

PRZYPRAWY KORZENNE	NORMA BRANŻOWA WYMAGANIA IMPORTOWE	BN-88
	Przyprawy mielone Oznaczanie zanieczyszczeń wymywalnych	8132-20
		Grupa katalogowa 1259

BN-88/8132-20 [idt ISO 1208-1982 (E)]

## PRZEDMOWA

BN-88/8132-20 jest wdrożeniem, z niewielkimi zmianami redakcyjnymi, normy międzynarodowej ISO 1208-1982 (E) Spices and condiments — Determination of filth. Niewielkie zmiany redakcyjne polegają na zmianie numeracji rozdz. na 1 i 2 zamiast 0 i 1 oraz na przeniesieniu treści rozdz. 2. Normy związane i p. 8.1. Przygotowanie odważki do rozdz. 7. Pobieranie i przygotowanie próbek, a także na powołaniu w p. 6.1 odpowiedniego rysunku i opisu kolby Wildmana wg normy krajowej.

Informacje dodatkowe są krajowym uzupełnieniem normy międzynarodowej.

W przypadku sporu obowiązuje oryginalna treść normy ISO w języku angielskim.

## NORMA MIĘDZYNARODOWA ISO 1208-1982 (E)

## 1. PRZEDMIOT NORMY

Przedmiotem normy jest metoda ilościowego oznaczania zanieczyszczeń wymywalnych w przyprawach zmielonych.

## 2. ZAKRES STOSOWANIA NORMY

Normę stosuje się w imporcie i obrocie do badania przypraw, dla których ten rodzaj zanieczyszczeń i ta metoda jego badania zostały ustalone w normach międzynarodowych (i odpowiednich krajowych — przyp. tłum.). Normy międzynarodowe określając wymagania dla przypraw korzennych i innych roślinnych postanawiają między innymi, że te przyprawy powinny być praktycznie wolne od martwych szkodników i ich pozostałości oraz wolne od zanieczyszczeń pochodzących od gryzoni. Badanie przypraw na zgodność z tymi wymaganiami, przy użyciu ręcznych lup, jest przydatne tylko w przypadku produktów nierozdrobnionych.

Do badania zmielonych przypraw korzennych i innych przypraw roślinnych w dalszej treści normy nazywanych przyprawami, należy stosować metodę opisaną w tej normie, w szczególności w przypadkach spornych. Metoda ma zastosowanie do większości przypraw. Ze względu jednak na znaczną liczbę i różnorodność

rodzajów przypraw, może okazać się konieczne zastosowanie zmian w tej metodzie lub nawet wybór metody innej, bardziej przydatnej. Gdy zastosowanie owych zmian lub innej metody do badania określonych przypraw okaże się konieczne, wówczas będą one podane w normach międzynarodowych przedmiotowo właściwych dla danej przyprawy.

Norma powinna być stosowana jako odwoławcza w przypadku rozstrzygania sporów, a także do badania mającego na celu gromadzenie danych o obecności zanieczyszczeń wymywalnych w przyprawach.

## 3. OKREŚLENIA

**Zanieczyszczenia wymywalne** — zanieczyszczenia mineralne np. piasek, gleba oraz zanieczyszczenia pochodzenia zwierzęcego np. szkodniki martwe i ich pozostałości, sierść i ekskrementy gryzoni wydzielone z próbki w warunkach opisanych metodą.

## 4. ZASADA METODY

Zasada metody polega na przemyciu badanej próbki chloroformem (po wcześniejszej ekstrakcji eterem naftowym, jeżeli okaże się to konieczne) i ocenie popłuczyn co do zawartości ciężkich zanieczyszczeń i zanie-

Zgłoszona przez Ministerstwo Współpracy Gospodarczej z Zagranicą, Centralny Inspektorat Standaryzacji  
Ustanowiona przez Dyrektora Centralnego Inspektoratu Standaryzacji dnia 12 kwietnia 1988 r. zarządzeniem nr (N) 310/88  
jako norma obowiązująca od dnia 1 października 1988 r.  
(Dz. Norm. i Miar nr 7/1988, poz. 17)

czyszczeń piaskiem, następnie przemyciu próbki wodą z dodatkiem lub bez dodatku enzymu pankreatyny, wytrząsaniu z eterem naftowym i po rozwarstwieniu się faz organicznej i wodnej, zebraniu zanieczyszczeń lekkich unoszących się na pograniczu tych faz, przeniesieniu zanieczyszczeń lekkich na sącdek bibułowy, ich odsączeniu i badaniu pod mikroskopem na obecność szkodników i ich pozostałości oraz sierści gryzoni.

## 5. ODCZYNNIKI

Do badań używać wodę destylowaną lub wodę co najmniej równoważnej czystości. Odczynniki wg 5.1, 5.3, 5.4, cz.d.a.

**5.1. Chloroform**, a gdy konieczne (patrz p. 8.2), mieszanina chloroformu i czterochlorku węgla.

**5.2. Roztwór pankreatyny.** Należy stosować pankreatynę spełniającą wymagania podane w załączniku do normy i przechowywaną w temperaturze około 10°C. Roztwór do badań powinien być świeżo sporządzony jak opisano poniżej. Wymieszać 10 g pankreatyny ze 100 ml wody (o temperaturze poniżej 40°C) przy użyciu mieszadła, przez 10 min lub pozostawić na 30 min mieszając. Następnie przesączyć roztwór przez luźny tampon waty o grubości 100 mm, umieszczony w lejku o kącie rozwartości 60° i średnicy 100 ÷ 125 mm. Powtórzyć sączenie przez ten sam tampon. Jeżeli ponowne sączenie odbywa się wolno, zastosować sączenie pod próżnią przy użyciu sączków szybkosączących i lejka Büchnera. Jeżeli sączenie jest nadal powolne przenieść roztwór na lejek (60°) z lekko ubitym tamponem waty. Powtórzyć sączenie, jeśli zajdzie potrzeba, aż do momentu szybkiego przesączania się roztworu przez bibułę do sączenia (pankreatyna rozpuszczalna może być sączona bezpośrednio przez bibułę do sączenia pod próżnią). Przesącz rozcieńczyć do objętości 100 ml w proporcji : 100 ml na każde 10 g odważki.

**5.3. Orto-fosforan trójsodowy**, roztwór 59 g/l.

**5.4. Aldehyd mrówkowy**, roztwór 40%(m/m).

**5.5. Eter naftowy**, temperatura wrzenia 40 ÷ 60°C.

**5.6. Benzyna ekstrakcyjna**, temperatura wrzenia 100 ÷ 120°C.

## 6. APARATURA I PRZYRZĄDY

Standardowe wyposażenie laboratoryjne i ponadto:

**6.1. Kolba rozdzielcza Wildmana** pojemności 1000 ml, opisana i przedstawiona na rysunku wg BN-80/8192-06 p. 2.5.3. Dopuszcza się, jako równorzędny do kolby Wildmana, rozdzielacz pojemności 1000 ml.

**6.2. Zlewki** pojemności 600 ml.

**6.3. Lejek Büchnera** średnicy 15 cm z bibułą do sączenia.

**6.4. Lejek Büchnera** średnicy 7 cm, z bibułą do sączenia karbowaną w odstępach co 5 mm.

**6.5. Sączki bibułowe** ilościowe.

**6.6. Tygle** wytarowane.

**6.7. Suszarka** z termoregulacją w zakresie 80°C.

**6.8. Suszarka** z termoregulacją w zakresie 103°C.

**6.9. Płytki Petriego** średnicy 80 mm.

**6.10. Zestaw powiększający** (mikroskop, binokular

itp. lub najbardziej pożądanym wielopolowym mikroskopem stereoskopowym).

## 6.11. Waga analityczna.

## 7. POBIERANIE I PRZYGOTOWANIE PRÓBEK

**7.1. Pobieranie próbek** — wg BN-79/8132-17, norma równoważna ISO 948-1980.

**7.2. Przygotowanie odważki.** Z próbki laboratoryjnej po jej starannym wymieszaniu wydzielić reprezentatywną odważkę.

**7.2.1. Przyprawy korzenne całe i łamane.** Połamać próbkę na drobne kawałki i odważyć z dokładnością do około 0,1 g 25 g próbki, a następnie przenieść do zlewki (6.2).

**7.2.2. Przyprawy mielone.** Odważyć z dokładnością do około 0,1 g 25 g próbki i przenieść do zlewki (6.2).

## 8. WYKONANIE OZNACZANIA

*Aby uzyskać zadowalające rozdzielenie lekkich zanieczyszczeń od tkanki przypraw może zajść konieczność usunięcia z próbki większości olejków eterycznych i tłuszczu lub poddania próbki działaniu enzymu pankreatyny w celu rozkładu skrobi i białek. Może również zajść konieczność poddania próbki obu tym zabiegom.*

*Gdy zachodzi konieczność usunięcia olejków eterycznych i tłuszczu postępować wg p. 8.1 w przeciwnym razie postępować wg p. 8.2.*

**8.1. Wstępne usunięcie olejków eterycznych i tłuszczu.** Do zlewki z odważką (7.2) dodać 200 ml eteru naftowego (5.5). Ogrzewać łagodnie na łaźni wodnej w dygestorium przez 15 min. Zdekantować eter naftowy tak, aby nie zmniejszyć masy odważki badanej próbki.

**8.2. Wydzielenie zanieczyszczeń ciężkich i piasku.** Do zlewki z odważką wg 7.2 lub do pozostałości w zlewce po wstępnym traktowaniu eterem naftowym wg 8.1 dodać 400 ml chloroformu (5.1). Pozostawić zlewkę na 1 h mieszając jej zawartość. Przenieść zawartość zlewki na lejku Büchnera (6.3), pozostawiając ciężki osad piasku i ziemi na dnie zlewki, przesączyć. Jeżeli na dnie zlewki pozostaną widoczne cząstki przyprawy korzennej należy dodawać kolejne porcje chloroformu zmieszanego z czterochlorkiem węgla, w celu otrzymania wzrastającego ciężaru właściwego cieczy, aż praktycznie wszystkie cząstki przyprawy korzennej zostaną wymyte na drodze flotacji. Osad ze zlewki przenieść na sącdek ilościowy (6.5) i przemyć wodą w celu usunięcia pozostałości chlorku sodu obecnych w przyprawie korzennej. Pozostałość na sączku poddać badaniu. Osad należy spopielić w wytarowanym tyglu (6.6), wyprażyć, a następnie zważyć pozostałość po prażeniu (piasek i ziemia).

**8.3. Postępowanie z pozostałością na lejku Büchnera.** Osad zatrzymany na lejku Büchnera (8.2) suszyć przez 1 h w temperaturze 80°C.

**8.3.1. Postępowanie bez stosowania enzymu.** Przenieść suchą pozostałość do kolby Wildmana (6.1), dodać około 150 ml wody, ogrzać do wrzenia i pozostawić w stanie wrzenia przez 15 min mieszając. Cząstki przy-

prawy osadzone na wewnętrznej ścianie kolby sflukać wodą i kolbę pozostawić do ochłodzenia do temperatury poniżej 20°C, a następnie rozcieńczyć zawartość wodą do objętości około 600 ml.

**8.3.2. Postępowanie z zastosowaniem enzymu.** Przenieść suchą pozostałość do zlewki (6.2), dodać 300 ml wody destylowanej i wymieszać w celu otrzymania jednorodnej zawiesiny. Następnie dodać 50 ml roztworu pankreatyny (5.2) i wymieszać. Doprowadzić roztwór do pH 8, przy użyciu roztworu *o*-fosforanu trójsodowego (5.3). Ponownie ustalać pH roztworu po upływie 15 min i 45 min. Następnie dodać 5 kropli roztworu aldehydu mrówkowego (5.4) i pozostawić na noc do reakcji enzymatycznego trawienia w temperaturze 37 ÷ 40°C. Ochłodzić i przenieść do kolby Wildmana uzupełniając do objętości 600 ml wodą.

**8.4. Wydzielenie zanieczyszczeń lekkich.** Dodać do kolby Wildmana, opuszczając przy tym w dół pręt z korkiem, 25 ml benzyny ekstrakcyjnej (5.6). Przechylić kolbę pod kątem około 45° i mieszać przez 1 min w tempie 4 obr/sek ruchem okrężnym, tak aby ciecz zawirowała. Unikać rozpryskiwania powierzchni cieczy zamykając kolbę korkiem gumowym. Odstawić na 5 min, a następnie uzupełnić kolbę wodą i pozostawić na 30 min, mieszając co 5 min. Zamieszać zawartość korkiem w celu poderwania osadu z dna kolby i podnieść korek jak najwyżej w szyjce kolby, upewniając się, że warstwa benzyny ekstrakcyjnej i co najmniej 1 cm cieczy, poniżej powierzchni rozdzielającej dwie fazy znajdzie się pod korkiem.

Utrzymując korek w tym położeniu zlać wydzieloną ciecz na lejka Büchnera i przesączyć. Następnie do kolby z zawartością dodać 15 ml benzyny ekstrakcyjnej, dokładnie wymieszać i pozostawić na 15 min powtarzając operację opisaną wyżej. Jeżeli powtórna ekstrakcja da zauważalną ilość zanieczyszczeń, należy zlać znaczną ilość cieczy, dodać kolejną porcję 15 ml benzyny ekstrakcyjnej i przeprowadzić trzecią ekstrakcję.

**8.5. Badanie mikroskopowe zanieczyszczeń lekkich.** Wyjąć sączonek z osadem z lejka Büchnera, umieścić na płytce Petriego i suszyć w suszarce przez 0,5 h, w temperaturze 103°C. Suchy sączonek powinien przylegać do płytki Petriego. Przeglądać całą powierzchnię sączoneka pod powiększeniem (6.10) w świetle odbitym, zdrapując i sondując osad przy użyciu igły preparacyjnej. Przeglądanie zaczynać od lewej strony w kierunku prawym i od góry do dołu za pierwszym razem, następnie z dołu i ponownie z góry do dołu itd.

## 9. OBLICZANIE WYNIKÓW

**9.1. Zanieczyszczenia ciężkie.** Stwierdzić obecność zanieczyszczeń mineralnych (8.4). Jeżeli ilość piasku i ziemi jest taka, że wymaga spopielenia i zważenia pozostałości, zawartość zanieczyszczeń mineralnych w próbce (*X*) obliczyć w procentach wagowych wg wzoru

$$X = m_1 \cdot \frac{100}{m_0}$$

w którym:

*m*<sub>0</sub> — masa odważki, g,

*m*<sub>1</sub> — masa pozostałości, g (8.2).

**9.2. Zanieczyszczenia lekkie.** Stwierdzić obecność zanieczyszczeń pochodzenia zwierzęcego (8.5). Jeżeli potrzeba, należy odnotować oddzielnie: liczbę fragmentów szkodników, włosy gryzoni i inne fragmenty pochodzenia zwierzęcego w badanej próbce, to znaczy w odniesieniu do 25 g próbki.

## 10. PROTOKÓŁ Z BADAŃ

Protokół z badań powinien podawać zastosowaną metodę i otrzymany wynik, jak również wszystkie szczegóły badania nie ujęte w normie, lub uważane za dowolne oraz wszystkie okoliczności mogące mieć wpływ na wynik. Protokół z badań powinien zawierać wszystkie dane konieczne do pełnej identyfikacji próbki.

K O N I E C

ZALĄCZNIK

## PANKREATYNA — OPIS

### A.0 Wstęp

Pankreatyna jest substancją zawierającą enzymy, głównie amylazę pankreatynową, tripsynę i lipazę pankreatynową otrzymaną z trzustki wieprzowej *Sus scrofa Linne* var. *domesticus* Gray (Fam. Suide) lub z trzustki wołowej, *Bos taurus Linne* (Fam. Bovidae). Pankreatyna w stosunku do jednostki masy własnej rozkłada nie mniejszą niż 25-krotną masę standardowej skrobi ziemniaczanej<sup>1)</sup> na rozpuszczalne węglowo-

dany oraz nie mniejszą niż 25-krotną masę kazeiny na polipeptydy. Pankreatynę o większej mocy enzymatycznej można doprowadzić do mocy standardowej przez zmieszanie z laktozą lub sacharozą, zawierającą nie więcej niż 3,25% skrobi, lub też z pankreatyną o mniejszej mocy enzymatycznej.

### A.1. Określenia

Pankreatyna — kremowy bezpostaciowy proszek o słabym charakterystycznym zapachu; rozkłada białka na polipeptydy i związki pochodne, a skrobię na dekstryny i cukier, największą aktywność wykazuje w środowisku obojętnym lub lekko alkalicznym (nie-

<sup>1)</sup> Wykaz krajowy (USA). Za równoważną przyjmuje się skrobię wg Farmakopea Polska IV, str. 724.

wielkie śladowe ilości kwasów nieorganicznych lub duże stężenie ługu unieczynnijają pankreatynę), nadmiar alkalicznych węglanów hamuje działanie enzymu.

#### A.2. Sprawdzenie zawartości tłuszczu

Umieścić 2 g pankreatyny w kolbie pojemności około 50 ml, dodać 20 ml eteru etylowego, zakorkować i odstawić na kilka godzin mieszając od czasu do czasu ruchem okrężnym. Zlać warstwę eteru etylowego, przy użyciu pręcika szklanego na powierzchnię sączka o średnicy 7 cm uprzednio zwilżonego eterem etylowym i przesączyć zbierając przesącz do wytarowanej zlewki. Do pozostałości w kolbie dodać kolejną porcję 10 ml eteru etylowego i postępować jak opisano powyżej. Następnie dodać trzecią porcję 10 ml eteru etylowego i przenieść wraz z pozostałościami pankreatyny na sączek. Przesączyć, odparować eter etylowy w temperaturze otoczenia i suszyć sączek wraz z osadem w suszarce, w temperaturze 105°C, przez 2 h. Pozostałość tłuszczu powinna ważyć nie więcej niż 60 mg (3,0%). Zawartość tłuszczu może być także oznaczona za pomocą zestawu Soxhleta do ekstrakcji ciągłej.

**A.3. Sprawdzenie mocy enzymatycznej w odniesieniu do skrobi.** Oznaczyć procentowo zawartość wilgoci w standardowej skrobi ziemniaczanej (NF) poprzez suszenie około 500 mg odważki w temperaturze 120°C przez 4 h. Przygotować wodę destylowaną w ilości wystarczającej do dalszych rozcieńczeń, przez wygotowanie jej przez 10 min i schłodzenie do temperatury pokojowej. Ilość standardowej skrobi ziemniaczanej, równoważną 3,75 g suchego standardu, wymieszać dokładnie z 10 ml wody, wlać ciągle mieszając do wytarowanej zlewki pojemności 250 ml z 75 ml wody o temperaturze 55°C. Spłukać pozostałość skrobi przy użyciu 10 ml wody, a następnie zawartość zlewki doprowadzić do wrzenia i łagodnie gotować przez 5 min mieszając. Doprowadzić masę mieszaniny wodą do 100 g, ochłodzić uzyskaną pastę do temperatury 40°C i umieścić zlewkę wraz z zawartością w łaźni wodnej o temperaturze 40°C. Rozpuścić 150 mg badanej pan-

kreatyny w 5 ml wody w zlewce pojemności 250 ml, a następnie dodać do pasty skrobiowej, dobrze mieszając przelewać mieszaninę z jednej zlewki do drugiej przez 30 s. Zanotować czas dodania roztworu pankreatyny. Umieścić mieszaninę w łaźni wodnej o temperaturze 40°C dokładnie na 5 min. Następnie zamieszać i natychmiast dodać 0,1 ml tej mieszaniny do uprzednio przygotowanego roztworu 0,2 ml jodu o stężeniu  $c(1/2 J_2) = 0,1 \text{ mol/l}$  w 60 ml wody o temperaturze 23 ÷ 25°C. Roztwór wymieszać. Nie powinno pojawić się niebieskie lub fioletowe zabarwienie roztworu.

**A.4. Sprawdzenie mocy enzymatycznej w odniesieniu do kazeiny.** Umieścić w kolbie pomiarowej pojemności 50 ml odważkę 100 mg miążko sproszkowanej kazeiny, dodać 30 ml wody i dobrze wymieszać w celu uzyskania zawiesiny. Następnie dodać 1,0 ml roztworu wodorotlenku sodu  $c(\text{NaOH}) = 0,1 \text{ mol/l}$  i ogrzewać mieszaninę w temperaturze 40°C do momentu całkowitego rozpuszczenia kazeiny, co nie powinno trwać dłużej niż 30 min. Ochłodzić, uzupełnić wodą do kreski i wymieszać. Rozpuścić 100 mg badanej pankreatyny w 500 ml wody. Także przygotować roztwór standardowej pankreatyny o stężeniu 100 mg na 500 ml wody. Sporządzić mieszaninę 1 ml lodowatego kwasu octowego z 9 ml wody i 10 ml etanolu. Odpipetować do 2 probówek po 5 ml roztworu kazeiny. Do pierwszej probówki dodać 2 ml dobrze wymieszanego roztworu pankreatyny, a do drugiej 2 ml dobrze wymieszanego roztworu standardowego pankreatyny. Następnie do każdej z nich dodać 3 ml wody, wymieszać łagodnie wstrząsając i natychmiast zanurzyć w łaźni wodnej o temperaturze 40°C, pozostawiając na 1 h. Po tym czasie wyjąć i dodać po 3 krople mieszaniny kwasu octowego do każdej probówki. Występujące zmętnienie w probówce z badaną pankreatyną nie powinno być większe niż w probówce ze standardową pankreatyną.

**A.5. Pakowanie i przechowywanie.** Pankreatynę przechowywać w szczelnie zamkniętych pojemnikach, w temperaturze około 10°C, ale nie wyższej niż 30°C.

KONIEC NORMY MIĘDZYNARODOWEJ ISO 1208-1982 (E)

#### INFORMACJE DODATKOWE

1. Instytucja opracowująca normę — Centralny Inspektorat Standardyzacji, Warszawa.

2. Normy i dokumenty związane  
BN-79/8132-17 Przyprawy korzenne. Pobieranie próbek  
BN-80/8192-06 Przyprawy korzenne. Metody badań cech organoleptycznych, zanieczyszczeń i rozdrobnienia  
Farmakopea Polska IV

3. Normy międzynarodowe

ISO International Standard 948 First edition 1980. Spices and condiments — Sampling

ISO International Standard 1208 — First edition 1982.

Spices and condiments — Determination of filth

4. Autor projektu normy — mgr Anna Priss — Urząd Miejski, Gdynia.