قرارات، مقرّرات، آراء

وزارة التجارة

قرار مؤرخ في19 رمضان عام 1427 الموافق 11 أكتوبر سنة 2006، يجعل منهج معايرة الأفلاتوكسين B_1 ومجموعة الأفلاتوكسين B_1 وB_2 وG_1 وG_2 في الحبوب والمكسرات والمنتوجات المشتقة إجباريا.

إن وزير التجارة،

– بمقتضى المرسوم الرئاسي رقم 06 – 176 المؤرخ في 27 ربيع الثاني عام 1427 الموافق 25 مايو سنة2006 والمتضمن تعيين أعضاء الحكومة،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 90 – 39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990والمتعلق برقابة الجودة وقمع الغش، المعدل والمتمم،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 02 – 453 المؤرخ في 17 شوال عام 1423 الموافق 21 ديسمبر سنة 2002 الذي يحدد صلاحيات وزير التجارة،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 05 – 467 المؤرخ في 8 ذي القعدة عام 1426 الموافق 10 ديسمبر سنة 2005 الذي يحدد شروط مراقبة مطابقة المنتوجات المستوردة عبر الحدود وكيفيات ذلك،

– وبمقتضى القرار المؤرخ في 14 جمادى الثانية عام 1416 الموافق 7 نوفمبر سنة 1995 والمتعلق بالمواصفات التقنية والقواعد التي تطبق على المواد الغذائية عند استيرادها،

يقرر ما يأتي :

المادة الأولى : تطبيقا لأحكام المادة 19 من المرسوم التنفيذيّ رقم 90 – 39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990، المعدل والمتمم والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج معايرة الأفلاتوكسين B_1 ومجموعة الأفلاتوكسين B_1 وB_2 وG_1 وG_2 في الحبوب والمكسرات و المنتوجات المشتقة إجباريا.

المادة 2 : من أجل معايرة الأفلاتوكسين B_1 ومجموعة الأفلاتوكسين B_1 وB_2 وG_1 وG_2 في الحبوب والمكسرات والمنتوجات المشتقة، فإن مخابر مراقبة الجودة وقمع الغش وتلك المعتمدة لهذا الغرض ملزمة باستعمال المنهج المبين في الملحق.

كما يجب أن يستعمل هذا المنهج من طرف المخبر عند الأمر بإجراء خبرة.

المادة 3 : ينشر هذا القرار في الجريدة الرسمية للجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية.

حرر بالجزائر في 19 رمضان عام 1427 الموافق 11 أكتوبر سنة 2006.

الهاشمي جعبوب

الملحق

منهج معايرة الأفلاتوكسين B_1 ومجموعة الأفلاتوكسين B_1 وB_2 وG_1 وG_2 في الحبوب والمكسرات والمنتوجات المشتقة

1 . مجال التطبيق :

يطبق هذا المنهج لتحديد كميات الأفلاتوكسين الأكبر من 8 ميكرو غرام / كيلو غرام.

2 . المبدأ :

تستخلص العينة المأخوذة للتجربة بخليط مكون من الماء والميثانول. يرشح مستخلص العينة، يخفف بالماء ثم يوضع في عمود الانجذاب المناعي المحتوي على أجسام مضادة خاصة بالأفلاتوكسين B_1 وB_2 وG_1 وG_2 تعزل الأفلاتوكسين، تنقى ثم تركز في العمود وتحرر من الأجسام المضادة بالميثانول. تحدد كمية الأفلاتوكسين عن طريق عملية الكروماتوغرافيا السائلة ذات دقة عالية (CLHP) في المرحلة المعكوسة مع الكشف عن طريق الإشعاع وانحراف ما قبل العمود باليود.

3 . الكواشف :

1.3 عموميات :

يجب أن تكون جميع الكواشف ذات نوعية تحليلية معترف بها.

2.3 كلورور الصوديوم.

3.3 اليود على شكل بلورات.

4.3 أفلاتوكسين على شكل بلورات أو غشاء، في كبسولات.

– يحفظ المخبر الذي تجرى فيه التحاليل من ضوء النهار بكفاية.

– تحفظ محاليل الأفلاتوكسين بعيدا عن الضوء (تحفظ في الظلام باستعمال ورقة من الألمنيوم أو أدوات زجاجية عنبرية).

5.3 أسيتونيتريل، من نوع الكروماتوغرافيا السائلة ذات دقة عالية .

6.3 ميثانول، ذو نوعية تحليلية.

7.3ميثانول، للكروماتوغرافيا السائلة ذات دقة عالية.

8.3 تولوان

9.3 مذيب الاستخلاص :

يخلط 7 أحجام من الميثانول (6.3) مع 3 أحجام من الماء.

10.3 عمود الانجذاب المناعي :

يحتوي عمود الانجذاب المناعي على أجسام مضادة موجهة ضد الأفلاتوكسين B_1 وB_2 وG_1 وG_2 يجب أن لا تكون القدرة الدنيا لربط عمود الانجذاب المناعي أصغر من 100 نانو غرام من الأفلاتوكسين B_1 وأن لايكون استرجاع الأفلاتوكسين B_1 و B_2 و G_1 أصغر من 80 % ومن 60 % بالنسبة للأفلاتوكسين G_2 عند استعمالنا في عمود الانجذاب المناعي، محلول مثبت لـ 5 نانوغرام لكل سم في 15ملل لخليط الميثانول و الماء (قسم يقدر بحجم من الميثانول لـ 1 + 3,4 أحجام من الماء). يجب أن يحتوي عمود الانجذاب المناعي على مخزن لمذيب مناسب، مثلا حقنة مزودة بمكيف.

11.3 المرحلة المتحركة :

يخلط 3 أحجام من الماء مع حجم واحد من أسيتونيتريل (5.3) و حجم واحد من الميثانول (7.3) ينزع الغاز من المحلول قبل استعماله.

12.3 كاشف الانحراف ما بعد العمود :

يذوب 100 مغ من اليود (3.3) في 2 ملل من الميثانول (6.3) يضاف 200 ملل من الماء. يرج لمدة ساعة ثم يرشح بواسطة مصفاة، نفاذيتها 0,45 ميكرومتر(8.4) يحضر ويستعمل المحلول في نفس الأسبوع ثم يخزن في الظلام في قارورة زجاجية بنية. يرج لمدة 10 دقائق قبل الاستعمال.

13.3 خليط تولوان / أسيتونتريل :

يخلط 98 قسم بالحجم من تولوان (8.3) مع قسمين بالحجم من الأسيتونتريل (5.3).

14.3 محاليل الأم للأفلاتوكسين B_1وB_2 وG_1 وG_2 :

يذوب بصفة منفصلة، الأفلاتوكسين B_1 وB_2 وG_1 وG_2 في خليط تولوان / أسيتونتريل (13.3) للحصول على محاليل منفصلة تحتوي على 10 ميكروغرام / للميليمتر.

من أجل تحديد التركيز الدقيق للأفلاتوكسين في كل محلول أم، يسجل طيف الامتصاص بين طول الموجة تقدر بـ 330 نانومتر و 370 نانومتر داخل أنابيب من الكوارتز لـ 1 سنتيمتر (4. 8) بواسطة جهاز منظار طيفي. حيث أن الخليط تولوان / أسيتونتريل (13.3) هو الأنبوب المرجعي.

يحسب التركيز الكتلي لكل أفلاتوكسين pi المعبر عنه بـالميكروغرام للميللتر عن طريق المعادلة (1) التالية :

$$p_i = \frac{A_{\text{القصوى}} \times M_i \times 100}{d \times \varepsilon_i}$$

حيث :

A القصوى : الامتصاص الأقصى المحدد لطيف الامتصاص.

M_i : هي الكتلة الجزيئية المتعلقة بكل أفلاتوكسين بالغرام لكل مول.

ε_i : الامتصاصية المولارية لكل أفلاتوكسين في الخليط تولوان/ أسيتونتريل (13.3) بالمتر المربع لكل مول.

d : المسافة الضوئية للخلية ، بالسنتيمتر.

يعبر عن M_i وε_i في الجدول (1) التالي :

أفلاتوكسين	M_i غرام / مول	ε_i متر مربع / مول
B_1	312	1930
B_2	314	2040
G_1	328	1660
G_2	330	1790

الجدول 1 – الكتلة الجزيئية النسبية والامتصاصية الملارية للأفلاتوكسين B_1 وB_2 وG_1 وG_2 (خليط التولوان والأسيتونتريل).

15.3 محلول الأم للأفلاتوكسين المختلط :

يحضر محلول الأم يحتوي على 500 نانوغرام/ لتر من الأفلاتوكسين B_1، 125 نانوغرام/ لتر من الأفلاتوكسين B_2، 250 نانوغرام/ لتر من الأفلاتوكسين G_1 و125

نانوغرام/ لتر من الأفلاتوكسين G_2 في الخليط تولوان / أسيتونتريل (13.3). عند تخزين المحلول يتعين وزن الوعاء و تسجل كل التغيرات عند استعمال المحلول. يغطى الوعاء بعناية بورق الأليمنيوم ويخزن في 4 م° تقريبا.

16.3 محاليل التثبيت للأفلاتوكسين المختلط :

تنقل كل كمية محددة في الجدول (2) لمحلول الأم للأفلاتوكسين المختلط (15.3) إلى سلسلة مكونة من ثلاث (3) قنينات مدرجة بـ 2 ملل (5.4).

تترك المحاليل تتبخر في محيط جاف تحت تدفق الأزوت في درجة حرارة المحيط. يضاف في كل وعاء 1 ملل من الميثانول، يخلط ثم يخفف بالماء حتى خط الوعاء ثم يخلط من جديد. يحضر المحلول يوم الاستعمال.

محلول مثبت	مقتطع من محلول الأم (ميكرولتر) (15.3)	التركيز الكتلي (نانوغرام / ملل)			
		B_1	B_2	G_1	G_2
1	60	15,0	3,75	7,50	3,75
2	40	10,0	2,50	5,00	2,50
3	20	5,00	1,25	2,50	1,25
4	10	2,50	0,625	1,25	0,625

الجدول 2 – تحضير محاليل التثبيت.

القيم المبينة في هذا الجدول معطاة على سبيل البيان. تغطى مجموعة المرجع تراكيز العينات.

17.3 حمض السيلفريك، ($C(H_2SO_4) = 2$ مول / لتر.

4 . التجهيزات :

1.4 التجهيزات العادية للمخبر :

يجب أن تغمر الأدوات الزجاجية للمخبر التي تلامس المحاليل المائية للأفلاتوكسين في حمض السيلفريك (2 مول / لتر) لعدة ساعات ثم تغسل جيدا بالماء (مثلا 3 مرات) لإزالة أي أثر للحمض. التحقق (16.3) من عدم وجود الحمض بواسطة ورق pH.

– تعتبر هذه المعالجة ضرورية لأنه يمكن أن يتسبب استعمال الأدوات الزجاجية المغسولة بدون حمض في فقدان الأفلاتوكسين .

عمليا، تعتبر هذه المعالجة ضرورية بالنسبة للأواني الكروية ذات قاع دائري ، القنينات المدرجة، مخبار مدرج، القارورات أو الأنابيب لمحاليل التثبيت والمستخلصات النهائية (لا سيما قنينات آخذات العينات الآلية) و ماصات باستور عند استعمالها من أجل نقل محاليل التثبيت أو المستخلصات.

2.4 جهاز للسحق، مزود بكأس سعته 500 ملل وغطاء.

3.4 ورق الترشيح ذو طيات، قطره 24 سنتيمتر على سبيل المثال.

4.4 ورق الترشيح مزود بألياف زجاجية دقيقة ، قطره 11 سنتيمتر على سبيل المثال.

5.4 قنينات مدرجة ، سعتها 2 ملل على سبيل المثال.

6.4 جهاز المنظار الطيفي، بإمكانه أن يغطي موجات طولها يتراوح بين 200 نانومتر و400 نانومتر.

7.4 أنابيب من الكوارتز، ذات مسافة ضوئية تقدر بـ 1 سم غير حساسة لامتصاص الموجات التي يتراوح طولها بين 300 نانومتر و 370 نانومتر.

8.4 مصفاة ذات غشاء للمحاليل المائية، من متعدد ثلاثي فلور الإيثيلان (PTFE) ذات قطر 4 مم و 0,45 ميكرومتر من النفاذية.

9.4 تجهيزات الكروماتوغرافيا السائلة ذات دقة عالية، تتكون من العناصر التالية :

1.9.4 مضخة الكروماتوغرافيا السائلة، مهيئة من أجل تدفق يساوي 1 ملل / الدقيقة.

2.9.4 نظام للحقن، صمام للحقن مجهز بحلقة سعتها 50 ميكرولتر أو نظام مشابه.

3.9.4 عمود تحليلي للفصل في المرحلة المعكوسة، على سبيل المثال، C18 يضمن الحصول على فصل لقمم الأفلاتوكسين B_1 وB_2 وG_1 وG_2 انطلاقا من خط القاعدة، تكون هذه القمم متميزة جدا عن القمم الأخرى.

– الطول 250 مم.

– القطر الداخلي 4,6 مم.

– الجزيئات الكروية قطرها 5 ميكرومتر.

يمكن استعمال أعمدة أقصر.

4.9.4 نظام انحراف ما قبل العمود :

يتكون من مضخة ثانية بدون دفع (غير بيريستالتيكي) وقطعة على شكل حرف T بدون حجم ميت و من أنبوب متعدد ثلاثي- فلور الإيثيلان (PTFE)

أو من الفولاذ غير المؤكسد يتراوح طوله بين3000 ميليمتر و 5000 ميليمتر وقطره الداخلي 0,5 مم وكذا حمام التسخين أو وسيط ما قبل العمود من أجل تفاعل اليود.

10.4 كاشف الإشعاع :

مع موجة تحريض معدلة في 365 نانومتر وموجة إرسال طولها 435 نانومتر(بالنسبة لوسائل الترشيح طول موجة الإرسال > من 400 نانومتر). من الممكن كشف 0,05 ملغ من الأفلاتوكسين B_1 على الأقل لحجم محقون (أي 50 ميكرولتر).

5. طريقة العمل :

1.5 الاستخلاص :

يوزن بتقريب 10ملغ، 25غ من العينة المأخوذة للتجربة نقوم بعملية المجانسة في جهاز للسحق، يضاف 5غ من كلورور الصوديوم (2.3) و125 ملل من مذوب الاستخلاص (9.3)، ثم نقوم بعملية المجانسة بواسطة خلاط لمدة دقيقتين بسرعة كبيرة .

– ينبغي التحقق من أن سرعة الخلط لا تنقص من فعالية الاستخلاص.

يرشح بواسطة ورق الترشيح المطوي (3.4). يدخل بواسطة ماصة 15 ملل (ح 2) من الرشاحة داخل قنينة مخروطية الشكل ذات أبعاد مناسبة. يضاف 30 ملل من الماء ، تسد القنينة وتخلط قبل البدء في عملية الكروماتوغرافيا في عمود الانجذاب المناعي، يرشح المستخلص المخفف على ورق الترشيح، يحتوي على ثقوب صغيرة جدا من الزجاج (4.4) يتعين أن تكون الرشاحة (ح 3) صافية، في حالة العكس، يعاد الترشيح من جديد. ونقوم بالمعالجة مباشرة حسب (2.5).

2.5 التنقية :

يحضر عمود الانجذاب المناعي ثم تجرى عملية التنقية بواسطة ماصة ، توضع 15 ملل (ح 4) من الرشاحة الثانية (ح 3) في خزان المذوب للعمود (10.3). يجمع ناتج الميثانول أو أسيتونيتريل (حسب المنتوج) في قنينة مدرجة لـ 2 ملل (5.4). يخفف حتى الخط بالماء (ح 5). يخلط ثم تجرى العملية وفقا لـ (3.5).

من أجل تحليلها عن طريق الكروماتوغرافيا السائلة ذات الدقة العالية، يجب أن تحتوي محاليل العينات ومحاليل التثبيت على نفس المذوب أو نفس خليط المذوبات.

– إن مناهج التوضع في أعمدة الانجذاب المناعي وعملية غسل العمود والناتج تختلف قليلا من صانع العمود إلى آخر، يتعين اتباع التعليمات الخاصة المسلمة مع الأعمدة بدقة.

يراعى عدم تجاوز القدرة القصوى للعمود.

3.5 شروط استعمال الكروماتوغرافيا السائلة ذات الدقة العالية :

تربط الفتحة الخارجية لعمود الفصل بإحدى القطع على شكل T (4.9.4) بواسطة قطعة صغيرة من أنبوب قطره الداخلي 0,25 مم مثلا. تربط بالجزء الثاني من T الفتحة الخارجية للمضخة الثانية بدون دفع التي توزع الكاشف من أجل الانحراف ما قبل العمود. يربط أحد أطراف الأنبوب الحلزوني من متعدد ثلاثي فلور الإيثيلان (PTFE) أومن الفولاذ غير المؤكسد (4.9.4) بالجزء الثالث للقطعة T والطرف الآخر بالكاشف. يثبت الأنبوب الحلزوني بواسطة مجفف أو حمام مائي في درجة حرارة التفاعل تقدر بـ 70 °م.

اعتبرت التعديلات التالية مناسبة عند استعمال العمود المحدد في (3.9.4) :

– التدفق في مرحلة الحركة (العمود) 1,0 ملل / الدقيقة.

– تدفق الكاشف ما قبل العمود 0,3 ملل / الدقيقة.

– الحجم المحقون: 50 ميكرو لتر.

يترك النظام يشتغل لمدة 10 دقائق لتثبيته. في حالة استعمال جهاز مكامل، تعدل حساسية كاشف الإشعاع أو الجهاز المكامل من أجل الحصول على نسبة تأشير/ الصوت لـ 1/5 لـ 0,125 نانوغرام من الأفلاتوكسين G_2 في 50 ميكرو لتر.

في حالة استعمال مسجل على ورق، يعدل مقبض كاشف الإشعاع للحصول على سلم للتنقل من 30 % إلى 40 % مع 0,125 نانوغرام من الأفلاتوكسينG_2 في 50 ميكرولتر. تمرر الرشاحة الثانية (ح$_3$) في العمود، تغسل هذه الأخيرة طبقا لتعليمات الصانع وتحذف النواتج.

4.5 التعرف :

التعرف على كل قمة الأفلاتوكسين للكروماتوغرام الناتجة عن تحليل العينة المأخوذة للتجربة بمقارنة أزمنة الاسترجاع مع المعايير المرجعية الموافقة .

5.5 منحنى المعايرة :

يحضر منحنى المعايرة لكل أفلاتوكسين بحقن 50 ميكرولتر من المحاليل المثبتة 1، 2، 3 و4 (جدول 2).

6.5 المعايرة :

يتم التحديد الكمي حسب منهج المعايرة الخارجية بتكامل سطح القمة أو قياس ارتفاع القمة الذي يتم مقارنته بعد ذلك مع القمة الموافقة لمحلول مرجعي.

يحقن بحجم يقدر بـ 50 ميكرو لتر خليط المعايرة في الحلقة مع إتباع تعليمات صانع جهاز الحقن. يتم ظهور الأفلاتوكسين بالترتيب G_2 وG_1 وB_2 وB_1 مع أزمنة الحجز على التوالي بحوالي 6 دقائق، 8 دقائق، 9 دقائق و 11 دقيقة و يتعين أن تكون القمم منفصلة تماما. إذا اقتضى الأمر يعدل زمن الحجز بتغيير تركيز الميثانول في المذوب لمرحلة الحركة (11.3).

يحقن 50 ميكرولتر (ح6) من مستخلص العينة المنقاة (2.5) في حلقة الحقن.

6 . حساب النتائج :

تحسب كتلة العينة المأخوذة للتجربة كt بالغرام ، الموجودة في قطعة الرشاحة الثانية المقتطعة لعمود الانجذاب المناعي (ح4) عن طريق المعادلة (2) التالية :

$$ك_t = ك_0 \frac{ح_4 \times ح_2}{ح_3 \times ح_1}$$

حيث :

$ك_0$: كتلة العينة المأخوذة للتجربة (1.5) بالغرام (ك 0 = 25 غ)،

$ح_1$: الحجم الكلي للرشاحة (1.5) بالميليلتر (ح 1 = 125 ملل)،

$ح_2$: حجم قطعة الرشاحة الأولى (1.5) بالميليلتر (ح2 = 15 ملل)،

$ح_3$: الحجم الكلي للرشاحة الثانية (1.5) بالميليلتر (ح 3 = 45 ملل)،

$ح_4$: حجم قطعة الرشاحة الثانية (2.5) بالميليلتر (ح 4 = 15 ملل).

تحسب القطعة الكتلية لكل أفلاتوكسين، W_I، بالميكروغرام / كيلوغرام للعينة عن طريق المعادلة (3) التالية (منهج المعايرة الخارجية) :

$$W_1 = \frac{ك_i \times ح_5}{ك_t \times ح_6}$$

حيث :

$ح_5$ = الحجم الناتج (2.5) بالميكرولتر (ح5 = 2000 ميكرولتر)،

$ح_6$ = حجم الناتج المحقون (6.5) بالميكرولتر (ح5 = 50 ميكرولتر)،

$ك_i$ = هي الكتلة، بالنانوغرام لكل أفلاتوكسين الموجودة في الحجم المحقون، الموافقة للمساحة أو الارتفاع المقاس للقمم المأخوذة من منحنى المعايرة،

$ك_t$ = كتلة العينة المأخوذة للتجربة بالغرام الموجودة داخل قطعة الرشاحة الثانية المقتطعة لعمود الانجذاب المناعي (ح4) (حسب المعادلة 2).

تضاف القطع الكتلية للأفلاتوكسينات الأربعة للحصول على القطعة الكتلية لمجموع الأفلاتوكسينات .

7 . التكرارية :

يجب أن لا يتجاوز الفرق المطلق بين نتيجتين وحيدتين للتجربة على نفس المادة المجربة، المتحصل عليه من طرف المخبري استعمل نفس التجهيزات، في أقصر مجال زمني ممكن، حدود التكرارية (ت) في أكثر من 5 % من الحالات.

8 . التكرارية بين عدة مخابر:

يجب أن لا يتجاوز الفرق المطلق بين نتيجتين وحيدتين للتجربة على نفس المادة المجربة بين مخبرين، حدود التكرارية (ت) في أكثر من 5 % من الحالات المتحصل عليها.