الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التجارة

المديرية العامة للرقابة الاقتصادية و قمع الغش

مديرية مخابر التجارب و تحاليل الجودة

المديرية الفرعية للإجراءات و الطرق الرسمية للتحاليل

المناهج الرسمية للتحاليل الميكروبيولوجية و الفيزوكيميائية

جانفي 2016

المناهج الرسمية للتحاليل

الحليب و مشتقاته

اللحوم و منتجات اللحوم

المواد الدسمة ذات الأصل الحيواني و النباتي

الحبوب و المواد المشتقة

المياه المعدنية و مياه المنبع

مواد أخرى

ميكربيولوجيا الأغذية: المناهج الأفقية

مواد غير الغذائية

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التجارة

المديرية العامة للرقابة الاقتصادية

و قمع الغش

مديرية مخابر التجارب

و تحاليل الجودة

المناهج الرسمية للتحاليل الميكروبيولوجية و الفيزوكيميائية

المتعلقة بالحليب و مشتقاته

الفهرس ا

المناهج االميكروبيولوجية	
1. قرار امؤرخ افي ا 27 امارس اسنة ا 2004، يجعل امنهج إحصاء امجموع االجراثيم افي ا 30 °م في امسحوق االحليب او امصل االحليب إجباريا. (ج ار اعدد ا32 – 2004)	01
2. قرار امؤرخ افي ا 27 امارس اسنة ا 2004، ايجعل امنهج االمراقبة االميكروبيولوجية اللحليب االمعقم ا إجباريا. (ج ار اعدد ا32 - 2004)	05
3. قرار امؤرخ افي ا 27 امارس اسنة ا 2004، يجعل امنهج إحصاء االأحياء االعضوية االجرثومية اللحليب ا المخمر إجباريا. (ج ار عدد ا32 - 2004)	06
4. قرار امؤرخ افي ا 24 امايو اسنة ا 2004، يجعل امنهج إحصاء االكوليفورم افي االحليب االمخمر إجباريا. (ج ار اعدد ا43 - 2004)	09
5. قرار امؤرخ افي 24 امايو اسنة ا 2004، ايجعل امنهج االبحث اعن استافيلوكوك اذات االكواقولاس ا الإيجابي افي امسحوق االحليب إجباريا. (ج ار اعدد ا43 - 2004)	11
6. قرار امؤرخ افي ا 24 امايو اسنة ا 2004، يجعل امنهج إحصاء االأحياء االعضوية االمجهرية االمميزة ا بتقنية احساب االمستعمرات افي ادرجة ا37 °م افي االياهورت إجباريا. (ج ار اعدد ا43 - 2004)	14
7. قرار امؤرخ افي ا 11 اسبتمبر اسنة ا 2004، يجعل امنهج اتحضير االعينات اللتجربة و االتخفيفات ابغرض ا الفحص االميكروبيولوجي إجباريا. (ج ار اعدد ا70 - 2004)	21
8. قرار امؤرخ افي ا 11 اسبتمبر اسنة ا 2004، يجعل امنهج االمراقبة االميكروبيولوجية اللحليب االمبسترا إجباريا. (ج ار اعدد ا70 - 2004)	27
9. قرار امؤرخ افي ا 11 اسبتمبر اسنة ا 2004، يجعل امنهج إحصاء االكوليفورم افي االقشدة االمثلجة ا و االمثلجات ابالحليب إجباريا. (ج ار اعدد ا70 - 2004)	32
10. قرار امؤرخ افي ا 23 اينار اسنة ا 2005، يجعل امنهج البحث اعن االسالمونيلا افي االحليب ا و منتجات االحليب إجباريا. (ج ار اعدد ا42 - 2005)	37
11. قرار امؤرخ افي ا 23 اينار اسنة ا 2005، يجعل ا امنهج التحليل االميكروبيولوجي اللزبدة إجباريا. (ج ار اعدد ا42 – 2005)	50
12. قرار امؤرخ افي ا 23 اينار اسنة ا 2005، يجعل ا امنهج اقتطاع العينات او االتحليل البكتيريولوجي ا للمثلجات او االقشدة المثلجة إجباريا. (ج ار اعدد ا42 – 2005)	56
13. قرار امؤرخ افي ا 25 اسبتمبر اسنة ا 2005، يجعل منهج االبحث اعن اليستيريا ا مونوسيتوجيناس افي ا الحليب او امنتجات االحليب إجباريا. (ج ار اعدد ا03 – 2006)	63

المناهج الفيزيوكيميائية	
14.قرار مؤرخ في 16 غشت سنة 2012، يجعل منهج تحديد نسبة المادة الجافة في الحليب و القشدة و الحليب المركز غير المسكر إجباريا.(ج ر عدد 54 – 2013)	75
15.قرار مؤرخ في 8 ديسمبر سنة 2013، يجعل منهج تحديد النسبة الكلية للمادة الجافة للأجبان و الأجبان الطرية إجباريا.(ج ر عدد 25 – 2014).	78
16.قرار مؤرخ في 27 غشت سنة 2013، يجعل منهج تحديد النسبة الأزوت البروتيني في الحليب إجباريا.(ج ر عدد 38 – 2014).	82
17.قرار مؤرخ في 17 ديسمبر سنة 2013، يجعل منهج تحديد نسبة المادة الدسمة في الجبن إجباريا.(ج ر عدد 67 – 2014).	85
18.قرار مؤرخ في 4 غشت سنة 2013، يجعل منهج تحديد نسبة المادة الدسمة في الحليب إجباريا.(ج ر عدد 74 – 2014).	90
19.قرار مؤرخ في 27 غشت سنة 2013، يجعل منهج تحديد نسبة الأزوت في الحليب إجباريا. (ج ر عدد 67 – 2014).	100
20.قرار مؤرخ في 18 أكتوبر سنة 2015، يجعل منهج تحضير العينة قصد التحليل الفيزيائي و الكيميائي للحليب إجباريا. (ج ر عدد 58 – 2015).	108
21.قرار مؤرخ في 18 أكتوبر سنة 2015، يجعل منهج تحديد الحموضة المعايرة في الحليب إجباريا. (ج ر عدد 58 – 2015).	110

قرارات، مقرّرات، آراء

وزارة التّجارة

قرار مؤرخ في 5 صفر عام 1425 الموافق 27 مارس سنة 2004، يجعل منهج إحصاء مجموع الجراثيم في 30 °م في مسحوق الحليب ومصل الحليب إجباريا.

إن وزير التجارة،

– بمقتضى المرسوم الرّئاسي رقم 03 – 215 المؤرّخ في 7 ربيع الأوّل عام 1424 الموافق 9 مايو سنة 2003 والمتضمّن تعيين أعضاء الحكومة، المعدّل،

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

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

– وبمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرخ في 29 صفر عام 1414 الموافق 18 غشت سنة 1993 والمتعلق بمواصفات بعض أنواع الحليب المعد للاستهلاك وعرضه،

– وبمقتضى القرار المؤرخ في 14 صفر عام 1415 الموافق 23 يوليو سنة 1994 المعدل والمتمم بالقرار الوزاري المشترك المؤرخ في 25 رمضان عام 1418 الموافق 24 يناير سنة 1998 والمتعلق بالمواصفات الميكروبيولوجية لبعض المواد الغذائية.

يقرر ما يأتي :

المادّة الأولى : تطبيقا لأحكام المادة 19 من المرسوم التنفيذي رقم 90 – 39 المؤرخ في 30 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990، المعدل والمتمم والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج إحصاء مجموع الجراثيم في 30 °م في مسحوق الحليب ومصل الحليب إجباريا.

المادّة 2 : يجب على مخابر الجودة وقمع الغش والمخابر المعتمدة لهذا الغرض من أجل إحصاء مجموع الجراثيم في 30 °م في مسحوق الحليب ومصل الحليب استعمال منهج التحليل الميكروبيولوجي المبين في الملحق.

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

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

حرر بالجزائر في 5 صفر عام 1425 الموافق 27 مارس سنة 2004.

نور الدين بوكروح

الملحق

منهج إحصاء مجموع الجراثيم في 30 °م في مسحوق الحليب ومصل الحليب.

1 – التعريف :

يقصد بـ "مجموع الجراثيم" الجراثيم الممكن عدها بهذه الطريقة. ويعبّر عن النتيجة الناجمة عن هذا بالعدّ الكلي للجراثيم في غرام واحد من مسحوق الحليب.

2 – المبدأ :

تجرى سلسلة من التخفيفات لعينة أعيد تكوينها تحت 47 ° ± 2 ° لتخلط مع وسط معين داخل علب بيتري. بعد التجفيف تحت 30 °م لمدة 72 ساعة، تحصى المستعمرات.

3 – التجهيزات والأدوات الزجاجية :

3-1 التجهيزات :

3–1–1 جهاز المعقم تصل درجته إلى 120 °م.

3–1–2 فرن ذوالتهوية الحارة تصل درجته إلى 170 °م.

3–1–3 مجفف بكتريولوجي معدل في درجه حرارة منتظمة قدرها 30+1 °م.

3–1–4 جهاز لقياس المعامل الهيدروجيني مجهز بمعدل حراري.

3–1–5 عدسة ذات تكبير (2,5).

3–1–6 جهاز التعداد – الضوئي.

3–1–7 جهاز عداد مسجل.

3–1–8 حمام مائي في 47+2 °م.

3–1–9 ميزان.

3 - 2 الأدوات الزجاجية :

يجب تعقيم جميع الأدوات الزجاجية.

3–2–1 وعاء زجاجي لوزن مسحوق الحليب.

3–2–2 قارورات التخفيف ذات سداد أو خرسان مناسب تبلغ سعتها من 150 إلى 200 مل.

3–2–3 قارورات كبيرة الحجم (1000 مل أو أكثر) لتحضير وسط الزرع.

3–2–4 أنابيب اختبار 15/151 مم مخصصة لاحتواء وسط الزرع.

3–2–5 ماصات مدرجة (1 و10 مل).

3–2–6 علب بيتري زجاجية شفافة وغير ملونة، يبلغ قطرها الداخلي حوالي 90 مم وارتفاعها من 15 إلى 20 مم يجب أن يبلغ العمق الداخلي 12 مم على الأقل. يجب أن يكون قعر هذه العلبة مسطحا ومنتظما وغير محدب وأن لا تكون غير مستوية أو منتفخة وأن تكون الأغطية مناسبة مع العلبة.

يمكن استعمال علب بيتري من البلاستيك وكذا ماصات معقمة مسبقا موجهة للاستعمال مرة واحدة فقط.

3 - 2 - 7 كريات زجاجية (أنظر 4.1.2.6)

3 - 3 أدوات مختلفة :

3–3–1 أقماع الترشيح لتحضير الأوساط.

3–3–2 أوراق سريعة الترشح للأقماع (1.3.3).

3–3–3 قطن غير مصاص وغير سام بعد التعقيم.

3–3–4 الكواشف لتعديل العامل الهيدروجيني pH

3–3–4–1 NaOH حوالي 1 نظامي 1 N

3–3–4–2 HC1 حوالي 1 نظامي 1 N

4 - أوساط الزرع

4 -1- التركيب

مستخلص الخميرة 2,5غ
تريبتون 5,0غ
سكر العنب 1,0غ
حليب منزوع الزبدة مسحوق 1,0غ
جيلوز ..... من 10 إلى 15غ
حسب الخصائص الهلامية للجيلوز المستعمل.
ماء مقطر 1000ملل
(في جهاز للتقطير من الزجاج)
العامل الهيدروجيني pH 6.9 ± 0. 1

يجب أن يكون مستخلص الخميرة والتريبتون وسكر العنب والحليب المسحوق المنزوع الزبدة والجيلوز من النوعية البكتريولوجية. لايحتوي الحليب المسحوق المنزوع الزبدة على مواد كابتة.

4 - 2 التحضير

4–2–1 التحضير انطلاقا من أوساط المساحيق.

4–2–1–1 احترام توصيات المنتج مع إضافة الحليب المسحوق المنزوع الزبدة (4.1).

4–2–1–2 تعديل المعامل الهيدروجيني pH إلى 7,1-7,0 إذا اقتضى الأمر باستعمال NaOH (1N) أوHCL (1N).

4–2–2 التحضير انطلاقا من توابل مختلفة.

4–2–2–1 تذويب على التوالي مستخلص الخميرة، والتريبتون وسكر العنب ومسحوق الحليب المنزوع الزبدة في الماء، ونسخن إذا اقتضى الأمر.

4–2–2–2 نضيف الجيلوز المغلية والمذابة أو المسخنة إلى البخار لمدة حوالي 30 دقيقة.

4–2–3 الترشيح على ورق الترشيح.

4–2–4 تعديل المعامل الوسط pH إلى 7,1-7,0 باستعمال NaOH (1N) أو1HCI نظامي.

4–2–3 توزيع في أنابيب الاختبار بكميات تقدر من 10 إلى 12 مل.

4–2–4 تعقيم لمدة 15 دقيقة داخل جهاز التعقيم تحت 120°م.

4–2–5 يراجع المعامل الهيدروجيني للوسط pH تحت 45°م (يقدر pH بـ 6,9 ± 0,1).

4–2–6 يحفظ الوسط في مكان مظلم في درجة حرارة لا تتعدى 5°م. مع تجنب حدوث التبخر.

5 -المخفف

يجب أن تكون جميع المواد النوعية التدقيقية.

5 -1- محلول رينجر غير مخفف.

التركيب :

كلور الصديوم..... 9,00غ

كلور البوتاسيوم..... 0,42غ

$CaCl_2$ الجاف 0,24غ

$NaHCO_3$ 0,20غ

ماء مقطر 1000ملل

(في جهاز التقطير من الزجاج)

– يمكن استعمال مركز من السترات (بمقدار15غ من سترات ثلاثي الصوديوم الجاف مع 1000مل).

بالنسبة للمساحيق ضعيفة الذوبان.

– كما يمكن إستعمال محلول بيبتون 0,1 % عوض من محلول رينجر المخفف عند الربع.

5 - 2 التحضير:

5–2–1 تحضير محلول رينجر غير المخفف بإذابة الأملاح (5.1) في الماء وقبل الاستعمال، تخفف كمية من هذا المحلول مع ثلاث كميات من الماء المقطر في جهاز للتقطير من الزجاج للحصول على محلول رينجر مخفف عند الربع.

5–2–2 توزيع المحلول المخفف بطريقة تسمح بالحصول بعد التعقيم على كميات تقدّر بـ 90 ± 2 ملل في قارورات التخفيف.

يمكن تحضير المخفف انطلاقا من علب جاهزة للإستعمال.

5–2–3 نعقم في جهاز التعقيم لمدة 15 دقيقة تحت 120°م.

6 - المنهج :

6 - 1 تحضير الأدوات الزجاجية

6–1–1 تنظف كل الأدوات الزجاجية بعناية قبل استعمالها.

6–1–2 يجب سد أنابيب الاختبار والماصات والقارورات بالقطن قبل تعقيمها وبالنسبة للتعقيم يمكن أيضا حفظ الماصات في ورق من الألمينيوم أو في أي آلة أخرى دائمة.

6–1–3 من الأفضل تعقيم الماصات وعلب بيتري في فرن ذي هواء ساخن لمدة ساعة واحدة في درجة حرارة تتراوح بين 165 و170°م. كما يمكن تعقيم هذه الأدوات في جهاز التعقيم تحت 120°م.

في الحالة الأخيرة، يجب عدم سد الأوعية التي يتم فيها تعقيم هذه الأدوات.

تجفف الأدوات الزجاجية التي تم تعقيمها بهذه الصفة في جهاز التعقيم أو فرن ذي هواء ساخن.

6 - 2 تحضير التخفيفات

6–2–1 تحضير التخفيف عند 1/10 (إعادة تكوين المسحوق).

6–2–1–1 تسخين قارورة تحتوي على 90 مل من المخفف تحت 47 ± 2° م داخل حمام مائي.

6–2–1–2 وزن بطريقة نظيفة 10 غرامات من مسحوق الحليب في وعاء زجاجي معقم.

6–2–1–3 يسكب المسحوق في قارورة التخفيف تحتوي على مخفف تحت 47 ± 2° م.

6–2–1–4 لإذابة المسحوق، يبلل ثم تقلب وتمزج القارورة ببطء لمدة 10 ثواني حوالي 25 مرة باهتزاز يساوي حوالي 30 سم.

يمكن للكريات الزجاجية المساهمة في إعادة التكوين.

وفي حالة استعمالها، نضيفها في القارورة قبل التعقيم.

6–2–1–5 إعادة القارورة في الحمام المائي لمدة 5 دقائق مع رج المحتوى من حين إلى آخر.

6–2–1–6 نرج مرة واحدة ثم نقوم بعملية العد.

يكون الحجم النهائي للحليب المعاد تكوينه حوالي 97.5 ملل ليس 100 ملل ولكن يمكن إهمال هذا الفرق.

6–2–2 تحضير التخفيفات عند 1/100 وأكثر.

6–2–2–1 ننقل بواسطة ماصة معقمة 10 ملل من الحليب المعاد تكوينه في 90 ملل من المخفف المعقم مع الحرص على عدم تجاوز طرف الماصة 1 سم من تحت السطح. وعليه نتحصل على تخفيف عند 1/100.

6–2–2–2 الخلط بالرج 25 مرة باهتزاز يساوي حوالي 50 سم.

6–2–2–3 يمكن مواصلة التخفيفات العشرية باستعمال ماصة جديدة في كل مرة للانتقال من تخفيف إلى آخر كما هو مبين في النقطة 1.2.2.6.

6 - 3 زرع علب بيتري.

6–3–1 تحضير علبتين على الأقل انطلاقا من كل تخفيف ثم اختياره بطريقة تسمح بالحصول على علبتين على الأقل تحتوي على 20 إلى 300 مستعمرة.

يكفي عادة اختيار تخفيفين من بين التخفيفات عند 1/10 أو عند 1/100 أو عند 1/1000، ولكن إذا أردنا قياس مرتفع، نجري تخفيفات أخرى.

6–3–2 استعمال ماصة جديدة معقمة ذات 1 ملل لزرع 1 ملل من كل تخفيف في علب بيتري.

6 - 4 توزيع الهلام في علب بيتري.

6–4–1 يلغى الوسط ويبرد بأقصى سرعة ممكنة تحت درجة حرارة من 45 إلى 47°م.

6–4–2 تفريغ في كل علبة من 10 إلى 12 ملل من الوسط المذاب وتبريده تحت درجة حرارة من 45 إلى 47°م.

6–4–3 مباشرة بعد تفريغ الوسط، يخلط الوسط خمس مرات ذهابا وإيابا متبوعة بخمس حركات دائرية في اتجاه عقرب الساعة ثم بخمس حركات ذهابا وإيابا عموديا وأخيرا متبوعة بخمس حركات دائرية عكس اتجاه عقارب الساعة.

6–4–4 نترك العلب ترتاح إلى غاية تجمد الوسط تم نقلبها ونضعها في المجفف.

يجب أن لا نتجاوز الوقت بين تحضير التخفيفات وتوزيع الهلام في العلب 15 دقيقة.

يجب تنفيذ العمليات المبيّنة في النقاط 2.6 و3.6 و4.6 بعيدا عن الضوء.

6 - 5 تجفيف علب بيتري.

توضع العلب داخل حاضنة في 30 ± 1° م لمدة 72 ± 2 ساعة بتوجيه قعر هذه العلب نحو الأعلى ومن الأفضل أن لا يتجاوز ترتيبها الأربع علب (ستة علب على الأكثر).

لا تلتصق العلب ببعضها البعض وأن لا تكون ملتصقة مع جوانب أو الجهة العليا للمجفف.

6 - 6 تعداد المستعمرات.

6–6–1 تعد المستعمرات في الأربع ساعات الأولى الموالية للتجفيف وهذا لتسهيل التعداد ينصح باستعمال جهاز التعداد الضوئي المجهز بعدسة مكبرة وعداد – مسجل.

6–6–2 من أجل التعبير على النتائج لاتؤخذ بعين الاعتبار إلا العلب التي تحتوي على نمو من 20 إلى 300 مستعمرة.

6–6–3 يحسب المعدل الجبري انطلاقا من الأرقام المتحصل عليها في العلب المزروعة بنفس التخفيف.

6–6–4 إذا كانت العلب متوافقة مع عدد التخفيفات، تعطي نتائج محصورة في مجال محدد لايؤخذ بعين الاعتبار إلا المعدل.

6–6–5 إذا كان العد يتجاوز 300 مستعمرة بقليل وإذا كان التخفيف الموالي يقل بـ 20 مستعمرة، يؤخذ بالمعدل.

6–6–6 إذا كان الفارق مهم يعاد الاختبار.

6–6–7 إذا كان ربع مساحة العلبة مجتاحة بمستعمرات يشترط إبعادها.

7 - التعبير عن النتائج

7–1 عدد الجراثيم في واحد غرام = عدد المستعمرات المحددة حسب الطريقة المشار إليها في 6–6 نضرب في مقلوب التخفيف، ولا يؤخذ بعين الاعتبار إلا الرقمين المدلول بهما.

7–2 إذا كان العدد ذي ثلاثة أرقام، يقرّب إلى الصفر إذا كان الرقم الثالث هو العدد 5، يقرب بالنقصان، إذا كان العددين الأولين هما أعداد زوجية ويقرب بالزيادة إذا كان العددين الأوليّين هما أعداد فردية، مثال:

236	240
234	230
235	240
225	220
245	240

7–3 إذا كانت العلب الموافقة مع التخفيف الضعيف تحتوي على أقل من 20 مستعمرة، يعتبر عدد الجراثيم أقل من 20 مرة من مقلوب التخفيف.

إذا كانت العلب الموافقة مع التخفيف المرتفع تحتوي على أكثر من 300 مستعمرة، يعتبر عدد الجراثيم أكبر من 300 مرة من مقلوب التخفيف.

8 - التكرار.

الفارق بين نتائج العد المضاعف الإنجاز (نتيجة متحصل عليها مباشرة أو بسرعة الواحدة تلو الأخرى من طرف نفس العامل) لا يمكن أن يفوق 30% من النتيجة الدنيا.

قرار مؤرخ في 5 صفر عام 1425 الموافق 27 مارس سنة 2004، يجعل منهج المراقبة الميكروبيولوجية للحليب المعقّم إجباريا.

إن وزير التجارة،

– بمقتضى المرسوم الرّئاسي رقم 03 – 215 المؤرّخ في 7 ربيع الأوّل عام 1424 الموافق 9 مايو سنة 2003 والمتضمّن تعيين أعضاء الحكومة، المعدّل،

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

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

– وبمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرخ في 29 صفر عام 1414 الموافق 18 غشت سنة 1993 والمتعلق بمواصفات بعض أنواع الحليب المعد للاستهلاك وعرضه،

– وبمقتضى القرار المؤرخ في 14 صفر عام 1415 الموافق 23 يوليو سنة 1994 المعدل والمتمم بالقرار الوزاري المشترك المؤرخ في 25 رمضان عام 1418 الموافق 24 يناير سنة 1998 والمتعلق بالمواصفات الميكروبيولوجية لبعض المواد الغذائية.

يقرر ما يأتي :

المادّة الأولى : تطبيقا لأحكام المادة 19 من المرسوم التنفيذي رقم 90 – 39 المؤرخ في 30 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990، المعدل والمتمم والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج المراقبة الميكروبيولوجية للحليب المعقّم إجباريا.

المادّة 2 : يجب على مخابر مراقبة الجودة وقمع الغش والمخابر المعتمدة لهذا الغرض من أجل المراقبة الميكروبيولوجية للحليب المعقم استعمال منهج التحليل الميكروبيولوجي المبين في الملحق.

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

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

حرر بالجزائر في 5 صفر عام 1425 الموافق 27 مارس سنة 2004.

نور الدين بوكروح

الملحق

منهج المراقبة الميكروبيولوجية للحليب المعقّم

1 – الهدف :

يطبّق هذا المنهج على جميع أنواع الحليب المعقّم، السائل الكامل، منزوع الزبدة جزئيا أو كليا والموجه للاستهلاك كما هو عليه (تستثني هذه الأحكام الحليب المركّز، المسكّر وكذلك الحليب المعطّر).

2 – المعايرات وتحضير العيّنات :

1-2 المعايرات :

يجب أن تعتمد المعايرات (عدد العيّنات والتواتر) على مبادئ علم الإحصاء.

لكل معايرة، نقتطع ثلاثة (3) أوعية لكل عينة باستثناء المناطق ذات المناخ المعتدل حيث يكفي اقتطاع وعائين لكل عينة.

2-2 تحضير العيّنات :

– يجب أن تكون الأوعية نظيفة وجافة قبل فتحها وتحضينها، يخلط محتوى الوعاء جيدا قبل فتحه (بتلقبات متكررة).

– يشترط أن تكون جميع الأدوات المستعملة في اقتطاع أقسام الحليب في الأوعية، نظيفة ومعقمة. يجب اتخاذ كل الاحتياطات العادية للمخبر لتفادي تلوث العينات.

3– المراقبة المتخذة قبل التجفيف (على عينة أو وعاء واحد على الأقل) :

1-3 اختبار الاستقرار للإيتانول :

يمزج حجم لمحلول لزج للإيتانول بنسبة 68 ٪ (ح/ح) مع حجم واحد من الحليب، إذا لم يتشكل راسب، فإن الحليب مرضي لاختبار الاستقرار للإيتانول ثم نجري الاختبارات أدناه.

2-3 الحموضة المقاسة المعبر عنها بمقدار غرام من حمض اللّبن في 100 ملل من الحليب المعقم.

3-3 الفحص المجهري المباشر.

4-3 التحليل العضوي الحواسي (organoleptique)، وجود أو غياب راسب، حبيبات، رائحة أو ذوق غير عادي.

4- التجفيف (إذا كان الحليب مرضي لاختبار الاستقرار للإيتانول) :

1-4 تجفيف أحد الأوعية غير المفتوحة أو إحدى العينات تحت درجة 30 ± 1° م لمدة 14 يوما.

2-4 تجفيف الأوعية غير المفتوحة أو العيّنة الباقية تحت درجة 55 ± 1° م لمدة 7 أيام.

في المناطق ذات المناخ المعتدل، يمكن الاستغناء عن التجفيف تحت درجة 55 ± 1° م.

5- المراقبة المتخذة بعد التجفيف :

1-5 اختبار الاستقرار للإيتانول :

يمزج حجم محلول لزج للإيتانول بنسبة 68 ٪ (ح/ح) مع حجم واحد من الحليب، إذا كان الحليب مرضي لاختبار الاستقرار للإيتانول، نجري الاختبارات التالية :

2-5 الحموضة المقاسة المعبّر عنها بمقدار غرام من حمض اللّبن في 100 ملل من الحليب.

3-5 إحصاء عدد المستعمرات، يجب أن يكون إينوكولوم (inoculum) يساوي 0,1 ملل من الحليب.

4-5 التحليل العضوي الحواسي : وجود أو غياب راسب، حبيبات، رائحة أو ذوق غير عادي.

6- الشروط المفروضة من أجل اعتبار العيّنة مرضية :

1-6 قبل التجفيف :

يجب أن تكون العيّنة مرضية لاختبار الإيتانول (1-3).

2-6 بعد التجفيف :

1-2-6 يجب أن تكون العينة مرضية لاختبار الاستقرار للإيتانول (1-5).

2-2-6 يجب أن لا يكون الفرق بين الحموضة المقاسة قبل وبعد التجفيف أكبر من 0,02 المعبر عنها بمقدار غرام من حمض اللّبن في 100ملل من الحليب.

3-2-6 يجب أن لا يتجاوز عدد الجراثيم 10 في الوسط إينوكولوم (inoculum) (5-3).

4-2-6 يجب أن لا تختلف رائحة وذوق العيّنة مع الرائحة والذوق العاديين لحليب معقّم مجفف لفترة زمنية طويلة.

5-2-6 يجب أن يكون المظهر الطبيعي عاديا وأن لايكون هناك أي أثر للتخثر أو تحليل الهيلونات (protéolyse) وأن يكون مطابق لحليب معقّم مجفف لمدة طويلة.

7- تقييم نوعية الحصة :

1-7 تعتمد هذه العملية في تفسير النتائج المستخلصة من العيّنة على طرق إحصائية.

★

قرار مؤرخ في 5 صفر عام 1425 الموافق 27 مارس سنة 2004، يجعل منهج إحصاء الأحياء العضوية الجرثومية للحليب المخمر إجباريا.

إن وزير التجارة،

– بمقتضى المرسوم الرّئاسي رقم 03 – 215 المؤرّخ في 7 ربيع الأوّل عام 1424 الموافق 9 مايو سنة 2003 والمتضمّن تعيين أعضاء الحكومة، المعدّل،

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

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

– وبمقتضى القرار المؤرخ في 29 صفر عام 1414 الموافق 18 غشت سنة 1993 والمتعلق بمواصفات بعض أنواع الحليب المعد للاستهلاك وعرضه،

– وبمقتضى القرار المؤرخ في 14 صفر عام 1415 الموافق 23 يوليو سنة 1994 المعدل والمتمم بالقرار الوزاري المشترك المؤرخ في 25 رمضان عام 1418 الموافق 24 يناير سنة 1998 والمتعلق بالمواصفات الميكروبيولوجية لبعض المواد الغذائية.

يقرر ما يأتي :

المادّة الأولى : تطبيقا لأحكام المادة 19 من المرسوم التنفيذي رقم 90 – 39 المؤرخ في 30 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990، المعدل والمتمم والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج إحصاء الأحياء العضوية الجرثومية للحليب المخمر إجباريا.

المادّة 2 : يجب على مخابر مراقبة الجودة وقمع الغش والمخابر المعتمدة لهذا الغرض من أجل إحصاء الأحياء العضوية الجرثومية للحليب المخمر، استعمال منهج التحليل الميكروبيولوجي المبيّن في الملحق.

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

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

حرر بالجزائر في 5 صفر عام 1425 الموافق 27 مارس سنة 2004.

نور الدين بوكروح

الملحق

منهج إحصاء الأحياء العضوية الجرثومية للحليب المخمر

1 – التعريف :

نفهم من "الأجسام الملوثة" كل الأحياء الدقيقة غير تلك المسؤولة عن التخمر الخاص بصنف الحليب المخمر.

الخمائر التابعة إلى جملة أجناس البكتيريا الخاصة بنكهة بعض أصناف الحليب المخمّر، لا تعتبر من الأجسام الملوثة.

2 – المبدأ :

تزرع عينة من الحليب المخمّر في وسط جرد من السكريات، تجفف على مرحلتين، تحصى بعد ذلك الأجسام الملوثة.

3– التجهيزات والأدوات الزجاجية :

الأدوات العادية للمخبر.

4– وسط الزرع :

يتركب وسط الزرع من :

جيليزات (*) أو ما يعادلها.....7,5 غ

تريبتكاز (*) أو ما يعادلها.....7,5 غ

كلورير الصوديوم NaCL.....5,0 غ

جيلوز (*) .....4,0 غ

ماء مقطر.....1.000 ملل

العامل الهيدروجيني Ph للوسط بعد التعقيم...7,6 ± 0,1 (*) خالي من السكريات.

5– المخفف :

محلول رينجر مخفف عند الربع.

تركيبة المحلول المركز لرينجر هي كالآتي :

كلورير الصوديوم (NaCL).....9,00 غ

كلورير البوتاسيوم (KCL).....0,42 غ

كلورير الكالسيوم مجفف ($CaCL_2$).....0,24 غ

بيكربونات الصوديوم (NaHCO3).....0,20 غ

ماء مقطر(في جهاز زجاجي).....1.000 ملل

من أجل الاستعمال، نضيف كمية من المحلول السابق لثلاث كميات من الماء المقطر (في جهاز زجاجي).

– يمكن أيضا استعمال محلول بيبتون عند 0,1 ٪ عوض من محلول رينجر المخفف عند الربع.

– كما نستطيع تحضير المخفف انطلاقا من أطباق جاهزة للاستعمال.

– يجب أن تكون جميع الكواشف ذات نوعية تحليلية.

6– طريقة الإنجاز :

1-6 تحضير التخفيفات :

1-1-6 تحفظ العيّنة في الثلاجة (3° إلى 4° م) إلى غاية القيام بالتحليل الميكروبيولوجي المقرر في 24 ساعة كحد أقصى بعد الاقتطاع.

2-1-6 اقتطاع عيّنة ذات 10 غ من الحليب المخمر، مع الإحاطة بالنظافة العادية، لتسكب داخل إناء أو وعاء مناسب يقفل بخرسان أو سداد يحتوي على 90 ملل من محلول رينجر المخفف عند الربع وبعض الكريات الزجاجية.

– الخلط بعناية ورج الوعاء 25 مرة من الأعلى إلى الأسفل باهتزاز يساوي حوالي 30 سم.

– يستخدم السائل للعد : 1 ملل يناسب 100 مغ من الحليب المخمّر.

3-1-6 للحصول على التخفيف عند 100/1 ينقل بوقاية تامة 1 ملل من السائل (6-1-2) في 9 ملل من محلول رينجر المخفف عند الربع مع الخلط للتجانس تحضر عند الاقتضاء سلسلة من التخفيفات عند 1.000/1 انطلاقا من التخفيف عند 100/1.

2-6 التجفيف :

نقوم بتجفيف علب بيتري :

– بداية لمدة 48 ± 2 ساعة تحت 30° ± 1° م.

– ثم لمدة 48 ± 2 ساعة تحت 20° ± 1° م.

7– بيان النتائج :

تبيّن نتائج العد بعدد الأجسام الدقيقة في واحد غرام من الحليب المخمّر بمعنى عدد المستعمرات × مقلوب التخفيف.

في بعض الحالات، يتولد عن البكتيريات اللبنية "نقاط من المستعمرات" لا يمكن حسابها كأجسام ملوثة. في حالة الشك نجري اختبار كاطالاز على عدد معين من المستعمرات.

★

وزارة التّجارة

قرار مؤرخ في 4 ربيع الثاني عام 1425 الموافق 24 مايو سنة 2004، يجعل منهج إحصاء الكوليفورم في الحليب المخمر إجباريا.

إن وزير التجارة،

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

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

– وبمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرخ في 29 صفر عام 1414 الموافق 18 غشت سنة 1993 والمتعلق بمواصفات بعض أنواع الحليب المعد للاستهلاك وعرضه،

– وبمقتضى القرار المؤرخ في 14 صفر عام 1415 الموافق 23 يوليو سنة 1994 والمتعلق بالمواصفات الميكروبيولوجية لبعض المواد الغذائية، المعدل والمتمم،

يقرّر ما يأتي :

المادّة الأولى : تطبيقا لأحكام المادة 19 من المرسوم التنفيذي رقم 90 – 39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990، المعدل والمتمم والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج إحصاء الكوليفورم في الحليب المخمر إجباريا.

المادّة 2 : من أجل إحصاء الكوليفورم في الحليب المخمر، فإن مخابر رقابة الجودة وقمع الغش وتلك المعتمدة لهذا الغرض ملزمة باستعمال منهج التحليل الميكروبيولوجي المبين في الملحق.

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

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

حرر بالجزائر في 4 ربيع الثاني عام 1425 الموافق 24 مايو سنة 2004.

نور الدين بوكروح

الملحق

منهج إحصاء الكوليفورم في الحليب المخمر.

1. التعريف :

تستعمل تسمية بكتيريا "الكوليفورم" حسب هذا المنهج، على البكتيريات ذات الشكل العصوي، جرام سلبي (–)، هوائية ولا هوائية، اختيارية غير مبوغة، المخمرة للاكتوز مع تشكل الغاز والحمض.

2. المبدأ :

تزرع ثلاث سلسلات من التخفيفات المتوازية متحصل عليها انطلاقا من عينة الحليب المخمر في وسط مميز (الحويصل الصفراوي للبقرة الأخضر اللامع ولاكتوز) في أنابيب اختبار تحتوي على أنبوبات صغيرة دورهام (Durham). تجفف الأنابيب لمدة 48 ساعة في درجة 37 مْ. انطلاقا من الأنابيب الإيجابية (تشكل الغازات في أنابيب دورهام) (Durham)، نستخرج العدد الأكثر احتمالا لبكتيريات الكوليفورم في واحد غرام من الحليب المخمر بالاستناد على جدول العدد الأكثر احتمالا لثلاث سلسلات متوازية.

3. التجهيزات والأدوات الزجاجية :

الأدوات العادية للمخبر

4. وسط الزرع

1.4. التركيب

يتركب الوسط "الحويصل الصفراوي للبقرة، الأخضر اللامع ولاكتوز" مما يلي :

بيبتون أو جيليزات..... 10غ

لاكتوز..... 10غ

الحويصل الصفراوي للبقرة المجفف..... 20غ

أخضر لامع..... 0,0133غ

ماء مقطر (في جهاز من الزجاج)..... 1000ملل

2.4. التحضير

لتحضير 1000 ملل من الوسط، يذوب بيبتون ولاكتوز في حوالي 500 ملل من الماء المقطر.

تذوب 20 غ من الحويصل الصفراوي للبقرة المجفف، في 200 ملل من الماء المقطر.

يضبط العامل الهيدروجيني لهذا المحلول بين 7,0 و 7,5 يمزج المحلولان معا و يعدل العامل الهيدروجيني المقاس بواسطة قطب زجاجي إلى 7,4، نضيف 13,3 ملل من محلول لزج لـ 0,1٪ من الأخضر اللامع، يتمم الحجم إلى مقدار 1000 ملل بإضافة الماء المقطر.

يفرغ 10 ملل من الوسط في أنابيب الاختبار.

تكون هذه الأنابيب مجهزة بأنبوبات صغيرة دورهام.

بعد الملأ، تعقم هذه الأنابيب لمدة 15 دقيقة في جهاز التعقيم يعدل في درجة 121ْ م بعد التعقيم، يضبط العامل الهيدروجيني بواسطة قطب زجاجي إلى 7,2 ± 0,1.

5. المخفف

محلول رينجر المخفف عند الربع.

يتركب محلول رينجر المركز من :

كلورور الصوديوم..... 9,00 غ

كلورور البوتاسيوم..... 0,42 غ

كلورور الكالسيوم الجاف ..... 0,24 غ

بكربونات الصوديوم..... 0,20 غ

ماء مقطر (في جهاز زجاجي) ..... 1000 ملل

للاستعمال، تضاف كمية من المحلول السابق إلى ثلاث كميات من الماء المقطر في جهاز زجاجي.

يعقم المحلول المخفف عن طريق التسخين لمدة 15 دقيقة في درجة 121ْ م.

– يمكن استعمال محلول بيبتون بنسبة 0,1٪ عوض من محلول رينجر المخفف عند الربع.

– يجب أن تكون جميع الكواشف من النوعية التدقيقية.

6. طريقة العمل :

1.6. تحضير التخفيفات

1.1.6 تحفظ العينة في الثلاجة (3 إلى 4ْم) إلى غاية التحليل البكتيريولوجي في أجل لا يتعدى 24 ساعة بعد الاقتطاع.

2.1.6 اقتطاع عينة لـ 10غ من الحليب المخمر مع الإحاطة بالحذر الوقائي، توضع في قارورة أو وعاء مناسب مقفل بصمام أو سدادة يحتوي على 90 ملل من محلول رينجر المخفف عند الربع وبعض كريات من الزجاج.

الخلط بعناية برج القارورة 25 مرة من الأعلى إلى الأسفل باهتزاز يساوي حوالي 30 سم.

يستخدم السائل للعد : 1 ملل يساوي 100 ملغ من الحليب المخمر.

3.1.6 من أجل الحصول على التخفيف عند 1/100، ننقل بعناية 1 ملل من السائل (2.1.6) لـ 9 ملل من المحلول رينجر المخفف عند الربع مع الخلط. تحضير، إذا اقتضى الأمر سلسلة من التخفيفات عند 1/1000 انطلاقا من التخفيف عند 1/100.

2. 6 زرع الوسط

1.2.6 تزرع أنابيب تحتوي على وسط (الحويصل الصفراوي للبقرة، الأخضر اللامع ولاكتوز) بإضافة واحد غرام من الحليب المخمر مع التخفيفات المحضرة المشار إليها في 3.1.6. نمزج بعناية مع تجنب تسرب الفقاعات الهوائية في أنبوبات دورهام.

2.2.6 تزرع بالموازاة داخل ثلاثة أنابيب نفس الكمية من العينة وبنفس التخفيف، تجرى ثلاث سلسلات على الأقل، على سبيل المثال 1 غ، 0,1 غ، 0,01 غ. وعلى العموم، يمكن الإرتقاء إلى عدد عشرة تخفيفات وفق الشروط المبينة في الجدول أدناه.

3.6 التجفيف

تجفف الأنابيب المزروعة لمدة 48 ± 2 ساعة في درجة 30ْ م ± 1ْ م.

4.6 تحديد العدد الأكثر احتمالا لبكتيريات الكوليفورم

يعتبر الاختبار إيجابيا عندما يكون هناك تشكل واضح للغازات في أنبوبات دورهام. يعتبر عدد الأنابيب الإيجابية أساسيا لقراءة العدد الأكثر احتمالا (ع أ إ) لبكتيريات الكوليفورم لثلاث سلسلات متوازية وذلك حسب الجدول المبين أدناه.

العدد الأكثر احتمالا (ع أ إ) لثلاث سلسلات متوازية

مؤشر الأنابيب الإيجابية لـ			ع أ إ لـ 10 غ	مؤشر الأنابيب الإيجابية لـ			ع أ إ لـ 10 غ
10 غ	1,0 غ	0,1 غ		10 غ	1,0 غ	0,1 غ	
0	0	0	0	2	2	3	4,0
0	0	1	0,3	2	3	0	3,0
0	1	0	0,3	2	3	1	3,5
0	1	1	0,6	2	3	2	4,0
0	2	0	0,6	3	0	0	2,5
1	0	0	0,4	3	0	1	4,0
1	0	1	0,7	3	0	2	6,5
1	0	2	1,1	3	1	0	4,5
1	1	0	0,7	3	1	1	7,5
1	1	1	1,1	3	1	2	11,5
1	2	0	1,1	3	1	3	16,0
1	2	1	1,5	3	2	0	9,5
1	3	0	1,6	3	2	1	15,0
2	0	0	0,9	3	2	2	20,0
2	0	1	1,4	3	2	3	30,0
2	0	2	2,0	3	3	0	25,0
2	1	0	1,5	3	3	1	45,0
2	1	1	2,0	3	3	2	110,0
2	1	2	3,0	3	3	3	140,0
2	2	0	2,0				
2	2	1	3,0				
2	2	2	3,5				

يحدد العدد الأكثر احتمالا (ع أ إ)، عدد بكتيريات الكوليفورم الموجودة في كمية الحليب المخمر (كقاعدة عامة 1 غ، 0,1 غ أو 0,01 غ) المستعمل في زرع الأنابيب الثلاثة الأولى والتي من خلالها تم إعداد المؤشر.

يتم التعبير عن عدد بكتيريات الكوليفورم بالعدد الأكثر احتمالا (ع أ إ) لغرام من الحليب المخمر. إذا كانت جميع الأنابيب إيجابية، يجب إعادة التحليل مع استعمال تخفيفات مرتفعة على سبيل المثال (0,1 غ، 0,01 غ و0,001 غ أو أكثر)

في حالة إيجاد رقم مؤشر غير وارد في جدول العدد الأكثر احتمالا (ع أ إ)، يمكن أن نستنتج بأن هناك خطأ في طريقة العمل.

7 . التعبير عن النتائج

يعبر عن النتائج حسب العدد الأكثر احتمالا (ع أ إ)، لبكتيريات الكوليفورم لغرام من المنتوج وفق التوضيحات المدرجة في الجدول.

8. التكرار

يجب أن لا يتعدى الفارق بين نتائج التحديد التي أجريت مرتين (النتائج المتحصل عليها آنيا أو بصفة سريعة الواحدة تلوى الأخرى من طرف نفس المحلل) أكثر من 30٪ من النتيجة الدنيا.

★

قرار مؤرخ في 4 ربيع الثاني عام 1425 الموافق 24 مايو سنة 2004، يجعل منهج البحث عن ستافيلوكوك ذات الكواقولاس الإيجابي في مسحوق الحليب إجباريا.

إن وزير التجارة،

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

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

– وبمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرخ في 29 صفر عام 1414 الموافق 18 غشت سنة 1993 والمتعلق بمواصفات بعض أنواع الحليب المعد للاستهلاك وعرضه،

– وبمقتضى القرار المؤرخ في 14 صفر عام 1415 الموافق 23 يوليو سنة 1994 والمتعلق بالمواصفات الميكروبيولوجية لبعض المواد الغذائية،المعدل والمتمم،

يقرر ما يأتي :

المادّة الأولى : تطبيقا لأحكام المادة 19 من المرسوم التنفيذي رقم 90 – 39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990، المعدل والمتمم والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج البحث عن ستافيلوكوك ذات الكواقولاس الإيجابي في مسحوق الحليب إجباريا.

المادّة 2 : من أجل البحث عن ستافيلوكوك ذات الكواقولاس الإيجابي في مسحوق الحليب، فإن مخابر رقابة الجودة وقمع الغش وتلك المعتمدة لهذا الغرض ملزمة باستعمال منهج التحليل الميكروبيولوجي المبين في الملحق.

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

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

حرر بالجزائر في 4 ربيع الثاني عام 1425 الموافق 24 مايو سنة 2004.

نور الدين بوكروح

الملحق

منهج البحث عن ستافيلوكوك ذات الكواقولاس الإيجابي في مسحوق الحليب.

1. المبدأ :

ينقل الحليب المعاد تركيبه والموافق لـ 0,1 غ من المسحوق في مرق مغذي (جيوليتي، وكانتوني أو ينقل في مرق مالح يحتوي على لاكتوز وأحمر الفينول)، إذا تعلق الأمر بمسحوق مصنوع منذ أقل من 15 يوما.

بعد التجفيف، نعيد زرع عينات من هذه الأنابيب في وسط ETGPA لـ بيرد – باركر (3.3). تخضع مستعمرات ستافيلوكوك التي تنمو في وسط بيرد – باركر لاختبار الكواقولاس.

2. إعادة تركيب مسحوق الحليب وتحضير التخفيفات :

يتم إعادة تركيب مسحوق الحليب وتحضير التخفيفات وفق الشروط المناسبة.

3. تركيبة الأوساط والتوجيهات الخاصة بتحضيرها :

1.3. وسط جيوليتي وكانتوني

1.1.3 الوسط الأساسي

تريبتون ..... 10 غ
مستخلص اللحم ..... 5 غ
مستخلص الخميرة ..... 5 غ
كلورور الليتيوم ..... 5 غ
المانيتول ..... 20 غ
كلورور الصوديوم ..... 5 غ
الغليسين ..... 1,2 غ
بيروفات الصوديوم ..... 3 غ
ماء مقطر ..... 1000 ملل

تذوب هذه المواد في الماء بالتسخين والرج من أجل الحصول على ذوبان كامل.

نتركه يبرد في درجتي 50-60° م ثم يعدل العامل الهيدروجيني pH في 6,9 ± 0,1. يوزع الوسط في أنابيب 20 x 200 بمقدار 19 ملل. يعقم بواسطة جهاز التعقيم في درجة 115°م لمدة 20 دقيقة. قبل الاستعمال، نخرج الهواء بواسطة التسخين في درجة 100° م لمدة 20 دقيقة، ثم نتركه يبرد.

2.1.3 محلول تلوريت البوتاسيوم

محلول تلوريت البوتاسيوم ..... 1 غ
ماء مقطر ..... 100 مل

يذوب تلوريت البوتاسيوم في الماء. يعقم بالترشيح.

ينبغي التأكد مسبقا عن طريق اختبارات بكتيريولوجية من أن تلوريت البوتاسيوم الذي بحوزتنا يناسب هذا الاستعمال. وينبغي إيلاء عناية كبيرة لذلك في جميع الظروف كما يجب اختيار هذه المادة بناء على مصدرها والضمانات التي يقدمها.

3.1.3 إضافة إلى ذلك، يحضر هلام بنسبة 2٪ (داخل ماء مقطر) الذي يعقم في جهاز التعقيم في درجة 120° م لمدة 20 دقيقة والذي يستعمل لتكوين سدادة لاهوائية فوق الوسط السائل (أنظر 1.4).

4.1.3 طريقة الاستعمال

مباشرة قبل الاستعمال، تسخن أنابيب الوسط الأساسي (1.1.3) لمدة 20 دقيقة في درجة 100° م لإخراج الهواء. نتركها تبرد في درجة 45° م ويضاف 0,1 ملل من محلول تلوريت البوتاسيوم (2.1.3).

2.3 مرق مالح المحتوي على لاكتوز وأحمر الفينول

مستخلص لحم البقر	1,5 غ
بروتيوز – بيبتون	7,5 غ
كلورور الصوديوم	75 غ
لاكتوز	7,5 غ
أحمر الفينول	0,025 غ
ماء مقطر	1000 ملل

تذوب المواد في الماء بالتسخين والرج من أجل الحصول على ذوبان كامل. نتركه يبرد في درجة حرارة معتدلة ويعدل العامل الهيدروجيني pH في 7,4 ± 0,1. يوزع الوسط في أنابيب 18 x 180 بمقدار 9 ملل. يعقم بواسطة جهاز التعقيم في درجة 120° م لمدة 20 دقيقة.

3.3 وسط E.T.G.P.A لـ بيرد باركر

1.3.3 الوسط الأساسي

تريبتون	10 غ
مستخلص البقر	5 غ
مستخلص الخميرة	1 غ
كلورور الليتيوم	5 غ
هلام	15 إلى 20 غ
(حسب قوة تجمد الهلام المستعمل)	
ماء مقطر	1000 ملل

تذوب المواد في الماء بالتسخين والرج من أجل الحصول على ذوبان كامل. يبرد في درجتي 50-60° م ويعدل العامل الهيدروجيني في 6,8 ± 0,1.

يوزع الوسط بمقدار 90 ملل في قارورات مغلقة بسدادات بلاستيكية غير قابلة للذوبان. تعقم بواسطة جهاز التعقيم لمدة 15 دقيقة في درجة 120° م.

2.3.3 محلول الغليسين

الغليسين	20 غ
ماء مقطر	100 ملل

بعد التذويب الكامل، يعقم بواسطة جهاز التعقيم لمدة 15 دقيقة في درجة 120° م.

3.3.3 محلول تلوريت البوتاسيوم

تلوريت البوتاسيوم	1 غ
ماء مقطر	100 ملل

بعد التذويب الكامل، نعقم بالترشيح.

ينبغي التأكد مسبقا عن طريق اختبارات بكتيريولوجية من أن تلوريت البوتاسيوم الذي بحوزتنا يناسب هذا الاستعمال. وينبغي إيلاء عناية كبيرة لذلك في جميع الظروف كما يجب اختيار هذه المادة بناء على مصدرها والضمانات التي تقدمها.

4.3.3 مستحلب صفار البيض

يغمس البيض الطازج في محلول مشبع بـ $HgCl_2$ ذي تخفيف (1+1000) لمدة دقيقة واحدة.

تكسر قشرة البيض بصفة نظيفة ويفصل الصفار عن البياض. يمزج صفار البيض في محلول فيزيولوجي مالح (3+7، ح/ح) في خلاط ذي سرعة كبيرة لمدة خمس ثوان.

5.3.3. طريقة الاستعمال

يضاف بطريقة نظيفة لـ 90 ملل من الوسط الأساسي المذوب مسبقا والمثبت في درجتي 45° م ± 1° م المحاليل التالية المثبة في درجة 45° م :

أ) 6,3 ملل من محلول تيلوريت الغليسين (2.3.3)،

ب) 1 ملل من محلول تيلوريت البوتاسيوم (3.3.3)،

ج) 5 ملل من محلول مستحلب صفار البيض (4.3.3).

تخلط المحاليل أ.ب.ج جيدا في الوسط المذاب ويوزع مباشرة في علب بيتري بمقدار 15 ملل لكل علبة،

يمكن حفظ العلب المحتواة على الوسط لمدة 48 ساعة في درجة +4° م. مباشرة قبل الاستعمال، يوضع على سطح العلبة 0,5 ملل من محلول بيروفات البوتاسيوم ذي نسبة 20٪ (ك/ح) والمعقم بواسطة الترشيح، تجفف العلب الموضوعة أفقيا في درجة 50° م بحيث يكون سطح الهلام موجه إلى الأعلى. تلقح العلب عندما تجف.

يحفظ محلول البيروفات في درجتي 3-5° م ويجدد كل شهر.

4 . طريقة العمل

1. 4 إذا تم صنع مسحوق الحليب في مدة تفوق 15 يوما قبل التحليل أو في تاريخ غير معروف، يضاف 1 ملل من الحليب معاد التكوين الموافق لـ 0,1 غ من مسحوق الحليب، في أنبوب يحتوي على مرق مغذي لـ جيوليتي وكانتوني (4.1.3).

يمزج الإنوكيلوم جيدا مع الوسط مع تجنب تسرب الهواء.

تسكب بعد ذلك فوق الوسط سدادة من الهلام مذوبة بنسبة 2٪ (3.1.3) ثم تترك لتتجمد.

2. 4 إذا تعلق الأمر بمساحيق تم صنعها في مدة تقل عن 15 يوما، يضاف 1 ملل من حليب معاد تكوينه في أنبوب يحتوي على مرق مالح يحتوي على لاكتوز وأحمر الفينول (كما يمكن استعمال وسط جيوليتي وكانتوني مثلما في 1.4).

3.4 يجفف الوسط و/أو أحد الأوساط المغذية المزروعة لمدة 24 ساعة في درجة 37ْ م (بمعنى 1.4 و/أو2.4).

1.3.4 إعادة زرع حسب 6.4 و7.4 أنابيب المرق المغذي لجيوليتي وكانتوني التي أخذت المظهر الأسود أو التي تحتوي على راسب أسود.

2.3.4 إعادة زرع حسب 7.4، أنابيب المرق المالح المحتوي على لاكتوز وأحمر الفينول التي تحول لونها إلى الأصفر.

4.4 تجفف الأنابيب الأخرى لمدة 24 ساعة إضافية ويعاد زرعها حسب 6.4 و7.4.

5.4 طريقة إعادة زرع أنابيب المرق المغذي بعد تجفيفها مبينة في 6.4 و7.4.

6.4 تنزع سدادة الهلام في حالة الوسط جيوليتي وكانتوني حسب التقنية التالية :

تقطع سدادة الهلام بواسطة ملعقة وفق قطرين عمودين متقاطعين وإذا اقتضى الأمر، تمرر بعد ذلك الملعقة حول السدادة.

يوضع الأنبوب في زجاج بطريقة تسمح بسقوط قطع السدادة في قعر الأنبوب وفي نفس الوقت توضع البكتيريات على شكل محلول.

7.4 تقتطع حوالي 0,001 ملل من الزرع النامي في المرق المغذي بواسطة مقبض من البلاتين، ثم ينشر على سطح علبة تحتوي على وسط E.T.G.P.A بطريقة تسمح بالحصول على مستعمرات منفصلة.

8.4 تجفف العلب مقلوبة لمدة 24 ساعة في درجة 37ْ م ± 1ْ م.

9.4 إخضاع ثلاث مستعمرات على الأقل نموذجية لاختبار الكواقولاس (12.4). تكون المستعمرات النموذجية ستافيلوكوكس أوروس سوداء، لامعة، ذات أطراف بيضاء رقيقة ومحاطة بمنطقة فاتحة منتشرة في الوسط الكثيف.

10.4 إذا لم تنم المستعمرات خلال 24 ساعة أو تم ملاحظة مستعمرات غير نموذجية فقط، في هذه الحالة تجفف العلب لمدة 24 ساعة إضافية في درجة 37ْم ± 1ْم.

11.4 في حالة نمو مستعمرات حسب (10.4)، تخضع ثلاث مستعمرات على الأقل لاختبار الكاطلاس. لأجل هذا يؤخذ بواسطة مقبض بلاتيني، جزء من كل مستعمرة وتمزج في صفيحة محتوية على ماء أوكسجيني بنسبة 3,0٪ (10 أحجام). إذا لاحظنا تشكل فقعات غازية، تخضع المستعمرات الملائمة لاختبار الكواقولاس (حسب 12.4).

12.4 اختبار الكواقولاس

1.12.4 تلقح كل مستعمرة في أنبوب صغير يحتوي على 0,3 ملل من مرق قلب – مخ معقم. يجفف لمدة 20 إلى 24 ساعة في درجة 37ْ م ± 1ْ م.

2.12.4 يضاف في أنبوب صغير 0,1 ملل من هذا الزرع إلى 0,3 ملل من بلازما الأرنب المضاف إليها 0,1٪ من E.D.T.A.

3.12.4 تجفف في درجة 37ْ م ± 1ْ م ثم تفحص الأنابيب لملاحظة تشكل تخثر كل ساعة لمدة 4 ساعات ثم بعد 24 ساعة.

5. نستنتج وجود ستافيلوكوك ذات الكواقولاس الإيجابي في عينة من مسحوق الحليب، إذا قامت ثلاث (3) مستعمرات على الأقل متحصل عليها وفق 9.4 أو 11.4، بتخثير بلازما الأرنب.

★

قرار مؤرخ في 4 ربيع الثاني عام 1425 الموافق 24 مايو سنة 2004، يجعل منهج إحصاء الأحياء العضوية المجهرية المميزة بتقنية حساب المستعمرات في درجة 37ْ م في الياهورت، إجباريا.

إن وزير التجارة،

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

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

– وبمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرخ في 16 جمادى الثانية عام 1419 الموافق 7 أكتوبر سنة 1998 والمتعلق بالخصائص التقنية لليهورت وكيفيات وضعه للاستهلاك،

– وبمقتضى القرار المؤرخ في 14 صفر عام 1415 الموافق 23 يوليو سنة 1994 والمتعلق بالمواصفات الميكروبيولوجية لبعض المواد الغذائية،المعدل والمتمم،

يقرر ما يأتي :

المادّة الأولى : تطبيقا لأحكام المادة 19 من المرسوم التنفيذي رقم 90 – 39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990، المعدل والمتمم والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج إحصاء الأحياء العضوية المجهرية المميزة بتقنية حساب المستعمرات في درجة 37°م في الياهورت، إجباريا.

المادّة 2 : من أجل إحصاء الأحياء العضوية المجهرية المميزة بتقنية حساب المستعمرات في درجة 37° م في الياهورت، فإن مخابر رقابة الجودة وقمع الغش وتلك المعتمدة لهذا الغرض ملزمة باستعمال منهج التحليل الميكروبيولوجي المبين في الملحق.

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

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

حرر بالجزائر في 4 ربيع الثاني عام 1425 الموافق 24 مايو سنة 2004.

نور الدين بوكروح

الملحق

منهج إحصاء الأحياء العضوية المجهرية المميزة بتقنية حساب المستعمرات في درجة 37° م في الياهورت.

الموضوع ومجال التطبيق

يطبق هذا المنهج على الياهورت الذي يكون فيه اثنان من الأحياء العضوية المجهرية المميزة، موجودين وحيين.

1 – التعريف :

1.1 لاكتوباسيلوس بلغاريكوس : عضو مجهري دقيق محب للحرارة يشكل مستعمرات عدسية وغالبا ما يكون على شكل نجمة يتراوح قطرها من 1 إلى 3 مم في وسط MRS الحمضي (وفق دمان، روقوسا وشارب).

المظهر المجهري : عصيات قصيرة وغالبا ما تكون ممددة، غير مبوغة، جرام إيجابي، غير متحركة، كاطلاس– سلبي.

2.1 ستربتوكوكوس تارموفيلوس : عضو مجهري دقيق محب للحرارة يشكل مستعمرات عدسية يتراوح قطرها من 1 إلى 2 مم في وسط M 17.

المظهر المجهري : خلية كروية أو بيضوية (دائرية) الشكل يتراوح قطرها من 0,7 إلى 0,9 ميكرومتر، على شكل أزواج أو سلاسل ممددة، جرام إيجابي، كاطلاس– سلبي.

2. المبدأ :

1.2 زرع التخفيفات العشرية للعينة في :

– وسط MRS الحمضي متبوع بتجفيف في وسط لا هوائي لمدة 72 ساعة في درجة 37° م لإحصاء لاكتوباسيلوس بلغاريكوس،

– وسط M 17 متبوع بتجفيف في وسط هوائي لمدة 48 ساعة في درجة 37° م لإحصاء ستربتكوكوس تارموفلوس.

2.2 حساب المستعمرات والإثبات بواسطة اختبارات مناسبة

3.2 حساب عدد الأحياء العضوية المجهرية

حساب عدد الأحياء العضوية المجهرية المميزة لغرام من العينة انطلاقا من عدد المستعمرات المتحصل عليها من علب مختارة ذات تخفيفات تسمح بإعطاء نتيجة واضحة.

3. المخففات، أوساط الزرع والكواشف :

1.3 المكونات الأساسية

من أجل تحسين مردودية النتائج، يشترط لتحضير المخفف استعمال مكونات أساسية جافة أو تحضير كامل جاف.

– يجب احترام تعليمات الصانع بدقة،

– يجب أن تكون الكواشف الكيميائية ذات نوعية تحليلية معروفة،

– يجب أن يكون الماء المستعمل ماء مقطرا في إناء من الزجاج أو منزوع الشوارد خاليا من المواد التي بإمكانها التأثير على نمو الأحياء المجهرية الدقيقة في الظروف التي أجريت فيها التجربة.

– يتعين مراقبة هذا الجانب دوريا خاصة في حالة الماء المنزوع الأملاح المعدنية.

– يتعين استعمال محاليل الهيدروكسيد أو حمض الكلوريدريك (حوالي 0,1 مول/ل) من أجل تعديل العامل الهيدروجيني pH للمخففات مالم يرد بيان مخالف.

2.3 المخفف

التركيب

بيبتون 1 (هيدروليزا تريبتيك للكازيين).. 0,5 غ

بيبتون 2 (هيدروليزا تريبتيك للحم)..... 0,5 غ

ماء..... 1000 ملل

التحضير

تذوب البيبتونات في الماء. يوزع المحلول بالمليمتر الواحد في قارورات تبلغ سعتها 150 ملل.

تعقم في درجة 121ْ م لمدة 15 دقيقة.

يمكن استعمال البيبتون المتعدد (البوليبيبتون) الذي هو مزيج من بيبتون 1 وبيبتون 2.

3.3 أوساط الزرع

1.3.3 وسط MRS الحمضي

التركيب

بيبتون 1 ..... 10 غ

مستخلص اللحم ..... 10 غ

مستخلص الخميرة المجففة..... 5 غ

غلوكوز ($C_6H_{12}O_6$)..... 20 غ

Tween 80 (Sorbitanne monoléate)..... 1 ملل

هيدروجينو-أرثو فوسفات ثنائي البوتاسيوم (K_2HPO_4)..... 2 غ

أسيتات الصوديوم ثلاثي الهيدرات ($CH_3CO_2Na_3H_2O$)..... 2 غ

سيترات الأمونياك [$C_6H_6O_7(NH_4)_2$]..... 2 غ

سولفات المغنزيوم هيبتاهيدرات ($MnSO_47H_2O$)..... 0.2 غ

سولفات المنغنيز تيترا هيدرات ($MnSO_4H_2O$)..... 0.05 غ

أغار - أغار ..... 9-18 غ

ماء..... 1000 ملل

التحضير

تذوب المكونات في الماء في حالة الغليان. نتركه يبرد في 5 مْ ثم يعدل العامل الهيدروجيني pH بواسطة حمض الأستيك (3.4.3) مع مراقبته بواسطة جهاز قياس العامل الهيدروجيني pH (8.1.4) إلى أن يصل بعد التعقيم 5.4 في 25ْ م.

توزيع الوسط بكميات تقدر بـ 100 ملل في قارورات تبلغ سعتها 150 ملل أو بكميات تقدر بـ 200 ملل في قارورات تبلغ سعتها 250 ملل. تعقيم في 121ْ م لمدة 15 دقيقة.

كما يمكن استعمال أوساط MRS جاهزة للاستعمال، وفي هذه الحالة يجب مراقبتها مع الوسط المحضر وفق هذا المنهج.

قبل الشروع في الفحص الميكروبيولوجي، تذوب الكمية اللازمة من الوسط في حمام مائي في حالة الغليان أو في حالة بخار، في وعاء مغلق جزئيا. يبرد الوسط المذوب في حمام مائي (7.1.4).

لمراقبة درجة حرارة الهلام، يشترط وضع مقياس درجة الحرارة في نفس حجم محلول الهلام لديه نفس تركيز الوسط يوجد في وعاء منفصل يشبه الوعاء المستعمل في الوسط. يخضع المحلول المستعمل في مراقبة درجة الحرارة إلى نفس شروط التسخين والتبريد الخاصة بالوسط.

2.3.3 وسط M 17

1.2.3.3 الوسط الأساسي

التركيب

بيبتون 1 (هيدروليزاتريبسيك للكازيين)..2,50 غ

بيبتون 2 (هيدروليزابيبسيك للحم) ..... 2,50 غ

بيبتون 3 (هيدروليزابابينيك للصويا) ... 5,00 غ

مستخلص الخميرة المجففة ..... 2,50 غ

مستخلص اللحم ..... 5,00 غ

بيتا - غليسروفوسفات $C_3H_7O_6PNa_2$ .. 19,00 غ

سولفات المغنيزيوم هيبتا هيدرات $MgSO_47H_2O$ ..... 0,25 غ

حمض الأسكوربيك $C_6H_8O_6$ ..... 50 غ

أغار - أغار ..... 9-18 غ

ماء ..... 950 ملل

التحضير

تذوب المكونات في الماء في حالة الغليان. نتركه يبرد في 50ْ م ويعدل العامل الهيدروجيني pH بواسطة الكواشف (4.3) مع مراقبته بواسطة جهاز قياس العامل الهيدروجيني pH (8.1.4) إلى أن يصل بعد التعقيم من 7,1 إلى 7,2 في 25ْ م. توزيع الوسط بكميات تقدر بـ 95 ملل في قارورات تبلغ سعتها 150 ملل. تعقيم في 121ْ م لمدة 15 دقيقة.

كما يمكن استعمال أوساط كاملة لـ M 17 جاهزة للاستعمال التي ينبغي مراقبتها مع وسط M 17 المحضر حسب هذا المنهج.

2.2.3.3 محلول لاكتوز

التركيب

لاكتوز $C_{12}H_{22}O_{11}$ ..... 10 غ

ماء ..... 100 ملل

التحضير

يذوب لاكتوز في الماء ثم يعقم في 121° م لمدة 15 دقيقة.

3.2.3.3 الوسط الكامل

التركيب

الوسط الأساسي (1.2.3.3) ..... 95 ملل

محلول لاكتوز (2.2.3.3) ..... 5 ملل

التحضير

مباشرة قبل الاستعمال، يذوب الوسط الأساسي (1.2.3.3) في حمام مائي في حالة الغليان ثم نتركه يبرد في 48-50° م. يسخن محلول لاكتوز (2.2.3.3) في 48-50° م.

يضاف محلول لاكتوز إلى الوسط الأساسي ثم يخلط بعناية عن طريق حركات دورانية. يبرد الوسط في حمام مائي (7.1.4).

4.3 الكواشف لتعديل العامل الهيدروجيني pH

1.4.3 محلول هيدروكسيد الصوديوم NaOH، حوالي 0,1 مول/ل

2.4.3 محلول حمض الكلوريدريك HCl، حوالي 0,1 مول/ل

3.4.3 حمض الأستيك CH3 COOH، 100٪ (ثلجي).

4. التجهيزات والأدوات الزجاجية

1 .4 عتاد المخبر الميكروبيولوجي الحالي، هو عتاد مخصص لتحضير العينات والمخففات.

1.1. 4 محضن في درجة 37 ± 1° م.

2.1. 4 محضن لاهوائي، تمكن ضبطه في درجة 37 ± 1° م أو أوعية مخصصة لتربية الكائنات اللاّهوائية، يوفر جو مكون من 90٪ من الآزوت و 10٪ من ديوكسيد الكاربون.

3.1. 4 خلاط من نوع لولبي، ذو أوعية بلاستيكية معقمة، دائري الشكل، بإمكانه الدوران بسرعة 20000 دقيقة على الأقل، مع أوعية زجاجية أو حديدية ذات قدرة ملائمة.

4.1.4 رجاج أنابيب الاختبار (مثال، رجاج فورتيكس).

5.1.4 جهاز حساب المستعمرات، يتركب من جهاز ضوئي ذي عمق أسود مجهز بعدسة ذات تكبير 1.5 مرة وعدد رقمي ميكانيكي أو إلكتروني.

6.1.4 عدسة ذات تكبير 8-10 مرة.

7.1.4 حوض مائي يمكن تعديله في درجة 45 ± 1 مْ.

8.1.4 جهاز قياس العامل الهيدروجيني مجهز بمعدّل حراري ذي دقة ± 0.1 وحدة العامل الهيدروجيني في درجة 25 مْ.

9.1.4 قنينات التخفيف، تبلغ سعتها من 150 إلى 250 ملل وأنابيب اختبار 18 مم x 180 مم مجهزة بنظام غلق مناسب كبسولات أو سدادات مطاطية أو مصنوعة من مادة مركبة.

10.1.4 ماصات مدرجة حتى الحد يمكن أن تستوعب 1 ملل ± 0,02 ملل أو 10 ملل ± 0,2 ملل أو 11 ملل ± 0,2 ملل.

11.1.4 علب بيتري يبلغ قطرها الداخلي حوالي 90 سم وعمقها الداخلي 10 مم على الأقل.

يجب أن يكون قعر هذه العلب منتظما حتى لا يؤثر على عملية إحصاء المستعمرات.

12.1.4 ملاعق زجاجية أو حديدية.

5 . المعايرة

تتم وفق شروط مناسبة.

6 . طريقة العمل

1.6 أخذ العينة وتحضيرها

قبل فتح الياهورت ومن أجل تفادي كل مصدر للتلوث، ينبغي تنظيف المساحة الخارجية للعلبة التي تقتطع منها العينة بعناية. يتم التنظيف بالإيتانول بنسبة 70٪ (ح/ح) من أجل تجنب أي تلوث إضافي. تفتح العلبة بطريقة نظيفة.

خلال هذه المرحلة، لا يكفي فقط الحصول على تخفيف متجانس وإنما كذلك تجزأ سلاسل ستريبتكوك ولاكتوباسيل على شكل خلايا معزولة أو سلاسل قصيرة، بطريقة تكون النتائج المعبر عنها بالعدد الإجمالي للأحياء العضوية المجهرية لواحد غرام من المنتوج، ممثلة.

1.1.6 ياهورت بدون فواكه

يخلط بعناية محتوى علبة الياهورت بواسطة ملعقة معقمة (12.1.4). وزن 10 غ ± 0,1 لعينة من الياهورت في وعاء مناسب (مثال، في أنبوب جهاز الطرد المركزي ذي سعة 200 ملل يحتوي على قعر دائري من الزجاج الصلب أو في كأس الخلاط أو في الوعاء البلاستيكي للخلاط (Peristaltique) (3.1.4).

2.1.6 ياهورت بالفواكه

يخلط المحتوى الإجمالي لعلبة الياهورت لمدة دقيقة واحدة بواسطة خلاط (3.1.4).

وزن 10 غ ± 0,1 لعينة من الياهورت، مثلما في (1.1.6).

2.6 الفحص المجهري

إجراء فحص أولي لعدة حقول مجهرية لكمية من عينة الياهورت ملونة مسبقا بأزرق المتيلين (مثال بواسطة محلول إيتانوليك لأزرق المتيلين لـ 6 غ/ل) وهذا لتقييم كثافة نوعان من البكتيريا، بيضوية وعصوية وبالتالي اختيار مجموعة التخفيفات المناسبة لاستعمالها في إحصاء كل نوع.

3.6 تحضير التخفيف الأول

يجب إنجاز العمليات المبينة في الفقرات من 3.6 إلى 4.5.6 بعيدا عن أشعة الشمس.

إضافة المخفف (2.3) للعينة المأخوذة (1.1.6) إلى أن تبلغ كثافة العينة والمخفف 50 غ. تخلط لمدة دقيقة واحدة بواسطة خلاط (3.1.4). نكمل بنفس المخفف إلى غاية الحصول على 100 غ وبذلك نتحصل على تخفيف 10^{-1}.

4.6 تحضير التخفيفات العشرية

توزيع المخفف (2.3) بواسطة ماصة مدرجة معقمة. ينقل 1 ملل من هذا التخفيف إلى أنبوب ثان، الخ مع استعمال في كل مرة ماصة جديدة لكل تخفيف إلى غاية الحصول على سلسلة التخفيفات المطلوبة.

لا تغطس الماصة أكثر من 1 سم تحت سطح السائل. تجنب الفقاعات الهوائية عند ملء الماصة.

لا تغطس الماصة أثناء النقل في التخفيف الجديد.

5.6 الزرع والتخفيف

1.5.6 العمل على مرتين (بالنسبة للاكتوباسيلوس بلغاريكوس وستريبتكوكس تارموفيلوس)، تنقل في علب بيتري بواسطة ماصة، معقمة 1 ملل لكل تخفيف (11.1.4).

2.5.6 بالنسبة للاكتوباسيلوس بلغاريكوس، يفرغ في علب بيتري من 12 ملل إلى 15 ملل من وسط MRS الحمضي (1.3.3) مذوب ومثبت في 45 ± 1° م، في حمام مائي (7.1.4).

يجب أن لا يتجاوز الوقت بين زرع التخفيفات وملء علب بيتري بالهلام، أكثر من 15 دقيقة (2.5.6 و3.5.6).

3.5.6 بالنسبة لستريبتكوكس تارموفيلوس، تصفى في كل علبة بيتري من 12 ملل إلى 15 ملل من وسط M 17 (2.3.3) مذوب ومثبت في 45° م (7.1.4).

4.5.6 مباشرة بعد تفريغ الإينكولوم في العلب، يخلط بعناية مع الوسط عن طريق تدوير العلب، يترك الخليط يتجمد بترك العلب على سطح بارد وأفقي.

5.5.6 تجفف علب بيتري مقلوبة.

يجب أن لا يتجاوز ترتيبها 6 علب وأن لا تلتصق العلب ببعضها البعض ولا تكون ملتصقة مع جوانب أو الجهة العليا للمخفف.

1.5.5.6 من أجل إحصاء عدد لاكتوباسيلوس بلغاريكوس تجفف العلب لمدة 72 ساعة في 37° م في المجفف اللاهوائي أو وعاء الزرع في وسط لاهوائي (2.1.4).

2.5.5.6 من أجل إحصاء عدد ستريبتكوكس تارموفيلوس تجفف العلب لمدة 48 ساعة في 37 ± 1° م.

6.6 حساب المستعمرات

بعد مرحلة التجفيف الموضحة في (1.5.5.6) و(2.5.5.6) تحسب المستعمرات التي تبين خصائص العضوين المجهرين الاثنين (1.1 و2.1) الموجودة في العلب المحتوية بين 10 و300 مستعمرة.

تفحص العلب تحت ضوء خفيف، لتسهيل عملية الحساب، ينبغي استعمال عداد مناسب (5.1.4)،

ينبغي عدم الخلط بين الجزيئات غير الذائبة للعينة أو المواد المترسبة، مع المستعمرات ذات حجم رأس إبرة. فحص المستعمرات المشكوك فيها بعناية بواسطة عدسة ذات تكبير مرتفع إذا اقتضى الأمر، وذلك لتمييز المستعمرات عن الجزيئات الأجنبية. القيام بتخفيفات في حالة ما إذا كان عدد المستعمرات يتجاوز 300.

7.6 التأكيد

انتقاء المستعمرات انطلاقا من العلب المستعملة للإحصاء بطريقة يكون العدد المتحصل عليه يساوي الجذر التربيعي للعدد الإجمالي للمستعمرات.

القيام بعملية التلوين "جرام" لهذه المستعمرات والتأكد بأنها على شكل عصيات غير مبوغة، جرام – إيجابي، كاطلاس – سلبي وهذا في حالة الزرع في وسط MRS. في حالة الزرع في وسط M 17، تكون على شكل دوائر متسلسلة أو دوائر زوجية، جرام إيجابي، كاطلاس – سلبي.

7. التعبير عن النتائج

1.7 طريقة الحساب

1.1.7 يحتفظ بالإحصاء الخاص بالعلب المحتوية على 10 إلى 300 مستعمرة المتحصل عليها في 6.6.

2.1.7 لكل عضو مجهري مميز، يساوي عدد الأعضاء المجهرية لواحد غرام من العينة.

$$\frac{\sum م}{ت\ (ع1 + 0,1\ ع2)}$$

$\sum$ م : هو مجموع المستعمرات المحسوبة في العلب 1.1.7.

ع1 : هو عدد العلب المحسوبة ذات التخفيف الأضعف.

ع2 : هو عدد العلب المحسوبة ذات التخفيف المرتفع.

ت : هو القيمة الموافقة للتخفيف الذي من خلاله تحصلنا على الإحصاء الأول.

في حالة حساب أكثر من تخفيفين، يجب تغيير الصيغة لأخذ بعين الاعتبار التخفيف التالي :

بالنسبة لثلاث تخفيفات لدينا :

$$\frac{\sum م}{ت\ (ع1 + 0,1ع2 + 0,01)}$$

3.1.7 تقرب إلى الصفر النتائج المتحصل عليها في 2.1.7 إلى رقمين ممثلين. بالنسبة للعدد ذي ثلاثة أرقام، يقرب الرقم الثالث إلى الصفر الأقرب إليه. إذا كان الرقم الثالث هو 5، يقرب إلى الرقم الأصغر، إذا كان الرقمان الأوليان يشكلان عددا زوجيا وإلى الرقم الأكبر إذا كان الرقمان الأوليان يشكلان عددا فرديا.

على سبيل المثال : لـ 234 يقرب إلى 230

235 240

225 220

245 240

4.1.7 إذا كانت جميع الإحصاءات أقل من 10، نبين أن عدد الأعضاء المجهرية بالغرام هو أقل من 1 x 10/ت حيث "ت" هو القيمة الموافقة للتخفيف الأضعف.

5.1.7 إذا كانت جميع الإحصاءات أكبر من 300، يحسب العدد المعبر عنه انطلاقا من العلب التي يكون فيها عدد المستعمرات أقرب إلى 300 ويضرب عكس القيمة الموافقة للتخفيف الأكثر ارتفاعا. تعطى النتيجة على شكل "العدد المعبر عنه للأعضاء المجهرية لواحد غرام"، في حالة التخفيف الأكثر ضعفا.

6.1.7 يعبر عن النتيجة بعدد يتراوح بين 1,0 و9,9 يضرب في 10 س حيث س هو القوة الموافقة لـ 10.

7.1.7 يساوي العدد الإجمالي للأعضاء المجهرية المميزة لـ غرام من الياهورت.

ع ل + ع س

بمعني :

ع ل : هو عدد لاكتوباسيلوس بلغاريكوس لغرام، محسوب وفق 2.1.7.

ع س : هو عدد ستريبتكوكس ترموفلوس لغرام، محسوب وفق 2.1.7.

2.7 مثال على كيفية الحساب

لعينة من الياهورت، فإن حساب لاكتوباسيلوس بلغاريكوس يعطي النتيجة التالية (علبتي بيتري لتخفيف واحد تم تجفيفهما) :

التخفيف : 10^{5} : 295 و245 مستعمرة،

10^{-6} : 33 و40 مستعمرة،

$$\frac{\sum م}{ت\ (ع1 + 0,1\ ع2)} = \frac{295 + 245 + 33 + 40}{(2 + 0,1 \times 2)\ 10^{-5}} = \frac{613}{2,2 \times 10^{-5}} = 278,6 \times 10^{-5}$$

وفق 3.1.7، هذا يوافق لـ 280×10^{5}

– العدد المعبر عنه لـ ل. بلغاريكوس الموجود في عينة الياهورت هو إذن $2,8 \times 10^{7}$/غ:

نفس الشيء بالنسبة لـ س. تارموفيلوس، العدد المعبر عنه هو $4,9 \times 10^{8}$/غ من الياهورت.

هكذا، فإن العدد الإجمالي للأعضاء المجهرية المميزة لغرام من الياهورت هو :

$(2,80 \times 10^{7}) + (4,90 \times 10^{8}) = 5,18 \times 10^{8}$ الذي عندما يقرب إلى الصفر وفق 3.1.7 يعطي :

$5,20 \times 10^{8}$/غ من الياهورت.

3.7 التدقيق

تبين التجربة بأن في حالة إجراء اختبارين مستقلين منجزين من نفس العينة، فإن الاختبار الذي يعطي نتائج مرتفعة يتجاوز غالبا 30٪ من ذلك الذي يعطي نتائج ضعيفة، في هذه الحالة، يجب على المحلل إعادة النظر في الظروف العملية من أجل تحديد مصدر الأخطاء.

8 . تنبيهات حول طريقة التطبيق

انتقاء أوساط الزرع

لا يعتبر الوسطان المستعملان (MRS الحمضي و M 17) كاملي الانتقاء.

لا تشكل أغلبية أنواع س. تارموفيلوس مستعمرات مرئية في وسط MRS الحمضي ذات تخفيفات والتي من المفروض استعمالها لإحصاء ل. بلغاريكوس. في حين عندما يكون عدد لاكتوباسيل في عينة الياهورت، أقل بكثير من عدد ستريبتوكوك، يجب تحضير تخفيفات ضعيفة لحساب ل. بلغاريكوس.

في هذه الحالة، يمكن لـ ستريبتوكوكس تارموفلوس أن تشكل في علب الوسط MRS الحمضي مستعمرات صغيرة أو مستعمرات ذات حجم رأس إبرة والتي من الممكن تمييزها عن مستعمرات ل. بلغاركوس التي تكون ذات حجم أكبر.

من جهة أخرى، لا تشكل أغلبية أنواع ل. بلغاركوس مستعمرات مرئية في الوسط M 17 ذات تخفيفات التي من المفروض استعمالها لإحصاء س. تارموفلوس.

على العموم، يمكن لبعض أنواع ل. بلغاركوس تشكيل في وسط M 17 مستعمرات صغيرة ذات حجم رأس إبرة وذلك في عينة من الياهورت التي يكون فيها عدد لاكتوبسلوس أكبر بكثير من عدد الستريبتوكوكس.

عموما، يكون مظهر هذه المستعمرات الصغيرة والخشنة صوفيا أو قطنيا ومن السهل تمييزها بالعين المجردة (من الأحسن بواسطة مكبرة) عن المستعمرات س. تارموفلوس التي تكون كبيرة وملساء وعلى شكل حبة العدس.

★

قرارات، مقررات، آراء

وزارة التجارة

قرار مؤرخ في 26 رجب عام 1425 الموافق 11 سبتمبر سنة 2004، يجعل منهج تحضير العينات للتجربة والتخفيفات بغرض الفحص الميكروبيولوجي إجباريا.

إن وزير التجارة،

– بمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 90–39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990 والمتعلق 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 القرار الوزاري المشترك المؤرخ في 29 صفر عام 1414 الموافق 18 غشت سنة 1993 والمتعلق بمواصفات بعض أنواع الحليب المعد للاستهلاك وعرضه،

– وبمقتضى القرار المؤرخ في14 صفر عام 1415 الموافق 23 يوليو سنة 1994 والمتعلق بالمواصفات الميكروبيولوجية لبعض المواد الغذائية، المعدل والمتمم،

يقرّر ما يأتي :

المادة الأولى : تطبيقا لأحكام المادة 19 من المرسوم التنفيذي رقم 90–39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990، المعدل و المتمم والمذكور أعلاه ، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج تحضير العينات للتجربة والتخفيفات بغرض الفحص الميكروبيولوجي إجباريا.

المادة 2 : من أجل تحضير العينات للتجربة والتخفيفات بغرض الفحص الميكروبيولوجي ، فإن مخابر مراقبة الجودة و قمع الغش و تلك 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 26 رجب عام 1425 الموافق 11 سبتمبر سنة 2004.

نور الدين بوكروح

الملحق

منهج لتحضير العينات للتجربة والتخفيفات بغرض الفحص الميكروبيولوجي

1-التعريف : تقتضي متطلبات هذا المنهج، تطبيق التعاريف التالية .

1.1 تخفيف أولي (المحلل الأم) : محلل، محلول أو مستحلب حصل عليه بعد وزن أو كيل كمية من المنتوج المراد تحليله (أو العينة المراد تجربتها والمحضرة انطلاقا من هذا المنتوج) التي تم خلطها إن اقتضت الحاجة باستعمال خلاط مع مراعاة الاحتياطات الملائمة (6) تسع مرات نفس كمية المخفف (3) مع ترك الجزيئات الكبيرة تتوضع إن وجدت.

يمكن في بعض الحالات، إضافة المخفف بكثرة لاسيما بالنسبة للمنتوجات التي تعطي محلل الأم 1+9 لزج أو كثيف. وفي حالات أخرى، يمكن استعمال تخفيف أولي مركز أكثر من 1+9 ذلك بالنسبة لنتائج التجربة التي لها علاقة مع بعض معايير المواصفات. يجب الأخذ بعين الاعتبار هذا العامل لمواصلة العمليات و/ أو للتعبير عن النتائج.

2.1 التخفيفات العشرية التالية : محلل، مستحلب أو محلول متحصل عليه بخلط حجم معين للتخفيف الأولي (1.1) مع

تسع مرات نفس حجم المخفف المناسب و تكرر هذه العملية على كل تخفيف محضر إلى غاية الحصول على مجموعة من التخفيفات العشرية المناسبة لزرع أوساط الزرع .

2-المبدأ

لتسهيل الفحص الميكروبيولوجي، نقوم بتحضير التخفيف الأولي (محلل الأم) (1.1) و إذا اقتضى الأمر التخفيفات العشرية الموالية (2.1) و هذا لتقليص عدد الأعضاء المجهرية لوحدة حجم.

3-المخففات

1.3 المكونات الأساسية

لتحسين صحة النتائج، يشترط لتحضير المخفف، استعمال مكونات أساسية مجففة أو تحضير كامل مجفف. يجب احترام التعليمات التقنية بدقة.

يجب أن تكون المنتوجات الكيميائية ذات نوعية تحليلية معترف بها.

يجب أن يكون الماء المستعمل ماء مقطرا في جهاز من الزجاج أو ماء خال من الأملاح المعدنية، خال من المواد التي بإمكانها التأثير على نمو الأعضاء المجهرية في الظروف التي أجريت فيها التجربة. يتعين مراقبة هذا الجانب دوريا خاصة في حالة الماء المنزوع الأملاح المعدنية.

يتعين استعمال محاليل هيدروكسيد الصوديوم أو حمض الكلوريدريك (حوالي 0.1مول/ل) من أجل تعديل العامل الهيدروجيني pH للمخففات، ما لم يرد بيان مخالف.

2.3 المخففات للاستعمال العام

1.2.3 محلول بيبتون– ملح

التركيب

بيبتون..... 1,0غ

كلورور الصوديوم NaCl..... 8,5غ

الماء..... 1000ملل

التحضير

تذويب المكونات في الماء ، بالتسخين، إذا اقتضى الأمر،

يعدل العامل الهيدروجيني pH إلى أن يبلغ بعد التعقيم 7,0 ± 0,1 في 25°م.

2.2.3 محلول رينجر المخفف عند الربع

التركيب

كلورور الصوديوم NaCl .... 2,25 غ

كلورور البوتاسيوم KCl .... 0,105 غ

كلورور الكالسيوم الجاف $CaCl_2$ .... 0,06 غ

هيدروجينوكاربونات الصديوم $NaHCO_3$ .... 0,05 غ

ماء .... 1000 ملل

التحضير

تذويب الأملاح في الماء.

تعديل العامل الهيدروجيني إلى أن يبلغ بعد التعقيم 6,9 ± 0,1 في 25°م.

3.2.3 محلول بيبتون

التركيب

بيبتون .... 1,0 غ

ماء .... 1000 ملل

التحضير

تذويب بيبتون في الماء.

تعديل العامل الهيدروجيني إلى أن يبلغ بعد التعقيم 7,0 ± 0,1 في 25°م .

4.2.3 محلول الفوسفات

تركيب المحلول الأصلي

ثنائي هيدروجينو فوسفات البوتاسيوم

(KH_2PO_4).. 42,5 غ

ماء... 1000 ملل

التحضير

يذوب الملح في 500 ملل من الماء، يعدل العامل الهيدروجيني بواسطة محلول هيدروكسيد الصوديوم أو حمض الكلوريدريك لـ 1 مول /ل، إلى أن يبلغ بعد التعقيم 7,2 ±0,1 في 25°م.

يذوب بالماء حتى 1000 ملل. يحفظ المحلول الأصلي في الثلاجة.

قبل الاستعمال، يضاف 1ملل من المحلول الأصلي (في 20م°) لـ 1000 ملل من الماء لاستعماله كمخفف.

3.3 المخففات للاستعمال الخاص

1.3.3 محلول سترات الصوديوم (للجبن، والجبن الطري والحليب الجاف هات ماكر Hatmaker)

التركيب

سترات ثلاثي الصوديوم المميه مرتين

$Na_3C_6H_5O_72H_2O$.................................. 20,0 غ

ماء... 1000 ملل

التحضير

يذوب الملح في الماء بالتسخين بين 45م° و 50م° .

يعدل العامل الهيدروجيني إلى أن يبلغ بعد التعقيم 7,5 ± 0,1 في 25م°.

2.3.3 محلول مونوهيدروجينو- فوسفات البوتاسيوم (للجبن، و الجبن الطري- حمض الكازيين- مسحوق الكازيين اللبني- الكازينات- مساحيق مصل الحليب الحمضي الحمضيات والقشدة الحامضة).

التركيب

مونوهيدروجينو- فوسفات البوتاسيوم K_2HPO_4 .... 20,0 غ

ماء... 1000 ملل

التحضير

تذويب الملح في الماء بالتسخين بين 45م° و 50م°.

يعدل العامل الهيدروجيني pH .بالنسبة للتخفيف الأولي لحمض الكازيين، الكازيين اللبني ومسحوق مصل الحليب الحمضي، يجب أن يكون العامل الهيدروجيني بعد التعقيم 8,4 ± 0,1 في 25م°. أما بالنسبة للكازينات، الأجبان، الأجبان الطرية والقشدة الحامضة، يكون العامل الهيدروجيني 7,5 ± 0,1

4.3 التوزيع، التعقيم وحفظ المخفف

بالنسبة للتخفيف الأولي، يوزع المخفف (3.2 أو3.3) في القنينات(4.4)، أما بالنسبة للتخفيفات العشرية (3,2)، فتوزع في أنابيب اختبار (4.5) بكميات تسمح بعد التعقيم باحتواء كل قنينة (4.4) على 9,0 ملل (أو كميات أخرى مطلوبة) و كل أنبوب اختبار(4.5) على 9,0 ملل من المخفف أو مخفف متعدد يقدر بـ 9,0 ملل (أو كميات أخرى مطلوبة).

تسد الأنابيب و القنينات.

تعقيم بواسطة جهاز التعقيم لمدة 15 دقيقة في 121م°±1 (يمكن أن تكون مدة التعقيم طويلة بالنسبة للأحجام الكبيرة).

في حالة عدم استعمال المخفف فوريا، يتعين حفظه بعيدا عن الضوء من 0°م إلى 5°م لمدة شهر كحد أقصى في ظروف لا يحدث فيها أي تغير في حجم المخفف أو تركيبه.

إذا أردنا إحصاء عدة مجموعات من الأعضاء المجهرية باستعمال أوساط زرع مختلفة، يمكن توزيع كل المخففات (أو البعض منها) بكميات أكبر من 9,0 ملل. يجب أن تكون أحجام أنابيب الاختبار و القنينات (4,5 و4,4) متناسبة مع أحجام المخففات.

4- التجهيزات و الأدوات الزجاجية

تعتبر التجهيزات ذات الاستعمال الواحد مقبولة شأنها شأن الأدوات الزجاجية المعاد استعمالها ، إذا كانت خصوصياتها مطابقة لخصوصيات الأدوات الزجاجية وأن تكون مقاومة للتعقيمات المتكررة وأن تكون خاملة كيميائيا.

الأدوات العادية للمخبر الميكروبيولوجي لاسيما :

1.4 أجهزة التعقيم بالحرارة الجافة (فرن) أو بالحرارة الرطبة (جهاز التعقيم) (جهاز تعقيم معزول أو مدمج داخل نظام تحضير و توزيع الأوساط) .

يجب تعقيم الأدوات الملامسة للمخفف، للعينة المراد تجربتها و التخفيفات إلا في حالة ما إذا كانت معقمة مسبقا (التجهيزات البلاستكية).

أ – سواء في الفرن، بتثبيته في درجة حرارة تتراوح بين 170°م و175° م لمدة ساعة واحدة على الأقل .

ب – سواء في جهاز التعقيم ، بتثبيته في درجة حرارة تقدر بـ 121 م°±1 لمدة 20 دقيقة على الأقل.

في حين، يجب عدم تعقيم الماصات في جهاز التعقيم، وذلك بسبب تكثف الرطوبة على الجوانب الداخلية للماصة أثناء التبريد مما يؤثر على دقة الحجم المراد أخذه.

2.4 تجهيزات المجانسة

يجب استعمال إحدى التجهيزات التالية :

أ– جهاز المجانسة الدوراني، يبلغ عدد الدورات فيه بين 8000 د$^{-1}$ و 45000د$^{-1}$ ، يحتوي على كؤوس زجاجية أو حديدية مجهزة من الأفضل بأغطية ومقاومة للتعقيم.

ب– جهاز المجانسة من النوع الحلقي (Stomacher) يحتوي على أكياس بلاستيكية معقمة .

يجب أن تكون سعة الكؤوس و الأكياس البلاستيكية (كيس Stomacher) كافية تسمح بمزج العينة جيدا مع الكمية المناسبة للمخفف . و على العموم، يجب أن يكون حجم الوعاء يساوي مرتين حجم العينة و المخفف معا.

3.4 رجاج له القدرة على خلط 1ملل أو2 ملل من العينة المراد تجربتها (في حالة المواد السائلة) أو خلط التخفيفات العشرية في أنبوب ذو سعة كافية، مع 9 ملل أو18 ملل من المخفف للحصول على معلق متجانس و ذلك عن طريق حركات دورانية خارج مركز محتوى أنابيب الاختبار (مثال زجاج فورتيكس).

4.4 قنينات يمكن أن تستوعب 90 ملل من المخفف المستعمل لتحضير المحلول الأصلي أو عدة أحجام من 90 ملل، مع ترك فراغ كافي في هذه القنينات لتسهيل عملية الرج.

5.4 أنابيب اختبار يمكن أن تستوعب 10 ملل (أو عدة أحجام من 10ملل إذا اقتضى الأمر) من العينة المراد تجربتها (إذا كانت سائلا) أو التخفيف الأولي (في حالات أخرى) أو تخفيفات عشرية المواليه، مع ترك فراغ كافي في الأنابيب لتسهيل عملية الرج.

6.4 ماصات (مسدودة بواسطة قطن) ذات سعة معتبرة تقدر بـ 1ملل و فتحة سيلان تبلغ بـ 1,75مم ويبلغ قطرها 3 مم.

ينبغي عدم استعمال ماصات مشققة، و إذا استلزم الأمر يتعين أن تكون تدرجات الماصة واضحة لتمييزها عن المحتوى.

7.4 ماصات مدرجة (مسدودة بواسطة قطن) ذات سعة كبيرة نسبيا مثلا 10 ملل أو20 ملل .

8.4 كريات زجاجية، يبلغ قطرها حوالي 6 مم.

9.4 جهاز قياس العامل الهيدروجيني pH مجهز بمعدل حراري مضبوط في 0,1 لوحدة العامل الهيدروجيني pH .

10.4 ميزان ذو حمولة كافية مضبوط في 1% للكتلة الصافية الموزونة.

11.4 حمام مائي معدل في 45°م ±1.

12.4 حمام مائي معدل في 37°م ±1.

5 -المعايرة

تتم المعايرة وفق شروط مناسبة.

6- طريقة العمل

بالنسبة لبعض الأبحاث الخاصة (مثال السالمونيلا) يشترط تقنيات خاصة أو لزوم بعض الاحتياطات. بالنسبة لهذه الحالات، فإن التقنيات مبينة في المنهج المعني.

يجب أن لا تجري العمليات المبينة في 1.1.6 و2.1.6 مباشرة تحت أشعة الشمس.

يتعين أخذ الاحتياطات العادية للنظافة.

1.6 تحضير العينة للتجربة و التخفيف الأولي

لتفادي إلحاق الضرر بالأعضاء المجهرية بسبب التغير المفاجئ لدرجة الحرارة، يتعين أن تكون درجة حرارة المخفف خلال العمليات المذكورة أدناه، هي نفس درجة حرارة العينة المراد تجربتها، إلا في حالة وجود مواصفات مخالفة.

1.1.6 الحليب و المنتجات الحليبية السائلة

رج العينة المراد تجربتها جيدا لضمان توزيع متماثل بقدر الإمكان للأعضاء المجهرية ، بالقلب السريع للوعاء المحتوى على العينة، 25 مرة . يجب تجنب تشكل رغوة أو تركها تتبعثر. يجب أن لا تتجاوز المدة بين الخلط واقتطاع العينة، ثلاث دقائق.

اقتطاع 1ملل من العينة المراد تجربتها بواسطة ماصة معقمة (6.4) و تضاف إلى 9 ملل من المخفف (2.3) (أو 10 ملل من العينة المراد تجربتها لـ 90 ملل من المخفف أو 11 ملل لـ 99 ملل).

– رج هذا التخفيف الأولي (مثال 25 مرة عن طريق حركة تقدر بـ 300مم في 7 ثوان) .وبذلك نتحصل على تخفيف 10^{-1}.

تحضر التخفيفات الموالية حسب 2,6.

2.1.6 الحليب الجاف، مسحوق مصل الحليب ، مسحوق المخيض واللاكتوز

خلط بعناية محتوى الوعاء المغلق بتحريكه وقلبه بصفة مكررة.

إذا كانت العينة المراد تجربتها موجودة في الرزم الأصلي ومعبأة بطريقة لا تسمح بالخلط الجيد ، يتعين تحويلها إلى وعاء أكبر. يخلط الوعاء ثم يفتح لاقتطاع العينة المطلوبة بواسطة ملعقة وفق الطريقة المبينة أدناه.

يغلق الوعاء مباشرة بعد ذلك.

تسخن قنينة تحتوي على 90 ملل من المخفف ملائم (2.3) في حمام مائي (11.4) أو مسحوق الحليب هات ماكر(1.3.3)، إذا اقتضى الأمر ويبلغ عامله الهيدروجيني 7,5 ± 0,1 في 45° م ±1.

وزن 10غ من العينة المراد تجربتها في وعاء زجاجي مناسب (مثل وعاء بيشر)، يفرغ المسحوق ببطء في قنينة التخفيف المحتوية على المخفف المختار أ و وزن 10غ من العينة المراد اختبارها مباشرة في القنينة مع المخفف.

لتذويب المحتوى، تدور القنينة ببطء من أجل تمييه المسحوق تم ترج 25 مرة لمدة 10 ثوان عن طريق حركات تبلغ حوالي 300 مم . يمكن استعمال جهاز المجانسة من النوع الحلقي (2.4ب) كوسيلة أخرى للرج .

إعادة وضع القنينة في الحمام المائي لمدة 5 دقائق مع الرج من حين لآخر.

تحضر التخفيفات الموالية وفق 2.6.

من أجل الحصول على مسحوق حليب جيد معاد تكوينه و خاصة مسحوق الحليب هات ماكر، يمكن استعمال كريات زجاجية (8.4). و في هذه الحالة، يتعين وضعها في القنينات قبل التعقيم.

3.1.6 الجبن و الجبن الطري

يوزن 10غ من العينة المراد تجربتها في كبسولة توضع في وعاء جهاز المجانسة الدوراني (2.4أ) أو جهاز المجانسة من النوع الحلقي (2.4ب) أو توزن 10غ من العينة المراد اختبارها مباشرة في الوعاء.

أثناء استعمال جهاز المجانسة الدوراني أو جهاز المجانسة من النوع الحلقي، يضاف 90 ملل من المخفف (2.3)، أو (1.3.3) أو(2.3.3) و يكون العامل الهيدروجيني pH 7,5 ± 0,1.

تخلط المادة إلى غاية توزيعها الكامل (من دقيقة واحدة إلى 3 دقائق). في حالة استعمال جهاز المجانسة الدوراني، نعمل لمدة كافية للحصول على دوران إجمالي يبلغ من 15000 إلى 20000 دورة.

– حتى في حالة استعمال جهاز المجانسة الدوراني الأقل سرعة، ينبغي أن لا تتجاوز المدة 2,5 دقيقة. من الأفضل أن لا تتجاوز درجة حرارة التوزيع 40م° و أن لا تتعدى في أي حال 45م°. تترك الرغوة لتتوزع.

– تحضر التخفيفات الموالية وفق.2.6.

4.1.6 حمض الكازيين، الكازيين اللبني، حمض مسحوق مصل الحليب

وزن 10غ من العينة المراد تجربتها ووضعها في كبسولة.

توضع العينة في قنينة التخفيف تحتوي على كريات زجاجية (8.4) و 90 ملل من مخفف هيدروجينو الفوسفات ثنائي البوتاسيوم (2.3.3) ويكون العامل الهيدروجيني p H 8,4 ± 0,1 وهذا يتعلق بحمض الكازيين و الكازيين اللبني .

تترك القنينة في درجة حرارة محيطية لمدة 15 دقيقة ثم ترفع درجة الحرارة إلى 37°م ± 1 في حمام مائي (12.4).

تترك القنينات في 37°م لمدة 15 دقيقة مع تحريكها بقوة من حين لآخر .

تجنب استعمال جهاز المجانسة الدوراني (2.4 أ) أو جهاز من النوع الحلقي(2.4ب) بسبب تشكل الرغوة .

– تحضير التخفيفات الموالية وفق 2.6.

5.1.6 الكازيينات

توزن 10غ من العينة المراد تجربتها في كبسولة وتوضع في وعاء جهاز المجانسة الدوراني (2.4 أ) أو في جهاز المجانسة من النوع الحلقي (2.4ب) أو توزن 10غ من العينة المراد اختبارها مباشرة في الوعاء. إضافة 90 ملل من مخفف هيدروجينو_ فوسفات ثنائي البوتاسيوم (2.3.3) و يكون العامل الهيدروجيني 7,5 ± 0,1 وفي درجة حرارة محيطية.

يخلط لحوالي دقيقتين . في حالة استعمال جهاز المجانسة الدوراني ، ينبغي العمل لمدة كافية للحصول على دوران إجمالي يبلغ من 15000 إلى 20000 دورة . حتى بالنسبة لجهاز المجانسة الدوراني الأقل سرعة يجب أن لا تتجاوز المدة 2,5 دقيقة.

– ترفع درجة الحرارة إلى 37° م ± 1 في حمام مائي(12.4).

– في حالة استعمال جهاز المجانسة الدوراني ، ينقل الخليط إلى قنينة أخرى تحتوى على تخفيف معقم .

– يترك في37° م ± 1 لمدة 15 دقيقة .

– تترك الرغوة تتوزع ، قبل مواصلة العمل .

– تحضر التخفيفات الموالية وفق 2.6.

6.1.6 الزبدة

توزن 10غ من العينة المراد تجربتها في وعاء و توضع في الحمام المائي (11.4) في 45°م ± 1.

يترك الوعاء في الماء إلى غاية ذوبان العينة.

يضاف 90 ملل من المخفف (2.3) ثم يخلط.

يسهل إنجاز هذه العملية، في حالة استعمال جهاز المجانسة من النوع الحلقي (2.4ب).

كما يمكن العمل فقط على الطبقة المحتوية على الماء لتحضير التخفيف كما يلي :

تؤخذ كمية تقدر بـ 50 غ تحتوي على حوالي 8 ملل من الماء و يضاف إليها 42 ملل من المخفف (3.2.3) ثم يعاد تسخينه في 45° م.

يوضع الوعاء في الحمام المائي (11.4) في 45° م ± 1 إلى غاية ذوبان الزبدة. يخلط جيدا و يترك على الأكثر 15دقيقة إلى غاية حدوث الانفصال.

لفصل الطبقات، إذا اقتضى الأمر، توضع العينة الخاصة باختبار الذوبان في أنبوب الطرد المركزي معقم (أو تذوب العينة المراد تجربتها مباشرة في أنبوب الطرد المركزي) حيث تبلغ سرعة الدوران من 1000د$^{-1}$ إلى 2000 د$^{-1}$.

تقتطع الطبقة الدسمة (العليا) بطريقة معقمة بواسطة أنبوب معقم متصل بمضخة فارغة.

تقتطع الطبقة السفلى.

تحضير التخفيفات الموالية وفق 2.6.

7.1.6 المنتوجات الحليبية المجمدة (بما فيها المثلجات الموضوعة للاستهلاك)

تطبق نفس الطريقة الخاصة بالزبدة (6.1.6) (الطريقة الأولي) ولكن باستعمال حمام مائي(12.4) في 37° م± 1 على الأكثر.

يجب أن لا تتجاوز درجة حرارة العينة المراد تجربتها، درجة حرارة الحمام المائي .

تحضر التخفيفات الموالية وفق 2.6.

8.1.6 الفلان، التحليات، الحليب المخمر و القشدة

توزن 10 غ من العينة المراد تجربتها في قنينة (4.4) تحتوي على كريات زجاجية (8.4).

بالنسبة للفلان و التحليات و القشدة المرطبة، نضيف 90 ملل من المخفف (2.3) ثم يرج ليتوزع .

بالنسبة للحليب المخمر و القشدة الحامضة، يستعمل المخفف (2.3.3) ذو عامل هيدروجيني 7,5 ± 0,1. يمكن استعمال جهاز المجانسة الدوراني من النوع الحلقي (2.4ب).

تحضر التخفيفات الموالية وفق 2.6.

2.6 التخفيفات العشرية التالية

– ليس من الضروري تحضير التخفيفات العشرية، في حالة البحث عن وجود أو غياب عضو مجهري في 0,1 ملل أو 0,1 غ من المنتوج .

– يدخل بواسطة ماصة جديدة، 1 ملل من التخفيف الأولي (مثال، 1.1.6 أو 2.1.6) في أنبوب جديد يحتوي على 9 ملل من مخفف معقم (2.3) مع تفادي اتصال الماصة بالمخفف. تستعمل ماصة جديدة لكل تخفيف .

– في حالة استعمال أحجام كبيرة، يدخل 10 ملل من التخفيف الأولي في قنينة تحتوي على 90 ملل من مخفف معقم (2.3) أو 11 ملل من التخفيف الأولي لـ 99 ملل من مخفف معقم (2.3).

– عندما يشترط استعمال تخفيف 10^{-3}، أثناء الممارسة العادية ففي هذه الحالة ، يتعين إضافة 1 ملل من التخفيف الأولي لـ99 ملل من مخفف معقم (2.3) .

– الخلط بعناية 10 مرات إما عن طريق الامتصاص الطردي بواسطة ماصة جديدة و إما عن طريق استعمال خلاط ميكانيكي (3.4) لمدة 5 إلى 10 ثوان للحصول على تخفيف 10^{-2}.

– يتعين اختيار سرعة الدوران بطريقة تجعل السائل المدور يلامس حافة الوعاء بـ 2 سم إلى 3 سم .

وإذا اقتضى الأمر، إعادة هذه العمليات بالمخفف المعقم (2.3) و ذلك باستعمال التخفيف 10^{-2} و التخفيفات الموالية من أجل الحصول على تخفيفات 10^{-3} ، 10^{-4} الخ ، إلى غاية الحصول على العدد المناسب للأعضاء المجهرية للمليليتر الواحد(أنظر2).

– في حالة اقتطاع 10 ملل بإضافة 90ملل أو اقتطاع 11 ملل بإضافة 99 ملل، ففي هذه الحالة ، يتم الخلط بطريقة يدوية كما هو مبين في 1.1.6.

3.6 مدة العمليات

يجب أن لا تتجاوز المدة بين نهاية تحضير التخفيف الأولي وخلط التخفيفات و الأوساط (المبينة وفق الطرق الخاصة) أكثر من 15 دقيقة .

★

قرار مؤرخ في 26 رجب عام 1425 الموافق 11 سبتمبر سنة 2004 يجعل منهج المراقبة الميكروبيولوجية للحليب المبستر إجباريا.

إن وزير التجارة ،

– بمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 90 – 39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990 والمتعلق بمراقبة 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 القرار الوزاري المشترك المؤرخ في 29 صفر عام 1414 الموافق 18 غشت سنة 1993 والمتعلق بمواصفات بعض أنواع الحليب المعد للاستهلاك وعرضه،

– وبمقتضى القرار المؤرخ في14 صفر عام 1415 الموافق 23 يوليو سنة 1994 والمتعلق بالمواصفات الميكروبيولوجية لبعض المواد الغذائية، المعدل والمتمم،

يقرر ما يأتي :

المادة الأولى : تطبيقا لأحكام المادة 19 من المرسوم التنفيذي رقم 90–39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990، المعدل و المتمم والمذكور أعلاه ، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج للمراقبة الميكروبيولوجية للحليب المبستر إجباريا.

المادة 2 : من أجل المراقبة الميكروبيولوجية للحليب المبستر، تلزم مخابر مراقبة الجودة و قمع الغش و تلك المعتمدة لهذا الغرض 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 26 رجب عام 1425 الموافق 11 سبتمبر سنة 2004.

نور الدين بوكروح

الملحق

منهج المراقبة الميكروبيولوجية للحليب المبستر

1 – تحضير العينة للتجربة

من الضروري جعل العينة متجانسة قبل كل تحليل، على سبيل المثال رج الرزم بعناية و بسرعة، 25 مرة أو تطبق التقنيات المناسبة التي تعطي نتائج مطابقة.

فتح الرزم بصفة نظيفة، بعد تنظيف الفتحة بالإيتانول.

إجراء التحليل البكتيريولوجي في مدة لا تتعدى ثلاث دقائق.

تحفظ العينة في 6 °م إلى حين إجراء التحليل.

2 – التخفيفات العشرية

تحضر التخفيفات العشرية بالمخفف التالي.

1.2 التركيب

بيبتون البنكرياسي للكازيين(تريبتون).....1غ

كلورور الصوديوم 8,5غ

ماء مقطر.....1000ملل

2.2 التحضير

تذوب المكونات في الماء بالتسخين الخفيف، وإذا اقتضى الأمر يعدل العامل الهيدروجيني pH، بحيث يكون بعد التعقيم $7 \pm 0,1$ في 25°م.

مثال على ذلك، يوزع بمقدار 100ملل في قارورات ذات سعة مناسبة.

تعقم بواسطة جهاز التعقيم في 121°م±1 لمدة 20 دقيقة .

3. 2 تحضير التخفيفات العشرية

عند الاستعمال، يوزع المخفف بصفة نظيفة بمقدار 9 ملل في أنابيب معقمة لـ 20 x200 مم.لتحضير التخفيفات، يستعمل المخفف ذو درجة حرارة محيطية.

يتم الحصول على التخفيف عند 1/10 ينقل بصفة نظيفة 1ملل من الحليب إلى9 ملل من المخفف (2.1) بواسطة ماصة معقمة تبلغ سعتها 1ملل.

للحصول على التخفيف عند 1/100، ينقل 1ملل من التخفيف عند 1/10 في أنبوب ثاني يحتوي على مخفف بواسطة ماصة جديدة معقمة تبلغ سعتها 1 ملل.

تحضر التخفيفات الموالية بنفس الطريقة.

أثناء تحضير التخفيفات و قبل زرعها، تخلط بعناية لمدة 5 إلى 10 ثوان بواسطة رجاج ميكانيكي ذي حركة دورانية خارج المركز.

3 – إحصاء الأعضاء المجهرية الهوائية في 30°م الهلام للإحصاء

1.3 التركيب

بيبتون بنكرياسي للكازيين (تربيتون)..... 5,0غ

مستخلص الخميرة المجففة 2,5غ

غلوكوز منزوع الماء 1,0غ

مسحوق الحليب منزوع الزبدة(خال من المواد المثبطة) 10غ

أو حليب منزوع الزبدة (خال من المواد المثبطة).....10ملل

أغار– أغار ..... من 12 إلى 18غ

ماء مقطر 1000ملل

2.3 التحضير

تذوب المكونات أو الوسط الكامل الجاف في الماء حتى الغليان وإذا اقتضى الأمر، يعدل العامل الهيدروجيني حيث يكون بعد التعقيم $7 \pm 0,1$ في 25°م.

يوزع بمقدار 100ملل في أنابيب ذات سعة مناسبة أو من 12 إلى 15ملل في أنابيب لـ 180x18مم أو200 x20 مم.

يعقم بواسطة جهاز التعقيم في 121°م ± 1 لمدة 20 دقيقة . يمكن حفظ الوسط ثلاثة أشهر على الأكثر في وسط مظلم في0 °م إلى 5 °م.

3.3 طريقة العمل

ينقل مرتين 1ملل من التخفيفات المتحصل عليها (3.2) في علب بيتري معقمة يبلغ قطرها 90 أو100 مم. يصب من 12 إلى 15ملل من الوسط مذوب مسبقا ومبرد في حمام مائي في 45°م ± 0,5 (يجب أن لايتجاوز الحفظ في الحمام المائي 3 ساعات). يخلط الإينوكولوم في المركز بعناية.

يترك ليتجمد مع وضع العلب على سطح بارد وأفقي.

توضع علب بيتري مقلوبة في المجفف في 30°م± 1 لمدة 72 ± 2 ساعة.

يجب أن لا تتجاوز المدة بين تحضير التخفيفات و إدخال الهلام في العلب 15 دقيقة.

4.3 التعبير عن النتائج

يحتفظ بعلب بيتري المحتوية على عدد المستعمرات التي تتراوح بين 10و 300 و ذلك من أجل إحصائها. تستعمل، إذا اقتضى الأمر، عدسة ذات تكبير 1,5 على الأكثر.

5.3 طريقة الحساب

يحسب عدد الأعضاء المجهرية لمليلتر واحد من الحليب عن طريق الصيغة التالية :

$$\text{العدد / ملل} = \frac{\text{العدد الإجمالي للمستعمرات المحسوبة}}{\text{الحجم المزروع للعينة}}$$

أو

$$\frac{\sum \text{م}}{(\text{ع}1 + 0,1\ \text{ع}2)\ \text{ت}}$$

بمعنى :

م : العدد الإجمالي للمستعمرات المحسوبة .

ع1 : عدد العلب المحسوبة في التخفيف الأول .

ع2 : عدد العلب المحسوبة في التخفيف الثاني.

ت : عامل التخفيف الذي انطلاقا منه تم الحصول على الحسابات الأولى.

مثال : التخفيف 10^{-2} 278 و290 مستعمرة

التخفيف 10^{-3} 33 و28 مستعمرة

العدد/ ملل :

$$\frac{28+33+290+278}{10^{-2}\,(2\text{x } 0,1+ 2)} = \frac{629}{0,022} = 28590$$

للتعبير عن عدد الأعضاء المجهرية، نكمل عدد صحيح إلى رقمين رمزيين.

إذا كان العدد المراد تكملته إلى عدد صحيح هو 5، يكتمل إلى عدد صحيح بطريقة تكون القيمة الموجودة في الجهة اليسرى زوجية.

في المثال المذكور، أعلاه، تقرب النتيجة إلى 29000 أو $2,9 \times 10^{4}$ إذا كانت العلب تحتوي على أقل من 10 مستعمرات، يعطى عدد الأعضاء المجهرية للمليليتر الواحد على شكل أقل من 10 ت حيث "ت" هو عكس عامل التخفيف الأكثر ضعفا.

إذا كانت العلب تحتوي على أكثر من 300 مستعمرة، نقوم بالتقدير انطلاقا من العلب التي تحتوي على عدد المستعمرات القريب من 300 مستعمرة. تعطى النتيجة بذكر (العدد المقدر للأعضاء المجهرية للمليليتر الواحد).

يمكن التعبير عن النتيجة بعدد يتراوح بين 1 و9,9 مضروب في $10^{\text{س}}$ حيث "س" هو القوة المناسبة لـ10.

إذا أظهرت التجربة، بأن النتيجة المرتفعة لاختبارين مستقلين أجريا على نفس العينة، تتجاوز في أغلب الأحيان النتيجة الأدنى بنسبة 30% ، فإنه يتعين على المحلل توضيح طريقة عمله لتحديد مصدر الأخطاء.

4 – إحصاء الكوليفورم في 30°م والكوليفورم البرازي

استعمال الهلام الذي يحتوي على لاكتوز وديزوكسيكولات الصوديوم بنسبة 0,5%.

1.4 التركيب

بيبتون......................................،،.........10غ

لاكتوز ....،،..............10غ

ديزوكسيكولات الصوديوم...................0,5غ

كلورور الصوديوم...................................5غ

سترات الصوديوم.................................2غ

أغار– أغار .... من12 إلى 15غ

أحمر عادي..........................،،..........0,03غ

ماء مقطر......................................1000 ملل

2.4 التحضير

يتم التحضير فوريا. تحضر الكمية المناسبة مع عدم تعقيم في جهاز التعقيم.

تذوب المكونات أو الوسط الكامل الجاف في الماء و يترك يغلي.

يبرد الوسط بإبقائه في حمام مائي في 45°م± 0,5.

اجتناب الإفراط في تسخين الوسط : إن التسخين المطول أو المكرر، يقلل من إنتقائيته ويضر بخاصية الاختبار.

3.4 طريقة العمل

ينقل على مرتين 1 ملل من الحليب و 1 ملل من التخفيف عند 1/10(3.2) في علب بيتري معقمة يتراوح قطرها بين90 أو100 مم.

يصب 12 ملل من الهلام يحتوي على ديزو كسيكولات ثم يخلط الإينوكولوم مع الوسط . يترك ليتجمد بوضع العلب فوق سطح بارد وأفقي. عندما يتجمد الوسط، يصب حوالي 4 ملل من الوسط غير المزروع. يترك ليتجمد من جديد.

1.3.4 الكوليفورم في 30°م

توضع علب بيتري مقلوبة في مجفف في 30°م± 1 لمدة 24 ± 2 ساعة.

2.3.4 الكوليفورم البرازي

توضع علب بيتري مقلوبة في مجفف في 44°م ± 1 لمدة 24 ± 2 ساعة.

4.4 التعبير عن النتائج

1.4.4 انتقاء العلب

من أجل الحساب، يحتفظ بعلب بيتري التي تحتوي على أقل من 150 مستعمرة مميزة حمراء، داكنة يبلغ قطرها أقل من 0,5 مم.

2.4.4 طريقة الحساب

تعطى نتيجة الكوليفورم للمليلتر الواحد من الحليب، بعد إجراء المعدل الجبري للمستعمرات المحسوبة على علب مزروعة لنفس حجم العينة.

كما يمكن الحصول على النتيجة انطلاقا من المعدل الجبري بين القيم المتحصل عليها عن طريق اختبار1 ملل من الحليب و التخفيف العشري إلا في حالة ما إذا كانت نسبة القيمة الضعيفة أكبر من 2، فهنا، تؤخذ كنتيجة القيمة الأكثر ضعفا.

إذا كانت القيم متحصلا عليها انطلاقا من التخفيف العشري تضرب في عكس عامل التخفيف. يمكن التعبير عن النتيجة بعدد يتراوح بين 1 و 9,9 مضروب في 10س حيث "س"هي القوة المناسبة لـ10.

5 – إحصاء ستافيلوكوكس

استعمال هلام بيرد باركر.

1.5 التركيب

بيبتون البنكرياسي للكازيين(تربيتون).....10غ
مستخلص الخميرة.....1غ
مستخلص اللحم..... 5غ
الغليسين.....12غ
كلورور الليتيوم.....5غ
أغار–أغار .....من 12 إلى 20غ
ماء.....1000ملل

تذوب المكونات في الماء ثم تسخن حتى الغليان، و إذا اقتضى الأمر، يعدل العامل الهيدروجيني pH حيث يكون بعد التعقيم 7,2 ±0,1 في 25°م.

يوزع الوسط بمقدار 90 ملل في قارورات ذات سعة مناسبة.

يعقم بواسطة جهاز التعقيم في 121°م ±1 لمدة 15 دقيقة. يمكن حفظ الوسط لمدة شهر بين 0°م + 5° م.

2.5 الوسط الكامل و تحضير العلب

عند الاستعمال و بعد ذوبان الوسط الأساسي (1,5)، يبرد الوسط في حمام مائي في 50°م مع إضافة لـ 90 ملل :

– محلول مائي لتلوريت ا لبوتاسيوم بنسبة 1% : 1 ملل .

– محلول مائي لبيروفات الصوديوم بنسبة 20% : 5 ملل.

– مستحلب صفار البيض، ذو تركيز يقدر بحوالي20 % : 5 ملل.

الخلط بعناية عند كل إضافة ثم يصب الوسط بمقدار 28 ± 1 ملل في علب بيتري يبلغ قطرها 140 مم أو يصب 15 ملل أو 20 ملل في علب يبلغ قطرها 90 مم أو 100مم على التوالي.

يترك ليتجمد، ثم تجفف(incuber) العلب مقلوبة وبغطاء مفتوح في المجفف من 45°م و 53°م لمدة 30 دقيقة .

إجراء الزرع خلال 30 دقيقة الموالية لنهاية التجفيف (incubation)

يمكن استعمال العلب المحتوية على هلام بيرد باركر غير الجاف خلال 24ساعة في 0°م و + 5°م .

في حالة الشك عن وجود البروتوس، ننصح بإضافة محلول سولفاميزاتين.

سولفاميزاتين.....0,2غ

محلول هيدروكسيد الصوديوم 0,1 مول/ل .....10 ملل

ماء (الكمية الكافية لـ).....100ملل

يذوب سولفاميزاتين في محلول هيدروكسيد الصوديوم، يكمل إلى 100ملل بإضافة الماء.

يعقم المحلول عن طريق الترشيح على غشاء.

عند الاستعمال، وبعد ذوبان الهلام، يضاف 27,5 ملل من هذا المحلول إلى 100ملل من الوسط الأساسي.

3.5 طريقة العمل

1.3.5 الزرع

يتم زرع 1ملل من الحليب حسب شكل علب بيتري بالطريقة التالية :

علب ذات 140مم : ينشر على سطح الوسط الحجم الإجمالي بواسطة ناشر زجاجي معقم.

علب ذات 90 مم أو100 مم : توزيع 1ملل على سطح الوسط لثلاث علب بيتري على شكل ثلاثة أقسام متساوية تقريبا ثم تنشر بواسطة نفس الناشر للعلب الثلاثة.

بعد 15 دقيقة، توضع علب بيتري مقلوبة في المجفف في 37 °م ± 1 لمدة 24 إلى 48 ساعة.

2.3.5 انتقاء العلب و اختيار المستعمرات

بعد التجفيف (incubation) لمدة 24 و48 ساعة، نؤشر في قعر العلب على المستعمرات المميزة و/أو غير المميزة.

المستعمرات المميزة: مستعمرات سوداء، لامعة، محدبة محاطة بمنطقة شبه شفافة. يمكن أن يظهر في هذه المنطقة الشفافة بعد 24 ساعة، حلقة متلألئة متصلة مباشرة مع المستعمرات.

المستعمرات غير المميزة: مستعمرات سوداء لامعة، محدبة أو رمادية سوداء لديها في بعض الأحيان مظهر جامد و نسيجها جاف لا تحتوي على منطقة شفافة (ماعدا بعض المستعمرات الرمادية السوداء).

و يحتفظ من أجل الحساب، بالعلب المحتوية على أقل من 250 مستعمرة مميزة أو غير المميزة لكل علبة 140 مم وبالعلب المحتوية على 150 مستعمرة مميزة و/ أو غير مميزة لكل علبة 90 مم أو 100 مم .

من أجل اختبار الكواقولاس، تقتطع خمس مستعمرات مميزة و/ أو غير مميزة كحد أقصى، يؤخذ بعين الاعتبار العدد الخاص لكل منها.

بنفس الطريقة، تقتطع عشر مستعمرات كحد أقصى بالنسبة لحجم موزع على ثلاث أقسام أو مضعف العدد .

3.3.5 اختبار الكواقولاس

تزرع المستعمرة في مرق القلب و تجفف في المجفف في37°م لمدة 20 إلى 24 ساعة .

من أجل اختبار الكواقولاس، يستعمل بلازما الأرنب المحتوية على EDTA (حمض الأتيلين ثنائي أمين تيترا أستيك) في حالة عدم وجود هذه الأخيرة، يضاف محلول EDTA بشكل تكون نسبة التركيز النهائي في بلازما أعيد تمييهها 0,1 %.

يعتبر الاختبار إيجابي، عندما يغطي الكواقولوم اكثر من ثلاث أرباع الحجم الأولي .

4.5 التعبير عن النتائج

إذا كانت على الأقل 80 % من المستعمرات المختبرة ذات كواقولاس إيجابي، فتعتبر كل المستعمرات المحسوبة موافقة لـ ستافيلوكوكوس اوروس أويعبر عن النتيجة الإجمالية بأخذ بعين الاعتبار النسب (مستعمرات مميزة و مستعمرات غير المميزة). يمكن التعبير عن النتيجة بعدد يتراوح بين 9,9 مضروب في 10 س حيت "س" هو القوة المناسبة لـ 10.

6 – البحث عن السالمونيلا

1.6 استعمال الأوساط الكاملة المنزوع منها الماء و الموافقة للبيانات المذكورة أدناه.

2.6 طريقة العمل

1.2.6 الاغتناء الأولي

لتسهيل طريقة العمل، تقتطع بصفة نظيفة 250 ملل من الحليب لكل وحدة من الوحدات الخمس وتجمع في وعاء معقم تقدر سعته من 5,1 إلى 2 لتر.

يترك في درجة حرارة محيطية لمدة ساعة واحدة، يعدل العامل الهيدروجيني إذا اقتضى الأمر، إلى حوالي6,8. ندخل بصفة نظيفة 2,25 ملل من محلول مائي إلى 1% من الأخضر اللامع. يخلط بعناية.

يجفف بالمجفف في 37°م لمدة 20 ± 2 ساعة.

2.2.6 الاغتناء النهائي

إدخال 10 ملل من الحليب المغذي مسبقا في 100 ملل من مرق موليير- كوفمان يحتوي على تيتراتيونات والأخضر اللامع، يجفف في حمام مائي في 43° م ± 1 لمدة 48 ساعة و في 100 ملل من مرق سيلينات – سيستين، يجفف في المجفف في 37°م ± 1 لمدة 48 ساعة.

3.2.6 العزل

بعد التجفيف (incubation)، يجرى العزل انطلاقا من كل مرق. إجراء العزل على سطح وسطين مختارين صلبين يصبان من الأفضل في علب بيتري ذات 140مم.

استعمال الهلام المحتوي على الأخضر اللامع وأحمر الفينول والهلام المحتوي على سولفات بيسميث .

بسبب احتمال وجود سالمونيلا غير النموذجي ولاكتوزالموجب، نستطيع استبدال الهلام المحتوى على الأخضر اللامع وأحمر الفينول بوسط أخر مختار مثال على ذلك، هلام XLD، هلام هيكتوان.

إعادة العلب إلى المجفف في 37°م لمدة 18 إلى 20 ساعة . إذا كانت مدة التجفيف غير كافية لنمو المستعمرات، نواصل التجفيف(incubation).

إخضاع عدد كاف من المستعمرات المميزة أو المشكوك فيها لاختبارات بيوكيميائية الكلاسيكية.

★

قرار مؤرخ في 26 رجب عام 1425 الموافق 11 سبتمبر سنة 2004، يجعل منهج إحصاء الكوليفورم في القشدة المثلجة و المثلجات بالحليب إجباريا.

إن وزير التجارة ،

– بمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 90 – 39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990 والمتعلق بمراقبة 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 القرار الوزاري المشترك المؤرخ في 29 صفر عام 1414 الموافق 18 غشت سنة 1993 والمتعلق بمواصفات بعض أنواع الحليب المعد للاستهلاك وعرضه،

– وبمقتضى القرار المؤرخ في 14 صفر عام 1415 الموافق 23 يوليو سنة 1994 والمتعلق بالمواصفات الميكروبيولوجية لبعض المواد الغذائية، المعدل والمتمم،

يقرر ما يأتي :

المادة الأولى : تطبيقا لأحكام المادة 19 من المرسوم التنفيذي رقم 90 – 39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990 ، المعدل و المتمم والمذكور أعلاه ، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج لإحصاء الكوليفورم في القشدة المثلجة و المثلجات بالحليب إجباريا .

المادة 2 : من أجل إحصاء الكوليفورم في القشدة المثلجة و المثلجات بالحليب ، 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 26 رجب عام 1425 الموافق 11 سبتمبر سنة 2004.

نور الدين بوكروح

الملحق

منهج لإحصاء الكوليفورم في القشدة المثلجة والمثلجات بالحليب.

1 – التعريف

تطلق تسمية "الكوليفورم" على البكتيريات ذات الشكل العصوي وغرام سلبي وهوائية ولا هوائية اختياريا، غير مبوغة والتي تخمر اللاكتوز مع تشكل الغاز و الحمض.

2 – مبدأ الطريقة

2 .. 1– الطريقة المرجعية

تستعمل ثلاث سلاسل من التخفيفات الموازية المتحصل عليها انطلاقا من عينة من المنتوج، في زرع الوسط السائل المختار " الأخضر اللامع، اللاكتوز و الحويصل الصفراوي للبقرة" داخل أنابيب اختبار محتوية على أنبوبات دورهام Durham. تجفف الأنابيب لمدة 48 ± 2 ساعة في30 °م ± 1 .

تخضع الأنابيب الإيجابية (تشكل الغاز في أنابيب دورهام) لاختبار الإثبات و ذلك بإعادة زرع

أوز(ose) في أنبوب جديد لنفس الوسط. انطلاقا من الأنابيب التي أعطت نتيجة إيجابية بعد اختبار الإثبات، يتم تحديد العدد الأكثر احتمالا لبكتيريات الكوليفورم لغرام من المنتوج وذلك بالاستناد على جدول العدد الأكثر احتمالا (ع أ إ) لثلاث سلاسل موازية.

2 .. 2 الطريقة الروتينية

يزرع الوسط الصلب"الأحمر البنفسجي- الحويصل الصفراوي - أغار " المصب في علب بيتري مع سلسلة من التخفيفات من عينة من المنتوج.

بعد تجفيف (incubation) العلب لمدة 22 ±2 ساعة في 30 °م ±1، تحسب عدد المستعمرات الحمراء المميزة.

يعبر هذا العدد عن عدد بكتيريات الكوليفورم لغرام من المنتوج وذلك بعد ضربه في عامل التخفيف.

(يمكن استعمال طريقة الأخضر اللامع المبين في الفقرة 1.2، كطريقة روتينية، و ذلك بعد تغييرها، و في هذه الحالة، نهمل زرع السلاسل الموازية اللازمة لاستعمال جدول ع أ إ و كذا اختبار الإثبات للأنابيب الإيجابية).

3- المعايرة

1.3- معايرة المخبر

1.1.3 بالنسبة للقشدة المثلجة و المثلجات بالحليب الموجودة في رزم صغيرة، تقتطع وحدات كاملة مشحونة في رزمها الأصلية.

2.1.3 بالنسبة للقشدة المثلجة و المثلجات بالحليب غير المعبأة (الموجهة للبيع في قاعات الشاي والمطاعم، أو من طرف الموزعات الآلية للخدمة الذاتية ...الخ)، تقتطع بصفة نظيفة من 30 إلى 50غ من المنتوج الإجمالي في أماكن مختلفة بقدر الإمكان. تحفظ هذه العينات في _5 °م في قارورات ذات عنق عريض مجهزة بأغطية لولبية.

3.1.3 يجب أن تحفظ العينات (1.1.3 و 2.1.3) مجمدة قبل التحليل. و يتم نقل العينات إلى المخبر لغرض التحليل في أوعية مبردة. من الأفضل إجراء التحليل فوريا، في حالة العكس، تحفظ العينات في مكان مبرد في -15 م° كحد أقصى.

2.3 – تحضير العينات

1.2.3 – قبل زرع الوسط، تسيل العينات بالطريقة الآتية :

– بالنسبة للعينات المقتطعة وفق : 1.1.3 ينزع الرزم و توضع العينات في وعاء زجاجي معقم و مغلق.

– بالنسبة للعينات المقتطعة وفق 2.1.3، تترك في القارورات.

تسيل هاتان العينتان في أوعية أو قارورات بوضعها في حمام مائي أو مجفف في 45°م ± 1 المدة الكافية لذوبانها.

2.2.3 تخلط العينات المسيلة بعناية ثم تقتطع بصفة نظيفة 10غ (أو الوزن الأقرب بدقة) في قارورات أسطوانية و مخروطية الشكل محتوية على كريات زجاجية. يمكن استعمال ملعقة أو ماصة و هذا حسب صلابة المنتوج.

3.2.3 يضاف لـ 10غ (أو الوزن الأقرب إلى 10غ) الموجود في القارورة المحتوية على الكريات الزجاجية، 90 ملل (أو9 مرات الوزن الأقرب بدقة إلى 10غ) من محلول رينجر المخفف عند الربع و المسخن مسبقا في 45°م. بعد سد القارورة، ترج 20 مرة عن طريق حركات اهتزازية تقدر بحوالي 30 سم.

4 – التجهيزات و الأدوات الزجاجية

التجهيزات العادية للمخبر.

5 – وسط الزرع

1.5 يتركب وسط الأخضر اللامع، اللاكتوز بالحويصل الصفراوي للبقرة من مايأتي:

بيبتون.....10غ

لاكتوز 10غ

الحويصل الصفراوي للبقرة منزوع الماء 20غ

الأخضر اللامع.....0,0133غ

ماء مقطر (في جهاز زجاجي) .....،..... 1000ملل

2.5 لتحضير1000 ملل من الوسط، يذوب بيبتون و اللاكتوز في حوالي 500 ملل من الماء المقطر.

يذوب 20غ من الحويصل الصفراوي للبقرة المنزوع الماء في200 ملل من الماء المقطر. يجب أن يتراوح العامل الهيدروجيني لهذا المحلول بين 7,0 و7,5. يخلط المحلولان، يعدل العامل الهيدروجيني

المقاس بواسطة قطب زجاجي إلى 7,4، يضاف 13,3 ملل من محلول مائي إلى 0,1 % من الأخضر اللامع. يكمل الحجم إلى 1000 ملل بإضافة ماء مقطر.

3.5 يفرغ 10 ملل من الوسط (2.5) في أنابيب اختبار تكون مجهزة بأنابيب دورهام . بعد الملأ ، تعقم الأنابيب في جهاز التعقيم المعدل في 121°م لمدة 15 دقيقة . يجب أن يكون العامل الهيدروجيني بعد التعقيم 7,2 ±0,1.

لزرع 10 غ ، يتعين رفع مركبات الوسط بنسبة 100 % وأن تستوعب أنابيب الاختبار المجهزة بأنابيب دورهام 10 ملل من الوسط.

4.5 يتركب الوسط الأحمر البنفسجي – الحويصل الصفراوي – « أغار » من ما يأتي:

مستخلص الخميرة .....3 غ

بيبتون.....7 غ

أملاح الحويصل الصفراوي .....1,5 غ

لاكتوز.....10 غ

كلورور الصوديوم .....5 غ

حمر عادي (neutre) .....0,03 غ

البلور البنفسجي..... 0,002غ

الهلام .....من 10 إلى 15 غ

(حسب خصائص التجميد للهلام المستعمل)

5.5 تذوب المكونات في الماء المقطر، تترك لترتاح لبضع دقائق ثم تخلط جيدا و يعدل العامل الهيدروجيني إلى 7,4 بقياسه بواسطة قطب زجاجي. تسخن حتى الغليان مع الرج من حين لأخر، ثم نتركه يغلي لمدة دقيقتين. يبرد الوسط في 45°م ويصب في 10 ملل في كل علبة بيتري.

6.5 يجب تحضير الوسط قبل الاستعمال بقليل وأن لا يعقم في جهاز التعقيم مما قد يؤدي إلى التقليل من انتقائيته. يجب استعمال الوسط إذا أمكن الأمر، خلال الثلاث ساعات الموالية للتحضير.

7.5 يجب استعمال لهذه الأوساط (1.5 و 4.5) تحضيرا عديم الماء جاهز للاستعمال ، في هذه الحالات، يجب إتباع المواصفات التقنية بدقة كما ينبغي دائما تحضير شاهد.

6 – المخفف

محلول رينجر المخفف عند الربع . يتركب المحلول المركز مما يأتي :

كلورور الصوديوم (NaCl) 9,00غ

كلورور البوتاسيوم(KCl).....0,42غ

كلورور الكالسيوم المجفف (CaCl2).....0,24غ

بكربونات الصوديوم (NaHCO3) 0,20غ

ماء مقطر (في جهاز زجاجي) ..... 1000 ملل

للاستعمال، تضاف كمية من المحلول السابق إلى ثلاث كميات من الماء المقطر. يعقم المحلول المخفف عن طريق التسخين في 120°م لمدة 15 دقيقة.

يمكن أيضا استعمال محلول بيبتون عند0,1 % عوض من محلول رينجر المخفف عند الربع.

كما نستطيع استعمال أقراص جاهزة للاستعمال تمثل جرعة محضرة.

يجب أن تكون الكواشف من النوعية التحليلية.

7 – طريقة العمل

1.7 تحضير التخفيفات

1.1.7 للزرع المباشر للوسط المغذي

– بالنسبة للطريقة المنهجية(1.2) ، ندخل 1 ملل من العينة في ثلاث أنابيب تحتوي على 10ملل من الأخضر اللامع _ اللاكتوز و الحويصل الصفراوي للبقرة منزوع الماء و أنبوب دورهام ثم تخلط العينة بعناية مع الوسط المغذي مع تجنب تشكل فقاعات هوائية في أنابيب دورهام.

– بالنسبة للطريقة الروتينية: (2.2) نعمل بنفس الطريقة المذكورة أعلاه ولكن بإضافة 1 ملل من العينة في أنبوب واحد (عوض ثلاث أنابيب). في حالة استعمال وسط "الأحمر البنفسجي – الحويصل الصفراوي – أغار"، ندخل مباشرة1 ملل من العينة في علبة بيتري.

2.1.7 بالنسبة للتخفيفات الأخرى، نعمل كما يأتي:

– يلقح 1 ملل من الخليط (3.2.3) مباشرة في الوسط المغذي أو في علب بيتري. وبذلك نتحصل على تخفيف 10^{-1}.

– يضاف 10 ملل من الخليط (3.2.3) إلى 90 ملل من محلول رينجر المخفف عند الربع ثم يلقح 1 ملل من هذا الخليط في الأوساط المغذية أو علب بيتري. وبذلك نتحصل على تخفيف 10^{-3} بالنسبة للتخفيفات الأخرى، تتبع نفس الطريقة.

2.7 زرع الوسط

1.2.7 زرع الأنابيب بـ "الأخضر اللامع اللاكتوز والحويصل الصفراوي للبقرة":

– تزرع الأنابيب بالكمية المطلوبة للعينة والتخفيفات المناسبة بواسطة ماصة معقمة. تخلط بعناية مع تجنب تسرب الفقاعات الهوائية في أنابيب دور هام .

– زرع بالموازاة في ثلاثة أنابيب كمية من كل عينة وكمية من كل تخفيف و نعمل على ثلاث تخفيفات على الأقل، مثال 1غ ، 0,1غ و 0,01غ .

و على العموم ، ينبغي تحضير عدد كاف من التخفيفات، حتى تبقى الأنابيب الثلاث الموازية للتخفيف الأكثر ارتفاعا، سلبية.

لا تكون النتائج المتحصل عليها صحيحة، إلا باستعمال هذه الطريقة.

2.2.7 زرع علب بيتري

– يدخل في العلب1 ملل من العينة و1 ملل من التخفيفات المطلوبة.

– تفرغ في كل 10ملل من الوسط "الأحمر البنفسجي – الحويصل الصفراوي– أغار" المذوب ، الموجه إلى درجة حرارة 45 °م.

– مباشرة بعد تفريغ الوسط، يخلط مع الملقح عن طريق خمس حركات ذهابا و إيابا متبوعة بخمس حركات دائرية في اتجاه عقارب الساعة ثم بخمس حركات ذهابا و إيابا تكون عمودية في المرحلة الأولى و في الأخير خمس حركات دائرية في الاتجاه المعاكس لعقارب الساعة. بعد التجمد، يغطى سطح العلبة بـ 4 ملل من الوسط السائل و يترك يتجمد.

3.7 تجفيف الأنابيب و علب بيتري

1.3.7 تجفف الأنابيب (الفقرة2.7) لمدة48 ساعة ± 2 ساعة في 30° م ± 1 .

2.3.7 تجفف علب بيتري المحضرة كما هو مبين في الفقرة 2.2.7 أعلاه، لمدة 22 ± 2 ساعة في 30°م ± 1.

يجب احترام مدة التجفيف بدقة.

4.7 إحصاء بكتيريات الكوليفورم

1.4.7 بالنسبة للطريقة المرجعية (1.2)

يعتبر الاختبار إيجابيا، عندما يكون هناك تشكل واضح للغاز في أنابيب دورهام. يعتبر عدد الأنابيب الإيجابية التي استجابت لاختبار الإثبات (1.2) مهما لقراءة العدد الأكثر احتمالا (ع أ إ) لبكتيريات الكوليفورم وفق الجدول المبين أد ناه، في نهاية المنهج، لثلاث سلاسل موازية.

يحدد العدد الأكثر احتمالا، عدد بكتيريات الكوليفورم في حجم القشدة المثلجة أو المثلجات بالحليب، كقاعدة عامة، يتم إعداد المؤشر انطلاقا من 1غ، أو0,1غ أو0,01غ و التي تم معها زرع بالموازاة الأنابيب الثلاث الأولى.

يعبر عن عدد بكتيريات الكوليفورم بعدد الأكثر احتمالا (ع أ إ) لغرام من القشدة المثلجة و المثلجات بالحليب.

إذا كانت جميع الأنابيب إيجابية، ينبغي إعادة التحليل باستعمال تخفيفات أكثر ارتفاعا (مثال 0,1غ، أو0,01غ أو 0,001غ أو أكثر). في حالة إيجاد عدد مؤشر غير وارد في الجدول، يمكن استنتاج بأن خطأ تم ارتكابه أثناء التحليل.

2.4.7 بالنسبة للطريقة الروتينية (2.2)

1.2.4.7 بعد مدة التجفيف المحددة أعلاه، يتم حساب المستعمرات الحمراء المميزة لبكتيريات الكوليفورم بالعين المجردة.

2.2.4.7 في حالة استعمال الطريقة المبسطة (الفقرة 2.2) التي تستدعي استعمال الأخضر اللامع– اللاكتوز و الحويصل الصفراوي للبقرة ، فهنا ينبغي تحديد إلى أي تخفيف نستطيع اكتشاف تشكل للغاز في أنابيب دورهام. إن التشكل الإيجابي للغاز، يبين في أي كمية من العينة توجد بيكتيريات الكوليفورم. إذن، تسمح النتائج باكتشاف بيكتيريات الكوليفورم في 1غ، أو0,1غ، أو 0,01غ...إلخ.

8 – التعبير عن النتائج

1.8 الطريقة المرجعية (1.2)

العدد الأكثر احتمالا لواحد غرام وفق الجدول المبين أدناه .

2.8 الطريقة الروتينية (2.2).

1.2.8 عدد المستعمرات لغرام واحد = عدد المستعمرات المبينة في (1.2.4.7) يضرب في عكس التخفيف.

2.2.8 في حالة استعمال الطريقة المبسطة (2.2)، ينبغي تحديد عدد الكوليفورم الإيجابية في1 غ، و0,1غ و0,01غ....الخ.

9 – التكرار

1.9 الطريقة المرجعية (1.2)

ينبغي أن لا يتعدى الفرق بين نتائج التحديد المنجزة مرتين (نتائج المتحصل عليها في وقت واحد أو بصفة سريعة، الواحدة تلوى الأخرى من طرف نفس المحلل)، 30 % من النتيجة الصغرى.

2.9 الطريقة الروتينية (2.3)

يكفي تحديد واحد فقط.

الجدول : العدد الأكثر احتمالا (ع أإ) لثلاث سلاسل موازية

المؤشر الأنابيب الإيجابية لـ			ع أ إ (لـ 1غ)	المؤشر الأنابيب الإيجابية لـ			ع أ إ (لـ 1غ)
1غ	0,1غ	0,01غ		1غ	0,1غ	0,01غ	
0	0	0	0	2	2	3	4,0
0	0	1	0,3	2	3	0	3,0
0	1	0	0,3	2	3	1	3,5
0	1	1	0,6	2	3	2	4,0
0	2	0	0,6	3	0	0	2,5
1	0	0	0,4	3	0	1	4,0
1	0	1	0,7	3	0	2	6,5
1	0	3	1,1	3	1	0	4,5
1	1	0	0,7	3	1	1	7,5
1	1	1	1,1	3	1	2	11,5
1	2	0	1,1	3	1	3	16,0
1	2	1	1,5	3	2	0	9,5
1	3	0	1,6	3	2	1	15,0
2	0	0	0,9	3	2	2	20,0
2	0	1	1,4	3	2	3	30,0
2	0	2	2,0	3	3	0	25,0
2	1	0	1,5	3	3	1	45,0
2	1	1	2,0	3	3	2	110,0
2	1	2	3,0				
2	2	0	2,0				
2	2	1	3,0				
2	2	2	3,5				

وزارة التجارة

قرار مؤرخ في 13 ذي الحجة عام 1425 الموافق 23 يناير سنة 2005، يجعل منهج البحث عن السالمونيلا في الحليب ومنتجات الحليب إجباريا.

إن وزير التجارة ،

– بمقتضى المرسوم الرئاسي رقم 04–138 المؤرخ في 6 ربيع الأول عام 1425 الموافق26 أبريل سنة 2004 و المتضمن تعيين أعضاء الحكومة،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 90–39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990 و المتعلق بمراقبة الجودة و قمع الغش، المعدّل و المتمم،

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

– و بمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرخ في 29 صفر عام 1414 الموافق 18 غشت سنة 1993 والمتعلق بمواصفات بعض أنواع الحليب المعد للاستهلاك و عرضه،

– و بمقتضى القرار المؤرخ في 14 صفر عام 1415 الموافق 23 يوليو سنة 1994 و المتعلق بالمواصفات الميكروبيولوجية لبعض المواد الغذائية، المعدّل والمتمّم،

يقرر ما يأتي :

المادة الأولى : تطبيقا لأحكام المادة 19 من المرسوم التنفيذي رقم 90–39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990، المعدل و المتمم والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج البحث عن السالمونيلا في الحليب ومنتجات الحليب إجباريا.

المادة 2 : من أجل البحث عن السالمونيلا في الحليب ومنتجات الحليب، فإن مخابر مراقبة الجودة و قمع الغش والمخابر المعتمدة لهذا الغرض ملزمة باستعمال منهج التحليل الميكروبيولوجي المبين في الملحق. كما يجب أن يستعمل المخبر هذا المنهج عند الأمر بإجراء خبرة.

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

حرر بالجزائر، في 13 ذي الحجة عام 1425 الموافق 23 يناير سنة 2005.

نور الدين بوكروح

الملحق
منهج البحث عن السالمونيلا
في الحليب و منتجات الحليب

1– تعاريف

ضمن إطار هذه الطريقة تطبق التعاريف التالية:

1.1 السالمونيلا :

عضو مجهري دقيق، يشكل مستعمرات نموذجية فوق أوساط انتقائية، صلبة لها مميزات بيوكميائية ومصلية مبينة عند إجراء التجارب وفق هذه الطريقة.

2.1 البحث عن السالمونيلا :

يتم الكشف عن وجود أو غياب هذه الأعضاء المجهرية الدقيقة في كتلة أو حجم محدد في المنتوج، عند إجراء التجربة وفق هذه الطريقة.

2 - المبدأ :

على العموم ، البحث عن السالمونيلا يتطلب أربعة مراحل متتالية كما هو مبين في 1.2 إلى 4.2 (لاحظ كذلك كيفية العمل المبينة في الملحق)

1.2 الاغتناء المسبق في وسط سائل :

تزرع العينة المأخوذة للتجربة داخل الوسط، ثم تحضن في37°م لمدة 16 إلى 20 ساعة.

2.2 الاغتناء في أوساط سائلة انتقائية :

– يزرع وسط لرباعي التيونات و وسط سيلينيت السيستين مع الزرع المتحصل عليه في (1.2).

– يحضن الوسط لرباعي التيونات في43°م و يحضن وسط السيلينيت السيستين في37°م على مرحلتين من 18 إلى 24 ساعة.

3.2 العزل والتعريف :

انطلاقا من الزرع المتحصل عليه(2.2)، يزرع الوسطين الانتقائيين الصلبين من هلام الأحمر الفينول و الأخضراللامع و هلام السلفيت البسميث.

يحضنان في37°م ثم يختبران بعد 20 إلى24 ساعة وإن اقتضى الأمر، يختبران بعد 40 إلى48 ساعة، من أجل مراقبة وجود مستعمرات، المفترض أنها السالمونيلا بسبب خصائصها.

4.2 الإثبات :

يعاد زرع المستعمرات ، المفترض أنها السالمونيلا (3.2) والتأكد بواسطة اختبارات بيوكيميائية ومصلية مناسبة.

3- أوساط الزرع، الكواشف و الأمصال :

1.3 المكونات الأساسية :

لتحسين نسخ النتائج، ينصح باستعمال، من أجل تحضير أوساط الزرع ، مكونات منزوعة الماء في الأصل أوأوساط كاملة منزوعة الماء.

المواد الكيميائية المستعملة لتحضير أوساط الزرع و الكواشف يجب أن تكون ذات نوعية تحليلية معترف بها.

الماء المستعمل يجب أن يكون ماءا مقطرا أو خال من الأملاح المعدنية ، و خال من المواد التي بإمكانها أن تعيق نمو الأعضاء المجهرية الدقيقة في الظروف التجريبية.

عندما يحدد الهلام ، المقدار المستعمل يجب أن يتغير وفق المعلومات المذكورة لإعطاء أوساط ذات ثبات مناسب.

يجب أن تجرى قياسات العامل الهيدروجيني بواسطة جهاز خاص به يدعى جهاز العامل الهيدروجيني (pH متر). هذه القياسات ترجع إلى درجة 25°م. التعديلات الملائمة تنجز بإضافة ، إما محلول حامض الكلور يدريك لـ 1مول /لتر، و إما محلول هيدروكسيد الصوديوم لـ 1مول/ لتر.

لا تستعمل أوساط الزرع و الكواشف فورا بل يجب أن تحفظ في الظلام ، في درجة حرارة 4 ± 1° م لمدة شهر على الأكثر، في ظروف تمنع كل تغيير في تركيبها إلا في حالة وجود تعليمات مخالفة.

2.3 أوساط الزرع

1.2.3 وسط ذو اغتناء مسبق

ماء بيبتوني مثبت .

التركيب:

بيبتون..... 10,0 غ

كلورور الصوديوم ..... 5,0 غ

هيدروجينو- أورتو- فوسفات، ثنائي الصوديوم

ثنائي عشاري مميه ($Na_2HPO_4,12H_2O$.).....9,0 غ

ثنائي هيدروجينو- اورتو - فوسفات البوتاسيوم..... (KH2PO4).....1,5 غ

الماء 1000ملل

التحضير:

- تذوب المكونات في الماء حتى الغليان.

- يعدل العامل الهيدروجين (PH) بحيث بعد التعقيم يكون7،0 ± 0،1.

- يوزع الوسط بمقادير225 ملل، داخل قارورات سعتها 500 ملل(أو مضاعفات 225ملل داخل قارورات سعتها مناسبة).

- يعقم الوسط لمدة 15 دقيقة في121 ± 1°م

2.2.3 وسط للاغتناء انتقائي: مرق لرباعي التيونات (موليير- كوفمان)

الأخضر اللامع 0,5غ

الماء 100ملل

1.2.2.3 الوسط الأساسي

التركيب :

مستخلص اللحم.....5,0غ

بيبتون..... 10,0 غ

كلورور الصوديوم..... 3,0 غ

كربونات الكالسيوم 45,0غ

الماء..... 1000ملل

التحضير:

- تضاف المكونات الأساسية منزوعة الماء أو الوسط الأساسي الكامل و المنزوع الماء إلى الماء، ليصل إلى الغليان حتى الذوبان الكامل للمكونات المنحلة.

- يعدل العامل الهيدروجيني (PH) بحيث بعد التعقيم يكون7،0 ± 0،1.

- يعقم الوسط الأساسي لمدة 15 دقيقة في 121 ± 1°م

2.2.2.3 محلول تيوسلفات الصوديوم

التركيب :

تيوسلفات الصوديوم خماسي الإماهة

($Na_2S_2o_3$ $5H_2o$).....50,0غ

الماء كمية كافية لـ..... 100ملل

التحضير:

- يذوب تيوسلفات الصوديوم داخل جزء من الماء.

- يكمل إلى الحجم النهائي.

- يعقم المحلول لمدة 15 دقيقة في 121 ± 1°م

3.2.2.3 محلول اليود

التركيب :

اليود 20,0غ

إيودور البوتاسيوم 25,0غ

الماء ، كمية كافية لـ..... 100ملل

التحضير:

– يذوب إيودور البوتاسيوم داخل حجم قليل من الماء، ثم يضاف اليود.

– نرج إلى غاية الذوبان الكامل.

– يكمل إلى الحجم النهائي.

– يحفظ المحلول داخل إناء داكن مغلق بصفة كاملة.

4.2.2.3 محلول الأخضر اللامع

التركيب:

الأخضر اللامع 0,5غ

الماء 100ملل

التحضير:

– يضاف الأخضر اللامع إلى الماء .

–يحفظ المحلول على الأقل يوم واحد في الظلام للحصول على التعقيم الذاتي .

5.2.2.3 محلول مرارة البقرة

التركيب :

مرارة البقرة المجففة..... 10,0غ

الماء..... 100ملل

التحضير :

– تذوب مرارة البقرة المجففة داخل الماء حتى الغليان.

– يعقم المحلول لمدة 15 دقيقة في 121 ± 1°م

6.2.2.3 الوسط الكامل

التركيب:

الوسط الأساسي (1.2.2.3) 900ملل

محلول تيوسلفات الصوديوم (2.2.2.3) 100ملل

محلول اليود(3.2.2.3).....20 ملل

محلول الأخضر اللامع(4.2.2.3).....2 ملل

محلول مرارة البقرة (5.2.2.3).....50ملل

التحضير :

– يضاف بطهارة إلى الوسط الأساسي المكونات الأخرى بالترتيب المعطى أعلاه . نخلط بعناية المحاليل بعد كل إضافة .

– يوزع بطهارة الوسط الكامل بمقادير 100ملل ، داخل قارورات معقمة سعتها 500ملل.

– يحفظ في 0,5°م في الظلام مع استعماله في الأسبوع الموالي للتحضير.

3.2.3 أول وسط للتعريف :

هلام بالأحمر الفينول و الأخضر اللامع (إدال وكامبلماشر)

1.3.2.3 الوسط الأساسي

التركيب :

مستخلص مسحوق اللحم 5,0غ

بيبتون..... 10,0غ

مستخلص مسحوق الخميرة.....3,0غ

هيدروجينو– اورتو– فوسفات ثنائي الصوديوم (Na_2HPO_4) 1,0غ

ثنائي هيدروجينو– اورتو– فوسفات الصوديوم(NaH_2PO_4).....0,6غ

أغار– أغار ..... 12,0 إلى 18,00غ

الماء..... 900 ملل

التحضير:

– تذوب المكونات الأساسية منزوعة الماء أو الوسط الأساسي الكامل المنزوع الماء داخل الماء حتى الغليان.

– يعدل العامل الهيدر وجيني بحيث بعد التعقيم يكون 7،0 ± 0،1.

– يوزع الوسط الأساسي داخل أنابيب أو في قارورات معقمة سعتها القصوى 500 ملل.

2.3.2.3 محلول السكر بأحمر الفينول

التركيب :

لاكتوز.....10,0غ

سكاروز 10,0غ

أحمر الفينول..... 0,09غ

الماء، كمية كافية لـ..... 100ملل

التحضير:

– تذوب المكونات في الماء.

– تسخن داخل الحمام المائي لمدة 20 دقيقة في70°م.

– تبرد في 55°م مع استعمالها مباشرة .

3.3.2.3 الوسط الكامل

التركيب :

الوسط الأساسي (1.3.2.3).....900 ملل

محلول سكر الأحمر الفينول(2.3.2.3).....100ملل

محلول الأخضر اللامع(4.2.2.3).....1ملل

التحضير:

– يضاف بطهارة محلول الأخضر اللامع إلى محلول سكر الأحمر الفينول المبرد في55°م.

– يضاف إلى الوسط الأساسي المذوب و المثبت في50°م إلى 55°م ويخلط.

4.3.2.3 تحضيرالعلب :

– يوزع الوسط الكامل المبرد في45°م، بكميات حوالي15ملل داخل علب بيتري المعقمة قطرها 90 مم ويترك ليتجمد.

– قبل الاستعمال، تجفف و بعناية علب الوسط الهلامي من الأفضل بعد سحب الأغلفة و تقليب العلب داخل محضن أو مجفف معدل في50 ± 5°م لمدة30 دقيقة.

– يجب عدم الاحتفاظ بعلب الوسط الهلامي غير الجافة، أكثر من 4 ساعات في درجة حرارة المخبر أو أكثر من 24 ساعة في 0°م إلى5°م.

4.2.3 ثاني وسط للتعريف : هلام لسلفيت البسميث

التركيب :

بيبتون 10,0غ

مستخلص البقرة 5,0غ

غلوكوز 5,0غ

هيدروجينو- اورتو- فوسفات ثنائي الصوديوم.....4,0غ

سولفات الحديد.....(II).....0,3غ

سيترات البسميث أمونياكال..... 1,85غ

سلفيت الصوديوم 6,15غ

أغار- أغار 20,0غ

الأخضر اللامع..... 0,025غ

الماء 1000ملل

التحضير :

– تذوب المكونات في الماء حتى الغليان لمدة حوالي دقيقة واحدة.

– يعدل العامل الهيدروجيني(PH) إلى 7،7 ± 0،1.

- يبرد بين 45°م و50°م مع الخلط ببطء الراسب المعلق.

– لا يعقم الوسط.

– يوزع الوسط، بكميات 20 ملل داخل علب بيتري معقمة قطرها (90 مم) و يترك ليتجمد.

– مباشرة قبل الاستعمال، تجفف و بعناية علب الوسط الهلامي و من الأفضل بعد أن تسحب الأغلفة وتقلب العلب، داخل محضن أو مجفف معدل في 50 ± 5°م. لمدة30 دقيقة.

– تستعمل العلب الجافة بين 24 و48 ساعة بعد تحضيرها. تحفظ في الظلام.

5.2.3 الهلام المغذي

التركيب :

مستخلص اللحم..... 3,0غ

بيبتون 5,0غ

أغار-أغار 12,0غ

الماء..... 1000ملل

التحضير:

– تذوب المكونات منزوعة الماء للوسط أو الوسط الكامل المنزوع الماء داخل الماء، حتى الغليان.

– يعدل العامل الهدروجيني (PH) بحيث بعد التعقيم يكون7،0 ± 0،1.

– يوزع وسط الزرع داخل أنابيب أو قارورات معقمة سعتها القصوى500 ملل.

– يعقم الوسط لمدة 20 دقيقة في 121± 1°م

تحضير علب الهلام المغذي

تسكب حوالي 15 ملل من الوسط الذائب داخل علب بيتري المعقمة (قطرها 90 مم) و تنجز مثل ما هو مذكور في (4.3.2.3).

6.2.3 الهلام بسترات الحديد و بثلاثة أنواع من السكر(هلامTSI)

التركيب:

مستخلص اللحم.....3,0غ

مستخلص الخميرة..... 3,0غ

بيبتون 20,0غ
كلورور الصوديوم..... 5,0غ
لاكتوز..... 10,0غ
سكاروز 10,0غ
غلوكوز 1,0غ
سيترات الحديد(III) 0,3غ
تيوسلفات الصوديوم..... 0,3غ
أحمر الفينول 0,024غ
أغار- أغار..... 12,0غ
الماء 1000ملل

التحضير:

- تذوب مكونات الوسط منزوعة الماء أو الوسط الكامل المنزوع الماء داخل الماء حتى الغليان.
- يعدل العامل الهيدروجيني (PH) بحيث يكون بعد التعقيم 7،4 ± 0،1.
- يوزع الوسط بمقادير10 ملل داخل أنابيب قطرها بين 17و18مم.
- يعقم الوسط لمدة 10 دقائق في 121 ± 1°م
- يترك للراحة في وضعية مائلة من خلالها نتحصل على راسب عمقه 2,5 سم و بميل مقدر بين 4 و 5 سم.

7.2.3 هلام من أجل البحث على إنزيم اليورياز (كليريستينسان).

1.7.2.3 الوسط الأساسي

التركيب :

بيبتون..... 1,0غ
غلوكوز 1,0غ
كلورور الصوديوم 5,0غ
ثنائي هيدروجينو- اورتو- فوسفات البوتاسيوم (KH_2PO_4).....2,0غ
احمر الفينول 0.012غ
أغار- أغار..... 15,0غ
ماء..... 1000ملل

التحضير:

- تذوب المكونات الأساسية منزوعة الماء أو الوسط الكامل المنزوع الماء في الماء حتى الغليان .
- يعدل العامل الهيدروجيني PH إذا اقتضى الأمر بحيث بعد التعقيم يكون 6،8 ± 0،1.

- يعقم الوسط الأساسي لمدة 15 دقيقة في121 ± 1°م

2.7.2.3 محلول اليوريا :

التركيب :

اليوريا..... 400غ
الماء، كمية كافية لـ 1000ملل

التحضير:

- تذوب اليوريا في الماء.
- يعقم بالترشيح و يراقب التعقيم. (حسب تقنية التعقيم بالترشيح).

3.7.2.3 الوسط الكامل :

التركيب :

الوسط الأساسي (1.7.2.3) ..... 950 ملل
محلول اليوريا (2.7.2.3) 50ملل

التحضير:

- يضاف بطهارة محلول اليوريا إلى الوسط الأساسي المذوب مسبقا، ثم يبرد في 45°م.
- يوزع الوسط الكامل بمقادير10ملل داخل أنابيب معقمة .
- يترك للراحة في وضعية مائلة.

3.2.8 وسط لاختزال الكربون لليزين

التركيب :

أحادي هيدروكلورور- ل- لين 5,0غ
مستخلص الخميرة 3,0غ
غلوكوز 1,0غ
أرجواني بروموكريزول..... 0,015غ
الماء 1000ملل

التحضير:

- تذوب المكونات في الماء حتى الغليان.

يعدل العامل الهيدروجيني(PH) بحيث بعد التعقيم يكون7،0 ± 0،1.

- يوزع الوسط بكميات 5 ملل داخل أنابيب الزرع قطرها حوالي 8 مم و طولها حوالي 160مم
- يعقم الوسط لمدة 10 دقائق في 121 ± 1°م.

3.3 الكواشف :

1.3.3 محلول مالح :

التركيب :

كلورور الصوديوم 8,5غ
الماء 1000ملل

التحضير :

– يذوب كلورور الصوديوم داخل الماء حتى الغليان.

– يعدل العامل الهيدروجيني (pH) بحيث يكون بعد التعقيم 7,0±0,1.

– يوزع المحلول داخل قارورات أو أنابيب، بحيث بعد التعقيم، تكون تحتوي على90 إلى 100ملل من المحلول.

– يعقم المحلول لمدة 15 دقيقة في 121 ± 1°م.

2.3.3 كواشف للبحث علىB – غلاكتوزيداز :

1.2.3.3 التوليان :

2.2.3.3 محلول مثبت :

التركيب :

ثنائي هيدرو– اورتو– فوسفات الصوديوم (NaH_2PO_4).....6,9غ

هيدروكسيد الصوديوم، محلول لحوالي0.1 مول/لتر ..... 3 ملل

الماء، كمية كافية لـ 50ملل

التحضير :

– يذوب ثنائي هيدروجينو – اورتو– فوسفات الصوديوم داخل حوالي 45 ملل من الماء.

– يعدل العامل الهيدروجيني (pH) في 7,0±0,1 بواسطة حوالي 3 ملل من محلول هيدروكسيد الصوديوم.

– يكمل إلى 50 ملل بالماء .

3.2.3.3 محلول اورتو نيتروفينول-B-D- غلكتوبير انوزيد (ONPG)

التركيب :

(ONPG).....0,08غ

الماء 15ملل

التحضير :

– تذوب (ONPG) داخل الماء في 50°م

– يبرد المحلول.

4.2.3.3 الكاشف الكامل :

التركيب :

محلول مثبت (2.2.3.3) .....5 ملل

محلول (ONPG) (3. 2.3.3.) .....15 ملل

التحضير :

يضاف محلول مثبت إلى محلول(ONPG)

3.3.3 كواشف من أجل تفاعل فوجس – بروسكاور (V.P)

(طريقة سريعة لباري و فني)

1.3.3.3 وسط V.P :

التركيب :

بيبتون ..... 7,0 غ

غلوكوز.....5,0غ

هيدروجينو– اورتو– فوسفات ثنائي البوتاسيوم ..... K_2HPO_4.....5,0غ

الماء 1000ملل

التحضير :

– تذوب المكونات داخل الماء.

– يعدل العامل الهيدروجيني(pH) بحيث بعد التعقيم يكون 7,0±0,1.

– توزع 3 ملل من الوسط داخل كل أنبوب.

– يعقم الوسط لمدة 15 دقيقة على الأكثر في121 ±1°م

2.3.3.3 محلول الكرياتين :

التركيب :

كرياتين أحادي الإماهة (ن– اميدينوساركوزين).....0,5غ

الماء 100ملل

التحضير:

يذوب الكرياتين أحادي الإماهة داخل الماء.

3.3.3.3 محلول إيتانوليك نافتول –1

التركيب :

نافتول -1.....6غ

إيتانول (96% (ح/ح) 100ملل

التحضير :

يذوب النافتول -1 داخل الإيتانول.

4.3.3.3 محلول هيدروكسيد البوتاسيوم :

التركيب :

هيدروكسيد البوتاسيوم 40غ

الماء..... 100ملل

التحضير :

يذوب هيدروكسيد البوتاسيوم داخل الماء .

4.3.3 كواشف من أجل تفاعل الإندول :

1.4.3.3 وسط تريبتون- تريبتوفان (ل- جيتوف) :

التركيب :

تريبتون 10غ

كلورور الصوديوم 5غ

د- ل تريبتوفان 1غ

الماء 1000ملل

التحضير :

- تذوب المكونات داخل الماء حتى الغليان، يرشح.

- يعدل العامل الهدروجيني (pH) بحيث بعد التعقيم يكون 7,5±0,1.

- توزع 5 ملل من الوسط في كل أنبوب .

- يعقم الوسط لمدة 15 دقيقة في121 ± 1°م

2.4.3.3 كاشف الكوفاكس :

التركيب :

ثنائي ميتيل لارنينو -4 بنزا الدهيد 5غ

حمض كلوريدريك، 1,18 إلى 1,19غ/ملل 25ملل

مثيل – 2 بوتانول- 2..... 75 ملل

التحضير :

تخلط المكونات.

5.3.3 الهلام المغذي النصف صلب :

التركيب :

مستخلص اللحم 3,0غ

بيبتون 5,0غ

أغار- أغار 4إلى 9غ

الماء..... 1000ملل

التحضير:

- تذوب المكونات الأساسية منزوعة الماء داخل الماء حتى الغليان .

- يعدل العامل الهدروجيني(pH) بحيث بعد التعقيم يكون 7,0±0,1.

- يوزع الوسط داخل قارورات سعتها القصوى 500ملل.

- يعقم الوسط لمدة 15 دقيقة في121 ± 1°م.

تحضير علب الهلام :

- يوزع الوسط الكامل ، حديث التحضير، داخل علب بيتري بكميات 15ملل، يجب أن لا تجفف العلب.

4.3 أمصال :

يمكن أن توجد عدة أمصال ضد السالمونيلا تحتوي على واحد أو عدة مجموعات صنف"0" (تسمى مضادات المصل "0" أحادي الاختصاص أو متعدد الاختصاص) . مضادات المصل VI ومضادات المصل المحتواة على مضادات حيوية لواحد أو عدة عوامل "H" (تسمى مضادات المصل "H " أحادي الاختصاص) تتبع إرشادات الاستعمال لكل مصل.

4 - الأجهزة و الأواني :

التجهيزات العادية للمخبر الميكروبيولوجي، لا سيما :

1.4 الأجهزة :

1.1.4 أجهزة التعقيم بالحرارة الجافة (مثل الفرن أو بواسطة الحرارة الرطبة (جهاز التعقيم) :

يجب أن تكون الأجهزة الملامسة لأوساط الزرع ، المخفف و العينة، معقمة ما عدا المعقمة مسبقا خاصة التي تكون من البلاستيك :

- سواء بالفرن المثبت في درجة حرارة تتراوح بين 170°م و175°م لمدة ساعة على الأقل.

- أو بواسطة جهاز التعقيم المثبت في 121 ±1° لمدة 20 دقيقة على الأقل .

جهاز التعقيم ضروري أيضا لتعقيم أوساط الزرع و كذلك الكواشف. يجب أ ن يكون معدل في 121 ±1°م

2.1.4 جهاز للتجفيف: محضن أو مجفف ، مهوي (يسمح بتجفيف سطح الأوساط الهلامية المسكوبة داخل العلب) ، معدلة في50 ±5°م.

3.1.4 محضن معدل في 37 ± 1°م .

4.1.4 حضن معدل في 43 ± 0.5°م.

5.1.4 حمام مائي معدل في 45 ±1°م وفي37 ±1°م

6.1.4 أجهزة المجانسة :

يجب استعمال إحدى التجهيزات التالية :

أ) جهاز تجانس دوراني ، يعمل بتواتر دوراني يقدر ما بين 8000 و 45000 دورة/ دقيقة بواسطة إناء زجاجي أومعدني, مزود من الأحسن بأغلفة مقاومة لظروف التعقيم.

ب) جهاز تجانس من نوع البيريستالتيكي (péristaltique) مع أكياس بلاستيكية معقمة .

يجب أن تكون سعة الأواني أو الأكياس البلاستيكية، كافية لإجراء الخلط الصحيح للعينة المأخوذة للتجربة مع المخفف. على العموم ، حجم الإناء يجب أن يعادل مرتين حجم العينة و كذا المخفف.

7.1.4 أسلاك الزرع الحلقية : من البلاتين غير مجعدة أو من النيكل- كروم قطرها حوالي 3 مم .

8.1.4 جهاز لقياس العامل الهيدروجيني: (يسمح بقياس العامل الهيدروجيني (PH) للأوساط والكواشف المحضرة) بتدقيق مثبت لـ± 0,1 وحدة (PH) في 25°م.

9.1.4 ثلاجة : تستعمل لحفظ الأوساط والكواشف المحضرة معدلة بين 0°م – 5°م.

2.4 الأواني الزجاجية :

يجب أن تكون الأواني الزجاجية لها قابلية المقاومة ضد التعقيم المتكرر.

1.2.4 قارورات الزرع : من أجل التعقيم و حفظ أوساط الزرع وكذا تحضين الأوساط السائلة .

2.2.4 أنابيب الزرع : قطرها 8 مم و طولها 160مم، من أجل وسط منزوع الكربون لليزين.

3.2.4 قنينة مدرجة : من أجل تحضير الأوساط الكاملة

4.2.4 ماصات مدرجة : سعتها 10,25 و 1ملل، مدرجة بالتسلسل 0,5 و0,1 ملل .

5.2.4 علب بيتري.

5 - المعايرة :

تتم المعايرة وفق شروط مناسبة.

6 - تحضير العينات للتجربة :

1.6 الحليب :

– رج بقوة العينة المأخوذة للتجربة لتحقيق توزيع عادل للأعضاء المجهرية ، بحيث تقلب و بسرعة 25مرة الإناء و بداخله العينة، يجب تجنب تشكل الرغوة أو تترك لتتحلل.

– يجب أن لا تتعدى المدة بين الخلط و اقتطاع العينة المأخوذة للتجربة 3 دقائق.

2.6 الحليب الجاف، مسحوق مصل الحليب أو مسحوق مخاض الزبدة ، لاكتوز ، كازيين :

– يخلط بعناية محتوى الوعاء المغلق بالرج اليدوي مع التقليب بطريقة متكررة ، إذا كان الوعاء جد مملوء، وللوصول إلى رج مقبول، يؤخذ وعاء أكبر منه يسمح بالخلط.

3.6 الزبدة :

– تذوّب العينة داخل إناء معقم داخل حمام مائي مثبت في 45° ±1°م (5.1.4).

- يرج عند التذويب ثم يسحب الإناء مباشرة من الحمام المائي عندما تكون العينة كاملة الذوبان

4.6 الجبن :

عادة ما تمثل عينة واحدة (1) للمخبر ، العينة المأخوذة للتجربة مكونة لعينة التجربة.نجري التجربة مثل ما هو مبين في (5.1.7)

5.6 مثلجات للاستهلاك :

نعمل بنفس الإجراءات المعمول بها في حالة الزبدة (3.6) لكن مع استعمال حمام مائي مثبت في 37°م (5.1.4) بحيث أن العينة لا تتجاوز درجة الحرارة هذه .

6.6 الحليب المخمر، الياهورت، القشدة المحلية :

يخلط محتوى الوعاء المغلق ، مع التحريك باليد و قلب الوعاء بطريقة متكررة ، ثم يفتح الوعاء و يخلط المحتوى بطهارة بواسطة ملعقة معقمة.

7 – طريقة العمل :

1.7 العينة المأخوذة للتجربة والاغتناء المسبق :

– ندخل العينة المأخوذة للتجربة داخل الوسط المغتني مسبقا وننجز العملية مثل ما هو مبين في (1.1.7)إلى (7.1.7).

- من أجل اختصار طرق العمل للاغتناء و الاغتناء المسبق، يرجع إلى الجدول1.

1.1.7 الحليب :

الاغتناء المسبق غير ضروري، يرجع إلى(2.7) باستعمال على التوالي 25 ملل من العينة المأخوذة للتجربة و 225 ملل من الوسط المغذي.

2.1.7 الحليب الجاف :

تحضر قارورة مسدودة محتواة على 225 ملل من الماء المقطر معقم و 1ملل من محلول الأخضراللامع (4.2.2.3) توزن بطهارة 25غ من العينة المأخوذة للتجربة و تسكب على سطح السائل الموجود داخل القارورة.

تسد القارورة ، مع عدم الخلط ، يترك للراحة في درجة حرارية عادية لمدة 60 ± 10دقيقة ، هذا قبل التحضين. تعديل العامل الهيدروجيني (PH) غير ضروري .

إذا كان الحليب الجاف لم ينحل بعد 3 ساعات من التحضين ، يخلط محتوى القارورة بالرج .

3.1.7 الحليب الجاف، مخاض زبدة الحليب الجاف:

– يوزن بطهارة، 25غ من العينة المأخوذة للتجربة داخل قارورة مسدودة محتواة على 225 ملل من الماء المقطر المعقم.

– يرج إلى غاية الانحلال و يضاف 1ملل من الأخضر اللامع (4.2.2.3)

4.1.7 لاكتوز :

يوزن بطهارة 25غ من العينة المأخوذة للتجربة داخل قارورة مسدودة محتواة على 225 ملل من الوسط المغتني مسبقا (1.2.3) مع الرج إلى غاية الانحلال.

5.1.7 كازيين الجبن :

– توزن وبصفة نظيفة 25غ من العينة المأخوذة للتجربة داخل وعاء معقم مرفق بجهاز المجانسة ذ و سرعة كبيرة أومن النوع بيريستالتيك (Péristaltique).

(6.1.4) مع إضافة 225 ملل من الوسط المغتني مسبقا (1.2.3) في45°م.

– تخلط إلى غاية أن تكون العينة كاملة التوزيع (من 1 إلى 3 دقائق)

– التأكد من أن درجة حرارة التوزيع لا تتعدى 45°م.

6.1. 7 الزبدة :

ترج العينة المأخوذة للتجربة المذوبة وبواسطة ماصة مع إيصالها إلى درجة حرارية قدرها 45°م، مع إدخال 25 ملل داخل قارورة محتواة على225 ملل من الوسط المغذي مسبقا (1.2.3)مع الخلط.

7.1.7 منتجات الحليب المجمدة

(بما في ذلك مثلجات الاستهلاك):

تدخل بواسطة ماصة 25 ملل من العينة للتجربة و المذوبة داخل قارورة محتواة على 225 ملل من الوسط المغذي مسبقا (1.2.3) مع الخلط.

8.1.7 الحليب المخمر، ياهورت، قشدة محلية :

– توزن بطهارة 25 غرام من العينة للتجربة داخل قارورة مسدودة محتواة على كريات زجاجية و على225 ملل من الوسط المغذي مسبقا (1.2.3) مع الرج من أجل الانحلال.

– يراقب العامل الهيدروجيني (PH) ويعدل إذا اقتضى الأمر إلى7،0 ما لم توجد تعليمات مخالفة لذلك

9.1.7 التحضين :

تحضن القارورات المحضرة وفق (2.1.7)إلى (8.1.7) في37°م لمدة 16- 20 ساعة.

2.7 الاغتناء :

1.2.7 : ننقل بواسطة ماصة 10ملل من الوسط المغذي مسبقا المحضن (1.7) في قارورة محتواة على100ملل من الوسط المغذي الانتقائي برباعي التيونات(2.2.3).

في حالة الحليب، ننقل وبطهارة 25 ملل من العينة المأخوذة للتجربة في 225 ملل من الوسط برباعي تيونات (2.2.3)

2.2.7 : يحضن الوسط بالرباعي التيونات المزروع لمدة 18 إلى 24 ساعة في 43° ± 0.5°م.

3.7 الزرع و التعريف :

1.3.7 : انطلاقا من الزرع للوسط المغذي، يزرع بواسطة سلك الزرع سطح العلبة المعبأة بالهلام المكون من الأخضراللامع و الأحمر الفينول(3.2.3) وعلبة أخرى معبأة بهلام سلفيت البيسميث (4.2.3) بطريقة تسمح بنمو مستعمرات جد منفصلة.

يعاد وضع وسط الاغتناء للتحضين (لاحظ 3.3.7)

2.3.7 : تحضن العلب (مقلوبة) في37 ± 1° م. لمدة 24-20 ساعة.

3.3.7 : بعد تحضين القارورات لمدة 18-24 ساعة تعاد عمليات الزرع و كذلك التحضين المذكورة في (1.3.7و 2.3.7)

4.3.7 بعد التحضين تختبر العلب (2.3.7 و3.3.7) للبحث على وجود مستعمرات مطابقة للسالمونيلا. إذا كان النمو ضعيفا ولا توجد مستعمرات مطابقة للسالمونيلا، تحضن من جديد العلب في 37 ± 1° م.لمدة 18-24 ساعة ويعاد اختبار العلب من أجل البحث عن المستعمرات المطابقة للسالمونيلا.

5.3.7 : المستعمرات المطابقة للسالمونيلا يمكن أن تتميز على النحو الآتي :

– تكون المستعمرات المطابقة للسالمونيلا على الهلام بالأخضر اللامع /أحمر الفينول (3.2.3) وردية محاطة بالأحمر.

– تكون المستعمرات المطابقة للسالمونيلا على الهلام بالسلفيت البسيميث (4.2.3) بنية أو سوداء مع بريق معدني، بعض السلالات تعطى مستعمرات خضراء.

جدول 1- الموجز لطرق العمل

للاغتناء المسبق والاغتناء

المادة	كمية العينة	الوسط المغذي مسبقا *	طريقة التحضير	الوسط المغذي
الحليب	50 ملل 2 x 25 ملل	لايوجد	تخلط	225 ملل من رباعي التيونات
حليب جاف	25غ	ماء مقطر + محلول الأخضر اللامع	يبلل لمدة 60 ± 10 دقائق لا يخلط**	100 ملل من رباعي التيونات
مصل الحليب الجاف مخاض زبدة جافة	25غ	ماء مقطر + محلول الأخضر اللامع	تخلط	100 ملل من رباعي التيونات
لاكتوز	25غ	225 ملل ماء بيتوني مثبت	يخلط	100 ملل من رباعي التيونات
كازيين، الجبن	25غ	225 ملل ماء بيتوني مثبت	يخلط في 45°م على الأكثر	100 ملل من رباعي التيونات
الزبدة	25غ	225 ملل ماء بيتوني مثبت	يخلط	100 ملل من رباعي التيونات
منتوجات حليبية مجمدة	25ملل	225 ملل ماء بيتوني مثبت	يخلط	100 ملل من رباعي التيونات
حليب مخمر ياهورت قشدة محلية	25غ	225 ملل ماء بيتوني مثبت	يخلط	100 ملل من رباعي التيونات

* إذا كان الوسط المغذي مسبقا قد أستعمل بعد التحضين لمدة 20 ساعة في37°م، نعيد زرع 10ملل من العينة المحضنة و تخلط مع الوسط المغذي مسبقا داخل الوسط المغذي .

** إذا لم يذوب الحليب الجاف بعد 3 ساعات من التحضين، يخلط محتوى القارورات عن طريق الرج.

4.7 الإثبات :

1.4.7 اختيار المستعمرات من أجل الإثبات :

انطلاقا من كل علبة لكل الأوساط الاختيارية (5.3.7)، تقتطع 5 مستعمرات نموذجية أو مشبوهة أو لو وجدت أقل من5 مستعمرات نموذجية أو مشبوهة. تقتطع كلها للإثبات.

2.4.7 التحضين :

تزرع المستعمرات المختارة على سطح علب الهلام المغذي (5.2.3) بطريقة تسمح بنمو المستعمرات جد منفصلة و تحضن العلب في37 ± 1°م لمدة 18-24 ساعة.

بعد التحضين، يحتفظ بالمستعمرات النقية الجد منفصلة من أجل الإثبات البيوكميائي و المصلي.

3.4.7 الإثبات الببوكيميائي :

بواسطة خيط للزرع، تزرع الأوساط الآتية بواسطة المستعمرات الخالصة.

1.3.4.7 هلام بسترات الحديد و بثلات أنواع من السكر(TSI) (6.2.3) :

يزرع ميل الهلام بطريقة الخطوط ويزرع في القعر بالوخز.

يحضن لمدة 24 ساعة في37 ± 1°م.

تفسر تغييرات الوسط بالطريقة الآتية :

القعر :

لون أصفر.....غلوكوز إيجابي(تخمر الغلوكوز)

لون أحمر أو عدم تبدله .....غلوكوز سلبي(عدم تخمر الغلوكوز)

اللون الأسود.....تشكيل كبريت الهيدروجين.

فقاعات أو تشققات..... تكوين غازات انطلاقا من الغلوكوز

الميل :

لون أصفر.....لاكتوز و/أو سكاروز موجب (تخمر اللاكتوز و/ أو السكاروز).

لون أحمر أو عدم تبدله ..... لاكتوز و سكاروزسالب (عدم تخمر اللاكتوز ولاالسكاروز).

2.3.4.7 هلام للبحث عن إنزيم اليوريا (7.2.3) :

يزرع بطريقة الخطوط ميل الهلام. يحضن لمدة 24 ساعة في37 ± 1°م. عندما يكون التفاعل موجبا، ينتج إنزيم اليوريا تسرب الأمونياك و يعمل على تحويل الأحمر الفينول إلى اللون الوردي ثم إلى اللون الأحمر العاتم.

3.3.4.7 وسط اختزال كربون الليزين (8.2.3) :

– يزرع الوسط مباشرة تحت سطح السائل.

– يحضن لمدة 24ساعة في 37 ± 1°م.

لون بنفسجي بعد التحضين يدل على تفاعل موجب.

لون أصفر يدل على تفاعل سلبي.

4.3.4.7 كاشف للبحث على B - غلاكتوزيداز (2.3.3) :

- يوضع على شكل معلق قبضة من المستعمرة المشبوهة داخل أنبوب يحتوي على 0.25 ملل من المحلول الملحي (1.3.3).

– ثم تضاف قطرة من التوليان، ثم يرج الأنبوب.

– يوضع الأنبوب داخل حمام مائي في37 ± 1°م. لعدة دقائق.

– يضاف 0,25 ملل من الكاشف للبحث عن

B - غلاكتوزيداز ، ثم يخلط.

– يعاد وضع الأنبوب داخل الحمام المائي في37 ± 1°م. لمدة 24 ساعة .

– لون أصفر يدل على تفاعل موجب.

– التفاعل عادة مرئي في حدود20 دقيقة.

5.3.4.7 وسط لتفاعل فوكس بروسكاور (V.P) (3.3.3) :

– يزرع أنبوبان بواسطة معلق لقبضة من المستعمرة المشبوهة داخل 0.2 ملل من وسط(V.P) (1.3.3.3) داخل كل أنبوب.

– يحضن أنبوب في درجة حرارة عادية والآخر في37 ± 1°م. لمدة24 ساعة.

– بعد التحضين يضاف إلى كل أنبوب قطرتين من محلول الكرياتين (2.3.3.3)، 3 قطرات من محلول إيتانوليك النافتول– 1 (3.3.3.3) ، ثم قطرتان من محلول هيدروكسيد البوتاسيوم (4.3.3.3)، يخلط الأنبوبان بعد إضافة كل كاشف .

تغير اللون الوردي إلى اللون الأحمر الفاتح خلال 15 دقائق يدل على تفاعل موجب.

6.3.4.7 وسط من أجل تفاعل الأندول (4.3.3) :

- يزرع بواسطة جزء من المستعمرة أنبوب يحتوي على 5 ملل من وسط تريبتون- تريبتوفان (1.4.3.3)

– يحضن لمدة24 ساعة في37 ± 1°م.

– بعد التحضين ، تضاف قطرتين أو ثلاث قطرات من كاشف الكوفاكس (2.4.3.3).

و تشكل حلقة حمراء تدل على تفاعل موجب.

وتشكل حلقة صفراء بنية تدل على تفاعل سالب.

الجدول 2 تفسير النتائج

تجارب الإثبات	تفاعل موجب أو سالب	النسبة المئوية لسلالة السالمونيلا الممثلة للتفاعل
غلوكوز TSI (تكوين حمض) (1.3.4.7)	+	100
غلوكوز TSI(تشكل غاز) (1.3.4.7)	+	91,9
لاكتوز TSI (1.3.4.7)	(1)-	99,2
سكاروز TSI (1.3.4.7)	-	99,5
كبريتات الهيدروجين TSI (2.3.4.7)	+	91,6
تفكيك اليوريا (2.3.4.7)	-	100
اختزال كربون الليزين (3.3.4.7)	+	94,6
تفاعل B -غلاكتوزيداز (4.3.4.7)	(2)-	98,5
تفاعل فوكس بروسكاور (VP) (5.3.4.7)	-	100
تفاعل الاندول (6.3.4.7)	-	98,9

تفسير التجارب البيوكيميائية :

تفسير النتائج وفق الجدول2 :

الجدول 2 تفسيرالنتائج (أنظر جدول2)

(1) السالمونيلا متفرعة من النوع الثالث (أريزونا) تعطي تفاعل موجب أو سالب باللاكتوز ولكن دائما تفاعل موجب لـ B – غلاكتوزيداز .

(2) لسالمونيلا من النوع الثاني ، تعطي تفاعل سلبي للاكتوز، و لكنها يمكن أن تعطي تفاعل موجب لـ B– غلاكتوزيداز.

4.4.7 منهج التشخيص السريع :

إن مناهج التشخيص السريع أنظر إلى التنبيه في (1.3) يمكن أن تستعمل في مكان العمليات المبينة في (3.4.7) من أجل الإثبات البيوكيميائي للمستعمرات النموذجية أو المشكوك فيها .

في هذه الحالة، فإن تعليمات الاستعمال يجب أن تتبع بدقة .

5.4.7 الإثبات المصلي :

يجرى الكشف عن وجود مولدات الضد O، H،Vi للسالمونيلا بواسطة تخثر على سطح صفيحة بواسطة أمصال مناسبة ، فوق مستعمرات نقية (1.4.7) بعد التخلص من السلالات ذات التخثر الذاتي.

1.5.4.7 التخلص من السلالات ذات التخثر الذاتي:

– توضع على سطح صفيحة جد نظيفة قطرة من محلول مالح (1.3.3).

– يوزع داخل هذه القطرة جزء من المستعمرة (2.4.7) لمحاولة الحصول على معلق متجانس ومعكر .

– تخضع الصفيحة إلى تذبذب لمدة 30 إلى 60 ثانية.

– ملاحظة النتائج على قعر أسود و من المستحسن بواسطة عدسة مكبرة .

– تعتبر السلالات ذاتية التخثر إذا تجلطت الجراثيم إلى أكداس على الأقل متشابهة. يعتبر الإثبات المصلي لهذه السلالات ذاتية التخثر مستحيل من خلال طريقة العمل المبينة في (2.5.4.7)،(3.5.4.7) و(4.5.4.7).

2.5.4.7 إظهار لمولد الضدO :

- تستعمل سلالات خالصة (2.4.7) غير ذاتية التخثر (1.5.4.7).

– تجرى العملية كما هو مبين في (1.5.4.7) لكن باستعمال قطرة من المضاد المصلي O. (4.3) عوض المحلول المملح .

– تستعمل الأمصال أحادية أو متعددة الخدمات الواحدة تلوى الأخرى .

3.5.4.7 إظهار لمولد الضد Vi :

تنجز العملية كما هو مذكور في (2.5.4.7) لكن باستعمال قطرة من المضاد المصلي Vi (4.3) عوض المحلول المملح .

4.5.4.7 إظهار لمولد الضد H :

– يزرع الهلام المغذي النصف صلب (5.3.3)بواسطة سلالة خالصة غير ذاتية التخثر (1.5.4.7)

– يحضن الوسط لمدة 18 إلى 24 ساعة في 37 ± 1°م

يُستعمل هذا الزرع لاختبار مولد الضد H كما هو مذكور في (2.5.4.7)، باستعمال قطرة من المضاد المصلي H (4.3) عوض المحلول المملح .

5.5.4.7 تفسير التفاعلات المصلية :

إذا وجد تخثر ، اعتبرت التفاعلات إيجابية .

6.4.7 تفسير التفاعلات البيوكيميائية والمصلية

1.6.4.7 تعتبر السلالات سالمونيلا إذا قدمت تفاعلات بيوكيميائية نموذجية (3.4.7) وتعطي تفاعلات مصلية موجبة كما هو مبين في (5.4.7).

2.6.4.7 السلالات التي تظهر تفاعلات بيوكيميائية نموذجية (3.4.7) ولكن لا تعطي تفاعلات مصلية موجبة وفق (5.4.7.)، السلالات التي لا تقدم تفاعلات بيوكيميائية نموذجية (3.4.7) و لكن تعطي تفاعلات مصلية موجبة وفق (5.4.7.). و السلالات ذاتية التخثر و التي تظهرتفاعلات بيوكيميائية نموذجية (3.4.7)يمكن أن تكون سالمونيلا .

3.6.4.7 إذا لم تظهر السلالات تفاعلات بيوكيميائية نموذجية (3.4.7) ولا تعطي تفاعلات مصلية موجبة وفق (5.4.7.) لا تعتبر سالمونيلا.

7.4.7 الاثبات النهائي

بالنسبة للسلالات التي تعتبر سالمونيلا(1.6.4.7) أو التي يمكن اعتبارها كذلك (2.6.4.7) يجب اجراء تعريف للسالمونيلا من أجل إثبات التبيان النهائي من التفاعل المصلي .

8 – زرع المراقبة

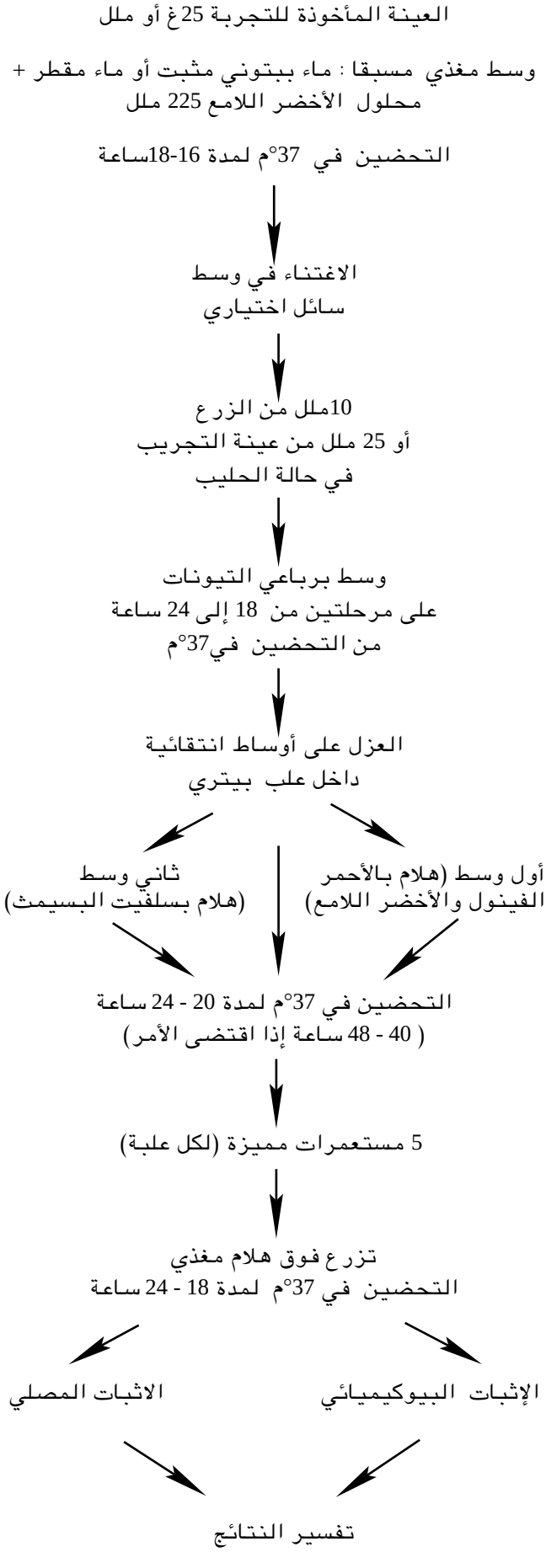
من أجل التحقق من قدرة الأوساط الاغتناء والتأكد من تحمل نمو السالمونيلا، يجب استعمال سلالة مرجعية لسالمونيلا حديثة العزل من أجل مراقبة أوساط الاغتناء (لاحظ 2.7)

يجب أن تتبع عمليات المراقبة، تلك الخاصة بالزرع و أجهزة التجريب، ليظهر لنا زرع المراقبة إيجابي.

9. تفسير النتائج

وفق نتائج التفسير، يصرح بوجود أو غياب السالمونيلا في العينة المأخوذة للتجربة، مع تحديد الكتلة بالغرام أو الحجم بالميليلتر، من المنتوج المجرب.

مخطط لطريقة العمل



قرار مؤرخ في 13 ذي الحجة عام 1425 الموافق 23 يناير سنة 2005، يجعل منهج التحليل الميكروبيولوجي للزبدة إجباريا.

إن وزير التجارة ،

– بمقتضى المرسوم الرئاسي رقم 04–138 المؤرخ في 6 ربيع الأول عام 1425 الموافق26 أبريل سنة 2004 و المتضمن تعيين أعضاء الحكومة،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 90–39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990 و المتعلق بمراقبة الجودة و قمع الغش، المعدل و المتمم،

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

– و بمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرخ في 29 صفر عام 1414الموافق 18 غشت سنة 1993 والمتعلق بمواصفات بعض أنواع الحليب المعد للاستهلاك وعرضه،

– و بمقتضى القرار المؤرخ في 14 صفر عام 1415 الموافق 23 يوليو سنة 1994 و المتعلق بالمواصفات الميكروبيولوجية لبعض المواد الغذائية، المعدل والمتمم،

– و بمقتضى القرار المؤرخ في 21 شعبان 1419 الموافق 10 ديسمبرسنة 1998 و المتعلق بالمواصفات التقنية للزبدة وكيفيات وضعها للاستهلاك،

يقرر ما يأتي :

المادة الأولى : تطبيقا لأحكام المادة 19 من المرسوم التنفيذي رقم 90–39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير 1990، المعدل و المتمم والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج للتحليل الميكروبيولوجي للزبدة إجباريا.

المادة 2 : من أجل التحليل الميكروبيولوجي للزبدة، فإن مخابر رقابة الجودة و قمع الغش وتلك المعتمدة لهذا الغرض ملزمة باستعمال منهج التحليل الميكروبيولوجي المبين في الملحق.

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

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

حرر بالجزائر، في 13 ذي الحجة عام 1425 الموافق 23 يناير سنة 2005

نور الدين بوكروح

الملحق

منهج للتحليل الميكروبيولوجي للزبدة

1- المعايرة :

يجب أن تتم الرقابة على خمسة وحدات جاهزة التعبئة تنتمي لحصة من نفس الإنتاج .

يتكون الاقتطاع حسب الكتلة الموضبة داخل التغليف، مما يأتي :

- وزن الوحدة أقل من 1 كلغ : 5 وحدات جاهزة التعبئة سليمة يبلغ وزنها من 125غ إلى 250غ.

- وزن الوحدة أكبر من 1كلغ : انطلاقا من 5 وحدات جاهزة التعبئة، تقتطع 5 قطع، وزن القطعة الواحدة يبلغ حوالي 200غ. يتم الاقتطاع بواسطة آخذة الزبدة(sonde à beurre) أو الاقتطاع من الوحدات الجاهزة التعبئة بطهارة، قطعة من المنتوج هرمية الشكل يبلغ وزنها من 300غ إلى 400غ .

يخص هذا العدد من الوحدات جاهزة التعبئة المراد فحصها الزبدة و الأجسام الدسمة ذات قاعدة مكونة من مادة دسمة من الزبدة .

بالنسبة للزبدة المركزة، تتم الرقابة على عينة تمثل الوحدة المصنعة ، ينجز الاقتطاع حسب الطرق المبينة .

تنقل الاقتطاعات و تحفظ إلى حين إجراء التحليل في درجة حرارة موجبة لا تتعدى+6°م.

2 – تحضير العينة للتجربة

1.2 – وحدة جاهزة التعبئة :

نزع ورق التغليف بعناية دون نزع الطبقة السطحية، تنقل 50غ من المنتوج في أنبوب الطرد المركزي معقم ومجهز بسدادة لولبية .

2.2 الاقتطاع المنجز بواسطة آخذة الزبدة

ينقل بطهارة 50غ من المنتوج إلى أنبوب الطرد المركزي .

3.2 الاقتطاع على شكل كتلة هرمية

بواسطة سكين منظف بالكحول و ممرر على اللهب، يتم نزع الطبقة السطحية على عمق 1سم تقريبا و يدخل 50غ من المنتوج بطهارة، داخل أنبوب الطرد المركزي.

يحفظ داخل الثلاجة بين 0°م و +5°م إلى حين تحضير المرحلة السائلة .

3 – تحضير المرحلة السائلة، التخفيف الأولي

1.3 - الزبدة الطازجة و الزبدة المبسترة :

داخل أنبوب الطرد المركزي المحتوي على 50غ من الزبدة، نضيف 42 ملل من محلول ذو تركيز 2% من فوسفات ثنائي البوتاسيوم، العامل الهيدروجيني (pH) 7,5 ± 0,1 معقم (4).

إجراء عملية الذوبان داخل حمام مائي لا يتعدى 45°م.

عند ذوبان الزبدة، إنجاز عملية الطرد المركزي بسرعة دورانية تبلغ 1000 - 2000 دورة/ د لمدة دقيقة أو دقيقتين . نضع أنبوب الطرد المركزي على حامل .

تنزع المادة الدسمة عن طريق الامتصاص بواسطة ماصة قصيرة أو قمع من مادة اصطناعية معقم مثبت على حافة أنبوب مطاطي متصل بكرة ذات أنبوبين متصلين بقنينة فارغة (فخ) وهي بدورها متصلة بمضخة مائية .

تغير الماصة أو القمع بعد كل عينة . يجرى التحليل البكتيريولوجي في الحين .

2.3 جسم دسم ذو قاعدة من مادة دسمة مصنوعة من الزبدة :

طريقة تحضير التخفيف الأولى مماثلة لما جاء في (1.3) إلا أنه يتم حساب كمية المحلول ذي تركيز 2%من فوسفات ثنائي البوتاسيوم و العامل الهيدروجيني 7,5 ± 0,1 (pH) حسب كمية الدهون التي يحويها المنتوج و على سبيل المثال:

- منتوج يحتوي على كمية دهون تتراوح بين 38غ % و 41غ % ، استعمال 20 ملل من المخفف .

- منتوج يحتوي علي كمية من الدهون أكبر أوأقل من 38غ % و41غ %. لكمية من المنتوج تقدر بـ 50غ ، استعمال حجم من المخفف يساوي نصف كمية الدهون الموجودة في 100غ من المنتوج .

3.3 الزبدة المركزة :

طريقة تحضير التخفيف الأولي مماثلة لتلك المبينة في (1.3) وإنما يستعمل كمخفف محلول تريبتون- ملح (الرجوع إلى 4) بمقدار 50 ملل .

بالاستناد إلى التركيبة النموذجية لكل منتوج ، يقبل بصفة متفق عليها بأن 1ملل من المرحلة السائلة، تخفيف أولي، يمثل 1غ من المنتوج .

4 –المخففات و تحضير التخفيفات العشرية

1.4 المخففات :

يستعمل مخففان، ولأسباب عملية، يوزع محلول بتركيز 2% من فوسفات ثنائي البوتاسيوم والعامل الهيدروجيني (pH) 7,5 ± 0,1 ومحلول تربتون – ملح (أو محلول رينجر) بحيث يكون الحجم بعد التعقيم يساوي 50 ملل .

2.4 التخفيفات العشرية :

عند الاستعمال، يوزع محلول تريبتون – ملح (أو محلول رينجر) بمقدار 9 ملل في أنابيب معقمة ذات أبعاد 20 مم x200 مم.

يمزج التخفيف الأولي كما يجب عن طريق الامتصاص و الدفع 10مرات بواسطة ماصة معقمة تبلغ سعتها 1 ملل ثم يدخل 1ملل في أنبوب يحتوي على 9 ملل من محلول معقم من تريبتون ملح و ذلك من أجل الحصول على تخفيف 1/10.

يمزج جيدا لمدة 5 إلى 10 ثوان بواسطة جهاز الرج الدوراني خارج دائرة المركز.

و بنفس الطريقة يتم تحضير التخفيف إلى 1/100 والتخفيف إلى1/1000.

5 – التعبير عن النتائج:

لكي تسمح التحاليل البكتيريولوجية بتقييم أمثل لنوعية النظافة في صناعة الزبدة النيئة، والزبدة المبسترة، والأجسام الدسمة ذات قاعدة من مادة دسمة مصنوعة من الزبدة و الزبدة المركزة , يستوجب الامتثال إلى طريقة العمل هذه و ذلك لتفادي حدوث فروقات ذات طابع تقني .

– مدة الفحص البكتيريولوجي: يجب أن لا تتعدى الفترة الزمنية الفاصلة بين نهاية تحضير التخفيف الأولي ومزج التخفيفات مع وسط الزرع، مدة 15 دقيقة.

– درجة حرارة التحضين و تبريد الأوساط : يجب مراقبة كل الأجهزة المستعملة، المجفف والحمام المائي، بصفة دورية (مرتين في الشهر على الأقل)

– قراءة النتائج : حسب البيانات الواردة . إلا أنه عندما لا يمكن التعبير عن النتائج بشكل صحيح، يتعين إعادة التحليل بفحص مجموعة أوسع من التخفيفات . إذا وقع الفحص ما بعد أجال الاستهلاك (تاريخ نهاية أو الأمثل للاستهلاك)، ينبغي تدوين ذلك على كشف التحليل .

– نوعية أوساط الزرع : بصفة عامة ، يوصى باستعمال أوساط كاملة منزوعة الماء.

1.5 – الأعضاءالمجهرية الدقيقة الهوائية في 30°م المسماة الملوثة :

يطبق هذا الإحصاء على الزبدة المبسترة و يتعلق بالاعضاء المجهرية الدقيقة الناجمة من مختلف التلوثات التي يمكن أن تحدث خلال صنع الزبدة. يجب استبعاد جراثيم اللبن (الحليب) التي تم زرعها داخل القشدة وفق التكنولوجية المستعملة من هذا الإحصاء .

1.1.5 – الوسط المستعمل :

التركيب :

جليزات 7,5غ

تريبتيكاز أو تريبتون 7,5غ

كلورور الصوديوم.....5غ

هلام (خالية من هيدرات الكربون) 4غ

ماء مقطر .....1000 ملل.

يعدل العامل الهيدروجيني (pH) بحيث يكون بعد التعقيم يساوي 7,6 ± 0,1 في 25°م.

يعقم في جهاز التعقيم في121°م لمدة 15 دقيقة .

يحفظ في الثلاجة لمدة شهر على الأكثر .

2.1.5 الزرع :

وضع بشكل مضاعف في علب بيتري 1ملل من التخفيف 10^{-1},1 ملل من التخفيف 10^{-2} مع احتمال إضافة 1ملل من التخفيف 10^{-3} صب من 12 إلى 15ملل من الوسط ثم يخلط الإينوكولوم جيدا مع الوسط .

يترك ليبرد و بعد التصلب يوضع للتحضين في 30°م لمدة 48 ساعة ثم في 20 ± 1° م لمدة 48 ساعة.

3.1.5 قراءة العلب :

يحتفظ من أجل العد بالعلب التي تحتوي ما بين 10 و 300 مستعمرة . إحصاء كل المستعمرات مع تفادي حساب المستعمرات على شكل « قمة إبرة » و التي تمثل مستعمرة لبنية (حليب) .

إلا أنه، يمكن لبعض السلالات لأنواع اللبن (الحليب) أن تنمو بصفة منسجمة، لذلك يجب الانتباه إلى المظهر المرفولوجي المنتظم ، مستعمرات عدسية أو دائرية وعليه فإنه ينصح بإجراء اختبار الكاطلاز الذي يجب أن يكون سلبيا بالنسبة لأنواع الحليب .

4.1.5 التعبير عن النتائج :

حساب عدد الأعضاء المجهرية الدقيقة الملوثة في ميليلترمن التخفيف الأولى، أي في غرام من الزبدة وفق طريقة الحساب الآتية :

– الحالة التي لا يؤخذ فيها سوى بتعداد تخفيف واحد :

إجراء حساب المعدل الجبري .

– الحالة التي لا يؤخذ فيها سوى بتعداد تخفيفين متتاليين :

نطبق القاعدة الآتية :

$$\frac{\sum \text{م}}{(\text{ع}_1 + 0{,}1\,\text{ع}_2)\ \text{ت}}$$

حيث : م $\sum$: هو المجموع الكلي للمستعمرات المحسوبة .

ع : 1 عدد العلب المحسوبة في التخفيف الأول .

ع : 2 عدد العلب المحسوبة في التخفيف الثاني.

ت : عامل التخفيف الذي تم من خلاله الحصول على تعداد أولي.

الحد التحليلي المسموح به : 3 م أي 3×10^{3}.

2.5 الأعضاء المجهرية الدقيقة الهوائية في 30°م:

يطبق هذا الإحصاء على الزبدة المركزة .

1.2.5 الوسط : استعمال الوسط المسمى بـ (بلات كونت أغار) المضاف إليه الحليب .

2.2.5 الزرع : يوضع بشكل مضاعف في علب بيتري 1 ملل من المرحلة السائلة التخفيف الأولى ومع احتمال إضافة 1 ملل من التخفيف 10^{-1}. يصب من 12 إلى 15 ملل من الوسط ثم يمزج الإينوكولوم جيدا مع الوسط. يترك ليبرد و بعد التصلب، يوضع للتحضين في30°م لمدة72 ساعة .

3.2.5 قراءة العلب :

يحتفظ من أجل العد بالعلب التي تحتوي على 10 إلى300 مستعمرة. يتم إحصاء كل المستعمرات، باستعمال عدسة مكبرة 1,5 على الأكثر إذا اقتضى الأمر.

4.2.5 التعبير عن النتائج :

يحسب عدد الأعضاء المجهرية الدقيقة الهوائية لميليلتر واحد من التخفيف الأولى، أي في غرام من الزبدة المركزة حسب ما جاء في (4.1.5)

الحد التحليلي المسموح به : 3 م أي $1{,}5 \times 10^{-3}$.

3.5 بكتيريا الكوليفورم في 30°م:

1.3.5 الوسط :

وسط هلام بـدي أوكسي كولات :

التركيب :

بروتيوز بيبتون 10غ

لاكتوز.. 10غ

دي أوكسي كولات الصوديوم...................... 0,5غ

كلورور الصوديوم.. 5غ

سيترات الصوديوم..................................... 2غ

أغار.. 15غ

أحمر معتدل.. 0,03غ

ماء مقطر 1000ملل

يحضر الوسط مباشرة قبل الاستعمال ولايعقم .

2.3.5 الزرع :

وضع بشكل مضاعف في علب بيتري 1 ملل من المرحلة السائلة التخفيف الأولي و مع احتمال إضافة 1 ملل من التخفيف 10^{-1} . يصب الوسط بمقدار 15ملل تقريبا يمزج الإينوكولوم جيدا مع الوسط. يترك ليبرد ثم تصب طبقة ثانية حجمها 4 إلى 5 ملل من الوسط غير المزروع . بعد التصلب ، توضع العلب للتحضين في30°م لمدة22 إلى24 ساعة .

3.3.5 قراءة العلب :

يحتفظ من أجل العد بالعلب التي تحتوي على 150 مستعمرة على الأكثر و حساب المستعمرات الحمراء المميزة النموذجية التي يبلغ قطرها 0,5 مم على الأقل، عندما يكون القطر صعب التقدير، يعاد زرع المستعمرة داخل أنبوب به مرق لاكتوزي و به حمض الصفراء و الأخضر اللامع و يوضع في المجفف في30°م لمدة 24 إلى 48 ساعة لملاحظة تخمر اللاكتوز.

4.3.5 قراءة النتائج :

يحسب عدد بكتيريا الكوليفورم في 1 ملل من التخفيف الأولى ، أي في غرام من المنتوج وفق طريقة الحساب المبينة في (4.1.5) .

الحد التحليلي المسموح به : 3 م بالنسبة للزبدة المبسترة و الأجسام الدسمة ذات قاعدة من مادة دسمة مصنوعة من الزبدة أي30 : غياب السماح بالنسبة للزبدة المركزة، مخطط ذو رتبتين .

4.5 ستافيلوكوكوس أوروس :

1.4.5 الوسط : هلام بيرد باركر، (E.T.G.P.A)

يصب الوسط الكامل بمقدار 15 إلى20 ملل في علب بيتري قطرها 90 أو100 مم على التوالي.

بعد التصلب، تجفف العلب مقلوبة، بأغطية مفتوحة قليلا في جهاز التجفيف مضبوط في 45°م و55°م لمدة 30 دقيقة (أو في درجة محيطية لمدة ساعتين (2).

بالنسبة لعلب بيتري قطرها 140 مم يصب 28 ملل من هلام بيرد باركر .

في حالة الشك في وجود بكتيريا بروتيوس، ينصح بإضافة محلول السالفاميزاتين .

سالفاميزاتين..... 0،2غ

محلول هيدروكسيد الصوديوم (0,1 مول). 10 ملل

ماء (كمية كافية لـ).....100 ملل

قبل توزيع و تعقيم هلام بيرد باركر، يضاف لكل لتر من الوسط 27,5 ملل من محلول سالفاميزاتين.

2.4.5 الزرع :

يوزع 1 ملل من المرحلة السائلة على سطح هلام بيرد باركر في علبة بيتري قطرها 140 مم، أو ثلاثة علب بيتري قطرها 90 إلى 100 مم على شكل ثلاثة تجزئات متساوية إلى أقصى حد، ثم توزع على السطح بواسطة ناشر زجاجي معقم . يترك الوسط يتبلل لمدة 15دقيقة في درجة حرارة محيطية. يحضن في37°م لمدة 24 إلى48 ساعة.

3.4.5 قراءة العلب و اختيار المستعمرات :

بعد 24 و48 ساعة من التحضين ، يؤشر عمق العلب ، على المستعمرات المميزة و/ أو غير المميزة .

المستعمرات المميزة : مستعمرات سوداء، لماعة ومحدبة، محاطة بمنطقة شفافة يمكن أن تكون شبه شفافة . بعد 24 ساعة، يمكن أن يظهر في هذه المنطقة الشفافة حلقة عاتمة ملامسة مباشرة للمستعمرات .

المستعمرات غير المميزة : مستعمرات سوداء ولماعة محدبة، أو رمادية مسودة، تتصف أحيانا بمظهر شاحب ونسيج جاف، لا تحيط بها منطقة شفافة (ما عدا بعض المستعمرات الرمادية المسودة).

يحتفظ من أجل العد، بالعلب التي تحتوي على 150 مستعمرة على الأكثر ، المميزة و/ أو غير المميزة .

يتم إحصاء المستعمرات بحسب مظهرها .

من أجل إجراء اختبار الكواغلاس(مع احتمال إجراء اختبار الترمونكلواز) يقتطع عدد من المستعمرات المميزة و/ أو غير المميزة يساوي الجذر التربيعي للعدد الإجمالي للمستعمرات الموجودة في علبة أو ثلاث علب بيتري و يؤخذ بعين الاعتبار عددها على التوالي .

عندما يتم توزيع الحجم في علبة بيتري قطرها 140 مم، يجب فحص 5 مستعمرات على الأقل و إذا كان العدد أقل من خمسة فإنه يتم اقتطاعها كلها، في حالة توزيع الحجم على ثلاثة تجزئات ، 10 مستعمرات على الأقل يتم فحصها، وعندما يكون العدد أقل، تقتطع كل المستعمرات .

4.4.5 التعبير عن النتائج :

يتم حساب عدد ستافيلوكوكوس اوريوس في مليلتر من التخفيف الأولى، أي في غرام من المنتوج مع ترجمة النتائج المتحصل عليها كما يأتي:

تعتبر النتائج المشكوك فيها بالنسبة لاختبار الكوغولاس موجبة، إذا كان اختبار الترمونيكلوياز موجب.

إذا كان80% على الأقل من المستعمرات المفحوصة ذات كواغولاس إيجابي، يعتبر العدد المفترض الحصول عليه من خلال العد، ممثلا لعدد ستافيلوكوكوس أوروس.

و إلا يعبرعن النتيجة الإجمالية بأخذ بعين الاعتبار نسب المستعمرات المميزة و غير المميزة، التي هي كواغولاس أو الترمونيكلوياز موجب .

إذا تم فحص عدة تخفيفات، تطبق طريقة الحساب الموضحة في (.4.1.5)

الحد التحليلي المسموح به :

– 3 م بالنسبة للزبدة النيئة، الزبدة المبسترة والأجسام الدسمة ذات قاعدة من مادة دسمة مصنوعة من الزبدة .

– لا يوجد الحد المسموح به بالنسبة للزبدة المركزة ، مخطط ذو رتبتين .

5.5 البحث عن السالمونيلا :

1.5.5 الاغتناء الأولي :

مرق لاكتوزي بالأرجوان بروموكريزول :

يوزع المرق بمقدار 1125 ملل في أوعية سعتها 2 لتر وفتحة واسعة .

يعقم في جهاز التعقيم في 121°م لمدة 15 دقيقة .

– الاغتناء :

يستعمل وسط يوزع بمقدار 100 ملل في أوعية ذات سعة مناسبة، يتم تحضيره مباشرة قبل الاستعمال.

– مرق بالرباعي ثيونات الصوديوم (مولي وكوفمان) و مزود إذا اقتضى الأمر، بالنفوبيوسين ذات تركيز نهائي40 ميكروغرام / ملل من الوسط .لا يعقم الوسط.

العزل :

يوصى باستعمال الهلامات الانتقائية الآتية :

– هلام بالأخضر اللامع و أحمر الفينول (إيدال وكومبل ماكر) .

– هلام بسلفيت البيسميت (ويلسن بلار) .

– هلام (كزيلوزليزين دي كربوكسيلاز) (XLD) تستعمل الأوساط التي يسمح بغليانها.

– هلام هيكتوان .

لتفادي حدوث تفاعلات غير ملائمة لنمو السالمونيلا من طرف بعض الهلامات الانتقائية ، يوصى بمايأتي:

يجب استعمال الهلامات الانتقائية بعد24 ساعة أو في اليوم الذي يلي تحضيرها على الأكثر.

– يجب تفادي تعقيم الأوساط.

– يجب تجفيف العلب المحضرة من الأفضل في درجة حرارة محيطية، مثلا ، حوالي ساعتين (2) في 25°م يحتفظ بالأوساط في الظلام في نفس درجة الحرارة أو داخل ثلاجة .

2.5.5 الاغتناء الأولي (اليوم أ) :

للتخفيف من حجم العمل ، يقتطع من كل أنبوب من الأنابيب الخمس لجهاز الطرد المركزي المحتوية على المرحلة السائلة، 25 ملل منها و تجمع داخل وعاء تبلغ سعته 2 لتر يحتوي على 1125 ملل من مرق لاكتوز بالأرجواني بروموكريزول .

– يمزج جيدا ، يترك ساعة واحدة في درجة حرارة محيطية.

– يحضن في 37°م لمدة 22 ± 2 ساعة .

تتم القراءة بعد مرور18 إلى 20 ساعة، إذا كان النمو غير كاف، يعاد تحضينه من جديد لمدة 20 إلى 24 ساعة.

3.5.5 تقنيات الاغتناء و العزل :

العمل وفق المخطط الآتي:

اليوم أ + 24 ساعة

الاغتناء

بزرع 10 ملل من المزرعة المغتنية أوليا في

↓

100 ملل من الوسط رباعي تيترا ثيونات الصوديوم المحضن في حمام مائي في 43°م لمدة 24 و48 ساعة

↓

اليوم أ + 48 ساعة العزل

بواسطة سلك حلقي على هلامين منتقيين :

1 – هلام بالأخضر اللامع و أحمر الفينول أو هلام بسلفيت البيسميت.

2 – هلام(XLD) (كزيلوزليزين دي كربوكسيلاز) أو هلام هيكتوان .

اليوم أ + 72 ساعة

إعادة عمليات العزل كما هو موضح في اليوم أ + 48 ساعة .

تحضن الهلامات الانتقائية في37°م.

إجراء قراءة أولية بعد18 إلى 20 ساعة، إذا كان النمو غير كاف، يعاد التحضين من جديد لمدة 20 إلى 24 ساعة .

4.5.5 اختيار المستعمرات و التأكيد :

الاستناد على البيانات المبينة في الطريقة المتعلقة بالبحث عن السالمونيلا .

5.5.5 البحث المصلي :

يتم إخضاع السلالات التي تستجيب إلى الخصائص البيوكيميائية للسامونيلا ، أو مشكوك كونها سالمونيلا ، إلى التحقق عن طريق الاختبارات المصلية .

6.5.5 التعبير عن النتائج :

عندما تكون العينة المركبة عديمة السالمونيلا، فإن المنتوج مطابق للمواصفات المطلوبة.

إذا كانت العينة المركبة تحتوي على السالمونيلا، فإنه ينصح بإعادة فحص الخمس وحدات كل واحدة على حدى.

بالنسبة للسالمونيلا، يطبق مخطط ذو رتبتين دون وجود الحد المسموح به في التحليل.

قرار مؤرخ في 13 ذي الحجة عام 1425 الموافق 23 يناير سنة 2005، يجعل منهج اقتطاع العينات والتحليل البكتيريولوجي للمثلجات و القشدة المثلجة إجباريا.

إن وزير التجارة ،

– بمقتضى المرسوم الرئاسي رقم 04–138 المؤرخ في 6 ربيع الأول عام 1425 الموافق26 أبريل سنة 2004 و المتضمن تعيين أعضاء الحكومة،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 90 – 39 المؤرخ في3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990 و المتعلق بمراقبة الجودة و قمع الغش، المعدّل و المتمّم،

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

– و بمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرخ في 29 صفر عام 1414 الموافق 18 غشت سنة 1993 والمتعلق بمواصفات بعض أنواع الحليب المعد للاستهلاك وعرضه،

– و بمقتضى القرار المؤرخ في 14 صفر عام 1415 الموافق 23 يوليو سنة 1994 و المتعلق بالمواصفات الميكروبيولوجية لبعض المواد الغذائية، المعدّل والمتمّم،

يقرّر ما يأتي :

المادة الأولى : تطبيقا لأحكام المادة 19 من المرسوم التنفيذي رقم 90 – 39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990، المعدّل و المتمّم والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج اقتطاع العينات و التحليل البكتيريولوجي للمثلجات و القشدة المثلجة إجباريا.

المادة 2 : من أجل اقتطاع العينات و التحليل البكتيريولوجي للمثلجات و القشدة المثلجة ، فإن مخابر مراقبة الجودة و قمع الغش والمخابر المعتمدة لهذا الغرض ملزمة باستعمال منهج التحليل الميكروبيولوجي المبين في الملحق.

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

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

حرر بالجزائر، في 13 ذي الحجة عام 1425 الموافق 23 يناير سنة 2005.

نور الدين بوكروح

الملحق

منهج اقتطاع العينات و التحليل البكتيريولوجي للمثلجات والقشدة المثلجة

1 – اقتطاع المثلجات والقشدة المثلجة

أ – الأدوات المستعملة

1 – قارورات زجاجية سعتها 350 ملل، عريضة الفتحة محاطة بالسلكات من نوع (بيراكس) مسدودة بواسطة غطاء معدني ملولب، يحتوي على غطاء وسطي الذي يتم استبداله بعد كل تعقيم. تحتوي هذه القارورات على كريات زجاجية من نوع بيراكس. تحضر و تعقم بالمخبر.

2 – خزينة الجليد

3 – أدوات الاقتطاع

ملاعق معدنية معقمة ذات قبضة طويلة، أنابيب معدنية معقمة من نوع مسبار خاصة بالجبن المثقوب يشكل مكبس يتوغل داخل الأنبوب .

4 – مصباح من البوتان (من نوع مصباح التلحيم)

5 – ثلج كربوني أو خليط من الجليد مكدس والملح

هذا الخليط من الجليد المكدس والملح يعبأ في أكياس بلاستيكية مغلقة بإحكام .

ب . تقنيات الاقتطاع

1 – كمية المنتوج المراد اقتطاعها : حوالي 100 غرام .

2 – تقنيات الاقتطاع

يجب أن تنجز عملية اقتطاع المثلجات و القشدة المثلجة بأخذ كل احتياطات النظافة اللازمة خاصة فيما يتعلق بفتح و غلق القارورات .

أ) المثلجات والقشدة المثلجة الموضبة

– الموجودة داخل رزم من الورق

يمدد الورق و تسرب المثلجات داخل القارورة دون اللمس باليد. إذا تعلق الأمر بمثلجات من نوع مصاصة، تقطع العصية بصفة نظيفة إلى حافة المثلجات .

– الموجودة داخل رزم من الورق المقوى (الكارطون)

توضع في المساء، قارورات الاقتطاع داخل خزينة الجليد مع أكياس محتواة على جليد للتبريد . عند الاقتطاع ، يتم إخراج القشدة المثلجة بصفة نظيفة من رزم ورق المقوى ووضعها مباشرة داخل قارورات . تعوض الأكياس بالجليد الكربوني أو بأكياس أخرى محتواة على خليط جليد+ ملح.

ب) المثلجات والقشدة المثلجة المقدمة من طرف البائع بالملعقة

– تستعمل أجهزة البائع دون تمريرها على اللهب.

ج) المثلجات و القشدة المثلجة المباعة بنصف لتر أو لتر واحد.

نستعمل ملعقة حديدية مشتعلة.

د) المثلجات و القشدة المثلجة المبيعة عن طريق جهاز التوزيع.

– تؤخذ العينة مباشرة من فوهة الجهاز .

و) المثلجات والقشدة المثلجة المجمدة

– يستعمل أنبوب معدني مكونا مجرافا والذي يتم إخضاعه إلى إلهاب جد خفيف أثناء الاقتطاع (لا يتعدى 50°م). بواسطة مصبار مكونا لمكبس يدفع بالمثلجات لوضعها داخل القارورة.

– تؤخذ جميع احتياطات العمل في المجال البكتيريولوجي بالنسبة لفتح و غلق قارورات الاقتطاع خاصة في فتح القارورة في آخر المطاف.

تمرير اللهب على ثقب القارورة و الجهة السفلى من الغطاء قبل إدخال المقتطع بقليل و كذلك عند غلق القارورة .

II – التحليل البكتيريولوجي للمثلجات والقشدة المثلجة

1 – تحضير العينات

أ) الإجراء الأول

توضع القارورات المستخرجة من الجليد الكربوني أو من الثلج داخل المجفف أوفي الحمام المائي في37°م لمدة ساعة واحدة على الأكثر. يتعين عدم تجاوز هذه المدة و إلا وصلنا إلى بداية مرحلة اللوغاريتمية للنمو . في المجال العملي يتم مراقبة هذا التسخين في37°م و إيقافه في أقرب أجال ممكنة .

إذا تم تحضير المثلجات في الجليد الكربوني، يتعين على أعوان المخبر أن يتخلصوا من هذا الجليد الكربوني مباشرة خارج المخبر .

تجرى التخفيفات عند1/100.000 بواسطة محلول تريبتون– الملح.

و لكن انطلاقا من التخفيف1/100، ننجز تخفيفا عند 200 /1 و كذلك تخفيف عند1/1000.

ب) الإجراء الثاني

توضع المثلجات داخل الثلاجة في+4° م / +6°م إلى غاية مرحلة الذوبان.

تعتبر هذه الطريقة أفضل من الإنجاز الأول بالنسبة للعينات الصغرى (100 إلى 200 غ) ، لأن الذوبان سريع و لا يلائم تضاعف البكتيريا التي تعيش في الأوساط الباردة (بسيكروتروف).

– بعد ذوبانها، تتجانس المثلجات بواسطة رج حراري داخل قارورة الاقتطاع لمدة دقيقتين إلى 3 دقائق حتى و لو تعلق الأمر بمثلجات بالفواكه واللوز.

– بالنسبة للمثلجات و القشدة المثلجة المغلفة بالشكولاطة، تنزع الشكولاطة بالملقاط أو بسكينة معقمة و لا نختبر إلا الثلج.

– بالنسبة للمثلجات والقشدة المثلجة الفائضة، تخرب الرغوة منزوعة الهواء وفق التقنية المذكورة أدناه :

وصف الجهاز : قارورة بها سداد مخرق بثقبين وإحدى الثقبين مجهز بماصة باستور .الثقب الخارجي للماصة مسدود بمثبت من القطن .و بالثقب الآخر، أنبوب من الزجاج ثقبه الخارجي مقفل بمثبت من القطن و ملحق بالفراغ .

يستعمل الأنبوب أين يتم وضع الإصبع، لتخفيض أو رفع الفراغ (الهواء) لمنع تسرب القشدة المثلجة داخل الأنبوب الموصل بأنبوب خرطومي أو بمضخة الفراغ .

– طريقة الاستعمال : تسد ماصة باستور بالإصبع. إنجاز الفراغ . و من حين لآخر، يترك الهواء يمر . ترج القارورة في آن واحد.لا يتم نزع كل الرغوة و إنما يتم إنقاصها .

2 – تقنية الفحص البكتيريولوجي

أ) تحضير التخفيفات

القيام بتخفيفات إلى غاية 1/100.000 بمحلول تريبتون– ملح .

لكن انطلاقا من التخفيف 100 /1، نجري التخفيف 200 / 1 و كذا تخفيف 1/1000.

يستعمل التخفيف 200 /1 لإحصاء 200 بكتيريا الكوليفورم في 1 ملل .

الصيغة

تريبتون..... 1غ

كلورور الصوديوم..... 8غ

ماء مقطر..... 1000ملل

العامل الهيدروجيني(pH) : 7 – 2 ,7.

يوزع الوسط في أنابيب أو قارورات . و يعقم في 120°م لمدة 20 دقيقة. التحقق من تعقم الوسط قبل استعماله.

يرج كل تخفيف إما يدويا 30 مرة على الأقل، أو من الأفضل بواسطة رجاج ميكانيكي لمدة دقيقتين على الأقل و ذلك قبل المرور إلى التخفيف الموالي. ينجز كل تخفيف بواسطة ماصة مدرجة معقمة .

ب) الأبحاث التي ستنجز

في وسط صلب من تريبتون ، مستخلص الخميرة و أغار لمدة 72 ± 2 ساعة.

صيغة تريبتون، مستخلص الخميرة و أغار

تريبتون..... 6غ

مستخلص خميرة..... 3غ

مسحوق أغار 15غ

ماء مقطر..... 1000ملل

العامل الهيدروجيني (pH) : 7

يوزع الوسط في أنابيب قدرها 20 200x مم بمقدار20 ملل في كل أنبوب . يعقم في جهاز التعقيم في 115°م لمدة 20 دقيقة .

يزرع

1 ملل من التخفيف عند 1/1000

1 ملل من التخفيف عند 1/10.000

1 ملل من التخفيف عند 1/100.000

0,1 ملل من التخفيف عند1/100.000.

من أجل تسهيل الإحصاء و تفادي نمو بعض المستعمرات المحتلة في الوسط، تستعمل التقنية المعروفة بـ (تقنية مضاعفة الطبقة) : تزرع 1 ملل من المادة أو من مختلف التخفيفات في علب بيتري .

يسكب الوسط المذوب مبدئيا و المرجع إلى45°م 50°م داخل علب بيتري . لا يمكن الانتظار أكثر من 5 دقائق لزرع الوسط . يخلط ثم يترك ليتصلب على سطح بارد و أفقي تام .

عندما يصبح التحضير صلبا، تسكب على سطحه طبقة رقيقة من الهلام الأبيض (سمكه 2 مم تقريبا) المذوب مبدئيا و المرجع إلى 45° م.

يترك ليتجمد قبل وضعه داخل المجفف .

صيغة الهلام الأبيض

الهلام..... 20غ

ماء مقطر..... 1000ملل

العامل الهيدروجيني (pH) : 7.

يوزع الوسط داخل أنابيب و يعقم في جهاز التعقيم في120°م لمدة 20 دقيقة .

3 – إحصاء بكتيريات الكوليفورم والتعرف على إيشريشيا كولي

مرق اللاكتوز– الصفراء و الأخضر اللامع

صيغة الوسط

باكتو بيبتون..... 10غ

لاكتوز.....10غ

ماء مقطر ..... 786 ملل

صفراء البقرة طازجة أو محلول به 10% من الصفراء منزوعة الماء..... 200 ملل

العامل الهيدروجيني (pH) : 2 ,7.

يضاف عندئذ، 13,3 ملل من محلول مائي عند 1/ 1000 من الأخضر اللامع . يوزع في أنابيب مجهزة بأجراس (10 ملل لكل أنبوب لـ 160 x 16مم). يعقم في120°م لمدة 20 دقيقة.

يزرع على مرتين

1 ملل من التخفيف عند 1/10

1 ملل من التخفيف عند1/100

1 ملل من التخفيف عند1/200

1 ملل من التخفيف عند 1/1000

توضع الأوساط المزروعة داخل جهاز التجفيف في30°م لمدة 48 ساعة . تعتبر الأنابيب التي تحتوى أوساطها على غازات، محتوية على بكتيريا الكوليفورم. يتم التعرف على إيشيريشيا كولي بإجراء اختبار ماك كنزي .

اختبار ماك كنزي

لكل أنبوب لمرق اللاكتوز- الصفراء و الأخضر اللامع يحتوي على الغاز في 30°م، نستعمل :

- أنبوب مرق اللاكتوز- الصفراء و الأخضر اللامع (نفس الصيغة المذكورة أعلاه).

- أنبوب به ماء ببتوني بسيط و الطريقة تكون كما يلي :

ببتون..... 10غ

كلورور الصوديوم..... 5غ

ماء مقطر..... 1000ملل

(pH) : 7, 2.

- يعقم في جهاز التعقيم في _ 121م لمدة 20 دقيقة.

- بواسطة سلك الزرع تؤخذ قطرة من كل أنبوب به مرق اللاكتوز- الصفراء و الأخضر اللامع و الغاز وتزرع في أنبوب به مرق اللاكتوز- الصفراء والأخضر اللامع وهذا بعد الخلط بعناية .

بواسطة سلك الزرع، تؤخذ قطرة أخرى من نفس الأنبوب المحتوي على مرق اللاكتوز- الصفراء والأخضر اللامع و الغاز و تزرع في أنبوب به ماء بيبتوني بسيط، بعد الخلط بعناية.

يوضع الأنبوبان داخل حمام مائي في 44°م ± 0,5 م لمدة 48 ساعة . للتأكد من وجود إيشيريشيا كولي، يجب أن يكون أنبوب المرق اللاكتوز- الصفراء والأخضر اللامع الموضوع في الحمام المائي في44°م يحتوي على الغاز و أن البحث عن الأندول يكون موجب في أنبوب الماء البيبتوني البسيط في 44°م. يتم البحث عن الأندول بواسطة حمض النتريك النيتري بوجود كحول الأميلي . يكشف عن الأندول بعد 24 ساعة و 48 ساعة .

4 - البحث وإحصاء الستافيلوكوك الممرضة

التقنية الأولى : على وسط شابمان مانيتي

صيغة الوسط

باكتو بيبتون..... 2غ

مستخلص اللحم..... 1غ

بروتيوز بيبتون..... 9غ

كلورور الصوديوم 75غ

مانيتول..... 10غ

باكتو أغار 15غ

أحمر الفينول..... 0,025غ

ماء مقطر..... 1000 ملل

العامل الهيدروجيني (pH) النهائي : 7,4-7,5

يوزع الوسط داخل أنابيب ذات أبعاد 22 x 200 مم بمقدار25 ملل لكل أنبوب. يعقم في جهاز التعقيم في 120°م لمدة 20 دقيقة . يسكب الوسط داخل علب بيتري عند الاستعمال. يترك ليتجمد .

يجفف داخل المجفف في 37°م.

يزرع فوق علبتين مختلفتين :

0,1 ملل من منتوج غير مخفف .

0,1 ملل من التخفيف عند 1/10

يوزع على سطح الوسط بشكل منتظم، يجفف في جهاز التجفيف في 37°م. تفحص العلب بعد 24 و48 ساعة.

نحتفظ بالمستعمرات البيضاء أو الصفراء المحاطة بحلقة صفراء(مانيتول +).

يتم التعرف على مستعمرات ستافيلوكوك الممرضة بواسطة اختبار الكواقولاس الحر و كذا اختبار الفوسفاتاز مكملة بالبحث عن الهواء اللاهواء. فعلا، يمكن أن نتحصل على :

كواقولاس + ستافيلوكوك ممرض

فوسفاتاز +

كواقولاس + ستافيلوكوك ممرض (6% من الحالات)

فوسفاتاز -

كواقولاس - ستافيلوكوك ممرض (4% من الحالات)

فوسفاتاز + أو ميكروكوكيس.

في هذه الحالة الأخيرة، يجب إكمال البحث بالتعرف عن هوائية لا هوائية، لأن بعض الميكروكوكيس تحتوي على الفوسفاتاز إلا أنها هوائية إجبارية بينما الستافيلوكوك هي هوائية لاهوائية.

أ) إظهار الكواقولاس الحر

تؤخذ بعض المستعمرات المشتبه فيها و تزرع كل واحدة منها داخل أنبوب مرق مخالف ثم يجفف في جهاز التجفيف في 37°م. لمدة 24 ساعة .

انطلاقا من هذا الزرع من المرق :

يتم البحث عن الكواقولاس مع ترك أنبوب كشاهد .

تجرى المراقبة كل ساعة. في حالة عدم إيجابية الكواقولاس بعد 24 ساعة ، يجرى فحص من جديد على مستعمرات أخرى.

إذا كان الكواقولاس سالبا : يجرى البحث عن الهوائية و اللا هوائية.

البحث عن الفوسفاتاز

البحث عن الهوائية و اللا هوائية :

يقتطع من الزرع المرقي عينة عالقة بواسطة ماصة باستور مغلقة و يزرع على مرتفع أنبوب به وسط من لحم – خميرة المذوب مبدئيا و المنعش والمرجع إلى48° م – 50°م.

يوضع في جهاز التجفيف في 37°م لمدة 24 ساعة وذلك بعد التبريد .

صيغة الوسط لحم – خميرة : وسط لمستخلص اللحم والخميرة

بيبتون تربسيك..... 10غ
كلورور الصوديوم..... 5غ
مستخلص اللحم..... 4غ
مستخلص الخميرة..... 5غ
كلوريدرات السيستين.....0,30غ
غلوكوز.....2غ
مسحوق أغار..... 6غ
ماء مقطر 1000ملل

يغلى الوسط إلى غاية الذوبان .

يعدالعامل الهيدروجيني (pH) إلى 7,2 -7,4 بواسطة محلول هيدروكسيد الصوديوم عند 1/10 . يغلى الوسط.

يرشح و يوزع داخل أنابيب أبعادها 8 أو 9 x 180 مم، على ارتفاع 8 سم . تعقيم في 115°م. على الأكثر لمدة 30 دقيقة .

ب) إظهار الفوسفاتاز

ينجز زرع على هلام مائل انطلاقا من زرع من مرق و تنشر على سطح الهلام. توضع في جهاز التجفيف في 37°م. لمدة 24 ساعة.

1) بواسطة الزرع المتحصل عليه.

ننجز مستحضر جرثومي و ذلك بإضافة 20 قطرة من ماء مملح داخل أنبوب خاص بالانحلال . تنقل المستعمرات المتحصل عليها من الهلام إلى الماء الفيزيولوجي إلى غاية الحصول على مستحلب كثيف.

في أنبوب آخر انحلالي يحتوي على 0,25 ملل من محلول برانيتروفينيل فوسفات ثنائي الصوديوم، يضاف 0,25 ملل من محلول أسيتات الصوديوم . يخلط محتوى الأنبوبان و يحضنان في 37°م لمدة 20 دقيقة. إذا تحصلنا على لون اصفر واضح : وجود الفوسفاتاز

ينجز بالموازاة شاهد لا يحتوي على محلول من ستافيلوكوك .

(محلول بارانتروفينيل فوسفات ثنائي الصوديوم تركيز 4 % في الماء المقطر).

(محلول آسيتات الصوديوم بتركيز2,025غ في250 ملل من الماء المقطر).

يمكن لبعض الستافيلوكوك الممرضة أن تفقد الكواقولاس، لكن إذا كان بحوزتنا فوسفاتاز + وبكتيريا هوائية لا هوائية نستنتج أنها ستافلوكوك ممرضة.

2) تقنية أخرى لإظهار الفوسفاتاز.

التقنية الأولى : يوضع 0,50 ملل من ماء مقطر في أنبوب إنحلالي، يرش بواسطة رجاج من الزجاج قرص من ركيزة oc – نافتيل فوسفات حمض الصوديوم .

ينجز في هذا المحلول، معلق من خلال الزرع المتحصل عليه فوق الهلام .

يحضن في 37° م لمدة 30 دقيقة.

إدخال في الأنبوب قرص من أورتو ديامين بيس أزوتي المرش مسبقا.

بوجود الفوسفاتاز، نتحصل على تلوين أحمر عاتم منتج من طرف oc – نافيتول المحررة.

في حالة التفاعل السلبي، يبقى اللون الأصفر الأولي سائدا.

للتعرف على الخاصية الممرضة، يجب أن تتم على عدد كاف من المستعمرات : 5 مستعمرات و أكثر، إذا كان هناك 50 مستعمرة مشتبه فيها على العلبة ، 10 مستعمرات و أكثر إذا كان هناك أكثر من 50 مستعمرة مشتبه فيها على العلبة.

التقنية الثانية : للبحث عن بكتيريا الستافيلوكوك الممرضة وإحصاءها.

استعمال وسط بيرد باركر به السيلفاميزاتين.

صيغة الوسط

أ) الوسط الأساسي

تريبتون.....10غ
مستخلص لحم البقرة.....5غ
مستخلص الخميرة..... 1غ
كلورور الليثيوم.. .....5غ
أغار..... 20غ
محلول السلفاميزاتين 0,2 %..... 25 ملل
ماء مقطر.....،..... 1000ملل

تحضير محلول السلفاميزاتين

يذوب 0،5 غ من السلفاميزاتين في 25 ملل من هيدروكسيد الصوديوم ن /10 و يكمل إلى 250 ملل بالماء المقطر.

يمكن إضافة هذا المحلول إلى الوسط قبل أو بعد التعقيم.

يعقم الوسط الأساسي لمدة 20 دقيقة في 120°م .

يعدّل العامل الهيدروجيني pH النهائي إلى 7,2.

يوزع الوسط داخل أنابيب 20 x 200 مم بمقدار 20 ملل.

عند الاستعمال، يذوب الوسط الأساسي في حمام مائي يغلي ثم يبرد إلى 45°م – 48°م.

تضاف بعدها المحاليل التالية مرشحة و ساخنة في 20 ملل من الوسط الأساسي.

ب) غليسين بتركيز 20%..... 1,2 ملل

ج) تلوريت البوتاسيوم بتركيز1%.....0,2 ملل

د) بيروفات الصوديوم بتركيز 20%..... 1ملل

و) مستحلب أصفر البيض 1ملل

تحضر المحاليل ب و ج و د في ماء مقطر ثم تعقم بتمريرها على راشح ساتز Seitz أو بواسطة شمعة شامبرلاند ل3 .

– مستحلب لصفار البيض .

– يذوب 5 ملل من صفار البيض معقم و مقتطع بصفة نظيفة في 95 ملل من ماء مالح معقم .

– التحقق من تعقم الوسط بواسطة مرق غذائي عادي ومحضن في 30°م لمدة ثلاثة أيام على الأقل .

يسكب الوسط الكامل المتحصل عليه في علب بيتري .

عندما يبرد الوسط و يجفف يزرع مع :

0,1 ملل من المنتوج غير المخفف .

0,1 ملل من التخفيف عند 10 /1.

تحضن العلب المزروعة في37°م و تفحص بعد 24 و 48 ساعة .

تكون مستعمرات الستافيلوكوك الممرضة سوداء ومحاطة بمنطقة فاتحة لصفار البيض.

يعتبر هذا المظهر خاص و مميز .

يعطى البرتيوس هوساري مستعمرات مماثلة ولكن السلفاميزاتين تعيق نموها .

يحتفظ بالوسط الكامل لمدة 24 ساعة فقط.

التحقق من الخاصية الممرضة للستافيلوكوك بالبحث عن الفوسفاتاز

يستعمل الكاشف نيتروفينيل فوسفات ثنائي الصوديوم بمعدل 20غ/ ملل في محلول مثبت pH تريس8 :

المحلول المثبت تريس : ثلاثي فوسفات الصوديوم نقي : 121غ/ل.

يسكب الكاشف على سطح وسط بيرد باركر الذي نمت عليه المستعمرات المميزة.

يحضن لمدة 30 دقيقة في30°م

تعطي الستافيلوكوك الممرضة ، فوسفتاز+، اللون الأصفر الموجود داخل المنطقة الفاتحة حول المستعمرة.

نتفادى بالتالي البحث عن الكواقولاس.

5 . البحث عن السالمونيلا

يجرى البحث على 25 ملل من المنتوج .

أ) الاغتناء المسبق للوسط

تضاف 25 ملل من المنتوج في 75 ملل من مرق عادي (مضاعف التركيز) .

صيغة المرق العادي (مضاعف التركيز)

مستخلص لحم البقرة 2غ

بروتيوز بيبتون..... 20غ

كلورور الصوديوم 10غ

ماء مقطر..... 1000ملل

يوزع الوسط المضاعف التركيز في قارورات سعتها 150ملل بمقدار75 ملل .

يعقم في 120°م لمدة 20 دقيقة. العامل الهيدروجيني pH 7,2.

يوضع 25 ملل من المثلجات أو القشدة المثلجة، في قارورة تحتوي على 75 ملل من المرق العادي . يحضن في37°م لمدة 18 إلى 24 ساعة.

يجب أن يستعمل الاغتناء المسبق للوسط في المرق العادي لكل المنتوجات الخاضعة للتجمد المعمق .

ب) إغتناء الوسط

يلقح 1ملل من محتوى هذه القارورة في أنبوب به وسط سيلينيت زائد سيستين .

يحضن في 37°م أومن الأحسن في 40°م لمدة 24 ساعة.

صيغة وسط السلينيت زائد السيستين

تريبتون..... 5غ

لاكتوز..... 4غ

فوسفات ثنائي الصوديوم 10غ

سيلينيت حمض الصوديوم..... 4غ

سيستين..... 0,01 غ

ماء مقطر..... 1000ملل

العامل الهيدروجيني (pH) النهائي7.

لا يعقم . يوزع في أنابيب 20 X 200 مم بمقدار 20 ملل لكل أنبوب.

يسخن في بخار متدفق لمدة 30 دقيقة ، يحفظ في الثلاجة.

ج) العزل

يتم العزل على هلام من ديزوكسيكولات السترات، لاكتوز، تركيبة ليفسون، معدلة من طرف هينس.

– يحضن في المجفف في 37°م لمدة24 إلى 48 ساعة.

بعد أن يتم عزل المستعمرات المشتبه فيها بصفة تامة ، تزرع في وسط كليقلر.

– يتم بعدها التعرف على وجود السالمونيلا.

وزارة التجارة

قرار مؤرّخ في 21 شعبان عام 1426 الموافق 25 سبتمبر سنة 2005، يجعل منهج البحث عن ليستيريا مونوسيتوجيناس في الحليب ومنتجات الحليب إجباريا.

إن وزير التجارة،

– بمقتضى المرسوم الرئاسي رقم **05-161** المؤرخ في **22** ربيع الأول عام **1426** الموافق أول مايو سنة **2005** والمتضمّن تعيين أعضاء الحكومة،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم **90-39** المؤرخ في **3** رجب عام **1410** الموافق **30** يناير سنة **1990** والمتعلق بمراقبة 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 القرار الوزاري المشترك المؤرخ في **29** صفر عام **1414** الموافق **18** غشت سنة **1993** والمتعلق بمواصفات بعض أنواع الحليب المعد للاستهلاك وعرضه،

– وبمقتضى القرار المؤرخ في **14** صفر عام **1415** الموافق **23** يوليو سنة **1994** والمتعلق بالمواصفات الميكروبيولوجية لبعض المواد الغذائية، المعدل والمتمم،

يقرر ما يأتي :

المادة الأولى : تطبيقا لأحكام المادة **19** من المرسوم التنفيذي رقم **90-39** المؤرخ في **3** رجب عام **1410** الموافق **30** يناير سنة **1990**، المعدل و المتمم والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج البحث عن ليستيريا مونوسيتوجيناس في الحليب و منتجات الحليب إجباريا.

المادة 2 : من أجل البحث عن ليستيريا مونوسيتوجيناس في الحليب و منتجات الحليب، فإن مخابر رقابة الجودة و قمع الغش وتلك المعتمدة لهذا الغرض ملزمة باستعمال منهج التحليل الميكروبيولوجي المبين في الملحق.

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

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

حرر بالجزائر في **21** شعبان عام **1426** الموافق **25** سبتمبرسنة **2005**.

الهاشمي جعبوب

الملحق

منهج البحث عن ليستيريا مونوسيتوجيناس في الحليب و منتجات الحليب

1. التعاريف :

تطبق التعاريف التالية، لمقتضيات هذه الطريقة.

1.1 ليستيريا : (spp) :

هي أعضاء مجهرية دقيقة تشكل مستعمرات نموذجية فوق وسط انتقائي صلب ولها خواص مرفولوجية ، فيزيولوجية و بيوكميائية مبينة عند إجراء التجارب وفق هذا المنهج.

2.1 ليستيريا مونوسيتوجيناس :

هي نوع من ليستيريا المرضة التي يمكن تمييزها عن الأنواع الأخرى كونها تتميز بخصائص بيوكيميائية خاصة..

3.1 البحث عن ليستيريا مونوسيتوجيناس :

يتم تحديد وجود أو غياب هذه الأعضاء المجهرية الدقيقة في كتلة أو حجم معين، عند إجراء التجارب وفقا لهذا المنهج.

2. المبدأ :

على العموم، يتطلب البحث عن ليستيريا مونوسيتوجيناس، أربع مراحل متتالية على الأقل مثلما هو مبين في (**1.2**) إلى (**4.2**) و كما هو موضح أيضا في مخطط طريقة العمل التالي:

شكل 1 : مخطط ممثل لطريقة العمل

الاغتناء الأولي (**25**غ أو **25**ملل في **225**ملل من وسط فرازر عند النصف) التحضين في **30°**م لمدة **18** إلى **24** ساعة

زرع ثانوي ، **0,1** ملل من وسط فرازر في أنبوب سعته **10**ملل والعزل عن طريق الخطوط في هلام أكسفورد أو بالكام.
التحضين في **37°**م لمدة **24** ساعة إلى **48** ساعة

انتقاء من **3** إلى **5** مستعمرات مميزة و العزل عن طريق الخطوط في صفيحة أخرى تحتوي على هلام أكسفورد أو بالكام.
التحضين في **37°**م لمدة **24** ساعة إلى **48** ساعة

التنقية في هلام **(TSYEA)**

التحضين في **37°**م لمدة **24** ساعة
(أو أكثر، إذا اقتضى الأمر)

فحوصات تكميلية

1.2 الاغتناء الأولي في وسط انتقائي سائل :

زرع **25**غ أو **25** ملل من العينة في الوسط الانتقائي فرازر عند النصف و تحضن في **30°**م لمدة **18** إلى **24** ساعة.

2.2 الاغتناء الثانوي و العزل الأولي :

بعد فترة تحضين لوسط (**1.2**)، نجري :

* من جهة، اغتناء ثانوي في أنابيب تحتوي على مرق فرازر بمقدار **0,1**ملل من المحلول المتحصل عليه في(**1.2**) و يحضن في **37°**م لمدة **24** ساعة .

* و من جهة أخرى، يجرى العزل الأولي عن طريق الخطوط على صفيحة تحتوي على هلام أكسفورد أو بالكام . يحضن في **37°**م لمدة **24** إلى **48** ساعة .

3.2 الإثبات :

بعد فترة تحضين الأوساط (**2.2**)، نجري :

* من جهة، اغتناء ثانوي عن طريق الخطوط على صفيحة تحتوي على هلام أكسفورد أو بالكام، انطلاقا من مرق الاغتناء الثانوي. يجرى التحضين لمدة **24** إلى **48** ساعة في **37°** م.

* و من جهة أخرى، بعد قراءة الصفائح التي تحتوي على هلام أكسفورد أو بالكام نقوم بملاحظة المستعمرات المميزة و إعادة زرع ثلاث أو خمس منها في وسط **(TSYEA)** بغرض التنقية. يجري تحضين الصفائح المحتوية على هلام (**TSYEA**) في **37°**م لمدة **24** إلى **48** ساعة.

4.2 التعريف البيوكيميائي :

بعد فترة التحضين ، نجري أولا :

* التعريف بنوع ليستيريا على أساس المظهر المرفولوجي للمستعمرات ، تلوين غرام و على تفاعل الكاطلاس،

* ثم التعريف بجنس ليستيريا مونوسيتوجيناس ، القائم أساسا على هيدروليز الإسكولين ، الحركية في **22 -25°**م ، تفاعلات **Vauges Prauskawer)** و أحمر الميتيل، تحلل الدم أو اختبار كامب **(Camp)** تخمر الغلوكوز بدون غاز ، طريقة التنفس...

3. أوساط الزرع و الكواشف

1.3 أوساط الزرع

1.1.3 مرق الاغتناء الأولي : الوسط الأساسي

التركيب :

بيبتون البروتياز **5,0**غ

تريبتون **5,0**غ

مستخلص لحم البقر **5,0**غ

مستخلص الخميرة..............................5,0غ

كلورورالصوديوم..............................20,0غ

$Na_2HPO_4 2H_2O$..12,0 غ

ثنائي-هيدروجينو-أورتو-فوسفات البوتاسيوم..............................1,35غ

إسكولين...1,0غ

كلورور الليثيوم...................................3,0غ

ماء...1000ملل

التحضير:

تذوب المكونات في الماء ثم تسخن بلطف حتى الذوبان الكامل.

يعدل العامل الهيدروجيني (pH) إلى 7,2.

يوزع الوسط بعد ذلك بكميات تقدر بـ :

- 225ملل في كل قارورة تستعمل في الاغتناءات الأولية.

- 10ملل لكل أنبوب يستعمل في الاغتناءات الثانوية .

- يعقم بعد ذلك الوسط في 121°م لمدة 15 دقيقة.

2.1.3 المضاف الانتقائي لمرق فرازر :

أثناء استعمال مرق فرازر عند النصف ونفس الشيء بالنسبة لمرق فرازر، يتعين إضافة لكل منهما مضاف صيغته كما يلي :

حمض ناليدكسيك 22,5ملغ

أكريفلافين......................................28,125ملغ

سيترات الحديد(III) الامونيومي..........1,125ملغ

إعادة تشكيل بصفة معقمة قارورة المضاف بـ 22,5ملل من الخليط 1/1 ماء / إيثانول معقم (أي 11,25 ملل من ماء مقطر و معقم و 11,25ملل من الإيثانول) يخلط بلطف للتحلل.

إضافة، بطهارة بعد ذلك :

- 2,25ملل من المحلول المحضر إلى 225ملل من مرق فرازر عند النصف.

- 0,10ملل من المحلول المحضر ، إلى 10ملل من مرق فرازر.

يخلط جيدا قبل إدخال الإينوكيلوم.

يجب أن يثبت المضاف بعد إعادة تشكيله، في + 4° م بعيدا عن الضوء و أن لا تتعدى المدة 8 أيام.

3.1.3 وسط العزل (هلام أكسفورد) وسط أساسي:

التركيب :

هلام كولومبيا..................................39غ

إسكولين..1غ

سيترات الحديد (3+) الأمونيومي 0,5غ

كلورور الليتيوم.................................15غ

ماء...1000ملل

التحضير:

تذوب المكونات في الماء ثم تسخن بلطف حتى الذوبان الكامل. ويعدل العامل الهيدروجيني (pH) إلى 7,2 في 25°م. ويوزع الوسط بعد ذلك بمقدار 225ملل لكل قارورة ثم يعقم في 121°م لمدة 15 دقيقة.

4.1.3 المضاف الانتقائي لهلام أكسفورد :

التركيب :

سيكلوهيكسيميد 200مغ

سلفات الكولستين 10مغ

أكريفلافين 2,5مغ

سيفوتيتان..1مغ

فوسفوميسين 5مغ

الإيثانول..2,5ملل

ماء 2,5ملل

التحضير:

تذوب المكونات الصلبة في خليط الإيتانول / ماء .

يعقم عن طريق الترشيح.

أثناء الاستعمال، يذوب الوسط ثم يبرد تحت درجة حرارة 48°م ويضاف بعد ذلك 2,25ملل من المضاف الانتقائي أكسفورد المعاد تشكيله.

نقوم بعملية المجانسة و يصب في علب بيتري معقمة .

يترك ليتجمد فوق البلاط ثم يجفف في جهاز التجفيف.

كما يمكن حفظ العلب المحضرة في +4°م لمدة 4 إلى 5 أيام.

5.1.3 وسط العزل (هلام بالكام) وسط أساسي :

التركيب :

بيبتون ..... **23,0** غ
النشاء..... **1,0** غ
أغار –أغار..... **20,0** غ
كلورور الصوديوم..... **5,0** غ
D (–) مانيتول..... **10,0** غ
أمونيوم الحديد (سيترات) ..... **0,5** غ
إسكولين ..... **0,8** غ
غلوكوز..... **0,5** غ
كلورور البثيوم..... **15,0** غ
أحمر الفينول..... **0,08** غ
ماء..... **1000** ملل

تذوب المكونات في الماء ثم تسخن بلطف إلى غاية الذوبان الكلي .

يعدل العامل الهيدروجيني (pH) إلى **7,2** في **25°م**.

يوزع الوسط بمقدار **225** ملل في كل قارورة ثم يعقم في **121°م** لمدة **15** دقيقة.

التحضير:

عند الاستعمال، يذوب الوسط ثم يبرد تحت درجة حرارة **48°م**.

يضاف بعد ذلك **2,25** ملل من المضاف بالكام المعاد تشكيله .

نقوم بعملية المجانسة ثم يصب في علب بيتري معقمة .

يترك يتجمد فوق البلاط ثم يجفف في جهاز التجفيف.

كما يمكن حفظ العلب المحضرة في **+4°م** لمدة**4** إلى **5** أيام.

6.1.3 وسط الزرع الهلامي: تريبتون الصوجا – مستخلص الخميرة (TSYEA) :

التركيب :

مرق تريبتون الصوجا ..... **30,0** غ
مستخلص الخميرة ..... **6,0** غ
أغار – أغار(**1**)..... **9** إلى **18,0** غ
ماء ..... **1000** ملل
الهضم الانزيمي للكزيين ..... **17,0** غ
الهضم الانزيمي لفرينة الصوجا ..... **3,0** غ

(**1**) حسب قدرة التجمد لأغار– أغار.

كلورور الصوديوم ..... **5,0** غ
هيدروجينو الفوسفات – ثنائي البوتاسيوم..... **2,5** غ
غلوكوز..... **2,5** غ

تذوب المكونات في الماء و تسخن بلطف حتى الذوبان الكلي.

يعدل العامل الهيدروجيني (pH) إلى **7,3** في **25°م**.

– يوزع بعد ذلك وسط بمقدار **225** ملل في كل قارورة ثم يعقم في **121°م** لمدة **15** دقيقة.

عند الاستعمال، يذوب الوسط ثم يبرد تحت درجة حرارة **48°م**. ثم يصب في علب بيتري. يترك ليتجمد فوق البلاط ثم يجفف في جهاز التجفيف.

كما يمكن حفظ العلب المحضرة في **+4°م** لمدة **4** إلى **5** أيام.

7.1.3 هلام بالدم :

أساس الهلام بالدم رقم **2** (**1**) .....**40** غ
ماء ..... **1000** ملل

التركيب :

بيبتون البروتيوز ..... **15** غ
ناتج هضم الكبد ..... **2,5** غ
مستخلص الخميرة..... **5** غ
كلورور الصوديوم..... **5** غ
أغار– أغار (حسب قدرة التجمد للأغار)..... **12** إلى **18** غ

التحضير :

– يذوب أساس الهلام بالدم منزوع الماء في الماء ويسخن حتى الغليان.

– يعدل العامل الهيدروجيني (**pH**) بحيث يكون بعد التعقيم **7,0** في **25°م** إذا اقتضى الأمر.

– يوزع الأساس في قارورات تقدر سعتها القصوى بـ **500** ملل .

– يعقم في جهاز التعقيم **(2.1.1.4)** معدل في **121°م** لمدة **15** دقيقة.

– يبرد الوسط في **45°م**. يضاف الدم منزوع الألياف و يخلط جيدا.

(**1**) تركيبة أساس الهلام بالدم رقم **2** .

– يوزع الوسط بكميات تقدر بـ 20ملل تقريبا في علب بيتري معقمة ويترك ليتصلب.

8.1.3 أساس :

بروتيوز بيبتون .... 10 غ

مستخلص لحم البقر. .... 1 غ

كلورور الصوديوم...................................... 5 غ

أرجواني برومو كريزول ....0,02 غ

ماء 1000ملل

1.8.1.3 التحضير :

– تذوب المكونات في الماء و تسخن حتى الغليان.

– يعدل العامل الهيدروجيني (pH) بحيث يبلغ بعد التعقيم 6,8 في25°م ، إذا اقتضى الأمر.

– يوزع الوسط داخل أنابيب بكميات بحيث يكون الحجم الباقي يساوي 9ملل.

– يعقم الوسط في جهاز التعقيم (2.1.1.4) معدل في 121°م لمدة 20 دقيقة.

2.8.1.3 محاليل هيدرات الكربون :

التركيب :

هيدرات الكربون (2)...................................5 غ

ماء 100ملل

التحضير :

تذوب كل هيدرات الكربون بشكل منفصل.

3.8.1.3 الوسط الكامل :

يضاف بطهارة لكل هيدرات الكربون 1ملل من محلول (2.8.1.3) إلى 9ملل من الأساس(.1.8.1.3).

إذا تم تحضير أحجام صغيرة للوسط الأساسي، تضاف حينئذ أحجام صغيرة من محلول هيدرات الكربون.

9.1.3 وسط الحركية :

التركيب :

بيبتون الكازيين................................... 20,0 غ

بيبتون اللحم.. 6,1 غ

أغار– أغار .... 3,5 غ

ماء.. 1000ملل

(2) يعتبر 100 ملل من محلول L- رامنوز و 100ملل من محلول D- كزيلوز ضروريا.

التحضير :

– تذوب المكونات في الماء و تسخن حتى الغليان.

– يعدل العامل الهيدروجيني(pH) بحيث يكون بعد التعقيم 7,3 في 25°م، إذا اقتضى الأمر.

يوزع الوسط في أنابيب بكميات تقدر بـ 5ملل تقريبا.

– يعقم الوسط في جهاز التعقيم (2.1.1.4) معدّل في 121°م لمدة 15 دقيقة.

10.1.3 اختبار كامب (كرستي، أتكينس، مانش– بترسن) :

تعتبر العلب المحتوية على الهلام بالدم (7.1.3) ملائمة لهذا الاختبار ولكن من الأفضل استعمال علب بيتري تحتوي على طبقات رقيقة جدا من الهلام بدم الخروف(3.10.1.3) .

1.10.1.3 الأساس :

التركيب :

أساس الهلام بالدم رقم 2 (أنظر 7.1.3)...........40 غ

ماء 1000ملل

التحضير :

– يذوب الأساس منزوع الماء في الماء و يسخن حتى الغليان.

– يعدل العامل الهيدروجيني(pH) بحيث يكون بعد التعقيم 7,0 في 25°م، إذا اقتضى الأمر.

– يوزع الوسط في أنابيب أو قارورات سعتها 100ملل.

يعقم الوسط داخل جهاز التعقيم (2.1.1.4)معدل في 121°م لمدة 15 دقيقة. يترك ليبرد في 45°م.

2.10.1.3 وسط بالدم :

التركيب :

طبقة الأساس (1.10.1.3) 100ملل

دم منزوع الألياف للحصان أو الخروف 7ملل

التحضير :

يضاف الدم منزوع الألياف إلى الأساس الذائب و المعقم (.1.10.1.3).

3.10.1.3 الوسط الكامل:

– يوزع الأساس (1.8.1.3) داخل علب بيتري معقمة بكميات تقدر بـ 10ملل تقريبا و يترك ليتصلب.

– تسكب طبقة رقيقة جدا من وسط الدم (2.10.1.3) باستعمال كميات لا تتعدى 3ملل لكل علبة.

– يترك ليتصلب على شكل طبقة رقيقة منتظمة.

– إذا أضيف الدم إلى العلب التي تحتوي على الأساس المحضر مسبقا قد يستوجب الأمر تسخين العلب لمدة 20 دقيقة بوضعها داخل مجفف معدل في 37°م قبل سكب طبقة الدم الرقيقة.

– تجفف العلب قبل استعمالها.

4.10.1.3 مزارع تفاعل كامب (CAMP) :

لإنجاز تفاعل كامب، يتطلب سلالة من ستافيلوكوكوس أوروس(على سبيل المثال NCTC 1803) ضعيفة من حيث ß – تحلل الدم و سلالة من رودوكوكس إيكي (على سبيل المثال NCTC 1621) سلالات ستافيلوكوكوس أوروس غير مهيأة كلها لاختبار كامب (CAMP).

– تحفظ مزارع ستافيلوكوكوس أوروس، رودوكوكس أيكي، ليستيريا مونوسيتوجناس، ليستيريا إينوكوا و ليستيريا إيفانوفيي بزرعها مائلة داخل أنابيب بها وسط(6.1.3)(TSYEA)وتحضينها في 37°م لمدة 24 إلى48 ساعة أو إلى غاية حدوث نمو وتحفظ في الثلاجة (10.1.4) في 4°م.

– يعاد زرع هذه المزارع مرة واحدة على الأقل كل شهر.

2.3 الكاشف : محلول بيروكسيد الهيدروجين، 3 % (ح/ح) :

4 – التجهيزات و الأدوات الزجاجية :

تعقم كل الأجهزة التي تتصل مباشرة مع أوساط الزرع، سائل التخفيف أو العينة إلا في حالة ما إذا كانت معقمة مسبقا (خاصة الأجهزة المصنوعة من مادة بلاستيكية).

1.4 الأجهزة :

الوسائل العادية لمخبر ميكروبيولوجي و خاصة مايلي :

1.1.4 أجهزة التعقيم بالحرارة الجافة (فرن) أو بالحرارة الرطبة (جهاز التعقيم)

1.1.1.4 فرن، معدل في 173°م ± 3 .

2.1.1.4 جهاز التعقيم، معدل في 121°م ± 1 .

2.1.4 مجفف، معدل في 30°م ± 1 .

3.1.4 مجفف، معدل في 37°م ± 1 .

4.1.4 مجفف، معدل في 25°م ± 1 .

5.1.4 حمام مائي، معدل في 45°م ± 1 أو في 37°م ± 1 .

6.1.4 تجهيزات لعملية المجانسة

يستعمل أحد الجهازين التاليين :

أ) جهاز التجانس الدوراني، تبلغ عدد الدورات فيه ما بين 8000 دورة/ دقيقة و 45000 دورة /دقيقة ، يحتوي على كؤوس زجاجية أومعدنية مجهزة بأغطية مقاومة لظروف التعقيم؛ أو

ب) جهاز التجانس من النوع بيريستالتيك (stomacher péristaltique) به أكياس معقمة من مادة البلاستيك .

يجب أن يكون للكؤوس أو الأكياس البلاستيكية سعة كافية تسمح بالخلط الجيد للعينة مع الكمية المناسبة للمخفف. وعلى العموم، يجب أن يكون حجم الوعاء يساوي تقريبا ضعف حجم العينة المضاف إليها المخفف.

7.1.4 أسلاك حلقية، من البلاتين المشع أو النيكل كروم أو من مادة بلاستيكية، قطر الحلقة 3 مم تقريبا.

8.1.4 سلك الزرع ، من البلاتين المشع و النيكل– الكروم أو من مادة بلاستيكية.

9.1.4 جهاز قياس العامل الهيدروجيني (pH) مجهز بمقياس الحرارة لقياس العامل الهيدروجيني (pH) للأوساط المحضرة والكواشف بتدقيق ± 0,1 وحدة عامل هيدروجيني في 25°م.

10.1.4 ثلاجة، لحفظ الأوساط المحضرة و الكواشف والتي بإمكانها الاشتغال في درجة حرارية تتراوح بين +2°م إلى +5°م.

11.1.4 طيف ضوئي أبيض

12.1.4 مرآة، مسطحة أو مقعرة.

13.1.4 ثلاثي الأرجل، لإضاءة علب بيتري.

14.1.4 مجهر، متباين الأطوار مجهز بعدسة عينية تغمس في الزيت.

2.4 الأدوات الزجاجية :

يجب أن تكون الأدوات الزجاجية مقاومة لعمليات التعقيم المتكررة.

1.2.4 قارورات الزرع، لتعقيم و حفظ أوساط الزرع و تحضين الأوساط السائلة.

2.2.4 أنابيب الزرع : يبلغ قطرها 16مم و طولها 125مم.

(بإمكان استعمال أنابيب ذات أغطية معدنية).

3.2.4 مخبار مدرج ، لتحضير الأوساط الكاملة.

4.2.4 ماصات مدرجة : سعتها 25 ملل، 10ملل و 1 ملل مدرجة على الترتيب بتدرجات 0,5 ملل، 0,5 ملل و 0,1 ملل.

5.2.4 علب بيتري معقمة.

6.2.4 شرائح زجاجية للمجهر.

7.2.4 كريات زجاجية.

5. المعايرة :

من المهم أن يستلم المخبر عينة ذات تمثيل حقيقي، غير فاسدة و لم تتغير أثناء النقل و التخزين.

يجب اتباع التعليمات الخاصة بالمعايرة لأغراض ميكروبيولوجية.

6. تحضير العينة :

1.6 الحليب :

ترج العينة بعناية للحصول على توزيع منتظم للأعضاء المجهرية الدقيقة و ذلك بقلب بطريقة سريعة الوعاء الذي يحتوي على العينة، 25 مرة. يجب تفادي تشكل الرغوة و إلا تترك لتتوزع في حالة تشكلها. يجب أن لا تتعدى المدة الفاصلة بين الخلط واقتطاع العينة المأخوذة للتجربة الثلاث (3) دقائق.

2.6 الحليب الجاف، مسحوق مصل الحليب، مسحوق مخاض الزبدة، لاكتوز، كازيين، كازينات :

يخلط بعناية محتوى الوعاء المغلق عن طريق رجه و قلبه يدويا وبشكل تكراري.

إذا كان الوعاء مملوءا جدا ، يحول إلى وعاء أكبر منه للسماح بإجراء رج جيد ثم يخلط.

3.6 الزبدة :

تذوب العينة في وعاء معقم داخل حمام مائي (4.1.5) مثبت في 45°م . ترج العينة أثناء الذوبان ثم يخرج الوعاء مباشرة من الحمام المائي عند ذوبان العينة .

4.6 الجبن :

من الممكن أن تكون العينة الموجهة للمخبر متكونة من عجينة وقشرة. يجب أن تكون أجزاء الجبن المكونة للعينة المأخوذة للتجربة محل موافقة بين الأطراف المعنية.

تجرى العملية كما هو مبين في النقطة(5.1.7).

5.6 مثلجات الاستهلاك :

تجرى العملية مثلما هو الحال في الزبدة (3.6) ولكن يستعمل حمام مائي (5.1.4) مثبت في درجة حرارة أقل من 37 °م و يجب أن لا يتعداها.

6.6 الحليب المخمر، ياهورت، القشدة و التحليات :

يخلط محتوى الوعاء مغلق برجه و قلبه بتكرار بطريقة يدوية أو يفتح الوعاء و يخلط المحتوى بطهارة باستعمال ملعقة مخبر أو ملعقة معقمة.

7 - طريقة العمل :

1.7 زرع وسط الاغتناء :

لفحص أكثر من عينة مأخوذة للتجربة تزن 25غ من حصة خاصة من الحليب أو منتوج الحليب وإذا كان من غير الممكن إثبات أن التجميع (تشكيل مشترك لمختلف العينات المأخوذة للتجربة) لا يؤثر على النتيجة بالنسبة للحليب أو منتجات الحليب، فإنه يمكن تجميع العينات مثلا إذا لزم الأمر فحص 10عينات تزن 25غ، يمكن تجميع هذه الوحدات العشر لتشكيل عينة واحدة للتجربة تزن 250غ و تذويبها أو خلطها في 2,25ل من وسط الاغتناء .

تضاف العينة المأخوذة للتجربة إلى وسط الاغتناء (1.1.3) كما هو مبين في (1.1.7) إلى(7.1.7).

1.1.7 الحليب :

تضاف 25ملل من العينة المأخوذة للتجربة إلى 225ملل من وسط الاغتناء (1.1.3) ثم يخلط.

2.1.7 الحليب الجاف، مسحوق مصل الحليب ، مسحوق مخاض الزبدة والكازينات :

وزن بطهارة 25غ من العينة المأخوذة للتجربة وتدخل في قارورة مسدودة تحتوى على 225ملل من وسط الاغتناء(1.1.3) تذوب العينة عن طريق الرج.

3.1.7 الكازيين :

– توزن بطهارة 25غ من العينة المأخوذة للتجربة في وعاء معقم خاص بجهاز المجانسة (6.1.4)ثم يضاف 225ملل من وسط الاغتناء (1.1.3) في45° م .

– تذوب العينة بعناية عن طريق عملية المجانسة (من دقيقة واحدة إلى 3 دقائق).

4.1.7 الزبدة :

ترج العينة المأخوذة للتجربة المذوبة و بواسطة ماصة مسخنة في 45°م، تنقل 25ملل إلى قارورة تحتوي على 225 ملل من وسط الاغتناء (1.1.3) تخلط بعناية.

5.1.7 الجبن :

– توزن **25**غ من العينة المأخوذة للتجربة في وعاء معقم خاص بجهاز المجانسة(**6.1.4**)،

– يضاف **225** ملل من وسط الاغتناء(**1.1.3**) مسخن مسبقا في **37°**م تقريبا. تخلط العينة المأخوذة للتجربة بعناية عن طريق عملية المجانسة.

6.1.7 منتجات الحليب المجمدة (بما فيها مثلجات الاستهلاك) :

تنقل **25** غ من العينة المأخوذة للتجربة المذوبة بواسطة ماصة إلى قارورة تحتوي على **225**ملل من وسط الاغتناء (**1.2**) ثم يخلط .

7.1.7 الحليب المخمر، ياهورت ، القشدة والتحليات:

– توزن بطهارة **25**غ من العينة المأخوذة للتجربة في قارورة مسدودة تحتوي على كريات زجاجية (**7.2.4**) و **225**ملل من وسط الاغتناء (**1.1.3**)،

– يخلط بالرج .

إذا قمنا بفحص عينات ذات عامل هيدروجينيpH منخفض القيمة، نتحقق بطهارة من قيمة العامل الهيدروجيني (**pH**) للمعلق بواسطة ورق كاشف ملون و يعدل إلى **7,0 ± 0,5** في **25°**م، إذا اقتضى الأمر.

2.7 التحضين :

يحضن وسط الاغتناء المزروع لمدة **48** ساعة في المجفف (**2.1.4**) معدل في **30°**م .

3.7 العزل و التعريف المفترض:

1.3.7 انطلاقا من وسط الاغتناء و بواسطة سلك الزرع (**7.1. 4**) يزرع بطريقة الخطوط سطح علبة من هلام أكسفورد (**3.1.3**) و ذلك للحصول على مستعمرات معزولة جيدا .

2.3.7 تقلب العلبة و توضع في المجفف (**3.1.4**) معدل في **37°**م لمدة **48** ساعة .

3.3.7 تفحص العلبة للتحقق من وجود مستعمرات نموذجية لليستيريا (**spp**) (مستعمرات محاطة بحلقة بنية عاتمة و سوداء) .

4.7 التأكد:

1.4.7 انتقاء المستعمرات للتأكد:

انطلاقا من كل علبة بها وسط العزل(هلام أوكسفورد (**3.1.3**) يتم انتقاء خمس (**5**) مستعمرات نموذجية أو مشكوك فيها أو إذا كان هناك أقل من خمس (**5**) مستعمرات، فيتم انتقاؤها كلها من أجل التأكد .

2.4.7 التحضين :

تزرع المستعمرات المنتقاة على سطح العلب (**TSYEA**) (**2.3.7**) بطريقة الخطوط بصورة تسمح للمستعمرات المعزولة جيدا بالنمو. توضع العلب في المجفف(**3.1.4**) معدل في **37°**م لمدة **24** ساعة أو إلى غاية ظهور نمو مرضي.

يعتبر سمك وسط الهلام (**15**ملل / العلبة) مهما لإضاءة جيدة لهنري (أنظر أدناه) .

تفحص العلب بواسطة طيف ضوئي أبيض (**11.1.4**) قوي بما فيه الكفاية لإضاءة جيدة للعلب وموجه بشكل يسمح بإضاءة عمق العلبة من زاوية **45°**م (أنظر الشكل **2**).

عندما نفحص تحت هذا الضوء بالإضاءة المائلة (إضاءة هنري) بالنظر من أعلى العلبة، تكون مستعمرات ليستيريا (**spp**) زرقاء اللون و ذات سطح حبيبي .

إذا كانت علب (**TSYEA**) لا تشتمل على مستعمرات نموذجية كبيرة معزولة جيدا، يتعين إعادة زرع مستعمرة من جديد بطريقة الخطوط وباتباع الطريقة المذكورة سابقا.

3.4.7 تفاعل عن طريق الكاطلاس :

تقتطع مستعمرة نموذجية و توضع على شريحة زجاجية على شكل معلق في قطرة من محلول بيروكسيد الهيدروجين ذو تركيز **3%** **(2.3).**

يعبر عن وجود ليستيريا (**spp**) ذات كاطلاس موجب عن طريق تشكل فقاعات غازية.

4.4.7 المظهر المرفولوجي و مميزات التلوين :

1.4.4.7 يحضر زرع في وسط (**TSYEA**) (**6.1.3**) يمثل مستعمرة نموذجية مستعملة في تفاعل تحلل الدم (**5.4.7**).

تختار مستعمرة نموذجية و توضع على شكل معلق داخل أنبوب يحتوي على وسط (**TSYEA**) يحضن في المجفف (**4.1.4**) معدل في **20°**م و**25°**م إلى غاية ظهور تعكر هام (بين **8** و **24** ساعة).

فحص العلب للكشف عن المستعمرات المشكوك فيها :

ينجز تحضير رطب باستعمال سلك الزرع مملوء بزرع محضن و يفحص بالمجهر (**4.1.4**). تظهر بكتيريا ليستيريا (**spp**) على شكل عصيات قصيرة لديها حركة بطيئة ومستديرة.

بعض المزارع النامية في درجة حرارية أكبر من **25°م** قد لا تتمتع بهذه الحركة. يجب المقارنة دائما مع زرع معروف. لا تعتبر ليستيريا (**spp**) البكتيريا التي لها شكل كروي ، عصيات كبيرة و عصيات والتي تظهر حركة سريعة.

يمكن إجراء اختبار تكميلي لمراقبة الحركة عن طريق زرع وسط الحركة (**9.1.3**) بالوخز بواسطة سلك الزرع (**8.1.4**) مع زرع مقتطع انطلاقا من مستعمرات نموذجية لوسط (**TSYEA**) (**2.4.7**) و تحضن في مجفف (**4.1.4**) معدل في**25°م** لمدة **48** ساعة.

– يفحص النمو في محيط الوخز.

تكون ليستيريا (**spp**) متحركة و يبدو مظهر النمو فيها مشابها للظل.

في حالة النتيجة السلبية، يحضن الوسط المزروع لمدة **5** أيام إضافية و يلاحظ من جديد محيط الوخز.

2.4.4.7 يجرى اختبار لمستعمرة نموذجية على وسط(**TSYEA**) (**2.4.7**) من أجل تفاعل غرام. تكون ليستيريا (**spp**) ، بكتيريا غرام موجب.

5.4.7 تحلل الدم :

– إذا كانت الخصائص المرفولوجية والفيزيولوجية و كذا تفاعل الكاطالاس تدل على وجود ليستيريا (**spp**) تزرع العلب المحتوية على وسط صلب بالدم (**7.1.3**) قصد التعرف على تفاعل تحلل الدم.

– يجفف سطح الهلام جيدا قبل الاستعمال. يسطر قعر الطبقة بخطوط متعامدة لتشكيل تشابك من **20** إلى **25** فضاء لكل علبة .

– تؤخذ مستعمرة نموذجية انطلاقا من علبة وسط (**TSYEA**) و يلقح فضاء كل زرع بواسطة سلك الزرع (**8.1.4**).

– في نفس الوقت، نقوم بوخز مزارع المراقبة الموجبة و السالبة (ليستيريا مونوسيتوجيناس– ليستيريا إيفانوفي وليستيريا إينوكوا).

بعد التحضين في **37°م** لمدة **48** ساعة في المجفف (**3.1.4**) تفحص سلالات الاختبار و مزارع المراقبة.

– تظهر ليستيريا مونو سيتوتوجيناس مناطق فاتحة ضيقة و خفيفة محللة للدم (**a-hémolyse**) أما ليستيريا إينوكوا، فلا يجب أن تظهر مناطق فاتحة حول نقطة الوخز.

ليستيريا إيفانوفي، فهي تظهر عادة مناطق واسعة وواضحة الحدود من محللة للدم.

تحفظ العلب تحت منبع ضوئي قوي لمقارنة مزارع الاختبار مع مزارع المراقبة.

6.4.7 التأكد البيوكيميائي :

لإجراء هذه الاختبارات، يستعمل زرع في وسط (**TSYEA**) (**1.4.4.7**) .

1.6.4.7 استعمال هيدرات الكربون:

– يزرع كل من مرق تخمير هيدرات الكربون (**2.8.1.3**) مع محتوى سلك الزرع أو **0,1** ملل من الزرع (**TSYEA**) (**6.4.7**).

– يحضن في **37°م** في مجفف (**3.1.4**) لمدة **7** أيام.

في حين، يتم التعرف على التفاعلات الموجبة (تكوين الحمض) بظهور لون أصفر الذي يتشكل عموما خلال **24** إلى **48** ساعة.

2.6.4.7 اختبار كامب (CAMP) :

تزرع بطريق الخطوط، مزارع ستافيلوكوكوس أوروس وردوكوكيس إيكي على شكل خطوط بسيطة بطريقة عرضية لعلبة الهلام بالدم (**7.1.3**) أو (**10.1.3**) بحيث تكون المزرعتان متوازيتين و متقابلة القطرين (أنظر الشكل **3**).

من الضروري أن يكون الإينوكلوم رقيقا ومتساويا.

يمكن الحصول عليه باستعمال إبرة للزرع (**8.1.4**) أو سلك للزرع (**7.1.4**) موضوع على شكل زاوية قائمة بالنسبة للهلام.

تزرع سلالة الاختبار بطريق الخطوط المماثلة للزاوية القائمة بالنسبة لهذه المزارع بحيث لا تلامس مزرعة الاختبار مزارع التفاعل و تكون بعيدة عنها بحوالي **1**مم إلى **2** مم في أقرب نقطة بينهما.

يمكن زرع عدة سلالات اختبار عن طريق خطوط على نفس العلبة.

– في نفس الوقت، تزرع بطريقة الخطوط مزارع المراقبة من ليستيريا مونوسيتوجيناس، ليستيريا إينوكوا و ليستيريا إيفانوفي. في حالة استعمال الهلام بالدم (**7.1.3**) تحضن العلب في **37°** م لمدة **18** ساعة إلى **24** ساعة في المجفف(**3.1.4**) إذا تم استعمال علب ذات سلالات مضاعفة، تحضن لمدة **12** ساعة إلى **18** ساعة في **37°**م في المجفف (**3.1.4**).

يعتبر التفاعل موجب، إذا تشكلت منطقة محللة للدم (**hémolyse**) عند التقاء سلالة الاختبار و مزارع ستافيلوكوكوس أوروس.

يعرف التفاعل موجب مع رودوكوكيس إيكي من خلال وجود رأس عريض على شكل سهم (من **5** إلى**10**مم) من تحلل الدم.

يظهر هذا بتشكل منطقة دائرية من تحلل الدم تمتد حوالي **2** مم فقط انطلاقا من سلالة الاختبار و إلى داخل المنطقة ذات التحلل الدموي الضعيف الناجم من نمو بكتيريا ستافيلوكوكوس أوروس.

يمكن ملاحظة تفاعل مماثل داخل سلالة الاختبار مع رودوكوكيس إيكي لكن يعتبر سلبي.

لا تظهر مناطق كبيرة لتحلل الدم حول مزرعة ستافيلوكوكوس أوروس.

5.7 تفسير المميزات المرفولوجية والفيزيولوجية و كذا التفاعل البيوكيميائي (أنظر جدول 1) :

– تظهر جميع أنواع ليستيريا (**spp**) على شكل عصيات غرام موجب (مع مزارع **24** ساعة فقط) والتي تبدي حركة في طور النمو و في الوسط الحركي.

– تكون إيجابية للكاطلاس باستعمال ليستيريا مونوسيتوجيناس سكر الرامنوز و لا تستعمل سكر الكزيلوز.

– بالنسبة ليستيريا مونوسيتوجيناس، ليستيريا إيفانوفي، ليستيريا سليجيري (ذات تفاعل ضعيف) فهي تشكل تحلل الدم عند زرعها في الهلام بالدم.

تنزع المستعمرة لفحص تحلل الدم من تحتها . من بين ثلاثة أنواع من ليستيريا (**spp**) المتصفة بتحليلها للدم، نجد فقط ليستيريا مونوتوجينيس لا يستعمل فيها سكر الكزيلوز لكن سكر الرامنوز.

تبدي ليستريا مونوسيتوجناس و ليستيريا سليجيري (ذات تفاعل ضعيف)، تفاعل موجب لاختبار كامب مع ستافيلوكوكوس أوروس ولكن ليس مع رودوكيكيس إيكي.

تتفاعل ليستيريا إيفانوفي مع رودوكوكيس إيكي لكنها لا تتفاعل مع ستافيلوكوكوس أوروس.
تظهر باقي أنواع ليستيريا (**spp**) تفاعل سلبي لاختبار كامب مع مزرعتي التفاعل.

6.7 التأكد النهائي :

السلالات التي تعتبر ليستيريا (**spp**) (**5.7**) يمكن تأكيدها عن طريق التعرف النهائي.

– لوحظ مع الحليب الطازج أنه أحيانا عند إعادة زرع مرق الاغتناء بعد تحضينه لمدة **24** و**48** ساعة، بأنه قد يمس من حساسية المنهج.

– لوحظ بأن المنهج أقل حساسية بالنسبة لبعض الأجبان ذات قشرة مغسولة و بعض الأجبان المحضرة بالمعدنوس بالمقارنة مع المنتوجات الأخرى (لذلك، تكون حساسية المنهج بالنسبة للجبن ليمبورغر أكثر ضعفا لتراكيز ليستيريا مونوسيتوجيناس التي تكون أقل من **2** لكل غرام تقريبا)

بالنسبة لبعض أنواع الأجبان، يجب أن يمدد التحضين لمرق الاغتناء إلى **7** أيام.

عندما يتم تحضين مرق الاغتناء لمدة **48** ساعة ثم لمدة **7** أيام، يتعين زرع العلب المحتوية على وسط العزل.

– بالإمكان استعمال المنهج للكشف عن ليستيريا مونوسيتوجيناس في العينات المقتطعة في أماكن الإنتاج إلا أنه لم يتم إجراء أي اختبار مشترك لمعرفة وجود هذه البكتيريا في هذه العينات.

7.7 مزارع المراقبة :

من أجل التأكد من أن أوساط الاغتناء و الكشف تسمح بنمو ليستيريا مونوسيتوجيناس، ندخل تخفيفا لزرع مرجعي لسلالات معزولة حديثا في

قارورة مراقبة وسط الاغتناء (أنظر2.7) تضاف من 10 إلى 100 خلية ليستيريا مونوسيتوجيناس لكل قارورة.

يعمل بنفس الطريقة مع قارورات مراقبة أوساط الاغتناء مثلما هو الحال بالنسبة لمزارع التجربة وذلك للبرهنة على أنه تم العثور على زرع المراقبة الموجب .

8- التعبير عن النتائج :

حسب تفسير النتائج التي أجريت ، يشار إلى وجود أو غياب ليستيريا مونوسيتوجيناس في العينة المأخوذة للتجربة، بتحديد الكتلة بالغرام أو الحجم بالميليلتر للعينة التي خضعت للتجربة.

9- تقرير التجربة :

يجب أن يبين تقرير التجربة ، المنهج الذي أجريت من خلاله عملية المعايرة، إذا كان المنهج المستعمل معروفا و كذلك نتيجة التجربة المتحصل عليها و إذا تم التحقق من تكرار العملية و النتيجة النهائية المذكورة المتحصل عليها.

كما يجب أن تدون في التقرير كل تفاصيل العمليات غير المقررة في هذا المنهج أو الاختيارية وكذا أي طارئ محتمل بإمكانه التأثير على نتيجة التجربة.

يجب أن يعطي التقرير كل المعلومات اللازمة للتعريف الكامل للعينة.

جدول 1 : التفاعل لمعرفة ليستيريا (spp)

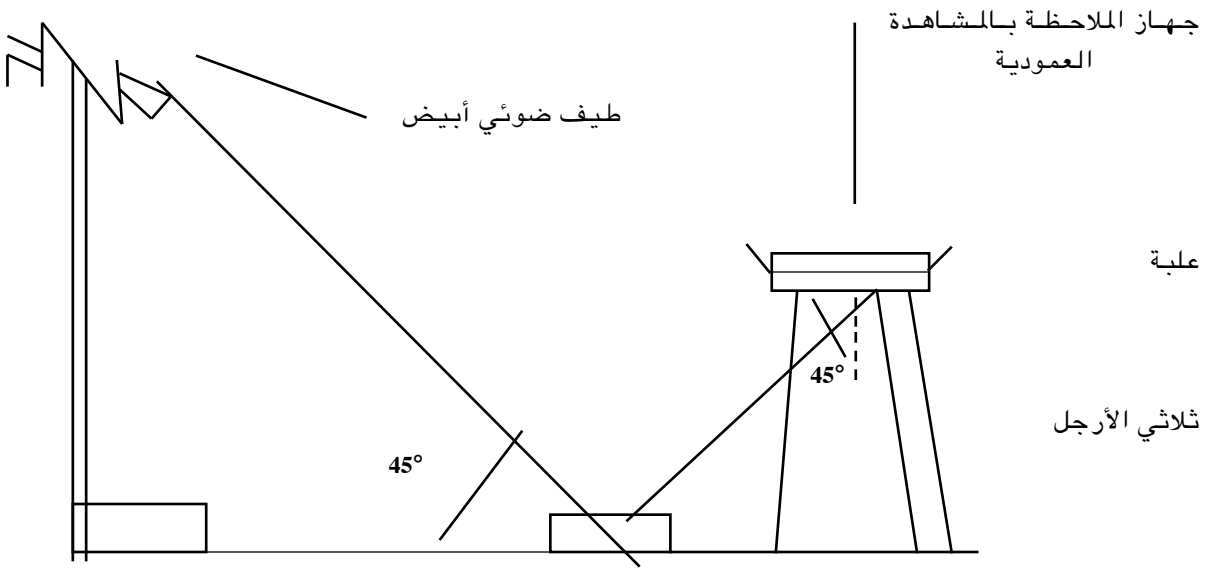
النوع	إنتاج الحمض		اختبار كامب (CAMP)	
	رامنوز	كزيلوز	ستافيلوكوكوس أوروس	رودوكوكيس إيكي
ل. مونوسيتوجيناس	+	–	+	–
ل. إينوكوا	م	–	–	–
ل. إيفانوفي	–	+	–	+
ل. سيليجيري	–	+	(+)	–
ل. ولشيميري	م	+	–	–
ل. قرايي	–	–	–	–
ل. ميرايي	م	–	–	–

م : تفاعل متغير

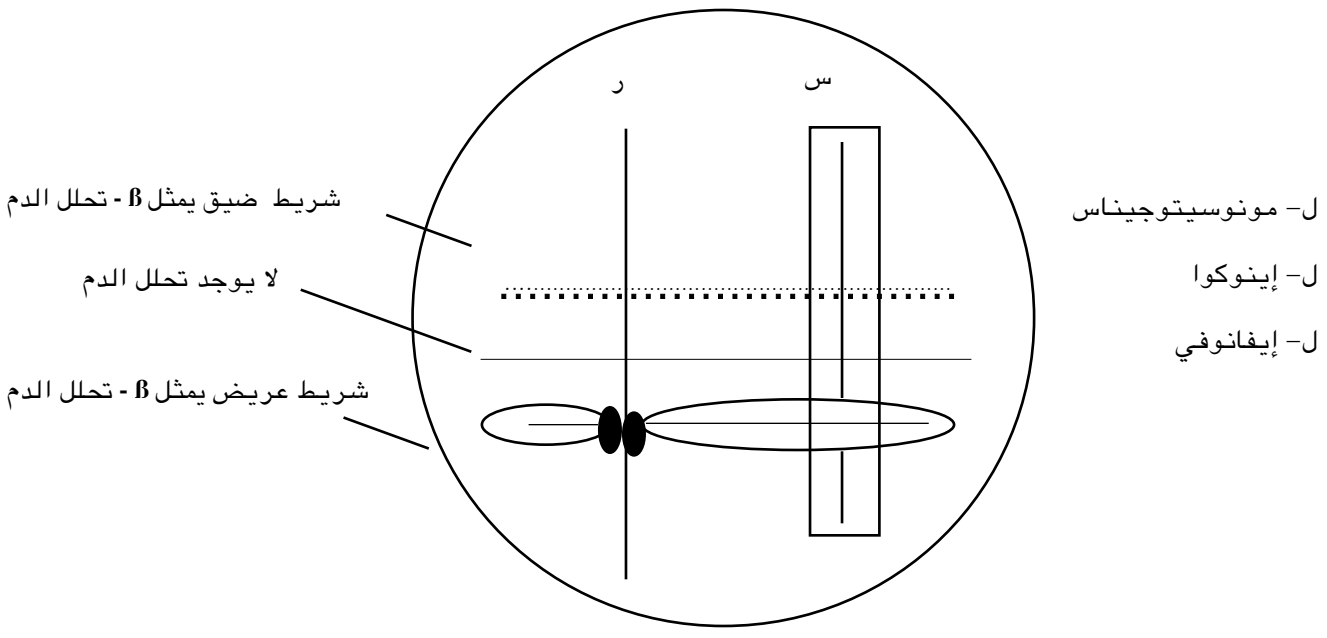
(+) : تفاعل ضعيف

+ : تفاعل إيجابي

– : لا يوجد تفاعل



شكل 2 : فحص العلب للكشف عن المستعمرات المشكوك فيها



شكل 3 : زرع العلب لإجراء اختبار كامب (**CAMP**).

ملاحظات :

1- زرع علب بتري تحتوي على طبقة رقيقة من وسط الهلام بالدم كما هو مبين على المخطط.
تمثل الأسطر العمودية خطوط نمو مستعمرات ستافيلوكوس أوروس.
تمثل الأسطر الأفقية خطوط نمو مستعمرات مزارع التجربة.
تظهر مناطق تحلل الدم المتشكلة على شكل خطوط محيطة بالمستعمرات النامية.

2- يحدد الجزء ذو الخطوط المتقطعة ، منطقة تأثير ستافيلوكوس أوروس.

وزارة التجارة

قرار مؤرّخ في 28 رمضان عام 1433 الموافق 16 غشت سنة 2012، يجعل منهج تحديد نسبة المادة الجافة في الحليب والقشدة والحليب المركز غير المسكر إجباريا.

إن وزير التجارة،

– بمقتضى المرسوم الرئاسي رقم 10 – 149 المؤرّخ في 14 جمادى الثانية عام 1431 الموافق 28 مايو سنة 2010 والمتضمن تعيين أعضاء الحكومة،

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

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

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 05 – 465 المؤرّخ في 4 ذي القعدة عام 1426 الموافق 6 ديسمبر سنة 2005 والمتعلق بتقييم المطابقة،

– وبمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرّخ في 7 ربيع الثاني عام 1418 الموافق 10 غشت سنة 1997 والمتعلق بالمواصفات التقنية لأنواع الحليب المركزّ غير المحلى والمحلى و شروط عرضها و كيفياته،

– وبمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرّخ في 13 شعبان عام 1419 الموافق 2 ديسمبر سنة 1998 والمتعلق بالمواصفات التقنية لأنواع الحليب الجاف وشروط وكيفيات عرضها،

يقرر ما يأتي :

المادة الأولى : تطبيقا لأحكام المادة 19 من المرسوم التنفيذي رقم 90 – 39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990، المعدل والمتمم والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج تحديد نسبة المادة الجافة في الحليب و القشدة والحليب المركز غيرالمسكر إجباريا.

المادة 2 : من أجل تحديد نسبة المادة الجافة في الحليب و القشدة والحليب المركز غيرالمسكر، تلزم مخابر مراقبة الجودة وقمع الغش والمخابر المعتمدة لهذا الغرض باستعمال المنهج المبيّن في الملحق المرفق بهذا القرار.

يجب أن يستعمل المخبر هذا المنهج عند الأمر بإجراء خبرة.

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

حرر بالجزائر في 28 رمضان عام 1433 الموافق 16 غشت سنة 2012.

مصطفى بن بادة

الملحق

منهج تحديد نسبة المادة الجافة في الحليب والقشدة والحليب المركز غير المسكر

يبين هذا المنهج التقنية لتحديد نسبة المادة الجافة للحليب والقشدة و الحليب المركز غير المسكر.

1. التعاريف و الصيغ

تطبق التعاريف و الصيغ الآتية حسب حاجات هذا المنهج.

المادة الجافة : هي النسبة الكتلية للمواد المتبقية بعد نزع الرطوبة الكاملة كما هو مبين في هذا المنهج.

ملاحظة – يعبر عن المادة الجافة بالنسبة المئوية الكتلية.

2. المبدأ

تجفف العينة المأخوذة للتجربة مسبقا فوق حمام ماء في غليان ثم يبخر بعد ذلك الماء المتبقي في جهاز التجفيف في درجة 102 مْ ± 2 مْ.

3. التجهيزات و المعدات

يستعمل فقط ماء مقطر أو ماء منزوع المعادن أو ماء ذو نقاوة مكافئة، إلا في حالة وجود تعليمات مخالفة.

تستعمل الأجهزة العادية للمخبر وخاصة ما يأتي :

1.3 ميزان تحليلي.

2.3 جهاز نازع للرطوبة، مزود بعامل تجفيف فعال (على سبيل المثال: هلام السيليس المجفف حديثا، مع مؤشر للرطوبة)

3.3 حمام ماء مغلى، مزود بفتوحات ذات أبعاد سهلة الضبط.

4.3 جهاز التجفيف

مهوى، مزود بنظام تحكم حراري، يمكن تثبيته في 102 مْ ± 2 مْ في كل حيز العمل.

5.3 كبسولات ذات قاعدة مسطحة، ارتفاعها من 20 ملم إلى 25 ملم، وقطرها من 50 ملم إلى 75 ملم، مكونة من مادة ملائمة (مثل المعدن غير القابل للأكسدة، النيكل أو الألمنيوم)، مزودة بأغطية محكمة جيدا و يمكن نزعها بسهولة.

6.3 حمامات مائية.

1.6.3 حمام مائي، يمكن ضبطه بين 35 مْ و40 مْ.

2.6.3 حمام مائي، يمكن ضبطه بين 40 مْ و60 مْ.

7.3 جهاز المجانسة، استعمال جهاز المجانسة اختياري (1.5).

4. اقتطاع العينات

يتم أخذ العينة حسب الشروط المناسبة.

من المهم أن يستلم المخبر عينة نموذجية ممثلة بالفعل، غير متلفة أو طرأ عليها تغيير أثناء النقل أو التخزين.

5. تحضير عينة للتجربة

1.5 الحليب

توضع العينة في درجة حرارة من 20 مْ إلى 25 مْ. تخلط بعناية حتى يتم الحصول على توزع متجانس للمادة الدسمة في العينة. لا يبالغ في التحريك بقوة لتجنب تشكل الرغوة أو مخض للمادة الدسمة. إذا كان من الصعب توزيع طبقة القشدة، تسخن ببطء من 35 مْ إلى 40 مْ، فوق حمام مائي (1.6.3) مع الخلط بعناية لمزج القشدة العالقة في الإناء. تبرد العينة بسرعة في درجة حرارة تتراوح بين 20 مْ و25 مْ.

يمكن استعمال جهاز المجانسة لتسهيل توزيع المادة الدسمة.

ملاحظة – لا يمكن الحصول على نتائج صحيحة إذا كانت العينة تحتوي على مادة دسمة سائلة ظاهرة أو إذا كانت جزيئيات بيضاء ذات شكل غير متجانس ظاهرة و عالقة على جدران الإناء.

2.5 القشدة

تسخن العينة ببطء في درجة حرارة تتراوح بين 35 مْ و40 مْ، فوق حمام مائي (1.6.3) تخلط أو تحرك القشدة بحذر ولا يبالغ في الرج لاجتناب تشكل الرغوة أو المخض. تبرد العينة بسرعة في درجة حرارة تتراوح بين 20 مْ و25 مْ. من الملائم أن يبقى الإناء مكشوفا أقل وقت ممكن حتى يمكن التقليل من تبخر الماء لأدنى حد ممكن أثناء الخلط.

ملاحظة – لا يمكن الحصول على نتائج صحيحة إذا كان خليط العينة غير متجانس أو إذا كانت العينة تظهر بداية للمخض أو مؤشرات أخرى غير عادية.

3.5 الحليب المركز غير مسكر

يرج الإناء جيدا بتدويره مرارا. يفتح و يسكب الحليب ببطء في إناء زجاجي أو أداة أخرى ملائمة، مزود بغطاء محكم، مع الحرص على إدماج العينة مع المادة الدسمة أو المركبات الأخرى التي يمكن أن تكون عالقة على جدران الإناء الأول. يرج الإناء بشدة و يغلق.

يسخن الإناء المغلق في حمام مائي (2.6.3) بين 40 مْ و60 مْ. كل 15 دقيقة، يخرج الإناء من الحمام و يرج بقوة. بعد ساعتين، يخرج الإناء ويبرد في درجة حرارة تتراوح بين 20 مْ و25 مْ. ينزع الغطاء وتخلط العينة جيدا بتحريكها بملعقة.

ملاحظة – لا يمكن الحصول على نتائج صحيحة إذا انفصلت المادة الدسمة.

6. طريقة العمل

1.6 تحضير الكبسولة

تسخن الكبسولة (5.3) مع غطائها الموضوع بجانب في جهاز التجفيف (4.3) لمدة ساعة واحدة على الأقل و يوضع الغطاء فوق الكبسولة وتوضع فورا في جهاز نازع للرطوبة (2.3).

تترك لتبرد في درجة حرارة المحيط (30 دقيقة على الأقل) ويتم وزنها بتقريب 0,1 ملغ.

2.6 العينة المأخوذة للتجربة

يوزن بسرعة و بتقريب 0,1 ملغ، 1غ إلى 5غ (حسب النسبة المحتملة للمادة الجافة) من العينة المحضرة، في الكبسولة المحضرة (1.6). في حالة الحليب أو القشدة، توضع الكبسولة في وضع مائل حتى تتوزع العينة المأخوذة للتجربة بانتظام في قاعدة الكبسولة. في حالة الحليب المركز غير المسكر، يضاف 3 ملل إلى 5 ملل من الماء المقطر أو ماء ذو نقاوة مكافئة، توضع الكبسولة في وضع مائل لخلط وتوزيع العينة المأخوذة للتجربة بانتظام على قاع الكبسولة.

3.6 التحديد

1.3.6 توضع الكبسولة، بدون غطاء، فوق الحمام المائي (3.3) المثبت بإحكام عند الغليان، حتى يكون قاع الكبسولة معرضا لأقصى حد ممكن للبخار الذي يسخنه مباشرة. تترك الكبسولة لمدة 30 دقيقة.

2.3.6 تخرج الكبسولة من الحمام المائي وتسخن مع غطائها الموضوع جانبا، في جهاز التجفيف (4.3) لمدة ساعتين. يوضع الغطاء فوق الكبسولة التي توضع مباشرة في جهاز نازع للرطوبة (2.3).

3.3.6 تترك الكبسولة لتبرد في درجة حرارة المحيط (30 دقيقة على الأقل) وتوزن بتقريب 0,1 ملغ.

4.3.6 تسخن الكبسولة من جديد مع غطائها الموضوع جانبا في جهاز التجفيف لمدة ساعة واحدة.

يوضع الغطاء فوق الكبسولة التي توضع مباشرة في جهاز نازع للرطوبة. تترك لتبرد كما هو الحال في (3.3.6) ويتم وزنها بتقريب 0,1 ملغ.

5.3.6 تكرر العمليات الموصوفة في (4.3.6) حتى يكون الفرق الكتلي بين وزنين متتاليين لا يتجاوز 1 ملغ. تسجل أصغر قيمة للكتلة.

7. التعبير عن النتائج

1.7 طريقة الحساب

تساوي المادة الجافة، المعبر عنها بالنسبة المئوية للكتلة :

$$100 \times \frac{ك_2 - ك_0}{ك_1 - ك_0}$$

حيث :

$ك_0$ هي الكتلة بالغرام للكبسولة و الغطاء (1.6).

$ك_1$ هي الكتلة بالغرام للكبسولة، والغطاء والعينة المأخوذة للتجربة (2.6).

$ك_2$ هي الكتلة بالغرام للكبسولة والغطاء والعينة الجافة المأخوذة للتجربة (5.3.6).

تحسب القيمة المحصل عليها بتقريب 0,01 % (نسبة كتلية).

2.7 الدقة

ملاحظة – يعبر عن قيم التكرارية وقابلية إعادة التجربة عند مستوى احتمال 95 % وهي مأخوذة من نتائج تجربة بين المخابر.

1.2.7 التكرارية

لا يتجاوز الفرق بين نتيجتين فرديتين، محصل عليهما على نفس المنتوج الذي يخضع للتجربة من نفس المحلل الذي يستعمل نفس الأجهزة في أقصر مجال من الزمن، القيم الآتية للمادة الجافة من أجل 100غ من المنتوج، بمعدل أكثر من مرة في 20 في التطبيق العادي والصحيح للمنهج:

- للحليب 0,10غ
- للقشدة 0,20غ
- للحليب المركز غير المسكر 0,30غ

2.2.7 قابلية إعادة التجربة

لايتجاوز الفرق بين نتيجتين فرديتين ومستقلتين، محصل عليهما من محللين يعملان في مخبرين مختلفين على نفس المنتوج، القيم الآتية للمادة الجافة من أجل 100غ من المنتوج، بمعدل أكثر من مرة في 20 حالة في التطبيق العادي والصحيح للمنهج :

- للحليب 0,20غ
- للقشدة 0,35غ
- للحليب المركز غير المسكر 0,50غ

★

وزارة التجارة

قرار مؤرخ في 5 صفر عام 1435 الموافق 8 ديسمبر سنة 2013، يجعل منهج تحديد النسبة الكلية للمادة الجافة للأجبان والأجبان الطرية إجباريا.

إن وزير التجارة،

– بمقتضى المرسوم الرئاسي رقم 13–312 المؤرخ في 5 ذي القعدة عام 1434 الموافق 11 سبتمبر سنة 2013 والمتضمن تعيين أعضاء الحكومة،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 90–39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990 والمتعلق 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 05–465 المؤرخ في 4 ذي القعدة عام 1426 الموافق 6 ديسمبر سنة 2005 والمتعلق بتقييم المطابقة،

يقرر ما يأتي:

المادة الأولى: تطبيقا لأحكام المادة 19 من المرسوم التنفيذي رقم 90–39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990، المعدل والمتمم والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج تحديد النسبة الكلية للمادة الجافة للأجبان والأجبان الطرية إجباريا.

المادة 2: من أجل تحديد النسبة الكلية للمادة الجافة للأجبان والأجبان الطرية، فإن مخابر مراقبة الجودة وقمع الغش والمخابر المعتمدة لهذا الغرض، ملزمة باستعمال المنهج المبين في الملحق المرفق بهذا القرار.

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 5 صفر عام 1435 الموافق 8 ديسمبر سنة 2013.

مصطفى بن بادة

الملحق
منهج تحديد النسبة الكلية للمادة الجافة للأجبان والأجبان الطرية

يعتبر هذا المنهج مرجعا لتحديد النسبة الكلية للمادة الجافة للأجبان والأجبان الطرية.

1. التعريف

لاحتياجات هذا المنهج، يطبق التعريف الآتي:

النسبة الكلية للمادة الجافة للجبن

هي النسبة الكتلية للمواد، محددة حسب طريقة العمل المبينة في هذا المنهج.

ملاحظة – يعبر عن النسبة الكلية للمادة الجافة بالنسبة المئوية للكتلة (نسبة كتلية).

2. المبدأ

تجفف عينة مأخوذة للتجربة موزونة وممزوجة مع الرمل عن طريق التسخين في جهاز التجفيف مضبوط في 102°م.

توزن العينة المأخوذة للتجربة والمجففة حتى يمكن تحديد الكتلة المفقودة.

3. الكواشف

تستعمل فقط كواشف ذات نوعية تحليلية معترف بها وماء مقطر أو منزوع المعادن أو ماء ذو نقاوة مكافئة على الأقل، إلا في حالة وجود تعليمات مخالفة.

1.3 محلول حمض الكلوريدريك (HCL)، نسبة كتلية 25%.

2.3 رمل الكوارتز أو رمل البحر.

1.2.3 يجب أن يكون الرمل ذا حبيبات تسمح له بالمرور عبر غربال من نسيج معدني تبلغ مساماته 600 µm ويثبت بغربال تبلغ مسامته 150 µm.

يجب أن تتوفر في الرمل متطلبات تجربة القبول المبينة في (2.2.3).

2.2.3 يوضع حوالي 20 غ من الرمل في كبسولة ذات قاعدة مسطحة (4.4) مزودة بقضيب للتحريك (5.4). تسخن كل من الكبسولة مفتوحة مع الرمل وغطائها وقضيب التحريك في جهاز التجفيف (3.4) مضبوطا في 102°م لمدة ساعتين على الأقل. يوضع الغطاء فوق الكبسولة وتترك لتبرد في جهاز نازع الرطوبة (2.4) حتى تصل درجة حرارة غرفة الوزن. توزن الكبسولة مع غطائها في الحين بتقريب 1 ملغ وتسجل الكتلة بأربعة أرقام بعد الفاصلة.

ينزع الغطاء من الكبسولة ويرطب الرمل بحوالي 5 ملل من الماء، يخلط الماء بالرمل بواسطة قضيب التحريك، تسخن كل من الكبسولة مفتوحة وغطاؤها وقضيب التحريك في جهاز التجفيف (3.4) مضبوطا في 102°م لمدة 4 ساعات على الأقل، يوضع الغطاء من جديد فوق الكبسولة وتترك لتبرد فى جهاز نازع الرطوبة (2.4) حتى تصل درجة حرارة غرفة الوزن. توزن الكبسولة مع غطائها بتقريب 1 ملغ وتسجل الكتلة بأربعة أرقام بعد الفاصلة. يجب ألا يتجاوز الفرق بين الوزنين 1 ملغ.

3.2.3 إذا لم يتوفر هذا الشرط، يعالج الرمل بالطريقة الآتية:

يُغمر الرمل في محلول حمض الكلوريدريك (1.3) ويُترك فيه لمدة ثلاثة أيام، مع التحريك من حين لآخر. ينزع السائل الذي يطفو قدر الإمكان. يغسل الرمل بالماء حتى نهاية التفاعل الحمضي للسائل الذي يطفو. يسخن الرمل في حوالي 160°م لمدة 4 ساعات على الأقل. يعاد بعد ذلك إجراء تجربة القبول المبينة في (2.2.3).

4. التجهيزات

التجهيزات المتداولة في المخبر لا سيما ما يأتي:

1.4 ميزان تحليلي، باستطاعته أن يزن بتقريب 1 ملغ وبدقة القراءة 0,1 ملغ.

2.4 جهاز نازع الرطوبة، مملوء بمجفف ملائم (مثلا هلام السيلس مجفف حديثا ويحتوي على مؤشر هيغرومتري).

كما يمكن استعمال صفيحة معدنية أو زجاجية كبديل تكون مناسبة لتجفيف سريع للكبسولات. يجب أن توضع هذه الصفيحة في خزانة مغلقة يمر عبرها تدفق الهواء الجاف.

3.4 جهاز تجفيف مُهوى، ذو تسخين كهربائي مزود بنوافذ تهوية مفتوحة تماما، مضبوط في (102± 2)°م ويحتفظ بدرجة حرارة منتظمة في كل نقطة من حيز العمل. يجب أن يكون جهاز التجفيف مزودا بمقياس درجة حرارة ملائم.

4.4 كبسولات ذات قاعدة مسطحة، من مادة ملائمة (مثلا معدن غير قابل للأكسدة، النيكل أو الألومنيوم)، ارتفاعها من 20 ملم إلى 25 ملم ويتراوح قطرها بين 60 ملم و80 ملم ومزودة بأغطية ملائمة وسهلة النزع.

5.4 قضبان التحريك، من زجاج أو من معدن، ذات نهاية مسطحة وطول كاف حتى يمكن لقضيب التحريك أن يرتكز على الجدران الداخلية للكبسولة مشكلا زاوية مباشرة تحت الحافة.

6.4 جهاز للسحق أو للكشط، سهل التنظيف وملائم لتحضير عينة التجربة.

5. اقتطاع العينة

من الأحسن أن يتلقى المخبر عينة نموذجية فعلا، غير متلفة ولم تتغير أثناء النقل والتخزين.

يجرى اقتطاع العينة حسب منهج ملائم.

تحفظ عينات التجربة في درجة حرارة تتراوح بين 0°م و20°م وذلك ابتداء من اقتطاع العينة حتى الشروع في طريقة العمل. يجب ألا يتأثر تركيب العينات أثناء التخزين.

6. تحضير العينة للتجربة

قبل التحليل، تنزع القشرة أو الطبقة الخارجية أو الطبقة الفطرية للجبن حتى يتم الحصول على عينة نموذجية للجبن كما يستهلك عادة.

تسحق أو تكشط العينة للتجربة باستعمال جهاز ملائم للسحق أو البشر (6.4)، تخلط بسرعة الكتلة المسحوقة أو المبشورة وإذا اقتضى الأمر، وذلك في حالة الأجبان ذات عينة صلبة أو نصف صلبة، تسحق للمرة الثانية وتخلط من جديد بعناية. في حالة الأجبان ذات عجينة صلبة أو نصف صلبة من المستحسن أن تقطع إلى مربعات ضلعها حوالي 15 ملم.

تخلط المربعات برجها في وعاء، تسحق أو تبشر العينة للتجربة كما هو مبين سابقا. ينظف الجهاز بعد تحضير كل عينة.

إذا كانت العينة غير قابلة للسحق أو الكشط تخلط بعناية عن طريق العجن الجيد، مثلا في مهراس. يجب الحرص على تجنب أي فقد للرطوبة.

تحفظ العينة المحضّرة في وعاء مغلق بإحكام ولايسمح بدخول الهواء إلى حين إجراء التحليل الذي يجب أن يتم في أقرب أجل بعد السحق.

مع ذلك، إذا كان لا بد من مهلة فتؤخذ كل الاحتياطات من أجل ضمان حفظ ملائم للعينة. في حالة التبريد، تردّ العينة إلى درجة حرارة المحيط. تخلط العينة بعناية لمنع تسرب الرطوبة داخل الجبن الذي يحدث أثناء التبريد والتسخين. التأكد من إعادة دمج، بانتظام وبطريقة ملائمة، لكل تكتل فوق المساحة الداخلية للوعاء في عينة التجربة.

لا يجري التحليل للجبن المسحوق الذي يظهر عليه تكاثر فطريات غير مرغوب فيها أو علامات تلف.

7. طريقة العمل

1.7 التجربة على بياض

موازاة مع التحديد الذي يجرى على العينة المأخوذة للتجربة (3.7)، تجرى تجربة على بياض حسب نفس طريقة عمل تحضير الكبسولة (2.7) والتحديد (3.7)، لكن بدون العينة المأخوذة للتجربة.

2.7 تحضير الكبسولة

1.2.7 تسخن الكبسولة وهي مفتوحة (4.4) وتحتوي على حوالي 20 غ من الرمل (2.3) وكذلك غطائها وقضيب التحريك (5.4) في جهاز التجفيف (3.4) مضبوطا في 102°م. يترك محتوى الكبسولة حتى يصل إلى 102°م ثم يجفف المحتوى لمدة ساعة على الأقل.

تبدأ فترة التجفيف المبينة في (1.2.7) و (3.3.7) و(6.3.7) عندما يصل محتوى الكبسولة إلى درجة حرارة 102°م. يرتبط الوقت اللازم للوصول إلى هذه الدرجة من الحرارة بالطاقة وتواتر التهوية وحجم جهاز التجفيف. تتعلق كذلك مدة ارتفاع درجة الحرارة بعدد الكبسولات الموضوعة في جهاز التجفيف وبكتلتها وبالمادة التي تتكون منها. من الأحسن أن تكون مدة ارتفاع درجة الحرارة محددة بالتجربة.

2.2.7 يوضع الغطاء من جديد فوق الكبسولة ويوضع فورا في جهاز نازع الرطوبة (2.4). تترك الكبسولة لتبرد حتى تصل إلى درجة حرارة المحيط في جهاز نازع الرطوبة. عندما تبرد الكبسولة تخرج من جهاز نازع الرطوبة وتوزن مع غطائها وقضيب التحريك بتقريب 1 ملغ وتسجل الكتلة بأربعة أرقام بعد الفاصلة.

ترتبط مدة التبريد المبينة في (2.2.7)، (4.3.7) و(5.3.7) بقدرة تبريد جهاز نازع الرطوبة لكن كذلك بعدد الكبسولات الموضوعة داخل جهاز نازع الرطوبة وبكتلتها وبالمادة التي تتكون منها.

من الأحسن أن تكون مدة التبريد محددة بالتجربة.

3.7 التحديد

1.3.7 توضع الكبسولة في وضع مائل للسماح بانزلاق الرمل على جانب هذه الأخيرة. توضع بتقريب 3غ من عينة التجربة (6) فوق سطح الكبسولة الخالي من الرمل وتوزن الكبسولة وكذلك غطاؤها وقضيب التحريك بتقريب 1 ملغ وتسجل الكتلة بأربعة أرقام بعد الفاصلة.

2.3.7 تخلط العينة المأخوذة للتجربة مع الرمل بعناية ويوزع الخليط بطريقة متجانسة فوق قاع الكبسولة. تترك النهاية المسطحة لقضيب التحريك في الخليط والنهاية الأخرى مرتكزة على جدار الكبسولة.

ملاحظة – يمكن أن يكون خلط الرمل بأجبان ذات عجينة صلبة أكثر سهولة بإضافة حوالي 3 ملل من الماء حتى يتشبع الرمل.

3.3.7 تسخن الكبسولة مع غطائها الموضوع بجانبها في جهاز التجفيف (3.4) مضبوطا في 102°م يترك محتوى الكبسولة حتى يصل إلى 102°م ثم يجفف المحتوى لمدة 3 ساعات على الأقل.

4.3.7 يوضع الغطاء من جديد فوق الكبسولة وتترك هذه الأخيرة لتبرد في جهاز نازع الرطوبة (2.4) حتى تصل درجة حرارة المحيط. توزن الكبسولة مع غطائها بتقريب 1 ملغ وتسجل الكتلة بأربعة أرقام بعد الفاصلة.

5.3.7 تسخن من جديد الكبسولة مع غطائها كما هو مبين في (3.3.7)، لكن لمدة ساعة عوضا عن 3 ساعات. يوضع الغطاء من جديد فوق الكبسولة وتترك لتبرد حتى تصل درجة حرارة المحيط في جهاز نازع الرطوبة (2.4)، توزن من جديد الكبسولة مع غطائها بتقريب 1 ملغ وتسجل الكتلة بأربعة أرقام بعد الفاصلة.

6.3.7 يعاد إجراء طريقة العمل المبينة في (5.3.7) حتى يلاحظ بين وزنين متتاليين نقص في الكتلة أقل أو يساوي 2 ملغ أو ارتفاع في الكتلة. يسجل الحد الأدنى لكتلة الكبسولة.

8. الحساب والتعبير عن النتائج

1.8 الحساب

تحسب النسبة الكلية للمادة الجافة في عينة التجربة، ن.ك م ج، معبرا عنها بالنسبة المئوية للكتلة بواسطة المعادلة الآتية :

$$\text{ن.ك م ج} = \frac{(ك_2 - ك_0) - (ك_4 - ك_3)}{ك_1 - ك_0} \times 100\%$$

حيث:

ك0 : هي كتلة الكبسولة المحضرة بالغرام (2.2.7)،

ك1 : هي كتلة العينة المأخوذة للتجربة والكبسولة بالغرام قبل نزع الرطوبة (1.3.7)،

ك2 : هي كتلة العينة المأخوذة للتجربة والكبسولة بالغرام بعد نزع الرطوبة (6.3.7)،

ك3 : هي كتلة الكبسولة المستعملة للتجربة على بياض (1.7) بالغرام، لنفس مدة نزع الرطوبة بالنسبة لـ ك2 (6.3.7)،

ك4 : هي كتلة الكبسولة المحضرة (2.2.7) المستعملة للتجربة على بياض بالغرام (1.8).

2.8 التعبير عن النتائج

يعبر عن النتائج المتحصل عليها برقمين بعد الفاصلة.

9. الدقة

1.9 التكرارية

لا يتجاوز الفرق المطلق بين نتيجتين منفردتين ومنفصلتين لتجربة متحصل عليهما عن طريق نفس المنهج وعلى نفس المادة الخاضعة للتجربة في نفس المخبر ومن طرف نفس المحلل الذي يستعمل نفس التجهيزات في مدة زمنية قصيرة 0,35 % (من الكتلة) إلا في 5% من الحالات على الأكثر.

2.9 قابلية إعادة التجربة

لا يتجاوز الفرق المطلق بين نتيجتين منفردتين لتجربة متحصل عليهما عن طريق نفس المنهج وعلى نفس المادة الخاضعة للتجربة في مخابر مختلفة من طرف محللين مختلفين يستعملون تجهيزات مختلفة، 0,55 % (من الكتلة) إلا في 5% من الحالات على الأكثر.

وزارة التجارة

قرار مؤرخ في 20 شوال عام 1434 الموافق 27 غشت سنة 2013، يجعل منهج تحديد نسبة الآزوت البروتيني في الحليب إجباريا.

إن وزير التجارة،

– بمقتضى المرسوم الرئاسي رقم 12–326 المؤرخ في 17 شوال عام 1433 الموافق 4 سبتمبر سنة 2012 والمتضمن تعيين أعضاء الحكومة،

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

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

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 05–465 المؤرخ في 4 ذي القعدة عام 1426 الموافق 6 ديسمبر سنة 2005 والمتعلّق بتقييم المطابقة،

– وبمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرخ في 29 صفر عام 1414 الموافق 18 غشت سنة 1993 والمتعلق بمواصفات بعض أنواع الحليب المعد للاستهلاك و عرضه،

– وبمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرخ في 7 ربيع الثاني عام 1418 الموافق 10 غشت سنة 1997 والمتعلّق بالمواصفات التقنية لأنواع الحليب المركز غير المحلّى والمحلّى وشروط عرضها و كيفياته،

يقرر مايأتي :

المادة الأولى : تطبيقا لأحكام المادة 19 من المرسوم التنفيذي رقم 90–39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990، المعدل والمتمم والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج تحديد نسبة الآزوت البروتيني في الحليب إجباريا.

المادة 2 : من أجل تحديد نسبة الآزوت البروتيني في الحليب، فإن مخابر مراقبة الجودة وقمع الغش والمخابر المعتمدة لهذا الغرض، ملزمة باستعمال المنهج المبيّن في الملحق المرفق بهذا القرار.

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 20 شوال عام 1434 الموافق 27 غشت سنة 2013.

مصطفى بن بادة

الملحق

منهج تحديد نسبة الأزوت البروتيني في الحليب

يبين هذا المنهج تقنية التحديد المباشر لنسبة الأزوت البروتيني للحليب السائل، الكامل أو المنزوع الدسم.

1. التعريف

لمتطلبات هذا المنهج، يطبق التعريف الآتي :

نسبة الأزوت البروتيني :

هي النسبة الكتلية للمواد، تحدد بطريقة مباشرة أو غير مباشرة حسب طريقة العمل المبينة في هذا المنهج.

ملاحظة – يعبر عن نسبة الأزوت البروتيني بالنسبة الكتلية.

2. المبدأ

ترسب بروتينات العينة المأخوذة للتجربة بإضافة محلول حمض ثلاثي الأستيك بحيث يكون التركيز النهائي لهذا الحمض في المزيج بتقريب 12 %. يفصل الراسب البروتيني بالترشيح (تحتوي الرشاحة على الأزوت غير بروتيني). تحدد نسبة الأزوت في الرشاحة حسب طريقة العمل المبينة في منهج تحديد نسبة الأزوت في الحليب.

3. الكواشف

تستعمل فقط كواشف ذات نوعية تحليلية معترف بها و ماء مقطر أو منزوع المعادن أو ماء ذو نقاوة على الأقل مكافئة إلا في وجود تعليمة مخالفة. تستعمل نفس الكواشف المبينة في منهج تحديد نسبة الأزوت في الحليب بالإضافة إلى ما يأتي :

1.3 محلول حمض ثلاثي كلور الأستيك (CCl_3COOH)

داخل حوجلة مدرجة سعتها 100 ملل، تذوب في الماء 15,0 غ من حمض ثلاثي كلور الأستيك و يكمل بالماء

حتى خط المعلم. لا تستعمل تراكيز أخرى لحمض ثلاثي كلور الأستيك و أحجام محاليل تختلف عن تلك المحددة.

في حالة إستعمال تراكيز أخرى لحمض ثلاثي كلور الأستيك أو أحجام أخرى للمحاليل تكون فعالية المنهج فيما يخص القيمة المتوسطة وخصائص الفعالية مابين المخابر مختلفة.

2.3 محلول حجمي معياري لحمض الكلورهيدريك (HCl) تركيزه (0,1 ± 0,0005) مول/ل

4. التجهيزات

تستعمل الأجهزة المتداولة في المخبر، بالإضافة إلى تلك المستعملة في منهج تحديد نسبة الأزوت في الحليب لا سيما الأجهزة الآتية :

1.4حمام مائي، يمكن ضبطه عند 38° م ± 2° م،

2.4 ماصة، سعتها 5 ملل،

3.4 قمع الترشيح، من زجاج، قطره 75 ملم،

4.4 ورق الترشيح، خال من الأزوت، قطره 15 سم،

5.4 ماصة أوتوماتيكية أو ماصة بمكبس، تسمح بالحصول على جرعات ذات 10 ملل.

5. اقتطاع العينة

يتم اقتطاع العينة في شروط ملائمة.

6. تحضير عينة التجربة

تسخن عينة التجربة في حمام مائي (1.4) مظبوط في درجة حرارة 38° م ± 2° م. تخلط العينة جيدا و برفق عن طريق دوران متكرر للوعاء، بدون التسبب في تشكل الرغوة أو المخض. تترك العينة لتبرد في درجة حرارة الوسط مباشرة قبل وزن عينة التجربة (1.7)

7 . طريقة العمل

1.7 العينة المأخوذة للتجربة

توضع 5,0 ملل ± 0,1 ملل من العينة المأخوذة للتجربة المحضرة (6) في كرة (Kjeldahl) أو في أنبوب تمعدن نظيف و جاف، تم وزنه مسبقا بتقريب 0,1 ملغ. يضاف مباشرة 5 ملل ± 0,1 ملل من الماء في الكرة أو الأنبوب و تشطف كل بقايا العينة المتبقية على العنق بحيث ينساب إلى قاع الأنبوب أو الكرة.

ملاحظة – يرتبط استعمال كرة (Kjeldahl) أو أنبوب التمعدن بالمنهج المختار من طرف المخبر.

2.7 التحديد المباشر

1.2.7 الترسيب والترشيح

يضاف إلى العينة (1.7) الموجودة في كرة (Kjeldahl) أو أنبوب التمعدن 40 ملل ± 0,5 ملل من محلول حمض ثلاثي كلور الأستيك (1.3) مع الرج لمزج المحتوى.

من أجل أن يركد الراسب تترك كرة (Kjeldahl) أو أنبوب التمعدن ليرتاح حوالي خمس دقائق. يرشح محتوى الكرة أو الأنبوب عبر ورق ترشيح (4.4) موضوع فوق قمع الترشيح (3.4).

تجمع الرشاحة في حوجلة نظيفة مخروطية الشكل. تبقى كمية من الراسب في كرة (Kjeldahl) أو أنبوب التمعدن و تتجمع الكمية المتبقية فوق ورق الترشيح. ليس من الضروري سحب كل الراسب من الكرة أو الأنبوب.

من أجل ألا يجف جزء من الراسب على عنق الكرة أو الأنبوب يضاف مباشرة بعد سكب المزيج بواسطة ماصة أوتوماتيكية (5.4)، 10 ملل من محلول حمض ثلاثي كلور الأستيك (1.3).

يستعمل هذا المزيج لشطف كل بقايا الراسب المتبقية على العنق و يترك سائل الشطف لينساب في قاع الكرة أو الأنبوب.

يمزج المحتوى بواسطة حركة دورانية. يسكب المزيج المتحصل عليه عبر نفس ورق الترشيح. تضاف الرشاحة إلى تلك التي تم جمعها من قبل داخل الحوجلة المخروطية. يشطف مباشرة عنق الكرة أو الأنبوب مجددا بواسطة جرعة جديدة ذات 10 ملل من محلول ثلاثي كلور الأستيك مع الرج لمزج المحتوى. يسكب للمرة الثالثة محتوى الكرة أو الأنبوب عبر نفس ورق الترشيح مع إضافة الرشاحة إلى ما جمع من قبل داخل الحوجلة المخروطية.

يجب أن تكون الرشاحة المتحصل عليها شفافة وخالية من جزيئات المادة. في هذه المرحلة لا تكون الرشاحة ضرورية ويمكن التخلص منها بطريقة ملائمة.

إذا تم إجراء تجارب متكررة على نفس العينة المأخوذة للتجربة، فيجب أن تجرى تجربتين مختلفتين للترسيب والترشيح على كل عينة تجربة.

2.2.7 تحضير الرشاحة

بعد وضع القفازين يسحب ببطء ورق الترشيح من فوق القمع ويطوى الورق لحبس الراسب، إذ تبقى قليل من الراسب على الحافة الداخلية أو الخارجية لكرة

(Kjeldahl) أو لأنبوب التمعدن يمسح بورق الترشيح المطوي بحيث يلتصق كل الراسب على الورق، بعدها يوضع ورق الترشيح داخل كرة (Kjeldahl) أو أنبوب التمعدن.

3.2.7 عملية التمعدن والتقطير

يضاف إلى كرة (Kjeldahl) أو أنبوب التمعدن كمية مناسبة من عناصر مسهلة للغليان، محلول سولفات البوتاسيوم، محلول سولفات النحاس وحمض الكبريت و تتبع عملية التمعدن والتقطير حسب طريقة العمل المحددة في منهج تحديد نسبة الأزوت في الحليب.

4.2.7 التجربة على بياض

تجرى التجربة على بياض كما هو مبين من (1.2.7) إلى (3.2.7) بحيث تستبدل عينة التجربة بورق الترشيح (4.4) مغسول بمحلول حمض ثلاثي كلور الأستيك (1.3) وتتم معايرة العينات المأخوذة للتجربة على بياض بنفس الكواشف والتجهيزات المستعملة مع العينات المأخوذة للتجربة.

تسجل القيم على بياض. إذا تغيرت القيم يجب معرفة سبب التغير.

3.7 التحديد غير المباشر

يمكن حساب نسبة الأزوت البروتيني لعينة التجربة بدلا من التحديد المباشر (2.7) بالاستناد إلى تحديد كلاسيكي غير مباشر.

يتم هذا بخصم نسبة الأزوت غير البروتيني من نسبة الأزوت الإجمالي لنفس عينة التجربة المحددة عن طريق منهج تحديد نسبة الأزوت في الحليب.

للتعبير عن النسبة الحقيقية للبروتينات يتم ضرب الناتج المتحصل عليه لنسبة الأزوت البروتيني في 6,38.

8. الحساب والتعبير عن النتائج

1.8 حساب نسبة الأزوت البروتيني

1.1.8 تحسب نسبة الأزوت البروتيني Wpn لعينة التجربة عن طريق المعادلة الآتية :

$$Wpn = \frac{1{,}4007\,(Vs - Vb)\,Mr}{m}$$

حيث :

Wpn : هي نسبة الأزوت البروتيني لعينة التجربة، بالنسبة الكتلية،

Vs : هي القيمة الرقمية لحجم حمض الكلور (2.3) المستعمل في التحديد، بالميليمتر، يعبر عنها بتقريب 0,05 ملل،

Vb : هي القيمة الرقمية لحجم حمض الكلور (2.3) المستعمل في التجربة على بياض، بالميليمتر، يعبر عنها بتقريب 0,05 ملل،

Mr : هي القيمة الرقمية للمولارية الحقيقية لحمض الكلور (2.3) يعبر عنها بأربعة أرقام بالتقريب،

m : هي القيمة الرقمية لكتلة عينة التجربة (1.7)، بالغرام، يعبر عنها بتقريب 0,1 ملغ.

2.1.8 إذا استلزم الأمر يعبر عن النتائج بأربعة أرقام بالتقريب لإجراء حسابات لاحقة. إذ تعلق الأمر بالنتائج النهائية يعبر عن نسبة الأزوت بثلاثة أرقام وبرقمين للتعبير عن نسبة البروتينات.

من الأحسن ألا تقرب النتائج قبل الاستعمال النهائي لقيمة التجربة.

ملاحظة – يتحقق هذا بالخصوص عندما تستعمل النتائج لحسابات لاحقة. مثلا في الحالة التي يستعمل فيها النتائج الفردية للتجربة المتحصل عليها من تحليل عدة عينات لحساب إحصائيات فعالية المنهج فيما يخص التغيرات في نفس المخبر وما بين المخابر.

كذلك في حالة استعمال هذه النتائج كمرجع لضبط جهاز ما (على سبيل المثال جهاز معايرة الحليب بالأشعة تحت الحمراء)، حيث تستعمل قيم عدة عينات لحساب التناقص البسيط والمتعدد.

في هاته الحالات، من الملائم ألا تقرب القيم المتحصل عليها قبل استعمالها في حسابات لاحقة.

2.8 حساب نسبة الأزوت الحقيقي

1.2.8 تحسب النسبة الحقيقية للبروتينات Wp لعينة التجربة عن طريق المعادلة الآتية :

$$Wp = Wpn \times 6{,}38$$

حيث :

Wp : هي النسبة الحقيقية للبروتينات لعينة التجربة، يعبر عنها بالنسبة الكتلية،

وزارة التجارة

قرار مؤرخ في 14 صفر عام 1435 الموافق 17 ديسمبر سنة 2013، يجعل منهج تحديد نسبة المادة الدسمة في الجبن إجباريا.

إن وزير التجارة،

– بمقتضى المرسوم الرئاسي رقم 13 – 312 المؤرّخ في 5 ذي القعدة عام 1434 الموافق 11 سبتمبر سنة 2013 والمتضمّن تعيين أعضاء الحكومة،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 90 – 39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990 والمتعلق 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 – 465 المؤرخ في 4 ذي القعدة عام 1426 الموافق 6 ديسمبر سنة 2005 و المتعلق بتقييم المطابقة،

يقرر ما يأتي :

المادة الأولى : تطبيقا لأحكام المادة 19 من المرسوم التنفيذي رقم 90 – 39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990، المعدّل والمتمّم والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج تحديد نسبة المادة الدسمة في الجبن إجباريا.

المادة 2 : من أجل تحديد نسبة المادة الدسمة في الجبن، فإن مخابر مراقبة الجودة وقمع الغش و المخابر المعتمدة لهذا الغرض، ملزمة باستعمال المنهج المبين في الملحق المرفق بهذا القرار.

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 14 صفر عام 1435 الموافق 17 ديسمبر سنة 2013.

مصطفى بن بادة

الملحق

تحديد نسبة المادة الدسمة في الجبن

يبين هذا المنهج فان قليك (Van Gulik) تقنية لتحديد نسبة المادة الدسمة في الأجبان (نسبة كتلية).

يطبق هذا المنهج على جميع أنواع الأجبان. غير أنه لا يمكن أن يكون مرضيا تماما عندما يطبق على الأجبان ذات فطريات داخلية (الجبن الأزرق).

1. التعريف

تطبق لمتطلبات هذا المنهج التعاريف الآتية :

1 . 1 منهج فان قليك (Van Gulik)

تقنية متفق عليها والتي، عندما تطبق على الجبن، تعطي نسبة المادة الدسمة معبرا عنها بالغرام بالنسبة لـ 100 غ من الجبن.

1 . 2 تحديد نسبة المادة الدسمة للجبن

جزء كتلي لمادة محددة حسب طريقة العمل المبينة في هذا المنهج.

ملاحظة – يعبّر عن نسبة المادة الدسمة بالغرام بالنسبة لـ 100 غ تعادل عدديا لجزء كتلي بالنسبة المئوية.

2 . المبدأ

بعد تحليل بروتينات الجبن بواسطة حمض الكبريت، تفصل المادة الدسمة بعملية الطرد المركزي داخل مقياس الزبد لـ Van Gulik (1.4)، تسهل إضافة كمية صغيرة من كحول الإيزوأميليك (iso-amylique) عملية الفصل.

يحصل على نسبة المادة الدسمة بقراءة مباشرة على سلم مقياس الزبد.

3 . الكواشف :

تستعمل فقط الكواشف ذات نوعية تحليلية معترف بها و ماء مقطر أو ذو نقاوة مكافئة.

1 . 3 حمض الكبريت :

يجب أن تكون الكتلة الحجمية لحمض الكبريت في درجة حرارة 20° م من (1,522 ± 0,005) غ/ مل، أي ما يوافق كتلة حجمية من 61,72% إلى 62,63% لـ H_2SO_4، يجب أن يكون الحمض عديم اللون أو عنبري قليلا ولا يحتوي على أي شوائب بإمكانها التأثير على النتائج.

2 . 3 كحول الإيزوأميليك (iso-amylique)

1 . 2 . 3 التركيبة

يجب أن تكون الكتلة الحجمية التي تحتوي على 99% على الأقل من كحول إيزوأميليك و مكونة من كحولات أولية 3- ميثيل بوتان -1- كحول و 2- ميثيل بوتان -1- كحول، الشوائب الوحيدة المسموح بها هي 2- ميثيل بروبان -1- كحول و بوتان -1- كحول. يجب أن يكون خاليا من البنتانول الثنائي، 2- ميثيل بوتان-2- كحول، فوران-2- ألدهيد (فورفورال، فوران-2- كاربوكسالديهيد، 2- فورالديهيد)، وللبنزين ومشتقات البنزان. يمكن فقط السماح لبقايا قليلة من الماء.

2 . 2 . 3 المظهر

يجب أن يكون كحول الإيزوأميليك صافيا و عديم اللون.

3 . 2 . 3 الكتلة الحجمية

يجب أن تكون الكتلة الحجمية لكحول إيزوأميليك في درجة حرارة 20°م من 0,808 غ/ملل إلى 0,818 غ/ملل.

4 . 2 . 3 2 – فورالديهيد و شوائب عضوية أخرى

يجب أن يكون مزيج من 5 ملل من كحول إيزوأميليك و 5 ملل من حمض الكبريت (1.3)، ذا لون على الأكثر أصفر أو أسمر خفيف.

5 . 2 . 3 مجال التقطير

عندما يقطر كحول الإزوأميليك تحت ضغط 101,3 كيلو باسكال، يجب أن تقطر نسبة حجمية ذات 98% على الأقل في درجة حرارة أقل من 132°م و نسبة حجمية التي لا تتجاوز 5% في درجة حرارة أقل من 128°م. يجب ألا يترك الكحول أي راسب بعد التقطير.

إذا كان الضغط الجوي أثناء التقطير أقل أو أعلى من 101,3 كيلو باسكال، يوصى بتخفيض أو رفع على التوالي درجات الحرارة المشار إليها بـ 3,3°م/كيلو باسكال.

6 . 2 . 3 تجربة المطابقة

يمكن أن يرضي كحول إيزوأميليك المتطلبات الواردة في (1.2.3 إلى 5.2.3) و لا يمكن استعماله في منهج Van Gulik. و بالتالي، يجب التحقق قبل الاستعمال، من قابلية استعمال كحول إيزوأميليك عن طريق تجارب المقارنة التالية المجراة بمعيار كحول إزوأميليك.

1 . 6 . 2 . 3 معيار كحول إيزوأميليك (iso-amylique)

يقطر كحول إيزوأميليك المرضي لمتطلبات (1.2.3 إلى 5.2.3)، مع عمود تجزئة لائق، بأخذ جزء في مجال درجة حرارة يقدر بـ 2 °م بين 128 °م و 131,5 °م (5.2.3).

تجرى التجارب الآتية على هذا الجزء :

أ) عند مراقبته عن طريق الاستشراب الغازي- السائل، يجب أن يتألف على الأقل من 99% (نسبة كتلية) من ميثيل -3 بوتانول -1 و ميثيل -2 بوتانول -1، يجب أن تكون الشوائب الأخرى عدا الميثيل -2 بروبانول -1 و البوتانول -1 موجودة على شكل أثار.

ب) عند تقطيره جزئيا، يجب أن تعطي 10% الأولى من الحجم و 10% الأخيرة من الحجم المستجمع عند مقارنتها بطريقة العمل المبنية في (2.6.2.3) نسب للمادة الدسمة للحليب لا تختلف عن أكثر من 0,015% في الكتلة.

إذا توافق هذا الجزء من هاتين التجربتين، فيمكن اعتبار كحول إيزوأميليك معيارا. يمكن استعمال كحول الإيزوأميليك المعياري لعدة سنوات إذا تم حفظه في مكان داكن و بارد.

2 . 6 . 2 . 3 طريقة العمل لتجارب المقارنة

تحدد لمرتين، عن طريق منهج جربير (Gerber)، نسبة المادة الدسمة لأربع عينات من الحليب الكامل الذي يحتوي على نسبة متوسطة من المادة الدسمة، بالاستعانة بمقياس الزبد الذي يكون قد حدد فيه خطأ التدريج مسبقا، و حمض الكبريت ذو نوعية مناسبة.

يستعمل في عينة من كل زوج، 1 ملل من كحول إيزوأميليك الذي أخضع للتحقق و في الآخر 1 ملل من معيار كحول إيزوأميليك المعياري (1.6.2.3).

تحفظ مقاييس الزبد الموضوعة عشوائيا ابتداء من الرج حتى نهاية العملية. تجرى القراءات (من طرف شخصين على الأقل) بتقريب 0,02% لكتلة المادة الدسمة ثم تصحح بعد الأخذ بعين الاعتبار أخطاء سلم مقياس الزبد.

يجب ألا تختلف النسبة المتوسطة للمادة الدسمة للأربع عينات من الحليب المتحصل عليها بكحول إزوأميليك الخاضعة للتحقق، عن أكثر من 0,015% لكتلة المادة الدسمة من القيمة المتوسطة المتحصل عليها بكحول إيزوأميليك المعياري.

بدلا من الكحول الإيزوأميليك المخصص، يمكن استعمال كحول إيزوأميليك اصطناعي أو بديل، ملّون عند الضرورة بشرط أن يكون معترفا به و ذلك حسب طريقة العمل المبنية في هذه الفقرة.

4 . التجهيزات

الأجهزة المتداولة في المخبر و لا سيما ما يأتي :

1 . 4 مقياس الزبد فان قليك (Van Gulik)،

2 . 4 جهاز وزن، مكيف بسدادة عريضة لمقياس الزبد، يمكن أيضا استعمال كبسولة أو ورقة من بلاستيك،

3 . 4 ماصة أو أجهزة قياس آلية، تسمح بتسريح حمض الكبريت (1.3)،

4 . 4 ماصة أو أجهزة قياس آلية، تسمح بتسريح (1 ± 0,05) ملل من كحول إيزوأميليك (2.3)،

5 . 4 ميزان تحليلي، قادر على الوزن بتقريب 0,001 غ،

6 . 4 جهاز طرد مركزي، حيث يمكن وضع مقياس الزبد، مزود بمؤشر تردد ذو دوران مدرج بعدد الدورات في الدقيقة مع قدرة تحمل قصوى تقدر بـ ± 50 دورة/ دقيقة، و من الأفضل أن يكون ذا شحنة عمودية وليس أفقية.

يجب أن يكون جهاز الطرد المركزي عند التحميل، قادرا في دقيقتين (2) على إحداث تسارع طرد مركزي نسبي بـ (350 ± 50) غ في نهاية سدادة مقياس الزبد،

يمكن الحصول على مثل هذا التسارع بأجهزة الطرد المركزي التي تحتوي على الشعاع الفعال الآتي (بعد أفقي بين محور جهاز الطرد المركزي والنهاية الخارجية لسدادات مقياس الزبد) والعاملة على تردد الدوران المبين في الجدول الآتي :

الشعاع الفعال لجهاز الطرد المركزي و تردد الدوران لإنتاج تسارع طرد مركزي بـ (350 ± 50) غ

الشعاع الفعال ملم	تردد الدوران ± 70 دورة/ دقيقة
240	1140
245	1130
250	1120
255	1110
260	1100
265	1090
270	1080
275	1070
300	1020
325	980

ملاحظة - يعطى تسارع الطرد المركزي النسبي المتحصل عليه في جهاز الطرد المركزي في الصيغة التالية :

$$1,12\ r\,n^2 \times 10^{-6}$$

حيث :

r : هو الشعاع الأفقي الفعال، بالمليمتر،

n : هو تردد الدوران، بعدد الدورات في الدقيقة.

4 . 7 حمام مائي لمقياس الزبد، يمكن ضبطه عند درجة حرارة (65 ± 2) °م و في وضعية عمودية (1.4)، يجب أن تكون فيها السلالم مغمورة كليا،

4 . 8 مقياس درجة الحرارة، يكون ملائما و موجها للتحقق من درجة حرارة الحمام المائي (7.4).

4 . 9 مكشط، أو جهاز آخر لسحق الجبن.

5 . اقتطاع العينة

من الضروري أن يتلقى المخبر عينة ممثلة حقا، ولم تتلف أو تتغير خلال النقل و التخزين.

6 . طريقة العمل

6 . 1 تحضير العينة للتجربة

تنزع من الجبن القشرة أو الجزء السطحي المحتوي على فطريات، بطريقة تسمح بالحصول على عينة ممثلة من الجبن كما يستهلك، تسحق العينة بواسطة جهاز السحق الملائم (9.4) و يمزج بسرعة الجزء المسحوق و إذا أمكن يسحق و يمزج بعناية مرة ثانية.

إذا لم نتمكن من سحق العينة (مثل الجبن الطري)، يمزج بعناية مع عجنة بقوة.

تنقل مباشرة العينة المعالجة مسبقا أو قطعة ممثلة من هذه الأخيرة في وعاء مزوّد بغطاء لا ينفذ منه الهواء.

يجرى التحليل في أسرع وقت ممكن بعد السحق والمزج. إذا كانت هناك مهلة ضرورية فتأخذ كل الاحتياطات لحفظ العينة بطريقة لائقة تجنبا لتكاثف بخار الماء داخل الوعاء.

ينصح بعدم تحليل الأجبان المسحوقة أو الممزوجة التي تظهر نمو فطريات غير مرغوب فيها أو علامات لبداية التلف.

ينظف الجهاز بعد سحق كل عينة.

6 . 2 أخذ العينة للتجربة

توزن بتقريب 0,005غ، 3غ من عينة التجربة (1.6) في جهاز وزن مكيف بسدادة ملائمة (2.4) أو في كبسولة، أو على ورقة من مادة بلاستيكية.

6 . 3 التحديد

6 . 3 . 1 إذا استعمل جهاز وزن ملائم لسدادة، يغلق عنق مقياس الزبد (1.4) بهذه السدادة المزودة بجهاز وزن يحتوي على العينة المأخوذة للتجربة ويضاف حمض الكبريت (1.3) عبر الفتحة الضيقة حتى يبلغ ارتفاع مستوى الحمض حوالي ثلثي حجرة مقياس الزبد و يكون جهاز الوزن مغطى تماماً بحمض الكبريت.

إذا لم يستعمل جهاز الوزن، تغلق الفتحة الضيقة لمقياس الزبد (1.4) بالسدادة الصغيرة و يدخل حمض الكبريت عبر العنق حتى يبلغ ارتفاع مستوى حمض الكبريت نصف الحجرة تقريبا.

يسكب الجبن في مقياس الزبد. و في حالة استعمال ورقة بلاستيكية يدخل الجبن مع الورقة. يغلق العنق بالسدادة الكبيرة و يقلب مقياس الزبد و تنزع السدادة الصغيرة.

6 . 3 . 2 يوضع مقياس الزبد بحيث يكون العنق للأسفل (أي الفتحة العريضة) لمدة 5 دقائق في حمام مائي (7.4)، في (65 ± 2)°م.

3 . 3 . 6 ينزع مقياس الزبد من الحمام المائي ويمزج بقوة مدة 10 ثوانٍ.

4 . 3 . 6 تعاد العمليات المذكورة في (2.3.6) و(3.3.6) حتى تذوب البروتينات كليا. عموما ساعة واحدة تكون ضرورية للحصول على هذه النتيجة. تواصل هذه العمليات مدة 15 ثانية بعد أن تذوب البروتينات.

ملاحظة – من الممكن استعمال جهاز رج ميكانيكي من أجل إعطاء نفس نتائج الرج اليدوي المحدد أعلاه.

5 . 3 . 6 ينزع مقياس الزبد من الحمام المائي و بعد الرج بعناية يضاف 1 ملل من كحول إيزوأميليك (2.3) من خلال الفتحة الضيقة و يرج مباشرة خلال 3 ثوانٍ على الأقل.

6 . 3 . 6 يضاف حمض الكبريت من الفتحة الضيقة حتى يبلغ مستوى خط المعلم 35% من السلم ويغلق مباشرة بواسطة السدادة الصغيرة ثم يقلب جهاز مقياس الزبد.

7 . 3 . 6 يرج مقياس الزبد بقوة خلال 10 ثوانٍ وعند ارتفاع المادة الدسمة في الحجرة. يقلب من جديد حتى يسيل الحمض من الساق. تعاد مرتين عمليتي القلب و الرج.

8 . 3 . 6 يوضع مقياس الزبد بحيث يكون العنق للأسفل في حمام مائي خلال 5 دقائق من ضبط مستوى الماء فوق قمة عمود المادة الدسمة داخل مقياس الزبد.

9 . 3 . 6 يستخرج مقياس الزبد من الحمام المائي وتضبط السدادة العريضة بطريقة تجعل عمود المادة الدسمة داخل الجزء المدرج، و يجرى طرد مركزي لمقياس الزبد بتسارع طرد مركزي نسبي يقدر بـ (350 ± 50)غ خلال 10 دقائق.

10 . 3 . 6 يوضع مقياس الزبد بحيث يكون العنق للأسفل في حمام مائي لمدة 5 دقائق و يضبط مستوى الماء فوق قمة عمود المادة الدسمة بمقياس الزبد.

11 . 3 . 6 ينزع مقياس الزبد من الحمام المائي وتضبط السدادة العريضة بعناية لجلب الطرف السفلي لعمود المادة الدسمة بنقله على الأقل إلى خط المعلم ومن الأفضل إلى خط معلم مرقم. تجرى العملية من الأفضل بشد السدادة قليلا مع عدم غرزه بشدة في العنق.

يسجل خط المعلم الذي يوافق الطرف السفلي لعمود المادة الدسمة مع مراعاة عدم تحريك هذه الأخيرة و يسجل في أسرع وقت ممكن خط المعلم الذي يوافق النقطة السفلية للسطح الهلالي الواقع في قمة عمود المادة الدسمة، يجب أن تجرى هذه القراءة في النصف الأصغر للسلم بتقريب (0,25%).

خلال القراءة، يجب أن يوضع مقياس الزبد عموديا و أن تكون العين على مستوى نقطة القراءة.

ملاحظة – إذا كانت المادة الدسمة عكرة أو ذات لون داكن أو إذا وجد راسب أسود أو أبيض في أسفل عمود المادة الدسمة لن تكون النقطة المتحصل عليها لنسبة المادة الدسمة صحيحة.

7 . التعبير عن النتائج

1 . 7 طريقة الحساب

يعبر عن نسبة المادة الدسمة بالغرام لـ 100غ من الجبن و تساوي :

B - A

حيث :

A : القراءة المجراة على الطرف السفلي لعمود المادة الدسمة،

B : القراءة المجراة على الطرف العلوي لعمود المادة الدسمة.

2 . 7 التكرارية

الفرق المطلق بين نتيجتي تجربتين فرديتين مستقلتين، متحصل عليهما عن طريق نفس المنهج وعلى نفس المنتوج الخاضع للتجربة و في نفس المخبر ومن طرف نفس المحلل المستعمل لنفس الأجهزة و في أصغر مجال من الزمن، لا يتجاوز قيمة تقابل درجة واحدة (0,5%).

– وبمقتضى المرسوم التّنفيذيّ رقم 95–54 المؤرّخ في 15 رمضان عام 1415 الموافق 15 فبراير سنة 1995 الذي يحدّد صلاحيات وزير المالية،

– وبمقتضى المرسوم التّنفيذيّ رقم 01–316 المؤرّخ في 28 رجب عام 1422 الموافق 16 أكتوبر سنة 2001 والمتضمّن إحداث مركز ثقافي إسلامي وتحديد قانونه الأساسي، لا سيّما المادّة 4 منه،

– وبمقتضى المرسوم التّنفيذيّ رقم 08–04 المؤرّخ في 11 محرّم عام 1429 الموافق 19 يناير سنة 2008 والمتضمّن القانون الأساسي الخاص بالموظفين المنتمين للأسلاك المشتركة في المؤسسات والإدارات العمومية،

– وبمقتضى المرسوم التّنفيذيّ رقم 08–411 المؤرّخ في 26 ذي الحجّة عام 1429 الموافق 24 ديسمبر سنة 2008 والمتضمّن القانون الأساسي الخاص بالموظفين المنتمين للأسلاك الخاصة بالإدارة المكلّفة بالشؤون الدينية والأوقاف،

– وبمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرّخ في 30 صفر عام 1423 الموافق 13 مايو سنة 2002 الذي يحدّد التنظيم الإداري لفروع المركز الثقافي الإسلامي،

يقرّرون ما يأتي :

المادة الأولى : طبقا لأحكام المادّة 4 من المرسوم التّنفيذيّ رقم 01–316 المؤرّخ في 28 رجب عام 1422 الموافق 16 أكتوبر سنة 2001 والمذكور أعلاه، يحدّد هذا القرار إنشاء فرع للمركز الثقافي الإسلامي في كل من ولايتي تندوف والبيض.

المادة 2 : ينشر هذا القرار في الجريدة الرّسميّة للجمهوريّة الجزائريّة الدّيمقراطيّة الشّعبيّة.

حرّر بالجزائر في 26 محرّم عام 1436 الموافق 19 نوفمبر سنة 2014.

وزير الشؤون الدينية والأوقاف
محمد عيسى

وزير المالية
محمد جلاب

عن الوزير الأول
وبتفويض منه
المدير العام للوظيفة العمومية والإصلاح الإداري
بلقاسم بوشمال

وزارة التجارة

قرار مؤرخ في 26 رمضان عام 1434 الموافق 4 غشت سنة 2013، يجعل منهج تحديد نسبة المادة الدسمة في الحليب إجباريا.

إن وزير التجارة،

– بمقتضى المرسوم الرئاسي رقم 12–326 المؤرخ في 7 شوال عام 1433 الموافق 4 سبتمبر سنة 2012 والمتضمن تعيين أعضاء الحكومة،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 90-39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990 والمتعلق 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 05-465 المؤرخ في 4 ذي القعدة عام 1426 الموافق 6 ديسمبر سنة 2005 والمتعلق بتقديم المطابقة،

– وبمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرخ في 29 صفر عام 1414 الموافق 18 غشت سنة 1993 والمتعلق بمواصفات بعض أنواع الحليب المعد للاستهلاك وعرضه،

– وبمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرخ في 7 ربيع الثاني عام 1418 الموافق 10 غشت سنة1997 والمتعلق بالمواصفات التقنية لأنواع الحليب المركز غير المحلي والمحلي وشروط وكيفيات عرضها،

– وبمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرخ في 13 شعبان عام 1419 الموافق 2 ديسمبر سنة 1998 والمتعلق بالمواصفات التقنية لأنواع الحليب الجاف وشروط وكيفيات عرضها،

– وبمقتضى القرار المؤرخ في 17 رجب عام 1420 الموافق 27 أكتوبر سنة 1999 والمتعلق بمواصفات مسحوق الحليب الصناعي وشروط عرضه وحيازته واستعماله وتسويقه وكيفيات ذلك،

يقرر ما يأتي :

المادة الأولى : تطبيقا لأحكام المادة 19 من المرسوم التنفيذي رقم 90–39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990، المعدل والمتمم والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج تحديد نسبة المادة الدسمة في الحليب إجباريا.

المادة 2 : من أجل تحديد نسبة المادة الدسمة في الحليب، فإن مخابر مراقبة الجودة وقمع الغش والمخابر المعتمدة لهذا الغرض، ملزمة باستعمال المنهج المبين في الملحق المرفق بهذا القرار.

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 26 رمضان عام 1434 الموافق 4 غشت سنة 2013.

مصطفى بن بادة

الملحق

منهج تحديد نسبة المادة الدسمة في الحليب

منهج غرافيمتري (منهج مرجعي)

يخصص هذا المنهج تقنية مرجعية لتحديد نسبة المادة الدسمة لحليب ذي نوعية فيزيوكيميائية جيّدة. يطبق هذا المنهج على حليب البقرة الطازج والنعجة والماعز وعلى الحليب قليل الدسم وعلى الحليب منزوع الدسم وعلى الحليب المحفوظ كيميائيا وعلى الحليب السائل الخاضع للمعالجة. لا يطبق هذا المنهج على الحليب منزوع الدسم في حالة البحث عن دقة كبيرة مثلا لمعرفة مدى فعالية عملية نزع الدسم.

ملاحظة – يسمى هذا المنهج عادة روز – ڤوتليب.

1. التعريف

لمتطلبات هذا المنهج يطبق المصطلح والتعريف الآتيان :

نسبة المادة الدسمة للحليب : هي النسبة الكتلية للمواد محددة بهذا المنهج ويعبر عنها كنسبة كتلية وبالنسبة المئوية.

2. المبدأ

تستخلص كمية من محلول الأمونياك الإيثانولي لعينة مأخوذة للتجربة بواسطة أكسيد ثنائي الإيثيل وإثير البترول. يتم التخلص من المذيبات عن طريق عملية التقطير أو التبخر، ثم تحدد كتلة المواد المستخلصة.

3. الكواشف

عدا تعليمات مخالفة، تستعمل فقط كواشف ذات نوعية تحليلية معترف بها وماء مقطر أو منزوع المعادن أو ماء ذو نقاوة مكافئة على الأقل.

يجب ألا تترك الكواشف بقايا معتبرة عند القيام بالتحديد حسب المنهج المخصص (2.2.7).

1.3 هيدروكسيد الأمونيوم، محلول يحتوي على نسبة كتلية من NH_3 بحوالي 25% ($p20$ = 910 غ/ل).

ملاحظة – إذا لم يتوفر لدينا محلول هيدروكسيد الأمنيوم بهذا التركيز، فيمكن استعمال محلول أكثر تركيزا وذي تركيز معروف (1.4.7).

2.3 إيثانول (C_2H_5OH)، أو إيثانول مغيّر بالميثانول يحتوي على نسبة حجمية للإيثانول تقدر بـ 94% على الأقل (أ.5).

3.3 محلول أحمر – كونغو، يذوب 1 غ من أحمر كونغو في حوجلة مدرجة سعتها 100 ملل (14.4). يكمل الحجم بالماء إلى غاية خط التدرج.

ملاحظة – يستعمل هذا المحلول، الذي يسمح برؤية أحسن للسطح الفاصل بين المذيب والطبقة السائلة، بصفة اختيارية (2.4.7)، ويمكن استعمال محاليل سائلة أخرى من الملونات شريطة ألا تغيّر نتيجة التحديد.

4.3 أكسيد ثنائي الإيثيل ($C_2H_5OC_2H_5$)، خال من البيروكسيدات (أ.3) لا يحتوي على أكثر من 2 ملغ / كلغ من مضادات الأكسدة ومطابق لمواصفات التجربة على بياض (2.2.7، أ.1) و (أ.4).

ملاحظة – تترتب أخطار عن استعمال أكسيد ثنائي الإيثيل وهناك دراسات قيد الإعداد من أجل استبدال أكسيد ثنائي الإيثيل بكاشف آخر، شرط ألاّ يغيّر هذا الأخير النتيجة النهائية للتحديد.

5.3 إثير البترول، ذو درجة غليان محصورة بين 30° م و60° م، أو كبديل بنتان ($CH_3[CH_2]_3CH_3$) ذي درجة غليان 36° م، مطابق لمواصفات التجربة على بياض (2.2.7، أ.1) و (أ.4).

ملاحظة – من المستحسن استعمال البنتان لأنه أكثر نقاوة وذو نوعية ثابتة.

6.3 خليط المذيبات، تخلط أحجام متساوية من أكسيد ثنائي الإيثيل (4.3) وإثير البترول (5.3) قبل لحظات قليلة من الاستعمال.

4. التجهيزات

ملاحظة – نظرا لكون التحديد يستلزم استعمال المذيبات المتطايرة القابلة للالتهاب، فيجب أن يكون التجهيز الكهربائي المستعمل مطابقا للقوانين الخاصة بأخطار استعمال هذه المذيبات.

أجهزة عادية للمخبر، لا سيما ما يأتي :

1.4 ميزان تحليلي، بإمكانه أن يزن بتقريب 1 ملغ وبدقة مبينة تساوي 0,1 ملغ.

2.4 جهاز الطرد المركزي، الذي يمكن فيه إخضاع حوجلات أو أوعية الاستخلاص (6.4) إلى دوران بتواتر يتراوح من 500 دورة/دقيقة إلى 600 دورة/دقيقة حتى ينتج تسارع مركزي من 80 ج إلى 90 ج في الطرف الخارجي للحوجلات أو الأنابيب.

ملاحظة – إن استعمال جهاز الطرد المركزي اختياري لكن يوصى به (5.4.7).

3.4 جهاز التقطير أو التبخير، يسمح بتقطير المذيبات وإيثانول الحوجلات أو بتبخيرها في أوعية بيشر وكبسولات (12.4.7) في درجة حرارة لا تتجاوز 100° م.

4.4 جهاز نازع للرطوبة، بتسخين كهربائي مزود بمنافذ للتهوية، مفتوحة تماما يمكن ضبطها في درجة حرارة 102 ± 2° م في الوسط المستعمل.

يجب أن يكون جهاز التجفيف مزودا بمقياس درجة حرارة مناسب.

5.4 حمام مائي، يمكن ضبطه في درجة حرارة تتراوح بين 35° م و40° م.

6.4 حوجلات استخلاص المادة الدسمة، نوع « ماجونيي ».

ملاحظة – يمكن كذلك استعمال أنابيب استخلاص المادة الدسمة مزودة بممّص أو جهاز غسل، لكن طريقة العمل حينئذ تكون مختلفة وهي مبينة في الملاحظة ب.

يجب أن تكون الحوجلات مزودة بسدادات من الفلين من نوعية جيدة أو من مادة أخرى [مثلا، مطاط سيليكوني أو متعدد رباعي فليور الاثيلين (PTFE)] لا تتأثر بالكواشف المستعملة. يجب أن تغسل سدادات الفلين بواسطة أكسيد ثنائي الإثيل (4.3) وتترك في الماء في 60° م أو أكثر خلال 15 دقيقة على الأقل ثم توضع لتبرد في الماء بطريقة تكون منغمسة لحين استعمالها.

7.4 الركيزة، لتثبيت حوجلات (أو أنابيب) إستخلاص المادة الدسمة (6.4).

8.4 قارورة الغسل، يتلائم استعمالها مع خليط المذيبات (6.3).

لا تستعمل قارورات الغسل من البلاستيك.

9.4 أوعية لاسترجاع المادة الدسمة، مثلا حوجلات للغليان (حوجلات ذات قاع مسطح) سعتها من 125 ملل إلى 250 ملل، حوجلات مخروطية سعتها 250 ملل أو كبسولات معدنية.

إذا استعملت كبسولات معدنية، يجب أن تكون من الأفضل من فولاذ غير قابل للأكسدة وذات قاع مسطح ويتراوح قطرها من 80 مم إلى 100 مم وارتفاعها حوالي 50 مم.

10.4 أجهزة تعديل الفليان، خالية من المادة الدسمة ومن خزف غير مسامي أو من كربور السيليسيوم (تكون اختيارية إذا استعملنا كبسولات معدنية).

11.4 مخبارات مدرجة، سعتها من 5 ملل إلى 25 ملل.

12.4 ماصات مدرجة، سعتها 10 ملل.

13.4 ملاقط معدنية، ملائمة لمسك الحوجلات وأوعية بيشر أو الكبسولات.

14.4 خوجلات معايرة، ذات خط تدرج واحد، سعتها 100 ملل.

5. اقتطاع العينة

ينجز اقتطاع العينة في الشروط الملائمة.

من الأحسن أن يتلقى المخبر عينة ممثلة، غير متلفة أو تغيرت أثناء النقل والتخزين.

تحفظ كل من العينات السائلة، اللزجة أو المعجنة في درجة حرارة محصورة بين 2° م و6° م انطلاقا من لحظة اقتطاع العينة حتى بدء طريقة العمل.

6. تحضير عينة للتجربة

توضع عينة التجربة في درجة حرارة 38° م ± 2° م، باستعمال الحمام المائي (5.4). تخلط العينة جيدا وبلطف عن طريق تدوير مكرر للوعاء، مع الحرص على تجنب تشكل الرغوة أو المخض ثم تبرد عينة التجربة بسرعة في حوالي 20° م ± 2° م. يجب ألا تبرد عينات الحليب الممخوض، لأن هذه الأخيرة يجب أن توزن في درجة حرارة تتراوح بين 30° م و40° م (1.7).

إذا أمكن الحصول على عينة للتجربة متجانسة بدون تسخين مسبق بين 38° م ± 2° م (مثلا عينات الحليب المنزوع الدسم)، من الأحسن اتباع طريقة العمل التالية.

تعدل درجة حرارة عينة التجربة في 20° م ± 2° م. تخلط بعناية للتأكد من التوزّع المتجانس للمادة الدسمة في عينة التجربة. عدم الرج بشدة لتجنب تشكل رغوة الحليب ومخض المادة الدسمة.

ملاحظة – يجب عدم توقع الحصول على قيمة صحيحة لنسبة المادة الدسمة :

أ) إذا كان الحليب ممخوضا،

ب) عند الإحساس برائحة مميزة لأحماض دسمة حرة،

ج) إذا ظهرت جزيئات بيضاء على جدران وعاء العينة أو طفت قطرات من مادة دسمة على سطح العينة أثناء أو بعد تحضير عينة التجربة.

7. طريقة العمل

ملاحظة 1 – إذا تطلب الأمر التحقق من الاستجابة لشروط المقدمة فيما يخص حد التكرارية (2.9)، فيجرى تحديدين منفصلين وفقا لـ (1.7) إلى (4.7).

ملاحظة 2 – هناك طريقة عمل أخرى تستعمل فيها أوعية إستخلاص المادة الدسمة مزوّدة بممّص أو جهاز غسل (الملاحظة 6.4) المبينة في الملاحظة ب.

1.7 العينة المأخوذة للتجربة

تخلط عينة التجربة (النقطة 6) بتدوير الوعاء بلطف ثلاث أو أربع مرات. توزن فورا، مباشرة أو بالفصل، بتقريب 1ملغ، 10غ إلى 11غ من عينة التجربة في حوجلة الاستخلاص (6.4).

يجب أن توضع العينة المأخوذة للتجربة كليا بقدر الإمكان في الجزء السفلي (الضيق) لحوجلات الاستخلاص.

2.7 التجارب على بياض

1.2.7 تجربة على بياض للمنهج

يقام بتجربة على بياض بالتتالي مع التحديد، باستعمال نفس طريقة العمل ونفس الكواشف، لكن بتعويض العينة المأخوذة للتجربة المبينة في (1.4.7) بـ 10 ملل من الماء (أ.2).

عندما تقوم بتحليل كمية من العينات للتجربة فإنه يمكن لعدد دورات التجفف أن تتغير بين عينات مختلفة، إذا استعملت عينة على بياض لحصة بأكملها فيجب التأكد من أن قيمة العينة المستعملة على بياض لحساب نسبة المادة الدسمة لعينة فردية تم الحصول عليها في نفس شروط العينة الفردية.

إذا تجاوزت بانتظام القيمة المتحصل عليها للتجربة على بياض 1,0 ملغ، تفحص الكواشف إذا لم يجر ذلك حديثا (2.2.7). يجب أن تسجل التصحيحات التي أجريت لقيم أكبر من 2,5 ملغ، في كشف التحليل.

2.2.7 تجربة على بياض للكواشف

من أجل التحقق من نوعية الكواشف، تجرى تجربة على بياض كما هو مذكور في (1.2.7). بالإضافة إلى ذلك ومن أجل مراقبة الكتل، يستعمل وعاء فارغ لاسترجاع المادة الدسمة، مهيأ كما هو مبين في (3.7). يجب أن لا تترك الكواشف بقايا أكبر من 1,0 ملغ (أ.1).

إذا كانت بقايا كواشف التجربة على بياض كاملة أكبر من 1,0 ملغ، تحدد بقايا المذيبات بطريقة منفصلة، بتقطير 100 ملل من أكسيد ثنائي الإيثيل (4.3) وإيثر البترول (5.3) على التوالي. يستعمل وعاء مراقبة فارغ من أجل الحصول على كتلة حقيقية من البقايا والتي يجب ألا تكون أكبر من 1,0 ملغ.

قد يحدث وأن تحتوي الكواشف على مواد متطايرة والتي تكون محجوزة بقوة في المادة الدسمة. إذا كانت هناك تعليمات لوجود مثل هذه المواد، تجري تجارب على بياض لكل الكواشف ولكل مذيب، وذلك باستعمال لكل واحد وعاء للمادة الدسمة مع حوالي 1 غ من المادة الدسمة للزبدة المنزوعة الماء. تقطر من جديد المذيبات بوجود 1 غ من المادة الدسمة للزبدة المنزوعة الماء لـ 100 ملل من المذيب. تستعمل المذيبات مباشرة بعد إعادة التقطير إذا اقتضى الأمر.

تغير الكواشف أو المذيبات غير المرضية أو يعاد تقطير المذيبات.

3.7 تحضير الوعاء لاسترجاع المادة الدسمة

يجفف الوعاء لمدة ساعة واحدة (9.4) مع بعض معدلات الغليان (10.4) في جهاز التجفيف (4.4) مضبوطا في 102° م ± 2° م.

ملاحظة 1 – ينصح باستعمال معدلات الغليان للسماح بغليان خفيف أثناء التخلص من المذيب فيما بعد، لاسيما في حالة الأوعية الزجاجية ويكون استعمالها اختياريا في حالة الكبسولات المعدنية.

يحفظ الوعاء من الغبار ويترك ليبرد في غرفة الوزن (الأوعية الزجاجية لمدة ساعة واحدة على الأقل، الأوعية المعدنية لمدة 30 دقيقة على الأقل).

ملاحظة 2 – من الأحسن ألا يوضع الوعاء في جهاز نازع للرطوبة، لاجتناب تبريد غير كاف أو مراحل تبريد طويلة ومبالغ فيها.

يوضع الوعاء على الميزان وبواسطة ملقاط (13.4)، يوزن الوعاء بتقريب 1,0 ملغ من أجل استرجاع المادة الدسمة.

ملاحظة 3 – من الأحسن استعمال ملاقط لتجنب تغيرات درجة الحرارة بالخصوص.

4.7 التحديد

1.4.7 يبدأ التحديد في مدة ساعة واحدة حسب عملية وزن العينة.

يضاف 2 ملل من محلول هيدروكسيد الأمونيوم (1.3) إلى العينة المأخوذة للتجربة (1.7) الموجودة في حوجلة الاستخلاص أو حجم مكافئ من محلول أكثر تركيزا (الملاحظة 1.3). يخلط بشدة مع العينة المأخوذة للتجربة في البصلة الضيقة للحوجلة.

2.4.7 يضاف 10 ملل من الإيثانول (2.3) ويخلط بلطف ولكن بعمق ومع ترك محتوى الحوجلة في ذهاب وإياب بين البصلتين . يتجنب وصول السائل بالقرب من عنق الحوجلة.

يضاف إذا اقتضى الأمر، قطرتين من محلول أحمر – كونغو (3.3) وإذا اقتضى الأمر تبرد من جديد الحوجلة في درجة حرارة الوسط.

3.4.7 يضاف 25 ملل من أكسيد ثاني الإثيل (4.3). تسد الحوجلة بسدادة من الفلين مشبعة بالماء، أو بسدادة من مادة أخرى (6.4) مبللة بالماء. تحرك الحوجلة بشدة لمدة دقيقة واحدة لكن بدون مبالغة حتى يمكن تفادي تشكل مستحلبات ثابتة.

أثناء الرج، توضع الحوجلة في موضع أفقي ويكون الجزء الضيق من الحوجلة في الأعلى، مع ترك سائل الجزء العريض بتنقل من حين لآخر إلى الجزء الضيق. تبرّد الحوجلة عند الحاجة بماء جاري حتى تصل درجة حرارتها درجة حرارة الوسط. تنزع سدادة الفلين بحذر أو أداة الغلق وتغسل بما في ذلك عنق الحوجلة بواسطة كمية قليلة من خليط المذيبات (6.3). تستعمل قارورة الغسل (8.4)، بحيث تجري سوائل الغسل في الحوجلة.

4.4.7 يضاف 25 ملل من إثير البترول (5.3). تسد الحوجلة بواسطة سدادة من الفلين معاد ترطيبه، أو سدادة أخرى معاد ترطيبها (بغطسها في الماء) وترج الحوجلة من جديد بلطف لمدة 30 ثا، كما هو مبين في (2.4.7) وتواصل العملية مع الرج كما هو مبين في (3.4.7).

5.4.7 توضع الحوجلة المسدودة في جهاز الطرد المركزي (2.4). لمدة 1 إلى 5 دقائق مع تسارع مركزي من 80 ج إلى 90 ج. إذا لم يتوفر جهاز الطرد المركزي، تترك الحوجلة المسدودة لترتاح فوق الركيزة (7.4) لمدة 30 دقيقة على الأقل، حتى تصبح الطبقة التي تطفو على السطح صافية ومنفصلة تماما على الطبقة السائلة. وتبرّد الحوجلة في ماء جار إلى غاية درجة حرارة الوسط إذا اقتضى الأمر.

6.4.7 تنزع سدادة الفلين أو أداة الغلق بحذر وتغسل بما في ذلك الجهة الداخلية لعنق الحوجلة بواسطة كمية قليلة من خليط المذيبات (6.3). يستعمل وعاء الغسل (8.4) بطريقة تسمح لسوائل الغسل أن تجري في الحوجلة. إذا كان السطح الفاصل موجود في أسفل قاع عنق الحوجلة، يرفع إلى هذا المستوى بإضافة الماء بلطف إلى جانب الحوجلة (الشكل 1)، كما يسمح بتصفية المذيب.

ملاحظة – تم اختيار أحد أنواع القارورات الثلاث المحددة في الشكلين 1 و2، حسب المقاييس الدولية.

7.4.7 تمسك حوجلة الاستخلاص من الجزء الضيق للحوجلة، يصفى بعناية أكثر قدر ممكن من الطبقة التي تطفو على السطح في الوعاء المحضر، المخصص لاسترجاع المادة الدسمة (3.7)، الذي يحتوي على بعض معدلات الغليان (10.4) في حالة الحوجلات (اختيارية مع الأوعية المسطحة المعدنية). يتجنب تصفية أي جزء من الطبقة السائلة (الشكل 2).

8.4.7 تغسل الجهة الخارجية لعنق حوجلة الاستخلاص بواسطة كمية قليلة من خليط المذيبات (6.3). تجمع سوائل الغسل في الوعاء لاسترجاع المادة الدسمة. يحرص على ألا يقذف خليط المذيبات خارج حوجلة الاستخلاص. التخلص كليا أو جزئيا من المذيب في الوعاء عن طريق التقطير أو التبخير إذا اقتضى الأمر كما هو مبين في (12.4.7).

9.4.7 يضاف 5 ملل من الإيثانول (2.3) إلى محتوى حوجلة الاستخلاص. يستعمل الإيثانول لغسل الجهة الداخلية لعنق الحوجلة ويخلط كما هو مبين في (2.4.7).

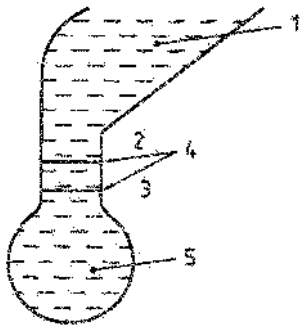
10.4.7 يتم استخلاص ثان بإعادة العمليات المبينة في (3.4.7) إلى (7.4.7)، لكن عوضا من 25 ملل يستعمل 15 ملل فقط من أكسيد ثنائي الإيثيل (4.3) و 15 ملل من إيثر البترول (5.3) يسعمل كذلك أكسيد ثنائي الإيثيل لغسل الجهة الداخلية لعنق حوجلة الاستخلاص.

إذا اقتضى الأمر، يرفع السطح الفاصل إلى وسط عنق حوجلة الاستخلاص بإضافة الماء بلطف من خلال عنق الحوجلة (الشكل 1) لكي تسمح للتصفية النهائية للمذيبات وأن تكون كاملة قدر الإمكان (الشكل 2).

11.4.7 يجرى من جديد استخلاص ثالث بدون إضافة الإيثانول بإعادة العمليات المبينة من (3.4.7) إلى (7.4.7)، لكن باستعمال من جديد، فقط 15 ملل من أكسيد ثنائي الإثيل (4.3) و15 ملل من إيثر البترول (5.3). يستعمل أكسيد ثنائي الإثيل لغسل الجهة الداخلية لعنق حوجلة الاستخلاص.

إذا اقتضى الأمر، يرفع السطح الفاصل إلى وسط عنق حوجلة الاستخلاص بإضافة الماء بلطف من خلال عنق الحوجلة (الشكل 1) لكي تسمح للتصفية النهائية للمذيبات أن تكون كاملة بأكبر قدر ممكن (الشكل 2).

الشكل 1 – قبل التصفية



البيانات

1- مذيبات

2- في الاستخلاص الثاني والثالث

3- في الاستخلاص الأول

4- السطح الفاصل

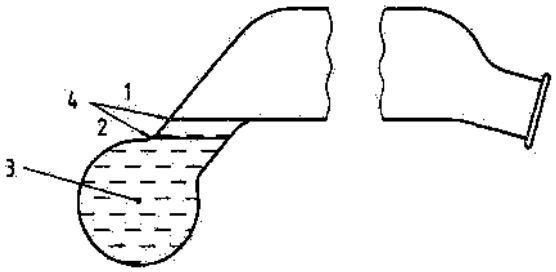
5- طبقة سائلة

ملاحظة – ليس من الضروري إنجاز استخلاص ثالث في حالة الحليب الذي تكون فيه نسبة المادة الدسمة أقل من 0,5%.

12.4.7 التخلص بأكبر قدر ممكن من المذيبات (بما فيها الإيثانول) عن طريق التقطير، إذا استعملت حوجلة أو عن طريق التبخر، إذا استعمل وعاء بيشر أو وعاء مسطح (3.4). تغسل الجهة الداخلية لعنق الحوجلة بكمية قليلة من خليط المذيبات (6.3) قبل بداية التقطير.

13.4.7 يسخن الوعاء لمدة ساعة واحدة، في جهاز نازع للرطوبة (4.4) مضبوط في 102° م ± 2° م، لاسترجاع المادة الدسمة، توضع الحوجلة بطريقة مائلة حتى يسمح لأبخرة المذيبات أن تنبعث، ينزع الوعاء لاسترجاع المادة الدسمة من جهاز التخفيف ويتحقق فورا إذا كانت المادة الدسمة صافية أم لا، إذا كانت المادة الدسمة غير صافية يمكن افتراض وجود مادة دسمة غريبة ويجب إعادة التحديد بكامله.

الشكل 2 – بعد التصفية



البيانات

1- في الاستخلاص الثاني والثالث

2- في الاستخلاص الأول

3- طبقة سائلة

4- السطح الفاصل

إذا كانت المادة الدسمة صافية، يحفظ الوعاء المجمع من الغبار ويترك ليبرد (ليس في جهاز نازع للرطوبة) في درجة حرارة غرفة الوزن (وعاء من زجاج لمدة ساعة واحدة على الأقل وكبسولة معدنية لمدة 30 دقيقة على الأقل).

لا يجفف الوعاء مباشرة قبل الوزن، يوضع الوعاء فوق الميزان بواسطة ملقاط (13.4). يوزن الوعاء بتقريب 1,0 ملغ لاسترجاع المادة الدسمة.

14.4.7 يسخن الوعاء لمدة 30 دقيقة إضافة في جهاز نازع للرطوبة (4.4) مضبوط في 102° م ± 2° م، لاسترجاع المادة الدسمة، بحيث تكون الحوجلة في موضع مائل حتى تسمح لأبخرة المذيبات أن تنبعث. تعاد عمليات الوزن المبينة في (13.4.7)، حتى تنقص كتلة وعاء استخلاص المادة الدسمة بـ 1,0 ملغ على الأقل، أو تزداد بين وزنين متماثلين. تسجل الكتلة الدنيا ككتلة وعاء استخلاص المادة الدسمة والمادة المستخلصة.

8. الحساب والتغيير من النتائج

1.8 الحساب

تحسب نسبة المادة الدسمة بالنسبة للعينة عن طريق المعادلة التالية :

$$\text{ي}_{\text{ن}} = \frac{(\text{ك}_1 - \text{ك}_2) - (\text{ك}_3 - \text{ك}_4)}{\text{ك}_0} \times 100\%$$

حيث

ي ن : هي النسبة الكتلية المعبر عنها بالنسبة المئوية للمادة الدسمة في العينة،

ك0 : هي الكتلة، بالغرامات، للعينة المأخوذة للتجربة (1.7)،

ك1 : هي الكتلة، بالغرامات، للوعاء لاسترجاع المادة الدسمة والمادة المستخلصة المحددة في (14.4.7)،

ك2 : هي الكتلة، بالغرامات، للوعاء لاسترجاع المادة الدسمة (3.7)،

ك3 : هي الكتلة، بالغرامات، للوعاء المستعمل لاسترجاع المادة الدسمة للتجربة على بياض (2.7) والمادة المستخلصة، المحددة في (14.4.7)،

ك4 : هي الكتلة، بالغرامات، للوعاء المستخدم لاسترجاع المادة الدسمة (3.7) المستعملة للتجربة على بياض (2.7)،

2.8 التعبير من النتائج

جعل النتيجة برقمين بعد الفاصلة.

9. الدقة

1.9 التجربة ما بين المخابر

يعبر عن قيم التكرارية وإعادة التجربة في عدة مخابر عند حد احتمال 95% ويمكن ألا تطبق في مجالات التراكيز أو المصفوفات غير التي أعطيت.

2.9 التكرارية

يجب ألا يتجاوز الفرق المطلق بين نتيجتي تجربتين فرديتين منفصلتين، متحصل عليهما عن طريق نفس المنهج، على نفس المادة الخاضعة للتجربة، في نفس المخبر ومن طرف نفس المحلل المستعمل لنفس التجهيزات في مجال زمني قصير، إلا 5% من الحالات على الأكثر، تتعلق القيم التالية بالنسبة الكتلية للمادة الدسمة :

– 0,031% لحليب البقرة المنزوع الدسم،

– 0,036% لحليب البقرة منخفض الدسم،

– 0,043% لحليب البقرة الكامل،

– 0,030% لحليب الماعز،

– 0,069% لحليب النعجة.

3.9 إعادة التجربة في عدة مخابر

يجب ألا يتجاوز الفرق المطلق بين نتيجتي تجربتين فرديتين منفصلتين، متحصل عليهما عن طريق نفس المنهج، على نفس المنتوج الخاضع للتجربة، في مخابر مختلفة، من طرف محللين مختلفين الذين يستعملون تجهيزات مختلفة، إلا في 5% من الحالات على الأكثر، تتعلق القيم التالية بالنسبة الكتلية للمادة الدسمة :

- 0,043% لحليب البقرة المنزوع الدسم،
- 0,042% لحليب البقرة منخفض الدسم،
- 0,056% لحليب البقرة الكامل،
- 0,052% لحليب الماعز،
- 0,096% لحليب النعجة.

ملاحظة أ

تعليمات حول طرق العمل

أ.1 التجربة على بياض لمراقبة الكواشف (2.2.7)

في هذه التجربة على بياض، يجب أن يستعمل وعاء مراقبة الكتلة حتى لا تظهر التغيرات في الظروف الهوائية لغرفة الميزان أو تأثيرات حرارة وعاء استرجاع المادة الدسمة بطريقة خاطئة نتيجة وجود أو غياب المواد غير المتطايرة في مستخلص الكواشف. يمكن استعمال هذا الوعاء كثقل موازن في حالة ميزان ذي كفين، بالإضافة إلى هذا، من الأنسب أن تسجل الفوارق في الكتلة الظاهرة (ك3 – ك4 في الصيغة 1.8) لوعاء المراقبة أثناء مراقبة كتلة وعاء استرجاع المادة الدسمة المستعمل في التجربة على بياض. بالتالي، يجب ألا يكون تغير الكتلة الظاهرة لوعاء استرجاع المادة الدسمة، مصحح وفق التغير الظاهر لكتلة وعاء المراقبة أكبر من 1,0 ملغ.

يمكن أن تحتوي المذيبات على مواد متطايرة تكون محفوظة جيدا في المادة الدسمة. إذا كانت هناك إشارات لوجود مثل هذه المواد، جرى التجارب على بياض على كل الكواشف ولكل مذيب، باستعمال لكل واحد، وعاء للمادة الدسمة، مع حوالي 1 غ من المادة الدسمة للزبدة عديمة الماء، تقطر المذيبات من جديد إذا اقتضى الأمر، بوجود 1 غ من المادة الدسمة للزبدة عديمة الماء لـ 100 ملل من المذيب، تستعمل المذيبات بعد إعادة تقطيرها مباشرة.

أ.2 التجربة على بياض منجزة في آن واحد مع التحديد (1.2.7)

تسمح القيمة المتحصل عليها من التجربة على بياض، المنجزة في آن واحد مع التحديد، بتصحيح الكتلة الظاهرة للمواد المستخلصة من عينة التجربة (ك1 – ك2) بالنسبة لوجود مواد غير متطايرة واردة من الكواشف وأيضا من تغيرات الظروف الهوائية لغرفة الوزن واختلاف درجات الحرارة بين وعاء المادة الدسمة وغرفة الوزن أثناء أخذ الوزنين (14.4.7) و(3.7).

في الشروط الملائمة (قيمة صغيرة في التجربة على بياض على الكواشف، درجة حرارة غرفة الوزن ثابتة، زمن تبريد وعاء المادة الدسمة كاف)، تكون القيمة غالبا أصغر من 1,0 ملغ ويمكن حينئذ أن لا تؤخذ بعين الإعتبار في الحساب، في حالة التحديدات الروتينية. نجد في غالب الأحيان قيم (موجبة وسالبة) أكبر بقليل حتى 2,5 ملغ.

بعد تصحيح هذه القيم، تكون النتائج أكثر دقة. إذا طبقت تصحيحات لقيمة أكبر من 2,5 ملغ، يجب تسجيل ذلك في كشف التحليل.

إذا كانت القيمة المتحصل عليها في التجربة على بياض تتجاوز بانتظام 1,0 ملغ، يجب أن تكون الكواشف مراقبة إذا لم يتم ذلك حديثا، يجب أن تغيّر أو تصفى الكواشف غير النقية أو التي تحتوي على شوائب (2.2.7) و(أ.1).

أ.3 المراقبة من أجل التحقق من وجود البيروكسيد

للتحقق من وجود البروكسيدات، يضاف 1 ملل من محلول يودور البوتاسيوم بـ 100 غ/ل محضر حديثا، لـ 10 ملل من أكسيد ثنائي الإثيل، في مخبار صغير مزود بسدادة زجاجية، الذي تم غسله مسبقا بقليل من أكسيد ثنائي الإثيل. يرج ويترك ليستريح لمدة 1 دقيقة. من الأحسن ألا يظهر أي لون أصفر في كلتا الطبقتين.

يمكن استعمال مناهج أخرى لمراقبة وجود البيروكسيدات.

للتأكد من خلو أكسيد ثنائي الإثيل من البروكسيدات وبقائه خاليا منها، يعالج أكسيد ثنائي الإثيل على الأقل ثلاثة أيام قبل استعماله كما هو مبين أدناه.

يقص ورق الزنك على شكل أشرطة يمكن أن تصل على الأقل إلى وسط الوعاء الذي يحتوي على أكسيد ثنائي الإثيل، باستعمال حوالي 80 سم^2 من ورق الزنك في لتر من أكسيد ثنائي الإثيل.

قبل استعمالها، تغمر الأشرطة كليا لمدة 1 دقيقة في محلول يحتوي على 10 غ من سولفات النحاس (II) خماسي الهيدروجين ($CuSO_4$ و$5H_2O$) و2 ملل/ل من حمض سلفوري مركز [بنسبة كتلية 98%].

تغسل الأشرطة بلطف وعناية بالماء، تدخل الأشرطة المبللة المعالجة بالنحاس في وعاء يحتوي على أكسيد ثنائي الإثيل وتترك الأشرطة في الوعاء.

يمكن استعمال مناهج أخرى بشرط ألا تغيّر نتيجة التحديد.

أ.4 أكسيد ثنائي الإثيل المحتوي على مضادات الأكسدة

أكسيد ثنائي الإثيل الذي يحتوي على حوالي 1 ملغ من مضادات الأكسدة في الكيلوغرام موجود في بعض الدول، خاصة من أجل تحديدات المادة الدسمة. هذه النسبة لا يمنع استعمالها كمرجع.

في دول أخرى، يمكن أن يكون أكسيد ثنائي الإثيل بنسب أكبر من مضادات الأكسدة، مثلا حتى 7 ملغ / الكيلوغرام. في هذه الحالة، لا يستعمل إلا في تحديدات روتينية مع تجربة على بياض إجبارية منجزة على التوالي مع التحديدات، بغرض تصحيح الأخطاء المعتادة الناجمة عند بقايا مضادات الأكسدة. إذا كان مستعملا بصفته كمرجع، يجب أن يكون مقطرا دائما قبل الاستعمال.

أ.5 الإيثانول

يمكن أن يستعمل الإيثانول المغير بطرقة أخرى مختلفة عن التي يضاف فيها الميثانول، بشرط ألا يؤثر العامل المغير على نتائج التحديد.

ملاحظة ب

طريقة عمل أخرى تستعمل فيها أنابيب استخلاص المادة الدسمة

مزودة بممص أو بجهاز الغسل

ب.1 عموميات

إذا استخدمت أنابيب استخلاص المادة الدسمة مزودة بممّص أو بجهاز الغسل، تستعمل طريقة العمل المخصصة في هذا الملحق. يجب أن تكون الأنابيب مزودة بسدادات من فلين من نوعية جيدة أو سدادات كالتي خصصت للحوجلات في (6.4) (الشكل ب.1 على سبيل المثال).

ب.2 طريقة العمل

ب.1.2 تحضير العينة للتجربة (6)

ب.2.2 العينة المأخوذة للتجربة

يتم الإجراء كما هو محدد في (1.7) لكن باستعمال أنابيب استخلاص المادة الدسمة (الملاحظة في 6.4) و(الشكل ب.1).

يجب أن تنقل العينة المأخوذة للتجربة كليا إلى قاع أنبوب الاستخلاص.

ب.3.2 التجربة على بياض (2.7) و(أ.2)

ب.4.2 تحضير الوعاء لاسترجاع المواد الدسمة (3.7)

ب.5.2 التحديد

ب.1.5.2 يتم إجراء التحديد بدون انتظار. يضاف 2 ملل من محلول هيدروكسيد الأمونيوم (1.3) للعينة المأخوذة للتجربة (ب.2.2) الموجودة في أنبوب استخلاص المادة الدسمة أو حجم مكافئ من محلول أكثر تركيز (الملاحظة 1.3). يخلط جيدا مع العينة المأخوذة للتجربة في قاع الأنبوب.

ب.2.5.2 يضاف 10ملل من الإيثانول (2.3). يمزج بلطف لكن كليا مع الخليط الموجود في قاع الأنبوب. يضاف إذا أردنا، قطرتين من محلول أحمر – كونغو (3.3).

ب.3.5.2 يضاف 25 ملل من أكسيد ثنائي الإيثيل (4.3).

يغلق الأنبوب بسدادة من الفلين مشبع بالماء، أو بسدادة من مادة أخرى (6.4)، مبلل بالماء، يرج الأنبوب بشدة، دون مبالغة لتفادي تشكل المستحلبات العالقة عن طريق التدوير المكرر لمدة 1 دقيقة. إذا اقتضى الأمر، يبرد الأنبوب بماء سائل حتى درجة حرارة الوسط. تنزع بحذر السدادة من الفلين أو جهاز الغلق ويغسل كذلك الأنبوب، بواسطة كمية قليلة من خليط المذيبات (6.3). تستعمل حوجلة الغسل (8.4)، حتى يمكن لسوائل الغسل أن تسيل في الأنبوب.

ب.4.5.2 يضاف 25 ملل من إثير البترول (5.3). يغلق الأنبوب بواسطة سدادة من الفلين معاد ترطيبها أو بواسطة السدادة الأخرى المعاد ترطيبها (بغطسها في الماء). يرج الأنبوب بعناية لمدة 30 ثا، كما هو مبين في (ب.3.5.2).

ب.5.5.2 يخضع الأنبوب المغلق إلى عملية الطرد المركزي (2.4) لمدة 1 إلى 5 دقائق مع تسارع دوري من 80 ج إلى 90 ج. إذا لم يتوفر جهاز الطرد المركزي، يترك الأنبوب المسدود يرتاح فوق الركيزة (7.4) لمدة 30 دقيقة على الأقل، حتى تصبح الطبقة التي تطفو صافية ومنفصلة بوضوح عن الطبقة السائلة. إذا اقتضى الأمر، يبرد الأنبوب بالماء السائل حتى درجة حرارة الوسط.

ب.6.5.2 تنزع بحذر السدادة من الفلين أو جهاز الغلق ويغسل، كذلك عنق الأنبوب بكمية قليلة من خليط من المذيبات (6.3). يستعمل أنبوب الغسل (8.4) حتى يمكن لسوائل الغسل أن تسيل في الأنبوب.

ب.7.5.2 يدخل ممّص أو جهاز الغسل في الأنبوب. يدفع مغرز الأنبوب الطويل إلى الداخل حتى تكون الفتحة حوالي 4 ملم فوق سطح الطبقات. يجب أن يكون مغرز الأنبوب الداخلي مواز للمحور المركزي لأنبوب الاستخلاص.

تنقل بحذر الطبقة التي تطفو للأنبوب في الوعاء للحصول على المادة الدسمة (3.7) الذي يحتوي على معدلات الغليان (10.4) في حالة الحوجلات (اختيارية مع الكبسولات المعدنية). يجب تفادي تصفية أي جزء من الطبقة السائلة. تغسل الفتحة بقليل من خليط المذيبات، مع استرجاع سوائل الغسل في الوعاء للحصول على المادة الدسمة.

ملاحظة – يمكن للطبقة التي تطفو أن تنقل من أنبوب استخلاص المادة الدسمة مثلا باستعمال، بصلة مطاطية موصولة بقضيب قصير حتى نضمن الضغط.

ب.8.5.2 يفك الجهاز من عنق الأنبوب. يرفع قليلا ويغسل الجزء الأسفل من مغرز الأنبوب الطويل الداخلي بقليل من خليط المذيبات (6.3) ينزل ويعاد إدخال الجهاز وتنقل سوائل الغسل في الوعاء للحصول على المادة الدسمة.

تغسل الفتحة الخارجية للجهاز بقليل من خليط المذيبات وتجمع سوائل الغسل في الوعاء. إذا أردنا، يمكن أن ينزع المذيب أو جزء منه من الوعاء عن طريق التقطير أو التبخير، كما هو مبين في (13.4.7).

ب.9.5.2 يفك من جديد الجهاز من العنق. يرفع هذا الأخير ببطء ويضاف 5 ملل من الإيثانول في الأنبوب. يستعمل الإيثانول لغسل مغرز الانبوب الداخلي الطويل. يخلط كما هو مبين في (ب.2.5.2).

ب.10.5.2 ينجز استخلاص ثاني مع مع إعادة العمليات المبينة من (ب.3.5.2) إلى (ب.8.5.2)، لكن باستعمال 15 ملل فقط من أكسيد ثنائي الإثيل (4.3) و15 ملل من إثير البترول (5.3). يستعمل أكسيد ثنائي الإثيل لغسل مغرز الأنبوب الداخلي الطويل أثناء نزع الجهاز من الأنبوب بعد الإستخلاص السابق.

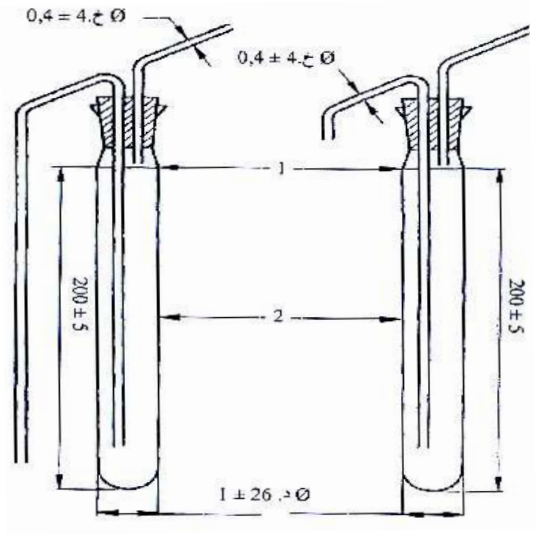
ب.11.5.2 ينجز استخلاص ثالث، بدون إضافة الإيثانول، مع إعادة العمليات المبينة من (ب.3.5.2) إلى (ب.8.5.2) مجددا، لكن باستعمال 15 ملل فقط من أكسيد ثنائي الإثيل و15 ملل من إثير البترول ويغسل مغرز الأنبوب الطويل الموجود داخل الجهاز، كما هو مبين في (ب.10.5.2).

ملاحظة – ليس من الضروري إنجاز الاستخلاص الثالث في حالة الحليب الذي تكون فيه نسبة المادة الدسمة أصغر من 0,5%.

ب.12.5.2 يواصل التحديد كما هو مبين من (12.4.7) إلى (14.4.7).

الشكل ب.1 – أمثلة من أنابيب استخلاص المادة الدسمة

أ) مع ممّص ب) مع جهاز امتصاص بواسطة الفراغ



البيانات

1- السعة القصوى، مع ممص أو جهاز امتصاص الفراغ المنزوع 105 ملل ± 5 ملل.

2- سمك الجدران، 1,5 مم ± 0,5 مم.

قرارات، مقرّرات، آراء

وزارة التجارة

قرار مؤرخ في 20 شوّال عام 1434 الموافق 27 غشت سنة 2013، يجعل منهج تحديد نسبة الآزوت في الحليب إجباريا.

إن وزير التجارة،

– بمقتضى المرسوم الرئاسي رقم 12–326 المؤرخ في 17 شوّال عام 1433 الموافق 4 سبتمبر سنة 2012 والمتضمن تعيين أعضاء الحكومة،

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

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 02–453 المؤرخ في 17 شوّال عام 1423 الموافق 21 ديسمبر سنة 2002 الذي يحدّد صلاحيات وزير التّجارة،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 05–465 المؤرخ في 4 ذي القعدة عام 1426 الموافق 6 ديسمبر سنة 2005 والمتعلّق بتقييم المطابقة،

– وبمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرّخ في 29 صفر عام 1414 الموافق 18 غشت سنة 1993 والمتعلق بمواصفات بعض أنواع الحليب المعد للاستهلاك وعرضه،

– وبمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرخ في 7 ربيع الثاني عام 1418 الموافق 10 غشت سنة 1997 والمتعلق بالمواصفات التقنية لأنواع الحليب المركز غير المحلّى والمحلّى وشروط عرضها وكيفياته،

يقرّر ما يأتي :

المادة الأولى : تطبيقا لأحكام المادة 19 من المرسوم التنفيذي رقم 90–39 المؤرخ في 3 رجب سنة 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990، المعدل والمتمم والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج تحديد نسبة الآزوت في الحليب إجباريا.

المادة 2 : من أجل تحديد نسبة الآزوت في الحليب، فإن مخابر مراقبة الجودة وقمع الغش والمخابر المعتمدة لهذا الغرض، ملزمة باستعمال المنهج المبين في الملحق المرفق بهذا القرار.

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 20 شوّال عام 1434 الموافق 27 غشت سنة 2013.

مصطفى بن بادة

الملحق

منهج تحديد نسبة الآزوت في الحليب

يبين هذا المنهج تقنية لتحديد نسبة الآزوت في الحليب السائل، الكامل أو منزوع الدسم حسب مبدأ (kjeldahl).

1- التعريف

لمتطلبات هذا المنهج، يطبق التعريف الآتي :

نسبة الآزوت :

النسبة الكتلية للآزوت المحددة بطريقة العمل المبينة في هذا المنهج.

ملاحظة – يعبر عن نسبة الآزوت على شكل نسبة مائوية للكتلة.

2- المبدأ

تمعدن عينة مأخوذة للتجربة بمزيج من حمض الكبريت المركز وسولفات البوتاسيوم باستعمال سولفات النحاس (II) (2.3) كمحفز لتحويل الآزوت العضوي إلى سولفات الأمونيوم (تتمثل وظيفة سولفات البوتاسيوم في رفع درجة غليان حمض الكبريت والسماح بالحصول على مزيج مؤكسد أقوى لعملية التمعدن). يضاف هيدروكسيد الصوديوم

الفائض للراسب المعدني المبرد لتحرير الأمونياك. يقطر الأمونياك المحرر في فائض من محلول حمض البوريك، ثم يعاير باستعمال حمض كلورهيدريك.

تحسب نسبة الآزوت انطلاقا من كمية الأمونياك المنتجة.

3- الكواشف

في عدم وجود تعليمات، تستعمل فقط كواشف ذات نوعية تحليلية معترف بها، وماء مقطر أو منزوع المعادن أو ماء ذو نقاوة مكافئة على الأقل.

1.3 سولفات البوتاسيوم (K_2SO_4)، خال من الآزوت.

2.3 محلول سولفات النحاس (II)، ($CuSO_4$) c= 5,0 غ في 100 ملل.

يذوب في الماء داخل حوجلة مدرجة سعتها 100 مل، 5,0 غ من سولفات النحاس (II) خماسي التمييه ($CuSO_4,5H_2O$) ويخفف بالماء حتى المعلم، ثم يخلط.

3.3 حمض الكبريت (H_2SO_4)، مع نسبة كتلية محصورة بين 95% و98% بدون آزوت (P_{20}= حوالي 1,84 غ/ملل).

4.3 محلول هيدروكسيد الصوديوم (NaOH) خال من الآزوت ويحتوي على 50غ من هيدروكسيد الصوديوم في 100غ من المحلول.

5.3 محلول مؤشر، يذوب 0,1 غ من أحمر الميثيل في الإيثانول لـ 95% (نسبة حجمية) ويخفف إلى 50 ملل بالإيثانول. يذوب 0,5 غ من أخضر البروموكريزول في الإيثانول لـ 95% (نسبة حجمية) ويخفف إلى 250 ملل بالإيثانول. يخلط مقدار من محلول أحمر الميثيل بخمسة مقادير من محلول أخضر البروموكريزول أو يدمج ويخلط المحلولان معا.

6.3 محلول حمض البوريك، (H_3BO_3) c= 40,0 غ/ل.

يذوب داخل حوجلة مدرجة سعتها 1000 ملل، 40,0غ من حمض البوريك في 1 ل من الماء الساخن. تترك الحوجلة ومحتواها لتبرد في 20°م. يكمل الحجم بالماء، يضاف 3 ملل من محلول المؤشر (5.3) ويخلط.

الملاحظة : يوضع المحلول الذي يجب أن يكون برتقاليا فاتحا، في قارورة زجاجية من البروسيليكات. ويحفظ من الضوء ومن مصادر أبخرة الأمونياك، خلال التخزين.

في حالة المعايرة الإلكترونية للعامل الهيدروجيني (pH) مع نقطة نهائية، فإن إضافة المحلول المرشد إلى محلول حمض البوريك يمكن تركه. ومن جهة أخرى فإن تغير اللون يمكن أن يساعد في مراقبة طريقة عمل المعايرة.

7.3 محلول حجمي معياري لحمض الكلورهيدريك (c(HCl) = (0,1 ±0,0005) مول/ل.

ينصح بشراء هذه المادة المضبوطة مسبقا، التي تستجيب لهذه المواصفات.

ملاحظة – غالبا ما تؤدي الأخطاء المعتادة (الممكن تجنبها) والمرتكبة من طرف المحلل الذي يخفف الحمض المركز ثم يحدد مولارية الحمض، إلى إنقاص مردودية المنهج.

من الأحسن أن لا يستعمل المحلل محلول معايرة ذا تركيز أكبر من 0,1 مول/ل، لأن هذا ينقص من الحجم الكلي للمعايرة لكل عينة ويجعل الارتياب في قراءة السحاحة بنسبة مائوية أعلى من القيمة.

وهذا يعطي أثرا سلبيا على تكرارية وإعادة تجربة المنهج في عدة مخابر. تظهر نفس المشاكل، مع خطر الأخطاء الإضافية، عندما يعوض حمض بآخر (مثلا حمض الكبريت) بحمض الكلورهيدريك. فلا ينصح إذا بإجراء هذه التعويضات.

8.3 سولفات الأمونيوم [$(NH_4)_2 SO_4$] ذو نقاوة دنيا لـ 99,9% (نسبة كتلية) على المادة الجافة.

يجفف سولفات الأمونيوم في درجة حرارة 102°م ± 2°م على الأقل 2 ساعة، مباشرة قبل الاستعمال. يترك ليبرد في درجة حرارة الوسط داخل جهاز نازع الرطوبة.

9.3 التريبتوفان ($C_{11}H_{12}N_2O_2$) أو **هيدروكلورور الليزين** ($C_6H_{15}ClN_2O_2$) ذات نقاوة دنيا لـ 99,9% (نسبة كتلية).

لا تجفف هذه الكواشف داخل جهاز التجفيف قبل الاستعمال.

10.3 السكاروز، حيث تكون نسبة الآزوت أقل من 0,002% (جزء كتلي).

لا يجفف السكاروز داخل جهاز التجفيف قبل الاستعمال.

4- التجهيزات

الأجهزة المتداولة في المخبر ولا سيما ما يأتي :

1.4 حمام مائي، يمكن ضبطه في درجة حرارة 38°م ± 2°م.

2.4 كرات (kjeldahl)، سعتها 500 ملل أو 800 ملل.

3.4 ميزان تحليلي، يسمح بوزن بتقريب 0,1 ملغ.

4.4 جسم مسهل للغليان، مثلا حجر الخفاف المتوهجة، غبار الزنك، قطع من الخزف الصلب أو الحبيبات الملساء من الشب الحمقلي (كاربورندم أو كريبد السيليكون)، ذات نقاوة مرتفعة وذات ثقوب قياسها 10.

لا يعاد استعمال هذه الأجسام.

ملاحظة – تستعمل أحيانا كريات زجاجية قطرها حوالي 5 ملم، لكن يمكن أن تكون أقل فعالية للغليان من حبات الشّب، ويمكن أن تحدث الكريات الزجاجية مشاكل تكوّن رغوة بكثرة خلال عملية التعدين.

5.4 سحاحة أو ماصة أوتوماتيكية، تسمح بالحصول على كميات لـ 1,0 ملل من محلول سولفات النحاس (II) (2.3).

6.4 مخبارات مدرجة، سعتها 50 ملل، 100 ملل، و500 ملل.

7.4 جهاز التمعدن لإبقاء كرات (kjeldahl) (2.4) في وضعية مائلة (بحوالي 45°)، مزود بمدافئ كهربائية أو قنديل غازي لا يسخن الكرات فوق مستوى محتواها، وله جهاز تسرب الأبخرة.

من الأحسن أن يكون مصدر الحرارة المستعمل خلال عملية التمعدن مضبوطا لكي يسمح بمراقبة التعديل الأقصى لمصدر الحرارة. يسخن مسبقا مصدر الحرارة عند ضبط جهاز التسخين المراد تقييمه.

يجب أن تكون مدة التحمية 10 دقائق في حالة القنديل الغازي و30 دقيقة في حالة جهاز تسخين كهربائي. يحدد لكل جهاز تسخين الضبط الذي يسمح بغليان 250 ملل من الماء و5 إلى 10 أجسام مسهلة للغليان (انطلاقا من درجة حرارة أولية 25°م) من 5 إلى 6 دقائق. هذا الضبط يناسب الضبط الأقصى لجهاز تسخين المستعمل أثناء عملية التمعدن.

8.4 جهاز التقطير، من زجاج بوروسيليكات أو مادة أخرى ملائمة، من الممكن أن يكون مجهزا بكرة (kjeldahl) (2.4) ويتكون من رأس مضاد للعرض فعال، مربوط بمكثف فعال ذي أنبوب داخلي مستقيم وأنبوب سيلان مثبت على نهايته السفلى.

يجب أن تكون الأنابيب المتصلة والسدادات غير نفوذة ومن الأفضل أن تكون من مطاط صناعي.

9.4 حوجلات مخروطية، سعتها 500 ملل، مدرجة كل 200 ملل.

10.4 سحاحة، سعتها 50 ملل، مدرجة على الأقل كل 0,01 ملل.

من الممكن أيضا استعمال سحاحة أتوماتيكية تستجيب لنفس المتطلبات.

11.4 جهاز معايرة أتوماتيكي مزود بمقياس العامل الهيدروجيني (pH – متر).

من الأحسن أن يكون مقياس العامل الهيدروجيني معايرا بشكل صحيح في مجال pH 4 إلى pH 7 حسب المناهج العادية لمعايرة العمل الهيدروجيني pH في المخبر.

5- اقتطاع عينة

من الضروري أن يتلقى المخبر عينة ممثلة حقا غير متلفة أو مغبرة خلال النقل أو التخزين. تتم عملية اقتطاع العينة حسب منهج ملائم.

6 - تحضير العينة للتجربة

تسخن العينة للتجربة داخل حمام مائي (1.4) مضبوط في درجة حرارة 38°م ± 2°م. تمزج جيدا، لكن بعناية، بالقلب المكرر للوعاء، دون إحداث رغوة أو مخض. تترك العينة لتبرد في درجة حرارة الوسط مباشرة قبل وزن العينة المأخوذة للتجربة (1.7).

ملاحظة – إذا طبق هذا المنهج على منتوجات الحليب ما عدا الحليب، أنظر الملحوظة الملحقة متضمنة نصائح حول حجم العينة للتجربة.

7 - طريقة العمل

1.7 العينة المأخوذة للتجربة والمعالجة مسبقا

يوضع في كرة (kjeldahl) (2.4) نظيفة وجافة من 5 إلى 10 أجسام مسهلة لعملية الغليان (4.4)، 15,0 غ من سولفات البوتاسيوم (1.3)، 1,0 ملل من محلول سولفات

النحاس (II) (2.3)، حوالي 5 ملل ± 0,1 ملل من عينة التجربة المحضرة (6)، موزونة بتقريب 0,1 ملغ و25 ملل من حمض الكبريت (3.3). من أجل هذا، يستعمل حمض الكبريت لجذب كل بقايا محلول سولفات النحاس (II) (2.3) ، سولفات البوتاسيوم أو العينة المأخوذة للتجربة المتبقية في عنق الكرة.

إذا بقي قليل من المادة المعدنة المحروقة على العنق، يغسل بكمية قليلة من الماء. يمزج بلطف محتوى كرة (kjeldahl).

2.7 التحديد

1.2.7 عملية التمعدن

قبل الشروع في عملية التمعدن، يوصل نظام تسرب الأبخرة بجهاز التمعدن (7.4). تسخن كرة (kjeldahl) ومحتواها (1.7) فوق جهاز التمعدن بضبط جهاز التسخين في درجة حرارة منخفضة ما فيه الكفاية، حتى لا تتجاوز المادة المعدنة المحروقة عمود عنق كرة (kjeldahl) أثناء الغليان. تجرى عملية التمعدن في هذا الضبط لجهاز التسخين حتى يظهر البخار الأبيض داخل الكرة خلال حوالي 20 دقيقة. يرفع ضبط جهاز التسخين حتى الوصول إلى الوضعية الموافقة لنصف الضبط الأقصى المحدد في (7.4) ويواصل التسخين لمدة 15 دقيقة. وبعد 15 دقيقة، يرفع التسخين حتى الضبط الأقصى المحدد في (7.4). عندما تصبح المادة المعدنة فاتحة (تصبح شفافة مع اللون الأزرق الفاتح إلى أخضر)، يواصل غليان المحتوى لمدة 1 سا إلى 1 سا و30 دقيقة في الضبط الأقصى. إذا لم يغل السائل، من الممكن أن يكون الضبط النهائي لقنديل الغاز ضعيفا جدا. تكون المدة الكلية لعملية التمعدن محصورة بين 1 سا و48 دقيقة و2 سا و15 دقيقة.

لتحديد وقت الغليان المعين الضروري لشروط تحليل الحليب في مخبر خاص، باستعمال مجموعة جد معروفة من التجهيزات، تختار عينة من حليب ذي نسبة عالية من البروتينات والمواد الدسمة وتحدد نسبة البروتينات فيه بتطبيق عدة أوقات للغليان (من 1 سا إلى 1 سا و30 دقيقة) بعد التفتيح.

يرتفع معدل نتيجة نسبة البروتينات مع وقت الغليان ثم يستقر، ثم ينخفض عندما يكون وقت الغليان طويلا جدا. يختار وقت الغليان الذي يسمح بالحصول على نسبة قصوى للبروتينات.

في نهاية عملية التمعدن، يجب أن تكون المادة المعدنة شفافة وخالية من المواد غير المهضومة. تترك المادة المعدنة لتبرد في درجة حرارة الوسط داخل قارورات مفتوحة لمدة 25 دقيقة تقريبا. إذا بردت الكرات على القناديل التي لا تزال ساخنة، يكون الوقت اللازم للوصول إلى درجة حرارة الوسط طويلا. من الأحسن أن تكون المادة المعدنة المبردة سائلة كليا أو سائلة مع بعض البلورات الصغيرة في قاع الكرة. في نهاية فترة التبريد لمدة 25 دقيقة. لا تترك المادة المعدنة غير المخففة داخل الكرات لليلة كاملة. لأنه يمكن للمادة المعدنة غير المخففة أن تتبلور خلال هذه الفترة ويصعب جدا بعد ذلك وضعها للتحلل.

ملاحظة – التبلور المفرط خلال 25 دقيقة هو نتيجة فقدان كبير للحمض خلال عملية التمعدن وقد تعطي قيما تجريبية ضعيفة. سبب فقدان هذا الحمض هو الامتصاص المفرط للأدخنة أو بعملية تمعدن مطولة جدا من جراء ضبط أقصى غير صحيح للقنديل.

يضاف 300 ملل من الماء داخل كرات (kjeldahl) سعتها 500 ملل، أو 400 ملل من الماء داخل كرات (kjeldahl) سعتها 800 ملل، كذلك باستعمال الماء للتخلص من أي باق على عنق الكرات.

يخلط كليا المحتوى مع التأكد من ذوبان جميع البلورات المتشكلة. تضاف 5 إلى 10 أجسام مساعدة للغليان (4.4). يترك المزيج ليبرد في درجة حرارة الوسط قبل إجراء عملية التخفيف. يمكن للمادة المعدنة المخففة أن تحفظ داخل حوجلات مغلقة وتستعمل بعد ذلك للتقطير.

2.2.7 التقطير

يمرر ماء المكشف لجهاز التقطير (8.4). يضاف 75 ملل من محلول هيدروكسيد الصوديوم (4.3) للمادة المعدنة المخففة (1.2.7) بسكب المحلول بعناية داخل العنق المائل لكرة (kjeldahl)، بطريقة تسمح بتشكل طبقة في قاع بصيلة الكرة.

من الأحسن أن يكون الفاصل بين المحلولين واضحا. لانقاص خطر تسرب الأمونياك، تربط كرة (kjeldahl) بجهاز التقطير (8.4) مباشرة بعد إضافة محلول هيدروكسيد الصوديوم داخل الكرة. يغمر رأس أنبوب سيلان المكشف في 50 ملل من محلول حمض البوريك (6.3) المتواجد داخل حوجلة مخروطية (9.4). ترج كرة (kjeldahl) بشدة يحركه دورانية حتى لا تبقى أي طبقة من المحلول المنفصلة الواضحة داخل الكرة. توضع الكرة

فوق القنديل ويشعل القنديل على ضبط مرتفع ما فيه الكفاية لغليان الخليط. تستمر عملية التقطير حتى بداية غليان غير منتظم (غليان خانق)، ثم تنزع مباشرة كرة (kjeldahl) ويوقف التسخين. يوقف ماء المكثف. يغسل داخل وخارج أنبوب السيلان بالماء، يجمع ماء الغسل داخل حوجلة مخروطية ويخلط.

ينبغي لمعدل التخفيف أن يسمح بجمع حوالي ملل من القطارة قبل بداية الغليان غير المنتظم 150 (غليان خانق). يكون الحجم الكلي داخل الحوجلة المخروطية حوالي 200 ملل. إذا كان حجم القطارة المجموعة أقل من 150 ملل، من المحتمل أنه تم إضافة كمية أقل من 300 ملل لتخفيف المادة الممعدنة. يكون المكثف فعال، بحيث لا تتجاوز درجة حرارة محتوى الحوجلة المخروطية 35°م خلال عملية التقطير في حالة استعمال نقطة نهاية المعايرة التلوينية.

3.2.7 المعايرة

يعاير محتوى الحوجلة المخروطية (2.2.7) بحمض الكلورهيدريك (7.3) بواسطة مخبار (5.4) تبلغ نقطة نهاية المعايرة عند ظهور اللون الوردي داخل المحتوى. تقدر القراءة في المخبار بتقريب 0,05 ملل. باستطاعة صفيحة محركة مغناطيسية منيرة أن تسهل رؤية النقطة النهاية للمعايرة.

من الممكن أيضا أن يعاير محتوى الحوجلة المخروطية (2.2.7) بحمض الكلورهيدريك (7.3) بواسطة جهاز معايرة أوتوماتيكي معاير، مجهز بمقياس العامل الهيدروجيني (pH – متر) (11.4). تبلغ النقطة النهاية للمعايرة في العامل الهيدروجيني (pH) 4,6، المناسبة مع النقطة الأكثر علوا من منحنى المعايرة (نقطة الانحناء). تقرأ كمية المحلول المستعمل على جهاز المعايرة الأوتوماتيكي.

ملاحظة 1 – يلاحظ أثر اللون الوردي الأول المحصور بين العامل الهيدروجيني (pH) 4,6 و(pH) 4,3 للجهاز الدال ومحلول حمض بوريك بنسبة 4% محددة في هذا المنهج. من الناحية العملية، يكون تغير العامل الهيدروجيني (pH) حسب إضافة حمض الكلورهيدريك لـ 0,1 مول/ل سريعا في هذا السلم من العامل الهيدروجيني (pH). يجب أن تساوي كمية الكلورهيدريك حوالي 0,05 ملل لـ 0,1 مول/ل لكي يتغير العامل الهيدروجيني (pH) بـ 0,3 وحدة في هذا السلم من العامل الهيدروجيني (pH) المحصور بين 4,6 و4,3 في هذا الجهاز.

ملاحظة 2 الإحصائيات التي أجريت داخل المخابر وتلك التي أجريت بين المخابر والمتعلقة بهذا المنهج حددت بمعايرة ذات النقطة النهاية التلوينية. أظهرت المقارنة بين نتائج التجربة، بما فيها التجارب على بياض، المتحصل عليها بنقطة نهائية عند العامل الهيدروجيني (pH) 4,6 ونتائج معايرة النقطة النهائية التلوينية، عدم وجود فرق كبير بين هذه النتائج.

3.7 التجربة على بياض

تعاير العينات المأخوذة للتجربة على بياض باستعمال دائما نفس حمض الكلورهيدريك (7.3) ونفس المخبار (5.4) أو نفس جهاز المعايرة الأوتوماتيكي، المزود بمقياس العامل الهيدروجيني (pH – متر) (11.4) للعينات المأخوذة للتجربة فقط. تنجز تجربة على بياض باتباع طريقة العمل المبينة في (1.7) إلى (3.2.7)، بتعويض العينة المأخوذة للتجربة بـ 5 ملل من الماء مع حوالي 0,85 غ من السكاروز (10.3).

تسجل نتائج التجربة على بياض. إذا تغيرت هذه القيم وتحدد أسباب هذا التغيير.

ملاحظة 1 – في عينة مأخوذة للتجربة على بياض أو محلول معاير للاسترجاع، يستعمل السكاروز، أثناء عملية التمعدن، كمادة عضوية لاستهلاك كمية من حمض الكبريت المعادلة تقريبا للكمية اللازمة لعينة مأخوذة للتجربة. إذا كانت كمية حمض الكبريت الحر المتبقية في نهاية عملية التمعدن غير كافية، فان استرجاع الآزوت المحدد حسب تجارب الاسترجاع في (2.4.7) و(3.4.7) تكون ضعيفة. غير أنه إذا بقيت في نهاية عملية التمعدن، كمية كافية من حمض الكبريت الحر لحجز كل الآزوت، لكن شروط درجة الحرارة ومدة عملية التمعدن كانت غير كافية لتحرير الآزوت الإجمالي من العينة، فإن استرجاعه في (7.4.2) يكون مقبولا ويكون ضعيفا في (3.4.7).

من الأحسن أن تكون كمية المحلول المعاير المستعملة للعينة المأخوذة للتجربة على بياض دائما أكبر من الصفر. من الأحسن أن تكون العينات المأخوذة للتجربة على بياض المجراة في نفس المخبر، ثابتة طوال الوقت، تكون القيم النموذجية على بياض أصغر أو تساوي 0,2 ملل.

ملاحظة 2 – إذا كانت العينة المأخوذة للتجربة على بياض وردية اللون قبل المعايرة، فهذا غير عادي. عموما في هذه الحالة، تكون الحوجلات المخروطية غير نظيفة أو

أن الماء الموجود في الهواء الرطب الممكن أن يتكثف خارج جهاز التكثيف يكون قد دخل حوجلة الاسترجاع محدثا تلوثها.

4.7 تجارب الاسترجاع

1.4.7 من الأحسن التحقق بانتظام من دقة طريقة العمل بتجارب الاسترجاع التالية، المجراة طبقا لطريقة العمل المبينة في (1.7) إلى (3.2.7).

2.4.7 التحقق من أنه أن يحدث أي تسرب للآزوت باستعمال عينة مأخوذة للتجربة مقدرة بـ 0,12 غ من سولفات الأمونيوم (8.3) مع 0,85 غ من السكاروز (10.3).

ملاحظة – التحقق من أن استرجاع سولفات الأمونيوم لا يعطي أي بيان على قدرة شروط عملية التمعدن لتحرير الآزوت المتصل بالجزيئات البروتينية.

يجب أن تكون نسبة الآزوت المسترجع محصورة بين 99% و100% لكل وضعيات الجهاز. من أجل استرجاع كميات أقل من 99%، تكون نظامية المحلول المعاير أكبر من القيمة المحددة، حيث يمكن أن يحدث تسرب للآزوت خلال مرحلة التمعدن أو التقطير. من الممكن استعمال مزيج من سولفات الأمونيوم وكمية قليلة من حمض الكبريت (الكمية المتبقية في نهاية عملية التمعدن) داخل كرة (kjeldahl).

تخفف بحجم عاد من الماء، تضاف الكمية العادية من هيدروكسيد الصوديوم، ثم تقطر. إذا كانت كمية الآزوت المسترجعة ضعيفة في نفس النسب، فإن تسرب الآزوت يحدث في جهاز التقطير وليس في جهاز عملية التمعدن. يمكن أن يكون السبب تسرب من أنبوب في جهاز تقليدي أو كون أن رؤوس جهاز التكثيف ليست مغمورة كليا في حمض البوريك منذ بدء التقطير. من الأحسن أن يخضع هذا الجهاز لهذه التجربة قبل مراقبة عملية الاسترجاع تبعا لطريقة العمل المبينة في (3.4.7).

إذا كانت كمية الآزوت المسترجعة أكبر من 100%، فلا يمكن ملاحظة أي تسرب للآزوت.

في هذه الحالة، يمكن أن تكون الأسباب كالآتي :

أ) سولفات الأمونيوم ملوث،

ب) النظامية الحقيقية للمحلول المعيّر أصغر من قيمتها المحددة،

ج) معايرة المخبار للمحلول المعيّر خاطئة،

د) درجة حرارة المحلول المعيّر أعلى من درجة حرارة معايرة المخبار،

هـ) تدفق المحلول المعيّر خارج المخبار يفوق السرعة القصوى التي تكون فيها معايرة المخبار مقبولة.

3.4.7 التحقق من فعالية طريقة عمل عملية التمعدن باستعمال 0,16 غ من هيدروكلورور الليزين (9.3) أو 0,18 غ من التريبتوفان (9.3) مع 0,67 غ من السكاروز (10.3).

يجب استرجاع 98% على الأقل من النسبة الكتلية للآزوت. إذا كانت نسبة الآزوت المسترجع أقل من 98% بعد الحصول على نسبة الأمونيوم المسترجع 99% إلى 100%، فإن درجة الحرارة أو مدة عملية التمعدن كانت غير كافية c(تتبع طريقة العمل المبينة في (1.2.7)، الفقرة الأولى والملاحظة 1)، أو أن جزءا من العينة لم يهضم (أو لم يحرق) داخل أنبوب (kjeldahl). يكون التقييم النهائي للنتائج أحسن إذا أجري في إطار برنامج تجارب الفعالية التي تحسب فيها الخصائص الإحصائية في داخل المخابر وما بين المخابر على أساس تحليل عينات الحليب.

4.4.7 تدل النتائج السفلى المتحصل عليها في أحد تجارب الاسترجاع (أو أعلى من 100% في (2.4.7)) على وجود أخطاء في طريقة العمل و/أو عدم دقة في تركيز محلول حمض الكلورهيدريك (7.3).

8 - الحساب والتعبير من النتائج

1.8 حساب نسبة الآزوت

1.1.8 تحسب نسبة الآزوت الموجودة في العينة المأخوذة للتجربة، W_N، بواسطة المعادلة الآتية :

$$W_N = \frac{1,4007(V_S - V_b)M_r}{m}$$

حيث :

W_N : نسبة الآزوت الموجودة في العينة المأخوذة للتجربة والمعبر عنها على شكل نسبة مائوية للكتلة،

V_S : الحجم الرقمي لحمض الكلورهيدريك (7.3) بالمليليتر المستعمل في التحديد (3.2.7) والمعبر عنه بتقريب 0,05 ملل على الأقل،

V_b : الحجم الرقمي لحمض الكلورهيدريك (7.3) القيمة الرقمية لحجم بالميليلتر المستعمل في التجربة على بياض (3.7) والمعبر عنه بتقريب 0,05 ملل على الأقل،

M_r : المولارية الحقيقية لحمض الكلورهيدريك (7.3) والمعبر عنها بتقريب أربعة أرقام بعد الفاصلة،

m : القيمة الرقمية لكتلة العينة المأخوذة للتجربة (1.7)، بالغرام والمعبر عنها بالتقريب 0,1 ملغ.

2.1.8 يعبر عن النتائج المتحصل عليها تقريبا بأربعة أرقام بعد الفاصلة، إذا اقتضى الأمر لإجراء حسابات لاحقة. إذا تعلق الأمر بالنتائج النهائية (1.8)، يعبر عن نسبة الآزوت بتقريب ثلاثة أرقام بعد الفاصلة ونسبة الآزوت الإجمالي برقمين بعد الفاصلة. من الأحسن ألاّ تقرب النتائج قبل الاستعمال النهائي لقيمة التجربة.

ملاحظة – يصبح هذا على وجه الخصوص عندما تستعمل هذه القيم لاحقا. تكون هذه الحالة، مثلا عندما تستعمل قيم التجارب الفردية المتحصل عليها انطلاقا من تحليل عدة عينات لحساب إحصائيات فعالية المنهج المتعلق بالتغييرات في نفس المخابر وفي ما بين المخابر. هو نفس الحال أيضا عندما تستعمل هذه القيم كمرجع عند معايرة جهاز ما (مثلا جهاز تحليل الحليب بالأشعة فوق الحمراء)، حيث تستعمل القيم المتعلقة بعدة عينات لحساب ارتدادي بسيط أو متعدد. وفي هذه الحالات، من الأحسن ألاّ تقرب النتائج المتحصل عليها قبل استعمالها لحسابات لاحقة.

2.8 حساب نسبة المادة الآزوتية الإجمالية

1.2.8 تحسب نسبة المادة الآزوتية الإجمالية للعينة المأخوذة للتجربة، W_P بواسطة المعادلة الآتية :

$$W_P = W_N X 6,38$$

حيث :

W_P : هي نسبة المادة الآزوتية الإجمالية للعينة المأخوذة للتجربة والمعبر عنها بالنسبة المائوية للكتلة،

W_N : هي نسبة الآزوت للعينة المأخوذة للتجربة والمعبر عنها بالنسبة المائوية للكتلة، تقريبا بأربعة أعداد بعد الفاصلة (1.8)،

6,38 : هو العامل المضاعف المقبول عموما للتعبير عن نسبة الآزوت كنسبة المادة الآزوتية الإجمالية.

2.2.8 يعبر عن النتائج المتحصل عليها لنسبة المادة الآزوتية الإجمالية بثلاثة أرقام بعد الفاصلة تقريبا، إذا اقتضى الأمر لحسابات لاحقة. إذا تعلق الأمر بالنتائج النهائية (1.8)، يكفي أن يكون رقمان بعد الفاصلة.

9- الدقة

1.9 التجربة ما بين المخابر

تستخرج قيم التكرارية وإعادة التجربة في عدة مخابر عن نتائج التجربة ما بين المخابر. يمكن ألاّ تطبق هذه القيم الناتجة عن هذه التجربة في مجالات التركيز والمصفوفات غير تلك التي تم توضيحها.

2.9 التكرارية

لا يتعدى فرق نتيجتي تجربتين فرديتين منفردتين، المتحصل عليهما بواسطة نفس المنهج على نفس المادة، الخاضعة لتجربة في نفس المخبر من طرف نفس المحلل باستعمال نفس التجهيزات في فترة زمنية قصيرة، 0,006% لنسبة الآزوت (0,038% لنسبة المادة الآزوتية الإجمالية) إلاّ في 5% من الحالات على الأكثر.

3.9 إعادة التجربة في عدة مخابر

لا يتعدى الفرق بين نتيجتي تجربتين فرديتين المتحصل عليهما بواسطة نفس المنهج على نفس المادة الخاضعة لتجربة في عدة مخابر من طرف محللين مختلفين باستعمال تجهيزات مختلفة، 0,0077% لنسبة الآزوت (0,049% لنسبة المادة الآزوتية الإجمالية) إلاّ في 5% من الحالات على الأكثر.

ملحوظة

طريقة عمل لتحليل مواد أخرى لمشتقات الحليب في حالة عدم وجود منهج خاص بهذه المنتجات

1- عموميات

تم توسيع طريقة العمل المبينة في هذا المنهج وتم تقييم فعاليتها لتحليل حليب البقر، في حالة عدم وجود أي منهج خاص لهذه المنتجات، يمكن للمخبر أن يستعمل نفس طريقة العمل مع تغييرات طفيفة لتحديد نسبة الآزوت لسلسلة من منتجات الحليب.

مع ذلك، من الأحسن التسجيل أنه لم يتم المصادقة على طريقة العمل وفعاليتها لهذا النوع من التطبيق.

2- طريقة العمل

يوزن بالتقريب 0,1 غ، الكتلة المناسبة للعينة المأخوذة للتجربة المستخلصة من عينة التجربة المحضرة جيدا كما هو مبين لاحقا، تحدد نسبة الآزوت باتباع المنهج المبين من (1.7) إلى (4.7).

من الأحسن ألاّ يتم تغيير كميات حمض الكبريت (3.3) ومحلول هيدروكسيد الصوديوم (4.3) المستعملة في عملية التمعدن والتقطير. يؤدي تغيير النسبة بين

كمية الحمض والمركبات الأخرى بزيادة كمية الحمض، إلى خفض نقطة الغليان الأولية للمزيج في عملية التمعدن، فلا ينصح به إذا.

من الأحسن استعمال عامل مناسب من العينة المأخوذة للتجربة بالعمل بالكواشف المحددة في هذا المنهج. يمكن تقدير العامل المناسب للعينة المأخوذة للتجربة لجميع عينات التجربة كما يلي.

يجب أن تكون كمية البروتينات المثلى داخل كرة (kjeldahl) (2.4) محصورة بين 0,15 غ و0,30 غ في كل كرة ولكل عينة. وكذلك إذا كانت عينة متوسطة من شيدار تحتوي على 24.00% من البروتينات، من الأحسن أن تكون كتلة العينة المأخوذة للتجربة محصورة بين 0,625 غ و1,25 غ.

يعتمد اختيار استعمال كتل العينة المأخوذة للتجربة التي تكون قريبة من الحد الأسفل أو الحد الأعلى للمجال، على كمية الحمض الذي يستهلك من قبل المركبات الأخرى للعينة أثناء عملية التمعدن (أي المواد الدسمة والهيدروكاربونات).

يصف هذا المنهج إضافة 25 ملل (حوالي 46 غ) من حمض الكبريت إلى العينة المأخوذة للتجربة، داخل كرة (kjeldahl). في نهاية عملية التمعدن، يجب أن يبقى حوالي 15 غ من حمض الكبريت داخل الكرة لحجز جميع الآزوت.

ينبغي الإشارة إلى أن كمية حمض الكبريت قد استهلكت من طرف العينة المأخوذة للتجربة وخسرت أيضا عن طريق التبخر خلال عملية التمعدن. يمكن أن تكون الكمية المتسربة عن طريق التبخر مساوية للكمية المستهلكة من طرف المواد العضوية في العينة المأخوذة للتجربة. تعتمد الكتلة النهائية لبقايا الحمض، على هاتين العمليتين. إذا كانت خسارة الحمض عن طريق التبخر كبيرة جدا (بسبب الشفط الزائد للأبخرة خلال عملية التمعدن أو أن عنق القارورة حار جدا)، من الممكن أن يتبقى قليل جدا من الحمض بعد عملية التمعدن، حتى إذا كانت العينة المأخوذة للتجربة ذات حجم كاف.

تتسبب الكمية المتبقية للحمض غير الكافية في تبلور المادة المتمعدنة بعد 25 دقيقة من التبريد و إلى استرجاع منخفض للآزوت.

تعتبر القشدة التي تحتوي على 40% من المواد الدسمة مثلا عن منتوج حساس. في هذه الحالة، تكون نسبة البروتينات أو الآزوت في العينة منخفضة ونسبة المواد الدسمة مرتفعة. نفترض أن عينة وسطى للقشدة تحتوي على حوالي 40% من المواد الدسمة، 1,9% من البروتينات و2,9% من اللاكتوز لكي نتحصل على 0,15غ من البروتينات داخل كرة (kjeldahl) (2,4) من الأحسن استعمال عينة مأخوذة للتجربة من 7,98 غ. تحتوي إذن هذه العينة المأخوذة للتجربة على 3,16 غ من المواد الدسمة التي تستهلك بنفسها 56,9 غ (حوالي 30,9 ملل) من حمض الكبريت خلال عملية التمعدن، بدون أخذ في الاعتبار فقدان حمض الكبريت بالتبخر (يفترض أن 1 غ من المادة الدسمة يستهلك 18 غ من حمض الكبريت خلال عملية التمعدن). هذا مثال على الحالة التي يجب أن تقلص فيها كمية العينة المأخوذة للتجربة للحصول على كمية متبقية كافية من حمض الكبريت في نهاية عملية التمعدن. في حالة مادة مثل القشدة، من الأحسن استعمال محلول معاير ذي تركيز منخفض (مثلا 0,01 مول/ل). في مثل هذه الحالات، من الضروري تخفيض كمية العينة المأخوذة للتجربة لكي تتبقى كمية كافية من حمض الكبريت في نهاية عملية التمعدن.

يمكن أن تحدد كمية السكاروز اللازمة للتجربة على بياض أو المحاليل المعايرة للاسترجاع، لمواد أخرى غير حليب البقر كما يأتي :

يجب أوّلا إجراء تقدير النسب التقريبية للمواد الدسمة، للبروتينات والهيدروكربونات لنوع عينة التجربة المعنية والقيمة التقريبية للعينة المأخوذة للتجربة المستعملة في عملية التمعدن.

فيما بعد أثناء عملية التمعدن، يستهلك 1 غ من المادة الدسمة حوالي 18 غ من حمض الكبريت، 1 غ من البروتينات يستهلك 9 غ من حمض الكبريت، و1 غ من هيدروكاربونات يستهلك حوالي 7 غ من حمض الكبريت.

على أساس هذه المعلومات، من الممكن حساب كمية الحمض المستهلك من طرف العينة المأخوذة للتجربة وكمية السكاروز اللازمة لاستهلاك نفس كمية الحمض خلال عملية التمعدن. من الأحسن أن تستعمل كمية السكاروز المحسوبة للعينة المأخوذة للتجربة على بياض وللمحلول المعاير لاسترجاع سولفات الأمونيوم.

من أجل محلول معاير لاسترجاع الآزوت من الأحماض الأمينية (7.4.3)، تخفض كمية السكاروز إلى ما يعادل الحمض الذي يتم استهلاكه (يحسب على شكل بروتينات) بهيدروكلورور الليزين أو التريبتوفان. يؤخذ كافتراض، أنّ استرجاع الآزوت خلال عملية التمعدن للجهاز المستعمل، هو نفسه بالنسبة للعينات الأخرى غير الحليب، وذلك بدون إجراء تجارب استرجاع أخرى للحصول على شروط تسمح بالوصول إلى مراحل مماثلة لحمض الكبريت المتبقي في نهاية عملية التمعدن.

قرارات، مقرّرات، آراء

وزارة التجارة

قرار مؤرخ في 4 محرّم عام 1437 الموافق 18 أكتوبر سنة 2015، يجعل منهج تحضير العيّنة قصد التحليل الفيزيائي والكيميائي للحليب إجباريا.

إن وزير التجارة،

– بمقتضى المرسوم الرئاسي رقم 15–125 المؤرخ في 25 رجب عام 1436 الموافق 14 مايو سنة 2015 والمتضمن تعيين أعضاء الحكومة، المعدل،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 90–39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990 والمتعلق 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 05–465 المؤرخ في 4 ذي القعدة عام 1426 الموافق 6 ديسمبر سنة 2005 والمتعلق بتقييم المطابقة،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 13–328 المؤرخ في 20 ذي القعدة عام 1434 والموافق 26 سبتمبر سنة 2013 الذي يحدد شروط وكيفيات اعتماد المخابر قصد حماية المستهلك وقمع الغش،

– وبمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرخ في 29 صفر عام 1414 الموافق 18 غشت سنة 1993 والمتعلق بمواصفات بعض أنواع الحليب المعد للاستهلاك وعرضه،

يقرر ما يأتي :

المادة الأولى : تطبيقا لأحكام المادة 19 من المرسوم التنفيذي رقم 90–39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990، المعدل والمتمم والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج تحضير العينة قصد التحليل الفيزيائي والكيميائي للحليب إجباريا.

المادة 2 : لتحضير العيّنة قصد التحليل الفيزيائي والكيميائي للحليب، فإن مخابر مراقبة الجودة وقمع الغش والمخابر المعتمدة لهذا الغرض ملزمة باستعمال المنهج المبيّن في الملحق بهذا القرار.

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 4 محرّم عام 1437 الموافق 18 أكتوبر سنة 2015.

بختي بلعايب

الملحق

منهج تحضير العيّنة للتجربة قصد التحليل الفيزيائي والكيميائي للحليب

1. الهدف ومجال التطبيق :

يهدف هذا المنهج إلى تحديد توجيهات عامة لتحضير عيّنات قصد استعمالها للتحليل الفيزيائي والكيميائي للحليب.

2. المبدأ :

مجانسة ميكانيكية أو يدوية لعيّنة التجربة مكيّفة في درجة حرارة 20 °م ± 5 °م وإعداد عيّنات للتجربة.

3. التجهيزات والأدوات الزجاجية :

1.3. إناءات بيشر (Becher)، ذات سعة 400 ملل،

2.3. قضيب زجاجي، طوله حوالي 20 سم وقطره 8 مم منحنيا قليلا من أحد الأطراف ومزود بسدادة من المطاط،

3.3. جهاز المجانسة، مناسب، سهل التنظيف، مجهز بنظام يسمح بالتسخين وتثبيت الحليب في درجة حرارة 40 °م تقريبا.

في حالة عدم وجود هذا الجهاز (3.3)، يستعمل ما يأتي :

4.3. مجموعة المجانسة اليدوية،

1.4.3. حمام مائي، مضبوط في 40 °م،

2.4.3. غربال من الحديد، غير قابل للأكسدة حيث لا تتجاوز فتحات شبكاته 0,5 مم،

3.4.3. قمع، قطره أكبر بقليل من قطر الغربال.

4. طريقة العمل :

1.4. مجانسة العيّنة :

إذا كان التحليل مباشرة بعد الاقتطاع أو بعد ساعتين أو ثلاث (3) ساعات بعد ذلك، يكفي رج عاد للعيّنة بدوران متتال للقارورة لجعل المحتوى متجانسا.

في الحالة العكسية، حيث يكون التحليل بعد يوم من الاقتطاع أو عدة أيام فيما بعد أو بعد مدة طويلة، تتجمع المادة الدسمة للحليب وتتكتل على طول جدران القارورة أو تحت الغطاء.

يجب إذا جعل المادة الدسمة على شكل محلول متجانس في كامل العيّنة، إما باستعمال جهاز ميكانيكي، بشرط أن لا يغير من تركيبة الحليب لا من الناحية النوعية ولا من الناحية الكمية، وإما بإجراء العملية يدويا في حالة عدم وجود هذا الجهاز (3.3).

1.1.4. مجانسة ميكانيكية :

تتعلق طريقة العمل بالجهاز المتوفر. من الضروري، في جميع الحالات، أن تسترجع كل الترسبات الملتصقة بجدران قارورة الاقتطاع أو بالغطاء.

من الأحسن أن توضع العيّنة في درجة حرارة 40 °م إلى 45 °م، بحيث تعمل على تذويب المادة الدسمة التي يجب أن تكون سائلة لإجراء المستحلب بطريقة ملائمة.

ملاحظة :

يُستعمل الجهاز (3.3) حسب المواصفات المحددة من طرف المصنّع مع الحرص، بالخصوص، على ما يأتي :

– لا يدخل أي شيء في العيّنة،

– لا ينقص أي شيء من العيّنة خلال الميكانيزم كله سواء باسترجاع المادة الدسمة أو الكازيين المخثر، أو عن طريق فقد مصل الحليب قبل إدخال الخثارة،

– يُتجنب تشكل رغوة أو طبقة من الهواء التي تمنع، في حالة وجودها، كل قياس مسموح لكتلة حجمية أو كل عيّنة مأخوذة على شكل حجم للتجربة.

2.1.4. مجانسة يدوية :

1.2.1.4. تُرج العيّنة عن طريق دوران متتال مكرر، وتعاد إلى درجة حرارة 25 °م تقريبا.

ملاحظة :

يجب أن لا يكون الرجّ عنيفا بما أن القارورة ممتلئة أو تقريبا ممتلئة. يجب تجنب حدوث تشكل طبقة الهواء إطلاقا في الحليب، مما يؤدي إلى عدم صحة الاقتطاعات، لأن الهدف من الرجّ الأول ليس جعل العينة متجانسة، ولكن فقط فصل المادة الدسمة من جدران القارورة وتقسيمها إلى عدد كبير من الأجزاء الصغيرة.

2.2.1.4. يسكب على الغربال (2.4.3) جزء من العيّنة المثبتة في حوالي 25 °م، وتجمع في بيشر (1.3). تقطع الحبيبات بواسطة القضيب (2.3) باستعمال باقي العينة. تنقل في البيشر (1.3) بصفة متكررة وذلك لإتمام المجانسة. إذا كانت المادة الدسمة غير مدمجة في الحليب بصفة مناسبة، يعاد تسخين العيّنة في حمام مائي (1.4.3) وتجدد العمليات المذكورة في (2.1.4).

3.1.4. حالات خاصة :

1.3.1.4. يمكن أن تمخض العيّنة أثناء النقل أو فورا بفعل جهاز الرج وتكون حبيبات المادة الدسمة المجمعة في المصفاة مشكلة مسبقا من تكتلات حقيقية من الزبدة.

في هذه الحالة، يجب إعادة تسخين العيّنة في 40 °م، تحت فعل مشترك بين حليب ساخن وجهاز الرج. تذوب هذه الحبيبات وتنقسم مع عبور المصفاة.

تعاد العملية مرة أو مرتين ثم تبرد العيّنة. من الواضح أنه في هذه الحالة تكون المادة الدسمة غير مندمجة مرة أخرى بصفة دقيقة في الحليب ويكون الاقتطاع الصحيح لمعايرة المادة الدسمة صعبا. في هذه الحالة، ينصح بالمجانسة الميكانيكية.

2.3.1.4. في حالة التصاق حبيبات الزبدة بقوة على الغطاء، تنزع هذه الزبدة بواسطة جهاز رجّ من المطاط. يشطف بقليل من الحليب ويترك في المصفاة حيث يتلقى غسلا غزيرا أثناء عملية السكب المتتالية.

2.4. درجة حرارة التكييف :

تكون أجهزة الاقتطاع مدرجّة، من أجل درجة حرارة 20 °م، وتكون التحديدات الفيزيائية – الكيميائية مجراة في درجة الحرارة هذه. يجب أن يكون المكان والكواشف والحليب نفسه في درجة حرارة 20 °م ± 5°م.

من الملائم أيضا جعل الحليب في درجة الحرارة هذه في أسرع وقت ممكن.

3.4. العيّنة المأخوذة للتجربة :

بعد تحضير العيّنة لغرض التحليل الفيزيائي والكيميائي، يجب إجراء العيّنات المأخوذة للتجربة مباشرة. ينصح بإجراء كل العيّنات المأخوذة للتجربة اللازمة في مختلف عمليات المعايرة بدون انقطاع.

في كل الحالات، يجرى رجّ أخير للعيّنة قبل كل اقتطاع.

تجرى العينات المأخوذة للتجربة بالوزن أو بالحجم. يعبر عن النتائج بالحجم أو بالكتلة من الحليب مع معرفة الكتلة الحجمية لعيّنة الحليب.

يجب إجراء جميع العيّنات المأخوذة للتجربة بالحجم في 20 °م مع أدوات زجاجية مدرّجة بصفة ملائمة في درجة الحرارة هذه.

قرار مؤرخ في 4 محرّم عام 1437 الموافق 18 أكتوبر سنة 2015، يجعل منهج تحديد الحموضة المعايرة في الحليب الجاف إجباريا.

إن وزير التجارة،

– بمقتضى المرسوم الرئاسي رقم 15–125 المؤرخ في 25 رجب عام 1436 الموافق 14 مايو سنة 2015 والمتضمن تعيين أعضاء الحكومة، المعدل،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 90–39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990 والمتعلق 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 05–465 المؤرخ في 4 ذي القعدة عام 1426 الموافق 6 ديسمبر سنة 2005 والمتعلق بتقييم المطابقة،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 13–328 المؤرخ في 20 ذي القعدة عام 1434 الموافق 26 سبتمبر سنة 2013 الذي يحدد شروط وكيفيات اعتماد المخابر قصد حماية المستهلك وقمع الغش،

– وبمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرخ في 13 شعبان عام 1419 الموافق 2 ديسمبر سنة 1998 والمتعلق بالمواصفات التقنية لأنواع الحليب الجاف وشروط وكيفيات عرضها،

– وبمقتضى القرار المؤرخ في 17 رجب عام 1420 الموافق 27 أكتوبر سنة 1999 والمتعلق بمواصفات مسحوق الحليب الصناعي وشروط عرضه وحيازته واستعماله وتسويقه وكيفيات ذلك، المعدل والمتمم،

يقرر ما يأتي :

المادة الأولى : تطبيقا لأحكام المادة 19 من المرسوم التنفيذي رقم 90–39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990، المعدل والمتمم والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج تحديد الحموضة المعايرة في الحليب الجاف إجباريا.

المادة 2 : من أجل تحديد الحموضة المعايرة في الحليب الجاف، فإن مخابر مراقبة الجودة وقمع الغش والمخابر المعتمدة لهذا الغرض، ملزمة باستعمال المنهج المبين في الملحق بهذا القرار.

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 4 محرّم عام 1437 الموافق 18 أكتوبر سنة 2015.

بختي بلعايب

الملحق

منهج تحديد الحموضة المعايرة في الحليب الجاف

1. الهدف ومجال التطبيق :

يهدف هذا المنهج إلى وضع طريقة تطبيقية لتحديد الحموضة المعايرة في جميع أنواع الحليب الجاف.

2. تعريف :

الحموضة المعايرة للحليب الجاف : هي عدد المليلترات من محلول هيدروكسيد الصوديوم تركيزه 0,1 مول/ل اللازمة لتعديل كمية من الحليب المعاد تشكيله والموافقة لـ 10 غ من المادة الصلبة غير الدسمة، في وجود الفينول فتاليين، حتى ظهور لون وردي.

3. المبدأ :

يحضّر الحليب المعاد تشكيله بإضافة الماء لعيّنة مأخوذة للتجربة من الحليب الجاف تساوي 5 غ بالضبط من المادة الصلبة غير الدسمة، معايرة بمحلول هدروكسيد الصوديوم بـ 0,1 مول/ل، باستعمال الفنول فتاليين ككاشف وسلفات (الكوبالت II) (cobalt II) كمحلول ملون مرجعي. تضرب عدد المليلترات المستعملة للمعايرة في العامل 2 للحصول على عدد المليلترات لـ 10 غ من المادة الصلبة غير الدسمة.

ترتبط كمية محلول هيدروكسيد الصوديوم اللازمة بكمية المواد المثبتة الموجودة بصفة طبيعية في المنتوج وكذلك بالحموضة أو القاعدية الظاهرة أو المضافة.

4. الكواشف :

يجب أن تكون جميع الكواشف ذات نوعية تحليلية معترف بها، يجب أن يكون الماء المستعمل ماء مقطرا أو ماء منزوع الأملاح، وتم تخليصه من ثاني أكسيد الكربون بالغليان لمدة 10 دقائق قبل الاستعمال.

1.4. هيدروكسيد الصوديوم، محلول معاير،

$c(NaOH) = 0,1 \pm 0,000\ 2$ mol/l

2.4. محلول ملون مرجعي،

تذاب 3 غ من سلفا الكوبالت (II) سباعي التمييه ($CoSO_4.7H_2O$) في الماء ويكمل الحجم إلى 100 ملل.

3.4. محلول الفنول فتالين،

تذاب 2غ من الفينول فتالين في 75 ملل من الإيثانول 95 % (v/v) وتضاف 20 ملل من الماء. يضاف محلول هيدروكسيد الصوديوم (1.4) حتى تحدث قطرة واحدة تلوينا ورديا ضعيفا، ويكمّل الحجم بالماء إلى 100 ملل.

5. الأجهزة :

1.5. ميزان تحليلي،

2.5. سحاحة، مدرجة في 0,1 ملل، دقتها 0,05 ملل،

3.5. ماصات، سعتها 2 ملل،

4.5. مخبارات مدرجة، سعتها 50 ملل،

5.5. حوجلات قمعية، ذات عنق مصقول، سعتها 100 ملل أو 150ملل، مزودة بسدادة مصقولة من الزجاج.

6. اقتطاع العيّنة :

يجرى اقتطاع العيّنة في ظروف ملائمة.

7. طريقة العمل :

1.7. تحضير العيّنة للتجربة :

تسكب العيّنة في وعاء نظيف وجاف (مزود بغطاء يمنع تسرب الهواء)، سعته حوالي ضعف حجم العيّنة.

يغلق الوعاء مباشرة ويخلط محتواه بعناية عن طريق التحريك والتقليب المتكرر للوعاء. يُتجنب، قدر الإمكان، تعريض العيّنة للهواء أثناء هذه العمليات، لتقليل التصاق الماء قدر الإمكان.

2.7.. العيّنة المأخوذة للتجربة :

تؤخذ حوجلتان قمعيتان (5.5) ويوضع في كل واحدة منهما (500/*a*) ± 0,01 غ من العيّنة للتجربة (1.7).

a : هو نسبة المادة الصلبة غير الدسمة في العيّنة، معبر عنها بالنسبة المائوية وبعددين عشريين.

ملاحظة – يمكن حساب نسبة المادة الصلبة غير الدسمة في العيّنة بطرح نسبة المادة الدسمة ونسبة الماء من 100.

3.7. التحديد :

1.3.7. حضّر الحليب المعاد تشكيله، بإضافة 50 ملل من الماء في درجة حرارة تقدر بحوالي 20 °م إلى العيّنة المأخوذة للتجربة (2.7)، ويخلط بشدة. يترك ليرتاح لمدة 20 دقيقة.

2.3.7. يضاف إلى إحدى الحوجلتين القمعيتين 2 ملل من المحلول الملون المرجعي (2.4) لكي نحصل على شاهد ملون ثم يمزج بتحريك خفيف.

ملاحظة – إذا كنا بصدد إنجاز سلسلة من التحديدات على منتوجات مشابهة، يمكن استعمال هذا الشاهد الملون لكل السلسلة، لكن يجب أن لا يستعمل بعد أكثر من ساعتين من تحضيره.

3.3.7. يضاف إلى الحوجلة القمعية الثانية، 2 ملل من محلول الفينول فتالين (3.4) ويخلط بالتحريك الخفيف.

4.3.7. يعاير محتوى الحوجلة القمعية الثانية بإضافة محلول هيدروكسيد الصوديوم (1.4) بواسطة سحاحة (2.5) وبالتحريك، إلى غاية الحصول على لون وردي خفيف مماثل للون الشاهد الملون والذي يدوم إلى غاية 5 ثوان. يجب ألاّ تتعدى مدة المعايرة 45 ثانية.

يسجل حجم محلول هيدروكسيد الصوديوم المستعمل بالمليلتر وبتقريب 0,05 ملل.

8 – التعبير عن النتائج :

1.8. طريقة الحساب والمعادلة :

تساوي الحموضة المعايرة :

$$2 \times v$$

حيث : v هو حجم محلول هيدروكسيد الصوديوم (1.4) بالمليلتر المستعمل للمعايرة (4.3.7).

يعبر عن النتيجة برقم بعد الفاصلة.

2.8. التكرارية :

يجب ألاّ يتعدى الفرق بين نتيجتي تحديدين مجريين في نفس الوقت أو الواحد تلو الآخر من قبل نفس المحلل 0,4 ملل من محلول هيدروكسيد الصوديوم ذي تركيز 0,1 مول/ل لـ 10غ من المادة الصلبة غير الدسمة.

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التجارة

المديرية العامة للرقابة الاقتصادية و قمع الغش

مديرية مخابر التجارب و تحاليل الجودة

المناهج الرسمية للتحاليل الفيزيوكيميائية المتعلقة باللحوم او منتجات اللحوم

الفهرس

1. قرار المؤرخ في 19 أكتوبر سنة 2005، يجعل منهج تحديد الرطوبة في اللحم و المنتوجات اللحمية إجباريا. (ج ر عدد 01 - 2006)	01
2. قرار المؤرخ في 15 يناير سنة 2006، يجعل منهج قياس العامل الهيدروجيني للحم و المنتوجات اللحمية إجباريا. (ج ر عدد 23 - 2006)	04
3. قرار المؤرخ في 25 ديسمبر سنة 2005، يجعل منهج معايرة و تحضير العينة التجربة اللحم و المنتوجات اللحمية إجباريا. (ج ر عدد 27 - 2006)	08
4. قرار المؤرخ في 21 فبراير سنة 2006، يجعل منهج تحديد نسبة الفوسفور الإجمالي في اللحم و المنتوجات اللحمية إجباريا. (ج ر عدد 27 - 2006)	10
5. قرار المؤرخ في 26 أبريل سنة 2006، يجعل منهج تحديد نسبة المادة الدسمة الإجمالية في اللحم و المنتوجات اللحمية إجباريا. (ج ر عدد 33 - 2006)	13
6. قرار المؤرخ في 26 أبريل سنة 2006، يجعل منهج تحديد نسبة الأزوت الإجمالي في اللحم و المنتوجات اللحمية إجباريا. (ج ر عدد 37 - 2006)	16
7. قرار المؤرخ في 29 مارس سنة 2006، يجعل منهج تحديد نسبة النترات في اللحم و المنتوجات اللحمية إجباريا. (ج ر عدد 43 - 2006)	20
8. قرار المؤرخ في 29 مارس سنة 2006، يجعل منهج تحديد نسبة النتريت في اللحم و المنتوجات اللحمية إجباريا. (ج ر عدد 43 - 2006)	24
9. قرار المؤرخ في 8 يوليو سنة 2006، يجعل منهج تحديد نسبة الآزوت القاعدي المتبخر الإجمالي في منتوجات الصيد البحري إجباريا. (ج ر عدد 58 - 2006)	28
10. قرار مؤرخ في 8 يوليو سنة 2006، يجعل منهج تحديد نسبة الهيستامين المتبخر الإجمالي في منتوجات الصيد البحري بواسطة اكروماتوغرافيا في اطور سائل ذات دقة عالية إجباريا. (ج ر عدد 58 - 2006)	30
11. قرار مؤرخ في 8 يوليو سنة 2006، يجعل منهج البحث و التعرف على المواد المنشطة في اللحم و المنتوجات اللحمية إجباريا. (ج ر عدد 59 - 2006)	33
12. قرار مؤرخ في 12 نوفمبر سنة 2014، يجعل منهج تحديد نسبة الهيدوكسيبرولين في اللحوم و منتجات اللحوم إجباريا. (ج ر عدد 69 - 2014)	36
13. قرار مؤرخ في 23 نوفمبر سنة 2014، يجعل منهج البحث عن متعددات الفوسفات في اللحوم و منتجات اللحوم إجباريا. (ج ر عدد 12 – 2015)	41
14. قرار مؤرخ في 25 مارس سنة 2014، يجعل منهج تحديد نسبة الكشف عن العوامل الملونة في اللحوم و منتجات اللحوم عن طريق الإستشراب ((الكروماتوغرافيا) على الطبقة الرقيقة إجباريا. (ج ر عدد 22 – 2015)	45

وزارة التّجارة

قرار مؤرخ في 16 رمضان عام 1426 الموافق 19 أكتوبر سنة 2005 ، يجعل منهج تحديد الرطوبة في اللحم والمنتوجات اللحمية إجباريا.

إنّ وزير التّجارة،

– بمقتضى المرسوم الرّئاسيّ رقم **05 - 161** المؤرّخ في **22** ربيع الأول عام **1426** الموافق أوّل مايو سنة **2005** والمتضمّن تعيين أعضاء الحكومة،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم **90 – 39** المؤرّخ في **3** رجب عام **1410** الموافق **30** يناير سنة **1990** والمتعلّق برقابة الجودة و قمع الغش، المعدّل و المتمّم،

– وبمقتضى المرسوم التّنفيذيّ رقم **02 - 453** المؤرّخ في **17** شوّال عام **1423** الموافق **21** ديسمبر سنة **2002** الذيّ يحدّد صلاحيات وزير التّجارة،

– وبمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرخ في **19** شوّال عام **1417** الموافق **26** فبراير سنة **1997** والمتعلّق بشروط تحضير المرقاز وتسويقه،

– وبمقتضى القرار المؤرخ في 24 ربيع الثاني عام 1421 الموافق 26 يوليو سنة 2000 والمتعلّق بالقواعد المطبّقة على تركيبة المنتوجات اللحمية المطهية ووضعها رهن الاستهلاك، المعدّل و المتمّم،

يقرر ما يأتي:

المادة الأولى : تطبيقا لأحكام المادّة 19 من المرسوم التّنفيذيّ رقم 90 – 39 المؤرّخ في3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990 المعدّل و المتمّم، والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج تحديد الرطوبة في اللحم و المنتوجات اللحمية إجباريا.

المادة 2 : من أجل تحديد الرطوبة في اللحم والمنتوجات اللحمية، تلزم مخابر مراقبة الجودة و قمع الغش والمخابر المعتمدة لهذا الغرض باستعمال المنهج المبيّن في الملحق .

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

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

حرر بالجزائر في 16 رمضان عام 1426 الموافق 19 أكتوبر سنة 2005.

الهاشمي جعبوب

الملحـــق

منهج تحديد الرطوبة في اللحم و المنتوجات اللحمية

1 - التعريف :

الرطوبة في اللحم و المنتوجات اللحمية : فقدان الكتلة المتحصل عليها وفقا للشروط العملية المبينة أدناه.

يعبر عن الرطوبة بالنسبة المئوية للكتلة.

2 – المبدأ :

بعد تشكيل خليط متجانس للعينة مع الرمل والإيثانول و التجفيف المسبق لهذا الخليط في حمام مائي، تنزع الرطوبة في103م **±2°** م إلى غاية ثبات الكتلة.

3 – الكواشف :

3 - 1 الرمل، استعمال جزء من الرمل مصفى بواسطة غربال تبلغ فتحة شبكته **1,4** مم ويبقى فوق غربال شبكته **250** ميكرومتر.

يغسل الرمل بالماء الجاري ثم يغلى في حمض الكلوريدريك ρ_{20} = **1,19** غ /مل، مخفف (**1+1**) لمدة **30** دقيقة مع تحريكه باستمرار. تعاد هذه العملية بجزء آخر من الحمض إلى غاية عدم ميله إلى اللون الأصفر بعد الغليان.

يغسل الرمل بعد ذلك بماء مقطر إلى أن تعطى عملية الكشف عن الكلورور نتيجة سلبية. يجفف الرمل في درجة حرارة تتراوح بين **150**°م و**160**°م ويحفظ في قارورة مغلقة بإحكام.

3 – 2 الإيثانول،**95%** على الأقل(ح/ح).

4 – التجهيزات :

1-4 فرامة اللحم، مخبرية مجهزة بصفيحة تحتوي على ثقوب لا يتعدى قطرها **4** مم.

2-4 كبسولة مسطحة، من الخزف أو من المعدن (مثلا، من النيكل، الألومينيوم أو من الفولاذ غير القابل للأكسدة)، يبلغ قطرها **60** مم كحد أدنى وارتفاعها حوالي**25** مم.

3-4 قضيب زجاجي رقيق، مسطح من أحد الجوانب و طوله أكبر بقليل من قطر الكبسولة.

4-4 مجفف، بتسخين كهربائي معدل في**103 ±2°** م.

5-4 حمام مائي.

6-4 جهاز نازع للرطوبة(**Dessiccateur**) ، مزود بعامل مجفف فعال.

7-4 ميزان تحليلي.

5 – العينة :

1-5 تستعمل عينة ممثلة أولية تزن**200**غ على الأقل مقتطعة وفقا لمنهج معايرة و تحضير العينة لتجربة اللحوم والمنتوجات اللحمية.

2-5 تحفظ العينة بطريقة تسمح بتجنب تلفها وتغير في تركيبها.

6 - طريقة العمل :

1-6 تحضير العينة :

تجعل العينة متجانسة بطحنها مرتين على الأقل في الفرامة (**1.4**) مع خلطها. تدخل العينة في قارورة غير نفوذة و مملوءة كاملة ثم تحفظ بطريقة تسمح بتجنب تلفها و تغير في تركيبها. تحلل العينة في أقصى سرعة ممكنة و ذلك دائما خلال **24** ساعة.

6 - 2 أخذ العينة :

تجفف الكبسولة (2.4) المحتوية على كمية من الرمل (1.3) تساوي ثلاث أو أربع مرات كتلة العينة المأخوذة للتجربة والقضيب الزجاجي (3.4) في المجفف لمدة30 دقيقة (4.4) معدل في 103 ± 2 °م.

بعد تبريد الجميع في جهاز نازع للرطوبة(6.4) إلى غاية الحصول على درجة حرارة المحيط، توزن بتقريب 0,001غ.

تفرغ من 5 إلى 10غ من العينة في الكبسولة وتوزن من جديد بتقريب 0,001غ.

6 - 3 التحديد :

تضاف من 5 إلى10ملل من الإيثانول (2.3) حسب كتلة العينة المأخوذة للتجربة ثم تحرك الكتلة بواسطة قضيب زجاجي (4.3) ،

توضع الكبسولة و محتواها داخل الحمام المائي (5.4)، معدل في درجة حرارة تتراوح بين 60°م و80°م بطريقة تسمح بتجنب التطاير ثم يثبت التسخين إلى غاية تبخر الإيثانول، ترج من حين إلى آخر.

تسخن الكبسولة ومحتواها لمدة ساعتين في المجفف (4.4) معدل في103 ±2°م. تسحب الكبسولة ومحتواها من المجفف وتوضع في جهاز نازع للرطوبة (6.4) (dessiccateur)

تترك الكبسولة و محتواها لتبرد حتى تصبح درجة حرارتها تعادل درجة حرارة المحيط ثم توزن بتقريب 0,001غ.

تكرر عمليات التسخين في المجفف، التبريد والوزن، حتى لا يتعدى الفرق بين نتائج وزنين متتالين، مفصولين بالتسخين لمدة ساعة واحدة، 0,1 % من كتلة العينة المراد تحليلها.

يجرى تحديدان اثنان على نفس العينة المحضرة .

7 - التعبير عن النتائج :

7 - 1 طريقة الحساب و الصيغة :

تساوي رطوبة « ر » العينة بالنسبة المئوية للكتلة:

$$ر = \frac{ك1 - ك2}{ك1 - ك0} \times 100\% .$$

حيث :

ك 0 : هي الكتلة بالغرام للكبسولة و القضيب والرمل،

ك 1 : هي الكتلة بالغرام للكبسولة و القضيب والرمل و العينة المأخوذة للتجربة ، قبل التجفيف،

ك 2 : هي الكتلة بالغرام للكبسولة و القضيب والرمل و العينة المأخوذة للتجربة ، بعد التجفيف.

ويؤخذ كنتيجة، المعدل الجبري لتحديدين، إذا توفرت الشروط التكرارية (انظرالنقطة 2.7) .

تكتب النتائج، عشريا.

7 - 2 التكرارية :

يجب أن لا يكون الفرق بين نتائج تحديدين أجريا في نفس الوقت أو بصفة سريعة الواحد تلو الآخر من طرف نفس المحلل، أكبر من0,5غ من الرطوبة لـ 100غ من العينة .

وزارة التّجارة

قرار مؤرخ في 15 ذي الحجة عام 1426 الموافق 15 يناير سنة 2006 ، يجعل منهج قياس العامل الهيدروجيني للحم والمنتوجات اللحمية إجباريا.

إنّ وزير التّجارة،

– بمقتضى المرسوم الرّئاسيّ رقم 05 - 161 المؤرّخ في 22 ربيع الأول عام 1426 الموافق أوّل مايو سنة 2005 والمتضمّن تعيين أعضاء الحكومة،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 90 – 39 المؤرّخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990 والمتعلّق برقابة الجودة و قمع الغش، المعدّل و المتمّم،

– وبمقتضى المرسوم التّنفيذيّ رقم 02 - 453 المؤرّخ في 17 شوّال عام 1423 الموافق 21 ديسمبر سنة 2002 الذيّ يحدّد صلاحيات وزير التّجارة،

– وبمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرخ في 19 شوّال عام 1417 الموافق 26 فبراير سنة 1997 والمتعلّق بشروط تحضير المرقاز وتسويقه،

– وبمقتضى القرار المؤرخ في 24 ربيع الثاني عام 1421الموافق 26 يوليو سنة 2000 والمتعلّق بالقواعد المطبّقة على تركيبة المنتوجات اللحمية المطهية ووضعها رهن الاستهلاك، المعدّل والمتمّم،

يقرر ما يأتي :

المادة الأولى : تطبيقا لأحكام المادّة 19 من المرسوم التّنفيذيّ رقم 90 – 39 المؤرّخ في3 رجب عام 1410

الموافق 30 يناير سنة 1990، المعدّل و المتمّم والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج قياس العامل الهيدروجيني للحم و المنتوجات اللحمية إجباريا.

المادة 2 : من أجل قياس العامل الهيدروجيني للحم و المنتوجات اللحمية، فإن مخابر مراقبة الجودة وقمع الغش والمخابر 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 في15 ذي الحجة عام 1426 الموافق 15 يناير سنة 2006.

الهاشمي جعبوب

الملحـــق

منهج قياس العامل الهيدروجيني للحم و المنتوجات اللحمية

---

1 . التعريف :

العامل الهيدروجيني للحوم و المنتوجات اللحمية :

هو حصيلة القياسات المنجزة حسب المنهج المبين أدناه.

ملاحظة :

نظرا للنسبة المرتفعة جدا للأيونات في الوسط المائي لعدة منتوجات لحمية ونظرا لكون جهاز قياس العامل الهيدروجيني من جهة أخرى معاير بواسطة محاليل مثبتة ذات نسبة قليلة من الأيونات، فلا يمكن اعتبار، بصفة عامة، القيمة المقاسة على اللحوم كقيمة نظرية للعامل الهيدروجيني.

2 . مبدأ :

قياس فرق الكمون بين قطب كهربائي زجاجي وقطب كهربائي مرجعي مغمورين في عينة من اللحم أو منتوج لحمي.

3 . سوائل التنظيف :

1 . 3 الإيثانول، 95% (ح/ح).

2 . 3 أكسيد ثنائي الإيثيل مشبع بالماء.

3 . 3 ماء مقطر أو ماء ذو نقاوة مكافئة.

4 . التجهيزات :

1 . 4 جهاز قياس العامل الهيدروجيني (pH mètre)، مدرج إلى 0,1 وحدة العامل الهيدروجيني أو بوحدات أصغر، تسمح بقراءات بدقة 0,05 وحدات العامل الهيدروجيني. إذا كان جهاز قياس العامل الهيدروجيني (pH mètre) غير مزود بنظام تصحيح عامل الحرارة، فينبغي استعمال سلم وحدة القياس للقياسات في درجة حرارة 20°م.

يجب حماية الجهاز بقدر الإمكان من العوامل الناتجة عن الشحنات الكهربائية الخارجية عند إجراء القياسات.

2 . 4 قطب كهربائي زجاجي (إلكترود زجاجي)، يمكننا استعمال إلكترودات زجاجية ذات أشكال هندسية مختلفة منها : كروية، مخروطية، أسطوانية أو على شكل إبرة.

يحفظ الإلكترود الزجاجي في الماء بطريقة يكون فيها غشاؤه مغمورا في الماء.

3.4 قطب كهربائي مرجعي (إلكترود مرجعي)، على سبيل المثال إلكترود من الكالومال (calomel) أو إلكترود من كلورور الفضة الذي يحتوي على محلول مشبع بكلورور البوتاسيوم.

يحفظ الإلكترود الزجاجي في محلول مشبع بكلورور البوتاسيوم إلا إذا وجدت تعليمات خاصة.

ملاحظة :

يمكن ضم الإكترود الزجاجي والإلكترود المرجعي في نظام إلكترودات مشتركة. وفي حالة عدم توفر تعليمات خاصة، تحفظ هذه الإلكترودات في ماء مقطر.

4 . 4 فرامة لحم، مخبرية، مزودة بصفيحة ذات ثقوب لا يتجاوز قطرها 4 ملم.

5 . العينة :

1 . 5 العمل انطلاقا من عينة ممثلة تزن على الأقل200غ .

2 . 5 يحدّد العامل الهيدروجيني في الحين أو تحفظ العينة بطريقة تقلل من أي تغيير يطرأ على عاملها الهيدروجيني.

6 . طريقة العمل للمنتوجات التي أجريت عليها عملية المجانسة :

1 . 6 تحضير العينة للتجربة :

باستثناء التجارب غير الخاضعة للهدم، نقوم بعملية المجانسة لعينة المخبر بتمريرها مرتين عبر فرامة اللحم (4.4) ثم نقوم بخلطها (أنظر 6.6).

2 . 6 أخذ العينة للتجربة :

نأخذ كمية من العينة لإجراء التجربة وينبغي أن تكون هذه الكمية كافية حتى تغمر فيها الإلكترودات أو تتغطى.

3 . 6 معايرة جهاز قياس العامل الهيدروجيني (pH mètre) :

يعاير جهاز قياس العامل الهيدروجيني (pH mètre) باستعمال محلول مثبت ذي عامل هيدروجيني معروف بدقة وقريب قدر الإمكان من العامل الهيدروجيني للمحلول المراد تحليليه (أنظر8) في درجة حرارة القياس.

إذا كان جهاز قياس العامل الهيدروجيني(pH mètre) غير مزود بنظام تصحيح عامل حرارة، ينبغي أن تكون درجة حرارة المحلول المثبت20 م° ± 2 °م.

4 . 6 القياس:

1 . 4 . 6 توضع الإلكترودات في العينة المأخوذة للتجربة ويضبط نظام تصحيح درجة حرارة قياس العامل الهيدروجيني (pH mètre) حسب درجة حرارة العينة المأخوذة وإذا لم يتوفر نظام تصحيح عامل الحرارة، ينبغي أن نثبت درجة حرارة العينة المأخوذة للتجربة في 20 م° ± 2 °م.

2 . 4 . 6 القيام بالقياس باتباع التقنية الخاصة بجهاز قياس العامل الهيدروجيني (pH mètre) المستعمل، نقرأ قيمة العامل الهيدروجيني مباشرة على سلم الجهاز بتقريب من 0,05 وحدة العامل الهيدروجيني عند الحصول على قيمة ثابتة.

3 . 4 . 6 تعاد التجربة على نفس العينة ثلاثة مرات.

5 . 6 تنظيف الإلكترودات :

القيام بتنظيف الإلكترودات بمسحها على التوالي بواسطة قطع من القطن (Ouate) مبللة بأكسيد ثنائي الإيثيل (2.3) ثم بالإيثانول (1.3) وأخيرا نغسلها بالماء (3.3) ونحفظها وفقا للتعليمات المذكورة في (2.4) و(3.4).

6 . 6 ملاحظة فيما يخص العمل :

يمكن إخضاع عينات المنتوجات شديدة الجفاف، إضافة إلى الإجراء العادي (أنظر 1.6)، إلى عملية مجانسة مع كمية مساوية لها من الماء باستعمال جهاز خلط مخبري قبل الشروع في قياس العامل الهيدروجيني.

7 . 6 التعبير على النتائج :

1 . 7 . 6 الحساب :

تؤخذ كنتيجة، القيمة الجبرية المتوسطة للقيم الثلاث، إذا كانت شروط التكرارية متوفرة (أنظر 2.7.6)، يعبر عن القيمة المتوسطة للعامل الهيدروجيني بتقريب 0,1 وحدة العامل الهيدروجيني.

2 . 7 . 6 التكرارية :

يجب أن لا يتجاوز الفرق بين القيم القصوى المتحصل عليها من القياسات الثلاثة، 0,15 وحدة العامل الهيدروجيني.

7 . منهجية العمل بالنسبة للمنتوجات غير المجانسة :

1 . 7 أخذ العينة للتجربة :

تؤخذ كمية كافية من عينة المخبر، تسمح بقياس العامل الهيدروجيني في عدة نقاط.

2 . 7 معايرة جهاز قياس العامل الهيدروجيني :

أنظر (3.6).

3 . 7 القياس :

1 . 3 . 7 عندما يتعلق الأمر بعينة من مادة متماسكة، نقعر العينة في المكان الذي نقوم فيه بالقياس حتى نتمكن من إدخال الإلكترود الزجاجي دون كسره.

2 . 3 . 7 تعاد نفس العمليات كما هي مبينة في النقاط (1.4.6) و(2.4.6).

3 . 3 . 7 إعادة القياس في نفس الموضع.

4 . 3 . 7 إذا كان من الضروري معرفة الفروق الموجودة للعامل الهيدروجيني بين عدة نقاط من منتوج ما، فعلينا إعادة القياسات في نقاط مختلفة بحيث يكون عددها متناسبا مع نوعية وحجم العينة.

4 . 7 تنظيف الالكترودات

أنظر (5.6).

5 . 7 التعبير عن النتائج:

1 . 5 . 7 الحساب :

تؤخذ كنتيجة، القيمة الجبرية المتوسطة للقيمتين اللتين تحصلنا عليهما في نفس النقطة من العينة، وإذا توفرت شروط التكرارية (2.5.7)، نعبر عن القيمة المتوسطة للعامل الهيدروجيني لكل نقطة بالتقريب من 0,1 وحدة العامل الهيدروجيني.

2 . 5 . 7 التكرارية :

ينبغي أن لا يتجاوز الفرق بين القيمتين المتحصل عليهما في نفس النقطة، 0,15 وحدة العامل الهيدروجيني.

8 . ملاحظة فيما يخص العمل :

يمكن استعمال المحاليل المثبتة التالية في عملية المعايرة.

ولتحضير هذه المحاليل ينبغي أن تكون جميع الكواشف ذات نوعية تحليلية. نستعمل الماء المقطر أو ماء ذا نقاوة مكافئة.

8 - 1 محلول مثبت ذو عامل هيدروجيني 4,00 في 20°م، يحضر كالآتي :

نزن بتقريب من 0,001غ و10,211غ من هيدروجينوفتالات البوتاسيوم [$KHC_6H_4(COO)_2$] مجفف من قبل في درجة حرارة 125°م حتى ثبات الكتلة ونقوم بتذويبها في الماء.

نكمل الحجم إلى 1.000 ملل.

هذا المحلول له عامل هيدروجيني يقدر بـ 4,00 في 10°م و4,01 في 30°م.

8 . 2 محلول كاشف ذو عامل هيدروجيني 5,45 في 20°م، يحضر كالآتي :

يخلط 500 ملل من محلول سائل نظاميته 0,2ن لحمض الستريك مع 375 ملل من محلول سائل هيدروكسيد البوتاسيوم نظاميته 0,2 ن.

يقدر العامل الهيدروجيني للمحلول المتحصل عليه بـ 5,42 في 10°م و5,48 في 30°م.

8 . 3 محلول كاشف ذو عامل هيدروجيني 6,88 في 20°م، يحضر كالآتي :

نزن بتقريب من 0,001غ، 3,402غ من ثنائي هيدروجينوفوسفات البوتاسيوم (KH_2PO_4) و3,549غ من ثنائي هيدروجينوفسفات ثنائي الصوديوم (Na_2HPO_4) ونقوم بتذويبهما في الماء. ونكمل الحجم إلى 1.000 ملل.

يقدر العامل الهيدروجيني لهذا المحلول بـ 6,92 في 10°م و6,85 في 30°م.

وزارة التجارة

قرار مؤرّخ في 23 ذي القعدة عام 1426 الموافق 25 ديسمبر سنة 2005، يجعل منهج معايرة وتحضير العينة لتجربة اللحم والمنتوجات اللحمية إجباريا.

إن وزير التجارة،

– بمقتضى المرسوم الرئاسي رقم 05 – 161 المؤرّخ في 22 ربيع الأول عام 1426 الموافق أول مايو سنة 2005 والمتضمن تعيين أعضاء الحكومة ،

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

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

– وبمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرّخ في 19 شوال عام 1417 الموافق 26 فبراير سنة 1997 والمتعلق بشروط تحضير وتسويق المرقاز،

– وبمقتضى القرار المؤرّخ في 24 ربيع الثاني عام 1421 الموافق 26 يوليو سنة 2000 والمتعلق بالقواعد المطبقة على تركيبة المنتوجات اللحمية المطهية ووضعها رهن الاستهلاك، المعدّل والمتمّم،

يقرر ما يأتي:

المادة الأولى : تطبيقا لأحكام المادة 19 من المرسوم التنفيذي رقم 90 – 39 المؤرّخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990، المعدّل والمتمّم والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج معايرة وتحضير العينة لتجربة اللحم والمنتوجات اللحمية إجباريا.

المادة 2 : من أجل معايرة وتحضير العينة لتجربة اللحم والمنتوجات اللحمية، فإن مخابر مراقبة الجودة وقمع الغش والمخابر المعتمدة لهذا الغرض ملزمة باستعمال المنهج المبين في الملحق بهذا القرار.

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

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

حرر بالجزائر في 23 ذي القعدة عام 1426 الموافق 25 ديسمبر سنة 2005.

الهاشمي جعبوب

الملحق

منهج معايرة وتحضير العينة لتجربة اللحم والمنتوجات اللحمية

1. مجال التطبيق :

1.1 يعطي هذا المنهج التعليمات العامة ويحدد التقنيات التي ينبغي اتباعها لإجراء اقتطاع أساسي من لحوم أو منتوجات لحمية.

2.1 يكون التمييز بين مناهج المعايرة حسب نوع المنتوجات الآتية :

أ) منتوجات أو حصص من اللحوم ومنتوجات لحمية محضرة أو معلبة في وحدات مختلفة الأحجام أو قطع لحمية لا يتجاوز وزنها 2 كلغ،

ب) هياكل، قطع من هياكل (مثلا، قطع من اللحوم الطازجة أو المجمدة أو لحوم منزوعة العظم طازجة أو مجمدة ، أضلاع البقر أو قطع، هياكل خروف) ولحوم مقطعة ميكانيكيا.

3.1 يتطلب الحجم والقيمة التجارية لهذه المنتوجات، استعمال وحدات ثانوية لمعايرتها، مع استعمال جزء (عدة أجزاء) من كل وحدات المعايرة فقط، ويؤخذ بعين الاعتبار الهدف الذي تم من أجله طلب هذه الوحدات.

2 . طرق المعايرة :

1.2 أدوات المعايرة والأوعية الخاصة بالوحدة المراد معايرتها :

1.1.2 شروط عامة :

يجب أن تكون الأوعية الملامسة للوحدات المراد معايرتها، غير نفوذة للماء والزيوت وغير قابلة للذوبان والامتصاص.

يجب أن تكون سعة وشكل الأوعية موافقة لحجم الوحدات المراد معايرتها.

عند استعمال قارورات، يتعين غلقها جيدا بواسطة سدادة مطاطية أو بلاستيكية مناسبة أو سدادة جديدة من الفلين أو كبسولة معدنية أو بلاستيكية مغلقة بإحكام.

تغطى السدادات قبل وضعها في الوعاء الذي يحتوي على العينة بورق مصنوع من مادة جامدة. يجب أن تكون الكبسولات مغلفة بمادة جامدة، غير نفوذة للسوائل.

يجب ألا تؤثر المواد والأدوات على نتائج الفحص وأن تتوافق مع المواصفات المناسبة المبينة في النقاط(2.1.2) إلى (3.1.2) وقد يكون من الضروري تخفيض مفعول الضوء و/أو الأكسيجين.

2.1.2 أدوات وأوعية خاصة بالوحدات المراد معايرتها من أجل التحليل الكيميائي :

يجب أن تكون الأدوات والأوعية الخاصة بالوحدة المراد معايرتها جافة ونظيفة وألا تؤثر على التركيب الكيميائي للمنتوج.

3.1.2 أدوات وأوعية خاصة بالوحدات المراد معايرتها من أجل التحليل الحواسي :

يجب أن تكون الأوعية والأدوات الخاصة بالوحدة المراد اقتطاعها جافة ونظيفة وألا تلحق بالمنتوج ذوقا أو رائحة.

2.2 عدد الوحدات المأخوذة للمعايرة :

يجب أن يكون عدد الوحدات المراد معايرتها لكي تسمح بالحصول على عينة أساسية وممثلة للحصة إلى حد كبير مطابقا لمخطط المعايرة المحدد في العقد أو مقبولا من الأطراف المعنية.

في حالة إجراء أنواع مختلفة من التجارب (مثلا كيميائية وفيزيائية أو حواسية) يجب اقتطاع الوحدات المراد معايرتها بصفة منفصلة لكل تجربة.

3.2 طريقة المعايرة :

1.3.2 اللحوم أو المنتوجات اللحمية محضرة أو موضبة في وحدات مختلفة الأحجام أو لحوم في شكل قطع لا تزن أكثر من 2 كلغ :

تقتطع وحدات أو قطع كاملة مشكلة للوحدات الأساسية المراد معايرتها و يقتطع العدد المناسب للوحدات الأساسية المراد معايرتها من كل حصة وفق مخطط المعايرة المبين في النقطة (2.2).

2.3.2 هياكل ، لحوم في شكل قطع تزن أكثر من 2 كلغ ولحوم مقطعة :

يقتطع العدد المناسب من الوحدات الأساسية المراد معايرتها من الحصة وفق مخطط المعايرة المشار إليه في النقطة (2.1) وتوضع بجهة، إما لاقتطاع الوحدات الثانوية المراد معايرتها من أجل تجارب الإتلاف في المخبر (مثال فحص كيميائي) وإما من أجل فحوص غير فحوص الإتلاف (مثال الفحص المرئي، الحواسي، بواسطة قطن) .

لا يمكن أن تمثل عينة واحدة مقتطعة من هيكل أو وحدة لحمية أخرى كبيرة الحجم، مجمل الوحدة. كذلك، لا يمكن تحليل الوحدة اللحمية كاملة. وعليه، فإن الهدف الذي اقتطعت لأجله العينات (الأساسية أو الثانوية) هو الذي يحدد التقنية التي تتبع. وعلى العموم، تقتطع العينات كما يأتي :

أ) يجب أن تقتطع الوحدات الثانوية المراد معايرتها والتي تتراوح كتلتها بين 500غ و 1 كلغ والموجهة للفحص الكيميائي في المخبر، إذا أمكن، من السطح المقطع مسبقا مع إحداث أدنى ضرر ممكن،

ب) يجب أن تقتطع وحدات المادة الدسمة المراد معايرتها (على سبيل المثال، من أجل تقييم المركبات القابلة للذوبان في الدسم مثل بعض مبيدات الطفيليات) من المادة الدسمة للكلية إذا أمكن ،

ج) يجب أن تقتطع الوحدات المراد معايرتها من الرشح مثل اللحوم المبردة الموضبة مفرغة من الهواء، بصفة نظيفة عبر الغلاف أو بعد فتح الرزم باستعمال إبر معقمة وقنينات أو قارورات. وفي حالة إعادة اللحم في الحصة، يجب وضعه في رزم جديدة مفرغة من الهواء.

3.3.2 درجة الحرارة :

تؤخذ درجة حرارة لكل حصة مقتطعة إذا أمكن ذلك.

4.2 توضيب الوحدات المراد معايرتها :

1.4.2 لحوم أو منتجات لحمية محضرة أو موضبة في شكل وحدات مختلفة الأحجام أو لحم في شكل قطع يزن أقل من 2 كلغ :

إذا وضبت الوحدات في أوان غير نفوذة للهواء، ليس من الضروري إضافة توضيب آخر وعند انعدام ذلك، توضب كل وحدة يراد معايرتها في إناء مناسب مغلق بعناية ومختوم.

2.4.2 هياكل، أجزاء من هيكل في شكل قطع تزن أكثر من 2 كلغ ولحم مقطع :

توضب كل وحدة يراد معايرتها في كيس بلاستيكي مناسب مغلوق بعناية ومختوم.

5.2 نقل وتخزين الوحدات المراد معايرتها :

يجب إرسال الوحدات المراد معايرتها إلى المخبر في أقرب وقت ممكن بعد المعايرة مع التحكم خلال هذا الوقت في درجة حرارة الحفظ للمنتوج المعني، إلا أنه يجب نقل الوحدات المراد معايرتها للمنتوجات التي خزنت في البرودة :

– تحت درجة حرارة من **0°** م إلى **2°** م في حالة فحصها خلال **24** ساعة.

– تجمد تحت درجة حرارة – **24°** م في الحالات الأخرى.

تؤخذ جميع الاحتياطات لتجنب التعرض المباشر لأشعة الشمس خلال النقل و يجب أن تصل الوحدات المراد معايرتها إلى المخبر سليمة وبأختام في حالة جيدة.

★

قرار مؤرّخ في 22 محرم عام 1427 الموافق 21 فبراير سنة 2006، يجعل منهج تحديد نسبة الفوسفور الإجمالي في اللحم والمنتوجات اللحمية إجباريا.

إن وزير التجارة،

– بمقتضى المرسوم الرئاسي رقم 05 – 161 المؤرّخ في 22 ربيع الأول عام 1426 الموافق أول مايو سنة 2005 والمتضمن تعيين أعضاء الحكومة ،

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

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

– وبمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرّخ في 19 شوال عام 1417 الموافق 26 فبراير سنة 1997 والمتعلق بشروط تحضير المرقاز وتسويقه،

– وبمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرّخ في 29 جمادى الثانية عام 1420 الموافق 29 سبتمبر سنة 1999 الذي يحدد قواعد تحضير اللحوم المفرومة عند الطلب ووضعها للاستهلاك،

– وبمقتضى القرار المؤرّخ في 24 ربيع الثاني عام 1421 الموافق 26 يوليو سنة 2000 والمتعلق بالقواعد المطبقة على تركيبة المنتوجات اللحمية المطهية ووضعها رهن الاستهلاك، المعدّل والمتمّم،

يقرر ما يأتي:

المادة الأولى : تطبيقا لأحكام المادة 19 من المرسوم التنفيذي رقم 90 – 39 المؤرّخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990، المعدّل والمتمّم والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج تحديد نسبة الفوسفور الإجمالي في اللحم والمنتوجات اللحمية إجباريا.

المادة 2 : من أجل تحديد نسبة الفوسفور الإجمالي في اللحم والمنتوجات اللحمية، فإن مخابر مراقبة الجودة وقمع الغش والمخابر المعتمدة لهذا الغرض ملزمة باستعمال المنهج المبين في الملحق بهذا القرار.

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 22 محرم عام 1427 الموافق 21 فبراير سنة 2006.

الهاشمي جعبوب

الملحق

منهج تحديد نسبة الفوسفور الإجمالي في اللحم والمنتوجات اللحمية

1. تعريف :

يقصد بـ « نسبة الفوسفو الإجمالي» في اللحم والمنتوجات اللحمية، كمية الفوسفور المحددة وفقا للطريقة المبينة أدناه.

يعبر عن كمية الفوسفور بالنسبة المئوية بكتلة بنتوكسيد الفوسفور.

2. المبدأ :

تعدن العينة بحمض الكبريت وحمض النتريك.

يرسب الفوسفور على شكل فوسفوموليبدات الكينوليين. يجفف ويوزن الراسب.

3. الكواشف :

يجب أن تكون كل الكواشف من النوعية التحليلية .

يجب أن يكون الماء المستعمل ماء مقطرا أو ماء ذو نقاوة مكافئة.

1.3 حمض الكبريت (P_{20} = 1,84 غ /ملل).

2.3 حمض النتريك (P_{20} = 1,40 غ /ملل).

3.3 الكاشف المرسب.

1.3.3 يذوب 70غ من موليبدات الصوديوم ثنائي التمييه.

($Na_2Mo0_4 2H_20$) في 150 ملل من الماء.

2.3.3 يذوب 60غ من حمض الستريك أحادى التمييه.

[$CH_2(CO_2H)$.$COH(CO_2H).CH_2(CO_2H).H_20$] في 150 ملل من الماء ويضاف إليه 85 ملل من حمض النتريك (2.3).

3.3.3 يضاف المحلول (1.3.3) تدريجيا إلى المحلول (2.3.3) مع الرج.

4.3.3 يضاف 35 ملل من حمض النتريك المركز (2.3) ثم 5 ملل من الكينوليين المقطر إلى 100 ملل من الماء.

– يضاف تدريجيا هذا المحلول إلى الخليط (3.3.3) مع الرج . يترك لمدة 24 ساعة في درجة حرارة المحيط.

– يرشح ثم يضاف 280 ملل من الأستون ويكمل الحجم إلى 1000 ملل بالماء المقطر.

يحفظ الكاشف في الظلام وفي قارورة من مادة بلاستيكية مغلقة بإحكام.

4. التجهيزات :

الأجهزة المتداولة في المخبر ولا سيما :

1.4 فرامة للحم ، مخبرية مزودة بصفيحة ذات ثقوب لا يتعدى قطرها 4 ملم.

2.4 ميزان تحليلي ذو دقة 0,001غ.

3.4 إناء كروي كلدال (Kjeldahl) سعته 250 ملل أو قنينة ذات عنق طويل وقاع دائري.

4.4 جهاز التسخين، يسمح بتسخين الإناء الكروي كلدال (3.4) في وضعية مائلة بطريقة لا يصل فيها مصدر الحرارة إلا إلى منطقة الإناء الكروي الواقع تحت مستوى السائل.

5.4 جهاز امتصاص أبخرة الأحماض المحرّرة خلال الهجوم الكيميائي.

6.4 مصفاة من الزجاج المسحوق (Ø 10 إلى 16 ميكرومتر).

7.4 مجفف ذو تسخين كهربائي، مزود بمعدل لدرجة الحرارة، بإمكانه إبقاء درجة الحرارة في 260°م ± 20°م.

8.4 قنينة للرشح، سعتها 500 ملل.

9.4 جهاز نازع للرطوبة، مزود بمجفف فعال.

10.4 ماصة باستور.

11.4 جهاز تبريد مائي.

12.4 بيشر أو قنينة مخروطية سعتها 250 ملل.

5. طريقة العمل :

1.5 تحضير العينة للتجربة :

ينجز التحليل انطلاقا من عينة ممثلة من 200غ كحد أدنى. والقيام بعملية مجانسة العينة بخلطها وذلك بعد تمريرها مرتين على الأقل في الفرامة (1.4).

تدخل العينة في قارورة مغلقة بإحكام وتملأ كليا ثم تحفظ بصفة تمنع إتلافها أو كل تغير في تركيبها.

تحلل العينة بأسرع ما يكون وذلك دائما خلال 24 ساعة التي تلي عملية المجانسة.

2.5 أخذ العينة :

يوزن بتقريب 0,001غ، حوالي 5غ من العينة المحضرة في الإناء الكروي كلدال (3.4).

3.5 التعدين :

يضاف 20 ملل من حمض النتريك (2.3) وبعض الكريات الزجاجية أو معدلات الغليان.

يوضع الإناء الكروي كلدال في وضعية مائلة (بزاوية 40° تقريبا عموديا) على جهاز التسخين (4.4) . ويسخن لمدة 5 دقائق ويترك ليبرد ثم يضاف 5 ملل من حمض الكبريت (1.3).

يسخن أولا ببطء إلى نهاية تشكل الرغوة ثم يسخن في درجة حرارة أعلى بقليل. وبمجرد ما تبدأ عملية التفحم، يضاف مرة أخرى القليل من حمض النتريك بواسطة ماصة باستور (11.4) ثم تواصل عملية التسخين، وتعاد هذه العملية إلى غاية توقف تشكل دخان داكن.

في النهاية، يسخن السائل إلى غاية ظهور دخان أبيض.

يبرد ويضاف بحذر 15 ملل من الماء ويغلى ببطء لمدة 10 دقائق مع التقليل بقدر الإمكان من تبخر الماء (مثلا توضع على فتحة الإناء الكروي كلدال قطعة من الزجاج على شكل إجاصة).

يجب أن يصبح حينئذ الحجم الإجمالي 50 ملل.

ينقل السائل كميا في بيشر أو في قنينة مخروطية سعتها 250 ملل (12.4) يغسل الإناء الكروي كلدال عدة مرات بالماء ويضاف ماء الغسل إلى محتوى القنينة. ويضاف 10 ملل من حمض النتريك.

4.5 التحديد :

يضاف إلى السائل المتواجد في القنينة المخروطية أو بيشر 50 ملل من الكاشف المرسب (3.3).

تغطى القنينة بواسطة زجاجة بها ساعة وتترك لتغلي لمدة دقيقة فوق صفيحة مسخنة، موضوعة تحت جهاز الامتصاص (5.4).

تترك لتبرد في درجة حرارة المحيط مع الرج ثلاث أو أربع مرات خلال التبريد.

يرشح كميا وتحت ضغط منخفض فوق مصفاة من الزجاج المسحوق (6.4) مجففة من قبل لمدة 30 دقيقة في درجة حرارة 250°م ثم يوزن بتقريب 1 مغ، بعد التبريد في جهاز نازع للرطوبة (9.4).

يغسل الراسب خمسة (5) مرات فوق المصفاة بكميات من 25 ملل من الماء المقطر.

يجفف في المجفف (7.4) في درجة حرارة 260°م ± 20°م لمدة ساعة واحدة.

يترك ليبرد في جهاز نازع الرطوبة (9.4) ثم نقوم بعملية الوزن بتقريب 0,001غ.

ملاحظة

في حالة ما إذا كانت كتلة الراسب تساوي على الأقل 25 مغ، تعاد العمليات مع أخذ عينة أقل.

نقوم بإجراء تحديدين اثنين على نفس العينة المحضرة.

5.5 التجربة على بياض :

القيام بتجربة على بياض مع اتباع نفس طريقة العمل واستعمال نفس الكميات من جميع الكواشف باستثناء العينة.

6. التعبير عن النتائج :

1.6 طريقة الحساب والصيغة :

نسبة الفوسفور الإجمالي للعينة بالنسبة المئوية لكتلة بنتوكسيد الفوسفور تساوي :

$$\frac{\text{ك}}{\text{ع}} = 3,207 \times \text{ك} \times 0,03207 \times \frac{100}{\text{ع}}$$

حيث

ع : هو كتلة العينة بالغرام.

ك: هو الكتلة بالغرام للراسب من فوسفومولیبدات الكينولين (4.5) .

تؤخذ كنتيجة المعدل الجبري لتحديدين ، إذا توفرت شروط التكرارية (2.6).

يعبر عن النتائج بأخذ عددين بعد الفاصلة.

2.6 التكرارية :

يجب أن لا يتعدى الفرق بين نتائج تحديدين أجريا في نفس الوقت أو الواحد تلو الآخر بسرعة ومن طرف نفس المحلل0,02 غ من بنتوكسيد الفوسفور لـ 100غ من العينة.

7 . ملاحظة فيما يخص طريقة العمل :

يمكن القيام بعملية التعدين بواسطة الترمد وبالتالي يجرى تغيير في الفقرتين (2.5) و(3.5) ومع أخذ الرماد في 15 ملل من حمض النتريك المركز (2.3) . يستعمل جهاز الرج لتسهيل عملية الذوبان. وينقل السائل كميا في حوجلة مخروطية ذات سعة 250 ملل. وتغسل الكبسولة وجهاز الرج عدة مرات بالماء. ويضاف ماء الغسل إلى محتوى القنينة. ويكمل الحجم إلى 50 ملل.

يضبط على القنينة، جهاز تبريد صاعد (10.4) ويترك يغلي لمدة 1/2 ساعة. يترك ليبرد ثم تواصل العملية طبقا للفقرة (4.5).

وزارة التجـارة

قـرار مـؤرّخ في 28 ربيع الأول عـام 1427 الموافق 26 أبـريل سنـة 2006 ، يـجعل مـنـهج تحديد نـسبـة المادة الدسمة الإجمالية في اللحم و المنتوجات اللحمية إجباريا.

إن وزير التجارة،

– بمقتضى المرسوم الرئاسي رقم 05-161 المؤرخ في 22 ربيع الأول عام 1426 الموافق أول مايو سنة 2005 و المتضمن تعيين أعضاء الحكومة،

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

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

– وبمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرخ في 19 شوال عام 1417 الموافق 26 فبراير سنة 1997 والمتعلق بشروط تحضير المرقاز و تسويقه،

– وبمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرخ في 29 جمادى الثانية عام 1420 الموافق 29 سبتمبر سنة 1999 الذي يحدد قواعد تحضير اللحوم المفرومة عند الطلب ووضعها للاستهلاك،

– وبمقتضى القرار المؤرخ في 24 ربيع الثاني عام 1421 الموافق 26 يوليو سنة 2000 والمتعلق بالقواعد المطبقة على تركيبة المنتوجات اللحمية المطهية ووضعها رهن الاستهلاك، المعدل والمتمم،

يقرر ما يأتي :

المادة الأولى : تطبيقا لأحكام المادة 19 من المرسوم التنفيذي رقم 90-39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990، المعدل و المتمم، والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج تحديد نسبة المادة الدسمة الإجمالية في اللحم والمنتوجات اللحمية إجباريا.

المادة 2 : من أجل تحديد نسبة المادة الدسمة الإجمالية في اللحم و المنتوجات اللحمية، فإن مخابر مراقبة الجودة وقمع الغش و المخابر 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 28 ربيع الأول عام 1427 الموافق 26 أبريل سنة 2006.

الهاشمي جعبوب

الملحق

منهج تحديد نسبة المادة الدسمة الإجمالية في اللحم والمنتوجات اللحمية

1. التعريف

يعبر عن نسبة المادة الدسمة الإجمالية في اللحوم و المنتوجات اللحمية بالنسبة المئوية للكتلة.

2. المبدأ

تعالج العينة بحمض الكلوريدريك المخفف والمغلى من أجل تحرير الأجزاء الدسمة المتضمنة و المرتبطة.

– ترشح الكتلة الناتجة و بعد التجفيف، تستخلص المادة الدسمة المتبقية فوق ورق الترشيح بواسطة ن– هكزان أو إيثير البترول.

3. الكواشف

يجب أن تكون جميع الكواشف ذات نوعية تحليلية معترف بها. يجب أن يكون الماء المستعمل ماء مقطرا أو ماء ذا نقاوة مكافئة على الأقل.

1.3 مذيب الاستخلاص، ن– هكزان أو إيثير البترول، يقطر في درجة حرارة ما بين 40°م و60°م وذو مؤشر البروم أقل من 1. يجب أن لا تتعدى بقايا التبخر الكلي بالنسبة للمذيبين 0,002غ لـ 100ملل.

2.3 حمض الكلوريدريك، محلول نظاميته 4 تقريبا.

يخفف 100ملل من حمض الكلوريدريك المركز (p 20 = 1,19غ/ملل) بـ 200 ملل من الماء ثم يخلط.

3.3 ورق عباد الشمس الأزرق

4.3 معدلات الغليان

4. التجهيزات

التجهيزات المتداولة في المخبر و لا سيما :

1.4 فرامة اللحم، مخبرية، مزودة بصفيحة ذات ثقوب لا يتعدى قطرها 4 مم.

2.4 حوجلة مخروطية، سعتها 250 ملل.

3.4 عدسة ساعة أو علبة بيتري، قطرها الأدنى يساوي 80 مم.

4.4 خرطوشة الاستخلاص، من ورق الترشيح منزوعة الدهون.

5.4 قطن منزوع الدهون.

6.4 جهاز الاستخلاص مستمر أو نصف مستمر، من نوع (soxhlet) مثلا، مزود بحوجلة الاستخلاص سعتها 150ملل تقريبا.

7.4 حمام رملي أو حمام مائي، مسخن كهربائيا أو جهاز مماثل مناسب.

8.4 مجفف ذو تسخين كهربائي، مضبوط في 103 ± 2°م.

9.4 جهاز نازع للرطوبة، مزود بعامل مجفف فعال.

10.4 ميزان تحليلي ذو دقة 0,001غ.

11.4 ورق الترشيح ذو طيات، ذو ترشيح متوسط.

5. العينة

1.5 تستعمل عينة ممثلة أولية وزنها على الأقل 200غ.

2.5 تحفظ العينة بطريقة تجنب تلفها و أي تغير في تركيبها.

6. طريقة العمل

1.6 تحضير العينة

تجعل العينة متجانسة بسحقها مرتين على الأقل في الفرامة (1.4) مع خلطها. تدخل العينة في قارورة غير نفوذة ومملوءة كاملة ثم تحفظ بطريقة تجنب تلفها و كل تغيير في تركيبها.

– تحلل العينة في أقصى سرعة ممكنة و ذلك دائما خلال 24 ساعة التي تلي عملية التجانس.

2.6 العينة المأخوذة للتجربة

وفقا لنسبة المادة الدسمة المتوقعة، توزن بتقريب 0,001غ، 3غ إلى 5 غ من العينة المسحوقة و تدخل في حوجلة مخروطية سعتها 250 ملل (2.4).

3.6 التحديد

تجفف حوجلة جهاز الاستخلاص (6.4) التي تحتوي على معدلات الغليان (4.3) لمدة ساعة في المجفف (8.4) معدل في 103 ± 2°م. تترك الحوجلة لتبرد في جهاز التجفيف (9.4) حتى تصل درجة حرارتها درجة حرارة المحيط ثم توزن بتقريب 0,001غ.

يضاف للعينة 50 ملل من حمض الكلوريدريك (2.3) ثم تغطى الحوجلة المخروطية (2.4) بعدسة ساعة صغيرة. تسخن الحوجلة المخروطية حتى بداية غليان محتواها، يواصل الغليان لمدة ساعة مع الرج من حين لآخر. تضاف 150ملل من الماء الساخن.

يبلل ورق الترشيح (11.4) بالماء في قمع ثم يسكب المحتوى الساخن للحوجلة المخروطية فوق ورق الترشيح. تغسل الحوجلة وعدسة الساعة جيدا ثلاث مرات بالماء الساخن ثم تجفف في المجفف (8.4). يغسل ورق الترشيح بالماء الساخن حتى لا تغير السوائل الناتجة عن الغسل لون ورق عباد الشمس الأزرق(3.3). يوضع ورق الترشيح فوق عدسة الساعة أو داخل علبة بيتري (3.4) و يجفف لمدة ساعة في فرن التجفيف المعدل في درجة حرارة 103 ± 2° م. يترك ليبرد.

يلف ورق الترشيح ثم يوضع داخل خرطوشة الاستخلاص (4.4). تنزع كل آثار المادة الدسمة الموجودة في عدسة الساعة أو في علبة بيتري باستعمال قطن (5.4) مبلل بمذيب الاستخلاص (3. 1) ويوضع كذلك القطن في نفس خرطوشة الاستخلاص. توضع الخرطوشة في جهاز الاستخلاص. يجب مسك ورق الترشيح بملاقط قابلة للغسل، أو بأصابع مغطاة بالورق. يسكب مذيب الاستخلاص في الحوجلة المجففة لجهاز الاستخلاص. تغسل الحوجلة المخروطية المستعملة للهجوم الكيميائي بحمض الكلوريدريك من الداخل وكذا عدسة الساعة التي تغطيها بكمية من مذيب الاستخلاص ويضاف هذا الأخير إلى حوجلة الاستخلاص. يجب أن تعادل الكمية الإجمالية لمذيب الاستخلاص مرة و نصف إلى مرتين سعة أنبوب جهاز الاستخلاص. تركب الحوجلة في جهاز الاستخلاص. تسخن الحوجلة فوق حمام رملي أو مائي أو جهاز مماثل (7.4) لمدة 4 ساعات.

بعد الاستخلاص تؤخذ الحوجلة التي تحتوي على السائل القادم من جهاز الاستخلاص و ينزع المذيب بواسطة التقطير، باستعمال الحمام الرملي أو المائي مثلا.

تترك بقايا المذيب في حمام مائي لتتبخر باستعمال تيار هوائي، إن اقتضى الأمر.

تجفف الحوجلة لمدة ساعة في المجفف معدل في 103 ± 2°م، وبعد برودها في الجهاز النازع للرطوبة في درجة حرارة المحيط، توزن بتقريب 0,001غ. تكرر هذه العملية إلى أن لا تختلف نتائج وزنين متتاليين مفصولين بتسخين واحد لمدة ساعة بأكثر من 0,1 % من كتلة العينة.

التحقق من أن عملية الاستخلاص قد انتهت بأخذ حوجلة استخلاص ثانية و الشروع في عملية الاستخلاص لمدة ساعة أخرى بواسطة كمية جديدة من المذيب. يجب أن لا تتعدى الزيادة في الكتلة 0,1 % من كتلة العينة.

يجرى تحديدان على نفس العينة المحضرة.

7. التعبير عن النتائج

1.7 طريقة الحساب والصيغة

نسبة المادة الدسمة الإجمالية في العينة بالنسبة المئوية للكتلة تساوي :

$$\frac{100}{ك_0} \times (ك_2 - ك_1)$$

حيث :

ك0 : هي كتلة العينة المأخوذة للتجربة بالغرام.

ك1 : هي الكتلة بالغرام للحوجلة ومعدلات الغليان.

ك2 : هي الكتلة بالغرام للحوجلة ومعدلات الغليان و المادة الدسمة بعد التجفيف.

يؤخذ كنتيجة، المعدل الجبري لتحديدين، إذا تحققت شروط التكرارية (2.7).

تسجل النتيجة بأخذ عدد واحد بعد الفاصلة.

2.7 التكرارية

يجب أن لا يكون الفرق بين نتائج تحديدين أجريا في نفس الوقت أو بصفة سريعة الواحدة تلوى الأخرى من طرف نفس المحلل أكبر من 0,5غ من المادة الدسمة الإجمالية لـ 100غ من العينة.

قرارات، مقرّرات، آراء

وزارة التجارة

قرار مؤرخ في 28 ربيع الأوّل عام 1427 الموافق 26 أبريل سنة 2006، يجعل منهج تحديد نسبة الآزوت الإجمالي في اللحم والمنتوجات اللحمية إجباريا.

إن وزير التجارة،

– بمقتضى المرسوم الرئاسي رقم 05 – 161 المؤرخ في22 ربيع الأول عام 1426 الموافق أول مايو سنة2005 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 القرار الوزاري المشترك المؤرخ في19 شوال عام 1417 الموافق 26 فبراير سنة 1997 والمتعلق بشروط تحضير المرقاز و تسويقه،

– وبمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرخ في 29 جمادى الثانية عام 1420 الموافق 29 سبتمبر سنة 1999 الذي يحدد قواعد تحضير اللحوم المفرومة عند الطلب ووضعها للاستهلاك،

– وبمقتضى القرار المؤرخ في 24 ربيع الثاني عام 1421 الموافق 26 يوليو سنة 2000 والمتعلق بالقواعد المطبقة على تركيبة المنتوجات اللحمية المطهية ووضعها رهن الاستهلاك، المعدل والمتمم،

يقرر ما يأتي :

المادة الأولى : تطبيقا لأحكام المادة 19 من المرسوم التنفيذي رقم 90 – 39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990، المعدل والمتمم والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج تحديد نسبة الآزوت الإجمالي في اللحم والمنتوجات اللحمية إجباريا.

المادة 2 : من أجل تحديد نسبة الآزوت الإجمالي في اللحم والمنتوجات اللحمية، فإن مخابر مراقبة الجودة و قمع الغش والمخابر 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 28 ربيع الأوّل عام 1427 الموافق 26 أبريل سنة 2006.

الهاشمي جعبوب

الملحق

منهج تحديد كمية الآزوت الإجمالي في اللحم والمنتوجات اللحمية

1. التعريف :

نسبة الآزوت في اللحوم والمنتوجات اللحمية :
هي كمية الآزوت الموافقة للأمونياك الناتج والمحددة في الشروط المبينة أدناه.

2 . المبدأ :

هجوم كيميائي على العينة المقتطعة بحمض السولفيريك المركز الذي يحول الآزوت العضوي إلى أيونات الأمونيوم في وجود كبريتات النحاس (II) كحافز كيميائي، عملية جعل المحلول قاعدي وتقطير الأمونياك المحرر في فائض من محلول حمض البوريك، معايرة الأمونياك المركب مع حمض البوريك بواسطة حمض الكلوريدريك و حساب نسبة الآزوت في العينة انطلاقا من الأمونياك الناتج.

3 . الكواشف :

يجب أن تكون جميع الكواشف ذات نوعية تحليلية معترفا بها. يجب أن يكون الماء المستعمل ماء مقطرا أو ماء ذا نقاوة مكافئة على الأقل.

1.3 كبريتات النحاس(II) خماسي الهيدرات ($CUSO_4.5H_2O$)

2.3 كبريتات البوتاسيوم (K2SO4) مجفف.

3.3 حمض السولفيريك P20= 1,84 غ/ ملل.

4. 3 هيدروكسيد الصوديوم، محلول خال من الكربونات، يحتوي على 33غ تقريبا من هيدروكسيد الصوديوم (NaOH) لـ 100غ من المحلول.

يذوب 500غ من هيدروكسيد الصوديوم في 1000 ملل من الماء.

5.3 حمض البوريك، محلول.

– يذوب 40غ من حمض البوريك (H_3BO_3) في الماء و يكمل الحجم إلى 1000 ملل.

6.3 حمض الكلوريدريك، محلول معاير 0,1 نظامية (0,1N)، تعرف النظامية بأخذ أربعة أرقام بعد الفاصلة.

7.3 الكاشف، محلول: مزيج من الكواشف (أحمر الميثيل – أزرق الميثيلان)، يحضر بإذابة 2غ من أحمرالميثيل و1غ من أزرق الميثيلان في 1000 ملل من الإيثانول 95% ح/ح).

يتغير لون المحلول الكاشف عند pH=5,4.

يحفظ المحلول الكاشف في قارورة داكنة في مكان مظلم وبارد.

8.3 معدلات الفليان :

1.8.3 للهجوم الكيميائي :

كريات زجاجية، كربور السيليسيوم أو شظايا الخزف الصلب.

2.8.3 للتقطير:

كربور السيليسيوم أو قطع من حجر الكدان حديث التحويل إلى رماد.

4. التجهيزات :

الأجهزة المستعملة في المخبر، لا سيما :

1.1.4 فرامة اللحم مخبرية، مجهزة بصفيحة تحتوي على ثقوب لا يتعدى قطرها 4 مم.

2.1.4 جهاز المجانسة :

2.4 ورق معالج بحمض السولفيريك، 9 سم X 6 سم تقريبا.

3.4 أنبوب زجاجي سعته 50 ملل.

4.4 أنبوب زجاجي طويل العنق كلدال (Kjeldahl) سعته القصوى 800 ملل، يجهز عند الضرورة بسدادة زجاجية إجاصية الشكل تتكيف بسهولة مع قمة الإناء الزجاجي.

5.4 جهاز جذب بواسطة البخار أو جهاز تقطير عادي.

6.4 جهاز التسخين، يسمح بتسخين الأنبوب الزجاجي كلدال (Kjeldahl) في وضعية مائلة بطريقة تجعل مصدر الحرارة لا يصل إلا لجزء من جدار الأنبوب الواقع تحت مستوى السائل.

7.4 جهاز الإمتصاص، لأبخرة الأحماض المحررة أثناء الهجوم الكيميائي.

8.4 ميزان تحليلي.

5 . العينة :

1.5 تجرى المعايرة على عينة ممثلة وزنها 200غ على الأقل.

2 .5 تحفظ العينة بطريقة تحميها من التلف وكل تغير في تركيبها. في حالة توفر عوامل الحفظ يجب أن لا تحتوي هذه الأخيرة على مركبات آزوتية بكميات مقاسة.

6. طريقة العمل :

1.6 تحضير العينة للتجربة :

جعل العينة متجانسة بتمريرها مرتين على الأقل في فرامة اللحم (1.4) وخلطها. تترك العينة في قارورة مغلقة غير نفوذة، و مملوءة كليا وتحفظ بطريقة تحميها من التلف و كل تغير في تركيبها. تحلل العينة عند الإمكان مباشرة بعد عملية المجانسة دائما خلال 24 ساعة.

2.6 العينة المأخوذة للتجربة :

توضع بعض معدلات الغليان (8.3) داخل الأنبوب الزجاجي كلدال (Kjeldahl) (4.4)، ثم تضاف حوالي 15غ من كبريتات البوتاسيوم المجففة (2.3) و 0,5غ من كبريتات النحاس (II) (1.3).

توزن بتقريب 0.001غ، حوالي 2غ (أو 1,5 غ في حالة عينة كثيرة الدهون) من العينة المأخوذة للتجربة(1.6) فوق قطعة ورق معالج بحمض السولفيريك (2.4).

يوضع الورق المعالج بحمض السولفيريك والعينة المقتطعة داخل الإناء الزجاجي كلدال (Kjeldahl).

3.6 التحديد :

يضاف 25 ملل من حمض السولفريك (3.3) داخل الأنبوب الزجاجي كلدال (Kjeldahl) يخلط المحلول برفق بحركة دائرية. إذا اقتضى الأمر، يمكن وضع سدادة زجاجية إجاصية الشكل في عنق الإناء الزجاجي بحيث يكون الطرف النحيل للسدادة موجها نحوالأسفل.

يوضع الأنبوب الزجاجي في وضعية مائلة (بزاوية 40° عن العمود) فوق جهاز التسخين (6.4) يسخن في البداية برفق حتى نهاية تشكل رغوة و يصبح محتوى الأنبوب سائلا كليا ثم يحدث هجوما كيميائيا مع التسخين بشدة و العمل على تحريك الأنبوب الزجاجي بصفة دورية حتى يصبح السائل شفافا كليا و ذا لون أزرق مخضر فاتح.

يترك السائل يغلي لمدة 90 دقيقة أخرى.

يجب أن يحدث الهجوم الكيميائي الكلي في ساعتين على الأقل. يجب الحرص على عدم تدفق السائل المكثف على الجدران الخارجية للأنبوب الزجاجي. يجب تجنب تسرب حمض السولفيريك بكثرة عند الإفراط في التسخين خلال الهجوم الكيميائي، مما قد يؤدي إلى فقدان الآزوت.

– يبرد في حوالي 40°م ثم يضاف بحذر حوالي 50 ملل من الماء. يخلط و يترك ليبرد.

– يسكب بواسطة أنبوب مدرج، 50 ملل من محلول حمض البوريك (5.3) داخل حوجلة مخروطية الشكل سعتها حوالي 500 ملل، يضاف 4 قطرات من المحلول الكاشف (7.3) يخلط ثم توضع الحوجلة تحت مبرد جهاز التقطير(5.4) بحيث يكون طرف الوصلة مغمورا داخل السائل.

تنجز المعايرة على محتوى الأنبوب الزجاجي كلدال (kjeldah) وفق إحدى الطريقتين المبينتين أدناه :

أ) في حالة الانجذاب بالبخار:

ينقل محتوى الأنبوب الزجاجي كلدال (Kjeldahl) في جهاز التقطير، ثم يغسل بحوالي 50 ملل من الماء. يضاف 100 ملل من محلول هيدروكسيد الصوديوم (4.3) بواسطة أنبوب مدرج، يسكب بعناية مع طول عنق الأنبوب الزجاجي المائل حتى لايختلط السائلان في الأنبوب. يربط الأنبوب الزجاجي مباشرة بالطرف العلوي لجهاز التقطير. يسخن المحلول القاعدي بتمريره بالبخار حتى الغليان الذي يستمر لمدة 20 دقيقة. يسخن في البداية ببطء لتقليص تشكل رغوة إلى أدنى حد ممكن. يجب أن يكون حجم القطارة المتحصل عليها على الأقل 150 ملل.

ب) في حالة التقطير العادي :

يخفف محتوى الأنبوب الزجاجي كلدال (Kjeldahl) بحذر بـ 300 ملل من الماء ثم يرج بحركة دورانية. إذا اقتضى الأمر يسكب في حوجلة سعتها 1 لتر. بعد حوالي 15 دقيقة، يضاف 100 ملل من محلول هيدروكسيد الصوديوم (4.3) بواسطة أنبوب زجاجي مدرج، ويسكب بحذر على طول عنق الأنبوب الزجاجي المائل، بحيث لا يحدث اختلاط الطبقتين داخل الأنبوب الزجاجي . يربط هذا الأخير مباشرة بالطرف العلوي لجهاز التقطير.

– يقطر على الأقل 150 ملل من السائل، حتى و إن أحدث الخليط بخات غير منتظمة. يتابع التقطير إلى غاية تشكل بخات أو الحصول على 250 ملل من القطارة. التأكد من أن القطارة قد بردت فعليا و تجنب تسخين محلول حمض البوريك.

– في كلتا الحالتين ومباشرة قبل نهاية عملية التقطير، تنزل الحوجلة المخروطية بحيث يكون طرف الوصلة فوق مستوى السائل. يغسل طرف الوصلة الموجودة فوق السائل(من الداخل و الخارج) بقليل من الماء. التحقق من انتهاء تقطير الأمونياك، بواسطة

ورق عباد الشمس الأحمر، مبلل بالماء المقطر، يجب أن لا يتغير لونه بالمحلول الصادر من جهاز التبريد. يوقف التسخين. إذا لم تنته عملية التقطير، يجرى تحديد جديد باتباع التعليمات بعناية.

– معايرة محتوى الحوجلة المخروطية بواسطة محلول حمض الكلوريدريك (6.3) تسجيل حجم محلول حمض الكلوريدريك اللازم، بتقريب 0,02 ملل.

– نقوم بتحديدين على عينتين مأخوذتين للتجربة مقتطعتين من نفس العينة.

4.6 تجربة على بياض :

نقوم دائما بتجربة على بياض (مرتين) عند استعمال حصص جديدة من الكواشف أو محاليل حديثة التحضير ينصح بالقيام دوريا بتجربة على بياض للكواشف و المحاليل المستعملة منذ فترة.

تجرى هذه التجربة على بياض حسب (3.6) بأخذ قطعة فقط من الورق المعالج بحمض السولفيريك (2.4).

7 . التعبير من النتائج :

1.7 طريقة الحساب و الصيغة :

تساوي نسبة الآزوت و المعبر عنها بالنسبة المئوية للكتلة :

$$\frac{100}{ك} \times (ح_0 - ح_1) \times 0,0014$$

حيث :

$ح_0$: هو الحجم بالميليلتر لمحلول حمض الكلوريدريك 0,1 نظامية المستعمل في التجربة على بياض.

$ح_1$: هو الحجم بالميليلتر لمحلول حمض الكلوريدريك 0.1 نظامية المستعمل للتحديد.

ك : هي كتلة العينة المقتطعة و المعبر عنها بالغرام.

ملاحظة :

إذا كان تركيز حمض الكلور يدريك المعاير المستعمل ليس هو التركيز المتوقع في (6.3) يجب استعمال عامل تصحيح مناسب لحساب النتيجة.

يؤخذ كنتيجة المعدل الجبري لتحديدين إذا توفرت شروط التكرارية (2.7).

يعبر عن النتيجة بتقريب 0,01غ من الآزوت لـ 100غ من العينة.

2.7 التكرارية :

يجب أن لا يتعدى الفرق بين نتائج تحديدين أجريا في نفس الوقت أو بصفة سريعة الواحدة تلوى الأخرى من طرف نفس المحلل 0,10غ من الآزوت لـ 100غ من العينة.

8 . ملاحظات :

1.8 يجب أن ينجز التحديد في غرفة خالية من بخار الأمونياك.

2.8 يمكن أيضا أن ينجز التحديد على كمية صغيرة من محتوى الأنبوب الزجاجي كلدال (kjeldahl) في هذه الحالة يجب القيام بتعديلات مناسبة على التجهيزات وعلى طريقة العمل (كميات و تراكيز الكواشف المستعملة ومدة التقطير وحجم القطارة).

3.8 يتم إدراج الآزوت الصادر عن المركبات العضوية غير البروتينية ضمن التحديد، لهذا نتحصل على نتائج خاطئة عن نسبة البروتينات، إذا تم حساب نسبة البروتين انطلاقا من نسبة الآزوت.

إضافة إلى النتيجة المعبر عنها بالآزوت، يمكننا التعبير عنها بالبروتينات، في هذه الحالة يجب الإشارة إلى المعامل المستعمل.

وزارة التجارة

قرار مؤرّخ في 29 صفر عام 1427 الموافق 29 مارس سنة 2006، يجعل منهج تحديد نسبة النترات في اللحم والمنتوجات اللحمية إجباريا.

إنّ وزير التجارة،

– بمقتضى المرسوم الرّئاسي رقم 05 – 161 المؤرّخ في 22 ربيع الأول عام 1426 الموافق أول مايو سنة 2005 والمتضمن تعيين أعضاء الحكومة،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 90 – 39 المؤرّخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990 والمتعلّق بمراقبة الجودة وقمع الغش ، المعدّل والمتمّم،

– وبمقتضى المرسوم التّنفيذي رقم 02 – 453 المؤرّخ في 17 شوّال عام 1423 الموافق 21 ديسمبر سنة 2002 الذي يحدّد صلاحيات وزير التجارة،

– وبمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرّخ في 19 شوّال عام 1417 الموافق 26 فبراير سنة 1997 والمتعلق بشروط تحضير المرقاز وتسويقه،

– وبمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرّخ في 29 جمادى الثانية عام 1420 الموافق 29 سبتمبر سنة 1999 الذي يحدّد تحضير اللحوم المفرومة عند الطلب ووضعها للاستهلاك،

– وبمقتضى القرار المؤرّخ في 24 ربيع الثاني عام 1421 الموافق 26 يوليو سنة 2000 والمتعلّق بالقواعد المطبقة على تركيبة المنتوجات اللّحمية المطهية ووضعها رهن الاستهلاك، المعدّل والمتمّم،

يقرّر ما يأتي :

المادّة الأولى : تطبيقا لأحكام المادّة 19 من المرسوم التنفيذي رقم 90 – 39 المؤرّخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990، المعدّل والمتمّم والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج تحديد نسبة النترات في اللحم والمنتوجات اللحمية إجباريا.

المادّة 2 : من أجل تحديد نسبة النترات في اللحم والمنتوجات اللحمية، فإن مخابر مراقبة الجودة وقمع الغش والمخابر المعتمدة لهذا الغرض ملزمة باستعمال المنهج المبين في الملحق.

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

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

حرر بالجزائر في 29 صفر عام 1427 الموافق29 مارس سنة 2006.

الهاشمي جعبوب

الملحق

منهج تحديد نسبة النترات في اللحم والمنتوجات اللحمية

1 . التعريف :

يقصد بنسبة النترات في اللحوم والمنتوجات اللحمية، نسبة النترات المحددة طبقا لطريقة العمل المذكورة أدناه والمعبر عنها بالميليغرام من نترات البوتاسيوم في الكيلوغرام (أجزاء في المليون).

2 . المبدأ :

استخلاص بواسطة الماء الساخن من اللحوم والمنتوجات اللحمية، ترسيب البروتينات والترشيح.

إرجاع النترات المستخلص في الرشاحة إلى نتريت بواسطة الكادميوم المعدني.

الحصول على لون أحمر بإضافة كلورور السولفانيلاميد وكلورور النافتيل ايثيلان ثنائي الأمين إلى الرشاحة وقياس الكثافة الضوئية في موجة طولها 538 ناتومتر.

3 . الكواشف :

يجب أن تكون جميع الكواشف ذات نوعية تحليلية.

يجب أن يكون الماء المستعمل ماء مقطرا أو ماء ذا نقاوة مكافئة.

3. 1 . محاليل تستعمل لترسيب البروتينات

1.1.3 . الكاشف I :

يذوب في الماء 106 غ من هيكزا سيانوفيرات البوتاسيوم، ثلاثي التمييه $[K_4Fe(CN)_6 , 3H_2O]$ ويكمل الحجم إلى 1000 ملل.

2.1.3 . الكاشف II :

يذوب في الماء 220 غ من أسيتات الزنك، ثنائي التمييه $[Zn(CH_3COO)_2 , 2H_2O]$ و30 ملل من حمض الخل قابل للتبلور في الماء ويكمل الحجم إلى 1000 ملل.

3.1.3 . محلول مشبع من بوراكس :

يذوب 50 غ من رباعي البورات ثنائي الصوديوم عشاري التمييه $[Na_2B_4O_7 , 10H_2O]$ في 1000 ملل من الماء الدافئ ويترك ليبرد في درجة حرارة المخبر.

2.3. قضبان من الزنك، طولها حوالي **15** سم وقطرها من **5** إلى **7** ملم.

3. 3 . سلفات الكادميوم، محلول تركيزه 30 غ/ل.

يذوب في الماء 37 غ من سلفات الكادميوم $(3CdsO_4 , 8H_2O)$ ويكمل الحجم إلى 1000 ملل.

3 .4 حمض الكلوريدريك ، محلول نظاميته حوالي 0,1 N.

يخفف 8 ملل من حمض الكلوريدريك المركز (p_{20}= 1,19 غ/ملل) في الماء ويكمل الحجم إلى 1000 ملل.

5.3. محلول مثبت الأمونياك، عامله الهيدروجيني 9,6 إلى 9,7

يخفف 20 ملل من حمض الكلوريديك المركز (p_{20}= 1,19 غ/ملل) مع 500 ملل من الماء. يرج ويضاف 10غ من ملح ثنائي الصوديوم ثنائي التمييه من حمض الايثيلان ثنائي الامين رباعي الاستيك $[CH_2N(CH_2COOH)CH_2COONa]_2 , 2H_2O$ و55 ملل من هيدروكسيد الامونيوم المركز (p_{20}= 0,88 غ/ملل) يكمل الحجم إلى 1000 ملل بالماء ويخلط. يراقب العامل الهيدروجيني.

6.3 نتريت الصوديوم، محاليل مرجعية.

– يذوب 1,000 غ من نتريت الصوديوم $(NaNO_2)$ في الماء، يكمل الحجم إلى 100 ملل في قنينة مدرجة. ينقل 5 ملل من هذا المحلول بواسطة ماصة إلى قنينة مدرجة سعتها 1000 ملل. يكمل الحجم بالماء حتى خط المعلم.

– تحضر سلسلة من المحاليل المرجعية بنقل 5، 10 و20 ملل من هذا المحلول بواسطة ماصة في قنينات مدرجة سعتها 100 ملل، يكمل الحجم بالماء حتى خط المعلم. تحتوي هذه المحاليل المرجعية على التوالي 2,5 ، 5,0 و 10,0 ميكرو غرام من نتريت الصوديوم في الميليلتر.

7.3 محاليل لتطور التلوين :

1.7.3. المحلول I :

يذوب بواسطة التسخين في حمام مائي 2غ من سولفانيلاميد $(NH_2\text{-}C_6H_4\text{-}SO_2\text{-}NH_2)$ في 800 ملل من الماء يترك ليبرد ويرشح إن اقتضى الأمر ثم يضاف مع الرج 100 ملل من حمض الكلوريدريك المركز (p_{20} = 1,19 غ/ملل).يكمل الحجم بالماء إلى 1000 ملل.

2.7.3 . المحلول II :

يذوب في الماء **0,1** من كلورورن – نافتيل **1** – ايثيلان ثنائي الأمين $(C_{10}H_7\text{-}NH\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}NH_2, 2HCl)$. يكمل الحجم بالماء إلى 100 ملل.

3.7.3 . المحلول III :

يكمل الحجم بالماء إلى 1000 ملل،445 ملل من حمض الكلور يدريك (p_{20} = 1,19 غ/ملل).

توضع هذه المحاليل في قارورات بنية داكنة، مغلقة بإحكام وتحفظ في الثلاجة لمدة أقصاها أسبوع.

8.3 نترات البوتاسيوم، محلول مرجعي

يذوب 1,465 غ من نترات البوتاسيوم (KNO_3) في الماء ويكمل الحجم إلى 100 ملل في قنينة مدرجة تنقل بواسطة ماصة 5 ملل من المحلول إلى قنينة مدرجة سعتها 1000 ملل ويضبط الحجم حتى خط المعلوم.

– يحتوي هذا المحلول على 73,25 ميكروغرام / ملل من نترات البوتاسيوم.

– يجب أن يحضر المحلول المرجعي يوم استعماله.

4 – التجهيزات :

التجهيزات العادية للمخبر، لا سيما :

1.4 فرامة اللحم، مخبرية مزودة بصفيحة ذات ثقوب لا يتعدى قطرها 4 ملم.

2.4 ميزان تحليلي.

3.4 قنينات مدرجة ذات سعة : 100 ملل، 200 ملل و1000 ملل.

4.4 ماصات مدرجة مزودة بمعلم سعتها 20 ملل و 10 ملل أو ذات سعة أخرى، إذا اقتضى الأمر حسب الاقتطاع الصغير (1.8.5) .

5.4 حمام مائي مغلى.

6.4 ورق ترشيح ذو طيات، قطره 15 سم تقريبا خال من النتريت والنترات.

7.4 جهاز زجاجي موجه لإرجاع النترات (أنظر الشكل أدناه).

8.4 مقياس اللون ضوئي كهربائي أو جهاز قياس الكثافة الضوئية ذات أنابيب صغيرة مسارها الضوئي 1 سم.

9.4 قنينة مخروطية سعتها 300 ملل.

5. طريقة العمل :

1.5 تحضير العينة للتجربة :

العمل انطلاقا من عينة ممثلة وزنها على الأقل 200غ.

– جعلها متجانسة بعد مرورها مرتين على الأقل عبر فرامة اللحم (1.4) وتخلط. تحفظ العينة في البرودة في قارورة غير نفوذة وتملأ كليا.

– تحلل العينة بأسرع ما يمكن ولكن دائما خلال 24 ساعة التي تلي تحضيرها.

ملاحظة :

في حالة المنتوجات غير المطهية تحلل العينة مباشرة بعد عملية المجانسة.

2.5 تحضير عمود الكادميوم :

1.2.5 توضع 3 إلى 5 قضبان من الزنك (2.3) في محلول سلفات الكادميوم (3.3) موضوع في بيشر (1 لتر من محلول سلفات الكادميوم كاف لتحضير عمود الكادميوم).

ينزع كل ساعة أو ساعتين الكادميوم المعدني الإسفنجي المترسب على قضبان الزنك بتحريك هذه الأخيرة في المحلول أو بحك القضبان ببعضها البعض.

2.2.5 في الأخير بعد 6 إلى 8 ساعات، يترك المحلول ليترسب ويغسل الراسب مرتين بلتر واحد من الماء المقطر، مع مراعاة أن يبقى الكادميوم مغطى دوما بطبقة من السائل.

ينقل راسب الكادميوم بواسطة 400 ملل من محلول حمض الكلوريديك (4.3) في جهاز الخلط الخبري ويخلط لمدة 10 ثواني.

يرد محتوى جهاز الخلط إلى البيشر.

يرج من وقت لآخر راسب الكادميوم بواسطة قضيب زجاجي يترك الراسب في حمض الكلوريدريك ليلة كاملة.

3.2.5. يخلط مرة أخرى من أجل التخلص من كل فقاعات الهواء المتواجدة في الكادميوم.

يترك المحلول ليترسب ويخلط مغلى الكادميوم مرتين بلتر واحد من الماء في كل مرة.

يوضع صمام من ألياف الزجاج في أسفل العمود الزجاجي الموجه لاحتواء الكادميوم.

ينقل ويغسل الكادميوم في العمود الزجاجي باستعمال الماء إلى أن يصل إرتفاع الكادميوم حوالي 17 سم. يفرغ العمود من وقت إلى أخر خلال الملأ، مع مراعاة عدم انخفاض مستوى المحلول إلى أدنى من قمة راسب الكادميوم. التخلص من الفقاعات الغازية (بواسطة إبرة الصوف مثلا)، يجب أن يتدفق السائل بسرعة أقصاها 3 ملل/دقيقة.

3.5 أخذ العينة :

يوزن بتقريب 0،001غ، 10غ من العينة للتجربة.

4.5 نزع البروتينات :

تنقل كميا العينة المأخوذة للتجربة في قنية مخروطية (9.4) ويضاف إليها على التوالي 5 ملل من محلول مشبع من البوراكس (3.1.3) و100 ملل من الماء في درجة حرارة أدناها 70° م.

تسخن القنينة لمدة 15 دقيقة في حمام مائي مغلى (5.4) ثم يرج عدة مرات.

تترك القنينة ومحتواها ليبرد في درجة حرارة المحيط . ثم يضاف على التوالي 2 ملل من الكاشف I (1.1.3) و 2 ملل من الكاشف II (2.1.3). تخلط بعناية بعد كل إضافة.

ينقل المحلول إلى قنينة مدرجة سعتها 200 ملل (3.4). يترك لمدة 30 دقيقة في درجة حرارة المحيط.يكمل الحجم بالماء حتى خط المعلم.

يخلط محتوى القنينة المدرجة برفق ثم يرشح على ورق ترشيح ذي طيات(6.4).

5.5 المعالجة الأولية لعمود الكادميوم :

يغسل عمود الكادميوم على التوالي بـ 25 ملل من محلول حمض الكلوريدريك (4.3)، 50 ملل من الماء و 25 ملل من محلول مثبت أمونياكي (5.3) مخفق إلى 1+9. تجنب انخفاض مستوى المحلول في القمع عن قمة أنبوب التحويل الليفي للعمود.

6.5 مراقبة القوة (القدرة) المرجعة لعمود الكادميوم :

1.6.5 يؤخذ بواسطة ماصة 20 ملل من المحلول المرجعي لنترات البوتاسيوم (8.3)، يسكب بواسطة ماصة الخزان الموجودة في قمة العمود ويضاف مباشرة بعد ذلك 5 ملل من المحلول المثبت الأمونياكي (5.3). يستقبل الدافق في قنينة مدرجة سعتها 100 ملل (3.4).

2.6.5 عندما يوشك الخزان أن يفرغ، تغسل جدرانه بحوالي 15 ملل من الماء. وتكرر نفس العملية بجزء آخر من 15 ملل من الماء .

عندما يعبر هذا الجزء في العمود، يملأ الخزان كليا بالماء.

3.6.5 بعد جمع 100 ملل تقريبا من السائل، تنزع القنينة من العمود يتمم المحتوى بالماء حتى خط المعلم.

4.6.5 يدخل بواسطة ماصلة ، 10 ملل من السائل الدافق في قنينة مدرجة سعتها 100 ملل (3.4) وتواصل العملية كما هي مبينة في (2.8.5) إلى (4.8.5) .

5.6.5 إذا كان تركيز الناتج من النتريت المحدد عن طريق المنحنى المرجعي (9.5)، أقل من 9,0 ميكرو غرام من نترات الصوديوم في المليلتر (أي 90 % من القيمة النظرية)، فانه لا يمكن استعمال عمود الكادميوم.

7.5 إرجاع النترات إلى النتريت :

تدخل في الخزان الموجودة أعلى العمود وبواسطة ماصة 20 ملل من الرشاحة (4.5) وفي نفس الوقت، أو مباشرة بعد ذلك تدخل 5 ملل من المحلول الأمونياكي المثبت (5.3).

يستقبل السائل المتدفق من العمود في قنينة مدرجة سعتها 100 ملل (3.4).

ينجز كما هو محدد في (2.6.5) و(3.6.5).

8.5 التحديد

1.8.5 تدخل في قنينة مدرجة سعتها 100 ملل (3.4) وبواسطة ماصة جزء صغير من السائل الذي عبر العمود (5ملل) لا يتعدى حجمه 25 ملل نضيف الماء حتى نتحصل على حجم 60 ملل تقريبا.

2.8.5 يضاف 10 ملل من المحلول I (1.7.3) ثم نضيف 6 ملل من المحلول III (3.7.3).

يخلط ويترك المحلول لمدة 5 دقائق في درجة حرارة المحيط وفي الظلام.

3.8.5 يضاف 2 ملل من المحلول II (2.7.3)، يخلط ويترك المحلول لمدة 3 دقائق في درجة حرارة المحيط وفي الظلام. يكمل الحجم بالماء حتى خط المعلم.

4.8.5 يقاس امتصاص الحلول بواسطة جهاز قياس اللون ضوئي كهربائي أو جهاز قياس الكثافة الضوئية (8.4) في أنبوب صغير طول مساره الضوئي 1 سم وفي موجة طولها 538 نانو متر.

ملاحظة

إذا كان امتصاص الملون المتحصل عليه انطلاقا من العينة المأخوذة للتجربة أكبر من امتصاص المحلول المرجعي الأعلى تركيزا، يعاد التحديد بتخفيض كمية الناتج المقتطع بواسطة ماصة (1.8.5).

5.8.5 يجري تحديدان على نفس العينة للتجربة.

9.5 المنحنى المرجعي :

– تنقل على التوالي وبواسطة ماصة في 4 قنينات مدرجة سعة كل واحدة 100 ملل (3.4) ، 10 ملل من الماء و10 ملل من كل محلول من المحاليل المرجعية الثلاثة لنتريت الصوديوم (6.3) والتي تمثل 0 ميكر وغرام ، 2,5 ميكرو غرام 5,0 ميكروغرام و10،0 ميكروغرام من النتريت في المليلتر.

– نضيف الماء في كل قنينة لنتحصل على حجم 60 ملل تقريبا ونعمل كما هو مبين في (2.8.5) إلى (4.8.5).

– يرسم المنحنى المرجعي بتدوين الامتصاصات المقاسة بدلالة التركيزات، بالميكروغرام في المليلتر للمحاليل المرجعية لنتريت الصوديوم.

6 . التعبير عن النتائج :

حساب كمية النترات في العينة، المعبر عنها بالميلغرام من نترات البوتاسيوم في الكيلوغرام باستعمال الصيغة التالية :

$$KNO_2 = 1,465 \left(NaNO_2 - \frac{10000 \times \text{ت}}{\text{ح} \times \text{ك}} \right)$$

حيث :

ك : الكتلة بالغرام، للعينة المأخوذة للتجرابة.

ح : الحجم، بالمليلتر للجزء الصغير من الناتج (1.8.5).

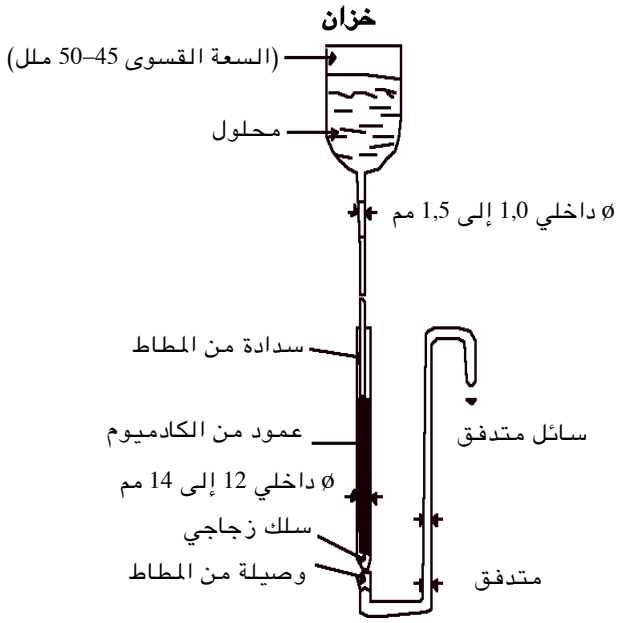
ت : تركيز نتريت الصوديوم بالمكروغرام في المليلتر المقروء على المنحنى المرجعي والموافق لامتصاص المحلول المحضر انطلاقا من العينة المأخوذة للتجربة (4.8.5).

NaNO2 : هي كمية النتريت في العينة، معبر عنها بالمليغرام من نتريت الصوديوم في الكيلوغرام.

يؤخذ كنتيجة، المعدل الجبري لتحديدين إذا توفرت شروط التكرارية (1.6). تسجل النتيجة بتقريب 1 مليغرام.

1.6 التكرارية :

يجب أن لا يتعدى الفرق بين نتائج تحديدين أجريا في نفس الوقت أو بسرعة الواحدة تلوى الأخرى من طرف نفس المحلل، 10% من نسبة النترات.



الشكل – جهاز إرجاع النترات

قرار مؤرّخ في 29 صفر عام 1427 الموافق 29 مارس سنة 2006، يجعل منهج تحديد نسبة النتريت في اللحم والمنتوجات اللحمية إجباريا.

———————

إن وزير التجارة،

– بمقتضى المرسوم الرئاسي رقم 05 – 161 المؤرّخ في 22 ربيع الأول عام 1426 الموافق أو ل مايو سنة 2005 والمتضمن تعيين أعضاء الحكومة،

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

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

– وبمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرّخ في 19 شوّال عام 1417 الموافق 26 فبراير سنة 1997 والمتعلق بشروط تحضير المرقاز وتسويقه،

– وبمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرّخ في 29 جمادى الثانية عام 1420 الموافق 29 سبتمر سنة 1999 الذي يحدد قواعد تحضير اللحوم المفرومة عند الطلب ووضعها للاستهلاك،

– وبمقتضى القرار المؤرّخ في 24 ربيع الثاني عام 1421 الموافق 26 يوليو سنة 2000 والمتعلق بالقواعد المطبقة على تركيب المنتوجات اللحمية المطهية ووضعها رهن الاستهلاك، المعدل والمتمم،

يقرار ما يأتي :

المادة الأولى : تطبيقا لأحكام المادة 19 من المرسوم التنفيذي رقم 90 – 39 المؤرّخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990، المعدل والمتمم، والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج تحديد نسبة النتريت في اللحم والمنتوجات اللحمية إجباريا.

المادة 2 : من أجل تحديد نسبة النتريت في اللحم والمنتوجات اللحمية ، فإن مخابر مراقبة الجودة وقمع الغش والمخابر 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 29 صفر عام 1427 الموافق 29 مارس سنة 2006.

الهاشمي جعبوب

الملحـــق

منهج تحديد نسبة النتريت في اللحم والمنتوجات اللحمية

1. التعريف :

نسبة النتريت في اللحم والمنتوجات اللحمية : تحديد نسبة النتريت حسب طريقة العمل المبينة أدناه ويعبر عنها بالمليغرام من نتريت الصوديوم للكيلوغرام (أجزاء في المليون).

2 . المبدأ :

استخلاص بواسطة الماء الساخن من اللحم والمنتوجات اللحمية، ترسيب البروتينات و الترشيح.

مع وجود النتريت، نتحصل على اللون الأحمر بإضافة السولفانيلاميد و كلورور نافتيل ايثيلان ثنائي الأمين للرشاحة وقياس الكثافة الضوئية في موجة طولها 538 نانومتر.

3. الكواشف :

يجب أن تكون جميع الكواشف ذات نوعية تحليلية.

يجب أن يكون الماء المستعمل ماء مقطرا أو ماء ذا نقاوة مكافئة على الأقل.

1.3. محاليل تستعمل لترسيب البروتينات :

1.1.3. الكاشف I :

يذوب 106 غ من هيكزا سيانوفيرات البوتاسيوم، ثلاثي التمييه $[K_4Fe(CN)_6,3H_2O]$ في الماء ونكمل الحجم إلى 1000 ملل.

2.1.3. الكاشف II :

يذوب 220 غ من اسيتات الزنك، ثنائي التمييه $[ZN(CH_3COO)_2, 2H_2O]$ و30 ملل من حمض الخل قابل للتبلور في الماء ونكمل الحجم إلى 1000 ملل.

3.1.3. بوراكس، محلول مشبع :

يذوب 50 غ من رباعي البورات ثنائي الصوديوم عشاري التمييه $(Na_2B_4O_7,10H_2O)$ في 1000 ملل من الماء الدافئ ويترك ليبرد في درجة حرارة المخبر.

2.3. نتريت الصوديوم، محاليل مرجعية :

يذوب 1,000 غ من نتريت الصوديوم $(NaNO_2)$ في الماء ونكمل الحجم إلي 100ملل في قنينة مدرجة.

ينقل بواسطة ماصة، 5 ملل من هذا المحلول في قنينة مدرجة أخرى حجمها 1000ملل نكمل الحجم حتى خط المعلم.

تحضر سلسلة من المحاليل المرجعية بنقل بواسطة ماصة 5 و10 و20 ملل من هذا المحلول في قنينة مدرجة حجمها 100 ملل و نكمل الحجم بالماء حتى خط المعلم.

تحتوي هذه المحاليل المرجعية على التوالي 2,5 ميكروغرام و 5,0 ميكروغرام و 10 ميكروغرام من نتريت الصوديوم في المليلتر.

يجب أن يحضر نتريت الصوديوم (0,05غ/ل) وكذا المحاليل المرجعية المحضرة منه في نفس يوم الاستعمال.

3.3. محاليل انتشار التلوين :

1.3.3. محلول I :

يذوب بالتسخين في حمام مائي، 2غ من السلفانيلاميد$(NH_2\text{-}C_6H_4\text{-}SO_2\text{-}NH_2)$ في 800 ملل من الماء. يبرد ويرشح إن اقتضى الأمر ويضاف مع الرج 100 ملل من حمض الكلوريدريك المركز (p20 = 1,19 غ/ملل). يكمل الحجم إلى 1000 ملل بالماء.

2.3.3. محلول II :

يذوب في الماء 0,25غ من كلورور ن – نافتيل – 1 – ايثيلان ثنائي الأمين $(C_{10}H_7\text{-}NH\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}NH_2, 2HCl)$ يكمل إلى 250 ملل بالماء.

3.3.3. محلول III :

يكمل إلى 1000 ملل بالماء، 445 ملل من حمض الكلوريدريك (p20 = 1,19 غ/ملل).

توضع هذه المحاليل في قارورات بنية داكنة، مغلقة بإحكام وتحفظ في الثلاجة لمدة أسبوع على الأكثر.

4. التجهيزات :

التجهيزات العادية للمخبر، لاسيما :

1.4. فرامة اللحم، مخبرية مجهزة بصفيحة تحتوي على ثقوب لا يتعدى قطرها 4 مم.

2.4. ميزان تحليلي.

3.4. قنينة مدرجة، و 100 ملل و200 ملل و1000 ملل.

4.4. ماصات تدريجتها 10ملل، وذات سعة أخرى، إذا اقتضى الأمر، وهذا حسب الاقتطاع الصغير(1.4.6).

5.4. حمام مائي حتى الغليان.

6.4. مقياس اللون **ضوئي كهربائي أو جهاز قياس الكثافة** الضوئية ذات أنابيب صغيرة مسارها الضوئي 1 سم.

7.4. ورق الترشيح ذو طيات، قطره حوالي 15 سم، خالية من النتريت.

8.4. قنينة مخروطية، سعتها 300 ملل.

5. العينة :

1.5. العمل انطلاقا من عينة ممثلة تزن 200 غ على الأقل.

2.5. تحضر العينة للتجربة مباشرة (1.6) إذا كان غير ممكنا، تحفظ العينة في درجة حرارة ما بين 0 و5°م، لمدة أربعة (4) أيام على الأكثر.

6. طريقة العمل :

1.6 تحضير العينة للتجربة :

جعل العينة متجانسة بتمريرها مرتين على الأقل في فرامة اللحم (1.4) ثم تخلط. تحفظ العينة في البرودة في قارورة مملوءة كليا ومغلقة بإحكام.

تحلل العينة في أسرع وقت ممكن ودائما خلال 24 ساعة.

ملاحظة :

في حالة المنتوجات غير المطهية، تحلل العينة مباشرة بعد مجانستها.

2.6. أخذ العينة :

توزن بتقريب 0,001 غ حوالي 10 غ من العينة المأخوذة للتجربة.

3.6. نزع البروتينات :

1.3.6. تنقل كميا العينة في قنينة مخروطية (8.4) و يضاف بالتتابع 5 ملل من محلول مشبع من البوراكس (3.1.3) و 100 ملل من الماء في درجة حرارة أدناها 70° م.

2.3.6. تسخن القنينة لمدة 15 دقيقة في حمام مائي حتى الغليان (5.4) ثم يرج عدة مرات.

3.3.6. تترك القنينة ومحتواها ليبرد في درجة حرارة المحيط. يضاف بالتتابع، 2 ملل من الكاشف I (1.1.3) و 2 ملل من الكاشف II (2.1.3). تخلط بعناية بعد كل إضافة.

4.3.6. ينقل الخليط في قنينة مدرجة سعتها 200 ملل (3.4) يكمل الحجم بالماء حتى خط المعلم ثم يخلط. يترك لمدة 30 دقيقة في درجة حرارة المحيط.

5.3.6. يترك الخليط ليترسب بعناية، ثم يرشح السائل الطافي على ورق الترشيح ذي طيات (7.4) بطريقة يتم فيها الحصول على محلول شفاف.

4.6. جهاز قياس شدة التلوين :

1.4.6. تؤخذ بواسطة ماصة قطعة صغيرة من الرشاحة (5 ملل) على أن لا تتعدى 25 ملل وتوضع في قنينة مدرجة سعتها 100 ملل (3.4) يضاف الماء حتى نتحصل على حجم يقارب 60 ملل.

2.4.6. يضاف 10 ملل من المحلول I (1.3.3) ثم 6 ملل من المحلول III (3.3.3) يخلط و يترك المحلول لمدة 5 دقائق في درجة حرارة المحيط وفي الظلام.

3.4.6. تضاف 2 ملل من المحلول II (2.3.3) ثم يخلط ويترك لمدة 3 إلى 10 دقائق في درجة حرارة المحيط وفي الظلام.

يكمل الحجم بالماء حتى خط المعلم.

4.4.6. يقاس امتصاص المحلول الملون بواسطة جهاز قياس الامتصاص الضوئي الكهربائي أو بواسطة جهاز قياس الكثافة الضوئية (6.4) في أنبوب صغير مساره الضوئي 1 سم و طول موجته حوالي 538 نانومتر.

ملاحظة :

إذا كان امتصاص المحلول الملون المتحصل عليه انطلاقا من العينة أعلى من الامتصاص الضوئي للمحلول المرجعي الأكثر تركيزا، تكرر العمليات المشار إليها في النقطة (4.6) بتخفيض كمية الرشاحة المقتطعة بواسطة الماصة (1.4.6).

5.6. عدد التحديدات :

يجرى تحديدان منفصلان انطلاقا من العينات المقتطعة من نفس العينة للتجربة.

6.6. المنحنى المرجعي :

1.6.6. تنقل على التوالى بواسطة ماصة وفي أربع قنينات مدرجة حجمها 100 ملل (3.4)، 10 ملل من الماء و 10 ملل من المحاليل المرجعية الثلاثة لنتريت الصوديوم (2.3)، تمثل 2,5 و5,0 و 10,0 ميكروغرام في المليلتر.

2.6.6. نضيف الماء في كل قنينة للحصول على حجم 60 ملل تقريبا ونعمل كما في النقط (2.4.6) إلى (4.4.6).

3.6.6. نرسم منحنى مرجعيا بتدوين قيمة الامتصاصات المقاسة بدلالة التركيزات، بالميكروغرام في المليلتر، للمحاليل المرجعية.

7. التعبير عن النتائج :

1.7. طريقة الحساب والصيغة :

تحسب نسبة النتريت في العينة المعبر عنها بالغرام من نتريت الصوديوم في الكيلوغرام بواسطة الصيغة الآتية :

$$\frac{2000}{ك \times ح} \times ت = Na\ NO_2$$

حيث :

ك : كتلة العينة للتجربة بالغرام.

ح : الحجم بالمليلتر للجزء الصغير من الرشاحة (1.4.6) المقتطع لتحديد الامتصاص الضوئي.

ت : تركيز نتريت الصوديوم، معبر عنها بالميكروغرام في المليلتر، مقروء على المنحنى المرجعي و الموافق لامتصاص المحلول المحضر انطلاقا من العينة المأخوذة للتجربة (4.4.6).

يؤخذ كنتيجة، المعدل الجبري لتحديدين، إذا توفرت شروط التكرارية (2.7). يعبر عن النتيجة بتقريب 1 مغ في الكيلوغرام من المنتوج.

2.7. التكرارية :

يجب ألا يتعدى الفرق بين نتائج تحديدين مجريين على التوالي أو بسرعة الواحد تلو الآخر من طرف نفس المحلل، 10% من القيمة المتوسطة.

وزارة التجـارة

قرار مؤرّخ في 12 جمـادى الثـانيـة عام 1427 الموافق 8 يوليو سنة 2006 ، يجعل منهج تحديد نسبة الآزوت القـاعدي المتبـخر الإجمـالي في منـتوجات الصيد البحري إجباريا.

إن وزير التجارة،

– بمقتضى المرسوم الرّئاسيّ رقم 06 – 176 المؤرخ في 27 ربيع الثاني عام 1427 الموافق 25 مايو سنة 2006 والمتضمن تعيين أعضاء الحكومة،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 90 – 39 المؤرخ في3 رجب عـام 1410 المـوافق 30 يـنـايـر سـنـة1990 والمتعلق بمراقبة الجودة وقمع الغش، المعدل والمتمم،

– وبمقـتـضى المـرسـوم الـتـنـفـيـذي رقم 02 – 453 المؤرخ في 17 شوال عام 1423 الموافق 21 ديسمبر سنة 2002 الذي يحدد صلاحيات وزير التجارة،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 04– 189 المؤرخ في 19 جمـادى الأولى عـام 1425 المـوافق7 يـوليـو سـنـة 2004 الذي يحدد تدابير حفظ الصحة والنظافة المطبقة على منتوجات الصيد البحري و تربية المائيات،

يقرر ما يأتي :

المادة الأولى : تطبيقا لأحكام المادة 19 من المرسوم التـنـفـيـذي رقم 90 – 39 المؤرخ في 3 رجب عـام 1410 المـوافق 30 يـنـايـر سـنـة 1990، المـعـدل والمـتـمم والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج تحديد نسبة الآزوت القاعدي الإجمالي المتبخر في منتوجات الصيد البحري إجباريا.

المادة 2 : من أجل تحديد نسبة الآزوت القاعدي الإجمالي المتبخر في منتوجات الصيد البحري، فإن مخابر مراقبة الجودة و قمع الغش و المخابر المعتمدة لهذا الغرض ملزمة باستعمال المنهج المبين في الملحق .

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

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

حرر بالجزائر في 12 جمادى الثانية عام 1427 الموافق 8 يوليو سنة 2006.

الهاشمي جعبوب

الملحق

منهج تحديد نسبة الآزوت القاعدي المتبخر الإجمالي في منتوجات الصيد البحري

1. تعريف :

تنطبق تسمية آزوت قاعدي متبخر إجمالي على المجموعة المتكونة من الآمونياك و الآمينات المتبخرة.

تتناسب كمية الآزوت القاعدي المتبخرالإجمالي لمادة غذائية، مباشرة مع مستوى الهدم البروتيني.

2 . مبدأ المعايرة :

يتم جرالآزوت القاعدي المتبخر الإجمالي المزاح بواسطة كربونات الليتيوم (قاعدة ضعيفة لاتحلل لا اليوريا، لاالبروتيدات ولا الأحماض الأمينية) ببخار الماء. تعاير القطارة بحمض الكبريت.

3 . التجهيزات :

– إناء كروي بيركس سعته 500 ملل،

– جهاز مبرد،

– جهاز موصول بأنبوب مبرد مستقيم،

– بيشرسعته 100 ملل.

تبين التجربة أنه من المستحسن استعمال جهاز ذو ترويض كروي مثبت بملاقط، تتفكك بسهولة حتى في الحرارة وتضمن كتيمية كافية.

4 . الكواشف :

1.4 ماء حديث التقطير.

2.4 سيليكون رودورسيل (Rhodorsil) مانع لتكوين الرغوة). (*)

3.4 فيروسيانور البوتاسيوم 15% في الماء.

4.4 أستات الزنك 30% في الماء.

5.4 محلول فينول فتاليين 2% في كحول ذو 90°.

6.4 محلول كربونات الليثيوم حتى التشبع (حوالي 8%).

7.4 محلول مائي لأليزارين السلفونات الصوديوم 0,5%.

8.4 محلول حمض الكبريت 0,1 نظامية.

5 . طريقة العمل :

– توزن 10غ من المنتوج المراد تحليله. إذا كان المنتوج محفوظ في الزيت (سردين معلب) أو في سائل (سمك التونة على الحالة الطبيعية)، يجب تجفيفه بين أوراق الترشيح.

– يوضع في قارورة أسطوانية الشكل سعتها 250 ملل (عريضة الفتحة) مع 50 ملل من الماء المقطر.

– يسحق بواسطة جهاز خلط سريع.

– يسكب المسحوق داخل الإناء الكروي لجهاز التقطير.

– تغسل القارورة وساق جهاز السحق بواسطة 50 ملل من الماء.

تسكب مياه الغسل داخل الإناء الكروي. ثم يضاف على التوالي مع الرج في كل مرة :

– 3 قطرات من رودورسيل (Rhodorsil)،

– 1 ملل من محلول فيروسيانور البوتاسيوم،

– 1 ملل من محلول أستات الزنك،

– 5 قطرات من محلول فينول فتاليين،

– 20 ملل من محلول كربونات الليثيوم.

يرافق هذه الإضافة الأخيرة تغييرا في لون الفينول فتاليين إلى الأحمر الخالص.

يربط الإناء الكروي مباشرة بالمبرد النازل الذي يدخل طرفه داخل بيشر سعته 100 ملل يحتوي على20 ملل من الماء المقطر و 5 قطرات من الأليزارين. يجب أن تسقط القطارة مباشرة في هذا الخليط، بحيث يكون الطرف الأسفل للمبرد مغمورا.

يسخن الإناء الكروي حتى الغليان، وعند بداية تغير الأليزارين إلى اللون البنفسجي ، تواصل عملية التقطير لمدة 10 دقائق.

(*) يسمح المركب المتكون من السيليكون المانع لتشكل الرغوة المضايقة بتسخين سريع، يحقق كل من فيروسيانور البوتاسيوم و أستات الزنك عملية التصفية التي تضمن حجز البروتيدات.

كما أن إضافة بعض جزيئات من حجر الكدان الكبريتية تنظم عملية الغليان.

يفصل الإناء الكروي عن المبرد.

يغسل جهاز التقطير و تجمع مياه الغسل داخل البيشر.

يعاير الآزوت القاعدي المتبخر الإجمالي بواسطة محلول حمض الكبريت 0,1 نظامية ، بتغير لون الأليزارين إلى الأصفر القشي.

6 . التعبير عن النتائج :

يعبرعن الآزوت القاعدي المتبخر الإجمالي بالآمونياك (NH_3= 17).

ترد النتيجة إلى 100غ من المنتوج.. ليكن ن عدد المليلترات من حمض الكبريت 0,1 نظامية المستعمل للتعديل.

لدينا :

الآزوت القاعدي المتبخر الإجمالي A.B.V.T (مغ/100غ = 1,7 x ن x 10 =17ن)

★

قرار مؤرخ في 12 جمادى الثانية عام 1427 الموافق 8 يوليو سنة 2006، يجعل منهج تحديد الهستامين في منتوجات الصيد البحري بواسطة كروماتوغرافيا في طور سائل ذات دقة عالية إجباريا.

إن وزير التجارة،

– بمقتضى المرسوم الرئاسي رقم 06-176 المؤرخ في 27 ربيع الثاني عام 1427 الموافق 25 مايو سنة 2006 والمتضمن تعيين أعضاء الحكومة،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 90-39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة1990 والمتعلق بمراقبة الجودة و قمع الغش، المعدل و المتمم،

– 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 04 ـ 189 المؤرخ في 19 جمادى الأولى عام 1425 الموافق 7 يوليو سنة 2004 الذي يحدد تدابير حفظ الصحة و النظافة المطبقة على منتوجات الصيد البحري و تربية المائيات،

يقرر ما يأتي:

المادة الأولى : تطبيقا لأحكام المادة 19 من المرسوم التنفيذي رقم 90 ـ 39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990، المعدل والمتمم والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج تحديد نسبة الهستامين في منتوجات الصيد البحري بواسطة كروماتوغرافيا في طور سائل ذات دقة عالية إجباريا.

المادة 2 : لتحديد نسبة الهستامين في منتوجات الصيد البحري بواسطة كروماتوغرافيا في طور سائل ذات دقة عالية ، فإن مخابر مراقبة الجودة و قمع الغش والمخابر المعتمدة لهذا الغرض ملزمة باستعمال المنهج المبين في الملحق .

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

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

حرر بالجزائر في 12 جمادى الثانية عام 1427 الموافق 8 يوليو سنة 2006.

الهاشمي جعبوب

الملحـــق

منهج لتحديد نسبة الهستامين في منتوجات الصيد البحري بواسطة كروماتوغرافيا في طور سائل ذات دقة عالية.

1. موضوع :

يبين هذا المنهج معايرة الهستامين في سمك التونة أو السردين أو الاسقمري أو البلم أو أي منتوج بحري طازج أو مجمد أو معالج بالدخان مجفف أو معالج على طريقة آبرت (appertisé) أو تعرض لأي معالجة أخرى.

الهستامين عبارة عن أمين ناتج عن هدم الهستيدين بنزع الكربون. يمكن أن يؤدي تواجدها في السمك، بنسب أعلى من 10مغ/ 100غ إلى تسممات.

2. المبدأ :

تذوب الهستامين في حمض ثلاثي كلوروأستيك ، تركب مع الأورتوفتال ألدهيد، تفصل بواسطة

الكروماتوغرافيا في طور سائل ذات دقة عالية على أطوار معكوسة، ثم يكشف عنها بواسطة القياس الفليورومتري.

3. التجهيزات :

- جهاز سحق،
- ميزان،
- مضخة إيزوقراطية لكروماتوغرافيا في طور سائل،
- محقنة من نوع RHEODYNE ذات حلقة حقن لـ 20 ميكرولتر،
- عمود C18 (20 سم × 4 مم) : سيليس كروية 5 ميكرومتر مدخلة C18 مع احتمال إضافة عمود مسبق،
- كاشف فليورومتري ذو تدفق مستمر مع خلية لـ 20 ميكرولتر،
- مسجل مكامل،
- احتمال استعمال محضر ذاتي- محقن أتوماتيكي.

4. الكواشف :

محلول حمض ثلاثي كلورواستيك (TCA) 20 %،

- ثنائي كلورهيدرات الهستامين (184,07ميليمولارية)،
- محلول الهستامين ذو تركيز 3,33مغ/ملل،

يذوب 165,6 مغ من ثنائي كلورهيدرات الهستامين في 100ملل من ثلاثي كلوروأستيك (TCA) 10%،

يخفف إلى 3/1 ثم إلى 100/1

- محلول أورتوفتال ألدهيد (OPA) تركيزه 10 مغ/ملل في الميثانول،
- محلول الصودا 2 نظامية،
- محلول حمض الكلوريدريك 3 نظامية،
- أسيتونيتريل للكروماتوغرافيا في طور سائل ذات دقة عالية،
- محلول تركيزه 1 ميليمولارية من ثنائي البوتاسيوم هيدروجينوفوسفات (K2HPO4)، تذوب 174,2مغ من K2HPO4 في لتر واحد من ماء ذو نقاوة عالية،
- محلول العابر في الكروماتوغرافيا : 40 % من أسيتونتريل و 60 % من محلول K2HPO4 تركيزه 1 ميليمولارية،
- مرشحة 5 ميكرومتر،
- ورق ترشيح ذو طيات رقم 127

5. طريقة العمل :

1.5 تحضير مصفى (défécat) ثلاثي كلورواستيك :

تسحق و تجانس عينة ممثلة تزن 200غ تقريبا وتقتطع العينة للتجربة مباشرة.

1.1.5 حالة السمك الطازج و المجمد :

تجانس 100غ من العينة مع 50 ملل من الماء في جهاز للسحق ثم تضاف 50 ملل من محلول ثلاثي كلوروأستيك (TCA) 20 % يخلط من جديد ثم يرشح في ورق ترشيح ذو طيات رقم 127.

2.1.5 حالة السمك المعلب :

نفس الطريقة السابقة بأخذ 50غ من اللحم المقطر، 50 ملل من الماء و 50 ملل من محلول ثلاثي كلوروأستيك (TCA) 20 % .

3.1.5 حالة السمك نصف المعلب :

نفس الطريقة ، بأخذ 40غ من لحم السمك و 100ملل من الماء و 50 ملل من محلول ثلاثي كلوروأستيك (TCA) 20 %.

2.5 تفاعل التركيب مع أورتوفتال ألدهيد :

يخفف جزء صغير من الرشاحة الى 10/1 في ماء خال من المواد المعدنية ثم يرشح في مرشحة 5 ميكرولتر.

يمكن إجراء بقية التفاعل يدويا أو بواسطة محضر - محقن ذاتي.

تقتطع 100 ميكرولتر من المحلول المخفف الى 10/1 و يضاف إليه 900 ميكرولتر من الماء ذو نقاوة عالية ثم نجعل المحلول قاعدي بإضافة 200 ميكرولتر منNaOH (2 نظامية) ثم يضاف 100ميكرولتر من محلول

أورتوفتال ألدهيد (OPA) (10ملغ/ملل)، ينتظر لمدة أربع دقائق ثم يوقف التفاعل بإضافة 150ميكرولتر من HCl (3 نظامية).

يرج الأنبوب جيدا بعد إضافة كل كاشف مع المراعاة الدقيقة لوقت التركيب أي أربع دقائق.

3.5 العبور في الكروماتوغرافيا :

– التدفق : 1ملل/دقيقة،

– المذيب العابر في الكروماتوغرافيا : 40 % من الاسيتونتريل و60 % من محول 1 K2HPO4 ميليمولارية،

– الحجم المحقن : 20 ميكرولتر،

– كشف فليورومتري : طول موجة التهيج 360 نانومتر و طول موجة الإرسال 450 نانومتر،

– تسجيل و تكامل مساحات منحنيات الهستامين،

– مدة عبور المحلول في الكروماتوغرافيا هي 6 دقائق تقريبا.

المعايرة الخارجية (بالمحضر الذاتي) :

– 100 ميكرولتر من محلول الهستامين تركيزه $10.3,33^{-3}$ ملغ/ملل

– 900 ميكرولتر من الماء،

– 200 ميكرولتر من NaOH 2 نظامية،

– 100 ميكرولتر من أورتوفتال ألدهيد (OPA) 10 ملغ/ملل، انتظار 4 دقائق،

– 150 ميكرولتر من HCl نظاميته 3، العبور في كروماتوغرافيا في طور سائل ذات دقة عالية.

تحتوى 20 ميكرولتر المحقنة على 4,6 مغ من الهستامين.

إذا كانت نسبة الهستامين ضعيفة، يجرى تفاعل التركيب على مصفى (défécat) ثلاثي كلوروأستيك (TCA) غير مخفف أو ذو تخفيف ضعيف و العكس، إذا كانت هذه النسبة مرتفعة، يخفف المصفى (défécat) بطريقة يمكن الحصول فيها على قراءة كروماتوغرافية قريبة من المحلول النموذجي.

يجرى تحديدان إثنان على نفس المصفى (défécat) المحضر.

6. التعبير عن النتائج :

1.6 الحساب :

نسبة الهستامين المعبر عنها بالملغرام لـ 100غ من العينة هي :

$$هـ = 6,66 \times \frac{م}{م ن}$$ سمك طازج أو مجمد

$$هـ = 10 \times \frac{م}{م ن}$$ سمك معلب

$$هـ = 15,83 \times \frac{م}{م ن}$$ سمك نصف معلب

حيث :

م ن : مساحة منحنى الهستامين للعينة النموذجية،

م : مساحة منحنى الهستامين للعينة المراد تحليلها،

يؤخذ كنتيجة المعدل الجبري لتحديدين، إذا توفرت شروط التكرارية.

يعبر عن النتيجة :

– بتقريب 0,5مغ (القيمة المطلقة) لنسب أقل من 10مغ/ 100غ،

– بتقريب 1مغ (القيمة المطلقة) لنسب أكبر من 10مغ / 100غ.

2.6 التكرارية :

يجب أن لا يتعدى الفرق بين نتيجتي تحديدين منجزين من طرف نفس المحلل 5 % من القيمة النسبية.

3.6 عتبة الكشف :

– سمك طازج أو مجمد : 0,5مغ/ 100غ،

– سمك معلب : 0,75مغ/100غ،

– سمك نصف معلب : 1مغ / 100غ.

وزارة التجـارة

قرار مؤرخ في 12 جمادى الثانية عام 1427 الموافق 8 يوليو سنة 2006، يجعل منهج البحث و التعرف على المواد المنشطة في اللحم والمنتوجات اللحمية 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 1990 والمتعلق بمراقبة الجودة و قمع الغش، المعدل والمتمم،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 02-453 المؤرخ في 17 شوال عام 1423 الموافق 21 ديسمبر سنة2002 الذي يحدد صلاحيات وزير التجارة،

– وبمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرخ في 19 شوال عام 1417 الموافق 26 فبراير سنة 1997 والمتعلق بشروط تحضير المرقاز و تسويقه،

– وبمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرخ في 29 جمادى الثانية عام 1420 الموافق 29 سبتمبر سنة 1999 الذي يحدد قواعد تحضير اللحوم المفرومة عند الطلب ووضعها للاستهلاك،

– وبمقتضى القرار المؤرخ في 24 ربيع الثاني عام 1421 الموافق 26 يوليو سنة 2000 والمتعلق بالقواعد المطبقة على تركيبة المنتوجات اللحمية المطهية ووضعها رهن الاستهلاك، المعدّل والمتمّم،

يقرر ما يأتي :

المادة الأولى : تطبيقا لأحكام المادة 19 من المرسوم التنفيذي رقم 90-39 المؤرخ في 3 رجب عام1410 الموافق 30 يناير سنة 1990، المعدّل والمتمّم، المذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج البحث والتعرف على المواد المنشطة في اللحوم و المنتوجات اللحمية إجباريا.

المادة 2 : من أجل البحث والتعرف على المواد المنشطة في اللحوم والمنتوجات اللحمية، فإن مخابر مراقبة الجودة وقمع الغش و تلك المعتمدة لهذا الغرض ملزمة باستعمال المنهج المبين في الملحق.

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

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

حرر بالجزائر، في 12 جمادى الثانية عام 1427 الموافق 8 يوليو سنة 2006.

الهاشمي جعبوب

الملحق

منهج البحث و التعرف على المواد المنشطة في اللحم والمنتوجات اللحمية

1. مجال التطبيق :

يسمح هذا المنهج بالبحث وتحديد المواد المنشطة (قائمة رقم I) في اللحم والمنتوجات اللحمية.

2. المبدأ :

تستعمل الكروماتوغرافيا على طبقة رقيقة لفصل مختلف المكونات التي يكشف عنها فيما بعد على شكل بقع مختلفة الألوان. تسمح الوضعية النسبية ولون هذه البقع بالتعرف عليها. هذا الاختبار نوعي فقط.

3. الكواشف :

1.3 بلورات النماذج المرجعية

1.1.3 محلول العمل في الميثانول (50 نانوغرام/ مكرولتر) يحفظ في الثلاجة في 4°م لمدة 3 أشهر.

2.3 محلول الجر (مواد نقية للتحليل)

كلوروفورم/ميثانول (98 + ح/ح)

يحضر الحوض 3 ساعات قبل وضع العينة.

يحفظ لمدة أقصاها 48 سا.

3.3 مظهِر بعد الهجرة – خليط حمض الكبريت/ إيثانول (50 + 50 : ح/ح).

يحفظ في درجة حرارة المحيط.

4.3 صفائح CCM 20 x 20 أو HPTLC 10 x 10 سم.

4. التجهيزات

1.4 فوهة ماصة للهواء

2.4 مجفف ذو 100°م

3.4 مصدر هواء ساخن

4.4 جهاز تبخير

5.4 جهاز الكشف الضوئي (Transilluminateur)

6.4 حوض اكروماتوغرافيا

7.4 حقن سعتها 5 ميكرولتر

5. طريقة العمل :

1.5 الاستخلاص :

يجرى عادة بواسطة الميثانول (ح/ح) أو الإيثيرالإيثيلي (ح/ح). فيما يخص مناطق الحقن، ينصح بإجراء عملية الطرد المركزي أو عملية الترشيح بعد سحق المناطق التي تبعث على الشك.

2.5 وضع العينة فوق صفيحة الكروماتوغرافيا (4.3).

1.2.5 وضع أولي لجزء صغير من المحلول الأصلي (1ميكرولتر) ومن المستخلص (10ميكرولتر).

2.2.5 وفقا للنتائج (1.2.5) توضع النماذج المترقبة والعينة بتراكيز مختلفة (يمكن إجراء عملية تبخير مسبقا).

3.5 هجرة على مسافة 7 سم في حجرة مشبعة تحتوي على 50 ملل من الخليط كلوروفورم/ميثانول (2.3).

يترك ليجف في الهواء الطلق.

4.5 تبخير بواسطة محلول حمض الكبريت 50% في الايثانول (3.3).

نحدد البقع الملوَّنة.

توضع الصفائح في مجفف ذو100°م لمدة 10 دقائق.

5.5 قراءة في جهاز الكشف الضوئي (Transilluminateur)

6.5 عملية التعرف :

بالمقارنة بين لون البقع التي تظهر في المستخلص والنماذج المرجعية (قائمة رقم II).

7.5 التأكيد :

1.7.5 كو- كروماتوغرافيا (Co-Chromatographie) :

يضاف إلى موضع العينة 1ميكرولتر من المحلول النموذجي الموافق.

نواصل (2.5) و(3.5) و(4.5) و(5.5).

التحقق بعد عملية الإظهار والمرور عبر جهاز الكشف الضوئي (Transilluminateur) من عدم ظهور أي بقعة جديدة إلا تكثيفا في البقعة المشكوك فيها.

قائمة رقم I

المواد المنشطة التي يجرى البحث عنها

كلورما دينون الاسيتات

ثنائي إثيل ستيلبو استرول (D.E.S)

ثنائي إثيل ستيلبو استرول ديسبروبيونات

ثنائي الانسترول

ثنائي الانسترول ثنائي الاسيتات

نيكزواسترول

نيدروكسي بروجسترون هبتانوات

نيدروكسي بروجسترون

نيدروكسي بروجسترون اسيتات

نورتستوسترون

نورتستوسترون بروبيونات

نورتستوسترون ديكانوات

نورتستوسترون لوريات

اوستراديول 17. ∝

اوستراديول ثنائي الاسيتات

اوستراديول ثنائي البروبيونات

اوستراديول بنزوات

اوستراديول ايثنيل

بروجسترون

تستوسترون

تستوسترون بروبيونات

تستوسترون انانثات

تستوسترون (ميثيل)

ترنبولون اسيتات

زيرانول.

قائمة رقم II

النماذج المرجعية

اوستراديول – 1

+ تستو ستررون – 2

اسيتات ترنبولون – 2

+ ثنائي إثيل ستيلبو استرول – 1

ميثيل تستوسترون – 1

+ بروجسترون – 2

ميدروكسي بروجسترون اسيتات – 1

+ بروبيونات – 2 التستوسترون

ناندرولون ديكانوات

ناندرولون – 1

+ ثنائي إثيل ستيلبو استرول ثنائي البروبيونات – 2

اوستراديول بنزوات

كولسترول – 2

+ ايثلان اوستراديول – 1

قرارات، مقرّرات، آراء

وزارة التجارة

قرار مؤرخ في 19 محرم عام 1436 الموافق 12 نوفمبر سنة 2014، يجعل منهج تحديد نسبة الهيدروكسيبرولين في اللحوم ومنتجات اللحوم إجباريا.

إن وزير التجارة،

– بمقتضى المرسوم الرئاسي رقم 14–154 المؤرخ في 5 رجب عام 1435 الموافق 5 مايو سنة 2014 والمتضمن تعيين أعضاء الحكومة،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 90–39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990 والمتعلق 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 05–465 المؤرخ في 4 ذي القعدة عام 1426 الموافق 6 ديسمبر سنة 2005 والمتعلق بتقييم المطابقة،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 12–214 المؤرخ في 23 جمادى الثانية عام 1433 الموافق 15 مايو سنة 2012، الذي يحدد شروط وكيفيات استعمال المضافات الغذائية في المواد الغذائية الموجهة للاستهلاك البشري،

– وبمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرخ في 19 شوال عام 1417 الموافق 26 فبراير سنة 1997 والمتعلق بشروط تحضير المرقاز وتسويقه،

– وبمقتضى القرار المؤرخ في 24 ربيع الثاني عام 1421 الموافق 26 فبراير سنة 2000 والمتعلق بالقواعد المطبقة على تركيبة المنتوجات اللحمية المطهية ووضعها رهن الاستهلاك، المعدل والمتمم،

يقرر ما يأتي :

المادة الأولى : تطبيقا لأحكام المادة 19 من المرسوم التنفيذي رقم 90–39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990، المعدل والمتمم والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج تحديد نسبة الهيدروكسيبرولين في اللحوم ومنتجات اللحوم إجباريا.

المادة 2 : من أجل تحديد نسبة الهيدروكسيبرولين في اللحوم ومنتجات اللحوم، فإن مخابر مراقبة الجودة وقمع الغش والمخابر المعتمدة لهذا الغرض، ملزمة باستعمال المنهج المبين في الملحق المرفق بهذا القرار.

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 محرم عام 1436 الموافق 12 نوفمبر سنة 2014.

عمارة بن يونس

الملحق

منهج تحديد نسبة الهيدروكسيبرولين – اللحوم ومنتجات اللحوم –

يبين هذا المنهج تقنية لتحديد نسبة الهيدروكسيبرولين لجميع أنواع اللحوم ومنتجات اللحوم، بما فيها الدواجن.

يطبق هذا المنهج على اللحوم ومنتجات اللحوم التي لا تحتوي على أكثر من 0,5 % (ك/ك) من الهيدروكسيبرولين.

1. التعريف

لمتطلبات هذا المنهج يطبق التعريف الآتي :

نسبة الهيدروكسيبرولين في اللحوم ومنتوجات اللحوم : نسبة الهيدروكسيبرولين المحددة وفقا لطريقة العمل المبيّنة في المنهج.

ويعبّر عنها بالنسبة المئوية في الكتلة.

2. المبدأ

تحلل العينة المأخوذة للتجربة بواسطة حمض الكبريت في درجة حرارة 105 °م. ثم يتم ترشيح وتخفف الحلامة. يؤكسد الهيدروكسيبرولين بواسطة كلورامين T حيث يتشكل مركب أحمر اللون مع *p* – ثنائي مثيل أمينو بنزالدهيد (*p*-diméthylamino-benzaldéhyde) ثم يجرى قياس ضوئي على طول موجة 558 نانومتر.

3. الكواشف

تستعمل فقط كواشف ذات نوعية تحليلية معترف بها وماء مقطر أو منزوع المعادن أو على الأقل ماء ذي نقاوة معادلة.

1.3 حمض الكبريت، محلول تركيزه (H_2SO_4) ≈ 3 مول/ل.

توضع 750 ملل من الماء في حوجلة مدرجة سعتها 2 ل ويضاف 320 ملل من حمض الكبريت المركز ببطء مع التحريك، ($\rho 20$ = 1,84 غ/ملل). يبرد في درجة حرارة الوسط ويكمل الحجم بالماء إلى خط التدرج.

2.3 محلول مثبّت، العامل الهيدورجيني (pH) = 6,8 ومكون من :

– 26 غ من حمض السيتريك أحادي الإماهة ($C_6H_8O_7,H_2O$)،

– 14 غ من هيدروكسيد الصوديوم،

– 78 غ من أسيتات الصوديوم خال من الماء [$Na(CH_3CO_2)$].

تذوّب الكواشف في 500 ملل من الماء، وتنقل كميا في حوجلة مدرجة سعتها 1 ل. يضاف 250 ملل من البروبانول-1 ويكمل الحجم بالماء إلى خط التدرج.

يبقى هذا المحلول ثابتا لعدة أسابيع إذا حفظ في درجة حرارة 4 °م وبعيدا عن الضوء.

3.3 كاشف بالكلورامين T، يذوب 1,41 غ من N– كلورو–p– تولوان سولفوناميد (N-chloro- p -toluène sulfonamide)، ملح الصوديوم ثلاثي الإماهة (كلورامين T) في 100 ملل من المحلول المثبّت (2.3).

يجب أن يحضر هذا المحلول مباشرة قبل الاستعمال.

4.3 كاشف ملون،

يذوب 10 غ من p – ثنائي مثيل أمينو بنزالدهيد (*p*-diméthylamino-benzaldéhyde) في 35 ملل من حمض بركلوريك [60 % (ك/ك)]، ثم يفرغ ببطء 65 ملل من بروبانول-2.

يجب أن يحضر هذا المحلول يوم استعماله.

إذا كان من الضروري تصفية *p*– ثنائي مثيل أمينو بنزالدهيد (*p*-diméthylamino-benzaldéhyde) (الملاحظة 3 في 4.7) تجرى العملية كما يأتي :

يحضّر محلول مشبع من p– ثنائي مثيل أمينو بنزالدهيد (*p*-diméthylamino-benzaldéhyde) في الإيثانول بـ 70 % (ح/ح) في وجود الحرارة. يبرد أولا في درجة حرارة الوسط ثم في الثلاجة. بعد حوالي 12 سا، يرشح في قمع بوشنر (buchner). يغسل بقليل من الإيثانول بـ 70 % (ح/ح) في وجود الحرارة. يضاف الماء المجمد ويحرك بعناية. تتبع هذه العمليات حتى الحصول على كميات كافية من أجسام بلورية بيضاء لبنية. تترك ليلية واحدة في الثلاجة. ترشح في قمع بوشنر (buchner)، تغسل بواسطة ايثانول بـ 50 % (ح/ح)، ثم تجفف تحت ضغط مخفف في وجود أوكسيد الفوسفور (ح).

5.3 الهيدروكسيبرولين، محاليل معيارية.

في حوجلة مدرجة سعتها 100 ملل، يحضّر المحلول الأم بإذابة 50 مغ من حمض هيدروكسيبروليدين – α –

كاربونيك (هيدروكسيبرولين) في الماء. تضاف قطرة من محلول حمض الكبريت (1.3) ويكمل الحجم بالماء إلى خط المعلم. يبقى هذا المحلول ثابتا لمدة شهر واحد على الأقل في درجة حرارة 4°م.

يوم الاستعمال، يوضع في حوجلة مدرجة سعتها 500 ملل، 5 ملل من المحلول الأم ويكمل الحجم بالماء إلى خط المعلم. تحضّر بعدها أربعة (4) محاليل معيارية بأخذ 10 ملل و20 ملل و30 ملل و40 ملل من هذا المحلول ويكمل بالماء إلى 100 ملل للحصول على تراكيز الهيدروكسيبرولين على التوالي 0,5 ميكروغرام/ملل، 1 ميكروغرام/ملل، 1,5 ميكروغرام/ملل، 2 ميكروغرام/ملل.

4. التجهيزات

الأجهزة المتداولة في المخبر ولا سيما ما يأتي :

1.4 آلة فرم اللحم، ذات شفرات أفقية سريعة الدوران.

2.4 دورق كروي للتحليل المائي، ذو قاع دائري أو مسطح، مع عنق عريض، سعته حوالي 200 ملل.

3.4 فرن التجفيف، يضبط في 105°م ± 1°م.

4.4 أقراص ورق الترشيح، قطرها 12,5سم.

5.4 مقياس العامل الهيدروجيني.

6.4 أوراق الألمنيوم أو بلاستيك عتم.

7.4 حمام مائي، مضبوط في درجة حرارة 60°م ± 0,5°م.

8.4 مقياس طيفي، يسمح بقياسات على طول موجة 558 نانومتر ± 2 نانومتر، أو مقياس الألوان الكهربائي، مجهز بمصفاة تداخلية مع امتصاص أقصى في 558 نانومتر ± 2 نانومتر.

9.4 أحواض زجاجية، ذات مسافة ضوئية 10 مم.

10.4 ميزان تحليلي، مضبوط بالتقريب في ± 0,001 غ.

11.4 حوجلة مدرجة، سعتها 250 ملل.

12.4 زجاج الساعة، قطره من 5 سم إلى 6 سم.

5. اقتطاع العيّنات

من الضروري أن يحصل المخبر على عيّنة ممثلّة حقا غير متلفة ولم تتغير أثناء النقل أو التخزين.

يتم العمل على عيّنة ممثلة تزن على الأقل 200 غ.

تحفظ العيّنة بحيث يمنع أي تلف أو تغيير في المحتوى.

6. تحضير العيّنة للتجربة

1.6 اللحوم النيئة ومنتجات اللحم النيىء

باستعمال سكين حاد، يقطع اللحم على شكل مكعبات صغيرة (حجمها حوالي 0,5 سم^3، أي حوالي 8 ملم جانبيا) عندما يكون محتفظا ببرودته (درجة حرارته أدنى بقليل من 0°م).

توضع العيّنة داخل الوعاءالذي يغلق بإحكام، أو يغلق تحت ضغط ضعيف في كيس بلاستيكي مقاوم للحرارة. يسخن فيما بعد الوعاء والعيّنة بحيث تثبت درجة الحرارة الدنيا في 70°م مدة 30 دقيقة على الأقل. يترك ليبرد وتعاد التجربة كما في (2.6).

خلال المراحل الآتية من تحضير العيّنة للتجربة ووزن العيّنة المأخوذة للتجربة، يجرى التأكد من أن العيّنة ممزوجة جيدا وبالخصوص أن تكون الدهون والأجزاء السائلة موزعة بانتظام.

ملاحظة 1 – يسمح هذا العلاج بالحرارة بتطرية النسيج الضام النيىء ويجعله أقل مقاومة لعملية المجانسة بواسطة آلة فرم اللحم.

غير أنه يمكن أن تتسبب هذه المعالجة في فصل سائل يحتوي على الجيلاتين. يمكن أيضا أن يتطلب وجود الدهن رعاية خاصة أثناء تحضير عينة متجانسة.

2.6 اللحوم المطهية ومنتجات اللحم المطهي

تجانس العيّنة في آلة فرم اللحم (1.4). تحفظ العيّنة المجانسة في قارورة مغلقة مسدودة بإحكام ومملوءة كليا وتحفظ بطريقة تمنع كل إتلاف أو كل تغيير في تركيبها.

تحلل العيّنة في أقرب وقت، لكن دائما خلال 24 سا.

7. طريقة العمل

1.7 أخذ عيّنة للتجربة

توزن بتقريب 0,001 غ في الدورق الكروي للتحليل المائي (2.4)، حوالي 4 غ من عيّنة التجربة. يجرى التأكد من عدم بقاء أي مادة ملتصقة على الغشاء الجانبي للدورق.

2.7 التحليل المائي

1.2.7 يضاف 30 ملل ± 1 ملل من محلول حمض الكبريت (1.3) في الدورق. يغطى بزجاج الساعة (12.4) ويوضع الكل في فرن التجفيف (3.4) مدة 16 سا (ليلة واحدة) في درجة حرارة 105° م.

2.2.7 ترشح الحلامة وهي ساخنة فوق قرص ورق الترشيح (4.4)، مع استخلاص الرشاحة في حوجلة مدرجة سعتها 250 ملل (11.4). يغسل ورق الترشيح والدورق ثلاث (3) مرات بواسطة أجزاء من 10 ملل من محلول حمض الكبريت (1.3) وهو ساخن، وتضاف سوائل الغسل للحلامة ثم يكمل الحجم بالماء إلى خط المعلم ثم يمزج.

3.7 تطور اللون وقياس الامتصاص

1.3.7 بواسطة ماصة، يوضع داخل حوجلة مدرجة سعتها 250 ملل (11.4) حجم "ح" من الحلامة (2.2.7) تسمح بالحصول، بعد التخفيف إلى 250 ملل، على تركيز الهيدروكسيبرولين محصور بين 0,5 ميكروغرام/ملل و 2 ميكروغرام/ملل. يكمل الحجم بالماء إلى خط المعلم .

ملاحظة 2 – في معظم الحالات، تكون قيمة "ح" من 5 ملل إلى 25 ملل، حسب كمية النسيج الضام الموجود في العينة.

2.3.7 يوضع 4 ملل من هذا المحلول (1.3.7) في أنبوب اختبار ثم يضاف 2 ملل من الكاشف بالكلورامين T (3.3). يمزج ويترك في درجة حرارة الوسط مدة 20 د ± 1 د.

3.3.7 يضاف 2 ملل من الكاشف الملون (4.3) ويمزج بعناية ويغطى الأنبوب بورقة من الألمنيوم أو من البلاستيك (4.6).

4.3.7 يوضع الأنبوب بسرعة في الحمام المائي (7.4) المضبوط في درجة حرارة 60°م ويسخن مدة 20 دقيقة بالضبط.

5.3.7 يبرد الأنبوب على الأقل 3 دقائق بالمياه الجارية ويترك في درجة حرارة الوسط مدة 30 دقيقة.

6.3.7 تقاس قيمة الامتصاص في 558 نم ± 2 نم بالنسبة للماء داخل حوض زجاجي (9.4) بواسطة المقياس الطيفي أو مقياس الألوان كهربائي مجهز بمصفاة متداخلة (8.4).

7.3.7 تطرح قيمة الامتصاص المقاسة في التجربة على بياض (4.7) ويقرأ تركيز الهيدروكسيبرولين في الحلامة المخففة على منحنى المعايرة المتحصل عليه كما هو مبين في (5.7).

4.7 التجربة على بياض

تجرى العمليات المبينة في (2.3.7) إلى (7.3.7) مرتين، لكن باستبدال الحلامة المخففة بالماء.

ملاحظة 3 – إذا كانت قيمة الامتصاص في التجربة على بياض تتعدى 0,04، يحضر كاشف ملون جديد (4.3) وإذا اقتضى الأمر ينقى الـ *p* – ثنائي مثيل أمينو بنزالدهيد (*p*-diméthylamino-benzaldéhyde) (4.3).

5.7 منحنى المعايرة

1.5.7 تعاد طريقة العمل المبينة في (2.3.7) إلى (7.3.7)، لكن مع 4 ملل من كل من الأربعة محاليل المعايرة المخففة من الهيدوكسيبرولين (5.3) عوضا عن الحلامة المخففة.

2.5.7 تنقل على المنحنى البياني قيم درجة الامتصاص المقاسة والمصححة للتجربة على بياض وبدلالة تراكيز ملائمة مع محاليل معايرة الهيدروكسيبرولين. توصل النقاط مع المبدأ برسم منحنى مستقيم قدر الإمكان.

ينشىء منحنى معايرة جديد لكل سلسلة تحليل.

8. الحساب

تحسب نسبة الهيدروكسيبرولين، لكل عينة مأخوذة للتجربة، بالنسبة المائوية في الكتلة بالاستعانة بالصيغة التالية :

$$\text{ي}_{\text{هـ}} = \frac{6,25\ \text{ت}}{\text{ك} \times \text{ح}}$$

حيث

ي هـ : مقدار الهيدروكسيبرولين، معبر عنه بالنسبة المائوية في الكتلة، متحصل عليه من الصيغة،

ت : تركيز الهيدروكسيبرولين في الحلامة المخففة بالميكروغرام في الميليلتر والمقروءة على منحنى المعايرة،

ك : كتلة العينة المأخوذة للتجربة بالغرام (1.7)،

ح : حجم الجزء النموذجي بالميليلتر للحلامة المأخوذة للتخفيف في 250 ملل (1.3.7).

يعبر عن النتائج بتقريب 0,01 %.

9. الدقة

ثبتت دقة هذا المنهج في تجربة أجريت بين المخابر.

حدد مستوى الاحتمال بـ 95 % للحصول على قيم التكرارية وإعادة التجربة.

1.9 التكرارية

الفرق المطلق بين نتيجتين مستقلتين لتجربة، متحصل عليه من نفس المنهج بوسائل مماثلة خاضعة للتجربة في نفس المخبر وبنفس المجرب باستعمال نفس الأجهزة وفي مجال زمني قصير، يجب أن لا تتعدى قيمة التكرارية r المبينة في الصيغة :

$$r = 0,0131 + 0,0322\ \overline{يهـ}$$

حيث

$\overline{يهـ}$: معدل نتيجتي التجربة لنسبة الهيدروكسيبرولين، معبر عنه بالنسبة المائوية في الكتلة.

ترفض النتيجتان إذا كان الفرق يتعدى القيمة المبنية أعلاه، ويجرى تحديدان جديدان.

2.9 إعادة التجربة

الفرق المطلق بين نتيجتين فرديتين لتجربة، متحصل عليه من نفس المنهج بوسائل مماثلة خاضعة للتجربة في مخابر مختلفة وبمجربين مختلفين باستعمال أجهزة مختلفة، يجب أن لا يتعدى القيمة R المبنية في الصيغة :

$$R = 0,0195 + 0,0529\ \overline{يهـ}$$

حيث

$\overline{يهـ}$: معدل نتيجتي التجربة لنسبة الهيدروكسيبرولين، معبر عنه بالنسبة المائوية في الكتلة.

★

قرار مؤرخ في 30 محرّم عام 1436 الموافق 23 نوفمبر سنة 2014، يجعل منهج البحث عن متعددات الفوسفات في اللحوم ومنتجات اللحوم إجباريا.

إن وزير التجارة،

– بمقتضى المرسوم الرئاسي رقم 14–154 المؤرخ في 5 رجب عام 1435 الموافق 5 مايو سنة 2014 والمتضمن تعيين أعضاء الحكومة،

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

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

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 05–465 المؤرخ في 4 ذي القعدة عام 1426 الموافق 6 ديسمبر سنة 2005 والمتعلق بتقييم المطابقة،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 12–214 المؤرخ في 23 جمادى الثانية عام 1433 الموافق 15 مايو سنة 2012 الذي يحدّد شروط وكيفيات استعمال المضافات الغذائية في المواد الغذائية الموجهة للاستهلاك البشري،

– وبمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرخ في 19 شوال عام 1417 الموافق 26 فبراير سنة 1997 والمتعلق بشروط تحضير المرقاز وتسويقه،

– وبمقتضى القرار المؤرخ في 24 ربيع الثاني عام 1421 الموافق 26 يوليو سنة 2000 والمتعلق بالقواعد المطبقة على تركيبة المنتوجات اللحمية المطهية ووضعها رهن الاستهلاك،

يقرر ما يأتي :

المادة الأولى : تطبيقا لأحكام المادة 19 من المرسوم التنفيذي رقم 90–39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410

الموافق 30 يناير سنة 1990، المعدّل والمتمّم والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج البحث عن متعددات الفوسفات في اللحوم ومنتجات اللحوم إجباريا.

المادة 2 : من أجل البحث عن متعددات الفوسفات في اللحوم ومنتجات اللحوم، فإن مخابر مراقبة الجودة وقمع الغش والمخابر المعتمدة لهذا الغرض، ملزمة باستعمال المنهج المبين في الملحق المرفق بهذا القرار.

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

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

حرر بالجزائر في 30 محرّم عام 1436 الموافق 23 نوفمبر سنة 2014.

عمارة بن يونس

الملحق

منهج البحث عن متعددات الفوسفات

– اللحوم ومنتجات اللحوم –

يحدد هذا المنهج طريقة عمل للبحث عن متعددات الفوسفات الخطية المكثفة في اللحوم ومنتجات اللحوم بعد الفصل بالاستشراب (الكروماتوغرافيا) على الطبقة الرقيقة.

يطبق هذا المنهج فقط للبحث عن متعددات الفوسفات المضافة والتي لا تزال موجودة في العينة أثناء البحث، نظرا لكون الفوسفات يتحلل تدريجيا بالأنزيمات الموجودة في اللحوم ومنتجات اللحوم وكذا معالجة اللحوم أو منتجات اللحوم بالحرارة.

1. المبدأ

تستخلص اللحوم أو منتجات اللحوم بواسطة حمض ثلاثي كلور أستيك. يصفى المصل المتحصل عليه بواسطة خليط إيثانول/أوكسيد ثنائي الإثيليك. يفصل الفوسفات بواسطة الاستشراب على الطبقة الرقيقة. يبحث عن متعددات الفوسفات عن طريق الرش بكواشف لإظهار اللون.

2. الكواشف

يجب أن تكون جميع الكواشف ذات نوعية تحليلية معترف بها. يجب أن يكون الماء مقطرا أو ماء ذا نقاوة مكافئة على الأقل.

لاحتياجات هذا المنهج تستعمل الكواشف التالية :

1.2 حمض ثلاثي كلور أسيتيك.

2.2 أوكسيد ثنائي إثيليك.

3.2 إيثانول، في 95 % (ح/ح).

4.2 مسحوق السيليلوز، ذو نوعية للاستشراب على طبقة رقيقة.

5.2 نشاء قابل للذوبان.

6.2 الخليط المرجعي.

يذوّب، في 100 ملل من الماء،

– 200 ملغ من ثنائي هيدروجين فوسفات الصوديوم أحادي الإماهة ($NaH_2PO_4.H_2O$)،

– 300 ملغ من ثنائي الفوسفات رباعي الصوديوم عشاري الإماهة ($Na_4P_2O_7.10H_2O$)،

– 200 ملغ من ثلاثي الفوسفات خماسي الصوديوم ($Na_5P_3O_{10}$) و

– 200 ملغ من هيكساميتا فوسفات الصوديوم ($(NaPO_3)\ x\ [x > 10]$).

يظل الخليط المرجعي ثابتا في درجة حرارة 4° م لمدة 4 أسابيع على الأقل.

7.2 مذيب التطور

يمزج 140 ملل من كحول إيزوبروبيليك، 40 ملل من محلول حمض ثلاثي كلور أسيتيك بـ 135 غ /ل و0,6 ملل من محلول هيدروكسيد الأمونيوم $\rho_{20} = 0,90$ غ/ملل، بحوالي 25 % (ك/ك).

يحفظ المذيب في قارورة مغلقة بإحكام.

8.2 كاشف الرش I

تمزج كميات متساوية من محلول موليبدات الأمونيوم رباعي الإماهة [$(NH_4)6MO_7O_{24}.4H_2O$] بـ 75 غ/ل ومن حمض النيتريك المركز، $\rho_{20} = 1,40$ غ/ملل. تذوّب 10غ من حمض التارتريك في 100 ملل من هذا المزيج.

يحضر الكاشف يوم استعماله.

9.2 كاشف الرش II

تذاب 0,5 غ من حمض أمينو – 1 نافتول – 2 سولفونيك – 4 في مزيج مكون من 195 ملل من محلول ثنائي سولفيت الصوديوم (ميتابيسولفيت الصوديوم، $Na_2S_2O_5$)

بـ 150 غ/ل ومن 5 ملل من محلول سولفيت الصوديوم (Na_2SO_3) بـ 200 غ/ل. تذاب 40 غ من أسيتات الصوديوم ثلاثي الإماهة ($NaOOCCH_3.3H_2O$) في هذا الخليط.

يحفظ الخليط في الثلاجة في قارورة داكنة مغلقة بإحكام.

يرمى هذا الخليط بعد أسبوع.

ملاحظة – تتخذ كل الاحتياطات المناسبة عند تطبيق طريقة العمل المبينة في هذا المنهج.

3. التجهيزات

الأجهزة المتداولة في المخبر، ولاسيما :

1.3 صفائح زجاجية، منظفة بعناية من الدسم، أبعادها 10 سم x 20 سم.

2.3 جهاز الرش، لتحضير طبقات سمكها 0,25 ملم. إذا لم يتوفر مثل هذا الجهاز، يمكن استخدام صفائح جاهزة للاستعمال على طبقة رقيقة سمكها 0,25 ملم بشرط أن يستعمل النشاء كمالط. الصفائح التي تحتوي على الجبس (كبريت الكالسيوم) غير ملائمة.

3.3 جهاز الخلط الخاص بالمخبر.

4.3 جهاز نازع الرطوبة.

5.3 جهاز ميكانيكي لفرم اللحم، خاص بالمخبر، مزوّد بصفيحة مثقوبة، حيث لا يتجاوز قطر ثقوبها 4 ملم.

6.3 ورق ترشيح متموّج، قطره 15 سم.

7.3 ماصة دقيقة ،سعتها 1 ميكرولتر أو محقنة دقيقة مع برغي ميكرومتري وطرفها المنحني من زجاج.

8.3 إناء التطور، أبعاده ملائمة، غطاؤه محكم الغلق، من أجل تطور الاستشراب على طبقة رقيقة.

9.3 مجفف الشعر، بإمكانه إنتاج تيار هوائي بدرجة حرارة الوسط أو تيار هوائي فاتر.

10.3 جهاز الرش.

11.3 جهاز التجفيف، قابل للضبط في 60° م.

4. العينة

1.4 يجرى العمل على عينة نموذجية وزنها 200 غ على الأقل.

2.4 تحضر العينة للتجربة يوم وصولها إلى المخبر.

5. طريقة العمل

1.5 تحضير صفائح للطبقة الرقيقة

يذاب 0,3 غ من النشاء (5.2) في 90 ملل من الماء المغلى. يبرد ويضاف إليه 15 غ من مسحوق السيليلوز (4.2) ويجانس في جهاز الخلط الخاص بالمخبر(3.3) لمدة دقيقة واحدة.

يوضع هذا الخليط على الصفائح الزجاجية (1.3) بواسطة جهاز الرش (2.3) ويعدل حتى نحصل على طبقة سمكها 0,25 ملم.

تجفف الصفائح بواسطة تيار هوائي لمدة 60 دقيقة في درجة حرارة الوسط بدون تغيير موضعها ثمّ تسخن لمدة 10 دقائق في 100° م.

تحفظ الصفائح داخل جهاز التجفيف (4.3).

من الممكن أيضا استخدام صفائح جاهزة الاستعمال على طبقة رقيقة (2.3).

2.5 تحضير عينة التجربة

تجعل العينة متجانسة بإخضاعها مرتين على الأقل لجهاز فرم اللحم (5.3) وبالمزج. يحتفظ بالعينة في قارورة مغلقة بإحكام و مملوءة كليا وإذا كان ضروريا تحفظ في الثلاجة. يجرى التحليل على العينة حينما أمكن بعد المجانسة ولكن خلال خمس ساعات.

3.5 تحضير المصل

1.3.5 تعجن 50 غ من العينة المأخوذة للتجربة (2.5) مع 15 ملل من الماء درجة حرارته بين 40° م و60° م في بيشر بواسطة ملعقة أو أداة محركة مسطحة، حتى نحصل على كتلة متجانسة في أقل من 5 دقائق في كل الأحوال.

2.3.5 تضاف 10 غ من حمض ثلاثي كلور الأسيتيك (1.2) ثم تمزج بعناية.

3.3.5 توضع فورا في الثلاجة و تترك لمدة ساعة، ثم يجمع المصل المفصول بالتصفية على ورق ترشيح متموّج (6.3).

4.3.5 إذا كانت الرشاحة عكرة، ترج مرة مع حجم مساوٍ من أوكسيد ثنائي الإثيل (2.2) يتخلص من الطبقة الإيثيرية بواسطة ماصة ضيقة ويضاف إلى

الطبقة السائلة حجم مساوٍ من الإيثانول (3.2) ويرج لمدة دقيقة ويترك الخليط يرتاح لبعض دقائق ثم يصفى على ورق ترشيح متموّج (6.3).

4.5 الفصل بالاستشراب

1.4.5 يسكب مذيب التطور (7.2) في إناء التطور (8.3) حتى يصل إلى إرتفاع من 5 إلى 10 ملم على مستوى العمق، ويغلق الإناء بغطائه ويترك ليرتاح لمدة 30 دقيقة على الأقل في درجة حرارة الوسط، ويحفظ من ضوء الشمس والتيارات الهوائية.

2.4.5 توضع 3 ميكرولتر من المصل أو 6 ميكرولتر إذا اتبعت طريقة العمل (4.3.5) للحصول على خليط صاف فوق طبقة السيليلوز (1.5) على خط مسطر بقلم بتقريب 2 سم من الحافة. يتحصل على بقع ضيقة باستعمال 1 ميكرولتر في آن واحد.

يستعمل للتجفيف، التيار الهوائي الدافئ الناتج من مجفف الشعر (9.3).

ملاحظة – يتجنب الهواء الساخن لتفادي التحلل المائي للفوسفات.

3.4.5 توضع في نفس الشروط 3 ميكرولتر من الخليط المرجعي (6.2) فوق الصفيحة على مسافة تتراوح من 1 إلى 1,5 سم ابتداء من بقعة العينة ولكن على نفس المسافة بالضبط من الحافة.

4.4.5 ينزع غطاء الإناء وتوضع صفيحة السيليلوز في الإناء بسرعة لكن بحذر. يعاد الغطاء إلى موضعه في الحين. تطور الصفيحة في درجة حرارة الوسط بعيدا عن ضوء الشمس و التيارات الهوائية.

5.4.5 يواصل التطور حتى يصل المذيب إلى ارتفاع يقدر بحوالي 10 سم ابتداءً من خط القلم. تخرج الصفيحة من الإناء وتترك لتجف إمّا لمدة 10 دقائق في جهاز التجفيف (11.3) مضبوط في 60° م وإمّا لمدة 30 دقيقة في درجة حرارة الوسط وإمّا بواسطة تيار هوائي.

5.5 البحث عن الفوسفات

1.5.5 توضع الصفيحة عموديا في جهاز تحت غطاء وترش الصفيحة قليلا، لكن بطريقة منسجمة وبواسطة كاشف الرش I (8.2).

2.5.5 تجفّف الصفيحة بواسطة التيار الهوائي الدافئ الناتج من مجفّف الشعر. تسخّن بعد ذلك لمدّة ساعة في جهاز التجفيف المضبوط في 100° م للتخلص من البقايا الأخيرة لحمض النيتريك. تخرج الصفيحة من جهاز التجفيف ويتحقق من عدم وجود الرائحة القوية لحمض النيتريك.

3.5.5 تترك الصفيحة لتبرد في درجة حرارة الوسط ثمّ توضع من جديد في جهاز تحت غطاء. ترش الصفيحة قليلا لكن بطريقة منسجمة بواسطة كاشف بالرش II (9.2).

تظهر مباشرة بقع زرقاء.

ملاحظة – لا يكون الرش بواسطة الكاشف II حتما ضروريا. غير أن البقع الزرقاء القاتمة الناتجة عن هذا الكاشف تحسن الكشف بصفة معتبرة.

6. التفسير

تقارن مسافات انتقال بقع الفوسفات المتحصل عليها ابتداءمن العينة مع مسافات انتقال بقع فوسفات الخليط المرجعي.

تظهر دائما بقعة الأرتوفوسفات موجودة. إذا كانت العينة تحتوي على فوسفات مكثف فإنّ بقعة ثنائي الفوسفات و/أو بقع الفوسفات التي لها أعلى درجة تبلور تكون مرئية.

قيم **ن** م للفوسفات في الخليط المرجعي هي :

الأرتوفوسفات من 0,80 إلى 0,90

ثنائي الفوسفات (بيروفوسفات) من 0,50 إلى 0,60

ثلاثي الفوسفاتمن 0,25 إلى 0,35

هيكساميتابوليفوسفات (ملح غراهام) 0

بصفة عامة، تكون قيم **ن** م لمتعدد الفوسفات في مستخلصات اللحوم و منتجات اللحوم نوعا ما منخفضة.

ملاحظة - يمكن الحصول على تصحيحات الفرق لقيم **ن**م للفوسفات في العينة المستخلصة وفي الخليط المرجعي بوضع مستخلص من عينة لحم طازج فوق نفس الصفيحة. بما أنّ اللحم الطازج يحتوي على أحادي الفوسفات فقط، يمكن الحصول على النسبة المائوية للتصحيح بمقارنة مسافات هذه البقعة المعيارية مع البقعة الموافقة للخليط المرجعي.

وزارة التجارة

قرار مؤرّخ في 23 جمادى الأولى عام 1435 الموافق 25 مارس سنة 2014 ، يجعل منهج الكشف عن العوامل الملونة في اللحوم ومنتجات اللحوم عن طريق الاستشراب (الكروماتوغرافيا) على الطبقة الرقيقة إجباريا.

إنّ وزير التّجارة،

– بمقتضى المرسوم الرّئاسيّ رقم 13–312 المؤرّخ في 5 ذي القعدة عام 1435 الموافق 11 سبتمبر سنة 2013 والمتضمّن تعيين أعضاء الحكومة،

– وبمقتضى المرسوم التّنفيذيّ رقم 90–39 المؤرّخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990 والمتعلّق بمراقبة الجودة وقمع الغش، المعدّل والمتمّم،

– وبمقتضى المرسوم التّنفيذيّ رقم 02–453 المؤرّخ في 17 شوّال عام 1423 الموافق 21 ديسمبر سنة 2002 الذي يحدّد صلاحيات وزير التّجارة،

– وبمقتضى المرسوم التّنفيذيّ رقم 05–465 المؤرّخ في 4 ذي القعدة عام 1426 الموافق 6 ديسمبر سنة 2005 والمتعلّق بتقييم المطابقة،

– وبمقتضى المرسوم التّنفيذيّ رقم 12–214 المؤرّخ في 23 جمادى الثانية عام 1433 الموافق 15 مايو سنة 2012 الذي يحدّد شروط وكيفيات استعمال المضافات الغذائية في المواد الغذائية الموجهة للاستهلاك البشري،

– وبمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرّخ في 19 شوّال عام 1417 الموافق 26 فبراير سنة 1997 والمتعلّق بشروط تحضير المرقاز وتسويقه،

– وبمقتضى القرار المؤرّخ في 24 ربيع الثاني عام 1421 الموافق 26 يوليو سنة 2000 والمتعلّق بالقواعد المطبقة على تركيبة المنتوجات اللحمية المطهية ووضعها رهن الاستهلاك، المعدّل والمتمّم،

يقرّر ما يأتي :

المادّة الأولى : تطبيقا لأحكام المادّة 19 من المرسوم التّنفيذيّ رقم 90–39 المؤرّخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990، المعدّل والمتمّم والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج الكشف عن العوامل الملونة في اللحوم ومنتجات اللحوم عن طريق الاستشراب (الكروماتوغرافيا) على الطبقة الرقيقة إجباريا.

المادّة 2 : من أجل الكشف عن العوامل الملونة في اللحوم ومنتجات اللحوم بواسطة الاستشراب (الكروماتوغرافيا) على الطبقة الرقيقة، فإن مخابر مراقبة الجودة وقمع الغش والمخابر المعتمدة لهذا الغرض، ملزمة باستعمال المنهج المبين في الملحق المرفق بهذا القرار.

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

المادّة 3 : ينشر هذا القرار في الجريدة الرّسميّة للجمهوريّة الجزائريّة الديمقراطيّة الشّعبيّة.

حرّر بالجزائر في 23 جمادى الأولى عام 1435 الموافق 25 مارس سنة 2014.

مصطفى بن بادة

الملحق

منهج الكشف عن العوامل الملونة في اللحوم ومنتجات اللحوم من طريق الاستشراب (الكروماتوغرافيا) على الطبقة الرقيقة

1 – مجال التطبيق

يحدّد هذا المنهج تقنية للكشف عن العوامل الملونة الصناعية القابلة للذوبان في الماء، في اللحوم ومنتجات اللحوم عن طريق الاستشراب (الكروماتوغرافيا) على الطبقة الرقيقة.

يمكن الكشف عن العوامل الملونة الآتية بواسطة هذا المنهج :

تارترازين

أصفر الكينولين

أصفر برتقالي FCF

أرجواني

أحمر وردي 4R

إيريتروزين

أزرق بري V

أزرق نيلي

أسود لامع PN

أسود 7984

أخضر المالاشيت FCF

أزرق VRS

2 – مصطلحات وتعريف :

لاحتياجات هذا المنهج، يطبق التعريف الآتي :

كشف العوامل الملونة

يتم الكشف عن وجود أو غياب العوامل الملونة وفقا للتقنية المبينة في هذا المنهج.

3 – المبدأ

تستخلص العوامل الملونة من العينة المأخوذة للتجربة بالماء الساخن وتكثف على مسحوق البوليأميد. تصفى العوامل الملونة المستخلصة عن طريق الاستشراب (الكروماتوغرافيا) على العمود وتفصل الملونات عن العمود. يتم الكشف عن العوامل الملونة عن طريق الاستشراب (الكروماتوغرافيا) على الطبقة الرقيقة.

4 – الكواشف

إلا في حالة وجود تعليمات مخالفة، تستعمل فقط الكواشف ذات طبيعة تحليلية معترف بها.

1.4 الماء، أن يكون على الأقل من النوعية الثالثة،

2.4 إيثير البترول، يكون مجال غليانه من 40°م إلى 60°م،

3.4 الميثانول،

4.4 الأمونياك، محلول بـ25%، P20= 0,910 غ/ملل،

5.4 حمض الأسيتيك، الكتلة الحجمية 100%، P20= 1,050 غ/ملل،

6.4 سترات ثلاثي الصوديوم ثنائي الإماهة،

7.4 بروبان – 1 – ول،

8.4 أسيتات الإيثيل،

9.4 2 – ميثيل – 2 – بروبانول،

10.4 حمض بروبيونيك،

11.4 محلول الفصل للاستشراب (الكروماتوغرافيا) على العمود

يمزج 95 حجم الميثانول (3.4) مع 5 أحجام من محلول الأمونياك (4.4)،

12.4 حمض الأسيتيك، محلول بـ50% في الميثانول.

يمزج حجم واحد من حمض الأستيك (5.4) مع حجم واحد من الميثانول (3.4)،

13.4 مسحوق البوليأميد، يتراوح حجم جزئياته من 0,05 ملم إلى 0,16 ملم،

14.4 رمل ذو حبيبات دقيقة، مغسول بحمض الكلورهيدريديك المعدل والمكلس.

15.4 الملونات المعيارية المرجعية

من الممكن أن تتغير نقاوة الملونات المعيارية، لذا من الضروري التحقق من نقاوة الملونات المستعملة كمعيارية.

ملاحظة : يمكن أن تستعمل كمعيارية، الملونات الغذائية المعتمدة.

16.4 المحاليل المعيارية المرجعية من أجل الاستشراب (كروماتوغرافيا) على الطبقة الرقيقة

تشكل بالماء محاليل منفصلة لكل الملونات المعيارية المرجعية (4.15) بتركيز الملون المعياري 1غ/ل بالتقريب.

تحضر محاليل الأزرق النيلي في يوم استعمالها. يمكن الاحتفاظ بالمحاليل الأخرى لمدة تساوي على الأقل ثلاثة أشهر عندما تخزن في الظلام (تحفظ محاليل الايريتروزين لشهر واحد).

17.4 محلول الفصل للاستشراب (كروماتوغرافيا) على الطبقة الرقيقة : محلول I

يوزن بتقريب 0,1غ، 25غ من سيترات ثلاثي الصوديوم ثنائي الإماهة (6.4) في حوجلة ذات خط معلم 1000 ملل. يذوب في الماء ويخفف المحلول حتى خط المعلم ويمزج.

يمزج 80 حجم من محلول السيترات مع 20 حجم من محلول الأمونياك المخفف (4.4) و12 حجم من الميثانول (4.3).

يوصى باستعمال محلول الاستشراب (الكروماتوغرافيا) II (18.4)، لتفادي أو لتقليص الاضطرابات الناجمة عن السافلور أو الزعفران.

18.4 محلول الفصل للاستشراب (كروماتوغرافيا) على الطبقة الرقيقة : محلول II

تمزج 6 أحجام من بروبان – 1 – ول (7.4) مع حجم واحد من أسيتات الإيثيل (8.4) و3 أحجام من الماء.

19.4 محلول الفصل للاستشراب (كروماتوغرافيا) على الطبقة الرقيقة : محلول III

يمزج 50 حجم من 2 – ميثيل – 2 – بروبانول (9.4) مع 12 حجم من حمض بروبيونيك (10.4) و38 حجم من الماء.

5 – التجهيزات

الأجهزة المتداولة في المخبر، لا سيما الأجهزة الآتية :

1.5 جهاز ميكانيكي أو كهربائي قادر على مجانسة عينة المخبر

وهو يضم آلة قطع دورانية ذات سرعة عالية وقاطع مجهز بصفيحة ذات فتوحات قطرها أقل أو يساوي 4 ملم.

2.5 أنابيب الطرد المركزي، من زجاج، سعتها 75 ملل.

3.5 حوجلات مسطحة القاع، بسدادة من مصقول، زجاج، سعتها 250 ملل.

4.5 حوجلات دائرية القاع، مصقولة، سعتها 100 ملل.

5.5 جهاز الطرد المركزي، يعمل بتسارع نصف قطري حوالي 2000 ج (الجاذبية في سرعة الدوران).

6.5 مبخر دوراني

7.5 عمود الاستشراب (كروماتوغرافيا)، من زجاج، مجهز بمرشح زجاجي وبحنفية، طوله 20 سم، قطره 30 ملم تقريبا، قطر ثقوب المرشح من 40 ميكرومتر إلى 100 ميكرومتر.

يوضع السلك الزجاجي في العمود ويضاف 1 غ إلى 2 غ من الرمل (14.4).

8.5 إناء بلاستيكي، بغطاء، سعته 10ملل بالتقريب.

9.5 صفائح الاستشراب (كروماتوغرافيا) على الطبقة الرقيقة، مغطاة بطبقة من مسحوق سيليلوزي سمكها 0,10 ملم أو ما يعادل ذلك.

يمكن استعمال الصفائح الجاهزة.

10.5 ماصة ميكرومترية، سعتها حوالي 5 ميكرولتر.

11.5 جهاز قياس العامل الهيدروجيني، بتدقيق 0,1 وحدة من العامل الهيدروجيني (PH) بالتقريب.

6 – اقتطاع العينة

من الضروري أن يتلقى المخبر عينة مثالية لم تتلف أو تتغير أثناء النقل أو التخزين.

تؤخذ عينة مثالية تزن على الأقل 200 غ، تحفظ العينة بحيث يمنع كل تلف أو تغيير في المحتوى.

7 – تحضير العينة للتجربة

تجانس العينة بواسطة الجهاز المناسب (1.5). مع الحرص على ألا ترتفع درجة حرارة مادة العينة عن 25° م. إذا ما استعمل القاطع، يجب أن تمرر العينة مرتين على الأقل في الجهاز.

يملأ الإناء المناسب والمانع للهواء، بالعينة المحضرة، يغلق الإناء ويحفظ بطريقة يتفادى بها أي تلف أو تغيير في تركيبة العينة. تحلل العينة بمجرد سماح الشروط التجريبية بذلك، لكن دائما في ظرف 24 ساعة بعد المجانسة.

8 – طريقة العمل

ملاحظات :

1 – إذا كانت العينة تحتوي على اللون النيلي، يجب ألا تتجاوز درجة الحرارة في أي لحظة من التحليل 35° م. يتحلل الأزرق النيلي جزئيا في محلول الكروماتوغرافي I، لذا يجب أن يستعمل المحلول II.

2 – الإيريتروزين حساس للضوء وعند انقطاع التحليل يجب حفظ المحاليل والصفائح في الظلام. ينطبق هذا أيضا على النيلي.

1.8 اقتطاع العينة

يوزن بتقريب 0,1 غ، 5غ من عينة التجربة المحضرة (7) داخل أنبوب الطرد المركزي (2.5).

بالنسبة للعينات الدسمة يجرى ذلك طبقا لـ(2.8).

بالنسبة للعينات غير الدسمة يجرى ذلك طبقا لـ(3.8).

2.8 العينات الدسمة

يضاف حوالي 20 ملل من إيثير البترول (2.4) داخل أنبوب الطرد المركزي ويمزج بقضيب زجاجي ويرسب إيثير البترول.

تكرّر هذه العملية 3 مرات.

3.8 العينات غير الدسمة

يضاف 25 ملل من الماء المغلى، (8) ويمزج. يضاف 25 ملل من محلول الفصل (11.4).

يتم التأكد من أن العامل الهيدروجيني (pH) مساو لـ9 ± 0,5 وهذا باستعمال جهاز قياس العامل الهيدروجيني (11.5). إذا لم يكن كذلك يتم تعديله بواسطة حمض الأسيتيك (5.4) أو بالأمونياك المخفف (4.4)،

يمزج جيدا. توضع العينة لتبرد داخل مجمد لمدة 15 دقيقة (لمنع التعكر).

تخضع العينة للطرد المركزي (5.5) لمدة 10 دقائق بتسارع نصف قطري حوالي 2000 ج،

يرسب المحلول الصافي في حوجلة مسطحة القاع (3.5). تستعمل حولجة دائرية القاع (5.4) للأزرق النيلي.

يضاف 5 ملل من الماء إلى أنبوب الطرد المركزي المحتوي على الراسب. يمزج ويضاف 10 ملل من محلول الفصل (11.4). يمزج ويخضع للطرد المركزي كما هو مبين أعلاه.

تكرر العملية حتى يستخلص الملون بالكامل من العينة وتجمع كل المستخلصات.

للتخلص من الميثانول، يبخر المستخلص المتحصل عليه فوق حمام مائي بحيث يكون على ارتفاع 25 ملل. بالنسبة للنيلي، تستعمل الحوجلة الدائرية القاع (4.5) والمبخر الدوراني (6.5) بدرجة حرارة 35° م.

يضاف 25 ملل من الماء المغلى (8) ثم يمزج.

4.8 تحويل الملونات على مسحوق البوليأميد

يعدل العامل الهيدروجيني (pH) ما بين 4 و5 باستعمال حمض الأسيتيك (5.4) أو الأمونياك المخفف (4.4).

يضاف 1غ من مسحوق البوليأميد (13.4) إلى المحلول الفاتر (8). يرج بشدة لدقيقة واحدة.

يترك المسحوق ليترسب.

يتم التأكد من عدم بقاء الملون داخل المحلول. إذا كان المحلول ملون، يضاف قليل من مسحوق البوليأميد ويرج بشدة.

ملاحظة : بعض الملونات الطبيعية لا يتم تكثيفها كليا بمسحوق البوليأميد مما يترك المحلول ملون بالرغم من التكثيف الكلي لكافة الملونات الاصطناعية. بصفة عامة يمكن البت في وجود هذه الملونات الطبيعية أم لا، حسب نوعية العينة.

يرج ويسكب المحلول الفاتر المعلق في عمود الاستشراب (كروماتوغرافيا) (7.5).

تشطف الحوجلة المسطحة القاع بثلاثة أحجام من الماء الساخن ذات 10 ملل للواحدة (8) وتسكب أحجام الفصل الواحدة تلو الأخرى في العمود. يغسل العمود من جديد 3 مرات بأحجام من الماء الساخن سعتها 10 ملل (8)، لإتمام العملية يغسل 3 مرات بثلاثة أحجام من الميثانول (3.4) ذات 5 ملل.

إذا فصلت الملونات الطبيعية، يواصل غسل العمود بالميثانول (3.4) حتى يصبح الميثانول عديم اللون.

5.8 فصل وتركيز الملونات المعزولة

توضع حوجلة دائرية القاع (4.5) تحت العمود وتفصل الملونات من مسحوق البوليأميد باستعمال كميات ذات 5 ملل من محلول الفصل (11.4)، معدل تدفقه 2 ملل/دقيقة، حتى يصبح البوليأميد عديم اللون.

يبخر ناتج الفصل حتى يجف تماما بواسطة مبخر (6.5) عند درجة حرارة 35° م على الأكثر (8).

يضاف 1 ملل أو 2 ملل من محلول الفصل (11.4) بحسب كمية وعدد الملونات، ويذوب الراسب. يسكب المحلول الملون في إناء بلاستيكي (8.5).

6.8 العزل بالاستشراب (كروماتوغرافيا) على الطبقة الرقيقة

1.6.8 صفائح معيارية مرجعية

تحضر ثلاث صفائح الاستشراب (كروماتوغرافيا) على الطبقة الرقيقة معيارية مرجعية. بواسطة ماصة ميكرومترية (10.5)، توضع على كل صفيحة (9.5) قطرة بحوالي 5 ميكرولتر (قطرها < 5 ملم) من كل محلول معياري (16.4). تترك هاته لتطور كل صفيحة على انفصال بمحلول الفصل الكروماتوغرافي (17.4 و18.4

و19.4) وداخل حوض غير مشبع حتى تصبح قمة المذيب على بعد حوالي 10 سم إلى 12 سم من خط البدء. تسحب الصفائح من الحوض وتجفف في الهواء تحت غطاء للحماية. تحفظ الصفائح في الظلام. باستثناء النيلي، تبقى القطرات ثابتة لعدة سنوات.

2.6.8 العينات

بواسطة ماصة ميكرومترية (10.5)، توضع على صفيحة الاستشراف (كروماتوغرافيتا) على الطبقة الرقيقة (9.5) كمية مرئية من محلول العينة (5.8). يجفف بواسطة مجفف الشعر. بالنسبة للنيلي يجفف بالهواء.

تطور الصفيحة داخل حوض غير مشبع ارتفاعه حوالي 10سم إلى 12سم باستعمال محاليل الاستشراب (كروماتوغرافيا) المناسبة (17.4 أو18.4 أو19.4)، أي المحلول الذي يسمح بالحصول على أحسن فصل للملونات العينة (1). يستحسن في بعض الحالات تحضير صفيحة ثانية كعينة وتطويرها في أحد محاليل الفصل أو الآخر للحصول على أحسن فصل ممكن.

تسحب الصفيحة من الحوض وتجفف بالهواء تحت غطاء الحماية.

تقارن قطرات العينات مع الصفيحة المعيارية المرجعية المناسبة (1.6.8).

في حالة ما إذا كانت الملونات ممزوجة، يوصى باستعمال كميات مختلفة من محاليل العينات، لأن الملونات الموجودة يمكن أن تكون ذات تراكيز مختلفة.

بصفة عامة، فإن النواتج المتبقية سببها التطهير غير المناسب. وإذا كانت هذه هي الحالة فيكشف الملون من جديد بواسطة المكشف ويغسل بالماء الساخن ويتم التخلص من المكشف كما هو مبين أعلاه.

7.8 الإثبات

يتم إثبات هوية الملونات بواسطة عملية الاستشراب (كروماتوغرافيا) للمركز (2.6.8) عندما تمزج المحاليل المرجعية للمولنات المعرفة بالكروماتوغرام الأول.

في حالة الشك، يعزل الملون من الصفيحة بمحلول معتدل (ماء أو الإيثانول أو محلول أسيتات الأمونيوم 0,2غ/ل) وحمض (حمض الكلورهيدريك 0,1 مول/ل) ومحلول أساسي (محلول هيدروكسيد الصوديوم 0,1 مول/ل) وتقارن أطياف امتصاص الملون بالمعيار. يرجع إلى أطياف امتصاص العوامل الملونة المذكورة في (1).

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التجارة

المديرية العامة للرقابة الاقتصادية و قمع الغش

مديرية مخابر التجارب و تحاليل الجودة

المناهج الرسمية للتحاليل الفيزيوكيميائية المتعلقة بالمواد الدسمة ذات الأصل الحيواني او النباتي

الفهرس ا

1. قرار امؤرخ افي ا29 امايو اسنة ا2011، يجعل امنهج ا تحضير االعينة اللمواد االدسمة اذات االأصل االحيواني ا و االنباتي إجباريا. (ج ار اعدد ا64 - 2011)	01
2. قرار امؤرخ افي ا 29 امايو اسنة ا 2011، ايجعل امنهج اتحديد امؤشر االتصبين اللمواد االدسمة اذات االأصل ا الحيواني او االنباتي إجباريا. (ج ار اعدد ا64 - 2011)	03
3. قرار امؤرخ افي ا29 امايو اسنة ا2011، ايجعل امنهج اتحديد امؤشر االبيروكسيد ا اللمواد االدسمة اذات االأصل ا الحيواني او االنباتي ا إجباريا. (ج ار اعدد ا64 - 2011)	05
4. قرار امؤرخ افي ا27 ايونيو اسنة ا2011، ايجعل امنهج اتحديد انسبة االماء او االمواد االمتطايرة اللمواد االدسمة ا ذات االأصل االحيواني او االنباتي إجباريا. (ج ار اعدد ا65 - 2012)	10
5. قرار امؤرخ افي ا 27 ايونيو اسنة ا 2011، ايجعل امنهج اتحديد انسبة االملوثات اغير االقابلة اللذوبان افي ا المواد االدسمة اذات االأصل االحيواني او االنباتي إجباريا. (ج ار اعدد ا65 - 2012)	13
6. قرار امؤرخ افي ا 27 ايونيو اسنة ا 2011، يجعل امنهج اتحديد امؤشر إنكسار االضوء اللمواد االدسمة اذات ا الأصل االحيواني او االنباتي إجباريا. (ج ار اعدد ا65 - 2012)	15
7. قرار امؤرخ افي ا 3 اغشت اسنة ا 2011، يجعل امنهج اتحديد اكمية اكلورير االصوديوم افي االمواد االدسمة ا ذات االأصل االحيواني او االنباتي إجباريا. (ج ار اعدد ا66 – 2012)	19
8. قرار امؤرخ افي ا 3 اغشت اسنة ا2011، يجعل امنهج االكشف االسريع اعن اوجود امضاد أكسجين اواحد ا افي ا المواد االدسمة اذات االأصل االحيواني او االنباتي إجباريا. (ج ار اعدد ا66 – 2012)	21
9. قرار امؤرخ افي ا 3 اغشت اسنة ا 2011، يجعل امنهج اتحديد االكثافة االنسبية افي ا 20 °م اللمواد االدسمة ا ذات االأصل االحيواني او االنباتي إجباريا. (ج ار اعدد ا66 – 2012)	23
10. قرار امؤرخ افي ا 21 اغشت اسنة ا 2011، يجعل امنهج اتحديد امؤشر االحمض او االحموضة اللموادا الدسمة ا ذات االأصل االحيواني او االنباتي إجباريا. (ج ار اعدد ا68 – 2012)	25
11. قرار امؤرخ افي ا 21 اغشت اسنة ا 2011، يجعل امنهج اتحديد امؤشر االيود اللمواد االدسمة اذات االأصل ا ا الحيواني او االنباتي إجباريا. (ج ار اعدد ا09 – 2013)	30

قرار مؤرخ في 26 جمادى الثانية عام 1432 الموافق 29 مايو سنة 2011، يجعل منهج تحضير العينة للمواد الدسمة ذات الأصل الحيواني و النباتي إجباريا.

إن وزير التجارة،

– بمقتضى المرسوم الرئاسي رقم 10 – 149 المؤرخ في 14 جمادى الثانية عام 1431 الموافق 28 مايو سنة 2010 والمتضمن تعيين أعضاء الحكومة،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 90 – 39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990 والمتعلق 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 – 465 المؤرخ في 4 ذي القعدة عام 1426 الموافق 6 ديسمبر سنة 2005 والمتعلق بتقييم المطابقة،

– وبمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرخ في 21 شعبان عام 1419 الموافق 10 ديسمبر سنة 1998 والمتعلق بالمواصفات التقنية للزبدة و كيفيات وضعها للاستهلاك،

– وبمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرخ في2 ذي الحجة عام 1422 الموافق 14 فبراير سنة 2002 الذي يحدد قائمة المواد المضافة المرخص بها في المواد الغذائية،

يقرر ما يأتي :

المادة الأولى : تطبيقا لأحكام المادة 19 من المرسوم التنفيذي رقم 90 – 39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990، المعدل والمتمم والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج تحضير العينة للمواد الدسمة ذات الأصل الحيواني والنباتي إجباريا.

المادة 2 : من أجل تحضير العينة للمواد الدسمة ذات الأصل الحيواني والنباتي، فإن مخابر مراقبة الجودة وقمع الغش والمخابر المعتمدة لهذا الغرض، ملزمة باستعمال المنهج المبين في الملحق المرفق بهذا القرار.

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 26 جمادى الثانية عام 1432 الموافق 29 مايو سنة 2011.

مصطفى بن بادة

الملحق

منهج تحضير العينة للمواد الدسمة ذات الأصل الحيواني و النباتي

1 . المبدأ :

مجانسة المادّة الدسمة عن طريق الرّج، تجعل سائلة عن طريق التسخين في درجة حرارة مناسبة إذا اقتضى الأمر. وإذا دعت الضرورة تفصل المواد غير القابلة للذوبان عن طريق الترشيح والتخلص من الماء بالتجفيف بواسطة سلفات الصوديوم المجفف.

2 . الكواشف

سلفات الصوديوم المجفف

3 . التجهيزات

1 . 3 مجفف ذو تسخين كهربائي، معدل.

2 . 3 قمع الترشيح، مزود بتسخين،

4 . طريقة العمل

1 . 4 المجانسة والترشيح

1 . 1 . 4 عينة سائلة، شفافة وبدون ترسبات

جعل عينة المخبر أكثر مجانسة ممكنة عن طريق رج الإناء وهو مغلق.

2 . 1 . 4 عينة سائلة، عكرة أو تحتوي على ترسبات

1 . 2 . 1 . 4 من أجل تحديد نسبة أي نوع من الملوثات المتطايرة و/أو غير القابلة للذوبان، يرج الإناء الذي يحتوي على العينة للمخبر بقوة إلى غاية انفصال كل الترسبات عن جدران الإناء وتوزعها بانتظام في الزيت. التحقق من عدم بقاء الترسبات على جدران الإناء. في حالة بقائها، تفصل كليا (يفتح الإناء إذا اقتضى الأمر) وتدمج بعناية مع كل الزيت.

2 . 2 . 1 . 4 لأي تحديدات أخرى، يدخل الإناء الذي يحتوي على العينة للمخبر في المجفف (3 . 1) مضبوطا في 50° م ويترك حتى تبلغ درجة حرارة العينة درجة حرارة المجفف ونواصل كما هو موضح في (4 . 1 . 1). في حالة ما إذا بقي الخليط غير شفاف بعد التسخين والرج، يرشح الزيت بالعمل داخل المجفف مضبوط في درجة حرارة 50° م أو بواسطة قمع الترشيح مزود بتسخين (3 . 2). تجنب البقاء في المجفف أطول من اللازم بطريقة تجنب كل تغيير في المواد الدسمة بالأكسدة أو بلمرة (تكثيف). يجب أن تكون الرشاحة المتحصل عليها شفافة.

3 . 1 . 4 عينة كثيفة

1 . 3 . 1 . 4 لأي تحديد نسبة أي نوع من الملوثات المتطايرة و/أو غير قابلة للذوبان، وإجراء التحديدات المتعلقة بحالة أكسدة المواد الدسمة، تسخن العينة للمخبر بحذر حتى تصبح سائلة وخلطها بقوة حتى تصبح أكثر مجانسة ممكنة.

2 . 3 . 1 . 4 لأي تحديدات أخرى، تذوب العينة للمخبر بتركها في المجفف (3 . 1) مضبوطا في درجة حرارة أعلى بـ 10° م من درجة حرارة انصهار المادة الدسمة المعنية. في حالة ما اذا أصبحت العينة شفافة كليا بعد التسخين، نقوم بما هو مبين في (4 . 1 . 1). إذا كانت عكرة أو تحتوي على ترسب، ترشح في درجة الحرارة المقررة والعمل داخل المجفف أو بواسطة قمع الترشيح المزود بتسخين (3 . 2).

يجب أن تكون الرشاحة المتحصل عليها شفافة كليا.

2 . 4 التجفيف

في حالة بقاء الماء في العينة المجانسة، (خاصة في حالة الزيوت الحامضة، الأحماض الدسمة للمواد الدسمة الكثيفة) يجب من أجل التحديدات التي تتأثر نتائجها بوجود الماء (مؤشر اليود مثلا) أن تجفف مسبقا بأخذ كل الاحتياطات اللازمة من أجل تجنب أكسدتها.

من أجل ذلك، تترك العينة أقل وقت ممكن في المجفف (3 . 1) مضبوط في درجة حرارة أعلى بـ 10° م على الأقل من درجة حرارة الانصهار ومن المستحسن تحت الأزوت جزء من العينة المجانسة (4 . 1 . 1)، (4 . 1 . 2) أو (4 . 1 . 3) (حسب الحالة)، بعد إضافة سلفات الصوديوم المجفف بمقدار 1 إلى 2 غ لـ 10 غ من المادة الدسمة.

يجب عدم التجفيف في درجة حرارة 50° م.

ملاحظة :

يفقد سلفات الصوديوم خاصيته كعامل مجفف في درجة حرارة تتعدى 32,4° م. يمكن أن يكون إذن التجفيف

تحت ضغط منخفض ضروريا. بالنسبة للمواد الدسمة التي من الواجب تجفيفها في درجة حرارة أعلى من 50° م يجب أن تحلل في مذيب ثم تجفف.

ترج العينة المجففة بقوة مع سلفات الصوديوم المجفف ثم يرشح. إذا تجمدت المادة الدسمة مع برودها، نعمل داخل مجفف أو بواسطة قمع الترشيح مزود بتسخين (3 . 2) في درجة حرارة مناسبة التي يجب ألا تتعدى 50° م.

5 . الحفظ : يجب حفظ العينات في ظروف مناسبة بالأخذ بعين الاعتبار طبيعة كل عينة معنية والتجارب المراد إجراؤها.

★

قرار مؤرخ في 26 جمادى الثانية عام 1432 الموافق 29 مايو سنة 2011، يجعل منهج تحديد مؤشر التصبين للمواد الدسمة ذات الأصل الحيواني والنباتي إجباريا.

إن وزير التجارة،

– بمقتضى المرسوم الرئاسي رقم 10 – 149 المؤرخ في 14 جمادى الثانية عام 1431 الموافق 28 مايو سنة 2010 والمتضمن تعيين أعضاء الحكومة،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 90 – 39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990 والمتعلق 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 – 465 المؤرخ في 4 ذي القعدة عام 1426 الموافق 6 ديسمبر سنة 2005 والمتعلق بتقييم المطابقة،

– وبمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرخ في 21 شعبان عام 1419 الموافق 10 ديسمبر سنة 1998 والمتعلق بالمواصفات التقنية للزبدة و كيفيات وضعها للاستهلاك،

– وبمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرخ في2 ذي الحجة عام 1422 الموافق 14 فبراير سنة 2002 الذي يحدد قائمة المواد المضافة المرخص بها في المواد الغذائية،

يقرر ما يأتي :

المادة الأولى : تطبيقا لأحكام المادة 19 من المرسوم التنفيذي رقم 90 – 39 المؤرخ في 3 رجب عام1410 الموافق 30 يناير سنة 1990، المعدّل والمتمّم والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج تحديد مؤشر التصبين للمواد الدسمة ذات الأصل الحيواني والنباتي إجباريا.

المادة 2 : من أجل تحديد مؤشر التصبين للمواد الدسمة ذات الأصل الحيواني والنباتي، فإن مخابر مراقبة الجودة وقمع الغش والمخابر المعتمدة لهذا الغرض، ملزمة باستعمال المنهج المبين في الملحق المرفق بهذا القرار.

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 26 جمادى الثانية عام 1432 الموافق 29 مايو سنة 2011.

مصطفى بن بادة

الملحق

منهج تحديد مؤشر التصبين للمواد الدسمة ذات الأصل الحيواني و النباتي

يحدد هذا المنهج تقنية لتحديد مؤشر التصبين للأجسام الدسمة ذات الأصل الحيواني والنباتي. مؤشر التصبين هو ميزة الأحماض الدسمة الحرة والمؤسترة الموجودة في العينة التي أجري عليها التحليل.

1 . المصطلحات والتعريف :

لمتطلبات هذا المنهج، يطبق المصطلح والتعريف الآتي :

مؤشر التصبين : عدد الميليغرامات من هيدروكسيد البوتاسيوم اللازم لتصبين 1غ من مادة دسمة في الشروط المعينة في هذا المنهج.

2 . المبدأ :

غليان ارتدادي لعينة مع حلول ايتانوليك لهيدروكسيد البوتاسيوم ثم معايرة فائض هيدروكسيد البوتاسيوم بواسطة محلول حمض الكلوريدريك المعير.

3 . الكواشف :

يستعمل فقط كواشف ذات نوعية معترف بها وماء مقطر أو ماء ذو نقاوة مكافئة على الأقل.

3. 1 هيدرو كسيد البوتاسيوم، محلول (c(KOH = 0,5 مول/ل في الايثانول لـ 95% (نسبة حجمية).

يجب أن يكون هذا المحلول غير ملون أو أصفر قشي ويمكن الحصول على محلول ثابت وغير ملون حسب إحدى طرق العمل الآتية :

أ) – يغلى بارتداد 1 ل من الايثانول مع 8غ من هيدرو كسيد البوتاسيوم و5 غ من قطع الألمنيوم لمدة ساعة واحدة، ثم يقطر هذا المستحضر فورا. تذوب في المحلول المقطر، كمية هيدرو كسيد البوتاسيوم المطلوبة (35 غ بالتقريب). ويترك للاستراحة لعدة أيام، ثم يصفى السائل الفاتح اللون الذي يطفو في قارورة زجاجية داكنة لفصله من كربونات البوتاسيوم المترسبة.

ب) – يضاف 4غ من ثلاثي بيتو أكسيد الألمنيوم إلى 1 لتر من الإيثانول ويترك الخليط للاستراحة لعدة أيام.

يصفى السائل الذي يطفو وتذوب في هذا السائل الكمية المطلوبة من هيدروكسيد البوتاسيوم.و يترك للاستراحة لمدة أيام ثم يصفى السائل الفاتح الذي يطفو في قارورة زجاجية داكنة لفصله من كربونات البوتاسيوم المترسبة.

3 . 2 حمض الكلوريديرك، محلول معّير (c(HCL = 0,5 مول/ل

3 . 3 فينول فتالين، محلول (p = 0,1 غ / 100 ملل) في الايثانول بنسبة 95% (نسبة حجمية).

3 . 4 أزرق الألكلين 6b، محلول (p = 2,5 غ / 100 ملل) في الايثانول بنسبة 95% (نسبة حجمية).

3 . 5 معدلات الغليان

4 . الأجهزة :

أجهزة عادية للمخبر، خاصة ما يأتي :

4 . 1 حوجلة مخروطية سعتها 250 ملل من زجاج مقاوم للقليات (alcalis) ذات عنق مروض.

4 . 2 مبرد ارتدادي ذو صقل زجاجي متكيف مع الحوجلة المخروطية (4 . 1).

4 . 3 جهاز تسخين (على سبيل المثال حمام مائي، صفيحة كهربائية للتسخين، أو كل جهاز آخر مناسب للتسخين).

عدم استعمال شعلة نار مكشوفة.

4 . 4 قطارة زجاجية سعتها 50 ملل، مدرج بـ 0,1 ملل أو قطارة زجاجية أوتوماتيكية.

4 . 5 ماصة، سعتها 25 ملل أو **ماصة أوتوماتيكية**.

4 . 6 ميزان تحليل

5 . أخذ العينة

من المهم أن يستقبل المخبر عينة نموذجية، لم تتعرض للتلف أو التغير خلال النقل أو التخزين.

6 . تحضير العينة للتجربة

تخلط العينات للتجربة وترشح بعناية إذا وجدت شوائب مرئية.

7 . طريقة العمل

7 . 1 العينة المأخوذة للتجربة

توزن، بتقريب 5 ملغ، حوالي 2 غ من العينة للتجربة (المادّة 6) في حوجلة مخروطية (4 . 1)

حددت العينة المأخوذة للتجربة بـ 2 غ على أساس مؤشر تصبين من 170 إلى 200. بالنسبة لمؤشرات تصبين أخرى، من الملائم تغيير الكتلة بطريقة يعدل فيها حوالي النصف من المحلول الايثانولي لهيدروكسيد البوتاسيوم. تبين التوصيات المتعلقة بكتلة العينة المأخوذة للتجربة في الجدول 1.

الجدول 1 : كتلة العينة المأخوذة للتجربة

مؤشر التصبين المحتمل	كتلة العينة المأخوذة للتجربة
150 إلى 200	2,2غ إلى 1,8 غ
200 إلى 250	1,7غ إلى 1,4 غ
250 إلى 300	1,3غ إلى 1,2 غ
أكبر من 300	من 1,1غ إلى 1,0 غ

7 . 2 التحديد

7 . 2 . 1 يضاف للعينة المأخوذة للتجربة، بواسطة الماصة (4 . 5)، 25 ملل من محلول إيتانوليك لهيدروكسيد البوتاسيوم (3 . 1) وبعض المعدلات للغليان (3 . 5) يوصل المبرد الارتدادي (4 . 2) بالحوجلة، توضع الحوجلة فوق جهاز التسخين (4 . 3) وتترك للغليان ببطء لمدة 60 دقيقة مع الرج من حين إلى آخر،

ما عدا بالنسبة للأجسام الدسمة ذات نقطة انصهار عالية، صعبة التصبين والتي يجب أن تكون مدة انصهارها ساعتين (2).

7 . 2 . 2 يضاف إلى المحلول الساخن، من 0,5 إلى 1 ملل من محلول فينول فتاليين (3 . 3) ويعاير بحمض الكلوريدريك (3 . 2) إلى غاية اختفاء اللون الوردي للمؤشر. إذا كان المحلول ملونا جدا، يستعمل 0,5 ملل إلى 1 ملل من محلول أزرق الألكلين (6b) (3 . 4).

7 . 3 التجربة على بياض

تجري تجربة على بياض باتخاذ نفس طريقة العمل كما هو الحال في (7 . 2)، باستعمال كذلك 25,0 ملل من المحلول الإيتانولي لهيدروكسيد البوتاسيوم (3 . 1) لكن بإهمال العينة المأخوذة التجربة.

8 . التعبير عن النتائج :

يساوي مؤشر التصبين إلى :

$$ع\ ت = \frac{56,1 \times ت \times (ح_0 - ح_1)}{ك}$$

حيث :

$ح_0$: هو الحجم المقدر بالمليلترات لحمض الكلوريدريك (3 . 2) المستعمل للتجربة على بياض،

$ح_1$: هو الحجم المقدر بالمليلترات لحمض الكلوريدريك (3 . 2) المستعمل للتحديد،

ت : هو التركيز الدقيق لحمض الكلوريدريك (2.3)،

ك : هي الكتلة بالغرامات للعينة المأخوذة للتجربة (7 . 1)،

يؤخذ كنتيجة المعدّل الجبري للتحديدين، إذا توفرت شروط التكرارية (9 . 2)،

تعطى النتيجة على شكل عدد طبيعي.

9 . التكرارية :

يجب أن لا يتجاوز الفرق المطلق بين نتيجتين منفردتين، منفصلتين، المتحصل عليهما بواسطة نفس المنهج على مادة مماثلة في نفس المخبر من طرف نفس المحلل باستعمال نفس التجهيزات في مجال زمني قصير، حد التكرارية إلا في 5% من الحالات وما فوق.

10 . قابلية إعادة التجربة :

يجب أن لا يتجاوز الفرق المطلق بين نتيجتين لتجربتين منفردتين، ، المتحصل عليهما بواسطة نفس المنهج على مادة مماثلة خاضعة للتجربة في مخابر مختلفة من طرف محللين مختلفين باستعمال تجهيزات مختلفة، حد قابلية التجربة بين المخابر إلا في 5% من الحالات وما فوق.

★

قرار مؤرخ في 26 جمادى الثانية عام 1432 الموافق 29 مايو سنة 2011، يجعل منهج تحديد مؤشر البيروكسيد للمواد الدسمة ذات الأصل الحيواني و النباتي إجباريا.

إن وزير التجارة،

– بمقتضى المرسوم الرئاسي رقم 10 – 149 المؤرخ في 14 جمادى الثانية عام 1431 الموافق 28 مايو سنة 2010 والمتضمن تعيين أعضاء الحكومة،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 90 – 39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990 والمتعلق 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 – 465 المؤرخ في 4 ذي القعدة عام 1426 الموافق 6 ديسمبر سنة 2005 والمتعلق بتقييم المطابقة،

– وبمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرخ في 21 شعبان عام 1419 الموافق 10 ديسمبر سنة 1998 والمتعلق بالمواصفات التقنية للزبدة و كيفيات وضعها للاستهلاك،

– وبمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرخ في 2 ذي الحجة عام 1422 الموافق 14 فبراير سنة 2002 الذي يحدد قائمة المواد المضافة المرخص بها في المواد الغذائية،

يقرر ما يأتي :

المادة الأولى : تطبيقا لأحكام المادة 19 من المرسوم التنفيذي رقم 90 – 39 المؤرخ في 3 رجب عام1410 الموافق 30 يناير سنة 1990، المعدّل والمتمّم والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج تحديد مؤشر البيروكسيد للمواد الدسمة ذات الأصل الحيواني والنباتي إجباريا.

المادة 2 : من أجل تحديد مؤشر البيروكسيد للمواد الدسمة ذات الأصل الحيواني والنباتي، فإن مخابر مراقبة الجودة وقمع الغش والمخابر المعتمدة لهذا الغرض، ملزمة باستعمال المنهج المبين في الملحق المرفق بهذا القرار.

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 26 جمادى الثانية عام 1432 الموافق 29 مايو سنة 2011.

مصطفى بن بادة

الملحق

منهج تحديد مؤشر البيروكسيد للمواد الدسمة ذات الأصل الحيواني و النباتي

(تحديد بنقطة وقف إيودومترية)

1 . التعريف والمصطلحات :

لمتطلبات هذا المنهج، يطبق المصطلح والتعريف التاليان :

مؤشر البيروكسيد (IP)

هو كمية المواد في العينة، يعبر عنه بكمية الأكسيجين النشط الذي يؤكسد إيودور البوتاسيوم في الشروط المحددة في هذا المنهج.

ملاحظة

يعبر عن مؤشر البيروكسيد عموما بالجزء من الألف المعادل للأكسيجين النشط في الكيلوغرام من الزيت، لكن يمكن كذلك أن نعبر عنه في نظام الوحدة الدولية بالميليمول من الأكسيجين النشط في الكيلوغرام من الزيت. تمثل القيمة بالميليمول من الأكسيجين النشط في الكيلوغرام نصف القيمة المعبر عنها بالجزء من الألف المعادل للأكسيجين النشط في الكيلوغرام. مؤشر البيروكسيد (بجزء من الألف المعادل للأكسيجين النشط في الكلغ) المضروب في الكتلة المكافئة للأكسيجين النشط (تساوي 8) يساوي كمية الأكسيجين بالميليغرامات في كيلوغرام من الزيت.

2 . المبدأ :

تذوب عينة التجربة في إيزو أوكتان وحمض الأستيك البارد، ثم يضاف إيودور البوتاسيوم. يحدد بالعين المجردة اليود المحرر من البيروكسيدات، بواسطة كاشف النشاء والمحلول المرجعي من ثيو سولفات الصوديوم. وتحدد نهاية المعايرة بالعين المجردة.

3 . الكواشف :

ما عدا تعليمات مخالفة، تستعمل فقط كواشف ذات نوعية تحليلية معترف بها. يجب أن تكون جميع الكواشف خالية من الأكسيجين المذاب.

3 . 1 ماء، منزوع الأملاح المعدنية، مغلى ومبرد في 20° م.

3 . 2 حمض الأستيك البارد، جزء كتلي، 100%، منزوع الغاز في وعاء ذي موجات فوق صوتية تحت الفراغ أو ينقى تحت تيار من الغاز العاطل نقي وجاف (ثاني أكسيد الكاربون أو الأزوت).

3 . 3 إيزو – أوكتان، منزوع الغاز في وعاء ذي موجات فوق صوتية تحت فراغ أو ينقى تحت تيار غازي عاطل، نقي وجاف (ثاني أوكسيد الكاربون والأزوت).

3 . 4 خليط حمض الأستيك البارد / إيزو أكتان، يحضر بخلط 60 ملل من حمض الأستيك البارد و40 ملل من إيزو أو كتان (جزء حجمي لحمض الأستيك البارد كثافته p = 60 ملل / 100 مل، جزء حجمي لإيزو – أوكتان كثافته p = 40 ملل / 100 ملل).

ينزع الغاز من الخليط في وعاء ذو موجات فوق صوتية في الفراغ أو ينقى تحت تيار من الغاز العاطل النقي والجاف (ثاني أكسيد الكاربون أو الأزوت).

3 . 5 إيودور البوتاسيوم، خال من اليود واليودات.

3 . 6 محلول إيدور البوتاسيوم المشبع، التركيز الكتلي = 175 غ / 100 ملل. يذوب حوالي 14 غ من إيودور البوتاسيوم في حوالي 8 غ من الماء الموضوع للغليان حديثا والمعاد إلى درجة حرارة المحيط.

الحرص على تثبيت المحلول في الحالة المشبعة (بلورات غير مذابة). يحفظ المحلول بعيدا عن الضوء ويحضر محلولا جديدا كل يوم. يراقب المحلول بالتجربة التالية : يضاف قطرتين من محلول النشاء إلى 0,5 ملل من إيودور البوتاسيوم في 30 ملل من محلول حمض الأستيك البارد / إيزو – أوكتان. إذا كان تشكل اللون الأزرق يستلزم أكثر من قطرة واحدة من المحلول المرجعي لثيوسولفات الصوديوم 0,1 مول / ل، يستبعد محلول إيودور البوتاسيوم.

7.3 المحلول المرجعي لثيوسولفات الصوديوم نظاميته 0,1

(NA2S2O3) c = 0,1 مول/ل.

من أجل تحضير هذا المحلول، يستعمل فقط الماء الموضوع حديثا للغليان، ينقى بالأزوت إذا كان ممكنا. يمكن استعمال هذا المحلول لمدة شهرا واحدا ويحفظ في قارورة زجاجية داكنة.

3 . 8 محلول مرجعي من ثيوسولفات الصوديوم 0,01 ن

(NA2S2O3) c = 0,01 مول/ل (7 . 2).

يجب تحضير هذا المحلول حديثا انطلاقا من المحلول المرجعي لـ 0,1 مول/ل من ثيوسولفات الصوديوم المحضر مسبقا، أو يحدد عياره كل يوم. تبين التجربة بأن الاستقرار محدود وله علاقة مع قيمة العامل الهيدروجيني (PH) وكمية ثاني أكسيد الكاربون الحر. يستعمل فقط الماء الموضوع حديثا للغليان وينقى بالأزوت إذا كان ممكنا.

3 . 9 محلول النشاء، التركيز الكلي = 1 غ / 100 ملل.

يخلط 0,5 غ من النشاء في كمية قليلة من الماء البارد. يضاف هذا الخليط إلى 50 ملل من الماء المغلي مع التحريك، يترك ليغلي بضع ثوان ثم يترك مباشرة ليبرد.

يجب تحضير محلول جديد كل يوم.

وينصح استعمال نشاء البطاطا بالنسبة لقياس اليود بما أنه يسمح بالحصول على أزرق داكن جدا. يمكن استعمال كواشف مكافئة.

3 . 10 معيار ايودور البوتاسيوم (KIO3)، مادة مرجعية.

3 . 11 حمض الكلوريدريك (HCL) c = 4 مول/ل.

4 . التجهيزات

التجهيزات العادية للمخبر خاصة ما يلي :

4 . 1 أرلن ماير، سعته 250 ملل، ذو عنق مصقول مزود بسدادة زجاجية مصقولة.

4 . 2 قنينة، سعتها 10 ملل أو 25 ملل، مدرجة كل 0,05 ملل على الأقل وتكون من الأفضل مجهزة بنظام وضع الصفر أوتوماتيكيا.

4 . 3 وحدة المعايرة يدويا أو أوتوماتيكيا، سعتها، 20 ملل ذات تحديد تلقائي يقدر على الأقل بـ 10 ميكرو لتر وبتدقيق ± 0,15% (على سبيل المثال قنينة بمكبس).

4 . 4 ماصات، ذات 0,5 ملل، 1 ملل، 10 ملل (أو ماصات أوتوماتيكية).

4 . 5 مخبار مدرج، سعته 50 ملل و100 ملل،

4 . 6 ميزان تحليلي، القراءة بتقريب 0,001 غ،

4 .7 رجاج مغناطيسي، مجهز بقضيب ممغنط طوله (2,5 سم) وصفحة التسخين.

4 . 8 حوجلة مدرجة، ذات 1000 ملل.

4 . 9 حوجلة مدرجة، ذات 250 ملل.

4 . 10 حوجلة مدرجة، ذات 500 ملل.

4 . 11 فرن ذو موجات صغيرة جدا (micro-onde)، يمكن استعمال فرن ذو موجات صغيرة جدا لإذابة العينات الصلبة سريعا وبسهولة. لا يحدث استعمال فرن ذو موجات صغيرة جدا ارتفاع مؤشر البيروكسيد في حالة استعماله بحذر وبطريقة صحيحة. يجب أن تراقب الظروف المكيفة بتجارب مسبقة.

5 . اقتطاع العينات

يجب أن تكون العينة قد أرسلت إلى المخبر، يشترط أن تكون العينة غير فاسدة وغير متغيرة أثناء النقل أو التخزين.

6 . تحضير العينة للتجربة

يجب أن تعطى الأولوية لاقتطاع عينة التجربة من أجل تحديد مؤشر البيروكسيد الذي يجب تحديده في الحين.

من الأفضل مجانسة العينة بدون تسخين وبعيدا عن الهواء. ويجب تجنب أشعة الشمس المباشرة. تسخن بحذر العينات الصلبة في 10° م فوق نقطة انصهارها. يجب ترشيح العينات التي تحتوي على ملوثات مرئية.

بالنسبة لبعض المنتوجات، يمكن أن تكون الكمية المستخلصة من الجسم الدسم أو الزيت أصغر من 5 غ حيث أن مؤشر البيروكسيد يكون أكثر من 30 جزء من الألف المعادل من الأكسيجين النشط في الكيلوغرام. في هاته الحالات، يستحب أن يختار المستعمل عينة صغيرة جدا للتجربة.

7 . طريقة العمل

7 . 1 عموميات

تتبع جميع المراحل في ضوء النهار المنتشر أو الضوء الاصطناعي. تجنب كل تعرض مباشر إلى أشعة الشمس. الحرص على أن تكون جميع الأوعية خالية من المركبات المؤكسدة والمرجعة.

تحفظ المحاليل المرجعية من ثيوسولفات الصوديوم في قارورات زجاجية داكنة.

7 . 2 تحضير وتحديد المحلول المرجعي لثيوسولفات الصوديوم 0,01 ن

7 . 2 . 1 تحضير المحلول المرجعي لثيوسولفات الصوديوم 0,01 ن

يسكب 100 ملل من المحلول المعياري لثيوسولفات الصوديوم 0,1 ن (3 . 7) في حوجلة مدرجة سعتها 1000 ملل (4 . 8) بواسطة ماصة (4 . 4). يكمل الحجم بالماء الموضوع حديثا للغليان (3 . 1) حتى خط التدرج بعد عملية المجانسة، يسكب المحلول المعياري من ثيوسولفات الصوديوم 0,01 ن المتحصل عليه في قنينة زجاجية داكنة.

يحضر كل يوم محلول معياري حديث من ثيوسولفات الصوديوم 0,01 ن انطلاقا من المحلول المعياري لثيوسولفات الصوديوم 0,1 ن المحضر مسبقا أو يحدد المعاير. تبين التجربة أن الاستقرار محدود وله علاقة مع قيمة العامل الهيدروجيني (PH) وكمية ثاني أوكسيد الكاربون الحر. يستعمل فقط الماء الموضوع حديثا للغليان، ينقى بالأزوت إذا كان ممكنا.

7 . 2 . 2 تحديد عيار المحلول المعياري لثيوسولفات الصوديوم 0,01 ن (تحديد العامل)

يوزن بتقريب 0,001 ملغ، 0,27 غ إلى 0,33 غ من إيودات البوتاسيوم (KIO_3) في حوجلة مدرجة (250 ملل أو 500 ملل) (9.4 أو 4 . 10)، ثم تملأ بالماء الموضوع حديثا للغليان حتى خط التدرج (3 . 1)، ثم تبرد في درجة حرارة المحيط.

تنقل بواسطة الماصة (4 . 4)، 5 ملل أو 10 ملل من هذا المحلول من ايودات البوتاسيوم إلى الأرلن ماير سعته 250 ملل (4 . 1). يضاف 60 ملل من الماء الموضوع حديثا للغليان، 5 ملل من HCL (4 مول/ل) (3 . 11) و25 ملغ إلى 50 ملغ من أيودور البوتاسيوم (3 . 5) أو 0,5 ملل من المحلول المشبع من البوتاسيوم (3. 6).

يعاير هذا المحلول باستعمال طريقة قياس اليود (مرئي) لتحديد عامل المحلول المرجعي لثيوسولفات الصوديوم 0,01 ن (7 . 2 . 1).

يحسب التركيز الصحيح ت STAND للمحلول المعياري لثيوسولفات الصوديوم 0,01 ن حسب المعادلة التالية :

$$\text{ت STAND} = \frac{P_{KIO3} \times 1000 \times 6 \times \text{ح}_1 \times \text{ك KIO3}}{100 \times \text{ت thio} \times \text{ح}_3 \times \text{ح}_2 \times \text{ك KIO3}}$$

حيث :

ك KIO3 : هي كتلة إيودات البوتاسيوم بالغرامات.

6 : الكتلة المعادلة للمعيار (1 مول من ك $KIO_3 = 3$ مول من I_2).

ح1 : حجم محلول إيودات البوتاسيوم المستعمل لتحديد العيار (5 ملل أو 10 ملل).

ح2 : الحجم الكلي من محلول إيودات البوتاسيوم، بالميليلترات (250 ملل أو 500 ملل).

ح3 : حجم المحلول المعياري لثيوسولفات الصوديوم 0,01 ن المستعمل للتحديد بالميليلترات.

P_{KIO3} = التركيز الكتلي لأيودات البوتاسيوم بالغرامات لـ 100 غ.

ك KIO3 : الكتلة المولية لأيودات البوتاسيوم (214 غ / مول).

ت THIO = تركيز المحلول المرجعي لثيوسولفات الصوديوم 0,01 ن بالمولات في اللتر (= 0,01).

7 . 3 تحديد مؤشر البيروكسيد

7 . 3 . 1 ينقى بعناية الأرلن ماير (4 . 1) المنظف مسبقا بعناية بتيار من الأزوت أو ثاني أوكسيد الكاربون : يوزن بتقريب 1 ملغ.

أ) العينة المأخوذة للتجربة لـ 5,0 ± 0,1 غ بالنسبة لمؤشرات البيروكسيد المتوقعة بين 1 و30، أو

ب) العينة المأخوذة للتجربة لـ 10,0 ± 0,1 غ بالنسبة لمؤشرات البيروكسيد المتوقعة بين 0 و1.

يغسل الأرلن ماير قبل الاستعمال بمحلول حمض الأستيك البارد / إيزو – أوكتان (3 . 4) لكي لا يحتوي على أي مادة مؤكسدة أو مرجعة.

7 . 3 . 2 تذوب العينة المأخوذة للتجربة في 50 ملل من محلل حمض الأستيك البارد / إيزو – أوكتان مع التحريك بلطف.

بالنسبة للمواد الدسمة ذات نقطة انصهار عالية (الدسم الصلبة والحيوانية)، يضاف بعناية 20 ملل من إيزو – أوكتان (3 . 3) إلى الدسم المذابة مع التحريك

بلطف ثم يضاف مباشرة 30 ملل من حمض الأستيك البارد (3 . 2). إذا أقتضى الأمر تسخن العينة أيضا بعد التخفيف.

7 . 3 . 3 يضاف 0,5 ملل من المحلول المشبع من ايودور البوتاسيوم (3 . 6)، يسد الأرلن ماير ثم يخطط برجاج مغنطيسي (4 . 7) مع تجنب تشكل دوامة كبيرة أو الرج باليد بدون دخول الهواء لمدة 60 ثانية بالضبط (استعمال جهاز قياس الزمن بتدقيق ± 1 ثانية).

7 . 3 . 4 تفتح الحوجلة المخروطية ويضاف مباشرة 100 ملل من الماء غير المعدن، تغسل السدادة الزجاجية المصقولة وترج.

7 . 3 . 5 يعاير مباشرة اليود المحرر بمحلول معياري لثيوسولفات الصوديوم 0,01 ن (3 . 8) للانتقال من اللون الأصفر البرتقالي إلى الأصفر الباهت، يضاف إذن 0,5 ملل من محلول النشاء (3 . 9). مواصلة المعايرة للانتقال من اللون البنفسجي حتى غيابه. توقف المعايرة عند بدأ غياب لون المحلول لمدة 30 ثانية.

ملاحظة 1 : مرحلة المعايرة هي المرحلة الدنيا. يجب انتظار 15 إلى 30 ثانية لرؤية تغير اللون مع المحلول المرجعي لثيوسولفات الصوديوم 0,01 ن (3 . 8).

ملاحظة 2 : يمكن إضافة محلول النشاء في بداية المعايرة بالنسبة لمؤشرات البيروكسيد الأقل من 1.

7 . 3 . 6 في المقابل، يجب استعمال حجم من محلول ثيوسولفات 0,01 ن أصغر أو يساوي 0,1 ملل في التجربة على بياض. إذا كانت التجربة على بياض تحتاج إلى حجم كبير، يعوض المحلول المشبع من إيودور البوتاسيوم لأنه يمكن أن يكون غير موافق.

8 . الحساب والتعبير عن النتائج :

يحسب مؤشر البيروكسيد (IP) بجزء من الألف المعادل من الأكسيجين النشط في كيلوغرام بواسطة الصيغة التالية :

$$IP = \frac{(ح - ح_0) \times ت_{thio} \times ت_{STAND} \times 1000}{ك}$$

حيث :

ح : هو حجم المحلول المعياري من ثيوسولفات الصوديوم 0,01 ن المستعمل لتحديد بالميليلترات.

ح0 : حجم المحلول المعياري لثيوسولفات الصوديوم 0,01 ن المستعمل للتجربة على بياض بالميليلترات.

تSTAND : التركيز الصحيح لمحلول ثيوسولفات الصوديوم 0,01 ن المحدد حسب 2.7 بالمول في اللتر.

تthio : التركيز المقرب لمحلول ثيوسولفات الصوديوم 0,01 ن بالمولات في اللتر (= 0,01).

ك : كتلة العينة المأخوذة للتجربة بالغرامات.

يجب أن نؤشر إلى نتائج التحديد بالتقريب العشري.

★

قرارات، مقرّرات، آراء

وزارة التجارة

قرار مؤرخ في 25 رجب عام 1432 الموافق 27 يونيو سنة 2011، يجعل منهج تحديد نسبة الماء والمواد المتطايرة للمواد الدسمة ذات الأصل الحيواني والنباتي إجباريا.

إن وزير التجارة،

– بمقتضى المرسوم الرئاسي رقم 10 – 149 المؤرخ في 14 جمادى الثانية عام 1431 الموافق 28 مايو سنة 2010 والمتضمن تعيين أعضاء الحكومة،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 90 – 39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990 والمتعلق 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 – 465 المؤرخ في 4 ذي القعدة عام 1426 الموافق 6 ديسمبر سنة 2005 والمتعلق بتقييم المطابقة،

– وبمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرخ في 21 شعبان عام 1419 الموافق 10 ديسمبر سنة 1998 والمتعلق بالمواصفات التقنية للزبدة و كيفيات وضعها للاستهلاك،

– وبمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرخ في2 ذي الحجة عام 1422 الموافق 14 فبراير سنة 2002 الذي يحدد قائمة المواد المضافة المرخص بها في المواد الغذائية،

يقرر ما يأتي :

المادة الأولى : تطبيقا لأحكام المادة 19 من المرسوم التنفيذي رقم 90 – 39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990، المعدل والمتمم والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج تحديد نسبة الماء والمواد المتطايرة للمواد الدسمة ذات الأصل الحيواني والنباتي إجباريا.

المادة 2 : من أجل تحديد نسبة الماء والمواد المتطايرة للمواد الدسمة ذات الأصل الحيواني والنباتي، فإن مخابر مراقبة الجودة وقمع الغش والمخابر المعتمدة لهذا الغرض، ملزمة باستعمال المنهج المبين في الملحق المرفق بهذا القرار.

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 25 رجب عام 1432 الموافق 27 يونيو سنة 2011.

مصطفى بن بادة

الملحق

منهج تحضير نسبة الماء والمواد المتطايرة للمواد الدسمة ذات الأصل الحيواني و النباتي

1 . منهج التحديد :

هناك منهجان للتحديد، عن طريق التجفيف، لنسبة الماء والمواد المتبخرة للمواد الدسمة ذات أصل حيواني أو نباتي و هما مبينان كمايلي :

– المنهج أ، استعمال حمام رملي أو صفيحة التسخين،

– المنهج ب، استعمال فرن التجفيف.

يطبق المنهج أ على كل المواد الدسمة.

يطبق المنهج ب فقط على المواد الدسمة الغير المجففة ذات عامل الحموضة أصغر من 4. يجب أن لا تحلل زيوت اللوريك حسب هذا المنهج في أي حالة من الحالات.

2 . التعريف :

نسبة الماء و المواد المتطايرة: هي فقد من كتلة المنتوج يتعرض له هذا الأخير عند التسخين في 103° م ± 2° م في شروط هذا المنهج و نعبر عنها بالنسبة المئوية للكتلة.

3 . المبدأ :

تسخن العينة المأخوذة للتجربة في 103 م ± 2° م إلى غاية إزالة الماء والمواد المتطايرة نهائيا وتحديد الكتلة المفقودة.

4 . المنهج أ

4 . 1 التجهيزات :

أجهزة عادية للمخبر، لاسيما :

4 . 1 . 1 ميزان تحليلي.

4 . 1 . 2 وعاء التبخير من خزف أو زجاج، ذو جوف مسطح، يتراوح قطره من 80 إلى 90 ملم وعمقه حوالي 30 ملم.

4 . 1 . 3 مقياس درجة الحرارة، مدرج طوله حوالي 100 مم ومزود بخزان من الزئبق متين وغرفة ضغط في الجهة العلوية.

4 . 1 . 4 حمام رملي، أو صفيحة تسخين.

4 . 1 . 5 جهاز نازع للرطوبة، مزود بعامل مجفف.

4 . 2 طريقة العمل

4 . 2 . 1 تحضير العينة للتجربة :

تحضر العينة للتجربة طبقا للمنهج الرسمي.

4 . 2 . 2 العينة المأخوذة للتجربة :

توزن بتقريب 0,001غ حوالي 20غ من العينة (4 . 2 . 1) في وعاء التبخير (4 . 1 . 2) المجفف والموزون مسبقا مع مقياس درجة الحرارة.

4 . 2 . 3 التحديد :

يسخن وعاء التبخير الذي يحتوي على العينة المأخوذة للتجربة (4 . 2 . 2) فوق حمام رملي أو فوق صفيحة التسخين (4. 1 . 4). ملاحظة درجة حرارة المنتوج ذو حوالي 10° م / دقيقة حتى تصل إلى مايقرب 90° م وذلك بالتحريك المستمر بواسطة مقياس درجة الحرارة.

تخفض سرعة ارتفاع درجة الحرارة بملاحظة سرعة انبعاث فقعات البخار التي تتحرر من قاع وعاء التبخير وتترك درجة الحرارة ترتفع حتى تصل إلى 103°م ± 2° م. عدم تجاوز 105° م. يستمر التحريك بكشط قاع وعاء التبخير إلى حين انقطاع أي انبعاث للفقعات.

للتأكد من أن كل الماء قد تبخر، يكرر التسخين عدة مرات في درجة حرارة 103 °م ± 2 °م وذلك للتبريد في درجة حرارة 95 °م بين مراحل التسخين.

يترك بعد ذلك وعاء التبخير ليبرد مع مقياس درجة الحرارة في الجهاز نازع للرطوبة (4. 1. 5) حتى تصل إلى درجة حرارة المحيط ويوزن بتقريب 0,001 غ. تكرر هذه العمليات حتى لا يتجاوز الفرق بين نتائج وزنين متتاليين 2 ملغ.

4 . 2 . 4 عدد التحديدات :

يجرى تحديدان على عينات مأخوذة للتجربة مقتطعة من نفس العينة للتجربة (4. 2. 1) .

5 . المنهج ب

1 . 5 التجهيزات :

أجهزة عادية للمخبر.

1 . 1 . 5 ميزان تحليلي.

2 . 1 . 5 وعاء زجاجي، ذو قاعدة مسطحة، قطره حوالي 50 ملم و ارتفاعه 30 ملم.

3 . 1 . 5 جهاز تجفيف ذو تسخين كهربائي، يمكن ضبطه في 103° م ± 2° م.

4 . 1 . 5 جهاز نازع للرطوبة، مزود بعامل مجفف فعال.

2 . 5 طريقة العمل

1 . 2 . 5 تحضير العينة للتجربة :

تحضر العينة للتجربة طبقا للمنهج الرسمي.

2 . 2 . 5 العينة المأخوذة للتجربة :

توزن بتقريب 0,001 غ، حوالي 5 أو 10 غ من العينة للتجربة (5 . 2 . 1)، حسب النسبة المفترضة للماء والمواد المتطايرة، في الوعاء (5 . 1 . 2)، المجفف والموزون فارغا مسبقا.

3 . 2 . 5 التحديد :

يوضع الوعاء الذي يحتوي على العينة المأخوذة للتجربة (5. 2. 2) لمدة ساعة في جهاز التجفيف (5. 1. 3) المضبوط في 103°م. يترك ليبرد في الجهاز النازع للرطوبة (5 . 1 . 4) حتى يصل إلى درجة حرارة المحيط ويوزن بتقريب 0,001 غ.

تكرر عمليات التسخين، التبريد والوزن لكن بفترات متتالية في جهاز التجفيف لمدة 30 دقيقة لكل واحدة، حتى لا يتجاوز الفقد في الكتلة بين وزنين متتاليين 2 أو4 ملغ، حسب كتلة العينة المأخوذة للتجربة.

ملاحظة :

يشير ارتفاع كتلة العينة المأخوذة للتجربة بعد تكرير التسخين إلى حدوث أكسدة ذاتية للمادة الدسمة. في هذه الحالة، تؤخذ لحساب النتيجة كتلة الحد الأدنى المتحصل عليها أو يستعمل من الأفضل المنهج أ.

4 . 2 . 5 عدد التحديدات :

يجرى تحديدان على العينات المأخوذة للتجربة المقتطعة من نفس العينة للتجربة (5 . 2 . 1).

6 . التعبير على النتائج :

يعبرعن نسبة الماء والمواد المتبخرة، بنسبة مئوية للكتلة وتساوي :

$$\frac{ك_1 - ك_2}{ك_1 - ك_0} \times 100$$

حيث :

$ك_0$: هي الكتلة بالغرامات، لوعاء التبخير (4 . 1 . 2) ومقياس درجة الحرارة (4 . 1 . 3) أو للوعاء الزجاجي (5 . 1 . 2).

$ك_1$: هي الكتلة بالغرامات، لوعاء التبخير ومقياس درجة الحرارة والعينة المأخوذة للتجربة (4 . 2 . 2)، أو للوعاء والعينة المأخوذة للتجربة (5 . 2 . 2) قبل التسخين.

$ك_2$: هي الكتلة بالغرامات، لوعاء التبخير ومقياس درجة الحرارة والراسب (4 . 2 . 3)، أو للوعاء الراسب (5 . 2 . 3) بعد التسخين.

ملاحظة : في حالة المنهج ب، يعوض وعاء التبخير (4 . 1 . 2) بالوعاء الزجاجي (5 . 1 . 2).

يؤخذ كنتيجة المعدل الجبري للتحديدين إذا توفر شرط التكرارية (7).

تعطى النتائج بعددين بعد الفاصلة.

7 . التكرارية :

يجب أن لا يتجاوز الفرق بين نتائج تحديدين أجريا في آن واحد أو بسرعة الواحد تلوى الآخر من طرف نفس المحلل، 0,05غ من الماء و المواد المتبخرة لـ 100غ من العينة.

★

قرار مؤرخ في 25 رجب عام 1432 الموافق 27 يونيو سنة 2011، يجعل منهج تحديد نسبة الملوثات غير القابلة للذوبان في المواد الدسمة ذات الأصل الحيواني والنباتي إجباريا.

إن وزير التجارة،

– بمقتضى المرسوم الرئاسي رقم 10 – 149 المؤرخ في 14 جمادى الثانية عام 1431 الموافق 28 مايو سنة 2010 والمتضمن تعيين أعضاء الحكومة،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 90 – 39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990 والمتعلق 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 – 465 المؤرخ في 4 ذي القعدة عام 1426 الموافق 6 ديسمبر سنة 2005 والمتعلق بتقييم المطابقة،

– وبمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرخ في 21 شعبان عام 1419 الموافق 10 ديسمبر سنة 1998 والمتعلق بالمواصفات التقنية للزبدة و كيفيات وضعها للاستهلاك،

– وبمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرخ في2 ذي الحجة عام 1422 الموافق 14 فبراير سنة 2002 الذي يحدد قائمة المواد المضافة المرخص بها في المواد الغذائية،

يقرر ما يأتي :

المادة الأولى : تطبيقا لأحكام المادة 19 من المرسوم التنفيذي رقم 90 – 39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990، المعدل والمتمم والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج تحديد نسبة الملوثات غير القابلة للذوبان في المواد الدسمة ذات الأصل الحيواني والنباتي إجباريا.

المادة 2 : من أجل تحديد نسبة الملوثات غير القابلة للذوبان في المواد الدسمة ذات الأصل الحيواني والنباتي، فإن مخابر مراقبة الجودة وقمع الغش والمخابر المعتمدة لهذا الغرض، ملزمة باستعمال المنهج المبين في الملحق المرفق بهذا القرار.

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 25 رجب عام 1432 الموافق 27 يونيو سنة 2011.

مصطفى بن بادة

الملحق

منهج تحديد نسبة الملوثات غير القابلة للذوبان في المواد الدسمة ذات الأصل الحيواني و النباتي

1 . التعريف :

نسبة الملوثات غير القابلة للذوبان :

كمية الغبار والمواد الغريبة الأخرى غير القابلة للذوبان في ن – هكزان أو إثير البترول، في الشروط المحددة في هذا المنهج.

يعبر عن نسبة الملوثات بالنسبة المئوية للكتلة.

تشمل هذه الملوثات، ملوثات ميكانيكية، مواد معدنية، هيدرات الكربون، مواد آزوتية، مختلف المواد الصمغية، صابونات الكالسيوم، الأحماض الدسمة المؤكسدة، لاكتون الأحماض الدسمة و (جزئيا) الصابونات القاعدية، هيدروكسيد الأحماض الدسمة والغليسيريد التابعة لها.

2 . المبدأ :

معالجة العينة المأخوذة للتجربة بفائض من ن– هكزان أو إثير البترول ثم يرشح المحلول المتحصل عليه. تغسل المصفاة والراسب بواسطة نفس المذيب. يجفف في 103° م ± 2° م ثم نزن.

3 . الكواشف :

تستعمل فقط الكواشف ذات نوعية تحليلية معروفة.

3 . 1 ن- هكزان أو في حالة عدم توفره، إثير البترول ذو مجال التقطير بين 30° م و60° م ومؤشر البروم أقل من 1.

لا يجب أن يكون الراسب عند التبخر التام بالنسبة للمذيبين، أكبر من 0,002 غ لـ 100 ملل.

3 . 2 kieselguhr، منقى، محروق، يفقد الكتلة بنسبة 0,2 %، في 900° م (حتى الاحمرار).

4 . التجهيزات :

الأجهزة المتداولة في المخبر، لا سيما :

4 . 1 ميزان تحليلي، دقيق ± 0,001 غ بالتقريب.

4 . 2 مجفف بالتسخين الكهربائي، يمكن ضبطه في 103° م ± 2° م.

4 . 3 حوجلة مخروطية، سعتها 250 ملل مزودة بسدادة من زجاج دائرية.

4 . 4 جهاز تنشيف، مزود بعامل مجفف فعال.

4 . 5 ورق ترشيح بدون رماد (نسبة عليا من الرماد تقدر بـ 0,01 % من الكتلة)، مؤشر الحصر بـ 98 % بالكتلة، للجزيئات التي أبعادها أكبر من 2,5 ميكرومتر، أو مصفاة من الليف الزجاجي قطرها يعادل 120 مم، و كذلك وعاء معدني (من الأفضل ألمنيوم) أو زجاجي مزود بغطاء ملائم (متغير في 6.4 لجميع المواد، ما عدا الزيوت الحامضة).

4 . 6 بؤرة مرشحة، من زجاج، نوعية P16 (فتحة المسامات من 10 إلى 16 ميكرومتر)، قطرها 40 مم وسعتها 50 ملل، وحوجلة للترشيح (متغيرة في 4,5 تشمل المواد الحامضة).

4 . 7 جهاز تحضين، ذو تسخين كهربائي، يمكن أن يعمل في 103° م ± 2° م.

5 . اقتطاع العينة :

من الضروري أن يتلقى المخبر عينة ممثلة حقيقية، غير متلفة ولا متغيرة أثناء النقل والتخزين.

6 . تحضير العينة للتجربة :

يجري اقتطاع العينة في الشروط الملائمة.

7 . طريقة العمل :

7 . 1 العينة المأخوذة للتجربة :

توزن بتقريب 0,01غ، حوالي 20غ من العينة المأخوذة للتجربة في حوجلة مخروطية (4 . 3).

7 . 2 التحديد :

7 . 2 . 1 يجفف إما ورق الترشيح، الوعاء وغطاؤه أو البؤرة المرشحة (4 . 6) في المجفف (4 . 2) مضبوط في 103 ° م. يترك ليبرد في جهاز التنشيف (4 . 4) ويوزن بتقريب 0,001 غ.

7 . 2 . 2 يضاف 200 ملل من ن - هكزان أو إثير البترول (3 . 1) في الحوجلة التي تحتوي على العينة المأخوذة للتجربة (7 . 1) تغلق الحوجلة وترج.

بالنسبة لزيت الخروع، يمكن زيادة كمية المذيب لكي نسهل العملية و قد يكون من الضروري استعمال حوجلة سعتها أكبر.

تترك في درجة حرارة مقاربة لـ 20° م لمدة تقارب 30 ثانية.

7 . 2 . 3 ترشح فوق ورقة الترشيح موضوعة داخل قمع ملائم، أو فوق البؤرة المرشحة باستعمال، إذا اقتضى الأمر، امتصاص خفيف.

تغسل ورقة الترشيح أو البؤرة المرشحة بسكب كميات صغيرة من نفس المذيب كما في (7 . 2 . 2) لكن بالكمية اللازمة لكي تكون الرشاحة الأخيرة خالية من المواد الدسمة. يسخن المذيب، إذا اقتضى الأمر، حتى درجة حرارة قصوى بـ 60° م حتى تذوب جميع المواد الدسمة الصلبة فوق ورق الترشيح.

7 . 2 . 4 إذا استعملنا ورق الترشيح، ننزعه من القمع، و نضعه فوق الوعاء، يترك ليتبخر في الهواء الجزء الأكبر للمذيب الباقي فوق ورق الترشيح و ينهى التبخر في المجفف المضبوط في 103° م. يخرج من المجفف، يغلق الوعاء بغطائه : يترك يبرد في جهاز التنشيف (4 . 4) ويوزن بتقريب 0,001 غ.

7 . 2 . 5 إذا استعملنا البوّرة المرشحة، يترك ليتبخر في الهواء الجزء الأكبر من المذيب الباقي فوق هذه الأخيرة و تنهى العملية في المجفف المضبوط في 103°م. يخرج من المجفف، يترك ليبرد في جهاز التنشيف (4 . 6) و يوزن بتقريب 0,001 غ.

7 . 2 . 6 إذا أردنا تحديد نسبة الملوثات العضوية، من الضروري استعمال ورق الترشيح بدون رماد، مجفف و موزون سابقا. في هذه الحالة، يجب أن يحرق ورق الترشيح الذي يحتوي على الملوثات غير القابلة للذوبان و يجب أن تطرح كتلة الرماد المتحصل عليها من كتلة الملوثات غير القابلة للذوبان.

يجب أن تحسب نسبة الملوثات العضوية، المعبر عنها بالنسبة المئوية للكتلة، بضرب فرق الكتلة في 100 / ك0، حيث ك0 هي كتلة العينة المأخوذة للتجربة بالغرام.

7 . 2 . 7 إذا قمنا بتحليل الزيوت الحامضة، نملأ بوّرة الترشيح بـ kieselguhr (2 .3) كالتالي. نحضر مزيج بـ 2غ من kieselguhr وحوالي 30 ملل من إثير البترول (3 . 1) في بيشر من زجاج سعته 100 ملل. يسكب المزيج فى بوّرة الترشيح، تحت ضغط منخفض، للحصول على طبقة من kieselguhr فوق مصفاة من الزجاج.

تجفف بوّرة الترشيح الزجاجية المحضرة فى المجفف (4 . 2) مضبوط في 103° م، لمدة ساعة. يترك ليبرد فى جهاز التنشيف (4 . 4) ويوزن بتقريب 0,001 غ.

8 . التعبير عن النتائج :

يعبر عن نسبة الملوثات غير القابلة للذوبان بالنسبة المئوية للكتلة، وتساوي :

$$w = \frac{ك_2 - ك_1}{ك_0} \times 100$$

حيث :

ك0 : هي كتلة العينة المأخوذة للتجربة (7 . 1) بالغرام.

ك1 : هي كتلة الوعاء وغطائه وورق الترشيح أو بوّرة الترشيح (7 . 1) بالغرام.

ك2 : هي كتلة الوعاء وغطائه وورق الترشيح يحتوي على الراسب (7 . 2 . 1) أو بوّرة الترشيح والراسب (7 . 2 . 5) بالغرام.

تعطى النتيجة بعددين بعد الفاصلة.

9 . التكرارية :

لا يتجاوز الفرق المطلق بين نتيجتي تجربتين فرديتين مستقلتين، و المتحصل عليهما بواسطة نفس المنهج على مادة مماثلة خاضعة للتجربة بنفس التجهيزات في فاصل زمني قصير إلا في 5 % من الحالات على الأكثر قيمة 0,01 غ من الملوثات في 100 غ من عينة لا تحتوي على أكثر من 0,10 % (بالكتلة) من الملوثات غير القابلة للذوبان.

10 . إعادة التجربة :

لا يتجاوز الفرق المطلق بين نتيجتي تجربتين فرديتين، المتحصل عليهما بواسطة نفس المنهج على مادة مماثلة خاضعة للتجربة في عدة مخابر من طرف عدة محللين يستعملون تجهيزات مختلفة، إلا في 5 % من الحالات على الأكثر قيمة 0,06 غ من الملوثات في 100 غ من عينة لا تحتوي على أكثر من 0,10 % (بالكتلة) من الملوثات غير القابلة للذوبان.

★

قرار مؤرخ في 25 رجب عام 1432 الموافق 27 يونيو سنة 2011، يجعل منهج تحديد مؤشر انكسار الضوء للمواد الدسمة ذات الأصل الحيواني والنباتي إجباريا.

إن وزير التجارة،

– بمقتضى المرسوم الرئاسي رقم 10 – 149 المؤرخ في 14 جمادى الثانية عام 1431 الموافق 28 مايو سنة 2010 والمتضمن تعيين أعضاء الحكومة،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 90 – 39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990 والمتعلق 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 – 465 المؤرخ في 4 ذي القعدة عام 1426 الموافق 6 ديسمبر سنة 2005 والمتعلق بتقييم المطابقة،

– وبمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرخ في 21 شعبان عام 1419 الموافق 10 ديسمبر سنة 1998 والمتعلق بالمواصفات التقنية للزبدة و كيفيات وضعها للاستهلاك،

– وبمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرخ في2 ذي الحجة عام 1422 الموافق 14 فبراير سنة 2002 الذي يحدد قائمة المواد المضافة المرخص بها في المواد الغذائية،

يقرر ما يأتي :

المادة الأولى : تطبيقا لأحكام المادة 19 من المرسوم التنفيذي رقم 90 – 39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990، المعدل والمتمم والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج تحديد مؤشر انكسار الضوء للمواد الدسمة ذات الأصل الحيواني والنباتي إجباريا.

المادة 2 : من أجل تحديد مؤشر انكسار الضوء للمواد الدسمة ذات الأصل الحيواني والنباتي، فإن مخابر مراقبة الجودة وقمع الغش والمخابر المعتمدة لهذا الغرض، ملزمة باستعمال المنهج المبين في الملحق المرفق بهذا القرار.

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 25 رجب عام 1432 الموافق 27 يونيو سنة 2011.

مصطفى بن بادة

الملحق

منهج تحديد مؤشر انكسار الضوء للمواد الدسمة ذات الأصل الحيواني و النباتي

1 . التعريف :

مؤشر انكسار الضوء لمادة ما هو نسبة سرعة الضوء في طول موجة محددة في الفراغ على سرعته في المادة.

تستعمل تطبيقا، سرعة الضوء في الهواء بدل سرعته في الفراغ و طول الموجة المختارة، باستثناء التعليمات، هي معدل خطوط الطيف ط للصوديوم (589,6 نانومتر).

يتغير مؤشر انكسار الضوء لمادة ما مع طول موجة الضوء الوارد و مع درجة الحرارة.

يرمز لمؤشر انكسار الضوء بـ ن ط د حيث أن د هي درجة الحرارة المئوية.

2 . المبدأ :

قياس مؤشر انكسار الضوء للعينة السائلة بواسطة جهاز ملائم لقياس الانكسار في درجة حرارة ثابتة.

3 . الكواشف :

3 . 1 α برومونافتالين، أو لورات الإثيل ذو جودة تتلاءم مع جهاز قياس مؤشر الانكسار و ذو مؤشر انكسار معروف.

$CH_3 (CH2)_4$ في 20° م (نط 1,4119)

3 . 2 ثلاثي كلورو الإثيلان، أو مذيبات أخرى كالهكزان، إثير البترول أسيتون، تولوان، لتنظيف موشور جهاز قياس الانكسار.

4 . التجهيزات :

الأجهزة المتداولة في المخبر، لا سيما :

4 . 1 جهاز قياس الانكسار، نوع ABBE مثلا، قابل لتحديد مؤشر الانكسار بتقريب ± 0,0001 بين ن ط = 1,3000 و ن ط = 1,7000.

يجب أن يضبط جهاز قياس الانكسار بحيث يعطي للماء المقطر في درجة حرارة 20° م مؤشر يقدر بـ 1,3330.

4 . 2 مصدر الضوء : مصباح ببخار الصوديوم.

يمكن استعمال الضوء الأبيض إذا كان جهاز قياس الانكسار مزودا بنظام تعويض لا صبغي.

صفيحة زجاجية ذات مؤشر انكسار معروف.

4 . 3 حمام مائي : يمكن ضبطه في درجة الحرارة التي تجرى فيها القياسات (حالة العينات الصلبة).

5 . اقتطاع العينة :

يجرى اقتطاع العينة في الشروط الملائمة.

6 . طريقة العمل :

1.6 تحضير العينة للتجربة :

تحضر عينة التجربة طبقا للمنهج الرسمي.

يجب أن يحدد مؤشر الانكسار على المادة الدسمة مجففة كليا ومرشحة.

في حالة عينة صلبة، تنقل العينة المحضرة في وعاء مناسب ثم يوضع في حمام مائي (4 . 5) مضبوط في درجة حرارة التي تجرى فيها القياسات. تترك لوقت كاف حتى تستقر درجة حرارة العينة.

2.6 ضبط الجهاز :

التحقق من أن جهاز قياس الانكسار (4 . 1) مضبوط و ذلك بقياس مؤشر انكسار الصفيحة الزجاجية (4 . 3) طبقا لتعليمات الصانع أو بقياس مؤشر انكسار α برومونافتالين أو لورات الإثيل (3 . 1).

3.6 التحديد :

يقاس مؤشر انكسار العينة في درجات الحرارة الآتية :

أ) 20° م للمواد الدسمة السائلة كليا في هذه الدرجة من الحرارة،

ب) 40° م للمواد الدسمة الذائبة كليا في هذه الدرجة من الحرارة،

ج) 50° م للمواد الدسمة الذائبة كليا في هذه الدرجة من الحرارة و ليس في 40° م،

د) 60° م للمواد الدسمة الذائبة كليا في هذه الدرجة من الحرارة و ليس في 50° م،

هـ) 80° م أو أعلى للمواد الدسمة الأخرى المهدرجة كليا أو الشموع.

تثبت درجة حرارة موشور جهاز قياس الانكسار في القيمة الثابتة اللازمة بواسطة جريان الماء الموفر من طرف الحمام المائي (4 . 4) مضبوط في 0,1° م تقريبا.

مراقبة درجة حرارة الماء الصادر من جهاز قياس الانكسار باستعمال مقياس درجة الحرارة ذي دقة ملائمة. مباشرة قبل القياس، ينزل الطرف المتحرك للموشور في وضع أفقي.

يمسح سطح الموشور في البداية بواسطة منشفة ناعمة، ثم بقطن مندوف مبلل ببعض قطرات من المحلل (3 . 2).

تجرى القياسات طبقا للتعليمات العملية للجهاز المستعمل.

قراءة مؤشر الانكسار بتقريب 0,0001 بالقيمة المطلقة وتسجل درجة حرارة موشور الجهاز.

مباشرة بعد القياسات، يمسح سطح الموشور بواسطة منشفة ناعمة ثم بقطن مندوف مبلل ببعض قطرات المحلل (3 . 2).

يقاس مؤشر الانكسار مرتين و يحسب المعدل الجبري للقياسات الثلاثة.

4.6 عدد التحديدات :

يجرى تحديدان على عينتين مقتطعتين للتجربة مأخوذتين من نفس عينة التجربة.

7 . التعبير عن النتائج :

1.7 طريقة الحساب والصيغ :

إذا كان الفرق بين درجة حرارة القياس د1 ودرجة الحرارة المرجعية د أقل من 3° م، يعطي مؤشر الانكسار ن ط د في درجة الحرارة المرجعية بالصيغة الآتية :

أ) إذا كان د1 > د

ن ط ^{د} = ن ط ^{د1} + (د1 − د) ع

ب) إذا كان د1 < د.

ن ط ^{د} = ن ط ^{د1} + (د − د1) ع

حيث :

د1 درجة حرارة القياس.

د درجة الحرارة المرجعية.

ع هو عامل التصحيح، مرتبط بدرجة الحرارة، يساوي 0,00035 لـ د = 20° م، للزيوت،

0,00036 لـ د = 40° م، د = 50° م، د = 60° م للدهون الكثيفة و خليط الأحماض الدسمة.

0,00037 لـ د = 80° م أو أعلى، للشموع.

يؤخذ كنتيجة المعدل الجبري للقيم المتحصل عليها في التحديدين (4 . 5) إذا توفرت شروط التكرارية (6 . 2).

تسجل النتيجة بتكميل العدد إلى أربعة أرقام بعد الفاصلة.

ملاحظة :

عند التعبير عن النتائج، يجب الأخذ بعين الاعتبار بأن وجود الأحماض الدسمة الحرة يخفض بشدة مؤشر الانكسار.

إذا كان مؤشر انكسار الحمض يساوي 2، تضاف 0,000045 لكل وحدة مؤشر الحمض.

2 . 7 التكرارية :

يجب أن لا يتعدى الفرق بين القيمتين المتحصل عليهما في التحديدين (5 . 4) المنجزين بسرعة الواحد تلو الآخر من طرف نفس المحلل 0,0002 وحدة مؤشر الانكسار و إلا تعاد التحديدات.

★

وزارة التجارة

قرار مؤرخ في 3 رمضان عام 1432 الموافق 3 غشت سنة 2011، يجعل منهج تحديد كمية كلورير الصوديوم في المواد الدسمة ذات الأصل الحيواني والنباتي إجباريا.

إن وزير التجارة،

– بمقتضى المرسوم الرئاسي رقم 10 – 149 المؤرخ في 14 جمادى الثانية عام 1431 الموافق 28 مايو سنة 2010 والمتضمن تعيين أعضاء الحكومة،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 90 – 39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990 والمتعلق 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 – 465 المؤرخ في 4 ذي القعدة عام 1426 الموافق 6 ديسمبر سنة 2005 و المتعلق بتقييم المطابقة،

– وبمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرخ في 21 شعبان عام 1419 الموافق 10 ديسمبر سنة 1998 والمتعلق بالمواصفات التقنية للزبدة و كيفيات وضعها للاستهلاك،

– وبمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرخ في2 ذي الحجة عام 1422 الموافق 14 فبراير سنة 2002 الذي يحدد قائمة المواد المضافة المرخص بها في المواد الغذائية،

يقرر ما يأتي :

المادة الأولى : تطبيقا لأحكام المادة 19 من المرسوم التنفيذي رقم 90 – 39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990، المعدل والمتمم والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج تحديد كمية كلورير الصوديوم في المواد الدسمة ذات الأصل الحيواني و النباتي إجباريا.

المادة 2 : من أجل تحديد كمية كلورير الصوديوم في المواد الدسمة ذات الأصل الحيواني و النباتي ، فإن مخابر مراقبة الجودة وقمع الغش والمخابر المعتمدة لهذا الغرض، ملزمة باستعمال المنهج المبين في الملحق المرفق بهذا القرار.

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 3 رمضان عام 1432 الموافق 3 غشت سنة 2011.

مصطفى بن بادة

الملحق

منهج تحديد كمية كلورير الصوديوم في المواد الدسمة ذات الأصل الحيواني و النباتي

1. الموضوع و مجال التطبيق

يطبق منهج تحديد كمية كلورير الصوديوم على جميع أنواع المرغرين.

2. المبدأ

بعد إذابة المرغرين بإضافة الماء المغلي، يعاير كلورير الخليط بمحلول معاير بنترات الفضة، بوجود كرومات البوتاسيوم ككاشف، حسب طريقة مور.

3. الكواشف

يجب أن تكون الكواشف المستعملة ذات نوعية تحليلية معترف بها.

1 . 3 محلول معاير بنترات الفضة، 0,1 نظامية.

2 . 3 محلول كرومات البوتاسيوم بـ 5 % (ك/ح) في الماء المقطر.

4. التجهيزات

1 . 4 ميزان تحليلي.

2 . 4 أرلن ماير، سعته 250 ملل.

3 . 4 أنبوب زجاجي مدرج بعشرميليلتر (10/1).

5 . طريقة العمل

1 . 5 تحضير العينة

تلين العينة بتسخينها في حمام مائي داخل إناء مغلق في أقل درجة حرارة ممكنة حتى لا يتفكك المستحلب.

يرج الإناء المحتوي على العينة من حين إلى آخر أثناء مرحلة التلين لمزج العينة بإتقان.

ينزع الإناء من الحمام المائي ثم يرج بشدة لفترات متعددة إلى أن تبرد العينة و تأخذ صلابة قشدة كثيفة.

يمكن استعمال آلة رج ميكانيكية.

2 . 5 تجربة على البياض

قيام بتجربة على بياض باستعمال نفس الكواشف في نفس النسب و بمتابعة نفس طريقة العمل المبينة في الفقرة (3.5) باستثناء العينة.

3 . 5 المعايرة

توزن بتقريب 0,01غ، حوالي 5غ من العينة داخل أرلن ماير. يضاف بحذر 100 ملل من الماء المقطر المغلى.

يترك ليرتاح لمدة 5 إلى 10 دقائق، مع الرج من وقت إلى آخر، حتى تصل درجة حرارة الخليط من 50 إلى 55°م (رجة المعايرة). يضاف 2 ملل من محلول كرومات البوتاسيوم (2.3).

تخلط مع الرج. و بمواصلة الرج، تعاير بمحلول نترات الفضة (1.3) حتى استمرار تغير اللون إلى أحمر آجوري لمدة ثلاثين ثانية (30 ثا).

6. التعبير عن النتائج

تعطى كمية كلورير الصوديوم (معبر عنها بالنسبة المئوية ك/ك : NaCl بالصيغة الآتية :

$$\frac{5,85\ (ح_1 - ح_0)\ ن}{ك_0}$$

حيث :

$ح_0$: هو الحجم، بالميليلتر، لمحلول نترات الفضة المستعمل في التجربة على البياض.

$ح_1$: هو الحجم، بالميليلتر، لمحلول نترات الفضة المستعمل في أخذ العينة.

ن : هي نظامية محلول نترات الفضة.

$ك_0$: هي الكتلة، بالغرام، المستعملة في أخذ عينة التجربة.

تكمل النتيجة إلى 0,01 % بالتقريب.

7. التكرارية

يجب أن لا يتجاوز الفرق بين نتائج تحديدين متقابلين (نتائج محصل عليها في نفس الوقت أو بصفة سريعة الواحدة تلوى الأخرى من طرف نفس المحلل)، 0,02غ من كلورير الصوديوم في 100غ من المنتوج.

قرار مؤرخ في 3 رمضان عام 1432 الموافق 3 غشت سنة 2011، يجعل منهج الكشف السريع عن وجود مضاد أكسيجين واحد في المواد الدسمة ذات الأصل الحيواني والنباتي إجباريا.

إن وزير التجارة،

– بمقتضى المرسوم الرئاسي رقم 10 – 149 المؤرخ في 14 جمادى الثانية عام 1431 الموافق 28مايو سنة 2010 والمتضمن تعيين أعضاء الحكومة،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 90 – 39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990 والمتعلق 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 – 465 المؤرخ في 4 ذي القعدة عام 1426 الموافق 6 ديسمبر سنة 2005 و المتعلق بتقييم المطابقة،

– وبمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرخ في 21 شعبان عام 1419 الموافق 10 ديسمبر سنة 1998 والمتعلق بالمواصفات التقنية للزبدة و كيفيات وضعها للاستهلاك،

– وبمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرخ في2 ذي الحجة عام 1422 الموافق 14 فبراير سنة 2002 الذي يحدد قائمة المواد المضافة المرخص بها في المواد الغذائية،

يقرر ما يأتي :

المادة الأولى : تطبيقا لأحكام المادة 19 من المرسوم التنفيذي رقم 90 – 39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990، المعدل والمتمم والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج الكشف السريع عن وجود مضاد أكسيجين واحد في المواد الدسمة ذات الأصل الحيواني و النباتي إجباريا.

المادة 2 : من أجل الكشف السريع عن وجود مضاد أكسيجين واحد في المواد الدسمة ذات الأصل الحيواني والنباتي ، فإن مخابر مراقبة الجودة وقمع الغش والمخابر المعتمدة لهذا الغرض، ملزمة باستعمال المنهج المبين في الملحق المرفق بهذا القرار.

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 3 رمضان عام 1432 الموافق 3 غشت سنة 2011.

مصطفى بن بادة

الملحق

منهج الكشف السريع عن وجود مضاد أكسيجين واحد في المواد الدسمة ذات الأصل الحيواني و النباتي

1. التعريف :

يصف هذا المنهج التجريبي ثلاث تقنيات سريعة للكشف عن وجود أو غياب مضاد الأكسيجين في المواد الدسمة ذات الأصل الحيواني و النباتي.

تطبق هذه التقنيات بالتوالي على :

البوتيل هيدروكسي أنيزول (BHA) بوتيل هيدروكسي تولوان(BHT)، الغالات. عند افتراض وجود مضاد أكسيجين واحد منها و المعروف مسبقا.

2 – منهج الكشف عن البوتيل هيدروكسي أنيزول (BHA)

2 . 1 المبدأ :

بعد الذوبان المتوقع للعينة المقتطعة في الهكزان، يستخرج البوتيل هيدروكسي أنيزول (BHA) بواسطة محلول إثانولي ويتكون مركب أزرق اللون مع ثنائي كلورو– 2، 6 خماسي بنزوكينون– 4 كلورو إيميد بوجود البوراكس.

2 . 2 الكواشف :

يجب أن تكون جميع الكواشف ذات نوعية تحليلية و أن يكون الماء المستعمل ماء مقطرا أو ذا نقاوة مكافئة.

2 . 2 . 1 ن– هكزان.

2 . 2 . 2 إيثانول، محلول لـ 30 % (ح/ح).

2 . 2 . 3 ثنائي كلورو– 2، 6 خماسي بنزوكينون – 4 كلوروإميد.

2 . 2 . 4 بوراكس (رباعي بورات الصوديوم)، محلول بـ 20 غ/ل.

2 . 3 التجهيزات :

أنابيب الاختبار.

2 . 4 طريقة العمل :

2 . 4 . 1 العينة المأخوذة للتجربة

توزن بتقريب 0,5 غ في أنبوب اختبار (3.2)، 4 غ من عينة المادة الدسمة.

2 . 4 . 2 الكشف

إذا كانت المادة الدسمة كثيفة، تذوب العينة المقتطعة في 10 ملل من الهكزان (2 . 2 . 1)

يضاف 15 ملل من المحلول الإيثانولي (2.2.2)، ثم 2 ملل من محلول البوراكس (4.2.2) و بعض بلورات (بتقريب 0,05 غ) من ثنائي كلورو- 2 . 6 بنزوكينون – 4 – كلوروإميد (3.2.2). يرج أنبوب الاختبار عدة مرات.

يتلون الطور المائي بالأزرق في مدة 10 دقائق تقريبا بوجود بوتيل هيدروكسي أنيزول (BHA).

2 . 5 حد الكشف :

يقارب حد الكشف 50 مغ/ كغ (جزء من المليون) من البوتيل هيدروكسي أنيزول (BHA).

3. منهج تحديد البوتيل هيدروكسي تولوان (BHT)

3 . 1 المبدأ :

يستخرج البوتيل هيدروكسي تولوان (BHT) بواسطة الأسيتونتريل النقي. يتكون مركب ذو لون وردي بوجود الديانيزيدين ونتريت الصوديوم، الذي يستخرج بواسطة الكلوروفورم.

3 . 2 الكواشف :

يجب أن تكون جميع الكواشف ذات نوعية تحليلية و أن يكون الماء المستعمل ماء مقطرا أو ذا نوعية معادلة.

3 . 2 . 1 الكلوروفورم

3 . 2 . 2 أسيتونتريل

3 . 2 . 3 ديانيزدين (ثنائي ميتوكسي- 3،3، ثنائي أمينو- 4، 4 ثنائي الفنيل)

يوزن 200 غ تقريبا من الديانيزيدين في حوجلة مدرجة سعتها 100 ملل و يذوب في 40 ملل من الميثانول. تملأ بمحلول حمض الكلوريدريك ن إلى غاية خط التدريج.

يحفظ هذا المحلول لبضعة أيام بعيدا عن الضوء.

3 . 2 . 4 نتريت الصوديوم، محلول لـ 3 غ/ل

3 . 2 . 5 مواد دسمة غير مؤكسدة

3 . 3 التجهيزات :

3 . 3 . 1 حوجلات مخروطية سعتها 50 ملل مزودة بسدادات.

3 . 3 . 2 أنابيب الاختبار.

3 . 3 . 3 أنبوب اختبار سعته 10 ملل.

3 . 4 طريقة العمل :

3 . 4 . 1 العينة المأخوذة للتجربة :

توزن بتقريب 1غ، في حوجلة مخروطية سعتها 50ملل

(3 . 1 . 3)، 10غ من عينة المادة الدسمة.

3 . 4 . 2 الكشف :

يضاف إلى العينة المقتطعة، 5 ملل من الأسيتونتريل (3 . 2 . 2) بواسطة أنبوب الاختبار (3 . 3 . 3) تسد وترج بقوة. تترك لتترسب و تبرد.

يسكب السائل الذي يطفو في أنبوب الاختبار (3 . 3 . 2) ويضاف على التوالي 5 ملل من محلول الديانيزيدين (3 . 2 . 3) و2 ملل من محلول نتريت الصوديوم (3 . 2 . 4) ترج. يظهر لون برتقالي في جميع الحالات، حتى في غياب مضاد الأكسيجين. يضاف إذن 2 ملل من الكلوروفورم (3 . 2 . 1) و ترج من جديد.

يكشف عن وجود البوتيل هيدروكسي تولوان (BHT) بظهور لون وردي شديد نوعا ما لطور الكلوروفورم الذي يجب مقارنته بالتجربة على البياض (3 . 4 . 3).

3 . 4 . 3 تجربة على بياض :

تقام تجربة على بياض في نفس شروط العمل لكن باستعمال مادة دسمة غير مؤكسدة (3 . 2 . 5) نلاحظ في بعض الأحيان ظهور لون طفيف، مما يجعل هذه التجربة ضرورية.

3 . 5 حد الكشف :

يقارب حد الكشف 10 مغ/ كغ (جزء من المليون) من بوتيل هيدروكسي تولوان (BHT).

4. منهج الكشف عن الغالات :

4 . 1 المبدأ :

توضع العينة المأخوذة للتجربة في محلول الهكزان. يتكون مع الغالات مركب ذو لون وردي في وجود هيدروكسيد الأمونيوم المركز.

4 . 2 الكواشف :

يجب أن تكون جميع الكواشف ذات نوعية تحليلية و أن يكون الماء المستعمل ماء مقطرا أو ماء ذا نقاوة مكافئة.

4 . 2 . 1 ن- هكزان

4 . 2 . 2 هيدروكسيد الأمونيوم المركز

4 . 3 التجهيزات :

حوجلة مخروطية سعتها 50 ملل.

4 . 4 طريقة العمل :

4 . 4 . 1 العينة المأخوذة للتجربة :

توزن بتقريب 0,5غ في حوجلة مخروطية سعتها 50 ملل

(4 . 3) 5غ من عينة المادة الدسمة.

4 . 4 . 2 الكشف :

تذوب العينة المقتطعة بواسطة 20 ملل من الهكزان (4 . 2 . 1).

يضاف 10 ملل من هيدروكسيد الأمونيوم المركز (4 . 2 . 2) وترج ببطء.

يتلون طور الأمونياك بلون وردي شديد نوعا ما في وجود الغالات. تقل شدة اللون كلما كانت الكتلة المولية للغالات أكبر.

4 . 5 حد الكشف :

يقارب حد الكشف 50 مغ/ كغ (جزء من المليون) من الغالات.

★

قرار مؤرخ في 3 رمضان عام 1432 الموافق 3 غشت سنة 2011، يجعل منهج تحديد الكثافة النسبية في 20° م للمواد الدسمة ذات الأصل الحيواني والنباتي إجباريا.

إن وزير التجارة،

– بمقتضى المرسوم الرئاسي رقم 10 – 149 المؤرخ في 14 جمادى الثانية عام 1431 الموافق 28 مايو سنة 2010 والمتضمن تعيين أعضاء الحكومة،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 90 – 39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990 والمتعلق 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 – 465 المؤرخ في 4 ذي القعدة عام 1426 الموافق 6 ديسمبر سنة 2005 و المتعلق بتقييم المطابقة،

– وبمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرخ في 21 شعبان عام 1419 الموافق 10 ديسمبر سنة 1998 والمتعلق بالمواصفات التقنية للزبدة و كيفيات وضعها للاستهلاك،

– وبمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرخ في 2 ذي الحجة عام 1422 الموافق 14 فبراير سنة 2002 الذي يحدد قائمة المواد المضافة المرخص بها في المواد الغذائية،

يقرر ما يأتي :

المادة الأولى : تطبيقا لأحكام المادة 19 من المرسوم التنفيذي رقم 90 – 39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990، المعدل والمتمم والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج تحديد الكثافة النسبية في 20° م للمواد الدسمة ذات الأصل الحيواني و النباتي إجباريا.

المادة 2 : من أجل تحديد الكثافة النسبية في 20° م للمواد الدسمة ذات الأصل الحيواني و النباتي، فإن مخابر مراقبة الجودة وقمع الغش والمخابر المعتمدة لهذا الغرض، ملزمة باستعمال المنهج المبين في الملحق المرفق بهذا القرار.

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 3 رمضان عام 1432 الموافق 3 غشت سنة 2011.

مصطفى بن بادة

الملحق

منهج تحديد الكثافة النسبية في 20° م للمواد الدسمة ذات الأصل الحيواني و النباتي

1. التعريف

تعتبر الكثافة النسبية في درجة حرارة 20° م، للزيت أو لمادة دسمة، حاصل الكتلة في الجو لحجم معين لهذا الزيت أو في درجة الحرارة د على نفس حجم الماء في 20° م، أجريت الأوزان بكتل مضبوطة بطريقة تسمح بإحداث توازن لأوزان الليتون في الهواء.

2. طريقة العمل

تعاير كما يلي، حوجلة ذات كثافة نسبية أو بكنومتر (سعتها 25 ملل على الأقل) :

تنظف و تجفف الحوجلة، ثم توزن، تملأ بماء مقطر مغلى حديثا و مبرد و تغطس في حمام مائي درجة حرارته 20° م حتى تصل إلى نفس درجة الحرارة.

إذا استعملنا حوجلة، توضع السدادة بحيث يكون الأنبوب الدقيق مملوءا تماما بالماء، ثم يثبت الكل في 20° م إلى غاية عدم وجود تغيير في الحجم. تمسح السدادة. إذا استعملنا بكنومتر، يعدل خط مستوى السائل.

تنزع الحوجلة أو البكنومترمن الحمام، تنشف خارجيا، تترك لترتاح بعض الوقت ثم توزن.

تفرغ و تجفف الحوجلة أو البكنومتر. تملأ بالعينة من الزيت أو المادة الدسمة الموضوعة سابقا في درجة حرارة تقارب 20° م.

تثبت الحوجلة أو البكنومتر في حمام مضبوط في 20° م إلى أن تصل إلى نفس درجة الحرارة. إذا استعملنا حوجلة، توضع السدادة بحيث يكون الأنبوب الدقيق مملوءا تماما بالزيت أو بمادة دسمة ، ثم يحفظ الكل في درجة حرارة 20° م إلى غاية عدم وجود تغيير في الحجم.

تمسح السدادة. إذا استعملنا بكنومتر، يعدل إلى الخط مستوى الزيت أو المادة الدسمة.

ينزع الجهاز من الحمام، يجفف خارجيا، يترك ليرتاح لمدة ثم يوزن. تجرى جميع الأوزان في الهواء بأثقال معدلة بطريقة تسمح بإحداث توازن لأوزان الليتون في الهواء.

3. الحساب و التعبير من النتائج

تحسب الكثافة النسبية في د/20° م في الهواء

$$\frac{ك_2}{ك_1 [(1 + a + (د - 20°)]}$$

حيث :

$ك_2$: كتلة الزيت أو المادة الدسمة، بالغرام، المستعملة للاختبار.

$ك_1$: كتلة الماء المستعمل في اختبار المعايرة.

د : درجة حرارة المحيط.

α هو معامل التمدد المكعبي للزجاج لدرجة حرارة معطاة و يساوي :

0.000 03 لزجاج عادي.

0.000 01 لزجاج البروسيليكات.

4. ملاحظة

مع التحفظ أن لا ينفصل الستيارين مطلقا عن الزيت أو الدسم في درجة حرارة مقربة إلى 20° م وأن كل من الزيت أو المادة الدسمة لا يحتوي على كمية مرئية من الرطوبة أو الملوثات، يمكن تحديد الكثافة النسبية في أي درجة حرارة متمركزة بين (د ± 5) م°.

تحسب الكثافة النسبية في د م° انطلاقا من الرقم المتحصل عليه بإضافة إلى هذا الرقم 0.00069 لكل درجة مائوية بحيث تتعدى الحرارة الملحوظة 20° م أوبطرح 0.00069 لكل درجة مائوية بحيث الحرارة الملحوظة أقل من 20° م.

5. الكثافة النسبية لبعض الزيوت الغذائية

	الكثافة النسبية 20° م/ ماء 20° م
زيت الكولزا	0.920 – 0.910
زيت عباد الشمس	0.923 – 0.918
زيت الكرتام	0.927 – 0.922
زيت الصويا	0.925 – 0.919
زيت الفول السوداني	0.917 – 0.914
زيت الزيتون (خامة و نقية)	0.916 – 0.910
زيت الذرة	0.925 – 0.917
زيت القطن	0.926 – 0.918
زيت الجلجلان	0.925 – 0.915

وزارة التجارة

قرار مؤرخ في 21 رمضان عام 1432 الموافق 21 غشت سنة 2011، يجعل منهج تحديد مؤشر الحمض والحموضة للمواد الدسمة ذات الأصل الحيواني والنباتي إجباريا.

إن وزير التجارة،

– بمقتضى المرسوم الرئاسي رقم 10 – 149 المؤرخ في 14 جمادى الثانية عام 1431 الموافق 28 مايو سنة 2010 والمتضمن تعيين أعضاء الحكومة،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 90 – 39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990 والمتعلق 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 – 465 المؤرخ في 4 ذي القعدة عام 1426 الموافق 6 ديسمبر سنة 2005 و المتعلق بتقييم المطابقة،

– وبمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرخ في 21 شعبان عام 1419 الموافق 10 ديسمبر سنة 1998 والمتعلق بالمواصفات التقنية للزبدة و كيفيات وضعها للاستهلاك،

– وبمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرخ في2 ذي الحجة عام 1422 الموافق 14 فبراير سنة 2002 الذي يحدد قائمة المواد المضافة المرخص بها في المواد الغذائية،

يقرر ما يأتي :

المادة الأولى : تطبيقا لأحكام المادة 19 من المرسوم التنفيذي رقم 90 – 39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990، المعدّل والمتمّم والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج تحديد مؤشر الحمض والحموضة للمواد الدسمة ذات الأصل الحيواني و النباتي إجباريا.

المادة 2 : من أجل تحديد مؤشر الحمض والحموضة للمواد الدسمة ذات الأصل الحيواني و النباتي، تلزم مخابر مراقبة الجودة وقمع الغش والمخابر المعتمدة لهذا الغرض، باستعمال المنهج المبين في الملحق المرفق بهذا القرار.

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 21 رمضان عام 1432 الموافق 21 غشت سنة 2011.

مصطفى بن بادة

الملحق

منهج تحديد مؤشر الحمض والحموضة للمواد الدسمة ذات الأصل الحيواني و النباتي

1. مجال التطبيق

يحدد هذا المنهج طريقتين بواسطة (جهاز قياس فرق الكمون وجهاز قياس المعايرة) لتحديد الأحماض الدسمة الحرة في المواد الدسمة ذات أصل حيواني ونباتي.

من المستحسن التعبير عن الأحماض بمؤشر الحموضة أو اختياريا بالحموضة المحسوبة اصطلاحيا.

هذا المنهج مطبق على المواد الدسمة ذات أصل حيواني ونباتي ولكنها لا تطبق على الشموع.

2. تعريف

في إطار هذا المنهج، تطبق التعريفات التالية.

2 . 1 مؤشر الحموضة : عدد ميليغرامات هيدروكسيد البوتاسيوم اللازم لتعديل الأحماض الدسمة الحرة الموجودة في 1 غ من المادة الدسمة.

2 . 2 الحموضة : هي عبارة اصطلاحية للنسبة المئوية للأحماض الدسمة الحرة.

يمكن التعبير كذلك عن الحموضة حسب طبيعة المادة الدسمة، كما هو مبين في الجدول 1.

إذا كانت النتيجة تبين الحموضة فقط بدون تدقيق آخر فهو معبر عنها اصطلاحا بالنسبة المئوية لحمض الأوليك.

إذا كانت العينة تحتوي على أحماض معدنية، فيعتبر تحديدهم اصطلاحا كأحماض دسمة.

الجدول 1

طبيعة المادة الدسمة	العبارة	الكتلة المولية غ / مول
زيت الكوبرا، زيت البالميست والزيوت المشابهة	حمض اللوريك	200
زيت البالم	حمض البلمتيك	256
زيوت بعض الصليبيات	حمض إيروسيك	338
كل المواد الدسمة الأخرى	حمض الأولييك	282

3. منهج المعايرة بواسطة جهاز قياس المعايرة

1 . 3 عموميات

يتناسب هذا المنهج خاصة مع المواد الدسمة غير شديدة التلوين.

2 . 3 المبدأ

توضع العينة المأخوذة للتجربة في خليط من المذيبات، ثم تعاير الأحماض الدسمة الحرة الموجودة بواسطة محلول الإيثانوليك لهيدروكسيد البوتاسيوم.

3 . 3 الكواشف

يجب أن تكون جميع الكواشف ذات نوعية تحليلية معترف بها و أن يكون الماء المستعمل ماءا مقطرا.

3 . 3 . 1 أكسيد ثنائي الإيثيليك / إيثانول في 95 % (ح/ ح) خليط 1 + 1 (ح/ ح).

تنبيه :

أوكسيد ثنائي الإيثيليك شديد الالتهاب و يمكنه تشكيل بيروكسيدات متفجرة. يجب استعماله بأخذ احتياطات خاصة.

يعدل بالضبط أثناء الاستعمال بمحلول هيدروكسيد البوتاسيوم (3 . 3 . 2) في وجود 0,3 ملل من محلول فينول فتاليين (3 . 3 . 3) لـ 100ملل من الخليط.

ملاحظة 1

في حالة عدم التمكن من استعمال أوكسيد ثنائي الإيثيليك، يمكن استعمال خليط من مذيبات مشكل من الايثانول و التولوان. يمكن تعويض الإيثانول بالبروبانول – 2 إذا اقتضى الأمر.

2 . 3 . 3 هيدروكسيد البوتاسيوم

محلول إيثانولي معاير (KOH) c = 0,1 مول / لتر، أو إن اقتضى الأمر (KOH) c = 0,5 مول / لتر،

يجب أن يكون التركيز الدقيق للمحلول الإيثانولي لهيدروكسيد البوتاسيوم معروفا، و التأكد منه قبل الاستعمال مباشرة. يستعمل المحلول المحضر 5 أيام قبل الاستعمال على الأقل و يرسب في قارورة زجاجية بنية و مغلقة بسدادة من المطاط.

يجب أن يكون المحلول عديم اللون أو ذا لون أصفر قشي.

ملاحظة 2

يمكن تحضير محلول عديم اللون و ثابت من هيدروكسيد البوتاسيوم بالطريقة الآتية :

يغلى و يواصل الغليان بالتناوب (reflux) لمدة ساعة 1000 ملل من الإيثانول مع 8 غ من هيدروكسيد البوتاسيوم و 0,5 غ من قصاصة الأليمنيوم. يقطر مباشرة. يذوب في القطارة الكمية اللازمة من هيدروكسيد البوتاسيوم.

يترك ليرتاح عدة أيام و يرسب السائل الفاتح الطافي لمرسب كربونات البوتاسيوم.

يمكن تحضير المحلول بدون تقطير بالطريقة التالية :

يضاف لـ 1000 ملل من الإيثانول 4 ملل من بيوتيلات الأليمنيوم و يترك الخليط ليرتاح بضعة أيام.

يصفى السائل الطافي و تذوب فيه الكمية اللازمة من هيدروكسيد البوتاسيوم. هذا المحلول جاهز للاستعمال.

3 . 3 . 3 فينول فتاليين، محلول من 10 غ / ل من الإيثانول 95 إلى 96 % (ح/ح) أو أزرق قاعدي، (في حالة المواد الدسمة شديدة التلوين) محلول من 20 غ/ل في الإيثانول 95 إلى 96 % (ح/ح).

4 . 3 التجهيزات :

الأجهزة العادية للمخبر و لا سيما :

1 . 4 . 3 ميزان تحليلي.

2 . 4 . 3 حوجلة مخروطية، سعتها 250 ملل.

3 . 4 . 3 أنبوب زجاجي مزود بصنبور، سعته 10 ملل و مدرج إلى 0,1 ملل.

5 . 3 أخذ العينة

تجرى عملية أخذ العينة للمخبر في شروط ملائمة.

3 . 6 طريقة العمل

1 . 6 . 3 تحضير العينة للتجربة

تحضر العينة للتجربة حسب منهج تحضير العينة.

2 . 6 . 3 العينة المأخوذة للتجربة

تقتطع عينة للتجربة حسب مؤشر الحموضة المفترض وفقا لتعليمات الجدول 2.

الجدول 2

مؤشر الحموضة المفترض	كتلة العينة المأخوذة للتجربة غ	تقريب العينة للتجربة غ
1 >	20	0,05
من 1 إلى 4	10	0,02
من 4 إلى 15	2,5	0,01
من 15 إلى 75	0,5	0,001
75 <	0,1	0,0002

توزن العينة المأخوذة للتجربة في الحوجلة المخروطية (3 . 4 . 2).

3 . 6 . 3 التحديد

تذوب العينة المأخوذة للتجربة (3 . 6 . 2) في 50 إلى 150 ملل من خليط أوكسيد ثنائي الإيثليك / إيثانول (3 . 3 . 1) المعدل مسبقا.

تعاير مع الرج مع محلول هيدروكسيد البوتاسيوم 0,1 مول/ل (3 . 3 . 2) (أنظر ملاحظة 3) حتى تغير لون المؤشر (تلون وردي للفينول فتاليين يستمر لـ 10 ثواني على الأقل).

ملاحظة 3

1 – في حالة مؤشرات ضعيفة جدا (<1) من المستحسن إمرار تيار خفيف من الأزوت في محلول التجربة.

2 – يمكن استبدال المحلول الإيثانولي المعاير بهيدروكسيد البوتاسيوم (3 . 3 . 2) بمحلول مائي من هيدروكسيد البوتاسيوم أو الصوديوم في حالة ما إذا كان حجم الماء المدخل لا يؤدي إلى فصل في الأطوار.

– في حالة ما الكمية اللازمة لمحلول هيدروكسيد البوتاسيوم 0,1 مول/ ل، تتعدى 10 ملل ، يستعمل محلول 0,5 مول / ل.

– في حالة تعكر المحلول أثناء المعايرة تضاف كمية كافية من خليط المذيبات (3 . 3 . 1) لكي يعطي محلولا شفافا.

4 . 6 . 3 عدد التحديدات

إجراء تحديدين على نفس العينة للتجربة.

4 . منهج الفرق الكموني (Potentiométrique)

هذا المنهج ذو تطبيق عام و لكنه موجه خصوصا للمواد الدسمة الخام ذات لون قاتم لصعوبة تطبيق منهج المعايرة في هذه الحالة.

1 . 4 المبدأ

معايرة فرق الكمون للأحماض الدسمة الحرة الموجودة في العينة المأخوذة للتجربة بواسطة محلول إيزوبروبانويك من هيدروكسيد البوتاسيوم في وسط غير مائي.

2 . 4 الكواشف

يجب أن تكون جميع الكواشف ذات نوعية تحليلية معترف بها وأن يكون الماء المستعمل ماءا مقطرا.

1 . 2 . 4 ميثيل إيزوبوتيل سيتون يعدل عند الاستعمال بمحلول إيزوبروبانوليك من هيدروكسيد البوتاسيوم (4 . 2 . 2) في وجود فينول فتاليين، حتى تغير اللون إلى الوردي.

2 . 2 . 4 هيدروكسيد البوتاسيوم محلول معاير c (KOH) = 0,1 مول/ ل أو 0,5 مول / ل.

1 . 2 . 2 . 4 هيدروكسيد البوتاسيوم محلول معاير c (KOH) = 0,1 مول/ ل في البروبانول – 2

يذوب 7غ من هيدروكسيد البوتاسيوم على شكل أقراص في البروبانول – 2 ويتمم الحجم إلى 1000 ملل بالبروبانول 2.

2 . 2 . 2 . 4 هيدروكسيد البوتاسيوم، محلول معاير c (KOH) = 0,5 مول/ ل في البروبانول – 2

تذوب 35غ من هيدروكسيد البوتاسيوم على شكل أقراص في البروبانول – 2 ويتمم الحجم إلى 1000 ملل بالبروبانول 2.

3 . 2 . 2 . 4 المعايرة

يجب تحديد التركيز المضبوط للمحلول مباشرة قبل الاستعمال.

توزن بتقريب 0,0002غ، 0,15غ (للمحلول 4. 2. 2. 1) أو 0,75غ (للمحلول 4 . 2 . 2 . 2) من حمض البنزوييك ذو نقاوة تقدر بـ 99,9 % يوضع في بيشر (4 . 3 . 2) و يذوب في 50 ملل من مثيل إيزو بوتيسيتون (4 . 2 . 1).

تدخل إلكترودات جهاز قياس العامل الهيدروجيني (4 . 3 . 4) يشغل جهاز الرج (4 . 3 . 5) وتعاير بمحلول هيدروكسيد البوتاسيوم (4 . 2 . 2 . 1 أو 4 . 2 . 2 . 2) إلى غاية نقطة التكافؤ (أنظر الملاحظة 5– 1 في 4 . 5 . 3).

يعبر عن تركيز محلول هيدروكسيد البوتاسيوم (4 . 2 . 2 . 1 أو 4 . 2 . 2 . 2) بالمول / لتر و تعطى الصيغة كالتالي:

$$\frac{1000 \times ك0}{122,1 \times ح0}$$

حيث :

ك0 : هي الكتلة بالغرام، من حمض البنزوييك المستعمل للمعايرة.

ح0 : هو الحجم بالميليلتر، لمحلول هيدروكسيد البوتاسيوم (4 . 2 . 2 . 1 أو 4 . 2 . 2 . 2) المستعمل.

3 . 4 التجهيزات

الأجهزة المتداولة في المخبر و لا سيما.

4 . 3 . 1 ميزان تحليلي.

4 . 3 . 2 بيشر، سعته 150 ملل، شكله متطاول.

4 . 3 . 3 أنبوب زجاجي مزود بصنبور، سعته 10 ملل، مدرج إلى 0,1 ملل.

4 . 3 . 4 جهاز قياس العامل الهيدروجيني

مزود بإلكترودات من الزجاج و الزئبق.

يجب أن يكون الاتصال بين المحلول المشبع من كلورور البوتاسيوم و المحلول للتجربة عبر صفيحة من الخزف أو من الزجاج المسحوق ذو سمك 3 مم على الأقل.

ملاحظة 4

هناك فائدة من الاحتفاظ لمدة 12 ساعة من المعايرة بالالكترود الزجاجية في الماء المقطر أو من الأحسن في مثيل إيزو بوتيل سيتون. تجفف برفق بواسطة ورق الترشيح قبل الشروع في القياس. تغسل مباشرة بعد المعايرة بالمثيل إيزو بوتيل سيتون، ثم بواسطة بروبانول – 2 و أخيرا بالماء المقطر.

إذا كان الالكترود لا يعمل بصفة مرضية، يحاول تجديده و ذلك بالاحتفاظ به لمدة 24 ساعة في محلول إيزو بروبانويك من حمض الكلوريدريك 1 مول/ ل. بعد هذه المعالجة ، يغسل الالكترود بالماء المقطر، ثم بالبروبانول – 2 و الميثيل إيزو بوتيل سيتون.

إن استعمال صفائح من الخزف أو من مسحوق الزجاج لضمان الاتصال بين المحلول المشبع من كلورور البوتاسيوم و المحلول المأخوذ للتجربة، يؤدي إلى تجنب تيارات الانتشار والكمونات المتطفلة.

4 . 3 . 5 جهاز الرج من المستحسن استعمال جهاز الرج المغناطيسي.

4 . 4 اقتطاع العينة

يتم اقتطاع العينة للمخبر في ظروف ملائمة.

4 . 5 طريقة العمل

4 . 5 . 1 تحضير العينة للتجربة

تحضر العينة للتجربة حسب منهج تحضير العينة.

4 . 5 . 2 أخذ العينة

توزن في بيشر (4 . 3 . 2) بتقريب 0,01غ، من 5إلى 10غ من العينة المقتطعة للتجربة.

4 . 5 . 3 التحديد

تذوب العينة المأخوذة للتجربة (4 .5. 2) في50 ملل من مثيل إيزوبوتيل سيتون (4 . 2 . 1).

تدخل إلكترودات جهاز قياس العامل الهيدروجيني (4 . 3 . 4) يشغل جهاز الرج (4 . 3 . 5) ويعاير بمحلول هيدروكسيد البوتاسيوم (4 . 2 . 2 . 1 أو 4 . 2 . 2 . 2) حسب الحموضة المفترضة للعينة حتى نقطة التكافؤ.

ملاحظة 5

1 – تكون نقطة التكافؤ قريبة من القيمة 10 المقروءة على سلم العامل الهيدروجيني و يمكن تحديدها بيانيا بالتعرف عليها على المنحنى البياني للتعديل في نقطة الانحناء (نقطة تغير اتجاه المنحنى).

يمكن كذلك حسابها بأخذ القيمة القصوى التي يكون عندها المشتق الأول لتغير العامل الهيدروجيني بدلالة كمية محلول هيدروكسيد البوتاسيوم المضاف أو بأخذ القيمة التي ينعدم عندها المشتق الثاني.

2 – لا يمكن تحديد نقطة الانحناء في حالة زيوت القطن الخام .

في هذه الحالة يستعمل تحديد متفق عليه لنقطة الانحناء المحددة كيفيا في العامل الهيدروجيني لنقطة التكافؤ لتعديل حمض الأوليك بهيدروكسيد البوتاسيوم في المذيب المستعمل قصد المعايرة كما هو مبين أدناه :

تذاب تقريبا 0,282غ من حمض الأوليك في50 ملل من مثيل إيزو بوتيل سيتون (4 . 2 . 1) يرسم منحنى تعديل حمض الأوليك بمحلول هيدروكسيد البوتاسيوم (4 . 2 . 2) المستعمل. يقرأ على المنحنى

العامل الهيدروجيني لنقطة الإنحناء (الموافق مبدئيا لإضافة 10 ملل من محلول هيدروكسيد البوتاسيوم تركيزه 0,1 مول/ ل). انطلاقا من هذه القيمة يقرأ على منحنى التعديل لزيت القطن حجم محلول هيدروكسيد البوتاسيوم المستعمل لتعديل زيت القطن.

4 . 5 . 4 عدد التحديدات

إجراء تحديدين على نفس العينة المأخوذة للتجربة.

5 . التعبير عن النتائج

5 . 1 التعبير بمؤشر الحمض

يساوي مؤشر الحمض :

$$\frac{56,1 \times \text{ح} \times \text{ت}}{\text{ك}}$$

حيث :

56,1 هي الكتلة المولية المعبر عنها بالغرام في المول، من هيدروكسيد البوتاسيوم.

ح : هو الحجم، بالميليلتر، للمحلول المعاير لهيدروكسيد البوتاسيوم المستعمل.

ت : هو التركيز الدقيق، بالمول في اللتر للمحلول المعاير لهيدروكسيد البوتاسيوم المستعمل.

ك : هي الكتلة، بالغرام للعينة المأخوذة للتجربة.

يؤخذ كنتيجة المعدل الجبري للتحديدين.

5 . 2 التعبير بالحموضة

يمكن حساب الحموضة انطلاقا من النتائج المتحصل عليها لتحديد مؤشر الحموضة، إما بمنهج المعاير (3) أو بمنهج الفرق الكموني (4).

الحموضة المعبر عنها بالنسبة المئوية للكتلة تساوي :

$$\text{ح} \cdot \text{ت} \times \frac{\text{ك}}{1000} \times \frac{100}{\text{ك}} = \frac{\text{ح} \times \text{ت} \times \text{ك}}{10 \cdot \text{ك}}$$

حيث :

ح : هو الحجم بالميليلتر، للمحلول المعاير لهيدروكسيد البوتاسيوم المستعمل،

ت : هو التركيز الدقيق بالمول في اللتر للمحلول المعاير لهيدروكسيد البوتاسيوم المستعمل،

كم : هي الكتلة المولية بالغرام في المول للحمض المعتمد، للتعبير عن النتائج (أنظر جدول 1)،

ك : هي الكتلة بالغرام، للعينة المأخوذة للتجربة،

يؤخذ كنتيجة المعدل الجبري للتحديدين.

قرارات، مقرّرات، آراء

وزارة التجارة

قرار مؤرخ في 21 رمضان عام 1432 الموافق 21 غشت سنة 2011، يجعل منهج تحديد مؤشر اليود للمواد الدسمة ذات الأصل الحيواني والنباتي إجباريا.

إن وزير التجارة،

– بمقتضى المرسوم الرئاسي رقم 10 – 149 المؤرخ في 14 جمادى الثانية عام 1431 الموافق 28 مايو سنة 2010 والمتضمن تعيين أعضاء الحكومة،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 90 – 39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990 والمتعلق 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 – 465 المؤرخ في 4 ذي القعدة عام 1426 الموافق 6 ديسمبر سنة 2005 و المتعلق بتقييم المطابقة،

– وبمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرخ في 21 شعبان عام 1419 الموافق 10 ديسمبر سنة 1998 والمتعلق بالمواصفات التقنية للزبدة و كيفيات وضعها للاستهلاك،

– وبمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرخ في2 ذي الحجة عام 1422 الموافق 14 فبراير سنة 2002 الذي يحدد قائمة المواد المضافة المرخص بها في المواد الغذائية،

يقرر ما يأتي :

المادة الأولى : تطبيقا لأحكام المادة 19 من المرسوم التنفيذي رقم 90 – 39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990، المعدّل والمتمّم والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج تحديد مؤشر اليود للمواد الدسمة ذات الأصل الحيواني و النباتي إجباريا.

المادة 2 : من أجل تحديد مؤشر اليود للمواد الدسمة ذات الأصل الحيواني و النباتي، تلزم مخابر مراقبة الجودة وقمع الغش والمخابر المعتمدة لهذا الغرض، باستعمال المنهج المبين في الملحق المرفق بهذا القرار.

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 21 رمضان عام 1432 الموافق 21 غشت سنة 2011.

مصطفى بن بادة

الملحق

منهج تحديد مؤشر اليود

للمواد الدسمة ذات الأصل الحيواني و النباتي

1 – التعريف

مؤشر اليود: كمية أحادي كلورور اليود، المعبر عنها بـ غرام من اليود، الممتصة بـ 100غ من المنتوج في الظروف العملية المبينة في هذا المنهج.

2 – المبدأ

إضافة محلول أحادي كلورور اليود لعينة مأخوذة للتجربة في خليط مركب من حمض الأسيتيك و رباعي كلورور الكربون . بعد مرور مدة من التفاعل ، يتم إرجاع فائض أحادي كلورور اليود بإضافة محلول إيودور البوتاسيوم و الماء و معايرة اليود المحرر بمحلول معاير من تيو سولفات الصوديوم.

3 – الكواشف

يجب أن تكون جميع الكواشف المستعملة ذات نوعية تحليلية.

يجب أن يكون الماء المستعمل ماء مقطرا أو ذا نقاوة مكافئة على الأقل.

3 . 1 – إيودور البوتاسيوم، محلول في 100 غ / لتر، خال من اليود الحر أو اليودات.

3 . 2 – صمغ النشاء، يخلط 5 غ من النشاء قابل للذوبان مع 30 مل من الماء. يضاف 1000 ملل من الماء المغلي لهذا الخليط ويترك ليغلي لمدة ثلاث (3) دقائق.

3 . 3 – تيو سولفات الصوديوم ، محلول معاير 0,1 ن.

3 . 4 – حمض الاسيتيك، قابل للتبلور، خال من الإيثانول و المواد المؤكسدة.

3 . 5 – رباعي كلورور الكربون، خال من المواد المؤكسدة.

الملاحظة 1 :

التحقق من عدم وجود المواد المؤكسدة في كل الكواشف (3 . 4) و(3 . 5) برج 10 ملل من الكاشف مع 1 ملل من المحلول المشبع لـ بيكرومات البوتاسيوم و2 ملل من حمض السيلفوريك المركز الكتلة الحجمية 20°م = 1,84 غ ملل. يجب أن لا يظهر أي لون أخضر.

3 . 6 – أحادي كلورور اليود، محلول داخل خليط من حمض الأسيتيك / رباعي كلورور الكربون (كاشف Wijs).

يتوفر هذا الكاشف و يتداول في التجارة، يمكن تحضيره بالطريقة الآتية :

يوزن 9 غ من ثلاثي كلورور اليود (ICl_3)، داخل قارورة زجاجية بنية سعتها 1500 ملل، و تذوب في خليط مركب من 700ملل من حمض الاسيتيك القابل للتبلور(3 . 4) و300 ملل من رباعي كلورور الكربون (3 . 5).

يؤخذ 5 ملل من المحلول و يضاف 5 ملل من محلول إيودور البوتاسيوم (3 . 1) و30 ملل من الماء.

يعاير اليود المحرر بمحلول تيو سولفات الصوديوم (3 . 3)، بوجود بضعة قطرات من صمغ النشاء (3 . 2) كمؤشر.

يضاف 10غ من اليود النقي مصعد مرتين إلى الكاشف و يذوبان تماما بالرج. يعاير اليود الحر كما في السابق.

يجب أن تساوي هذه الكمية مرة واحدة و نصف من التحديد الأول. في حالة العكس، تضاف كمية قليلة من اليود النقي مصعد مرتين إلى أن تتجاوز الكمية قليلا حد مرة واحدة ونصف، لأنه يجب أن لا يبقى أي أثر لثلاثي كلورور اليود كون هذا الأخير يسبب تفاعلات ثانوية.

يترك المحلول يترسب ثم يسكب السائل الشفاف في قارورة صفراء أو بنية. إذا حفظ المحلول في قارورة مسدودة بإحكام ، بعيدا عن الضوء، يمكن استعماله لعدة أشهر.

الملاحظة 2 :

– إذا لم يكن بحوزتنا ثلاثي كلورور اليود، يمكن تحضير كاشف Wijs انطلاقا من أحادي كلورور اليود (ICl) بالطريقة الآتية :

– يذوب 19 غ من أحادي كلورور اليود في 700 ملل من حمض الأسيتيك القابل للتبلور (3 . 4) و300 ملل من رباعي كلورور الكربون.

– بعد إضافة بضع ميليغرامات من اليود النقي مصعد مرتين، يعاير اليود الحر كما هو مبين في السابق.

يخفف إذا اقتضى الأمر بالخليط المذوب الخاص إلى أن يوافق 5 ملل من الكاشف، حوالي 10 ملل من تيوسولفات الصوديوم (3 . 3).

يجب أن يحدد التركيب الصحيح للكاشف حسب طريقة العمل الآتية :

أ – يدخل 50 ملل من محلول حمض الكلوريدريك بنسبة 50 % (ح/ح) و50 ملل من رباعي كلورور الكربون في قنينة ذات عنق عريض، سعتها 250 ملل تقريبا مجهزة بغطاء زجاجي مصقول.

يضاف 25 ملل بالضبط من كاشف Wijs المحضر انطلاقا من أحادي كلورور اليود ثم يخلط .

يعاير اليود المتواجد في الطبقة أحمر- بنفسجي لرباعي كلورور الكربون بمحلول إيودات البوتاسيوم 0,04ن، مع الرج بعناية إلى أن تصبح الطبقة غير ملونة.

إذا كانت طبقة رباعي كلورور الكربون غير ملونة في الأصل، يعني هذا أن كاشف Wijs لا يحتوي على اليود الحر و عليه فإن نسبة اليود / الكلور أصغر من 1 ففي هذه الحالة ، يجب أن تضاف إلى 25 ملل من المحلول المحضر لكاشف Wijs كمية من اليود النقي مصعد مرتين الذي يسمح بإظهار اللون أحمر - بنفسجي.

تحسب بعد ذلك كمية اليود اللازمة لمجمل كاشف Wijsوإذابتها في هذا المحلول .

إعادة العملية مرة أخرى كما هو مبين سابقا ويعاير اليود الموجود في الطبقة أحمر - بنفسجي لرباعي كلورور الكربون بمحلول يودات البوتاسيوم 0,04 نظامية.

ب) يدخل في قنينة ثانية ذات عنق عريض سعتها حوالي 250 ملل مجهزة بغطاء زجاجي مصقول، 25 ملل بالضبط من كاشف Wijs يحتوي بكفاية على اليود.

يضاف 15 ملل من محلول إيودور البوتاسيوم إلى 150غ / ل و حوالي 150 ملل من الماء.

يرج و يعاير اليود المحرر بواسطة محلول من تيو سولفات الصوديوم (3 . 3) ككاشف. يرج بشدة في نهاية المعايرة.

الحساب :

$$\frac{\text{اليود}}{\text{الكلور}} = \frac{ح_1 ن_1 + ح_2 ن_2}{ح_1 ن_1 - ح_2 ن_2}$$

حيث :

$ح_1$: هو الحجم، بالميليلتر ، لمحلول تيو سولفات الصوديوم

(3 . 3) المستعمل لتحديد اليود لـ أحادي كلورور اليود.

$ح_2$: هو الحجم، بالميليلتر لمحلول إيود البوتاسيوم 0,04 ن المستعمل لتحديد اليود الحر.

$ن_1$: هي النظامية الدقيقة لمحلول تيو سولفات الصوديوم (3 . 3) المستعمل.

$ن_2$: النظامية الدقيقة لمحلول إيود البوتاسيوم المستعمل.

يجب التذكير بالحالة التي يكون فيها الأمر متعلقا فقط بالتحقق ما إذا كان كاشف Wijs يحتوي حقيقة على زيادة طفيفة من اليود، يمكن التوقف عند المعايرة المبينة في النقطة (أ) لطريقة العمل .

في اللحظة التي يتلون فيها رباعي كلورور الكربون سواء مباشرة بعد إضافة 25 ملل من كاشف Wijs لمحلول حمض الكلوريدريك و رباعي الكربون، أو بعد ذوبان كمية كافية من اليود مصعد مرتين في كاشف Wijs من المؤكد أن النسبة المراد تحديدها أكبر بكثير من الواحد 1.

4 - التجهيزات

الأجهزة المتداولة في المخبر، ولا سيما :

4 . 1 - ملعقة مخبرية زجاجية، سعتها مناسبة للعينة المأخوذة للتجربة.

4 . 2 - قارورات ذات عنق عريض، مجهزة بأغطية مصقولة (على سبيل المثال قنينات زجاجية ذات مؤشر اليود)، سعتها 250 ملل تقريبا.

4 . 3 - أنبوب زجاجي مزود بصنبور سعته 50ملل مدرج بـ 0,1 ملل.

4 . 4 - ماصات، من 20 و25 ملل.

4 . 5 - ميزان تحليلي.

الملاحظة 3 :

يجب أن تكون الأجهزة نقية و جافة تماما.

5 - أخذ العينات

يتم تحضير العينة المأخوذة للتجربة للمواد الدسمة ذات الأصل الحيواني والنباتي في شروط ملائمة.

6 - طريقة العمل

6 . 1 - العينة المأخوذة للتجربة

تتغير كتلة العينة المأخوذة للتجربة بالطريقة الآتية، حسب مؤشر اليود المفترض.

مؤشر اليود المفترض	العينة المأخوذة للتجربة بالغرام
أصغر من 5	3,00
5 إلى 20	1,00
21 إلى 50	0,40
51 إلى 100	0,20
101 إلى 150	0,13
151 إلى 200	0,10

تذوب العينة إذا اقتضى الأمر في درجة حرارة 10 °م تقريبا فوق نقطة الانصهار و ترشح في درجة الحرارة هذه على ورق من أجل الترشيح السريع و الذي وضعنا عليه 4غ من سولفات الصوديوم المجفف و 1غ من مساعد الترشيح.

يجب أن تكون الرشاحة شفافة تماما.

2 . 6 – التحديد

يجب أن يجرى التحديد في درجة حرارة المحيط.

توزن العينة المأخوذة للتجربة بتقريب 0,001غ في ملعقة مخبرية زجاجية (4 . 1) تدخل في قارورة ذات 250 ملل (2.4).

يضاف 15 ملل من رباعي كلورور الكربون (3 .5).

لإذابة المادة الدسمة. يضاف بالضبط 25 ملل من كاشف Wijs (6 . 3) مع الغلق و الرج بلطف و وضع القارورة في مكان مظلم.

بالنسبة للمنتوجات التي لها مؤشر اليود أقل من 150، تترك القارورة في مكان مظلم لمدة ساعة واحدة، أما بالنسبة للمنتوجات التي لها مؤشر اليود أكبر من 150 والأخرى المضاعفة أو التي تعتبر مؤكسدة ، تترك القارورة لمدة ساعتين.

بعد هذه المدة ، يضاف 20 ملل من محلول إيودور البوتاسيوم.

(3 . 1) و150 ملل من الماء.

يعاير المحلول من تيوسولفات الصوديوم (3 . 3) إلى أن يزول اللون الأصفر الناتج عن اليود. يضاف بضع قطرات من صمغ النشاء (3 . 2) وتواصل عملية المعايرة حتى لحظة زوال اللون الأزرق بعد الرج بشدة.

الملاحظة 4

من الممكن إجراء معايرة كمونية. إجراء تحديدين على نفس عينة التجربة.

3 . 6 – التجربة على بياض

تجرى في نفس الوقت تجربة على بياض في نفس الشروط.

7 – التعبير عن النتائج

1.7 – طريقة الحساب و الصيغة

مؤشر اليود يساوي :

$$\frac{12,69 \; ن_1 \; (ح_3 - ح_4)}{ك}$$

حيث :

$ن_1$: هي النظامية الدقيقة لمحلول تيو سلفات الصوديوم (3 . 3) المستعمل،

$ح_3$: هو الحجم بالميليلتر لمحلول تيو سلفات الصوديوم (3 . 3) المستعمل للتجربة على بياض،

$ح_4$: هو الحجم بالميليلتر لمحلول ثلاثي سولفات الصوديوم (3 . 3) المستعمل للتحديد،

ك : هي الكتلة بالغرام للعينة المأخوذة للتجربة.

2.7 التكرارية

يجب أن لا يكون الفرق بين نتائج تحديدين أجريا في نفس الوقت أو بصفة سريعة الواحدة تلو الأخرى من طرف نفس المحلّل، أكثر من 0,4 وحدة مؤشر اليود.

الجمهوريــة الجزائريــة الديمقراطيــة الشعبيــة

وزارة التجـــارة

المديرية العامة للرقابة الاقتصادية
و قمع الغش

مديرية مخابر التجارب
و تحاليل الجودة

المناهج الرسمية للتحاليل

الفيزيوكيميائية المتعلقة بالحبوب و المواد المشتقة

الفهرس

1. قرار مؤرخ في 23 فبراير سنة 2012، يجعل منهج تحديد كتلة 1000 حبة في الحبوب و البقول إجباريا. (ج ر عدد 01 - 2013)	01
2. قرار مؤرخ في 06 فبراير سنة 2012، يجعل منهج تحديد نسبة الماء في الحبوب و منتوجات الحبوب إجباريا. (ج ر عدد 08 - 2013)	03
3. قرار مؤرخ في 06 يونيو سنة 2012، يجعل منهج تحديد الحموضة الدسمة في الطحين و دقيق القمح إجباريا. (ج ر عدد 35 - 2013)	06
4. قرار مؤرخ في 06 يونيو سنة 2012، يجعل منهج معايرة نسبة الرماد عن طريق الحرق في الحبوب و البقول و المواد المشتقة إجباريا. (ج ر عدد 35- 2013)	08

وزارة التجارة

قرار مؤرخ في أول ربيع الثاني عام 1433 الموافق 23 فبراير سنة 2012، يجعل منهج تحديد كتلة 1000 حبة في الحبوب والبقول إجباريا.

إن وزير التجارة،

– بمقتضى المرسوم الرئاسي رقم 10 – 149 المؤرخ في 14 جمادى الثانية عام 1431 الموافق 28 مايو سنة 2010 والمتضمن تعيين أعضاء الحكومة،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 90 – 39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990 والمتعلق 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 – 465 المؤرخ في 4 ذي القعدة عام 1426 الموافق 6 ديسمبر سنة 2005 والمتعلق بتقييم المطابقة،

يقرر ما يأتي :

المادة الأولى : تطبيقا لأحكام المادة 19 من المرسوم التنفيذي رقم 90 – 39 المؤرخ في 3 رجب عام1410 الموافق 30 يناير سنة 1990، المعدّل والمتمّم والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج تحديد كتلة 1000 حبة في الحبوب والبقول إجباريا.

المادة 2 : من أجل تحديد كتلة 1000 حبة في الحبوب والبقول، فإن مخابر مراقبة الجودة وقمع الغش والمخابر المعتمدة لهذا الغرض ملزمة باستعمال المنهج المبين في الملحق.

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 أول ربيع الثاني عام 1433 الموافق 23 فبراير سنة 2012.

مصطفى بن بادة

الملحق

منهج تحديد كتلة 1000 حبة في الحبوب والبقول

1. التعريف

– كتلة 1000 حبة كما هي : كتلة 1000 حبة مع محتواها من الماء الموجود أثناء التحديد.

– كتلة 1000 حبة جافة : كتلة 1000 حبة، مصححة مع الأخذ بعين الاعتبار محتواها من الماء الموجود أثناء التحديد.

2. المبدأ

وزن كمية من العيّنة، فصل ووزن الحبات كاملة، حساب الحبوب الكاملة عن طريق القاعدة الثلاثية للحصول على كتلة 1000 حبة.

3. التجهيزات

– **ميزان** دقيق بتقريب 0,01 غ.

– **ملقاط** (لالتقاط الحبات).

– **عداد لحساب الحبات** (هو جهاز مناسب لحساب الحبات على سبيل المثال عداد كهروضوئي). يتم الحساب باليد في حالة عدم وجوده).

4 . طريقة العمل

1 . 4 عدد التحديدات :

– إجراء تحديدين على نفس العينة للمخبر.

2 . 4 تحديد كتلة 1000 حبة كما هي

يقتطع عشوائيا، كمية تساوي بالتقريب كتلة 500 حبة من العينة كما هي (يقدر المجرب المتمرس بسهولة هذه الكمية).

في حالة العكس، تجرى بعض تجارب على العيّنة المعنية.

– تنتقى الحبات الكاملة وتوزن بتقريب 0,01 غ. تحسب بعد ذلك الحبات بعداد وفي حالة عدم وجوده، تجرى العملية يدويا. عند الاقتضاء، يجب التخلص من الغشاء الزهري لحبات الحبوب غير المكسوة في العادة.

3 . 4 تحديد كتلة 1000 حبة جافة :

تقتطع عينة للتجربة من نفس عينة المخبر وتحدد كمية الماء الموجودة في الحبات الكاملة، خالية من الشوائب حسب منهج خاص للمادة المعنية.

5. التعبير عن النتائج

5 . 1 كيفية الحساب والصيغ

5 . 1 . 1 تعطى كتلة $ك_H$ بالغرامات، لـ 1000 حبة كما هي حسب الصيغة الآتية :

$$ك_H = \frac{1000 \times ك_0}{ع}$$

حيث :

$ك_0$: هي الكتلة بالغرامات، للحبات الكاملة للكمية المقتطعة.

ع : عدد الحبات الكاملة الموجودة في الكتلة $ك_0$.

5 . 1 . 2 تعطى كتلة $ك_S$، بالغرامات، لـ 1000 حبة جافة عن طريق الصيغة الآتية :

$$ك_S = \frac{ك_H \times (H-100)}{100}$$

حيث :

$ك_H$: هي الكتلة بالغرامات، لـ 1000 حبة كما هي.

H : كمية الماء، المعبر عنها بالنسبة المئوية بكتلة الحبات كما هي.

ملاحظة :

تعادل الكتلة الجافة كتلة الحبة كما هي منقوص منها كتلة الماء الموجود فيها.

5 . 2 النتيجة

إذا توفرت شروط التكرارية (أنظر 5 . 3)، يؤخذ كنتيجة المعدل الجبري لتحديدين.

في حالة العكس، تعاد التجارب.

يعبر عن نتيجة تحديد كتلة 1000 حبة بالغرامات :

– بعددين عشريين إذا كانت الكتلة أصغر من 10غ.

– بعدد عشري إذا كانت الكتلة تساوي أو أكبر من 10غ، دون أن تتجاوز 100غ.

– بعدد كامل إذا كانت الكتلة أكبر من 100غ.

5 . 3 التكرارية

يجب ألا يتجاوز الفرق بين نتائج تحديدين (أنظر 4 . 1) أجريا في وقت واحد أو سريعا الواحد تلوى الآخر من طرف نفس المحلل، 6 % بالنسبة للحبات ذات كتلة أكبر من 25 غ لـ 1000 حبة و10 % بالنسبة للحبات الأخرى.

6 . ملاحظات حول طريقة العمل :

6 . 1 عينة تحتوي على حبات مقشرة وغير مقشرة.

عند احتواء العينة على حبات مقشرة وغير مقشرة، مختلطة يحسب كل من النوعين على حدى ثم يعالج بمعزل عن بعضها.

6 . 2 عيّنة تحتوي على حبات أزواج من الخرطال.

تفصل حبات أزواج من الخرطال الواحدة عن الأخرى وتحسب كحبتين.

وزارة التجارة

قرار مؤرخ في 13 ربيع الأول عام 1433 الموافق 6 فبراير سنة 2012، يجعل منهج تحديد نسبة الماء في الحبوب ومنتوجات الحبوب إجباريا.

إن وزير التجارة،

– بمقتضى المرسوم الرئاسي رقم 10 – 149 المؤرخ في 14 جمادى الثانية عام 1431 الموافق 28 مايو سنة 2010 والمتضمن تعيين أعضاء الحكومة،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 90 – 39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990 والمتعلق 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 – 465 المؤرخ في 4 ذي القعدة عام 1426 الموافق 6 ديسمبر سنة 2005 والمتعلق بتقييم المطابقة،

يقرر ما يأتي :

المادة الأولى : تطبيقا لأحكام المادة 19 من المرسوم التنفيذي رقم 90 – 39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990، المعدّل والمتمّم والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج تحديد نسبة الماء في الحبوب ومنتوجات الحبوب إجباريا.

المادة 2 : من أجل تحديد نسبة الماء في الحبوب ومنتوجات الحبوب، فإن مخابر مراقبة الجودة وقمع الغش وتلك المعتمدة لهذا الغرض ملزمة باستعمال المنهج المبين في الملحق المرفق بهذا القرار.

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 13 ربيع الأول عام 1433 الموافق 6 فبراير سنة 2012.

مصطفى بن بادة

الملحق

منهج تحديد نسبة الماء في الحبوب ومنتوجات الحبوب

(منهج سهل التطبيق سواء بالطحن أو بدونه وبدون تكييف)

1. التعريف

نسبة الماء هي فقد الكتلة، يعبر عنها بالنسبة المئوية الذي يتعرض له المنتوج في الشروط المبينة في هذا المنهج.

2. المبدأ

يجفف المنتوج في درجة حرارة تتراوح بين 130 و133°م، في ضغط جوي عادي، بعد سحق محتمل للمنتوج.

3. التجهيزات

1 . 3 ميزان تحليلي

2 . 3 آلة سحق موافقة للمميزات الآتية:

– مصنوعة من مادة غير ماصة للرطوبة،

– تسمح بالسحق السريع والمنتظم، بدون إحداث تسخين محسوس للمنتوج وبتجنب ملامسة الهواء الخارجي لأقصى حد ممكن،

– يمكن ضبطها للحصول على جزيئات ذات أبعاد ملائمة.

3 . 3 كبسولة معدنية، لا تتأثر بشروط التجربة (أو إن لم تتوفر، كبسولة زجاجية مقاومة للحرارة)، مزودة بغطاء كتيم بما فيه الكفاية وذو مساحة مفيدة للاستعمال للحصول على انتشار منتظم وبدون تكتل العينة المأخوذة للتجربة (مثلا القطر 50 ملم والارتفاع 30 ملم).

4 . 3 جهاز تجفيف متساوي الحرارة، ذو تسخين كهربائي، مضبوط بحيث تكون درجة حرارة الهواء والأطباق الحاملة للعينات، بالقرب من العينات المأخوذة للتجربة تتراوح بين 130 و133°م في نظام عادي.

يجب أن يكون جهاز التجفيف ذا قدرة حرارية بحيث عندما يكون مضبوطا مسبقا في درجة حرارة 131°م يمكن أن يبلغ من جديد هذه الدرجة في أقل من 45 دقيقة (من المستحسن أقل من 30 دقيقة) بعد وضع أكبر عدد من العينات المأخوذة للتجربة، يمكن أن تجف في آن واحد.

يجب أن تحدد فعالية التهوية بواسطة دقيق القمح الصلب الذي تكون الأبعاد القصوى لجزيئاته 1 ملم، كمادة للتجربة. ويجب أن تكون التهوية بحيث، بعد إدخال أقصى عدد من العينات المأخوذة للتجربة التي يمكن لجهاز التجفيف أن يستوعبها والتجفيف في درجة حرارة تتراوح بين 130 و133°م، لا تظهر النتائج بعد مراحل تسخين نفس العينات المأخوذة لمدة 2 سا، ثم لمدة 1 سا إضافية، فيما بينها فارق أكبر من 0,15 غ من الماء لـ 100 غ من العينة.

5 . 3 ترمومتر من الزئبق لمراقبة درجة الحرارة داخل جهاز التجفيف.

6 . 3 جهاز نازع للرطوبة ذو صفيحة معدنية أو من خزف غليظ مثقوب يحتوي على عامل مجفف فعال.

7 . 3 ملقط معدني

4 . طريقة العمل

1 . 4 عدد التحديدات

يجرى تحديدان على نفس عينة المخبر.

2 . 4 تحضير الكبسولات

قبل الاستعمال، يجب أن تكون الكبسولات العارية مع أغطيتها بحيث :

– تجفف في جهاز التجفيف لمدة 15 دقيقة في 130°م،

– تبرد في جهاز نازع الرطوبة حتى درجة حرارة المخبر (بين 30 و45 دقيقة).

3 . 4 تحضير العينة المأخوذة للتجربة

1 . 3 . 4 منتوجات لا تستلزم السحق

لا تستلزم السحق قبل التحديد، المنتوجات التي لا تحتوي على جزيئات ذات أبعاد أكبر من 1,7 ملم، والتي منها أقل من 10 % (ك/ك) أكبر من 1 ملم وأكثر من 50 % (ك/ك) أصغر من 0,5 مم.

2 . 3 . 4 منتوجات تستلزم السحق

يجب أن تسحق المنتوجات التي لا تطابق مميزات قياس الحبيبات المذكور في (4 . 3 . 1).

لهذا، تجرى العملية كالآتي :

– يضبط جهاز السحق (3 . 2) حتى يمكن الحصول على مميزات قياس الحبيبات المرغوب فيها ثم تسحق كمية قليلة من العينة للمخبر ولا تؤخذ بعين الاعتبار.

– تسحق، فيما بعد، كمية من العينة بسرعة حتى يتم الحصول على عينة مأخوذة للتجربة تقدر بحوالي 5 غ.

4 . 4 العينة المأخوذة للتجربة

1 . 4 . 4 منتوجات لا تستلزم السحق

توزن بسرعة، بتقريب 1 ملغ، كمية من المادة المقدرة بحوالي 5 غ في الكبسولة (3 . 3)، مع طرح وزنها، بما فيها الغطاء بتقريب 1 ملغ.

2 . 4 . 4 منتوجات تستلزم السحق

يفرغ كليا، ناتج السحق المتحصل عليه في الكبسولة (مع طرح وزنها) كما هو مبين في (4 . 4 . 1)، يغلق الغطاء بسرعة ويوزن بتقريب 1 ملغ.

ملاحظات :

– قبل إجراء الاقتطاع على عينة المخبر، من الضروري أن تجانس جيدا.

– يجب أن تستعمل الكبسولات بواسطة ملقط (3 . 7) وليس بالأصابع.

5 . 4 التجفيف

توضع الكبسولة العارية والتي تحتوي على العينة المأخوذة للتجربة مع غطائها في جهاز التجفيف (3 . 4) وتترك لمدة 2 سا (90 دقيقة في حالة الطحين) وهو الوقت الذي يحسب ابتداء من اللحظة التي تصبح، من جديد، درجة حرارة جهاز التجفيف متراوحة بين 130 و133°م.

عند انتهاء وقت التجفيف، تخرج الكبسولة بسرعة من جهاز التجفيف وتوضع في جهاز نازع للرطوبة (3 . 6) أين تمكث حتى تصل درجة حرارة المخبر (غالبا بين 30 و45 دقيقة). توزن فيما بعد بتقريب 1 ملغ.

ملاحظات

– يجب ألا تدخل مواد رطبة في جهاز التجفيف الذي يحتوي على العينات المأخوذة للتجربة في نهاية التجفيف، هذا يؤدي إلى إضافة الماء لها جزئيا.

– في حالة التجارب المتتالية، يجب ألا توضع الكبسولات متراكبة فوق بعضها في جهاز نازع للرطوبة.

5. التعبير عن النتائج

5 . 1 طريقة الحساب والصيغ

نسبة الماء المعبر عنها بالنسبة المئوية الكتلية للمنتوج تستنتج بالصيغة الآتية :

$$\frac{ك1 - ك2}{ك1 - ك0} \times 100$$

بحيث :

$ك_0$ هي الكتلة، بالغرامات، للكبسولة مع غطائها،

$ك_1$ هي الكتلة، بالغرامات، للكبسولة والغطاء والعينة المأخوذة للتجربة بعد التجفيف.

$ك_2$ هي الكتلة، بالغرامات، للكبسولة والغطاء والعينة المأخوذة للتجربة بعد التجفيف.

5 . 2 النتيجة

يؤخذ كنتيجة المعدل الجبري للقيم المتحصل عليها من التحديدين إذا كانت شروط التكرارية (5 . 3) تسمح بذلك. في الحالة المعاكسة، تعاد التحديدات. تعدل النتيجة بتقريب 0,05 %.

5 . 3 التكرارية

يجب ألا يتجاوز الفرق بين نتائج التحديدين (4 . 1)، المنجزين بالتوالي أو بسرعة الواحد تلوى الآخر من طرف نفس المحلل، 0,15 غ من الماء لـ 100 غ من العينة.

قرارات، مقرّرات، آراء

وزارة التجارة

قرار مؤرخ في 16 رجب عام 1433 الموافق 6 يونيو سنة 2012، يجعل منهج تحديد الحموضة الدسمة في الطحين ودقيق القمح إجباريا.

إن وزير التجارة،

– بمقتضى المرسوم الرئاسي رقم 10 – 149 المؤرخ في 14 جمادى الثانية عام 1431 الموافق 28 مايو سنة 2010 والمتضمن تعيين أعضاء الحكومة،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 90 – 39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990 والمتعلق 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 – 465 المؤرخ في 4 ذي القعدة عام 1426 الموافق 6 ديسمبر سنة 2005 والمتعلق بتقييم المطابقة،

يقرر ما يأتي :

المادة الأولى : تطبيقا لأحكام المادة 19 من المرسوم التنفيذي رقم 90 – 39 المؤرخ في 3 رجب عام1410 الموافق 30 يناير سنة 1990، المعدل والمتمم والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج تحديد الحموضة الدسمة في الطحين ودقيق القمح إجباريا.

المادة 2 : من أجل تحديد الحموضة الدسمة في الطحين ودقيق القمح، فإن مخابر مراقبة الجودة وقمع الغش والمخابر المعتمدة لهذا الغرض، ملزمة باستعمال المنهج المبين في الملحق المرفق بهذا القرار.

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 16 رجب عام 1433 الموافق 6 يونيو سنة 2012.

مصطفى بن بادة

الملحق

منهج تحديد الحموضة الدسمة في الطحين ودقيق القمح

يصف هذا المنهج تقنية تحديد الحموضة الدسمة في الطحين ودقيق القمح. ويطبق هذا المنهج أيضا على العجائن الغذائية.

1 . التعريف :

الحموضة الدسمة هي التعبير الاصطلاحي للأحماض، خصوصا الأحماض الدسمة الحرة، المستخلصة في الشروط التي تلي. ويعبر عنها بالغرام من الحمض الكبريتي لـ 100 غ من المادة الجافة.

2 . المبدأ :

يحضر محلول من الأحماض في الإيثانول 95 % (ح/ح) في درجة حرارة المخبر، وتجرى عملية الطرد المركزي ويعاير جزء من المحلول الطافي بهيدروكسيد الصوديوم.

3 . الكواشف :

يجب أن تكون جميع الكواشف ذات نوعية تحليلية وأن يكون الماء المستعمل مقطرا.

3 . 1 الإيثانول (كحول إيثيلي) بـ 95 % (ح/ح).

3 . 2 هيدروكسيد الصوديوم (NaOH) : محلول معاير نظاميته 0,05 ن في الماء المقطر الذي نزع منه ثاني أكسيد الكربون بالغليان. ويجب أن يكون هذا المحلول خال من الكربونات وأن يحفظ في قارورة من زجاج غير أكتينية.

يجب أن تفحص معيارية المحلول مباشرة قبل كل سلسلة تحديد الحموضة.

3. 3 فينول فتاليين محلول بـ 1 غ لـ 100 ملل في الإيثانول 95 % (ح/ح).

4 . التجهيزات :

4 . 1 ميزان بتدقيق 0,01 غ.

4 . 2 جهاز سحق يسمح بسحق سريع وموحد، بدون إحداث تسخين من شأنه أو يؤثر على المادة وبتجنب وإلى أقصى حد الاتصال بالهواء الخارجي (حالة الدقيق والعجائن الغذائية).

4 . 3 غربال ذو شبكة معدنية ذو مسامات قطرها يساوي 1 ملم للطحين و160 ميكرومتر و500 ميكرومتر للدقيق والعجائن الغذائية.

4 . 4 جهاز الطرد المركزي بـ 5000 – 6000 دورة / دقيقة.

4 . 5 أنابيب لجهاز الطرد المركزي سعتها 45 ملل من الزجاج أو من بلاستيك لا تتفاعل ومغلقة بإحكام.

4 . 6 أنابيب سعتها 50 ملل من زجاج أو من بلاستيك لا يتفاعل ومغلقة بإحكام.

4 . 7 ماصات دقيقة سعتها 10 و20 ملل.

4 . 8 حوجلات مخروطية الشكل أو إرلن ماير سعتها 250 ملل.

4 . 9 سحاحة صغيرة جدا، مدرجة بـ 0,01 ملل.

4 . 10 خلاط دوراني ميكانيكي، 30 – 60 دورة / الدقيقة.

5 . شروط الحفظ :

يجب ألا تحفظ العينات في درجة حرارة المخبر لأكثر من يوم واحد لأن الحموضة تزداد أثناء التخزين وتحفظ في قارورات مسدودة في حوالي 4° م. قبل كل اقتطاع عينة للتحليل، تترك هذه العينة في قارورة مسدودة حتى تصل درجة حرارتها درجة حرارة المخبر.

6 . طريقة العمل :

6 . 1 عدد التحديدات :

يجرى تحديدان على نفس عينة التجربة.

6 . 2 تحضير العينة للتجربة :

6 . 2 . 1 حالة الطحين :

يقتطع حوالي 50 غ من الطحين ويغربل بواسطة غربال ذي مسامات قطرها يساوي 1 ملم (4 . 3)، بحيث تتجزأ التكتلات المحتمل تشكلها.

6 . 2 . 2 حالة الدقيق والعجائن الغذائية :

تسحق حوالي 50 غ من المادة بواسطة جهاز سحق (4 . 2) بحيث تعبر كل المادة المسحوقة عبر غربال ذي مسامات قطرها 500 ميكرومتر (4 . 3) و80 % على الأقل تعبر عبر غربال ذي مسامات قطرها 160 ميكرومتر (4 . 3).

6 . 3 تحديد نسبة الماء :

يجرى مباشرة تحديد نسبة الماء حسب منهج تحديد نسبة الماء في الحبوب ومنتوجات الحبوب.

6 . 4 العينة المأخوذة للتجربة :

توزن بتقريب 0,01 غ حوالي 5 غ من العينة المأخوذة للتجربة، بعدما تجانس جيدا.

6 . 5 التحديد

6 . 5 . 1 الاستخلاص :

– توضع العينة المأخوذة للتجربة داخل أنبوب جهاز الطرد المركزي.

– يضاف إليها بواسطة ماصة 30 ملل من الإيثانول (3 . 1) ويغلق الأنبوب بإحكام.

– يرج لمدة ساعة بواسطة خلاط دوراني ميكانيكي (4 . 10) وفي درجة حرارة 20° م ± 5° م. بعد ذلك تجرى عملية الطرد المركزي لمرتين متتاليتين ولمدة دقيقتين.

تعتبر عملية الطرد المركزي لمرتين فعالة بالنظر إلى عملية طرد مركزي واحدة ولمدة أطول لأنها تسمح بإزالة الجزيئات العالقة.

ملاحظة

إذا لم تتلاءم أنابيب جهاز الطرد المركزي المقررة في هذا المنهج مع الخلاط الدوراني الميكانيكي (4 . 10)، يمكن استعمال أنابيب سعتها 50 ملل (4 . 6) للاستخلاص وتسكب بعد ذلك للقيام بعملية الطرد المركزي.

6 . 5 . 2 المعايرة :

– تؤخذ بواسطة ماصة 20 ملل من السائل الطافي صاف تماما ويسكب في حوجلة مخروطية الشكل (4 . 8)،

– تضاف 5 قطرات من فينول فتاليين (3 . 3)،

– يعاير بواسطة سحاحة دقيقة (4 . 9) بمحلول هيدروكسيد الصوديوم نظاميته 0,05 ن (3 . 2)، حتى يتغير اللون إلى وردي شاحب ويبقى لبعض الثواني.

6 . 6 تجربة على بياض :

تعاير الحموضة الناتجة عن الكحول (3 . 1)، بالعمل على 20 ملل من الإيثانول حسب شروط المعايرة (6 . 5 . 2)

7 . التعبير عن النتائج :

7 . 1 طريقة الحساب والصيغ :

7 . 1 . 1 الحموضة بالغرام من حمض الكبريت لـ 100 غ من المادة يعبر عنها كالآتي :

$$\frac{7,35 \times (ح_0 - ح_1) \times ع}{ك}$$

2 . 1 . 7 الحموضة بالغرام من حمض الكبريت لـ 100 غ من المادة الجافة يعبر عنها كالآتي :

$$\frac{7,35 \times (ح_0 - ح_1) \times ع}{ك - نم}$$

حيث :

$ح_1$: هو حجم محلول هيدروكسيد الصوديوم بالمليلتر المستعمل للتحديد،

$ح_0$: هو حجم محلول هيدروكسيد الصوديوم بالمليلتر المستعمل للتجربة على بياض،

ك : كتلة العينة المأخوذة للتجربة بالغرام،

ع : هو العيار الصحيح لمحلول هيدروكسيد الصوديوم المستعمل،

نم : نسبة الماء، بالنسبة المئوية للكتلة، للعينة المأخوذة للتجربة

2 . 7 النتيجة :

يجرى الحساب بـ 4 أرقام بعد الفاصلة.

يؤخذ كنتيجة المعدل الجبري للتحديدين إذا تحققت شروط التكرارية (أنظر 7 . 3). في حالة العكس، تعاد التجربة مرتين.

يعبر عن النتيجة بتقريب 0,001 % (ك/ك).

3 . 7 التكرارية :

يجب أن لا يتجاوز الفرق بين نتيجتي تحديدين (أنظر 6 . 1) منجزين في آن واحد أو بسرعة الواحد تلو الآخر من طرف نفس المحلل 0,002 غ من حمض الكبريت لـ 100 غ من المادة الجافة.

★

قرار مؤرخ في 16 رجب عام 1433 الموافق 6 يونيو سنة 2012، يجعل منهج معايرة نسبة الرماد عن طريق الحرق في الحبوب والبقول والمواد المشتقة إجباريا.

إن وزير التجارة،

– بمقتضى المرسوم الرئاسي رقم 10 – 149 المؤرخ في 14 جمادى الثانية عام 1431 الموافق 28 مايو سنة 2010 والمتضمن تعيين أعضاء الحكومة،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 90 – 39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990 والمتعلق 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 – 465 المؤرخ في 4 ذي القعدة عام 1426 الموافق 6 ديسمبر سنة 2005 والمتعلق بتقييم المطابقة،

يقرر ما يأتي :

المادة الأولى : تطبيقا لأحكام المادة 19 من المرسوم التنفيذي 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 نسبة الرماد عن طريق الحرق في الحبوب والبقول والمواد المشتقة إجباريا.

المادة 2 : من أجل معايرة نسبة الرماد عن طريق الحرق في الحبوب والبقول والمواد المشتقة، فإن مخابر مراقبة الجودة وقمع الغش والمخابر المعتمدة لهذا الغرض، ملزمة باستعمال المنهج المبين في الملحق المرفق بهذا القرار.

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 16 رجب عام 1433 الموافق 6 يونيو سنة 2012.

مصطفى بن بادة

الملحق

منهج معايرة نسبة الرماد عن طريق الحرق في الحبوب والبقول والمواد المشتقة

يحدد هذا المنهج طريقة معايرة الرماد في الحبوب والبقول ومنتجاتها المطحونة الموجهة للاستهلاك البشري.

المواد والمنتوجات الأساسية هي :

أ) الحبوب،

ب) الطحين والدقيق،

ج) منتجات الطحين (النخالة والمواد التي تحتوي على نسبة عالية من النخالة والمواد المعادة الطحن)،

د) طحين الحبوب المركبة،

هـ) مشتقات الحبوب عدا منتجات الطحين،

و) البقول ومشتقاتها.

لا يستعمل هذا المنهج للنشاويات ومشتقاتها ولا للمنتجات المخصصة لتغذية الحيوانات ولا لبذور الزرع.

1 . التعريف :

لاحتياجات هذا المنهج يتبع في تطبيقه التعريف التالي :

الرماد : بقايا غير قابلة للاحتراق يتحصل عليها بعد الحرق حسب التقنية المبينة في هذا المنهج.

2 . المبدأ :

تحرق العينة المأخوذة للتجربة حتى الاحتراق الكلي للمواد العضوية ثم يوزن الباقي المتحصل عليه. ويكون الباقي المتحصل عليه سبخي بعد الحرق في 550°م ومتزجج بعد الحرق في 900°م. بصفة عامة، ويجب أن تحرق المنتوجات التي تحتوي على الأملاح (مثل كلورور الصوديوم، بيروفوسفات)، في درجة حرارة (550 ± 10)°م.

يلخص الجدول الآتي درجات حرارة الحرق المستعملة حسب نوع المنتوجات.

درجات حرارة الحرق ونوع المنتوجات

نوع المنتوجات	درجة حرارة الحرق	
طحين	(550 ± 10) °م	(900 ± 25) °م
دقيق	(550 ± 10) °م	(900 ± 25) °م
الحبوب	(550 ± 10) °م	(900 ± 25) °م
منتجات الطحن الأخرى (مثل النخالة والمواد التي تحتوي على نسبة عالية من النخالة والمواد المعادة الطحن)	(550 ± 10) °م	–
مستحضرات مركبة ذات مصدر حبوبي	(550 ± 10) °م	–
مشتقات الحبوب غير المنتوجات المطحونة	(550 ± 10) °م	–
البقول ومشتقاتها	(550 ± 10) °م	–

3 . الكواشف :

ما عدا تعليمات مخالفة، تستخدم فقط كواشف ذات نوعية تحليلية معترف بها وماء مقطر أو ماء منزوع المعادن أو ذو نقاوة مكافئة.

3 . 1 حمض الكلوريدريك، محلول مائي، مزيج متساوي الأحجام من HCl (حجم جزئي 35 %) والماء.

3 . 2 خماسي أكسيد ثنائي الفسفور، مطهر ($p_4 O_{10}$).

3 . 3 إيثانول

4 . الأجهزة

4 . 1 جهاز السحق، سهل التنظيف ذو فراغ مصغر قدر الإمكان وقادر على توفير سحق سريع وموحد.

4 . 2 كبسولة الحرق، ذات قدرة تساوي على الأقل 20 مل، مستطيلة الشكل أو دائرية ومسطحة القاع وذات مساحة استعمال تساوي على الأقل 12 سم^2. المواد الملائمة التي لا تتغير في شروط درجة حرارة التجربة هي كالتالي :

أ – في 900°م – البلاتين أو الروديوم،

ب – في 550°م – الكوارتز أو السيليس.

في كلتا الحالتين، يجب أن تسمح المادة المستعملة باحترام قيم الدقة.

يجب تنظيف الكبسولات بغطسها كليا في محلول حمض الكلوريدريك (3 . 1) لمدة ساعة واحدة على الأقل ثم تغسل بالماء وبعدها بالماء المقطر.

بعد الغسل، يجب تجفيف حجيرات الكوارتز أو السيليس داخل جهاز التجفيف (4 . 7) لفترة مناسبة لإزالة الماء.

4 . 3 فرن كهربائي ذو مسخنة، مع دوران الهواء الملائم يحتوي على جهاز التحكم في درجة الحرارة ومحضنة عاكسة لا تسمح بفقدان الجزيئات عند درجة حرارة الحرق التي يمكن ضبطها في (900 ± 25) °م أو في (550 ± 10) °م.

4 . 4 جهاز نازع الرطوبة ذو حنفية، مزود بصفيحة ذات ثقوب من الألومنيوم أو من البورسلين، محصن بخماسي أكسيد ثنائي الفوسفور (3 . 2) كمجفف.

4 . 5 ميزان تحليلي، بدقة تقدر بـ 0,01 ملغ.

4 . 6 قاسم بالطول أو مخروطي.

4 . 7 جهاز التجفيف، لتجفيف كبسولات الحرق.

5 . اقتطاع العينة

من المهم أن يتلقى المخبر عينة مثالية، غير متلفة أو متغيرة أثناء النقل والتخزين.

6 . تحضير عينة التجربة :

بالنسبة للبذور أو المنتجات التي تحتوي على بذور كاملة، تجانس وتقسم العينة للحصول على كمية مماثلة ومنسجمة مع نوع جهاز السحق (4 . 1) المستخدم. وتسحق العينة المتحصل عليها. والمنتجات الأخرى لا تستلزم السحق.

7 . طريقة العمل :

7 . 1 تحديد كمية الماء

يجري أولا تحديد كمية الماء لعينة التجربة بالنسبة للحبوب ما عدا الذرة أو البقول. يوصي بالتعامل مع البقول ومشتقاتها بوقت تجفيف مقدر بـ 90 دقيقة. وتوضب مسبقا إذا كان الجزء الكتلي للماء أقل من 7 % أو أكثر من 13 %.

7 . 2 تحضير كبسولات الحرق

بالنسبة لكبسولات الحرق المناسبة للتجربة في 900 °م (4 . 2)، بعد التنظيف توضع في الفرن ذي مسخنة (4 . 3) لمدة 5 دقائق في درجة حرارة الحرق المستعملة، تترك لتبرد داخل جهاز نازع الرطوبة (4 . 4) ثم توزن (4 . 5) بتقريب 0,1 ملغ.

بالنسبة لكبسولات الحرق المناسبة للتجربة في 550 °م، تنظف وتوضع داخل جهاز التجفيف (4 . 7) خلال الوقت اللازم للتجفيف (مثلا 90 دقيقة في 130 °م). فورا قبل الاستعمال، تخرج الكبسولات من جهاز التجفيف وتترك لتبرد داخل جهاز نازع الرطوبة (4 . 4) ثم توزن (4 . 5) بتقريب 0,1 ملغ.

7 . 3 تحضير العينة المأخوذة للتجربة

انطلاقا من عينة التجربة المحضرة حسب (6) والمجانسة بعناية، توزن بسرعة (4 . 5) عينة مأخوذة للتجربة وبتقريب 0,1 ملغ تتراوح بين 3,9 غ و4,1 غ في حالة الحرق في 900 °م وما بين 4,9 غ و5,1 غ في حالة الحرق في 550 °م. وفي حالة منتوجات ضعيفة الكثافة يمكن أن تكون العينة المأخوذة للتجربة محصورة بين (2 ± 0,1) غ و(3 ± 0,1) غ. وتوزع المادة داخل كبسولة الحرق المحضرة والمعادل وزنها كما وصف في (7 . 2) دون تكديسها في طبقة موحدة.

7 . 4 ما قبل الحرق

توضع الكبسولة ومحتواها عند مدخل الفرن الموضوع في درجة حرارة الحرق. في 900 °م تلتهب المواد تلقائيا. في 550 °م من الضروري إضافة الإيثانول (3 . 3) قصد الالتهاب. ويسمح بوضع الحجيرات داخل فرن بارد قبل الحرق عند درجة حرارة 550 °م، وتترك درجة حرارة الفرن ترتفع.

7 . 5 الحرق

ينتظر إلى غاية انتهاء حرق المادة، ثم توضع الكبسولة داخل الفرن.

يغلق باب الفرن. ويتبع الحرق حتى الاحتراق الكلي للمادة، بما في ذلك الجزيئات الفحمية الموجودة في باقي الحرق، حوالي ساعة واحدة بعد ارتفاع درجة حرارة الفرن إلى 900 °م و4 ساعات على الأقل في 550 °م

عند انتهاء الحرق، تسحب الكبسولة من الفرن وتوضع في جهاز نازع الرطوبة (4 . 4) لتبرد. ولا توضع الكبسولات فوق بعضها لحفظ فعالية جهاز نازع الرطوبة. حينما تصل درجة حرارة الكبسولة إلى درجة حرارة المحيط (حوالي 15 د إلى 20 د بالنسبة للكبسولات من البلاتين و60 د إلى 90 د على الأقل بالنسبة للكبسولات من الكوارتز أو من السيليس)، توزن وبسرعة بتقريب 0,1 ملغ نظرا للميزة الاسترطابية للرماد.

في حالة الحرق في 550 °م، يجب أن تؤخذ احتياطات خاصة عند دخول الهواء وعند فتح جهاز نازع الرطوبة لتجنب انفلات البقايا السبخية.

7 . 6 عدد التحديدات

يجرى على الأقل تحديدان على نفس عينة الاختبار.

8 . التعبير عن النتائج

نسبة الرماد بالجزء الكتلي مقارنة بالمادة الجافة، يعبر عنها بالنسبة المئوية، حسب المعادلة (1) :

$$W_{a,d} = (ك_1 - ك_2) \times \frac{100}{ك_0} \times \frac{100}{100 - W_ك} \quad (1)$$

حيث :

$ك_0$: هي كتلة العينة المأخوذة للتجربة (7 . 3)، بالغرام،

$ك_1$: هي كتلة كبسولة الحرق (7 . 2)، بالغرام،

$ك_2$: هي كتلة كبسولة الحرق (7 . 2)، مع باقي عملية الحرق (7 . 5)، بالغرام،

$W_ك$: نسبة الماء في العينة يعبر عنها بالنسبة المئوية في الكتلة (7 . 1).

يؤخذ كنتيجة المعدل الجبري لتحديدين إذا تحققت شروط التكرارية (9).

يعبر عن النتيجة بتقريب 0,01 % (الكتلة).

عند الضرورة يعبر عن نسبة الرماد بالجزء الكتلي مقارنة بالمادة الرطبة ويعبر عنها بالنسبة المئوية، $W_{a,w}$ حسب المعادلة (2) :

$$W_{a,w} = (ك_1 - ك_2) \times \frac{100}{ك_0} \quad (2)$$

9 . التكرارية

الفرق المطلق بين نتيجتين فرديتين مستقلتين، متحصل عليهما باستعمال نفس المنهج على نفس المنتوج الخاضع للتجربة في نفس المخبر من طرف نفس المحلل المستعمل لنفس الأجهزة وفي أقصر مجال من الزمن، لا يتجاوز أكثر من 5 % من الحالات.

الجمهوريــة الجزائريــة الديمقراطيــة الشعبيــة

وزارة التجـــارة

المديرية العامة للرقابة الاقتصادية
و قمع الغش

مديرية مخابر التجارب
و تحاليل الجودة

المناهج الرسمية للتحاليل الميكروبيولوجية المتعلقة بالمياه المعدنية و مياه المنبع

الفهرس

1. قرار مؤرخ في 24 يونيو سنة 2012، يجعل منهج إحصاء الأجسام الدقيقة المعاد إنعاشها في الماء إجباريا. (ج ر عدد 21 - 2013)	01
2. قرار مؤرخ في 31 ديسمبر سنة 2012، يجعل منهج البحث و إحصاء بكتيريا القولون و بكتيريا القولون المتقبلة للحرارة و إشيريشياكولي المفترضة في الماء إجباريا. (ج ر عدد 31 - 2013)	04
3. قرار مؤرخ في 13 يونيو سنة 2012، يجعل منهج البحث و إحصاء أبواغ الأجسام الدقيقة الاهوائية المرجعة للسولفيت إجباريا. (ج ر عدد 36 - 2013)	13
4. قرار مؤرخ في 5 ديسمبر سنة 2012، يجعل منهج كشف و إحصاء بسودوموناس أيروجينوزا في الماء بالترشيح فوق الغشاء إجباريا. (ج ر عدد 51 - 2013)	16

وزارة التجارة

قرار مؤرخ في 4 شعبان عام 1433 الموافق 24 يونيو سنة 2012، يجعل منهج إحصاء الأجسام الدقيقة المعاد إنعاشها في الماء إجباريا.

إن وزير التجارة،

– بمقتضى القانون رقم 05 – 12 المؤرخ في 28 جمادى الثانية عام 1426 الموافق 4 غشت سنة 2005 والمتعلق بالمياه، المعدّل والمتمّم،

– وبمقتضى المرسوم الرئاسي رقم 10 – 149 المؤرخ في 14 جمادى الثانية عام 1431 الموافق 28 مايو سنة 2010 والمتضمن تعيين أعضاء الحكومة،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 90 – 39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990 والمتعلق 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 – 465 المؤرخ في 4 ذي القعدة عام 1426 الموافق 6 ديسمبر سنة 2005 و المتعلق بتقييم المطابقة،

– وبمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرخ في 22 ذي الحجة عام 1426 الموافق 22 يناير سنة 2006 الذي يحدد نسب العناصر التي تحتويها المياه المعدنية الطبيعية ومياه المنبع وكذا شروط معالجتها أو الإضافات المسموح بها، المعدّل والمتمّم،

– وبمقتضى القرار المؤرخ في 14 صفر عام 1415 الموافق 23 يوليو سنة 1994 والمتعلق بالمواصفات الميكروبيولوجية لبعض المواد الغذائية، المعدل والمتمّم،

يقرر ما يأتي :

المادة الأولى : تطبيقا لأحكام المادة 19 من المرسوم التنفيذي رقم 90 – 39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990، المعدّل والمتمّم والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج إحصاء الأجسام الدقيقة المعاد إنعاشها في الماء إجباريا.

المادة 2 : من أجل إحصاء الأجسام الدقيقة المعاد إنعاشها في الماء، فإن مخابر مراقبة الجودة وقمع الغش والمخابر المعتمدة لهذا الغرض، ملزمة باستعمال المنهج المبين في الملحق المرفق بهذا القرار.

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 4 شعبان عام 1433 الموافق 24 يونيو سنة 2012.

مصطفى بن بادة

الملحق

منهج إحصاء الأجسام الدقيقة المعاد إنعاشها في الماء

يحدد هذا المنهج تقنية إحصاء الأجسام الدقيقة المعاد إنعاشها الموجودة في الماء بحساب المستعمرات المتشكلة في وسط زرع مغذي هلامي بعد التحضين في الشروط الهوائية في درجة حرارة 36 مْ و22 مْ.

يهدف هذا المنهج إلى قياس فعالية طريقة التزويد العمومي بالماء الصالح للشرب وجميع أنواع المياه. ويطبق بصفة خاصة لتحليل المياه الموجهة للاستهلاك البشري بما فيها المياه المعلبة والمياه المعدنية الطبيعية.

1. التعريف

لمتطلبات هذا المنهج، يطبق التعريف التالي :

الأجسام الدقيقة المعاد إنعاشها : جميع البكتيريا الهوائية، الخمائر أو العفنيات، القادرة على تشكيل مستعمرات في الوسط المحدد وفي شروط التجربة المبينة أدناه.

2. المبدأ

تزرع أحجام مقاسة من العينة أو من تخفيفات العينة بالخلط في وسط الزرع المحدد والمذاب في علب بتري. تحضن بعض العلب في 36 مْ لمدة 44 سا والبعض الآخر في 22 مْ لمدة 68 ساعة.

تحسب عدد الوحدات المشكلة للمستعمرات (و م م) في المليلتر (ملل) من العينة انطلاقا من عدد المستعمرات المتشكلة في الوسط.

3. التجهيزات والأدوات الزجاجية

تتمثل الأدوات المتداولة في مخبر الميكروبيولوجيا في :

3 . 1 أجهزة للتعقيم بالحرارة الرطبة (جهاز التعقيم) :

3 . 2 جهاز التحضين قادر على ضبط درجة الحرارة في (36 + 2) مْ،

3 . 3 جهاز التحضين قادر على ضبط درجة الحرارة في (22 + 2) مْ،

3 . 4 علب بتري من الزجاج أو من مادة بلاستيكية قطرها 90 ملم أو 100 ملم،

3 . 5 حمام مائي، أو جهاز مماثل قادر على ضبط درجة الحرارة في (45 + 1) مْ،

3 . 6 جهاز لحساب المستعمرات، مزود بنظام إضاءة فوق قاعدة سوداء.

4. اقتطاع العينة

تقتطع عينات الماء طبقا لتعليمات اقتطاع العينات والمعالجة والحفظ.

تحلل المياه في علب مغلقة بما فيها المياه المعدنية الطبيعية في مدة لا تتجاوز 12 سا بعد التعليب مع المحافظة على درجة حرارتها في (5 + 3) مْ طوال هذه المدة.

5. أوساط الزرع والمخففات

5 . 1 المركبات الأساسية

يستعمل لتحضير الوسط مركبات ذات نوعية متماثلة ومواد كيميائية ذات نوعية تحليلية أو يستعمل وسط زرع مكافىء كامل مجفف مع اتباع تعليمات المصنّع.

يستعمل لتحضير الوسط، الماء المقطر في جهاز زجاجي وخال من المواد القادرة على منع التكاثر في شروط التجربة.

ملاحظة : يسمح باستعمال مواد كيميائية من نوعيات أخرى بشرط أن يثبت بأن لها نفس الفعالية في التجربة.

5 . 2 المخفف

لإجراء التخفيفات، يستعمل مخفف مركب أساسا من الببتون المبين في منهج الخطوط التوجيهية العامة لإحصاء الأجسام الدقيقة في وسط الزرع.

5 . 3 هلام بمستخلص الخميرة

تريبتون (ببتون الكازيين، بنكرياسي) ..... 6,0 غ

مستخلص الخميرة مجفف..... 3,0 غ

هلام، على شكل مسحوق أو قطع ..... 10 إلى 20 غ

(حسب قدرة التجمد)

ماء ..... 1000 ملل

تضاف المكونات أو الوسط الكامل المجفف إلى الماء وتذاب بالتسخين. ويضبط العامل الهيدروجيني إذا اقتضى الأمر ليصبح بعد التعقيم 7,2 + 0,2 في 25 مْ،

يوزع الوسط على أحجام تساوي 15 ملل إلى 20 ملل في أنابيب أو قارورات أو أوعية أخرى. لحفظ أحجام أكبر، تستعمل أوعية تصل سعتها 500 ملل. تعقم في جهاز التعقيم (3 . 1) في (121 + 3) مْ لمدة (15 + 1) دقيقة.

للاستعمال، يذوب الوسط ويترك ليبرد ويحفظ في (45 + 1) مْ بواسطة حمام مائي (3 . 5). ينصح بعدم حفظ الوسط أكثر من 4 سا في 45° م، بعد هذه المدة يجب التخلص من الوسط.

6. طريقة العمل

6 . 1 التحضير والزرع

تحضر العينة، تجرى التخفيفات وتزرع أوساط الزرع حسب منهج الخطوط التوجيهية العامة لإحصاء الأجسام الدقيقة في وسط الزرع.

تستعمل طريقة الإدماج (منهج الخطوط التوجيهية العامة لإحصاء الأجسام الدقيقة في وسط الزرع).

يوضع حجم من العينة المأخوذة للتجربة (أو من تخفيفاتها) لا تتجاوز 2 ملل في علبة بتري، يضاف 15 ملل إلى 20 ملل من الوسط المذاب (5 . 3) ويمزج بعناية بالدوران البطيء.

يترك الوسط يتجمد ويجب ألا تتجاوز المدة بين وضع العينة المأخوذة للتجربة (أو من تخفيفاتها) وإضافة الوسط المذاب 15 دقيقة، تزرع على الأقل علبة في كل درجة حرارة تحضين.

6 . 2 التحضين والفحص

تقلب العلب وتحضن البعض منها في (36 + 2) مْ لمدة (44 + 4) سا. تحضن العلب الأخرى في (22 + 2) مْ لمدة (68 + 4) سا. تفحص العلب مباشرة بعد إخراجها من جهاز التحضين. وإذا تعذر ذلك، تحفظ في (5 + 3) مْ وتفحص في 48 سا. تستبعد كل علبة ظهر عليها تكاثر مختلط.

6 . 3 حساب المستعمرات

لكل درجة حرارة تحضين، حسب الإجراءات المبينة في منهج الخطوط التوجيهية العامة لإحصاء الأجسام الدقيقة في وسط الزرع، يحسب عدد المستعمرات الموجودة في كل علبة ويحسب العدد المقدر للوحدات المشكلة للمستعمرات الموجودة في 1 ملل من العينة.

7. التعبير عن النتائج

يعبر عن النتائج عن طريق عدد الوحدات المشكلة للمستعمرات في المليلتر (و م م / ملل) للعينة لكل درجة حرارة التحضين.

وفي غياب مستعمرات في العلب المزروعة بأحجام العينة المأخوذة للتجربة غير المخففة، يعبر عن النتيجة بأنها غير مكتشفة في واحد مليلتر. إذا احتوت العلب المزروعة بأكبر التخفيفات المستعملة أكثر من 300 مستعمرة، يعبر عن النتائج على شكل >

وزارة التجارة

قرار مؤرخ في 18 صفر عام 1434 الموافق 31 ديسمبر سنة 2012، يجعل منهج البحث وإحصاء بكتيريا القولون وبكتيريا القولون المتقبلة للحرارة وإشيريشيا كولي المفترضة في الماء إجباريا.

إن وزير التجارة،

– بمقتضى القانون رقم 05 – 12 المؤرخ في 28 جمادى الثانية عام 1426 الموافق 4 غشت سنة 2005 والمتعلق بالمياه، المعدّل والمتمّم،

– وبمقتضى المرسوم الرئاسي رقم 12 – 326 المؤرّخ في 17 شوّال عام 1433 الموافق 4 سبتمبر سنة 2012 والمتضمّن تعيين أعضاء الحكومة،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 90 – 39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990 والمتعلق 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 – 465 المؤرخ في 4 ذي القعدة عام 1426 الموافق 6 ديسمبر سنة 2005 و المتعلق بتقييم المطابقة،

– وبمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرخ في 22 ذي الحجة عام 1426 الموافق 22 يناير سنة 2006 الذي يحدد نسب العناصر التي تحتويها المياه المعدنية الطبيعية ومياه المنبع وكذا شروط معالجتها أو الإضافات المسموح بها، المعدّل والمتمّم،

– وبمقتضى القرار المؤرخ في 14 صفر عام 1415 الموافق 23 يوليو سنة 1994 والمتعلق بالمواصفات الميكروبيولوجية لبعض المواد الغذائية، المعدل والمتمّم،

يقرر ما يأتي :

المادة الأولى : تطبيقا لأحكام المادة 19 من المرسوم التنفيذي رقم 90 – 39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990، المعدّل والمتمّم والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج البحث وإحصاء بكتيريا القولون وبكتيريا القولون المتقبلة للحرارة وإشيريشيا كولي المفترضة في الماء إجباريا.

المادة 2 : من أجل البحث وإحصاء بكتيريا القولون وبكتيريا القولون المتقبلة للحرارة وإشيريشيا كولي المفترضة في الماء، فإن مخابر مراقبة الجودة وقمع الغش وتلك المعتمدة لهذا الغرض، ملزمة باستعمال المنهج المبين في الملحق المرفق بهذا القرار.

ويجب أن يستعمل المخبر هذا المنهج عند الأمر بإجراء خبرة.

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

حرر بالجزائر في 18 صفر عام 1434 الموافق 31 ديسمبر سنة 2012.

مصطفى بن بادة

الملحق

منهج البحث وإحصاء بكتيريا القولون وبكتيريا القولون المتقبلة للحرارة وإشيريشيا كولي المفترضة (منهج العدد الأكثر احتمالا)

يحدد هذا المنهج تقنية البحث وإحصاء بكتيريا القولون وبكتيريا القولون المتقبلة للحرارة وإشيريشيا كولي المفترضة بالزرع في وسط سائل داخل عدة أنابيب وحساب عددها الأكثر احتمالا في العينة.

يمكن تطبيق هذا المنهج على جميع أنواع المياه، حتى التي تحتوي على كمية معتبرة من الجزيئات المعلّقة.

يمكن اعتبار اختيار التجارب المستعملة للبحث والتأكيد للأجسام العضوية من مجموعة بكتيريا القولون، بما فيها إشيريشيا كولي كجزء من سلسلة متتالية. إن أهمية التأكيد لعينة ما تعتمد في جزء منه على طبيعة الماء والأسباب التي أدت إلى هذا الاختبار. عمليا، يدل البحث عن إشيريشيا كولي المفترضة في الماء، كما هو مبين في (3.1)، عموما عن تلوث برازي حديث.

1. تعاريف

لمتطلبات هذا المنهج، تطبق التعاريف الآتية :

1 . 1 بكتيريا القولون :

أجسام عضوية قادرة على تشكيل مستعمرات في الشروط الهوائية في 35 مْ ± 0,5 مْ أو 37 مْ ± 0,5 مْ فوق وسط لاكتوزي انتقائي وتباييني، مع تشكل حمض (وألدهيذ) في 24 ساعة.

1 . 2 بكتيريا القولون المتقبلة للحرارة :

أجسام عضوية تتجاوب مع التعريف المبين في (1.1)، لها نفس ميزات التخمر في 24 سا في 44 مْ ± 0,25 مْ أو 44,5 مْ ± 0,25 مْ.

1 . 3 إشيريشيا كولي المفترضة :

بكتيريا قولون متقبلة للحرارة تتجاوب مع التعريف المبين في (1.1) والتي تشكل أيضا الغاز انطلاقا من اللاكتوز (والمنيتول) وكذلك الأندول انطلاقا من التريبتوفان في 24 سا، إما في 44 مْ ± 0,25 مْ أو 44,5 مْ ± 0,25 مْ.

2. المبدأ

تزرع عيّنات مأخوذة للتجربة مخففة أو غير مخففة في سلسلة من أنابيب اختبار تحتوي على وسط انتقائي لاكتوزي.

تفحص أنابيب الاختبار بعد التحضين لمدة 24 سا إلى 48 سا في 35 مْ أو في 37 مْ، إعادة الزرع لكل أنبوب اختبار أظهر تعكّر مع تشكّل غاز في وسط التأكيد الأكثر انتقاء والبحث عن إشيريشيا كولي المفترضة، يكون في وسط يمكن أن يثبت فيه تشكل الأندول.

تحضن أوساط التأكيد لمدة 48 ساعة على الأكثر في 35 مْ أو 37 مْ، للبحث عن بكتيريا القولون، وفي 44 مْ لمدة 24 ساعة على الأكثر للبحث عن بكتيريا القولون المتقبلة للحرارة وإشيريشيا كولي المفترضة.

يحسب بواسطة جداول إحصائية، العدد الأكثر احتمالا (ع.أ.إ) لبكتيريا القولون وبكتيريا القولون المتقبلة للحرارة وإشيريشيا كولي المفترضة، المحتمل وجودها في 100 ملل من العيّنة، انطلاقا من عدد الأنابيب التي أعطت نتائج تأكيد إيجابية.

3. المخففات وأوساط الزرع والكواشف :

3 . 1 المركبات الأساسية :

لتحضير أوساط الزرع والكواشف، تستعمل مكونات من نوعية متجانسة ومواد كيميائية ذات نوعية تحليلية، تتبع التعليمات المعطاة في "الجدول ب". للمعلومات عن الحفظ (أنظر منهج إحصاء الأجسام الدقيقة في وسط الزرع). من الممكن كذلك استعمال أوساط كاملة مجففة. تتبع إذا التعليمات المتعلقة بها حرفيا.

لتحضير الأوساط، يستعمل الماء المقطر أو ماء منزوع الأيونات، خال من المواد القادرة على منع نمو البكتيريا في شروط التجربة.

3 . 2 المخفف :

لتحضير تخفيفات العينة، يستعمل أحد المخففات المنصوح بها في "الجدول ب"، يحضر المخفف طبقا للتعليمات المعطاة في "الجدول ب".

3 . 3 أوساط العزل :

يستعمل وسط واحد أو أكثر من أوساط الزرع الآتية. التعليمات الخاصة بالتحضير معطاة في "الجدول ب".

3 . 3 . 1 مرق لاكتوزي

3 . 3 . 2 مرق ماك كونكي

3 . 3 . 3 وسط لاكتوزي محسن بالغلوتامات والفورميات

3 . 3 . 4 مرق باللوريل تريبتوز (لاكتوز)

3 . 4 أوساط التأكيد

يستعمل وسط واحد أو أكثر من الأوساط الآتية :

3 . 4 . 1 أوساط لتشكل الغاز

3 . 4 . 1 . 1 مرق (صفراوي) لاكتوزي بالأخضر اللامع

3 . 4 . 1 . 2 وسط (EC)

3 . 4 . 2 وسط لتشكل الأندول (ماء تريبتوني).

3 . 4 . 3 وسط لأنبوب اختبار وحيد لتشكل الغاز والأندول

مرق تريبتوزي بالمانيتول، باللوريل سلفات وبالتريبتوفان.

5 . 3 الكواشف

1 . 5 . 3 كاشف كوفاكس للبحث عن الأندول

2 . 5 . 3 كاشف الأكسيداز للبحث عن الأكسيداز

4 . التجهيزات

الأجهزة المتداولة في مخبر الميكروبيولوجيا، بما فيها :

1 . 4 فرن ذو هواء ساخن للتعقيم بالحرارة الجافة وجهاز التعقيم

إضافة إلى التجهيزات التي تستلم معقمة، يجب تعقيم الأواني الزجاجية وجميع الأجهزة الأخرى طبقا للتعليمات المعطاة في منهج إحصاء الأجسام الدقيقة في وسط الزرع.

2 . 4 جهاز التحضين أو الحمام المائي، يمكن ضبطه في 35 مْ ± 0,5 مْ أو 37 مْ ± 0,5 مْ.

3 . 4 جهاز التحضين أو الحمام المائي، يمكن ضبطه في 44 مْ ± 0,25 مْ أو 44,5 مْ ± 0,25 مْ.

4 . 4 جهاز قياس العامل الهيدروجيني (pH)

5 . اقتطاع العينة

تقتطع العينات وترسل إلى المخبر طبقا لمنهج إحصاء الأجسام الدقيقة في وسط الزرع.

6 . طريقة العمل

1 . 6 تحضير العينة وزرع الأوساط

لتحضير العينة والتخفيفات وزرع أوساط العزل بالعينات المأخوذة للتجربة، تتبع التعليمات المعطاة في منهج إحصاء الأجسام الدقيقة في وسط الزرع. تزرع أنابيب الاختبار التي تحتوي على وسط عزل ذي تركيز مضاعف، بالعينات المأخوذة للتجربة بأحجام 5 ملل أو أكثر.

2 . 6 تحضين الأنابيب :

تحتضن الأنابيب المزروعة في 35 مْ ± 0,5 مْ أو في 37 مْ ± 0,5 مْ لمدة 48 سا.

3 . 6 فحص أنابيب الاختبار :

يفحص الزرع في أنابيب الاختبار بعد التحضين لمدة 18 إلى 24 سا وتعتبر كتفاعلات إيجابية الأنابيب التي أظهرت تعكر ناتج عن تكاثر البكتيريا وتشكل الغاز في أجراس دورهام، كذلك تشكل حمض إذا كان وسط العزل يحتوي على مؤشر العامل الهيدروجيني (pH). تحضن من جديد أنابيب الاختبار التي لم تبدأ أيا من هذه التغيرات وتفحص من جديد بعد 48 سا للبحث عن تفاعل إيجابي.

4 . 6 اختبارات التأكيد :

تجدر الإشارة إلى أن التفاعلات الإيجابية في أنابيب الاختبار التي تحتوي على وسط العزل لا تدل إلاّ على وجود بكتيريا قولون مفترضة. من المهم إذا إجراء اختبارات التأكيد.

1 . 4 . 6 إعادة الزرع والتحضين والفحص

يعاد الزرع انطلاقا من كل أنبوب يحتوي على وسط العزل الذي أظهر نتيجة إيجابية في أنبوب واحد أو عدة أنابيب تحتوي على أوساط التأكيد (4.3) لإظهار تشكل الغاز والأندول.

الملاحظة الأولى : إذا استعمل مرق لاكتوزي الأقل منعا للعزل، ينصح بإعادة الزرع فوق أحد وسطي التأكيد الأكثر انتقاء [مرق صفراوي لاكتوزي بالأخضر اللامع أو مرق (EC)] للتأكيد.

1 . 1 . 4 . 6 بكتيريا القولون

لتأكيد وجود بكتيريا القولون، يحضن أنبوب الاختبار الذي يحتوي على مرق (صفراوي) لاكتوزي بالأخضر اللامع (3 . 4 . 1 . 1) في 35 مْ أو في 37 مْ ويكشف عن تشكل الغاز في 48 سا.

2 . 1 . 4 . 6 بكتيريا القولون المتقبلة للحرارة وإشيريشيا كولي المفترضة

لتأكيد وجود بكتيريا القولون المتقبلة للحرارة، يحضن أنبوب اختبار آخر يحتوي على وسط (EC) (3 . 4 . 1 . 2) في 44 مْ لمدة 24 سا ويكشف عن تشكل الغاز.

لتأكيد وجود إشيريشيا كولي مفترضة، يحضن أنبوب اختبار يحتوي على ماء تريبتوني (3 . 4 . 2) للكشف عن الأندول في 44 مْ لمدة 24 سا. ثم يضاف 0,2 ملل إلى 0,3 ملل من كاشف كوفاكس (3 . 5 . 1) في الأنبوب الذي يحتوي على ماء تريبتوني : يدل ظهور اللون الأحمر بعد المزج بعناية على وجود الأندول.

الملاحظة 2 : يسمح استعمال مرق تريبتوزي بالمانيتول، باللوريل سولفات والتريبتوفان، بإظهار تشكل الغاز والأندول من طرف إشيريشيا كولي.

الملاحظة 3 : يعتبر الكشف عن إشيريشيا كولي المفترضة دليلا كافيا لتلوث برازي. إلاّ أنه يمكن إنجاز تجارب مكملة لإشيريشيا كولي إذا اقتضى الأمر (5.6).

الملاحظة 4 : عند إعادة زرع المستعمرات فوق غشاء داخل أنابيب تحتوي على أوساط التأكيد، من الأحسن إعادة الزرع أيضا فوق علبة تحتوي على وسط مغذ هلامي لاجراء اختبار الأكسيداز.

5 . 6 اختبار الأكسيداز

تستطيع بعض البكتيريا الموجودة في الماء أن تكون لاعتبارات عديدة مطابقة لتعريف بكتيريا القولون، لكن لا يمكنها تشكيل الغاز انطلاقا من اللاكتوز إلا في درجات حرارة تقل عن 37 مْ. فهي تعطي إذا نتائج سلبية أثناء تجارب التأكيد الموحدة لبكتيريا القولون ووجودها في الماء غير معبر. لأن صنف الأيرومون الموجود طبيعيا في الماء يتفاعل فقط في درجة 37 مْ وأقل. من الضروري فقط إنجاز اختبار الأكسيداز بتحديد بكتيريا القولون.

1 . 5 . 6 ينجز اختبار الأكسيداز على مزارع نقية من البكتيريا بالعمل على تخمر اللاكتوز، مزروعة فوق وسط مغذ هلامي كالآتي :

– توضع قطرتان أو 3 قطرات من كاشف الأكسيداز محضر حديثا (3 . 5 . 2) فوق ورق الترشيح في علبة بتري،

– بواسطة عود زجاجي أو عود قطني أو حلقة من البلاتين (وليس من النيكل – كروم)، ينشر جزء من الزرع فوق ورق الترشيح المحضر (الملاحظة 4)،

– يعتبر ظهور لون أزرق بنفسجي داكن في خلال 10 ثوان كتفاعل إيجابي.

الملاحظة 5 : في كل مرة يستعمل فيها كاشف الأكسيداز، تنجز تجارب المراقبة بمزارع أجسام عضوية معروفة والتي تعطي تفاعلا إيجابيا (بسودوموناس أيروجينوزا) وكذلك مع زرع يعطي تفاعلا سلبيا (إشيريشيا كولي).

7 . التعبير من النتائج

انطلاقا من عدد الأنابيب التي تحتوي على وسط العزل التي أعطت تفاعلات إيجابية لتجارب التأكيد، يحسب بالاستناد إلى جداول الإحصاء الموجودة في منهج إحصاء الأجسام الدقيقة في وسط الزرع، العدد الأكثر احتمالا لبكتيريا القولون وبكتيريا القولون المتقبلة للحرارة وإشيريشيا كولي المفترضة الموجودة في 100 ملل من العينة.

الجدول أ

معلومات ميكروبيولوجية مكملة متعلقة بتحليل الماء للبحث عن الأجسام العضوية من مجموعة بكتيريا القولون

للتحليل الروتيني للماء، يمكن وصف مجموعة بكتيريا القولون عموما بالمصطلحات الميكروبيولوجية ولو لم تكن مصنفة كالآتي :

بكتيريا القولون عبارة عن بكتيريا على شكل عصيات، غرام سلبي، لا تشكل أبواغ، تعطي تفاعلا سلبيا مع الأكسيداز، تستطيع النمو في الشروط الهوائية وكذلك اللاهوائية بوجود الأملاح الصفراوية (أو مشتق ناشط له نفس خصائص منع النمو)، وأيضا قادرة على إحداث تخمر اللاكتوز (والمانيتول) مع تشكيل حمض، غاز وألدهيد في 48 ساعة عندما تحضن في درجة حرارة محصورة بين 35 مْ و37 مْ.

بكتيريا القولون المتقبلة للحرارة عبارة عن بكتيريا القولون لها نفس الخصائص البيولوجية والتخمر عندما يتم حضنها في درجة حرارة 44 مْ و44,5 مْ.

إشيريشيا كولي المفترضة عبارة عن بكتيريا قولون متقبلة للحرارة قادرة كذلك على تشكيل الأندول انطلاقا من التريبتوفان.

يمكن اعتبار إشيريشيا كولي المفترضة هي الأشيريشيا كولي التي تعطي أيضا تفاعلا إيجابيا أثناء التجارب مع أحمر الميثيل وتستطيع نزع الكربوكسيل من حمض (L – غلوتاميك)، لكنها غير قادرة على تشكيل الأستيل مثيل كربينول، تستعمل السيترات كمصدر وحيد للكربون أو النمو في مرق بسيانور البوتاسيوم (KCN).

الجدول ب

أوساط الزرع والكواشف والمخففات

وسط العزل

مرق لاكتوزي

وسط ذو تركيز مضاعف

ببتون	10 غ
لاكتوز	10 غ
مستخلص اللحم	6 غ
ماء مقطر	1000 ملل

– تذوب المكونات في الماء المغلى.

– إذا اقتضى الأمر يضبط العامل الهيدروجيني (pH) بحيث يصبح بعد التعقيم 6,9 ± 0,2. يحضر وسط ذو تركيز بسيط بتخفيف الوسط ذي التركيز المضاعف بحجم مساو من الماء المقطر.

مرق ماك كونكى

وسط ذو تركيز مضاعف

أملاح صفراوية	10 غ
ببتون	40 غ
لاكتوز	20 غ
كلورور الصوديوم	10 غ
أحمر أرجواني البروموكريزول [محلول إيثانولي لـ 1 % (ح/ح)]	2 ملل
ماء مقطر	1000 ملل

– يذوب في الماء وبالتسخين الببتون وكلورور الصوديوم والأملاح الصفراوية وتحفظ في درجة حرارة 4 مْ ليلة كاملة.

يرشح بعدما يصبح الخليط باردا، يضاف اللاكتوز ويذوب.

– يضبط العامل الهيدروجيني (pH) في 7,4 ± 0,2.

ويضاف أحمر أرجواني البروموكريزول ضروريا.

وسط ذو تركيز عادي

– يحضر الوسط ذو التركيز العادي بتخفيف الوسط ذي التركيز المضاعف بنفس الحجم من الماء المقطر أو يحضر مباشرة بتقسيم تركيز المكونات إلى اثنين،

– يوزع الوسط ذو التركيز العادي على أحجام 5 ملل والوسط ذو التركيز المضاعف على أحجام 10 ملل أو 50 ملل في أنابيب الاختبار أو في قارورات تحتوي على جرس دورهام. توضع في جهاز التعقيم في درجة حرارة 115 مْ لمدة 10 دقائق.

وسط لاكتوزي محسن بالغلوتامات والفورميات

وسط ذو تركيز مضاعف

لاكتوز	20 غ
ملح الصوديوم لحمض (+) L غلوتاميك	12,7 غ
أحادي الكلوريدات لـ (+) L أرجنين	0,048 غ
حمض (–) L أسبارتيك	0,04 غ
(–) L سيستين	0,04 غ
فورميات الصوديوم	0,5 غ
أحادي هيدرو جينو فوسفات البوتاسيوم	1,8 غ
كلورور الأمونيوم	5 غ
سولفات المغنزيوم ($MgSO_4,7\ H_2O$)	0,02 غ
كلورور الكالسيوم ($CaCl_2,2\ H_2O$)	0,02 غ
بلورات سترات الحديد (III)	0,02 غ
تيامين (هيدروكلورور الأنورين)	0,002 غ
حمض النيكوتينيك	0,002 غ
حمض البانتوتنيك	0,002 غ
أحمر أرجواني البروموكريزول (محلول لـ 1 % (ك/ك) في الإيثانول	2 ملل
ماء مقطر، يكمل حتى	1000 ملل

من الأنسب أن يحضر الوسط بكميات تقدر بـ 10 لترات أو أكثر. إذا لم يوزع في أنابيب الاختبار مباشرة، يستحسن ألاّ يدمج معها اللاكتوز والتيامين وتضاف فقط قبل الاستعمال. من السهل إضافة بعض المكونات على شكل محاليل متفرقة محضرة كالآتي :

المحلول الأول

أحادي الكلورات لـ (+) L أرجنين	0,4 غ
حمض (–) L أسبارتيك	0,48 غ
ماء مقطر	50 ملل

يسخن للتذويب.

المحلول 2

(–) L سيستين	0,4 غ
هيدروكسيد الصوديوم (5 مول/ل)	10 ملل
ماء مقطر	90 ملل

يسخن للتذويب.

المحلول 3

حمض النيكوتينيك	0,02 غ
حمض البانتوتينيك	0,02 غ
ماء مقطر	5 ملل

يذوب في البرودة.

المحلول 4

بلورات سيترات الحديد (III)	0,2 غ
ماء مقطر	10 ملل

يسخن للتذويب.

المحلول 5

كلورور الكالسيوم ($CaCI_2 2H_2O$)	5 غ
ماء مقطر	100 ملل
حمض الكلوردريك المركز	0,1 ملل

يذوب في البرودة ويعقم في درجة حرارة 121 مْ لمدة 20 دقيقة. يحفظ كمحلول أم.

المحلول 6

محلول التامين المعقم بـ 0,1 % في الماء المقطر.

من الأحسن تحضير هذا المحلول بإضافة محتوى قارورة صغيرة (100 ملغ) بطريقة مطهرة لـ 99 ملل من الماء المقطر معقم. يحفظ هذا المحلول في 4 مْ مع إلغاء استعماله في أجل لا يتعدى 6 أسابيع.

لتحضير 10 لترات من وسط ذي تركيز مضاعف، تذوب كميات مناسبة من ملح الصوديوم، حمض (+ L) غلوتاميك، فورميات الصوديوم، أحادي هيدروجينو فوسفات البوتاسيوم، كلورور الأمونيوم وسولفات المغنزيوم في 9 لتر من الماء المقطر الساخن. ثم تضاف جميع المحاليل 1 و 2 و3 و4 و4 ملل من المحلول 5. إذا اقتضى الأمر، يضبط العامل الهيدروجيني (pH) ليصبح 6,8 أو أكثر، بحيث يكون العامل الهيدروجيني (pH) النهائي بعد التعقيم 6,7. إذا استعملت نفس الأجهزة ونفس مناهج التعقيم، يجب أن تحدث نفس التغيرات للعامل الهيدروجيني (pH) خلال عملية التعقيم. يمكن أن تكون التجارب التمهيدية ضرورية لجعل الهيدروجيني (pH) صحيح قبل التعقيم.

بعد ضبط العامل الهيدروجيني (pH)، يضاف 20 ملل من محلول إثانولي يحتوي على 1 % من أحمر أرجوان البروموكريزول. يكمل الحجم للحصول على حجم نهائي يساوي 10 لترات. يحتاج ذلك إلى حوالي 810 ملل من الماء المقطر. إذا لم يستعمل الوسط الكامل مباشرة، يسكب في قارورات سعتها 500 ملل ويوضع في جهاز التعقيم في درجة حرارة 115 مْ لمدة 10 دقائق. للاستعمال، تضاف كمية من اللاكتوز ومحلول التيامين (محلول 6) إذا اقتضى الأمر، يترك ليذوب، ثم يوزع بأحجام 10 ملل و50 ملل. يجب أن يحتوي كل أنبوب اختبار أوقارورة على جرس دورهام. من المهم التأكد أنه بعد المرور بجهاز التعقيم وقبل الاستعمال، يكون جرس دورهام مملوءا كليا بالوسط. في الحالة العكسية، من المحتمل الحصول على نتيجة إيجابية خاطئة لتشكل الغاز. تعقم في درجة حرارة 115 مْ لمدة 10 دقائق أو توضع في جهاز التحضين في 100 مْ لمدة 30 دقيقة لمدة 3 أيام متتالية.

وسط ذو تركيز بسيط

– يحضر وسط ذو تركيز بسيط بتخفيف الوسط ذي التركيز المضاعف مع حجم مساو من الماء المقطر ويوزع بأحجام تقدر بـ 5 ملل داخل أنابيب تحتوي على جرس دورهام.

– تعقم في 115 مْ لمدة 10 دقائق أو توضع في جهاز التحضين في 100 مْ لمدة 30 دقيقة لمدة 3 أيام متتالية.

الملاحظة 6 : يمكن أن تعطي إضافة حلامة الكازيين لـ 0,1 % (ك/ك) خالية من الفيتامين نتائج أسرع.

مرق تريبتوزي باللوريل سولفات

وسط ذو تركيز مضاعف

تريبتوز	40 غ
لاكتوز	10 غ
كلورور الصوديوم	10 غ
أحادي هيدروجينو فوسفات البوتاسيوم	5,5 غ
ثنائي هيدروجينو فوسفات البوتاسيوم	5,5 غ
لوريل سلفات الصديوم ذو نقاوة عالية	0,2 غ
ماء مقطر	1000 ملل

– يضاف التريبتوز، كلورور الصوديوم، اللاكتوز والفوسفات للماء ويسخن للتذويب.

– يضاف لوريل سولفات الصوديوم ويخلط برفق لتجنب تشكل رغوة.

– يضبط العامل الهيدروجيني (pH) في 6,8 ± 0,2.

– يحضر وسط ذو تركيز بسيط بتخفيف الوسط ذي التركيز المضاعف بحجم مساو من الماء المقطر.

– يوزع الوسط ذو التركيز البسيط بأحجام 5 ملل والوسط ذو التركيز المضاعف بأحجام 10 ملل و50 ملل. يجب أن يحتوي كل أنبوب اختبار أو قارورة على جرس دورهام.

– يوضع في جهاز التعقيم في درجة حرارة 115 مْ لمدة 10 دقائق.

أوساط التأكيد

مرق (صفراوي) لاكتوزي بالأخضر اللامع (لتشكل الغاز)

ببتون	10 غ
لاكتوز	10 غ
صفراء البقر مجففة	20 غ
أخضر لامع [محلول لـ 0,1 % (ك/ك)]	13ملل
ماء مقطر، يكمل حتى	1000 ملل

– تذوب الببتون في 500 ملل من الماء المقطر.

– تضاف 20 غ من صفراء البقر المجففة محللة في 200 ملل من الماء المقطر. يجب أن يكون العامل الهيدروجيني (pH) لهذا المحلول محصور بين 7,0 و7,5.

– يكمل الحجم بإضافة الماء المقطر بتقريب 975 ملل.

– يضاف اللاكتوز ويضبط العامل الهيدروجيني (pH) في 7,4.

– يضاف محلول الأخضر اللامع ويكمل الحجم إلى 1000 ملل بإضافة الماء المقطر.

– توزع أحجام بـ 5 ملل في أنابيب اختبار تحتوي على أجراس دورهام مقلوبة وتوضع داخل جهاز التعقيم في درجة حرارة 115 مْ لمدة 10 دقائق.

وسط (EC) (لتشكل الغاز)

تريبتوز أو تريبتيكاز	20 غ
لاكتوز	5 غ
خليط الأملاح الصفراوية	
أو أملاح صفراوية رقم 3	1,5 غ
أحادي هيدروجينو فوسفات البوتاسيوم	4 غ
ثنائي هيدروجينو فوسفات البوتاسيوم	1,5 غ
كلورور الصوديوم	5 غ
ماء مقطر	1000 ملل

قبل التعقيم يوزع في أنابيب اختبار بحيث يغطي الوسط على الأقل جزءا من جرس دورهام بعد التعقيم.

يجب أن يساوي العامل الهيدروجيني (pH) بعد التعقيم 6,9.

ماء تريبتوني (لتفاعل الأندول)

يعطي بعض الببتون نتائج مرضية في التجارب التي تجرى 35 مْ أو37 مْ وغير مرضية في تجربة الأندول في 44 مْ. ثبت أن التربتون يعطي نتائج مرضية لذا ينصح به.

تريبتون	20 غ
كلورور الصوديوم	5 غ
ماء مقطر	1000 ملل

– تذوب المكونات في الماء ويضبط العامل الهيدروجيني (pH) في 7,5.

– توزع بأحجام 5 ملل وتوضع في جهاز التعقيم في درجة حرارة 115 مْ لمدة 10 دقائق.

الملاحظة 7 : إن إضافة التريبتوفان D أو DL بـ 0,1 % (ك/ك) يمكن أن يحسن فعالية الوسط.

مرق تريبتوزي بالمانيتول، باللوريل سلفات وبالتريبتوفان

(قارورة وحيدة لتشكل الغاز والأندول)

تريبتوز	20 غ
مانيتول	5 غ
كلورور الصوديوم	5 غ
أحادي هيدروجينو فوسفات البوتاسيوم	2,75 غ
ثنائي هيدروجينو فوسفات البوتاسيوم	2,75 غ
لوريل سلفات الصوديوم	0,1 غ
تريبتوفان (–) L	0,2 غ
ماء مقطر	1000 ملل

– يضاف إلى الماء التريبتوز وكلورور الصوديوم والمانيتول والفوسفات والتريبتوفان ويسخن للتذويب.

– يضاف لوريل سلفات الصوديوم ويخلط برفق لاجتناب تشكل رغوة.

– يضبط العامل الهيدروجيني (pH) في 6,8 ± 0,2.

– توزع بأحجام تساوي 5 ملل في أنابيب تحتوي على جرس دورهام.

– توضع في جهاز التعقيم في درجة حرارة 115 مْ لمدة 10 دقائق.

الكواشف

كاشف كوفاكس للأندول

p – ثنائي المثيل أمينو بنزلدهيد	5 غ
كحول الأميليك	75 ملل
حمض الكلوريدريك (p = 1,18 غ/ملل)	25 ملل

– يذوب الألدهيد في كحول الأميليك.

– يضاف الحمض المركز برفق. يوضع بعيدا عن الضوء في درجة حرارة 4 مْ.

الملاحظة 8 : يجب أن يتغير لون الكاشف من الأصفر الفاتح إلى الأسمر الفاتح، لقد اتضح أن بعض عينات كحول الأمليك غير مرضية وتعطي لونا داكنا مع الألدهيد.

كاشف الأكسيداز

ثنائي كلورات p – فنيلان ديامين	0,1 غ
ماء مقطر	10 ملل

لا يحفظ هذا الكاشف، لذا يجب أن يحضر بكميات صغيرة قبل كل استعمال.

المخففات

مخفف بالببتون (0,1 %)

ببتون	1 غ
ماء مقطر	1000 ملل

– تذوب الببتون في حوالي 950 ملل من الماء.

– يضبط العامل الهيدروجيني (pH) بمحلول هيدروكسيد الصوديوم أو بمحلول حمض الكلوريديك (1 مول/ل) ليصبح بعد التعقيم 7,0 ± 0,1.

– يكمل الحجم بالماء للحصول على 1000 ملل، ويوزع بأحجام مستعملة وتوضع في جهاز التعقيم في درجة حرارة 121 مْ ± 1 مْ لمدة 15 دقيقة.

محلول ملحي ببتوني

ببتون	1 غ
كلورور الصوديوم	8,5 غ
ماء مقطر	1000 ملل

– تذوب المكونات في حوالي 950 ملل من الماء موضوع للغليان.

– يضبط العامل الهيدروجيني (pH) بهيدروكسيد الصوديوم أو محلول حمض الكلوريديريك (1 مول/ل) ليصبح بعد التعقيم 7,0 ± 0,1.

– يكمل الحجم بالماء للحصول على 1000 ملل، ويوزع على أحجام مستعملة ويوضع في جهاز التعقيم في درجة حرارة 121 مْ ± 1 مْ لمدة 15 دقيقة.

محلول رنجار (مخفف إلى الربع)

كلورور الصوديوم	2,25 غ
كلورور البوتاسيوم	0,105 غ
كلورور الكالسيوم (خال من الماء)	0,12 غ
هيدروجينو كربونات الصوديوم	0,05 غ
ماء مقطر	1000 ملل

– تذوب المكونات وتوزع بأحجام مستعملة.

– تعقم في جهاز التعقيم في درجة حرارة 121 مْ ± 1 مْ لمدة 15 دقيقة. يجب أن يساوي العامل الهيدروجيني (pH) النهائي 7,0 ± 0,1.

محلول مثبت بالفوسفات

ثنائي هيدروجينو فوسفات البوتاسيوم	42,5 ملغ
كلورور المغنزيوم	190 ملغ
ماء مقطر	1000 ملل

التحضير

أ) محلول الفوسفات

– تذوب 34 غ من الفوسفات في 500 ملل من الماء المقطر.

– يضبط العامل الهيدروجيني (pH) في 7,2 + 0,5 بمحلول هيدروكسيد الصوديوم لـ 1 مول / ل ويكمل الحجم بالماء المقطر حتى 1000 ملل.

ب) محلول كلورور المغنزيوم

يذوب 38 غ من كلورور المغنزيوم في 1000 ملل من الماء المقطر.

المحلول النهائي

للاستعمال، يضاف 1,25 ملل من محلول الفوسفات (أ) و5,0 ملل من محلول كلورور المغنزيوم (ب) لـ 1000 ملل من الماء المقطر. يوزع بأحجام مستعملة ويعقم في جهاز التعقيم في درجة حرارة 121 مْ + 1 مْ لمدة 15 دقيقة. يجب أن يساوي العامل الهيدروجيني (pH) النهائي في 7,0 + 0,1.

هلام مغذي

مستخلص اللحم	1,0 غ
ببتون	1,0 غ
كلورور الصوديوم	5 غ
هلام	15 غ

– تسكب المكونات في الماء وتسخن للتذويب.

– يضبط العامل الهيدروجيني (pH) في 8,2 بواسطة هيدروكسيد الصوديوم (1 مول/ل) ويغلى لمدة 10 دقائق.

– يصفى بالترشيح ويضبط العامل الهيدروجيني (pH) 7,2 + 7,4.

– يوزع في قارورات سعتها 100 ملل وتنقل إلى جهاز التعقيم مضبوط في درجة حرارة 121 مْ + 1 مْ لمدة 15 دقيقة.

وزارة التجارة

قرار مؤرخ في 23 رجب عام 1433 الموافق 13 يونيو سنة 2012، يجعل منهج البحث وإحصاء أبواغ الأجسام الدقيقة اللاهوائية المرجعة للسولفيت (كلوستريديا) إجباريا.

إن وزير التجارة،

– بمقتضى القانون رقم 05 – 12 المؤرخ في28 جمادى الثانية عام 1426 الموافق 4 غشت سنة 2005 والمتعلق بالمياه، المعدّل والمتمّم،

– وبمقتضى المرسوم الرئاسي رقم 10 – 149 المؤرخ في 14 جمادى الثانية عام 1431 الموافق 28 مايو سنة 2010 والمتضمن تعيين أعضاء الحكومة،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 90 – 39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990 والمتعلق 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 – 465 المؤرخ في 4 ذي القعدة عام 1426 الموافق 6 ديسمبر سنة 2005 والمتعلق بتقييم المطابقة،

– وبمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرخ في 22 ذي الحجة عام 1426 الموافق22 يناير سنة 2006 الذي يحدد نسب العناصر التي تحتويها المياه المعدنية ومياه المنبع وكذا شروط معالجتها أو الإضافات المسموح بها، المعدّل والمتمّم،

– وبمقتضى القرار المؤرخ في 14 صفر عام 1415 الموافق 23 يوليو سنة 1994 والمتعلق بالمواصفات الميكروبيولوجية لبعض المواد الغذائية، المعدّل والمتمّم،

يقرر ما يأتي :

المادة الأولى : تطبيقا لأحكام المادة 19 من المرسوم التنفيذي رقم 90 – 39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990، المعدّل والمتمّم والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج البحث وإحصاء أبواغ الأجسام الدقيقة اللاهوائية المرجعة للسولفيت إجباريا.

المادة 2 : من أجل البحث وإحصاء أبواغ الأجسام الدقيقة اللاهوائية المرجعة للسولفيت، فإن مخابر مراقبة الجودة وقمع الغش والمخابر المعتمدة لهذا الغرض ملزمة باستعمال المنهج المبين في الملحق المرفق بهذا القرار.

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 23 رجب عام 1433 الموافق 13 يونيو سنة 2012.

مصطفى بن بادة

الملحق

منهج البحث وإحصاء أبواغ الأجسام الدقيقة اللاهوائية المرجعة للسولفيت (كلوستريديا)

يحدد هذا المنهج، البحث وإحصاء أبواغ الأجسام الدقيقة اللاهوائية المرجعة للسولفيت (كلوستريديا) بواسطة الاغتناء في وسط سائل.

يطبق هذا المنهج، على جميع أنواع المياه بما فيها المياه العكرة.

1 . تعريف

لمتطلبات هذا المنهج، يطبق التعريف الآتي :

كلوستريديا : هي أجسام دقيقة لا هوائية، تشكل أبواغا ومرجعة للسولفيت وتنتمي إلى عائلة البكتيريا عصوية الشكل (Bacillacées) ونوع كلوستريديوم (Clostridium).

2 . المبدأ

يمر البحث عن أبواغ الأجسام الدقيقة اللاهوائية، المرجعة للسولفيت (كلوستريديا) في عينة من الماء ذات حجم معين، على المراحل الآتية :

1 . 2 انتقاء الأبواغ

يتم انتقاء الأبواغ في العينة عن طريق التسخين لمدة زمنية كافية لإتلاف البكتيريات الجذرية.

2 . 2 الزرع عن طريق الاغتناء

يتم البحث وحساب أبواغ الأجسام الدقيقة اللاهوائية المرجعة للسولفيت عن طريق زرع أحجام من العينة في أوساط سائلة للاغتناء يتبعها تحضين في شروط لاهوائية في 37°م ± 1°م لمدة 44 ± 4 ساعات.

3 . أوساط الزرع والكواشف

1 . 3 المواد الأساسية

لتحسين تكرارية النتائج، ينصح باستعمال مركبات أساسية مجففة أو أوساط كاملة مجففة لتحضير المخففات وأوساط الزرع. وبنفس الطريقة يمكن استعمال كواشف جاهزة للاستعمال. يجب اتباع تعليمات الصانع بدقة.

كما يجب أن تكون المواد الكيميائية المستعملة لتحضير أوساط الزرع والكواشف ذات نوعية تحليلية معروفة.

يجب أن يكون الماء المستعمل ماء مقطرا أو ماء خاليا من المعادن والمواد التي تمنع نمو الأجسام الدقيقة وذلك في ظروف التجربة.

يجب أن تجري قياسات العامل الهيدروجيني (pH) وجعله في درجة حرارة 25°م.

إذا لم تستعمل أوساط الزرع المحضرة فورا فيجب حفظها في الظلام في 4°م لمدة شهر واحد على الأكثر، إلا في الحالات المخالفة.

2 . 3 أوساط الزرع المخفف

1 . 2 . 3 المخفف

يستعمل مخفف واحد من المخففات المذكورة في منهج الخطوط التوجيهية العامة لإحصاء الأجسام الدقيقة في وسط الزرع.

2 . 2 . 3 وسط مدعم خاص لـ كلوستريديا (DRCM)

1 . 2 . 2 . 3 الوسط الأساسي ذو تركيز بسيط

التركيب

لحم مهضوم في بيبتون تريبتيك..... 10 غ
مستخلص لحم..... 10 غ
مستخلص الخميرة..... 1,5 غ
النشاء..... 1 غ
أسيتان الصوديوم مميه..... 5 غ
غلوكوز..... 1 غ
كلورور L – سيستين..... 0,5 غ
ماء..... 1000 ملل

التحضير :

يخلط البيبتون، مستخلص اللحم وأسيتات الصوديوم ومستخلص الخميرة بـ 800 ملل من الماء.

يحضر محلول النشاء بـ 200 ملل من الماء المقطر الباقية على الطريقة الآتية :

يخلط النشاء مع كمية قليلة من الماء البارد ليصبح عجينة. يسخن الماء الباقي حتى يبدأ في الغليان ثم يدخل ببطء في العجينة مع الرج باستمرار.

يضاف حينئذ محلول النشاء للخليط الأول ويسخن إلى غاية بلوغ نقطة الغليان وذوبان الخليط.

في النهاية، يضاف الغلوكوز وكلوروهيدرات L – سيستين، يذوب.

يعدل العامل الهيدروجيني بجعله بين 7,1 إلى 7,2 بواسطة محلول هيدروكسيد الصوديوم لـ 1 مول/ل.

تنقل كمية تقدر بـ 25 ملل من الوسط إلى قارورات ذات أغطية مغلقة بإحكام سعتها 25 ملل. تعقم لمدة 15 دقيقة بواسطة جهاز التعقيم في 121°م ± 1°م.

2 . 2 . 2 . 3 وسط أساسي ذو تركيز مضاعف

يحضر الوسط الأساسي ذو التركيز المضاعف كما في (3 . 2 . 2 . 1) لكن بإنقاص حجم الماء المقطر إلى النصف.

تنقل منه كميات، تقدر بـ 10 ملل و50 ملل على التوالي من الوسط إلى قارورات ذات أغطية مغلقة بإحكام ذات سعات تقدر بـ 25 ملل و100 ملل على التوالي.

تعقم بجهاز التعقيم لمدة 15 دقيقة في 121°م ± 1°م.

3 . 2 . 3 سولفيت الصوديوم ($Na_2S_2O_3$)، محلول في 4 % (ك/ك).

يذوب 4 غ من سولفيت الصوديوم المجفف في 100 ملل من الماء. يعقم عن طريق الترشيح.

يحفظ بين 2 و5°م

ينصح بتحضير محلول جديد كل 14 يوما.

4 . 2 . 3 سيترات الحديد (III) ($C_6H_5O_7Fe$)، محلول في 7 % (ك/ك).

يذوب 7 غ من سيترات الحديد (III) في 100 ملل من الماء. يعقم عن طريق الترشيح.

يحفظ بين 2 و5°م

ينصح بتحضير محلول جديد كل 14 يوما.

5 . 2 . 3 وسط كامل

1 . 5 . 2 . 3 تخلط أحجام متساوية كمحاليل سولفيت الصوديوم (3 . 2 . 3) وسيترات الحديد (III) (3 . 2 . 4) في يوم القيام بالتحليل.

2 . 5 . 2 . 3 يضاف 0,5 ملل من الخليط (3 . 2 . 5 . 1) في كل قارورة من الوسط ذي تركيز بسيط (3 . 2 . 2 . 1) المسخن والمبرد.

3 . 5 . 2 . 3 يضاف 0,4 ملل من الخليط (3 . 2 . 5 . 1) لكل حجم من 10 ملل و2 ملل للخليط لكل حجم من 50 ملل من الوسط ذي تركيز مضاعف. تعالج هذه الأحجام بنفس الطريقة.

4 . التجهيزات والأدوات الزجاجية للمخبر

المواد الزجاجية والأجهزة المستعملة عادة في مخبر البكتيريولوجيا هي :

1 . 4 قارورات أو حوجلات مغلقة بإحكام من الزجاج أو من (Borosilicaté) سعتها 200، 100، 25 ملل.

2 . 4 ماصات حجمية، سعتها 10 ملل و1 ملل.

3 . 4 حمامات مائية، مراقبة حراريا.

4 . 4 أنابيب اختبار، قطرها 150 ملم x 13 ملم.

5 . 4 خيط الحديد.

6 . 4 أجهزة التحضين مضبوطة في 37°م ± 1° م.

5 . اقتطاع العينات

يجري اقتطاع العينات في شروط تجريبية مناسبة.

6 . طريقة العمل

1 . 6 معالجة العينات

فيما يخص المنهج المتبع لحفظ ومعالجة العينة، يستند إلى منهج إحصاء الأجسام الدقيقة في وسط الزرع.

2 . 6 انتقاء الأبواغ (التقنية)

قبل إجراء التجربة، يجب أن تسخن عينة الماء في حمام مائي 75° م ± 5° م لمدة 15 دقيقة انطلاقا من لحظة بلوغ درجة الحرارة هذه. في المقابل يجب استعمال كشاهد قارورة مماثلة تحتوي على حجم من الماء مماثل لحجم العينة للتجربة للتحقق من الزمن اللازم للتسخين. يمكن تسجيل درجة حرارة الماء الموجودة في القارورة الشاهد بطريقة مستمرة بواسطة جهاز قياس درجة الحرارة.

3 . 6 زرع التطعيم والتحضين

يضاف 50 ملل من العينة (6 . 2) إلى قارورة ذات غطاء مغلق بإحكام تحتوي على 50 ملل من وسط ذي تركيز مضاعف (3. 2 . 5 . 3).

يضاف 10 ملل من العينة (6 . 2) إلى سلسلة تتكون من 5 قارورات ذات أغطية مغلقة بإحكام سعتها 25 ملل تحتوي على 25 ملل من وسط ذي تركيز مضاعف (3 . 2 . 5 . 3).

يضاف 1 ملل من العينة (6 . 2) إلى سلسلة تتكون من 5 قارورات ذات أغطية مغلقة بإحكام سعتها 25 ملل وتحتوي على 25 ملل من وسط ذي تركيز بسيط (3. 2 . 5 . 2).

اذا اقتضى الأمر، يضاف 1 ملل من التخفيف 10/1 من العينة (6 . 2) إلى سلسلة تتكون من 5 قارورات ذات أغطية مغلقة بإحكام تحتوي على 25 ملل من وسط ذي تركيز بسيط (3 . 2 . 5 . 2).

لإجراء فحص نوعي لـ 100 ملل من ماء صالح للشرب أو ماء معبأ بدون إجراء الحساب بطريقة (ع.أ.إ)، تستعمل حوجلة سعتها 200 ملل تحتوي على خليط من 100 ملل من وسط ذي تركيز مضاعف (3 . 2 . 5 . 3) و100 ملل من العينة (6 . 2).

اذا اقتضى الأمر، تملأ جميع القارورات بوسط ذي تركيز بسيط (3 . 2 . 5 . 2) بطريقة يصل فيها السائل إلى العنق بعد التأكد من عدم وجود أي حجم صغير من الهواء. تغلق القارورات بإحكام وتحضن في وسط لا هوائي.

تحضن القارورات 37° م ± 1° م لمدة 44 ± 4 ساعات.

ملاحظة : يمكن أن تنفجر الأحجام الكبيرة التي تحتوي على مرق الزرع الموجودة في قارورات زجاجية مغلقة بإحكام بسبب تشكل الغاز. كما أن استعمال خيط من الحديد مسخن حتى الاحمرار ووضعه في الوسط قبل التحضين يمكن أن يخلق وسطا لا هوائيا.

4 . 6 التفسير

تعتبر قارورات موجبة إذا لوحظ فيها اسوداد ناتج عن ارجاع السولفيت وترسب سولفير الحديد (II).

7 . التعبير عن النتائج

يعبر عن النتائج حسب منهج إحصاء الأجسام الدقيقة في وسط الزرع.

قرار مؤرخ في 21 محرّم عام 1434 الموافق 5 ديسمبر سنة 2012، يجعل منهج كشف وإحصاء بسودوموناس أيروجينوزا في الماء بالترشيح فوق الغشاء، إجباريا.

إن وزير التجارة،

– بمقتضى القانون رقم 05 – 12 المؤرخ في 28 جمادى الثانية عام 1426 الموافق 4 غشت سنة 2005 والمتعلق بالمياه، المعدّل والمتمّم،

– وبمقتضى المرسوم الرئاسي رقم 12 – 326 المؤرّخ في 17 شوّال عام 1433 الموافق 4 سبتمبر سنة 2012 والمتضمّن تعيين أعضاء الحكومة،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 90 – 39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990 والمتعلق 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 – 465 المؤرخ في 4 ذي القعدة عام 1426 الموافق 6 ديسمبر سنة 2005 و المتعلق بتقييم المطابقة،

– وبمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرخ في 22 ذي الحجة عام 1426 الموافق 22 يناير سنة 2006 الذي يحدد نسب العناصر التي تحتويها المياه المعدنية الطبيعية ومياه المنبع وكذا شروط معالجتها أو الإضافات المسموح بها، المعدّل والمتمّم،

– وبمقتضى القرار المؤرخ في 14 صفر عام 1415 الموافق 23 يوليو سنة 1994 والمتعلق بالمواصفات الميكروبيولوجية لبعض المواد الغذائية، المعدل والمتمّم،

يقرر ما يأتي :

المادة الأولى : تطبيقا لأحكام المادة 19 من المرسوم التنفيذي رقم 90 – 39 المؤرخ في 3 رجب عام1410 الموافق 30 يناير سنة 1990، المعدّل والمتمّم والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج كشف وإحصاء بسودوموناس أيروجينوزا في الماء بالترشيح فوق الغشاء، إجباريا.

المادة 2 : من أجل كشف وإحصاء بسودوموناس أيروجينوزا في الماء بالترشيح فوق الغشاء، فإن مخابر مراقبة الجودة وقمع الغش وتلك المعتمدة لهذا الغرض، ملزمة باستعمال المنهج المبين في الملحق المرفق بهذا القرار.

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 21 محرّم عام 1434 الموافق 5 ديسمبر سنة 2012.

مصطفى بن بادة

الملحق

منهج كشف وإحصاء بسودوموناس أيروجينوزا في الماء بالترشيح فوق الغشاء

يصف هذا المنهج تقنية عزل وإحصاء بسودوموناس أيروجينوزا في عينات الماء المعبأ، بالترشيح فوق الغشاء.

يمكن أن يطبق هذا المنهج على أنواع أخرى من المياه تحتوي على مجموعة قليلة من الكائنات الحية الدقيقة المتداخلة، على سبيل المثال مياه المسبح والمياه الموجهة للاستهلاك البشري.

1. التعاريف

لمتطلبات هذا المنهج، يطبق التعريف الآتي :

1 - 1 بسودوموناس أيروجينوزا

هي أجسام دقيقة تنمو في أوساط انتقائية تحتوي على الستريميد وتشكل البيوسيانين، أو أجسام دقيقة تنمو في أوساط انتقائية تحتوي على الستريميد وأكسيداز إيجابية، وتعطي استشعاعا تحت تأثير الأشعة الفوق البنفسجية (360 ± 20) نانومتر وقادرة كذلك على تشكيل الأمونياك انطلاقا من الأستميد.

2. المبدأ

2 . 1 الترشيح

يرشح حجم مقدر من عينة الماء أو محلول مخفف من هذه العينة فوق غشاء الترشيح قطر مساماته 0,45 ميكرومتر.

ويوضع غشاء الترشيح فوق الوسط الانتقائي ويحضن في الشروط المحددة للوسط.

2 . 2 الإحصاء

عدد بسودوموناس أيروجينوزا المفترضة يتحصل عليه بإحصاء عدد المستعمرات المميزة المتشكلة فوق غشاء الترشيح بعد التحضين وتعتبر كـ "بسودوموناس أيروجينوزا" مؤكدة المستعمرات التي شكلت البيوسيانين إلا أن المستعمرات التي شكلت استشعاعا أو تلك التي لها لون أسمر محمر تتطلب تأكيدا.

3 . 2 التأكيد

يعاد زرع المستعمرات المراد تأكيدها انطلاقا من الغشاء فوق علب تحتوي على وسط هلامي مغذ (الملاحظة ب). بعد التحضين يجرى اختبار البحث عن الأكسيداز على المزارع التي لم تظهر في البداية استشعاعا، ثم يجرى اختبار تشكيل الفليورسين على مزارع أكسيداز إيجابية وتفحص للكشف عن قدرتها المحتملة على تشكيل الأمونياك انطلاقا من الأستميد.

تفحص المزارع التي شكلت في البداية استشعاعا للكشف عن قدرتها المحتملة على تشكيل الأمونياك انطلاقا من الأستميد.

3. المخففات وأوساط الزرع والكواشف :

عدا تحديدات مخالفة، تستعمل لتحضير أوساط الزرع والمخففات، كواشف ذات نوعية تحليلة. يحضر الوسط كما يأتي وتضاف عوامل الانتقاء بالتراكيز المعطاة أو تستعمل الأوساط والكواشف المتوفرة في الأسواق ومحضرة طبقا لتعليمات المصنع. تحضر الأوساط والكواشف باستعمال ماء مقطر أو ماء ذي نقاوة مكافئة وخال من المواد القادرة على منع التكاثر في شروط التجربة.

1 . 3 وسط الزرع

لتحديد بسودوموناس أيروجينوزا، يستعمل الوسط الآتي :

1 . 1 . 3 أساس هلامي لبسودوموناس / هلام (CN)

1 . 1 . 1 . 3 التركيب

ببتون الجيلاتين ..... 16,0 غ

حلامة الكازيين ..... 10,0 غ

سولفات البوتاسيوم خال من الماء (K_2SO_4)..... 10,0 غ

كلورور المغنزيوم خال من الماء ($MgCl_2$)..... 1,4 غ

غليسيرول ..... 10 ملل

هلام.....11,0 غ إلى18,0 غ

ماء (مقطر أو مكافئ).....1000 ملل

ملاحظة – تتوقف كمية الهلام اللازمة على قدرة التجمد، تتبع تعليمات مصنع الهلام المستعمل.

المضاف (CN)

برومور هيكزاديسيل ثلاثي مثيل الأمونيوم (ستريميد) ..... 0,2 غ

حمض نليديكسيك ..... 0,015 غ

2 . 1 . 1 . 3 التحضير

يمزج كل من الببتون وحلامة الكازيين وسولفات البوتاسيوم وكلورور المغنزيوم والهلام في 1000 ملل من الماء المقطر (أو مكافىء)، يضاف 10 ملل من الغليسيرول، يغلى المزيج حتى الذوبان الكلي ويعقم في جهاز التعقيم لمدة 15 دقيقة في درجة (121 ± 3) °م، يترك الوسط ليبرد في (45 إلى 50) °م.

يضاف المضاف (CN) المعاد تمييهه في 2 ملل من الماء المقطر المعقم، يخلط جيدا ويضاف إلى وسط الأساس معقم ومذوب. يمزج من جديد ويسكب في علب بتري معقمة بحيث يكون السمك الأدنى للهلام 5 ملم. من الأحسن أن يكون العامل الهيدروجيني (pH) النهائي للوسط المتجمد مساو لـ 7,1 ± 0,2 في 25 °م، تحفظ العلب المحضرة بعيدا عن الضوء في درجة حرارة (5 ± 3) °م، مع اجتناب كل تجفف، وتستعمل في أجل شهر واحد. يجب ألا يحفظ الهلام المذاب لأكثر من 4 ساعات، وألا يعاد تذويبه من جديد.

2 . 3 أوساط التأكيد والكواشف

1 . 2 . 3 وسط كينغ (B)

1 . 1 . 2 . 3 التركيب

ببتون ..... 20,0 غ

غليسيرول ..... 10 ملل

هيدروجينوفوسفات البوتاسيوم (K_2HPO_4) ..... 1,5 غ

سولفات المغنزيوم سباعي التمييه ($M_gSO_4, 7H_2O$) ..... 1,5 غ

هلام ..... 15,0 غ

ماء (مقطر أو مكافئ) .....1000 ملل

2 . 1 . 2 . 3 التحضير

تذاب المكونات في الماء بالتسخين يترك ليبرد في درجة حرارة (45 إلى 50)° م ويضبط العامل الهيدروجيني (pH) في 7,2 ± 0,2 في 25 °م، باستعمال حمض الكلوريدريك أو هيدروكسيد الصوديوم.

يوزع الوسط بأجزاء تساوي 5 ملل في أنابيب زرع مسدودة ومعقمة في (121 ± 3) °م لمدة 15 دقيقة. تترك الأنابيب تبرد وتتجمد في وضعية مائلة.

تحفظ بعيدا عن الضوء في (5 ± 3) °م وتستعمل في مدة ثلاثة (3) أشهر.

2 . 2 . 3 مرق الأستميد

1 . 2 . 2 . 3 التركيب

محلول (A)

ثنائي هيدروجينوفوسفات البوتاسيوم (KH_2PO_4) ..... 1,0 غ

سولفات المغنيزيوم (خال من الماء) (M_gSO_4)..... 0,2 غ

أستميد.....2,0 غ

كلورور الصوديوم (NaCI) ..... 0,2 غ

ماء (مقطر أو مكافيء، خال من الأمونياك)..... 900 ملل

تذاب المكونات في الماء ويضبط بعد ذلك العامل الهيدروجيني (pH) باستعمال إما حمض الكلوردريك أو هيدروكسيد الصوديوم في 7,0 ± 0,5 في 25 °م.

ملاحظة : الأستميد مسبب للسرطان ومهيج، فيجب اتخاذ احتياطات خاصة أثناء الوزن والتحضير وعند التخلص من الوسط.

محلول (B)

موليبدات الصوديوم

($Na_2MoO_4,2H_2O$) .....0,5 غ

سولفات الحديد سباعي التمييه ($FeSO_4,7H_2O$) ..... 0,05 غ

ماء ..... 100 ملل

2 . 2 . 2 . 3 التحضير

لتحضير مرق الأستميد، يضاف 1 ملل من محلول (B) لـ 900 ملل من محلول (A) حديث التحضير (3 . 2 . 2 . 1). يضاف الماء مع رجّ مستمر حتى الحصول على حجم كلي يساوي 1 لتر.

يوزع هذا الخليط على أقسام تساوي 5 ملل في أنابيب الزرع. تسدّ الأنابيب وتعقّم في جهاز التعقيم في (121 ± 3) °م لمدة 15 دقيقة. يحفظ بعيدا عن الضوء في (5 ± 3) °م ويستعمل في مدة ثلاثة (3) أشهر.

3 . 2 . 3 هلام مغذ

1 . 3 . 2 . 3 التركيب

ببتون ..... 5,0 غ

مستخلص اللحم ..... 1,0 غ

مستخلص الخميرة ..... 2,0 غ

كلورور الصوديوم (NaCI) ..... 5,0 غ

هلام ..... 15,0 غ

ماء ..... 1000 ملل

2 . 3 . 2 . 3 التحضير

تذوب المكونات في الماء بالتسخين. يعقم في جهاز التعقيم في (121 ± 3) °م لمدة 15 دقيقة. من الأحسن أن يكون العامل الهيدروجيني (pH) للوسط المحضر بهذه الطريقة والمجمد يساوي 7,4 ± 0,2 في 25 °م. تجفف العلب قبل الاستعمال لنزع الرطوبة الزائدة للسطح، تحفظ العلب المحضرة بهذه الطريقة بعيدا عن الضوء في (5 ± 3) °م وتستعمل في أجل شهر.

4 . 2 . 3 كاشف للبحث من الأكسيداز

1 . 4 . 2 . 3 التركيب

ثنائي كلوريدرات رباعي المثيل – p – فنيلان ثنائي.

الأمين ..... 1,0 غ

ماء ..... 10 ملل

2 . 4 . 2 . 3 التحضير

مباشرة قبل الاستعمال، يذوب ثنائي كلوريدرات رباعي المثيل – P – فنيلان ثنائي الأمين في الماء ويحفظ بعيدا عن الضوء. بما أن هذا الكاشف غير مستقر فيجب تحضير كميات قليلة منه مباشرة قبل استعماله.

يمكن كذلك استعمال اختبارات الأكسيداز المتوفرة في الأسواق.

3 . 2 . 5 كاشف نسلر

3 . 2 . 5 . 1 التركيب

كلورور زئبقي (H_gCl_2) ..... 10 غ

إيودور البوتاسيوم (KI) ..... 7 غ

هيدروكسيد الصوديوم (N_aOH) ..... 16 غ

ماء (خال من الأمونياك) ..... حتى 100 ملل

تذوب 10 غ من H_gCl_2 و7 غ من KI في كمية قليلة من الماء، ثم يضاف هذا الخليط ببطء مع الرّج إلى محلول من الماء البارد يحتوي على 16 غ من N_aOH مذوّب في 50 ملل من الماء، يخفف إلى 100 ملل، يحفظ في أدوات زجاجية من نوع "بوروسيليكاتي" مغلقة بسدادة من المطاط بعيدا عن ضوء الشمس لمدة أقصاها سنة.

ملاحظة : الكلورور الزئبقي (H_gCl_2) سام، يجب تجنب بلعه.

4 . التجهيزات والأدوات الزجاجية :

تستعمل الأجهزة المتداولة في مخابر الميكروبيولوجيا.

4 . 1 الأدوات الزجاجية :

قبل الاستعمال، تعقم جميع الأدوات الزجاجية في الفرن بدرجة (170 ± 5) °م لمدة ساعة، أو في جهاز التعقيم بدرجة حرارة (121 ± 3) °م لمدة 15دقيقة.

4 . 2 جهاز التحضين، يمكن ضبطه في (36 ± 2) °م.

4 . 3 مصباح ذو إشعاع فوق البنفسجي، يمكنه أن يصدر إشعاعا طول موجته (360 ± 20) نانومتر.

4 . 4 أغشية الترشيح معمقة، قطر مساماتها 0,45 ميكرومتر.

5 . اقتطاع العينة

يجرى اقتطاع العينة في الشروط الملائمة.

6 . طريقة العمل

6 . 1 عموميات

تطبق تقنية الترشيح فوق الغشاء المبينة في منهج الخطوط التوجيهية العامة لإحصاء الأجسام الدقيقة في وسط الزرع.

6 . 2 الترشيح فوق الغشاء

ترشح أحجام من عينات الماء أو أجزاء من التخفيف فوق غشاء ترشيح معقم من أستر السيليلوز قطر مساماته 0,45 ميكرومتر. كما هو مبين في منهج الخطوط التوجيهية العامة لإحصاء الأجسام الدقيقة في وسط الزرع، يوضع كل غشاء فوق علبة بتري تحتوي على هلام مع مضاف (CN) (3 . 1) مع الحرص على عدم احتباس هواء تحت الغشاء.

6 . 3 تحضين العلب

تحضن علب البتري في (36 ± 2) °م لمدة (44 ± 4) سا في أوعية وتحفظ من كل تجفف.

6 . 4 فحص الأغشية

تفحص الأغشية للتأكد من نمو المزارع بعد (22 ± 2) سا و(44 ± 4) سا.

تعد كـ "بسودوموناس أيروجينوزا" مؤكدة جميع المستعمرات التي شكلت صبغ أزرق – مخضر (بيوسيانين).

تفحص الأغشية تحت الأشعة الفوق البنفسجية. من الأحسن تجنب كل تعرض مطول للأشعة فوق البنفسجية لأن ذلك يؤدي إلى موت المستعمرات، ما يعني عدم نموها فوق أوساط التأكيد. تعد كـ "بسودوموناس أيروجينوزا" مفترضة المستعمرات التي لا تشكل البيوسيانين وتعطي استشعاعا وتؤكد هويتها باستعمال مرق الأستميد المبين لاحقا.

تعد كـ "بسودوموناس أيروجينوزا" مفترضة جميع المستعمرات الأخرى التي شكلت صبغا أسمر محمر ولم تشكل استشعاعا وتؤكد هويتها باستعمال اختبار الأكسيداز ومرق الأستميد ووسط كينغ (B) المبين لاحقا. تجرى القراءة بعد (22 ± 2) سا في حالة المستعمرات المجتاحة والتي تستطيع أن تظهر في مدة (44 ± 4) سا. ينصح الأخذ بعين الاعتبار الإحصاء الأكبر لحساب عدد "بسودوموناس أيروجينوزا" المبينة في (7).

يلخص الجدول 1 انتقاء المستعمرات ومراحل التأكيد.

جدول 1 – المراحل اللازمة لتأكيد المستعمرات التي تنمو فوق هلام (CN).

وصف المستعمرات فوق هلام (CN)	الأمونياك انطلاقا من الأسيتميد	تشكيل الأكسيداز	استشعاع فوق وسط كينغ (B)	بسودوموناس أيروجينوزا مؤكدة
أزرق – مخضر	غ م أ	غ م	غ م	نعم
استشعاع	+	غ م	غ م	نعم
غير أزرق – مخضر				
أسمر محمر	+	+	+	نعم
نماذج أخرى	غ م	غ م	غ م	لا
أغ م : غير مختبر				

5 . 6 التأكيد

1 . 5 . 6 هلام مغذ

يعاد زرع جميع المستعمرات التي تستوجب التأكيد انطلاقا من الغشاء وإذا تعذر ذلك، يعاد زرع أكبر قدر من المستعمرات (منهج الخطوط التوجيهية العامة لإحصاء الأجسام الدقيقة في وسط الزرع) وتحضن لمدة (22 ± 2) سا في (36 ± 2) °م. تفحص نقاوة المزارع وتخضع المستعمرات التي كانت في البداية سمراء محمّرة لاختبار الأكسيداز (6 . 5 . 2).

2 . 5 . 6 اختبار الأكسيداز

للكشف عن الأكسيداز (3 . 2 . 4) تسكب 2 أو 3 قطرات من الكاشف المحضر جديدا فوق قطعة ورق ترشيح موضوعة فوق علبة بتري.

يوزع جزء من الزرع فوق ورق ترشيح محضر بواسطة مقبض معدني من البلاتين وليس من النيكل كروم أو من البلاستيك أو بواسطة عود أو ماصة من زجاج. يعتبر التفاعل إيجابي عند ظهور لون أزرق بنفسجي داكن في 10 ثوان. من الممكن استعمال اختبارات الأكسيداز المتوفرة في الأسواق بإتباع تعليمات المصنع.

3 . 5 . 6 وسط كينغ (B)

يعاد زرع المستعمرات السمراء المحمّرة أكسيداز إيجابية المتحصل عليها في (6 . 5 . 1) فوق وسط كينغ (B) وتحضن لخمسة (5) أيام على الأكثر في درجة (36 ± 2) °م.

يفحص الزرع يوميا تحت الأشعة الفوق البنفسجية ويسجل وجود استشعاع محتمل. تسجل كإيجابية كل استشعاع ظهر في 5 أيام.

4 . 5 . 6 مرق الأستميد

يزرع أنبوب بواسطة الزرع المتحصل عليه في (6 . 5 . 1) ويحضن في (36 ± 2) °م لمدة (22 ± 2) سا. تضاف قطرة أو قطرتان من كاشف نسلر (3 . 2 . 5) وتفحص الأنابيب للكشف عن تشكل محتمل للأمونياك الذي يظهر على شكل لون يتغير من الأصفر إلى الأحمر الأجوري حسب التركيز.

5 . 5 . 6 الإحصاء

تعد كـ "بسودوموناس أيروجينوزا" مؤكدة جميع المستعمرات التي شكلت البيوسيانين (صبغ أزرق – مخضر) أو أكسيداز إيجابية، تعطي استشعاعا تحت الأشعة الفوق البنفسجية (6 . 4) أو (6 . 5 . 3) وقادرة على تشكيل الأمونياك انطلاقا من الأستميد (6 . 5 . 4).

ملاحظة – المستعمرات التي أظهرت استشعاعا فوق الغشاء الأول تكون دائما أكسيداز إيجابية لذلك لاتحتاج أن تخضع إلى اختبار الأكسيداز (أنظر جدول1).

7. التعبير عن النتائج

يحسب عدد "بسودوموناس أيروجينوزا" المؤكدة الموجودة في حجم معين من الماء انطلاقا من عدد المستعمرات المميزة المحصاة فوق الأغشية مع الأخذ بعين الاعتبار عدد تجارب التأكيد المنجزة. بالنسبة للماء المعدني وماء المنبع والمياه المعبأة، يكون الحجم 250 ملل، بالنسبة للمياه الأخرى يكون الحجم عموما 100 ملل.

يحسب عدد "بسودوموناس أيروجينوزا" في حجم عينة مختبرة من الماء كالآتي :

$P+F\ (^{c}F/^{n}F) + R\ (^{c}R/^{n}R)$

P : عدد المستعمرات الزرقاء – المخضّرة، كلها محصاة كأهداف مؤكدة،

F : عدد المستعمرات المستشعة،

R : عدد المستعمرات السمراء المحمرّة،

^{n}F : عدد المستعمرات المستشعة التي كانت محل للكشف عن تشكيل الأمونياك،

^{c}F : عدد المستعمرات المستشعة التي شكلت الأمونياك،

^{n}R : عدد المستعمرات السمراء المحمّرة التي كانت محلا للكشف عن تشكل الأمونياك والبحث عن الأكسيداز والاستشعاع فوق وسط كينغ (B)،

^{c}R : عدد المستعمرات السمراء المحمّرة التي شكلت الأمونياك وأكسيداز إيجابية ومستشعة فوق وسط كينغ (B)،

يمكن كذلك التعبير عن النتائج نوعيا بإظهار وجود أو غياب "بسودوموناس أيروجينوزا" في حجم الماء المدروس.

ملاحظة أ

(معلومات إضافية عن بسودوموناس أيروجينوزا)

بسودوموناس أيروجينوزا هي النوع النموذجي لجنس البسودوموناس.

وهي عبارة عن بكتيريا غرام سلبي، غير متبوغة وذات أكسيداز وكتلاز إيجابي. تظهر استقلاب تأكسدي كما هو مبين في تجربة هوق (Hugh) وليفسن (Leifson)، ترجع بصفة عامة النترات من النتريت وتشكل الأمونياك نتيجة انحلال الأستميد.

تشكل معظم الأصناف (98 %) صبغ مستشع ينحل في الماء، كما أن معظم أصولها قادرة على النمو في 42 °م لكن ليس في 4 °م، وهذا ما يميز بسودوموناس أيروجينوزا عن بسودوموناس فليوريسانس التي تنمو في 4 °م وليس في 42 °م.

تميّع الهلام وتحلل الكازيين لكن لا تحلل النشاء. تشكل أكثر من 90 % من الأصناف صبغ البيوسيانين (أزرق – مخضر)

ملاحظة ب

أوساط أخرى

يمكن استعمال أوساط أخرى غير الهلام المغذي بشرط ألا تكون انتقائية ولا تحتوي على هيدرات الكربون الذي يتخمر.

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التجـــارة

المديرية العامة للرقابة الاقتصادية

و اقمع الغش

مديرية مخابر التجارب

و تحاليل الجودة

المناهج الرسمية للتحاليل المتعلقة بمنتجات مختلفة

الفهرس ا

1. قرار امؤرخ افي ا 11 أكتوبر اسنة ا 2006، ايجعل امنهج امعايرة اا لأفلاتوكسين ا B_1 و مجموعة ا الأفلاتوكسين ا B_1 او B_2 او G_1 او G_2 في الحبوب او االمكسرات او االمنتوجات االمشتقة إجباريا. (ج ار اعدد ا06 - 2007)	01
2. قرار امؤرخ افي ا 21 انوفمبر اسنة ا 2011، ايجعل امنهج اتحديد اكمية االيود افي االملح االغذائي إجباريا. (ج ار اعدد ا07 - 2013)	06
3. قرار امؤرخ افي ا 31 امارس اسنة ا 2013، ايجعل امنهج اتحديد انسبة االكلورور افي امنتجات امشتقات ا الخضر إجباريا. (ج ار اعدد ا49 - 2013)	10

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 (8.4) بواسطة جهاز منظار طيفي. حيث أن الخليط تولوان / أسيتونتريل (13.3) هو الأنبوب المرجعي.

يحسب التركيز الكتلي لكل أفلاتوكسين pi المعبر عنه بـ الميكروغرام 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، ($C (H_2 SO_4) = 2$ 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 بين 3000 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 الأفلاتوكسين G_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 ($ح_5$ = 2000 ميكرولتر)،

$ح_6$ = حجم الناتج المحقون (6.5) بالميكرولتر ($ح_5$ = 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 ($ح_4$) (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.

وزارة التجارة

قرار مؤرخ في 25 ذي الحجة عام 1432 الموافق 21 نوفمبر سنة 2011، يجعل منهج تحديد كمية اليود في الملح الغذائي إجباريا.

إن وزير التجارة،

– بمقتضى المرسوم الرئاسي رقم 10 – 149 المؤرخ في 14 جمادى الثانية عام 1431 الموافق 28 مايو سنة 2010 والمتضمن تعيين أعضاء الحكومة،

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

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 90 – 40 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990 الذي يجعل بيع ملح اليود إجباريا لاتقاء الافتقار إلى اليود،

– 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 – 465 المؤرخ في 4 ذي القعدة عام 1426 الموافق 6 ديسمبر سنة 2005 والمتعلق بتقييم المطابقة،

يقرر ما يأتي :

المادة الأولى : تطبيقا لأحكام المادة 19 من المرسوم التنفيذي رقم 90 – 39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990، المعدّل والمتمّم، والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج تحديد كمية اليود في الملح الغذائي إجباريا.

المادة 2 : من أجل تحديد كمية اليود في الملح الغذائي، فإن مخابر مراقبة الجودة وقمع الغش والمخابر 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 25 ذي الحجة عام 1432 الموافق 21 نوفمبر سنة 2011.

مصطفى بن بادة

الملحق

منهج تحديد كمية اليود في الملح الغذائي

1 . الهدف ومجال التطبيق :

يحدد هذا المنهج، معايرة كمية اليود في الملح الغذائي،

2 . التعريف

تجرى عملية إضافة اليود إلى الملح الغذائي بزيادة أيودات البوتاسيوم (KIO_3). تحدد كمية اليود في الملح اليودي بمنهج حجمي : l'iodométrie.

3 . المبدأ :

أ) بإضافة الحمض وأيودور البوتاسيوم (KI)، يتم إرجاع أيودات البوتاسيوم (KIO_3) الموجودة في الملح إلى يود جزئي (I_2). هذه الكمية من اليود الجزيئي تعادل كمية اليودات الموجودة ضمن الوسط (الملح).

ب) يعاير اليود المحرر بمحلول ثيوسلفات الصوديوم النموذجي ($Na_2 S_2 O_3$).

يستعمل النشاء ككاشف في نهاية المعايرة.

4 . الكواشف :

– كواشف خالصة للتحليل.

– ماء مقطر، يترك ليغلى لمدة 5 دقائق، يبرد ويحفظ في قارورات داكنة بعيدا عن الضوء والأكسيجين والهواء والبرودة.

ثيوسولفات الصوديوم ($Na_2S_2O_35H_2O$ كج = 248,2).

– المحلول الأم : 0,1 م أو 0,1 ن.

– محلول المعايرة : 0,002 م أو 0,002 ن.

إيودات البوتاسيوم (KIO_3، ك ج = 214).

– محلول معياري : 0,050 غ/ل.

إيودور البوتاسيوم (KI) لـ 10 % (ك/ح).

– حمض الخل المركز، (CH_3COOH) أو حمض الكبريت (H_2SO_4) 2 ن.

– محلول النشاء لـ 0,25 % (ك/ح).

4 . 1 تحضير الكواشف

تيوسولفات الصوديوم ($Na_2S_2O_3$)

– المحلول الأم : 0,1 م (أو 0,1 ن أو م/10 = ن/10)

يذوب في حوجلة مدرجة، 24,82 غ من $Na_2S_2O_3, 5H_2O$ مع الماء المقطر ويكمل الحجم إلى 1 لتر.

– محلول المعايرة : (0,002 ن أو ن/500).

بواسطة ماصة، نأخذ 20 ملل من محلول الأم 0,1 في حوجلة مدرجة سعتها 1000 ملل، يكمل الحجم إلى 1000 ملل.

– محلول مرجعي لـ KIO_3، في 0,05 غ/ل.

– المحلول الأم لـ KIO_3، 10 غ/ل : يذوب 10 غ من KIO_3 في 1 لتر من المحلول المقطر.

– محلول المعايرة : يدخل 5 ملل من محلول الأم في حوجلة مدرجة سعتها 1000 ملل، ويكمل الحجم إلى 1000 ملل.

– محلول KI، 10 % : يذوب 10 غ من (KI) في حوجلة سعتها 100 ملل، يكمل الحجم إلى 100 ملل.

ملاحظة : يجب أن يحضر هذا المحلول خلال الاستعمال.

– محلول النشاء في 0,25 % (ك/ج) : يذوب 2,5 غ من النشاء قابل للذوبان في 100 ملل من الماء المقطر، يضاف 900 ملل من ماء مقطر ساخن، ثم يضاف 5 ملغ من HgI_2 أو KCN.

– يغلى المحلول لمدة 5 دقائق.

– يضاف 1 غ من حمض ساليسليك.

– يبرد، يغلق.

– حمض الخل المركز أو حمض الكبريت 2 ن.

يدخل في حوجلة مدرجة سعتها 100 ملل، 80 ملل من الماء المقطر، مع إضافة بحذر 5,56 ملل من H_2SO_4 (d = 1,83 à 96,3 %)، يكمل الحجم بالماء المقطر إلى 100 ملل.

4 . 2 معايرة محلول ثيوسولفات (0,002 ن أو ن/500)

– في إرلن ماير يحتوي على 800 ملل تقريبا من الماء المقطر :

– يدخل 5 ملل من المحلول المرجعي لـ (KIO_3) (في0,05 غ/ل)،

– يضاف 5 ملل من محلول (KI) لـ 10 % و5 ملل من حمض الخل الخاص.

– يغلق ويترك ليرتاح لمدة 5 دقائق في الظلام،

– يعاير محلول $Na_2S_2O_3$، (0,002 ن) إلى غاية الحصول على لون أصفر باهت.

– يضاف 5 ملل من محلول النشاء، نتحصل على تلوين أزرق.

– مواصلة المعايرة بواسطة محلول ثيوسولفات إلى غاية غياب اللون الأزرق، ليكن ح = حجم $Na_2S_2O_3$ المستعمل و ن = نظامية محلول $Na_2S_2O_3$.

حساب : ن = 0,007 / ح.

5 . التجهيزات :

أجهزة عادية للمخبر.

6 . اقتطاع العينات :

يجرى اقتطاع العينات حسب المقاييس السارية المفعول.

7 . طريقة العمل :

– يوزن 10 غ ± 0,01 من الملح المختبر، مجفف مسبقا بجهاز نازع الرطوبة.

– يدخل الملح في إرلن ماير سعته 250 ملل.

– يذوب في 100 ملل من الماء المقطر، يغلى ويبرد.

– يضاف 1 ملل من حمض الخل المركز.

– يضاف 1 ملل من (KI) في 10 %، نتحصل على تلوين أصفر، يسد ويترك ليرتاح لمدة 5 دقائق في الظلام.

– يعاير بمحلول ثيوسولفات 0,002 م إلى غاية الحصول على تلوين أصفر باهت.

– يضاف 5 ملل من محلول النشاء، نتحصل على تلوين أزرق.

– مواصلة معايرة محلول ثيوسولفات إلى غاية انعدام اللون الأزرق.

– يسجل حجم محلول ثيوسولفات اللازم لمعايرة ($ح_1$).

– في المقابل يستعمل شاهد في نفس الظروف، في 100 ملل من الماء المقطر، المغلى والمبرد. يسجل الحجم ($ح_2$).

– تعاير كل عينة مرتين.

8 . التعبير عن النتائج :

حساب كمية اليود :

الصيغة العامة :

اليود (ملغ / كلغ من الملح) = $4,232 \times (ح_2 - ح_1)$.

أيودات البوتاسيوم بـ (ملغ / كلغ من الملح) = $7,1387 \times (ح_2 - ح_1)$.

$ح_1$ = حجم $Na_2S_2O_3$ اللازم لمعايرة اليود في الملح.

$ح_2$ = حجم $Na_2S_2O_3$ اللازم للشاهد.

(ملغ.Eq) I = 6/127 = 21,16.

(ملغ.Eq) (KIO_3) = 6/214 = 35,66.

وزارة التجارة

قرار مؤرخ في 19 جمادى الأولى عام 1434 الموافق 31 مارس سنة 2013، يجعل منهج تحديد نسبة الكلورور في منتجات مشتقات الخضر إجباريا.

إن وزير التجارة،

– بمقتضى المرسوم الرئاسي رقم 12–326 المؤرخ في 17 شوال عام 1433 الموافق 4 سبتمبر سنة 2012 والمتضمن تعيين أعضاء الحكومة،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 90–39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990 والمتعلق بمراقبة 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 05–465 المؤرخ في 4 ذي القعدة عام 1426 الموافق 6 ديسمبر سنة 2005 والمتعلق بتقييم المطابقة،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 12–214 المؤرخ في 23 جمادى الثانية عام 1433 الموافق 15 مايو سنة 2012 الذي يحدد شروط وكيفيات استعمال المضافات الغذائية في المواد الغذائية الموجهة للاستهلاك البشري،

– وبمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرخ في 21 ربيع الثاني عام 1418 الموافق 24 غشت سنة 1997 والمتعلق بعصيدة الطماطم،

يقرر ما يأتي:

المادة الأولى: تطبيقا لأحكام المادة 19 من المرسوم التنفيذي رقم 90–39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990، المعدل والمتمم والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج تحديد نسبة الكلورور في منتجات مشتقات الخضر إجباريا.

المادة 2: من أجل تحديد نسبة الكلورور في منتجات مشتقات الخضر، فإن مخابر مراقبة الجودة وقمع الغش والمخابر المعتمدة لهذا الغرض، ملزمة باستعمال المنهج المبين في الملحق المرفق بهذا القرار.

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 جمادى الأولى عام 1434 الموافق 31 مارس سنة 2013.

مصطفى بن بادة

الملحق

منهج تحديد نسبة الكلورور في منتجات مشتقات الخضر

يخصص هذا المنهج تقنية لتحديد نسبة الكلورور في منتجات مشتقات الخضر.

إذا احتوت المواد المشتقة من الخضر على صبغات الأنتوسيانيك الطبيعية يطبق هذا المنهج مع إجراء بعض التغييرات كما هو مبين في النقطة 7.

1. التعريف

نسبة الكلورور في منتجات مشتقات الخضر:

هي مجموع الكلورور المحدد طبقا لهذا المنهج والمعبر عنها بالنسبة المئوية لكتلة كلورور الصوديوم.

2. المبدأ

يرسب الكلورور بإضافة فائض من محلول معاير لنترات الفضة ويعيّر هذا الفائض بمحلول تيوسيانات البوتاسيوم المعاير.

3. الكواشف

يجب أن تكون جميع الكواشف ذات نوعية تحليلية معترف بها.

يجب أن يكون الماء المستعمل، ماء مقطرا أو ماء ذا نقاوة مكافئة.

1.3 النتروبنزين

2.3 حمض النتريك، محلول نظاميته حوالي 4ن.

يمزج حجم واحد من حمض النتريك (ρ_{20} من 1,39 إلى 1,42غ/ملل) مع 3 أحجام من الماء.

3.3 نترات الفضة، محلول معاير 0,1 ن.

تجفف نترات الفضة ($AgNO_3$) لمدة ساعتين في 150° م وتترك لتبرد داخل جهاز نازع الرطوبة.

تذوب في الماء 16,989 غ من نترات الفضة المجففة داخل حوجلة مدرجة ويكمل الحجم إلى 1000 ملل.

4.3 تيوسيانات البوتاسيوم، محلول معاير 0,1 ن.

تذوب في الماء 9,72 غ من تيوسيانات البوتاسيوم (KSCN) داخل حوجلة مدرجة ويكمل الحجم إلى 1000 ملل.

يعاير المحلول المتحصل عليه بمحلول نترات الفضة (3.3)، بوجود محلول سولفات ثنائي الأمنيوم والحديد (III) (5.3).

5.3 سولفات ثنائي الأمنيوم والحديد (III)

$[(NH_4)_2SO_4, Fe(SO_4)_3, 24H_2O]$ وهو محلول مائي مشبع، محمض بواسطة حمض النتريك (5 ملل من حمض النتريك، ρ20 من 1,39 إلى 1,42 غ/ ملل لـ 100 ملل من المحلول).

4. التجهيزات

الأجهزة المتداولة في المخبر، لا سيما:

4. 1 جهاز مجانسة أو مهراس [في حالة المنتجات المكثفة أو المعجنة أو الصلبة (3.1.5)].

2.4 بيشر، سعته 250 ملل.

3.4 حوجلة مدرجة، سعتها 250 ملل.

4.4 ماصات، تسمح بسحب كميات قدرها 20،5،3 ملل على التوالي.

5.4 حوجلة مخروطية، سعتها 200 ملل.

6.4 سحاحات، سعتها 25 ملل.

5. طريقة العمل

1.5 تحضير العينة للتجربة

1.1.5 منتوجات تحتوي على أطوار صلبة وسائلة متباينة.

إذا وجدت مواصفة خاصة، يجرى التحديد على الطور المبين فيها.

إذا لم توجد مواصفة خاصة وفي حالة المنتوجات حديثة التحضير، تمزج جيدا عينة المخبر بأكملها ويجري التحديد على العينة المجانسة.

2.1.5 منتوجات سائلة

تمزج عينة المخبر جيدا.

3.1.5 منتوجات مكثفة أو معجنة أو صلبة

تسحق عينة المخبر داخل جهاز مجانسة أو في مهراس (**1.4**). يقطع المنتوج، إذا اقتضى الأمر، إلى قطع صغيرة قبل عملية السحق، تمزج عينة المخبر جيدا.

2.5 العينة المأخوذة للتجربة

توزن بتقريب 0،01غ، حوالي 25غ من العينة المأخوذة للتجربة (1.5) داخل بيشر سعته 250 ملل (2.4).

3.5 التحديدات

1.3.5 تحضير محلول التجربة

تضاف إلى العينة المأخوذة للتجربة (2.5)، 100 ملل من الماء الساخن مع خلط محتوى البيشر إلى غاية الحصول على كثافة متجانسة. يوضع محتوى البيشر للغليان لمدة دقيقة واحدة.

يبرد محتوى البيشر ويسكب داخل حوجلة مدرجة سعتها 250 ملل (3.4) ويكمل بالماء حتى خط المعلم.

يمزج بعناية، يترك لمدة 15 دقيقة، ثم يرشح فوق ورق ترشيح ذي طيات مع جمع الرشاحة داخل وعاء جاف.

2.3.5 المعايرة

يؤخذ بواسطة ماصة (4.4) 20 ملل من الرشاحة (1.3.5) وتوضع داخل حوجلة مخروطية (5.4)، تضاف 5 ملل من محلول حمض النتريك (2.3) و5 ملل من محلول سلفات ثنائي الأمنيوم والحديد (III) (5.3).

يسكب، بواسطة سحاحة (6.4)، حجم كاف ($ح_1$) من محلول نترات الفضة (3.3) للحصول على فائض من محلول نترات الفضة يتراوح بين 5 و 10 ملل بعد ترسب الكلورور.

يضاف 3 ملل من النتروبنزين (1.3) ويرّج محتوى الحوجلة بشدة لتخثير الراسب.

ملاحظة: يتطلب استعمال التنروبنزين احتياطات خاصة، باعتباره مادة سامة.

يعاير فائض نترات الفضة بمحلول تيوسيانات البوتاسيوم (4.3) إلى غاية الحصول على لون أسمر – محمر يمتد لـ 5 دقائق.

يسجل حجم محلول تيوسيانات البوتاسيوم ($ح_2$) المستعمل.

3.3.5 عدد التحديدات

يجرى تحديدان على العينات المأخوذة للتجربة والمقطعة من نفس عينة التجربة (1.5).

6. التعبير عن النتائج

1.6 طريقة الحساب والصيغة

تعطى نسبة الكلورور المعبّر عنها بالنسبة المئوية لكتلة كلورور الصوديوم عن طريق الصيغة التالية:

$$\frac{ح_3 \times (ح_2 - ح_1) \times 0,5845}{ك \times ح_4}$$

حيث:

ح1: هو حجم محلول نترات الفضة (3.3) المستعمل بالميليليتر (2·3·5)،

ح2: هو حجم محلول تيوسيانات البوتاسيوم (4.3) المستعمل بالميليلتر (2.3.5)،

ح3: هو الحجم الذي تم إيصال الرشاحة إليه عن طريق عملية التخفيف بالميليلتر (1.3.5)،

ح4: هو حجم جزء من الرشاحة المخففة المقتطعة قصد المعايرة (2.3.5) بالميليلتر،

ك: هي كتلة العينة المأخوذة للتجربة (2.5) بالغرام.

ملاحظات

1. إذا لم يكن عيار محلول تيوسيانات البوتاسيوم مساويا لـ 0,1 ن، يجب أن يطبق عامل تصحيح ملائم للحجم ح2 عند حساب النتيجة.

2. إذا اتبعت طريقة العمل المحددة في (5) بدقة، ح3 = 250 ملل و ح4= 20ملل، تختصر الصيغة السابقة كالتالي:

$$\frac{(ح_2 - ح_1) \times 7,30625}{ك}$$

يؤخذ كنتيجة المعدل الجبري لنتيجتي تحديدين، إذا توفرت شروط التكرارية (2.6).

يعبر عن النتيجة بعددين بعد الفاصلة.

2.6 التكرارية

يجب ألا يتعدى الفرق بين نتيجتي تحديدين منجزين في آن واحد أو بسرعة الواحد تلو الآخر من طرف نفس المحلل على نفس عينة التجربة 0,05 غ من كلورور الصوديوم لـ 100غ من المنتوج.

7. حالة خاصة : منتوجات تحتوي على صبغات الأنتوسيانيك

يعرقل وجود صبغات الأنتوسيانيك عملية المعايرة، فمن الضروري إزالتها عن طريق التحليل بواسطة البرمنغنات، يجب إذن تعديل المنهج على النحو الآتي:

1.7 الكواشف

بالإضافة إلى الكواشف المذكورة في النقطة 3:

1.1.7 برمنغنات البوتاسيوم، محلول مشبع (حوالي 6,5غ من $KMnO_4$ لـ 100 ملل من الماء).

2.1.7 نتريت الصوديوم، أو نتريت البوتاسيوم، المبلور.

2.7 طريقة العمل

1.2.7 تجرى العملية كما هو مبين في (1.5) إلى غاية (1.3.5).

2.2.7 تقتطع بواسطة ماصة (4.4)، 20 ملل من الرشاحة (1.3.5) وتدخل في حوجلة مخروطية (5.4). يضاف حوالي 20 ملل من محلول حمض النتريك (2.3) وبواسطة ماصة (4.4) يضاف بالضبط 20 ملل (ح1) من محلول نترات الفضة (3.3).

يوضع للغليان ثم يترك لغليان خفيف لمدة 2 إلى 3 دقائق.

يسكب بعد ذلك، بأجزاء من 0,5 إلى 1ملل، حوالي 5 إلى 10 ملل من محلول برمنغنات البوتاسيوم (1.1.7) مع مواصلة عملية الغليان الخفيف، يجب أن يصبح السائل عديم اللون، وإلا تضاف بعض بلورات نتريت الصوديوم أو البوتاسيوم (2.1.7) حتى زوال اللون، تثبت عملية الغليان لمدة 5 دقائق بعد زوال لون المحلول.

يبرد ويضاف 5 ملل من محلول سولفات ثنائي الأمنيوم والحديد(III) (5.3).

تتبع طريقة العمل حسب ما هو مبين في الفقرة 4 من (2.3.5).

(إضافة النيتروبنزن غير ضروري).

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التجـــارة

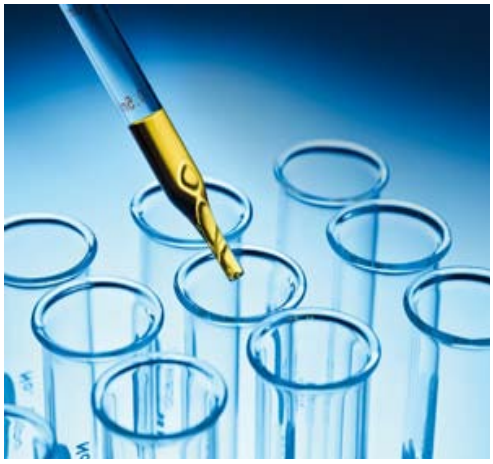
المديرية العامة للرقابة الاقتصادية

و قمع الغش

مديرية مخابر التجارب

و تحاليل الجودة

المناهج الرسمية للتحاليل المتعلقة بمكروبيولوجيا الأغذية (المناهج الأفقية)



الفهرس

1. قرار مؤرخ في 29 يوليو سنة 2012، يجعل المنهج الأفقي لإحصاء البكتيريا المرجعة للسلفيت النامية في شروط لاهوائية إجباريا. (ج ر عدد 51 - 2013)	01
2. قرار مؤرخ في 28 مايو سنة 2014، يجعل منهج تحضير العينات و المحلول الأم و التخفيفات العشرية قصد الفحص الميكروبيولوجي إجباريا. (ج ر عدد 38 – 2014)	05
3. قرار مؤرخ في 21 مايو سنة 2014، يجعل منهج إحصاء الستافيلوكوك ذات إنزيم تخثر موجب (ستافيلوكوكوس أوريوس و أنواع أخرى) إجباريا. (ج ر عدد 68 – 2014)	09
4. قرار مؤرخ في 31 يوليو سنة 2014، يجعل المنهج الذي يستعمل الوسط الهلامي ببلازما الرنب و الفيبرينوجين لإحصاء الستافيلوكوك ذات إنزيم تخثر موجب إجباريا. (ج ر عدد 14 – 2015)	17
5. قرار مؤرخ في 2 يونيو سنة 2015، يجعل المنهج لإحصاء الخمائر و العفنيات بعد المستعمرات في المنتجات ذات نشاط مائي أكبر من 0,95 إجباريا. (ج ر عدد 48 – 2015)	21
6. قرار مؤرخ في 4 غشت سنة 2015، يجعل المنهج لإحصاء الخمائر و العفنيات بعد المستعمرات في المنتجات ذات نشاط مائي أصغر او يساوي 0,95 إجباريا. (ج ر عدد 52 – 2015)	27

وزارة التجارة

قرار مؤرخ في 10 رمضان عام 1433 الموافق 29 يوليو سنة 2012، يجعل المنهج الأفقي لإحصاء البكتيريا المرجعة للسلفيت النامية في شروط لا هوائية، إجباريا.

إن وزير التجارة،

– بمقتضى المرسوم الرئاسي رقم 10 – 149 المؤرخ في 14 جمادى الثانية عام 1431 الموافق 28 مايو سنة 2010 والمتضمن تعيين أعضاء الحكومة،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 90 – 39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990 والمتعلق 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 – 465 المؤرخ في 4 ذي القعدة عام 1426 الموافق 6 ديسمبر سنة 2005 و المتعلق بتقييم المطابقة،

– وبمقتضى القرار المؤرخ في 14 صفر عام 1415 الموافق 23 يوليو سنة 1994 والمتعلق بالمواصفات الميكروبيولوجية لبعض المواد الغذائية، المعدّل والمتمّم،

يقرر ما يأتي :

المادة الأولى : تطبيقا لأحكام المادة 19 من المرسوم التنفيذي رقم 90 – 39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990، المعدّل والمتمّم والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل المنهج الأفقي لإحصاء البكتيريا المرجعة للسلفيت النامية في شروط لاهوائية إجباريا.

المادة 2 : من أجل إحصاء البكتيريا المرجعة للسلفيت النامية في شروط لا هوائية، فإن مخابر مراقبة الجودة وقمع الغش وتلك المعتمدة لهذا الغرض، ملزمة باستعمال المنهج المبين في الملحق المرفق بهذا القرار.

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 10 رمضان عام 1433 الموافق 29 يوليو سنة 2012.

مصطفى بن بادة

الملحق

المنهج الأفقي لإحصاء البكتيريا

المرجعة للسلفيت النامية في شروط لا هوائية

يبين هذا المنهج الطريقة الأفقية لإحصاء البكتيريا المرجعة للسلفيت النامية في شروط لا هوائية ويطبق في :

– المواد الموجهة لتغذية الإنسان والحيوان،

– عيّنات المحيط في مجال الإنتاج وتوزيع الأغذية.

1 . تعريف

لاحتياجات هذا المنهج، يطبق التعريف الآتي.

1 . 1 بكتيريا مرجعة للسلفيت النامية في شروط لا هوائية

بكتيريا مشكلة لمستعمرات نموذجية محصاة في شروط محدّدة في هذا المنهج.

2 . المبدأ

2 . 1 الزرع في الكتلة لعلبتي بيتري (أو لأنبوبين) لوسط من سلفيت الحديد مع كمية محددة من العينة للتجربة إذا كان المنتوج الأولي سائلا، أو مع كمية محددة من المحلول الأم في حالة المنتوجات الأخرى.

تحضّر علبتان أخريان (أو أنبوبان) من الهلام في نفس الشروط، مع تخفيفات عشرية لعينة للتجربة أو المحلول الأم.

2 . 2 تحضن العلب (أو الأنابيب) في شروط لاهوائية في درجة حرارة 37° م ± 1° م من 24 ساعة إلى 48 ساعة (القراءة الأخيرة خلال 48 ساعة)، عند الاقتضاء، في درجة حرارة 50 ° م عند الاشتباه بوجود بكتيريا مقاومة للحرارة. تحصى المستعمرات المميزة بلون أسود. يعود اللون الأسود للمستعمرات وما حولها إلى تشكل سلفيت الحديد (II) الناتج عن التفاعل بين الأيونات المكبرتة وأيونات الحديد ثلاثي التكافؤ [(III) Fe] الموجود في الوسط.

2 . 3 حساب عدد البكتيريا المرجعة للسلفيت بالمليلتر أو بالغرام من العينة، انطلاقا من عدد المستعمرات المتحصل عليها في العلب (أو الأنابيب).

3 . وسط الزرع والمخفف

3 . 1 هلام الإحصاء : هلام بسلفيت الحديد

3 . 1 . 1 التركيبة

عصارة أنزيمية من الكازيين	15 غ
عصارة أنزيمية من الصوجا	5 غ
مستخلص الخميرة	5 غ
ثاني سلفيت الصوديوم ($Na_2S_2O_5$)	1 غ
سيترات الحديد (III) الأمونياك	1 غ
أغار – أغار	9 غ إلى 18 غ [أ]
الماء	1000 ملل

أ حسب قدرة تخثر الأغار – أغار

3 . 1 . 2 التحضير

تذوب المقادير في الماء بالتسخين. إذا اقتضى الأمر، يعدل العامل الهيدروجيني (pH) بحيث يكون بعد التعقيم 7,6 ± 0,2 في درجة حرارة 25 °م.

تسكب حصص من 250 ملل من الوسط في قارورات ذات 500 ملل.

إذا أجري الإحصاء بواسطة أنابيب (5.4)، يسكب 20 ملل إلى 25 ملل من الوسط في الأنابيب. يعقّم في جهاز التعقيم مدة 15 دقيقة في درجة حرارة 121 °م.

يفرغ الوسط من الهواء مباشرة قبل استعماله.

3 . 2 المخفف بيبتون – ملح.

4 . الأجهزة والأدوات الزجاجية

اللوازم المعتادة في مخابر الأحياء الدقيقة وبالخصوص ما يأتي :

4 . 1 جهاز المجانسة، لعينات الأغذية الصلبة

4 . 2 حمام مائي، يمكن ضبطه في درجة حرارة محصورة بين 44 °م و47 °م.

4 . 3 جرر للشروط اللاهوائية، مجهزة بمعدات تسمح بتوليد وسط لا هوائي، ويحتوي على نظام مراقبة الشروط اللاهوائية.

4 . 4 جهاز الحضن، يمكن ضبطه في درجة حرارة 37 °م ± 1 °م، وفي 50 °م ± 1 °م إذا اقتضى الأمر.

4 . 5 أنابيب اختبار، ذات أبعاد 16 ملم x 160 ملم، وحوجلات أو قارورات سعتها 500 ملل.

5 – اقتطاع العينة

من المهم أن يتلقى المخبر عينة مثالية، غير معيبة أو متغيرة عند النقل أو التخزين.

6 . طريقة العمل لتحضير العينة للتجربة

6 . 1 عموميات

يعطى التمثيل البياني لطريقة العمل في الجدول المبين أدناه.

6 . 2 العيّنة المأخوذة للتجربة، المحلول الأم والتخفيفات

من الممكن أن يكون ضروريا، إجراء معالجة حرارية للمحلول الأم للتخلص من الأشكال الجذرية للبكتيريا المشكلة لأبواغ و/أو البكتيريا غير المتبوعة. تتغير دراجات الحرارة ومدة التسخين حسب الحاجيات،

تتراوح بدءا من اندماجات منتجة لأثر بسترة واضح إلى عمل لتنشيط الأبواغ بالحرارة (على سبيل المثال 75 °م خلال 20 دقيقة) وحتى الغلي لعدة دقائق.

في هذه الحالة، يمكن أن تعطى النتيجة بعد أبواغ البكتيريا المرجعة للسلفيت النامية في شروط لاهوائية.

6 . 3 الزرع

تأخذ علبتي بيتري معقمتين. بواسطة ماصة معقمة، ينقل في كل علبة 1 ملل من العيّنة للتجربة إذا كان المنتوج المراد اختباره سائلا، أو 1 ملل من المحلول الأم للمنتوجات الأخرى.

تأخذ علبتي بيتري أخريين معقمتين. بواسطة ماصة أخرى معقمة، ينقل 1 ملل من المخفف العشري الأول (10^{-1}) من العينة للتجربة إذا كان المنتوج سائلا، أو 1 ملل من المخفف العشري الثاني (10^{-2}) من المحلول الأم للمنتوجات الأخرى.

يعاد الإجراء الموصوف مع التخفيفات التي تلي، باستعمال ماصة معقمة جديدة لكل تخفيف.

يضاف لكل علبة بيتري حوالي 15 ملل من هلام بسلفيت الحديد (3 . 1) مبرّد بواسطة حمام مائي (4 . 2) في درجة حرارة محصورة بين 44 °م و47 °م. من الأنسب عدم تجاوز المدة بين زرع علب بيتري وإضافة الوسط الهلامي 15 دقيقة.

يمزج التطعيم جيدا مع الوسط الهلامي بواسطة حركات أفقية، ثم يترك الوسط ليتجمد.

بعد تجمد الوسط، يسكب في علبة من 5 ملل إلى 10 ملل من نفس الوسط، بحيث تغطى الطبقة السابقة.

في حالة استعمال الأنابيب، يلقح 1 ملل من كل من التخفيفات في كل من الأنبوبين المحتويين على الوسط الهلامي، يحفظ في درجة حرارة محصورة بين 44 °م و47 °م.

يمزج بلطف مع اجتناب تشكل فقاعات هوائية، ثم يترك الوسط ليتجمد بواسطة حمام مائي (4 . 2).

بعد أن يتجمد الوسط، يسكب 2 ملل إلى 3 ملل من نفس الوسط في كل أنبوب، بحيث تغطى الطبقة السابقة.

6 . 4 الحضن

بعد التجمد، تحضن علب البيتري داخل جرر لشروط لا هوائية (4 . 3) في درجة حرارة 37 °م ± 1 °م، من 24 إلى 48 ساعة.

إذا اشتبه في وجود بكتيريا مقاومة للحرارة، تحضر سلسلة ثانية من علب بيتري (أنظر 6 . 3). تحضن هذه العلب في درجة حرارة 50 °م ± 1 °م.

إذا استعملت أنابيب، يكون الحضن في الجرر في الشروط اللاهوائية غير ضروري.

6 . 5 حساب المستعمرات

تقرأ النتائج بعد 24 ساعة وبعد 48 ساعة، حسب درجة التلوين الأسود ونسبة نمو الكائنات الدقيقة. تحصى المستعمرات السوداء المحتمل أنها محاطة بمنطقة سوداء كبكتيريا مرجعة للسلفيت.

ملاحظة 1 – يمكن أن ينتج اسوداد منتشر وغير نوعي للوسط، لا سيما عندما يجرى التلقيح في أنابيب من الهلام بدلا من علب البيتري. يمكن أيضا لنمو البكتيريا اللاهوائية المنتجة للهيدروجين فقط (ليس H_2S) أن يرجع السلفيت الموجود وإحداث اسوداد عام للوسط.

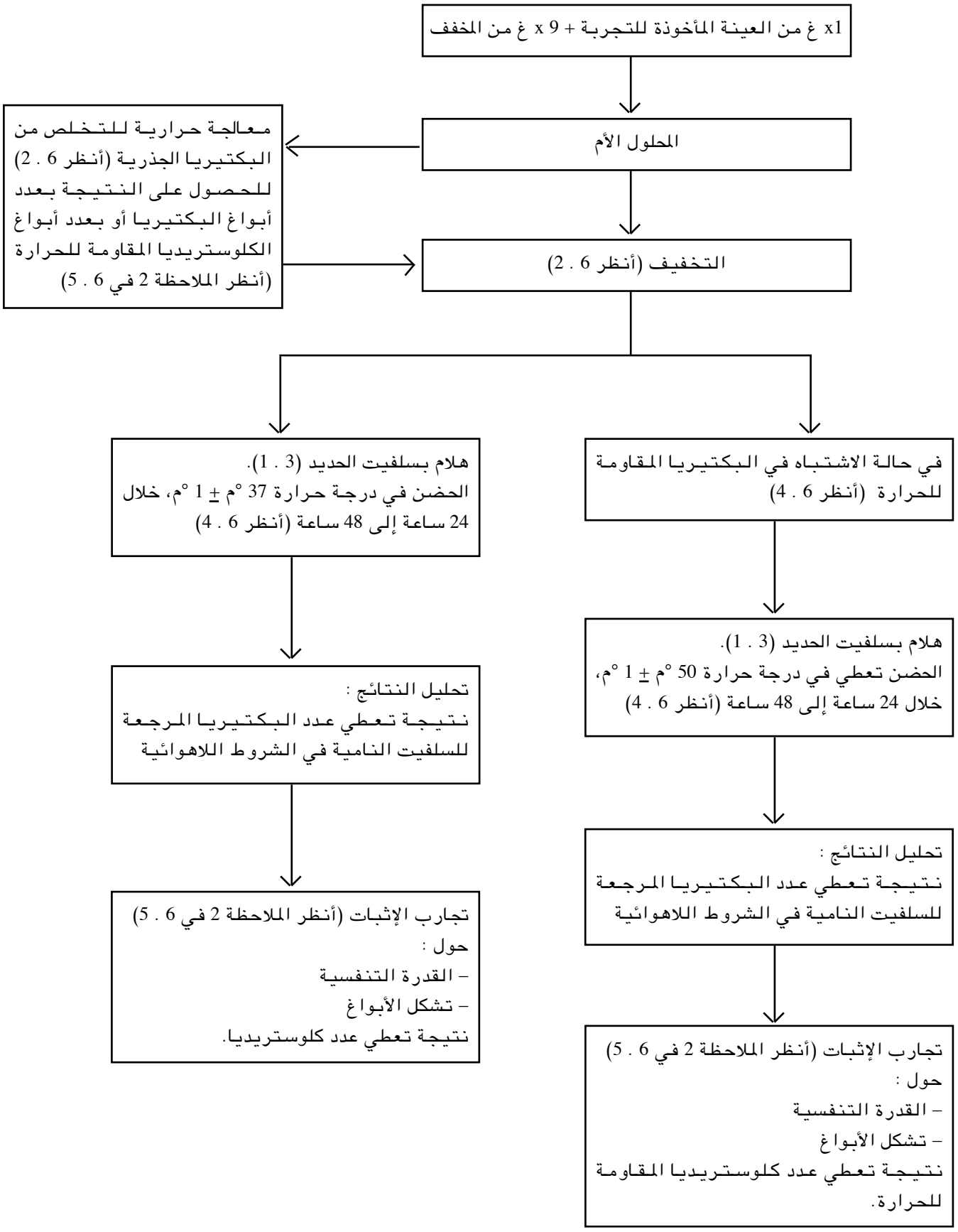
تحصى المستعمرات المرجعة للسلفيت في كل علبة تحتوي على أقل من 150 مستعمرة مميزة وأقل من 300 مستعمرة بالإجمال.

يمكن أن تكون الأعداد المحددة أعلاه جد مرتفعة بالنسبة للأنابيب، في هذه الحالة لا تأخذ بعين الاعتبار إلا الأنابيب التي تكون بداخلها المستعمرات المعزولة تماما.

ملاحظة 2 – هيأ هذا المنهج أيضا لإحصاء الكلوستريديا لوحدها. في هذه الحالة بعد الحصول على مستعمرات مميزة، تقتطع خمس من بينها داخل كل علبة مستعملة، ثم يثبت نمط الكلوستريديوم بواسطة تجارب الإثبات (على سبيل المثال تجارب حول القدرة التنفسية، حول تشكل الأبواغ).

الجدول

التمثيل البياني لطريقة العمل



قرار مؤرخ في 28 رجب عام 1435 الموافق 28 مايو سنة 2014، يجعل منهج تحضير العينات والمحلول الأم والتخفيفات العشرية قصد الفحص الميكروبيولوجي إجباريا.

إن وزير التجارة،

– بمقتضى المرسوم الرئاسي رقم 14–154 المؤرّخ في 5 رجب عام 1435 الموافق 5مايو سنة 2014 والمتضمّن تعيين أعضاء الحكومة،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 90–39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990 والمتعلق 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 05–465 المؤرخ في 4 ذي القعدة عام 1426 الموافق 6 ديسمبر سنة 2005 والمتعلق بتقييم المطابقة،

– وبمقتضى القرار المؤرخ في 14 صفر عام 1415 الموافق 23 يوليو سنة 1994 والمتعلق بالمواصفات الميكروبيولوجية لبعض المواد الغذائية، المعدل والمتمم،

يقرر ما يأتي :

المادة الأولى : تطبيقا لأحكام المادة 19 من المرسوم التنفيذي رقم 90–39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990، المعدّل والمتمّم والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج تحضير العينات والمحلول الأم والتخفيفات العشرية قصد الفحص الميكروبيولوجي إجباريا.

المادة 2 : من أجل تحضير العينات والمحلول الأم والتخفيفات العشرية قصد الفحص الميكروبيولوجي، فإن مخابر مراقبة الجودة وقمع الغش والمخابر المعتمدة لهذا الغرض، ملزمة باستعمال المنهج المبين في الملحق بهذا القرار.

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 28 رجب عام 1435 الموافق 28 مايو سنة 2014.

عمارة بن يونس

الملحق

منهج تحضير العينات والمحلول الأم والتخفيفات العشرية قصد الفحص الميكروبيولوجي

يحدد هذا المنهج القواعد العامة لتحضير المحلول الأم والتخفيفات العشرية المنجزة في وسط هوائي قصد الفحوصات الميكروبيولوجية للمواد الموجهة للاستهلاك البشري أو التغذية الحيوانية.

1. مصطلحات وتعاريف :

من أجل متطلبات هذا المنهج تطبق المصطلحات والتعاريف الآتية :

1 . 1 المحلول الأم (التخفيف الأول)

معلق أو محلول أو مستحلب متحصل عليه بعد وزن أو قياس المادة المراد تحليلها (أو من عينة التجربة المحضرة من هذه المادة) ممزوجة مع كمية تساوي 9 مرات كمية المخفف مع ترك الجزيئات الكبيرة تترسب إذا وجدت. (3 والملاحظات 1 و2 في 1.6)

2 . 1 التخفيفات العشرية التي تلي :

معلقات أو محاليل متحصل عليها بخلط حجم موزون من المحلول الأم (1.1) مع كمية تساوي 9 مرات كمية المخفف مع إعادة هذه العملية على التخفيفات العشرية التي تلي حتى الحصول على مجموعة من التخفيفات العشرية المناسبة لتطعيم أوساط الزرع.

2 . المبدأ

تحضير المحلول الأم (1.1) بحيث نحصل قدر الإمكان، على توزيع موحد للأحياء الدقيقة الموجودة في عينة التجربة.

تحضير تخفيفات عشرية (2.1)، إذا اقتضى الأمر، لتقليص عدد الأحياء الدقيقة بوحدة الحجم من أجل السماح بملاحظة نموها المحتمل بعد التحضين (حالة الأنابيب) أو لإجراء إحصاء مستعمرات (حالة العلب)، كما هو محدد في كل منهج خاص.

ملاحظة : للتقليص من مجال الإحصاء إلى حد معين أو إذا كان عدد الأحياء الدقيقة المرتقبة كبيرا جدا، يمكن زرع التخفيفات العشرية الضرورية فقط (تخفيفين متتاليين على الأقل).

3 . المخففات

1 . 3 التركيبات الأساسية :

لتحسين تكرارية النتائج، ينصح لتحضير المخفف باستعمال مركبات أساسية مجففة أو تحضير كامل مجفف. يجب اتباع تعليمات المصنّع بدقة.

يجب أن تكون المواد الكيميائية ذات نوعية تحليلية معروفة ومناسبة للتحليل الميكروبيولوجي.

يجب أن يكون الماء المستعمل، ماءا مقطرا أو ذا نوعية مكافئة.

2 . 3 مخففات لاستعمالات عامة

1 . 2 . 3 محلول بيبتون – ملح

1 . 1 . 2 . 3 التركيب

مستحضر هضم إنزيمي للكازيين.....1غ

كلورور الصوديوم (NaCl).....8,5غ

الماء.....1000ملل

2 . 1 . 2 . 3 التحضير :

تذوب المركبات في الماء مع التسخين إذا كان ضروريا.

يعدل الـ pH إذا كان ضروريا، بحيث يصبح بعد التعقيم 7 ± 0,2 في 25° م.

2 . 2 . 3 ماء بيبتوني ذو pH مثبت

1 . 2 . 2 . 3 التركيب :

مستحضر هضم إنزيمي لأنسجة حيوانية.....10غ

كلورور الصوديوم (NaCl).....5غ

هيدروجينو – فوسفات ثنائي الصوديوم إثنا عشرة هيدراتي ($Na_2HPO_4, 12H_2O$).....9غ

ثنائي هيدروجينو – فوسفات البوتاسيوم (KH_2PO_4).....1,5غ

الماء.....1000ملل

2 . 2 . 2 . 3 التحضير :

تذوب المركبات في الماء مع التسخين إذا كان ضروريا.

يعدل الـ pH إذا كان ضروريا، بحيث يصبح بعد التعقيم 7 ± 0,2 في 25° م.

3 . 3 توزيع وتعقيم المخفف

يوزع المخفف (2.3) بالأحجام اللازمة لتحضير المعلقات الأم في حوجلات (4.4) ذات سعة مناسبة.

يوزع المخفف (2.3) بالأحجام اللازمة لتحضير تخفيفات عشرية في أنابيب اختبار (5.4) أو حوجلات (4.4) بحيث يحتوي كل أنبوب أو حوجلة على 9 ملل بعد

التعقيم. يجب ألا يتجاوز ارتياب القياس لهذا الحجم النهائي، بعد التعقيم ± 2%.

ملاحظة : إذا كان مقرر حساب عدة مجموعات من الأحياء الدقيقة بواسطة أوساط زرع مختلفة، يمكن أن يصبح ضروريا توزيع كل المخففات (أو البعض منها فقط) بكميات أكبر من 9 ملل فيجب إذا الأخذ بعين الاعتبار أبعاد الحوجلات (4.4) وأنابيب الاختبار (5.4).

تسد الأنابيب أو الحوجلات.

تعقم بجهاز التعقيم في 121° م لمدة 15 دقيقة.

4 . التجهيزات و الأدوات الزجاجية

الأدوات المستعملة في مخبر الميكروبيولوجيا ولا سيما ما يأتي :

4 . 1 أجهزة للتعقيم بحرارة جافة (فرن) وبحرارة رطبة (جهاز التعقيم).

4 . 2 أجهزة للمجانسة.

4 . 3 رجاج ميكانيكي

4 . 4 حوجلات، ذات سعات مناسبة.

4 . 5 أنابيب اختبار، ذات سعة مناسبة.

4 . 6 ماصات مدرجة ذات سيلان كامل، ذات سعة اسمية 1 ملل و10 ملل مدرجة على التوالي في 0,1 ملل و0,5 ملل.

4 . 7 جهاز قياس العامل الهيدروجيني (pH)، له تدقيق بقراءة ± 0,1 وحدة pH في 25° م ويسمح بإجراء قياسات دقيقة في ± 0,1 وحدة pH.

4 . 8 ميزان، له القدرة على الوزن بتقريب 0,01غ.

5 . اقتطاع العينات

تجرى عملية اقتطاع العينات في شروط مناسبة.

6 . طريقة العمل

6 . 1 عينة التجربة و المحلول الأم (التخفيف الأول)

يوزن في قدح أو كيس بلاستيكي معقمين بارتياب قياسي ± 5%، كتلة ك (غ) أو يقاس بارتياب قياسي ± 5% حجم ح (ملل) (10 غ أو 10 ملل على الأقل إلا في حالة وجود تحديدات مخالفة) يمثلان عينة التجربة.

تضاف كمية من المخفف تساوي 9 x ك (غ) أو 9 x ح (ملل). من الأفضل قياس هذه الكمية بالكتلة وبارتياب قياسي يقدر بـ ± 5% أو بالحجم وبارتياب قياسي يقدر بـ ± 5%.

ملاحظة 1 :

في بعض الحالات يمكن أن يكون ضروريا إضافة المخفف بكثرة، خاصة بالنسبة للمواد التي تعطي محلول الأم 1 + 9 لزج جدا أو سميك، يجب إذا أخذه بعين الاعتبار في العمليات الموالية و / أو في التعبير عن النتائج.

ملاحظة 2 :

يشترط هذا التخفيف الأول جزئيا قيمة الحد الأدنى للإحصاء الذي يتعلق كذلك بالتقنية المستعملة (على سبيل المثال، الزرع في الكتلة بالاينوكيلوم ذو 1ملل في محلول 1 / 10 حيث يقدر هذا الحد بـ 10 أحياء دقيقة بالغرام).

إذا كان ضروريا التنزيل تحت هذا الحد بالنسبة لبعض الإحصاءات في بعض المواد، يمكن استعمال حجم أصغر من المخفف. يجدر الذكر بأن زرع هذا المحلول الأم يؤدي احتمال حدوث صعوبات مرتبطة بعدم توازن نسبة الاينوكيلوم / وسط (منع النمو البكتيري بتركيز كبير لمركبات المنتوج).

من أجل تجنب تضرر الأحياء الدقيقة بالتغيرات المفاجئة لدرجة الحرارة، يجب أن تكون درجة حرارة المخفف خلال العمليات المذكورة أعلاه قريبة من درجة حرارة الوسط ما عدا في المنتوجات الخاصة.

يجانس الخليط.

إذا لزم الأمر، تترك الجزيئات الكبيرة تترسب لمدة 15 دقيقة على الأكثر كما يمكن استعمال أجهزة التشريح المكافئة.

في حالة حساب الأبواغ، يجب أن يسخن مباشرة المحلول الأم (مثلا 80° م على الأقل لمدة 10 دقائق) بعد تحضيره ويتبع بتبريد سريع.

6 . 2 التخفيفات العشرية التي تلي :

ينقل، بواسطة ماصة معقمة (6.4) وبارتياب قياسي ± 5%، 1 ملل من المحلول الأم في أنبوب يحتوي على 9 ملل من المخفف في درجة حرارة مناسبة.

ملاحظة : إذا كان الأمر يستلزم حجما كبيرا، فيمكن أن يضاف حجم محدد من المحلول الأم (أكثر من 1ملل)، بارتياب قياسي ± 5%، في حوجلة (4.4) تحتوي على 9 مرات من حجم المخفف المعقم.

من أجل تدقيق أفضل، لا تدخل الماصة في المحلول الأم أكثر من 1 سم.

يجب تجنب كل اتصال بين الماصة (6.4) المحتوية على الاينوكيلوم والمخفف المعقم.

تخلط العينة المأخوذة للتجربة و المخفف بعناية باستعمال رجاج ميكانيكي (3.4) ومن الأفضل لمدة خمس إلى عشر ثوان للحصول على تخفيف 10-2.

إذا لزم الأمر، تعاد هذه العمليات على التخفيف 10-2 والتخفيفات العشرية الموالية باستعمال ماصة جديدة معقمة لكل تخفيف من أجل الحصول على التخفيفات 10^{-3}، 10^{-4} .....الخ وذلك إلى غاية الحصول على عدد مناسب من الأحياء الدقيقة.

3 . 6 مدة العمليات

يجب ألاّ يتجاوز الوقت الجاري بين نهاية تحضير المحلول الأم ولحظة اتصال الاينوكيلوم بوسط الزرع، 45 دقيقة مع تحديد 30 دقيقة كزمن فاصل بين تحضير المحلول الأم (1.6) وبداية تحضير التخفيفات العشرية الموالية.

ملاحظة : إذا كانت درجة حرارة وسط المخبر عالية جدا، يجب تقليص هاتين المدتين القصويين.

وزارة التجـارة

قرار مؤرّخ في 21 رجب عام 1435 الموافق 21 مايو سنة 2014 ، يجعل منهج إحصاء الستافيلوكوك ذات إنزيم تخثر موجب إجباريا (ستافيلوكوكوس أوريوس وأنواع أخرى).

إنّ وزير التّجارة،

– بمقتضى المرسوم الرّئاسيّ رقم 14–154 المؤرّخ في 5 رجب عام 1435 الموافق 5 مايو سنة 2014 والمتضمّن تعيين أعضاء الحكومة،

– وبمقتضى المرسوم التّنفيذيّ رقم 90–39 المؤرّخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990 والمتعلّق برقابة الجودة وقمع الغش، المعدّل والمتمّم،

– وبمقتضى المرسوم التّنفيذيّ رقم 02–453 المؤرّخ في 17 شوّال عام 1423 الموافق 21 ديسمبر سنة 2002 الذي يحدّد صلاحيات وزير التّجارة،

– وبمقتضى المرسوم التّنفيذيّ رقم 05–465 المؤرّخ في 4 ذي القعدة عام 1426 الموافق 6 ديسمبر سنة 2005 والمتعلّق بتقييم المطابقة،

– وبمقتضى القرار المؤرّخ في 14 صفر عام 1415 الموافق 23 يوليو سنة 1994 والمتعلّق بالمواصفات الميكروبيولوجية لبعض المواد الغذائية، المعدّل والمتمّم،

يقرّر ما يأتي :

المادّة الأولى : تطبيقا لأحكام المادّة 19 من المرسوم التّنفيذيّ رقم 90–39 المؤرّخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990، المعدّل والمتمّم والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج إحصاء الستافيلوكوك ذات إنزيم تخثر موجب إجباريا.

المادّة 2 : من أجل إحصاء الستافيلوكوك ذات إنزيم تخثر موجب، فإن مخابر مراقبة الجودة وقمع الغش والمخابر المعتمدة لهذا الغرض، ملزمة باستعمال المنهج المبين في الملحق المرفق بهذا القرار.

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

المادّة 3 : ينشر هذا القرار في الجريدة الرّسميّة للجمهوريّة الجزائريّة الديمقراطيّة الشّعبيّة.

حرّر بالجزائر في 21 رجب عام 1435 الموافق 21 مايو سنة 2014.

عمارة بن يونس

الملحق

منهج أفقي لإحصاء ستافيلوكوكوس ذات إنزيم تخثر موجب

(ستافيلوكوكوس أوريوس وأنواع أخرى)

(تقنية تستعمل وسط هلامي لـ بارد باركر وإدخال معطيات الدقة)

يحدّد هذا المنهج تقنية أفقية لإحصاء ستافيلوكوكوس ذات أنزيم تخثر موجب في المواد الموجهة للاستهلاك البشري أو لتغذية الحيوانات عن طريق حساب المستعمرات المتحصل عليها في الوسط الصلب (وسط بارد باركر) ((Baird - ParKer بعد التحضين في وسط هوائي في 35°م أو 37° م).

1 – مصطلحات وتعاريف :

لمتطلبات هذا المنهج تطبق المصطلحات والتعاريف الآتية :

1.1 – ستافيلوكوكوس ذات أنزيم تخثر موجب، بكتيريا تشكل مستعمرات مميزة و/ أو غير مميزة على سطح وسط الزرع الانتقائي وتعطي تفاعل موجب لأنزيم التخثر عندما تجرى التجربة حسب هذا المنهج.

2.1 – إحصاء ستافيلوكوكوس ذات أنزيم تخثر موجب، تحديد عدد ستافيلوكوكوس ذات أنزيم تخثر موجب، الموجودة في الميليليتر أو في الغرام من العينة عند إجراء التجربة حسب هذا المنهج.

2 – المبدأ

1.2 – الزرع على السطح لوسط هلامي انتقائي مسكوب في سلسلتين من العلب مع كمية محدودة من عينة التجربة إذا كانت المادة المراد فحصها سائلة، أو المحلول الأم في حالة المواد الأخرى.

الزرع وفي نفس الشروط لتخفيفات عشرية متحصل عليها انطلاقا من عينة التجربة أو المحلول الأم بمقدار علبتين لكل تخفيف.

2.2 – التحضين : تحضين هذه العلب في 35°م أو 37°م (يشار إلى درجة الحرارة في كشف التحاليل) في وسط هوائي والفحص بعد 24 ساعة و48 ساعة.

3.2 – حساب عدد ستافيلوكوك ذات أنزيم تخثر موجب في الميليلتر أو في الغرام من العينة، انطلاقا من عدد المستعمرات المميزة و/ أو غير المميزة المتحصل عليها في العلب المقبولة من التخفيفات التي أعطت نتيجة ممثلة ومؤكدة بنتيجة موجبة لتجربة أنزيم التخثر.

3 – المخفف وأوساط الزرع :

1.3 – المخفف :

أنظر منهج تحضير العينات، المحلول الأم والتخفيفات العشرية قصد الفحص الميكروبيولوجي – القواعد العامة لتحضير المحلول الأم والتخفيفات العشرية.

2.3 – وسط هلامي لبارد باركر (الوسط الهلامي هو محلول بارد باركر بإضافة السولفاميزاتين، عند الشك في وجود البروتيوس.

ملاحظة : يمكن استعمال أوساط تباع في السوق وفي هذه الحالة يجب الاتباع الصارم لتعليمات المصنّع.

1.2.3 – الوسط الأساسي :

1.1.2.3 – التركيب :

خلاصة الهضم البنكرياسي للكازيين..... 10غ

مستخلص الخميرة..... 1غ

مستخلص اللحم..... 5غ

بيروفات الصوديوم..... 10غ

L – غليسين..... 12غ

كلورور الليتيوم..... 5غ

أغار – أغار..... من 12 إلى 22غ أ)

الماء، للحصول على الحجم النهائي يقدر بـ 1000 ملل.

أ) (حسب قدرة التهلم للأغار – أغار)

2.1.2.3 – التحضير :

تذوب المركبات أو الوسط الكامل المجفف في الماء وتوضع للغليان. إذا كان ضروريا، يعدل العامل الهيدروجيني (pH) بحيث يصبح بعد التعقيم، 7,2 ± 0,2 في 25° م.

يوزع الوسط بكميات تقدر بـ 100 ملل في قارورات أو حوجلات (5.4) ذات سعة مناسبة.

يعقم الوسط في 121° م لمدة 15 دقيقة.

2.2.3 – المحاليل :

1.2.2.3 – محلول تيلوريت البوتاسيوم :

1.1.2.2.3 – التركيب :

تيلوريت البوتاسيوم (K_2TeO_3) أ).....1 غ

ماء .....100 ملل

أ) : يوصي بالتأكد مسبقا بأن تيلوريت البوتاسيوم المتوفر لدينا يناسب هذه التجربة (2.1.2.2.3).

2.1.2.2.3 – التحضير :

يذوب تيلوريت البوتاسيوم بالكامل في الماء ويسخن أقصى ما يمكن.

يجب أن يكون المسحوق سريع الذوبان وإذا وجد مركب أبيض غير ذائب في الماء فلا يأخذ هذا المسحوق.

يعقم بالترشيح على أغشية نفاذيتها 0,22 ميكرومتر.

يمكن حفظ المحلول، شهرا على الأكثر في +3°م ± 2°م

ويستبعد المحلول إذا تشكل راسب أبيض.

2.2.2.3 – مستحلب صفار البيض (في تركيز 20% تقريبا أو حسب تعليمات المصنّع).

ملاحظة : إذا توفر المستحضر التجاري من المستحسن استعماله.

يستعمل بيض دجاج طازج ذو قشرة كاملة. ينظف البيض بمشط بواسطة مطهر سائل.

يغسل بالماء الجاري ثم تعقم القشور إما بغمرها في الإيثانول ذي 70% (جزء حجمي) لمدة 30 ثانية وتركها تجف بالهواء وإما برشها بالكحول متبوع بلهب.

بإجراء العملية بطريقة معقمة، تكسر كل بيضة ويفصل الصفار عن البياض بالنقل المتكرّر لصفار البيض من نصف القشرة إلى أخرى. يوضع صفار البيض في قارورة معقمة (5.4) ويضاف إليه أربع مرات من حجمه ماء معقم. تخلط بشدة. يسخن الخليط في حمام مائي (4.4) مضبوط في 47°م لمدة ساعتين ويوضع في +3°م ± 2°م لمدة 18 إلى 24 ساعة من أجل السماح بتشكل راسب. يجمّع بطريقة معقم السائل الذي يطفو في قارورة معقمة حديثا من أجل الاستعمال.

يمكن حفظ المستحلب في مدة أقصاها 72 ساعة لعينة التجربة في ± 3°م ± 2°م.

3.2.2.3 – محلول سولفاميزاتين (سولفاميتازين، سولفاديمدين) :

ملاحظة : يستعمل المحلول فقط في حالة الشك في وجود أنواع من البروتيوس في عينة التجربة.

1.3.2.2.3 – التركيب :

سولفاميزاتين 0,2غ

محلول هيدروكسيد الصوديوم c(NaOH) ذو 0,1 مول/ل.....10 ملل

ماء .....90 ملل

2.3.2.2.3 – التحضير :

يذوب السولفاميزاتين في محلول هيدروكسيد الصوديوم.

– يكمل الحجم بالماء إلى 100 ملل.

– يعقم بالترشيح على أغشية نفاذيتها 0,22 ميكرومتر.

يمكن حفظ المحلول شهرا على الأكثر في +3°م ± 2°م.

3.2.3 – وسط كامل :

1.3.2.3 – التركيب :

الوسط الأساسي (1.2.3) 100ملل

محلول تيلوريت البوتاسيوم (1.2.2.3) 1ملل

مستحلب صفار البيض (2.2.2.3) .....5 ملل

محلول السولفاميزاتين (3.2.2.3)

إذا كان ضروريا) ..... 2,5 ملل

2.3.2.3 – التحضير :

يذوب الوسط الأساسي، ثم يبرد في 47°م تقريبا في حمام مائي (4.4).

يضاف بصفة معقمة، المحلولين الآخرين (1.2.2.3) و(2.2.2.3) وإذا كان ضروريا (إذا اشتبهنا في وجود أنواع البروتيوس في عينة التجربة)، محلول سولفاميزاتين (3.2.2.3)، كل محلول تم تسخينه مسبقا في حمام مائي في 47°م، بالخلط بعناية بعد كل إضافة.

4.2.3 – تحضير علب الوسط الهلامي :

تسكب الكمية اللازمة من الوسط الكامل (3.2.3) في علب بيتري معقمة بحيث نتحصل فيها على سمك الهلام يساوي 4 مم، ويترك ليتجمد.

يمكن حفظ العلب قبل التجفيف خلال 24 ساعة على الأكثر في +3°م ± 2°م.

ملاحظة : يجب اتباع تعليمات المصنّع، فيما يخص مدة حفظ العلب المحضرة صناعيا.

يفضل تجفيف العلب قبل الاستعمال، برفع الغطاء عنها ويكون سطح الهلام متجها نحو الأسفل في جهاز تجفيف مضبوط في 25°م و50°م وذلك حتى زوال القطرات الموجودة على سطح الوسط.

3.3 – مرق قلب – مخ :

1.3.3 – التركيب :

مستحضر هضم أنزيمي لأنسجة حيوانية..... 10غ

مستخلص مجفف من مخ العجل..... 12,5 غ

مستخلص مجفف من قلب البقر..... 5 غ

سكر عنب..... 2 غ

كلورور الصوديوم..... 5 غ

هيدروجينو - أورتوفوسفات ثنائي الصوديوم خال من الماء

(Na2HPO4).....2,5 غ

ماء.....1000 ملل

2.3.3 – التحضير :

تذوب المركبات أو الوسط الكامل المجفف في الماء وذلك بالتسخين إذا كان ضروريا.

يعدل العامل الهيدروجيني (pH) بحيث يصبح بعد التعقيم، 7,4 ± 0,2 في 25°م.

يوزع بوسط الزرع بكميات تقدر بـ5 ملل إلى 10 ملل في أنابيب أو حوجلات (4.5) ذات سعة مناسبة.

يعقم الوسط في 121°م لمدة 15د.

4.3 – بلازما الأرنب :

تستعمل بلازما الأرنب المجففة المتوفرة في السوق ويعاد تمييهها حسب تعليمات المصنّع.

إذا كان من غير الممكن الحصول على بلازما الأرنب المجففة، تخفف بلازما الأرنب الطازجة والمعقمة في حجم واحد لـ 3 أحجام من الماء المعقم.

إذا استعمل سيترات البوتاسيوم أو سيترات الصوديوم كمضاد التخثر للبلازما، يضاف محلول حمض الإيثلين ثنائي أمين رباعي أستيك (الـ EDTA) بطريقة نتحصل فيها على 0,1% من EDTA في البلازما المعاد تجفيفها أو المخففة (لا يتطلب البلازما المضاف إليه الأكزالات أو الهيارين، محلول الـ EDTA).

في حالة غياب تعليمات المصنّع، يجب استعمال البلازما المجففة أو المخففة فورا.

قبل الاستعمال، تراقب كل حصة من البلازما مع أصناف ستافيلوكوكوس ذات إنزيم تخثر موجب وأخرى ذات إنزيم تخثر سالب.

4 – التجهيزات والأدوات الزجاجية

ملاحظة : تقبل الأجهزة ذات استعمال واحد بما في ذلك الأدوات الزجاجية القابلة للاستعمال، بشرط أن تكون خصائصها ملائمة.

أجهزة عادية للمخبر الميكروبيولوجي خاصة ما يأتي.

1.4 – جهاز للتعقيم في حرارة جافة (فرن) وفي حرارة رطبة (جهاز التعقيم).

2.4 – جهاز التجفيف، يسمح بتثبيت الأوساط المزروعة، العلب ،القارورات في الداخل في درجة حرارة 35°م ± 1°م أو في 37°م ± 1°م.

3.4 – غرفة التجفيف أو جهاز التجفيف، الذي يمكن تثبيته في درجة حرارة بين 25°م ± 1°م و50°م ± 1°م.

4.4 – حمام مائي، أو جهاز مشابه معدل في 47°م ± 2°م.

5.4 – أنابيب اختبار أو قارورات أو حوجلات بسدادات لولبية سعتها تلائم عملية التعقيم وحفظ أوساط الزرع وتحضين الأوساط السائلة، خاصة الأنابيب المعقمة المستعملة في انحلال الدم، أو قارورات ذات قاع دائري أبعادها 10 مم و75 مم تقريبا.

6.4 – علب بيتري، معقمة من زجاج أو من مادة بلاستيكية.

7.4 – سلك مستقيم، وماصات باستور.

8.4 – ماصات مدرجة ذات سيلان كامل، سعتها على التوالي 1 ملل، 2 ملل و10 ملل ومدرجة في 0,1 ملل و0,5 ملل.

9.4 – ناشر، معقم من زجاج أو من مادة بلاستيكية.

10.4 – جهاز قياس العامل الهيدروجيني (pH)، له قراءة بتدقيق ± 0,01 وحدة الـ pH في 25°م ويسمح بإنجاز قياسات دقيقة في ± 0,1 وحدة الـ pH.

5 – اقتطاع العينات

يجب أن يجرى اقتطاع وتحضير العينات في شروط مناسبة.

من المهم جدا أن يستقبل المخبر عينة ممثلة، غير متلفة أو تتغير أثناء النقل والتخزين.

6 – طريقة العمل :

1.6 – العينة المأخوذة للتجربة، المحلول الأم والتخفيفات

أنظر منهج تحضير العينات، المحلول الأم والتخفيفات العشرية قصد الفحص الميكروبيولوجي – القواعد العامة لتحضير المحلول الأم والتخفيفات العشرية.

2.6 – الزرع :

1.2.6 – بواسطة ماصة معقمة (8.4) ينقل 0,1 ملل من عينة التجربة إذا كان سائلا أو 0,1 ملل من المحلول الأم (تخفيف 10–1) بالنسبة للمواد الأخرى، إلى سطح علبتي الوسط الهلامي (4.2.3).

تعاد العملية بتخفيف 10–2 والتخفيفات الموالية إذا كان ضروريا.

2.2.6 – بالنسبة لبعض المواد وإذا كان من الضروري إجراء تقدير لأعداد صغيرة من الستافيلوكوك ذات إنزيم تخثر موجب، يمكن رفع حدود الإحصاء بقوة 10 بزرع 1 ملل من عينة التجربة إذا كانت سائلة أو 1 ملل من المحلول الأم بالنسبة للمواد الأخرى، إما على سطح علبة كبيرة (140 مم) من الوسط الهلامي وإما على سطح ثلاث (3) علب صغيرة (90 مم) من الوسط الهلامي. تجرى هذه العمليات في كلتا الحالتين مرتين بطريقة نتحصل فيها على علبتين كبيرتين أو ست علب صغيرة.

3.2.6 – ينشر الإينوكيلوم بعناية وبأكبر سرعة ممكنة على سطح الوسط الهلامي مع تجنب لمس أطراف العلبة بالناشر (9.4). تترك العلب لتجف بأغطيتها لمدة 15 دقيقة قي درجة حرارة المحيط.

3.6 – التحضين :

تقلب العلب المحضرة حسب (3.2.6) وتحضن لمدة 24 سا ± 2 سا ثم يعاد تحضينها لمدة 24 سا ± 2 سا إضافية في جهاز التجفيف (2.4) في 35°م أو في 37°م (يشار إلى درجة الحرارة في كشف التحليل).

4.6 – انتقاء العلب والتفسير :

1.4.6 – بعد 24 سا ± 2 سا من التحضين، يؤشر على قاع العلب مواقع المستعمرات المميزة المحتمل وجودها (الملاحظة 1).

تحضن من جديد كل العلب في 35°م أو 37°م

(يشار إلى درجة الحرارة في كشف التحليل) لمدة 24 سا ± 2 سا إضافية ويؤشر على المستعمرات المميزة الجديدة. كذلك يؤشر على المستعمرات غير المميزة المحتمل وجودها (الملاحظة 2).

بالنسبة للإحصاء لا تقبل إلا العلب التي تحتوي على 300 مستعمرة على الأكثر بحيث تكون 150 مستعمرة مميزة و/ أو غير مميزة على مستوى تخففين متتاليين. يجب أن تحتوي إحدى العلب على 15 مستعمرة على الأقل.

نختار من أجل التأكد (5.6) عدد محدد A (على العموم، 5 مستعمرات مميزة إذا لم توجد إلا المستعمرات المميزة أو 5 مستعمرات غير مميزة إذا لم توجد إلا المستعمرات المميزة أو 5 مستعمرات مميزة و5 مستعمرات غير مميزة إذا كان النوعان موجودين انطلاقا من كل علبة).

– يمكن إجراء تقدير كما هو مبين في (3.4.6) وفي (2.7) إذا كانت على الأقل 15 مستعمرة مميزة و/ أو غير مميزة على العلب المزروعة بمادة سائلة غير مخففة أو بتخفيف أضعف بالنسبة للمواد الأخرى.

ملاحظة 1 :

تكون **المستعمرات المميزة،** سوداء أو رمادية ولّماعة ومحدّبة (قطرها يساوي 1 مم إلى 1,5 مم بعد 24 سا من التحضين و1,5 مم إلى 2,5 مم بعد 48 سا من التحضين) ومحاطة بدائرة واضحة يمكن أن تكون كثيفة جزئيا. بعد 24 ساعة من التحضين على الأقل يمكن ظهور حلقة عائمة في هذه المنطقة الواضحة تتصل مباشرة بالمستعمرات.

ملاحظة 2 :

المستعمرات غير المميزة، لها نفس حجم المستعمرات المميزة ويمكنها أن تظهر على الشكل التالي :

– مستعمرات سوداء ولمّاعة لها حافة بيضاء ضيّقة أم لا مع غياب المنطقة الواضحة والحلقة العاتمة أو ظهورهما بشكل طفيف.

– مستعمرات رمادية عديمة المنطقة الواضحة.

تتشكل المستعمرات غير المميزة خاصة من الأصناف الملوثة من شتافيلوكوك ذات إنزيم تخثر موجب مثل الحليب ومشتقاته، الجمبري، الأحشاء. أصناف ستافيلوكوك ذات إنزيم تخثر موجب هي الأقل تلويثا للمنتوجات الأخرى.

ملاحظة 3 :

المستعمرات الأخرى هي تلك المحتمل وجودها في العلب التي ليست لها المظهر المبين في الملاحظتين 1 و2 بالنسبة للمستعمرات المميزة وغير المميزة. تعتبر هذه المستعمرات كتكاثر ملحق.

2.4.6 – إذا وزع 1 ملل من الإينوكيلوم على ثلاث علب (2.2.7) تجرى عمليات الإحصاء والتأكد على جميع هذه العلب باعتبارها علبة واحدة.

3.4.6 – من أجل تقدير الأعداد الصغيرة لستافيلوكوك ذات إنزيم تخثر موجب، يحتفظ بالعلب التي تحتوي على مستعمرات مميزة وغير مميزة. تأخذ كل المستعمرات للتأكد على ألا تتجاوز الحدود المبينة أعلاه.

5.6 – التأكد (البحث عن إنزيم التخثر).

يقتطع كل قسم من عينة منتقاة (4.6) بواسطة سلك معقم (7.4) ويزرع في أنبوب أو في قارورة مرق قلب – مخ (3.3).

يحضن في 35°م أو في 37°م (يشار إلى درجة الحرارة في كشف التحليل) لمدة 24 ساعة ± 2 ساعة.

يضاف بصفة معقمة 0,1 ملل من كل زرع إلى 0,3 ملل من بلازما الأرنب (4.3) (إلا إذا حددت كميات أخرى من طرف المصنّع) في أنابيب معقمة تستعمل لانحلال الدم أو قارورات (المذكورة في 5.4) وتحضينها في 35°م أو في 37°م (يشار إلى درجة الحرارة في كشف التحليل).

مع إمالة الأنبوب، يفحص تخثر البلازما بعد أربع ساعات إلى 6 ساعات من التحضين وإذا كان الاختبار سالبا، يعاد الفحص بعد 24 ساعة من التحضين، أو يفحص بعد وقت التحضين الذي يوصي به المصنّع.

يعتبر تفاعل إنزيم التخثر موجبا، إذا احتلت الخثارة مساحة أكثر من نصف الحجم المشغول سابقا من طرف السائل.

في إطار مراقبة سلبية، يضاف لكل حصة بلازما، 0,1 ملل من مرق قلب – مخ معقم (3.3) إلى الكمية المطلوبة من بلازما الأرنب (4.3) وتحضن بدون عملية الزرع. من أجل أن يكون التفاعل صحيحا يجب ألا يظهر بلازما الأنبوب الشاهد علامات التخثر.

7 – تفسير النتائج :

1.7 – حالة عامة :

1.1.7 – حساب العدد α من ستافيلوكوك ذات إنزيم تخثر موجب معرفة لكل علبة متحصل عليها :

يحسب لكل واحدة من العلب، العدد a من ستافيلوكوك ذات إنزيم تخثر موجب معرفة حسب المعادلة التالية :

$$\alpha = \frac{bc}{A_c} \times C_c + \frac{b_{nc}}{A_{nc}} \times C_{nc}$$

بحيث :

A_c : عدد المستعمرات المميزة الخاضعة لاختبار إنزيم التخثر (5.6)،

A_{nc} : عدد المستعمرات غير المميزة الخاضعة لاختبار إنزيم التخثر (5.6)،

b_c : عدد المستعمرات المميزة التي أظهرت اختبار إيجابي لإنزيم التخثر.

b_{nc} : عدد المستعمرات غير المميزة التي تستجيب لاختبار أنزيم التخثر بالإيجاب،

C_c : العدد الإجمالي للمستعمرات المميزة المؤشرة على العلب (4.6)،

C_{nc} : العدد الإجمالي للمستعمرات غير المميزة المؤشرة على العلب (4.6)،

يتمم العدد a إلى عدد كامل.

2.1.7 – حساب العدد N من الستافيلوكوك المعرفة ذات إنزيم تخثر موجب الموجودة في العلبة المأخوذة للتجربة.

بالنسبة للعلب التي تحتوي على 300 مستعمرة على الأكثر حيث 150 منها مميزة و/ أو غير مميزة لتخفيفين متتاليين، يحسب عدد ستافيلوكوك ذات إنزيم تخثر موجب لكل علبة كما هو مبين في (1.1.7) ويحسب العدد N من الستافيلوكوك المعرفة ذات إنزيم تخثر موجب الموجودة في عينة التجربة كمعدل متوازن انطلاقا من تخفيفين متتاليين عن طريق المعادلة الآتية :

$$N = \frac{\sum \alpha}{V\,(n_1 + 0{,}1 n_2)\,d}$$

حيث :

$\sum \alpha$: مجموع مستعمرات الستافيلوكوك ذات إنزيم تخثر موجب على جميع العلب المحتفظ بها.

V : حجم الإينوكيلوم المطبق على كل علبة بالميليلتر.

n1 : عدد العلب المحتفظ بها في التخفيف الأول،

n2 : عدد العلب المحتفظ بها في التخفيف الثاني،

d : نسبة التخفيف المقابل للتخفيف الأول المحتفظ بها (يعتبر المحلول الأم كتخفيف).

يتمم العدد على شكل رقمين ممثلين للنتائج المتحصل عليها.

تسجل النتيجة بعدد ستافيلوكوك ذات إنزيم التخثر موجب في الميليلتر (مادة سائلة) أو في الغرام (مواد أخرى، معبر عنها بعدد يتراوح بين 1 و9,9 مضروب في 10^x حيث x القوة المناسبة لـ 10.

3.1.7 – مثال : أعطي إحصاء مادة بعد زرع 0,1 ملل منها النتائج الآتية :

في التخفيف الأول المتحصل عليه $(2-_{10})$: 65 مستعمرة مميزة و85 مستعمرة مميزة (لا توجد أي مستعمرة غير مميزة)،

– في التخفيف الثاني المتحصل عليه $(3-_{10})$: 3 مستعمرات مميزة و7 مستعمرات مميزة لا توجد أي مستعمرة غير مميزة)،

– تم إعادة الزرع :

من بين 65 مستعمرة، ظهرت خمس (5) مستعمرات ذات إنزيم تخثر موجب أين $\alpha = 65$

من بين 85 مستعمرة، حيث خمس (5) مستعمرات ظهرت فيها ثلاث مستعمرات ذات إنزيم تخثر موجب أين $\alpha = 51$

من بين المستعمرات الثلاث، ظهرت ثلاث (3) مستعمرات ذات إنزيم تخثر موجب أين $\alpha = 3$

من بين المستعمرات السبع، ظهرت خمس (5) مستعمرات ذات إنزيم تخثر موجب أين $\alpha = 7$

$$N = \frac{65 + 51 + 3 + 7}{0{,}22 \times 10^{-2}} = 57272$$

النتيجة بعد إتمام العدد هي : $5{,}7 \times 10^4$

2.7 – تقدير الأعداد الصغيرة :

1.2.7 – إذا كانت العلبتين تحتوي كل واحدة منها على 15 مستعمرة على الأقل بالنسبة لعينة التجربة (مادة سائلة) أو المحلول الأم (مواد أخرى)، يعبر عن النتائج كالتالي :

أ) بالنسبة للمواد السائلة، يقدر عدد ستافيلوكوك ذات إنزيم تخثر موجب في الميليلتر.

$$N\alpha = \frac{\sum \alpha}{V \times 2}$$

حيث :

$\sum \alpha$: مجموع مستعمرات الستافيلوكوك المعرفة ذات إنزيم تخثر موجب (1.1.7) على العلبتين المحتفظ بهما،

V : الحجم المنشور على كل علبة.

ب) بالنسبة للمواد الأخرى، العدد المقدر لستافيلوكوك ذات إنزيم تخثر موجب في الغرام :

$$Ne = \frac{\sum \alpha}{V \times 2 \times d}$$

حيث :

$\sum \alpha$: مجموع مستعمرات الستافيلوكوك المعرفة ذات إنزيم تخثر موجب (1.1.7) على العلبتين المقبولتين.

d : نسبة تخفيف حجم محلول الأم،

V : الحجم المنشور على كل علبة.

2.2.7 – إذا كانت العلبتان لا تحتويان على أي مستعمرة من ستافيلوكوك ذات إنزيم تخثر موجب وإذا كان الزرع المجرى بـ 0,1 ملل من العينة بالنسبة لعينة التجربة (مادة سائلة) أو المحلول الأم (مواد أخرى)، يعبر عن النتائج (0,1 ملل من الإينوكيلوم على العموم) كالآتي :

– أقل من 10 ستافيلوكوك ذات إنزيم تخثر موجب في الميليلتر (مواد سائلة).

– أقل من 10/d ستافيلوكوك ذات إنزيم تخثر موجب في الغرام (مواد أخرى) حيث d هي كمية تخفيف المحلول الأم.

إذا أجري الزرع بـ 1 ملل من العينة، يعبر عن النتيجة كالآتي :

– أقل من ستافيلوكوك واحد ذات إنزيم تخثر موجب في الميليلتر (مواد سائلة)،

– أقل من 1/d ستافيلوكوك ذات إنزيم تخثر موجب في الغرام (مواد أخرى).

8 – الدقة :

1.8 – التكرارية :

لا يتجاوز الفرق المطلق بين نتيجتي تجربتين فرديتين، مستقلتين (محولة إلى لغ10) (عدد ستافيلوكوك ذات إنزيم تخثر موجب في الغرام أو في المليلتر) حيث تكون النسبة على سلم عادي، بين أعلى وأدنى لنتيجتي التجربة متحصل عليهما بمنهج واحد على مادة خاضعة للتجربة في نفس المخبر منجز من طرف نفس المجرب باستعمال نفس التجهيزات في مجال زمني قصير جدا، لا تزيد عن 5% من الحالات التي تجتاز حدود التكرارية.

2.8 – إعادة التجربة :

لا يتجاوز الفرق المطلق بين نتيجتي تجربتين فرديتين (محولة إلى لغ10) (عدد ستافيلوكوك ذات تخثر موجب في الغرام أو في الميليلتر) أين تكون النسبة على سلم عادي، بين أعلى وأدنى لنتيجتي التجربة متحصل عليهما بمنهج واحد على مادة خاضعة للتجربة في مخابر مختلفة منجزة من طرف عدة مجربين باستعمال تجهيزات مختلفة زيادة 5% من الحالات لحدود التكرارية مابين المخابر.

وزارة التجارة

قرار مؤرخ في 4 شوال عام 1435 الموافق 31 يوليو سنة 2014، يجعل المنهج الذي يستعمل الوسط الهلامي ببلازما الأرنب والفيبرينوجين لإحصاء الستافيلوكوك ذات أنزيم تخثر موجب إجباريا.

إن وزير التجارة،

– بمقتضى المرسوم الرئاسي رقم 14–154 المؤرخ في 5 رجب عام 1435 الموافق 5 مايو سنة 2014 والمتضمن تعيين أعضاء الحكومة،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 90–39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990 والمتعلق 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 05–465 المؤرخ في 4 ذي القعدة عام 1426 الموافق 6 ديسمبر سنة 2005 والمتعلق بتقييم المطابقة،

– وبمقتضى القرار المؤرخ في 14 صفر عام 1415 الموافق 23 يوليو سنة 1994 والمتعلق بالمواصفات الميكروبيولوجية لبعض المواد الغذائية، المعدل والمتمم،

يقرر ما يأتي :

المادة الأولى: تطبيقا لأحكام المادة 19 من المرسوم التنفيذي رقم 90–39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990، المعدل والمتمم والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل المنهج الذي يستعمل الوسط الهلامي ببلازما الأرنب و الفيبرينوجين لإحصاء الستافيلوكوك ذات أنزيم تخثر موجب إجباريا.

المادة 2 : من أجل إحصاء الستافيلوكوك ذات أنزيم تخثر موجب ، فإن مخابر مراقبة الجودة وقمع الغش والمخابر المعتمدة لهذا الغرض، ملزمة باستعمال المنهج المبين في الملحق المرفق.

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 4 شوال عام 1435 الموافق 31 يوليو سنة 2014.

عمارة بن يونس

الملحق

المنهج الذي يستعمل الوسط الهلامي ببلازما الأرنب والفيبرينوجين لإحصاء الستافيلوكوك ذات أنزيم تخثر موجب

يحدد هذا المنهج تقنية لإحصاء الستافيلوكوك ذات أنزيم تخثر موجب (ستافيلوكوكوس أوريوس وأصناف أخرى) في المواد الموجهة للاستهلاك البشري أو التغذية الحيوانية، بإحصاء المستعمرات المتحصل عليها في وسط صلب (وسط يحتوي على بلازما الأرنب والفيبرينوجين) بعد التحضين في الشروط الهوائية في 35° م أو 37° م.

1. مصطلحات و تعاريف

لاحتياجات هذا المنهج، تطبق المصطلحات والتعاريف الآتية.

1.1 ستافيلوكوك ذات أنزيم تخثر موجب

تشكل هذه البكتيريا مستعمرات مميزة في وسط هلامي انتقائي يحتوي على بلازما الأرنب والفيبرينوجين، عندما تنجز التجربة حسب التقنية المحددة في هذا المنهج.

2.1 إحصاء الستافيلوكوك ذات أنزيم تخثر موجب

تحديد عدد الستافيلوكوك ذات أنزيم تخثر موجب الموجود في الميليلتر أو الغرام من العينة، عندما تنجز التجربة حسب التقنية المحددة في هذا المنهج.

2. المبدأ

1.2 تزرع في عمق وسط هلامي يحتوي على بلازما الأرنب و الفيبرينوجين، مسكوب في علبتي بتري، كمية محددة من عيّنة التجربة إذا كانت المادة سائلة أو كمية محددة من المحلول الأم في حالة المواد الأخرى.

في نفس الشروط، تزرع التخفيفات العشرية المتحصل عليها انطلاقا من عينة التجربة أو من المحلول الأم ، بمعدل علبتين لكل تخفيف.

2.2 تحضن هذه العلب في 35° م أو 37° م لمدة 18 إلى 24 ساعة و إذا اقتضى الأمر، لمدة 24 ساعة إضافية.

3.2 يحسب عدد الستافيلوكوك ذات أنزيم تخثر موجب انطلاقا من عدد المستعمرات المميزة لكل علبة بتري في ميليلتر أو في غرام من عيّنة التجربة.

3. المخفف و أوساط الزرع

1.3 المخفف

يستند إلى القواعد العامة لتحضير المحلول الأم والتخفيفات العشرية قصد الفحص الميكروبيولوجي.

2.3 وسط هلامي يحتوي على بلازما الأرنب والفيبرينوجين.

ملاحظة – يمكن استعمال أوساط متوفرة في السوق مطابقة لمواصفات هذا المنهج. غير أنه و نظرا للتنوع الملاحظ في حصص المضاف المصنعة، ينصح بفحص كل حصة من محلول فيبرينوجين البقر وبلازما الأرنب، قبل الاستعمال وذلك بالقيام بمراقبات إيجابية وسلبية.

1.2.3 الوسط الأساسي

أنظر منهج إحصاء الستافيلوكوك ذات أنزيم تخثر موجب (ستافيلوكوكوس اوريوس وأصناف أخرى) وهي تقنية يستعمل فيها الوسط الهلامي لـ بارد– باركر (Baird-Parker) باستثناء توزيع الوسط الأساسي، بكمية 90 ملل في كل قارورة.

2.2.3 المحاليل

1.2.2.3 محلول تلوريت البوتاسيوم

يحضر محلول تلوريت البوتاسيوم كما هو مبين في المنهج الأفقي لإحصاء الستافيلوكوك ذات أنزيم تخثر موجب (ستافيلوكوكوس اوريوس وأصناف أخرى) وهي تقنية يستعمل فيها الوسط الهلامي لـ بارد– باركر(Baird-Parker).

2.2.2.3 محلول فيبرينوجين البقر

1.2.2.2.3 التركيب

فيبرينوجين البقر.....5غ إلى 7غ

(حسب نقاوة فيبرينوجين البقر)

ماء معقم..... 100 ملل

2.2.2.2.3 التحضير

يذوب فيبرينوجين البقر بنقاوة في الماء مباشرة قبل الاستعمال.

3.2.2.3 محلول بلازما الأرنب و مانع التريبسين

1.3.2.2.3 التركيب

بلازما الأرنب مع EDTA للتخثر (بلازما التخثر EDTA)

..... 30 ملل

مانع التريبسين..... 30 ملغ

2.3.2.2.3 التحضير

تذوب المكونات بنقاوة في الماء مباشرة قبل الاستعمال.

3.2.3 الوسط الكامل

1.3.2.3 التركيبة

الوسط الأساسي (1.2.3).....90 ملل

محلول تلوريت البوتاسيوم (1.2.2.3).....0,25 ملل

محلول فيبرينوجين البقر (2.2.2.3).....7,5 ملل

محلول بلازما الأرنب ومانع التريبسين (3.2.2.3)..2,5 ملل.

2.3.2.3 التحضير

يذوب الوسط الأساسي، ثم يترك ليبرد في 48°م ± 1° م في حمام مائي (3.4).

تضاف بطريقة معقمة المحاليل الثلاثة، المسخنة مسبقا في 48° م ± 1° م في حمام مائي، وبعد كل إضافة يخلط بعناية بالدوران، للتقليل من تشكل رغوة.

يستعمل الوسط الكامل مباشرة بعد تحضيره، لتجنب ترسب البلازما.

ملاحظة – في حالة استعمال محلول متوفر في السوق من فيبرينوجين البقر وبلازما الأرنب، تحترم تعليمات المصنّع بدقة لتحضير هذا المحلول والوسط الكامل (لاسيما درجة حرارة وسط الأساس) وإلا، يمكن للوسط أن يفقد نشاطه كليا.

3.3 تحضير علب الوسط الصلب (الهلامي)

أنظر المنهج الأفقي لإحصاء الستافيلوكوك ذات أنزيم تخثر موجب (ستافيلوكوكوس اوريوس وأصناف أخرى) وهي تقنية يستعمل فيها الوسط الهلامي لـ بارد– باركر (Baird-Parker).

4. التجهيزات و الأدوات الزجاجية

ملاحظة – يسمح باستخدام أدوات ذات استعمال وحيد على غرار الأدوات الزجاجية التي تستعمل لعدة مرات بشرط أن تكون مواصفاتها مناسبة.

الأدوات المستعملة في مخبر الميكروبيولوجيا ولا سيما ما يأتي :

1.4 جهاز للتعقيم بالحرارة الجافة (فرن) وبالحرارة الرطبة (جهاز التعقيم)،

2.4 جهاز التجفيف، يسمح بحفظ الأوساط المزروعة، العلب والقارورات في درجة حرارة من 35 °م ± 1°م أو 37°م ± 1°م.

3.4 حمام مائي أو جهاز مشابه يمكن ضبطه في 48°م ± 1°م.

4.4 علب بتري معقمة من الزجاج أو من مادة بلاستيكية.

5.4 ماصات مدرجة ذات تدفق كلي، سعتها 1ملل، 2 ملل و10 ملل، مدرجة على الترتيب في 0,1 ملل و0,1 ملل و 0,5 ملل.

5. اقتطاع العيّنات

من الضروري أن يحصل المخبر على عيّنة ممثلة، غير متلفة ولم تتغير أثناء النقل والتخزين.

6. تحضير العيّنة للتجربة

تحضر العيّنة للتجربة طبقا لمنهج تحضير العينات، والمحلول الأم والتخفيفات العشرية قصد الفحص الميكروبيولوجي.

7. طريقة العمل

1.7 العينة المأخوذة للتجربة، المحلول الأم والتخفيف

أنظر منهج تحضير العيّنات، المحلول الأم والتخفيفات العشرية قصد الفحص الميكروبيولوجي.

2.7 الزرع و التحضين

1.2.7 تؤخذ علبتي بتري معقمتين (4.4). يوضع في كل واحدة منهما باستعمال ماصة معقمة (5.4) 1 ملل من العينة المأخوذة للتجربة إذا كانت المادة سائلة أو 1ملل من المحلول الأم بالنسبة للمواد الأخرى.

تؤخذ علبتا بتري أخريان معقمتان، يوضع في كل منهما 1 ملل من التخفيف العشري الأول.

تعاد هذه العمليات مع تخفيفات متتالية باستعمال ماصة معقمة جديدة لكل تخفيف عشري.

2.2.7 يسكب في الحين الوسط الكامل (3.2.3) المستعمل في كلتا علبتي بتري (1.2.7) (يجب ألا يحفظ متبلورا)، بحيث نتحصل على سمك يقدر بحوالي 3 ملم.

يخلط التطعيم في وسط الزرع بعناية و يترك ليتجمد بوضع علب بتري فوق سطح بارد وأفقي.

3.2.7 بعد التجمد الكامل للوسط، تقلب العلب المحضرة وتحضن في جهاز التجفيف (2.4) مضبوط في درجة حرارة 35°م أو 37°م لمدة 18 سا إلى 24 سا وإذا استلزم الأمر يعاد تحضينها لمدة 18 سا إلى 24 سا إضافية.

3.7 حساب المستعمرات

بعد مدة من التحضين (3.2.7) تشكل الستافيلوكوك مستعمرات صغيرة سوداء أو رمادية أو حتى بيضاء، محاطة بهالة من الترسب تدل على نشاط التخثر. يمكن لمستعمرات البروتيوس أن تشكل في بداية التحضين مظهرا مماثلا لمستعمرات الستافيلوكوك ذات أنزيم تخثر موجب. غير أنه بعد التحضين لمدة 24 سا أو 48 سا تؤخذ المستعمرات مظهر بساط أسمر نوعا ما واجتياحي مما يسمح بتمييزها عن الستافيلوكوك.

يتم إحصاء المستعمرات المميزة لكل علبة.

ملاحظة – بما أن الوسط الهلامي ببلازما الأرنب والفيبرينوجين مبني على تفاعل التخثر فليس من الضروري تأكيد هذا النشاط.

8. التعبير عن النتائج

1.8 حالة عامة

تؤخذ بعين الاعتبار العلب التي تحتوي على 300 مستعمرة على الأكثر، حيث تكون فيها 100 مستعمرة مميزة في تخفيفين متتاليين. يجب أن تحتوي العلبة على 15 مستعمرة مميزة على الأقل.

يحسب العدد N للستافيلوكوك ذات أنزيم تخثر موجب الموجود في ميليلتر أو غرام من المادة كمعدل الوزن انطلاقا من تخفيفين متتاليين باستعمال المعادلة الآتية :

$$N = \frac{\sum c}{V(n1+0,1n2)d}$$

حيث :

$\sum c$: مجموع مستعمرات الستافيلوكوك المميزة في جميع العلب المأخوذة بعين الاعتبار،

V : حجم التطعيم الموضوع في كل علبة بالميليلتر،

n1 : عدد العلب المأخوذة بعين الاعتبار في التخفيف الأول،

n2 : عدد العلب المأخوذة بعين الاعتبار في التخفيف الثاني،

d : هو نسبة التخفيف الموافقة للتخفيف الأول المأخوذ بعين الاعتبار (المحلول الأم هو عبارة عن تخفيف).

تقرب النتائج المتحصل عليها باعتبار عددين.

تعطى النتيجة بعدد الستافيلوكوك ذات أنزيم تخثر موجب في الميليلتر (مادة سائلة) أو في الغرام (مواد أخرى) معبر عنها بعدد محصور بين 1 و9,9 مضروب في 10^x، حيث x هو القوة المناسبة لـ 10.

مثـــال

يعطي إحصاء المستعمرات بعد زرع 0,1 ملل من المادة النتائج الآتية :

– عند التخفيف الأول المأخوذ بعين الاعتبار (10^{-2}) : 66 مستعمرة مميزة و 54 مستعمرة مميّزة،

– عند التخفيف الثاني المأخوذ بعين الاعتبار (10^{-3}) : 4 مستعمرات مميزة و7 مستعمرات مميزة،

$$N = \frac{66 + 54 + 4 + 7}{2{,}2 \times 10^{-2}} = 5955$$

النتيجة، بعد التقريب هي 6×10^3.

2.8 تقييم الأعداد الصغيرة

1.2.8 إذا احتوت كل علبة من العلبتين على مستوى العيّنة المأخوذة للتجربة (مواد سائلة) أو من المحلول الأم (مواد اخرى)، أقل من 15 مستعمرة، يعبر عن النتيجة كالآتي :

أ) بالنسبة للمواد السائلة، عدد الستافيلوكوك ذات أنزيم تخثر موجب المحصاة في الميليلتر :

$$Ne = \frac{C}{2}$$

حيث :

C : مجموع مستعمرات الستافيلوكوك ذات أنزيم تخثر موجب المحصاة (3.7) على مستوى العلبتين المأخوذتين بعين الاعتبار.

ب) بالنسبة للمواد الأخرى، عدد الستافيلوكوك ذات أنزيم تخثر موجب في الغرام :

$$Ne = \frac{C}{2Xd}$$

حيث :

C : مجموع مستعمرات الستافيلوكوك ذات أنزيم تخثر موجب المحصاة (3.7) على مستوى العلبتين المأخوذتين بعين الاعتبار،

d : هو نسبة التخفيف للمحلول الأم.

2.2.8 إذا لم تحتو العلبتان على مستوى عيّنة التجربة (مواد سائلة) أو المحلول الأم (مواد أخرى) على أي مستعمرة للستافيلوكوك ذات أنزيم التخثر موجب يعبر عن النتيجة كالآتي :

– أقل من 1 ستافيلوكوك ذات أنزيم التخثر موجب في الميليلتر (مواد سائلة)،

– أقل من 1/d ستافيلوكوك ذات أنزيم التخثر موجب في الغرام (مواد أخرى) حيث *d* هو نسبة التخفيف للمحلول الأم.

9. الدقة

1.9 التكرارية

لا يتجاوز الفرق المطلق بين نتيجتين منفردتين، ومنفصلتين (عدد ستافيلوكوك ذات أنزيم تخثر موجب في الغرام أو في الميليلتر، محولة إلى لغ 10) أو النسبة على سلم عادي، بين أعلى و أدنى نتيجتي التجربتين متحصل عليهما بواسطة نفس المنهج على نفس المادة الخاضعة للتجربة في نفس المخبر منجز من طرف نفس المحلل الذي يستعمل نفس التجهيزات في أقصر مجال زمني، إلا في 5% من الحالات على الأكثر لمجال التكرارية.

2.9 قابلية إعادة التجربة

لا يتجاوز الفرق المطلق بين نتيجتين منفردتين (عدد ستافيلوكوك ذات أنزيم تخثر موجب في الغرام أو في الميليلتر، محولة إلى لغ 10) أو النسبة على سلم عادي، بين أعلى وأدنى نتيجتين متحصل عليهما بواسطة نفس المنهج على نفس المادة الخاضعة للتجربة في مخابر مختلفة منجزة من طرف عدة محللين يستعملون تجهيزات مختلفة، إلا في 5% من الحالات على الأكثر لمجال قابلية إعادة التجربة.

وزارة التجارة

قرار مؤرخ في 14 شعبان عام 1436 الموافق 2 يونيو سنة 2015، يجعل المنهج الأفقي لإحصاء الخمائر والعفنيات بِعدٌ المستعمرات في المنتجات ذات نشاط مائي أكبر من 0,95، إجباريا.

إن وزير التجارة،

– بمقتضى المرسوم الرئاسي رقم 15–125 المؤرخ في 25 رجب عام 1436 الموافق 14 مايو سنة 2015 والمتضمن تعيين أعضاء الحكومة،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 90–39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990 والمتعلق 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 05–465 المؤرخ في 4 ذي القعدة عام 1426 الموافق 6 ديسمبر سنة 2005 والمتعلق بتقييم المطابقة،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 13–328 المؤرخ في 20 ذي القعدة عام 1434 الموافق 26 سبتمبر سنة 2013 الذي يحدد شروط وكيفيات اعتماد المخابر قصد حماية المستهلك وقمع الغش،

– وبمقتضى القرار المؤرخ في 14 صفر عام 1415 الموافق 23 يوليو سنة 1994 المتعلق بالمواصفات الميكروبيولوجية لبعض المواد الغذائية، المعدل والمتمم،

يقرر ما يأتي :

المادة الأولى : تطبيقا لأحكام المادة 19 من المرسوم التنفيذي رقم 90–39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990، المعدل والمتمم والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل المنهج الأفقي لإحصاء الخمائر والعفنيات بِعدٌ المستعمرات في المنتجات ذات نشاط مائي أكبر من 0,95، إجباريا.

المادة 2 : من أجل إحصاء الخمائر والعفنيات بِعدٌ المستعمرات في المنتجات ذات نشاط مائي أكبر من 0,95، فإن مخابر مراقبة الجودة وقمع الغش والمخابر المعتمدة لهذا الغرض، ملزمة باستعمال المنهج المبين في الملحق المرفق بهذا القرار.

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 14 شعبان عام 1436 الموافق 2 يونيو سنة 2015.

عمارة بن يونس

الملحق

المنهج الأفقي لإحصاء الخمائر والعفنيات بِعدٌ المستعمرات في المنتجات ذات نشاط مائي أكبر من 0,95

1. مجال التطبيق

يحدد هذا المنهج طريقة أفقية لإحصاء الخمائر والعفنيات القابلة للحياة الموجودة في المنتجات الموجهة للاستهلاك البشري أو الحيواني، حيث يكون نشاط الماء أكبر من 0,95 [بيض، لحم، منتوجات الحليب (ما عدا مسحوق الحليب)، الفواكه، الخضروات، عجائن طرية...إلخ] ، بواسطة تقنية إحصاء المستعمرات في درجة حرارة 25 °م ± 1 ° م.

لا يسمح هذا المنهج بإحصاء أبواغ العفنيات ولا يطبق لتحديد المجموعة الفطرية أو لاختبار الأغذية للبحث عن السموم الفطرية.

لا يتلاءم هذا المنهج لإحصاء الفطريات المقاومة للحرارة مثل بيسوكلاميس فولفا (Byssochlamys fulva) أو بيسوكلاميس نيفيا (Byssochlamys nivea) المتواجدة في الفواكه و الخضروات المعلبة أو المعبأة في قارورات.

2. مصطلحات و تعاريف

لاحتياجات هذا المنهج، تطبق المصطلحات والتعاريف الآتية :

1.2 الخمائر:

جسم دقيق هوائي محب للحرارة المعتدلة، يتطور على سطح الوسط على شكل مستعمرات (4.2) غالبا ما تشكل محيطا منتظما و سطحا محدبا نوعا ما، باستعمال وسط هلامي في الشروط الموصوفة في هذا المنهج وفي درجة حرارة 25 °م.

هناك خمائر تتطور بالأحرى في العمق أكثر منه على سطح الوسط والتي بإمكانها تشكيل مستعمرات دائرية أو عدسية الشكل.

2.2 العفنيات :

جسم دقيق هوائي محب للحرارة المعتدلة، ليفي، يطور عادة على سطح وسط هلامي، و في الشروط المحددة في هذا المنهج، خلايا برعمية أو جراثيم (3.2) مسطحة أو زغبية أو مستعمرات (4.2) تمثل غالبا أثمارا ملونة وأشكالا ذات أبواغ.

هناك عفنيات تتطور بالأحرى في العمق أكثر منه على سطح الوسط، بإمكانها تشكيل مستعمرات دائرية وعدسية الشكل.

ملاحظة : هناك أشكال متقاربة من الأجسام الدقيقة، ويمكن أن يكون التمييز بين الخمائر (1.2) والعفنيات (2.2) اعتباطيا.

3.2 خلايا برعمية أو جراثيم :

أجسام قابلة للحياة قادرة على النمو في وسط مغذ.

مثلا : خلية منبتية، مجموعة من الخلايا، بوغ، مجموعة من الأبواغ أو قطعة من المشيجة الفطرية.

4.2 المستعمرة :

هي تراكم ملحوظ ممركز لكتلة من الأجسام الدقيقة المتطورة فوق أو داخل وسط مغذ صلب انطلاقا من خلية قابلة للحياة.

3. المبدأ

1.3 تزرع علب بيتري محضرة باستعمال وسط زرع انتقائي محدد.

تستعمل كمية معينة من عينة التجربة (إذا كانت المادة سائلة) أو من المحلول الأم (في حالة المواد الأخرى) أو تخفيفات عشرية للعينة أو المحلول الأم، حسب عدد المستعمرات المرتقبة.

يمكن زرع علب إضافية في نفس الشروط باستعمال تخفيفات عشرية متحصل عليها انطلاقا من عينة التجربة أو المحلول الأم.

2.3 تحضن بعد ذلك العلب في شروط هوائية في درجة حرارة 25 °م ± 1 °م خلال خمسة (5) أيام، ثم تترك علب الهلام لترتاح في ضوء النهار من يوم (1) إلى يومين (2) إذا اقتضى الأمر.

3.3 تحصى إذن المستعمرات أو الخلايا البرعمية، (ومن أجل التمييز بين مستعمرات الخمائر والبكتيريا) تفحص المستعمرات المشكوك فيها، إذا اقتضى الأمر، بواسطة مكبرة بعدستين أو مجهر للتأكد من هويتها.

4.3 يحسب عدد الخمائر والعفنيات بالغرام أو بالميليلتر من العيّنة، انطلاقا من عدد المستعمرات أو الخلايا البرعمية أو الجراثيم المتحصل عليها في العلب المختارة بنسب تخفيفات تسمح بالحصول على مستعمرات يمكن إحصاؤها. وإذا اقتضى الأمر، تحصى العفنيات و الخمائر على حدة.

4. المخفف ووسط الزرع

1.4 المخفف

1.1.4 عموميات

لتقليل التحام أبواغ العفنيات والفطريات (conidies) يمكن أن تضاف عوامل منشطة للضغط الحلولي (tensioactifs) كمتعدد الأوكسيتيلان سوربتون مونوليات [على سبيل المثال Tween 80*]. (0,05 % تركيز في الكتلة).

يوصى باستعمال ماء بيبتوني بـ 0,1 % (تركيز في الكتلة) كمخفف، إلا في حالة تحضير خاص للعينة المأخوذة للتجربة.

2.1.4 تركيب الماء البيبتوني بـ 0,1 % (تركيز في الكتلة)

عصارة أنزيمية من نسيج حيواني و نباتي	1غ
الماء	1000 ملل

3.1.4 تحضير ماء بيبتوني بـ 0,1 % (تركيز في الكتلة)

تذاب المركبات في الماء مع التسخين إذا اقتضى الأمر.

وإذا اقتضى الأمر، يعدل العامل الهيدروجيني (pH)(4.5) عند 7 ± 0,2 في درجة حرارة 25 °م بعد التعقيم.

2.4 وسط الزرع

1.2.4 ديكلوران الوردي بانغال كلورام فينيكول أغار (DRBC)

1.1.2.4 التركيب

عصارة أنزيمية من نسيج حيواني و نباتي	5غ
D – غلوكوز ($C_6H_{12}O_6$)	10غ
فوسفات أحادي البوتاسيوم (KH_2PO_4)	1غ
سولفيت المغنزيوم ($MgSO_4,H_2O$)	0,5 غ
ديكلوران (6,2 ثنائي كلورو –4– نيتروأنيلين) (Dichloran 2,6-dichloro -4- nitroaniline)	0,002 غ
بانغال وردي	0,025 غ
هلام	12غ إلى 15غ أ
كلوروم فينيكول	0,1غ
ماء مقطر أو منزوع الشوارد	1000 ملل
أ) : حسب قدرة تهلم الهلام	

* يمكن استعمال مواد أخرى مماثلة إذا ثبت أنها تعطي نفس النتائج.

2.1.2.4 التحضير

1.2.1.2.4 عموميات

توضع كل المكونات عدا الكلورام فينيكول معلقة في الماء ثم تغلّى لإذابتها كليا، وإذا اقتضى الأمر، يعدل العامل الهيدروجيني (pH) (4.5) عند 5,6 ± 0,2 في درجة حرارة 25 °م بعد التعقيم.

يضاف إلى الإيثانول 10 ملل من محلول الكلورام فينيكول بـ 1 % (تركيز في الكتلة) ويمزج. يوزع الوسط في أوعية ملائمة (5.5) ثم يعقم في جهاز التعقيم في 121 °م خلال 15 دقيقة.

يبرد الوسط مباشرة في حمام مائي (3.5) مضبوط في درجة حرارة محصورة بين 44 °م و47 °م. يوزع هذا الوسط على شكل حصص بـ 15 ملل في علب بيتري معقمة (6.5).

يترك الوسط ليتجمد ويجف.

يستعمل مباشرة أو يحفظ في الظلام إلى حين استعماله.

ملاحظة – يجب تفادي تعرض الوسط للضوء لأن المواد الناتجة عن تحلل السموم الفطرية يمكن أن تتسبب في سوء تقييم المجموعات الفطرية في العينات.

2.2.1.2.4 إضافة اختيارية لكلورهيدرات الكلورتيتراسيكلين

بما أنه يمكن للتكاثر البكتيري أن يحدث مشكلا (في اللحوم النّيئة على سبيل المثال)، يوصى باستعمال الكلورام فينيكول (50 مغ/ل) والكلور تيتراسيكلين (50 مغ/ل).

في هذه الحالة، يحضّر الوسط الأساسي (2.1.2.4)، كما هو مبين أعلاه، مع 50 مغ من الكلورام فينيكول فقط ثم يوزع بكميات 100 ملل ويعقم.

يحضّر كذلك في الماء محلول بـ 0,1 % (تركيز في الكتلة) من كلورهيدرات الكلورتيتراسيكلين (لعدم استقراره النسبي في المحلول ، يجب أن يحضّر فورا) ويعقّم بالترشيح مباشرة قبل الاستعمال، يضاف بطريقة معقمة 5 ملل من هذا المحلول إلى 100 ملل من الوسط الأساسي، ويسكب في العلب. لا ينصح باستعمال الجونتاميسين لأنه بإمكانه تثبيط بعض أصناف الخمائر.

3.2.1.2.4 إضافة اختيارية لعناصر مؤشرة

حتى تبيّن العفنيات جميع أشكالها و خاصة جميع الصباغ التي تنتجها في العادة، تحتاج إلى عناصر مؤشرة غير موجودة في **DRBC**.

للكشف عن العفنيات في هذا الوسط، يضاف محلول العناصر المؤشرة التالي إلى 1 ملل/ل من هذا الوسط وذلك قبل وضعه في جهاز التعقيم :

– 1 غ، $ZnSO_4,7H_2O$

– 0,5 غ، $CuSO_4,5H_2O$

– 100 ملل من الماء المقطر أو منزوع الشوارد.

4.2.1.2.4 إضافة اختيارية للترجيتول* (Tergitol)

لتفادي تكاثر ميكوراسي (Mucoraceae) داخل علب الهلام ، يوصى بإضافة الترجيتول (Tergitol) 1 ملل/ل) إلى وسط الزرع.

3.1.2.4 تجارب الفعالية لضمان نوعية وسط الزرع

1.3.1.2.4 عموميات

وسط **DRBC** هو وسط صلب. يجب أن تخضع الإنتاجية والانتقائية فيه إلى تجربة حسب المواصفات الآتية :

2.3.1.2.4 الإنتاجية

– التحضين : خمسة (5) أيام في درجة حرارة 25 °م ± 1°م.

– السلالات :

– سكارو ميساس سيريفيسي ATCC 9763

– كونديدا ألبيكانس ATCC 10231

– أسبرجيلوس نيجر ATCC 16404

– موكور راسموسوس ATCC 42647

أو سلالات مسجلة كمكافئة في مجموعة فطرية أخرى.

* يمكن استعمال مواد أخرى مماثلة إذا ثبت أنها تعطي نفس النتائج.

– الوسط المرجعي : وسط زرع

«Sabouraud Dextrose Agar» (SDA)

– منهج المراقبة : كمي.

– المعايير: تقدير الإنتاجية $P_R \geq 0,5$

– التفاعلات الخاصة : مستعمرات أو خلايا برعمية أو جراثيم مميّزة حسب كل نوع.

3.3.1.2.4 الإنتقائية

– التحضين : خمسة (5) أيام في درجة حرارة 25°م ± 1°م

– السلالات :

إشيريشيا كولي ATCC 25922

أو باسيلوس سوبتيلوس ATCC 6633

أو سلالات مسجلة كمكافئة في مجموعة بكتيرية أخرى.

– منهج المراقبة : نوعي.

– المعايير : تثبيط تام.

5. الأجهزة و الأدوات الزجاجية

يسمح باستعمال الأجهزة ذات الاستعمال الوحيد بدلا من الأدوات الزجاجية المستعملة لأكثر من مرة، شرط أن توافق المتطلبات المحددة.

الأجهـزة المتداولـة في مخبر الميكروبيولوجيا ولا سيما ما يأتي :

1.5 جهاز التحضين، بإمكانه العمل في درجة حرارة 25 ° م ± 1 ° م.

2.5 ماصات ذات سيلان تام، معقمة، سعتها 1 ملل ومدرجة بـ 0,1 ملل.

3.5 حمام مائي، أو جهاز مماثل، بإمكانه العمل في درجة حرارة تتراوح من 44 °م إلى 47 °م.

4.5 جهاز قياس العامل الهيدروجيني (pH – متر)، بتدقيق ± 0,1 وحدة من العامل الهيدروجيني (pH) في درجة حرارة 25 °م.

5.5 قارورات، حوجلات وأنابيب، لتغلية وحفظ أوساط الزرع لإجراء التخفيفات.

6.5 علب بيتري، معقمة، من الزجاج أو من البلاستيك، يتراوح قطرها من 90 ملم إلى 100 ملم.

7.5 مجهر، لتمييز الخمائر عن الخلايا البكتيرية (قاع فاتح، تكبير من x 250 إلى x 1000).

8.5 نواشر، من الزجاج أو من البلاستيك (قطرها أقل من 2 ملم وطولها 80 ملم). من الأحسن ألاّ يتجاوز قطر النواشر 2 ملم للتقليل من كمية العيّنة الملتصقة بها عند نهاية نشرها.

9.5 مكبرة بعدستين، (تكبيرها x 6,5 إلى x 50) للتمييز وللتفريق بين المستعمرات أو خلايا الخمائر والعفنيات.

6. اقتطاع العيّنة

من الأحسن أن يتلقى المخبر عيّنة ممثلة حقا، غير متلفة أو تغيرت أثناء النقل والتخزين. يجب عدم تجميد عيّنة المخبر.

يجرى اقتطاع و تحضير العينة للتجربة في ظروف ملائمة.

7. طريقة العمل

1.7 العيّنة المأخوذة للتجربة، المحلول الأم والتخفيفات :

يتم تحضير العينة المأخوذة للتجربة والمحلول الأم (التخفيف الأول) والتخفيفات الموالية حسب متطلبات التنظيمات والمقاييس الخاصة والمناسبة للمادة المعنية. ما عدا حالة تحضير خاص لعيّنة التجربة، يوصى باستعمال ماء بيبتوني بـ 0,1 % (تركيز في الكتلة) (3.1.4) كمخفف.

يفضل استعمال جهاز مجانسة ذي حركة تموجية بدلا من الخلاط أو جهاز الرج.

عندما تملأ الماصة (2.5) بالكمية المناسبة من المحلول الأم والتخفيفات، يفضل إبقاؤها أفقيا (وليس عموديا) وهذا بسبب الترسب السريع للأبواغ بداخلها.

يرج المحلول الأم والتخفيفات لتفادي ترسب الجزيئات التي تحتوي على أحياء دقيقة.

2.7 الزرع و التحضين

1.2.7 بواسطة ماصة (2.5) معقمة، يوضع 0,1 ملل من عينة التجربة في حالة المواد السائلة أو 0,1 ملل من المحلول الأم في حالة المواد الأخرى، في علبة بيتري تحتوي على هلام **DRBC** (1.2.4).

بواسطة ماصة معقمة جديدة يوضع 0,1 ملل من التخفيف العشري الأول (10^{-1}) (في حالة المواد السائلة) أو 0,1 ملل من التخفيف (10^{-2}) (في حالة المواد الأخرى) في علبة بيتري ثانية تحتوي على هلام **DRBC** (1.2.4).

لتسهيل إحصاء المستعمرات الضعيفة للخمائر والعفنيات، يمكن توزيع كميات تصل إلى 0,3 ملل من التخفيف (10^{-1}) من العيّنة أو عينة التجربة من المواد السائلة على ثلاث علب.

تجرى العملية بنفس الطريقة مع التخفيفات الموالية باستعمال ماصة جديدة معقمة (2.5) لكل تخفيف عشري.

ملاحظة : إذا وقع الشك في وجود عفنيات سريعة النمو، يستند إلى المنهج الأفقي لإحصاء الخمائر والعفنيات بعدِّ المستعمرات في المنتجات ذات نشاط مائي أصغر أو يساوي 0,95.

2.2.7 يوزع التطعيم على سطح علبة الوسط الهلامي بواسطة ناشر (8.5) معقم إلى غاية امتصاصه كليا من الوسط.

يمكن كذلك استعمال طريقة الزرع بالدمج، لكن في هذه الحالة يجب المصادقة على معادلة النتائج بالنسبة للزرع على السطح كما أن التمييز والتفريق بين العفنيات والخمائر غير ممكن.

يمكن أن يعطي منهج الزرع على السطح إحصاءات أعلى. تسهل تقنية الزرع بالتطعيم على السطح، تعرض أقصى للخلايا للأكسجين الجوي وتجنب تعطيل النشاط الحراري للخلايا البرعمية الفطرية.

ترتبط النتائج بنوع الفطريات.

3.2.7 تحضن العلب المحضرة (2.2.7) في شروط هوائية، الأغطية نحو الأعلى، في وضعية مستقيمة داخل جهاز التحضين (1.5) في درجة حرارة 25 °م ± 1 °م خلال خمسة (5) أيام. إذا اقتضى الأمر، تترك علب الهلام لضوء النهار لمدة يوم (1) إلى يومين (2).

يوصى بتحضين العلب (6.5) داخل كيس بلاستيكي مفتوح لتفادي تلوث جهاز التحضين في حالة انتشار العفنيات خارج العلب.

3.7 إحصاء وانتقاء المستعمرات للإثبات

تجرى قراءة العلب بين يومين (2) وخمسة أيام (5) من التحضين، تنتقى العلب (3.2.7) المحتوية على أقل من 150 مستعمرة أو خلايا برعمية أو جراثيم وتحسب هذه المستعمرة أو الخلايا البرعمية أو الجراثيم.

إذا لوحظ اجتياح سريع في العلب، يحتفظ بالإحصاءات المتحصل عليها بعد يومين (2) ثم من جديد بعد خمسة (5) أيام من التحضين.

ملاحظة 1 : تعتبر مناهج إحصاء الخمائر والعفنيات على وجه الخصوص غير دقيقة بسبب احتوائها على خليط من الميسيليوم، والأبواغ الجنسية وعديمة الجنس. يرتبط عدد الوحدات المشكلة للمستعمرات بدرجة انقسام الميسيلوم وبنسبة الأبواغ القادرة على النمو فوق الوسط.

ملاحظة 2 : تحدث غالبا إحصاءات غير خطية إنطلاقا من تخفيفات عشرية، أي أن تخفيفا واحدا للعيّنة ذا عامل 10 لا يؤدي عموما إلى تخفيض العامل 10 لعدد المستعمرات على سطح علبة بيتري. وهذا ناتج عن انقسام الميسيليوم وانتشار الأبواغ أثناء التخفيف وكذلك إلى المنافسة بين الفصائل في حالة وجود عدد كبير من المستعمرات في علبة بيتري.

تنبيه – تنتشر أبواغ العفنيات في الهواء بسهولة، لذلك تعالج علب بيتري بحذر لتفادي تكاثر أبواغ العفنيات الذي يمكن أن يؤدي إلى تقدير مبالغ فيه لعدد المستعمرات في العيّنة.

يجرى، إذا اقتضى الأمر، اختبار بواسطة مكبرة بعدستين (9.5) أو مجهر (7.5) للتفريق بين خلايا الخمائر أو العفنيات والمستعمرات البكتيرية.

تحسب مستعمرات الخمائر والمستعمرات أو الخلايا البرعمية للعفنيات، كل على حدة، إذا اقتضى الأمر.

لتعيين الخمائر والعفنيات، يتم انتقاء مناطق تكاثر الفطريات ويجرى اقتطاع عينة لاختبار مجهري معمق أو زرع في أوساط العزل أو التعيين الملائمين.

8. التعبير عن النتائج وحدود الثقة

يجب التعبير عن النتائج وحدود الثقة حسب المتطلبات العامة والتوصيات المتعلقة بميكروبيولوجيا الأغذية.

إذا اقتضى الأمر، تُعدُّ مستعمرات الخمائر والمستعمرات أو الخلايا البرعمية للعفنيات، كل على حدة.

وزارة التجارة

قرار مؤرخ في 19 شوّال عام 1436 الموافق 4 غشت سنة 2015، يجعل المنهج الأفقي لإحصاء الخمائر والعفنيات بِعدٍّ المستعمرات في المنتجات ذات نشاط مائي أصغر أو يساوي 0,95، إجباريا.

إنّ وزير التجارة،

– بمقتضى المرسوم الرئاسي رقم 15–125 المؤرخ في 25 رجب عام 1436 الموافق 14 مايو سنة 2015 والمتضمن تعيين أعضاء الحكومة، المعدّل،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 90–39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990 والمتعلق 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 05–465 المؤرخ في 4 ذي القعدة عام 1426 الموافق 6 ديسمبر سنة 2005 والمتعلق بتقييم المطابقة،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 13–328 المؤرخ في 20 ذي القعدة عام 1434 الموافق 26 سبتمبر سنة 2013 الذي يحدد شروط وكيفيات اعتماد المخابر قصد حماية المستهلك وقمع الغش،

– وبمقتضى القرار المؤرخ في 14 صفر عام 1415 الموافق 23 يوليو سنة 1994 والمتعلق بالمواصفات الميكروبيولوجية لبعض المواد الغذائية، المعدل والمتمم،

يقرر ما يأتي :

المادة الأولى : تطبيقا لأحكام المادة 19 من المرسوم التنفيذي رقم 90–39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990، المعدل والمتمم والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل المنهج الأفقي لإحصاء الخمائر والعفنيات بِعدٍّ المستعمرات في المنتجات ذات نشاط مائي أصغر أو يساوي 0,95، إجباريا.

المادة 2 : من أجل إحصاء الخمائر والعفنيات بِعدٍّ المستعمرات في المنتجات ذات نشاط مائي أصغر أو يساوي 0,95، فإن مخابر مراقبة الجودة وقمع الغش والمخابر المعتمدة لهذا الغرض، ملزمة باستعمال المنهج المبين في الملحق المرفق بهذا القرار.

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 شوّال عام 1436 الموافق 4 غشت سنة 2015.

بختي بلعايب

الملحق

المنهج الأفقي لإحصاء الخمائر والعفنيات بِعدٍّ المستعمرات في المنتجات ذات نشاط مائي أصغر أو يساوي 0,95

1 . مجال التطبيق

يحدد هذا المنهج طريقة أفقية لإحصاء الخمائر المحبة للماء و العفنيات المحبة للجفاف الموجودة في المنتجات الموجهة للاستهلاك البشري أو الحيواني، حيث يكون نشاط الماء أصغر أو يساوي 0,95 (الفواكه الجافة، الحلويات، المعجون، اللحم المجفف، السمك المملح، البذور، الحبوب ومشتقاتها، الطحين، الجوز، التوابل والبهارات، إلخ....)، بواسطة تقنية إحصاء المستعمرات في درجة حرارة 25 °م ± 1 °م.

لا يطبق هذا المنهج على المنتجات المجففة حيث يكون نشاط الماء أصغر أو يساوي 0,60 (الحبوب المجففة، المنتجات الزيتية، التوابل، البقول، البذور، مسحوق المشروبات الفورية، المنتجات المجففة الموجهة للحيوانات الأليفة، الخ....) ولا يسمح بإحصاء أبواغ العفنيات. كما لا يطبق هذا المنهج في تحديد المجموعة الفطرية أو في اختبار الأغذية للبحث على السموم الفطرية (الميكوتوكسين)، كما أنه لا يتلاءم مع إحصاء الفطريات المحبة للملح و المحبة للجفاف (بوليباسيليوم بيسي (Polypaecilum pisce) وبازيبيتوسبورا آلوفيلا (Basipetospora halophila)، الممكن وجودها في الأسماك المجففة على وجه الخصوص.

2. مصطلحات وتعاريف

لاحتياجات هذا المنهج، تطبق المصطلحات والتعاريف الآتية :

1.2 الخمائر: جسم دقيق هوائي، محّب للحرارة المعتدلة، يتطور على سطح الوسط على شكل

مستعمرات (4.2) باستعمال وسط هلامي في الشروط الموصوفة في هذا المنهج وفي درجة حرارة 25 °م، غالبا ما يشكل محيطا منتظما و سطحا محدبا نوعا ما.

هناك خمائر تتطور بالأحرى في العمق أكثر منه على سطح الوسط والتي بإمكانها تشكيل مستعمرات دائرية أو عدسية الشكل.

2.2 العفنيات : جسم دقيق هوائي، محبّ للحرارة المعتدلة ليفي، يطور عادة على سطح وسط هلامي، حسب الشروط المحددة في هذا المنهج، خلايا برعمية أو جراثيم (3.2) مسطحة أو زغبية أو مستعمرات (4.2) تمثل غالبا أثمارا ملونة وأشكالا ذات أبواغ.

هناك عفنيات تتطور بالأحرى في العمق أكثر منه على سطح الوسط، بإمكانها تشكيل مستعمرات دائرية أو عدسية الشكل.

ملاحظة : هناك أشكال متقاربة من الأجسام الدقيقة ويمكن أن يكون التمييز بين الخمائر (1.2) والعفنيات (2.2) اعتباطيا.

3.2 خلايا برعمية أو جراثيم : أجسام قابلة للحياة قادرة على النمو في وسط مغذٍ.

مثلا : خلية منبتية، مجموعة من الخلايا، بوغ، مجموعة من الأبواغ أو قطعة من المشيجة الفطرية.

4.2 المستعمرة : هي تراكم ملحوظ ممركز لكتلة من الأجسام الدقيقة المتطورة فوق أو داخل وسط مغذٍ صلب انطلاقا من خلية قابلة للحياة.

5.2 خمائر محبة للماء وعفنيات محبة للجفاف

فطريات قادرة على النمو مع نشاط مائي أصغر أو يساوي 0,95.

3. المبدأ

1.3 تزرع علب بيتري محضرة باستعمال وسط زرع انتقائي محدد. حسب عدد المستعمرات المرتقبة، تستعمل كمية معينة من عينة التجربة (إذا كان المنتوج سائلا) أو من المحلول الأم (في حالة المنتجات الأخرى) أو من التخفيفات العشرية لعيّنة التجربة أو للمحلول الأم.

يمكن زرع علب بيتري إضافية في نفس الشروط، بإستعمال تخفيفات عشرية متحصل عليها انطلاقا من عيّنة التجربة أو من المحلول الأم.

2.3 تحضن بعد ذلك علب البيتري في شروط هوائية في درجة حرارة 25 °م ± 1 °م لمدة خمسة (5) إلى سبعة (7) أيام. ثم تترك علب الهلام لترتاح في ضوء النهار لمدة يوم (1) إلى يومين (2) إذا اقتضى الأمر.

3.3 تحصى إذن المستعمرات أو الخلايا البرعمية، وإذا اقتضى الأمر (من أجل التمييز بين مستعمرات الخمائر والبكتيريا)، تفحص المستعمرات المشكوك فيها بواسطة مكبرة بعدستين أو مجهر للتأكد من هويتها.

4.3 يحسب عدد الخمائر والعفنيات بالغرام أو بالميليلتر من العيّنة انطلاقا من عدد المستعمرات أو الخلايا البرعمية أو الجراثيم المتحصل عليها في علب البيتري المختارة بنسب تخفيفات تسمح بالحصول على مستعمرات يمكن إحصاؤها. وإذا اقتضى الأمر، تحصى العفنيات والخمائر على حدة.

4. المخفف ووسط الزرع

1.4 المخفف

1.1.4 عموميات

عند إجراء سلسلة تخفيفات قبل الزرع، يوصى باستعمال مخفف يحتوي على كمية كافية من المذاب [على سبيل المثال محلول بـ 20 % إلى35 % (تركيز في الكتلة) من الغليسرول أو D– غلوكوز] وهذا لتفادي الصدمة الحلولية للعفنيات المحبّة للجفاف والخمائر المحبّة للماء.

ملاحظة : لتقليل التحام أبواغ العفنيات والفطريات (conidies) يمكن أن تضاف عوامل منشطة للضغط الحلولي (tensioactifs) كمتعدد الأوكسيتيلان سوربتون مونوليات بـ 0,05 % (تركيز في الكتلة).

يوصى باستعمال ماء بيبتوني بـ 0,1 % (تركيز في الكتلة) كمخفف، إلا في حالة تحضير خاص للعيّنة المأخوذة للتجربة.

2.1.4 تركيب الماء البيبتوني بـ 0,1 % (تركيز في الكتلة)

عصارة أنزيمية من نسيج حيواني و نباتي	1غ
الماء	1000 ملل

3.1.4 تحضير ماء بيبتوني بـ 0,1 % (تركيز في الكتلة)

تذاب المركبات في الماء، مع التسخين إذا اقتضى الأمر ، يعدل العامل الهيدروجيني (pH) (4.5) عند 7 ± 0,2 في درجة حرارة 25 °م بعد التعقيم إذا اقتضى الأمر.

2.4 وسط الزرع

1.2.4 هلام ديكلوران بـ 18 % (تركيز في الكتلة) من الغليسيرول (DG 18)

1.1.2.4 التركيب

عصارة أنزيمية من الكازيين	5غ
D – غلوكوز ($C_6H_{12}O_6$)	10غ
فوسفات أحادي البوتاسيوم (KH_2PO_4)	1غ
سولفات المغنزيوم ($MgSO_4,H_2O$)	0,5 غ
ديكلوران (2,6 ثنائي كلور –4– نيتروأنيلين) (Dichloran 2,6-dichloro -4- nitroaniline)	0,002 غ
غليسرول خال من الماء	220 غ
هلام	12غ إلى 15غ أ
كلوروم فينيكول	0,1غ
ماء مقطر أو منزوع الأيونات	1000 ملل
أ) : حسب قدرة تهلّم الهلام	

2.1.2.4 التحضير

1.2.1.2.4 عموميات

توضع كل المكونات عدا الكلورام فينيكول في الماء ثم تغلى لإذابتها كليا. إذا اقتضى الأمر، يعدل العامل الهيدروجيني (pH) (4.5) عند 5,6 ± 0,2 في درجة حرارة 25 °م بعد التعقيم.

يضاف إلى الإيثانول 10 ملل من محلول كلورام فينيكول بـ 1 % (تركيز في الكتلة) ويمزج. يوزع الوسط على أوعية ملائمة (5.5). ثم يعقم في جهاز التعقيم عند121 °م خلال 15 دقيقة.

يبرد الوسط مباشرة في حمام مائي (3.5) مضبوط في درجة حرارة محصورة بين 44 °م و47 °م. يوزع هذا الوسط على حصص ذات 15 ملل في علب بيتري معقمة (6.5).

يترك الوسط ليتجمد و يجف سطح علب البيتري، إذ اقتضى الأمر. يستعمل الوسط مباشرة أو يحفظ في الظلام إلى حين استعماله.

تنبيه : يجب تفادي تعرض الوسط للضوء لأن المواد الناتجة عن تحلل السموم الفطرية يمكن أن تسبب سوء تقييم المجموعات الفطرية في العينات.

2.2.1.2.4 إضافة اختيارية لكلورهيدرات الكلور تيتراسيكلين

عندما يمكن أن يحدث التكاثر البيكتيري مشكلا، يوصى باستعمال الكلورام فينيكول (50 مغ/ل) والكلور تيتراسيكلين (50 مغ/ل). في هذه الحالة، يحضر الوسط الأساسي كما هو مبين أعلاه (2.1.2.4) مع 50 مغ من الكلورام فينيكول فقط، ثم يوزع بكميات 100ملل ويعقم. يحضر كذلك محلول تيتراسيكلين بـ 0,1 % (تركيز في الكتلة) من كلورهيدرات الكلورتيتراسيكلين في الماء (يجب أن يحضر فورا لعدم استقراره في المحلول) ويعقم بالترشيح. مباشرة قبل الاستعمال، يضاف 5 ملل من هذا المحلول إلى100 ملل من الوسط الأساسي بطريقة معقمة ويسكب في علب البيتري. لا ينصح باستعمال الجنتاميسين لأنه بإمكانه تثبيط بعض أصناف الخمائر.

3.2.1.2.4 إضافة اختيارية للعناصر المؤشرة

تحتاج العفنيات للعناصر المؤشرة غير الموجودة في DG 18 (1.2.4) لكي يظهر شكلها، ولا سيما الصبغ الذي تنتجها عادةً.

للكشف عن العفنيات الموجودة في هذا الوسط، يضاف إلى كل 1 لتر منه 1 ملل من المحلول المحتوي على العناصر المؤشرة، قبل إدخاله في جهاز التعقيم :

– 1 غ، $ZnSO_4,7H_2O$

– 0,5 غ، $Cu\ SO_4,5H_2O$

– 100 ملل من ماء معقم أو منزوع الأيونات.

3.1.2.4 تجارب الفعالية لضمان نوعية وسط الزرع

1.3.1.2.4 عموميات

وسط DG18 (1.2.4) هو وسط صلب. يجب أن تخضع كل من الإنتاجية والانتقائية إلى تجربة حسب المواصفات الآتية :

2.3.1.2.4 الإنتاجية

التحضين : خمسة (5) أيام في درجة 25 °م ± 1°م.

السلالات :

– سكارومياس سيريفيزيا ATCC 9763

– واليميا سيبي ATCC 42694

– أسبرجيلوس ريستريكتوس ATCC 42693

– أوروتيوم روبروم ATCC 42690

– أو سلالات مسجلة كمكافئة في مجموعة فطرية أخرى.

الوسط المرجعي : وسط زرع SDA

(Sabouraud Dextrose Agar)

منهج المراقبة : كمي.

المعايير: نسبة الإنتاجية $P_R \geq 0,5$

التفاعلات المميزة : مستعمرات أو خلايا برعمية أو جراثيم مميزة حسب كل نوع.

3.3.1.2.4 الانتقائية

التحضين : خمسة (5) أيام في درجة 25 °م ± 1 °م

السلالات :

– إشيريشياكولي ATCC 25922

– أو باسيلوس سوبتيليس ATCC 6633

– أو سلالات مسجلة كمكافئة في مجموعات فطرية أخرى.

منهج المراقبة : نوعي.

المعايير : توقف كلي.

5. الأجهزة والأدوات الزجاجية

يسمح باستعمال الأجهزة ذات الاستعمال الوحيد بدلا من الأدوات الزجاجية المستعملة لأكثر من مرة، شرط أن تخضع للمتطلبات المحددة.

الأجهزة المتداولة في مخابر الميكروبيولوجيا، ولا سيما ما يأتي :

1.5 جهاز التحضين، بإمكانه العمل في درجة حرارة 25 °م ± 1°م.

2.5 ماصات ذات سيلان تام، معقمة، سعتها 1 ملل ومدرجة بـ 0,1 ملل.

3.5 حمام مائي أو جهاز مماثل، بإمكانه العمل في درجة حرارة تتراوح من 44 °م إلى 47 °م.

4.5 جهاز قياس العامل الهيدروجيني (pH – متر)، بتدقيق ± 0,1 وحدة من العامل الهيدروجيني (pH) في درجة حرارة 25 °م.

5.5 قارورات، حوجلات وأنابيب، لغليان وحفظ أوساط الزرع ولإجراء التخفيفات.

6.5 علب بيتري، معقمة، من الزجاج أو من البلاستيك، يتراوح قطرها من 90 ملم إلى 100 ملم.

7.5 مجهر، لتمييز الخمائر عن الخلايا البكتيرية (قاع فاتح، تكبير من 250 x إلى 1000 x).

8.5 نواشر، من الزجاج أو من البلاستيك (قطرها أقل من 2 ملم وطولها 80 ملم). من الأحسن أن لا يتجاوز قطر النواشر 2 ملم للتقليل من كمية العيّنة الملتصقة بها عند نهاية نشرها.

9.5 مكبرة بعدستين، (تكبيرها 6,5 x إلى 50 x) للتمييز وللتفريق بين المستعمرات أو خلايا الخمائر والعفنيات.

6. اقتطاع العيّنة

من الأحسن أن يتلقى المخبر عيّنة ممثلة، غير متلفة أو تغيرت أثناء النقل والتخزين، ويجب ألاّ تكون مجمّدة.

7. الطريقة العملية لتحضير عيّنة التجربة

1.7 العيّنة المأخوذة للتجربة، المحلول الأم والتخفيفات

تحضر العيّنة المأخوذة للتجربة و المحلول الأم (التخفيف الأول) والتخفيفات الموالية حسب متطلبات التنظيمات والمقاييس الخاصة والمناسبة للمادة المعنية.

ماعدا في حالة تحضير خاص لعيّنة التجربة، يوصى باستعمال ماء بيبتوني (3.1.4) بـ 0,1 % (تركيز في الكتلة) كمخفف. يفضل استعمال جهاز مجانسة ذي حركة تموجية بدلا من الخلاط أو جهاز الرج.

عندما تملأ الماصة (2.5) بالكمية المناسبة من المحلول الأم أوالتخفيفات، يفضل إبقاؤها أفقيا وهذا بسبب الترسب السريع للأبواغ بداخلها.

يرج المحلول الأم والتخفيفات لتفادي ترسب الجزيئات التي تحتوي على أجسام دقيقة.

2.7 الزرع والتحضين

1.2.7 بواسطة ماصة (2.5) معقمة ينقل إلى علبة بيتري تحتوي على هلام DG18 (1.2.4) 0,1 ملل من عينة التجربة (في حالة المواد السائلة) أو 0,1 ملل من المحلول الأم (في حالة المواد الأخرى).

بواسطة ماصة معقمة جديدة ينقل إلى علبة بيتري ثانية تحتوي على هلام DG18 (1.2.4) 0,1 ملل من التخفيف العشري الأول (10^{-1}) (في حالة المواد السائلة) أو 0,1 ملل من التخفيف (10^{-2}) (في حالة المواد الأخرى).

لتسهيل إحصاء المستعمرات الضعيفة للخمائر والعفنيات، يمكن توزيع كميات تصل إلى 0,3 ملل من التخفيف (10^{-1}) من العيّنة أو عيّنة التجربة من المواد السائلة على ثلاث (3) علب بيتري.

تجرى العملية بنفس الطريقة مع التخفيفات الموالية باستعمال ماصة جديدة معقمة لكل تخفيف عشري.

يوصى بالزرع المباشر بالنسبة للأغذية الصلبة أوالجزيئية مثل الجوز أوالبذور.

يعقم سطح عيّنات هذا النوع من المواد في محلول إيبوكلوريت الصوديوم بـ 0,35 % (1000 µغ/غ) لمدة دقيقتين، ثم تغسل بماء مقطر معقم، تجفف فوق ورق معقم وتوضع فوق وسط هلامي.

2.2.7 يوزع السائل على سطح علبة الهلام بواسطة ناشر (8.5غ) معقم إلى غاية امتصاصه كليا من الوسط.

يمكن كذلك استعمال طريقة زرع العلب بالدمج. غير أنه في هذه الحالة، يجب التصديق على معادلة النتائج بالنسبة للزرع كما أن التمييز والتفريق بين العفنيات والخمائر في هذه الحالة غير ممكن. يمكن أن يعطي منهج الزرع على السطح إحصاءات أعلى. تسهل تقنية الزرع بالتطعيم على السطح تعرضا أقصى للخلايا للأكسجين الجوي و تجنب تعطيل النشاط الحراري للخلايا البرعمية الفطرية. تتوقف النتائج على نوع الفطريات.

3.2.7 تحضن العلب المحضرة (2.2.7) في شروط هوائية، الأغطية نحو الأعلى وفي وضعية مستقيمة، داخل جهاز التحضين (1.5) في درجة حرارة 25 °م ± 1°م خلال خمسة (5) إلى سبعة (7) أيام. إذ اقتضى الأمر، تترك العلب لضوء النهار خلال يوم (1) إلى يومين (2).

إذا وقع الشك في وجود كسيروميساس بيسبوروس (Xeromyces bisporus) تحضن العلب لمدة عشرة (10) أيام.

ينصح بتحضين علب البيتري داخل كيس بلاستيكي مفتوح لتفادي تلوث جهاز التحضين في حالة انتشار العفنيات خارج العلب.

3.7 إحصاء وانتقاء المستعمرات للإثبات

بعد المدة المخصصة للتحضين، تنتقى العلب (3.2.7) التي تحتوي على أقل من 150 مستعمرة أو خلايا برعمية أو جراثيم وتحصى هذه المستعمرات أو الخلايا البرعمية أو الجراثيم.

إذا لوحظ اجتياح سريع في العلب، تحصى المستعمرات أو الخلايا البرعمية أو الجراثيم بعد يومين (2) ويعاد إحصاؤها من جديد بعد خمسة (5) إلى سبعة (7) أيام من التحضين.

ملاحظة 1 : تعتبر مناهج إحصاء الخمائر والعفنيات على وجه الخصوص غير دقيقة بسبب احتوائها على خليط من الميسيليوم والأبواغ الجنسية وعديمة الجنس. يرتبط عدد الوحدات المشكلة للمستعمرات بدرجة انقسام الميسيلوم وبنسبة الأبواغ القادرة على النمو فوق الوسط.

ملاحظة 2 : تحدث غالبا إحصاءات غير خطية انطلاقا من تخفيفات عشرية، أي أن تخفيفا واحدا للعينة ذا عامل 10 لا يؤدي عموما إلى تخفيض العامل 10 لعدد المستعمرات على سطح علبة بيتري. وهذا ناتج عن انقسام الميسيليوم وانتشار الأبواغ أثناء التخفيف و كذلك إلى المنافسة بين الفصائل في حالة وجود عدد كبير من المستعمرات في علبة بيتري.

تنبيه : تنتشر أبواغ العفنيات في الهواء بسهولة، لذلك تعالج علب البيتري بحذر لتفادي تكاثر أبواغ العفنيات الذي يمكن أن يؤدي إلى تقدير مبالغ فيه لعدد المستعمرات في العيّنة.

يجرى إذا اقتضى الأمر، اختبار بواسطة مكبرة بعدستين (9.5) أو مجهر (7.5) للتمييز بين خلايا الخمائر أوالعفنيات ومستعمرات البكتيريا.

تحصى، إذا اقتضى الأمر، مستعمرات الخمائر والمستعمرات أو الخلايا البرعمية للعفنيات على حدة.

لتعيين الخمائر والعفنيات، يتم انتقاء مناطق تكاثر الفطريات و يجرى اقتطاع عينة لاختبار مجهري معمق أو الزرع في أوساط العزل أوالتعيين الملائمين.

8. التعبير عن النتائج وحدود الثقة

يجب التعبير عن النتائج وحدود الثقة حسب المتطلبات العامة والتوصيات المتعلقة بميكروبيولوجيا الأغذية.

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التجـــارة

المديرية العامة للرقابة الاقتصادية

و قمع الغش

مديرية مخابر التجارب

و تحاليل الجودة

المناهج الرسمية للتحاليل المتعلقة بمواد غير الغذائية

الفهرس ا

1. قرار امؤرخ افي ا25 انوفمبر اسنة ا2006، ايجعل امنهج اتحديد اكمية االكلور االفعال او اإبوكلوريت االصوديوم ا في اماء اجافيل اإجباريا. (ج ار اعدد ا13 - 2007)	01

قرارات، مقرّرات، آراء

وزارة التجارة

قرار مؤرخ في 4 ذي القعدة عام 1427 الموافق 25 نوفمبر سنة 2006، يجعل منهج تحديد كمية الكلور الفعال وإبوكلوريت الصوديوم في ماء جافيل إجباريا.

إن وزير التجارة،

– بمقتضى المرسوم الرئاسي رقم 06-176 المؤرخ في 27 ربيع الثاني عام 1427 الموافق 25 مايو سنة 2006 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 القرار الوزاري المشترك المؤرخ في 16 ذي القعدة عام1417 الموافق 24 مارس سنة 1997 والمتعلق بالمواصفات التقنية لوضع مستخلصات ماء جافيل رهن الاستهلاك وشروطها وكيفياتها،

يقرر ما يأتي :

المادة الأولى : تطبيقا لأحكام المادة 19 من المرسوم التنفيذي رقم 90-39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990، المعدل والمتمم والمذكورأعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج تحديد كمية الكلور الفعال وإبوكلوريت الصوديوم في ماء جافيل إجباريا.

المادة 2 : من أجل تحديد كمية الكلور الفعال وإبوكلوريت الصوديوم في ماء جافيل، 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 4 ذي القعدة عام 1427 الموافق 25 نوفمبر سنة 2006.

الهاشمي جعبوب

الملحـــق

منهج تحديد كمية الكلور الفعال وإبوكلوريت الصوديوم في ماء جافيل

1. التعريف :

1.1 الكلور الفعال : هو عبارة عن تركيز إبوكلوريت الصوديوم المنحل. الكلور الفعال عبارة عن قياس القدرة المؤكسدة لمحاليل الإبوكلوريت. يسمح بتحديد كمية الكلور المكافئة كيميائيا للأكسيجين الذي يحدث نفس الفعالية خلال التحلل الكامل للإبوكلوريت إلى كلورير الصوديوم والأكسيجين.

نسبة الكلور الفعال في جزيئة واحدة من الإبوكلوريت هي % 95,3.

2.1 الدرجة الكلورومترية : هي عدد لترات الكلور الجاف التي يمكن استخلاصها، في 0 م° وتحت ضغط 1 بار (0,1 مليبسكال) عند استعمال لتر واحد من محلول إبوكلوريت الصوديوم في 20 م° بوجود حمض.

يزن لتر واحد من الكلور الغازي في 0 م° وتحت ضغط 1 بار، 3,17 غرام.

2 . المبدأ :

أكسدة يودور البوتاسيوم في وسط حمض الأستيك ومعايرة اليود المحرّر بواسطة محلول ثيوسلفات الصوديوم في وجود النشاء.

3 . الكواشف :

يجب أن تكون الكواشف ذات نقاوة تحليلية معترف بها.

1.3 حمض الأسيتيك بارد (glacial).

2.3 يودور البوتاسيوم (KI) نقي مبلور وخال من اليودات.

3.3 محلول ثيوسولفات الصوديوم ($Na_2S_2O_3$) 0,1 نظامية.

تذوب 25 غ من ثيوسولفات الصوديوم خماسي التمييه ($Na_2S_2O_3$ ، $5H_2O$) مبلور حديثا في لتر من الماء المغلي ثم يترك ليبرد.

يكون المحلول ثابتا أكثر إذا كانت الأواني الزجاجية منظفة مسبقا بواسطة حمض سولفوكروميك وتنقى بالماء المقطر بعناية.

تجرى معايرة محلول ثيوسولفات الصوديوم بواسطة محلول يودات البوتاسيوم (KIO_3) المحضر كما يأتي :

توزن 3,567 غ من يودات البوتاسيوم، خال من الرطوبة، تنقل في قنينة سعتها 1 لتر، تذوب في الماء ثم تخلط بعناية : نظامية هذا المحلول 0,1 بالضبط.
لمعايرة محلول ثيوسولفات الصوديوم ($Na_2S_2O_3$)، تؤخذ 50 ملل من محلول اليودات المحضرة مسبقا، تسكب داخل إرلن ماير (erlenmeyer) سعته 250 ملل، تخفف 100 ملل بالماء المقطر وتضاف 1 غ من يودور البوتاسيوم المبلورة، عند ذوبان الـ KI، تضاف 15 ملل من حمض الكلور (HCL) 0,1 نظامية، ثم تعاير مباشرة بعد ذلك بمحلول ($Na_2S_2O_3$).

عند تغير لون المحلول إلى الأصفر، يضاف 1 ملل من محلول النشاء (مؤشر) وتواصل المعايرة حتى زوال اللون الأزرق.

تجرى معايرات محلول ($Na_2S_2O_3$) مرة في الشهر على الأقل.

تساوي نظامية محلول ($Na_2S_2O_3$) :

$$\frac{0,1 \cdot 50}{\text{ح م}}$$

بحيث :

ح م : هو الحجم بالميللتر لمحلول ($Na_2S_2O_3$) اللازم لمعايرة محلول (KIO_3).

50 : هو الحجم بالميللتر لمحلول (KIO_3).

0,1 : هي نظامية محلول (KIO_3).

4.3 النشاء : محلول مؤشر بـ 0,5 %

– يخلط 0,5 غ من النشاء مع 5 ملل من الماء البارد ويضاف 95 ملل من الماء المغلي. يخلط، يبرد ثم يحفظ في قارورة نقية.

– باعتبار أن محلول النشاء غير ثابت، يعوض مرارا أو يضاف إليه ما يعادل 0,1 % من حمض السليسليك لتقليص عملية الهدم.

4 . التجهيزات :

الأجهزة المتداولة في المخبر.

5. طريقة العمل :

1.5 تحضير العينة :

حسب التركيز الأولي لمحلول إبوكلوريت الصوديوم، تجرى تخفيفات للحصول على كمية الكلور الفعال قريبة من 1 °م كلورومتري (مثلا تخفيف 1/10 بالنسبة لمحاليل الإبوكلوريت ذات 10 °م - 12 °م و1/20 بالنسبة للمحاليل ذات 18°- 20 °م و1/50 بالنسبة للمحاليل ذات 47°-50°).

2.5 العينة المأخوذة للتجربة :

تقتطع 10 ملل من التخفيف المحضر في (1.5) بواسطة ماصة.

3.5 المعايرة :

يذوب في إرلن ماير (erlenmeyer) سعته 250 ملل، 2 إلى 3 غ من يودور البوتاسيوم (2.3) في 50 ملل من الماء. يضاف 10 ملل من حمض الأستيك (1.3)، ثم تسكب العينة (1.5) داخل أرلن ماير بإبقاء طرف الماصة تحت سطح السائل.

يعاير اليود المنطلق في مرحلة واحدة بواسطة محلول ثيوسلفات الصوديوم (3.3). عند تغير لون المحلول من الأسمر الداكن إلى الأصفر الشاحب (لون قشي)، يضاف 1 ملل من محلول النشاء (4.3) ثم تواصل عملية المعايرة حتى زوال اللون الأزرق. يسجل حجم الثيوسلفات المستعمل.