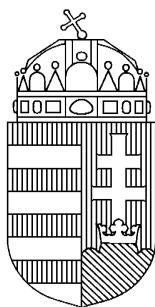


MAGYAR



KÖZLÖNY

A MAGYAR KÖZTÁRSASÁG HIVATALOS LAPJA

Budapest,

2004. február 27.,

péntek

21. szám II. kötet

Ára: 2254,- Ft

TARTALOMJEGYZÉK

20/2004. (II. 27.) FVM r.

A Magyar Takarmánykódex kötelező előírásairól szóló 44/2003. (IV. 26.) FVM rendelet módosításáról

II. rész JOGSZABÁLYOK

A Kormány tagjainak rendeletei

A földművelésügyi és vidékfejlesztési miniszter 20/2004. (II. 27.) FVM rendelete

a Magyar Takarmánykódex kötelező előírásairól szóló
44/2003. (IV. 26.) FVM rendelet módosításáról

A takarmányok előállításáról, forgalomba hozataláról és felhasználásáról szóló 2001. évi CXIX. törvény 18. §-ának *e)* és *n)* pontjaiban foglalt felhatalmazás alapján a következőket rendelem el:

1. §

A Magyar Takarmánykódex kötelező előírásairól szóló 44/2003. (IV. 26.) FVM rendelet (a továbbiakban: R.) 1. §-ának (2) bekezdése a következő *n)* ponttal egészül ki:

[(2) A Magyar Takarmánykódex (Codex Pabularis Hungaricus) I. kötetének kötelező előírásait e rendelet következő mellékleteiben adom ki:]

„*n)* az állatok fehérje ellátásának javítására használható egyes (bizonyos) termékekről és azok minősítésének elveiről szóló 14. számú melléklet.”

2. §

Ez a rendelet a Magyar Köztársaság és az Európai Községek és azok tagállamai között társulás létesítéséről szóló, Brüsszelben 1991. december 16-án aláírt Európai Megállapodás tárgykörében, a Megállapodást kihirdető 1994. évi I. törvény 3. §-ával összhangban az Európai Községek következő jogszabályaival összeegyeztethető szabályozást tartalmaz:

1. a Tanács 70/524/EGK irányelve a takarmány-adalékanyagokról, valamint az azt módosító, a Tanács 84/587/EGK, 96/51/EK irányelve,

2. a Bizottság 71/250/EGK irányelve a takarmányok hatósági ellenőrzésére szolgáló közösségi analitikai módszerek meghatározásáról,

3. a Bizottság 72/199/EGK harmadik irányelve a takarmányok hatósági ellenőrzésére szolgáló közösségi analitikai módszerek meghatározásáról,

4. a Bizottság 78/633/EGK nyolcadik irányelve a takarmányok hatósági ellenőrzésére szolgáló közösségi analitikai módszerek meghatározásáról,

5. a Bizottság 81/715/EGK kilencedik irányelve a takarmányok hatósági ellenőrzésére szolgáló közösségi analitikai módszerek meghatározásáról,

6. a Tanács 83/228/EGK irányelve a fehérje ellátásban alkalmazott bizonyos termékek értékelésére vonatkozó iránymutatások meghatározásáról,

7. a Bizottság 84/4/EGK irányelve a takarmányok hatósági ellenőrzésére szolgáló közösségi analitikai módszerek meghatározásáról szóló 71/393/EGK, 72/199/EGK és 78/633/EGK irányelvek módosításáról,

8. a Bizottság 84/425/EGK tizedik irányelve a takarmányok hatósági ellenőrzésére szolgáló közösségi analitikai módszerek meghatározásáról,

9. a Tanács 87/153/EGK irányelve a takarmányokban lévő adalékanyagok értékelésére vonatkozó iránymutatások meghatározásáról, valamint az azt módosító, a Bizottság 94/40EK, 95/11/EK irányelve,

10. a Bizottság 93/117/EK tizenkettedik irányelve a takarmányok hatósági ellenőrzésére szolgáló közösségi analitikai módszerek meghatározásáról,

11. a Tanács 2001/102/EK irányelve a takarmányban előforduló nemkívánatos anyagokról és termékekről szóló 1999/29/EK irányelv módosításáról,

12. a Bizottság 2002/1/EK irányelve a 94/39/EK irányelvnek a krónikus májelégtelenség esetén a májműködést segítő takarmányozás tekintetében történő módosításáról,

13. az Európai Parlament és a Tanács 2002/32/EK irányelve a takarmányban előforduló nemkívánatos anyagokról, valamint az azt módosító, a Bizottság 2003/100/EK irányelve,

14. a Bizottság 2002/70/EK irányelve a takarmányok dioxin- és dioxinjellegű PCB-tartalmának meghatározására vonatkozó követelmények megállapításáról,

15. a Bizottság 256/2002/EK rendelete új takarmány-adalékanyagok ideiglenes engedélyezéséről, egy takarmány-adalékanyag ideiglenes engedélyének meghosszabbításáról és egy takarmány-adalékanyag végleges engedélyezéséről,

16. a Bizottság 1041/2002/EK rendelete egy új takarmány-adalékanyag ideiglenes engedélyezéséről,

17. a Bizottság 1252/2002/EK rendelete egy új takarmány-adalékanyag ideiglenes engedélyezéséről,

18. az Európai Parlament és a Tanács 1774/2002/EK rendelete a nem emberi fogyasztásra szánt állati melléktermékekre vonatkozó egészségügyi előírások megállapításáról,

19. a Bizottság 1876/2002/EK rendelete egy takarmány-adalékanyag új alkalmazásának ideiglenes engedélyezéséről,

20. a Bizottság 2188/2002/EK rendelete takarmány-adalékanyagok új alkalmazásainak ideiglenes engedélyezéséről,

21. a Bizottság 2003/7/EK irányelve a takarmányokban a kantaxanthin engedélyezési feltételeinek módosításáról, a 70/524/EGK tanácsi irányelvvel összhangban,

22. a Bizottság 2003/104/EK irányelve a metionin-hidroxanalóg izopropil észterének engedélyezéséről,

23. a Bizottság 162/2003/EK rendelete egy takarmány-adalékanyag engedélyezéséről,

24. a Bizottság 261/2003/EK rendelete takarmány-adalékanyagok új használatának ideiglenes engedélyezéséről,

25. a Bizottság 316/2003/EK rendelete takarmány-adalékanyag állandó engedélyezéséről, és engedélyezett takarmány-adalékanyag új használatának ideiglenes engedélyezéséről,

26. a Bizottság 666/2003/EK rendelete egyes mikroorganizmusok takarmányokban való használatának ideiglenes engedélyezéséről,

27. a Bizottság 668/2003/EK rendelete takarmány-adalékanyag állandó engedélyezéséről,

28. a Bizottság 871/2003/EK rendelete a takarmányokban a mangano-mangán-oxid új adalékanyag állandó engedélyezéséről,

29. a Bizottság 877/2003/EK rendelete a benzol-sav savasság szabályozó használatának ideiglenes engedélyezéséről,

30. a Bizottság 1334/2003/EK rendelete a nyomelemek csoportjába tartozó számos takarmány-adalékanyag engedélyezési feltételeinek módosításáról.

3. §

(1) Az R. 1., 2., 4., 5., 6., 10., 11. és 13. számú melléklete e rendelet 1. számú melléklete szerint módosul.

(2) Az R. e rendelet 2. számú melléklete szerinti 14. számú melléklettel egészül ki.

4. §

(1) E rendelet — a (2) bekezdésben foglaltak kivételével — a kihirdetését követő tizenötödik napon lép hatályba, egyidejűleg az R. 4. számú melléklete II. fejezete 6.1. pontja harmadik sorában az „E 161g H Kantaxantin” alpont sor és az R. 4. számú melléklete II. fejezetének 16. Az állatok fehérje ellátásának javítására használható egyes termékekről szóló alfejezete hatályát veszti.

(2) Az 1. számú melléklet III. fejezetének 13. pontja, valamint az R. e rendelet 2. számú mellékletével megállapított 14. számú mellékletének I. fejezete a Magyar Köztársaságnak az Európai Unióhoz történő csatlakozásáról szóló nemzetközi szerződést kihirdető törvény hatálybalépésének napján lép hatályba.

(3) Az R. 2. számú mellékletének II. táblázata a Magyar Köztársaságnak az Európai Unióhoz történő csatlakozásáról szóló nemzetközi szerződést kihirdető törvény hatálybalépésének napján hatályát veszti.

(4) Az R. e rendelet 1. számú melléklete II. fejezetével és III. fejezetének 1—12. pontjával módosított előírásainak nem megfelelő termékek 2004. április 30-ig forgalmazhatóak.

Dr. Németh Imre s. k.,
földművelésügyi és vidékfejlesztési
miniszter

1. számú melléklet
a 20/2004. (II. 27.) FVM rendelethez

I. Az R. 1. számú mellékletének módosítása

1. Az R. 1. számú mellékletének III. fejezete *a*) pontjának harmadik franciabekezdése helyébe a következő rendelkezés lép:

[*a*) *nyersfehérje* esetében:]

„— 10% vagy annál kevesebb feltüntetett tartalom esetén 1 abszolút%; (A)”

2. Az R. 1. számú mellékletének III. fejezete *b*) pontjának első franciabekezdése helyébe a következő rendelkezés lép:

[*b*) *összcukor, redukáló cukrok, szacharóz, laktóz és glükóz (dextróz)* esetében:]

„— 20% vagy annál több feltüntetett tartalom esetén 2 abszolút%, (A)”

3. Az R. 1. számú mellékletének III. fejezete *b*) pontjának harmadik franciabekezdése helyébe a következő rendelkezés lép:

[*b*) *összcukor, redukáló cukrok, szacharóz, laktóz és glükóz (dextróz)* esetében:]

„— 5% vagy annál kevesebb feltüntetett tartalom esetén 0,5 abszolút%; (A)”

4. Az R. 1. számú mellékletének III. fejezete *c*) pontjának harmadik franciabekezdése helyébe a következő rendelkezés lép:

[*c*) *keményítő és inulin* esetében:]

„— 10% vagy annál kevesebb feltüntetett tartalom esetén 1 abszolút%; (A)”

5. Az R. 1. számú mellékletének III. fejezete *d*) pontjának harmadik franciabekezdése helyébe a következő rendelkezés lép:

[*d*) *olajok és nyerszsírok* esetében:]

„— 5% vagy annál kevesebb feltüntetett tartalom esetén 0,9 abszolút%; (A)”

6. Az R. 1. számú mellékletének III. fejezete *e*) pontjának harmadik franciabekezdése helyébe a következő rendelkezés lép:

[*e*) *nyersrost* esetében:]

„— 6% vagy annál kevesebb feltüntetett tartalom esetén 0,6 abszolút%; (A)”

7. Az R. 1. számú mellékletének III. fejezete *f*) pontjának harmadik franciabekezdése helyébe a következő rendelkezés lép:

[*f*) *nedvesség és nyers hamu* esetében:]

„— 5% vagy annál kevesebb feltüntetett tartalom esetén 0,5 abszolút%; (A)”

8. Az R. 1. számú mellékletének III. fejezete *g*) pontja helyébe a következő rendelkezés lép:

„*g*) *összfoszfor, nátrium, kalcium-karbonát, kalcium, magnézium, savszám és könnyű petroléterben oldhatatlan anyag* esetében:

— 15% vagy több feltüntetett tartalom, illetve 15 vagy több érték esetén 1,5 abszolút%, (A)

— 15%-nál, illetve 15-nél kevesebb, de 2%-nál, illetve 2-nél több feltüntetett tartalom, illetve érték esetén a feltüntetett tartalom (érték) 10%-a, (R)

— 2% vagy annál kevesebb feltüntetett tartalom, illetve 2 vagy annál kevesebb érték esetén 0,2 abszolút%; (A)”

II. Az R. 2. számú mellékletének módosítása

Az R. 2. számú mellékletének „Megjegyzések és meghatározások” része és I. fejezete helyébe a következő rendelkezések lépnek:

„*Megjegyzések és meghatározások:*

Az I., II. és III. táblázatban felsorolt értékek 12%-os nedvességtartalomra vonatkoznak.

A III. táblázat értékei közvetlen felhasználásra vonatkoznak.

n.sz.: nincs szabályozva

I.

Nemkívánatos anyagok, vegyületek	Takarmányozásra szánt termékek	Maximális megengedett mennyiség mg/kg-ban (ppm) (12%-os nedvességtartalom mellett)
A. Anyagok (ionok vagy elemek)		
1. Arzén ¹	<i>a)</i> Takarmány-alapanyagok, kivéve: — fűből, szárított lucernából és szárított lóheréből készült liszt, szárított cukorgyári répaszelet és melaszos készítményei — pálmamag pogácsa — foszfátok és mésztartalmú tengeri algák — kalcium-karbonát — magnézium-oxid — hal, vagy más tengeri állatok feldolgozásából nyert takarmány — tengeri alga liszt és tengeri algából nyert takarmány <i>b)</i> Teljes értékű takarmányok, kivéve: — teljes értékű hal és prémes állat takarmány <i>c)</i> Kiegészítő takarmányok, kivéve: — ásványi takarmányok	2 4 4 ² 10 15 20 15 ² 40 ² 2 6 ² 4 12 10 40 15 20 5 5 10 15
2. Ólom	<i>a)</i> Takarmány-alapanyagok, kivéve: — zöldtakarmány — foszfátok és mésztartalmú tengeri algák — kalcium-karbonát — élesztők <i>b)</i> Teljes értékű takarmányok <i>c)</i> Kiegészítő takarmányok, kivéve: — ásványi takarmányok	10 40 15 20 5 5 10 15
3. Fluor	<i>a)</i> Takarmány-alapanyagok, kivéve: — állati eredetű takarmányok, a tengeri rákfélék (úgy mint tengeri krill) kivételével — foszfátok és tengeri rákfélék, úgy mint tengeri krill — kalcium-karbonát — magnézium-oxid — mésztartalmú tengeri algák	150 500 2000 350 600 1000

Nemkívánatos anyagok, vegyületek	Takarmányozásra szánt termékek	Maximális megengedett mennyiség mg/kg-ban (ppm) (12%-os nedvességtartalom mellett)
4. Higany	b) Teljes értékű takarmányok, kivéve:	150
	— teljes értékű szarvasmarha-, juh- és kecske-takarmány	
	1. laktáció alatt	30
	2. egyéb	50
	— teljes értékű sertés-takarmány	100
	— teljes értékű baromfi-takarmány	350
	— teljes értékű csirke- és jérce-takarmány	250
	c) Szarvasmarha, juh és kecske ásványi takarmányok	2000 ³
	d) Egyéb kiegészítő takarmány	125 ⁴
	a) Takarmány-alapanyagok, kivéve:	0,1
5. Nitritek (nátrium-nitritben kifejezve)	— hal és tengeri állatok feldolgozásával előállított takarmányok	0,5
	b) Teljes értékű takarmány, kivéve:	0,1
	— kutyának és macskának szánt teljes értékű takarmány	0,4
	c) Kiegészítő takarmány, kivéve:	0,2
	— kutyának és macskának szánt kiegészítő takarmány	n.sz.
	a) Halliszt	60
	b) Teljes értékű takarmányok, kivéve:	15
	— kedvtelésből tartott állatoknak szánt takarmány, kivéve a madarakat és akváriumi halakat	n.sz.
	a) Növényi eredetű takarmány-alapanyagok	1
	b) Állati eredetű takarmány- alapanyagok, kivéve:	2
6. Kadmium	— a kedvtelésből tartott állatok takarmányaiban felhasznált takarmányok	n.sz.
	c) Foszfátok	10 ⁵
	d) Teljes értékű takarmányok kérődzőknek, kivéve:	1
	— teljes értékű takarmányok borjaknak, bárányoknak, gidáknak	n.sz.
	e) Teljes értékű takarmányok egyéb állatoknak, kivéve:	0,5
	— kedvtelésből tartott állatok takarmányai	n.sz.

Nemkívánatos anyagok, vegyületek	Takarmányozásra szánt termékek	Maximális megengedett mennyiség mg/kg-ban (ppm) (12%-os nedvességtartalom mellett)
	f) Ásványi takarmányok	5 ⁶
	g) Egyéb kiegészítő takarmányok kérődző állatfajoknak	0,5
B. Anyagok		
7. Aflatoxin B1	a) Összes takarmány-alapanyag	0,02
	b) Teljes értékű szarvasmarha-, juh- és kecske-takarmány, kivéve:	0,02
	— tejhasznosítású állatok teljes értékű takarmánya	0,005
	— teljes értékű borjú- és bárány-takarmány	0,01
	c) Teljes értékű sertés- és baromfi-takarmány (növéndékek kivételével)	0,02
	d) Egyéb teljes értékű takarmány	0,01
	e) Szarvasmarha, juh és kecske kiegészítő takarmány (kivéve tejhasznosítású állatok, borjak és bárányok kiegészítő takarmányait)	0,02
	f) Sertés és baromfi kiegészítő takarmányok (növéndékek kivételével)	0,02
	g) Egyéb kiegészítő takarmányok	0,005
8. Hidrogén-cianid (kéksav)	a) Takarmány-alapanyagok, kivéve:	50
	— lenmag	250
	— lenmag feldolgozott termékei	350
	— manioka és mandula, valamint feldolgozott termékei	100
	b) Teljes értékű takarmányok, kivéve:	50
	— csirkének és jércének szánt teljes értékű takarmány	10
9. Szabad gosszipol	a) Takarmány-alapanyagok, kivéve:	20
	— gyapotmag	5000
	— kiperéselt gyapotmag pogácsa és gyapotmag liszt	1200
	b) Teljes értékű takarmányok, kivéve:	20
	— teljes értékű szarvasmarha-, juh- és kecske-takarmányok	500
	— teljes értékű baromfi- (tojók kivételével) és borjú-takarmányok	100
	— teljes értékű nyúl- és sertés-takarmányok (malacok kivételével)	60

Nemkívánatos anyagok, vegyületek	Takarmányozásra szánt termékek	Maximális megengedett mennyiség mg/kg-ban (ppm) (12%-os nedvességtartalom mellett)
10. Teobromin	Teljes értékű takarmányok, kivéve:	300
	— teljes értékű felnőtt szarvasmarha-takarmány	700
11. Mustár-illóolaj (allil-izo-tiocionatban kifejezve) (ITC)	a) Takarmány-alapanyag, kivéve:	100
	— repcemag és feldolgozott termékei	4000
	b) Teljes értékű takarmányok, kivéve:	150
	— teljes értékű takarmány kifejlett kérődzőknak (kivéve a nöwendék állatot)	1000
	— teljes értékű takarmány sertés (kivéve malacokat) és baromfi részére	500
12. Vinil-tio-oxazolidon (VTO)	Baromfi teljes értékű takarmányok kivéve:	1000
	— tojóknak szánt teljes értékű takarmányok	500
13. Anyarozs (<i>Claviceps purpurea</i>)	Darálatlan szemestermények	1000
14. Gyommagvak és termések, amelyek alkaloidákat, glikozidokat vagy más toxikus anyagokat tartalmaznak külön-külön vagy az alábbiakat magába foglaló kombinációban:	Minden takarmány	3000
a) <i>Lolium temulentum</i> L. (szédítő vadóc, konkolyperje)		1000
b) <i>Lolium remotum</i> (len vadóc) Schrank		1000
c) <i>Datura stramonium</i> L. (csattanó maszlag)		1000
15. Ricinus — <i>Ricinus communis</i> L. (maghéjban kifejezve)	Minden takarmány-alapanyag	10
16. <i>Crotalaria</i> spp.	Minden takarmány-alapanyag	100
17. Aldrin	Minden takarmány-alapanyag kivéve:	0,01
egyedül vagy együttesen dieldrinben kifejezve	— zsírok (állati és növényi)	0,2
18. Dieldrin		
19. Camphechlor (Toxafen)	Minden takarmány	0,1
20. Klordan (cisz- és transzizomerek és oxiklordan együtt, klordanban kifejezve)	Minden takarmány, kivéve:	0,02
	— zsírok (állati és növényi)	0,05
21. DDT (DDT, TDE, DDE izomerek összege DDT-ben kifejezve)	Minden takarmány, kivéve:	0,05
	— zsírok (állati és növényi)	0,5

Nemkívánatos anyagok, vegyületek	Takarmányozásra szánt termékek	Maximális megengedett mennyiség mg/kg-ban (ppm) (12%-os nedvességtartalom mellett)
22. Endoszulfán (α és β izomerek és endoszulfán-szulfát összege endoszulfátban kifejezve)	Az összes takarmány kivéve: — kukorica és annak feldolgozásából nyert termékek — olajos magvak és azok feldolgozásából nyert termékek — teljes értékű hal-takarmányok	0,1 0,2 0,5 0,005
23. Endrin (endrin és delta-keto-endrin összege endrinben kifejezve)	Minden takarmány, kivéve: — zsírok (állati és növényi)	0,01 0,05
24. Heptaklór (a heptaklór és a heptaklór-epoxid összege heptaklórban kifejezve)	Minden takarmány, kivéve: — zsírok (állati és növényi)	0,01 0,2
25. Hexaklór-benzol (HCB)	Minden takarmány, kivéve: — zsírok (állati és növényi)	0,01 0,2
26. Hexaklór-ciklohexán (HCH)		
26.1. alfa-izomerek	Minden takarmány, kivéve: — zsírok (állati és növényi)	0,02 0,2
26.2. béta izomerek	a) Teljes értékű takarmány, kivéve: — takarmány tejelő szarvasmarháknak b) Takarmány- alapanyagok, kivéve — zsírok (állati és növényi)	0,01 0,005 0,01 0,1
26.3. gamma-izomer	Minden takarmány, kivéve: — zsírok (állati és növényi)	0,2 2,0
27. Dioxin (a polychlorinált dibenzo-pardioxinok (PCDD-k) és polychlorinált dibenzo-furan-ok (PCDF-ek) összege a Világegészségügyi Szervezet (WHO) toxikus egyenértékében kifejezve, felhasználva a WHO — TEF-et (toxikus egyenérték faktor, 1997)	Minden növényi eredetű takarmány-alapanyag, beleértve a zöltség olajokat és a járulékos termékeket Ásványok Engedélyezett kötő, csomósodást gátló és pergetést elősegítő csoportba tartozó ásványi eredetű klinoptilolit, kaolin-agyag, kalcium-szulfát-hidrát, vermikulit, nátrólit-fonolit, szintetikus-kalcium-aluminátok Állati zsír, beleértve a tejszírt és tojás zsírt Más szárazföldi állat termékek, beleértve a tejet és tejtermékeket, a tojást és tojástermékeket	0,75 ng WHO-PCDD/F-TEQ/kg ⁷ 1,0 ng WHO-PCDD/F-TEQ/kg ⁷ 0,75 ng WHO-PCDD/F-TEQ/kg ⁷ 2,0 ng WHO-PCDD/F-TEQ/kg ⁷ 0,75 ng WHO-PCDD/F-TEQ/kg ⁷

Nemkívánatos anyagok, vegyületek	Takarmányozásra szánt termékek	Maximális megengedett mennyiség mg/kg-ban (ppm) (12%-os nedvességtartalom mellett)
	Halolaj	6 ng WHO-PCDD/F-TEQ/kg ⁷
	Hal, más vízi állatok, azok termékei és járulékos termékei, kivéve a halolajat és a 20%-nál több zsírt tartalmazó hidrolizált halfehérjét ⁸	1,25 ng WHO-PCDD/F-TEQ/kg ⁷
	Takarmánykeverékek, kivéve a prémes állatok takarmányait, a kedvtelésből tartott állatok és halak takarmányait	0,75 ng WHO-PCDD/F-TEQ/kg ⁷
	Halak és kedvtelésből tartott állatok takarmányai	2,25 ng WHO-PCDD/F-TEQ/kg ⁷
	20%-nál több zsírt tartalmazó hidrolizált halfehérje	2,25 ng WHO-PCDD/F-TEQ/kg ⁷

Anyagok, vegyületek	Takarmányok	Maximális megengedett mennyiség mg/kg-ban
C. Botanikai szennyezések 28. Kajsziparack — <i>Prunus armeniaca</i> L. 29. Keserű mandula — <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. Közönséges bükk — <i>Fagus silvatica</i> (L.) 31. Sárgarepce — <i>Camelina sativa</i> (L.) Crantz 32. Indiai mandukafa <i>Bassia longifolia</i> L. = <i>Illipe malabrorum</i> Engl.) <i>Madhuca indica</i> Gmelin [= <i>Bassia latifolia</i> (Roxb). = <i>Illipe latifolia</i> (Roscb.) F. Mueller) 33. <i>Jatropha curcas</i> L. (nincs magyar neve) 34. <i>Croton tiglium</i> L. (nincs magyar neve) 35. Indiai mustár — <i>Brassica juncea</i> (L.) Czern. és Coss. ssp. <i>integrifolia</i> (West.) Thell. 36. Szareptai mustár — <i>Brassica juncea</i> (L.) Czern. és Coss. ssp. <i>juncea</i> 37. Kínai mustár — <i>Brassica juncea</i> (L.) Czern. és Coss. ssp. <i>juncea</i> var. <i>lutea</i> Batalin 38. Fekete mustár — <i>Brassica nigra</i> (L.) Koch 39. Etiópiai mustár — <i>Brassica carinata</i> A. Braun	Minden takarmány	A felsorolt növények magvai és termései, illetve feldolgozott származékai a takarmányokban csak nyomokban lehetnek jelen

Lábjegyzet

¹ A maximális szintek az összes arzénra vonatkoznak.

² A megyei (fővárosi) állategészségügyi és élelmiszer-ellenőrző állomás kérésére a takarmány-előállító üzemnek laboratóriumi vizsgálattal kell megállapítania azt, hogy a takarmány szervesen arzén tartalma alacsonyabb 2 mg/kg-nál. Ez az elemzés rendkívül fontos a Hizikai fusiforme tengeri alga fajokra.

³ P%-onként 125 mg F.

⁴ Fluortartalom/1% foszfor.

⁵ 1% foszforra eső kadmiumtartalom maximális értéke 0,5 mg.

⁶ 1% foszforra eső kadmiumtartalom maximális értéke 0,75 mg.

⁷ Felső határ koncentrációk: a felső határ koncentrációk kiszámítása azt feltételezi, hogy a különböző rokon vegyületek minden értéke kevesebb vagy egyenlő a meghatározási korláttal.

⁸ A közvetlenül szállított friss hal, mely közbülső feldolgozás nélkül takarmánnyként kerül felhasználásra a prémes állatok részére, kivételt képez a maximum szintek alól. 4,0 ng WHO-PCDD/F-TEQ/kg megengedett a kedvtelésből tartott állatok, állatkerti és cirkuszi állatok közvetlen etetésére szánt friss halaknál. Ezen állatokból (prémes állatok, kedvtelésből tartott állatok, állatkerti és cirkuszi állatok) készült termékek, állati proteinek nem kerülhetnek be a táplálékláncba és azok táplálékként történő felhasználása tilos az élelmiszer-termelő állatoknál.”

III. Az R. 4. számú mellékletének módosítása

1. Az R. 4. számú melléklete II. fejezete „6. Színezőanyagok, beleértve a pigmenteket” alfejezete a „12 Asztaxantinban gazdag Phaffia rhodozyma (ATCC 74219)” pontját követően a következő rendelkezésekkel egészül ki:

EK szám	Adalékanyag	Kémiai leírás, név	Állatfaj vagy kategória	Maximum életkor	Minimum hatóanyag tartalom teljes értékű takarmány mg/kg-on- ként	Maximum hatóanyag tartalom teljes értékű takarmány mg/kg-on- ként	Egyéb rendelkezések	Az engedély lejárati ideje
E 161g	Kantaxanthin	C ₄₀ H ₅₂ O ₂	baromfiak, kivéve a tojó- tyúkot	—	—	25	A kantaxanthin más karotinoidokkal és a xantofillel adott keveréke megengedhető, feltéve, hogy a keverék összes koncentrációja a teljesértékű takarmányban a 80 mg/kg-ot nem haladja meg.	Időkorlátozás nélkül
			tojótyúkok	—	—	8	A kantaxanthin más karotinoidokkal és a xantofillel adott keveréke megengedhető, feltéve, hogy a keverék összes koncentrációja a teljesértékű takarmányban a 80 mg/kg-ot nem haladja meg.	Időkorlátozás nélkül
			pisztráng és lazac	—	—	25	Alkalmazása hat hónapos kortól megengedett. A kantaxanthin xantofillel adott keveréke megengedhető, feltéve, hogy a keverék összes koncentrációja a teljesértékű takarmányban a 100 mg/kg-ot nem haladja meg.	Időkorlátozás nélkül
			kutyák, macskák és díszhalak	—	—	—	—	Időkorlátozás nélkül
	A közösségi rendeletek alapján engedélyezett élelmiszer színezőanyagok, a Patent-kék V-t (E 131), a Brilliant-sav zöld BS-t (Lisszamin zöld) (E 142) és a kantaxanthint kivéve	—	minden állatfaj vagy állat kategória, a kutyák és a macskák kivételével	—	—	—	Csak az alábbiak feldolgozása során nyert takarmányokban megengedett: a) élelmiszer-hulladékok, vagy b) más alapanyagok, kivéve a gabona magvakat és a manióka lisztet, ezekkel a szerekkel denaturálva, vagy a technikai előkészítés alatt színezve a gyártás során szükséges azonosíthatóság biztosítására.	Időkorlátozás nélkül
			kutyák	—	—	—	—	Időkorlátozás nélkül
			macskák	—	—	—	—	Időkorlátozás nélkül

EK szám	Adalékanyag	Kémiai leírás, név	Állatfaj vagy kategória	Maximum életkor	Minimum hatóanyag tartalom teljes értékű takarmány mg/kg-on- ként	Maximum hatóanyag tartalom teljes értékű takarmány mg/kg-on- ként	Egyéb rendelkezések	Az engedély lejáratí ideje
	A közösségi rendeletek alapján engedélyezett kanta-xanthin, mint élelmiszer színezőanyag		minden állatfaj vagy állat kategória, a baromfiak, a lazac, a pisztráng, a kutyák és a macskák kivételével	—	—	—	Csak az alábbiak feldolgozása során nyert takarmányokban megengedett: <i>a)</i> élelmiszer-hulladékok, vagy <i>b)</i> más alapanyagok, kivéve a gabona magvakat és a manióka lisztet, ezekkel a szerekkel denaturálva, vagy a technikai előkészítés alatt színezve a gyártás során szükséges azonosíthatóság biztosítására.	Időkorlátozás nélkül
			kutyák	—	—	—	—	Időkorlátozás nélkül
			macskák	—	—	—	—	Időkorlátozás nélkül
			pisztráng, lazac, és baromfiak, kivéve a tojótyúkok	—	—	25	Csak az alábbiak feldolgozása során nyert takarmányokban megengedett: <i>a)</i> élelmiszer-hulladékok, vagy <i>b)</i> más alapanyagok, kivéve a gabona magvakat és a manióka lisztet, ezekkel a szerekkel denaturálva, vagy a technikai előkészítés alatt színezve a gyártás során szükséges azonosíthatóság biztosítására.	Időkorlátozás nélkül
			tojótyúkok	—	—	8	Csak az alábbiak feldolgozása során nyert takarmányokban megengedett: <i>a)</i> élelmiszer-hulladékok, vagy <i>b)</i> más alapanyagok, kivéve a gabona magvakat és a manióka lisztet, ezekkel a szerekkel denaturálva, vagy a technikai előkészítés alatt színezve a gyártás során szükséges azonosíthatóság biztosítására.	Időkorlátozás nélkül''

2. Az R. 4. számú melléklete II. fejezetének „7. Hozamfokozók” alfejezete helyébe a következő rendelkezés lép:

„7. Hozamfokozók

Az adalékanyag nyilvántartási száma	A forgalomba hozatalért felelős cég neve és nyilvántartási száma	Az adalékanyag neve (kereskedelmi elnevezés)	Összetétel, kémiai képlet, leírás	Állatfaj vagy kategória	Maximum életkor	Minimum	Maximum	Egyéb előírások	Az engedélyezési időtartam lejáratára
						adalékanyag tartalom teljes értékű takarmányokban (mg/kg)			
1.	BASF Aktiengesellschaft a DE RP 1 31401	Kálium-diformát (Formi TM LHS)	Adalékanyag összetétel: Kálium-diformát, szilárd állapotú: min. 98%, Szilikát: maximum 1.5%, Víz: maximum 0.5% Aktív hatóanyag: Kálium-diformát, szilárd KH(COOH) ₂ CAS szám: 2064205-1	malacok (választott)	2 hónap	6 000	18 000	—	2005. 06. 30.
				vágósertések	—	6 000	12 000	—	2005. 06. 30.’’

3. Az R. 4. számú melléklete II. fejezetének „9. Savasság szabályozók” alfejezete a következő rendelkezésekkel egészül ki:

„Az adalékanyag nyilvántartási száma	Az adalékanyag neve (kereskedelmi elnevezés)	Összetétel, kémiai képlet, leírás	Állatfaj vagy kategória	Maximum életkor	Minimum tartalom	Maximum tartalom	Egyéb előírások	Az engedélyezési időtartam lejáratára
					aktivitási egység (CFU)/teljes értékű takarmány kg-onként			
E 210	Benzol-sav	C ₇ H ₆ O ₂	vágósertések	—	5 000	10 000	—	2007. 05. 25.’’

4. Az R. 4. számú melléklete II. fejezetének „10. Nyomelemek” alfejezete helyébe a következő rendelkezés lép:

Adalékanyag			Alkalmazás		Maximális összes elem-tartalom takarmány-keverék mg/kg min. max.	Egyéb rendelkezések	
EK szám	Megnevezés	Kémiai név/leírás	Állatfajok vagy kategóriák	Állat kora max.		Várakozási idő	a) alkalmazási korlátozások b) takarmánytípusok c) használati utasítások, ajánlások d) előállítástól függő speciális tulajdonságok e) speciális alkalmazások
1	2	3	4	5	6	7	8
10. Nyomelemek							
E 2	Jód (J) mint	Ca(JO ₃) ₂ • 6H ₂ O Ca(JO ₃) ₂ KJ NaJ	lófélék halak egyéb állatfajok és kategóriák		4 20 10		
H	Kalcium-jodát, heptahidrát						
H	Kalcium-jodát, vízmentes						
H	Kálium-jodid						
H	Nátrium-jodid						
E 7	Molibdén (Mo) mint	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ • 4H ₂ O Na ₂ MoO ₄ • 2H ₂ O	minden		2,5		
	Ammonium-Molibdenát-4hidrát						
	Nátrium-molibdát						

Adalékanyag			Alkalmazás		Maximális összes elem- tartalom takar- mány-keverék mg/kg min. max.	Egyéb rendelkezések	
EK szám	Megnevezés	Kémiai név/leírás	Állatfajok vagy kategóriák	Állat kora max.		Várakozási idő	a) alkalmazási korlátozások b) takarmánytípusok c) használati utasítások, ajánlások d) előállítástól függő speciális tulajdonságok e) speciális alkalmazások
1	2	3	4	5	6	7	8
E 8 H	Szelén (Se) mint Nátrium-szelenát Nátrium-szelenit	Na ₂ SeO ₄ Na ₂ SeO ₃	minden		0,5		

EK szám	Elem	Az adalékanyag neve	Összetétel, kémiai képlet, leírás	Az adott elem megengedhető legnagyobb tartalma a teljes takarmányra vetítve (mg/kg), illetve napi bevitelének megenged- hető legnagyobb mennyisége (mg/nap)	Egyéb előírások	Az engedélyezési időtartam lejárata
E 1	Vas-Fe	Vas-karbonát	FeCO ₃	Juh: 500 mg/kg (össz) Kedvtelésből tartott állatok: 1250 mg/kg (össz) Malacok a választást megelőző 1 hetes korig: 250 mg/nap Egyéb állatfajok: 750 mg/kg (össz)	—	Időkorlátozás nélkül
		Vas-klorid-tetrahidrát	FeCl ₂ • 4H ₂ O			
		Vas-klorid-hexahidrát	FeCl ₃ • 6H ₂ O			
		Vas-citrát-hexahidrát	Fe ₃ (C ₆ H ₅ O ₇) ₂ • 6H ₂ O			
		Vas-fumarát	FeC ₄ H ₂ O ₄			
		Vas-laktát, trihidrát	Fe(C ₃ H ₅ O ₃) ₂ • 3H ₂ O			
		Vas-oxid	Fe ₂ O ₃			
		Vas-szulfát-monohidrát	FeSO ₄ H ₂ O			
		Aminósavak vas-kelát-hidrátja	Fe(x) _{1—3} nH ₂ O (x= bármely aminosav anionja, amelyet hidrolizált szója-fehérjé- ből nyertek) Molekulatömege nem haladhatja meg az 1500-t.			
E 3	Kobalt-Co	Kobalt-acetát-tetrahidrát	Co(CH ₃ COO) ₂ • 4H ₂ O	2 (össz)	—	Időkorlátozás nélkül
		Elemi-kobalt-karbonát-mono- hidrát	2CoCO ₃ • 3Co(OH) ₂ • H ₂ O			
		Kobalt-klorid-hexahidrát	CoCl ₂ • 6H ₂ O			
		Kobalt-szulfát-heptahidrát	CoSO ₄ • 7H ₂ O			
		Kobalt-szulfát-monohidrát	CoSO ₄ • H ₂ O			
		Kobalt-nitrát-hexahidrát	Co(NO ₃) ₂ • 6H ₂ O			

EK szám	Elem	Az adalékanyag neve	Összetétel, kémiai képlet, leírás	Az adott elem megengedhető legnagyobb tartalma a teljes takarmányra vetítve (mg/kg), illetve napi bevitelének megengedhető legnagyobb mennyisége (mg/nap)	Egyéb előírások	Az engedélyezési időtartam lejárata
E 4	Réz-Cu	Réz-acetát-monohidrát	$\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	Sertések: 1. 12 hetes korig: 170 (össz) 2. egyéb sertés: 25 (össz) Szarvasmarha: 1. a kérődzés beindulásáig: — tejpótlók: 15 (össz) — egyéb teljesértékű takarmány: 15 (össz) 2. egyéb szarvasmarha: 35 (össz) Juh: 15 (össz) Halak: 25 (össz) Páncélos testűek: 50 (össz) Egyéb fajok: 25 (össz)	A címkén, illetve a kísérő okmányon fel kell tüntetni: 1. Juhoknál, amennyiben a takarmány réztartalma meghaladja a 10 mg/kg-ot: „A takarmányban található rézmennyiség bizonyos juh fajtáknál mérgezést okozhat.” 2. Szarvasmarháknál a kérődzés beindulása után, amennyiben a réz mennyisége kevesebb, mint 20 mg/kg: „A takarmányban található rézmennyiség rézhiányt okozhat a szarvasmarhákban a magas molibdén vagy foszfortartalmú legelőkön történő legeltetés során.”	Időkorlátozás nélkül
		Elemi-réz-karbonát-monohidrát	$\text{CuCO}_3 \cdot \text{Cu}(\text{OH})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$			
		Réz-klorid-dihidrát	$\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$			
		Réz-metionit	$\text{Cu}(\text{C}_5\text{H}_{10}\text{NO}_2\text{S})_2$			
		Réz-oxid	CuO			
		Réz-szulfát-pentahidrát	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$			
		Rézkelátok-aminosav-hidrátja	$\text{Cu}(\text{x})_{1-3} \text{nH}_2\text{O}$ (x= bármely aminosav anionja, amelyet hidrolizált szójafehérjéből nyertek) Molekulatömege nem haladhatja meg az 1500-t			
		Réz-lizin-szulfát	$\text{Cu}(\text{C}_6\text{H}_{13}\text{N}_2\text{O}_2)_2 \cdot \text{SO}_4$			
E 5	Mangán-Mn	Mangán-karbonát	MnCO_3	Halak: 100 (össz) Egyéb állatfajok: 150 (össz)	—	Időkorlátozás nélkül
		Mangán-klorid-tetrahydrát	$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$			
		Mangán-hidrogénfoszfát-trihidrát	$\text{MnHPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$			
		Mangán-oxid	MnO			
		Mangano-oxid	Mn_2O_3			
		Mangán-szulfát-tetrahydrát	$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$			
		Mangán-szulfát-monohidrát	$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$			
		Aminosav-hidrátok-mangán-kelátja	$\text{Mn}(\text{x})_{1-3} \cdot \text{nH}_2\text{O}$ (x= bármely aminosav anionja, amelyet hidrolizált szója-fehérjéből nyertek) Molekulatömege nem haladhatja meg az 1500-t			
		Mangano-mangán-oxid	$\text{MnO Mn}_2\text{O}_3$			

EK szám	Elem	Az adalékanyag neve	Összetétel, kémiai képlet, leírás	Az adott elem megengedhető legnagyobb tartalma a teljes takarmányra vetítve (mg/kg), illetve napi bevitelének megengedhető legnagyobb mennyisége (mg/nap)	Egyéb előírások	Az engedélyezési időtartam lejárata
E 6	Cink-Zn	Cink-laktát-trihidrát	$\text{Zn}(\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	Kedvtelésből tartott állatok: 250 (össz) Halak: 200 (össz) Tejpótlók: 200 (össz) Egyéb állatfajok: 150 (össz)	—	Időkorlátozás nélkül
		Cink-acetát-dihidrát	$\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$			
		Cink-karbonát	ZnCO_3			
		Cink-klorid-monohidrát	$\text{ZnCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$			
		Cink-oxid	ZnO Maximum ólomtartalom: 600 mg/kg			
		Cink-szulfát-heptahidrát	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$			
		Cink-szulfát-monohidrát	$\text{ZnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$			
		Amonósavak-hidrátjának-cink-kelátja	$\text{Zn}(\text{x})_{1-3} \cdot \text{nH}_2\text{O}$ (x= bármely aminosav anionja, amelyet hidrolizált szója-fehérjéből nyertek) Molekulatömege nem haladhatja meg az 1500-t''			

5. Az R. 4. számú melléklete II. fejezete „13. Enzimek” alfejezetének 11. pontja a következő rendelkezéssel egészül ki:

EK szám	Adalékanyag megnevezése, kereskedelmi neve	Kémiai név, leírás	Állatfaj vagy kategória	Maximum életkor	Minimum aktivitási egység teljes értékű takar- mány kg-onként	Maximum aktivitási egység teljes értékű takar- mány kg-onként	Egyéb rendelkezések	Az engedély lejárati ideje
11	„Endo-1,4-béta-glükanáz EC 3.2.1.4 Endo-1,(3)4-béta-glükanáz EC 3.2.1.6 Endo-1,4-béta-xilanáz EC 3.2.1.8	A <i>Trichoderma longibrachiatum</i> (ATCC 74252) által termelt endo-1,4-béta-glükanáz, endo-1,(3)4-béta-glükanáz, endo-1,4-béta-xilanáz készítmények, amelyek minimum aktivitása: Endo-1,4-béta-glükanáz: 8 000 U ⁽¹⁾ /g vagy ml Endo-1,(3)4-béta-glükanáz: 18 000 U ⁽²⁾ /g vagy ml Endo-1,4-béta-xilanáz: 26 000 U ⁽³⁾ /g vagy ml (1)–(3) 1 U az az enzim mennyi- ség, amely 0,1 mikromol glükózt szabadít fel egy perc alatt 5,0 pH mellett 40 °C-on a (1) karboxi-metil-cellulózból (2) árpa-béta-glükánból (3) búza-xilánból	tojótyúk	—	Endo-1,4-bé- ta-glükanáz: 400 U Endo-1,(3)4- béta-glüka- náz: 900 U Endo-1,4-bé- ta-xilanáz: 1 300 U	— — —	1. A használati utasításban meg kell adni az adalékanyag és az előkeverék tárolási hő- mérsékletét, eltarthatóságát és pelletálási stabilitását. 2. Ajánlott dózis egy kilog- ramm teljesértékű takarmány- ban: Endo-1,4-béta-glükanáz: 400 U—1 280 U Endo-1,(3)4-béta-glükanáz: 900 U—2 880 U Endo-1,4-béta-xilanáz: 1 300 U—4 160 U 3. Nem keményítő tartalmú poliszaharidokban gazdag (főleg arabinoxilán és béta glükán), pl. több mint 40% búzát, tritikálét vagy árpát tar- talmazó takarmánykeverékben való alkalmazásra.	2007. 01. 01.

EK szám	Adalékanyag megnevezése, kereskedelmi neve	Kémiai név, leírás	Állatfaj vagy kategória	Maximum életkor	Minimum aktivitási egység teljes értékű takar- mány kg-onként	Maximum aktivitási egység teljes értékű takar- mány kg-onként	Egyéb rendelkezések	Az engedély lejáratási ideje
11 foly- tatása			malac	—	Endo-1,4-bé- ta-glükánáz: 400 U Endo-1,(3)4- béta-glüka- náz: 900 U Endo-1,4- béta-xilanáz: 1 300 U	— — —	1. A használati utasításban meg kell adni az adalékanyag és az előkeverék tárolási hőmérsékletét, eltarthatóságát és pelletálási stabilitását. 2. Ajánlott dózis egy kilogramm teljesértékű takarmányban: Endo-1,4-béta-glükánáz: 400 U—1 600 U Endo-1,(3)4-béta-glükánáz: 900 U—3 600 U Endo-1,4-béta-xilanáz: 1 300 U—5 200 U 3. Nem keményítő tartalmú poliszaharidokban gazdag (főleg arabinoxilán és béta glükán), pl. több mint 40% búzát, tritikálét, kukoricát vagy búzát és 20% rozst tartalmazó takarmánykeverékben való alkalmazásra.	2007. 01. 01.’’

6. Az R. 4. számú melléklete II. fejezetének „13. Enzimek” alfejezetének 24. pontja a következő rendelkezéssel egészül ki:

„EK szám	Adalékanyag megnevezése, kereskedelmi neve	Kémiai leírás, név	Állatfaj vagy kategória	Maximum életkor	Minimum aktivitási egység teljes értékű takar- mány kg-onként	Maximum aktivitási egység teljes értékű takar- mány kg-onként	Egyéb rendelkezések	Az engedély lejárati ideje
24	(folytatás)	Az <i>Aspergillus niger</i> (CNCM I—1517) által termelt endo-1,4-béta-xilanáz készítmény és endo-1,3(4)-béta-glükanáz készítmény, amelyek minimum aktivitása: Endo-1,4-béta-xilanáz: 28 000 QXU/g 1 QXU az az enzim mennyiség, amely 1 mikromol (xilóz ekvivalensként mért) oldható cukrot egy perc alatt 5,1 pH mellett 50 °C-on a búza-xilánból felszabadít. Endo-1,3(4)-béta-glükanáz: 140 000 QGU/g 1 QGU az az enzim mennyiség, amely 1 mikromol (glükóz ekvivalensként mért) oldható cukrot egy perc alatt 4,8 pH mellett 50 °C-on az árpa-béta-glükánból felszabadít.	tojótyúk	—	560 QXU	2800 QGU	1. A használati utasításban meg kell adni az adalékanyag és az előkeverék tárolási hőmérsékletét, eltarthatóságát és pelletálási stabilitását. 2. Ajánlott dózis egy kilogramm teljes értékű takarmányban: 560 QXU 2800 QGU 3. Nem keményítő tartalmú poliszaharidokban gazdag (főleg arabinoxilán és béta-glükán), pl. több mint 20% búzát és/vagy árpát tartalmazó takarmánykeverékben való alkalmazásra.	2006. 10. 01.

„EK szám	Adalékanyag megnevezése, kereskedelmi neve	Kémiai leírás, név	Állatfaj vagy kategória	Maximum életkor	Minimum aktivitási egység teljes értékű takar- mány kg-onként	Maximum aktivitási egység teljes értékű takar- mány kg-onként	Egyéb rendelkezések	Az engedély lejáratí ideje
24.	(folytatás)	Az <i>Aspergillus niger</i> (CNCM I—1517) által termelt endo-1,4-béta-xilanáz készítmény és endo-1,3(4)-béta-glukanáz készítmény, amely minimum aktivitása: 28 000 QXU/g 1 QXU az az enzim mennyiség, amely 1 mikromol (xilóz ekvivalensként mért) oldható cukrot egy perc alatt 5,1 pH mellett 50 °C-on a búza-xilánból felszabadít 140 000 QGU/g 1 OGU az az enzim mennyiség, amely 1 mikromol (glükóz ekvivalensként mért) oldható cukrot egy perc alatt 4,8 pH mellett 50 °C-on az árpa-béta-glükánból felszabadít.	brojlerpulyka	—	280 QXU 1400 QGU	840 QXU 4200 QGU	1. A használati utasításban meg kell adni az adalékanyag és az előkeverék tárolási hőmérsékletét, eltarthatóságát és pelletálási stabilitását. 2. Ajánlott adag egy kilogramm teljes értékű takarmányban: 560 QXU 2800 QGU 3. Nem keményítő tartalmú poliszaharidokban gazdag takarmánykeverékekben való alkalmazásra (főleg béta glukánok és arabinoszilánok), például több mint 20% búzát és/vagy árpát tartalmazó takarmánykeverékekben.	2007. 02. 28.’’

7. Az R. 4. számú melléklete II. fejezetének „13. Enzimek’’ alfejezetének 25. pontjában „Az engedély lejáratí ideje’’ oszlopban a „2004. 06. 30.’’ szövegrész helyébe az „időkorlátozás nélkül’’ szövegrész lép.

8. Az R. 4. számú melléklete II. fejezetének „13. Enzimek” alfejezetének 34. pontja a következő rendelkezéssel egészül ki:

„EK szám	Adalékanyag megnevezése, kereskedelmi neve	Kémiai leírás, név	Állatfaj vagy kategória	Maximum életkor	Minimum aktivitási egység teljes értékű takar- mány kg-onként	Maximum aktivitási egység teljes értékű takar- mány kg-onként	Egyéb rendelkezések	Az engedély lejárati ideje
1601	Endo-1,3(4)-béta-glükanáz EC 3.2.1.6 Endo-1,4-béta-xilanáz EC 3.2.1.8	Az <i>Aspergillus niger</i> (NRRL 25541) által termelt Endo-1,3(4)-béta-glükanáz és Endo-1,4-béta-xilanáz készítmény, amely minimum aktivitása: Endo-1,3(4)-béta-glükanáz 1100 U/g 1 U az az enzim mennyiség, amely 1 mikromol (glükóz ekvivalensként mért) oldható cukrot 1 perc alatt 30 °C-on, 4,0 pH mellett a zabbéta-glükánból felszabadít. Endo-1,4 béta-xilanáz: 1600 U/g 1 U az az enzim mennyiség, amely 1 mikromol (xilóz ekvivalensként mért) oldható cukrot 1 perc alatt 30 °C-on, 4,0 pH mellett a zab-xilánból felszabadít.	brojlercsirkék	—	Endo-1,3(4)- béta-glükanáz 138 U Endo-1,4-bé- ta-xilanáz 200 U	—	1. A használati utasításban meg kell adni az adalékanyag és az előkeverék tárolási hőmérsékletét, eltarthatóságát és pelletálási stabilitását. 2. Ajánlott adag egy kilogramm teljes értékű takarmányban: Endo-1,3(4)-béta-glükanáz: 138 U Endo-1,4-béta-xilanáz: 200 U 3. Nem keményítő tartalmú poliszaharidokban gazdag takarmánykeverékben való alkalmazásra (főleg béta glukánok és arabinoszilánok), például dietikus gabonamagvakat (például: búzát, árpát, rozsot, tritikálét) tartalmazó takarmánykeverékekben.	Időkorlátozás nélkül”

9. Az R. 4. számú melléklete II. fejezetének „13. Enzimek” alfejezetének 50. pontja a következő rendelkezéssel egészül ki:

„EK szám	Adalékanyag megnevezése, kereskedelmi neve	Kémiai leírás, név	Állatfaj vagy kategória	Maximum életkor	Minimum aktivitási egység teljes értékű takar- mány kg-onként	Maximum aktivitási egység teljes értékű takar- mány kg-onként	Egyéb rendelkezések	Az engedély lejáratási ideje
50.	(folytatás)		tenyészkocák	—	750 FYT	—	1. A használati utasításban meg kell adni az adalékanyag és az előkeverék tárolási hőmérsékletét, eltarthatóságát és pelletálási stabilitását. 2. Ajánlott adag egy kilogramm teljes értékű takarmányban: 750 — 1 000 FYT 3. Több mint 0,25% fitin-kötésű foszfort tartalmazó takarmánykeverékben való alkalmazásra.	2007. 02. 01.’’

10. Az R. 4. számú melléklete II. fejezetének „13. Enzimek” alfejezetének 51. pontja helyébe a következő rendelkezés lép:

EK szám	Adalékanyag megnevezése, kereskedelmi neve	Kémiai leírás, név	Állatfaj vagy kategória	Maximum életkor	Minimum aktivitási egység teljes értékű takar- mány kg-onként	Maximum aktivitási egység teljes értékű takar- mány kg-onként	Egyéb rendelkezések	Az engedély lejáratási ideje
51 H	Endo-1,4-béta-xilanáz EC 3.2.1.8 BELFEED	A Bacillus subtilis (LMG S—15136) által termelt endo-1,4-béta-xilanáz készítmény, amely minimum aktivitása: endo-1,4-béta-xilanáz: folyékony: 100 IU/ml 1 IU az az enzim mennyiség, amely 1 mikromol (xilóz ekvivalensként mért) oldható cukrot szabadít fel egy perc alatt 4,5 pH mellett 30 °C-on a nyírfa-xilánból.	brojler-csirke	—	10 IU	—	1. A használati utasításban meg kell adni az adalékanyag és az előkeverék tárolási hőmérsékletét, eltarthatóságát és pelletálási stabilitását. 2. Ajánlott dózis egy kilogramm teljes értékű takarmányban: 10 IU 3. Arabinoxilánban gazdag, pl. több mint 40% búzát vagy árpat tartalmazó takarmánykeverékben való alkalmazásra.	2007. 01. 01.

EK szám	Adalékanyag megnevezése, kereskedelmi neve	Kémiai leírás, név	Állatfaj vagy kategória	Maximum életkor	Minimum aktivitási egység teljes értékű takar- mány kg-onként	Maximum aktivitási egység teljes értékű takar- mány kg-onként	Egyéb rendelkezések	Az engedély lejáratási ideje
		A Bacillus subtilis (LMG S—15136) által termelt endo-1,4-béta-xilanáz készítmény, amely minimum aktivitása: endo-1,4-béta-xilanáz: szilárd és folyékony: 100 IU/g vagy ml 1 IU az az enzim mennyiség, amely 1 mikromol (xilóz ekvivalensként mért) oldható cukrot szabadít fel egy perc alatt 4,5 pH mellett 30 °C-on a nyírfa-xilánból.	brojler-pulyka	—	10 IU	—	1. A használati utasításban meg kell adni az adalékanyag és az előkeverék tárolási hőmérsékletét, eltarthatóságát és pelletálási stabilitását. 2. Ajánlott dózis egy kilogramm teljes értékű takarmányban: 10 IU 3. Arabinoxilánban gazdag, pl. több mint 40% búzát vagy árpát tartalmazó takarmánykeverékekben való alkalmazásra.	2007. 01. 01.
51.	Endo-1,4-béta-xilanáz EC 3.2.1.8	A Bacillus subtilis (LMG S—15136) által termelt endo-1,4-béta-xilanáz (EC 3.2.1.8) készítmény, amely minimum aktivitása Endo-1,4-béta-xilanáz: 100 IU/g 1 IU az az enzim mennyiség, amely 1 mikromol (xilóz ekvivalensként mért) redukáló cukrot egy perc alatt 4,5 pH mellett 30 °C-on a nyírfa-xilánból felszabadít.	vágó-sertések	—	10 IU	—	1. A használati utasításban meg kell adni az adalékanyag és az előkeverék tárolási hőmérsékletét, eltarthatóságát és pelletálási stabilitását. 2. Ajánlott adag egy kilogramm teljes értékű takarmányban: Endo-1,4-béta-xilanáz: 10 IU/kg 3. Arabinoxilánban gazdag takarmánykeverékekben való alkalmazásra, (például több mint 40% búzát vagy árpát tartalmazó takarmánykeverékekben).	2007. 01. 01.’’

11. Az R. 4. számú melléklete II. fejezetének „14. Mikroorganizmusok” alfejezete „3. *Saccharomyces cerevisiae* NCYC Sc 47” sorában a „tejelőtehenek” és „hízómarhák” rész helyébe a következő rendelkezések lépnek:

Állatfaj vagy kategória	Maximum életkor	Telepképző egység CFU teljes értékű takarmány kg-onként		Egyéb rendelkezések	Az engedély lejárati ideje]
		minimum tartalom	maximum tartalom		
„tejelőtehenek	—	4×10^8	2×10^9	A használati utasításban meg kell adni az adalékanyag és az előkeverék tárolási hőmérsékletét, eltarthatóságát és pelletálási stabilitását. A használati utasításban meg kell adni: A <i>Saccharomyces cerevisiae</i> napi adagja 100 kg élőtömegre számítva nem haladhatja meg a 4×10^8 CFU-t. Minden +100 kg élőtömegre 2×10^9 CFU-t kell számítani.	2005. 05. 31
hízómarhák	—	4×10^9	8×10^9	A használati utasításban meg kell adni az adalékanyag és az előkeverék tárolási hőmérsékletét, eltarthatóságát és pelletálási stabilitását. A használati utasításban meg kell adni: A <i>Saccharomyces cerevisiae</i> napi adagja 100 kg élőtömegre számítva nem haladhatja meg a 2×10^{10} CFU-t. Minden + 100 kg élőtömegre $0,5 \times 10^{10}$ CFU-t kell számítani.	Időkorlátozás nélkül”

12. Az R. 4. számú melléklete II. fejezetének „14. Mikroorganizmusok” alfejezete a következő ponttal egészül ki:

„EK szám	Adalékanyag megnevezése, kereskedelmi neve	Kémiai leírás, név	Állatfaj vagy kategória	Maximum életkor	Telepképző egység (CFU) teljes értékű takarmány kg-onként		Egyéb rendelkezések	Az engedély lejárati ideje
					minimum tartalom	maximum tartalom		
22.	Enterococcus faecium DSM 7134	Enterococcus faecium készítmény, amely minimum aktivitása:	malacok	—	$0,5 \times 10^9$	4×10^9	A használati utasításban meg kell adni az adalékanyag és az előkeverék tárolási hőmérsékletét, eltarthatóságát és pelletálási stabilitását.	2007. 04. 15.”
		porformában: 1×10^{10} aktivitási egység (CFU)/adalékanyag grammonként. granulált formában: (mikrokapszulázott) 1×10^{10} aktivitási egység (CFU)/adalékanyag grammonként.	vágósertések	—	$0,2 \times 10^9$	1×10^9		

13. Az R. 4. számú melléklete a következő III. fejezettel egészül ki:

„III. A takarmány-adalékanyagok engedélyezésének, nyilvántartásba vételének és minősítésének alapelvei

1. Alkalmazási kör

A takarmány-adalékanyagok engedélyezésére vonatkozó előírásokat nem kell alkalmazni:

a) a technológiai segédanyagokra, feltéve, hogy azok maradványai nem jelentenek egészségügyi kockázatot és nem befolyásolják a késztermék technológiai tulajdonságait. Azokat a takarmány-alapanyagokat és a takarmány előállítás során felhasznált anyagokat nevezzük technológiai segédanyagoknak, amelyeket a kezelés és előállítás alkalmával valamely meghatározott technológiai cél elérése érdekében használnak fel, továbbá amelyek maradványai vagy azok származékai az alkalmazott technológia — de nem kifejezetten erre irányuló előállítói szándék — következményeként elkerülhetetlenül jelennek meg a végtermékben;

b) azon anyagokra, amelyek természetes állapotukban vannak jelen a takarmányok szokásos összetételének részét képező takarmány-alapanyagokban.

2. A takarmány-adalékanyagok engedélyezésének általános szabályai

2.1. A takarmány-adalékanyagok felhasználásának céljait a 4. számú melléklet I. fejezete tartalmazza.

2.2. Takarmány-adalékanyagok engedélyezése szempontjából mikroorganizmusnak csak a telep-képező mikroorganizmusok minősülnek.

2.3. Azokat a takarmány-adalékanyagokat, amelyek engedélyezése a forgalomba hozatalért felelős személyhez kötődik, az 1. számú függelék A. Része tartalmazza.

2.4. Azokat a takarmány-adalékanyagokat, amelyek engedélyezése nem kötődik a forgalomba hozatalért felelős személyhez, az 1. számú függelék B. része tartalmazza.

2.5. Forgalomba hozatalért felelős személynek minősül az a természetes vagy jogi személy, illetve jogi személyiség nélküli gazdasági társaság, aki felelős azért, hogy a közösségi engedélyt kapott takarmány-adalékanyag megfeleljen az engedélyben foglaltaknak, és aki felelős annak forgalomba hozataláért.

3. A takarmány-adalékanyag közösségi engedélye

3.1. Takarmány-adalékanyagot előállítani — a külön jogszabályban foglalt kivétellel — és forgalomba hozni kizárólag közösségi engedéllyel szabad. Az engedélyt közösségi rendelet tartalmazza.

3.2. A közösségi engedély megadásához a takarmány-adalékanyagnak meg kell felelnie a következő feltételeknek:

a) a takarmányozásban használva a 4. számú melléklet I. fejezetében megadott hatások egyikét kifejti,

b) nem hat károsan az emberek, az állatok egészségére vagy a környezetre, továbbá nem rontja az állati termékek minőségét, figyelembe véve a felhasználás körülményeit,

c) jelenléte ellenőrizhető önmagában takarmány-adalékanyagként, előkeverékekben, takarmányokban vagy adott esetben takarmány-alapanyagokban,

d) az engedélyben megengedett szintje állati betegség kezelésére vagy megelőzésére nem alkalmazható; ez nem vonatkozik a kokcidiosztatikumokra és más gyógyszerekre,

e) az ember vagy az állat egészségének súlyos veszélyeztetése esetén használata nem korlátozható humán- vagy állatgyógyászati célokra.

4. A kérelem benyújtása

4.1. Ahhoz, hogy egy anyag vagy készítmény takarmány-adalékanyagként, vagy egy már engedélyezett takarmány-adalékanyag új felhasználásra közösségi engedélyt kapjon, az engedélyt kérelmezőnek ki kell választania valamely tagállamot, amely referensként működik a 2. számú függelék szerinti vizsgálati eljárásban. Ha a kérelmező székhelye az Európai Unióon kívüli országban van, akkor az Európai Unió valamely tagállamában képviselővel kell rendelkeznie.

4.2. Magyarországon a 4.1. pont szerinti referensi feladatokat a Tv. 11. §-a (1) bekezdésének i) pontja szerinti, az Országos Mezőgazdasági Minősítő Intézetnél (a továbbiakban: OMMI) működő nemzeti referens (a továbbiakban: nemzeti referens) látja el.

4.3. A nemzeti referens ellenőrzi, hogy

a) a dokumentáció összeállítása a 2. számú függelékben foglaltaknak megfelelően történt-e,

b) az anyag vagy készítmény az adott információk szerint megfelel-e a 3.2. pontban rögzített feltételeknek.

4.4. A közösségi engedélyt kérelmezőnek a referensként közreműködő tagállam részére kell megküldenie a kérelmet a dokumentációval együtt. Magyarországon a kérelmet a dokumentációval a nemzeti referensnek kell megküldeni magyar és angol nyelven. A nemzeti referens a kérelmet és a dokumentációt ezek benyújtásától számított egy éven belül továbbítja az Európai Bizottságnak — a takarmány-adalékanyagokról szóló, a Tanács 70/524/EGK irányelve (a továbbiakban: a Tanács 70/524/EGK irányelve) szerinti eljárás érdekében — és másolatban a többi tagállamnak, kivéve, ha azt a nemzeti referens véleménye alapján az OMMI elutasítja, vagy a továbbításra rendelkezésre álló időt — a továbbítást akadályozó ok megszűnéséig — meghosszabbítja. A nemzeti referensnek tájékoztatnia kell a kérelmezőt, a többi tagállamot és a Közösséget a dokumentáció elutasításának vagy a továbbításra rendelkezésre álló idő meghosszabbításának okairól.

4.5. A nemzeti referens az Európai Bizottság kérésére megküldi a dokumentációt vagy annak egy részét a Tanács 70/524/EGK irányelvének 8. cikke szerinti Takarmányozási Tudományos Bizottság tagjainak.

4.6. Amennyiben a kérelmet és a dokumentációt más tagállamban nyújtották be, a nemzeti referensnek kell

megküldeni a másolatot. A nemzeti referensnek haladéktalanul vissza kell igazolnia a dokumentáció megérkezését. A nemzeti referensnek a dokumentáció megérkezésétől számított hatvan napon belül ellenőriznie kell, hogy a dokumentációt a 2. számú függeléknek megfelelően állították-e össze, és ha szükséges, írásos véleményt kell küldenie az Európai Bizottságnak és a többi tagállamnak.

4.7. Amennyiben az Európai Bizottság arról értesíti a kérelmezőt és a nemzeti referenst, hogy a dokumentáció benyújtása nem az előírásoknak megfelelően történt, az új kérelmet fenti előírásoknak megfelelően kell benyújtani.

5. Díjfizetés

A takarmány-adalékanyagok dokumentációjának vizsgálatáért a külön jogszabály szerinti díjat kell fizetni a dokumentáció benyújtásakor az OMMI-nek, amennyiben a kérelmet és a dokumentációt nála nyújtották be.

6. A titoktartás

6.1. A nemzeti referensnek az üzleti és az üzemi titokra vonatkozó előírásokat be kell tartania.

6.2. A titoktartási kötelezettség nem terjed ki:

- a) a takarmány-adalékanyag nevére és összetételére,
- b) a takarmány-adalékanyag fizikai, kémiai és biológiai jellemzőire,
- c) a takarmány-adalékanyagra vonatkozó farmakológiai, toxikológiai és ökotoxikológiai adatok értelmezésére,
- d) a takarmány-adalékanyagok, illetve az előkeverékekben, takarmányokban és — ha szükséges — a takarmány-alapanyagokban található takarmány-adalékanyagok ellenőrző rendszerére szolgáló analitikai módszerekre,
- e) az állati termékekben előforduló takarmány-adalékanyagok vagy ezek metabolit maradványainak vizsgálati módszereire.

7. Géntechnológiával módosított szervezetből álló, vagy ilyen szervezetet tartalmazó takarmány-adalékanyag

Ha a takarmány-adalékanyag géntechnológiával módosított szervezetből áll, vagy ilyen szervezetet tartalmaz, akkor a külön jogszabály szerinti környezeti kockázatértékelést el kell végezni. Erre figyelemmel a dokumentációnak tartalmaznia kell:

a) géntechnológiával módosított szervezetek kutatási és fejlesztési célú kibocsátására vonatkozó engedély másolatát és a kibocsátás eredményét, az emberi egészséget és a környezetet érintő kockázatra figyelemmel,

b) a géntechnológiai tevékenységre vonatkozó nyilvántartás és adatszolgáltatás rendjéről, valamint a géntechnológiai tevékenységhez szükséges engedély iránti kérelemhez csatolandó dokumentációról szóló 82/2003. (VII. 16.) FVM rendelet 1. és 3. számú melléklete által előírt információkat tartalmazó teljes műszaki dokumentációt, és az ezekből az információkból származó környezeti kockázatértékelést, továbbá a kutatási vagy fejlesztési célból elvégzett vizsgálatok eredményeit.

8. A forgalomba hozatalért felelős személyhez kötött takarmány-adalékanyagok engedélyezése

8.1. 10 évre szóló engedély

A 2.3. pont szerinti, a 3.2. pontban meghatározott feltételeknek megfelelő takarmány-adalékanyagokat közösségi engedélyezésüket követően a 19. pont b) alpontja szerinti jegyzék I. fejezete tartalmazza.

8.2. Ideiglenes engedély

8.2.1. Új takarmány-adalékanyag felhasználására vagy már engedélyezett takarmány-adalékanyag új módon történő felhasználására a 2.3. pont szerinti takarmány-adalékanyag közösségi ideiglenes engedélyt akkor kaphat, ha a 3.2. pont b)—e) alpontjában foglalt feltételeknek megfelel, és feltételezhető, hogy a 3.2. pont a) alpontja szerinti követelményeknek is megfelel. Ezeket a takarmány-adalékanyagokat a 19. pont b) alpontja szerinti jegyzék II. fejezete tartalmazza.

8.2.2. Az ideiglenes engedély időtartama nem haladhatja meg a négy évet.

8.3. Az engedély megújítása

8.3.1. A 2.3. pont szerinti takarmány-adalékanyag közösségi engedélye 10 évig érvényes és 10 éves időszakokra megújítható. Megújítás esetében az engedély jogosultjának a referensként közreműködő tagállamon keresztül kell a Bizottság részére kérelmet benyújtania, a 2. számú függeléknek a takarmány-adalékanyagok engedélyezésének megújítására vonatkozó előírásainak megfelelő dokumentációval. A kérelmet és a dokumentációt legkésőbb az engedély lejáratási időpontja előtt egy évvel kell benyújtani a Bizottsághoz. Az engedély jogosultjának a megújítási kérelem egy másolatát a dokumentációval együtt továbbítani kell a referensként közreműködő tagállamon keresztül a többi tagállamnak.

8.3.2. Amennyiben a megújítási kérelmet és a dokumentációt más tagállamban nyújtották be, a nemzeti referensnek kell megküldeni a másolatot. A nemzeti referensnek haladéktalanul vissza kell igazolnia a dokumentáció megérkezését.

8.3.3. A 3., 4., 6. és a 7. pontban foglaltakat a megújítási kérelmekre megfelelően alkalmazni kell.

8.3.4. Ha az engedély jogosultján kívül álló okok miatt az engedély határidejének lejártá előtt a megújítási kérelem nem kerül elbírálásra, az engedély határideje a Tanács 70/524/EGK irányelvének 9b. cikke (3) bekezdése szerint kerül meghosszabbításra.

9. A benyújtott adatok védelme

9.1. A 2.3. pont szerinti takarmány-adalékanyagok esetében az első engedélyeztetés céljából benyújtott eredeti dokumentációban található tudományos adatok és egyéb információk 10 éven át nem használhatók más kérelmezők előnyére:

a) a 11.1., 11.2. és 11.3. pontban megadott takarmány-adalékanyagok esetében az első engedély közösségi rendelettel való hatálybalépésének napjától, vagy

b) egyéb takarmány-adalékanyagok esetében az első engedély közösségi rendelettel történő hatálybalépésének napjától vagy 1999. október 1-jétől számítva, ha az utóbbi hatálybalépési időpont korábbi, kivéve, ha a kérelmező megegyezett az engedély jogosultjával abban, hogy ezek az adatok és információk felhasználhatók.

9.2. A 9.1. pont szerinti időszak alatt a forgalomba hozatali engedély megadható a takarmány-adalékanyag első forgalomba hozataláért felelős személyen kívül másnak is, ha a 3.2. pont és a 4. pont feltételeinek megfelel.

9.3. Ha a 8.2. pontnak megfelelően ideiglenesen engedélyezett takarmány-adalékanyagot kiegészítő információval látják el annak érdekében, hogy a 3.2. pont értelmében a takarmány-adalékanyag megkapja az engedélyt, akkor ezt az információt az eredeti dokumentáció szerves részeként kell kezelni és védelmét az eredeti dokumentációban található információkkal azonos időszakra kell biztosítani.

9.4. A 9.1. pont szerinti 10 éves időszak lejártakor a dokumentációban található tudományos adatok és információk alapján végzett értékelés egészének vagy részeinek azon megállapításai, amelyek a takarmány-adalékanyag engedélyezéséhez vezettek, felhasználhatóak egy másik engedélyt kérelmező javára egy már korábban engedélyezett takarmány-adalékanyag forgalomba hozatala érdekében.

9.5. A 9.4. pont szerinti esetben az új kérelmezőnek a kérelmet a 2. számú függelék szerinti dokumentációval együtt kell benyújtania és elküldenie a referensként közreműködő tagállamon keresztül a Bizottságnak. A kérelem másolatát az új kérelmezőnek a dokumentációval együtt továbbítani kell a referensként közreműködő tagállamon keresztül a többi tagállamnak.

9.6. Amennyiben a megújítási kérelmet és a dokumentációt más tagállamban nyújtották be, a nemzeti referensnek kell megküldeni a másolatot. A nemzeti referensnek haladéktalanul vissza kell igazolnia a dokumentáció megérkezését.

9.7. A 3., 4., 6. és a 7. pontban foglaltakat megfelelően alkalmazni kell.

9.8. A 9.4. pontban foglaltak irányadóak a dokumentáció adatainak felhasználására olyan takarmány-adalékanyag esetében is, amelynek engedélyét az engedély jogosultjának kérésére visszavonták.

9.9. A takarmány-adalékanyag jegyzékre vétele feltételeinek módosításához vagy az engedély 8.3.1. pont szerinti megújításához szükséges kiegészítő tudományos adatokat és információkat, vagy bármely, az engedély érvényessége alatt szolgáltatott új tudományos adatot és információt nem lehet felhasználni másik kérelmező előnyére öt éven keresztül, attól a naptól kezdődően, hogy az új használati engedély hatályba lépett, a megújítás iránti kérelmet vagy az új tudományos adatokat vagy információkat benyújtották.

9.10. Ha a takarmány-adalékanyag jegyzékre vétele feltételeinek módosítására vonatkozó védelmi idő a 9.1. pont szerinti időszak vége előtt lejár, az ötéves időszakot ki kell

terjesztetni úgy, hogy mindkét védelmi idő egy időpontban járjon le.

9.11. A 2.3. pont szerinti takarmány-adalékanyag engedélyt kérelmezőnek a gerinceseken elvégzett toxikológiai vizsgálatok megkezdése előtt ellenőriznie kell, hogy a termékét vagy annak aktív hatóanyagát nem engedélyezték-e korábban. Szükség esetén az adott tagállam illetékes hatóságától kell információt kérnie, hogy a kérdéses termék vagy annak hatóanyaga azonos-e a már korábban engedélyezett.

9.12. Ha a kérdéses terméket vagy hatóanyagot korábban már engedélyezték, a kérelmezőnek és a korábbi engedélyek jogosultja(i)nak minden szükséges intézkedést meg kell tenniük annak érdekében, hogy megegyezésre jussanak az információk közös felhasználásában, és így ne legyen szükség a gerinceseken végzett toxikológiai vizsgálatok megismétlésére.

9.13. Ha ugyanazon termék kérelmezője és a korábbi engedélyek jogosultja(i) nem tudnak megegyezni az információk közös használatában, a nemzeti referens véleménye alapján az OMMI kötelezheti a kérelmezőt és az illetékeségi területén székhellyel rendelkező engedély jogosultját az információk megosztására, a gerinceseken elvégzett toxikológiai vizsgálatok megismétlésének elkerülése érdekében, és meghatározhatja az információk használatának a feltételeit az érintett felek érdekei közötti méltányos egyensúly biztosítása mellett.

10. Más takarmány-adalékanyagok engedélyezése

10.1. Határozatlan idejű engedély

10.1.1. A 2.4. pont szerinti, a 3.2. pontban meghatározott feltételeknek megfelelő takarmány-adalékanyagokat közösségi engedélyezésüket követően a 19. pont b) alpontja szerinti jegyzék III. fejezete tartalmazza.

10.1.2. A 2.4. pont szerinti, a Tanács 70/524/EGK irányelvének I. mellékletébe 1998. április 1. előtt felvett takarmány-adalékanyagok a 19. pont b) alpontja szerinti jegyzék III. fejezetébe kerülnek felvételre engedélyezésüket követően.

10.2. Ideiglenes engedély

10.2.1. Új takarmány-adalékanyag felhasználására vagy már engedélyezett takarmány-adalékanyag új módon történő felhasználására a 2.4. pont szerinti takarmány-adalékanyag közösségi ideiglenes engedélyt akkor kaphat, ha a 3.2. pont b)—e) alpontjában foglalt feltételeknek megfelel, és feltételezhető, hogy a 3.2. pont a) alpontja szerinti követelményeknek is megfelel. Ezeket a takarmány-adalékanyagokat a 19. pont b) alpontja szerinti jegyzék IV. fejezete tartalmazza.

10.2.2. Az ideiglenes engedély időtartama nem haladhatja meg a négy évet.

10.2.3. A 2.3. pont szerinti, a Tanács 70/524/EGK irányelvének II. mellékletébe 1998. április 1. előtt felvett takarmány-adalékanyagok nemzeti ideiglenes engedélyezés alá tartoznak; ezeket a takarmány-adalékanyagokat a 19. pont b) alpontja szerinti jegyzék IV. fejezete tartalmazza. Az

ideiglenes engedély időtartama nem haladhatja meg az öt évet, figyelembe véve a Tanács 70/524/EGK irányelvének II. mellékletébe kerülés időtartamát.

11. A forgalomba hozatalért felelős személyhez kötött takarmány-adalékanyagok engedélyezésére vonatkozó átmeneti intézkedések

11.1. Az 1988. január 1. előtt a Tanács 70/524/EGK irányelvének I. mellékletébe felvett, a 2.4. pont szerinti takarmány-adalékanyagok ideiglenes engedélyezésére a Tanács 70/524/EGK irányelvének 9g cikke irányadó.

11.2. Az 1987. december 31. után a Tanács 70/524/EGK irányelvének I. mellékletébe felvett, a 2.3. pont szerinti takarmány-adalékanyagok ideiglenes engedélyezésére a Tanács 70/524/EGK irányelvének 9h cikke irányadó.

11.3. Az 1998. április 1. előtt a Tanács 70/524/EGK irányelvének II. mellékletébe felvett, a 2.3. pont szerinti takarmány-adalékanyagok ideiglenes engedélyezésére a Tanács 70/524/EGK irányelvének 9i cikke irányadó.

12. Takarmány-adalékanyagok forgalmazása és felhasználása

12.1. A takarmány-adalékanyagokat az engedélyező közösségi rendeletben előírt feltételekkel kell a takarmányba keverni. A takarmány-adalékanyagok — az „antibiotikumok”, „kokcidiosztatikumok és egyéb gyógyszerek” csoportjába tartozó takarmány-adalékanyagok, valamint a hozamfokozók csoportján kívül — a bekeverésen kívül az engedélyező közösségi rendeletben előírt más módszerrel is felhasználhatók.

12.2. Takarmány-adalékanyag akkor adható a takarmány-alapanyagokhoz és a közvetlenül etethető takarmányokhoz, ha az engedélyező közösségi rendelet azt lehetővé teszi.

13. Nyilvántartás

13.1. A 2.3. pont szerinti, engedélyezett takarmány-adalékanyag közösségi nyilvántartási számot, a forgalomba hozataláért felelős személy(ek) pedig nyilvántartási számot kap(nak).

13.2. A 2.4. pont szerinti, engedélyezett takarmány-adalékanyag közösségi nyilvántartási számot kap.

14. A takarmány-adalékanyagok engedélyének visszavonása

14.1. A takarmány-adalékanyag engedélyét közösségi rendelet vonja vissza

a) a takarmány-adalékanyag forgalomba hozataláért felelős személy kérésére, ha a takarmány-adalékanyag a 2.3. pontban megadottak közé tartozik,

b) ha a 3.2. pont szerinti, a takarmány-adalékanyag engedélyezésére vonatkozó valamely feltétel már nem teljesül,

c) ha nem adják át a hatóságok kérésére a takarmány-adalékanyagból vett mintát, vagy ha a forgalmazott takarmány-adalékanyagból vett minta vizsgálati eredménye nem felel meg az engedélyben rögzítetteknek,

d) ha a hatóanyag referencia mintáját nem adják át a hatóság kérésére,

e) ha a takarmány-adalékanyag forgalomba hozataláért felelős személy a megadott időtartamon belül nem nyújt információt az Európai Bizottság valamely felelős személyének kérésére.

14.2. A nemzeti referenst a takarmány-adalékanyag forgalomba hozataláért felelős személy vagy a takarmány-ellenőrző hatóság tájékoztatja a takarmány-adalékanyag visszavonására vonatkozó szükséges információkról.

14.3. Amennyiben a visszavont takarmány-adalékanyag megfelel a 3.2. pont b) és c) alpontjában foglalt feltételeknek, a visszavonást követően legfeljebb egy évig engedélyezett maradhatnak, a készletek felhasználása érdekében.

15. Tanulmányok és azonosító leírások

15.1. A kérelmezőnek a 2.3. pont szerinti takarmány-adalékanyagokra vonatkozóan a 2. számú függelékben foglaltak szerinti monográfiát kell benyújtania a nemzeti referens számára.

15.2. A monográfia felhasználható

a) annak meghatározására, hogy a takarmány-adalékanyag, amelyhez forgalomba hozatali engedélyt kértek, új készítmény vagy másolatnak tekintendő,

b) annak megállapítására, hogy a forgalomba hozott takarmány-adalékanyag ténylegesen megfelel-e a közösségi engedély megadásának alapjául szolgáló dokumentációban leírt takarmány-adalékanyagnak.

15.3. A kérelmezőnek be kell nyújtania a takarmány-adalékanyag jellemzőit és tulajdonságait összefoglaló azonosító leírást a 2. számú függelék szerint a nemzeti referensnek. A 2.3. pont szerinti takarmány-adalékanyagok esetében vagy más takarmány-adalékanyagoknál, amelyeknek monográfiáját a Takarmányozási Állandó Bizottság jóváhagyta, az azonosító leírásnak tartalmaznia kell a 15.1. pont szerinti monográfiában megadott legfontosabb jellemzők és tulajdonságok összefoglalását.

15.4. Az azonosító leírásokat az Európai Unió Hivatalos Lapja tartalmazza.

16. Szabvány minta

16.1. A 2.3. pont szerinti takarmány-adalékanyagok esetében a forgalomba hozatalért felelős személynek — a nemzeti referens kérésére — rendelkezésre kell bocsátania a 15.1. pont szerinti monográfiában leírt jellemzőkkel és tulajdonságokkal bíró szabvány mintát a hatóanyag referencia mintájával együtt.

16.2. Ha a takarmány-adalékanyag jellemzői vagy tulajdonságai módosultak, akkor az új monográfiának megfelelő új szabvány mintát kell rendelkezésre bocsátani.

17. Keverékek és takarmány-adalékanyag szintek

17.1. Valamely takarmány-adalékanyagra meghatározott maximális és minimális szintek a teljes értékű takarmányokra vonatkoznak 12% nedvességtartalom mellett, amennyiben az engedélyezési rendeletben nincs erre vonatkozóan elfogadott külön rendelkezés.

17.2. Ha a takarmány-adalékanyagként engedélyezett anyag bizonyos takarmány-alapanyagokban természetes állapotában is megtalálható, akkor a bekeverendő takarmány-adalékanyag mennyiségét úgy kell meghatározni, hogy a hozzáadott és a természetes állapotban jelen lévő elemek mennyiségének összege ne lépje túl az engedélyezési rendeletben meghatározott maximális szintet.

17.3. A takarmány-adalékanyagok bekeverése előkeverékekbe és takarmányokba csak akkor megengedett, ha a keverék összetevői között a kívánt hatás vonatkozásában fizikai-kémiai és biológiai összeférhetőség áll fenn.

17.4. Ha az adott keveréket takarmány-adalékanyagként nem kell külön engedélyeztetni, akkor

a) az antibiotikumok és hozamfokozók nem keverhetők össze sem a saját csoportjuk anyagaival, sem a másik csoport anyagaival;

b) a kokcidiosztatikumok és egyéb állatgyógyászati készítmények nem keverhetők össze antibiotikumokkal és hozamfokozókkal, ha a kokcidiosztatikumok ugyanannál az állatkategóriánál antibiotikumként vagy hozamfokozóként is hatnak;

c) a kokcidiosztatikumok és egyéb állatgyógyászati készítmények nem keverhetők össze, ha a hatásuk hasonló.

17.5. Antibiotikumok, hozamfokozók, kokcidiosztatikumok és egyéb állatgyógyászati készítmények mikroorganizmusokkal való összekeverése tilos, kivéve, ha ezt a keveréket a mikroorganizmusok engedélyezésére vonatkozó jogszabály szerint engedélyezték.

17.6. A 3.1. pontban és a 17.3. és 17.4. pontban foglaltaktól eltérően, kísérleti célból a közösségi szinten nem engedélyezett termékek takarmány-adalékanyagként történő felhasználását, vagy a takarmány-adalékanyagnak az engedélyezési rendeletben foglaltaktól eltérő felhasználását az OMMI engedélyezheti, ha

a) a kísérleteket a 2. számú függelékben megállapított elveknek és feltételeknek megfelelően végzik, és

b) a megyei (fővárosi) állategészségügyi és élelmiszerellenőrző állomások (a továbbiakban: Állomás) hatósági ellenőrzést végeztek.

18. A takarmány-adalékanyagok előállítóira vonatkozó információk

A 2.3. pont szerinti takarmány-adalékanyagok forgalomba hozataláért felelős személyek — a nemzeti referens útján — haladéktalanul kötelesek eljuttatni az Európai Bizottságnak azoknak a takarmány-előállítóknak a nevét és címét vagy székhelyét, amelyeknek megadták a jogot a takarmány-adalékanyag gyártására; amennyiben a takarmány-előállító az Európai Unión kívüli országban található, akkor a közösségi képviselők nevét és címét vagy székhelyét is meg kell adni.

19. Kihirdetés a hivatalos lapban

Az Európai Unió Hivatalos Lapjában minden évben november 30-ig közzétételre kerül:

a) a takarmány-adalékanyagok forgalomba hozataláért felelős személyek listája a 18. pontban foglaltaknak meg-

felelően, azoknak a takarmány-előállítóknak a neve, amelyek rendelkeznek a takarmány-adalékanyagok előállításának jogával, és a közösségi képviselők adatai, az Európai Unión kívüli ország takarmány-előállítója esetén;

b) az engedélyezett takarmány-adalékanyagok jegyzéke a következő bontásban:

— I. fejezet: a forgalomba hozatalért felelős személyekhez kötött és 10 éves időtartamra engedélyezett takarmány-adalékanyagok jegyzéke,

— II. fejezet: a forgalomba hozatalért felelős személyekhez kötött és ideiglenes jelleggel nem több, mint négyéves időtartamra engedélyezett takarmány-adalékanyagok jegyzéke,

— III. fejezet: más, határozatlan ideig engedélyezett takarmány-adalékanyagok jegyzéke,

— IV. fejezet: más, ideiglenes jelleggel nem több, mint négyéves időtartamra engedélyezett takarmány-adalékanyagok jegyzéke.

20. Csomagolás

A takarmány-adalékanyagokat és az előkeverékeket csak zárt csomagolásban vagy zárt tartályban lehet forgalomba hozni. A csomagolást vagy tartályt olyan zárral kell ellátni, amelyek kinyitáskor sérülnek, és amelyeket nem lehet újra felhasználni.

21. Biztonsági intézkedések

Valamely engedélyezett takarmány-adalékanyag felhasználását a Földművelésügyi és Vidékfejlesztési Minisztérium (a továbbiakban: minisztérium) ideiglenesen felfüggesztheti vagy korlátozhatja, amennyiben új információk vagy meglévő információk újraértékelésének eredményeként megalapozottan megállapítható, hogy a takarmány-adalékanyag használata, illetve meghatározott körülmények közötti használata veszélyt jelent közvetlenül az állat, illetve közvetve az ember egészségre vagy a környezetre, annak ellenére, hogy a takarmány-adalékanyag megfelel e rendeletben foglaltaknak. Erről a minisztérium a többi tagállamot és az Európai Bizottságot a döntés okának megjelölésével haladéktalanul értesíti.

22. Takarmány-adalékanyag szintek kiegészítő takarmányokban

22.1. A kiegészítő takarmányok nem tartalmazhatnak az e rendeletben felsorolt takarmány-adalékanyagot a teljes értékű takarmányokra meghatározott maximális mennyiségen felül.

22.2. Az antibiotikumok, kokcidiosztatikumok és egyéb állatgyógyászati készítmények, a hozamfokozók, a D-vitaminok és az antioxidánsok mennyisége meghaladhatja a teljes értékű takarmányokra meghatározott maximális mennyiséget a következő esetekben:

a) olyan kiegészítő takarmány esetén, amelyet bármely felhasználó beszerezhet, feltéve, hogy az antibiotikum, hozamfokozó és D-vitamin tartalma nem haladja meg a meghatározott maximális mennyiség ötszörösét;

b) olyan kiegészítő takarmány esetén, amelyet meghatározott állatfajoknak szántak, és amelyet bármely felhasználó beszerezhet valamely különleges takarmányozási rendszer miatt, feltéve, hogy a következő anyagok szintje nem haladja meg:

— antibiotikumok és hozamfokozók esetén az 1000 mg/kg-ot, hízómarhák esetén a 2000 mg/kg-ot,

— kokcidiosztatikumok, antioxidánsok és más állatgyógyászati készítmények esetén a meghatározott maximális mennyiség ötszörösét,

— D-vitamin esetén a 200 000 IU/kg-ot.

Amennyiben a kiegészítő takarmányok gyártása során az a) pontot alkalmazták, a b) pontban foglaltak ezzel egyidejűleg nem alkalmazhatók.

22.3. A 22.2. pont alkalmazása esetén a takarmányoknak rendelkezniük kell egy vagy több olyan összetéti jellemzővel (pl. fehérje vagy ásványi anyag), amely biztosítja, hogy a takarmány-adalékanyagok mennyisége nem haladja meg a teljes értékű takarmányokra meghatározott maximális mennyiséget, és hogy a takarmányt nem használják más állatfajok etetésére.

23. A takarmány-adalékanyagok és az előkeverékek forgalmazásának és takarmányokba keverésének szabályai

23.1. E melléklet szerinti takarmány-adalékanyagokat, az ezekből készült előkeverékeket, valamint az ezeket az előkeverékeket tartalmazó takarmánykeverékeket csak azok a takarmány-előállító üzemek és közvetítők használhatják fel, illetve forgalmazhatják, amelyek megfelelnek a 6. számú mellékletben foglaltaknak.

23.2. A 3. számú függelék A. és B. Részében meghatározott takarmány-adalékanyagokat csak engedélyezett létesítmények szállíthatják:

a) a külön jogszabályban foglaltaknak megfelelően engedélyezett közvetítőknek vagy előkeverékeket előállító üzemeknek, és

b) előkeverék formájában kizárólag a külön jogszabályban foglaltaknak megfelelően engedélyezett közvetítőknek vagy takarmánykeverékeket forgalomba hozatal vagy kizárólag saját állomány szükségleteire előállító üzemeknek.

23.3. A 3. számú függelék A. és B. Részében megadott takarmány-adalékanyagokat csak akkor szabad takarmánykeverékekbe bekeverni, ha azokat előzőleg vívőanyagot tartalmazó előkeverékek formájában a külön jogszabályban és a 6. számú mellékletben meghatározott feltételeknek megfelelő takarmány-előállító üzem előkészítette. Az ilyen előkeverékek a takarmánykeverékekbe csak minimum 0,2% tömegarányban keverhetők be.

23.4. A 23.3. pontban foglaltaktól eltérően megengedett az előkeverékek a takarmánykeverékekbe minimum 0,05% tömegarányban történő bedolgozása, abban az esetben, ha az előkeverék mennyiségi és minőségi összetétele ezt megengedi és biztosított, hogy a takarmány-előállító üzem alkalmas a külön jogszabály szerint az előkeverékek homogén bekeverésére, valamint megfelel a teljes értékű takar-

mányra megállapított takarmány-adalékanyag szintek ellenőrzésére vonatkozó feltételeknek. Ezeket a takarmány-előállító üzemeket a 6. számú melléklet szerinti nyilvántartásba fel kell venni a következő külön sorral: „Az előkeverékek minimális 0,05%-os súlyarányú használatára jogosult takarmánykeverék-előállítók”.

23.5. A 23.2. pontban foglaltaktól eltérően

a) a 3. számú függelék B. Részében megadott takarmány-adalékanyagok szállíthatók olyan engedélyezett közvetítők vagy nyilvántartásba vett takarmány-előállító üzemek részére, amelyek kedvtelésből tartott állatoknak szánt takarmánykeveréket állítanak elő és megfelelnek a jogszabályi előírásoknak;

b) a 3. számú függelék A. és B. Részében megadott takarmány-adalékanyagok szállíthatók a forgalmazás utolsó fázisában a takarmánykeverékeket előállító üzemekbe, ha

— a takarmány-adalékanyagot engedélyező közösségi rendelet rendelkezik a takarmány-adalékanyag specifikus előkészítése esetén a takarmányokba történő közvetlen hozzáadásról,

— a takarmánykeverék előállítót a külön jogszabály szerint engedélyezték és nyilvántartásba vették, és

— a helyszínen ellenőrizték, hogy a takarmánykeverék-előállító rendelkezik a takarmány-adalékanyag takarmánykeverékbe történő bekeveréséhez a 6. számú mellékletben foglalt technológiai feltételekkel.

23.6. A 23.5. pont szerinti takarmány-előállító üzemeket a 6. számú melléklet szerinti nyilvántartásba fel kell venni a következő külön sorral: „Takarmánykeverék-előállítók, akik jogosultak antibiotikumok, kokcidiosztatikumok és egyéb állatgyógyászati készítmények és hozamfokozók takarmánykeverékhez történő közvetlen hozzáadására” vagy „Takarmánykeverék-előállítók, akik jogosultak réz, szelén, A- és D-vitamin takarmánykeverékhez történő közvetlen hozzáadására”.

24. A takarmány-adalékanyagok jelölése

24.1. Engedélyezett takarmány-adalékanyag akkor hozható a takarmányokban történő felhasználás céljából forgalomba, ha a csomagolóeszközön, címkén, illetve az ömlesztve vagy tartályban való szállítás esetén a kísérő okmányon feltüntetik jól láthatóan, olvashatóan és eltávolíthatatlanul az e pontban meghatározott adatokat, amelyekért az Európai Unión belül székhellyel rendelkező előállító, importőr, eladó vagy forgalmazó felel.

24.1.1. Minden takarmány-adalékanyag — kivéve az enzimeket és a mikroorganizmusokat — jelölésén fel kell tüntetni a következő adatokat:

a) az engedélyezés során a takarmány-adalékanyagnak adott egyedi név, a takarmány-adalékanyag EK nyilvántartási száma, a 2.3. pont szerinti takarmány-adalékanyag esetén a kereskedelmi név és a forgalomba hozatalért felelős személy nyilvántartási száma,

b) e fejezet szerinti adatokért felelős személy neve vagy cégneve, és címe vagy bejegyzett székhelye,

c) nettó tömeg, illetve folyékony takarmány-adalékanyag esetén a nettó térfogat vagy a nettó tömeg,

d) a létesítmény vagy a közvetítő engedélyezési száma, illetve nyilvántartási száma.

24.1.2. Fel kell tüntetni továbbá a következő adatokat:

a) antibiotikumok, hozamfokozók, kokcidiosztatikumok és más állatgyógyászati készítmények esetén az előállító neve vagy cégneve, és címe vagy székhelye, ha nem ő a felelős a feltüntetett adatokért, a hatóanyag tartalma, a minőségmegőrzési idő, a tételszám és a gyártási idő, a használati utasítás és az engedélyezés során különleges rendelkezések alá eső takarmány-adalékanyagok esetén, ahol ez szükséges, a használatra vonatkozó biztonsági előírások,

b) E-vitamin esetén az alfa-tokoferol szint és erre a szintre vonatkozó minőségmegőrzési idő,

c) az E-vitaminon kívüli vitaminok, provitaminok és hasonló hatású anyagok esetén a hatóanyag-tartalom és erre a szintre vonatkozó minőségmegőrzési idő,

d) nyomelemek, színező anyagok — beleértve a pigmenteket —, tartósítószeres és egyéb takarmány-adalékanyagok — az enzimek és mikroorganizmusok csoportjához tartozók kivételével — esetén a hatóanyag-tartalom.

24.1.3. A következő csoportokhoz tartozó takarmány-adalékanyagok esetében fel kell tüntetni a következő adatokat:

a) enzimek esetén

— a hatóanyag vagy az összetevők egyedi neve az enzim aktivitásnak és a megadott engedélynek megfelelően, a Nemzetközi Biokémiai Szövetség szerinti azonosító szám,

— az aktivitás mértékegységei* (az aktivitás egységei/gramm vagy az aktivitás egységei/milliliter),

— a takarmány-adalékanyag EK nyilvántartási száma,

— a címkén feltüntetett adatokért felelős személy neve vagy cégneve, és címe vagy székhelye,

— az előállító neve vagy cégneve, és címe vagy székhelye, ha nem ő felelős a címkén feltüntetett adatokért,

— a létesítménynek vagy a közvetítőnek a külön jogszabályban foglaltaknak megfelelő engedélyezési száma,

— a minőségmegőrzési idő,

— a tételszám és a gyártási idő,

— a használati utasítás, amely kiemelten megadja az ajánlott adagolást — ha szükséges egy tartomány formájában —, és összhangban az előírányozott takarmány-alapanyag(ok) súly százalékaival a teljes takarmány kilogrammjára vetítve, a takarmány-adalékanyag engedélyeztetése során esetenként egyedileg rögzített feltételeknek megfelelően,

— ahol szükséges, a takarmány-adalékanyag engedélyeztetése során rögzített biztonsági előírások,

— a nettó tömeg, illetve folyékony takarmány-adalékanyagok esetében a nettó térfogat vagy a nettó tömeg,

— ahol szükséges, a gyártási folyamat miatti speciális, lényeges jellemzők közlése,

a takarmány-adalékanyag engedélyezése során a jelölésre vonatkozó rendelkezéseknek megfelelően;

b) mikroorganizmusok esetén

— a törzs(ek) azonosítása a megadott engedélynek megfelelően, a törzsszám(ok), a telep-képző egységek száma (CFU/gramm),

— a takarmány-adalékanyag EK nyilvántartási száma, a címkén feltüntetett adatokért felelős személy neve vagy cégneve, és címe vagy székhelye,

— az előállító neve vagy cégneve, és címe vagy székhelye, ha nem ő felelős a címkén feltüntetett adatokért,

— a takarmány-előállító üzem vagy a közvetítő engedélyezési száma,

— a minőségmegőrzési idő,

— a gyártási azonosító szám és a gyártási idő,

— a használati utasítás, és ahol szükséges, a takarmány-adalékanyag engedélyeztetése során rögzített biztonsági előírások,

— a nettó tömeg, illetve folyékony takarmány-adalékanyag esetén a nettó térfogat vagy a nettó tömeg,

— ahol szükséges, a gyártási folyamat miatti speciális, lényeges jellemzők közlése,

a takarmány-adalékanyag engedélyezése során a jelölésre vonatkozó rendelkezéseknek megfelelően.

24.1.4. A takarmány-adalékanyag egyedi neve — ha annak feltüntetése a 24.1.1—24.1.3. pont szerint nem kötelező — kiegészíthető az alábbiakkal:

a) kereskedelmi név (márka név),

b) előállító neve vagy cégneve, és címe vagy székhelye, ha nem ő a felelős a feltüntetett adatokért,

c) a használati utasítás, és ha szükséges, a használatra vonatkozó biztonsági előírások.

24.1.5. A 24.1.1—24.1.4. pont szerint nem kötelező vagy engedélyezett adatokon kívül egyéb információk is feltüntethetők a csomagolóeszközön, címkén, illetve az ömlesztve vagy tartályban való szállítás esetén a kísérő okmányon, ha ezek egyértelműen elkülönülnek a fent említett adatoktól.

24.2. Az előkeverék csak akkor hozható forgalomba, ha a csomagolóeszközön, címkén, illetve az ömlesztve vagy tartályban való szállítás esetén a kísérő okmányon feltüntetik jól láthatóan, olvashatóan és eltávolíthatatlanul az e pontban meghatározott adatokat, amelyekért az Európai Unión belül székhellyel rendelkező előállító, importőr, eladó vagy forgalmazó felel.

24.2.1. Minden előkeverék esetében fel kell tüntetni:

a) az „előkeverék” megnevezését,

b) a használati utasítást, és bármely, az előkeverék felhasználására vonatkozó biztonsági előírást,

c) az állatok fajtát, korát, hasznosítási irányát, amelyek takarmányaiban az előkeveréket fel kívánják használni,

d) e pontban meghatározott adatokért felelős személy nevét vagy cégnevét, és címét vagy székhelyét,

* Az aktivitási érték az a mikromolban kifejezett termékmennyiség, amelyet 1 perc alatt 1 gramm enzim felszabadít.

e) a nettó tömegét, illetve folyékonytakarmány-adalékanyagok esetében a nettó térfogatot vagy a nettó tömeget,
f) a takarmány-előállító üzem vagy a közvetítő engedélyezési számát, illetve nyilvántartási számát.

24.2.2. A 24.2.1. pontban foglaltakon kívül fel kell tüntetni a következő takarmány-adalékanyagokat tartalmazó előkeverékek esetében az alábbiakat:

a) antibiotikumok, hozamfokozók, kokcidiosztatikumok és más állatgyógyászati készítmények:

— az előállító neve vagy cégneve, és címe vagy székhelye, ha nem ő a felelős a feltüntetett adatokért,

— az engedélyezés során a takarmány-adalékanyagnak adott egyedi név,

— a hatóanyag-tartalom és e tartalomra vonatkozó minőségmegőrzési idő;

b) antioxidáns hatású anyagok: az engedélyezés során a takarmány-adalékanyagnak adott egyedi név és a hatóanyag-tartalom, feltéve, hogy a teljes takarmányra vonatkozó maximális tartalmat a takarmány-adalékanyag engedélyezésekor meghatározták;

c) színezőanyagok, beleértve a pigmenteket: az engedélyezés során a takarmány-adalékanyagnak adott egyedi név és a hatóanyag-tartalom, feltéve, hogy a teljes takarmányra vonatkozó maximális szintet a takarmány-adalékanyag engedélyezésekor meghatározták;

d) E-vitamin: az engedélyezés során a takarmány-adalékanyagnak adott egyedi név, alfa-tokoferol tartalom és e tartalomra vonatkozó minőségmegőrzési idő;

e) az E-vitaminon kívüli vitaminok, provitaminok és hasonló hatású anyagok: az engedélyezés során a takarmány-adalékanyagnak adott egyedi név, a hatóanyag-tartalom és e tartalomra vonatkozó minőségmegőrzési idő;

f) nyomelemek: az engedélyezés során a takarmány-adalékanyagnak adott egyedi név, és a különböző elem-tartalom, amennyiben a teljes takarmányra vonatkozó maximális tartalmat a takarmány-adalékanyag engedélyezésekor meghatározták;

g) tartósítószer: az engedélyezés során a takarmány-adalékanyagnak adott egyedi név és a hatóanyag-tartalom, feltéve, hogy a teljes takarmányra vonatkozó maximális tartalmat a takarmány-adalékanyag engedélyezésekor meghatározták;

h) enzimek:

— a hatóanyagok egyedi nevei az enzim aktivitásuknak és a megadott engedélynek megfelelően, a Nemzetközi Biokémiai Szövetség szerinti azonosító szám, az aktivitás mértékegységei (az aktivitás egységei/gramm vagy az aktivitás egységei/milliliter),

— a takarmány-adalékanyag EK nyilvántartási száma,

— az előállító neve vagy cégneve, és címe vagy székhelye, ha nem ő felelős a feltüntetett adatokért,

— a minőségmegőrzési idő,

— a tételszám és a gyártási idő,

— a használati utasítás, amely kiemelten megadja az ajánlott adagolást, ha szükséges egy tartományon belül, összhangban az előírányozott takarmány-alapanyag(ok)

súlyszázalékával a teljes takarmány kilogrammjára vetítve, a takarmány-adalékanyag engedélyeztetése során esetenként egyedileg rögzített feltételeknek megfelelően,

— ahol szükséges, a gyártási folyamat miatti speciális, lényeges jellemzők közlése,

a takarmány-adalékanyag engedélyezése során a jelölésre vonatkozó rendelkezéseknek megfelelően;

i) mikroorganizmusok:

— a törzs(ek) azonosítói és a törzsszám(ok) az engedélynek megfelelően, a telep-képző egységek száma (CFU/gramm),

— a takarmány-adalékanyag EK nyilvántartási száma,

— az előállító neve vagy cégneve, és címe vagy székhelye, ha nem ő a felelős a feltüntetett adatokért,

— a minőségmegőrzési idő,

— ahol szükséges, a gyártási folyamat miatti speciális, lényeges jellemzők közlése,

a takarmány-adalékanyag engedélyezése során a jelölésre vonatkozó rendelkezéseknek megfelelően;

j) egyéb, a b) vagy i) pontban megadott csoportba tartozó takarmány-adalékanyagok, amelyekre nincs maximális szint meghatározva, és egyéb engedélyezett csoportokhoz tartozó takarmány-adalékanyagok: az engedélyezés során a takarmány-adalékanyagnak adott egyedi név és a hatóanyag-tartalom, feltéve, hogy ezeknek a takarmány-adalékanyagoknak van funkciójuk a takarmányban és a jelen lévő mennyiségük hivatalos elemzési módszerrel, vagy ennek hiányában értékelhető tudományos módszerekkel meghatározható.

24.2.3. A takarmány-adalékanyag egyedi nevével együtt a márkanév megadható.

24.2.4. A 24.2.2. pont a) alpontjában megadott takarmány-adalékanyagok előállítójának a nevét fel kell tüntetni az előkeverék címkéjén.

24.2.5. A takarmány-adalékanyag EK nyilvántartási száma az engedélyezett takarmány-adalékanyag egyedi nevével együtt feltüntethető.

24.2.6. Az azonos vagy különböző csoportokhoz tartozó több takarmány-adalékanyag minőségmegőrzési ideje az összes takarmány-adalékanyagra egyetlen dátummal is megadható. Ez a leghamarabb lejáró takarmány-adalékanyag minőségmegőrzési ideje.

24.2.7. A 24.2.1—24.2.6. pont szerint nem kötelező vagy engedélyezett adatokon kívül egyéb információk is feltüntethetők a csomagolóeszközön, címkén, illetve az ömlesztve vagy tartályban való szállítás esetén a kísérő okmányon, ha ezek egyértelműen elkülönülnek a fent említett adatoktól.

24.3. Az alábbiakban felsorolt csoportokhoz tartozó takarmány-adalékanyagokat tartalmazó takarmány csak akkor hozható forgalomba, ha a csomagolóeszközön, címkén, illetve az ömlesztve vagy tartályban való szállítás esetén a kísérő okmányon feltüntetik jól láthatóan, olvashatóan és eltávolíthatatlanul az e pontban meghatározott adatokat, amelyekért az Európai Unió belül székhellyel

rendelkező előállító, importőr, eladó vagy forgalmazó felel.

24.3.1. a) Antibiotikumok, hozamfokozók, kokcidiosztatikumok és egyéb állatgyógyászati készítmények:

— az engedélyezés során a takarmány-adalékanyagnak adott egyedi név,

— a hatóanyag-tartalom és e tartalomra vonatkozó minőségmegőrzési idő,

— a takarmány-előállító üzem engedélyezési száma;

b) antioxidáns hatású anyagok:

— a kedvtelésből tartott állatoknak szánt takarmánykeverék esetén az „antioxidánsot tartalmaz” megjelölés, amelyet az engedélyeztetés során a takarmány-adalékanyagnak adott egyedi név követ,

— a kedvtelésből tartott állatokon kívüli állatoknak szánt takarmánykeverék esetén az engedélyeztetés során a takarmány-adalékanyagnak adott egyedi név;

c) színezőanyagok, beleértve a pigmenteket, feltéve, hogy ezeket takarmányok vagy állati termékek színezésére használják fel:

— a kedvtelésből tartott állatoknak szánt takarmányok esetén: a „színezék” vagy „...-val színezve” megjelölés, amelyet az engedélyeztetés során a takarmány-adalékanyagnak adott egyedi név követ,

— a kedvtelésből tartott állatokon kívüli állatoknak szánt takarmánykeverék esetén az engedélyeztetés során a takarmány-adalékanyagnak adott egyedi név;

d) E-vitamin: az engedélyezés során a takarmány-adalékanyagnak adott egyedi név, az alfa-tokoferol tartalom és e tartalomra a minőségmegőrzési idő;

e) A- és D-vitamin: az engedélyezés során a takarmány-adalékanyagnak adott egyedi név, a hatóanyag-tartalom és e tartalomra vonatkozó minőségmegőrzési idő;

f) réz: az engedélyezés során a takarmány-adalékanyagnak adott egyedi név és a Cu-ban kifejezett tartalom;

g) tartósítószer:

— a kedvtelésből tartott állatoknak szánt takarmányok esetén a „tartósítószer” vagy a „...-val tartósítva” megjelölés, amelyet az engedélyeztetés során a takarmány-adalékanyagnak adott egyedi név követ,

— a kedvtelésből tartott állatokon kívüli állatoknak szánt takarmánykeverék esetén az engedélyeztetés során a takarmány-adalékanyagnak adott egyedi név;

h) enzimek:

— a hatóanyag(ok) egyedi neve(i) az enzimaktivitásuknak és a megadott engedélynek megfelelően, a Nemzetközi Biokémiai Szövetség szerinti azonosító szám, az aktivitás mértékegységei (az aktivitás egységei/kilogramm vagy az aktivitás egységei/liter),

— a takarmány-adalékanyag EK nyilvántartási száma,

— a minőségmegőrzési idő,

— ahol szükséges, az előállítási folyamat miatti speciális, lényeges jellemzők közlése,

a takarmány-adalékanyag engedélyezése során a jelölésre vonatkozó rendelkezéseknek megfelelően;

i) mikroorganizmusok:

— a törzs(ek) azonosítása(i) a megadott engedélynek megfelelően, a törzsszám(ok), a telep-képző egységek száma (CFU/kg),

— a takarmány-adalékanyag EK nyilvántartási száma,

— a minőségmegőrzési idő, és ahol szükséges, a gyártási folyamat miatti speciális, lényeges jellemzők közlése, a takarmány-adalékanyag engedélyezése során a jelölésre vonatkozó rendelkezéseknek megfelelően.

24.3.2. A 24.3.1. pontban előírt adatokon túl a takarmányok helyes használatára vonatkozóan az engedélyezési eljárásban előírt további adatokat a csomagolóeszközön, címkén, illetve az ömlesztve vagy tartályban való szállítás esetén a kísérő okmányon fel kell tüntetni.

24.3.3. A rézen kívüli nyomelemek és az A-, D- és E-vitaminokon kívüli vitaminok, a provitaminok és a hasonló hatású takarmány-adalékanyagok feltüntethetők, ha ezen takarmány-adalékanyagok mennyisége hivatalos elemzési módszerrel, vagy ennek hiányában értékelhető tudományos módszerekkel meghatározható. Ilyen esetekben a következő adatokat kell feltüntetni:

a) rézen kívüli nyomelemek: a takarmány-adalékanyag egyedi neve az adott engedélynek megfelelően és a különböző elem tartalmak,

b) A-, D- és E-vitaminokon kívüli vitaminok, provitaminok és a hasonló vegyi hatású anyagok: a takarmány-adalékanyag egyedi neve az adott engedélynek megfelelően, a hatóanyag-tartalom és e tartalomra vonatkozó minőségmegőrzési idő;

24.3.4. A jelölésen

a) a 24.3.1—24.3.3. pont szerinti adatokat a csomagolóeszközön, címkén, illetve az ömlesztve vagy tartályban való szállítás esetén a kísérő okmányon kötelezően feltüntetett adatokhoz közel kell elhelyezni,

b) ahol a 24.3.1—24.3.3. pontnak megfelelően a tartalmat vagy a mennyiséget adják meg, ott ennek az adatnak a takarmányba kevert takarmány-adalékanyag mennyiségére kell vonatkoznia,

c) a takarmány-adalékanyagok részletes adatai mellett megadható a takarmány-adalékanyag EK nyilvántartási száma vagy kereskedelmi neve, ahol ezek az adatok a 24.3.1. pont alapján nem kötelezőek.

24.3.5. Ha a 24.3.1. pontnak megfelelően az ugyanahhoz vagy különböző csoportokhoz tartozó több takarmány-adalékanyag minőségmegőrzési idejét kell megadni, az összes takarmány-adalékanyagra egyetlen minőségmegőrzési idő is megadható, amelynek a leghamarabb lejáró minőségmegőrzési időnek kell lennie.

24.3.6. A végfelhasználónak vagy vevőnek szánt kisebb mennyiségek esetén a 24.3.1—24.3.3. pont szerinti adatok a szállítmányt kísérő értesítő is közölhetők a vevővel.

24.3.7. A színezőanyagokat, tartósítószeret vagy antioxidáns hatású anyagokat tartalmazó és 10 kilogrammnál kisebb nettó tömegű csomagolásban forgalmazott, kedvtelésből tartott állatoknak szánt takarmányok esetén elegendő a csomagolásra a megfelelő, „...-val színezve” vagy a

„...-val tartósítva” szavak vagy az „antioxidánsot tartalmaz” szavak feltüntetése, amelyet az „EK takarmány-adalékanyagok” kifejezésnek kell követnie, feltéve, hogy

a) a jelölés tartalmazza a takarmánykeverék termék-számát, és

b) az előállító kérésre megadja a felhasznált takarmány-adalékanyagok egyedi nevét vagy neveit.

24.4.1. Az olyan kiegészítő takarmányokat, amelyek a teljes értékű takarmányokra meghatározott maximális mennyiség mértékéig tartalmaznak takarmány-adalékanyagokat, csak akkor lehet forgalomba hozni, ha a használati útmutató leírja az állatfajok és az állatok korának megfelelő, egy állatnak egy nap alatt maximális mennyiségben adható kiegészítő takarmány mennyiségét grammban vagy kilogrammban. Ennek az információnak összhangban kell lennie a takarmány-adalékanyag engedélyezése során meghatározott felhasználási feltételekkel. Ez az előírás nem vonatkozik a takarmánykeverék-előállítóknak, illetve azok ellátóinak küldött termékekre.

24.4.2. A 24.4.1. pont szerinti nyilatkozatot úgy kell megfogalmazni, hogy pontos követése esetén a takarmány-adalékanyagok aránya nem haladja meg a teljes értékű takarmányokra meghatározott maximális mennyiséget.

24.5. Amennyiben a takarmányok más tagállamban kerülnek forgalomba hozatalra, a 24. pont szerinti adatokat a célország legalább egy hivatalos nyelvén meg kell adni.

25. Ellenőrzés

25.1. A forgalomba hozott takarmány-adalékanyagokat, előkeverékeket és takarmányokat az Állomás folyamatosan — szűrőpróbaszerűen — ellenőrzi.

25.2. Amennyiben a takarmánykeverékbe bekevert takarmány-adalékanyag engedélyben meghatározott értékei és a hatósági mintavételt követő laboratóriumi vizsgálatok eredményei között eltérés mutatkozik, az eltérések értékelésénél figyelembe kell venni a külön jogszabályban megállapított tűréshatárokat.

26. A nemkívánatos kölcsönhatások ellenőrzése

Amennyiben a 2.3. pont szerinti takarmány-adalékanyagok vagy más takarmány-adalékanyagok között előre nem látott, nemkívánatos kölcsönhatás tapasztalható, a takarmány-adalékanyag forgalomba hozataláért felelős személy, vagy — ha a takarmány-adalékanyag az Európai Unión kívüli országból származik — a Közösségen belüli képviselője minden lényeges információt köteles haladéktalanul beszerezni és a székhelye szerint illetékes Állomásnak ezeket eljuttatni. Az Állomás a minisztériumot és a nemzeti referenst erről informálja, akik megteszik a szükséges intézkedéseket.

27. Az Európai Unión kívüli országba irányuló export

E fejezetben foglaltak nem vonatkoznak az Európai Unión kívüli exportra szánt takarmány-adalékanyagokra, előkeverékekre és takarmányokra, amennyiben az exportra valamely jelzés utal.

1. számú függelék

A. Rész

Takarmány-adalékanyagok, amelyek engedélyezése a forgalomba hozatalért felelős személyhez kötődik:

a) antibiotikumok: minden ebbe a csoportba tartozó takarmány-adalékanyag,

b) kokcidiosztatikumok és egyéb állatgyógyászati készítmények: minden ebbe a csoportba tartozó takarmány-adalékanyag,

c) hozamfokozók: minden ebbe a csoportba tartozó takarmány-adalékanyag.

B. Rész

Takarmány-adalékanyagok, amelyek engedélyezése nem kötődik a forgalomba hozatalért felelős személyhez:

a) antioxidáns anyagok: minden ebbe a csoportba tartozó takarmány-adalékanyag,

b) ízjavító és étvágyfokozó anyagok,

c) emulgeátorok és stabilizátorok, töltőanyagok és zselésítő szerek: minden ebbe a csoportba tartozó takarmány-adalékanyag,

d) színezőanyagok, beleértve a pigmenteket is: minden ebbe a csoportba tartozó takarmány-adalékanyag,

e) tartósítószerke,

f) vitaminok, provitaminok és olyan hasonló hatású anyagok, amelyek kémiaiilag egyértelműen leírhatók: minden ebbe a csoportba tartozó takarmány-adalékanyag,

g) nyomelemek: minden ebbe a csoportba tartozó takarmány-adalékanyag,

h) kötőanyagok, csomósodás gátló anyagok, koagulálószerek: minden ebbe a csoportba tartozó takarmány-adalékanyag,

i) savasság szabályozók: minden ebbe a csoportba tartozó takarmány-adalékanyag,

j) enzimek: minden ebbe a csoportba tartozó takarmány-adalékanyag,

k) mikroorganizmusok: minden ebbe a csoportba tartozó takarmány-adalékanyag.

2. számú függelék

A takarmány-adalékanyagok értékelésére vonatkozó iránymutatás

A. Rész

1. Új takarmány-adalékanyag vagy takarmány-adalékanyag új felhasználása esetén a közösségi engedély iránti kérelemhez csatolni kell az e függelékben meghatározott iránymutatásokkal összhangban összeállított dokumentációt.

2. A dokumentációnak lehetővé kell tennie a takarmány-adalékanyagoknak a mindenkori ismereteken alapuló értékelését, illetve az engedélyezésük vonatkozásában megállapított alapelveknek való megfelelésük biztosítását.

3. E függelékben meghatározott összes vizsgálat kötelezővé tehető és szükség esetén azokról kiegészítő információ kérhető. Általános szabályként a takarmány-adalékanyag azonosságának, felhasználási feltételeinek, fizikokémiai tulajdonságainak, meghatározási módszereinek és hatékonyságának, illetve metabolizmusának, a célfajokra gyakorolt biológiai és toxikológiai hatásainak meghatározására szolgáló vizsgálatokat kell elvégezni. Amennyiben a takarmány-adalékanyagot egy meghatározott fajhoz tartozó állatnak szánják, a vonatkozó vizsgálatokat ezen az állaton kell elvégezni. A takarmány-adalékanyag emberi egészségre vagy a környezetre való ártalmasságának felméréséhez szükséges vizsgálatok alapvetően az adalékanyag jellegétől, illetve felhasználásának feltételeitől függenek.

4. Nem mindig szükséges a kizárólag kedvtelésből tartott állatok takarmányába szánt adalékanyagokon olyan részletes krónikus toxikusság-, mutagenitás- és karcinogénitászvizsgálatokat végezni, mint amilyeneket azon haszonállatok takarmányaiba szánt adalékanyagok esetében írnak elő, amelyekből emberi fogyasztásra szánt termékek készülnek. A krónikus toxikusság meghatározására két célfajon, vagy egy célfajon és patkányokon egy éven keresztül végzett vizsgálatok általában elegendőek. A mutagenitás- és karcinogénitászvizsgálatok általában mellőzhetők, feltéve, hogy a kémiai összetétel, a gyakorlati tapasztalat vagy egyéb megfigyelések nem jelzik a változások valószínűségét. El lehet tekinteni a kedvtelésből tartott állatokban lévő maradékanyagok analízisétől is.

5. A haszonállatok takarmányában lévő adalékanyag metabolizmusának, maradékanyagainak és azok biológiai hozzáférhetőségének ismerete alapvető követelmény. Elsősorban arról kell gondoskodni, hogy a toxikológiai vizsgálatokat laboratóriumi állatokon végezzék, a fogyasztót érintő esetleges kockázatok megállapítása céljából. Ezt az értékelést nem lehet egyedül az adalékanyagok laboratóriumi állatokra gyakorolt közvetlen hatásainak meghatározására szorítkozó adatokra alapozni, mivel ez nem nyújt külön információt az adalékanyagot tartalmazó takarmánnyal etetni kívánt állatfajban végbemenő metabolizmusból származó maradékanyagok tényleges hatásairól.

6. Minden adalékanyag vagy egy adalékanyag új felhasználásának engedélyezése iránti kérelméhez olyan dokumentációt kell mellékelni, amely e függelék szerinti sorrendben és számozással készült részletes jelentéseket tartalmaz. Az előírtak közül bármely adat dokumentációból történő kihagyását meg kell indokolni. A hivatkozott kiad-

ványokat csatolni kell. A kísérletekről szóló jelentéseknek tartalmazniuk kell a kísérlet tervét, hivatkozási számát, kezdetének és végének időpontját, a vizsgálatok részletes leírását, az eredményeket és azok analízisét, továbbá a vizsgálatért felelős személy nevét, címét és aláírását. Az állatokon végzett kísérleti vizsgálatok során használt minden egyes takarmánytételt az adott hatóanyagok koncentrációjára vonatkozóan megfelelő módszerrel analizálni kell, és az analízis eredményeiről jelentést kell készíteni. A jelentésben fel kell tüntetni az egyes kísérletekben meghatározott adagokat, a megfelelő dátumokat és az ellenőrzésekért felelős személy nevét, címét és aláírását. A jelentéshez csatolni kell továbbá a kísérleteket végző laboratórium vagy laboratóriumok igazolását arról, hogy a vizsgálatokat a helyes laboratóriumi gyakorlat alapelveivel összhangban végezték el.

7. A fiziko-kémiai, toxikológiai és ökotoxikológiai tulajdonságok meghatározását a veszélyes anyagok és a veszélyes készítmények tulajdonságainak vizsgálati módszereiről és a vizsgálatok eredményeinek értékeléséről szóló előírásokban megállapított módszerekkel vagy tudományos testületek által nemzetközileg elismert módszerekkel összhangban kell elvégezni. Egyéb módszerek használatát indokolni kell.

8. Minden dokumentációnak megfelelő összegzést kell tartalmaznia. Az antibiotikumokra, kokcidiosztatikumokra és egyéb gyógyászati anyagokra, valamint a növekedésserkentőkre vonatkozó dokumentációkhoz csatolni kell a B. Rész V. fejezete szerint elkészített monográfiát, amely lehetővé teszi az adott adalékanyag azonosságának megállapítását és jellemzését.

9. E függelék alkalmazásában az adalékanyag kifejezés hatóanyagokat vagy hatóanyagokat tartalmazó készítményeket jelent abban az állapotukban, ahogy az előkeverékekhez és a takarmányokhoz adják őket. A hatóanyag lehet kémiaiilag meghatározott anyag, mikroorganizmus vagy enzimmkészítmény.

10. E függelék alkalmazásában a kémiaiilag meghatározott anyag kifejezés olyan vegyi anyagokat jelent, amelyeknek az IUPAC nomenklatúra szerint megállapított kémiai elnevezése van.

11. Dokumentáció benyújtása esetén a nemzeti referens ésszerű határidőn belül jelentést tesz a Bizottságnak minden, az előállítási folyamatot, a takarmány-adalékanyag összetételét, alkalmazási területét vagy felhasználási körülményeit érintő módosításról. Mindez szükségessé teheti az új elbírálásra alkalmas dokumentáció beterjesztését. Ez különösen szükséges a módosított genetikai állományú vagy természetes mutánsból keletkezett mikroorganizmusokból származó termékek esetében.

B. Rész

I. A dokumentációban szereplő adatok összegzése

II. A takarmány-adalékanyag azonossága, jellemzői és felhasználási feltételei, ellenőrzési módszerek

1. Az adalékanyag azonossága

1.1. Javasolt terméknev.

1.2. Az adalékanyag típusa, fő funkciója szerint.

1.3. Minőségi és mennyiségi összetétel (hatóanyag, egyéb összetevők, szennyező anyagok).

1.4. Halmazállapot, részecskeméret.

1.5. Gyártási folyamat, különleges feldolgozási eljárással együtt.

Megjegyzés: Ha a hatóanyag egyenként meghatározható aktív alkotóelemek keveréke, akkor a fő alkotóelemet külön kell feltüntetni, és a keverési arányokat meg kell adni.

2. A hatóanyagra vonatkozó előírások

2.1. Kémiaileg meghatározott anyagok esetében: szokásos elnevezés, az IUPAC nómenklátúra szerinti kémiai elnevezés, egyéb nemzetközi szokásos elnevezések és rövidítések. CAS-szám (Chemical Abstracts Service).

2.1.1. Mikroorganizmusok esetében: elnevezés és a nemzetközi Nómenklátúra Kód szerinti taxonómiai leírás. Egyéb nemzetközileg elismert osztályozási kézikönyvek is használhatóak.

2.1.2. Enzimesztítmények esetében: az IUB/IUPAC által meghatározott, a fő enzimtevékenységek szerinti elnevezés. EINECS és CAS-szám.

2.2. Tapasztalati és szerkezeti képlet, molekulatömeg. A fő alkotóelemek minőségi és mennyiségi összetétele, ha a hatóanyag fermentációs termék.

2.2.1. Mikroorganizmusok esetében: a nemzetközi letéteményes hatóságként elismert tenyésztésgyűjtemény neve és címe, lehetőleg az Európai Unión belül, ahol a törzset letétbe helyezték, a letéti szám, géntechnológiai módosítás és az azonosításhoz szükséges összes vonatkozó tulajdonság. Továbbá az eredet, a megfelelő morfológiai és fiziológiai jellemzők, fejlődési stádiumok, (az adalékanyagként) kifejtett biológiai aktivitásban esetlegesen szerepet játszó lényeges tényezők és egyéb, az azonosításhoz szükséges genetikai adatok. A telepkepző egységek (CFU) száma grammonként.

2.2.2. Enzimesztítmények esetében: biológiai eredet (mikrobás eredet esetében: a nemzetközi letéteményes hatóságként elismert tenyésztésgyűjtemény neve és címe, lehetőleg az Európai Unión belül, ahol a törzset elhelyezték, a letéti szám, géntechnológiai módosítás, és az azonosításhoz szükséges összes vonatkozó tulajdonság), a megfelelő kémiaileg tiszta minta-szubsztrátumokon végzett aktivitás és más fiziko-kémiai jellemzők.

2.2.3. Minden esetben rendelkezésre kell bocsátani a mikroorganizmus nemzetközi letéteményes hatóságnál történt letétbe helyezését igazoló elismervény másolatát, amely pontosan megadja a mikroorganizmus nevét és

taxonómiai leírását a nemzetközi Nómenklátúra Kód szerint.

2.3. Tisztasági fok

2.3.1. A szennyező anyagok minőségi és mennyiségi összetétele.

2.3.2. Mikroorganizmusok esetében: genetikai stabilitás és a tenyésztett törzsek tisztasága.

2.3.3. Enzimesztítmények esetében:

a) a szennyező mikroorganizmusok, a nehézfémek, az alapszervezetekből eredő mérgező anyagok (pl. mikotoxinok) hiányszintjének ellenőrzésével, megfelelő módszerrel mért tisztaság,

b) megfelelő módszerrel mért mikrobaölő tevékenység hiánya a takarmányban alkalmazott koncentrációsintzen,

c) a nem-enzimikus alkotóelemek összetétele (különös tekintettel a Szerves Szilárd Testek Összetételére, TOS¹).

2.4. Vonatkozó tulajdonságok

2.4.1. Kémiaileg meghatározott anyagok esetében: elektrosztatikus tulajdonságok, olvadáspont, forráspont, bomlási hőmérséklet, sűrűség, gőznyomás, vízben és szerves oldószerekben való oldhatóság, tömeg és adszorpciós spektrumok és egyéb vonatkozó fizikai tulajdonságok.

2.4.2. Mikroorganizmusok esetében: az azonosság megállapítására és a javasolt felhasználásra vonatkozó tulajdonságok (pl. vegetatív vagy spórás forma, CFU/g).

2.4.3. Enzimesztítmények esetében: optimális pH [érték(ek)], optimális hőmérséklet(ek) és egyéb vonatkozó tulajdonságok].

2.5. Gyártási és tisztítási folyamatok és alkalmazott táptalajok

A tételek összetételének változásai az előállítás során.

3. Az adalékanyag fiziko-kémiai, technológiai és biológiai tulajdonságai

3.1. Környezeti feltételekkel mint fény, hőmérséklet, pH, nedvesség és oxigén szembeni expozíció esetén mért stabilitás (mikroorganizmusok esetében: biológiai aktivitás vesztesége, pl. életképesség). Eltarthatóság.

3.2. Stabilitás (mikroorganizmusok esetében: biológiai aktivitás vesztesége, pl. életképesség) az előkeverékek és a takarmányok előállítása során, különös tekintettel a hő-, a nyomás- és a nedvességstabilitásra. Lehetséges bomlástermékek.

3.3. Stabilitás (mikroorganizmusok esetében: biológiai aktivitás vesztesége, pl. életképesség) az előkeverékek és a takarmányok meghatározott körülmények közötti tárolása során. Eltarthatóság.

3.3.1. Enzimesztítmények esetében: az enzimesztítménynek a takarmány alkotóelemeivel történő enzimikus vagy kémiai reakciói, vagy az enzimesztítménynek a takarmány tárolása alatti bomlása által képződött nem várt reakciótermékek részletezése.

¹ TOS (%) = 100 — (% hamu + víz + % hígítók és/vagy adalékanyagok és összetevők).

3.4. Egyéb vonatkozó fiziko-kémiai, technológiai és biológiai tulajdonságok, mint például homogén keverékek előállításának lehetősége az előkeverékekben és a takarmányokban, porképző tulajdonságok, valamint mikroorganizmusok, illetve enzimmészítmények esetében a lebomlás vagy a biológiai aktivitás elvesztésével szembeni ellenállás felmérése az emésztőszervekben, illetve in vitro szimulációs rendszerek segítségével.

3.5. Fiziko-kémiai vagy biológiai összeegyeztethetetlen-ségek vagy kölcsönhatások (pl. takarmányokkal, más engedélyezett adalékanyagokkal vagy gyógyszerkészítményekkel).

4. Az adalékanyag felhasználási feltételei

4.1. A takarmányozásban javasolt használat (pl. az állatfajok, korcsoportok és hasznosítási típusok, a takarmány típusa, beviteli és megvonási időszak).

4.2. Ellenjavallatok

4.3. Az előkeverékekbe és takarmányokba történő adagolás javasolt mértékét a következőképpen kell megadni:

a) kémiailag meghatározott anyagok esetében a hatóanyag mennyiségét, előkeverékeknél súlyszázalékban, takarmányoknál mg/kg-ban,

b) mikroorganizmusok esetében a termék biológiai aktivitásának megfelelő egységei, mint CFU/g, enzimmészítmények esetében az aktivitás megfelelő egységei.

4.4. A hatóanyag vagy a készítmény egyéb ismert felhasználási területei (pl. élelmiszerekben, humán- vagy állatgyógyászatban, mezőgazdaságban, iparban). Minden egyes felhasználási területre vonatkozóan meg kell adni a kereskedelmi elnevezéseket, javallatokat és ellenjavallatokat.

4.5. Szükség esetén meg kell adni az előállítás és kezelés során alkalmazandó megelőző és védőintézkedéseket.

5. Ellenőrzési módszerek

5.1. Az 1.3., 2.3—2.5., 3.1—3.4. és 4.3. pontok szerinti követelmények meghatározására szolgáló módszerek leírása.

5.2. Az előkeverékekben és a takarmányokban található adalékanyag rutinellenőrzésére szolgáló minőségi és mennyiségi analitikai módszerek leírása.

5.3. Az adalékanyagok állati termékekben található maradékanyagainak meghatározására szolgáló minőségi és mennyiségi analitikai módszerek leírása.

Megjegyzés: A módszerek és az eredmények leírásához csatolni kell a százalékos visszanyerésre, a specifikusságra, az érzékenységre, a kimutatási határértékekre, a lehetséges interferenciákra, a reprodukálhatóságra és az alkalmazott mintavételi módszerre vonatkozó információkat. Csatolni kell a készítmény és a hatóanyag referencia-szabványait is.

5.4. Mikroorganizmusok esetében meg kell jelölni a kimutatási, számozási, azonosító módszereket és az érintett piacokat.

III. Az adalékanyag hatékonyságára vonatkozó vizsgálatok

1. A takarmányok minőségjavulására vonatkozó vizsgálatok

1.1. Ezek a vizsgálatok azokra a technológiai adalékanyagokra vonatkoznak, amelyek az előkeverékek vagy takarmányok minőségének javítását vagy stabilizálását szolgálják, mint például az antioxidánsok, a tartósítószer-ek, a kötőanyagok, az emulgeátorok, a stabilizátorok, a zselésítő anyagok. Technológiai adalékanyagoknak tekinthető néhány mikroorganizmus, illetve enzimmészítmény is, amennyiben javítják a takarmány minőségét.

1.2. Az adalékanyag hatásait a tervezett felhasználási körülmények között, megfelelő kritériumok mellett, a negatív kontrollként használt takarmány, illetve, lehetőség szerint, ismert hatékonyságú technológiai adalékanyagokat tartalmazó takarmányokkal való összehasonlításra kell bizonyítani.

1.3. Minden kísérlet esetében ismertetni kell a vizsgált hatóanyagok, készítmények, előkeverékek és takarmányok pontos jellegét, a tételek hivatkozási számát, a hatóanyag koncentrációját az előkeverékekben és takarmányokban, a vizsgálati körülményeket (hőmérséklet, páratartalom stb.), valamint a vizsgálat időpontját és időtartamát, a kedvezőtlen, illetve a kísérlet során felmerült egyéb negatív hatásokat.

2. Az adalékanyagok állati termékekre gyakorolt hatásaira vonatkozó vizsgálatok

2.1. Ezek a vizsgálatok olyan zootechnikai adalékanyagokkal foglalkoznak, amelyek hatással vannak az állati termékekre. A következő vizsgálatokat, beleértve a dózis/reakció viszonyt, negatív kontrollcsoportokkal, illetve, lehetőség szerint, ismert hatékonyságú adalékanyagokat tartalmazó takarmányt fogyasztó csoportokkal történő összehasonlításban minden célfajon el kell végezni.

2.1.1. Amennyiben a hatóanyag aktív komponensek keveréke, valamennyi komponens jelenlétét indokolni kell.

2.2. Kokcidiosztatikumok és egyéb gyógyászati anyagok esetében a fontossági hangsúly elsősorban a különleges hatások bizonyítására és különösen a profilaktikus tulajdonságokra (pl. morbiditás, oocisza-számok, a gyengülés értékelése stb.) helyeződik. A táplálási hatékonyságra, az állat növekedésére, illetve az állati termékek forgalmazható mennyiségére és minőségére vonatkozó információkat csatolni lehet.

2.3. Egyéb zootechnikai adalékanyagok esetében (adott esetben beleértve mikroorganizmusokat, illetve enzimmészítményeket is) meg kell adni a tápanyag-hatékonyságra, az állati növekedésre, az állati termék jellemzőire és a hozamra, valamint az állatvédelemre és egyéb olyan paraméterekre gyakorolt hatásokra vonatkozó adatokat, amelyek az állattenyésztés eredményességére pozitív hatással vannak.

2.4. Kísérleti körülmények

Az elvégzett vizsgálatokról és azok eredményeiről egyedi és részletes ismertetést kell adni. A statisztikai elemzésről és az alkalmazott módszerekről jelentést kell készíteni. A következő adatokat kell rendelkezésre bocsátani:

2.4.1. Az állatok faja, fajtája, kora és neme, az azonosítási eljárás.

2.4.2. A vizsgálati és kontrolcsoportok száma, az egyes csoportokban lévő állatok száma. A mindkét nemből kiválasztott állatok száma meg kell, hogy feleljen a statisztikai követelményeknek.

2.4.3. A takarmányokban lévő hatóanyag (és összehasonlítási céllal más anyagok), a megfelelő, elismert módszerrel végzett ellenőrző analízis útján meghatározott koncentrációja. A tételek referenciaszáma. Az étrend minőségi és mennyiségi tápanyag-összetétele.

2.4.4. Valamennyi kísérlet helyszíne. Az állategészségügyi, fiziológiai, takarmányozási és tartási feltételek az alkalmazott általános gyakorlat szerint. A kontrolcsoportok kísérlet során történő szennyeződésének elkerülése érdekében végzett takarmányvizsgálatok és hozott intézkedések (különösen mikroorganizmusok esetében a takarmánynak a mikroorganizmus okozta átszennyeződése).

2.4.5. A vizsgálat időpontja és pontos időtartama. Az elvégzett vizsgálatok időpontja és jellege.

2.4.6. Kedvezőtlen hatások és a kísérlet során felmerült egyéb váratlan események és azok feltűnésének időpontja.

3. Az állati termékek minőségvizsgálata

Az adalékanyagot tartalmazó takarmányokkal etetett állatokból eredő termékek érzékszervi, táplálkozási, higiéniai és technológiai tulajdonságaira vonatkozó vizsgálatok.

IV. Az adalékanyag használatának biztonságára vonatkozó vizsgálatok

1. Az ebben a részben leírt vizsgálatok a következők elbírálására szolgálnak:

a) az adalékanyag célfajoknál történő biztonságos felhasználása,

b) a belégzésből, illetve a nyálkahártyával, szemmel vagy bőrrel történő érintkezésből eredő azon kockázatok, amelyek a magával az adalékanyaggal vagy az adalékanyagot tartalmazó előkeverékekkel, illetve a takarmányokkal dolgozó személyekre veszélyt jelentenek,

c) a fogyasztót érintő kockázatok, amelyek az adalékanyag maradáktartalmait vagy metabolitjait tartalmazó élelmiszerek fogyasztásából eredhetnek,

d) az adalékanyag által, vagy az abból eredő és az állatok által kiválasztott termékek által okozott környezetszennyezésből vagy a környezetben való tartós megmaradásából származó kockázatok,

e) a nem célfajokat fenyegető lehetséges kockázatok.

1.2. Az említett vizsgálatok elvégzése az adalékanyag jellegétől és a javasolt felhasználási feltételektől függően, egészben vagy részben kötelező.

1.3. Általános alapelv, hogy a használt mikroorganizmusok, illetve enzimmészítmények, a várható felhasználási feltételek mellett, a célfajokra és az emberekre nézve nem patogén és nem toxikus mikroorganizmusok, vagy ilyen mikroorganizmusokból származók legyenek.

1.4. Mikroorganizmusok, illetve enzimmészítmények esetében megfelelő biztonsági vizsgálatokat kell végezni, kivéve, ha más, a biztonságos felhasználásra vonatkozó egyéb megfelelő dokumentáció áll rendelkezésre. Mikroorganizmusok esetében legalább egy toleranciavizsgálatot kell végezni a célfajon.

1.5. Az állatok és növények fogyasztható részeiből nyert enzimek esetében nem kötelező toxikológiai vizsgálatokat végezni; amennyiben ilyen termékek általában nem képezik részét a szokásosan alkalmazott étrendnek, néhány toxikológiai vizsgálatot el kell végezni.

1.6. Amennyiben a hatóanyagok kémiaiilag meghatározott anyagok, a különböző célfajokban való metabolizmusuk, valamint a szövetmaradványok összetételének és biológiai hozzáférhetőségének ismerete nélkülözhetetlen a fogyasztót fenyegető kockázatok meghatározása céljából szükséges, laboratóriumi állatokon végzett vizsgálatok kiterjedésének megállapításához. Követelmény továbbá az adalékanyagból származó salakanyag-maradékok összetételének, valamint fiziko-kémiai és biológiai tulajdonságainak ismerete a környezetszennyezés és a környezetben való tartós megmaradás kockázatának felméréséhez szükséges vizsgálatok kiterjedésének megállapításához.

2. A célfajokra vonatkozó vizsgálatok

2.1. Az adalékanyag toxikológiai vizsgálatai

Toleranciavizsgálatok. A biológiai, toxikológiai, makroszkopikus és szövettani hatások vizsgálata. A javasolt maximális dózis-szint és a kedvezőtlen hatásokat eredményező szint közötti biztonsági határ meghatározása. Amennyiben kimutatható, hogy a kedvezőtlen hatásokat eredményező szint jóval a javasolt maximális adag szintje felett van, az említett biztonsági határértéket elegendő lehet minimális vagy közelítő értékben megadni.

2.2. Az adalékanyag mikrobiológiai vizsgálata

2.2.1. Amennyiben a hatóanyag kémiaiilag meghatározott anyag és antimikrobás aktivitással rendelkezik az adott takarmánykoncentrációban, el kell végezni az adalékanyag aktivitásának antibakteriális spektrum-vizsgálatát, a legkisebb gátlási koncentráció (MIC) különböző patogén és nem patogén, Gram-negatív és Gram-pozitív baktériumfajokban való meghatározásával.

2.2.2. A gyógyászati antibiotikumokkal szembeni kereszt-rezisztenciára vonatkozó, a MIL meghatározásán alapuló vizsgálatok, valamint vizsgálatok in vitro keletkeztetett, az adalékanyaggal szemben kromoszómális rezisztenciát mutató mutánsoknál. A gyógyászati antibiotikumokkal szemben rezisztens mikroorganizmusok esetében ki kell mutatni a rezisztencia genetikai alapját.

2.2.3. Vizsgálatok annak megállapítására, hogy az adalékanyag képes-e a rezisztencia-faktorok kiválasztására. Ezeket a vizsgálatokat helyszíni körülmények között kell elvégezni azon az állatfajon, amelynek elsődlegesen szánják az adalékanyagot. Következésképpen meg kell határozni, hogy az esetleg előforduló R-faktorok hordoznak-e többszörös rezisztenciát és átadhatók-e.

2.2.4. Az adalékanyagnak

a) az emésztőszervek mikroflórájára,
b) mikroorganizmusok vagy mikroorganizmusok több törzsének keveréke esetében az emésztőszervek kolonizációjára,

c) ha a hatóanyag kémiaiilag meghatározott anyag és antimikrobás aktivitással rendelkezik, a patogén mikroorganizmusok szétterjedésére és kiválasztására gyakorolt hatásainak meghatározására vonatkozó vizsgálatok.

2.2.5. Amennyiben a hatóanyag antimikrobás aktivitást mutat, az adalékanyaggal szemben rezisztens baktériumok százalékos arányát ellenőrző helyszíni vizsgálatokat kell végezni. Ezeket az adalékanyag használata előtt, közben és után, nagyobb (egy hónapos) időközökkel kell elvégezni.

2.2.6. Amennyiben a hatóanyag mikroorganizmus, meg kell állapítani, hogy antibiotikumokkal szemben rezisztens-e.

2.2.7. Amennyiben a hatóanyagot (pl. enzimkészítményt) mikroorganizmus termeli, meg kell határozni a megfelelő életképes organizmus szintjét.

2.2.8. Amennyiben az adalékanyag géntechnológiával módosított szervezetet tartalmaz, vagy abból áll, a következő adatokat kell megadni:

a) az illetékes hatóságok által a géntechnológiával módosított szervezetek szándékos kibocsátásához a kutatási és fejlesztési célokra vonatkozó minden írásos hozzájárulásának egy példányát, valamint a külön jogszabály szerinti bejelentés összefoglalását,

b) a teljes technikai dokumentáció, amely tartalmazza a külön jogszabályban meghatározott, és szükség esetén az adalékanyag különböző felhasználási helyeinek figyelembevétele szerint kiegészített adatokat; az adalékanyag felhasználásában esetlegesen érintett ökoszisztémákra vonatkozó kutatási és fejlesztési célú kibocsátások során nyert adatokra és eredményekre vonatkozó információkat; a termékben található GMO-val/kal kapcsolatos, az emberi, illetve állati egészséget és a környezetet fenyegető kockázatok értékelését, valamint a kibocsátás emberi egészségre és a környezetre gyakorolt hatására vonatkozó, a kutatási és fejlesztési szakasz során nyert adatokat,

c) az adalékanyag forgalomba hozatalának feltételei, beleértve a felhasználás és kezelés különleges feltételeit, valamint a címkézésre és csomagolásra vonatkozó azon javaslat, amely megfelel a külön jogszabály szerinti követelményeknek.

2.2.9. Amennyiben a bejelentett kibocsátás vagy más érdemi, igazolt tudományos indokok alapján a dokumentációért felelős személy úgy ítéli meg, hogy az adalékanyag

forgalomba hozatala vagy használata nem veszélyezteti az emberi, illetve állati egészséget és a környezetet, javasolhatja a külön jogszabályban meghatározott egy vagy több követelmény figyelmen kívül hagyását.

2.2.10. Csatolni kell a korábban bejelentett vagy bejelentés alatt álló, illetve a dokumentációért felelős személy által a Közösség területén belül vagy azon kívül végrehajtott azonos GMO vagy azonos kombinációjú GMO-k kibocsátásából nyert adatokra és eredményekre vonatkozó információt.

2.2.11. Más személyek által korábban eszközölt bejelentésekre vonatkozó egyéb adatokra vagy eredményekre is lehet hivatkozni, amennyiben ezek a személyek ahhoz írásbeli hozzájárulásukat adják.

2.3. A metabolizmusra és a maradékanyagokra vonatkozó vizsgálatok² (Kémiaiilag meghatározott hatóanyag esetében)

2.3.1. A metabolizmus vizsgálata

a) metabolikus egyensúly: a hatóanyag abszorpciójának és eliminációjának aránya és mértéke,

b) a metabolikus formák és a fő anyagcseretermékek azonosítása,

c) az anyagcseretermékek (epe, vizelet, ürülék) eloszlása és kiválasztódása,

d) adott esetben a bélben, illetve a bendőben lévő mikroflóra, az enterohepatikus körforgás, a cökotrófia kihatása a metabolizmusra.

2.3.2. A maradékanyagok analitikus vizsgálata: a maradékanyagok metabolikus egyensúlynál, az adalékanyag felhasználásának gyakorlati feltételei mellett vizsgált minőségi és mennyiségi összetétele (hatóanyag, anyagcseretermékek) a különböző állati eredetű élelmiszeripari termékekben.

2.3.3. A maradékanyagok kinetikus vizsgálata (az adalékanyag célzott használatnak megfelelő ismételt beadását követően): a hatóanyag és a fő anyagcseretermékek tartós megmaradása a különböző szervekben és szövetekben a kiegészített takarmány megvonása után.

2.3.4. A maradékanyagok biológiai hozzáférhetőségének vizsgálata az állati eredetű élelmiszeripari termékekben (lásd 4.8. pont).

2.3.5. Ellenőrzési módszerek: a 2.3.1—2.3.4. pont szerinti vizsgálatok során alkalmazott minőségi és mennyiségi meghatározási módszer leírása, a visszanyerési százaléokra, a sajátosságokra és a kimutatási határértékekre vonatkozó adatokkal. A maradékanyagok meghatározására alkalmazott módszereknek elég érzékenynek kell lenniük ahhoz, hogy a toxikológiailag elhanyagolható szintű maradékanyagok kimutatását is lehetővé tegyék.

² A 2.3.1., 2.3.3. és 2.3.4. pontokban említett vizsgálatokat címkézett molekulákkal vagy egyéb megfelelő módszerrel kell elvégezni, a használt módszer megválasztását minden esetben meg kell indokolni. A címkézésnek célnak megfelelőnek kell lennie.

Amennyiben az aktív anyag fermentációs termék, az említett vizsgálatokat ki kell terjeszteni az előállítási folyamat során nyert rokon anyagokra is.

3. A kiválasztott maradékanyagok vizsgálata (kémiai-lag meghatározott hatóanyagok esetében)

3.1. Az adalékanyagból származó maradékanyagok jellege és koncentrációja (hatóanyag, anyagcseretermékek) az ürülékben.

3.2. Az említett maradékanyagok tartós megmaradása (felezési idő-érték) és eliminációjának kinetikája híg trágyában, trágyalében és szemétben.

3.3. A metanogenezisre gyakorolt hatások.

3.4. Lebomlás, tartós megmaradás (felezési idő-érték) és az elimináció kinetikája talajban (talajtípusok szembeállítás).

3.5. A talaj állatvilágára és a mikrobás átalakulási folyamatokra (pl. növényi és állati maradékanyagok lebomlására) gyakorolt hatások.

3.6. A szárazföldi növényekre gyakorolt hatások (pl. magszírázás, a növény növekedése, anyagfelvétele). Ezeket a vizsgálatokat ellenőrzött, helyszíni körülmények mellett kell elvégezni, különböző növényfajok felhasználásával.

3.7. Az adalékanyagból származó termékek vízben való oldhatósága és stabilitása (hatóanyag, anyagcseretermékek).

3.8. A vízi élővilágra gyakorolt hatások.

3.8.1. A növényvilágra (pl. *Chlorella*) gyakorolt hatások.

3.8.2. Toxicitás gerinctelenek (pl. *Daphnia magna*) esetében.

3.8.3. Toxicitás halak esetében (a Közösség területén megtalálható legalább két vadon élő faj).

4. Laboratóriumi állatokra vonatkozó vizsgálatok

4.1. Ezeket a vizsgálatokat a hatóanyaggal és annak fő anyagcseretermékeivel vagy termékeivel kell elvégezni, ha ez utóbbi is megtalálható a fogyasztásra alkalmas állati termékben és biológiailag hozzáférhetőek. Lehetőség szerint olyan laboratóriumi állatok kiválasztására kell törekedni, amelyeknél az adalékanyag emésztése és metabolizmusa várhatóan az emberhez vagy a célfajokhoz hasonlóan történik.

4.1.1. Az elvégzett vizsgálatokról teljes részletességgel leírást kell készíteni. Ennek ki kell terjednie a használt állatfajokra és törzsekre, a vizsgálati és kontrollcsoportok nagyságára és számára, a bevitt dózisszintekre, az étrend összetételére és a takarmányanalitikai vizsgálatok eredményeire, a tartási körülményekre, a vizsgálatok pontos időtartamára, a különböző elvégzett vizsgálatok dátumaira és a természetes pusztulásra. A makroszkopikus patológiai és hisztopatológiai leleteket valamennyi vizsgált állat esetében teljes részletességgel kell bemutatni, minden patológiai elváltozás előfordulási idejének feltüntetésével. Valamennyi eredményt, a statisztikai értékeléseket is, teljes részletességgel kell bemutatni.

4.2. Akut toxicitás (a mikroorganizmusokra nem vonatkozik)

4.2.1. Az akut orális toxicitás-vizsgálatokat két állatfajon kell elvégezni (az egyik lehetőleg patkány legyen). A maximális adagolás nem haladhatja meg a 2000 mg/testtö-

meg kg-ot. A bevitel után legalább két hetes időtartam alatt megfigyelt biológiai hatásokról részletes leírást kell készíteni. Ezek a vizsgálatok nem vonatkoznak az enzimmészítményekre.

4.2.2. Az akut inhalációs toxicitásra, a bőr- és szükség esetén a nyálkahártya irritációra, illetve az allergenitásra vonatkozó megfelelő vizsgálatokat kell végezni az adalékanyag kezelése során felmerülő esetleges kockázatok értékelése céljából.

4.3. Mutagenitás

4.3.1. Kémiaiilag meghatározott hatóanyagok esetében

4.3.1.1. A mutagén tulajdonságokkal rendelkező hatóanyagok és anyagcseretermékeik, illetve termékeik azonosítására különböző genetikai végpontokon mutagenitás vizsgálatok válogatott kombinációját kell elvégezni. A metabolikus aktivitásra vonatkozó vizsgálatokat kell végezni, emlős mikroszóma készítmény jelenlétében és hiányában. A következő vizsgálatcsomag elvégzése ajánlott:

a) génmutációk vizsgálata egy prokarióta rendszerben,

b) génmutációk vizsgálata egy in vitro eukarióta rendszerben vagy egy nemhez kötött recesszív letális vizsgálat a *Drosophila melanogaster*-ben,

c) rendellenes kromoszóma-fejlődés in vitro és in vivo vizsgálata.

4.3.1.2. A fent ajánlott vizsgálatssorozat nem jelenti azt, hogy egyéb vizsgálatok nem alkalmazhatóak, vagy hogy egyéb vizsgálatokat, különös tekintettel az in vivo vizsgálatokra, ne lehetne alternatívaként elfogadni.

4.3.1.3. Minden esetben indokolni kell a vizsgálatok megválasztását. A vizsgálatokat validált módszerek szerint kell elvégezni. A kapott eredményektől függően, figyelembe véve az anyag teljes toxicitás-profilját, valamint a tervezett felhasználását, kiegészítő vizsgálatok javasolhatóak.

4.3.2. Mikroorganizmusokból nyert enzimmészítmények esetében általában az alábbi vizsgálatokat kell elvégezni:

a) génmutációk vizsgálata baktériumokban,

b) rendellenes kromoszóma-fejlődés vizsgálata (lehetőleg in vitro).

4.3.2.1. A toxikológiai vizsgálatokat lehetőleg a végső, tisztított fermentációs termék egy tételén, vívőanyagok, hígítók vagy más anyagok hozzáadása előtt kell elvégezni. Általános szabály, hogy az említett vizsgálatokat elismert nemzetközi intézetek által megállapított iránymutatások szerint kell elvégezni, bár bizonyos enzimmészítmények fehérjetermészete, illetve enzimatis aktivitása által a sejti szinten kifejtett hatások miatt szükséges lehet valamelyes eltérés a szabványos vizsgálati jegyzőkönyvektől, különösen az in vitro végzett vizsgálatok esetében. Ilyen eltérések megfelelő érvekkel történő alátámasztás esetén elfogadhatóak.

4.3.2.2. A vizsgálati rendszer úgy lett kialakítva, hogy a meghatározatlan toxikus reakciókat és géntoxikus hatásokat felfedje. Az általános leírásból és e vizsgálatok sorozatából kapott összesített információk lehetővé teszik a termék értékelését mind a meghatározott, jól ismert mérge-

anyagok, mind pedig az ismeretlen toxikus keverékek jelenlétét illetően.

4.3.2.3. A toxikológiai jelentésnek megfelelő dokumentációt kell tartalmaznia arról, hogy a vizsgálatokat a technológiai dokumentációban leírt kereskedelmi termék alapjául szolgáló anyagon végezték el.

4.4. Farmakokinetikus szempontok

Amennyiben a hatóanyag kémiaiilag meghatározott anyag, egyensúlyvizsgálatokat kell végezni, és azonosítani kell a anyagcseretermékeket megfelelő, címkézett molekulák vagy egyéb megfelelő technikák felhasználásával, és ennek ki kell terjednie a hatóanyag megfelelő időtartamok alatti egyszeri és többszöri adagolására. A metabolizmusvizsgálatoknak tartalmazniuk kell a hatóanyag és a fő anyagcseretermékek farmakokinetikus vizsgálatait is. A legmegfelelőbb fajoknak, a későbbi toxikológiai vizsgálatok céljára történő kiválasztásánál figyelembe kell venni azokat a különbségeket, amelyek a különböző fajok eltérő hatóanyag metabolizmusában mutatkoznak.

4.5. Szubkrónikus toxicitás

4.5.1. Ezeket a vizsgálatokat általában két állatfajon kell elvégezni (lehetőleg a patkány legyen az egyik). A második faj néhány esetben lehet az egyik célfaj. A vizsgálati anyagot szájon keresztül lehet beadni, és meg kell állapítani az adag-reakció kapcsolatot. Az időtartamnak rágszálóknál legalább 90 napnak kell lennie.

4.5.2. Bizonyos esetekben kívánatos lehet hat hónaptól két évig terjedő, kutyákon vagy más nem-rágszálókon végrehajtott vizsgálatok elvégzése, a különböző állatfajoknak a vizsgálati anyaggal szembeni eltérő érzékenységének megállapítása céljából.

4.5.3. Ezek a vizsgálatok a mikroorganizmusokra nem vonatkoznak. Mikroorganizmusokból nyert enzimek-szítványok esetében elégséges egy rágszálókon elvégzett, 90 napos, orális toxicitásvizsgálat.

4.6. Krónikus toxicitás/karcinogenicitás

4.6.1. A krónikus toxicitásvizsgálatokat egy állatfajon (lehetőleg patkányokon), a karcinogenitásra vonatkozó vizsgálatokat két rágszáló fajon kell elvégezni. Az anyagot szájon át, különböző dózisszinteken kell beadni. Az egyesített krónikus toxicitás/karcinogenicitás-vizsgálat in utero expozícióval szintén elfogadható. A kísérleteknek patkányok esetében legalább 24 hónapig, egerek esetében 18 hónapig kell tartaniuk. A minimális időtartam lejártá után a vizsgálatot be kell fejezni, ha a túlélési arány, a legmagasabb dózisszintű csoport kivételével, bármelyik csoportnál 20%-ra csökkent.

4.6.2. A kísérlet során, megfelelő időközönként teljes klinikai kémiai, hematológiai és vizeletvizsgálatot kell végezni. A vizsgálat során elpusztult és a vizsgálatot túlélő állaton teljes akroszkopikus és szövettani vizsgálatot kell elvégezni.

4.6.3. Ezek a vizsgálatok a mikroorganizmusokra és enzimek-szítványokra nem vonatkoznak.

4.7. Reprodukív toxicitás (amennyiben a hatóanyag kémiaiilag meghatározott anyag)

A reprodukcióra vonatkozó vizsgálatokat lehetőség szerint patkányon kell elvégezni. A vizsgálatokat legalább két

filiás nemzedéken át kell folytatni, és össze lehet vonni teratogén vizsgálatokat is magába foglaló embriotoxikológiai kísérletekkel. Valamennyi vonatkozó termékenységi, vemhességi, ellési, peri- és posztnatális paramétert gondosan fel kell jegyezni és továbbítani kell. A specifikus teratogén vizsgálatokat legalább két megfelelő fajon kell elvégezni.

4.8. Az anyagcseretermékek toxikológiája (amennyiben a hatóanyag kémiaiilag meghatározott anyag)

4.8.1. A maradékanyag-koncentráció kiszámításához szükséges adatokat be kell gyűjteni, mivel ez képezi az alapját az emberre vonatkozó kockázatfelmérésnek.

4.8.2. A javasolt megvonási időszak kiszámításának alapját rendelkezésre kell bocsátani. A 2.3.4. pont szerinti vizsgálatokat laboratóriumi állatokon kell elvégezni.

4.9. Egyéb vonatkozó vizsgálatok

Minden egyéb olyan különleges vizsgálat elvégezhető, amely a vizsgált anyag értékelésére nézve további hasznos információval szolgál (pl. biológiai hozzáférhetőség, neurotoxicitás vagy immunotoxicitás).

V. A monográfia formája

1. Az adalékanyag azonosítása

1.1. Javasolt kereskedelmi elnevezés(ek).

1.2. Az adalékanyag típusa fő funkciója szerint.

1.3. Minőségi és mennyiségi összetétel (hatóanyag, egyéb alkotóelemek, szennyező anyagok).

1.4. Halmazállapot, részecskeméret.

1.5. Esetleges különleges eljárások.

Megjegyzés: Amennyiben a hatóanyag olyan aktív alkotóelemek keveréke, amelyek mindegyike világosan meghatározható, a fő alkotóelemeket külön kell leírni, a keverékbeli arányaik megadásával.

2. A hatóanyag részletes leírása

2.1. Kémiaiilag meghatározott anyagok esetében: szokásos név, kémiai elnevezés az IUPAC Nomenklátúra szerint, egyéb nemzetközi szokásos nevek és rövidítések. CAS-szám (Chemical Abstracts Service).

2.1.1. Mikroorganizmusok esetében: elnevezés és taxonómiai leírás a nemzetközi Nomenklátúra Kód szerint. Egyéb nemzetközileg elismert osztályozási kézikönyvek is használhatóak.

2.1.2. Enzimek-szítványok esetében: a fő enzimek-szítványok szerinti elnevezés az IUB/IUPAC leírása szerint. EINECS- és CAS-szám.

2.2. Tapasztalati és szerkezeti képlet, molekulásúly. A fő alkotóelemek minőségi és mennyiségi összetétele, ha a hatóanyag fermentációs termék.

2.2.1. Mikroorganizmusok esetében: a nemzetközi letéteményes hatóságként elismert tenyészet-gyűjtemény neve és címe, lehetőleg az Európai Unión belül, ahol a Nemzetközi letéteményes hatóság a mikroorganizmusok szabadalmaztatási eljárás céljára történő nemzetközi elismeréséről szóló Budapesti Szerződés 7. cikke szerint a törzset letétbe

helyezték, a letéti szám, géntechnológiai módosítás és az azonosításhoz szükséges összes vonatkozó tulajdonság.

2.2.2. Enzimmészítmények esetében: biológiai eredet (mikrobás eredet esetében: a nemzetközi letéteményes hatóságként elismert tenyészet-gyűjtemény neve és címe, lehetőleg az Európai Unión belül, ahol a törzset letétbe helyezték, a letéti szám, géntechnológiai módosítás és az azonosításhoz szükséges összes vonatkozó tulajdonság), a megfelelő kémiai tisztaság mintá-szubsztrátumokon végzett aktivitás és más fiziko-kémiai jellemzők.

2.3. Tisztasági fok

2.3.1. A szennyező anyagok minőségi és mennyiségi összetétele.

2.3.2. Mikroorganizmusok esetében: genetikai stabilitás és a kitenyésztett törzsek tisztasága.

2.3.3. Enzimmészítmények esetében:

a) tisztaság [a szennyező mikroorganizmusok szintjének ellenőrzése, nehézfémek, az alapszervezetből nyert mérőanyagok (pl. mikotoxinok) hiánya, megfelelő módszer alapján kimutatva],

b) antimikrobás aktivitás hiánya a takarmánkoncentráció szintjén, megfelelő módszer alapján megállapítva,

c) nem-enzimikus alkotóelemek összetétele (különös tekintettel a Szerves Szilárd Testek Összetételére, T.O.S.).

2.4. Lényeges tulajdonságok

2.4.1. Kémiai meghatározott anyagok esetében: elektrosztatikus tulajdonságok, olvadáspont, forráspont, bomlási hőmérséklet, sűrűség, gőznyomás, vízben és szerves oldószerekben való oldhatóság, tömeg, abszorpciós spektrumok és egyéb megfelelő fizikai tulajdonságok.

2.4.2. Mikroorganizmusok esetében: az azonosítás és a javasolt használat szempontjából releváns tulajdonságok (pl. vegetatív vagy spórás forma, CFU/g).

2.4.3. Enzimmészítmények esetében: optimális pH érték(ek), optimális hőmérséklet(ek) és egyéb vonatkozó tulajdonságok.

3. Az adalékanyag fiziko-kémiai, technológiai és biológiai tulajdonságai

3.1. Stabilitás (mikroorganizmusok esetében: biológiai aktivitás, pl. életképesség elvesztése) a környezeti hatásokkal szembeni expozíció esetén, mint fény, hőmérséklet, pH, nedvesség és oxigén. Eltarthatóság.

3.2. Stabilitás (mikroorganizmusok esetében: biológiai aktivitás, pl. életképesség elvesztése) az előkeverékek és a takarmányok előállítása alatt, különös tekintettel a hővel, nyomással és nedvességgel szembeni stabilitásra. Lehetséges bomlástermékek.

3.3. Stabilitás (mikroorganizmusok esetében: biológiai aktivitás, pl. életképesség elvesztése) az előkeverékek és a takarmányok meghatározott körülmények közötti tárolása során. Eltarthatóság.

3.4. Egyéb megfelelő fiziko-kémiai, technológiai vagy biológiai tulajdonságok, mint homogén keverékek nyelésének képessége az előkeverékekben és takarmányokban, porképző tulajdonságok, valamint mikroorganizmusok, il-

letve enzimmészítmények esetében a lebomlás vagy a biológiai aktivitás csökkenésével vagy elvesztésével szembeni rezisztencia mérése az emésztőszervekben, illetve in vitro szimulációs rendszerek segítségével.

3.5. Fiziko-kémiai vagy biológiai inkompatibilitás vagy kölcsönhatások (pl. takarmányokkal, más elfogadott adalékanyagokkal vagy gyógyászati termékekkel).

4. Ellenőrzési módszerek

4.1. Az 1.3., 2.3., 2.4., 3.1., 3.2., 3.3. és 3.4. pontok szerinti követelmények megállapítására szolgáló módszerek leírása.

4.2. Az állati termékekben található maradékanyagok meghatározására szolgáló minőségi és mennyiségi analitikai módszerek leírása.

4.3. Ha a fent említett módszerek már publikálásra kerültek, a szakirodalmi hivatkozások megadása elegendő lehet és az ehhez tartozó másolatok csatolandók.

5. Az adalékanyag biológiai tulajdonságai

5.1. A profilaktikus hatásokra vonatkozó adatok a kokcidiosztatikumok és egyéb gyógyászati anyagok esetében (morbilitás, oociszta-szám stb.).

5.2. Az 5.1. pontban nem említett zootechnikai adalékanyagok, adott esetben mikroorganizmusok, illetve enzimmészítmények esetében: a takarmányhasznosításra, a növekedésre és az állati termékek jellemzőire és hozamára, az állatok megfelelő tartási körülményeire, és egyéb, az állattenyésztést pozitívan befolyásoló paraméterekre gyakorolt hatások.

5.3. Esetleges ellenjavallatok vagy figyelmeztetések, ideértve a biológiai összeférhetetlenséget is, az azok indoklására szolgáló adatokkal.

6. Az állati termékekben az adalékanyag előírányzott felhasználását követően esetlegesen talált maradékanyagok minőségi és mennyiségi adatai.

7. Az adalékanyag azonosítására alkalmas egyéb jellemzők.

3. számú függelék

A. Rész

a) Antibiotikumok: minden ebbe a csoportba tartozó takarmány-adalékanyag.

b) Kokcidiosztatikumok és egyéb állatgyógyászati készítmények: minden ebbe a csoportba tartozó takarmány-adalékanyag.

c) Hozamfokozók: minden ebbe a csoportba tartozó takarmány-adalékanyag.

B. Rész

a) Nyomelemek: réz és szelén.

b) Vitaminok, provitaminok és kémiai egyértelműen meghatározott, hasonló hatású anyagok: A- és D-vitamin.

IV. Az R. 5. számú mellékletének módosítása

1. Az R. 5. számú mellékletének 2. pontjához tartozó 1. és 2. lábjegyzet helyébe a következő rendelkezések lépnek:

„¹ A nyersfehérje tartalmát a 10. számú melléklet IV. módszerével kell meghatározni.

² A nyers zsírtartalmát a 10. számú melléklet XI. számú módszerével kell meghatározni.”

2. Az R. 5. számú mellékletének 6. pontja helyébe a következő rendelkezés lép:

„6. A cukortartalmát a 10. számú melléklet XIII. számú módszerével, a keményítőtartalmát a 10. számú melléklet XV. számú módszerével kell meghatározni.”

V. Az R. 6. számú mellékletének módosítása

Az R. 6. számú melléklete A. Része I. fejezete 3.3. és 3.4. pontja helyébe a következő rendelkezések lépnek:

„3.3. Szakirányú felsőfokú végzettségnek tekintendő az agrár üzemmérnök, az okleveles agrár-mérnök, a takarmánygazdálkodási üzemmérnök, az okleveles takarmánygazdálkodási szakmérnök, a mezőgazdasági gépész üzemmérnök, az okleveles mezőgazdasági gépészmérnök, az állatorvos, a gyógyszerész, az okleveles vegyészmérnök, az okleveles agrárvegyész, az élelmiszer-technológus üzemmérnök és az élelmiszer-ipari menedzser.

3.4. Középfokú szakirányú végzettségnek tekintendő a mezőgazdasági gépész- és vegyésztéchnikus, valamint az élelmiszer-ipari technikus (malom és keveréktakarmány gyártó).”

VI. Az R. 10. számú mellékletének módosítása

Az R. 10. számú melléklete a következő XXXVII—XLVII. fejezettel egészül ki:

„XXXVII.

A spiramicin diffúzióval történő meghatározása agar táptalajban

1. Cél és alkalmazási terület

A módszer a spiramicin takarmányokban és előkeverékekben történő meghatározására szolgál. A meghatározás alsó méréshatára 1 mg/kg (1 ppm).¹

2. Vizsgálati alapelv

A mintát metil-alkohol/foszfát-bikarbonát puffer pH 8-as keverékével extraháljuk. A kivonatot dekantáljuk vagy centrifugáljuk és hígítjuk. Antibiotikus aktivitását a spiramicin *Micrococcus luteus*-sal beoltott agar táptalajon végbemenő diffúziójának mérésével határozzuk meg. A diffúziót a mikroorganizmus gátlási zónáinak képződése jelzi. Ezen zónák átmérője egyenes arányban áll az antibiotikum koncentrációnak az alkalmazott antibiotikum koncentrációk tartománya feletti logaritmusával.

¹ 1 mg spiramycin bázis 3200 nemzetközi egységnek (NE) felel meg.

3. Mikroorganizmus: *Micrococcus luteus* ATCC 9341 (NCTC 8340, NCIB 8553)

3.1. A törzstenyészet fenntartása

Oltsunk be ferde táptalajokat (4.1.) tartalmazó csöveket *Micrococcus luteus*-sal, majd inkubáljuk 30 °C-on 24 órán át. A tenyészetet hűtőgépben tároljuk, 4 °C körüli hőmérsékleten. Kéthetenként oltsuk át.

3.2. A baktérium-szuszpenzió elkészítése

2-3 ml nátrium-klorid oldat (4.3.) segítségével gyűjtsük be egy nemrégiben elkészített ferde agarról (3.1.) a növekményt. Ezzel a szuszpenzióval oltsunk be 250 ml, Roux lombikban lévő táptalajt (4.1.) és inkubáljuk 30 °C-on 18-20 órán át. Gyűjtsük be a növekményt 25 ml nátrium-klorid oldatban (4.3.), majd keverjük össze. Hígítsuk fel a szuszpenziót nátrium-klorid oldattal (4.3.) 1/10 arányban. A szuszpenzióknak 650 nm-en, 1 cm-es cellában nátrium-klorid oldat (4.3.) ellenében mért fényáteresztő képessége 75% körüli kell, hogy legyen. Ez a szuszpenzió 4 °C körüli hőmérsékleten egy hétig tárolható.

4. Táptalajok és reagensek

4.1. Alap táptalaj²

Hús pepton	6,0 g
Trypton	4,0 g
Élesztőkivonat	3,0 g
Húskivonat	1,5 g
Glükóz	1,0 g
Agar	10,0-20,0 g
Víz	1 000 ml
pH 6,5-6,6 (sterilizálás után)	

4.2. Vizsgálati táptalaj³

Trypton	5,0 g
Élesztőkivonat	4,0 g
Húskivonat	3,0 g
Agar	10,0-20,0 g
Víz	1 000 ml
pH 8,0 (sterilizálás után)	

4.3. 0,8%-os (w/v) nátrium-klorid oldat

Vízben oldjunk fel 8 g nátrium-kloridot, majd hígítsuk 1 000 ml-re; sterilizáljuk.

² Más módszerek is alkalmazhatók, ha megállapítást nyert, hogy azok hasonló baktérium szuszpenziókat eredményeznek.

³ Minden hasonló összetételű és ugyanezeket az eredményeket adó kereskedelmi táptalaj felhasználható.

4.4. Foszfát-bikarbonát puffer, pH 8,0

Dikálium-hidrogén-foszfát K_2HPO_4	16,7 g
Kálium-dihidrogén-foszfát KH_2PO_4	0,5 g
Nátrium-hidrogén-karbonát $NaHCO_3$	20,0 g
Vízzel kiegészítve	1 000 ml-re

4.5. Metilalkohol/foszfát-bikarbonát puffer keverék (4.4.)

50/50 (v/v).

4.6. Standard anyag

Ismert aktivitású spiramicin (NE-ben).

5. Standard oldatok

Oldjuk fel a standard anyag (4.6.) pontosan kimért mennyiségét a keverékben (4.5.), majd hígítsuk fel ugyanazzal a keverékkel, hogy egy 1000 NE/ml spiramicint tartalmazó törzsoldatot kapjunk. Lezárt lombikban 4 °C-on tárolva az oldat 5 napig eltartható.

A törzsoldatnak a keverékkel (4.5.) történő többszöri hígításával készítsük el a következő oldatokat:

S8	1	NE/ml
S4	0,5	NE/ml
S2	0,25	NE/ml
S1	0,125	NE/ml

6. A kivonat- és vizsgálati oldatok elkészítése

6.1. Extrakció

Mérjük ki takarmányok esetében 20,0 g, előkeverékek esetében 1,0-20,0 g mintát. Adjunk hozzá 100 ml-t a keverékből (4.5.), majd rázzuk 30 percig. Centrifugáljuk vagy dekantáljuk, majd a felülúszó oldatot hígítsuk fel a keverékkel (4.5.), hogy megközelítőleg 1 NE/ml spiramicin-tartalmat (= U8) kapjunk.

Azoknál a takarmányoknál, ahol a várható spiramicin-szintek 2,5 mg/kg-nál alacsonyabbak, ott az extrakciót a következők szerint kell elvégezni: Mérjük ki 20 g mintamennyiséget. Adjunk hozzá 100 ml-t a keverékből (4.5.), majd rázzuk 30 percig. Centrifugáljuk néhány percig, vegyünk ki a felülúszó oldatból 50 ml-t és azt egy rotációs bepárlókészülékben, csökkentett nyomáson, 40 °C-ot meg nem haladó hőmérsékleten pároljuk be körülbelül 4 ml-re. A maradékot hígítsuk fel a keverékkel (4.5.), hogy megközelítőleg 1 NE/ml spiramicin-tartalmat (= U8) kapjunk.

6.2. Vizsgálati oldatok

Az U8 oldatnak a keverékkel (4.5.) történő többszöri hígításával (1+1) készítsünk U4 (várható tartalom: 0,5 NE/ml), U2 (várható tartalom: 0,25 NE/ml) és U1 (várható tartalom: 0,125 NE/ml) oldatokat.

7. A vizsgálat módja

7.1. A vizsgálati táptalaj beoltása

Oltsuk be a vizsgálati táptalajt (4.2.) a baktérium-szuszpenzióval (3.2.), körülbelül 50 °C-on. A vizsgálati táptalajt (4.2.) tartalmazó lemezeken végzett előzetes vizsgálatok segítségével határozzuk meg azt a szükséges baktérium-szuszpenzió mennyiséget, amely a különböző spiramicin koncentrációkkal a legnagyobb és legtisztább gátlási zónákat adja.

7.2. A lemezek elkészítése

Az agardiffúziót a négy standard oldat koncentrációval (S8, S4, S2, S1) és a négy vizsgálati oldat koncentrációval (U8, U4, U2, U1) öntött lemezeken végezzük. A standardnak és a kivonatnak ezt a négy-négy koncentrációját minden egyes lemezen el kell helyezni. Ennek érdekében megfelelő nagyságú lemezeket kell választanunk ahhoz, hogy az agar táptalajon legalább nyolc darab, 10-13 mm átmérőjű, egymástól legalább 30 mm távolságra lévő lyukakat fúrassunk. A vizsgálat olyan lemezekon végezhető el, amelyek egy üveglapból és egy 200 mm átmérőjű és 20 mm magas csiszolt alumínium vagy műanyag karimagyűrűből állnak.

A lemezekre öntsünk annyi, a 7.1. pont szerint beoltott táptalajt (4.2.), hogy az egy körülbelül 2 mm vastagságú réteget képezzen (200 mm átmérőjű lemez esetében ez 60 ml). Hagyjuk egyenletesen eloszlan, fúrjuk ki a lyukakat, és helyezzük el bennük a vizsgálati és standard oldatok pontosan kimért mennyiségeit (az átmérő függvényében lyukanként 0,10 és 0,15 ml között). Minden koncentrációt legalább négy alkalommal alkalmazzunk, hogy minden meghatározás 32 gátlási zóna értékelésén alapuljon.

7.3. Inkubálás

Inkubáljuk a lemezeket 30 ± 2 °C-on, 16-18 órán át.

8. Kiértékelés

8.1. A gátlási zónák átmérőjét 0,1 mm-es pontossággal mérjük meg. Fél-logaritmikus milliméterpapírra jegyezzük fel minden koncentrációnál a mérések középértékeit, jelezve a koncentrációknál a gátlási zónák átmérőihöz viszonyított logaritmusát. Szerkesszük meg mind a standard oldat, mind a kivonat regressziós vonalát, például az alábbiak szerint.

8.2 Határozzuk meg a standard legalacsonyabb szint (SA) regressziós pontját a következő képlet segítségével:

$$(a) \quad S_A = \frac{7S_1 + 4S_2 + S_4 - 2S_8}{10}$$

8.3. Határozzuk meg a standard legmagasabb szint (SM) regressziós pontját a következő képlet segítségével:

$$(b) \quad S_M = \frac{7S_8 + 4S_4 + S_2 - 2S_1}{10}$$

8.4. Hasonló módon számítsuk ki a regressziós pontokat a kivonat legalacsonyabb szintjére (UA) és a kivonat legmagasabb szintjére (UM) a fenti képletekben az s_1 , s_2 , s_4 és s_8 helyeire u_1 , u_2 , u_4 és u_8 behelyettesítésével.⁴

8.5. Jegyezzük fel a kiszámított S_A és S_M értékeket ugyanarra a milliméterpapírra és kössük össze őket, hogy kiadják a standard oldat regressziós vonalát. Hasonló módon jegyezzük fel az UA és UM értékeket és kössük össze őket, hogy kiadják a kivonat regressziós vonalát.

8.6. Ha nem lép fel interferencia, a vonalaknak párhuzamosoknak kell lenniük. Gyakorlati megfontolásból a vonalakat párhuzamosnak tekinthetjük, ha az $(S_M - S_A)$ és $(UM - UA)$ középértékeitől való eltérése nem haladja meg a 10%-ot.

8.7. Ha a vonalak nem tekinthetők párhuzamosnak, akkor vagy az u_1 és s_1 , vagy az u_8 és s_8 elhanyagolható, az S_A , S_M , UA és UM értékek pedig alternatív képletekkel számolhatók ki, hogy megkapjuk az alternatív regressziós vonalakat:

$$(a') \quad S_A = \frac{5S_1 + 2S_2 - S_4}{6} \quad \text{vagy} \quad S_A = \frac{5S_2 + 2S_4 - S_8}{6}$$

$$(b') \quad S_M = \frac{5S_4 + 2S_2 - S_1}{6} \quad \text{vagy} \quad S_M = \frac{5S_8 + 2S_4 - S_2}{6}$$

és hasonló módon az UA-ra és UM-ra vonatkozóan. Ugyanaz a párhuzamossági feltétel érvényes ebben az esetben is. Azt a tényt, hogy az eredmény kiszámítása három tényező alapján történt, fel kell tüntetni a zárójelentésen.

8.8 Ha a vonalak párhuzamosnak tekinthetők, akkor számoljuk ki a relatív aktivitás logaritmusát ($\log A$) a következő képletek egyikének felhasználásával, attól függően, hogy három vagy négy tényező alapján történt a párhuzamosság megállapítása.

8.8.1. Négy tényező esetén

$$(c) \quad \log A = \frac{(U_1 + U_2 + U_4 + U_8 - S_1 - S_2 - S_4 - S_8) \times 0,602}{U_4 + U_8 + S_4 + S_8 - U_1 - U_2 - S_1 - S_2}$$

8.8.2. Három tényező esetén

$$(d) \quad \log A = \frac{(U_1 + U_2 + U_4 - S_1 - S_2 - S_4) \times 0,401}{U_4 + S_4 - U_1 - S_1}$$

vagy

$$(d') \quad \log A = \frac{(U_2 + U_4 + U_8 - S_2 - S_4 - S_8) \times 0,401}{U_8 + S_8 - U_2 - S_2}$$

A mintakivonat aktivitása = a megfelelő standard aktivitása $\times A$

⁴ Az 's' és 'u' kisbetűk a gátlási zónák átmérőit jelölik.

$$(U_8 = S_8 \times A)$$

8.9. Ha a relatív aktivitás a 0,5 és 2,0 közötti tartományon kívül esik, akkor ismételjük meg a vizsgálatot a kivonat koncentrációin, vagy ahol ez nem lehetséges, ott a standard oldatokon végzett megfelelő módosításokkal. Ha a relatív aktivitást nem tudjuk az előírt tartományon belül tartani, akkor bármely kapott eredményt közelítő eredménynek kell tekinteni, és ezt fel kell tüntetni a zárójelentésen.

8.10. Ha a vonalak nem tekinthetők párhuzamosnak, meg kell ismételni a meghatározást. Ha a párhuzamosságot még ezután sem sikerül elérni, akkor a meghatározást nem kielégítőnek kell tekinteni.

8.11. Az eredményt a takarmány kilogrammjában lévő spiramicin-bázis milligrammos értékében fejezzük ki.

9. Ismételhetőség

Az ugyanazon mintán, ugyanazon analitikus által, párhuzamosan végzett két meghatározás eredménye közötti különbség nem haladhatja meg:

- a 10 mg/kg alatti spiramicin-bázis tartalmak esetén a 2 mg/kg-ot, abszolút értékben,
- a 10 és 25 mg/kg közötti tartalmak esetén a legmagasabb érték 20%-át,
- a 25 és 50 mg/kg közötti tartalmak esetén az 5 mg/kg-ot, abszolút értékben,
- az 50 mg/kg feletti tartalmak esetén a legmagasabb érték 10%-át.

XXXVIII.

Virginiamicin meghatározása agar táptalajon történő diffúzióval

1. Cél és alkalmazási terület

A módszer a virginiamicin takarmányokban és előkeverékekben történő meghatározására szolgál. A meghatározás alsó határa 2 mg/kg (2 ppm).⁵

2. Vizsgálati alapelv

A mintát Tween 80 metilalkoholos oldatával extraháljuk. A kivonatot dekantáljuk vagy centrifugáljuk, majd felhígítjuk. Antibiotikus aktivitását a virginiamicin *Micrococcus luteus*sal beoltott agar táptalajban történő diffúziójának mérésével határozzuk meg. A diffúziót a mikroorganizmus gátlási zónáinak képződése jelzi. Ezeknek a zónáknak az átmérője egyenes arányosnak tekinthető az antibiotikum koncentrációnak az alkalmazott antibiotikum koncentrációk tartományával szembeni logaritmusával.

3. Mikroorganizmus: *Micrococcus luteus* ATCC 9341 (NCTC 8340, NCIB 8553)

3.1. A törzstenyészet fenntartása

Oltsunk be ferde táptalajokat (4.1.) tartalmazó csöveket *Micrococcus luteus*sal, majd inkubáljuk 30 °C-on 24 órán át. A tenyészetet hűtőgépben tároljuk, 4 °C körüli hőmérsékleten. Kéthetenként oltuk át.

⁵ 1 mg virginiamycin 1000 UK egységnek felel meg.

3.2. A baktérium-szuszenzió elkészítése⁶

2-3 ml nátrium-klorid oldat (4.3.) segítségével gyűjtsük be egy nemrégiben elkészített ferde agarról (3.1.) a növekményt. Ezzel a szuszenzióval oltunk be 250 ml, Roux lombikban lévő táptalajt (4.1.) és inkubáljuk 30 °C-on 18-20 órán át. Gyűjtsük be a növekményt 25 ml nátrium-klorid (4.3.) oldatban, majd keverjük össze. Hígítsuk fel a szuszenziót nátrium-klorid oldattal (4.3.) 1/10 arányban. A szuszenziónak a 650 nm-en, 1 cm-es cellában mért fényáteresztő képességének a nátrium-klorid (4.3.) ellenében 75% körülinek kell lennie. Ez a szuszenzió 4 °C körüli hőmérsékleten egy hétig tárolható.

4. Táptalajok és reagensek

4.1. Alap- és vizsgálati táptalaj⁷

Hús pepton	6,0 g
Tripton	4,0 g
Élesztőkivonat	3,0 g
Húskivonat	1,5 g
Glükóz	1,0 g
Agar	10,0-20,0 g
Víz	1000 ml
pH 6,5 (sterilizálás után)	

4.2. Foszfát puffer, pH 6

Kálium-hidrogén-foszfát K_2HPO_4	2,0 g
Kálium-dihidrogén-foszfát KH_2PO_4	8,0 g
Vízzel kiegészítve	1000 ml-re

4.3. 0,8%-os (w/v) nátrium-klorid oldat: oldjunk fel vízben 8 g nátrium-kloridot, majd hígítsuk 1000 ml-re; sterilizáljuk.

4.4. Metil-alkohol.

4.5. Foszfát puffer (4.2.)/metil-alkohol (4.4.) keveréke: 80/20 (v/v)

4.6. Tween 80 0,5%-os (w/v) metil-alkoholos oldata: oldjunk fel metil-alkoholban 5 g Tween 80-at, majd metil-alkohollal hígítsuk 1000 ml-re.

4.7. Standard anyag: ismert aktivitású virginiamicin.

5. Standard oldatok

Oldjuk fel a standard anyag (4.7.) pontosan kimért mennyiségét metil-alkoholban (4.4.), majd hígítsuk fel metil-alkohollal, hogy 1000 µg/ml virginiamicint tartalmazó törzsoldatot kapjunk. Lezárt lombikban 4 °C-on tárolva az oldat 5 napig eltartható. Ebből a törzsoldatból, a keveréssel (4.5.) történő egymást követő hígításokkal készítsük el a következő oldatokat:

⁶ Más módszerek is alkalmazhatók, ha megállapítást nyert, hogy azok hasonló baktérium szuszenziókat eredm ényeznek.

⁷ Minden hasonló összetételű és ugyanezeket az eredményeket adó kereskedelmi táptalaj felhasználható.

s8	1	µg/ml
s4	0,5	µg/ml
s2	0,25	µg/ml
s1	0,125	µg/ml

6. A kivonat és a vizsgálati oldatok elkészítése

6.1. Extrakció

6.1.1. 100 mg/kg vagy az alatti virginiamicin tartalmú termékek.

Mérjünk ki 50 g mintát, adjunk hozzá 200 ml oldatot (4.6.), majd rázzuk 30 percig. Hagyjuk leülepedni vagy centrifugáljuk, majd vegyünk ki a felülúszó oldatból 20 ml-t és azt egy rotációs bepárlóban, 40 °C-on meg nem haladó hőmérsékleten pároljuk be körülbelül 5 ml-re. A maradékot hígítsuk fel a keverékkel (4.5.), hogy megközelítőleg 1 µg/ml virginiamicin-tartalmat (= u8) kapjunk.

6.1.2. 100 mg/kg-nál nagyobb virginiamicin tartalmú termékek. Mérjünk ki 10,0 g-ot meg nem haladó mintamennyiséget a mintából, amely 1 és 50 mg közötti virginiamicint tartalmaz, adjunk hozzá 100 ml oldatot (4.6.), majd rázzuk 30 percig. Hagyjuk leülepedni vagy centrifugáljuk, majd a felülúszó oldatot hígítsuk fel a keverékkel (4.5.), hogy megközelítőleg 1 µg/ml virginiamicin tartalmat (= u8) kapjunk.

6.2. Vizsgálati oldatok

Az u8 oldatból a keverékkel (4.5.) történő egymást követő hígítással (1+1) készítsünk u4 (várható tartalom: 0,5 µg/ml), u2 (várható tartalom: 0,25 µg/ml) és u1 (várható tartalom: 0,125 µg/ml) oldatokat.

7. A vizsgálat módja

7.1. A vizsgálati táptalaj beoltása

Oltsuk be a vizsgálati táptalajt (4.1.) a baktérium-szuszpenzióval (3.2.), körülbelül 50 °C-on. A vizsgálati táptalajt (4.1.) tartalmazó lemezekon végzett előzetes vizsgálatokkal határozzuk meg azt a szükséges baktérium-szuszpenzió mennyiséget, amely a különböző virginiamicin koncentrációkkal a legnagyobb és legtisztább gátlási zónákat adja.

7.2. A lemezek elkészítése

Az agardiffúziót a négy standard oldat koncentrációjával (s8, s4, s2, és s1) és a négy vizsgálati oldat koncentrációjával (u8, u4, u2, u1) öntött lemezekon végezzük. A standard és a kivonat ezen négy-négy koncentrációját minden egyes lemezre fel kell vinni. Ezért megfelelő nagyságú lemezeket kell választanunk ahhoz, hogy az agar táptalajban legalább nyolc darab, 10-13 mm átmérőjű, egymástól legalább 30 mm távolságra lévő lyukat alakíthassunk ki. A vizsgálat olyan lemezekon végezhető el, amelyek egy üveglapból és egy annak tetejére helyezett, 200 mm átmérőjű és 20 mm magas csiszolt alumínium vagy műanyag karimagyűrűből állnak.

A lemezekre öntsünk annyi, a 7.1. pont szerint beoltott táptalajt (4.1.), hogy az egy körülbelül 2 mm vastagságú réteget alkosson (200 mm átmérőjű lemez esetében ez 60 ml). Hagyjuk egyenletesen eloszlani, fúrjuk ki a lyukakat és helyezzük el bennük a vizsgálati és standard oldatok pontosan kimért

mennyiségeit (az átmérő függvényében lyukanként 0,10 és 0,15 ml közötti mennyiség). Minden koncentrációt legalább négyszer alkalmazzunk, hogy minden meghatározás 32 gátlási zóna kiértékelése alapján történjen.

7.3. Inkubáció

Inkubáljuk a lemezeket 30 ± 2 °C-on, 16-18 órán át.

8. Kiértékelés

8.1. Mérjük meg a gátlási zónák átmérőjét 0,1 mm-es pontossággal. Fél-logaritmikus milliméterpapírra jegyezzük fel az egyes koncentrációknál mért eredmények középértékeit, jelezve a koncentrációk logaritmusát a gátlási zónák átmérőivel összefüggésben. Szerkesszük meg mind a standard oldat, mind a kivonat regressziós vonalát, például az alábbiak szerint.

8.2. Határozzuk meg a standard legalacsonyabb szint (SA) regressziós pontját a következő képlet segítségével:

$$(a) \quad S_A = \frac{7S_1 + 4S_2 + S_4 - 2S_8}{10}$$

8.3. Határozzuk meg a standard legmagasabb szint (SM) regressziós pontját a következő képlet segítségével:

$$(b) \quad S_M = \frac{7S_8 + 4S_4 + S_2 - 2S_1}{10}$$

8.4. Hasonló módon számítsuk ki a regressziós pontokat a kivonat legalacsonyabb szintjére (UA) és a kivonat legmagasabb szintjére (UM), a fenti képletekben az s_1 , s_2 , s_4 és s_8 értékek helyett az u_1 , u_2 , u_4 és u_8 értékeket használva.

8.5. Jegyezzük fel a kiszámított SA és SM értékeket ugyanarra a milliméterpapírra és kössük össze őket, hogy megkapjuk a standard oldat regressziós vonalát. Hasonló módon jegyezzük fel az UA és UM értékeket és kössük össze őket, hogy megkapjuk a kivonat regressziós vonalát.

8.6. Ha interferencia nem lép fel, a vonalaknak párhuzamosnak kell lenniük. Gyakorlati megfontolásból a vonalakat párhuzamosnak tekinthetjük, ha az $(SM - SA)$ és $(UM - UA)$ érték középértékeiktől való eltérése nem haladja meg a 10%-ot.

8.7. Ha a vonalak nem tekinthetők párhuzamosnak, akkor akár az u_1 és s_1 , akár az u_8 és s_8 elhagyható, az SA, SM, UA és UM értékek az alternatív képletekkel számolhatók ki, hogy megkapjuk az alternatív regressziós vonalakat:

$$(a') \quad S_A = \frac{5S_1 + 2S_2 - S_4}{6} \quad \text{vagy} \quad S_A = \frac{5S_2 + 2S_4 - S_8}{6}$$

$$(b') \quad S_M = \frac{5S_4 + 2S_2 - S_1}{6} \quad \text{vagy} \quad S_M = \frac{5S_8 + 2S_4 - S_2}{6}$$

és hasonló módon az UA-ra és UM-ra vonatkozóan. Ugyanazt a párhuzamossági feltételt kell teljesíteni. Azt a tényt, hogy az eredmény három tényező alapján került kiszámításra, fel kell tüntetni a zárójelentésben.

8.8. Ha a vonalak párhuzamosnak tekinthetők, akkor számoljuk ki a relatív aktivitás logaritmusát ($\log A$) a következő képletek egyikének felhasználásával, attól függően, hogy három vagy négy tényezőtől történt-e a párhuzamosság megállapítása.

8.8.1. Négy tényező esetén

$$(c) \quad \log A = \frac{(U_1 + U_2 + U_4 + U_8 - S_1 - S_2 - S_4 - S_8) \times 0,602}{U_4 + U_8 + S_4 + S_8 - U_1 - U_2 - S_1 - S_2}$$

8.8.2. Három tényező esetén

$$(d) \quad \log A = \frac{(U_1 + U_2 + U_4 - S_1 - S_2 - S_4) \times 0,401}{U_4 + S_4 - U_1 - S_1}$$

vagy

$$(d') \quad \log A = \frac{(U_2 + U_4 + U_8 - S_2 - S_4 - S_8) \times 0,401}{U_8 + S_8 - U_2 - S_2}$$

A mintakivonat aktivitása = a vonatkozó standard aktivitása $\times A$

$$(u8 = s8 \times A)$$

8.9. Ha a relatív aktivitás a 0,5 és 2,0 közötti tartományon kívül esik, akkor ismételjük meg a vizsgálatot a kivonat koncentrációin, vagy ahol ez nem lehetséges, ott a standard oldatokon végzett megfelelő módosításokkal. Ha a relatív aktivitást nem tudjuk az említett tartományon belülré korrigálni, akkor bármely kapott eredményt közelítő eredménynek kell tekinteni, és ezt fel kell tüntetni a zárójelentésben.

8.10. Ha a vonalak nem tekinthetők párhuzamosnak, ismételjük meg a meghatározást. Ha a párhuzamosságot még ezután sem sikerült elérni, akkor a meghatározást nem kielégítőnek kell tekinteni.

8.11. Az eredményt milligrammban kifejezett virginiamicinre és kilogrammban kifejezett takarmányra vonatkoztatva fejezzük ki.

9. Ismételhetőség

Az ugyanazon mintán, ugyanazon analitikus által párhuzamosan végrehajtott két meghatározás eredménye közötti különbség nem haladhatja meg:

- a 10 mg/kg alatti virginiamicin-tartalom esetén a 2 mg/kg-ot, abszolút értékben,
- a 10 és 25 mg/kg közötti tartalom esetén a legmagasabb érték 20%-át,
- a 25 és 50 mg/kg közötti tartalom esetén az 5 mg/kg-ot, abszolút értékben,
- az 50 mg/kg feletti tartalom esetén a legmagasabb érték 10%-át.

XXXIX.

Cink bacitracin meghatározása agar táptalajon végzett diffúzióval**1. Cél és alkalmazási terület**

A módszer a cink bacitracin takarmányokban és előkeverékekben történő meghatározására szolgál. A meghatározás alsó határa 5 mg/kg (5 ppm).⁸

2. Vizsgálati alapelv

A pH 2-es mintát metil-alkohol/víz/sósav keverékével és nátrium-szulfid oldattal extraháljuk. A nátrium-szulfid hozzáadása a vizsgálat során esetleg interferenciát eredményező oldható réz-sók kicsapására szolgál. A kivonatot beállítjuk pH 6,5-re, koncentrálnak (szükség esetén) és felhígítjuk. Antibiotikus aktivitását a cink bacitracin *Micrococcus luteus* (flavus) beoltott agar táptalajon végzett diffúziójának mérésével határozzuk meg. A diffúziót a mikroorganizmus gátlási zónáinak képződése mutatja. Ezeknek a zónáknak az átmérője egyenes arányban áll az antibiotikum koncentrációnak az alkalmazott antibiotikum koncentrációk tartománya feletti logaritmusával.

3. Mikroorganizmus: *Micrococcus luteus* (flavus) ATCC 10240**3.1. A törzstenyészet fenntartása**

Oltsunk be ferde táptalajokat (4.1.) tartalmazó csöveket *Micrococcus luteus* (flavus), majd inkubáljuk 30 °C-on 24 órán át. A tenyészetet hűtőgépben tároljuk, 4 °C körüli hőmérsékleten. Kéthetenként oltsuk át.

3.2. A baktérium-szuszpenzió elkészítése⁹

2-3 ml nátrium-klorid oldat (4.3.) segítségével gyűjtsük be egy nemrégiben elkészített ferde agarról (3.1.) a növekményt. Ezzel a szuszpenzióval oltsunk be 250 ml, Roux-lombikban lévő táptalajt (4.1.) és inkubáljuk 30 °C-on 18-20 órán át. Gyűjtsük be a növekményt 25 ml nátrium-klorid oldatban (4.3.), majd keverjük össze. Hígítsuk fel a szuszpenziót nátrium-klorid oldattal (4.3.) 1:10 arányban. A szuszpenzióknak 650 nm-en, 1 cm-es cellában, a nátrium-klorid oldat (4.3.) ellenében mért fényáteresztő képességének 75% körülinek kell lennie. Ez a szuszpenzió 4 °C körüli hőmérsékleten egy hétig tárolható.

4. Táptalajok és reagensek**4.1. Alaptáptalaj¹⁰**

Hús pepton	6,0 g
Trypton	4,0 g
Élesztőkivonat	3,0 g
Húskivonat	1,5 g
Glükóz	1,0 g

⁸ 1 mg cink bacitracin takarmányszint 42 nemzetközi egységnek (n.e.) felel meg.

⁹ Más módszerek is alkalmazhatók, ha megállapítást nyert, hogy azok hasonló baktérium szuszpenziókat eredményeznek.

¹⁰ Minden hasonló összetételű és ugyanezeket az eredményeket adó kereskedelmi táptalaj felhasználható.

Agar	10,0-20,0 g
Víz	1000 ml
pH 6,5-6,6 (sterilizálás után)	

4.2. Vizsgálati táptalaj¹¹

Trypton	10,0 g
Élesztőkivonat	3,0 g
Húskivonat	1,5 g
Glükóz	1,0 g
Agar	10,0-20,0 g
Tween 80	1 ml
Víz	1000 ml
pH 6,5 (sterilizálás után)	

4.3. 0,8%-os (w/v) nátrium-klorid oldat: oldjunk fel vízben 8 g nátrium-kloridot, majd hígítsuk 1000 ml-re; sterilizáljuk.

4.4. Metil-alkohol/víz/sósav keveréke (4.6): 80/17,5/2,5 (v/v/v).

4.5. Foszfát puffer, pH 6,5:

Kálium.hidrogén-foszfát K_2HPO_4	22,15 g
Kálium-dihidrogén-foszfát KH_2PO_4	27,85 g
Vízzel kiegészítve	1 000 ml-re

4.6. Sósav (d: 1,18-1,19).

4.7. Sósav (0,1 M).

4.8. Nátrium-hidroxid 1 M oldat.

4.9. Nátrium-szulfid, körülbelül 0,5 M oldat.

4.10. Brómkrezol lila oldat 0,04% (w/v): oldjunk fel 0,1 g brómkrezol lilát 18,5 ml 0,01 M nátrium-hidroxid oldatban. Töltsük fel vízzel 250 ml-re, majd keverjük össze.

4.11. Standard anyag: ismert aktivitású cink bacitracin (n.e.-ben).

5. Standard oldatok

Mérjük ki (a jelzett aktivitás szerint) 1 050 n.e.-nek megfelelő standard cink bacitracint (4.11.). Adjunk hozzá 5 ml 0,1 M sósavat (4.7.) és 15 percig hagyjuk állni. Adjunk hozzá 30 ml vizet, foszfát pufferrel (4.5.) (kb. 4 ml) állítsuk be pH 4,5-re, vízzel töltsük fel 50 ml-re, majd alaposan keverjük össze (1 ml = 21 n.e.). Ebből a törzsoldatból, foszfát pufferrel (4.5.) történő egymást követő hígítással készítjük el a következő oldatokat:

¹¹ Minden hasonló összetételű és ugyanezeket az eredményeket adó kereskedelmi táptalaj felhasználható.

s8	0,42	n.e./ml
s4	0,21	n.e./ml
s2	0,105	n.e./ml
s1	0,0525	n.e./ml

6. A kivonat és a vizsgálati oldatok elkészítése

6.1. Extrakció

6.1.1. Előkeverékek és ásványi takarmányok

Mérjük ki 20-5,0 g mintát, adjunk hozzá 29,0 ml-t a keverékből (4.4.), valamint 1,0 ml nátrium-szulfid oldatot (4.9.), majd rázassuk rövid ideig. Ellenőrizzük, hogy a pH érték 2 körül legyen. Rázzuk 10 percig, majd adjunk hozzá 30 ml foszfát puffert (4.5.), rázzuk 15 percig, majd centrifugáljuk. A felülúszó oldatból vegyünk egy megfelelő aliquot mennyiséget és pH-mérő vagy brómkrezol lila oldat (4.10.) indikátor segítségével, 1 M nátrium-hidroxid oldattal (4.8.) állítsuk be a pH-t 6,5-re. Hígítsuk fel foszfát pufferrel (4.5.), hogy megközelítően 0,42 n.e./ml cink bacitracin tartalmat (= u8) kapjunk.

6.1.2. Fehérje-koncentrátumok

Mérjük ki 10,0 g mintát, adjunk hozzá 49,0 ml-t a keverékből (4.4.), valamint 1,0 ml nátrium-szulfid oldatot (4.9.), majd rázassuk rövid ideig. Ellenőrizzük, hogy a pH-érték 2 körül legyen. Rázzuk 10 percig, majd adjunk hozzá 50 ml foszfát puffert (4.5.), rázzuk 15 percig, majd centrifugáljuk. A felülúszó oldatból vegyünk egy megfelelő mennyiséget és pH-mérő vagy brómkrezol lila oldat (4.10.) indikátor segítségével, 1 M nátrium-hidroxid oldattal (4.8.) állítsuk be a pH-t 6,5-re. Rotációs bepárlóban, 35 °C-ot meg nem haladó hőmérsékleten pároljuk be körülbelül a mennyiség felét. Hígítsuk fel foszfát pufferrel (4.5.), hogy megközelítőleg 0,42 n.e./ml cink bacitracin tartalmat (= u8) kapjunk.

6.1.3. Egyéb takarmányok

Mérjük ki 10,0 g mintát (20 grammot 5 mg/kg-os várt cink bacitracin tartalom esetében). Adjunk hozzá 24,0 ml-t a keverékből (4.4.), valamint 1,0 ml nátrium-szulfid oldatot (4.9.), majd 10 percig homogenizáljuk. Adjunk hozzá 25 ml foszfát puffert (4.5.), rázzuk 15 percig, majd centrifugáljuk. A felülúszó oldatból vegyünk 20 ml-t és pH-mérő vagy brómkrezol lila oldat (4.10.) indikátor segítségével, 1 M nátrium-hidroxid oldattal (4.8.) állítsuk be a pH-t 6,5-re. Rotációs bepárlóban, 35 °C-ot meg nem haladó hőmérsékleten pároljunk be körülbelül 4 ml-re. A maradék anyagot hígítsuk fel foszfát pufferrel (4.5.), hogy 0,42 n.e./ml-es várt cink bacitracin tartalmat (= u8) kapjunk.

6.2. Vizsgálati oldatok

Az u8 oldatból a foszfát pufferrel (4.5.) való egymást követő hígításokkal (1+1) készítsünk u4 (várt tartalom: 0,21 n.e./ml), u₂ (várt tartalom: 0,105 n.e./ml) és u₁ (várt tartalom: 0,0525 n.e./ml) oldatokat.

7. A vizsgálat módja

7.1. A vizsgálati táptalaj beoltása

Oltjuk be a vizsgálati táptalajt (4.2.) a baktérium-szuszpenzióval (3.2.), körülbelül 50 °C-on. A vizsgálati táptalajjal (4.2.) öntött lemezeken végzett előzetes vizsgálatokkal határozzuk meg azt a szükséges baktérium-szuszpenzió mennyiséget, amely a különböző cink bacitracin koncentrációkkal a legnagyobb és legtisztább gátlási zónákat adja.

7.2. A lemezek elkészítése

Az agardiffúziót a négy standard oldat koncentrációjával (s_8, s_4, s_2, s_1) és a négy vizsgálati oldat koncentrációjával (u_8, u_4, u_2, u_1) öntött lemezeken végezzük. A standardnak és a kivonatnak ezt a négy-négy koncentrációját minden egyes lemezre fel kell vinnünk. Ezért megfelelő nagyságú lemezeket kell választanunk ahhoz, hogy az agar táptalajban legalább nyolc darab, 10-13 mm átmérőjű, egymástól legalább 30 mm távolságra lévő lyukat alakíthassunk ki. A vizsgálat olyan lemezeken végezhető el, amelyek egy üveglapból és egy annak tetejére helyezett 200 mm átmérőjű és 20 mm magas csiszolt alumínium vagy műanyag karimagyűrűből állnak. A lemezekre öntsünk annyi, a 7.1. pont szerint beoltott táptalajt (4.2.), hogy az egy körülbelül 2 mm vastagságú réteget alkosson (200 mm átmérőjű lemez esetében ez 60 ml). Hagyjuk egyenletesen eloszlni, fúrjuk ki a lyukakat és helyezzük el bennük a vizsgálati és standard oldatok pontosan kimért mennyiségeit (az átmérő függvényében lyukanként 0,10-0,15 ml). Minden koncentrációt legalább négyszer alkalmazzunk, hogy minden meghatározás 32 gátlási zóna kiértékelése alapján történjen.

7.3. Inkubáció

Inkubáljuk a lemezeket 30 ± 2 °C-on, 16-18 órán át.

8. Kiértékelés

8.1. Mérjük meg a gátlási zónák átmérőjét 0,1 mm-es pontossággal. Fél-logaritmikus milliméterpapírra jegyezzük fel az egyes koncentrációknál mért eredmények középértékeit, jelezve a koncentrációknak a gátlási zónák átmérőihöz vonatkoztatott logaritmusát. Szerkesszük meg mind a standard oldat, mind a kivonat regressziós vonalát, például az alábbiak szerint.

8.2. Határozzuk meg a standard legalacsonyabb szint (SA) regressziós pontját a következő képlet segítségével:

$$(a) \quad S_A = \frac{7S_1 + 4S_2 + S_4 - 2S_8}{10}$$

8.3. Határozzuk meg a standard legmagasabb szint (SM) regressziós pontját a következő képlet segítségével:

$$(b) \quad S_M = \frac{7S_8 + 4S_4 + S_2 - 2S_1}{10}$$

8.4. Hasonló módon számítsuk ki a regressziós pontokat a kivonat legalacsonyabb szintjére (UA) és a kivonat legmagasabb szintjére (UM), a fenti képletekben az s_1 , s_2 , s_4 és s_8 értékek helyett az u_1 , u_2 , u_4 és u_8 értékeket használva.

8.5. Jegyezzük fel a kiszámított S_A és S_M értékeket ugyanarra a milliméterpapírra és kössük össze őket, hogy megkapjuk a standard oldat regressziós vonalát. Hasonló módon jegyezzük fel az UA és UM értékeket és kössük össze őket, hogy megkapjuk a kivonat regressziós vonalát.

8.6. Ha interferencia nem lép fel, a vonalaknak párhuzamosnak kell lenniük. Gyakorlati megfontolásból a vonalakat párhuzamosnak tekinthetjük, ha az $(S_M - S_A)$ és $(UM - UA)$ érték középértékeiktől való eltérése nem haladja meg a 10%-ot.

8.7. Ha a vonalak nem tekinthetők párhuzamosnak, akkor akár az u_1 és s_1 , akár az u_8 és s_8 elhagyható, és az S_A , S_M , UA és UM értékek alternatív képletekkel számolhatók ki, hogy megkapjuk az alternatív regressziós vonalakat:

$$(a') \quad S_A = \frac{5S_1 + 2S_2 - S_4}{6} \quad \text{vagy} \quad S_A = \frac{5S_2 + 2S_4 - S_8}{6}$$

$$(b') \quad S_M = \frac{5S_4 + 2S_2 - S_1}{6} \quad \text{vagy} \quad S_M = \frac{5S_8 + 2S_4 - S_2}{6}$$

és hasonló módon az UA-ra és UM-ra vonatkozóan. Ugyanazt a párhuzamossági feltételt kell teljesíteni. Azt a tényt, hogy az eredmény három tényező alapján került kiszámításra, fel kell tüntetni a zárójelentésben.

8.8. Ha a vonalak párhuzamosnak tekinthetők, akkor számoljuk ki a relatív aktivitás (A) logaritmusát ($\log A$) a következő képletek egyikének felhasználásával, attól függően, hogy három vagy négy tényező alapján történt-e a párhuzamosság megállapítása.

8.8.1. Négy tényező esetén

$$(c) \quad \log A = \frac{(U_1 + U_2 + U_4 + U_8 - S_1 - S_2 - S_4 - S_8) \times 0,602}{U_4 + U_8 + S_4 + S_8 - U_1 - U_2 - S_1 - S_2}$$

8.8.2. Három tényező esetén

$$(d) \quad \log A = \frac{(U_1 + U_2 + U_4 - S_1 - S_2 - S_4) \times 0,401}{U_4 + S_4 - U_1 - S_1}$$

vagy

$$(d') \quad \log A = \frac{(U_2 + U_4 + U_8 - S_2 - S_4 - S_8) \times 0,401}{U_8 + S_8 - U_2 - S_2}$$

A mintakivonat aktivitása = a vonatkozó standard aktivitása $\times$ A

$$(u_8 = s_8 \times A)$$

8.9. Ha a relatív aktivitás a 0,5 és 2,0 közötti tartományon kívül esik, akkor ismételjük meg a vizsgálatot a kivonat koncentrációin, vagy ahol ez nem lehetséges, ott a standard oldatokon végzett megfelelő módosításokkal. Ha a relatív aktivitást nem tudjuk az előírt tartományon belülré korrigálni, akkor bármely kapott eredményt közelítő eredménynek kell tekinteni, és ezt fel kell tüntetni a zárójelentésen.

8.10. Ha a vonalak nem tekinthetők párhuzamosnak, meg kell ismételni a meghatározást. Ha a párhuzamosságot még ezután nem sikerült elérni, akkor a meghatározást nem kielégítőnek kell tekinteni.

8.11. Az eredményt milligrammban kifejezett cink bacitracinre és kilogrammban kifejezett takarmányra vonatkoztatva fejezzük ki.

9. Ismételhetőség

Az ugyanazon mintán, ugyanazon analitikus által párhuzamosan végzett két meghatározás eredménye közötti különbség nem haladhatja meg:

- a 10 mg/kg alatti cink bacitracin tartalom esetén a 2 mg/kg-ot, abszolút értékben,
- a 10 és 25 mg/kg közötti tartalom esetén a legmagasabb érték 20%-át,
- a 25 és 50 mg/kg közötti tartalom esetén az 5 mg/kg-ot, abszolút értékben,
- az 50 mg/kg feletti tartalom esetén a legmagasabb érték 10%-át.

XL.

Metil-benzokvát meghatározása

7-benziloxi-6-butil-3-metoxikarbonil-4-kvinolon

1. Cél és alkalmazási terület

A módszer a metil-benzokvát takarmányokban történő kimutatására szolgál. A meghatározás alsó határértéke 1 mg/kg.

2. Vizsgálati alapelv

A metil-benzokvátot a mintából metil-alkoholos metánszulfonsav-oldattal extraháljuk. A kivonatot diklórmétánnal, ioncserélő kromatográfiás módszerrel derítjük, majd ismét diklórmétánnal kezeljük. A metil-benzokvát-tartalom meghatározását fordított fázisú, nagynyomású folyadékkromatográfiás eljárással (HPLC) és UV detektor alkalmazásával végezzük.

3. Reagensek

3.1. Diklórmétán

3.2. Metil-alkohol, HPLC minőségű

3.3. HPLC mobil fázis:

Metil-alkohol (3.2.) és víz (HPLC minőségű) 75 + 25 (v + v) térfogatarányú keveréke.

Szűrjük át egy 0,22 µm-es szűrőn (4.5.), és gázmentesítsük az oldatot (például tízperces ultrahangos kezeléssel).

3.4. Metánszulfonsav-oldat, $\phi = 2\%$

Hígítsunk 20,0 ml metánszulfonsav-oldatot metil-alkohollal (3.2.) 1000 ml-re.

3.5. Sósavoldat, $\phi = 10\%$

Hígítsunk 100 ml sósavat (P_{20} c. 1,18 g/ml) vízzel 1000 ml-re.

3.6. Amberlite CG-120 (Na) kationcserélő műgyanta, 100 és 200-as térháló

A gyantát felhasználás előtt előkezeljük: 100 g gyantát mossunk át 500 ml sósavoldattal (3.5.), és állandó keverés mellett hevítjük forrásig forró főzőlapon. Hagyjuk kihűlni, és öntsük le róla a savat. Vákuum mellett szűrjük át egy szűrőpapíron. Mossuk át kétszer a gyantát 500 ml vízzel, majd 250 ml metil-alkohollal (3.2.). További 250 ml metil-alkohollal öblítsük a gyantát, és a szűrőpogácsán keresztül engedett levegővel szárítsuk. A száraz gyantát lezárt üvegben tároljuk.

3.7. Standard anyag: tiszta metil-benzokvát (7-benziloxi-6-butil-3-metoxycarbonil-4-kvinolon)

3.7.1. Metil-benzokvát standard törzsoldat, 500 µg/ml

Mérjük ki 0,1 mg-os pontossággal, 50 mg standard anyagot (3.7.), oldjuk fel metánszulfonsav-oldattal (3.4.) egy 100 ml-es mérőlombikban, töltsük fel jelig, és keverjük el.

3.7.2. Metil-benzokvát standard közbenső oldat, 50 µg/ml

Öntsünk át 5,0 ml metil-benzokvát standard törzsoldatot (3.7.1.) egy 50 ml-es mérőlombikba, töltsük fel metil-alkohollal (3.2.) jelig, és keverjük el.

3.7.3. Kalibráló oldatok

25 ml-es mérőlombikokba adagoljunk 1,0, 2,0, 3,0, 4,0, illetve 5,0 ml metil-benzokvát standard közbenső oldatot (3.7.2.). A mobil fázissal (3.3.) töltsük fel jelig, és keverjük el. Ezen oldatok 2,0, 4,0, 6,0, 8,0, illetve 10,0 µg/ml metil-benzokvát koncentrációnak felelnek meg. Az oldatokat használat előtt frissen kell elkészíteni.

4. Eszközök

4.1. Laboratóriumi rázógép

4.2. Rotációs, vékonyfilmes bepárló

4.3. Elzárócsappal és egy megközelítőleg 200 m-es tartállyal ellátott, 15 mm belső átmérőjű és 250 mm magas üvegoszlop

4.4. HPLC készülék, változtatható hullámhosszú UV detektorral vagy diódasoros detektorral

4.4.1. Folyadékkromatográfiás oszlop: 300 mm × 4 mm, C18, 10 µm-es töltet, vagy egy ezzel egyenértékű oszlop

4.5. Membránszűrők, 0,22 µm

4.6. Membránszűrők, 0,45 µm

5. A vizsgálat módja

5.1. Általános tudnivalók

5.1.1. Végezzünk vakpróbát egy referenciamintán annak ellenőrzésére, hogy sem metil-benzokvát, sem interferáló anyagok nincsenek jelen.

5.1.2. A mintában találhatóval azonos mennyiségű metil-benzokvát hozzáadásával dúsított referenciaminta analízisével végezzünk visszanyerési próbát. 15 mg/kg-os szintre történő dúsításhoz, adjunk 600 ml standard törzsoldatot (3.7.1.) 20 g referenciamintához, mindezt keverjük el, majd 10 percet várjunk, mielőtt folytatnánk a műveletet az extrakcióval (5.2.).

Megjegyzés: e módszer alkalmazásában a referenciaminta a mintával azonos fajtájú takarmány legyen, és abban az analízis során metil-benzokvát ne legyen kimutatható.

5.2. Extrakció

Mérjük ki az előkészített mintából 0,01 g pontossággal 20 g-ot, és öntsük át egy 250 ml-es Erlenmeyer lombikba. Adjunk hozzá 100,0 ml metánszulfonsav-oldatot (3.4.), és rázzuk mechanikus rázógéppen (4.1.) 30 percig. Szűrjük át az oldatot szűrőpapíron, és tegyük félre a szűrletet a folyadék-folyadék elválasztáshoz (5.3.).

5.3. Folyadék-folyadék elválasztás

Egy 100 ml sósavoldatot (3.5.) tartalmazó 500 ml-es elválasztótölcsérbe öntsünk át 25,0 ml-t az 5.2. lépésben nyert szűrletből. Adjunk hozzá 100 ml diklórmétánt (3.1.) a tölcsérhez, és rázzuk egy percen keresztül. Engedjük, hogy a rétegek elváljanak egymástól, és az alsó réteget (a diklórmétánt) eresszük bele egy 500 ml-es gömblombikba. Ismételjük meg a vizes fázis extrakcióját még kétszer, további 40,40 ml diklórmétánnal, majd vegyítsük az első kivonattal a gömblombikban. A rotációs, vékonyfilmes bepárlókészüléken (4.2.), csökkentett nyomás és 40 °C hőmérséklet mellett teljes száradásig pároljuk be a diklórmétán kivonatot. Oldjuk fel a maradékot 20,25 ml metil-alkoholban (3.2.), zárjuk le az üveget, és tartsuk meg az egész kivonatot az ioncserélő kromatográfiához (5.4.).

5.4. Ioncserélő kromatográfia

5.4.1. A kationcserélő oszlop előkészítése

Az üvegoszlop (4.3.) alsó végébe illesszünk egy kis üvegvatta dugót. Készítsünk a kezelt kationcserélő műgyanta (3.6.) 5,0 grammjából és 50 ml sósavból (3.5.) egy elegyet, majd öntsük bele az üvegoszlopba, majd hagyjuk, hogy leülepedjen. Engedjük ki a felesleges savat, hogy még éppen

ellepje a gyanta felszínét, és addig mossuk az oszlopot vízzel, amíg a szüredéken végzett lakmuszteszt semleges nem lesz. Öntsünk át 50 ml metil-alkoholt (3.2.) az oszlopra, és hagyjuk, hogy leszivárogon a gyanta felszínén.

5.4.2. Oszlopkromatográfia

Az (5.3.) pontban készített mintakivonatot pipetázzuk óvatosan az oszlop tetejére. A gömblombikot két adag, 5-10 ml mennyiségű metil-alkohollal (3.2.) öblítsük, és öntsük ezen mosófolyadékot is rá az oszlopra. Futtassuk le a kivonatot a gyanta felszínén, és mossuk az oszlopot 50 ml metil-alkohollal, ügyelve arra, hogy az átfolyási sebesség ne haladja meg az 5 ml/percet. Öntsük el a szüredéket. Eluáljuk az oszlopról a metil-benzokvátot 150 ml metánszulfonsav-oldattal (3.4.), majd vegyük fel az eluátumot egy 250 ml-es gömblombikban.

5.5. Folyadék-folyadék elválasztás

5.5.1. Egy 1 l-es elválasztótölcsérbe öntsük át az (5.4.2.) lépésben nyert eluátumot. Az Erlenmeyer-lombikot 5.10 ml metil-alkohollal (3.2.) öblítsük, és a mosófolyadékot öntsük össze az elválasztó tölcser tartalmával. Adjunk hozzá 300 ml sósavoldatot (3.5.) és 130 ml diklórmétánt (3.1.). Rázzuk egy percen keresztül, és engedjük, hogy a fázisok elváljanak egymástól. Az alsó réteget (a diklórmétánt) eresszük bele egy 500 ml-es gömblombikba. Ismételjük meg a vizes fázis extrakcióját még kétszer, további 70-70 ml diklórmétánnal, és ezen kivonatokat öntsük össze a gömblombikban lévő első kivonattal.

5.5.2. A rotációs, vékonyfilmes bepárlókészüléken (4.2.), csökkentett nyomás és 40 °C hőmérséklet mellett teljes száradásig pároljuk be a diklórmétán kivonatot. Oldjuk fel a maradékot megközelítőleg 5 ml metil-alkoholban (3.2.), és öntsük az oldatot teljes mennyiségben egy 10 ml-es mérőlombikba. Öblítsük el még kétszer a lombikot 1.2 ml metil-alkohollal, majd öntsük a mérőlombikba. Töltsük fel jelig metil-alkohollal, és keverjük el. Egy aliquot részt szűrjünk át egy membránszűrőn (4.6.). Ezt az oldatot tegyük el a HPLC meghatározáshoz (5.6.).

5.6. HPLC meghatározás

5.6.1. Paraméterek

Az alábbi vizsgálati feltételek csak iránymutatóként szolgálnak, ettől eltérő feltételeket is lehet használni, amennyiben azok ezzel egyenértékű eredményt adnak.

- folyadékkromatográfiás oszlop (4.4.1.),
- HPLC mobil fázis: metil-alkohol és víz keveréke (3.3.),
- áramlási sebesség: 1-1,5 ml/min,
- észlelési hullámhossz: 265 nm,
- befecskendezett mennyiség: 20.50 µl.

A 4,0 µg/ml anyagot tartalmazó kalibráló oldat (3.7.3.) többszöri befecskendezésével ellenőrizzük a kromatográfiás rendszer stabilitását, míg a csúcsok magassága vagy görbe alatti területe, illetve a retenciós idők stabilakká nem válnak.

5.6.2. Kalibrációs görbe

Fecskendezzük be többször egymás után az egyes kalibráló oldatokat (3.7.3.), és mérjük meg az egyes koncentrációkra eső csúcsok magasságát (görbe alatti területét). A kalibráló oldatok átlagos magassága vagy területe legyen az ordináta tengelyen, a megfelelő koncentrációk pedig µg/ml-ben az abszcisszán, és ennek alapján szerkesszünk kalibrációs görbét.

5.6.3. Mintaoldat

Ugyanolyan mennyiségű oldatot használva, mint amennyit a kalibrációs oldatokhoz használtunk, fecskendezzük be a mintakivonatot (5.5.) egymás után többször és határozzuk meg a metilbenzokvát-csúcsok átlagos magasságát (területét).

6. Az eredmények kiszámítása

A mintaoldat által kiváltott metil-benzokvát-csúcsok átlagos magasságát (görbe alatti területét) a kalibrációs görbével egybevetve (5.6.2.), határozzuk meg a mintaoldat koncentrációját µg/ml-ben.

A minta, w (mg/kg)-ben kifejezett metilbenzokvát-tartalma a következő képlet alapján számítható ki:

$$w = \frac{cx40}{m}$$

amelyben:

c = a mintaoldat metil-benzokvát-koncentrációja µg/ml-ben,

m = a minta tömege grammban.

7. Az eredmények validálása

7.1. Azonosítás

Az analizált anyag azonosítását párhuzamos kromatográfiával vagy diódasoros detektorral lehet megerősíteni, amely során a mintakivonat és a 10,0 µg/ml metil-benzokvátot tartalmazó kalibráló oldat (3.7.3.) spektrumát hasonlítjuk össze.

7.1.1. Párhuzamos kromatográfia

A mintakivonatot a standard közbenső oldat (3.7.2.) megfelelő mennyiségének hozzáadásával dúsítjuk. A hozzáadott metil-benzokvát mennyiségének a mintakivonatban található metil-benzokvát becsült mennyiségével azonosnak kell lennie.

A hozzáadott mennyiség és a kivonat hígításának figyelembe vétele után csak a metilbenzokvát-csúcs magassága emelkedhet. A csúcs szélességének, a legnagyobb magasság felénél, az eredeti szélesség megközelítőleg 10%-án belül kell lennie.

7.1.2. Diódasoros kimutatás

Az eredményeket az alábbi kritériumok alapján kell értékelni:

- a) a minta, valamint a standard spektrumának, a kromatogram csúcsán rögzített legnagyobb elnyelési hullámhossza, az észlelő rendszer felbontási képessége alapján meghatározott tűréshatáron belül meg kell egyezzen; a diódasoros észlelési módszernél ez tipikus esetben megközelítőleg 2 nm-en belül van;
- b) 220 és 350 nm között a mintának, valamint a standardnak a kromatogram görbe csúcsán rögzített spektruma, a spektrum ezen részein nem térhet el egymástól a relatív abszorpciós tartomány 10 és 100%-a között; ez a kritérium akkor teljesül, ha ugyanazok a maximális értékek vannak jelen, és a két spektrum egyetlen észlelési ponton sem tér el a standard analizált anyag abszorpciójának 15%-ánál nagyobb mértékben egymástól;
- c) 220 és 350 nm között a mintakivonat által kiváltott görbe felszálló ága, csúcsa és leszálló ága, a spektrumnak ezen a részein a relatív abszorpció 10 és 100%-a közötti tartományban nem térhet el egymástól; ez a kritérium akkor teljesül, ha ugyanazok a maximális értékek vannak jelen, és a két spektrum egyetlen észlelési ponton sem tér el a csúcs abszorpciós spektrumától 15%-nál nagyobb mértékben.

Ha ezen kritériumok közül egy nem teljesül, az analizált anyag jelentését nem sikerült megerősíteni.

7.2. Ismételhetőség

Két azonos mintán végzett, párhuzamos meghatározás eredménye közötti különbség 4-20 mg/kg metilbenzokvát-tartalom esetén, nem haladhatja meg a magasabb érték 10%-át.

7.3. Visszanyerés

Dúsított referenciaminta esetében legalább 90%-os visszanyerési arányt kell elérni.

8. Kollaborációs vizsgálat eredményei

Tíz laboratóriumban, öt minta elemzésére került sor. Minden egyes mintán kettős elemzést végeztek.

Eredmények

	Vak	1. liszt	1. pellet	2. liszt	2. pellet
Középérték mg/kg	n.k.	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	1,00
CV _R (%)	–	8,90	11,10	10,10	11,50
Visszanyerés (%)	–	92,00	93,00	92,00	89,00

n.k. = nem kimutatható

S_r = ismételhetőség szórása

CV_r = ismételhetőség változékonysági együtthatója

S_R = reprodukálhatóság szórása

CV_R = reprodukálhatóság változékonysági együtthatója

XLI.

Avoparcin meghatározása agar-diffúzióval**1. Cél és alkalmazási terület**

A módszer avoparcin meghatározására szolgál takarmányokban és előkeverékekben. A meghatározás alsó határa 2 mg/kg (2 ppm). Poliéter típusú gyógyszerek zavarhatják a meghatározást.

2. A módszer elve

A mintát aceton-víz-sósav keverékével extraháljuk. Antibiotikus aktivitását az avoparcin *Bacillus subtilis*-szel beoltott agar táptalajban történő diffúziójának mérésével határozzuk meg. A diffúziót a mikroorganizmus gátlási zónáinak képződése jelzi. Ezeknek a zónáknak az átmérője egyenes arányosnak tekinthető az antibiotikum koncentráció logaritmusával az alkalmazott gyógyszer koncentráció tartományban.

3. Mikroorganizmus: *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (NCIB 8054)**3.1. A törzstenyészet fenntartása**

Oltunk be a ferde táptalajokat (4.1.) tartalmazó csöveket *Bacillus subtilis*-szel, majd inkubáljuk 30 °C-on 24 órán át. A tenyészetet hűtőszekrényben tároljuk, 4 °C körüli hőmérsékleten. Havonta oltjuk át.

3.2. A baktérium-szuszpenzió elkészítése¹²

2-3 ml steril víz segítségével gyűjtünk be egy nemrégiben elkészített ferde agarról (3.1.) a növekményt. Ezzel a szuszpenzióval oltunk be 300 ml, Roux lombikban lévő táptalajt (4.1.) és inkubáljuk 30 °C -on 3-5 napon át. Gyűjtünk a növekményt 15 ml etanolba (4.2.), a spóráképződés mikroszkóp alatt történt ellenőrzése után jól keverjük össze. Ez a szuszpenzió 4 °C -on legalább öt hónapig eltartható.

4. Táptalajok és reagensek**4.1. Táptalaj**

Pepton	6,0 g
Tripton	4,0 g
Élesztőkivonat	3,0 g
Húskivonat	1,5 g
Glükóz	1,0 g
Agar	15,0 g
Víz	1000 ml
pH = 6,5 (sterilizálás után)	

4.2. Etanol 20% (v/v): 200 ml etanolt hígítsunk 800 ml vízzel**4.3. Sósav, d=1,18-1,19**

¹² Más módszerek is alkalmazhatók, ha megállapítást nyert, hogy azok hasonló baktérium szuszpenziókat eredm ényeznek.

4.4. Nátriumhidroxid, 2 mólos oldat

4.5. Foszfát puffer, 0,1 mólos

Kálium-dihidrogén-foszfát, KH_2PO_4 : 13,6 g
Vízzel 1000 ml-re
pH beállítás 4,5-re

4.6. Aceton-víz-sósav (4.3.): 65/32,5/2,5 (v/v/v) keverék

4.7. Standard anyag: ismert aktivitású avoparcin-szulfát

5. Standard oldatok

Oldjunk fel kb. 10 mg pontosan kimért standard anyagot (4.7.) foszfát pufferben és ezzel a pufferrel hígítsuk, hogy 10 $\mu\text{g/ml}$ avoparcint tartalmazó törzsoldatot kapjunk. Lezárt lombikban 4 °C-on tárolva az oldat 7 napig stabil marad.

5.1. Előkeverésekhez

Ebből a törzsoldatból, a pufferrel (4.5.) történő egymást követő hígításokkal készítsük el a következő oldatokat:

S_8	4,0 $\mu\text{g/ml}$
S_4	2,0 $\mu\text{g/ml}$
S_2	1,0 $\mu\text{g/ml}$
S_1	0,5 $\mu\text{g/ml}$

5.2. Takarmányokhoz

A törzsoldatból, a pufferrel (4.5.) történő egymást követő hígításokkal készítsük el a következő oldatokat:

S_8	2,0 $\mu\text{g/ml}$
S_4	1,0 $\mu\text{g/ml}$
S_2	0,5 $\mu\text{g/ml}$
S_1	0,25 $\mu\text{g/ml}$

6. A kivonat és a vizsgálati oldatok elkészítése

6.1. Előkeverések

Mérjünk be 100 ml-es mérőlombikba annyi mintát, hogy 10-100 mg avoparcint tartalmazzon. Adjunk hozzá 60 ml keveréket (4.6.) és rázassuk 15 percig mechanikus rázógéppel. Állítsuk be a pH-t, ha szükséges, 2,0-ra sósavval (4.3.). A keverékkel (4.6.) töltsük jelig és jól rázzuk össze. Szűrjük le megfelelő szűrőpapíron (pl. Whatman No. 1.), a szűrlet első 5 ml-ét dobjuk el. A szűrlet egy aliquot részének pH-ját nátriumhidroxid oldattal (4.4.) állítsuk be 4,5-re. Ezt az oldatot hígítsuk pufferrel (4.5.), hogy az avoparcin koncentráció várhatóan 4 $\mu\text{g/ml}$ legyen ($=U_8$). Ebből az oldatból pufferrel (4.5.) egymást

követő hígításokkal készítsük el a következő oldatokat: U_4 (várható tartalom: 2 $\mu\text{g/ml}$), U_2 (várható tartalom: 1 $\mu\text{g/ml}$), U_1 (várható tartalom: 0,5 $\mu\text{g/ml}$).

6.2. Takarmányok

Mérjünk be 50 g mintát és rázassuk 100 ml keverékkel (4.6.) 30 percig mechanikus rázógéppel. A kivonatot centrifugáljuk (zárt centrifuga csövekben). A tiszta kivonattól vegyünk ki egy aliquot részt (ld. az alábbi táblázatot), állítsuk be a pH-t nátriumhidroxid oldattal (4.4.) 4,5-re. Hígítsuk pufferrel (4.5.), hogy az U_8 -nak megfelelő koncentrációt adjon (ld. az alábbi táblázatot).

Ebből az oldatból pufferrel (4.5.) egymást követő hígításokkal készítsük el a következő oldatokat: U_4 (várható tartalom: 1 $\mu\text{g/ml}$), U_2 (várható tartalom: 0,5 $\mu\text{g/ml}$), U_1 (várható tartalom: 0,25 $\mu\text{g/ml}$),

Becsült avoparcin szint (mg/kg)	5	7,5	10	15	20	40
Bemért minta ($\pm 0,1$ g)	50	50	50	50	50	50
A keverék térfogata (4.6.) (ml)	100	100	100	100	100	100
A centrifugált kivonat térfogata (ml)	20	15	20	15	20	10
Végtérfogat (ml): U_8	25	25	50	50	100	100
Várható U_8 koncentráció ($\mu\text{g/ml}$)	2	kb. 2	2	kb. 2	2	2

7. Vizsgálati eljárás

7.1. A vizsgálati táptalaj beoltása

Oltsuk be a vizsgálati táptalajt (4.1.) a baktérium-szuszpenzióval (3.2.), 50-60 °C-on. A vizsgálati táptalajt (4.1.) tartalmazó lemezekon végzett előzetes vizsgálatokkal határozzuk meg azt a szükséges baktérium-szuszpenzió mennyiséget, amely a különböző avoparcin koncentrációkkal a legnagyobb és leg-tisztább gátlási zónákat adja.

7.2. A lemezek elkészítése

7.2.1. Az agardiffúziót a négy standard oldat koncentrációjával (S_8 , S_4 , S_2 , és S_1) és a négy vizsgálati oldat koncentrációjával (U_8 , U_4 , U_2 , U_1) öntött lemezekon végezzük. A standard és a kivonat ezen négy-négy koncentrációját minden egyes lemezre fel kell vinni. Ezért megfelelő nagyságú lemezeket kell választanunk ahhoz, hogy az agar táptalajban legalább nyolc darab, 10-13 mm átmérőjű, egymástól legalább 30 mm távolságra lévő lyukat alakíthassunk ki. A vizsgálat olyan lemezekon végezhető el, amelyek egy üveglapból és egy annak tetejére helyezett, 200 mm átmérőjű és 20 mm magas csiszolt alumínium vagy műanyag karimagyűrűből állnak.

7.2.2. A lemezekre öntsünk annyi, a 7.1 pont szerint beoltott táptalajt (4.1.), hogy az egy körülbelül 2 mm vastagságú réteget alkosson (200 mm átmérőjű lemez esetében ez 60 ml). Hagyjuk egyenletesen eloszlani, fúrjuk ki a lyukakat és helyezzük el bennük a vizsgálati és standard oldatok pontosan kimért mennyiségeit (az átmérő függvényében lyukanként 0,10 és 0,15 ml közötti mennyiség). Minden kon-

centrációt legalább négyszer alkalmazzunk, hogy minden meghatározás 32 gátlási zóna kiértékelése alapján történjen.

7.3. Inkubáció

Inkubáljuk a lemezeket 30 °C-on, 16-18 órán át.

8. Kiértékelés

8.1. Mérjük meg a gátlási zónák átmérőjét 0,1 mm-es pontossággal. Fél-logaritmikus milliméterpapíron ábrázoljuk az egyes koncentrációknál mért eredmények középértékeit, a koncentrációk logaritmusát a gátlási zónák átmérőinek függvényében. Szerkesszük meg mind a standard oldat, mind a kivonat egyenesét, például az alábbiak szerint.

8.2. Határozzuk meg a standard legalacsonyabb szint (S_A) egyenes pontját a következő képlet segítségével:

$$(a) \quad S_A = \frac{7S_1 + 4S_2 + S_4 - 2S_8}{10}$$

8.3. Határozzuk meg a standard legmagasabb szint (S_M) egyenes pontját a következő képlet segítségével:

$$(b) \quad S_M = \frac{7S_8 + 4S_4 + S_2 - 2S_1}{10}$$

8.4. Hasonló módon számítsuk ki az egyenes pontjait a kivonat legalacsonyabb szintjére (U_A) és a kivonat legmagasabb szintjére (U_M), a fenti képletekben az S_1 , S_2 , S_4 , S_8 értékek helyett az U_1 , U_2 , U_4 és U_8 értékeket használva.

8.5. Ábrázoljuk a kiszámított S_A és S_M értékeket ugyanarra a milliméterpapírra és kössük össze őket, hogy megkapjuk a standard oldat egyenesét. Hasonló módon ábrázoljuk az U_A és U_M értékeket és kössük össze őket, hogy megkapjuk a kivonat egyenesét.

8.6. Ha interferencia nem lép fel, a vonalaknak párhuzamosnak kell lenniük. Gyakorlati megfontolásból a vonalakat párhuzamosnak tekinthetjük, ha az $(S_M - S_A)$ és $(U_M - U_A)$ érték középértékeiktől való eltérése nem haladja meg a 10%-ot.

8.7. Ha a vonalak nem tekinthetők párhuzamosnak, akkor akár az U_1 és S_1 , akár az U_8 és S_8 elhagyható, az S_A , S_M , U_A és U_M értékek az alábbi alternatív képletekkel számolhatók ki, hogy megkapjuk az alternatív regressziós egyenest:

$$(a') \quad S_A = \frac{5S_1 + 2S_2 - S_4}{6} \quad \text{vagy} \quad S_A = \frac{5S_2 + 2S_4 - S_8}{6}$$

$$(b') \quad S_M = \frac{5S_4 + 2S_2 - S_1}{6} \quad \text{vagy} \quad S_M = \frac{5S_8 + 2S_4 - S_2}{6}$$

és hasonlóan U_A -ra és U_M -re. Ugyanazt a párhuzamossági feltételt kell teljesíteni. Azt a tényt, hogy az eredmény három szint alapján került kiszámításra, fel kell tüntetni a jegyzőkönyvben.

8.8. Ha a vonalak párhuzamosnak tekinthetők, akkor számoljuk ki a relatív aktivitás logaritmusát ($\log A$) a következő képletek egyikének felhasználásával, attól függően, hogy három vagy négy tényezőtől történt-e a párhuzamosság megállapítása.

8.8.1. Négy szint esetén

$$(c) \quad \log A = \frac{(U_1 + U_2 + U_4 + U_8 - S_1 - S_2 - S_4 - S_8) \times 0,602}{U_4 + U_8 + S_4 + S_8 - U_1 - U_2 - S_1 - S_2}$$

8.8.2. Három szint esetén

$$(d) \quad \log A = \frac{(U_1 + U_2 + U_4 - S_1 - S_2 - S_4) \times 0,401}{U_4 + S_4 - U_1 - S_1}$$

vagy

$$(d') \quad \log A = \frac{(U_2 + U_4 + U_8 - S_2 - S_4 - S_8) \times 0,401}{U_8 + S_8 - U_2 - S_2}$$

Valódi aktivitás = feltételezett aktivitás $\times$ relatív aktivitás

8.9. Ha a relatív aktivitás a 0,5 és 2,0 közötti tartományon kívül esik, akkor ismételjük meg a vizsgálatot a kivonat koncentrációin, vagy ahol ez nem lehetséges, ott a standard oldatokon végzett megfelelő módosításokkal. Ha a relatív aktivitást nem tudjuk az említett tartományon belülre korrigálni, akkor bármely kapott eredményt közelítő eredménynek kell tekinteni, és ezt fel kell tüntetni a jegyzőkönyvben.

8.10. Ha a vonalak nem tekinthetők párhuzamosnak, ismételjük meg a meghatározást. Ha a párhuzamosságot még ezután sem sikerült elérni, akkor a meghatározást nem kielégítőnek kell tekinteni.

9. Ismételhetőség

Az ugyanazon mintán, ugyanazon analitikus által párhuzamosan végrehajtott két meghatározás eredménye közötti különbség nem haladhatja meg:

- a 2-10 mg/kg avoparcin tartalom esetén a 2 mg/kg-ot, abszolút értékben,
- a 10 és 25 mg/kg közötti tartalom esetén a legmagasabb érték 20%-át,
- a 25 és 50 mg/kg közötti tartalom esetén az 5 mg/kg-ot, abszolút értékben,
- az 50 mg/kg feletti tartalom esetén a legmagasabb érték 10%-át.

XLII.

Monenzin Na meghatározása agar-diffúzióval**1. Cél és alkalmazási terület**

A módszer monenzin-Na meghatározására szolgál takarmányokban és előkeverékekben. A meghatározás alsó határa 10 mg/kg (10 ppm).

2. A módszer elve

A mintát 90%-os metanollal extraháljuk. Antibiotikus aktivitását a monenzin-Na *Bacillus subtilis*-sel beoltott agar táptalajban történő diffúziójának mérésével határozzuk meg. A diffúziót a mikroorganizmus gátlási zónáinak képződése jelzi. Ezeknek a zónáknak az átmérője egyenes arányosnak tekinthető az antibiotikum koncentráció logaritmusával az alkalmazott gyógyszer koncentráció tartományban. A vizsgálati rendszer érzékenysége nátrium jelenlétében csökken.

3. Mikroorganizmus: *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (NCIB 8054)**3.1. A törzstenyészet fenntartása**

Oltsunk be a ferde táptalajokat (4.1.) tartalmazó csöveket *Bacillus subtilis*-szel, majd inkubáljuk 30 °C-on 24 órán át. A tenyészetet hűtőszekrényben tároljuk, 4 °C körüli hőmérsékleten. Havonta oltjuk át.

3.2. A baktérium-szuszpenzió elkészítése¹³

2-3 ml steril víz segítségével gyűjtjük be egy nemrégiben elkészített ferde agarról (3.1.) a növekményt. Ezzel a szuszpenzióval oltsunk be 300 ml, Roux lombikban lévő táptalajt (4.1.), és inkubáljuk 30 °C-on 3-5 napon át. Gyűjtjük a növekményt 15 ml 20%-os etanolba (4.3.), a spóráképződés mikroszkóp alatt történt ellenőrzése után jól keverjük össze. Ez a szuszpenzió 4 °C-on legalább öt hónapig eltartható.

4. Táptalajok és reagensek**4.1. Táptalaj¹⁴**

Tripton	10,0 g
Élesztőkivonat	3,0 g
Húskivonat	1,5 g
Glükóz	1,0 g
Agar (minőségtől függően)	10,0-20,0 g
Víz	1000 ml
pH = 6,5 (sterilizálás után)	

¹³ Más módszerek is alkalmazhatók, ha megállapítást nyert, hogy azok hasonló baktérium szuszpenziókat eredm ényeznek.

¹⁴ Bármilyen hasonló összetételű kereskedelembe n kapható táptalaj használható, ha azonos eredményt ad.

4.2. Értékmérő táptalaj

Glükóz	10,0 g
Élesztőkivonat	2,5 g
Dikálium-hidrogén-foszfát K_2HPO_4	0,69 g
Kálium-dihidrogén-foszfát KH_2PO_4	0,45 g
Agar (minőségtől függően)	10,0-20,0 g
Víz	1000 ml
pH = 6 (sterilizálás után)	

4.3. *Etanol 20% (v/v)*: 200 ml etanolt hígítsunk 800 ml vízzel

4.4. *Vízmentes metanol*

4.5. *Metanol 90% (v/v)*: 900 ml metanolt (4.4.) 100 ml vízzel hígítunk

4.6. *Metanol 50% (v/v)*: 500 ml metanolt (4.4.) 500 ml vízzel hígítunk

4.7. *Alumíniumoxid, granulált (ALCOA F 20 mesh)*

Aktivált aluminium ug1 (Lancaster vagy egyenértékű)

4.8. *Standard anyag*: ismert aktivitású monenzin-Na

5. Eszközök

5.1. Rotadeszt 250 ml-es gömblombikkal

5.2. Kromatográfiás üvegoszlop (Belső átmérő: 25 mm, hossz: 400 mm, 2 mm-es nyitott véggel.)

5.3. Kromatográfiás üvegoszlop (Belső átmérő: 11 mm, hossz: kb. 300 mm, 2 mm-es nyitott véggel.)

6. Standard oldatok

Oldjunk fel kb. 10 mg pontosan kimért standard anyagot (4.8.) metanolban és ezzel hígítsuk, hogy 800 µg/ml monenzin-Na-ot tartalmazó törzsoldatot kapjunk. Lezárt lombikban 4 °C-on tárolva az oldat két hétig stabil marad.

Ebből a törzsoldatból 50%-os metanollal (4.6.) történő egymást követő hígításokkal készítsük el a következő oldatokat:

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. A kivonat elkészítése

7.1. Extrakció

7.1.1. Előkeverékek

Mérjük be 2 g mintát, adjunk hozzá 100 ml 90%-os metanolt (4.5.), homogenizáljuk és centrifugáljuk néhány percig. Hígítsuk a felsőfázist 50%-os metanollal (4.6.), hogy a monenzin-Na koncentráció várhatóan 8 µg/ml legyen (=U₈).

7.1.2. Takarmányok, amelyekben a monenzin-Na koncentráció nem kisebb 50 ppm-nél

Mérjük be 10-20 g mintát, adjunk hozzá 100 ml 90%-os metanolt (4.5.), homogenizáljuk 15 percig és hagyjuk leülepedni. Helyezzünk egy vattadugót az üvegcső (5.2.) vékony végébe, és töltsünk bele alumínium-oxidot (4.7.), óvatosan tömörítve, amíg a töltet magassága eléri a 75-80 mm-t. Dekantáljuk a kivonatot az alumínium-oxidos kolonnára. 30 ml szűrletet hígítsunk vízzel 50 ml-re. Ezt hígítsuk 50%-os metanollal (4.6.), hogy a monenzin-Na koncentráció várhatóan 8 µg/ml legyen (=U₈).

7.1.3. Takarmányok, amelyekben a monezin-Na koncentráció kisebb, mint 50 ppm (alsó határ 10 ppm)

Mérjük be 10-20 g mintát, adjunk hozzá 100 ml 90%-os metanolt (4.5.), és homogenizáljuk 15 percig. Centrifugáljuk, amíg tiszta oldatot kapunk. 20 ppm monezin-Na-ot tartalmazó minta esetén 40 ml-t vegyünk ki a felsőfázisból. 10 ppm monezin-Na-ot tartalmazó minta esetén 80 ml-t vegyünk ki a felsőfázisból, vákumban pároljuk szárazra, 40 °C alatti hőmérsékleten, a maradékot oldjuk fel 10 ml 90%-os metanolban (4.5.). Helyezzünk egy vattadugót az üvegcső (5.3.) vékony végébe, és töltsünk bele alumínium-oxidot (4.7.), óvatosan tömörítve, amíg a töltet magassága eléri a 75-80 mm-t. A metanolban feloldott bepárlási maradékot dekantáljuk az alumínium-oxid kolonnára és gyűjtsük a szűrletet. Mossuk át a kolonnát 10 ml 90%-os metanollal (4.5.), és egyesítsük a szűrlettel. Az oldatot vákumban pároljuk szárazra, 40 °C alatti hőmérsékleten, a maradékot oldjuk fel 10 ml vízmentes metanolban (4.4.), és egészítsük ki vízzel 20 ml-re. Az oldatot legalább öt percig centrifugáljuk minimum 4000 rpm sebességgel. Ezt hígítsuk 50%-os metanollal (4.6.), hogy a monenzin-Na koncentráció várhatóan 8 µg/ml legyen (=U₈).

7.2. Vizsgálati oldatok

Az U₈ oldatból 50%-os metanollal (4.6.) egymást követő hígításokkal (1+1) készítsük el a következő oldatokat: U₄ (várható tartalom: 4 µg/ml), U₂ (várható tartalom: 2 µg/ml), U₁ (várható tartalom: 1 µg/ml).

8. Vizsgálati eljárás

8.1. A vizsgálati táptalaj beoltása

Oltsuk be a vizsgálati táptalajt (4.2.) a baktérium-szuszpenzióval (3.2.), 50-60 °C-on. A vizsgálati táptalajt (4.1.) tartalmazó lemezekon végzett előzetes vizsgálatokkal határozzuk meg azt a szükséges baktérium-szuszpenzió mennyiséget, amely a különböző monezin-Na koncentrációkkal a legnagyobb és legtisztább gátlási zónákat adja.

8.2. A lemezek elkészítése

8.2.1. Az agardiffúziót a négy standard oldat koncentrációjával (S_8 , S_4 , S_2 , és S_1) és a négy vizsgálati oldat koncentrációjával (U_8 , U_4 , U_2 , U_1) öntött lemezeken végezzük. A standard és a kivonat ezen négy-négy koncentrációját minden egyes lemezre fel kell vinni. Ezért megfelelő nagyságú lemezeket kell választanunk ahhoz, hogy az agar táptalajban legalább nyolc darab, 10-13 mm átmérőjű, egymástól legalább 30 mm távolságra lévő lyukat alakíthassunk ki. A vizsgálat olyan lemezeken végezhető el, amelyek egy üveglapból és egy annak tetejére helyezett, 200 mm átmérőjű és 20 mm magas csiszolt alumínium vagy műanyag karimagyűrűből állnak.

8.2.2. A lemezekre öntsünk annyi, a 8.1. pont szerint beoltott táptalajt (4.2.), hogy az egy körülbelül 2 mm vastagságú réteget alkosson (200 mm átmérőjű lemez esetében ez 60 ml). Hagyjuk egyenletesen eloszlan, fúrjuk ki a lyukakat és helyezzük el bennük a vizsgálati és standard oldatok pontosan kimért mennyiségeit (az átmérő függvényében lyukanként 0,10 és 0,15 ml közötti mennyiség). Minden koncentrációt legalább négyszer alkalmazzunk, hogy minden meghatározás 32 gátlási zóna kiértékelése alapján történjen.

8.3. Inkubáció

Inkubáljuk a lemezeket 35-37 °C-on, 18 órán át.

9. Kiértékelés

9.1. Mérjük meg a gátlási zónák átmérőjét 0,1 mm-es pontossággal. Fél-logaritmikus milliméterpapíron ábrázoljuk az egyes koncentrációknál mért eredmények középértékeit, a koncentrációk logaritmusát a gátlási zónák átmérőinek függvényében. Szerkesszük meg mind a standard oldat, mind a kivonat egyenesét, például az alábbiak szerint:

9.2. Határozzuk meg a standard legalacsonyabb szint (S_A) egyenes pontját a következő képlet segítségével:

$$(a) \quad S_A = \frac{7S_1 + 4S_2 + S_4 - 2S_8}{10}$$

Határozzuk meg a standard legmagasabb szint (S_M) egyenes pontját a következő képlet segítségével:

$$(b) \quad S_M = \frac{7S_8 + 4S_4 + S_2 - 2S_1}{10}$$

9.3. Hasonló módon számítsuk ki az egyenes pontjait a kivonat legalacsonyabb szintjére (U_A) és a kivonat legmagasabb szintjére (U_M), a fenti képletekben az S_1 , S_2 , S_4 , S_8 értékek helyett az U_1 , U_2 , U_4 , és U_8 értékeket használva.

9.4. Ábrázoljuk a kiszámított S_A és S_M értékeket ugyanarra a milliméterpapírra és kössük össze őket, hogy megkapjuk a standard oldat egyenesét. Hasonló módon ábrázoljuk az U_A és U_M értékeket és kössük össze őket, hogy megkapjuk a kivonat egyenesét.

9.5. Ha interferencia nem lép fel, a vonalaknak párhuzamosnak kell lenniük. Gyakorlati megfontolásból a vonalakat párhuzamosnak tekinthetjük, ha az $(S_M - S_A)$ és $(U_M - U_A)$ érték középértékeiktől való eltérése nem haladja meg a 10%-ot.

9.6. Ha a vonalak nem tekinthetők párhuzamosnak, akkor akár az U_1 és S_1 , akár az U_8 és S_8 elhagyható, az S_A , S_M , U_A és U_M értékek az alábbi alternatív képletekkel számolhatók ki, hogy megkapjuk az alternatív regressziós egyenest:

$$(a') \quad S_A = \frac{5S_1 + 2S_2 - S_4}{6} \quad \text{vagy} \quad S_A = \frac{5S_2 + 2S_4 - S_8}{6}$$

$$(b') \quad S_M = \frac{5S_4 + 2S_2 - S_1}{6} \quad \text{vagy} \quad S_M = \frac{5S_8 + 2S_4 - S_2}{6}$$

és hasonlóan U_A -ra és U_M -re. Ugyanazt a párhuzamossági feltételt kell teljesíteni. Azt a tényt, hogy az eredmény három szint alapján került kiszámításra, fel kell tüntetni a jegyzőkönyvben.

9.7. Ha a vonalak párhuzamosnak tekinthetők, akkor számoljuk ki a relatív aktivitás logaritmusát ($\log A$) a következő képletek egyikének felhasználásával, attól függően, hogy három vagy négy tényezőtől történt-e a párhuzamosság megállapítása.

9.7.1. Négy szint esetén

$$(c) \quad \log A = \frac{(U_1 + U_2 + U_4 + U_8 - S_1 - S_2 - S_4 - S_8) \times 0,602}{U_4 + U_8 + S_4 + S_8 - U_1 - U_2 - S_1 - S_2}$$

9.7.2. Három szint esetén

$$(d) \quad \log A = \frac{(U_1 + U_2 + U_4 - S_1 - S_2 - S_4) \times 0,401}{U_4 + S_4 - U_1 - S_1}$$

vagy

$$(d') \quad \log A = \frac{(U_2 + U_4 + U_8 - S_2 - S_4 - S_8) \times 0,401}{U_8 + S_8 - U_2 - S_2}$$

Valódi aktivitás = feltételezett aktivitás x relatív aktivitás

9.8. Ha a relatív aktivitás a 0,5 és 2,0 közötti tartományon kívül esik, akkor ismételjük meg a vizsgálatot a kivonat koncentrációin, vagy ahol ez nem lehetséges, ott a standard oldatokon végzett megfelelő módosításokkal. Ha a relatív aktivitást nem tudjuk az említett tartományon belülre korrigálni, akkor bármely kapott eredményt közelítő eredménynek kell tekinteni, és ezt fel kell tüntetni a jegyzőkönyvben.

9.9. Ha a vonalak nem tekinthetők párhuzamosnak, ismételjük meg a meghatározást. Ha a párhuzamosságot még ezután sem sikerült elérni, akkor a meghatározást nem kielégítőnek kell tekinteni.

10. Ismételhetőség

Az ugyanazon mintán, ugyanazon analitikus által párhuzamosan végrehajtott két meghatározás eredménye közötti különbség nem haladhatja meg:

- a 10 és 25 mg/kg közötti tartalom esetén a legmagasabb érték 20%-át,
- a 25 és 50 mg/kg közötti tartalom esetén az 5 mg/kg-ot, abszolút értékben,
- az 50 mg/kg feletti tartalom esetén a legmagasabb érték 10%-át.

XLIII.

Karbonátok meghatározása

1. Cél és alkalmazási terület

Ez a módszer lehetővé teszi a karbonátok, hagyományosan kalcium-karbonátban kifejezett mennyiségének meghatározását a legtöbb takarmányban. Bizonyos esetekben (például a vas-karbonát esetében) speciális módszert kell alkalmazni.

2. Vizsgálati alapelv

A karbonátokat sósavban bontjuk szét; a kibocsátott szén-dioxidot egy kalibrált csőben gyűjtjük össze, és térfogatát összehasonlítjuk az azonos körülmények között a kalcium-karbonát a.r. ismert mennyisége által kibocsátott mennyiséggel.

3. Reagensek

3.1. Sósav a.r., d: 1,10.

3.2. Kalcium-karbonát, a.r.

3.1. Kb. 0,1 N kénsav, metilvörös indikátorral megszínezve.

4. Eszközök

Scheibler-Dietrich készülék (lásd az ábrát) vagy annak megfelelő készülék.

5. A vizsgálat módja

5.1. A minta karbonát-tartalmától függően mérjük ki egy részmintát az alábbiak szerint:

- 0,5 g az 50-100% karbonát-tartalmú termékek esetén, kalcium-karbonátban kifejezve;
- 1 g a 40-50% karbonát-tartalmú termékek esetén, kalcium-karbonátban kifejezve;
- 2-3 g egyéb termékek esetében.

5.2. Helyezzük a részmintát a készülék speciális lombikjába (4), amelyet 10 ml sósavat (3.1.) tartalmazó, törhetetlen anyagból készült, kisméretű csővel szereltek fel, és kapcsoljuk a lombikot a készülékhez. Fordítsuk el a háromfázisú csapot (5), hogy a cső (1) a külső résszel kapcsolódjon. A színezett kénsavval (3.3.) töltött és kalibrált csőhöz (1) kapcsolt mozgatható cső (2) segítségével igazítsuk a folyadék szintjét a nulla jelhez. Az (1) és a (3) csövek összekapcsolásához fordítsuk el a csapot (5), és ellenőrizzük, hogy a szint nullán áll-e.

A lombik (4) megdöntésével folyassunk lassan sósavat (3.1.) a részmintára. A (2) cső leengedésével egyenlítsük ki a nyomást. Rázzuk a (4) lombikot egészen addig, amíg a szén-dioxid kibocsátás teljesen meg nem szűnik.

Az (1) és a (2) csőben lévő folyadék egyenlő szintre igazításával állítsuk vissza a nyomást. Néhány perc múlva, amikor a gáz mennyisége állandósul, olvassuk le az eredményt.

Végezzünk ellenőrző vizsgálatot ugyanilyen körülmények között 0,5 g kalcium-karbonáton (3.2.).

6. Az eredmények kiszámítása

A kalcium karbonát formájában, grammal kifejezett karbonát-tartalom a mintára vonatkoztatva, százalékosan a következő képlet segítségével számítható ki:

$$\frac{V \times 100}{T \times 2W}$$

ahol:

V = a rész minta által kibocsátott szén-dioxid, ml-ben.

T = 0,5 g CaCO_3 a.r. által kibocsátott szén-dioxid, ml-ben.

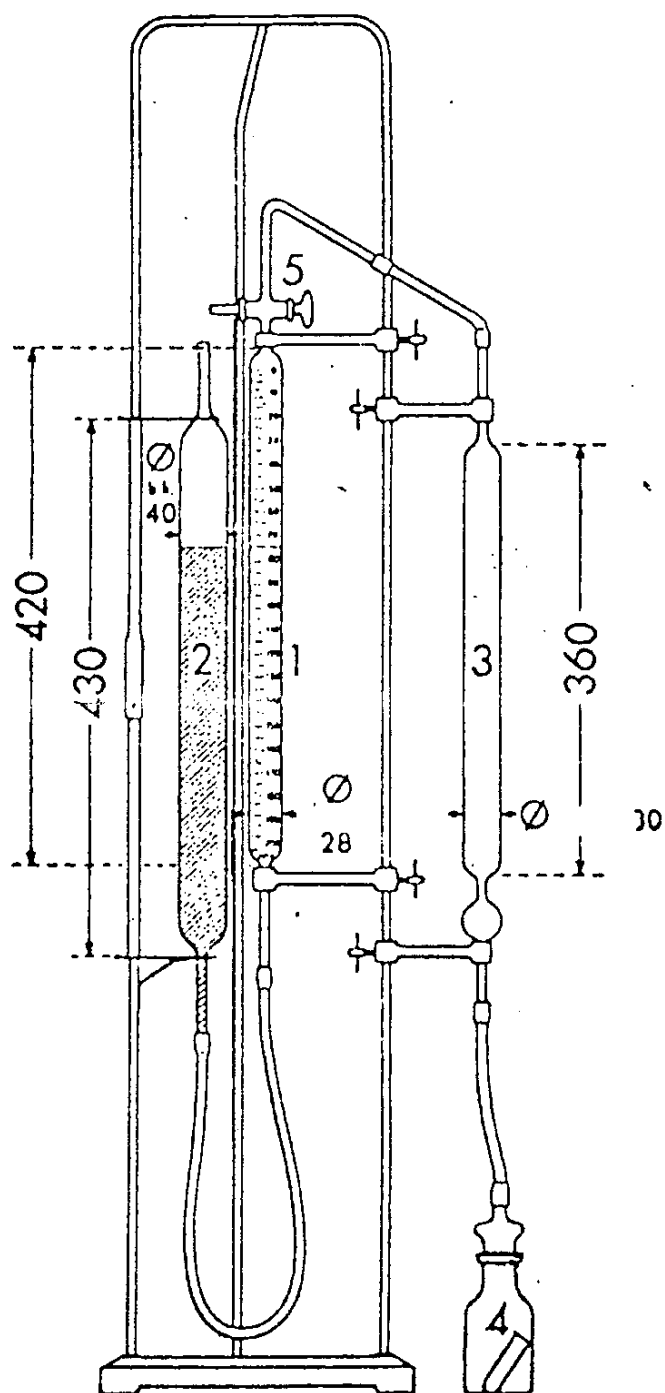
W = a rész minta grammal kifejezett tömege.

7. Észrevételek

7.1. Ha a rész minta 2 g-nál nehezebb, először töltsünk 15 ml desztillált vizet a (4) lombikba, és keverjük össze a vizsgálat megkezdése előtt. Az ellenőrző vizsgálat esetében ugyanezt a vízmennyiséget használjuk.

7.2. Ha a használt készülék űrtartalma eltér a Scheibler-Dietrich készülékétől, a mintából és a kontrollanyagból vett részt és az eredmények kiszámítását annak megfelelően kell korrigálni.

A szén-dioxid meghatározására szolgáló Scheibler-Dietrich készülék



1:8 arány
(mm)

XLIV.

Ureáz-aktivitás meghatározása szója-készítményekben**1. Cél és alkalmazási terület**

Szójabab és a szójakészítmények mintáinak ureáz-aktivitás meghatározása.

2. A módszer elve

A szójabab és a szójakészítmények mintáinak ureáz-aktivitását azzal az ammónia-nitrogén mennyiséggel mérjük, amelyet 1 g minta 30 °C-on a pufferolt karbamid oldatból percenként felszabadít.

3. Vegyszerek

3.1. Karbamid, a.r.

3.2. Dinátrium-hidrogén-foszfát ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)

3.3. Kálium-dihidrogén-foszfát (KH_2PO_4)

3.4. Sósav

3.5. Nátrium-hidroxid

3.6. Kálium-hidrogén-karbonát

3.7. Metilnarancs-indikátor

Vegyszerek előkészítése

3.8. Foszfát-puffer oldat

4,45 g dinátrium-hidrogén-foszfátot és 3,40 g kálium-dihidrogén-foszfátot 1000 cm³-es mérőlombikban desztillált vízben feloldunk, jelig töltjük, összerázzuk.

3.9. Karbamidos foszfát-pufferoldat (frissen készítve)

30 g karbamidot 1000 cm³-es mérőlombikban foszfát-pufferoldatban feloldunk, jelig töltjük, összerázzuk. Az oldat pH-jának 6,9-7,0 között kell lenni.

3.10. 0,1 mólos sósavoldat

3.10.1. Közelítően 0,1 mólos sósavoldat készítése

A 37%-os (m/m) sósavból 8,25 cm³-t 1000 cm³-re hígítunk desztillált vízzel normál lombikban, összerázzuk.

3.10.2. A közelítően 0,1 mólos sósavoldat beállítása kálium-hidrogén-karbonátra

3.10.2.1. Az előkészített kálium-hidrogén-karbonátból lemérünk analitikai mérlegen 2 g körüli mennyiséget 0,2 mg pontossággal, majd visszaméréssel 0,2-0,25 g-ot veszteség nélkül titráló lombikba tesszünk.

3.10.2.2. A bemért sót 30 cm³ desztillált vízben oldjuk, 1 csepp metilnarancs-indikátort adunk hozzá és a 0,1 mólos sósavoldattal addig titráljuk, míg az oldat narancsszínű lesz. Ezután a szén-dioxid eltávolítására két percig forraljuk, majd gyorsan lehűtjük és az általában visszasárgult oldatot teljes lehűlés után átmeneti színűre titráljuk.

$$\text{Az oldat faktora} = \frac{A}{10,019 \times b}$$

ahol

A = a bemért kálium-hidrogén-karbonát tömege, mg-ban

b = a fogyott sósavoldat, cm³-ben

Az egyes faktorokat külön-külön számítjuk ki; azoknak 0,2%-nál nagyobb eltérést nem szabad mutatni. Ha az eltérés nagyobb, a mérést meg kell ismételni.

A faktor ismeretében hígítással, vagy sósav hozzáadásával az oldatot pontosan 1,000 faktorúra kell beállítani.

3.11. 0,1 mólos nátrium-hidroxid

3.11.1. A közelítően 0,1 mólos nátrium-hidroxid készítése

Lehetőség szerint karbonátmentes nátrium-hidroxidból 4 g-ot oldunk desztillált vízben 1000 cm³-re, szobahőmérsékletre hűtjük, jellegű töltjük, összerázzuk.

3.11.2. Az 0,1 mólos nátrium-hidroxid oldat faktorának beállítása 0,1 mólos sósavoldatra

Titráló lombikba 20,00 cm³ 0,1 mólos sósavoldatot mérünk és metilnarancs-indikátor jelenlétében a beállítandó 0,1 mólos nátrium-hidroxiddal átmeneti színűre titráljuk.

$$\text{Az oldat faktora} = \frac{a}{b}$$

ahol:

a = a bemért 0,1 mólos sósavoldat mennyisége, cm³-ben

b = a fogyott 0,1 mólos nátrium-hidroxid oldat mennyisége, cm³-ben

A faktor ismeretében az oldatot, ha kell hígítással, vagy nátrium-hidroxid hozzáadásával, pontosan 0,1 mólosra állítjuk.

Az egyes faktorokat külön-külön számítjuk ki; azoknak 0,2%-nál nagyobb eltérést nem szabad mutatni. Ha az eltérés nagyobb, a mérést meg kell ismételni.

3.12. Kálium-hidrogén-karbonát előkészítése

A kálium-hidrogén-karbonátot finoman elporítjuk és óraüvegen vékony rétegben szétterítjük, széndioxiddal töltött tömény kénsavas exsikkátorban egy napig állni hagyjuk. Másnap az összetapadt port újból megtörjük és még egy napra exsikkátorba helyezzük. A finom, nem tapadó port légmentesen zárt edényben tároljuk.

4. Eszközök

4.1. pH-mérő készülék, 0,02 pH érzékenységű, mágneses keverővel, titrálóeszközökkel

4.2. Vízfürdő, 30 °C-ra állítható hőfokszabályozóval és hőmérővel

4.3. Mélyhűtő, jég készítéséhez

4.4. Csiszolt dugós kémcsövek, 150 × 18 mm (20 cm³) méretűek

5. Vizsgálati eljárás

5.1. A minta elkészítése

Az előkészített¹⁵ mintából 10 g körüli mennyiséget úgy darálunk meg, hogy átessen a 0,2 mm-es szitán. Ezután a mintát homogenizáljuk, majd 0,2 g-ot* bemérünk 1 mg pontossággal csiszolt dugós kémcsőbe.

* A módszer legfeljebb

$$1 \frac{\text{mg N}}{\text{g} \times \text{perc}} \text{ 30 } ^\circ\text{C-on}$$

ureáz aktivitásra van beállítva. Magasabb aktivitású anyagoknál a bemérést 50 mg-ra lehet csökkenteni.

5.2. Meghatározás

A bemért mintához a kémcső körkörös mozgatása közben hozzáadunk 10 cm³ karbamidos foszfát-pufferoldatot úgy, hogy a minta teljesen átnedvesedjen, azonnal bedugjuk és azonnal betesszük 30 °C-os vízfürdőbe, pontosan 30 percre. Ezután 10 cm³ 0,1 mólos sósavat adunk hozzá, azonnal jeges vízbe tesszük, majd mérés előtt 20 °C-ra való beállítás után veszteség nélkül az elektród típusától függő méretű és formájú titráló edénybe öntjük, a kémcsövet 2 × 2,5 cm³ desztillált vízzel átöblítjük és azonnal 0,1 mólos nátrium-hidroxiddal titráljuk pH 4,7-ig.

¹⁵ 10% zsírtartalom felett zsírtalanítani kell, hideg extrahálással (dietiléter vagy petroléter), a számításnál a zsírtartalmat figyelembe kell venni.

5.3. Vakpróba

Az előkészített és mért mintához 10 cm^3 0,1 mólos sósavat és 10 cm^3 karbamidos pufferoldatot adunk és 30 percig jeges vízben hagyjuk állni. Ezután $20\text{ }^\circ\text{C}$ -ra állítjuk és maradék nélkül átvisszük az elektrod típusától függő méretű és formájú titráló edénybe, a kémcsövet $2 \times 2,5\text{ cm}^3$ desztillált vízzel átöblítjük. Az oldatot 0,1 mólos nátrium-hidroxiddal pH 4,7-ig titráljuk.

6. Az eredmény kiszámítása és kifejezése

Szójaminták ureázaktivitását az alábbi képlet szerint számítjuk és

$$\frac{\text{mg N}}{\text{g} \times \text{perc}} \text{---} 30\text{ }^\circ\text{C-on}$$

kifejezésben adjuk meg.

$$\text{Ureázaktivitás} = \frac{1,4 (b-a)}{m \times 30}$$

ahol

a = a meghatározásnál fogyott 0,1 mólos nátrium-hidroxid mennyisége, cm^3 -ben

b = a vakpróbánál fogyott 0,1 mólos nátrium-hidroxid mennyisége, cm^3 -ben

m = a vizsgálatához bémért minta mennyisége, g-ban

Az ureázaktivitás értéke két párhuzamos meghatározás középértéke, amelyet kéttizedes pontossággal adunk meg.

7. A vizsgálat ismételhetősége

Azonos mintából végzett két párhuzamos meghatározás eredménye között a megengedett legnagyobb eltérés $0,2\text{ cm}^3$ 0,1 mólos nátrium-hidroxid fogyás.

XLV.

A szabad és az összes gosszipol meghatározása

1. Cél és alkalmazási terület

Ez a módszer lehetővé teszi a szabad gosszipol, az összes gosszipol és a kémiailag rokon anyagok mennyiségi meghatározását a gyapotmagban, a gyapotmaglisztben és a gyapotmag-pogácsában, valamint az ezen anyagokat tartalmazó összetett takarmányokban, amennyiben a gosszipolból több mint 20 ppm van jelen.

2. Vizsgálati alapelv

A gosszipolt 3-aminopropán-1-ol jelenlétében, vagy propán-2-ol és hexán keverékével (a szabad gosszipol meghatározása esetén) vagy dimetil-formamiddal (az összes gosszipol meghatározása esetén) extraháljuk. A gosszipol anilinnel gosszipol-dianilinné alakul, amelynek optikai sűrűségét 440 nm-nél mérjük.

3. Reagensek

3.1. *Propán-2-ol-hexán keverék:* keverjük össze 60 térfogategységnyi propán-2-ol a.r.-t 40 térfogategységnyi *n*-hexánnal.

3.2. *A-oldószer:* tegyünk 1 literes mérőlombikba kb. 500 ml propán-2-ol-hexán keveréket (3.1.), 2 ml 3-aminopropán-1-ol-t, 8 ml jégacetet, valamint 50 ml vizet. Töltsük fel térfogatra a propán-2-ol-hexán keverékkel (3.1.). Ez a reagens egy hétig stabil.

3.3. *B-oldószer:* pipetázzunk 2 ml 3-aminopropán-1-ol-t és 10 ml jégacetet egy 100 ml-es mérőlombikba. Hűtsük le szobahőmérsékletre, és töltsük fel térfogatra N,N-dimetil-formamiddal. Ez a reagens egy hétig stabil.

3.4. *Anilin a.r.:* ha a vakpróba optikai sűrűsége meghaladja a 0,022-et, pároljuk le az anilint cinkpor fölött, és öntsük el a párlat első és utolsó 10-10%-át. Lehűtve és barna, lezárt üveglombikban tárolva a reagens több hónapig eláll.

3.5. *Gosszipol-A standard oldat:* tegyünk 27,9 mg gosszipol-acetátot egy 250 ml-es mérőlombikba. Oldjuk fel, és töltsük fel térfogatra az A-oldószerrel (3.2.). Pipetázzunk 50 ml-t ebből az oldatból egy 250 ml-es mérőlombikba, és töltsük fel térfogatra az A-oldószerrel. Ennek az oldatnak a gosszipol-koncentrációja 0,02 mg/ml. Használat előtt hagyjuk egy órán át szobahőmérsékleten állni.

3.6. *Gosszipol-B standard oldat:* tegyünk 27,9 mg gosszipol-acetátot egy 50 ml-es mérőlombikba. Oldjuk fel, és töltsük fel térfogatra a B-oldószerrel (3.3.). Ennek az oldatnak a gosszipol-koncentrációja 0,5 mg/ml.

Ha fénytől védve tároljuk, a gosszipol-A és -B standard oldat 24 órán át stabil marad.

4. Eszközök

4.1. Keverőgép (kb. 35 fordulat/perc)

4.2. Spektrofotométer

5. A vizsgált módja

5.1. A vizsgálati minta

5.1.1. A vizsgálati minta mennyisége a minta feltételezett gosszipol-tartalmától függ. Jobb kisebb mennyiségű mintával dolgozni, és a szűrlet viszonylag nagyobb mennyiségű aliquot részét használni, hogy elegendő mennyiségű gosszipolt nyerjünk, amely lehetővé teszi a precíz fotometriás mérést. A gyapotmag, a gyapotmagliszt és a gyapotmag-pogácsa szabad gosszipoltartalmának mérésére a

minta mennyisége ne haladja meg az 1 g-ot, összetett takarmányok vizsgálata során a minta mennyisége akár 5 g is lehet. A szűrlet 10 ml-nyi aliquot része a legtöbb esetben megfelelő, ez kb. 50.100 µg gosszipolt tartalmaz. Az összes gosszipolttartalom meghatározásához a minta mennyisége 0,5 és 5 g között legyen, így a szűrlet 2 ml-nyi aliquot része kb. 40.200 µg gosszipolt fog tartalmazni.

5.1.2. A vizsgálatokat kb. 20 °C-os szobahőmérsékleten kell végezni.

5.2. *A szabad gosszipolttartalom meghatározása*

5.2.1. Tegyük a vizsgálandó mintát egy 250 ml-es, csiszolatos lombikba, amelynek az alján üvegzúzalékot helyeztünk el. Pipetázzunk 50 ml A-oldószert (3.2.) a lombikba, zárjuk le a lombikot, és keverjük egy órán át a keverőben. Szűrjük át egy száraz szűrőn, és gyűjtsük össze a szűrletet egy kis, csiszolatos lombikban. Szűrés közben fedjük be a tölcsért egy óraüveggel. Pipetázzunk azonos aliquot mennyiségű, 50.100 µg gosszipolt tartalmazó szűrletet két, 25 ml-es mérőlombikba (A- és B-jelű). Ha szükséges, töltsük fel a mintát 10 ml-re az A-oldószerral (3.2.). Ezután töltsük fel térfogatra az A-jelű lombikot propán-2-ol-hexán keverékkel (3.1.). Ezt az oldatot referenciaoldatként használjuk, mellyel szemben a mintaoldatot mérjük.

5.2.2. Pipetázzunk 10-10 ml A-oldószert (3.2.) két másik, 25 ml-es mérőlombikba (C- és D-jelű). Töltsük fel a C-jelű lombik tartalmát térfogatra propán-2-ol-hexán keverékkel (3.1.). Ezt az oldatot referenciaoldatként használjuk, mellyel szemben a vakpróba oldatot mérjük.

5.2.3. Adjunk 2-2 ml anilint (3.4.) a D- és a B-jelű lombikhoz. Hevítsük ezeket 30 percen át forró vízfürdő fölött, hogy tartalmuk elszíneződjön. Hűtsük le szobahőmérsékletűre, és töltsük fel tartalmukat térfogatra propán-2-ol-hexán keverékkel (3.1.), homogenizáljuk, majd hagyjuk állni egy órán át.

5.2.4. Határozzuk meg a vakpróba oldat (D) optikai sűrűségét a referenciaoldattal (C) összehasonlítva, és a mintaoldat (B) optikai sűrűségét a referenciaoldattal (A) összehasonlítva egy spektrofotométerrel, 440 nm-nél, 1 cm-es üvegküvetéket használva.

5.2.5. Vonjuk ki a vakpróba oldat optikai sűrűségét a mintaoldat optikai sűrűségéből (= korrigált optikai sűrűség). Ebből az értékből a 6. pontban leírtak szerint számítsuk ki a szabad gosszipolttartalmat.

5.3. *Az összes gosszipolttartalom meghatározása*

5.3.1. Tegyük egy 1.5 mg gosszipolt tartalmazó mintát egy 50 ml-es mérőlombikba, és adjunk hozzá 10 ml B-oldószert (3.3.). Készítsünk ezzel párhuzamosan egy vakpróbás oldatot is úgy, hogy 10 ml B-oldószert (3.3) teszünk egy másik, 50 ml-es mérőlombikba. Hevítsük a két lombikot forró vízfürdő fölött 30 percen át. Hűtsük le a lombikokat szobahőmérsékletűre, és töltsük fel tartalmukat térfogatra propán-2-ol-hexán keverékkel (3.1.). Homogenizáljuk, és hagyjuk ülepedni 10-15 percig, utána szűrjük át, majd gyűjtsük össze a szűrletet csiszolatos lombikokba.

5.3.2. A mintaszűrletből pipetázzunk 2-2 ml-t két, 25 ml-es mérőlombikba, és a vakpróba szűrletből is pipetázzunk 2-2 ml-t két másik, 25 ml-es lombikba. Mindkét sorozatban az egyik lombikot töltsük fel 25 ml-re a propán-2-ol-hexán keverékkel (3.1.). Ezeket az oldatokat használjuk referenciaoldatként.

5.3.3. A másik két lombik tartalmához adjunk 2-2 ml anilint (3.4.). Hevítsük ezeket 30 percen át forró vízfürdő fölött, hogy tartalmuk elszíneződjön. Utána hűtsük le őket szobahőmérsékletűre, töltsük fel

tartalmukat propán-2-ol-hexán keverékkel 25 ml-re (3.1.), homogenizáljuk, és hagyjuk állni egy órán át.

5.3.4. Határozzuk meg az optikai sűrűséget az 5.2. pontban a szabad gosszipoltartalomra vonatkozóan ismertetett módon. Ebből az értékből számítsuk ki az összes gosszipoltartalmat a 6. pont alapján.

6. Az eredmények kiszámítása

Az eredmény kiszámítható akár a fajlagos optikai sűrűségből (6.1.), akár egy kalibrációs görbe segítségével (6.2.).

6.1. A fajlagos optikai sűrűségből

A fajlagos optikai sűrűség, a leírt feltételek esetén az alábbiak szerint alakul:

Szabad gosszipoltartalom: E

$$E \frac{1\%}{1\text{cm}} 625$$

Összes gosszipoltartalom: E

$$E \frac{1\%}{1\text{cm}} 600$$

A minta szabad vagy összes gosszipoltartalmát a következő képlet alapján számítjuk ki:

$\text{Gosszipol, \%} = \frac{E \cdot 1250}{E \frac{1\%}{1\text{cm}} p \cdot a}$
--

ahol:

E = az 5.2 pont szerint meghatározott korrigált optikai sűrűség

p = a minta mennyisége, g-ban

a = a szűrlet mennyisége, ml-ben

6.2. Kalibrációs görbéből

6.2.1. Szabad gosszipoltartalom

6.2.1.1. Készítsünk elő két, egyenként 5 db 25 ml-es mérőlombikból álló sorozatot. Pipetázzunk mindkét sorozat lombikjaiba 2,0, 4,0, 6,0, 8,0 és 10,0 ml gosszipol-A standard oldatot (3.5.). Töltsük fel valamennyi lombikot 10 ml-re az A-oldószerezrel (3.2.). Egészítsük ki mindkét sorozatot egy-egy, 25 ml-es, de csak 10 ml A-oldószert (3.2.) tartalmazó lombikkal (vakpróba).

6.2.1.2. Töltsük fel 25 ml-re az egyik sorozat lombikjait (beleértve az egyik vakpróba lombikját is) propán-2-ol-hexán keverékkel (3.1.) (referenciasorozat).

6.2.1.3. Adjunk a másik sorozat mindegyik lombikjának tartalmához 2 ml anilint (3.4.), beleértve a másik vakpróba lombikját is. Hevítsük ezeket a lombikokat 30 percen át forró vízfürdő fölött, hogy tartalmuk elszíneződjön. Ezután hűtsük le őket szobahőmérsékletűre, töltsük fel térfogatra propán-2-ol-hexán keverékkel (3.1.), homogenizáljuk, és hagyjuk állni egy órán át (standard sorozat).

6.2.1.4. Határozzuk meg a standard oldatok optikai sűrűségét az 5.2. pont szerint, összehasonlítva a referencia-sorozat oldataival. Szerkesszük meg a kalibrációs görbét úgy, hogy az optikai sűrűséget a gosszipol µg-ban kifejezett mennyiségének függvényében ábrázoljuk.

6.2.2. Összes gosszipoltartalom

6.2.2.1. Készítsünk elő 6 db 50 ml-es mérőlombikot. Tegyük az első lombikba 10 ml-t a B-oldószerből (3.3.), a többibe pedig sorban 2,0, 4,0, 6,0, 8,0 és 10,0 ml gosszipol-B standard oldatot (3.6.). Töltsük fel valamennyi lombik tartalmát 10 ml-re a B-oldószerrel (3.3.). Hevítsük a lombikokat forró vízfürdő fölött 30 percen át. Hűtsük le őket szobahőmérsékletűre, töltsük fel térfogatra a propán-2-ol-hexán keverékkel (3.1.), és homogenizáljuk a tartalmukat.

6.2.2.2. Az elkészített oldatokból tegyük 2-2 ml-t a két sorozatban előkészített, 6-6 db 25 ml-es mérőlombikba. Töltsük fel az első sorozat lombikjainak tartalmát 25 ml-re propán-2-ol-hexán keverékkel (3.1.) (referencia-sorozat).

6.2.2.3. A másik sorozat mindegyik lombikjába tegyük 2 ml anilint (3.4.). Hevítsük a lombikokat forró vízfürdő fölött 30 percen át. Ezután hűtsük le őket szobahőmérsékletűre, töltsük fel térfogatra propán-2-ol-hexán keverékkel (3.1.), homogenizáljuk, és hagyjuk állni egy órán át (standard-sorozat).

6.2.2.4. Határozzuk meg a standard oldatok optikai sűrűségét az 5.2. pont szerint, összehasonlítva a referencia-sorozat oldataival. Szerkesszük meg a kalibrációs görbét úgy, hogy az optikai sűrűséget a gosszipol µg-ban kifejezett mennyiségének függvényében ábrázoljuk.

6.3 Ismételhetőség

Az ugyanazon a mintán végzett két párhuzamos meghatározás eredménye közötti különbség nem haladhatja meg:

- az 500 ppm-nél kevesebb gosszipolt tartalmazó minták esetében a 15%-ot, relatív értékben,
- az 500 ppm-nél nem kevesebb és 750 ppm-nél nem több gosszipolt tartalmazó minták esetében a 75 ppm-et, abszolút értékben,
- a 750 ppm-nél több gosszipolt tartalmazó minták esetében a 10%-ot, relatív értékben.

XLVI.

A tilozin meghatározásának módszere agar diffúzióval**1. Cél és alkalmazási terület**

Ez a módszer a takarmányok, a koncentrátumok és az előkeverékek tilozin-tartalmának meghatározását teszi lehetővé, amennyiben a tilozin 2 ppm-nél nagyobb mennyiségben van jelen.

2. Vizsgálati alapelv

A mintát 80 °C-ra előmelegített, 8 pH-jú foszfátpuffer-oldattal kezeljük, majd metil-alkohollal extraháljuk. Centrifugálás után a kivonatot hígítjuk, és antibiotikum-aktivitását a tilozin, *Sarcina lutea*-val beoltott agartáptalajban való diffúziójának mérésével határozzuk meg. A diffúziót a mikroorganizmus jelenlétében gátlási zónák kialakulása jelzi. E zónák átmérője egyenesen arányos az antibiotikum-koncentráció logaritmusával.

3. Mikroorganizmus: *Sarcina lutea* ATCC No 9341**3.1. Az eredeti törzs fenntartása**

Oltsunk be *Sarcina lutea*-val egy ferde agarcsövet, amelyet a (4.1.) táptalajból vettünk, a pH-t állítsuk 7,0-re. Inkubáljuk egy éjszakán át kb. 35 °C-on. Tegyük a tenyészetet hűtőbe, és havonta oltsuk át vele a ferde agart.

3.2. A baktérium-szuszpenzió elkészítése

3.2.1. Kb. 2,3 ml fiziológiás konyhasóoldattal (4.4.) mossuk le a baktériumokat egy frissen készített ferde agarcsőről (3.1.). Oltsunk be ezzel a szuszpenzióval egy Roux-palackot, amely 250 ml, pH 7,0-re beállított táptalajt (4.1.) tartalmaz. Inkubáljuk 35 °C-on 24 órán át, majd vegyük fel a baktériumokat 25 ml fiziológiás konyhasóoldatban (4.4.). Homogenizáljuk, és hígítsuk fel ezt a szuszpenziót úgy, hogy 650 nm-nél, kb. 75%-os fényáteresztést kapjunk.

3.2.2. Hűtőben tárolva ez a szuszpenzió egy hétig használható.

3.2.3. A meghatározáshoz használt alaptáptalajjal (4.1.) öntött lemezekon végzett előzetes vizsgálatokkal állapítsuk meg az inokulumnak azt a mennyiségét, amely az alkalmazott különböző tilozin-koncentrációk esetén a lehető legnagyobb, még tiszta gátlási zónákat adja. A táptalajt 48-50 °C-on kell beoltani.

4. Táptalajok és reagensek**4.1. Alaptáptalaj a meghatározáshoz¹⁶**

Glükóz	1 g
Tryptines pepton	10 g
Húskivonat	1,5 g

¹⁶ Bármilyen hasonló összetételű és ugyanazt az eredményt adó, a kereskedelmi forgalomban kapható táptalaj használható.

Élesztőkivonat	3 g
Agar, minőségtől függően	10.20 g
Desztillált vízzel feltöltve	1 000 ml-re

Közvetlenül használat előtt állítsuk a pH-t az eredeti törzs fenntartásához és baktérium-szuszpenzió elkészítéséhez 7,0-re, a meghatározáshoz 8,0-ra.

4.2. Foszfátpuffer-oldat, pH 8

Kálium-dihidrogén-foszfát KH_2PO_4 a. r.	0,523 g
Dikálium-hidrogén-foszfát KH_2PO_4 a. r.	16,730 g
Desztillált vízzel feltöltve	1 000 ml-re

4.3. Foszfátpuffer-oldat, pH 7

Kálium-dihidrogén-foszfát KH_2PO_4 A. R.	5,5 g
Dikálium-hidrogén-foszfát KH_2PO_4 A. R.	13,6 g
Desztillált víz	ad 1000 ml

4.4. Steril fiziológiás konyhasóoldat

4.5. Tiszta metil-alkohol

4.6. 40%-os metil-alkohol

4.7. Foszfátpuffer-oldat (4.2.)/tisztá metanol 60/40 térfogategység arányú keveréke

4.8. Standard anyag: ismert aktivitású tilozin

5. Standard oldatok

5.1. Szárítsuk a standard anyagot (4.8.) 3 órán át 60 °C-on egy vákuumkemencében (5 mm higany). Mérjük ki belőle 10-50 mg-ot egy mérőlombikba, oldjuk fel 5 ml metil-alkoholban (4.5.), és hígítsuk az oldatot pH 7-es foszfátpuffer-oldattal (4.3.), hogy 1000 µg/ml tilozin-bázis koncentrációt kapjunk.

5.2. A (4.7.) keverékkel történő hígítással készítsünk ebből a törzsoldatból egy 2 µg/ml tilozin-bázist tartalmazó S8 standard munkaoldatot.

5.3. Ezután, a (4.7.) keverék felhasználásával végzett sorozatos hígítással (1 + 1) készítsük el a következő koncentrációjú oldatokat:

S4	1 µg/ml
S2	0,5 µg/ml
S1	0,25 µg/ml

6. Extrahálás

6.1. Mérjük ki koncentrátumok esetén 10 g, előkeverékek és takarmányok esetén 20 g vizsgálati mintát. Adjunk a mintához 60 ml, előzetesen 80 °C-ra melegített, pH 8-as foszfátpuffer-oldatot (4.2.), és homogenizáljuk 2 percen át (háztartási keverőgéppel vagy Ultra-turrax-szal, stb.).

6.2. Hagyjuk állni 10 percen át, adjunk hozzá 40 ml metil-alkoholt (4.5.), és homogenizáljuk 5 percig. Centrifugáljuk, majd vegyünk egy aliquot részt a kivonatból, és hígítsuk fel a (4.7.) oldattal úgy, hogy 2 µg/ml-es feltételezett tilozin-koncentrációt kapjunk (=U8). Ezután, a (4.7.) keverékkel végzett sorozatos hígítással (1 + 1) készítsük el az U4, U2 és U1 koncentrációjú oldatokat.

6.3. 10 ppm-nél alacsonyabb tartalom esetén pároljuk a mintát szárazra egy rotációs bepárlókészüléken, 35 °C-on, majd oldjuk fel a maradékot 40%-os metil-alkoholban (4.6.).

7. Meghatározási módszer

7.1. A táptalaj beoltása

A meghatározáshoz használt, pH 8,0-re beállított alaptáptalajt (4.1.) oltsuk be 48-50 °C-on a baktérium-szuszpenzióval (3.2.).

7.2. A tálcák előkészítése

7.2.1. Az agardiffúziót tálcákon hajtjuk végre, a standard oldat 4 koncentrációját (S8, S4, S2, S1) és a kivonat 4 koncentrációját (U8, U4, U2, U1) felhasználva. A standard oldat és a kivonat 4-4 koncentrációját minden tálcára fel kell vinni.

7.2.2. Ezért olyan nagyságú tálcát használjunk, amely lehetővé teszi, hogy a rajta elhelyezett agaron legalább 8, egyenként 10-13 mm átmérőjű lyukat fúrassunk. Számítsuk ki a beoltott táptalaj (7.1.) szükséges mennyiségét úgy, hogy kb. 2 mm vastagságú, egyenletes réteget kapjunk. Leginkább olyan tálcák felelnek meg a célnak, amelyek tökéletesen vízszintes, 200 mm átmérőjű és 20 mm magas alumínium vagy műanyag karimagyűrűvel ellátott sík üveglemezből állnak.

7.2.3. A lyukakba pipetázzunk 0,10-0,15 ml pontosan kimért antibiotikum-oldatot, a lyukak átmérőjétől függően.

7.2.4. Minden egyes minta esetében legalább négyszer ismételjük meg a diffúziót, hogy minden egyes meghatározás összesen 32 gátlási zóna értékelésén alapuljon.

7.3. Inkubálás

Inkubáljuk a tálcákat 35-37 °C-on egy éjszakán át.

8. Értékelés

8.1. Mérjük meg a gátlási zónák átmérőjét, lehetőleg kivetítő segítségével. Jegyezzük fel a mérési eredményeket féllogaritmikus papíron, a koncentrációk logaritmusát a gátlási zónák átmérőjének függvényében ábrázolva. Rajzoljuk meg a standard oldat és a kivonat vonalát. Ha nem áll fenn interferencia, a két vonal párhuzamos lesz.

8.2. A relatív aktivitás logaritmusát a következő képlet segítségével számíthatjuk ki:

$$\frac{(U_1 + U_2 + U_4 + U_8 - S_1 - S_2 - S_4 - S_8) \times 0,602}{U_4 + U_8 + S_4 + S_8 - U_1 - U_2 - S_1 - S_2}$$

valódi aktivitás = feltételezett aktivitás $\times$ relatív aktivitás

9. Ismételhetőség

Az ugyanazon a mintán végzett két párhuzamos meghatározás eredménye közötti különbség relatív értékben kifejezve nem haladhatja meg a 10%-ot.

XLVII.

A flavofoszfopol agar táptalajon, diffúzió útján történő meghatározása

1. Cél és alkalmazási terület

A módszer a takarmányokban, koncentrátumokban és előkeverékekben található flavofoszfopol meghatározására szolgál. A meghatározás alsó méréshatára 1 mg/kg (1 ppm).

2. Vizsgálati alapelv

A mintát hígított metil-alkohollal, visszafolyós hűtő alatt hevítve extraháljuk. Centrifugálás után a kivonatot ioncserélő gyantával történő kezeléssel derítjük (szükség esetén), majd hígítjuk. Antibiotikus aktivitását a flavofoszfopol, *Staphylococcus aureus*szal beoltott agar táptalajon végbemenő diffúziójának mérésével határozzuk meg. A diffúziót a mikroorganizmus gátlási zónáinak képződése jelzi. E zónák átmérője egyenes arányos az antibiotikum-koncentrációnak az alkalmazott antibiotikum-koncentrációk tartománya feletti logaritmusával.

3. A mikroorganizmus: *staphylococcus aureus atcc 6538 P*

3.1. A törzstenyészet fenntartása

Oltsunk *Staphylococcus aureus*szal ferde agar táptalajt (4.1.). 37 °C-on, 24 órán keresztül inkubáljuk, tároljuk hűtőszekrényben kb. 4 °C-on, és havonta oltsuk át ferde agarra.

3.2. A baktérium-szuszpenzió elkészítése¹⁷

Tegyünk félre két, törzstenyészetet tartalmazó (3.1.) csövet és hetente oltsuk át őket. 37 °C-on, 24 órán keresztül inkubáljuk és tároljuk hűtőszekrényben kb. 4 °C-on. A vizsgálat megkezdése előtt 24 órával oltsunk be ezzel a szaporulattal kettő-négy, ferde agar táptalajt (4.1.) tartalmazó csövet. 37 °C-on, 16-18 órán keresztül inkubáljuk. Készítsük el a szaporulat szuszpenzióját nátrium-klorid oldatban (4.3.). A szuszpenzióknak, 578 nm-en mérve, 1 cm-es mérőcellában, nátrium-klorid oldat ellenében (4.3.) körülbelül 40%-os fényáteresztésűnek kell lennie.

¹⁷ Más módszerek is használhatók, ha megállapították, hogy hasonló baktérium-szuszpenziókat lehet előállítani velük.

4. Táptalajok és reagensek

4.1. Alaptáptalaj¹⁸

Húspepton	6,0 g
Trypton	4,0 g
Élesztőkivonat	3,0 g
Húskivonat	1,5 g
Glükóz	1,0 g
Agar	15,0 g
Víz	1000 ml
Sterilizálás utáni pH: 6,5	

4.2. Vizsgálati táptalaj

4.2.1. Alapréteg¹⁹

Húspepton	6,0 g
Élesztőkivonat	3,0 g
Húskivonat	1,5 g
Agar	10,0 g
Víz	1000 ml
Sterilizálás utáni pH: 6,5	

4.2.2. Oltási réteg

Mint a 4.1. pontban, 2,0 g szilikon habzágátló emulzió²⁰ hozzáadásával.

4.3. 0,4%-os (w/v) nátrium-klorid oldat: oldjunk fel 4 g nátrium-kloridot a.t. vízben és hígítsuk fel 1000 ml-re; sterilizáljuk.

4.4. Tiszta metil-alkohol.

4.5. 50%-os (v/v) metil-alkohol: hígítsunk fel 500 ml metil-alkoholt (4.4) 500 ml vízzel.

4.6. 80%-os (v/v) metil-alkohol: hígítsunk fel 800 ml metil-alkoholt (4.4) 200 ml vízzel.

4.7. Trisz-hidroximetil-aminometán, a.t.

4.8. Kálium-klorid 1,5%-os (w/v) metil-alkoholos oldata: oldjunk fel 1,5 g a.t. kálium-kloridot 20 ml vízben, töltsük fel metil-alkohollal (4.4) 100 ml-re.

4.9. Kationcserélő: Dowex 50 W × 8, 20.50 szemnagyságú, Na-típusú (Serva kat. 41600-as számú) vagy ezzel egyenértékű.

¹⁸ Bármely hasonló összetételű, kereskedelemben kapható táptalaj használható, amely hasonló eredményt ad, pl. oxoid antibiotikumos táptalaj 1 (CM 327) 3-as számú (L 13) oxoid agar hozzáadásával.

¹⁹ Bármely hasonló összetételű, kereskedelemben kapható táptalaj használható, amely hasonló eredményt ad, pl. oxoid antibiotikumos táptalaj 2 (CM 335) 3-as számú (L 13) oxoid agar hozzáadásával.

²⁰ Pl. SE 2 a Wacker Chemie GmbH-től, München.

4.10. Anioncserélő: Dowex 1 × 2, 50.100 szemnagyságú, Cl-típusú (Serva kat. 41010-es számú) vagy ezzel egyenértékű. Használat előtt tartsa 12-14 óráig 80%-os metil-alkoholban (4.6.).

4.11. Üvegvilla.

4.12. pH indikátorpapír (pH 6,6,8,1).

4.13. Aszkorbinsav.

4.14. Standard anyag: ismert aktivitású flavofoszfolipol.

5. Eszközök

5.1. Kromatográfiás üvegcső, belső átmérője 9 mm, hossza 150-200 mm, szűkített alsó részénél elzárócsappal, felső részénél üvegcsiszolattal – ami összeköti a csepegtetőtölcsérrel (5.2.) – ellátott.

5.2. 250 ml-es csepegtetőtölcsér, elzárócsappal és üvegcsiszolattal.

5.3. 250 ml-es Erlenmeyer-lombik üvegcsiszolattal.

5.4. Visszafolyós hűtő üvegcsiszolattal.

6. Standard oldatok

6.1. Oldjunk fel egy pontosan kimért mennyiségű standard anyagot (4.14.) 50%-os metil-alkoholban (4.5.), és hígítsuk fel úgy, hogy 100 µg/ml flavofoszfolipolt tartalmazó törzsoldatot kapjunk. Lezárt lombikokban, 4 °C-on tárolva az oldat két hónapig stabil marad.

6.2. Ezen törzsoldatból, 50%-os metil-alkohollal (4.5.) történő többszöri hígítással készítsük el a következő oldatokat:

S8	0,2 µg/ml
S4	0,1 µg/ml
S2	0,05 µg/ml
S1	0,025 µg/ml

7. A kivonat elkészítése

7.1. Extrahálás

7.1.1. Koncentrátumok, előkeverékek és ásványi takarmányok

Mérjünk ki 2,0-5,0 g mintát és adjunk hozzá kb. 150 mg aszkorbinsavat (4.13.). Homogenizáljuk 150 ml 50%-os metil-alkohollal (4.5.) egy Erlenmeyer-lombikban (5.3.) és kb. 400 mg trisz-hidroximetil-aminometán (4.7.) segítségével állítsuk be a pH-t 8,1-8,2-re. Ellenőrizzük a pH-t indikátorpapírral (4.12.). Hagyjuk állni 15 percig, azután újra állítsuk be a pH-t trisz-hidroximetil-aminometánnal (4.7.) 8,1-8,2-re, majd forraljuk 10 percig visszafolyós hűtő alatt (5.4.), állandó keveréssel. Hagyjuk lehűlni, centrifugáljuk a keveréket és dekantáljuk a kivonatot.

7.1.2. Egyéb takarmányok

Mérjük ki egy legalább 30 µg flavofoszfolipolt tartalmazó, 5,0-30,0 g tömegű mintát. Homogenizáljuk 150 ml 50%-os metil-alkohollal (4.5.) egy Erlenmeyer-lombikban (5.3.), és kb. 400 mg trisz-hidroximetil-aminometán (4.7.) segítségével állítsuk be a pH-t 8,1.8,2-re. Ellenőrizzük a pH-t indikátorpapírral (4.12.). Hagyjuk állni 15 percig, azután újra állítsuk be a pH-t trisz-hidroximetil-aminometánnal (4.7.) 8,1-8,2-re, majd forraljuk 10 percig visszafolyós hűtő alatt (5.4.), állandó keveréssel. Hagyjuk kihűlni, centrifugáljuk a keveréket és dekantáljuk a kivonatot.

7.2. Derítés (a vizsgálat ezen szakasza koncentrátumok, előkeverékek és ásványi takarmányok esetében elhagyható)

7.2.1. Keverjük össze 110 ml kivonatot 11 g kationcserélővel (4.9.), forraljuk egy percig visszafolyós hűtő alatt (5.4.), állandó keveréssel. Válasszuk le a kationcserélőt centrifugálással vagy szűréssel. Keverjük össze 100 ml kivonatot 150 ml metil-alkohollal (4.4.), majd tároljuk az oldatot 12-15 óráig 4 °C-on. Szűrjük le még hidegen a flokkulens anyagot.

7.2.2. Helyezzünk egy üvegvatta dugót (4.11.) az üvegcső aljára (5.1.), öntsünk a csőbe 5 ml anioncserélőt (4.10.) és mossuk az oszlopot 100 ml, 80%-os metil-alkohollal (4.6.). A csepegtetőtölcsér (5.2.) segítségével öntsünk át az oszlopba legalább 100 ml szűrletet, amely várhatóan 16 µg flavofoszfolipolt tartalmaz (30 g-os takarmányminta esetében, 1 ppm-nél 200 ml-t). Adott esetben, mielőtt az oszlopba töltenénk, hígítsuk a szűrletet 80%-os metil-alkohollal (4.6.), hogy a várt 16 µg/100 ml koncentrációjú flavofoszfolipol-tartalmat kapjuk. Állítsuk be az átfolyási sebességet kb. 2 ml/perc értékre. Öntsük el a szüredéket. Ezután mossuk az oszlopot 50 ml, 80%-os metil-alkohollal (4.6.) és öntsük el a szüredéket.

7.2.3. Eluáljuk a flavofoszfolipolt kálium-klorid metil-alkoholos oldatával (4.8.), az átfolyási sebességet kb. 2 ml/perc értéken tartva. Vegyünk fel 50 ml eluátumot egy mérőlombikban, adjunk hozzá 30 ml vizet és keverjük össze. Ezen oldat flavofoszfolipol-tartalmának 0,2 µg/ml-nek kell lennie (= U8).

7.3. Vizsgálati oldatok

7.3.1. Adott esetben (pl. a derítés kihagyása esetén), hígítsuk a 7.1.1. pontban kapott kivonatot 50%-os metil-alkohollal (4.5.), hogy a várt 0,2 µg/ml koncentrációjú flavofoszfolipol-tartalmat kapjuk (= U8).

7.3.2. Az U8 oldatból, 50%-os metil-alkohollal (4.5.) történő többszöri hígítás útján (1 + 1 arányban) készítsük el az U4 (várt tartalom: 0,1 µg/ml), az U2 (várt tartalom: 0,05 µg/ml) és az U1 (várt tartalom: 0,025 µg/ml) oldatokat.

8. A vizsgálat módja

8.1. A vizsgálati táptalaj beoltása

Oltsuk be baktérium-szuszpenzióval (3.2.) a vizsgálati táptalajt (4.2.2.) kb. 50 °C-on. A vizsgálati táptalajt (4.2.2.) tartalmazó tálcákon végzett előzetes vizsgálatokkal határozzuk meg a baktérium-szuszpenzióknak azt a mennyiségét, amely a legnagyobb és legtisztábban látható gátlási zónákat adja a flavofoszfolipol különböző koncentrációival (kb. 30 ml/liter).

8.2. A tálcák előkészítése

8.2.1. Az agaron végbemenő diffúziót a négyféle koncentrációjú standard oldatot (S8, S4, S2, S1) és a négyféle koncentrációjú vizsgálati oldatot (U8, U4, U2, U1) tartalmazó tálcákon végezzük. Ezt a négyféle koncentrációban meglévő kivonatot és standard oldatot minden egyes tálcán el kell helyezni. Ezért olyan tálcákat válasszunk, amelyek elég nagyok ahhoz, hogy az agar táptalajon legalább nyolc, egymástól minimum 30 mm távolságra lévő, egyenként 10-13 mm átmérőjű lyuk elérjen rajtuk. A vizsgálat elvégezhető olyan üveglemez tálcákon is, amelyeket egy 200 mm átmérőjű és 20 mm magas megmunkált alumínium vagy műanyag karimagyűrű szegélyez.

8.2.2. Öntsünk a tálcákra annyi táptalajt (4.2.1.), hogy az kb. 1,5 mm vastagságú réteget képezzen (45 ml-t egy 200 mm átmérőjű tálcára). Engedjük egyenletesen eloszlani, helyezzünk rá egy újabb, a 8.1. pontban leírt módon beoltott táptalaj (4.2.2.) réteget, hogy kb. 1 mm vastag réteget képezzen (30 ml-t egy 200 mm átmérőjű tálcán). Engedjük ismét egyenletesen eloszlani, fúrjunk lyukakat, és helyezzük el bennük a pontosan kimért mennyiségű vizsgálati és standard oldatokat (az átmérőtől függően 0,10 és 0,15 ml közötti mennyiséget lyukanként).

8.2.3. Minden egyes koncentrációt legalább négyszer kell felvinni, így mindegyik meghatározás 32 gátlási zóna értékelésén alapulhat.

8.3. Inkubálás

Inkubálja a tálcákat 16-18 órán át 28-30 °C-on.

9. Értékelés

9.1. Mérjük meg a gátlási zónák átmérőjét, 0,1 mm-es pontossággal. Az egyes koncentrációkon végzett mérések átlagát vigyük fel egy féllogaritmikus függvénydiagram-papírra, amely a gátlási zónák átmérőjével arányosan mutatja a koncentrációk logaritmusát. Szerkesszük meg mind a standard oldat, mind a kivonat regressziós egyenesét, például az alábbiak szerint.

9.2. A következő képlet segítségével határozzuk meg a standard legalacsonyabb értékéhez (SL) tartozó regressziós pontot:

a)
$$SL = \frac{7S_1 + 4S_2 + S_4 - 2S_8}{10}$$

9.3. A következő képlet segítségével határozzuk meg a standard legmagasabb értékéhez (SH) tartozó regressziós pontot:

$$b) \quad SH = \frac{7S_8 + 4S_4 + S_2 - 2S_1}{10}$$

9.4. Hasonló módon, határozzuk meg a kivonat legalacsonyabb (UL) és legmagasabb értékéhez (UH) tartozó regressziós pontokat, úgy, hogy a fenti képletben az S_1 , S_2 , S_4 és S_8 jelöléseket az U_1 , U_2 , U_4 és U_8 jelölésekkel helyettesítjük.

9.5. Vigyük fel a kiszámított SL és SH értékeket ugyanarra a függvénydiagram-papírra és kössük össze őket, hogy megkapjuk a standard oldathoz tartozó regressziós egyenest. Hasonló módon vigyük fel az UL és UH értékeket és kössük össze őket, hogy megkapjuk a kivonathoz tartozó regressziós egyenest.

9.6. Amennyiben nem áll fenn semmilyen interferencia, a vonalaknak párhuzamosan kell futniuk. Gyakorlati szempontból a vonalak párhuzamosnak tekinthetők, ha az $(SH-SL)$ és $(UH-UL)$ értékek legfeljebb 10%-os mértékben térnek el átlagértéküktől.

9.7. Amennyiben a vonalak nem futnak párhuzamosan, akkor vagy az U_1 és S_1 , vagy az U_8 és S_8 figyelmen kívül hagyható, az SL , SH , UL és UH pedig más képleteket alkalmazva számítható ki, amelyek alternatív regressziós egyeneseket adnak meg:

$$a') \quad SL = \frac{5S_1 + 2S_2 - S_4}{6} \quad \text{vagy} \quad \frac{5S_2 + 2S_4 - S_8}{6}$$

$$b') \quad SH = \frac{5S_4 + 2S_2 - S_1}{6} \quad \text{vagy} \quad \frac{5S_8 + 2S_4 - S_2}{6}$$

és ehhez hasonlóan az UL és UH esetében. Az alternatív regressziós egyenesek párhuzamosságát az előzőhöz hasonlóan kell ellenőrizni. A zárójelentésben meg kell említeni, hogy az eredmény három érték alapján lett kiszámítva.

9.8. Ha a vonalak párhuzamosnak tekinthetők, a következő képlet segítségével számítsuk ki a relatív aktivitás logaritmusát ($\lg A$).

9.8.1. Négy tényező esetén

$$c) \quad \lg A = \frac{(U_1 + U_2 + U_4 + U_8 - S_1 - S_2 - S_4 - S_8) \times 0,602}{U_4 + U_8 + S_4 + S_8 - U_1 - U_2 - S_1 - S_2}$$

9.8.2. Három tényező esetén

$$d) \quad \lg A = \frac{(U_1 + U_2 + U_4 - S_1 - S_2 - S_4) \times 0,401}{U_4 + S_4 - U_1 - S_1}$$

vagy

$$d') \quad \lg A = \frac{(U_2 + U_4 + U_8 - S_2 - S_4 - S_8) \times 0,401}{U_8 + S_8 - U_2 - S_2}$$

Tényleges aktivitás = feltételezett aktivitás $\times$ relatív aktivitás.

9.9. Ha a vonalak nem tekinthetők párhuzamosnak, ismételjük meg a meghatározást. Ha a párhuzamosságot ezután sem sikerül elérni, számoljuk ki a relatív aktivitás logaritmusát ($\lg A$) a c) képlet segítségével. A kapott eredmény azonban csak hozzávetőlegesnek tekinthető, és ezt fel kell tüntetni a zárójelentésben.

10. Ismételhetőség

Ugyanazon analitikus által, ugyanazon a mintán végzett két meghatározás eredménye közötti különbség nem haladhatja meg:

- a 0,5 mg/kg értéket, abszolút értékben, 1-2 mg/kg flavofoszfopol-tartalom esetén,
- a 25%-ot, 2-10 mg/kg közötti koncentráció legmagasabb értékeire vonatkoztatva,
- a 20%-ot, 10-25 mg/kg közötti koncentráció legmagasabb értékeire vonatkoztatva,
- az 5 mg/kg értéket, abszolút értékben, 25-50 mg/kg közötti koncentráció esetén,
- a 10%-ot, 50 mg/kg feletti koncentráció legmagasabb értékeire vonatkoztatva.”

VII.**A R. 11. számú mellékletének módosítása**

A R. 11. számú melléklete a következő IV. fejezettel egészül ki:

„IV.

A takarmányok dioxin tartalmának megállapítására szolgáló vizsgálatokhoz szükséges hatósági minták vételét az A. Rész, a minták vizsgálatra való előkészítését, valamint a minta vizsgálatára vonatkozó követelményeket a B. Rész tartalmazza.

A. Rész**Mintavételi módszerek egyes takarmányok dioxintartalmának (PCDD/PCDF) hatósági ellenőrzéséhez és a dioxinszerű PCB-k meghatározásához**

1. A vizsgálatok céljára a takarmányokból e mellékletben foglaltak szerint kell mintát venni. Az így kapott összesített minták azon tételek vagy résztételek reprezentatív mintáinak tekintendők, amelyből vételezték őket. A nemkívánatos anyagok maximális szintjeire vonatkozó követelményeknek való megfelelést a laboratóriumi mintákban meghatározott szintek alapján kell megállapítani.

2. A takarmány tétellel azonos minta vizsgálati eredményének elfogadása

Az ellenőrző laboratóriumnak két párhuzamos mérésben kell elvégezni a minta analízisét, ha az első analízis eredménye kevesebb, mint 20%-kal van a maximális szint alatt vagy felett, és ki kell számítani az eredmények átlagát. A tételazonos mintavizsgálat eredményét akkor lehet elfogadni, ha az első analízis eredménye több, mint 20%-kal van a maximális szint alatt, vagy párhuzamos analízis esetén a vizsgálati eredmény átlaga megfelel az előírt maximális szintnek.

B. Rész**Egyes takarmányok dioxintartalmának (PCDD/PCDF) hatósági ellenőrzésekor és dioxinszerű PCB-tartalmuk meghatározásakor végzett minta-előkészítésre és az alkalmazott analitikai módszerekre vonatkozó követelmények****1. Célkitűzések és alkalmazási terület**

1.1. Ezeket a követelményeket kell alkalmazni a takarmány-alapanyagokban és a takarmányokban a dioxinok (poliklórozott dibenzo-p-dioxinok (PCDD), poliklórozott dibenzofuránok (PCDF) és a dioxinszerű poliklórozott bifénilek (PCB-k) mennyiségének meghatározására.

1.2. A dioxinok jelenlétét a takarmányokban olyan stratégia alapján kell vizsgálni, amely tartalmaz egy szűrőmódszert azoknak a mintáknak a kiválasztására, amelyekben a dioxinok és dioxinszerű PCB-k mennyisége kevesebb, mint 30-40%-kal van az adott szint alatt vagy felett. E jelentős dioxintartalmú mintákban a dioxinok koncentrációját egy megerősítő módszerrel kell meghatározni.

1.3. A szűrőmódszerek olyan módszerek, amelyekkel kimutatható a dioxinok és a dioxinszerű PCB-k jelenléte az adott szinten. E módszerek nagy mintaátesztő képességűek, és arra használják őket, hogy

nagyszámú minta közül kiszűrik a lehetséges pozitívakat. Úgy vannak kialakítva, hogy segítségükkel elkerülhetők legyenek a téves negatív eredmények.

1.4. A megerősítő módszerek teljes vagy kiegészítő információkat szolgáltató módszerek, amelyek lehetővé teszik a dioxinok és dioxinszerű PCB-k azonosítását és egyértelmű mennyiségi meghatározását az adott szinten.

2. Háttér

2.1. Mivel a környezeti és a biológiai minták (ezen belül a takarmány-alapanyag és a takarmány minták is) általában különböző rokon dioxinvegyületek komplex keverékeit tartalmazzák, a kockázatfelmérés megkönnyítése érdekében kidolgozták a Toxikus Egyenértékűségi Faktorok (TEF-ek) koncepcióját. A TEF-ek a 2,3,7,8-helyen szubsztituált PCDD-ket és PCDF-eket tartalmazó keverékek koncentrációjának kifejezésére, újabban pedig a dioxinszerű aktivitással rendelkező egyes nem orto és mono-orto, klórral szubsztituált PCB-knek a 2,3,7,8-TCDD toxikus egyenértékben (TEQ) való kifejezésére is szolgálnak.

2.2. Az egyes anyagok adott mintában mért koncentrációit megszorozzuk a hozzájuk tartozó TEF-értékkel, majd összeadjuk őket, és így megkapjuk a dioxinszerű komponensek TEQ-ben kifejezett összes koncentrációját.

2.3. A „felsőhatár” koncepciójánál a számszerűsítési határt kell használni minden egyes nem számszerűsített rokonvegyület TEQ-hez való hozzájárulásának kiszámításához.

2.4. Az „alsóhatár” koncepciójánál nullát kell használni minden egyes nem számszerűsített rokonvegyület TEQ-hez való hozzájárulásának kiszámításához.

2.5. A „középsőhatár” koncepciójánál a számszerűsítési határ felét kell használni minden egyes nem számszerűsített rokonvegyület TEQ-hez való hozzájárulásának kiszámításához.

3. A minta előkészítésére vonatkozó minőségbiztosítási követelmények

3.1. Az elemzés céljára szolgáló minták elkészítését illetően a takarmányok hatósági ellenőrzésére szolgáló közösségi elemzési módszereket kell alkalmazni.

3.2. Emellett a következő előírásokat kell betartani:

- a mintákat üveg-, alumínium-, polipropilén vagy polietilén edényekben kell tárolni és szállítani; a papírpor maradékokat el kell távolítani a mintatartóból; az üvegeszközöket dioxin jelenlétére előzetesen ellenőrzött oldószerekkel kell kiöblíteni,
- vakelemzés szükséges az egész analitikai eljárás elvégzésével, a mintát azonban ki kell hagyni belőle,
- az extrakcióhoz használt minta tömegének olyannak kell lennie, hogy megfeleljen az érzékenységre vonatkozó követelményeknek.

4. A laboratóriumokra vonatkozó követelmények

4.1. A laboratóriumok demonstrálják egy módszer teljesítményét az adott szint tartományában, pl. az adott szint felénél, egyszeresénél és kétszeresénél, az ismételt analízisekben elfogadható variációs koefficienssel. Az elfogadási kritériumokat részletesen az 5. pont tartalmazza.

4.2. Egy megerősítő módszer esetében a számszerűsítési határnak az adott szint körülbelül egyötödénél kell lennie annak érdekében, hogy az adott szint tartományában elfogadható variációs koefficienseket kapjunk.

4.3. Belső minőségellenőrzési intézkedésként rendszeresen kell végezni vak kontrollvizsgálatokat és beállító kísérleteket vagy kontrollminta-elemzést (lehetőleg hitelesített referencia anyagon).

4.4. Adott analízisek vonatkozásában a kompetencia igazolásának legjobb módja a laboratóriumok szakmai felkészültségét felmérő, laboratóriumok közötti vizsgálatokban való sikeres részvétel. A laboratóriumok közötti vizsgálatokban való sikeres részvétel, pl. a talaj- vagy a szennyvízminták terén, nem feltétlenül bizonyítja az élelmiszer- vagy a takarmányminták területén való jártasságot, amelyek szennyezettségi szintje alacsonyabb. Kötelező így folyamatosan résztvenni olyan, laboratóriumok közötti vizsgálatokban, amelyek a dioxinok és a dioxinszerű PCB-k meghatározására irányulnak a megfelelő takarmány/élelmiszer mátrixokban.

4.5. A laboratóriumokat egy elismert, és az ISO Guide 58-cal összhangban működő testület akkreditálja annak biztosítása céljából, hogy analitikai minőségbiztosítást alkalmazzanak. A laboratóriumokat az EN/ISO/IEC 17025:2000 szabvány szerint kell akkreditálni.

5. A dioxinok és dioxinszerű PCB-k esetében használt analitikai eljárásokra vonatkozó követelmények

Az analitikai eljárások elfogadására vonatkozó alapkövetelmények

5.1. Nagy érzékenység és alacsony kimutatási határ

5.1.1. A PCDD-k és PCDF-ek vonatkozásában a kimutatási határnak a pikogramm (10-12 g) TEQ tartományban kell lennie, mivel egyes vegyületek nagyon mérgezőek ezek közül. Ismert, hogy a PCB-k nagyobb koncentrációban fordulnak elő, mint a PCDD-k és a PCDF-ek. A legtöbb PCB rokonvegyület esetében már elegendő a nanogrammos 10-9 g) érzékenység is.

5.1.2. A mérgezőbb dioxinszerű PCB rokonvegyületek (és különösen a nem orto szubsztituált rokonvegyületek) meghatározásához azonban ugyanolyan érzékenységre van szükség, mint a PCDD-k és PCDF-ek esetében.

5.2. Nagy szelektivitás (specifikusság)

Meg kell tudni különböztetni a PCDD-ket, a PCDF-eket és dioxinszerű PCB-ket az igen sokféle, velük együtt extrahálódó és a mérést esetleg zavaró más vegyülettől, amelyek több nagyságrenddel magasabb koncentrációban lehetnek jelen, mint az analízis tárgyát képező vegyületek. A gázkromatográfiás/tömegspektrometriás (GC/MS) módszerekhez a különböző rokonvegyületeket, így pl. a mérgező (pl. a tizenhét 2,3,7,8-helyen szubsztituált PCDD és PCDF és a dioxinszerű PCB-k) és nem mérgező rokonvegyületeket meg kell tudni különböztetni egymástól. A biológiai tesztekkel szelektíven meg kell tudni határozni a TEQ értékeket, mint a PCDD-k, a PCDF-ek és a dioxinszerű PCB-k összegét.

5.3. Nagy pontosság (megbízhatóság és precizitás)

5.3.1. A meghatározásnak érvényes és megbízható becslést kell adnia a minta valódi koncentrációjáról. A nagy pontosságra (a mérés pontossága: egy mérés eredménye és a mérés valódi vagy kijelölt értéke közötti eltérés mértéke) azért van szükség, hogy elkerüljük egy mintaanalízis eredményének visszautasítását a becsült TEQ-érték gyenge megbízhatósága miatt. A pontosságot a megbízhatósággal (egy hitelesített anyagban az adott komponensre mért átlagérték és a hitelesített érték közötti különbség, ez utóbbi százalékában kifejezve) és a precizitással (a precizitást általában standard eltérésként számítjuk, amely magában foglalja a megismételhetőséget és a reprodukálhatóságot is, és azt fejezi ki, hogy az előírt körülmények között többször elvégezve a kísérletet a kapott eredmények mennyire egyeznek meg egymással) fejezzük ki.

5.3.2. A szűrőmódszerek biológiai tesztekkel és GC/MS módszerekkel állhatnak, a megerősítő módszerek nagy felbontású gázkromatográfiós/nagy felbontású tömegspektrometriás (HRGC/HRMS) módszerek. Az összes TEQ érték esetében a következő kritériumoknak kell megfelelni:

	Szűrőmódszer	Megerősítő módszer
Téves negatívok aránya	< 1%	
Megbízhatóság		- 20%-tól + 20%-ig
Variációs koefficiens	< 30%	< 15%

6. A szűrési és megerősítési célra alkalmazott GC/MS módszerekre vonatkozó különleges követelmények

6.1. Az analitikai eljárás hitelesítéséhez a 13 C-mal jelölt, a 2,3,7,8-helyen klórral szubsztituált belső PCDD/F standardok (illetve a 13 C-mal jelölt belső dioxinszerű PCB standardok, ha dioxinszerű PCB-ket kell meghatározni) hozzáadását az analitikai módszer legelején kell elvégezni, pl. az extrakció előtt. A tetraklórozottól az oktaklórozottig terjedő PCDD/F-ek homológ csoportjai mindegyikéből legalább egy rokonvegyület (illetve, ha dioxinszerű PCB-ket kell meghatározni, akkor a dioxinszerű PCB-k homológ csoportjai mindegyikéből legalább egy rokonvegyületet) kell hozzáadni (alternatív lehetőség: legalább egy rokonvegyület kerül hozzáadásra a PCDD/F-ek és a dioxinszerű PCB-k nyomon követéséhez használt, tömegspektrometriával kiválasztott ionregisztráló funkcióként). Egyértelműen előnyösebb a megerősítő módszerek esetében, ha mind a 17 13 C-mal jelölt 2,3,7,8-helyen szubsztimált belső PCDD/F standardot, illetve (ha dioxinszerű PCB-ket kell meghatározni) mind a 12 13 C-mal jelölt belső dioxinszerű PCB standardot használjuk.

Megfelelő kalibrációs oldatok alkalmazásával a relatív válaszfaktorokat is meg kell határozni azoknál a rokonvegyületeknél, amelyek 13 C-mal jelölt analógját nem adtuk hozzá a standardhoz.

6.2. A növényi eredetű takarmányok és a kevesebb, mint 10% zsírt tartalmazó állati eredetű takarmányok esetében a belső standardokat kötelező az extrakció előtt hozzáadni. A 10%-nál magasabb zsírtartalmú állati eredetű takarmányok esetében a belső standardokat az extrakció előtt vagy a

zsírextrakció után is hozzáadhatjuk. Az extrakció hatékonyságát megfelelően hitelesíteni kell attól függően, hogy a belső standardokat melyik szakaszban adjuk a mintákhoz, valamint, hogy az eredményeket termékre vagy zsírra adjuk meg.

6.3. A GC/MS analízis előtt egy vagy két visszanyerési (helyettes) standardot is hozzá kell adni.

6.4. A visszanyerést ellenőrizni kell. A megerősítő módszerek esetében az egyes belső standardok visszanyerésének a 60-120%-os tartományban kell lennie. Az egyes rokonvegyületek vonatkozásában, különösen egyes hepta- és oktaklórozott dibenzodioxinok és dibenzofuránok esetében, ennél alacsonyabb vagy magasabb visszanyerés is elfogadható azzal a feltétellel, hogy a TEQ-értékhez való hozzájárulásuk nem haladhatja meg (csak PCDD/F-re alapozott) az összes TEQ-érték 10%-át. A szűrőmódszerek esetében a visszanyerésnek a 30-140%-os tartományban kell lennie.

6.5. A dioxinokat a zavaró klórozott vegyületekből, így pl. a PCB-ktől és a klórozott difenil-éterektől megfelelő kromatográfiás eljárással kell elválasztani (lehetőleg florisil-, alumínium-oxid, illetve szénoszlopon).

6.6. Megfelelő az izomerek gázkromatográfiás elválasztása ($< 25\%$ a csúcsok közötti eltérés az 1,2,3,4,7,8-HxCDF és az 1,2,3,6,7,8HxCDF között).

6.7. A meghatározást az EPA 1613 módszer B. módosítása szerint kell elvégezni, amely a tetraklórozottól az oktaklórozottig terjedő dioxinok és furánok izotóphígításos HRGC/HRMS-sel vagy más, egyenértékű teljesítménykritériumokkal rendelkező módszerrel történő meghatározására vonatkozik.

6.8. A felsőhatár és az alsóhatár szintje közötti különbség nem haladhatja meg a 20%-ot olyan tartományokban, amelyek dioxin szennyezettsége a maximális tartományban vagy afelett van. A maximális szintnél jóval alacsonyabb szennyezettségű takarmányok esetében a különbség 25-40%-os tartományban mozoghat.

7. Analitikai szűrőmódszerek

7.1. A szűrőmódszerek használatánál különböző analitikai célok teljesíthetők: egyszerű szűrés és kvantitatív meghatározás

7.1.1. A szűrés

A minták eredményeit összehasonlítjuk egy, az adott szintet mutató referenciaminta eredményével. A referenciánál kisebb eredményt adó mintákat negatívnak minősítjük, a nagyobb eredményt adókat pedig feltételezett pozitívnak.

7.1.1.1. Minden kísérletsorozatnak tartalmaznia kell egy vak- és egy referencia mintát, amelyeket egyidejűleg azonos körülmények között extrahálunk és tesztelünk. A referencia mintának egyértelműen magasabb eredményt kell adnia, mint a vaknak.

7.1.1.2. Az adott szint ellenőrzésére további, az adott szint felének és kétszeresének megfelelő referencia mintákat is alkalmazni kell annak igazolására, hogy a teszt az adott tartományban megfelelő teljesítményű.

7.1.1.3. Amikor más mátrixokat tesztelünk, a referencia minta vagy referencia minták megfelelőségét is bizonyítani kell, lehetőleg olyan minták felhasználásával, amelyek HRGC/HRMS-sel mért TEQ-értéke hasonló a referencia mintáéhoz, vagy másképpen egy vakmintával, ami erre a szintre van beállítva.

7.1.1.4. Mivel a biológiai tesztekben nem használhatók belső standardok, nagyon fontosak az ismételhetőségi tesztek ahhoz, hogy meg tudjuk állapítani az egy kísérletsorozaton belüli standard eltérést. A variációs koefficiensnek 30% alatt kell lennie.

7.1.1.5. A biológiai tesztek esetében meg kell határozni a célvegyületeket, az esetleges zavaró hatásokat és az elfogadható vakszintek maximumát.

7.1.2. A kvantitatív meghatározás

A kvantitatív megközelítéshez standard hígítási sorok, két vagy három sorozatban párhuzamosan végzett tisztítás és mérés, valamint vak és visszanyerési kontrollok szükségesek. Az eredmények kifejezhetők TEQ-ben, feltételezve, hogy a jelért felelős vegyületek megfelelnek a TEQ-alapelvnek. Ezt TCDD (vagy egy dioxin/furán standard keverék) használatával végezhetjük, amellyel felveszünk egy kalibrációs görbét, hogy ez alapján ki tudjuk számolni az extraktumra és így a mintára jellemző TEQ-szintet. Ezt azután korrigáljuk a vakmintára számított TEQ-szinttel (hogy figyelembe vegyünk az alkalmazott oldószerekből és vegyszerekből származó szennyezéseket), valamint egy visszanyerésre számított TEQ-szinttel (amelyet egy, kérdéses szint körüli értékű minőségellenőrző minta TEQ szintjéből számolunk). Fontos megjegyezni, hogy a nyilvánvaló visszanyerési veszteség egy része mátrixhatásokból, illetve biológiai tesztekben kapott TEF-értékek és a WHO által rögzített hivatalos TEF-értékek különbségéből is eredhet.

7.2. A szűrésre használt analitikai módszerekre vonatkozó követelmények

7.2.1 A szűréshez használhatók a GC/MS analitikai módszerek és biológiai tesztek. A GC/MS módszerek vonatkozásában a 6. pontban megállapított követelményeket kell alkalmazni. A sejtalapú biológiai tesztek vonatkozásában a 7.3. pontban, a reagenskészlet-alapú biológiai tesztek vonatkozásában a 7.4. pontban megállapított különleges követelményeket kell alkalmazni.

7.2.2. Egy nagyszámú, a maximális vagy az akció szint alatti vagy feletti mintákat tartalmazó sorozatnál szükség van a téves pozitív és téves negatív eredmények számával kapcsolatos információkra a megerősítő módszerrel meghatározott TEQ-tartalommal összehasonlításban. A téves negatívak tényleges arányának 1% alatt kell lennie. A téves pozitív minták arányának elég alacsonynak kell lenni ahhoz, hogy előnyös legyen a szűrőmódszer alkalmazása.

7.2.3. A pozitív eredményeket mindig meg kell erősíteni egy megerősítő analitikai módszerrel (HRGC/HRMS). Továbbá HRGC/HRMS-sel meg kell erősíteni a széles TEQ- tartományból származó mintákat (a negatív minták kb. 2-10%-a). A biológiai tesztek és a HRGC/HRMS eredményeinek összefüggésével kapcsolatos információkat is meg kell adni.

7.3. A sejtalapú biológiai tesztekre vonatkozó különleges követelmények

7.3.1. A biológiai tesztek végzése során minden teszt lefuttatásához szükség van egy TCDD vagy dioxin/furán keverék referenciakonzentráció-sorozatra (teljes dózisválasz görbe, ahol $R^2 > 0,95$). Szűrési célokra azonban egy kibővített, alacsony szintű minták mérésére alkalmas alacsony-szint görbét alkalmazhatunk.

7.3.2. Egy minőségellenőrzési lapon rögzíteni kell a biológiai tesztek eredményeinek megállapításához az adott időtartam alatt használt TCDD referencia-koncentrációt (körülbelül a mennyiségi meghatározás határértékének háromszorosa). Alternatív lehetőséget jelenthet egy referencia mintának a TCDD kalibrációs vonalhoz viszonyított relatív válasza, mivel a sejtek válasza sok tényezőtől függhet.

7.3.3. Minden típusú referenciaanyaghoz fel kell venni egy minőségellenőrzési (QC) diagramot, amelyet ellenőrizni kell annak érdekében, hogy az eredmények összhangban vannak-e a meghatározott iránymutatásokkal.

7.3.4 Különösen a kvantitatív számítások esetén, az alkalmazott hígítási minta indukciójának a válaszgörbe lineáris szakaszára kell esnie. A válaszgörbe lineáris szakasza feletti mintákat fel kell hígítani, és újra meg kell mérni. Ajánlott tehát egyszerre legalább két vagy három hígítást mérni.

7.3.5. Az egyes hígítási minták három párhuzamos sorozatban való mérése esetén a százalékos standard eltérés nem lehet 15% felett, három független kísérlet között pedig nem haladhatja meg a 30%-ot.

7.3.6. A kimutatási határt az oldószeres vak- vagy a háttér által adott válasz standard eltérésének háromszorosában lehet megállapítani. Egy másik megközelítés szerint egy, a napi kalibrációs görbéből számolt háttér (az indukciós faktor az oldószeres vak ötszöröse) feletti választ alkalmazunk. A számszerűsítési határt az oldószeres vak- vagy a háttér által adott válasz standard eltérésének ötszorosában lehet megállapítani, vagy alkalmazhatunk egy egyértelműen a napi kalibrációs görbéből számolt és a háttérjelnél nagyobb jelet (az indukciós faktor az oldószeres vak 10-szerese).

7.4. A reagenskészlet-alapú biológiai tesztekre vonatkozó különleges követelmények

7.4.1. Követni kell a gyártó mintakészítésre és analízisre vonatkozó utasításait.

7.4.2. A szavatossági idő lejárta után a reagenskészleteket nem szabad felhasználni.

7.4.3. Nem alkalmazhatók a más reagenskészletekben történő felhasználásra készített anyagok vagy összetevők.

7.4.4. A reagenskészleteket a megadott tárolási hőmérsékleti tartományban kell tartani, és a megadott működési hőmérsékleten kell felhasználni.

7.4.5. Az immuntesztek kimutatási határát úgy kapjuk meg, hogy a 10 ismételtsben mért vak alapján kapott átlag és a standard eltérés háromszorosának összegét elosztjuk a lineáris regressziós egyenlet meredekségével.

7.4.6. A laboratóriumban végzett tesztekhez referencia standardokat kell használni, hogy biztosítsuk azt, hogy a standardra adott válasz elfogadható tartományba essen.

8. Az eredményekről készült jelentés

8.1. Amennyiben az alkalmazott analitikai eljárás lehetővé teszi, az analitikai eredményeknek tartalmazniuk kell az egyes PCDD/F- és PCB-rokonvegyületek szintjét, és amelyeket ki kell fejezni alsó határral, felső határral és középső határral is ahhoz, hogy az eredményekről készült jelentés a

lehető legtöbb információt tartalmazza, és így lehetővé tegye az eredmények különleges követelmények szerinti értelmezését.

8.2. A jelentésben meg kell adni a minta lipidtartalmát, és a lipidextrakcióhoz alkalmazott módszert is.

8.3. Az egyes belső standardok visszanyerését meg kell adni abban az esetben, ha a visszanyerések kívül esnek a 6. pontban említett tartományon, vagy ha az eredmények meghaladják a maximális szintet, vagy egyéb esetekben kérés alapján.

Megjegyzés:

Eddig még nincs bizonyíték arra vonatkozólag, hogy a kereskedelmi forgalomban kapható reagenskészlet-alapú biológiai tesztek kellően érzékenyek és megbízhatóak ahhoz, hogy az élelmiszerekben vagy takarmányokban a szükséges szinteken dioxinok jelenlétére lehessen szűrni velük.”

VIII. Az R. 13. számú mellékletének módosítása

Az R. 13. számú mellékletének függelékében a „Májműködés segítése idült májelégtelenség esetén” sor helyébe a következő rendelkezés lép:

<i>[Különleges táplálási cél]</i>	<i>Alapvető termék jellemzők</i>	<i>Állatfajok vagy -kategóriák</i>	<i>A címkén garantálandó jellemzők</i>	<i>Az alkalmazás javasolt időtartama</i>	<i>Egyéb rendelkezések</i>
„Májműködés segítése krónikus májelégtelenség esetén	Jó minőségű fehérje, mérsékelt fehérjetartalom, magas esszenciális zsírsavtartalom és magas könnyen emészthető szénhidráttartalom	Kutya	– Fehérjeforrás(ok) – Esszenciális zsírsavtartalom – Könnyen emészthető szénhidrátok, megfelelő esetben előkezelésük megjelölésével – Nátrium – Összes réz	Kezdetben legfeljebb 6 hónapig.	A csomagolóeszközön, címkén, illetve a kísérő okmányon feltüntetendő: „Alkalmazás, illetve az alkalmazás időtartamának meghosszabbítása előtt állatorvos véleményének kikérése javasolt.” A használati utasításban feltüntetendő: „Folyamatos ivóvízellátást kell biztosítani.”
	Jó minőségű fehérje, mérsékelt fehérjetartalom és magas esszenciális zsírsavtartalom	Macska	– Fehérjeforrás(ok) – Esszenciális zsírsavtartalom – Nátrium – Összes réz		

2. számú melléklet a 20/2004. (II. 27.) FVM rendelethez

„14. számú melléklet a 44/2003. (IV. 26.) FVM rendelethez

**Az állatok fehérje ellátásának javítására használható bizonyos termékek
és engedélyezésük alapelvei**

I.

1. Az állatok fehérje ellátásának javítására használható bizonyos termékek forgalomba hozatala és felhasználása

1.1. A II. fejezet táblázatában (a továbbiakban: táblázatban) felsorolt termékek a növényi eredetű fehérjeforrásokkal nem pótolható fehérjeigény kielégítésére szolgálnak. A táblázatban foglalt előírások nem érintik e rendelet mellékleteiben és más jogszabályokban a takarmányokra vonatkozóan megadott határértékeket.

1.2. A táblázatban felsorolt termékcsoporthoz tartozó, állatok fehérje ellátásának javítására használható bizonyos termék vagy ilyen terméket tartalmazó takarmány akkor hozható forgalomba, illetve használható fel, ha az állatok fehérje ellátásának javítására használható bizonyos termék szerepel a táblázatban, és megfelel az ott előírt feltételeknek.

1.3. A táblázatba akkor kerülhet felvételre valamely állatok fehérje ellátásának javítására használható bizonyos termék, ha

- a) rendelkezik az állatok számára hasznos tápláló értékkel,
- b) rendeltetésszerű használatuk mellett nincs káros hatásuk az emberi vagy állati egészségre, illetve a környezetre,
- c) a takarmányban ellenőrizhető.

1.4. Állatok fehérje ellátásának javítására használható bizonyos terméknek a táblázatba történő felvétele érdekében a 2. pont szerinti dokumentációt kell készíteni, amelyet meg kell küldeni a tagállamoknak, a Bizottságnak, és ha konzultációt kérnek, a Bizottság által létrehozott tudományos bizottságok tagjainak.

1.5. A dokumentáció kezelése során be kell tartani az üzemi és üzleti titokra vonatkozó előírásokat.

1.6. Nem tekinthető üzleti vagy üzemi titoknak:

1. a termék neve és összetétele,
2. a mikroorganizmusra és a szubsztrátra vonatkozó információk,
3. a termék fiziko-, kémiai és biológiai tulajdonságai,
4. a termékre vonatkozó gyógyszeres, toxikológiai és ökotoxikológiai adatok értékelése,
5. a terméknek a takarmány összetevőjeként való ellenőrzésére szolgáló analitikai módszerek.

1.7. A táblázatban felsorolt valamely, az állatok fehérje ellátásának javítására használható bizonyos termék felhasználását a minisztérium ideiglenesen felfüggesztheti vagy korlátozhatja, amennyiben új információk, vagy meglévő információk újraértékelésének eredményeként megalapozottan megállapítható, hogy veszélyt jelent közvetlenül az állat, illetve közvetve az ember egészségére vagy a környezetre. Erről a minisztérium értesíti az Európai Bizottságot, és a többi tagállamot.

1.8. A táblázatban felsorolt termékek csomagolóeszközén, címkéjén, illetve ömlesztve vagy tartályban való szállítás esetén a kísérő okmányon fel kell tüntetni a termékre vonatkozóan a táblázatban felsorolt adatokat.

2. Az állatok fehérje ellátásának javítására használható bizonyos termékek engedélyezésének alapelvei

2.1. A dokumentáció elkészítéséhez a 3. pont szerinti vizsgálatokat kell elvégezni. A dokumentációnak lehetővé kell tenni az állatok fehérje ellátásának javítására használható bizonyos termékek értékelését a mai ismereteknek megfelelően, valamint meg kell felelnie az 1.3. pontban meghatározott feltételeknek.

2.2. Meg kell adni

- a) a mikroorganizmus azonosságának és a táptalaj összetételének megállapításához,
- b) a termékek előállításának eljárása, a főbb tulajdonságok, a kiserelés, a felhasználási feltételek, a meghatározási módszerek és termék táplálkozástani tulajdonságainak meghatározásához,
- c) a termék tűréshatárának a célfajokon keresztül történő értékesítéséhez,
- d) a termék használata során közvetlenül vagy közvetve keletkező, az embereket vagy a környezetet fenyegető kockázatok felméréséhez

szükséges adatokat. Az e célból előírt toxikológiai vizsgálatok a termék jellegétől, az érintett állatfajtól és a termék kísérleti állatokon megfigyelt anyagcseréjétől függenek.

2.3. A dokumentációnak részletes jelentéseket kell tartalmaznia, amelyeket e melléklet szerinti sorrendben és számokkal kell szerepeltetni, és csatolni kell egy összefoglalást. Bármely vizsgálat hiányát meg kell indokolni. A referenciaként hivatkozott kiadványokat mellékelni kell.

2.4. Amennyiben a benyújtott adatok nem elegendőek a táblázatba történő felvételhez, további adatok benyújtása írható elő.

2.5. Valamely termék előállítási eljárásában vagy felhasználásának feltételeiben történő minden változást közölni kell, és szükség esetén kiegészítő dokumentációt kell készíteni.

3. A dokumentáció elkészítéséhez szükséges vizsgálatok

3.1. *Mikroorganizmus, táptalaj és előállítási eljárás, a termék főbb tulajdonságai, kiserelés és felhasználási feltételek, valamint ellenőrzési módszerek*

3.1.1. Mikroorganizmus

- 3.1.1.1. Osztályozás, eredet, morfológia, biológiai tulajdonságok, bármilyen genetikai módosítás.
- 3.1.1.2. Ártalmatlanság, az erjesztőn kívüli esetleges további fennmaradás és a környezetre gyakorolt esetleges hatások.
- 3.1.1.3. A tenyésztett törzsek állandósága és tisztasági foka. Ezen ismertető jegyeket ellenőrző módszerek.

3.1.2. Táptalaj és előállítási eljárás

- 3.1.2.1. A szubsztrátum, a hozzáadott anyagok stb. összetétele.
- 3.1.2.2. Előállítási, szárítási és tisztítási eljárás. A mikroorganizmus életképtelenné tétele. A szintenyészet összetétele állandóságának ellenőrzésére használt módszerek és az előállítás

során fellépő bármely kémiai, fizikai vagy biológiai szennyeződés kimutatása kiderítésére alkalmazott módszerek.

3.1.2.3. A használatra való előkészítés technikai folyamatai.

3.1.3. A termék főbb tulajdonságai

3.1.3.1. Fizikai és fiziko-kémiai tulajdonságok: makro- és mikromorfológia, részecskeméret, sűrűség, fajsúly, nedvszívó képesség, oldhatóság, elektrosztatikus tulajdonságok stb.

3.1.3.2. Kémiai összetétel és jellemzők:

3.1.3.2.1. Nedvesség-, nyersfehérje-, nyers zsír-, nyers rost-, nyers hamu-, szénhidráttartalom. Ezen tartalmak ingadozásának határai.

3.1.3.2.2. Összes ammónium-, amid-, nitrát és nitrit, nitrogén, nukleinsav- és fehérjetartalom. Az összes és szabad aminosavak, valamint a purin- és pirimidin-bázisok minőségi és mennyiségi összetétele.

3.1.3.2.3. Összes lipid minőségi és mennyiségi összetétele: zsírsavak, nem szappanosítható anyagok, lipidben oldható pigmentek, foszfolipidek.

3.1.3.2.4. A szénhidrát tartalom összetétele.

3.1.3.2.5. A szervesetlen alkotórészek minőségi és mennyiségi összetétele.

3.1.3.2.6. A vitaminok minőségi és mennyiségi összetétele.

3.1.3.2.7. Az egyéb alkotórészek mennyiségi és minőségi összetétele: adalékanyagok, szubsztrátok és oldószerek szermaradványai, a szubsztrátok anyagcseréjének, a táptalajnak, az előállítási eljárásnak az egyéb, esetlegesen káros szermaradványai, a szubsztrátok anyagcseréjének, a táptalajnak, az előállítási eljárásnak egyéb, esetlegesen káros szermaradványai.

3.1.1.3. A termék mikrobiológiai szennyeződése.

3.1.1.4. A termék viselkedése és állandósága a tárolás során, önmagában és forgalomban lévő takarmányokhoz keverve.

3.1.4. Kiszerezés és felhasználási feltételek

3.1.4.1. A termék tervezett kereskedelmi elnevezései.

3.1.4.2. A termék forgalmazása során tervezett kiszerezései.

3.1.4.3. A termék tervezett felhasználása a takarmányozásban. Tervezett koncentrációk a teljes értékű takarmányokban, valamint az érintett állatfajok napi takarmányadagban tervezett mennyiségében.

3.1.5. A meghatározás módszerei

3.1.5.1. A termék meghatározásának mennyiségi és minőségi módszerei a teljes értékű és kiegészítő takarmányokban. Ezeknek a módszereknek a leírásakor mellékelni kell a különleges jellegzetességekre, érzékenységre, a kimutatási mérőhatárokat, hibahatárakat és más anyagok által okozott lehetséges interferenciákra vonatkozó adatokat. A különböző tervezett kiszerezések szerinti termékmintákat rendelkezésre kell bocsátani.

3.2. A termék táplálkozástani tulajdonságaira vonatkozó vizsgálatok

3.2.1. A fehérjeérték meghatározása

3.2.1.1. Kémiai, biokémiai és mikrobiológiai vizsgálatok.

3.2.1.2. Kísérleti állatokon végzett vizsgálatok, a referenciafehérjével összehasonlítva.

3.2.2. A célfajokra vonatkozó vizsgálatok

3.2.2.1. A következő vizsgálatokat minden egyes célfaj esetében el kell végezni egy olyan kontrollcsoporttal történő összehasonlításban, amely ugyanolyan táplálkozási arányok mellett, egyenlő mennyiségű fehérjenitrogént, kérődzők esetében összes nitrogént tartalmazó általánosan elfogadott táplálékot kap:

- a termék energia és fehérje-kiegészítő értéke a napi takarmányadagban, az állatok különböző fiziológiai stádiumai (pl. növekedési periódus, vemhesség, tojásrakás) esetében tervezett felhasználási feltételek mellett,
- a termék hatása a növekedés ütemére, a takarmányhasznosulás arányára, a megbetegedési és elhullási arányra, a tervezett felhasználási feltételek mellett,
- a termék napi felvételének optimális szintjei,
- a termék hatása az állati eredetű élelmiszerek technológiai érzékszervi vagy egyéb tulajdonságaira a tervezett felhasználási feltételek mellett.

3.2.3. Kísérleti feltételek a takarmány felhasználására előírányzott állatfajokon végzendő vizsgálatok során részletes leírást kell adni az elvégzett vizsgálatokról, a következő adatokkal:

- az állatok faja, fajtája, kora és neme, azonosítási eljárás,
- a vizsgálati és kontrollcsoportok száma; az egyes csoportokba tartozó állatok száma (a statisztikai elemzéshez elegendő, a statisztikai paramétereknek megfelelő számú állat),
- a napi takarmányadag mennyisége, összetétele és beltartalma és ennek analízise,
- a kísérletek helyszíne, fiziológiai állapot és állategészségügyi feltételek, az állattartás körülményei (a közösségi gyakorlatnak megfelelően),
- a vizsgálat pontos időtartama, valamint az elvégzett elemzések időpontja,
- a kísérlet során felmerült kedvezőtlen hatások és jelentkezésük időpontja.

3.3 *A termék takarmányozásban történő felhasználásának biológiai következményeire vonatkozó vizsgálatok*

E pont szerinti vizsgálatok célja a termék célfajokon történő biztonságos használatának, valamint az embereket és a környezetet érintő olyan kockázatok felmérésének lehetővé tétele, amelyek a használatból közvetve vagy közvetlenül származhatnak. Az e célból előírt toxikológiai vizsgálatok a termék jellegétől, az érintett állatfajoktól és a termék kísérleti állatokon megfigyelt anyagcseréjétől függenek.

3.3.1. A célfajokra vonatkozó vizsgálatok

A következő vizsgálatokat minden célfajon el kell végezni egy olyan kontrollcsoporttal történő összehasonlításban, amely ugyanolyan táplálkozási arányok mellett, egyenlő mennyiségű fehérjenitrogént, kérődzők esetében össznitrogént tartalmazó szokásos takarmányt kap:

- a termék maximális bekeverési aránya a napi takarmányadagban, amely semmiféle kedvezőtlen hatást nem eredményez,
- a termék lehetséges hatásai a termékenységre és szaporodásra, amennyiben célszerű,
- a termék elfogyasztásából eredő hatások az emésztő rendszer flórájának mikroorganizmusaira, valamint a kórokozók emésztési szakaszban történő megtelepedésére, a tervezett felhasználási feltételek mellett,

- d) a termék állati eredetű élelmiszerekben esetlegesen megjelenő maradékanyagainak (szubsztrátumok, táptalaj, oldószerek, szennyeződések) vizsgálata a tervezett felhasználási feltételek mellett,
- e) a terméknek az ürülékben esetlegesen megjelenő maradékanyagainak (szubsztrátumok, táptalaj, oldószerek, szennyeződések) vizsgálata a tervezett felhasználási feltételek mellett.

3.3.2. A kísérleti állatokra vonatkozó vizsgálatok

3.3.2.1. Metabolizmus

A termék lebomlása az állatban: felszívódás, felhalmozódás, biológiai átalakítás, kiválasztás.

3.3.2.2. Mutagenitás

A szennyeződések (különösen mikotoxinok és baktériumok) vagy a termék maradékanyagai (szubsztrátumok, táptalaj, oldószerek) okozta lehetséges mutagenitás vizsgálata, ideértve az anyagcsere-aktivációval „in-vitro” végzett vizsgálatokat is.

3.3.2.3. Toxikológiai vizsgálatok

A következő vizsgálatokat olyan kontrollcsoportokkal összehasonlítva kell elvégezni, amelyek ugyanolyan táplálkozási arányok mellett egyenlő mennyiségű fehérjenitrogént tartalmazó szokásos takarmányt kapnak. A toxikus hatásokat ki kell vizsgálni a kiváltó okok és lefolyások tisztázása, valamint annak megállapítása érdekében, hogy ezek a hatások nem táplálkozási aránytalanságból vagy a termék étrenden belüli túladagolásából következnek.

3.3.2.3.1. Szubkrónikus toxicitás (legalább 90 nap)

3.3.2.3.1.1. Általában ezeket a vizsgálatokat két állatfajon kell elvégezni, amelyek közül az egyiknek rágcslónak kell lennie. A terméket legalább kétféle bekeverési szinten kell a napi takarmányadaghoz hozzáadni. Ezeket lehetőség szerint úgy kell megválasztani, hogy egy hatás nélküli és egy kedvezőtlen hatásokkal járó szintet lehessen meghatározni. Az állatcsoportoknak mindkét nemből megfelelő számú egyednek kell tartalmaznia. Minden esetben egy kontrollcsoportot is be kell vonni a vizsgálatokba.

3.3.2.3.1.2. Minden vonatkozó biológiai adatot megfelelő időközönként rögzíteni kell, különös tekintettel a növekedési ütemre, a takarmány fogyasztásra, hematológiára, vizeletvizsgálatra, biokémiai paraméterekre, elhullásra, szervek súlyára, a főbb szervek és szövetek általános és hisztopatológiájára. Az eredményeket teljes részletességgel kell közölni és amennyire csak lehetséges, statisztikai értékelést is tartalmazniuk kell.

3.3.2.3.2. Krónikus toxicitás

3.3.2.3.2.1. Általában a krónikus toxicitás vizsgálatokat két állatfajon kell elvégezni, amelyek közül az egyiknek rágcslónak kell lennie. A terméket legalább kétféle bekeverési szinten kell a napi fejadaghoz hozzáadni. A kísérleteket patkányokon legalább két éven át, egereken 80 héten át kell folytatni. Az állatcsoportoknak mindkét nemből megfelelő számú egyednek kell tartalmazniuk. Minden esetben egy kontrollcsoportot is be kell vonni a vizsgálatokba.

3.3.2.3.2.2. A 3.3.2.3.1. pontban említett biológiai vizsgálatokat lehetőség szerint az állatok egy kisebb mellékcsoportján (a fő csoporttól elválasztott és attól függésben lévő csoport) kell elvégezni, a kísérlet folyamán megfelelő időközönként, valamint a túlélő állatokon a kísérlet végén.

3.3.2.3.3. Karcinogenitás

A karcinogenitás értékelésekor különös figyelmet kell szentelni a megjelenés időpontjára, a megfigyelt tumorok szövettani típusára és elterjedtségére. A tumorok elterjedtségére, illetve a betegségek elterjedtségére vagy előrehaladására vonatkozó bármely hatást a kontrollcsoportokkal összehasonlítva kell értékelni, amint azt a 3.3.2.3. pontban leírtak tartalmazzák. Az eredményeket teljes részletességgel kell közölni és azoknak, amennyire csak lehetséges, statisztikai értékelést is kell tartalmazniuk.

3.3.2.4. Egyéb vizsgálatok

A szaporodásra vonatkozó vizsgálatokat legalább két utódnemzedéken keresztül kell folytatni, illetve össze lehet vonni őket embriótoxicitás-vizsgálatokkal, ideértve a teratogenitás-vizsgálatokat is. Különös figyelmet kell fordítani a termékenységre, a termékenyítő képességre és az alom születés utáni fejlődésének megfigyelésére. Bármely egyéb, tudományosan ellenőrizhető, illetve mérhető adatokat eredményező (pl. közvetítő toxicitás) vizsgálat elvégezhető.

3.3.2.5. Kísérleti állatokra vonatkozó vizsgálatok kísérleti körülményei

Részletes leírást kell adni az elvégzett vizsgálatokról, amely a következő adatokat tartalmazza:

- a) az állatok faja, fajtája, törzse és neme,
- b) a vizsgálati és kontrollcsoportok száma; az egyes csoportokba tartozó állatok száma (a statisztikai elemzéshez elegendő, a statisztikai paramétereknek megfelelő számú állat),
- c) a termék bekeverési szintjei, napi takarmányadag minőségi és mennyiségi összetétele és ennek elemzése,
- d) általános tartási körülmények a vizsgálati időszak alatt,
- e) a vizsgálat pontos időtartama, valamint az egyes elvégzett vizsgálatok időpontja,
- f) a különféle vizsgálati csoportokban az elhullások mértéke és időbeli alakulása,
- g) a kísérlet folyamán felmerült klinikai tünetek és patológiai módosulások, valamint jelentkezésük időpontja.

3.3.3. A környezetre vonatkozó vizsgálatok

A terméknek a célfajok salakanyagaiban megtalálható lehetséges maradékanyagainak jellegétől (szubsztrátumok, táptalaj, oldószerek, szennyeződések) függően, adatok kérhetők ezeknek a maradékanyagoknak a trágyában, talajban és vízben való viselkedéséről, valamint a talaj biológiájára, növények fejlődésére és a vízi életre kifejtett hatásokról.

3.4. Egyéb vizsgálatok

A termék jellegétől és felhasználási feltételeitől függően adatok kérhetők az allergiás hatásokra, a bőr, valamint a szem nyálkahártyáinak, a légző- és emésztőszervek irritációjára vonatkozóan, a termék kezelésével kapcsolatos lehetséges veszélyek felmérésének és megelőzésének érdekében.

A termékcsoporthoz neve	A termék neve	A termék kémiai megnevezése (tapasztalati képlete) vagy a mikroorganizmus azonosítása	Táptalaj specifikáció (részletezve, ha van)	A termék összetételének jellemzői	Állatfaj	Különleges rendelkezések
II. Az állatok fehérje ellátásának javítására használható egyes termékek						
<i>1. Mikroorganizmusokból származó fehérjék</i>						
1.1. Baktériumok						
1.1.1. Metanolon tenyésztett baktériumok	1.1.1.1. Methylphilus methylotrophus metanolon történő tenyésztésével nyert fermentációs protein termék	Methylphilus methylotrophus NCIB 10.515. sz. törzs	Metanol	— Nyers fehérje: min. 68% — Visszaverődési index min. 50%	— Sertés — Borjú — Baromfi — Hal	A termék címkéjén vagy csomagolóeszközén az alábbi adatokat kell feltüntetni: — a termék nevét, — a nedvességtartalmát, — a nyershamu-tartalmát, — a nyers zsírtartalmát, — a nyers fehérjetartalmát, — használati utasítást, — a „belégzéstől óvakodni” kifejezést, — az engedély számát. A takarmánykeverékek címkéjén vagy csomagolóeszközén fel kell tüntetni a takarmányba bedolgozott termék mennyiségét.
1.1.2. Természetes eredetű gázon tenyésztett baktériumok	1.1.2.1. Természetes eredetű gázból Methylococcus capsulatus (Bath), Alcaligenes acidovorans, Bacillus brevis és Bacillus firmus kultúrákkal fermentáció útján nyert fehérjetermékek és a fenti baktérium elölt sejtjei	Methylococcus capsulatus (Bath) NCIMB törzs 11132 Alcaligenes acidovorans NCIMB törzs 12387 Bacillus brevis NCIMB törzs 13288 Bacillus firmus NCIMB törzs 13280	Természetes eredetű gáz (kb. 91% metán, 5% etán, 2% propán, 0,5% izobután, 0,5% n-bután, 1% egyéb) ammónia, ásványi sók	Nyersfehérje minimum 65%	Hízósértéseknek 25—60 kg élőtömeg felett Borjaknak 80 kg élőtömeg felett Lazac	A termék címkéjén vagy csomagolóeszközén fel kell tüntetni az alábbiakat: — természetes eredetű gázból Methylococcus capsulatus (Bath), Alcaligenes acidovorans Bacillus brevis és Bacillus firmus baktériumkultúrákkal fermentáció útján nyert fehérjetermék-nevet, — a nedvességtartalmát, — a nyershamu-tartalmát, — a nyers zsírtartalmát, — a nyers fehérjetartalmát, — a használati utasítást, — a maximális bedolgozási arányt: = hízósértéseknek: 8% = borjaknak: 8% = édesvízi lazac takarmányában 19% = tengeri lazac takarmányában 33%, — belégzése tilos deklarációt, — az engedély számát. A termék címkéjén vagy csomagolóeszközén fel kell tüntetni az alábbiakat: — természetes eredetű gázból baktériumos fermentációval nyert fehérjetermék nevét, — a terméknek a takarmánykeverékbe kevert mennyiségét.

A termékcsoport neve	A termék neve	A termék kémiai megnevezése (tapasztalati képlete) vagy a mikroorganizmus azonosítása	Táptalaj specifikáció (részletezve, ha van)	A termék összetételének jellemzői	Állatfaj	Különleges rendelkezések
1.2. Élesztők 1.2.1. Állati vagy növényi eredetű táptalajokon tenyésztett élesztők	Minden élesztő, amelyet a 3. és 4. oszlopban felsorolt mikroorganizmusokból és táptalajokon nyertek és azok elhalt sejtjei	Saccharomyces cerevisiae Saccharomyces carlsbergiensis Kluyveromyces lactis, Kluyveromyces fragilis	Melasz, szeszipari melléktermék, gabonafélék és keményítőt, gyümölcslevet savót, tejsavat növényi hidrolizátumokat tartalmazó termékek		Minden állatfaj	
1.2.2. Egyéb talajokon tenyésztett élesztők 1.3. Algák 1.4. Alsóbbrendű gombák 1.4.1. Fermentáció útján létrehozott antibiotikum előállítási termékek	1.4.1.1. Micélium penicilin-előállítási melléktermék, amelyek a Lactobacillus brevis, plantarum, kolenoid és streptococcus lactis által hőkezelt, inaktív penicillin származékok	Penicillium chrysogenum ATCC 48271	A szénhidrátok és metabolitjaik különböző forrásai	Nitrogén, nyers fehérjében kifejezve: min. 7%	Kérődzők Sertések	A termék címkéjén vagy csomagolóeszközén a következőket kell feltüntetni: — „a penicillin előállításból származó Micélium szilázs” nevet, — nitrogén nyersfehérjében kifejezve, — nyérhamu-tartalmat, — nedvességtartalmat, — állatfajokat vagy kategóriákat, — az engedély számát. A takarmánykeverék címkéjén vagy csomagolóeszközén fel kell tüntetni „a penicillin előállításból származó Micélium szilázs” nevet.

A termékcsoporthoz neve	A termék neve	A termék kémiai megnevezése (tapasztalati képlete) vagy a mikroorganizmus azonosítása	Táptalaj specifikáció (részletezve, ha van)	A termék összetételének jellemzői	Állatfaj	Különleges rendelkezések
2. <i>NPN anyagok</i> 2.1. Karbamid és származékai	2.1.1. Karbamid H 2.1.2. Biuret 2.1.3. Karbamid- foszfát H 2.1.4. Di-karba- mid izobután	$\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ $\text{C}_2\text{H}_5\text{O}_2\text{N}_3$ $\text{CO}(\text{NH}_2)_2\text{H}_3\text{PO}_4$ $(\text{CH}_3)_2\text{-CH-CH-(NHCONH}_2)_2$		karbamid: min. 97% biuret: min. 97% nitrogén: min. 16,5% foszfor: min. 18% nitrogén: min. 30% izobutiraldehid: min. 35%	Kérődzőknek a ké- rődzés kezdetétől	A termék címkéjén vagy csomagolóeszközén fel kell tüntetni: — a „karbamid, biuret, karbamid-foszfát, diureidoizobután” nevet, — a nitrogénszintet és kiegészítésként a 2.1.3. termék foszforszintjét, — az állatfajt vagy kategóriát. A takarmánykeverék címkéjén vagy csomagolóeszközén fel kell tüntetni az alábbiakat: — a „karbamid, biuret, karbamid-foszfát, diureidoizobután” nevet, — a takarmányban lévő mennyiségét, — az össz-nyersfehérje tartalomtól hány % származik NPN-ből, — a felhasználási utasításban meg kell adni az össz nem fehérje eredetű nitrogén szintjét amely nem haladja meg az állatfajnak meghatározott napi adagot. A termék címkéjén vagy csomagolóeszközén fel kell tüntetni az alábbiakat: — az ammónium-laktát elnevezést, — nitrogén nyersfehérjében kifejezve, — nyershamu-tartalmat, — nedvességtartalmat, — az állatfajt vagy korcsoportot. A takarmánykeverék címkéjén vagy csomagolóeszközén az alábbi adatokat kell feltüntetni: — az ammónium-laktát elnevezést, — a takarmányban foglalt termék mennyiségét, — az összes fehérjében az NPN-ből származó hányadot, — a használati utasításban az össz. NPN nitrogén maximális szintjét.
2.2. Ammónium- sók	2.2.1. Ammónium- laktát vizes oldat- ban	$\text{CH}_3\text{CHOHCOONH}_4$	Savón Lactobacillus bulgaricus fermentációjával előállított.	Ammónium-laktát: minimum 44%	Kérődző állatok- nak, a kérődzés kezdetétől	

A termékcsoporthoz neve	A termék neve	A termék kémiai megnevezése (tapasztalati képlete) vagy a mikroorganizmus azonosítása	Táptalaj specifikáció (részletezve, ha van)	A termék összetételének jellemzői	Állatfaj	Különleges rendelkezések
	2.2.2. Ammonium- acetát vizes oldat- ban H	$\text{CH}_3\text{COONH}_4$		Ammónium-ace- tát: minimum 55%	Kérődző állatok- nak, a kérődzés kezdetétől	A termék címkéjén vagy csomagolóeszközén az alábbi adatokat kell feltüntetni: — az ammónium-acetát elnevezést, — a nitrogén és a nedvességtartalmat, — az állatfajt vagy korcsoportot. A takarmánykeverék címkéjén vagy csomagolóeszközén fel kell tüntetni az alábbiakat: — az ammónium-acetát elnevezést, — a takarmányban foglalt termék mennyiségét, — az összes fehérjében az NPN-ből származó hányadot. — a használati utasításban az össz. NPN nitrogén maximális szintjét.
	2.2.3. Ammónium- szulfát vizes oldat- ban H	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$		Ammónium-szulfát: min. 35%	Kérődzőknek a kérődzés megindulásától	A termék címkéjén vagy csomagolóeszközén fel kell tüntetni az alábbiakat: — az „ammóniumsulfát” elnevezést, — a nitrogén és nedvességtartalmat, — az állatfajt, — a fiatal kérődzők esetében a napi adagba kevert arány nem lépheti túl a 0,5%-ot. A takarmánykeverék címkéjén vagy csomagolóeszközén az alábbiakat kell feltüntetni: — az „ammóniumsulfát” elnevezést, — a takarmányban foglalt termék mennyiségét, — az összes fehérjében az NPN-ből származó hányadot, — a használati utasításban fel kell tüntetni az összes nem fehérje nitrogénszintet, amely nem léphető túl az egyes állatfajok napi adagjában, — fiatal kérődzők esetében a napi adagba foglalt arány nem lépheti túl a 0,5%-ot.

A termékcsoporthoz neve	A termék neve	A termék kémiai megnevezése (tapasztalati képlete) vagy a mikroorganizmus azonosítása	Táptalaj specifikáció (részletezve, ha van)	A termék összetételének jellemzői	Állatfaj	Különleges rendelkezések
3. Aminosavak és sói 3.1. Metionin	3.1.1. DL-metionin, technikai tisztaságú H	$\text{CH}_3\text{S}(\text{CH}_2)\text{-CH}(\text{NH}_2)\text{-COOH}$		DL-metionin: min. 98%	Minden állatfaj	A termék címkéjén vagy csomagolóeszközén fel kell tüntetni az alábbiakat: — a 3.1.1. sz. termék esetében a „DL-metionin” nevet, a 3.1.2. sz. termék esetében az „N-hidroxi-metil-DL-metionin kalciumsó dihidrát” nevet, a 3.1.3. sz. termék esetében a „Cink-metionin” nevet, — a DL-metionin tartalmát és a nedvességtartalmát, — a 3.1.2. és a 3.1.3. sz. termék esetében az állatfajt vagy kategóriát, — az engedély számát.
	3.1.2. N-hidroxi-metil-DL-metionin kalciumsó dihidrát H	$[\text{CH}_3\text{S}(\text{CH}_2)_2\text{-CH}(\text{NH-CH}_2\text{OH})\text{-COO}]_2\text{Ca} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$		DL-metionin: minimum 67% Formaldehid: max. 14% Kalcium: minimum 9%	Kérődzőknek a kérérdzés megindulásától	
	3.1.3. Cinkmetionin, technikai tisztaságú	$[\text{CH}_3\text{S}(\text{CH}_2)_2\text{-CH}(\text{NH}_2)\text{-COO}]_2\text{Zn}$		DL metionin: min 80% Cink: max. 18,5%	Kérődzőknek a kérérdzés megindulásától	
	3.1.4. Koncentrált folyékony DL-metionin nátrium-sója technikai tisztaságú	$[\text{CH}_3\text{S}(\text{CH}_2)_2\text{-CH}(\text{NH}_2)\text{-COO}]\text{Na}$		DL metionin: min. 40% Nátrium: min. 6,2%	Minden állatfaj	A termék címkéjén vagy csomagolóeszközén fel kell tüntetni az alábbiakat: — a „koncentrált folyékony DL-metionin nátriumsója” nevet, — a DL-metionin tartalmát, — a nedvességtartalmát, — az engedély számát.
	3.1.5. Kopolimer vinilpiridin/sztirén-nel védett technikailag tiszta DL-metionin	$\text{CH}_3\text{S}(\text{CH}_2)_2\text{-CH}(\text{NH}_2)\text{-COOH}$		DL-metionin: minimum 65% Kopolimer Vinilpiridin/Sztirén tartalom maximum 3%	Tejelő tehén	A termék címkéjén vagy csomagolóeszközén fel kell tüntetni az alábbiakat: — „kopolimer-ninilpiridin sztirénnel védett metionin”, — DL-metionin és nedvességtartalom, — állatfajt, az engedély számát.

A termékcsoporthoz neve	A termék neve	A termék kémiai megnevezése (tapasztalati képlete) vagy a mikroorganizmus azonosítása	Táptalaj specifikáció (részletezve, ha van)	A termék összetételének jellemzői	Állatfaj	Különleges rendelkezések
3.2. Lizin	3.2.1. L-lizin, technikai tisztaságú H	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_4\text{CH}(\text{NH}_2)\text{-COOH}$	—	L-lizin: min. 98%	Minden állatfaj	A termék címkéjén vagy csomagolóeszközén fel kell tüntetni az alábbiakat: — a 3.2.1. sz. termék esetében az „L-lizin” nevet, a 3.2.2. sz. termék esetében a „Koncentrált folyékony L-lizin bázis” nevet, a 3.2.3. sz. termék esetében az „L-lizin-monihidroklorid” nevet, a 3.2.4. sz. termék esetében a „Koncentrált folyékony L-lizin-monihidroklorid” nevet, 3.2.5. sz. termék esetében az L-lizin szulfát és fermentációs melléktermékei” nevet, — L-lizin tartalmat és nedvességtartalmat, — az engedély számát.
	3.2.2. Koncentrált folyékony L-lizin (bázis) H	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_4\text{CH}(\text{NH}_2)\text{-COOH}$	Répacukor, melasz, keményítőtartalmú termékek és azok hidrolizátumai	L-lizin: min. 50%		
	3.2.3. L-lizin monohidroklorid, technikai tisztaságú H	$\text{NH}_2\text{-(CH}_2)_4\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH.HCL}$	Cukorszirup, melasz, keményítőtartalmú termékek és azok hidrolizátumai	L-lizin: min. 78%		
	3.2.4. L-lizin-monoklorid (folyékony) H	$\text{NH}_2\text{-(CH}_2)_4\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH.HCI}$	Cukorszirup, melasz, gabonafélék, keményítőtartalmú termékek és azok hidrolizátumai	L-lizin: min. 22,4%		
	3.2.5. L-lizin szulfát	$[\text{NH}_2\text{-(CH}_2)_4\text{-CH(NH}_2\text{)-CO-OH}]_2\text{.H}_2\text{SO}_4$ Corynebacterium glutamicum fermentációval előállítva		L-lizin: min. 40%		
	3.2.6. L-lizin foszfát és annak melléktermékei	$[\text{NH}_2\text{-(CH}_2)_4\text{-CH(NH}_2\text{-COOH)-H}_3\text{PO}_4$ Brevibacterium lactofermentum NRRL B-11470 fermentációjával előállított termék és melléktermékei	Szacharóz, ammónia és oldható halpréslé	L-lizin: min. 35% Foszfor: min. 4,3%	Baromfi, Sertés	A termék címkéjén vagy csomagolóeszközén fel kell tüntetni az alábbiakat: — „L-lizin” foszfát és a fermentációja során nyert melléktermékei” nevet, — L-lizin tartalmat és a nedvességtartalmat, — az engedély számát.
	3.2.7. Az alábbiak keveréke: a) technikailag tisztá L-lizin-monohidroklorid és b) technikailag tisztá DL-metionin, keveréke kopolimer vinil-piridin/sztirén-nel védve	$\text{NH}_2\text{-(CH}_2)_4\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH-HCL}$ $\text{CH}_3\text{S(CH}_2)_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$		Lizin+DL-metionin: minimum 50% (benne DL metionin tartalom: minimum 15%) Kopolimer vinilpiridin/sztirén tartalom: maximum 3%	Tejelő tehén	A termék címkéjén vagy csomagolóeszközén az alábbiakat kell feltüntetni: — „L-lizin monohidroklorid és Kopolimer vinil-piridin-sztirénnel védett DL-metionin” nevet, — L-lizin, DL-metionin és nedvességtartalmat, — az állatfajt, — az engedély számát.

A termékcsoporthoz neve	A termék neve	A termék kémiai megnevezése (tapasztalati képlete) vagy a mikroorganizmus azonosítása	Táptalaj specifikáció (részletezve, ha van)	A termék összetételének jellemzői	Állatfaj	Különleges rendelkezések
3.3. Treonin H	3.3.1. L-treonin technikai tisztaságú	$\text{CH}_3\text{-CH(OH-CH(NH}_2\text{))-COOH}$		L-treonin: min. 98%	Valamennyi állatfaj	A termék címkéjén vagy csomagolóeszközén fel kell tüntetni az alábbiakat: — az „L-treonin” nevet, — az L-treonin tartalmat és a nedvességtartalmat, — az engedély számát.
3.4. Triptofán H	3.4.1. L-triptofán technikai tisztaságú	$(\text{C}_8\text{H}_5\text{NH})\text{-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{))-COOH}$		L-triptofán: min. 98%	Valamennyi állatfaj	A termék címkéjén vagy csomagolóeszközén fel kell tüntetni az alábbiakat: — az „L-triptofán” nevet, — az L-triptofán tartalmat és a nedvességtartalmat, — az engedély számát.
	3.4.2. DL-triptofán technikai tisztaságú	$(\text{C}_8\text{H}_5\text{NH})\text{-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{))-COOH}$		DL-triptofán: min. 98%	Valamennyi állatfaj	A termék címkéjén vagy csomagolóeszközén fel kell tüntetni az alábbiakat: — a „DL-triptofán” nevet, — a DL-triptofán tartalmat és a nedvességtartalmat, — az engedély számát.
4. Aminósav analógok						
4.1. Metionin analógjai	4.1.1. A metionin- hidroxi-analógja	$\text{CH}_3\text{S(CH}_2\text{)}_2\text{-CH(OH)-COOH}$		Össztartalom: minimum 85% Monomersav: minimum 65%	Valamennyi állatfaj	A termék címkéjén vagy csomagolóeszközén fel kell tüntetni az alábbiakat: — adott esetben a nevet (2. oszlop), — a monomersav és a teljes savtartalmat a 4.1.1. sz. termék esetében és a monomersav tartalmat a 4.1.2. sz. termék esetében, — nedvességtartalmat, — állatfajt, — engedély számát.
	4.1.2. A metionin hidroxi-analógjájának kalcium sója H	$[\text{CH}_3\text{S(CH}_2\text{)}_2\text{-CH(OH)-COO}]_2\text{Ca}$		Monomersav: minimum 83% Kalcium: minimum 12%		A takarmánykeverék címkéjén vagy csomagolóeszközén az alábbiakat kell feltüntetni: — adott esetben a nevet (2. oszlop), — a monomersav és a teljes savtartalmat a 4.1.1. sz. termék esetében, és a monomersav tartalmat a 4.1.2. sz. termék esetében, — a takarmányban foglalt termék mennyiségét.

A termékcsoporthoz neve	A termék neve	A termék kémiai megnevezése (tapasztalati képlete) vagy a mikroorganizmus azonosítása	Táptalaj specifikáció (részletezve, ha van)	A termék összetételének jellemzői	Állatfaj	Különleges rendelkezések
	4.1.3.			Monomer észter: min. 90% Nedvességtartalom: max. 1%		A termék címkéjén vagy csomagolóeszközén fel kell tüntetni az alábbiakat: — 2-hidroxi-4-metiltiobutanol sav izopropil észtere. A takarmánykeverék címkéjén vagy csomagolóeszközén fel kell tüntetni az alábbiakat: — Metionin analógja: 2-hidroxi-4-metiltiobutanol sav izopropil észtere, — a takarmányban a metionin analóg bekeverési százaléka.

ELŐFIZETÉSI FELHÍVÁS

Az

EGÉSZSÉGBIZTOSÍTÁSI KÖZLÖNY

— az egészségbiztosítási ágazat központi igazgatási szerve, az Országos Egészségbiztosítási Pénztár hivatalos lapja — az előfizetői érdekeket szem előtt tartva, kedvező áron bocsátja az egészségügyi ágazatban érdekeltek rendelkezésére a jogszabályok szövegét, munkájukhoz szükséges gyakorlati információkat, az OEP aktuális közleményeit. Lapunk címzettjei elsősorban: az alapellátásban részt vevő háziorvosok; fekvőbeteg ellátó és szakellátó intézmények; gyógyszer, gyógyászati segédeszközt gyártók illetve forgalmazók; gyógyfürdők; oktatási intézmények; társadalombiztosítási kifizető helyek, foglalkoztatók; könyvelők; adótanácsadók stb.

Ezúton tisztelettel tájékoztatjuk az érdekelteket, hogy 2004. év elejétől a Magyar Hivatalos Közlönykiadó adja ki az Egészségbiztosítási Közlönyt.

A lap előfizetésben megrendelhető.

2004. évi éves előfizetés díja: 15 180 Ft áfával.

Példányonként megvásárolható a kiadó közlönypoltjában (1085 Budapest, Somogyi Béla u. 6. Tel./fax: 267-2780).

MEGRENDELŐLAP

Megrendeljük az **Egészségbiztosítási Közlöny** című lapot példányban.

A megrendelő (cég) neve:

Címe (város, irányítószám):

Utca, házszám:

Az ügyintéző neve, telefonszáma:

A megrendelő (cég) bankszámlaszáma:

A megrendelt példányok ellenértékét a postaköltséggel együtt, a szállítást követő számla kézhezvétele után, 8 napon belül a Magyar Hivatalos Közlönykiadónak a számlán feltüntetett pénzforgalmi jelzőszámára átutaljuk.

Keltezés:

.....
cégszerű aláírás

ELŐFIZETÉSI FELHÍVÁS

A Magyar Hivatalos Közlönykiadó gondozásában 2004. január 1-jétől jelenik meg a Közbeszerzések Tanácsának hivatalos lapja, a

KÖZBESZERZÉSI ÉRTESÍTŐ

A Közbeszerzési Értesítő megrendelhető a Magyar Hivatalos Közlönykiadó, Budapest VIII., Somogyi Béla u. 6. címén (postacím: 1394 Budapest 62, Pf. 357.) vagy a 318-6668 faxszámán.

Éves előfizetési díja 2004. évre: 94 700 Ft, fél évre: 50 000 Ft, negyedévre: 26 100 Ft. Példányonként megvásárolható a kiadó közlőnyboltjában (1085 Budapest, Somogyi Béla u. 6. Tel./fax: 267-2780).

MEGRENDELŐLAP

Megrendelem a

KÖZBESZERZÉSI ÉRTESÍTŐ

című lapot példányban, és kérem a következő címre kézbesíteni:

A megrendelő (cég) neve:

Címe (város/község, irányítószám):

Utca, házszám:

Az ügyintéző neve, telefonszáma:

Előfizetési díj egy évre 94 700 Ft ☐

 fél évre 50 000 Ft ☐

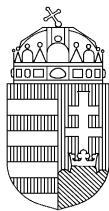
 negyedévre 26 100 Ft ☐

Csekket kérek a befizetéshez ☐

Kérjük, a négyzetbe történő X bejelöléssel jelezze az előfizetés időtartamát!

Keltezés:

.....
cégszerű aláírás



A MAGYAR HIVATALOS KÖZLÖNYKIADÓ megjelentette a

TÖRVÉNYEK ÉS RENDELETEK HIVATALOS GYŰJTEMÉNYE 2002

című hétkötetes jogszabálygyűjteményt.

A kiadványt az Igazságügyi Minisztérium és a Miniszterelnöki Hivatal a korábbi évek gyakorlatához hasonlóan név- és tárgymutatóval, kiegészítő jegyzetekkel, valamint változásmutatóval látta el.

A jogszabálygyűjtemény I., II., III., IV., V., VI. és VII. kötetének ára: **189 840 Ft áfával.**

A kötetekre szóló megrendelést a Magyar Hivatalos Közlönykiadó címére (1085 Budapest, Somogyi Béla u. 6.) kérjük eljuttatni. Fax: 338-4746 vagy 267-2780.

M E G R E N D E L Ő L A P

Megrendeljük a

TÖRVÉNYEK ÉS RENDELETEK HIVATALOS GYŰJTEMÉNYE 2002

című hétkötetes kiadványt példányban.

A megrendelő (cég) neve:

Címe (város, irányítószám):

Utca, házszám:

Az ügyintéző neve, telefonszáma:

A megrendelő (cég) bankszámlaszáma:

A megrendelt példányok ellenértékét a postaköltséggel együtt, a szállítást követő számla kézhezvétele után, 8 napon belül átutaljuk a Magyar Hivatalos Közlönykiadónak a számlán feltüntetett pénzforgalmi jelzőszámára.

Keltezés:.....

.....
cégszerű aláírás

Tisztelt Előfizetők!

Tájékoztatjuk Önöket, hogy a kiadónk terjesztésében levő lapokra és elektronikus kiadványokra szóló előfizetéseket folyamatosan tekintjük. Csak akkor kell változást bejelenteniük a 2004. évre vonatkozó előfizetésre, ha a példányszámot, esetleg a címlistát módosítják, vagy új lapra szeretnék előfizetni (pontos szállítási, név- és utcacím-megjelöléssel).

Azesetleges módosítás szíveskedjenek levélben vagy faxon megküldeni.

Felhívjuk szíves figyelmüket, hogy a lapszállításról kizárólag az előfizetési díj beérkezését követően intézkedünk. Fontos, hogy az előfizetési díjakat a megadott 10300002-20377199-70213285 sz. számlára utalják, illetve a kiadó által kiküldött készpénz-átutalási megbízáson fizessék be.

Készpénzes befizetés kizárólag a Közlönyboltban (1085 Budapest, Somogyi B. u. 6.) lehetséges. (Levélcím: Magyar Hivatalos Közlönykiadó, 1394 Budapest, 62. Pf. 357. Fax: 318-6668).

A 2004. évi előfizetési díjak

(Az árak az áfát tartalmazzák.)

Magyar Közlöny	73 140 Ft/év	Munkügyi Közlöny	11 316 Ft/év
Hivatalos Értesítő	10 764 Ft/év	Oktatási Közlöny	17 664 Ft/év
Határozatok Tára	16 836 Ft/év	Pénzügyi Közlöny	23 184 Ft/év
Önkormányzatok Közlönye	4 140 Ft/év	Statisztikai Közlöny	9 660 Ft/év
Az Alkotmánybíróság Határozatai	14 076 Ft/év	Szociális Közlöny	11 316 Ft/év
Bányászati Közlöny	3 588 Ft/év	Turisztikai Értesítő	8 556 Ft/év
Belügyi Közlöny	18 768 Ft/év	Ügyességi Közlöny	4 968 Ft/év
Egészségbiztosítási Közlöny	15 180 Ft/év	Vízügyi Értesítő	9 384 Ft/év
Egészségügyi Közlöny	19 044 Ft/év		
Földművelésügyi és Vidékfejlesztési Értesítő	13 248 Ft/év	Ellenőrzési Figyelő	2 484 Ft/év
Gazdasági Közlöny	17 664 Ft/év	Házi Jogtanácsadó	3 588 Ft/év
Hírközlési Értesítő	4 692 Ft/év	Magyar Közigazgatás	6 900 Ft/év
Ífúsági és Sport Értesítő	3 588 Ft/év	Pénzügyi Szemle	16 836 Ft/év
Igazságügyi Közlöny	11 868 Ft/év	Nemzeti Kulturális Alapprogram Hírlevele	3 588 Ft/év
Informatikai és Hírközlési Közlöny	15 732 Ft/év		
Környezetvédelmi Értesítő	10 764 Ft/év	Élet és Tudomány	8 556 Ft/év
Közbeszerzési Értesítő	94 700 Ft/év	Ludové Noviny	1 932 Ft/év
Közlekedési Értesítő	17 940 Ft/év	Neue Zeitung	3 588 Ft/év
Kulturális Közlöny	14 076 Ft/év	Természet Világa	4 692 Ft/év
Külgazdasági Értesítő	14 628 Ft/év	Valóság	5 520 Ft/év

Tájékoztatjuk előfizetőinket, hogy 2004. január 1-jétől a Cégközlöny elektronikus formában (CD-n) jelenik meg.

Éves előfizetési díja: 73 500 Ft/év.

A CD-Jogász HIVATALOS JOGTÁR hatályos jogszabályok hivatalos számítógépes gyűjteményének 2004. évi éves előfizetési díjai:

(Áraink az áfát nem tartalmazzák.)

Önálló változat	48 000 Ft	25 munkahelyes hálózati változat	96 000 Ft
5 munkahelyes hálózati változat	62 400 Ft	50 munkahelyes hálózati változat	110 400 Ft
10 munkahelyes hálózati változat	78 720 Ft	100 munkahelyes hálózati változat	124 800 Ft

Egyszeri belépési díj: 6000 Ft.

Facsimile Magyar Közlöny. A hivatalos lap 2003-as évfolyama jelenik meg CD-n az eredeti külalak megőrzésével, de könnyen kezelhetően.

Hatályos jogszabályok online elérése: a naponta frissített adatbázis az interneten keresztül érhető el a www.mhk.hu címen. További információ kérhető a 06 (80) 200-723-as zöldszámon.

A **Házi Jogtanácsadó** című lap előfizetésben megrendelhető a Magyar Hivatalos Közlönykiadó címen:

Budapest VIII., Somogyi B. u. 6. 1394 Bp. 62. Pf. 357 vagy faxon: 318-6668, vagy a www.mhk.hu/hj internetcímen található megrendelőlap.

Telefon: 266-9290/234, 235 mellék.

Éves előfizetési díja 3588 Ft/év

Szerkeszti a Miniszterelnöki Hivatal, a Szerkesztőbizottság közreműködésével.

A Szerkesztőbizottság elnöke: dr. Pulay Gyula. A szerkesztésért felelős: dr. Müller György. Budapest V., Kossuth tér 1—3.

Kiadja a Magyar Hivatalos Közlönykiadó. Felelős kiadó: dr. Kodala László elnök-vezérigazgató.

Budapest VIII., Somogyi Béla u. 6. Telefon: 266-9290.

Előfizetésben megrendelhető a Magyar Hivatalos Közlönykiadónál

Budapest VIII., Somogyi Béla u. 6., 1394 Budapest 62. Pf. 357, vagy faxon 318-6668.

Előfizetésben terjeszti a Magyar Hivatalos Közlönykiadó a FÁMA Rt. közreműködésével. Telefon/fax: 266-6567.

Információ: tel./fax: 317-9999, 266-9290/245, 357 mellék.

Példányonként megvásárolható a kiadó Budapest VIII., Somogyi B. u. 6. (tel./fax: 267-2780) szám alatti közlönyboltjában, illetve megrendelhető a www.mhk.hu/kozlonybolt internetcímen.

2004. évi éves előfizetési díj: 73 140 Ft. Egy példány ára: 161 Ft 16 oldal terjedelemtig, utána + 8 oldalanként + 161 Ft.

A kiadó az előfizetési díj évközből emelésének jogát fenntartja.

HU ISSN 0076—2407

04.0443 — Nyomja a Magyar Hivatalos Közlönykiadó Lajosmizsei Nyomdája. Felelős vezető: Burján Norbert.