań oraz postępowania z pobranymi próbkami w ramach kontroli urzędowej (Dz. U. Nr 158, poz. 1654). Stosować wymagania ilościowe w stosunku do kontroli substancji lub produktów jednolicie rozmieszczonych w paszy, o których mowa w §1 pkt 1, §4 ust. 1-2 i 5, §6 ust. 1 i 3 oraz §8 ust. 1 - 2 tego rozporządzenia. Uzyskane w ten sposób próbki ogólnie uważa się za reprezentatywne dla partii lub jej wydzielonej części, z których pochodzą. Zgodność partii lub jej wydzielonej części z dopuszczalną zawartością określoną w rozporządzeniu Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 28 czerwca 2004 r. w sprawie dopuszczalnych zawartości substancji niepożądanych w paszach (Dz. U. Nr 162, poz. 1704 oraz z 2005 r. Nr 151, poz. 1267), ustala się na podstawie zawartości stwierdzonych w próbkach laboratoryjnych.

Przy przygotowaniu próbek do analizy, oprócz zasad podanych w rozdziale 1 załącznika, przestrzega się następujących wytycznych:

- 1) próbki powinny być przechowywane i transportowane w pojemnikach:
 - a) szklanych,
 - b) aluminiowych,
 - c) polipropylenowych,
 - d) polietylenowych,
- 2) pojemnik na próbki powinien być wolny od pyłków papieru;
- 3) szkło laboratoryjne powinno być wypłukane rozpuszczalnikami, wcześniej zbadanymi na obecność dioksyn;
- 4) wykonać analizę próbki odczynnikowej, obejmującą przeprowadzenie pełnej procedury analitycznej z wyłączeniem próbki;
- 5) masa próbki użytej do ekstrakcji powinna być odpowiednia dla wymagań czułości metody.

5. ZGODNOŚĆ PARTII LUB JEJ WYDZIELONEJ CZĘŚCI ZE SPECYFIKACJĄ

Jeżeli wynik pojedynczej analizy nie przekracza dopuszczalnej zawartości określonej w rozporządzeniu Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 28 czerwca 2004 r. w sprawie dopuszczalnych zawartości substancji niepożądanych w paszach,

uwzględniając przy tym niepewność pomiaru, badaną partię uznaje się za spełniającą wymagania określone w tym rozporządzeniu.

Jeżeli wynik analizy potwierdzony drugą analizą i obliczony jako średnia co najmniej dwóch oddzielnych pomiarów przekracza dopuszczalną zawartość określoną w w/w rozporządzeniu, uwzględniając przy tym niepewność pomiaru, badaną partię uznaje się za nie spełniającą wymagań względem dopuszczalnych zawartości substancji niepożądanych w paszy.

Niepewność pomiaru może być uwzględniona przy zastosowaniu jednego z następujących sposobów:

1) obliczając niepewność rozszerzoną przy użyciu współczynnika rozszerzenia 2, który daje dokładność wyniku na poziomie około 95%,

2) ustalając wartość graniczną (cca) zgodnie z decyzją Komisji 2002/657/WE z dnia 14 sierpnia 2002 r. [wykonującą dyrektywę Rady 96/23/WE dotyczącą wyników](#) metod analitycznych i ich interpretacji (Dz. Urz. WE L 221 z 17.08.2002, str 8) – przypadek substancji z ustaloną dopuszczalną wartością graniczną, o którym mowa w pkt 3.1.2.5. załącznika.

Niniejsze zasady interpretacji odnoszą się do wyniku analizy uzyskanego z próbki przeznaczonej do urzędowej kontroli. Nie wpływają one na prawo państw członkowskich do stosowania zasad krajowych w odniesieniu do analiz do celów obrony lub arbitrażu, o których mowa w art. 44 ust 10 i art. 44a ustawy z dnia 23 sierpnia 2001 r. o środkach żywienia zwierząt.

6. WYMAGANIA DOTYCZĄCE LABORATORIÓW WYKONUJĄCY BADANIA

1) laboratorium powinno wykazać możliwości wykonawcze metody na poziomie zainteresowania, na przykład 0,5, 1 i 2 – krotny poziom zainteresowania wraz z akceptowalną wartością współczynnika zmienności obliczonego dla wielokrotnych powtórzeń analizy. Szczegóły kryteriów akceptacji procedury analitycznej określono w ust. 7;

2) granica [oznaczalności metody potwierdzającej](#) powinna wynosić około 1/5 poziomu zainteresowania, aby gwarantować, że [akceptowalny współczynnik zmienności](#) znajdzie się w zakresie danego poziomu zainteresowania;

3) w ramach wewnątrzlaboratoryjnej kontroli jakości próbki odczynnikowe i wzbogacone lub próbki kontrolne, a zwłaszcza certyfikowane materiały odniesienia, jeżeli takie materiały są dostępne powinny być regularnie analizowane;

4) potwierdzeniem biegłości laboratorium w zakresie danych analiz są pozytywne wyniki uzyskiwane w międzylaboratoryjnych badaniach biegłości. Jednakże pozytywne wyniki uzyskane w badaniach międzylaboratoryjnych w tym w badaniach próbek gleby lub osadów dennych, nie muszą jednocześnie oznaczać podobnej kompetencji w analizie żywności lub pasz, które zawierają niższe poziomy skażeń. Dlatego obowiązkowe jest stałe uczestnictwo w międzylaboratoryjnych badaniach biegłości w zakresie oznaczania dioksyn i PCB o właściwościach dioksynopodobnych w odpowiednich próbkach środków spożywczych lub pasz;

5) laboratoria powinny posiadać akredytację udzieloną przez Polskie Centrum Akredytacji, zgodnie z wymaganiami normy PN EN ISO/IEC 17025:2001.

7. WYMAGANIA DOTYCZĄCE PROCEDUR ANALITYCZNYCH

7.1. Wysoka czułość i niska granica wykrywalności.

Metody oznaczania PCDD i PCDF powinny umożliwiać ich wykrywanie na poziomie pikogramów TEQ (10^{-12} g) ze względu na bardzo dużą toksyczność niektórych związków. PCB występują w wyższych stężeniach niż PCDD i PCDF. Dla większości kongenerów PCB wystarczająca jest czułość rzędu nanogramów (10^{-9} g). [W przypadku oznaczania](#) bardziej toksycznych dioksynopodobnych PCB kongenerów (w szczególności non-orto podstawione kongenery) niezbędne jest stosowanie metod o czułości takiej samej jak dla PCDD i PCDF.

7.2. Wysoka selektywność (specyficzność).

W przypadku analizy PCDD, PCDF i dioksynopodobnych PCB niezbędne jest ich odróżnienie od wielu współekstrahujących i ewentualnie interferujących substancji występujących w stężeniach do kilku wielkości wyższych od analizowanych związków. Stosowane metody chromatografii gazowej z wykorzystaniem detektora masowego (GC/MS) powinny umożliwić rozróżnienie kongenerów toksycznych, a w szczególności siedemnastu 2,3,7,8-podstawionych kongenerów PCDD i PCDF oraz PCB, od pozostałych kongenerów. Testy biologiczne powinny oznaczyć selektywnie TEQ jako sumę PCDD, PCDF i dioksynopodobnych PCB.

7.3. Wysoka dokładność (poprawność i precyzja).

Oznaczenie powinno dostarczyć wiarygodnego oszacowania stężenia analitu w próbce. Wysoka dokładność pomiaru oznaczająca stopień zgodności między wynikiem badania a przyjętą wartością odniesienia jest warunkiem uniknięcia odrzucenia wyniku analizy próbki na podstawie słabej wiarygodności oszacowanej wartości TEQ. Dokładność charakteryzują 2 czynniki:

1) poprawność rozumiana jako różnica między średnią wartością stężenia analitu zmierzoną w materiale certyfikowanym a deklarowaną, certyfikowaną wartością, wyrażoną jako jej odsetek,

2) precyzja wyrażana liczbowo jako wartość odchylenia standardowego w warunkach powtarzalności i odtwarzalności oraz określająca stopień zgodności między wynikami uzyskanymi przy wielokrotnym wykorzystaniu procedury badawczej.

Metody skринingowe (przesiewowe) mogą obejmować testy biologiczne oraz metody GC/MS. Metody potwierdzające wykorzystują metody wysokorozdzielczej chromatografii gazowej sprzężonej z wysokorozdzielczą spektrometrią mas (HRGC/HRMS). Przy oznaczaniu sumarycznej wartości TEQ powinny być spełnione kryteria podane w tabeli 30.

Tabela 30. Kryteria dla oznaczania sumarycznej wartości TEQ

	Metody skринingowe (przesiewowe)	Metody potwierdzające
--	----------------------------------	-----------------------

	Metody skringowe (przesiewowe)	Metody potwierdzające
Częstość wyników fałszywie negatywnych	< 1 %	
Poprawność		Od – 20 % do + 20 %
Współczynnik zmienności, cv	< 30 %	< 15 %

8. WYMAGANIA DLA METOD GC/MS, W METODACH SKRININGOWYCH (PRZESIEWOWYCH) LUB POTWIERDZAJĄCYCH

8.1. W celu zwalidowania procedury analitycznej wzorce wewnętrzne 2,3,7,8-chloropodstawionych PCDD/F znakowane izotopem węgla ^{13}C oraz wzorce wewnętrzne dioksynopodobne znakowane izotopem węgla ^{13}C , jeżeli ta grupa związków ma być oznaczana, dodawać na wstępnych etapach metody, w szczególności przed ekstrakcją. Dodać co najmniej 1 kongener dla każdego szeregu homologicznego, od tetra- do oktachloro PCDD/F, oraz co najmniej 1 kongener dla każdego szeregu homologicznego dioksynopodobnych PCB, jeżeli ta grupa związków ma być oznaczana, alternatywnie co najmniej 1 kongener na każdy jon masowy wykorzystywany przez spektrometr do selektywnego monitorowania PCDD/F i PCB.

Dla metod potwierdzających zaleca się przede wszystkim stosować wszystkie siedemnaście 2,3,7,8-podstawionych wewnętrznych wzorców PCDD/F znakowanych izotopem węgla ^{13}C oraz wszystkie dwanaście dioksynopodobnych PCB znakowanych izotopem węgla ^{13}C , jeżeli ta grupa związków ma być oznaczana. Wykorzystując odpowiednie roztwory wzorcowe, oznaczyć również względne współczynniki odpowiedzi dla tych kongenerów, dla których nie zastosowano analogów znakowanych izotopem węgla ^{13}C .

8.2. Przed procedurą ekstrakcji, w przypadku pasz pochodzenia roślinnego oraz pasz pochodzenia zwierzęcego o zawartości tłuszczu poniżej 10%, obowiązkowe jest dodanie wzorców wewnętrznych. W przypadku pasz pochodzenia zwierzęcego o zawartości tłuszczu powyżej 10 % wzorce wewnętrzne mogą być dodane zarówno przed, jak i po ekstrakcji tłuszczu. Wydajność procedury ekstrakcji tłuszczu, w zależności od etapu, na którym dodaje się wzorce wewnętrzne, a także od tego, czy wyniki są wyrażane na jednostkę masy produktu czy tłuszczu, poddać walidacji.

8.3. Przed analizą GC/MS dodać do próbki 1 lub 2 wzorce odzysku.

8.4. Sprawdzenie odzysku jest niezbędne. Odzysk dla poszczególnych wzorców wewnętrznych w metodach potwierdzających powinien zawierać się w granicach od 60 do 120 %. Dopuszczalne są niższe lub wyższe wartości odzysku dla poszczególnych kongenerów, w szczególności dla niektórych hepta- i oktachlorodibenzo-p-dioksyn i furanów, jeżeli ich udział w sumarycznej wartości równoważnika toksyczności TEQ nie przekracza 10 % TEQ (tylko dla PCDD/F). W przypadku metod skringowych (przesiewowych) odzysk może zawierać się w granicach od 30 do 140 %.

8.5. Rozdzielenie dioksyn od interferujących chlorowanych związków, takich jak dioksynopodobne PCB czy polichlorowane difenyletery, można osiągnąć przez zastosowanie odpowiednich technik chromatograficznych przede wszystkim wykorzystujących Florisil, tlenek glinu lub kolumny węglowe.

8.6. Sprawność rozdzielania izomerów przy chromatografii gazowej powinna być wystarczająca poniżej 25 % nakładania się pików 1,2,3,4,7,8-HxCDF i 1,2,3,6,7,8-HxCDF.

8.7. Oznaczanie powinno być wykonywane zgodnie z Metodą EPA 1613, korekta B: w celu oznaczenia tetra- do oktachlorowanych dioksyn i furanów zastosować metodę rozcieńczeń izotopowych HRGC/HRMS lub inną, o równoważnych parametrach.

8.8. Dla pasz o zawartości dioksyn równej lub wyższej niż dopuszczalna ich zawartość, różnica między wynikami obliczonymi zgodnie z koncepcją „ górnej i dolnej granicy” oznaczalności nie powinna przekraczać 20 %. W przypadku pasz o zawartości dioksyn niższej od dopuszczalnej ich zawartości, różnica ta może zawierać się w granicach od 25 do 40 %.

9. SKRININGOWE (PRZESIEWOWE) METODY ANALIZY

W ramach metod skringowych (przesiewowych) rozróżnia się klasyczne metody wstępne oraz analizę ilościową.

9.1. Klasyczne metody wstępne. W tych metodach porównuje się wartość sygnału uzyskanego w badanej próbce z wartością sygnału uzyskanego w próbce referencyjnej zawierającej analit na poziomie zainteresowania. Próbki, dla których wartość sygnału jest mniejsza od wartości sygnału próbki referencyjnej, uznaje się za ujemne, natomiast próbki, dla których wartość sygnału jest większa od wartości sygnału próbki referencyjnej, uznaje się za potencjalnie pozytywne. Dla metod wstępnych przyjmuje się następujące wymagania:

9.1.1. W każdej partii badanych próbek powinna znaleźć się próbka odczynnikowa i referencyjna, które ekstrahuje się i bada w tym samym czasie, wykorzystując te same procedury analityczne. Wartość sygnału uzyskanego w próbce referencyjnej powinna być wyraźnie większa od wartości sygnału uzyskanego w próbce odczynnikowej.

9.1.2. W celu wykazania sprawności metody na poziomie zainteresowania w badaniach kontrolnych zbadać dodatkowe próbki referencyjne zawierające 50 i 200 % poziomu zainteresowania analitu.

9.1.3. W przypadku badania innych matryc wykazać, że stosowane próbki referencyjne są odpowiednie. Można to osiągnąć przez włączenie próbek, dla których przy użyciu metody HRGC/HRMS wykazano, że równoważnik toksyczności TEQ jest zbliżony do próbki referencyjnej lub odczynnikowej, wzbogaconej na tym samym poziomie.

9.1.4. Badanie powtarzalności pozwalającej na uzyskanie informacji o odchyleniu standardowym w obrębie jednej partii próbek jest szczególnie istotne, w przypadku gdy w testach biologicznych niemożliwe jest zastosowanie wzorców wewnętrznych. Wartość współczynnika zmienności nie może przekraczać 30 %.

9.1.5. W przypadku testów biologicznych zdefiniować badane związki, możliwe interferencje oraz najwyższą dopuszczalną wielkość sygnału próbki odczynnikowej.

9.2. Analiza ilościowa wymaga użycia serii rozcieńczonych wzorcowych roztworów, dwu- lub trzystopniowego procesu oczyszczania próbek oraz oznaczania próbek odczynnikowych i wzbogaconych w celu kontroli odzysku. Wyniki mogą być

wyrażone jako równoważnik toksyczności (TEQ) przy założeniu, że wszystkie związki dające odpowiedź detektora wnoszą swój udział do sumarycznego TEQ. Można to osiągnąć przez zastosowanie TCDD lub mieszaniny wzorców dioksyn lub furanów do sporządzenia krzywej wzorcowej umożliwiającej obliczenie poziomu TEQ w ekstrakcie oraz w próbce; wynik jest korygowany o wartość TEQ uzyskaną w wyniku analizy próbki odczynnikowej, uwzględniającą obecność zanieczyszczeń w rozpuszczalnikach i użytych odczynnikach, oraz odzysk obliczony na podstawie wartości TEQ oznaczonej w próbce kontroli jakościowej w zakresie limitu zainteresowania. Część obserwowanych strat odzysku jest spowodowana oddziaływaniem matrycy lub różnicami między wartościami współczynników toksyczności (TEF) wykorzystywanymi w testach biologicznych oraz oficjalnymi wartościami TEF przyjętymi przez Światową Organizację Zdrowia (WHO).

10. OGÓLNE WYMAGANIA, JAKIE POWINNY SPEŁNIAĆ SKRININGOWE (PRZESIEWOWE) METODY ANALIZY

10.1. Do badań skryningowych (przesiewowych) można stosować metody GC/MS oraz testy biologiczne. Przestrzegać wymagań dla metod GC/MS, określonych w ust. 8. Wymagania dla biologicznych testów komórkowych określono w ust. 11, a dla zestawów do testów biologicznych w ust. 12.

10.2. Niezbędne jest podanie informacji o liczbie wyników fałszywie dodatnich i wyników fałszywie ujemnych, poniżej i powyżej maksymalnego, dopuszczalnego poziomu, uzyskanych w dużych seriach próbek w porównaniu z wartościami TEQ uzyskanymi przy zastosowaniu metod potwierdzających. Rzeczywista częstość występowania wyników fałszywie ujemnych nie powinna przekraczać 1 %. Częstość uzyskiwania wyników fałszywie dodatnich powinna być na tyle niska, aby można było wykorzystać zalety metod skryningowych.

10.3. Wyniki pozytywne zawsze potwierdzać przy zastosowaniu analizy potwierdzającej HRGC/HRMS. Oprócz tego od 2 do 10 % próbek ujemnych, potwierdzać techniką HRGC/HRMS. **Powinna być znana korelacja** pomiędzy biotestem a metodą HRGC / HRMS.

11. SZCZEGÓLNE WYMAGANIA, JAKIE POWINNY SPEŁNIAĆ BIOLOGICZNE TESTY KOMÓRKOWE

11.1. W czasie wykonywania testów biologicznych w każdej serii powinno się uwzględnić zestaw referencyjnych stężeń TCDD lub mieszaniny dioksyn i furanów (pełna krzywa dawka-efekt, $R^2 > 0,95$). Dla celów badań skryningowych (przesiewowych) można zastosować rozszerzoną krzywą wzorcową dla próbek zawierających niskie poziomy analitu.

11.2. Do oceny sprawności testu biologicznego powinny służyć wyniki badania referencyjnego stężenia TCDD (około trzykrotna granica oznaczalności) nanoszone na karty kontrolne w stałych odstępach czasu. Alternatywnie można zastosować względną odpowiedź próbki referencyjnej w porównaniu do krzywej kalibracyjnej TCDD, ponieważ odpowiedź komórkowa może zależeć od wielu czynników.

11.3. Dla każdego rodzaju materiału referencyjnego powinny być prowadzone i sprawdzane **karty kontrolne jakości** (QC chart) w celu zapewnienia, że wyniki są zgodne z deklarowanymi **wytycznymi**.

11.4. Przy oznaczeniach ilościowych zwracać uwagę, aby zastosowane rozcieńczenie próbki mieściło się w zakresie liniowym krzywej kalibracji. Próbki, których sygnał przekracza liniowy zakres krzywej kalibracji, rozcieńczyć i ponownie oznaczyć. Zaleca się jednoczesne badanie co najmniej trzech rozcieńczeń.

11.5. Procentowe odchylenie standardowe nie powinno być większe niż 15 % dla trzykrotnej analizy każdego rozcieńczenia próbki oraz nie może przekraczać 30 % dla wyników uzyskanych w trzech niezależnych eksperymentach.

11.6. Granicę wykrywalności można ustalić jako 3-krotne odchylenie standardowe próbki odczynnikowej lub sygnału tła. Inną metodą jest wykorzystanie sygnału wyższego od tła (pięciokrotna wartość próbki odczynnikowej) wyznaczonego na podstawie krzywej kalibracji przygotowanej tego samego dnia.

Granicę oznaczalności można ustalić jako 5-6-krotną wartość odchylenia standardowego próbki odczynnikowej lub sygnału tła lub zastosować sygnał powyżej tła (dziesięciokrotna wartość próbki odczynnikowej) wyznaczony na podstawie krzywej kalibracji przygotowanej tego samego dnia.

12. SZCZEGÓLNE WYMAGANIA, JAKIE POWINNY SPEŁNIAĆ TESTY BIOLOGICZNE¹⁰⁾

12.1. Przestrzegać dostarczonych przez producenta instrukcji przygotowania próbek i ich analizy.

12.2. Zestawy do testów biologicznych nie mogą być wykorzystywane po upływie daty ważności.

12.3. Nie wolno używać materiałów lub składników przeznaczonych do wykorzystania w innych zestawach.

12.4. Zestawy do testów biologicznych powinny być przechowywane oraz używane do badań w temperaturze podanej w instrukcji.

12.5. W przypadku testów immunologicznych granicę wykrywalności określa się jako sumę średniej i trzykrotnego odchylenia standardowego obliczonego na podstawie wyników 10 analiz próbek odczynnikowych podzieloną przez współczynnik nachylenia krzywej wzorcowej wyznaczonej równaniem regresji liniowej.

12.6. Stosować wzorce referencyjne w celu kontroli, czy ich odpowiedź mieści się w akceptowanym zakresie.

13. PRZEDSTAWIANIE WYNIKÓW

Wyniki analiz zawartości dioksan i dioksynopodobnych PCB powinny być przedstawione w sprawozdaniu z badań, które powinno zawierać:

- 1) jeżeli pozwala na to zastosowana procedura analityczna, poziomy poszczególnych kongenerów PCDD/F i PCB - wyniki analiz powinny być przedstawione zgodnie z górną, dolną i średnią granicą ich wkładu do TEQ, w celu dostarczenia w sprawozdaniu z badań jak największej ilości **informacji**, a tym samym umożliwiając interpretację uzyskanych wyników w zależności od określonych wymagań;

- 2) informację o zawartości lipidów w próbce oraz o zastosowanej metodzie ich ekstrakcji;

Informacje na temat odzysku wszystkich zastosowanych wzorców wewnętrznych, powinny być dostępne w przypadku, gdy wartości odzysku wykraczają poza granice określone w ust. 8, w razie przekroczenia dopuszczalnej zawartości lub w innych przypadkach.

ROZDZIAŁ 9

¹⁰⁾ Dotychczas nie ma informacji o dostępnych w handlu zestawach do testów biologicznych charakteryzujących się dostateczną czułością i wiarygodnością, które umożliwiałyby ich wykorzystywanie w skryningowych (przesiewowych) badaniach obecności określonych poziomów dioksyn w próbkach środków spożywczych i paszy.

BADANIE NIEBIAŁKOWYCH ZWIĄZKÓW AZOTOWYCH

OZNACZANIE MOCNIKA

1. CEL I ZAKRES STOSOWANIA METODY

Metoda służy do oznaczania zawartości mocznika w paszach.

2. SPOSÓB PRZEPROWADZENIA METODY

Próbka ze środkiem klarującym tworzy w wodzie zawiesinę. Suspensja jest filtrowana.

Zawartość mocznika w filtracie jest oznaczana po dodaniu 4-dwumetyloaminobenzaldehydu (4-DMAB) poprzez pomiar gęstości optycznej przy długości fali 420 nm.

3. ODCZYNNIKI I ROZTWORY

3.1. Roztwór 4-dwumetyloaminobenzaldehydu:

Rozpuścić 1,6 g czystego 4-DMAB w 100 ml 96% etanolu i dodać 10 ml kwasu chlorowodorowego ($d = 1,19$). Trwałość tego odczynnika wynosi maksymalnie 2 tygodnie.

3.2. Roztwór Carreza I:

Rozpuścić w wodzie 21,9 g octanu cynkowego $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$ i 3 g lodowatego kwasu octowego. Uzupełnić do objętości 1 litra wodą.

3.3. Roztwór Carreza II:

Rozpuścić w wodzie 10,6 g żelazocyjanku potasowego $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$. Uzupełnić do objętości 1 litra wodą.

3.4. Aktywny węgiel nieabsorbujący mocznika (sprawdzony).

3.5. Roztwór 0,1% (m/V) mocznika.

4. APARATURA I SPRZĘT

4.1. Mikser lub tumbler: od 35 do 40 obr/min.

4.2. Probówki: 160 x 16 mm ze szklanymi, szlifowanymi korkami.

4.3. Spektrofotometr.

5. SPOSÓB POSTĘPOWANIA

5.1. Analiza próbki

Odważyć 2 g próbki, z dokładnością do 1 mg, i umieścić razem z 1 g aktywnego węgla, o którym mowa w ust. 3.4, w kolbie miarowej o pojemności 500 ml. Dodać 400 ml wody i po 5 ml roztworu Carreza I, o którym mowa w ust. 3.2, i Carreza II, o którym mowa w ust. 3.3. Mieszać przez 30 minut w mikserze, o którym mowa w ust. 4.1. Uzupełnić do pełnej objętości kolby wodą, wstrząsnąć i przefiltrować.

Do probówek, o których mowa w ust. 4.2, przenieść po 5 ml przezroczystego, bezbarwnego filtratu, dodać 5 ml roztworu 4-DMAB, o którym mowa w ust. 3.1, i zamieszać. Wstawić probówki do łaźni wodnej ustawionej na temperaturę 20°C. Po 15 minutach zmierzyć gęstość optyczną roztworu próbki spektrofotometrem, przy długości fali 420 nm. Pomiar wykonać względem ślepej próby odczynnikowej.

5.2. Krzywa kalibracyjna

Do kolb miarowych o pojemności 100 ml nalać 1,0, 2,0, 4,0, 5,0 i 10,0 ml roztworu mocznika, o którym mowa w ust. 3.5 i uzupełnić do pełnej objętości kolb wodą. Odlać 5 ml każdego z roztworów, dodać do każdej probówki po 5 ml roztworu 4-DMAB, o którym mowa w ust. 3.1, wymieszać i zmierzyć gęstość optyczną w podany wyżej sposób, porównując z roztworem kontrolnym zawierającym 5 ml 4-DMAB i 5 ml wody wolnej od mocznika. Wykreślić krzywą kalibracyjną.

6. OBLICZANIE WYNIKÓW

Na podstawie krzywej kalibracyjnej oznaczyć zawartość mocznika w próbce.

Wynik wyrazić jako udział procentowy w próbce.

7. OBJAŚNIENIA

7.1. W przypadku gdy zawartość mocznika przekracza 3%, zmniejszyć masę próbki do 1 g lub rozcieńczyć pierwotny roztwór, tak aby w 500 ml nie znajdowało się więcej niż 50 mg mocznika.

7.2. W przypadku niższej zawartości mocznika, zwiększać masę próbki, do czasu aż filtrat stanie się przezroczysty i bezbarwny.

7.3. Jeżeli próbka zawiera proste związki azotowe, takie jak aminokwasy, gęstość optyczną mierzyć przy długości fali 435 nm.

UZASADNIENIE

Projekt rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi w sprawie metodyki postępowania analitycznego w zakresie określania zawartości składników pokarmowych i dodatków paszowych w materiałach paszowych, premiksach, mieszankach paszowych i paszach leczniczych stanowi wykonanie upoważnienia zawartego w art. 44 pkt 2 ustawy z dnia2006 r. o paszach (Dz. U. Nr....., poz.....).

Projektowane rozporządzenie było poprzedzone rozporządzeniem Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 6 marca 2006 r. w sprawie metodyki postępowania analitycznego w zakresie określania zawartości składników pokarmowych i dodatków paszowych w materiałach paszowych, premiksach, mieszankach paszowych i paszach leczniczych stanowiącym wykonanie delegacji art. 44 ust. 10 pkt 2 ustawy z dnia 23 sierpnia 2001 r. o środkach żywienia zwierząt (Dz. U. z 2005 r. Nr 255, poz. 2143).

Konieczność wydania nowego rozporządzenia podyktowana jest uchyceniem ustawy o środkach żywienia zwierząt i zastąpienie jej ustawą z dnia 2006 r. o paszach.

Mając na celu właściwe wdrożenie przepisów Unii Europejskiej, w zakresie określania zawartości składników pokarmowych i dodatków paszowych w materiałach paszowych, premiksach, mieszankach paszowych i paszach leczniczych, w projekcie rozporządzenia określone zostały metodyki postępowania analitycznego w w/w zakresie.

Szczegółowy zakres informacji dotyczący w/w metodyk został określony w załączniku do rozporządzenia.

Przepisy projektu rozporządzenia mają na celu umożliwienie laboratoriom upoważnionym do prowadzenia badań w ramach kontroli urzędowej korzystania z metodyki postępowania analitycznego w zakresie określania zawartości składników pokarmowych i dodatków paszowych w materiałach paszowych, premiksach, mieszankach paszowych i paszach leczniczych, mającej na względzie przeprowadzenie analizy według wytycznych zatwierdzonych przez Unię Europejską.

Przepisy rozporządzenia wdrożą przepisy Unii Europejskiej, w związku z tym jego projekt nie podlegał notyfikacji w rozumieniu przepisów rozporządzenia Rady Ministrów z dnia 23 grudnia 2002 r. w sprawie sposobu funkcjonowania krajowego systemu notyfikacji norm i aktów prawnych (Dz. U. Nr 239, poz. 2039 oraz z 2004 r. Nr 65, poz. 597).

OCENA SKUTKÓW REGULACJI

1. Podmioty, na które oddziałuje akt normatywny

Przedmiotowa regulacja będzie oddziaływać na pracowników laboratoriów upoważnionych

do prowadzenia badań w ramach kontroli urzędowej.

Wdrożenie przepisów Unii Europejskiej w zakresie objętym przedmiotowym rozporządzeniem spowoduje, że pasze stosowane w żywieniu zwierząt nie będą stanowić zagrożenia dla zdrowia ludzi i zwierząt, charakteryzować się negatywnym wpływem na bezpieczeństwo środków spożywczych pochodzenia zwierzęcego oraz szkodliwie wpływać na środowisko naturalne.

2. Wpływ aktu normatywnego na sektor finansów publicznych, w tym budżet państwa i budżety jednostek samorządu terytorialnego

Wejście w życie rozporządzenia nie będzie miało wpływu na sektor finansów publicznych, w tym budżet państwa i budżety jednostek samorządu terytorialnego.

3. Wpływ aktu normatywnego na rynek pracy

Wejście w życie rozporządzenia nie będzie miało wpływu na rynek pracy.

4. Wpływ aktu normatywnego na konkurencyjność gospodarki i przedsiębiorczość, w tym na funkcjonowanie przedsiębiorstw

Wejście w życie rozporządzenia nie będzie miało wpływu na konkurencyjność gospodarki i przedsiębiorczość, w tym na funkcjonowanie przedsiębiorstw.

5. Wpływ aktu normatywnego na rozwój regionalny

Wejście w życie rozporządzenia nie będzie miało wpływu na sytuację i rozwój regionalny.

6. Konsultacje społeczne

Projekt rozporządzenia zostanie skonsultowany z Federacją Branżowych Związków Producentów Rolnych, Izbą Gospodarczą Handlowców, Przetwórców Zbóż i Producentów Pasz, Krajową Izbą Lekarsko-Weterynaryjną, Krajową Izbą Producentów Drobiu i Pasz, Krajową Radą Izb Rolniczych, Krajowym Związkiem Rolników, Kółek i Organizacji Rolniczych, Niezależnym Samorządnym Związkiem Zawodowym Rolników Indywidualnych „Solidarność”, Niezależnym Samorządnym Związkiem Zawodowym „Solidarność”, Polskim Związkiem Producentów Pasz, Krajową Radą Drobiarstwa – Izbą Gospodarczą w Warszawie, Związkiem Zawodowym Rolnictwa „Samoobrona” i Polskim Stowarzyszeniem Producentów Karmy dla Zwierząt Domowych „Polkarma”.

**ROZPORZĄDZENIE
MINISTRA ROLNICTWA I ROZWOJU WSI ¹⁾**

z dnia.....2006 r.

w sprawie wykazu laboratoriów upoważnionych do prowadzenia badań pasz oraz pasz leczniczych w ramach kontroli urzędowej

Na podstawie art. 44 pkt 3 ustawy z dnia2006 r. o paszach (Dz. U. Nr ..., poz.) zarządza się, co następuje:

§ 1. Wykaz laboratoriów upoważnionych do prowadzenia badań pasz oraz pasz leczniczych w ramach nadzoru sprawowanego przez Inspekcję Weterynaryjną określa załącznik do rozporządzenia.

§ 2. Traci moc rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 24 maja 2004 r. w sprawie wykazu laboratoriów upoważnionych do prowadzenia badań środków żywienia zwierząt w ramach kontroli urzędowej (Dz. U. Nr 131, poz. 1411).

§ 3. Rozporządzenie wchodzi w życie po upływie 14 dni od dnia ogłoszenia.

MINISTER ROLNICTWA I ROZWOJU WSI

¹⁾ Minister Rolnictwa i Rozwoju Wsi kieruje działem administracji rządowej - rolnictwo na podstawie § 1 ust. 2 pkt 1 rozporządzenia Prezesa Rady Ministrów z dnia 31 października 2005 r. w sprawie szczegółowego zakresu działania Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi (Dz. U. Nr 220, poz. 1892).

Wykaz laboratoriów upoważnionych do prowadzenia badań pasz oraz pasz leczniczych w ramach kontroli urzędowej

1. Laboratorium Zakładu Higieny Środków Żywienia Zwierząt Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego
24-100 Puławy
Al. Partyzantów 57
2. Laboratorium Zakładu Higieny Weterynaryjnej w Białymstoku
ul. Zwycięstwa 26 a
15- 959 Białystok
3. Laboratorium Zakładu Higieny Weterynaryjnej w Bydgoszczy
ul. Powstańców Wlkp. 10
85 –090 Bydgoszcz
4. Laboratorium Zakładu Higieny Weterynaryjnej w Gdańsku
ul. Kaprów 9
80-316 Gdańsk
5. Laboratorium Zakładu Higieny Weterynaryjnej w Gorzowie Wielkopolskim
ul. Bohaterów Warszawy 4
66-400 Gorzów Wielkopolski
6. Laboratorium Zakładu Higieny Weterynaryjnej w Katowicach
ul. Brynowska 25 a
40-585 Katowice
7. Laboratorium Zakładu Higieny Weterynaryjnej w Kielcach
ul. Ściegiennego 205
25-900 Kielce
8. Laboratorium Zakładu Higieny Weterynaryjnej w Krakowie
ul. Brodowicza 13
30-960 Kraków
9. Laboratorium Zakładu Higieny Weterynaryjnej w Krośnie
ul. Ściegiennego 6
38-400 Krosno
10. Laboratorium Zakładu Higieny Weterynaryjnej w Lublinie
ul. Słowicza 2
20-336 Lublin
11. Laboratorium Zakładu Higieny Weterynaryjnej w Łodzi
ul Proletariacka 2
93-569 Łódź
12. Laboratorium Zakładu Higieny Weterynaryjnej w Olsztynie
ul. Warszawska 109
10-702 Olsztyn

13. Laboratorium Zakładu Higieny Weterynaryjnej w Opolu
ul. Wrocławska 190
45-836 Opole
14. Laboratorium Zakładu Higieny Weterynaryjnej w Poznaniu
ul. Grunwaldzka 250
60-166 Poznań
15. Laboratorium Zakładu Higieny Weterynaryjnej w Szczecinie
ul. Ostrawicka 2
71-337 Szczecin
16. Laboratorium Zakładu Higieny Weterynaryjnej w Warszawie
ul. Lechicka 21
02-156 Warszawa
17. Laboratorium Zakładu Higieny Weterynaryjnej w Wrocławiu
ul. Pułaskiego 52
50-900 Wrocław

UZASADNIENIE

Projekt rozporządzenia stanowi wykonanie upoważnienia zawartego w art. 44 pkt 3 ustawy z dnia 2006 r. o paszach (Dz. U. Nr ..., poz. ...).

Niniejszy projekt rozporządzenia był poprzedzony rozporządzeniem Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 24 maja 2004 r. w sprawie wykazu laboratoriów upoważnionych do prowadzenia badań środków żywienia zwierząt oraz pasz leczniczych w ramach kontroli urzędowej (Dz. U. Nr 131, poz. 1411).

Do czasu wejścia w życie niniejszego rozporządzenia obowiązywać będą zachowane czasowo w mocy, przepisy wymienionego wyżej rozporządzenia tj. z dnia 24 maja 2004 r. W projekcie rozporządzenia określono laboratoria, które w ramach sprawowanego nadzoru będą wykonywać badania próbek środków żywienia zwierząt oraz pasz leczniczych. Przeprowadzane badania próbek środków żywienia zwierząt mają na celu zagwarantowanie odpowiedniej jakości wytwarzanych, wprowadzanych do obrotu i stosowanych w żywieniu zwierząt pasz tj. materiałów paszowych i mieszanek paszowych, dodatków paszowych oraz premiksów a także ich bezpieczeństwo dla zdrowia zwierząt, ludzi jako konsumentów produktów zwierzęcych oraz dla środowiska naturalnego. Laboratoria, które zostały określone w załączniku do rozporządzenia dysponują odpowiednio wykwalifikowaną kadrą jak również aparaturą do wykonania niezbędnych analiz w ramach prowadzonego nadzoru.

Wskazanie laboratoriów w których będą przeprowadzane badania pasz i pasz leczniczych jest zgodne z upoważnieniem zawartym w art. 12 rozporządzenia Rozporządzenie 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 regułami dotyczącymi zdrowia zwierząt i dobrostanu zwierząt (Dz. Urz. UE L 165 z 30.04.2004, str. 1) .

Rozporządzenie nie podlega notyfikacji w rozumieniu przepisów rozporządzenia Rady Ministrów z dnia 23 grudnia 2002 r. w sprawie sposobu funkcjonowania krajowego systemu notyfikacji norm i aktów prawnych (Dz. U. Nr 239, poz. 2039 oraz z 2004 r. Nr 65, poz. 597).

OCENA SKUTKÓW REGULACJI

1. Podmioty, na które będzie oddziaływał akt normatywny

Rozporządzenie będzie oddziaływać na podmioty prowadzące działalność w zakresie wytwarzania lub obrotu paszami przeznaczonymi dla zwierząt

2. Wpływ aktu normatywnego na sektor finansów publicznych, w tym budżet państwa i budżety jednostek samorządu terytorialnego

Wejście w życie w/w rozporządzenia nie wpłynie na sektor finansów publicznych, w tym budżet państwa i budżety jednostek samorządu terytorialnego.

3. Wpływ aktu normatywnego na rynek pracy

Wejście w życie rozporządzenia nie wpłynie na rynek pracy.

4. Wpływ aktu normatywnego na konkurencyjność gospodarki i przedsiębiorczość, w tym na funkcjonowanie przedsiębiorstw

Wejście w życie przepisów rozporządzenia spowoduje, że przedmiotem obrotu w naszym kraju będą pasze spełniające wymagania określone w przepisach tj. w ustawie o paszach rozporządzeniach wydanych na jej podstawie oraz w przepisach Unii Europejskiej.

5. Wpływ aktu normatywnego na sytuację i rozwój regionów

Rozporządzenie nie będzie miało wpływu na sytuację i rozwój regionów.

6. Konsultacje społeczne

W ramach prowadzonych konsultacji projekt zostanie przesłany do: Federacji Związków Producentów Rolnych, Izby Gospodarczej Handlowców, Przetwórców Zbóż i Producentów Pasz, Krajowej Izby Producentów Drobiu i Pasz, Krajowej Rady Drobiarstwa – Izby Gospodarczej, Krajowej Rady Izb Rolniczych, Krajowego Związku Rolników, Kółek i Organizacji Rolniczych, Niezależnego Samorządnego Związku Zawodowego Rolników Indywidualnych „Solidarność”, Niezależnego Samorządnego Związku Zawodowego „Solidarność”, Polskiego Związku Producentów Pasz, Związku Zawodowego Rolnictwa „Samoobrona” Związku Zawodowego Rolników Ojczyzna, Rady Gospodarki Żywnościowej, Krajowej Izby Lekarsko – Weterynaryjnej, „Polkarma” Polskiego Stowarzyszenia Producentów Karmy dla Zwierząt Domowych, Polskiego Związku Hodowców i Producentów Trzody Chlewnej „POLSUS”, Polskiej Federacji Hodowców Bydła i Producentów Mleka, Polskiego Związku Zrzeszeń Hodowców i Producentów Drobiu, Polskiego Związku Owczarskiego i Polskiego Związku Hodowców Koni.

projekt

ROZPORZĄDZENIE
MINISTRA ROLNICTWA I ROZWOJU WSI ¹⁾
z dnia.....2006 r.

**w sprawie wykazu krajowych laboratoriów referencyjnych właściwych do
prowadzenia badań pasz oraz pasz leczniczych w ramach kontroli urzędowej**

Na podstawie art. 45 ust. 3 ustawy z dnia2006 r. o paszach (Dz. U. Nr ..., poz.)
zarządza się, co następuje:

§ 1. Wykaz krajowych laboratoriów referencyjnych właściwych dla poszczególnych
rodzajów i kierunków badań pasz i pasz leczniczych określa załącznik do
rozporządzenia.

§ 2. Traci moc rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 20 lutego 2004 r. w
sprawie wykazu laboratoriów właściwych dla poszczególnych rodzajów i kierunków
badań środków żywienia zwierząt (Dz. U. z 2004 r. Nr 40, poz. 371).

§ 3. Rozporządzenie wchodzi w życie po upływie 14 dni od dnia ogłoszenia.

MINISTER ROLNICTWA I ROZWOJU WSI

¹⁾ Minister Rolnictwa i Rozwoju Wsi kieruje działem administracji rządowej - rolnictwo na podstawie § 1
ust. 2 pkt 1 rozporządzenia Prezesa Rady Ministrów z dnia 31 października 2005 r. w sprawie
szczegółowego zakresu działania Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi (Dz. U. Nr 220, poz. 1892).

Załącznik do rozporządzenia
 Ministra Rolnictwa i
 Rozwoju Wsi
 z dnia.... 2006 r.(poz....)

**WYKAZ LABORATORIÓW REFERENCYJNYCH WŁAŚCIWYCH DLA POSZCZEGÓLNYCH RODZAJÓW I
 KIERUNKÓW BADAŃ PASZ**

Lp	Nazwa laboratorium	Adres	Rodzaj badań	Kierunek badań
1	Instytut Zootechniki Krajowe Laboratorium Pasz	ul. Chmielna 2 20-079 Lublin	- Całokształt badań pasz	<ul style="list-style-type: none"> - Podstawowe składniki pokarmowe i ocena wartości energetycznej - Frakcja włókna - Skład zawartość kwasów tłuszczowych - Aminokwasy, ich sole i pochodne w tym skład aminokwasowy białka - mocznik i jego pochodne - Składniki mineralne (makroelementy i mikroelementy w tym selen i jod - Dodatki paszowe z kategorii dodatków technologicznych z wyłączeniem substancji służących do kontroli zanieczyszczenia radionuklidami - Dodatki paszowe z kategorii dodatków sensorycznych - Dodatki paszowe z kategorii zootechnicznych z wyłączeniem stymulatorów wzrostu, kokcydiostatyków i histomonostatyków - Obecność żywych szkodników w paszach - Materiały paszowe wytwarzane biotechnologicznie - Pasze genetycznie modyfikowane

2	Instytut Ochrony Roślin Laboratorium Zakład Badania Pozostałości Środków Ochrony Roślin	ul. Miczurina 20 60-318 Poznań	Całokształt badań materiałów paszowych pochodzenia roślinnego	- pozostałości pestycydów
---	--	-----------------------------------	---	---------------------------

UZASADNIENIE

Projekt rozporządzenia stanowi wykonanie upoważnienia zawartego w art. 45 ust. 3 ustawy z dnia 2006 r. o paszach (Dz. U. Nr ..., poz. ...).

Niniejszy projekt rozporządzenia był poprzedzony rozporządzeniem Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 20 lutego 2004 r. w sprawie wykazu laboratoriów referencyjnych właściwych dla poszczególnych rodzajów i kierunków badań środków żywienia zwierząt (Dz. U. Nr 40, poz. 371).

Do czasu wejścia w życie niniejszego rozporządzenia obowiązywać będą zachowane czasowo w mocy, przepisy wymienionego wyżej rozporządzenia tj. z dnia 20 lutego 2004 r. W projekcie rozporządzenia określono laboratoria referencyjne, które będą wykonywać badania próbek środków żywienia zwierząt oraz pasz leczniczych. Przeprowadzane badania próbek pasz mają na celu zagwarantowanie odpowiedniej jakości wytwarzanych, wprowadzanych do obrotu i stosowanych w żywieniu zwierząt pasz tj. materiałów paszowych, mieszanek paszowych, dodatków paszowych i premiksów oraz ich bezpieczeństwo dla zdrowia zwierząt, ludzi jako konsumentów produktów zwierzęcych oraz dla środowiska naturalnego.

Wskazanie laboratoriów referencyjnych w których będą przeprowadzane badania pasz i pasz leczniczych jest zgodne z upoważnieniem zawartym w art. 33 ust. 1 rozporządzenia 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 regułami dotyczącymi zdrowia zwierząt i dobrostanu zwierząt (Dz. Urz. UE L 165 z 30.04.2004, str. 1) .

Rozporządzenie nie podlega notyfikacji w rozumieniu przepisów rozporządzenia Rady Ministrów z dnia 23 grudnia 2002 r. w sprawie sposobu funkcjonowania krajowego systemu notyfikacji norm i aktów prawnych (Dz. U. Nr 239, poz. 2039 oraz z 2004 r. Nr 65, poz. 597).

OCENA SKUTKÓW REGULACJI

1. Podmioty, na które będzie oddziaływał akt normatywny

Rozporządzenie będzie oddziaływać na podmioty prowadzące działalność w zakresie wytwarzania lub obrotu paszami przeznaczonymi dla zwierząt

2. Wpływ aktu normatywnego na sektor finansów publicznych, w tym budżet państwa i budżety jednostek samorządu terytorialnego

Wejście w życie w/w rozporządzenia nie wpłynie na sektor finansów publicznych, w tym budżet państwa i budżety jednostek samorządu terytorialnego.

3. Wpływ aktu normatywnego na rynek pracy

Wejście w życie rozporządzenia nie wpłynie na rynek pracy.

4. Wpływ aktu normatywnego na konkurencyjność gospodarki i przedsiębiorczość, w tym na funkcjonowanie przedsiębiorstw

Wejście w życie przepisów rozporządzenia spowoduje, że polskie podmioty będą mogły wprowadzać do obrotu pasze poddane kontroli urzędowej w laboratoriach dysponujących wysoko wykwalifikowaną kadrą oraz sprzętem gwarantującym specjalistyczne przeprowadzanie tych badań.

5. Wpływ aktu normatywnego na sytuację i rozwój regionów

Rozporządzenie nie będzie miało wpływu na sytuację i rozwój regionów.

6. Konsultacje społeczne

W ramach prowadzonych konsultacji projekt zostanie przesłany do: Federacji Związków Producentów Rolnych, Izby Gospodarczej Handlowców, Przetwórców Zbóż i Producentów Pasz, Krajowej Izby Producentów Drobiu i Pasz, Krajowej Rady Drobiarstwa – Izby Gospodarczej, Krajowej Rady Izb Rolniczych, Krajowego Związku Rolników, Kółek i Organizacji Rolniczych, Niezależnego Samorządnego Związku Zawodowego Rolników Indywidualnych „Solidarność”, Niezależnego Samorządnego Związku Zawodowego „Solidarność”, Polskiego Związku Producentów Pasz, Związku Zawodowego Rolnictwa „Samoobrona” Związku Zawodowego Rolników Ojczyzna, Rady Gospodarki Żywnościowej, Krajowej Izby Lekarsko – Weterynaryjnej, „Polkarma” Polskiego Stowarzyszenia Producentów Karmy dla Zwierząt Domowych, Polskiego Związku Hodowców i Producentów Trzody Chlewnej „POLSUS”, Polskiej Federacji Hodowców Bydła i Producentów Mleka, Polskiego Związku Zrzeszeń Hodowców i Producentów Drobiu, Polskiego Związku Owczarskiego i Polskiego Związku Hodowców Koni.

**ROZPORZĄDZENIE
MINISTRA ROLNICTWA I ROZWOJU WSI¹⁾**

z dnia2006 r.

w sprawie wzoru dokumentu potwierdzającego przeprowadzenie kontroli granicznej przesyłki pasz oraz sposobu jego wystawiania i wypełniania²⁾

Na podstawie art. 48 ust. 1 ustawy z dnia2006 r. o paszach (Dz. U. Nr .., poz. .) zarządza się, co następuje:

§1.

1. Określa się wzór dokumentu potwierdzającego przeprowadzenie kontroli granicznej przesyłki pasz, stanowiący załącznik nr 1 do rozporządzenia.
2. Sposób wystawiania i wypełniania dokumentu, o którym mowa w ust. 1, jest określony w załączniku nr 2 do rozporządzenia.

§ 2.

Traci moc rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 29 czerwca 2004r. w sprawie wzoru dokumentu potwierdzającego przeprowadzenie kontroli granicznej przesyłki środków żywienia zwierząt oraz sposobu jego wystawiania i wypełniania (Dz. U. Nr 154, poz. 1631 oraz z 2005 r. Nr 77, poz. 673).

§3.

Rozporządzenie wchodzi w życie po upływie 14 dni od dnia ogłoszenia.

**MINISTER ROLNICTWA
I ROZWOJU WSI**

¹⁾ Minister Rolnictwa i Rozwoju Wsi kieruje działem administracji rządowej-rolnictwo, na podstawie § 1 ust. 2 pkt 1 rozporządzenia Prezesa Rady Ministrów z dnia 31 października 2005 r. w sprawie szczegółowego zakresu działania Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi (Dz. U. Nr 220, poz. 1892).

²⁾ Niniejsze rozporządzenie wdraża postanowienia dyrektywy 98/68/WE z dnia 10 września 1998r. ustanawiającej dokument wzorcowy określony w artykule 9 ust.1 dyrektywy 95/53/WE i niektóre reguły kontroli przy wprowadzaniu do Wspólnoty pasz z państw trzecich (Dz. Urz. WE L 261 z 24.09.1998;Dz.Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 24, str. 3).

**WZÓR DOKUMENTU POTWIERDZAJĄCEGO PRZEPROWADZENIE KONTROLI GRANICZNEJ
PRZESYŁKI PASZ**

A	1. Nadawca / eksporter	Dokument potwierdzający przeprowadzenie kontroli granicznej przesyłki pasz wprowadzanych na obszar celny Unii Europejskiej	
	3. Odbiorca	2. Numer dokumentu	
		4. Numer dokumentu celnego	
		5. Dokument towarzyszący	
	5.1. Przeprowadzono badania laboratoryjne, o których mowa w art. 31 ust. 1 pkt 1 lit. a ustawy z dnia ... 2006 r. o paszach (Dz.U. Nr ..., poz.)		1. <input type="checkbox"/> Tak 2. <input type="checkbox"/> Nie
6. Składający deklarację / przedstawiciel	7. Pochodzenie		
7.1. Numer zezwolenia/zgłoszenia zakładu (jeżeli dotyczy):			
8. Opis paszy <input type="checkbox"/> 8.1. <input type="checkbox"/> 8.4. <input type="checkbox"/> 8.2. <input type="checkbox"/> 8.5. <input type="checkbox"/> 8.3. <input type="checkbox"/> 8.6.	9. Kod CN	11. Masa brutto (kg)	
	10. Liczba paczek	12. Masa netto (kg)	
B	13. Kontrole określone w art. 46 ust. 1 ustawy o paszach		
	13.1. <input type="checkbox"/> Kontrola dokumentów towarzyszących		13.2. Kontrola tożsamości 1. <input type="checkbox"/> Tak 2. <input type="checkbox"/> Nie
	14. Kontrole określone w art. 46 ust. 1 ustawy o paszach		
Przeprowadzone kontrole	14.1. Kontrola fizyczna 1. <input type="checkbox"/> Tak 2. <input type="checkbox"/> Nie		14.2. Przeprowadzono badania laboratoryjne 1. <input type="checkbox"/> Tak 2. <input type="checkbox"/> Nie Rodzaj analizy: (jeżeli dotyczy, należy dołączyć kopię wyników badań)
	14.3. Przeprowadzono badania laboratoryjne pod kontrolą 1. <input type="checkbox"/> Tak 2. <input type="checkbox"/> Nie Rodzaj analizy:		
C	15. Oznaczenie przejścia granicznego i pieczęć urzędowa granicznego lekarza weterynarii	16. Graniczny Lekarz Weterynarii	
	 Miejscowość i data Podpis Imię i nazwisko (drukowanymi literami)	
D	17. Uwagi (wypełnia właściwy organ państwa członkowskiego Unii Europejskiej miejsca przeznaczenia przesyłki)		

Uwaga:

Przed wypełnieniem dokumentu należy zapoznać się ze sposobem jego wystawiania i wypełniania.

SPOSÓB WYSTAWIANIA I WYPEŁNIANIA DOKUMENTU POTWIERDZAJĄCEGO PRZEPROWADZENIE KONTROLI GRANICZNEJ PRZESYŁKI PASZ

A. Informacje dotyczące partii paszy

1. Nadawca / eksporter

Wpisać imię, nazwisko i adres osoby fizycznej albo nazwę i adres jednostki organizacyjnej będącej nadawcą lub eksporterem przesyłki.

2. Numer dokumentu

Wpisać kolejny numer nadany dokumentowi przez granicznego lekarza weterynarii.

3. Odbiorca

Wpisać imię, nazwisko i adres osoby fizycznej albo nazwę i adres jednostki organizacyjnej, do której przesyłka ma być dostarczona.

4. Numer dokumentu celnego

Wpisać numer dokumentu celnego.

5. Dokument towarzyszący

Wpisać nazwę dokumentu towarzyszącego przesyłce.

5.1. Wpisać znak „+” we właściwej rubryce. Wpisać w „1. [...] Tak”, jeżeli próbki do badań, o których mowa w art. 31 ust. 1 pkt 1 lit. a, zostały pobrane zgodnie z przepisami wydanymi na podstawie art. 44 pkt 2 ustawy z dnia ... 2006r. o paszach (Dz.U. Nr , poz.).

6. Składający deklarację / przedstawiciel

Wpisać imię, nazwisko i adres osoby fizycznej albo nazwę i adres jednostki organizacyjnej odpowiedzialnej za przesyłkę, która informuje granicznego lekarza weterynarii o przewidywanym czasie przywozu, rodzaju i ilości przesyłki.

Jeżeli składający deklarację jest jednocześnie nadawcą i eksporterem, należy wpisać wyraz „nadawca” albo „eksporter”.

7. Pochodzenie

Wpisać nazwę i adres przedsiębiorstwa w państwie trzecim wytwarzającego, magazynującego lub wprowadzającego do obrotu pasze, a w przypadku gdy dane te nie są tożsame z miejscem pochodzenia przesyłki, wpisać także adres miejsca pochodzenia przesyłki.

7.1. Wpisać numer zezwolenia lub zgłoszenia przedsiębiorstwa w państwie trzecim wytwarzającego, magazynującego lub wprowadzającego do obrotu pasze (jeżeli dotyczy).

8. Opis paszy

Wpisać znak „+” w odpowiedniej rubryce:

„[] 8.1.” - dla dodatków paszowych lub premiksów

„[] 8.2.” - dla materiałów paszowych

„[] 8.3.” - dla mieszanek paszowych

„[] 8.4.” - dla produktów określonych w art. 23 ust. 1 ustawy o paszach

„[] 8.5.” - dla pasz dietetycznych

„[] 8.6.” - dla innych pasz wraz z padaniem ich nazwy

9. Kod CN

Wpisać kod CN paszy.

10. Liczba paczek

Wpisać liczbę paczek, a w przypadku pasz nieopakowanych - wyraz „luzem”.

11. Masa brutto (kg)

Wpisać masę brutto wyrażoną w kilogramach.

12. Masa netto (kg)

Wpisać masę netto wyrażoną w kilogramach.

B. Przeprowadzone kontrole

13. Kontrole określone w art. 46 ust. 1 ustawy o paszach

13.1. Wpisać znak „+”

13.2. Wpisać znak „+” w odpowiedniej rubryce.

14. Kontrole określone w art. 46 ust. 1 ustawy o paszach

14.1. Wpisać znak „+” w odpowiedniej rubryce.

14.2. Wpisać znak „+” w odpowiedniej rubryce. Wpisać w „1. [...] Tak”, jeżeli badania laboratoryjne zostały przeprowadzone i wyniki są dostępne. W tym przypadku należy dołączyć do dokumentu kopię wyników badań laboratoryjnych i wskazać rodzaj analizy przeprowadzonej zgodnie z przepisami wydanymi na podstawie art. 44 pkt 2 ustawy o paszach.

14.3. Wpisać znak „+” w odpowiedniej rubryce. Wpisać w „1. [...] Tak”, jeżeli próbki do badań laboratoryjnych zostały pobrane, a wyniki nie są jeszcze dostępne. W tym przypadku należy wskazać rodzaj analizy przeprowadzonej zgodnie z przepisami wydanymi na podstawie art. 46 pkt 2 ustawy o paszach

C. Potwierdzenie

15. Oznaczenie przejścia granicznego i pieczęć urzędowa. granicznego lekarza weterynarii.

Wpisać nazwę przejścia granicznego. Odcisk pieczęci urzędowej granicznego lekarza weterynarii powinien być w innym kolorze niż kolor wpisów w dokumencie.

16. Graniczny Lekarz Weterynarii

Wpisać miejscowość, datę oraz imię i nazwisko granicznego lekarza weterynarii podpisującego dokument.

D. Dodatkowe uwagi

17. Uwagi. Właściwy organ państwa członkowskiego Unii Europejskiej miejsca przeznaczenia przesyłki może wpisać ewentualne uwagi.

Objaśnienie:

1. Dokument potwierdzający przeprowadzenie kontroli granicznej przesyłki pasz jest:

1) wystawiany w języku polskim lub w jednym z języków urzędowych państwa członkowskiego Unii Europejskiej będącego miejscem przeznaczenia przesyłki;

2) jednostronicowy.

2. Graniczny lekarz weterynarii, w przypadku gdy pasza jest dopuszczona do obrotu na obszarze celnym Unii Europejskiej, przechowuje przez co najmniej 18 miesięcy :

1) dokument potwierdzający przeprowadzenie kontroli granicznej przesyłki pasz;

2) kopie wyników przeprowadzonych badań laboratoryjnych, o której mowa w art. 31 ust. 1 pkt. 1 lit a ustawy z dnia.... 2006 r. o paszach.

3. Zmiany w dokumencie mogą wprowadzać wyłącznie osoby upoważnione.

UZASADNIENIE

Projekt rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi w sprawie wzoru dokumentu potwierdzającego przeprowadzenie kontroli granicznej przesyłki pasz oraz sposobu jego wystawiania i wypełniania stanowi wykonanie upoważnienia zawartego w art. 48 ust. 1 ustawy z dnia 2006 r. o paszach (Dz. U. Nr ..., poz...). Konieczność wydania przedmiotowego rozporządzenia wynika z uchwalenia ustawy z dnia ... 2006 r. o paszach uchylającej ustawę z dnia 23 sierpnia 2001 r. o środkach żywienia zwierząt (Dz. U. z 2005 r. Nr 255, poz. 2143). Niniejszy projekt rozporządzenia był poprzedzony rozporządzeniem Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 29 czerwca 2004 r. w sprawie wzoru dokumentu potwierdzającego przeprowadzenie kontroli granicznej przesyłki środków żywienia zwierząt oraz sposobu jego wystawiania i wypełniania (Dz. U. Nr 154, poz. 1631, z późn. zm.). Do czasu wejścia w życie projektowanego rozporządzenia obowiązywać będą zachowane czasowo w mocy, przepisy wyżej powołanego rozporządzenia z dnia 29 czerwca 2004 r.

Projekt rozporządzenia określa wzór dokumentu potwierdzającego przeprowadzenie kontroli granicznej przesyłki pasz, jak również sposób jego wystawiania i wypełniania w celu dostosowania wzoru tego dokumentu oraz sposobu jego wystawiania i wypełniania do wymogów obowiązujących w tym zakresie w pozostałych państwach Unii Europejskiej. Przedmiotowy dokument ma być wystawiany jednostronicowo. Zgodnie z pkt 15 załącznika nr 2 do rozporządzenia odcisk pieczęci urzędowej powinien być w innym kolorze niż kolor wpisów w dokumencie. Dokonanie jakichkolwiek zmian w dokumencie powoduje jego unieważnienie.

Projekt rozporządzenia wdraża postanowienia dyrektywy Komisji Nr 98/68/WE z dnia 10 września 1998 r. ustanawiającej dokument wzorcowy określony w art. 9 ust. 1 dyrektywy Rady 95/53/WE i niektóre reguły kontroli przy wprowadzaniu do Wspólnoty pasz z państw trzecich.

Rozporządzenie nie podlega notyfikacji na podstawie rozporządzenia Rady Ministrów z dnia 23 grudnia 2002 r. w sprawie sposobu funkcjonowania krajowego systemu notyfikacji norm i aktów prawnych (Dz. U. Nr 239, poz. 2039 oraz z 2004 r. Nr 65, poz. 597).

OCENA SKUTKÓW REGULACJI

1. Podmioty, na które będzie oddziaływał akt normatywny Rozporządzenie dotyczy przedsiębiorców wytwarzających środki żywienia zwierząt oraz przedsiębiorców prowadzących działalność w zakresie obrotu tymi środkami.

2. Wpływ aktu normatywnego na sektor finansów publicznych, w tym budżet państwa i budżety jednostek samorządu terytorialnego

Wejście w życie w/w rozporządzenia nie wpłynie na sektor finansów publicznych, w tym budżet państwa i budżety jednostek samorządu terytorialnego.

3. Wpływ aktu normatywnego na rynek pracy

Wejście w życie rozporządzenia nie wpłynie na rynek pracy.

4. Wpływ aktu normatywnego na konkurencyjność gospodarki i przedsiębiorczość, w tym na funkcjonowanie przedsiębiorstw

Wejście w życie przepisów rozporządzenia spowoduje, że podmioty będą mogły wprowadzać do obrotu pasze o odpowiedniej jakości co w konsekwencji wpłynie na jakość produktów spożywczych.

5. Wpływ aktu normatywnego na sytuację i rozwój regionów

Rozporządzenie nie będzie miało wpływu na sytuację i rozwój regionów.

6. Konsultacje społeczne

W ramach prowadzonych konsultacji projekt zostanie przesłany do: Federacji Związków Producentów Rolnych, Izby Gospodarczej Handlowców, Przetwórców Zbóż i Producentów Pasz, Krajowej Izby Producentów Drobiu i Pasz, Krajowej Rady Drobiarstwa – Izby Gospodarczej, Krajowej Rady Izb Rolniczych, Krajowego Związku Rolników, Kółek i Organizacji Rolniczych, Niezależnego Samorządnego Związku Zawodowego Rolników Indywidualnych „Solidarność”, Niezależnego Samorządnego Związku Zawodowego „Solidarność”, Polskiego Związku Producentów Pasz, Związku Zawodowego Rolnictwa „Samoobrona” Związku Zawodowego Rolników Ojczyzna,

Rady Gospodarki Żywnościowej, Krajowej Izby Lekarsko – Weterynaryjnej, „Polkarma” Polskiego Stowarzyszenia Producentów Karmy dla Zwierząt Domowych, Polskiego Związku Hodowców i Producentów Trzody Chlewnej „POLSUS”, Polskiej Federacji Hodowców Bydła i Producentów Mleka, Polskiego Związku Zrzeszeń Hodowców i Producentów Drobiu, Polskiego Związku Owczarskiego i Polskiego Związku Hodowców Koni.

**ROZPORZĄDZENIE
MINISTRA ROLNICTWA I ROZWOJU WSI ¹⁾**

z dnia 2006 r.

**w sprawie wykazu przejść granicznych, na których może być dokonywana
kontrola graniczna pasz i pasz leczniczych.**

Na podstawie art. 48 ust. 2 ustawy z dnia ... 2006 r. o paszach (Dz. U. Nr... , poz....) zarządza się, co następuje:

§ 1.

Ustala się wykaz przejść granicznych, na których może być dokonywana kontrola graniczna pasz i pasz leczniczych, w zależności od rodzaju paszy i pasz leczniczych, który jest określony w załączniku do rozporządzenia.

§ 2.

Traci moc rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 30 kwietnia 2004 r. w sprawie wykazu przejść granicznych, na których może być dokonywana kontrola graniczna środków żywienia zwierząt i pasz leczniczych (Dz. U. Nr 100, poz. 1021).

§ 3.

Rozporządzenie wchodzi w życie po upływie 14 dni od dnia ogłoszenia.

**MINISTER ROLNICTWA
I ROZWOJU WSI**

W porozumieniu:
Minister Spraw Wewnętrznych
i Administracji

¹⁾ Minister Rolnictwa i Rozwoju Wsi kieruje działem administracji rządowej – rolnictwo, na podstawie § 1 ust. 2 pkt 1 rozporządzenia Prezesa Rady Ministrów z dnia 31 października 2005 r. w sprawie szczegółowego zakresu działania Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi (Dz. U. Nr 220, poz. 1892).

Załącznik do rozporządzenia
 Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi
 z dnia 2006 r. (poz.)

Wykaz przejść granicznych, na których może być dokonywana kontrola graniczna pasz i pasz leczniczych, w zależności od rodzaju paszy i pasz leczniczych.

Lp	Nazwa przejścia granicznego	Rodzaj punktu granicznego ¹⁾	Rodzaj kontrolowanych pasz i pasz leczniczych
województwo lubelskie			
1.	Dorohusk	F	Pasze i pasze lecznicze niezawierające materiałów paszowych pochodzących z tkanek zwierząt, z wyłączeniem słomy i siana
2.	Terespol	F	Pasze i pasze lecznicze niezawierające materiałów paszowych pochodzących z tkanek zwierząt, z wyłączeniem słomy i siana
3.	Kukuryki	R	wszystkie pasze i pasze lecznicze
województwo mazowieckie			
4.	Warszawa – Okęcie	A	wszystkie pasze i pasze lecznicze
województwo podkarpackie			
5.	Korczowa	R	wszystkie pasze i pasze lecznicze
6.	Przemyśl	F	Pasze i pasze lecznicze niezawierające materiałów paszowych pochodzących z tkanek zwierząt, z wyłączeniem słomy i siana
województwo podlaskie			
7.	Kuźnica Białostocka	R	wszystkie pasze i pasze lecznicze
województwo pomorskie			
8.	Gdynia	P	wszystkie pasze i pasze lecznicze
9.	Gdańsk	P	Pasze i pasze lecznicze niezawierające materiałów paszowych pochodzących z tkanek zwierząt, z wyłączeniem słomy i siana
województwo warmińsko-mazurskie			
10.	Bezledy	R	wszystkie pasze i pasze lecznicze
województwo zachodniopomorskie			
11.	Szczecin	P	wszystkie pasze i pasze lecznicze
12.	Świnoujście	P	wszystkie pasze i pasze lecznicze
13.	Kołobrzeg	P	Pasze i pasze lecznicze niezawierające materiałów paszowych pochodzących z tkanek zwierząt, z wyłączeniem słomy i siana

¹⁾ Poszczególne litery w kolumnie oznaczają:

- A - punkt kontroli granicznej na lotnisku,
- F - punkt kontroli granicznej na przejściu kolejowym,
- P - punkt kontroli granicznej na przejściu morskim,
- R - punkt kontroli granicznej na przejściu drogowym.

UZASADNIENIE

Projekt rozporządzenia stanowi wykonanie upoważnienia zawartego w art. 48 ust. 2 ustawy z dnia ... 2006 r. o paszach (Dz. U. Nr ... , poz....).

Niniejszy projekt rozporządzenia był poprzedzony rozporządzeniem Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 30 kwietnia 2004 r. w sprawie wykazu przejść granicznych, na których może być dokonywana kontrola graniczna środków żywienia zwierząt i pasz leczniczych (Dz. U. Nr 100, poz. 1021). Do czasu wejścia w życie przedmiotowego rozporządzenia obowiązywać będą zachowane czasowo w mocy, przepisy wymienionego wyżej rozporządzenia z dnia 30 kwietnia 2004 r.

W załączniku do rozporządzenia określony został wykaz przejść granicznych na których może być dokonywana kontrola graniczna pasz oraz pasz leczniczych, w zależności od rodzaju paszy i pasz leczniczych. Wskazanie przejść granicznych na których może być dokonywana kontrola graniczna pasz jest zgodna z upoważnieniem zawartym w art. 17 rozporządzenia Rozporządzenie 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 regułami dotyczącymi zdrowia zwierząt i dobrostanu zwierząt (Dz. Urz. UE L 165 z 30.04.2004, str. 1) .

Rozporządzenie nie podlega notyfikacji w rozumieniu przepisów rozporządzenia Rady Ministrów z dnia 23 grudnia 2002 r. w sprawie sposobu funkcjonowania krajowego systemu notyfikacji norm i aktów prawnych (Dz. U. Nr 239, poz. 2039 oraz z 2004 r. Nr 65, poz. 597).

OCENA SKUTKÓW REGULACJI

1. Podmioty, na które będzie oddziaływał akt normatywny

Rozporządzenie będzie oddziaływać na podmioty prowadzące działalność w zakresie wytwarzania lub obrotu paszami.

2. Wpływ aktu normatywnego na sektor finansów publicznych, w tym budżet państwa i budżety jednostek samorządu terytorialnego

Wejście w życie w/w rozporządzenia nie wpłynie na sektor finansów publicznych, w tym budżet państwa i budżety jednostek samorządu terytorialnego.

3. Wpływ aktu normatywnego na rynek pracy

Wejście w życie rozporządzenia nie wpłynie na rynek pracy.

4. Wpływ aktu normatywnego na konkurencyjność gospodarki i przedsiębiorczość, w tym na funkcjonowanie przedsiębiorstw

Wejście w życie przepisów rozporządzenia spowoduje, że pasze wprowadzane do obrotu będą poddane kontroli granicznej w aspekcie ich zgodności z wymaganiami określonymi w przepisach prawa paszowego. Pasze takie nie będą stanowić żadnego zagrożenia dla zdrowia ludzi, zwierząt oraz dla środowiska.

5. Wpływ aktu normatywnego na sytuację i rozwój regionów

Rozporządzenie nie będzie miało wpływu na sytuację i rozwój regionów.

6. Konsultacje społeczne

W ramach prowadzonych konsultacji projekt zostanie przesłany do: Federacji Związków Producentów Rolnych, Izby Gospodarczej Handlowców, Przetwórców Zbóż i Producentów Pasz, Krajowej Izby Producentów Drobiu i Pasz, Krajowej Rady Drobiarstwa – Izby Gospodarczej, Krajowej Rady Izb Rolniczych, Krajowego Związku Rolników, Kółek i Organizacji Rolniczych, Niezależnego Samorządnego Związku Zawodowego Rolników Indywidualnych „Solidarność”, Niezależnego Samorządnego Związku Zawodowego „Solidarność”, Polskiego Związku Producentów Pasz, Związku Zawodowego Rolnictwa „Samoobrona” Związku Zawodowego Rolników Ojczyzna, Rady Gospodarki Żywnościowej, Krajowej Izby Lekarsko – Weterynaryjnej, „Polkarma” Polskiego Stowarzyszenia Producentów Karmy dla Zwierząt Domowych, Polskiego Związku Hodowców i Producentów Trzody Chlewnej „POLSUS”, Polskiej Federacji Hodowców Bydła i Producentów Mleka, Polskiego Związku Zrzeszeń Hodowców i Producentów Drobiu, Polskiego Związku Owczarskiego i Polskiego Związku Hodowców Koni.