



ΚΥΠΡΙΑΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΟΙΚΟΝΟΜΙΚΩΝ

Φακ.:4.2.23.1/B3
Τηλ.: 22601661
Φαξ: 22605009



ΤΜΗΜΑ ΤΕΛΩΝΕΙΩΝ
1440 ΛΕΥΚΩΣΙΑ

15 Φεβρουαρίου 2008

Εγκύλιος ΕΕ «Τ» (134)

Όλο το Τελωνειακό προσωπικό

**Τροποποίηση Επεξηγηματικών Σημειώσεων της ΣΟ
Παρασκευάσματα για τη διατροφή των ζώων - ΔΚ 2309**

— Σας αποστέλλεται η τροποποίηση των Επεξηγηματικών Σημειώσεων της Συνδυασμένης Ονοματολογίας (ΣΟ) που έχει δημοσιευτεί στην Επίσημη Εφημερίδα της Ευρωπαϊκής Ένωσης, στις Ανακοινώσεις, σειρά C-41 ημερομηνίας 15 Φεβρουαρίου 2008, για τη ΔΚ 2309.

Σημειώνεται ότι για τον προσδιορισμό της περιεκτικότητας σε άμυλο, εφαρμόζεται η πολωσιμετρική μέθοδος (αποκαλούμενη τροποποιημένη μέθοδος Ewers), η οποία περιγράφεται στο παράρτημα 1 της οδηγίας 72/199/EOK.

Πρόσθετα, για το προσδιορισμό της κατά βάρος περιεκτικότητας σε άμυλο των παρασκευασμάτων που χρησιμοποιούνται για τη διατροφή των ζώων, της κλάσης 2309, εφαρμόζεται η ενζυμική μέθοδος ανάλυσης, που καθορίζεται στο παράρτημα του κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 121/2008 της Επιτροπής, σε περίπτωση παρουσίας σε σημαντικές ποσότητες των πρώτων υλών που αναφέρονται.

Ο Κανονισμός (ΕΚ) αρ.121/2008 της Επιτροπής, αναφορικά με την μέθοδο ανάλυσης, επισυνάπτεται.

(Ε. Μυριάνθους)
για Διευθύντρια
Τμήματος Τελωνείων

ΕΜ/

Κοιν.: Γενικό Διευθυντή Υπουργείου Γεωργίας Φυσικών Πόρων και Περιβάλλοντος:
doagrg@da.moa.gov.cy

Επεξηγηματικές σημειώσεις της συνδυασμένης ονοματολογίας των Ευρωπαϊκών Κοινοτήτων

(2008/C 41/03)

Σύμφωνα με το άρθρο 9 παράγραφος 1 στοιχείο α) δεύτερη περίπτωση του κανονισμού (ΕΟΚ) αριθ. 2658/87 του Συμβουλίου, της 23ης Ιουλίου 1987, για τη διαφοροποιητική και στατιστική ονοματολογία και το κοινό διαφορολόγιο (¹), οι επεξηγηματικές σημειώσεις της συνδυασμένης ονοματολογίας των Ευρωπαϊκών Κοινοτήτων (²) τροποποιούνται ως εξής:

Στη σελίδα 101, το κείμενο για την κλάση 2309 αντικαθίσταται από τα ακόλουθα:

2309 Παρασκευάσματα των τύπων που χρησιμοποιούνται για τη διατροφή των ζώων

*Βλέπε σημείωση 1 του παρόντος κεφαλαίου.

Για τον προσδιορισμό της περιεκτικότητας σε άμυλο εφαρμόζεται η πολωσματική μέθοδος (αποκαλούμενη επίσης τροποποιημένη μέθοδος Ewers), η οποία περιγράφεται στο παράρτημα 1 σημείο 1 της οδηγίας 72/199/EOK της Επιτροπής (ΕΕ L 123 της 29.5.1972, σ. 6).

Η κατά βάρος περιεκτικότητα σε άμυλο των παρασκευασμάτων των τύπων που χρησιμοποιούνται για τη διατροφή των ζώων, κατά την έννοια της κλάσης 2309, προσδιορίζεται με την ενύμικη μέθοδο ανάλυσης που καθορίζεται στο παράρτημα του κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 121/2008 της Επιτροπής (ΕΕ L 37 της 12.2.2008, σ. 3) σε περίπτωση παρουσίας των ακόλουθων πρώτων υλών ζωοτροφών σε σημαντικές ποσότητες:

- α) προϊόντα (ζαχαρο)τεύτλων, όπως πολτός (ζαχαρο)τεύτλων, μελάσα (ζαχαρο)τεύτλων, μελασμένος πολτός (ζαχαρο)τεύτλων, βινάσα (ζαχαρο)τεύτλων, ζάχαρη από ζαχαρότευτλα.
- β) πολτός εσπεριδοειδών.
- γ) λιναρόσπορος: πλακούντες έκθλιψης λιναρόσπορου: πλακούντες εκχυλισμένου λιναρόσπορου.
- δ) σπόροι κράμβης: πλακούντες έκθλιψης κραμβόσπορων: πλακούντες εκχυλισμένων κραμβόσπορων: φλοιοί κραμβόσπορων.
- ε) σπέρματα ηλιοτροπίου: πλακούντες εκχυλισμένων σπερμάτων ηλιοτροπίου: πλακούντες εκχυλισμένων μερικώς αποφλοιωμένων σπερμάτων ηλιοτροπίου.
- στ) πλακούντες έκθλιψης φοινικοκαρυάς: πλακούντες εκχυλισμένης φοινικοκαρυάς.
- ζ) πολτός πατάτας.
- η) αφυδατωμένη μαγιά.
- θ) προϊόντα πλούσια σε τουλίνη (π.χ. τεμάχια και σιμιγδάλια κολοκασίου).
- ι) υπολείμματα ζωικού λίπους.

Σε περίπτωση που δεν είναι προφανής η παρουσία αμύλου σε παρασκεύασμα του τύπου που χρησιμοποιείται για τη διατροφή των ζώων, κατά την έννοια της κλάσης 2309, μπορεί να χρησιμοποιηθεί ποιοτική μικροσκοπική μέθοδος για την επαλήθευση της παρουσίας αυτής.

Όσον αφορά την έννοια του όρου γαλακτοκομικά προϊόντα, βλέπε τη συμπληρωματική σημείωση 4 του παρόντος κεφαλαίου. Η περιεκτικότητα σε γαλακτοκομικά προϊόντα και η περιεκτικότητα σε άμυλο υπολογίζονται στο προϊόν ως έχει.»

(¹) ΕΕ L 256 της 7.9.1987, σ. 1. Κανονισμός όπως τροποποιήθηκε τελευταία με τον κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 1352/2007 (ΕΕ L 303 της 21.11.2007, σ. 3).

(²) ΕΕ C 50 της 28.2.2006, σ. 1.

ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΣ (ΕΚ) αριθ. 121/2008 ΤΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ

της 11ης Φεβρουαρίου 2008

σχετικά με τον καδορισμό της μεδόδου ανάλυσης για τον προσδιορισμό της περιεκτικότητας σε άμυλο στα παρασκευάσματα των τύπων που χρησιμοποιούνται για τη διατροφή των ζώων (καθικός ΣΟ 2309).

Η ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΤΩΝ ΕΥΡΩΠΑΪΚΩΝ ΚΟΙΝΟΤΗΤΩΝ,

ΕΞΕΔΩΣΕ ΤΟΝ ΠΑΡΟΝΤΑ ΚΑΝΟΝΙΣΜΟ:

Ἐχοντας υπόψη:

τη συνθήκη για την ίδρυση της Ευρωπαϊκής Κοινότητας,

τον κανονισμό (ΕΟΚ) αριθ. 2658/87 του Συμβουλίου, της 23ης Ιουλίου 1987, για τη δασμολογική και στατιστική ονοματολογία και το κοινό δασμολόγιο (1), και ιδίως το άρθρο 9 παράγραφος 1 στοιχείο α).

Εκτιμώντας τα ακόλουθα:

- (1) Για να διασφαλιστεί η ενιαία αντιμετώπιση κατά την εισαγωγή των παρασκευασμάτων των τύπων που χρησιμοποιούνται για τη διατροφή των ζώων (ΣΟ 2309), σε όλη την Κοινότητα, είναι αναγκαίο κατά τον καθορισμό των μεθόδων ανάλυσης να λαμβάνονται υπόψη οι επιστημονικές και τεχνολογικές εξελίξεις τους.

(2) Σύμφωνα με την τρίτη οδηγία 72/199/EOK της Επιτροπής, της 27ης Απριλίου 1972, περί καθορισμού κοινοτικών μεθόδων ανάλυσης για τον επίσημο έλεγχο των ζωτροφών⁽²⁾, για τον προσδιορισμό της περιεκτικότητας σε άμυλο στα παρασκευασμάτα των τύπων που χρησιμοποιούνται για τη διατροφή των ζώων, πρέπει να εφαρμόζεται η πολωσιετρική μεθόδος (αποκαλούμενη επίσης τροποποιημένη μεθόδος Ewers), η οποία περιγράφεται στο παράρτημα I σημείο 1 της εν λόγω οδηγίας.

(3) Λαμβάνοντας υπόψη τις μελέτες που εκπόνησαν οι εμπειρογνόμονες των τελωνειακών εργαστηρίων των κρατών μελών, είναι αναγκαίο να προβλεφθεί η εφαρμογή ενζυμικής μεθόδου ανάλυσης για τον προσδιορισμό της περιεκτικότητας των προαναφερθέντων παρασκευασμάτων σε άμυλο, σε περίπτωση που δεν είναι δυνατόν να εφαρμοστεί η πολωσιετρική μεθόδος που καθορίζεται στην οδηγία 72/199/EOK. Ως εκ τούτου, είναι οκόπιμο να περιγραφεί ο τρόπος εκτέλεσης της ανάλυσης με την εν λόγω ενζυμική μέθοδο.

(4) Τα μέτρα που προβλέπονται στον παρόντα κανονισμό είναι σύμφωνα με τη γνώμη του τμήματος δασμολογικής και στατιστικής ονομαστολογίας της Επιτροπής Τελωνειακού Κώδικα,

(1) ΕΕ L 256 της 7.9.1987, σ. 1. Κανονισμός όπως τροποποιήθηκε τελευταία με τον κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 1352/2007 της Επιτροπής (ΕΕ L 303 της 21.11.2007, σ. 3).

⁽²⁾ ΕΕ L 123 της 29.5.1972, σ. 6. Οδηγία όπως τροποποιήθηκε τελευταία με την οδηγία 1999/79/EK (ΕΕ L 209 της 7.8.1999, σ. 23).

'Αρρενοί

Κατά παρέκκλιση από το άρθρο 1 της οδηγίας 72/199/EOK, η κατά βάρος περιεκτικότητα σε άμυλο των παρασκευασμάτων των τύπων που χρησιμοποιούνται για τη διατροφή των ζώων, κατά την έννοια του κωδικού ΣΟ 2309, προσδιορίζεται με την ενζυμική μέθοδο ανάλυσης που καθορίζεται στο παράρτημα του παρόντος κανονισμού, σε περίπτωση παρουσίας των ακόλουθων πρώτων υλών ζωτροφών σε σημαντικές ποσότητες:

- α) προϊόντα (ζαχαρο)τεύτλων, όπως πολτός (ζαχαρο)τεύτλων, μελάσσα (ζαχαρο)τεύτλων, μελασωμένος πολτός (ζαχαρο)τεύτλων, βινάσσα (ζαχαρο)τεύτλων, ζάχαρη από ζαχαρότευτλα.

β) πολτός εσπεριδοειδών.

γ) λιναρόσπορος: πλακούντες έκθλιψης λιναρόσπορου· πλακούντες εκχυλισμένου λιναρόσπορου.

δ) σπόροι κραμβής: πλακούντες έκθλιψης κραμβόσπορων· πλακούντες εκχυλισμένων κραμβόσπορων· φλοιοί κραμβόσπορων.

ε) σπέρματα ηλιοτροπίου· πλακούντες εκχυλισμένων σπερμάτων ηλιοτροπίου· πλακούντες εκχυλισμένων μερικώς αποφλοιωμένων σπερμάτων ηλιοτροπίου.

στ) πλακούντες έκθλιψης φοινικοκαρυάς: πλακούντες εκχυλισμένης φοινικοκαρυάς.

ζ) πολτός πατάτας.

η) αφυδατωμένη μαγιά·

θ) προϊόντα πλούσια σε ινουλίνη (π.χ. τεμάχια και σιριγδάλια κολοκασίου).

ι) υπολειμματα ζωικού λίπους.

'Αρθρο 2

Ο παρών κανονισμός αρχίζει να ισχύει την εικοστή ημέρα από τη δημοσίευσή του στην Επίσημη Εφημερίδα της Ευρωπαϊκής Ένωσης.

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

Βρυξέλλες, 11 Φεβρουαρίου 2008.

Για την Επιτροπή
László KOVÁCS
Μέλος της Επιτροπής

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

ΕΝΖΥΜΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΜΕ ΥΓΡΗ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΥΨΗΛΗΣ ΠΙΕΣΗΣ (HPLC) ΤΗΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΣΕ ΑΜΥΛΟ ΣΤΑ ΠΑΡΑΣΚΕΥΑΣΜΑΤΑ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΟΥΝΤΑΙ ΣΤΗ ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΤΩΝ ΖΩΩΝ

1. Πεδίο εφαρμογής

Η παρούσα μέθοδος χρησιμοποιείται για τον ενζυμικό προσδιορισμό της περιεκτικότητας των ζωτροφών σε άμυλο. Η περιεκτικότητα σε άμυλο προκύπτει από τον ποσοτικό προσδιορισμό της γλυκόζης μετά από ενζυμική διάσπαση του περιεχομένου στο δείγμα αμύλου σε γλυκόζη. Θεωρείται ότι το σύνολο της μετρούμενης γλυκόζης προκύπτει από το άμυλο που περιέχεται στο δείγμα.

2. Ορισμοί

Με την παρούσα μέθοδο προσδιορίζεται η περιεκτικότητα σε άμυλο και σε μακρομοριακά προϊόντα διάσπασης των αμύλου, τα οποία είναι αδιάλυτα σε αιδανόλη 40 %. Η περιεκτικότητα σε άμυλο εκφράζεται σε ποσοστό % (η/η).

3. Αρχή της μεθόδου

Τα δείγματα αροιγενοποιούνται με άλεση. Εκπλύνονται με αιδανόλη 40 % για την απομάκρυνση των διαλυτών σικχώματων και των διαλυτών προϊόντων αποκοδόμησης του αμύλου.

Στο εναύρημα προστίθεται το ένζυμο θερμοσταθερή α-αμυλάση. Σε θερμοκρασία 100 °C το ένζυμο αυτό διασπά το άμυλο σε μικρότερες αλοιδίες, ανεξάρτητα από το εάν το άμυλο είναι πλήρως διαλυμένο ή όχι. Η διάσπαση μεγάλων σίγκων αμύλου είναι πολύ αργή. Ως εκ τούτου, τα δείγματα πρέπει να είναι πλήρως διαλυμένα ή να έχουν τη μορφή εναωρήματος με πολύ μικρά στερεά σωματίδια.

Στη συνέχεια προστίθεται το δεύτερο ένζυμο, η αμυλογλυκοσιδάση, η οποία στους 60 °C υδρολύει σε γλυκόζη τις αλυσιδές γλυκόζης που προέκυψαν από την προαναφερόμενη αποκοδόμηση του αμύλου.

Από το υγρό αυτό απομακρύνονται με διήμηση οι πρωτεΐνες, τα λίπη και τα υπολείμματα και λαμβάνεται διαπυκτικό διάλυμα δυνάμενο να χρησιμοποιηθεί για HPLC.

Τα περιεχόμενα σάκχαρα διασχιζόνται με HPLC.

4. Αντιδραστήρια και άλλα υλικά

Χρησιμοποιούνται αντιδραστήρια αναγνωρισμένης αναλυτικής καθαρότητας και απονοισμένο νερό.

4.1. Υδατικό διάλυμα αιδανόλης 40 % vol

4.2. Γλυκόζη, τουλάχιστον 99 %

4.3. Διάλυμα αμυλογλυκοσιδάσης (γλυκούδρολάση της 1,4-α-D-γλυκάνης) από Aspergillus niger (ενζυμική δραστικότητα > 5 000 U/ml). Φυλάσσεται σε θερμοκρασία 4 °C περίπου

Εναλλακτικά μπορεί να χρησιμοποιηθεί σκόνη αμυλογλυκοσιδάσης

4.4. Θερμοσταθερή α-αμυλάση (γλυκανούδρολάση της 1,4-α-D-γλυκάνης). Φυλάσσεται σε θερμοκρασία 4 °C περίπου

4.5. Ένυδρος οξειδόγλυκος, p.a.

4.6. Σιδηροκυανιούχο κάλιο (II) ($K_4[Fe(CN)_6] \cdot 3H_2O$), εξαιρετικής καθαρότητας

4.7. Άνυδρο οξικό νάτριο, p.a.

4.8. Παγόμορφο οξικό οξύ, 100 % (v/v)

4.9. Ρυθμιστικό διάλυμα οξικού νατρίου (0.2 mol/l)

Συγκονται 16,4 γραμμάρια οξικού νατρίου (4.7) σε ποτήρι ψεσεως. Διαλύνονται σε νερό και εκπλύνονται σε ογκομετρική φιάλη των 1 000 ml. Ακολουθεί αράιωση με νερό μέχρι τη χαραγή και ρυθμιση του pH σε 4,7 με οξικό οξύ [με τη βοήθεια πεχαμέτρου (5.11)]. Το διάλυμα αυτό μπορεί να χρησιμοποιηθεί έως 6 μήνες κατ'ανάτατο όριο μετά την παρασκευή του, διατηρούμενο σε θερμοκρασία 4 °C.

4.10. Διάλυμα αμυλογλυκοσιδάσης (ενζυμική δραστικότητα > 250 U/ml)

Παρασκευάζεται διάλυμα 5 ml διάλυματος αμυλογλυκοσιδάσης (4.3) ή 660 mg σκόνης αμυλογλυκοσιδάσης σε ρυθμιστικό διάλυμα οξικού νατρίου (4.9) μέχρι τελικού όγκου 100 ml. Το διάλυμα παρασκευάζεται αμέσως πριν από τη χρήση.

4.11. Διάλυμα αναφοράς

Παρασκευάζονται τα συνήθη υδατικά διαλύματα γλυκόζης που χρησιμοποιούνται για την ανάλυση με HPLC.

4.12. Διαιγαστικό αντιδραστήριο (Cartez I)

Σε ποτήρι ζέσεως διαλύνονται 219,5 γραμμάρια οξεικού ψευδαργύρου (4.5) σε νερό. Το διάλυμα και τα ύδατα έκτλυσης του ποτηριού μεταγγίζονται σε ογκομετρική φάλη των 1 000 ml και προστίθενται 30 ml οξεικού οξέος (4.8). Ακολουθεί πλήρης ανάμεικη και ο δύκος συμπληρώνεται με νερό μέχρι τη χαραγή. Το διάλυμα αυτό μπορεί να χρησιμοποιηθεί έως 6 μήνες κατ' ανώτατο όριο μετά την παρασκευή του, διατηρούμενο σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.

Είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθούν άλλα διαιγαστικά αντιδραστήρια, ανάλογα του διαλύματος Cartez.

4.13. Διαιγαστικό αντιδραστήριο (Cartez II)

Σε ποτήρι ζέσεως διαλύνονται 106,0 γραμμάρια σιδηρηκυανιούχου καλίου (II) (4.6) σε νερό. Το διάλυμα και τα ύδατα έκτλυσης του ποτηριού μεταγγίζονται σε ογκομετρική φάλη των 1 000 ml. Ακολουθεί πλήρης ανάμεικη και ο δύκος συμπληρώνεται με νερό μέχρι τη χαραγή. Το διάλυμα αυτό μπορεί να χρησιμοποιηθεί έως 6 μήνες κατ' ανώτατο όριο μετά την παρασκευή του, διατηρούμενο σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.

Είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθούν άλλα διαιγαστικά αντιδραστήρια, ανάλογα του διαλύματος Cartez.

4.14. Κινητή φάση

Παρασκευάζεται η συνήθης κινητή φάση που χρησιμοποιείται για την ανάλυση σακχάρων με HPLC. Σε περίπτωση που χρησιμοποιείται στήλη αμινοπροπολυκού διοξειδίου του πυριτίου, επί παραδείγματι, μια συνήθης κινητή φάση συνιστάται σε μείγμα καταλλήλου για HPLC νερού και ακετονιτρίλου.

5. Εξοπλισμός

5.1. Συνήθη εργαστηριακά γυάλινα σκεύη

5.2. Φυγόκεντρος των 1 000 g ή περισσότερων (υπολογιζόμενων στο κέντρο του σωλήνα)

5.3. Γυάλινοι δοκιμαστικοί σωλήνες φυγοκέντρησης των 100 ml

5.4. Μαγνητικός αναδευτήρας

5.5. Μαγνητικές ράβδοι

5.6. Πτυχωτοί ημοί, π.χ. 185 mm

5.7. Ήμοι σύριγγας, 0,45 μm, κατάλληλοι για υδατικά διαλύματα

5.8. Φιαλίδια δειγματοληψίας κατάλληλα για τον αυτόματο δειγματολήπτη HPLC

5.9. Ογκομετρικές φιάλες των 100 ml

5.10. Πλαστικές σύριγγες των 5 και 10 ml

5.11. Πεχάμετρο

5.12. Υδατόλοντρα με θερμοστάτη, ρυθμιζόμενο στους 60 °C και 100 °C

5.13. Θερμαντικές εστίες με μαγνητικούς αναδευτήρες

5.14. Συσκευή HPLC

5.14.1. Αντλία, χωρίς διακυμάνσεις πίεσης

5.14.2. Αυτόματος δειγματολήπτης

5.14.3. Στήλη και προστήλη, κατάλληλες για την ανάλυση σακχάρων

5.14.4. Κλίβανος στηλών με εύρος θερμοκρασίας μεταξύ θερμοκρασίας περιβάλλοντος και 40 °C

5.14.5. Ανιχνευτής, κατάλληλος για την ανάλυση σακχάρων, π.χ. ανιχνευτής δείκτη διαθλάσεως

5.14.6. Σύστημα ολοκλήρωσης

6. Τρόπος εργασίας

6.1. Γενικά

Τα δείγματα αναλύονται μεμονωμένα.

6.2. Προετοιμασία του δείγματος για διάφορους τύπους προϊόντων

Το προϊόν ομοιογενοποιείται με άλεση.

6.3. Ποσότητα δείγματος

Εκτιμάται η περιεκτικότητα σε άμυλο βάσει των δηλούμενων συστατικών. Για τον υπολογισμό της ποσότητας του δείγματος (το οποίο ζυγίζεται με ακρίβεια 0,1 mg) χρησιμοποιείται ο ακόλουθος τύπος:

$$\text{ποσότητα δείγματος (g)} = \frac{\text{όγκος σγκομετρικής φιάλης (100 ml)}}{\text{εκτιμώμενη περιεκτικότητα σε άμυλο (\%)}}$$

6.4. Τυφλός προσδιορισμός

Ο τυφλός προσδιορισμός συνίσταται στην εκτέλεση πλήρους ανάλυσης (όπως περιγράφεται στο σημείο 6.5), χωρίς την προσθήκη δείγματος. Το αποτέλεσμα του τυφλού προσδιορισμού χρησιμοποιείται για τον υπολογισμό της περιεκτικότητας σε άμυλο (7.1).

6.5. Ανάλυση

6.5.1. Προετοιμασία των δείγμάτων

Το δείγμα αναμειγνύεται με ανακίνηση ή ανάδευση. Η επιλεγείσα ποσότητα δείγματος (6.3) ζυγίζεται σε σωλήνα φυγοκέντρησης (5.3) και προστίθενται 50 ml αιδανόλης 40 % (4.1). Ακολουθήται ανάδευση σε μαγνητικό αναδευτήρα επί 20 λεπτά σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Χωρίς να αφαιρεθεί η μαγνητική ράβδος, ο σωλήνας φυγοκεντρείται επί πέντε λεπτά. Αναρροφάται με προσφορή και απομακρύνεται η υγρή φάση (π.χ. με σιφώνιο Pasteur). Αυτή η διαδικασία εκχύλισης επαναλαμβάνεται δύο φορές με 25 ml αιδανόλης (4.1) κάθε φορά. Το υπόλειμφα μεταφέρεται σε σγκομετρική φιάλη των 100 ml (5.9) με περίπου 70 ml νερού.

Μετά τη διάλυση ή το σχηματισμό ενασωρήματος, προστίθενται 100 μl θερμοσταθμερής α-αμυλάσης (4.4) και το σύναλο θερμαίνεται στους 100 °C επί 1 ώρα, π.χ. σε υδατόλουτρο (5.12). Στη συνέχεια, ψύχεται στους 60 °C σε υδατόλουτρο και προστίθενται 5 ml διαλύματος αμυλογλυκοσιδάσης (4.10). Η φιάλη τοποθετείται και πάλι σε υδατόλουτρο θερμοκρασίας 60 °C επί 30 λεπτά και κατόπιν αφήνεται να ψυχθεί σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Ακολουθήται διαλύση του δείγματος με την προσθήκη 1 ml διαλύματος Cartez I (4.12), ανακίνηση και προσθήκη 1 ml διαλύματος Cartez II (4.13). Τα διαλύματα Cartez I και II μπορούν να προστεθούν είτε πριν είτε μετά της ψύξης. Το διάλυμα οραιώνεται με νερό μέχρι τη χαραγή, ομοιογενοποιείται και διηγείται μέσω πτυχωτού ηδμου (5.6). Συλλέγεται το εκχύλισμα του δείγματος.

6.5.2. Κατεργασία των εκχυλισμάτων του δείγματος

Τα εκχυλισμάτα διηδύνονται μέσω διημητικού δίσκου (5.7) με σύριγγα (5.10) η οποία έχει εκπλυθεί προηγουμένως με το εκχύλισμα. Τα διημήματα συλλέγονται σε φιαλίδια (5.8).

Σημείωση: Ο διημητικός δίσκος είναι πολλαπλής χρήστεως, θα πρέπει δε να εκπλυνεται με το επόμενο εκχύλισμα, ώστε να αποτρέπεται η μόλυνση με το προηγούμενο εκχύλισμα.

6.6. Χρωματογραφία

Η HPLC εκτελείται όπως συνημίλεται για την ανάλυση των σακχάρων. Δεδομένου ότι τα δείγματα εκχυλίζονται με μείγμα αιδανόλης/νερού, το προς ανάλυση σακχάρο συνίσταται κυρίως σε γλυκόζη. Η ανίχνευση ιχνών μαλτόζης κατά την HPLC μπορεί να αποτελεί ένδειξη στελούντος του αμύλου.

7. Υπολογισμός και έκφραση των αποτελεσμάτων

7.1. Υπολογισμός των αποτελεσμάτων της HPLC

Υπολογίζεται η περιεκτικότητα σε γλυκόζη (%. m/m) με βάση τα αποτελέσματα της ανάλωσης με HPLC.

Το ενζυμικό διάλυμα αμυλογλυκοσιδάσης (4.3) σταθεροποιείται με γλυκόζη. Επίσης, η θερμοσταθμερή α-αμυλάση (4.4) σταθεροποιείται με σακχαρόζη, η οποία μπορεί να μετατραπεί εν μέρει σε γλυκόζη από την αμυλογλυκοσιδάση που δρα ως ψιθερτάση. Επομένως, η μετρούμενη συγκέντρωση της γλυκόζης (%. m/v) πρέπει να διορθωθεί για να ληφθεί υπόψη η συγκέντρωση της γλυκόζης (%. p/v) στο τυφλό δείγμα. Η διορθωμένη κατά τον τυφλό προσδιορισμό περιεκτικότητα σε γλυκόζη (%. p/v) υπολογίζεται από τη διορθωμένη συγκέντρωση της γλυκόζης, το βάρος του δείγματος και τη βαθμονόμηση με διαλύματα αναφοράς (4.11).

7.2. Υπολογισμός της περιεκτικότητας σε άμυλο

Η περιεκτικότητα σε άμυλο (%. m/m) υπολογίζεται από την περιεκτικότητα σε γλυκόζη (%. p/v) μετά τη διόρθωση κατά τον τυφλό προσδιορισμό.

$$\text{Περιεκτικότητα σε άμυλο} = 0,9 \cdot \text{διορθωμένη τιμή γλυκόζης}$$

8. Πιστότητα

8.1. Διεργαστηριακή δοκιμή

Στο σημείο 8.4 περιγράφεται συνοπτικά διεργαστηριακή δοκιμή για την πιστότητα της μεθόδου.

(m/m) σε περισσότερες από 5 % των περιπτώσεων. Το όριο επαναληψιμότητας προέκυψε από τα ενοποιημένα αποτελέσματα διεργαστηριακής δοκιμής (βλ. 8.4).

8.3. Αναπαραγωγμότητα

Η διαφορά σε απόλυτες τιμές μεταξύ των αποτελεσμάτων δύο μεμονωμένων δοκιμών που εκτελέστηκαν με την ίδια μέθοδο σε πανομοιότυπο ελεγχόμενο υλικό σε διαφορετικά εργαστήρια από διαφορετικούς τεχνικούς, οι οποίοι χρησιμοποιήθησαν διαφορετικό εξοπλισμό, δεν πρέπει να υπερβαίνει το όριο αναπαραγωγμότητας του 3,7 % (m/m) σε περισσότερες από 5 % των περιπτώσεων. Το όριο αναπαραγωγμότητας προέκυψε από τα ενοποιημένα αποτελέσματα διεργαστηριακής δοκιμής (βλ. 8.4).

8.4. Αποτελέσματα διεργαστηριακής δοκιμής

Το 2005 και 2006 διενεργήθηκε διεργαστηριακή δοκιμή στην οποία συμμετείχαν τα ευρωπαϊκά τελωνειακά εργαστήρια. Η δοκιμή αυτή εκτελέστηκε σύμφωνα με το πρότυπο ISO 5725 και το πρωτόκολλο IUPAC (W. Horwitz, Pure and Applied Chemistry, τόμος 67, 1995, σ. 331-343). Τα δεδομένα πιστότητας παρέχονται στον κατωτέρω πίνακα.

Στατιστικά αποτελέσματα της διεργαστηριακής μελέτης

	Διήγμα				
	1	2	3	4	5
Αριθμός εργαστηρίων μετά την αφαίρεση των ακραίων τιμών	25	26	26	25	24
Αριθμός αποδεικτών αποτελεσμάτων	50	52	52	50	48
Μέση περιεκτικότητα σε άμιλο (% m/m)	31,2	14,4	25,1	12,9	27,8
Τυπική απόκλιση σε συνδήκες επαναληψιμότητας s_t (% m/m)	0,4	0,3	0,6	0,2	0,3
Όριο επαναληψιμότητας t (% m/m)	1,1	0,8	1,7	0,7	0,9
Τυπική απόκλιση σε συνδήκες αναπαραγωγμότητας s_R (% m/m)	1,7	0,8	1,7	0,9	1,3
Όριο αναπαραγωγμότητας R (% m/m)	4,8	2,2	4,7	2,5	3,7

Δείγματα

- 1: έτηρή τροφή για σκύλους
- 2: έτηρή τροφή για γάτες
- 3: έτηρή τροφή για γάτες (δείγμα 2) με προσθήκη αμύλου
- 4: έτηρή τροφή για γάτες (δείγμα 2) με προσθήκη πολτού τεύτλων
- 5: τροφή γηπορίου για ζώα συντηρισμάτων