

BARBARA KŁOSSOWSKA

## METODY CHEMICZNEJ KONTROLI JAKOŚCI PRODUKTÓW MIĘSNYCH

### Streszczenie

W pracy dokonano przeglądu obecnie obowiązujących norm metodycznych służących do badania jakości mięsa i przetworów mięsnych oraz zamierzeń mających na celu dostosowanie naszych metod do wymagań międzynarodowych.

W ramach prowadzonej przez Polski Komitet Normalizacyjny nowelizacji norm metodycznych do końca 2000 r. przewidziane jest wdrożenie następujących norm ISO: metoda pobierania próbek oraz metody oznaczania białka surowego, hydroksyproliny, tłuszczu wolnego, wody, chlorku sodu, skrobi, popiołu oraz zawartości fosforu. Nowelizacja normy PN-74/A-82114 będzie możliwa po zatwierdzeniu jako normy ISO/CEN nowej metody oznaczania azotynów i azotanów.

### Wprowadzenie

Nowoczesny przemysł spożywczy powinien dążyć do spełnienia podstawowych oczekiwań konsumenta wobec żywności, a mianowicie zapewnienia jej zdrowotności i bezpieczeństwa, wygody przygotowania oraz pełnej satysfakcji sensorycznej. Rosnące wymagania konsumenta oraz jego potrzeba uzyskania maksimum informacji o spożywanych produktach sprawia, że szczególnego znaczenia nabiera chemiczna analiza żywności, umożliwiającą uzyskanie wiarygodnych informacji o składzie i właściwościach produktu.

Chemiczną kontrolę żywności, w tym również mięsa i produktów mięsnych należy rozpatrywać w różnych aspektach, w zależności od celu jakiego ma ona służyć. Według Tyszkiewicza [35] podstawowe cele chemicznej analizy żywności to:

- Miernictwo i analiza nadzorcza żywności dotycząca bezpieczeństwa zdrowotnego, a obejmująca cały proces produkcyjny począwszy od surowca i środowiska produkcyjnego, skończywszy na gotowym produkcie.
- Miernictwo i analiza towaroznawcza żywności dotycząca kontroli parametrów nominalnych determinujących jakość użytkową surowców, materiałów pomocni-

czych i gotowych produktów, służąca do oceny stopnia spełnienia umów pomiędzy stronami, w tym również określenia wartości odżywczej gotowego produktu.

- Miernictwo i analiza technologiczna stosowana do oceny prawidłowości przebiegu procesu technologicznego, doboru surowca i parametrów procesu.

Szczególnie w kontroli nadzorczej i towaroznawczej niezbędne są niezawodne metody analityczne umożliwiające jednoznaczną interpretację i porównywanie wyników. Doskonaleniem metod analitycznych zajmują się wyspecjalizowane organizacje międzynarodowe takie jak: ISO (Międzynarodowa Organizacja Normalizacyjna), CEN (Europejski Komitet Normalizacyjny), IUPAC, FAO/WHO, AOAC, których zalecenia stymulują postęp przy wprowadzaniu nowych metod. Potrzeba standaryzacji metod w skali międzynarodowej doprowadziła do powstania instytucji dokonujących wyboru i kwalifikacji metod analitycznych dla potrzeb kontroli jakości w obrocie międzynarodowym, przy czym przyjęto, że rekomendowane będą tylko te metody, dla których znana jest precyzja w warunkach ich powtarzalności i odtwarzalności. Zgodnie z zaleceniem Międzynarodowej Organizacji Normalizacyjnej precyzja metod analitycznych wyrażona powtarzalnością i odtwarzalnością wyznaczana jest na podstawie wyników badań międzylaboratoryjnych [2, 3]. Sposób określenia wartości tych parametrów w postaci równań regresji jest bardzo korzystny, gdyż uzależnia dopuszczalne absolutne różnice pomiędzy dwoma wynikami od stężenia badanej substancji.

W niniejszym opracowaniu przedstawiono metody badań chemicznych mięsa i przetworów mięsnych ujęte w obecnie obowiązujących Polskich Normach oraz zamierzone przez Normalizacyjną Komisję Problemową Nr 93 ds. Mięsa i Przetworów Mięsnych nowelizacje metod mające na celu ich dostosowanie do wymagań międzynarodowych.

## **Pobieranie próbek**

Analizę chemiczną mięsa i produktów mięsnych musi poprzedzać pobranie reprezentatywnej próbki i jej odpowiednie przygotowanie. Sposób pobierania próbek i ich charakter ma bowiem istotne znaczenie dla oceny uzyskanych wyników badań. Procedury pobierania próbek są obecnie w Polsce regulowane przez dwie normy: PN-71/A-82105 (22) i PN-72/A-82052 (23).

Przedmiotem pierwszej z norm jest wstępna ocena partii oraz pobieranie próbek wędlin i wyrobów wędliniarskich do badań fizycznych, organoleptycznych, mikrobiologicznych i chemicznych. Norma ta szczegółowo określa ilość próbek pierwotnych, pobieranych do poszczególnych badań w zależności od rodzaju produktu, sposób przygotowania średniej próbki laboratoryjnej, jeśli została pobrana w celu oceny średniej właściwości partii, a także określa dane, które powinien zawierać protokół pobrania próbek oraz sposób zabezpieczenia próbek i ich przekazania do laboratorium.

Przedmiotem drugiej z wymienionych norm jest pobieranie próbek konserw mięsnych, drobiowych, podrobowych oraz konserw z dodatkiem warzyw i innych produktów niemięsnych do badań organoleptycznych, fizycznych, chemicznych i mikrobiologicznych. Norma ta określa sposób pobierania próbek oraz precyzuje liczby opakowań jednostkowych lub transportowych, które należy pobrać do poszczególnych rodzajów badań w zależności od wielkości partii produkcyjnej czy wysyłkowej. Ponadto w normie podany jest sposób zabezpieczenia pobranych próbek i wyszczególnione są dane, które powinien zawierać protokół pobrania próbek.

W ramach prowadzonej przez Polski Komitet Normalizacyjny (PKN) nowelizacji norm metodycznych postanowiono ustanowić jako PN normę ISO 3100-1:1991 [1]. Norma ta przedstawia ogólne wskazówki oraz szczegółowe procedury pobierania próbek pierwotnych mięsa i przetworów mięsnych, różnicując je dla następujących grup produktów:

- mięso lub produkty mięsne wyprodukowane lub pakowane jako oddzielne jednostki bez względu na ich wielkość, (np. kiełbasy, plasterkowane kiełbasy, próżniowo pakowane mielone mięso, puszkowane szynki pasteryzowane) lub mięso w kawałkach o masie nie przekraczającej 2 kg,
- tusze, części tuszy lub peklowane mięso w kawałkach o masie przekraczającej 2 kg oraz mięso mechanicznie odkostnione lub mięso suszone.

Norma ISO 3100-1:1991 określa wymagania w stosunku do osób pobierających próbki, szczegółowe dane, które powinien zawierać protokół pobrania próbek oraz podaje sposób zabezpieczenia i oznakowania próbek. Norma ta wyszczególnia również wymagania w zakresie wyposażenia służącego do pobierania próbek i pojemników na próbki oraz metod ich sterylizacji. W normie znajdują się także dane dotyczące sposobu pakowania, transportu i przechowywania próbek. Norma nie precyzuje liczby próbek pierwotnych, podając jedynie, że liczba próbek pierwotnych reprezentatywna dla danej partii produkcyjnej lub wysyłkowej powinna być zgodna z planem pobierania próbek wyszczególnionym w kontrakcie lub innym uzgodnieniu pomiędzy zainteresowanymi stronami. Stosowanie procedur objętych normą ISO 3100-1:1991 generalnie jest zalecane dla celów handlowych, natomiast w przypadku oficjalnej kontroli norma ta dopuszcza stosowanie innych procedur.

Obecnie prace nad projektem normy PN-ISO 3100-1 znajdują się w ostatniej fazie. Projekt jest po ankiecie powszechnej i prawdopodobny termin ustanowienia normy przypadnie na koniec bieżącego lub początek przyszłego roku.

Powstające plany badania i pobierania próbek bazują na podstawach statystyki matematycznej i zakładają występowanie rozkładu normalnego dla stężenia analizowanej substancji w ramach partii wysyłkowej czy produkcyjnej. Jednak najczęściej rozkłady te nie są normalne. Ponadto w przypadku analityki nadzorczej kwestionowana jest możliwość statystycznej interpretacji wyników. W przypadku normowania stę-

zeń substancji szkodliwych dla zdrowia generalnie istnieją dwie przeciwstawne koncepcje, a mianowicie:

- koncepcja normowania maksymalnego stężenia danej substancji jako wartości średniej dla danej partii,
- koncepcja normowania bezwzględnego maksymalnego stężenia substancji w produkcji.

Polskie władze zdrowia, w kompetencji których jest limitowanie substancji dodatkowych dozwolonych i zanieczyszczeń w żywności, słusznie zdaniem autorki, opowiadają się za drugą koncepcją uważając, że każde jednostkowe przekroczenie limitu postawionego ze względów bezpieczeństwa zdrowotnego powinno być powodem dyskwalifikacji partii produktów i nie dopuszczają możliwości statystycznej interpretacji wyników badań.

## **Analiza towaroznawcza**

### *Oznaczanie białka*

Białka, obok węglowodanów i tłuszczów stanowią podstawowy składnik żywności, a wartość odżywcza produktów najczęściej jest oceniana na podstawie ich zawartości. W mięsie i przetworach mięsnych zawartość wysokowartościowego białka najczęściej mieści się w przedziale 10–20% i stanowi normatywny parametr oceny jakościowej.

Białka zwierzęce i roślinne zawierają w swoim składzie azot, którego poziom jest stały i charakterystyczny dla danego białka. Stąd też najprostsza metoda określenia ilości białka polega na analitycznym oznaczeniu azotu i przeliczeniu na białko. Metoda oznaczenia azotu będąca normą PN-75/A-04018 [24] jest tzw. metodą horyzontalną, uniwersalną dla całej żywności. Zawiera ona ogólne wytyczne dotyczące oznaczania azotu metodą Kjeldahla oraz szczegółowe parametry analityczne i współczynniki przeliczeniowe azotu na białko dla poszczególnych grup produktów, w tym również mięsa i przetworów mięsnych. Stosowana od 100 lat metoda Kjeldahla nadal ma status metody odwoławczej [4], a wprowadzenie różnych półautomatycznych i automatycznych urządzeń (np. firm Foss Electric, Tecator czy Gerhard) pozwala na znaczne uproszczenie analizy i skrócenie czasu jej trwania.

Niezbędna jest nowelizacja normy PN-75/A-04018 jedynie w zakresie precyzji. Zamiast dopuszczalnej różnicy pomiędzy dwoma równoległymi oznaczeniami norma powinna określać wartości parametrów powtarzalności i odtwarzalności, ustalonych na podstawie badań międzylaboratoryjnych przeprowadzonych zgodnie z normami ISO 5725-1:1994 [2] i ISO 5725-2:1994 [3].

### *Oznaczanie hydroksyproliny*

Metodą Kjeldahla oznaczany jest cały azot aminowy uwolniony z białek podczas mineralizacji próbek. Po przeliczeniu uzyskuje się zatem zawartość białka ogólnego w próbce. Ostatnio coraz częściej, szczególnie w obrotach międzynarodowych, pojawia się konieczność oznaczenia białka tkanki łącznej czyli białka kolagenowego, którego wartość odżywcza jest niższa niż białka mięśniowego.

Obecnie w Polsce nie ma znormalizowanej metody oznaczania kolagenu w mięsie i jego przetworach, w związku z czym Polski Komitet Normalizacyjny przewiduje wdrożenie normy ISO 3196:1994 (5), której przedmiotem jest metoda oznaczania zawartości hydroksyproliny we wszystkich rodzajach mięsa i produktów mięsnych. Znacząc zawartość hydroksyproliny można wyliczyć ilość kolagenu. Zasada tej metody polega na hydrolizie próbek kwasem siarkowym, utlenieniu hydroksyproliny chloraminą-T, reakcji barwnej z aldehydem p-dimetyloaminobenzoowym i pomiarze absorbancji. Przewidywany termin ustanowienia tej normy przypada na rok 2000.

### *Oznaczanie tłuszczu*

Zawartość tłuszczu jest normatywnym wyróżnikiem określającym jakość produktów mięsnych i jako taki stanowi jeden z ważniejszych elementów kontroli towaroznawczej. Oznaczanie tłuszczu reguluje norma PN-73/A-82111 [25] przedstawiająca następujące trzy metody: ekstrakcyjną odwoławczą, ekstrakcyjną techniczną oraz techniczną Gerbera. Pomimo, że norma nie precyzuje tego wyraźnie przy użyciu powyższych metod oznaczany jest tłuszcz wolny.

Metodę odwoławczą stanowi metoda Soxhleta, polegająca na ekstrakcji tłuszczu eterem naftowym lub n-heksanem z uprzednio wysuszonej próbki i wagowym oznaczeniu masy wyekstrahowanego tłuszczu. Wadą tej metody jest jej duża czasochłonność.

Najczęściej laboratoria posługują się jedną z metod technicznych. Metoda różnicowa polega na ekstrakcji tłuszczu eterem naftowym lub chloroformem i wyznaczeniu ilości tłuszczu na podstawie różnicy masy próbki przed i po ekstrakcji. Metoda techniczna Gerbera polega na destrukcji tkanki mięśniowej stężonym kwasem siarkowym, w celu uwolnienia tłuszczu z otoczek białkowych, jego oddzieleniu przez wirowanie i odczytaniu objętości wydzielonego tłuszczu. Całą analizę przeprowadza się w tłuszczomierzu. Metoda ta jest bardzo prosta i szybka w wykonaniu, jednak z przeprowadzonych badań międzylaboratoryjnych wynika, że nie zawsze daje ona powtarzalne wyniki i jest najmniej dokładna spośród normatywnych metod oznaczania tłuszczu w mięsie i jego produktach [19].

W najbliższych latach przewidziane jest zastąpienie normy PN-73/A-82111 normą ISO 1444:1996 [6], której przedmiotem jest oznaczanie tłuszczu wolnego w mięsie i jego przetworach. Metoda zalecana przez normę ISO jest taka sama jak metoda od-

woławcza w normie polskiej, z tym że norma ISO dopuszcza, oprócz tradycyjnego urządzenia Soxhleta, stosowanie 6-miejscowego aparatu Soxtec lub innego podobnego, co umożliwi trzykrotne skrócenia czasu ekstrakcji, przy zachowaniu takiej samej wydajności metody i jej precyzji. Ponadto norma ISO posiada wyznaczone w badaniach międzylaboratoryjnych parametry powtarzalności i odtwarzalności metody.

Wśród norm ISO dotyczących chemicznych metod badania mięsa i przetworów mięsnych znajduje się metoda oznaczania zawartości tłuszczu całkowitego [17]. W ramach dokonywanego co 5 lat przeglądu norm ISO stwierdzono, że metoda ta wymaga nowelizacji w zakresie parametrów określających precyzję. Spośród członków ISO normą tą zainteresowana jest tylko Wielka Brytania i nie znaleziono chętnych do wzięcia udziału w badaniach międzylaboratoryjnych w celu wyznaczenia wartości liczbowych powtarzalności i odtwarzalności. Biorąc pod uwagę obecną politykę ISO polegającą na zatwierdzaniu norm tylko wtedy, gdy zawierają pełne dane dotyczące precyzji oraz brak zainteresowania tą metodą, członkowie ISO zdecydowali o wycofaniu normy.

### *Oznaczanie wody*

W mięsie i produktach mięsnych woda jest jednym z głównych czynników określających ich jakość. Produkty o nadmiernej zawartości wody charakteryzują się obniżoną wartością odżywczą i sensoryczną oraz niższą trwałością. Jej oznaczanie należy do podstawowych elementów kontroli towaroznawczej i jest określone normą PN-73/A-82110 [26], która obejmuje trzy metody: odwoławczą, techniczną suszarkową i techniczną promiennikową.

Nowelizacja normy PN-73/A-82110 przewiduje zastąpienie tych trzech metod jedną metodą odwoławczą według ISO 1442:1997 [7]. Metoda ta generalnie odpowiada obecnie stosowanej metodzie odwoławczej wg PN. Różnica polega jedynie na tym, że w metodzie ISO dodatek etanolu stosuje się tylko wtedy, gdy występują trudności z wymieszaniem próbki z piaskiem. W pozostałych przypadkach stosowanie etanolu nie jest wymagane. Ponadto podane w normie wartości powtarzalności i odtwarzalności wyznaczone zostały zgodnie z aktualnymi wymaganiami.

### *Oznaczanie chlorku sodu*

Chlorek sodu jest substancją dodawaną w procesie produkcyjnym przetworów mięsnych. Obok kształtowania odpowiedniej smakowitości ma on działanie konserwujące. Jego zawartość jest normatywnym wyróżnikiem jakości produktów mięsnych.

Norma PN-73/A-82112 [27] obejmuje dwie metody oznaczania zawartości soli kuchennej: Volharda i Mohra. Metoda Volharda zaprezentowana w PN polega na zmineralizowaniu próbki stężonym kwasem azotowym na gorąco w obecności nadmiaru mianowanego roztworu azotanu srebra, usunięciu tlenków azotu i organicznych sub-

stancji redukujących, a następnie odmiareczkowaniu nadmiaru azotanu srebra przy użyciu rodanku potasu.

W ramach przystosowania polskich norm do standardów międzynarodowych przewidziane jest wdrożenie bardziej przyjaznej dla analityka wersji metody Volharda według ISO 1841-1:1996 [8], której zasada polega na ekstrakcji badanego związku z próbki gorącą wodą i strąceniu białek. Po przesączeniu i zakwaszeniu roztworu dodawany jest nadmiar mianowanego roztworu azotanu srebra, który następnie odmiareczkowany zostaje rodankiem potasu. Metoda Mohra zastąpiona zostanie metodą potencjometryczną wg ISO 1841-1:1996 [9], polegającą na dyspersji badanej próbki w wodzie, zakwaszeniu części zawiesiny i potencjometrycznym miareczkowaniu azotanem srebra.

Obie metody mające zastąpić obecnie stosowane, charakteryzują się szybkością i prostotą wykonania, dokładnością oraz dobrą powtarzalnością i odtwarzalnością.

### *Oznaczanie skrobi*

Skrobia stanowi dodatek dopuszczony do produkcji wielu wyrobów mięsnych i drobiowych. Dlatego kontrola towaroznawcza musi dysponować metodą umożliwiającą oznaczanie tego składnika.

Przedmiotem normy PN-85/A-82059 [28] jest metoda wykrywania obecności skrobi oraz ilościowa metoda oznaczania jej zawartości w przetworach mięsnych. Wadą metody ilościowej jest skomplikowana i czasochłonna procedura analityczna oraz wysoki koszt odczynników. Metoda ta polega na hydrolizie białek i zmydleniu tłuszczu w alkoholowym roztworze wodorotlenku potasu, następnie wydzieleniu osadu skrobi, jej hydrolizie do cukrów prostych i oznaczeniu glukozy na podstawie jodometrycznego ustalenia ilości miedzi zredukowanej przez ten cukier prosty (metoda wg Luffa-Schoorla). Szczególnie kłopotliwe i kosztowne są etapy metody doprowadzające do wydzielenia skrobi, dlatego często stosowana jest modyfikacja metody pomijająca właśnie te etapy. Stąd też pilną potrzebą staje się nowelizacja normatywnej metody oznaczenia zawartości skrobi.

W ostatniej fazie znajdują się prace nad projektem normy międzynarodowej ISO/FDIS 13965:1998 [10] przedstawiającej enzymatyczną metodę oznaczania glukozy i skrobi we wszystkich rodzajach mięsa i produktów mięsnych, łącznie z drobiem. Zasada tej metody sprowadza się do hydrolizy skrobi przy użyciu  $\alpha$ -amylazy i amyloglukozydazy, fosforylacji powstałej glukozy do glukozo-6-fosforanu, który jest następnie utleniany przez fosforan dinukleotydu nikotynamidoadeninowego (NADP). Spektrofotometryczny pomiar ilości zredukowanego fosforanu dinukleotydu nikotynamidoadeninowego (NADPH<sup>+</sup>) stanowi podstawę do obliczenia ilości glukozy i skrobi. Zdaniem przedstawicieli niemieckiej organizacji normalizacyjnej (DIN), którzy zgłosili na forum ISO metodę enzymatyczną, jest ona bardziej specyficzna niż metody chemiczne

bazujące na redukujących właściwościach cukrów prostych i daje bardziej powtarzalne wyniki.

Należy rozważyć czy wdrożenie w przyszłości enzymatycznej metody oznaczania skrobi rozwiąże nasze problemy analityczne w tym zakresie. Metody enzymatyczne z uwagi na koszt produkcji enzymów o określonej aktywności i trwałości są metodami drogimi, ponadto zazwyczaj konieczne jest bardzo rygorystyczne przestrzeganie warunków temperatury i pH środowiska reakcji.

### *Oznaczanie popiołu*

W kontroli towaroznawczej niekiedy potrzebne jest określenie zawartości substancji mineralnych ogółem. Metoda oznaczania substancji mineralnych sprowadza się do spopielenia próbki w określonych warunkach i oznaczeniu masy popiołu. Procedurę oznaczania popiołu przedstawia norma PN-89/A-82115 [28]. W ciągu najbliższych dwóch lat przewidziane jest zastąpienie normy PN nowelizowaną właśnie normą ISO [13]. W stosunku do obecnie obowiązujących norm ISO i PN nowelizacja polega na obniżeniu temperatury spopielenia próbki ( $550^{\circ}\text{C}\pm 25^{\circ}\text{C}$ ), możliwości pominięcia wstępnego zwęglania próbki w przypadku stosowania pieca muflowego z programatorem temperatury oraz wyeliminowaniu dodatku roztworu octanu magnezu przed mineralizacją. Zmiany te uproszczą procedurę analityczną bez obniżenia precyzji metody i umożliwią wykorzystanie popiołu do dalszych analiz, np. do oznaczania niektórych pierwiastków.

### **Analiza nadzorcza**

#### *Oznaczanie zawartości azotynów i azotanów*

Polskie władze zdrowia dopuszczają stosowanie azotynu w przetwórstwie mięsa, przy czym pozostałość azotynów i azotanów w gotowym produkcie nie może przekraczać w wędlinach i konserwach pasteryzowanych 125 mg  $\text{NaNO}_2$  na kg, a w konserwach sterylizowanych 50 mg  $\text{NaNO}_2$  na kg. Stosowanie azotanu jest dopuszczone wyłącznie do wędlin surowo-dojrzewających, a jego pozostałość w gotowym produkcie nie może przekraczać 400 mg na kg, w tym azotynu nie może być więcej niż 60 mg na kg. Ustanowione limity zostały podyktowane względami bezpieczeństwa zdrowotnego, w związku z czym ich przestrzeganie powinno podlegać ścisłej kontroli.

Oznaczanie azotynów i azotanów w Polsce reguluje norma PN-74/A-82114 [29]. Metodyka przedstawiona w tej normie odpowiada metodyce zalecanej przez normy ISO 2918:1975 [11] i ISO 3091:1975 [12]. Polega ona na reakcji barwnej azotynów z sufanilamidem i chlorowodorkiem N-(1-naftylo)-etylenodiaminy (odczynnik Griessa), przy czym azotany podlegają uprzedniej redukcji do azotynów w kolumnie wypełnionej metalicznym kadmem. Od szeregu lat redukcja azotanów do azotynów w kolumnie



kadmowej budzi dyskusje i zastrzeżenia analityków zarówno z uwagi na zagrożenie jakie stwarza stosowanie kadmu, jak i z powodu zbyt często występujących podczas analizy azotanów błędów grubych.

W ramach podjętych przez Europejski Komitet Normalizacyjny prac, mających na celu ujednoczenie metod oznaczania substancji dodatkowych, pozostałości i skażeń w żywności, powołano w 1992 r. grupę roboczą do wytypowania uniwersalnej metody oznaczania azotynów i azotanów w żywności. Dokonany przez tę grupę przegląd metod wykazał, że jedyną metodą, która mogłaby być uniwersalna dla całej żywności jest metoda polegająca na reakcji barwnej azotynów z sufanilamidem i chlorowodorkiem N-(1-naftylo)-etylenodiaminy po uprzedniej redukcji azotanów do azotynów za pomocą kadmu [31]. Rozwiązanie takie okazało się niemożliwe ze względu na przyjęte przez CEN kryteria, którym powinny odpowiadać rekomendowane metody. Jedno z nich wyklucza stosowanie odczynników i materiałów stwarzających zagrożenie dla analityka i środowiska, a za taką substancję uznany jest kadm. W związku z tym powszechnie stosowana metoda oznaczania azotynów i azotanów w różnych środkach spożywczych została wykluczona z dalszej dyskusji. Ponieważ znalezienie jednej wspólnej metody dla wszystkich produktów żywnościowych nie było możliwe w 1993 r. CEN zaproponował jako horyzontalne dwie metody:

- oznaczanie azotynów i azotanów metodą HPLC z zastosowaniem kolumny jonowymiennej,
- spektrofotometryczne oznaczanie azotynów oraz azotanów po enzymatycznej ich redukcji do azotynów.

Sekcja Chemiczna Podkomitetu ISO/TC 34/SC 6 „Mięso i przetwory mięsne” przyjęła propozycję CEN, aby wytypowane metody wspólnie dopracować dla potrzeb analityki mięsa i jego przetworów i ustanowić wspólne normy metodyczne.

Metoda HPLC przyjęta jako projekt ISO CD 13494 [13] polega na ekstrakcji azotynów i azotanów z próby wodą na gorąco, usunięciu związków interferujących przy użyciu acetonitrylu i analizie ilościowej z zastosowaniem chromatografii jonowymiennej i detekcji w zakresie UV. Zaprezentowane przez przedstawicielkę francuskiej organizacji normalizacyjnej wyniki badań międzylaboratoryjnych wskazują, że metoda ta charakteryzuje się dobrą powtarzalnością i odtwarzalnością i to zarówno w badaniu produktów mięsnych jak też produktów mleczarskich, warzyw i żywności dla niemowląt. Dla wielu laboratoriów mankamentem tej metody będzie konieczność posiadania chromatografu cieczowego, aparatu dość drogiego, którego wykorzystywanie w laboratoriach kontrolno-badawczych przemysłu mięsnego będzie miało niewielki zakres.

Metoda spektrofotometryczna po enzymatycznej redukcji azotanów do azotynów według projektu CEN [32] zalecana jest również przez niemieckie ustawodawstwo żywnościowe do oznaczania azotanów i azotynów w kielbasach. Zasada tej metody

polega na ekstrakcji badanych związków z próbki wodą, redukcji azotanów do azotynów za pomocą reduktazy azotanowej, wytworzeniu kompleksu barwnego w wyniku reakcji azotynu z sulfanilamidem i chlorowodorkiem N-(1-naftylo)-etylenodwuaminy oraz pomiarze absorbancji. Wyposażenie niezbędne do wykonanie oznaczeń metodą enzymatyczną jest identyczne jak w przypadku metod obecnie stosowanych, a reduktaza azotanowa jest dostępna w handlu w postaci trwałego liofilizatu o gwarantowanej aktywności.

W celu porównania metody enzymatycznej redukcji azotanów wg CEN [32] z metodami obecnie stosowanymi w Polsce, wykorzystującymi redukcję kadmem w kolumnie [29] oraz zawiesiną kadmu w ekstrakcie próbki [34], wykonano serię badań obejmującą 7 próbek mięsa i 42 próbki różnych przetworów mięsnych [18]. Stwierdzono bardzo dobrą zgodność wyników, niezależnie od rodzaju badanego produktu. Metoda wykorzystująca redukcję enzymatyczną była tak samo dokładna i precyzyjna, jak pozostałe oceniane metody, dzięki czemu istnieje możliwość wyeliminowania toksycznego kadmu z laboratoriów badających produkty mięsne. Wadą metody enzymatycznej jest wysoki koszt zestawu odczynników do reakcji enzymatycznej.

Może wydawać się, że prace nad projektami nowych metod oznaczania zawartości azotynów i azotanów w żywności, w tym również w mięsie i jego przetworach przebiegają dość opieszale, jednak należy liczyć się z tym, że w niedalekiej przyszłości jedna z tych metod lub obie zostaną ustanowione jako międzynarodowe normy horyzontalne i następnie wdrożone jako Normy Polskie w ramach dostosowywania naszych metod do standardów międzynarodowych. Warto o tym pomyśleć z pewnym wyprzedzeniem.

### *Oznaczanie zawartości fosforu*

W niektórych produktach mięsnych, takich jak wędzonki, z wyjątkiem boczku oraz szynki w puszkach i folii, poza fosforem fizjologicznym pochodzącym z surowca mięsnego mogą występować fosforany, które zostały dodane w trakcie procesu technologicznego. Celem stosowania fosforanów w przetwórstwie mięsa jest poprawa wiązania wody, dzięki czemu zwiększa się soczystość produktu, lepsze zemulgowanie tłuszczu oraz zapobieganie tworzeniu się nadmiernej ilości galarety w konserwach. Dopuszczalny poziom dodatku wielofosforanów do wędzonek wieprzowych z wyjątkiem boczku wynosi 1500 mg na kg, a do szynki wołowej 3000 mg na kg.

Analityka żywności tak w Polsce, jak i na świecie nie dysponuje metodą umożliwiającą bezpośrednio, ilościowe oznaczanie fosforu dodanego w produktach mięsnych. Zasada rekomendowanych dla mięsa i przetworów mięsnych metod [15, 16, 21, 31], polega na mineralizacji próbki i następnie wagowym lub kolorymetrycznym oznaczeniu całkowitej zawartości fosforu występującego w badanej próbce, tj. zarówno tej części, która wniesiona została przez surowiec mięsny, jak i tej która była dodana pod-

czas procesu technologicznego. Wyznaczenie zawartości fosforu dodanego polega na obliczeniu różnicy pomiędzy całkowitą, analitycznie oznaczoną zawartością fosforu i szacunkową zawartością fosforu fizjologicznego, przy czym to oszacowanie wynika z pomnożenia analitycznie oznaczonej zawartości białka przez odpowiedni współczynnik przeliczeniowy.

Wiadomo, że ilość fosforu naturalnie występującego w tkance mięśniowej jest dodatnio skorelowana z zawartością białka surowego. Zależność ta dała podstawę do empirycznego ustalenia wartości liczbowej współczynnika umożliwiającego wyznaczenie poziomu fosforu fizjologicznego. Wartość tego współczynnika, będącego stosunkiem pomiędzy zawartością fosforu i białka, zgodnie z normą metodyczną wynosiła 0,0087, a w wyniku przeprowadzonych badań została skorygowana i od 1992 r. wynosi 0,0100 (Biuletyn PKNiM 2/92).

Ostatnio coraz częściej pojawiają się informacje, że niektóre służby kontrolne stwierdzają obecność fosforanów dodanych w produktach, w których dodatek ten nie jest przez władze zdrowia dopuszczony, a producent kategorycznie zaprzecza, że w procesie technologicznym stosował fosforany. Sytuacja taka dotyczyła pasztetów, wędlin podrobowych, konserw podrobowych oraz produktów z dodatkiem masy tłuszczowo-białkowej pochodzącej z mechanicznego odmięśniania kości wołowych i wieprzowych oraz mięsa odzyskanego mechanicznie z drobiu. We wszystkich zakwestionowanych produktach zawartość fosforu dodanego badano zgodnie z normą PN-87/A-82060 [31], stosując dla obliczenia zawartości fosforu fizjologicznego współczynnik, który w przypadku tych produktów nie powinien mieć zastosowania, gdyż został wyznaczony dla produktów czysto mięsnych wyprodukowanych bez dodatku surowców podrobowych, mięsa z mechanicznego odmięśniania kości oraz białek niemięsnych.

W dostępnym piśmiennictwie fachowym niewiele można znaleźć informacji dotyczących ilości fosforu występującego w podrobach zwierząt rzeźnych oraz w mięsie z mechanicznego odmięśniania kości. Z badań własnych [20] wynika, że stosunek fosforu do białka, jest w porównaniu z tym w tkance mięśniowej, wyższy o 20% w sercach, o 50% w nerkach i o 70% w płucach i wątrobie. W mięsie z mechanicznego odmięśniania kości stosunek ten jest dwukrotnie wyższy niż w tkance mięśniowej. Badania te potwierdzają opinię, że obecnie obowiązująca normatywna metoda nie powinna być stosowana do wyznaczania zawartości fosforu dodanego w przetworach mięsnych wyprodukowanych z udziałem surowców podrobowych i/lub mięsa z mechanicznego odmięśniania kości.

Uporządkowanie spraw metodycznych miała na celu Normalizacyjna Komisja Problemowa nr 93 ds. Mięsa i Przetworów Mięsnych nowelizując normę PN-97/A-82060 [31]. Najważniejszym skutkiem weryfikacji będzie uszczegółowienie zakresu normy. Przewidywany jest następujący zapis: „Postanowienia niniejszej normy stosuje się przy ilościowym oznaczaniu fosforu ogólnego w mięsie i przetworach mięsnych,

w tym drobiowych. Norma ma również zastosowanie do wyliczania fosforu dodanego w przetworach mięsnych i drobiowych wyprodukowanych bez udziału mięsa z mechanicznego odmięśniania kości, surowców podrobowych oraz białek niemięsnych”. Produkty drobiowe włączono do zakresu stosowania normy na wniosek Normalizacyjnej Komisji Problemowej nr 34 ds. Drobiu i Przetworów Drobiarskich.

W stosunku do pozostałych produktów mięsnych i drobiowych powinny zostać ustanowione odpowiednio wysokie limity zawartości fosforu ogólnego bez wyszczególniania jaka jego część jest wnoszona przez surowce, a jaka stanowi dozwolony dodatek technologiczny. Takie rozwiązanie ma miejsce w przepisach Kodeksu Żywnościowego FAO/WHO w stosunku do konserw mięsnych zawierających inne składniki niż mięso (luncheon meat).

W ramach dostosowywania Polskich Norm do wymagań międzynarodowych planowane jest wdrożenie normy ISO 13730:1977 [16] dotyczącej oznaczania fosforu ogólnego metodą spektrofotometryczną oraz normy ISO 2294:1974 przedstawiającej referencyjną metodę oznaczania fosforu ogólnego [15].

## LITERATURA

- [1] ISO 3100-1:1991, Meat and meat products - Sampling and preparation of test samples – Part 1: Sampling.
- [2] ISO 5725-1:1994, t 1: General principles and definitions.
- [3] ISO 5725-2:1994, Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results – Part 2: Basic method for determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method.
- [4] ISO 937:1978, Meat and meat products – Determination of nitrogen content (Reference method).
- [5] ISO 3496:1994, Meat and meat products – Determination of hydroxyproline content.
- [6] ISO 1444:1996, Meat and meat products – Determination of free fat content.
- [7] ISO 1442:1997, Meat and meat products – Determination of moisture content (Reference method).
- [8] ISO 1841-1:1996, Meat and meat products – Determination of chloride content. Part 1: Volhard method.
- [9] ISO 1841-2:1996, Meat and meat products – Determination of chloride content. Part 2: Potentiometric method.
- [10] ISO/FDIS 13965:1998, Meat and meat products – Determination of starch and glucose contents – Enzymatic method.
- [11] ISO 2918:1975, Meat and meat products – determination of nitrite content.
- [12] ISO 3091:1975, Meat and meat products – Determination of nitrate content.
- [13] ISO CD 13494, Meat and meat products – Determination of nitrate and nitrite contents – HPLC method.
- [14] ISO/FDIS 996: Meat and meat products – Determination of total ash.
- [15] ISO 2294:1974, Meat and meat products – Determination of total phosphorus content (Reference method).
- [16] ISO 13730:1997, Meat and meat products – Determination of total phosphorus content – Spectrometric method.

- [17] ISO 1443:1973, Meat and meat products - Determination of total fat content.
- [18] Kłossowska B.: Determination of nitrite and nitrate in meat products after enzymatic reduction of nitrate, *Roczniki IPMiT*, **XXXIV**, 1997, 189.
- [19] Kłossowska B.: Zasady uwiarygodniania wyników w analityce fizykochemicznej, *Gosp. Mięsna*, **3**, 1998, 32.
- [20] Kłossowska B.: Oznaczanie fosforu dodanego w produktach mięsnych, *Gosp. Mięsna*, **6**, 1998, 48.
- [21] Official Method of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists 15-th edition, 1990, 97222 Phosphorus in Meat.
- [22] PN-71/A-82105, Wędliny i wyroby wędliniarskie. Wstępna ocena partii i pobieranie próbek.
- [23] PN-72/A-82052, Przetwory mięsne. Konserwy. Pobieranie próbek.
- [24] PN-75/A-04018, Produkty rolno-żywnościowe. Oznaczanie azotu metodą Kjeldahla i przeliczanie na białko.
- [25] PN-73/A-82111, Mięso i przetwory mięsne. Oznaczanie zawartości tłuszczu.
- [26] PN-73/A-82110, Mięso i przetwory mięsne. Oznaczanie zawartości wody.
- [27] PN-73/A-82112, Mięso i przetwory mięsne. Oznaczanie zawartości soli kuchennej.
- [28] PN-85/A-82059, Przetwory mięsne. Wykrywanie i oznaczanie zawartości skrobi.
- [29] PN-74/A-82114, Mięso i przetwory mięsne. Oznaczanie zawartości azotynów i azotanów.
- [30] PN-89/A-82115, Mięso i przetwory mięsne. Oznaczanie zawartości popiołu.
- [31] PN-87/A-82060, Mięso i przetwory mięsne. Oznaczanie zawartości fosforu.
- [32] Pr EN 12014-3, Foodstuffs – Quantitative determination of nitrate and/or nitrite content – Part 3: Spectrometric determination of nitrate and nitrite content of meat products after enzymatic reduction of nitrate to nitrite.
- [33] Tyszkiewicz I.: Przegląd metod oznaczania azotynów i azotanów – próby ujednoczenia metodyki w ramach CEN. Postęp w analizie żywności, Wydawnictwo IPMiT, Warszawa 1993.
- [34] Tyszkiewicz I.: Modyfikacja metody oznaczania azotanów w peklowanych przetworach mięsnych, *Gosp. Mięsna*, **1**, 1986.
- [35] Tyszkiewicz S.: Analityka chemiczna i metrologia w służbie kwalifikacji jakościowej żywności, *Przem. Spoż.*, **8/9**, 1985, 285-289.

## METHODS OF CHEMICAL CONTROL OF MEAT PRODUCT QUALITY

### S u m m a r y

This paper presents a review of Polish Standards of chemical methods, which are applicable for meat, and meat products and projects with the purpose of conform them to the international requirements.

The amendment of Polish Standards on analytical methods was introduced in the work program of Polish Committee for Standardisation. The ISO Standards on methods of sampling and determination of crude protein, hydroxyproline, free fat, moisture, sodium chloride, starch, ash and total phosphorus content will have been confirmed as Polish Standards till the end of 2000 year. The revision of PN-74/A-82114 will be possible when the new method of determination of nitrite and nitrate content will be confirmed as ISO/CEN Standard. ✠