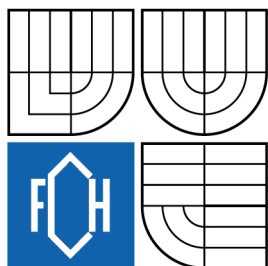


VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA CHEMICKÁ

ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

FACULTY OF CHEMISTRY

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

MIKROBIOLOGIE MASA

MICROBIOLOGY OF MEAT

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Mgr. Ivona Spurná

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

doc. Ing. JIŘINA OMELKOVÁ, CSc.

Brno 2009

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE (ORIGINÁL, PODEPSANÉ)

ABSTRAKT

Diplomová práce hodnotí mikrobiologickou kontaminaci masa a prostředí podniku Jatky Bučovice. Sleduje vybrané mikroorganismy a jejich zjištěné počty porovnány v závislosti na změně ročního období.

ABSTRACT

The diploma thesis evaluates the microbiological contamination of meat and background in the company of Jatky Bučovice. Numbers of the choosen microorganisms are weighted against the change of the season.

KLÍČOVÁ SLOVA

Mikrobiologie masa, složení masa, zpracování masa, vybrané mikroorganismy

KEYWORDS

Microbiology of meat, composition of meat, meat processing, selected microorganisms

Spurná,I. *Mikrobiologie masa*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2009. 51 s. Vedoucí diplomové práce doc. Ing. Jiřina Omelková, CSc.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Diplomová práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího diplomové práce a děkana FCH VUT.

.....

Mgr. Ivona Spurná

PODĚKOVÁNÍ

Moje poděkování za cenné rady a připomínky při psaní této diplomové práce patří zejména paní doc. Ing. Jiřině Omelkové, CSc.

Děkuji také vedení Jatek Bučovice, zvláště MVDr. Sabině Jelínkové za odbornou pomoc.

OBSAH

1. Úvod	11
2. Teoretická část	12
2.1 Jatky Bučovice	12
2.2 Maso	13
2.3 Historický vývoj konzumace masa	13
2.4 Produkce a spotřeba masa	14
2.5 Složení masa	14
2.5.1 Lipidy	14
2.5.2 Sacharidy	15
2.5.3 Minerální látky	16
2.5.4 Vitamíny	16
2.5.5 Cizorodé látky	16
2.6 Vývoj zpracování masa	16
2.7 Zpracování jatečných zvířat na jatkách	17
2.7.1 Jatečné opracování	17
2.7.1.1 Přihánění na porážku	17
2.7.1.2 Omračování	19
2.7.1.2.1 Mechanické omračování	19
2.7.1.2.2 Omračování elektrickým proudem	19
2.7.1.2.3 Chemické omračování	19
2.7.1.2.4 Porážka bez omračování	19
2.7.1.3 Vykrvení	20
2.7.1.4 Opracování povrchu těla	20
2.7.1.5 Eviscerace	21
2.7.1.6 Půlení	21
2.7.1.7 Veterinární prohlídka a konečná úprava	21
2.7.2 Bourání	23

2.8 Mikrobiologie masa	25
2.9 Kontaminace masa	25
2.9.1 <i>Salmonella</i>	27
2.9.2 <i>Shigella</i>	27
2.9.3 <i>Staphylococcus</i>	27
2.9.4 Celkový počet mikroorganismů	28
2.9.5 Koliformní mikroorganismy	28
2.9.6 Počátek onemocnění	29
2.10 Metody průkazu a stanovení počtu mikroorganismů v potravině	29
3. Cíl práce	29
4. Experimentální část	30
4.1 Seznam použitých přístrojů a chemikálií	30
4.1.1 Použité přístroje a zařízení	30
4.1.2 Použité chemikálie, média	30
4.2 Použité metody	31
4.3 Pracovní postup	32
4.3.1 Odběr vzorků	32
4.3.2 Příprava půd	32
4.3.3 Příprava vzorků a nanášení na půdy	36
4.3.4 Vyhodnocení narostlých kolonií	37
5. Výsledky a diskuse	38
5.1 Vyhodnocení nárůstu	38
5.2 Celkové srovnání výskytu mikroorganismů	45
5.3 Diskuse	47
6. Závěr	49
7. Použitá literatura	50

1. ÚVOD

Maso je již odnepaměti důležitou složkou ve výživě lidstva. Člověk se již dávno musel naučit maso nejen správně upravovat, ale i zpracovávat a skladovat. Maso je na základě svého chemického složení, fyzikálních vlastností a vysokého obsahu vody ideální živnou půdou pro mikroorganismy, proto je velice náchylné na kažení. Mikroorganismy se v mase nejen pomnožují, ale v mnoha případech je jejich přirozenou schopností i tvorba toxinů, čímž člověku hrozí nebezpečná onemocnění z potravin. Snahou všech zpracovatelů potravinářských surovin, nejen masa, by proto mělo být, aby se konzumentům dostávalo maso zdravotně nezávadné.

Diplomová práce Mikrobiologie masa v teoretické části zpracovává poznatky o mase, jeho složení a rizicích kontaminace. Druhá část je koncipována jako praktické zhodnocení mikrobiální kontaminace ve zpracovatelském řetězci podniku Bajer a spol., spol. s r. o. (Jatky Bučovice). Mikrobiologické rozbor probíhaly převážně v mikrobiologické laboratoři Fakulty chemické VUT v Brně a z části také v mikrobiologické laboratoři SPŠCH Brno.

2. TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Jatky Bučovice

Původní stavba závodu zvoleného potravinářského podniku Bajer a spol., spol. s r. o. (Jatky Bučovice) (obr. č. 1) pochází již z roku 1947. Od roku 1994 je to ale soukromá firma se stále probíhajícími úpravami zlepšování technologie výroby.

V současné době zaměstnává asi 130 zaměstnanců, kteří zpracují přibližně 800 ks prasat denně a 120 kusů hovězího dobytka za týden.

V podniku je již od roku 2003 zaveden fungující systém HACCP. Dle tohoto systému provádí zkušební pracovníci vlastní mikrobiologické vyšetření. Jedenkrát za 14 dní odebírají 5 stěrů z jatečně opracovaných těl, které vyšetřují na rod *Enterobacteriaceae*, rod *Salmonella*. Jedenkrát za měsíc odebírají 10 stěrů z prostředí, které vyšetřují bioluminometrem na přítomnost ATP (stanovení biologického znečištění). Dle systému HACCP mají zvolenu vlastní mez tolerance.



Obr. č. 1: Provozovna Jatky Bučovice

2.2 Maso

Jako maso jsou definovány všechny části těl živočichů v čerstvém nebo upraveném stavu, které se hodí k lidské výživě. Někdy se tato definice omezuje jen na maso z těl teplokrevných živočichů. Vedle svaloviny (maso v užším slova smyslu) sem patří tedy i droby, živočišné tuky, krev, kůže a kosti (pokud se konzumují), ale také masné výrobky [25]. Droby jsou definovány jako požitelné části těl jatečných zvířat, které se nepočítají k masu v jateční úpravě. Řadí se sem vnitřnosti i některé další části, které se odřezou při jatečním opracování. Z nutričního hlediska jsou droby cenné pro poměrně vysoký obsah bílkovin, vitamínů a minerálních látek [27]. Některé droby obsahují poměrně vysoké koncentrace cizorodých zdravotně závadných látek, zejména rizikových prvků (Cd, Pb, Hg, As), insekticidů a polychlorovaných bifenyly. Týká se to zejména jater a ledvin, které jsou přirozeným filtrem odstraňujícím tyto škodliviny z těla. Obsah cizorodých látek proto bývá v játrech či ledvinách i o řád vyšší než ve svalovině. Konzumované množství je však většinou malé, takže celkový příspěvek cizorodých látek z drobů pro konzumenta není velký.

Význam masa je především v tom, že je zdrojem plnohodnotných bílkovin. V našich podmínkách výživy představuje víc než polovinu přijatých živočišných bílkovin. Maso zvířat obsahuje i mnoho esenciálních výživových faktorů, například vitamínů a esenciálních minerálních látek [16].

V podmínkách Evropy hraje spotřeba masa významnou roli z hlediska celkové spotřeby potravin. Nutriční doporučení považují průměrnou denní spotřebu již asi 100 g za dostatečnou (rozumí se jedlého podílu masa a masných výrobků, přednost má maso a masné výrobky s nízkým obsahem tuků). Ročně by to představovalo jen asi 40 kg na osobu [29].

2.3 Historický vývoj konzumace masa

Co je maso? Definice je mnoho a zjednodušeně řečeno, jsou to svalové a další tělesné tkáně z živočichů využitelné k lidské výživě. Podle Higgse je genom člověka a jeho fyzická stavba již po dobu asi 4,5 milionů let adaptována na dietu s obsahem masa a je závislý na zdrojích látek obsažených v mase. Maso je součástí výživy člověka nejméně 2 miliony let a člověk je svou anatomickou stavbou a fyziologickými funkcemi přizpůsoben k využití jak rostlinné, tak i živočišné potravy. Dávny člověk byl sběračem plodů a lovcem divoce žijících zvířat. Postupně některé druhy zvířat domestikoval a později i šlechtil se zaměřením na masnou nebo na mléčnou užitkovost. Konzumace masa evolučně znamenala přežití lidstva v kritických situacích. Po staletí společnost dbala na stupňování produkce a spotřeby masa. Maso je velmi bohatý a univerzální zdroj živin a energie. Jeho primární význam spočívá v obsahu proteinů. Aminokyseliny jsou využívány pro růst a obnovu buněk těla a poskytují poměrně velké množství metabolizovatelné energie. Mastné kyseliny, vitaminy, minerální složky a voda jsou zahrnuty v syntéze proteinů, lipidů, buněčných membrán a dalších složek masa. Konzumace masa byla mírou prosperity a zdraví člověka. Bylo a je chápáno, že výživa je jedním z nejvýznamnějších faktorů lidského zdraví a maso patří k nejvýznamnějším potravinám [18].

2.4 Produkce a spotřeba masa

Podle FAO činila světová produkce masa v roce 2006 272 milionů tun bez ryb, které se vedou ve statistikách samostatně. Nejvíce se produkuje masa vepřového, následuje maso drůbeží a na třetím místě je maso hovězí. Produkce se v každém roce zvyšuje zhruba o 2 %. Největším producentem masa na světě je Čína, následují USA, EU (Německo a Francie). Současně je průměrná spotřeba masa na jednoho obyvatele Země asi 43 kg za rok. V ČR bylo v roce 2006 vyprodukováno 630 794 tun masa (bez ryb), což bylo o 2,3 % méně než v roce 2005. Všechny dosud uvedené údaje jsou v hodnotě "maso na kosti", což znamená finální výstup jatečně upravených těl z jatečních linek; totéž platí i pro vykazování spotřeby masa. V roce 2005 činila průměrná spotřeba masa celkem 81,4 kg na jednoho obyvatele ČR, z toho 10 kg hovězího a telecího, 41,5 kg vepřového, 26,1 kg drůbežího, 2,8 kg králíčího, 0,4 kg ovčího, kozího a koňského dohromady, 0,6 kg zvěřiny (a 5,8 kg ryb). Spotřeba masa v ČR kulminovala v letech 1989 a 1990 a to 97 kg na obyvatele a rok. Pokles spotřeby masa u nás je hodnocen pozitivně z hlediska vlivu na zdraví spotřebitelů. Mezi vlivy na tuto pozitivní změnu jistě patří i změna výživové orientace v důsledku zdravotní výchovy a také vliv cenové liberalizace od roku 1993, kdy stát přestal dotovat zemědělskou produkci potravin (byla zrušena tzv. záporná daň z obrátu). Lze konstatovat, že ČR má spotřebu masa na žádoucí úrovni. Vyšší spotřeba masa je ve Francii, Německu, Španělsku a Dánsku, nižší ve Velké Británii, ve Švédsku, Finsku a v dalších zemích. Hodnota "maso na kosti" je pro statistické účely volena proto, že výstup z jatečních linek je nejvhodnějším místem pro zjišťování hmotnosti jatečně upravených těl (JUT), později to již není možné, poněvadž srovnatelnost končí bouráním JUT [18].

2.5 Složení masa

Maso zbavené viditelného tuku a kostí obsahuje 70 až 80 % vody (hodnota $a_v=0,99$), asi 20 % bílkovin, různý obsah tuku (libové maso asi 5%), asi 1% minerálních látek, vitamíny a malé množství nízkomolekulárních dusíkatých sloučenin (aminokyseliny, kreatin, štěpné produkty nukleových kyselin). Obsah sacharidů v odpočinuté svalovině je 0,5 až 1 % (glykogen), v post-rigor mase klesá na $\leq 0,2\%$ (hexózy). Tyto hodnoty významně kolísají v závislosti na druhu zvířete, jejich plemeni, věku, způsobu krmení [17]. Vysoké procento zastoupení vody, která je prostředím biochemických i chemických procesů, je limitujícím prostředím pro růst mikroorganismů. Při určité dostatečně nízké hodnotě aktivity vody se totiž zastavuje růst mikroorganismů.

2.5.1 Lipidy

V mase jsou lipidy zastoupeny z největší části jako tuky (estery mastných kyselin), v menší míře jsou přítomny polární lipidy (fosfolipidy), doprovodné látky, aj. Rozložení tuku v těle zvířat je velmi nerovnoměrné. Malá část je uložena přímo uvnitř svalových buněk (tuk intracelulární), dále je tuk uložen mezi svalovými vlákny (tuk intercelulární) a jednak tvoří základ samostatné tukové tkáně (tuk extracelulární). Běžnější rozdělení je na tuk intramuskulární (nitrosvalový) a depotní (zásobní).

Velký význam pro chuť a křehkost masa má tuk intramuskulární, zejména jeho intercelulární podíl, který je mezi buňkami rozložen ve formě žilek a tvoří tzv. mramorování masa. Maso, které má vyvinuté mramorování, je více ceněno než maso zcela libové. Mramorování je dobře vyvinuto u zvířat, která měla málo pohybu, naproti tomu téměř chybí u divokých zvířat a zvířat s velkou tělesnou aktivitou.

Tuk má v maso význam z hlediska senzorického, je nosičem pro řady arómových látek. Je obecně známo, že tuk je prekursorem chutnosti masa, kterou ovlivňuje dvojím způsobem:

- 1) oxidací nenasycených mastných kyselin vznikají karbonylové sloučeniny, které v nižších koncentracích příznivě ovlivňují aroma, ve vyšších koncentracích jsou však nepříjemné.
- 2) V tuku jsou uloženy lipofilní látky, které po uvolnění (zejména po záhřevu) přispívají k chutnosti masa [26].

Obsah tuku v maso je však často předmětem kritiky výživových expertů. Zejména z důvodu vysokého energetického obsahu.

Tuky v maso a tukové tkáni jsou představovány zejména triacylglyceroly vyšších mastných kyselin, nejčastěji se zde vyskytuje kyselina palmitová, stearová a olejová. Fosfolipidy jsou zastoupeny jen v malé míře. Často diskutovaným problémem jsou ale steroly. Mezi významné steroly patří cholesterol, který je pro svůj obsah v živočišných tkáních často dáván do souvislosti výskytem chorob krevního oběhu (aterioskleróza). Ukazuje se ale, že toto riziko je přeceňováno. Týká se jen osob náchylných k těmto chorobám, u zdravých jedinců je naopak cholesterol důležitým provitaminem vitamínu D3 – cholekalciferolu. Toto tvrzení není ovšem jednoznačné, je závislé na mnoha faktorech ovlivňujících lidský život, zejména na způsobu života.

Mezi lipochromy patří zejména karoteny a xantofyly. Jejich obsah závisí především na výživě zvířat, relativně vyšší obsah mají hladovějící zvířata. Tyto sloučeniny způsobují zbarvení tuku. V maso prasat a skotu se ale neprojevuje.

2.5.2 Sacharidy

V živočišných tkáních jsou v malém množství, v maso jsou zastoupeny především jako glykogen a produkty jeho odbourávání (dextriny, maltosa, glukosa). Obsah glykogenu ve svalu závisí na trénovanosti a fyziologickém stavu organismu. Ve svalech unavených, hladových a stresovaných zvířat je obsah glykogenu malý.

Glykogen je významný z technologického hlediska. Podle toho, kolik je ho obsaženo ve svalu v okamžiku porážky, dojde k hlubšímu či menšímu okyselení tkáně, což má význam pro údržnost i pro vaznost a tedy i pro rozsah hmotnostních ztrát [26].

2.5.3 Minerální látky

Obsah minerálních látek v maso je asi 1 % hmotnosti masa. Většina z nich je rozpustná ve vodě a ve svalovině jsou přítomny ve formě iontů. Vepřové maso je významným zdrojem draslíku, vápníku, hořčíku, železa a jiných prvků. Hovězí maso je navíc důležitým zdrojem zinku, maso ryb obsahuje hodně jódu [26].

2.5.4 Vitamíny

V maso jsou zastoupeny zejména vitamíny skupiny B. Jsou obsaženy jak ve svalovině, tak ve vnitřních orgánech. Nejvýznamnější je obsah vitamínu B₁₂, který se vyskytuje výhradně v potravinách živočišného původu. Lipofilní vitamíny (zejména A) se vyskytují v tukové tkáni a játrech. V nepatrném množství se v maso vyskytuje i vitamín C, jeho vyšší obsah je pouze v játrech a čerstvé krvi.

Řada vitamínů je odolná fyzikálně-chemickým vlivům, některé se ale například účinkem teploty, světla, nebo oxidací rozkládají. Při tepelném opracování 10-15 % vitamínů rozpustných ve vodě přechází do vývaru [26].

2.5.5 Cizorodé látky

Maso i některé droby obsahují poměrně vysoké koncentrace cizorodých zdravotně závadných látek, zejména rizikových prvků (Cd, Pb, Hg a As), insekticidů a polychlorovaných bifenyly. Ty se sem dostávají z potravního řetězce. Týká se to zejména jater a ledvin, které jsou přirozeným filtrem odstraňujícím tyto škodliviny z těla. Obsah cizorodých látek proto bývá v játrech či ledvinách i o řád vyšší než ve svalovině. Konzumované množství je však většinou malé, takže celkový příspěvek cizorodých látek z droby pro konzumenta není velký. Nápravu lze docílit pouze v celkové ochraně životního prostředí.

Naproti tomu byly nalezeny v syrovém i tepelně opracovaném maso přirozeně se vyskytující látky, které zjevně představují prevenci proti rakovině tím, že inhibují aktivitu některých uhlovodíků a aminů [26].

2.6 Vývoj zpracování masa

Maso je součástí výživy nejméně dva miliony let. Člověk lovec konzumoval maso syrové a významným pro něj bylo získání ohně. O zpracování masa na výrobky blízkým se dnešnímu pojetí lze hovořit až u starověkého Říma. Ovšem neúdržnost masa před mikrobiálním kažením existoval vždy, takže nespotřebované maso se „konzervovalo“ chladem nebo pečením. Za první konzervaci potravin a zejména masa je považováno sušení účinkem slunečního tepla a proudění vzduchu (ryby, maso). Teprve v římském období se

objevily první klobásky a jitrničky, nazývané tehdy botuli nebo insicia a odtud se šířily po Evropě. Cechy (bratrstva, společenstva) řezníků v českých zemích vznikaly od 14. století a byly zrušeny ve druhé polovině 19. století. Na přelomu 19. a 20. století byly v Americe a Evropě vybudovány první velkokapacitní jatky a u nich prodejní masné burzy, v nichž nakupovali maso nově vzniklí uzenáři. Na jatkách byl zřízen veterinární hygienický dozor.

Výroba masných výrobků v českých zemích dosáhla velkého rozsahu i vysoké kvality. V období mezi světovými válkami byla tzv. masná výroba rozvíjena společně s jatkami, což trvalo do roku 1948. Politické změny znamenaly znárodnění soukromých a družstevních podniků. Konečným organizačním uspořádáním oboru byl Masný průmysl, generální ředitelství, Praha s národními podniky v krajích. V roce 1990 byla zahájena postupná privatizace. Obor zpracování jatečných zvířat a masa je spolkově zajištěn Českým svazem zpracovatelů masa [19].

2.7 Zpracování jatečných zvířat na jatkách

Zpracování jatečných zvířat na jatkách (obr.č.2) zpravidla zahrnuje 3 fáze:

- 1) Jateční opracování
- 2) Bourání
- 3) Masná výroba

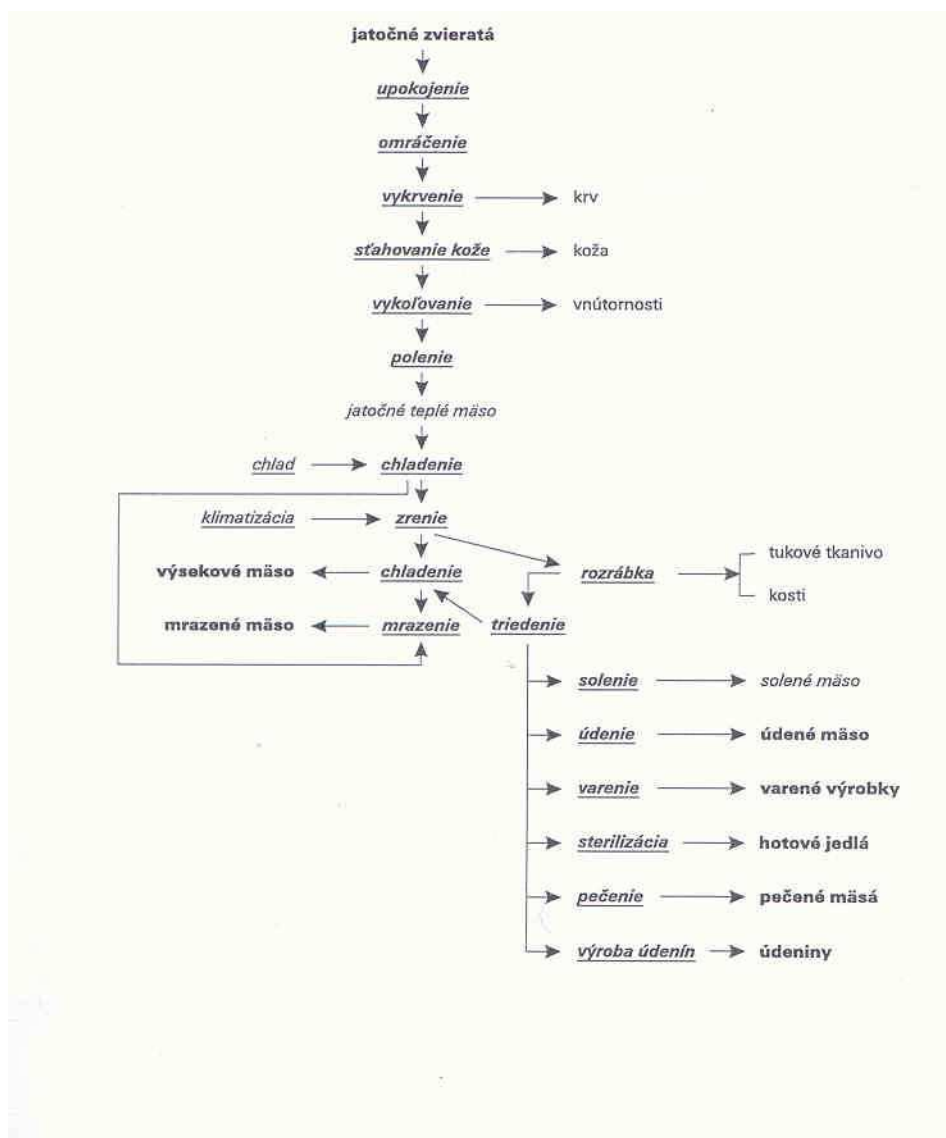
V provozovně Jatky Bučovice se provozuje pouze jateční opracování a bourání.

2.7.1 Jateční opracování

Cílem jatečního opracování je získat jednak maso, jednak vedlejší jatečné produkty: krev, kůži, střeva, droby, žlázy, tukovou tkáň, aj.

Práce na jatkách je velice náročná. Je organizována převážně na kontinuálních linkách, kde jsou zvířata opracovávána ve visu na závěsné dráze, případně vleže na pohybujícím se dopravníku.

Průběh zpracování jatečných zvířat znázorňuje následující obrázek:



Obr. č. 2: Technologie zpracování masa [16].

2.7.1.1 Přihánění na porážku

Zvířata, která mají být poražena musíme před porážkou důsledně ošetřit. To spočívá v očištění povrchu těla, prasata sprchujeme vodou o teplotě těla (37-39°C). To je ale úkolem chovatele ještě před dopravou zvířat na jatka.

Doprava zvířat a přihánění na porážku jsou velmi problematickým úkonem, neboť výrazně ovlivňuje následnou jakost masa. Při přihánění zvířat jsou kladeny požadavky nejen na technické řešení přiváděcího prostoru, ale i na obsluhu. Musí se vyvarovat bití či týrání zvířat,

nezneklidňovat zvířata křikem. Kvalita masa je ovlivněna i tím, kolik je v prostoru na omračování a vykrvování shromážděno zvířat.

2.7.1.2 Omračování

Vlastní porážka jatečných zvířat začíná omráčením. Přitom většinou nedochází k usmrcení, je snaha uchovat zvíře i po omráčení při životě. Smrt nastává teprve v důsledku ztráty krve. Omračování se používá zejména pro usnadnění manipulace se zvířetem, pro lepší možnost zavěšení a následné dokonalé vykrvení vyjevovacím řezem či vpichem.

Omračování se děje: mechanicky, elektricky a chemicky.

2.7.1.2.1 Mechanické omračování

Bezvědomí je dosaženo otřesem mozku, překrváním a krvácením v části mozku po prudkém úderu na čelní kost nebo poškozením mozku po proniknutí průbojníku omračovacího přístroje přes čelní kost. K omráčení tupým předmětem se používá palice, kterou se udeří do čela zvířete. Toto se používá na domácích zabíjačkách, průmyslově u telat a koní. Častěji se využívá omráčení proražením čelní kosti, kdy dochází k rozrušení předního mozku a k okamžité ztrátě vědomí, pomocí střílečného zařízení (porážecí pistole).

2.7.1.2.2 Omračování elektrickým proudem

Z hlediska jakosti masa i automatizace výroby se omračování elektrickým proudem jeví jako nejvýhodnější způsob. Po průchodu proudem dochází k vzrušení mozku, zvyšuje se jeho aktivita a také spotřeba kyslíku. Vzniká epileptický záchvat, jehož důsledkem je ztráta vědomí, následuje zástava srdce. Podmínkou je však navazující vykrvení.

Omračování elektrickým proudem je u prasat běžné. Prování se pomocí omračovacích kleští nebo omračovací vidličky, které se přikládají tak, aby proud procházel nejkratší cestou mozkiem. Nejčastěji z boku hlavy nebo na lalok a vrch hlavy.

2.7.1.2.3 Chemické omračování

Tento způsob je považován za vysoce humánní, z ekonomických důvodů není však příliš rozšířen. Navíc má tento způsob negativní vliv na kvalitu masa. Nejvíce se používá směs oxidu uhličitého se vzduchem, který vede k narkotizaci zvířat a hypoxii.

2.7.1.2.4 Porážka bez omračování

Pouze v některých případech se před vykrvováním zvířata neomračují, např. v Rusku a Bulharsku se neomračují ovce. Dále se zvířata neomračují v případě, že přes všechna bezpečnostní opatření uniknou z ohrady, naháněcí uličky nebo omračovací pasti, tehdy zbývá většinou jediná možnost (zejména pokud jde o býky), a to zastřelení zvířete.

Zvláštním případem je tzv. košerování, které vyplývá z židovského rituálu, podle něhož nesmí být zvíře před vykrvením omráčeno. Židovská potravní pravidla zde i jinde vycházejí

z hygienických požadavků důležitých zejména v teplém zeměpisném pásmu, v tomto případě z požadavku dokonalého vykrvení.

Podobně jako při košerování se vykrvuje bez předchozího omráčení i v islámských zemích (tzv. Halal-porážky), platí zásada, že při vykrvování musí tepat srdce. Připouští se však elektrické omračování (skotu), které nepůsobí zvířatům bolest a nevede ke smrti nebo zhoršení jakosti masa [26].

2.7.1.3 Vykrvení

Při vykrvování dochází k usmrcení zvířete, maso se zbavuje krve, která by značně snižovala jeho údržnost. Zároveň se získává krev jako vedlejší jatečný produkt. Z technologického hlediska je nutné minimalizovat dobu mezi omráčením a vykrvením. U nás se používají dva způsoby vykrvení: vykrvení vleže a vykrvení ve visu.

2.7.1.4 Opracování povrchu těla

U vykrvených zvířat se přistupuje k upravení povrchu těla. U prasat se stahuje celá kůže nebo jen kupon (obdelníková část ze hřbetu), případně tzv. celá vepřovice (zůstane nestážená část kůže na nohou a břichu) anebo se prasata nestahují vůbec.

Kůže která se nestahuje se většinou paří a odštětínuje. Při odštětínování se odstraňuje z povrchu těla prasete pokožka a štětiny. Před vlastním pařením se prasata nejprve sprchují vodou a očistí kartáči. Štětiny se uvolňují především pařením horkou vodou, parou nebo horkým vlhkým vzduchem, v menší míře i opalováním plamenem. Paří se při teplotách 58-70° C, doba působení je nepřímo úměrná výši teploty. Pokud se těží kůže, je nutné chránit krupon, který je surovinou pro kožedělný průmysl, před negativním působením teploty. Při paření je problém zajistit čistou pařící vodu. Jatečná těla ji znečišťují špínou z kůže a špárků, obsahem žaludku a střev, výkaly, močí, krví a sekrety z nosu, přitom většinou není možno tuto vodu často vyměňovat.

K vlastnímu odštětínování dochází na odštětínovacích strojích, jejichž základem jsou rotující válce se škrabkami. Povrch těla je současně omýván postřikováním teplou vodou. Ruční odštětínování (zvonky, nože) se používá v průmyslu spíše k dočišťování.

Při dočišťování se povrch těla opaluje plynovými hořáky. Opalování přispívá i ke snížení povrchové kontaminace, včetně bakterií ve vlasových pochvách. Po opálení je nutné povrch těl omýt a dočistit.

Po odštětínování následují úpravy – vyříznutí očí a vnějšího zvukovodu, uvolnění Achillovy šlachy a odstranění špárků.

Při stahování kůží dochází k oddělení kůže od podkoží v místě podkožního vaziva. Je nutné, aby na kůži zůstávalo co nejméně tukové a svalové tkáně a kůže se nepoškozovala. Ručně se kůže stahuje jen při domácích porážkách, v průmyslu se využívají mechanické vibrační nebo rotační nože. Dnes se však velice často kůže nestahuje, snímá se až při bourání.

2.7.1.5 Eviscerace

Eviscerace je vyjímání vnitřních orgánů, u velkých jatečných zvířat (prasata, skot) se označuje jako vykolení. Musí se uskutečnit bez otálení, aby nedošlo k prostupu mikroorganismů z trávicího traktu do okolního masa. Provádí se na zavěšeném zvířeti. Naše legislativní předpisy požadují, aby doba od omráčení po vykolení nepřesáhla 45 minut.

Při vykolení je třeba dát pozor na proříznutí obsahu trávicí trubice a potřísnění masa jejím obsahem, vylití žluči a uvolnění obsahu trávicích a močových cest tělními otvory.

Vykolení spočívá v postupném vyjímání orgánů v následujícím pořadí: orgány dutiny pánevní, břišní, hrudní, případně tlamní (trávicí trakt, pohlavní orgány, játra, plíce, srdce, hltan, hrtan, jazyk).

Vyjmuté orgány se ukládají na háky nebo misky, které se pohybují synchronně s dráhou unášející jatečná těla až do místa veterinární prohlídky. Tím je zajištěna identita těl i vnitřních orgánů [26].

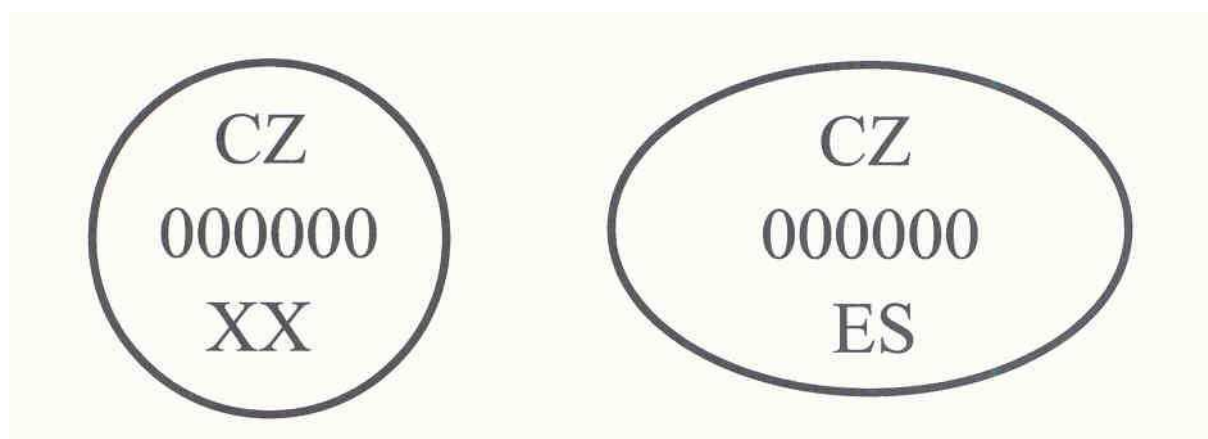
2.7.1.6 Půlení

U prasat se jatečné tělo dělí na dvě půlky z důvodů snazšího přístupu pro veterinární prohlídku, snadnější manipulace a možnosti vyjmutí mozku a míchy. Půlí se středem páteře, aby se nepoškodila mícha, pilou nebo sekáčem. Nevýhodou je vznik kostních úlomků, které se odstraňují proudem studené vody. Hlava se půlí sekáčem, aby se nepoškodil mozek. Z důvodu identifikace dvou k sobě náležících půlek se obě půlky nechávají spojené koncem rypáku, oddělují se až rozříznutím po veterinární prohlídce.

2.7.1.7 Veterinární prohlídka a konečná úprava

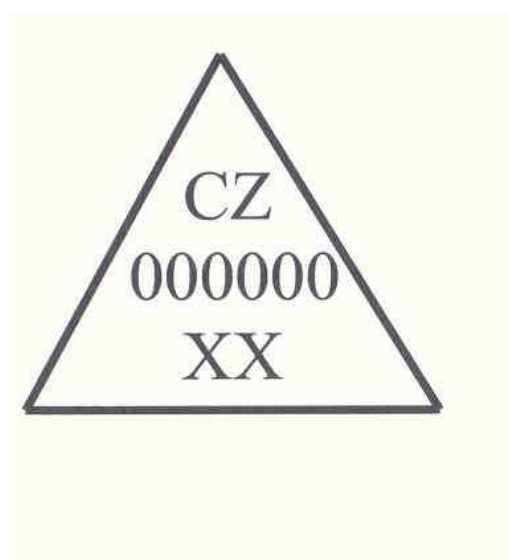
Veterinární prohlídka hodnotí, zda nemá poražené zvíře v orgánech anatomicko-patologické změny, které ukazují na nemoc nebo výskyt parazitů. Hodnotí se stav vnitřních orgánů, mízních uzlin, srůst plic s pohrudnicí, stav jazyka, sleziny, jater aj. prohlídkou (aspekci) i pohmatem (palpací). Na základě této prohlídky je sledovaná půlka označena příslušným razítkem modrozelené barvy, u prasat na boku. Dle platné legislativy se rozlišuje maso požitelné a nepožitelné.

Poživatelné maso se označuje razítkem oválného nebo kruhového tvaru (obr. č. 3). Kruhové razítko má průměr 4 cm. Uvnitř se uvádí v horním řádku zkratka CZ, ve středním řádku veterinární schvalovací číslo podniku a v dolním řádku místo zpracování. Umístění razítek je specifických částech jatečně opracovaného těla (obr. č. 5).

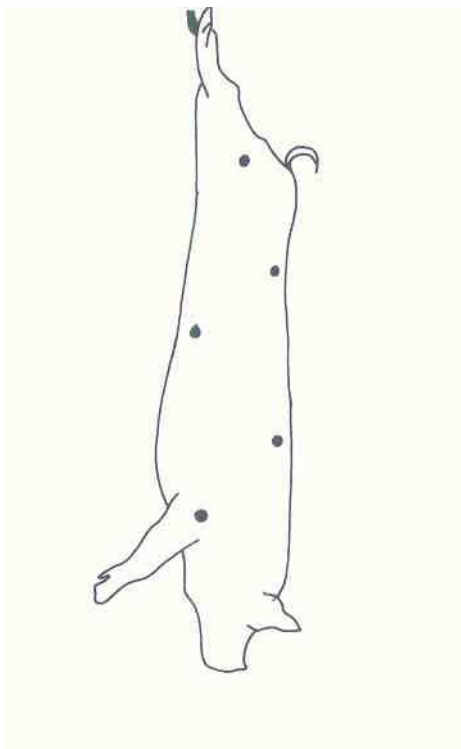


Obr. č. 3: Razítko pro požitelné maso

Nepoživatelné maso a orgány se označují otiskem razítka trojúhelníkového tvaru (obr. č. 4) o délce strany 2,5 cm. Otisk razítka musí být uveden na všech částech masa a orgánech. Nepoživatelné maso a orgány mohou být označeny obarvením, u celých těl, půlek a čtvrtí hlubokými řezy do tkání.



Obr. č. 4: Označení nepoživatelného masa



Obr. č. 5: Lokalizace razítek udávajících zdravotní nezávadnost u prasat

Konečná úprava, tzv. toileta, spočívá v odřezávání nežádoucích částí a důkladném osprchování pitnou vodou. Vyjme se mícha z páteřního kanálu, vyjme se brzlík, mozek, odřízne se krvavý ořez (místo kudy se vedl vykrvovací řez a je silně prosyceno krví, je málo údržné), vyjme se tuk z vnitřní strany, vyloupnou ledviny, odstraní se zbytky bránice a třásně masa.

Po všech jatečných operacích se opracované kusy zváží a přesunou ke zchlazování.

Maso po porážce se má v jádře co nejdříve zchladit na teplotu minimálně 7° C v jádře. Při intenzivním ochlazení se tato teplota u vepřových půlek dosahuje za 10 až 16 hodin a u hovězích půlek a čtvrtí za 15 až 24 hodin. Navazující uchovávání má být při -1°C, nejvýše při 2°C. Vedlejší jateční produkty, například vnitřnosti, se mají vychladit na minimálně 3°C [17].

2.7.2 Bourání

Účelem bourání masa je:

- získat maso přibližně stejné jakosti a chemického složení a to z hlediska technologie, možného kulinárního opracování, nutriční hodnoty i ceny
- rozdělit maso na menší celky, s nimiž lze lépe manipulovat
- odstranit nepoživatelné části (kosti, šlachy, vazovice, přebytečný tuk,...)
- upravit maso co do velikosti a tvaru

Dle dalšího použití masa rozlišujeme bourání pro výsek, pro výrobu a pro mrazírenské skladování.

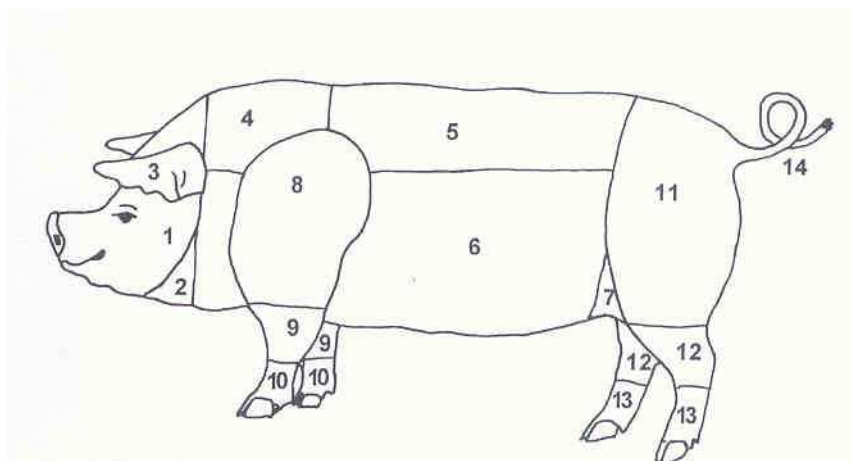
Při bourání pro výsek (bourání krámské) jsou získané části určeny pro expedici do malospotřebitelské tržní sítě a pro zásobování podniků hromadného stravování (restaurace, jídelny, nemocnice, menzy, závodní jídelny...) Při výsekovém dělení se maso dělí na více částí (většinou jde o jednotlivé anatomické celky) než při dlení pro výrobu, jednotlivé celky by měly od sebe být odděleny pečlivě, po blanách a bez zbytečných zářezů do masa. Součástí bourání pro výsek může být i speciální úprava pro kulinární účely, spočívající v odstranění blan, přeřezání na plátky, řízky. Určitý podíl bouraného masa pro výsek se balí do balíčků pro samoobslužný prodej v malospotřebitelském balení, jinou možností jsou velkospotřebitelská hromadná balení.

Při bourání pro výrobu je získané maso určeno pro zpracování na masné výrobky. Oproti bourání výsekovému je výrobní bourání méně detailní, maso se rozděluje jen na skupiny, často je ho ale nutno vykosit. Oddělování jednotlivých částí nemusí být tak pečlivé jak u výsekového bourání, protože další fáze zpracování masa pro výrobu je většinou mělnění.

Bourání masa pro mrazírny připravuje části masa pro dlouhodobé mrazírenské skladování. Způsob bourání závisí na použití masa po rozmražení. Většinou se používá na masnou výrobu.

Jatečně opracovaná prasata přicházejí na bourání v půlkách. Obvykle se vepřová půlka rozdělí na větší celky, které se pak detailně zpracovávají. Vepřová půlka se dělí na následující části (obr. č. 6): hlava, ucho, lalok, krkovice, plec, pečeně, bok, kýta, paždík, ocásek, přední kolínko, zadní kolínko, přední nožka, zadní nožka

Z uvedených částí se pro výsek nedodává lalok a paždík, jsou určeny pouze pro výrobu. Pečeně se někdy dále dělí, odděluje se z ní panenská svíčková. Bok, často označovaný jako bůček, se někdy dělí na bok bez kosti a na žebírka. Kýta se může při vykostňování dále dělit na jednotlivé části: šály, předkýtí, špičku a plátek.



Obr. č. 6: Schéma bourání vepřového masa [27].

1- hlava, 2-lalok, 3-ucho, 4-krkovička, 5-pečeně, 6-bok, 7-paždík, 8-plec, 9-přední kolínko, 10-přední nožka, 11-kýta, 12-zadní kolínko, 13-zadní nožka, 14-ocásek

2.8 Mikrobiologie masa

Maso je na základě svého chemického složení, fyzikálních vlastností a vysokého obsahu vody ideální živnou půdou pro mikroorganismy. Proto je náchylné na kažení a častou příčinou nemocí z potravin mikrobiologického původu. Preventivním opatřením pro co nejdelší prodloužení trvanlivosti masa je zabránění jeho primární mikrobiální kontaminaci a vhodným uchováním zabránit jeho sekundární kontaminaci (množení mikroorganismů) [17].

Játra, slezina a mízní uzliny obsahují často i u živých zvířat větší množství mikroorganismů. Svalovina zdravých a odpočínutých zvířat je obvykle bez mikroorganismů. U nemocných zvířat, u zvířat se sníženou rezistencí nebo po stresových situacích před zabitím může být svalovina infikovaná různými mikroorganismy i za živa. Hlavní podíl mikroorganismů se ale dostane do masa v průběhu jatečního procesu, při jeho opracování a zpracování [17].

Vzhledem k ubikvitárnímu výskytu snadno kontaminují v závislosti na konkrétních hygienických podmínkách potraviny a suroviny rostlinného i živočišného původu a za vhodných podmínek způsobují jejich nežádoucí rozklad. V přítomnosti patogenních mikrobů pak i onemocnění lidí z potravin (alimentární onemocnění) [21].

Maso je velmi dobrým živným prostředím pro veškerou kontaminující mikroflóru v mikroby na mase nejen přežívají, ale za vhodných podmínek, zejména teploty se velmi rychle pomnožují a svou proteolytickou, lipolytickou a sacharolytickou činností způsobují jeho kažení. Rozkladnou činností nedochází jen k smyslovým změnám a snížení nutriční hodnoty masa a výrobků, ale mikrobiální činností vznikají metabolické produkty schopné ohrozit zdraví lidí. Každá mikrobiální kontaminace masa a masných výrobků je tedy nežádoucí. I když ji nelze zcela vyloučit, je nutné ji omezit na nejmenší možnou míru a zejména zamezit pomnožování již přítomné mikroflóry [21].

Jídlo je považováno za hlavní cestu přenosu mikroorganismů způsobujících průjemová onemocnění a jiná onemocnění jako brucelóza, listerióza, botulismus, atd. [22].

Patogeny jako *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, a *Salmonella* spp. Mohou způsobit nemoc přijímáním bakteriálních buněk i v malých dávkách [30].

2.9 Kontaminace masa

Mikroorganismy jsou přítomny všude, kde nacházejí dostatek živin a vhodné podmínky pro svoji činnost. Osídlují též vnitřní povrchové plochy dýchacích a zejména zažívacích cest zvířat i lidí. Do střevního traktu se dostávají zejména potravou, pomnožují se zde do vysokých hodnot a jejich rozkladná činnost je nezastupitelnou podmínkou trávicích pochodů. Spolu s výkaly jsou v obrovských množstvích vylučovány do volného prostředí.

Ve střevním traktu jsou zastoupeny z mikrobiálních rodů a druhů zejména *Enterobacteriaceae*, *Bacillaceae*, *Clostridium*, *Bacteroides*, aerobní mezofilní mikroby, psychrotrofní mikroby a to v rozmezí hodnot 10^3 - 10^7 v jednom gramu střevního obsahu. Jde vesměs o saprofyty (z řeckého zapros = shnilý), tedy hnilobné, zpravidla nepatogenní

mikroby. Mohou se však mezi nimi vyskytovat závažné patogenní mikroby vyvolávající onemocnění zvířat i lidí. Střevní stěna je za optimálního fyziologického stavu zvířat pro mikroby nepropustná a maso zdravých, odpočatých nestresovaných zvířat prosté mikroorganismů.

Ke kontaminaci může docházet

- a) Primárně (intravitálně), za života zvířete infekcí virulentními patogenními mikroby kontaminací střevní mikroflórou nebo při poranění zvířete a mikrobiální kontaminací otevřené rány.
- b) Sekundárně (postmortálně), po smrti zvířete při jatečném opracování a při jakékoli další manipulaci s masem a masnými výrobky.

Postmortální kontaminaci je maso vystaveno od okamžiku poražení zvířete ve všech fázích jatečného opracování a v průběhu všech dalších operací až do okamžiku spotřeby. Maso je velmi dobrým živným prostředím pro veškerou kontaminující mikroflóru a mikroby na mase nejen přežívají, ale za vhodných podmínek, zejména teploty, se velmi rychle pomnožují a svou proteolytickou a lipolytickou a sacharolytickou činností způsobují jeho kažení. Rozkladnou činností nedochází jen k smyslovým změnám a snížení nutriční hodnoty masa a výrobků, ale mikrobiální činností vznikají metabolické produkty schopné ohrozit zdraví lidí. Každá mikrobiální kontaminace masa a masných výrobků je tedy nežádoucí. I když ji nelze zcela vyloučit, je nutné ji omezit na nejmenší možnou míru a zejména zamezit pomnožování již přítomné mikroflóry.

Zdrojem kontaminace při jatečném opracování je zejména znečištěná kůže, výkaly, obsahy zažívacího ústrojí, znečištěná voda, pozdní vykolení a ve všech fázích získávání a zpracování masa nečisté pracovní plochy, stroje, zařízení, nádoby, schrány, obalový materiál a nástroje s nimiž přichází maso do styku [21].

Mikrobiální kažení masa se uskutečňuje převážně od povrchu dovnitř. Při jeho skladování za chladírenských teplot dominují psychrotrofní gramnegativní tyčinkovité bakterie, především proteolytické a lipolytické pseudomonády (*Pseudomonas fluorescens* a *P. Fragi*). Viditelným znakem mikrobiologického kažení masa je jeho osliznutí, tvorba barevných skvrn a nepřírodního pachu, což se projevuje počty bakterií 10^7 až 10^8 KTJ. cm^{-2} . Se stoupající teplotou uchovávání, což bývá spojené s poklesem hodnoty aktivity vody na povrchu masa (schnutí), se vzrůstající mírou uplatňují jiné gramnegativní bakterie. Často jsou to *Enterobacteriaceae*, rody *Serratia*, *Citrobacter* a silně proteolytické druhy rodu *Proteus* a grampozitivní bakterie rodu *Micrococcus*, *Staphylococcus* a *Bacillus*.

Zvětšením povrchu masa různými způsoby jeho drobení (sekání, řezání, mletí) se jeho povrch přicházející do styku s kontaminujícími bakteriemi enormně zvětší, bakterie se urychleně rozmnožují, kažení se urychlí a vzniká nebezpečí onemocnění konzumentů mikrobiálního původu, pokud jsou přítomny i choroboplodné bakterie. Pokud jsou takového produkty určeny na přímou spotřebu, musí se konzumovat ještě v den jejich výroby. Jejich teplota nesmí vystoupit nad 4°C (tatarský biftek apod.) [16].

2.9.1 *Salmonella*

Rod *Salmonella* je významným zástupcem čeledi *Enterobacteriaceae*, což jsou gramnegativní, fakultativně anaerobní nesportující krátké tyčinky [20]. Vyskytují se zejména v trávicím ústrojí a v okolí lidí a zvířat, znečišťují i odpadní vody a krmivo. Některé jsou patogenní. Jsou převážně mezofilní a některé druhy rostou i při chladírenských teplotách [21]. Salmonely fermentují glukózu s produkcí kyseliny a plynu, nejsou však schopny metabolizovat laktózu.

Salmonelózy jsou střevní infekce vyvolané různými serotypy bakterií z rodu *Salmonella*. Hlavním rezervoárem salmonel je střevní trakt zvířat i člověka. V dnešní době je známo přes 2200 serotypů salmonel. Salmonely neprodukují exotoxiny, onemocnění vzniká po požití živých mikroorganismů, které napadají střevní mukózu, kde se množí, produkují endotoxiny a způsobují různý stupeň enteritidy. Salmonelóza probíhá buď jako lokální střevní infekce nebo může onemocnění vést až ke generalizované nebo lokalizované systémové infekci. Infekční dávka nutná k vyvolání onemocnění člověka závisí nejen na virulenci serotypu, ale i na věku a celkové odolnosti člověka. U některých typů salmonel stačí k vyvolání onemocnění 100 nebo i méně buněk. Onemocnění má často epidemický charakter a postihuje všechny věkové kategorie lidí. Zdrojem nákazy mohou být kontaminované potraviny nebo voda. Je možný také přenos z člověka na člověka, ale tento způsob přenosu nebývá příliš častý. Potraviny mohou být kontaminovány primárně, to znamená, že pochází z nemocných zvířat, nebo sekundárně [21].

Onemocnění se klinicky projevuje průjmem, nevolností, bolestmi břicha, teplotou a zimnicí, občas i zvracením a bolestmi hlavy [20].

Odolnost salmonel je poměrně vysoká. Salmonely jsou odolné i proti nízkým teplotám, které sice zpomalují jejich látkovou výměnu, ale neničí je. Teploty nad 70°C salmonely rychle devitalizují. Snížená aktivita vody pod 0,95 zabraňuje jejich množení. Desinfekčními prostředky běžně používanými v potravinářství se však celkem spolehlivě inaktivují [21].

2.9.2 *Shigella*

Rod *Shigella* je laktóza negativní, ale při utilizaci sacharidů neprodukuje plyn. Rezistence shigel je relativně nízká, pasterací je tato bakterie spolehlivě devitalizována. Shigely nejsou patogeny hospodářských zvířat, hlavním zdrojem onemocnění je nemocný člověk nebo bacionosič. Potraviny tedy mohou být kontaminovány pouze sekundárně. Onemocnění se projevuje průjmem, horečkou, nevolností, zvracením a břišními křečemi. Je to typická nemoc dětského věku, někdy bývá označována jako „nemoc špinavých rukou“.

2.9.3 *Staphylococcus*

Staphylococcus jsou Gram pozitivní, kataláza pozitivní koky, rostoucí aerobně i fakultativně anaerobně, optimální teplota růstu je 35-45°C. *Staphylococcus aureus* vytváří enterotoxin, ostatní příslušníci rodu jsou nepatogenní a jsou součástí mikroflóry masa a výrobků. Za řízených podmínek bývají využívány jako součást startovacích kultur [21].

Dobře rostou na agarových půdách, některé tvoří žlutý až oranžový pigment [17].

Častým zdrojem stafylokoků jsou drobná hnisavá poranění na ruku pracovníků manipulujících s potravinami. Ne všechny kmeny a ve stejné míře produkují enterotoxin. Serologicky lze rozlišit minimálně 5 typů enterotoxinu A až E, ale na onemocnění se podílí nejčastěji enterotoxin typu A. Stafylokokový enterotoxin je termostabilní, snáší teplotu varu až 15 minut. Předpokládá se, že na vytvoření takového množství enterotoxinu, který je schopen vyvolat otravu, je třeba asi 10^8 - 10^9 buněk toxigenního *Staphylococcus aureus* v 1 g. K pomnožení mikrobů a produkci enterotoxinu přispívá delší příprava pokrmů před podáváním a uchovávání potravin při teplotě nad 15°C. Vzhledem k jejich značnému rozšíření a vysoké rezistenci je nejlepší prevencí zabránění kontaminace potravin, jejich uchovávání při teplotách pod 10°C a rychlé zchlazení hotových pokrmů [21].

2.9.4 Celkový počet mikroorganismů

Pod pojmem „celkový počet mikroorganismů“ stanovený v 1 ml nebo 1 g vzorku zředovací kultivační metodou se rozumí počet kolonií označovaných skratkou KTJ (kolonie tvořící jednotky, anglicky CFU – colony forming units), které vyrostly z očkovaného množství na nebo v předepsané živné půdě s předepsanou hodnotou pH, při předepsané kultivační teplotě za předepsaný kultivační čas násobený reciprokou hodnotou zředění vzorku. Takto stanovený počet KTJ je obvykle jen určité procento ze skutečného počtu bakterií v nebo na vyšetřovaném vzorku, proto se pojem „celkový počet mikroorganismů“ dává někdy do uvozovek [17].

Celkový počet mikroorganismů informuje o počtu a morfologických vlastnostech mikrobiálních buněk a jejich shluků barvitelných použitou metodou. Za jednotku se přitom používají izolované buňky a jejich náhodné a morfologicky podmíněné shluky.

Stanovení CPM se při výrobě určitého produktu ověřuje čistota surovin, nedostatečná dekontaminace náradí a zařízení, případně zda v produktu nedošlo k pomnožení bakterií při nevhodném skladování.

2.9.5 Koliformní mikroorganismy

Pod pojmem koliformní bakterie rozumíme laktózo-pozitivní oxidázo-negativní bakterie. Nejdůležitější rody jsou bakterie rodu: *Escherichia*, *Citrobacter*, *Klebiella*, *Enterobacter*. Základními vlastnostmi těchto bakterií z hlediska jejich zjištění a stanovení na polotuhých médiích je fermentace laktózy za tvorby kyselin.

Pro svou termolabilnost jsou koliformní bakterie v potravinách indikátorem spolehlivosti pasterizace a terminace. Pro dobrý růst jsou indikátorem i sekundární kontaminace potravin. Pro svou chemolabilnost jsou indikátorem sanitace (čištění a dekontaminace) technologického náradí a zařízení [17]. Obsah koliformních bakterií v potravinách se také hodnotí jako indikátor dodržování správných hygienických zásad.

2.9.6 Počátek onemocnění

Minimální infekční dávka je nejmenší množství buněk nebo KTJ choroboplodného mikroorganismu, které může vyvolat nemoc. Pro mikroorganismy, které se mohou v živočišném organismu množit je minimální infekční dávka nízká, 10^2 - 10^3 živých buněk. Mikroorganismy způsobující typické otravy potravinami (intoxikace), musí být v potravíně a s ní se dostat do organismu ve větším množství. Jejich minimální infekční dávka je podle druhu mikroorganismu a podle potraviny, se kterou se dostávají do organismu zpravidla 10^4 a víc KTJ.g⁻¹[17].

2.10 Metody průkazu a stanovení počtu mikroorganismů v potravíně

V mikrobiologické praxi se používá nepříliš rozsáhlé spektrum postupů průkazu a stanovení počtu vybraných skupin mikroorganismů nebo určitého konkrétního druhu. V historii mikrobiologického vyšetřování potravin byla veškerá identifikace mikroorganismů založena na mikroskopickém pozorování objektů. S postupem času a vývojem identifikačních metod, bylo mikroskopování nahrazeno fyziologickými a biochemickými metodami.

V současné době jsou v laboratořích nejvíce používány kultivační metody a mikroskopické metody jsou pouze okrajovou záležitostí. Tyto kultivační metody jsou usanční, tj. je nutné přísné dodržování pracovního postupu, uvedeného v ČSN či ISO normě a tím se vyloučí i případné nesrovnatelné výsledky.

V poslední době dochází k nevídanému rozvoji moderních metod detekce a stanovení počtu mikroorganismů v potravinách (a samozřejmě i jiných materiálech). Patří mezi ně např. imunochemické metody, které je možné kombinovat s různými separačními technikami a především pak PCR v různých aplikacích. Tyto metody není možné z pochopitelných důvodů provádět v podmínkách školní laboratoře, kde byla prováděna část analýz vzorků. Je také třeba upozornit na skutečnost, že klasické kultivační techniky jsou dnes stále nejčastějším způsobem stanovení mikroorganismů v potravinách a že i v případě aplikace jiných způsobů slouží jako referenční metoda.

Mikrobiologická bezpečnost potravin je tradičně stanovována prostřednictvím problémových testů. Tyto testy simulují účinky životních podmínek, podmínek růstu a rozšíření patogenních mikroorganismů [23].

3. CÍL

Cílem práce je:

1. Zhodnotit mikrobiologickou kontaminaci masa a prostředí zpracovatelského řetězce v provozovně Jatky Bučovice vybranými mikroorganismy.
2. Počty mikroorganismů porovnat v závislosti na změně ročního období.

4. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Cílem této práce je zjistit stanovení mikrobiální kontaminace masa a provozních ploch v rámci jateční výroby a bourání. Ve vzorcích masa a na pracovních plochách jsem se zaměřila na následující mikrobiologické ukazatele:

- ☞ průkaz bakterií rodu *Salmonella* resp. *Shigella*
- ☞ stanovení celkového počtu mikroorganismů
- ☞ stanovení počtu koliformních mikroorganismů
- ☞ stanovení počtu bakterií *Staphylococcus aureus*

4.1 Seznam použitých přístrojů a chemikálií

4.1.1 Použité přístroje a zařízení

- běžné laboratorní sklo
- parní sterilizátor (autokláv) vertikální AUT 26/II (Brněnská medicínská technika a. s., ČR)
- parní sterilizátor (autokláv) PS 20A/I (Brněnská Medicínská Technika a. s., ČR)
- termostat BT 120 (Chirana Brno, ČR)
- pedálový homogenizátor Stomacher (Vezola Brno, ČR)
- ultrazvuková lázeň (Tesla, ČR)
- chladnička

4.1.2 Použité chemikálie, média

- Chlorid sodný (NaCl) na přípravu fyziologického roztoku
- Média:
 - Violet Red Bile Agar 1.2% (Čaderský – Envitek, spol. s.r.o., ČR)
 - Plate Count Agar (Čaderský – Envitek, spol. s.r.o., ČR)
 - Baird-Parker Agar Base (Čaderský – Envitek, spol. s.r.o., ČR)
 - Egg Yolk Tellurite Emulsion (Čaderský – Envitek, spol. s.r.o., ČR)
 - Xylose Lysine Deoxycholate Agar (Čaderský – Envitek, spol. s.r.o., ČR)

V následujícím textu jsou používány zažité zkratky živných půd:

- ☞ Violet Red Bile Agar – VRBL, česky VČŽL (krystalová violet, neutrální červen, žlučové soli, laktóza),
- ☞ Plate Count Agar – PCA, česky GTKA (glukóza, trypton, kvasničný extrakt, agar),
- ☞ Baird-Parker Agar – B-P,
- ☞ Xylose Lysine Deoxycholate Agar – XLD.

4.2 Použité metody

Posouzení mikrobiální kontaminace masa a provozních ploch v rámci jateční výroby a bourání bylo provedeno klasickými kultivačními metodami v souladu s příslušnými normami:

- ČSN ISO 7218 Mikrobiologie potravin a krmiv. Všeobecné pokyny pro mikrobiologické zkoušení
- ČSN ISO 17604 Mikrobiologie potravin a krmiv. Vzorkování těl poražených zvířat pro mikrobiologické vyšetření
- ČSN ISO 3100-2 Maso a masné výrobky. Odběr vzorků a příprava analytických vzorků. Část 2: Příprava analytických vzorků pro mikrobiologické zkoušení
- ČSN EN ISO 6887-1 Mikrobiologie potravin a krmiv. Úprava analytických vzorků, příprava výchozí suspenze a desetinasobných ředění – Část 1: Všeobecné pokyny pro přípravu výchozí suspenze a desetinasobných ředění
- ČSN EN ISO 6887-2 Mikrobiologie potravin a krmiv. Úprava analytických vzorků, příprava výchozí suspenze a desetinasobných ředění – Část 2: Specifické pokyny pro vzorky masa a masných výrobků
- ČSN P ENV ISO 11133-1 Mikrobiologie potravin a krmiv. Všeobecné pokyny pro přípravu a výrobu kultivačních půd – Část 1: Všeobecné pokyny pro zabezpečování jakosti při přípravě kultivačních půd v laboratoři
- ČSN ISO 4832 Mikrobiologie. Všeobecné pokyny pro stanovení počtu koliformních bakterií. Technika počítání kolonií
- ČSN ISO 17410 Mikrobiologie potravin a krmiv – Horizontální metoda stanovení počtu psychrotrofních mikroorganismů
- ČSN ISO 18593 Mikrobiologie potravin a krmiv. Horizontální metody specifikující techniky vzorkování z povrchu kontaktních ploten a stěrů
- ČSN EN ISO 6579 Mikrobiologie potravin a krmiv. Horizontální metoda průkazu bakterií rodu *Salmonella*
- ČSN EN ISO 6888-1 Mikrobiologie potravin a krmiv. Horizontální metoda stanovení počtu koagulázopozitivních stafylokoků (*Staphylococcus aureus* a další druhy) – Část 1: Technika s použitím agarové půdy podle Baird-Parkera
- ČSN 56 0100 Mikrobiologické zkoušení potravin, předmětů běžného užívání a prostředí potravinářských provozoven
- ČSN ISO 2293 Maso a masné výrobky. Stanovení počtu mikroorganismů. Technika počítání kolonií
- ČSN ISO 18593 Mikrobiologie potravin a krmiv. Horizontální metody specifikující techniky vzorkování z povrchu pomocí kontaktních ploten a stěrů
- ČSN EN ISO 4833 Mikrobiologie potravin a krmiv. Horizontální metoda pro stanovení celkového počtu mikroorganismů – Technika počítání kolonií

4.3 Pracovní postup

4.3.1 Odběr vzorků

Pro účely kontroly vnitropodnikové hygieny (sekundární kontaminace) se destruktivní metodou z jatečně upraveného těla po úpravě, ale před zahájením chlazení, odeberou čtyři vzorky tkáně představující celkem 20 cm² plochy povrchu masa. Kousky tkáně se odebírají pomocí sterilního korkovrtu nebo tak, že se z jatečně upraveného těla sterilním nástrojem odřízne plátek o ploše 5 cm² a maximální tloušťce 5 mm. Vzorky musejí být na jatkách za sterilních podmínek umístěny do nádoby na vzorky nebo do plastického sáčku s ředícím roztokem, přemístěny do laboratoře a potom homogenizovány. Podle rozhodnutí Komise 2001/471/ES je možné použít pro odběr vzorků masa i nedestruktivní (stěrovou) metodu [27].

Odběr vzorků z pracovní plochy byl proveden stěrovou metodou. Vzorky byly odebrány bavlněnými tampóny navlhčenými 1 ml 0,1 % roztoku NaCl a peptonu (8,5 g NaCl, 1 g trypton-kasein-peptonu, 0,1 % agaru a 1000 ml destilované vody). Povrch pro odběr vzorku má plochu 20 cm², která se vyznačí sterilní šablonou. Na vlhké plochy stačí suché bavlněné tampóny. Tampóny by měly být drženy ve sterilních kleštích a povrch, ze kterého se odebírá vzorek, se setře desetkrát odshora dolů a při stírání se na povrch pevně přitlačí. Tampóny se sbírají do láhve obsahující 40 ml pufovaného peptonu s fyziologickým roztokem a 0,1 % agarem. Vzorky stěrů musejí být do dalšího zpracování uloženy v chladu při teplotě 4 °C. [28].

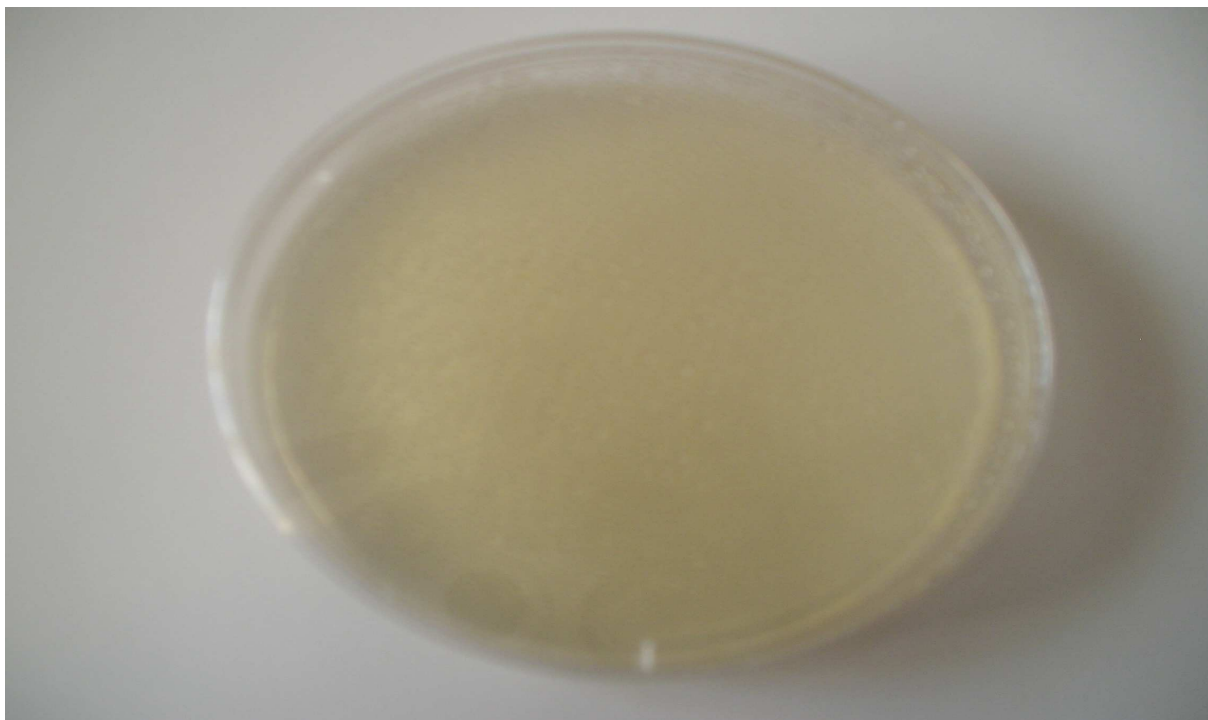
Místo odběru vzorků:

- před rychloschlazovnou, vzorek vepřového masa od páteře
- bourárna, vzorek vepřového masa od páteře
- játra
- stěr pracovní plocha - bourárenský pás

4.3.2 Příprava půd

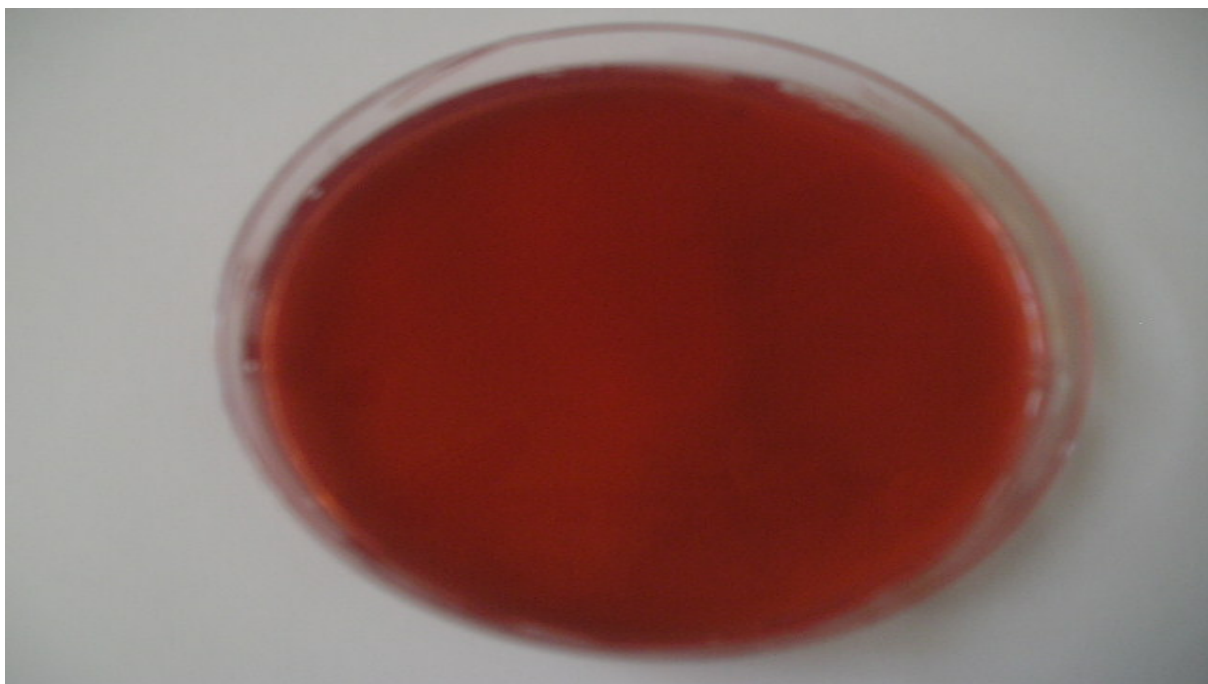
Na přípravu půd byly použity směsi firmy Čaderský – Envitek, spol. s.r.o., ČR, které již v sobě obsahují všechny potřebné složky. Pouze se přepočítala potřebná navážka, protože výrobce uvádí hmotnost práškové směsi na přípravu 1000 ml půdy.

Na přípravu půdy GTKA (obr. č. 7) výrobce uvádí potřebu 23,5 g na 1000 ml. Na moji potřebu tedy přepočet na 200 ml navážka činí 4,7 g směsi. Ta byla navážena do Erlenmayerovy baňky a dolita do 200 ml destilovanou vodou. Vzniklá směs vařila do rozpuštění. Tato půda se nenalévala přímo na Petriho misky. Používá se na zalití inokula. Půda se uzavřela v Erlenmayerově baňce víčkem z hliníkové folie, autoklávovala. Po vychladnutí je nutno ji uchovat v chladničce až do přímého používání, kdy byla rozvařena.



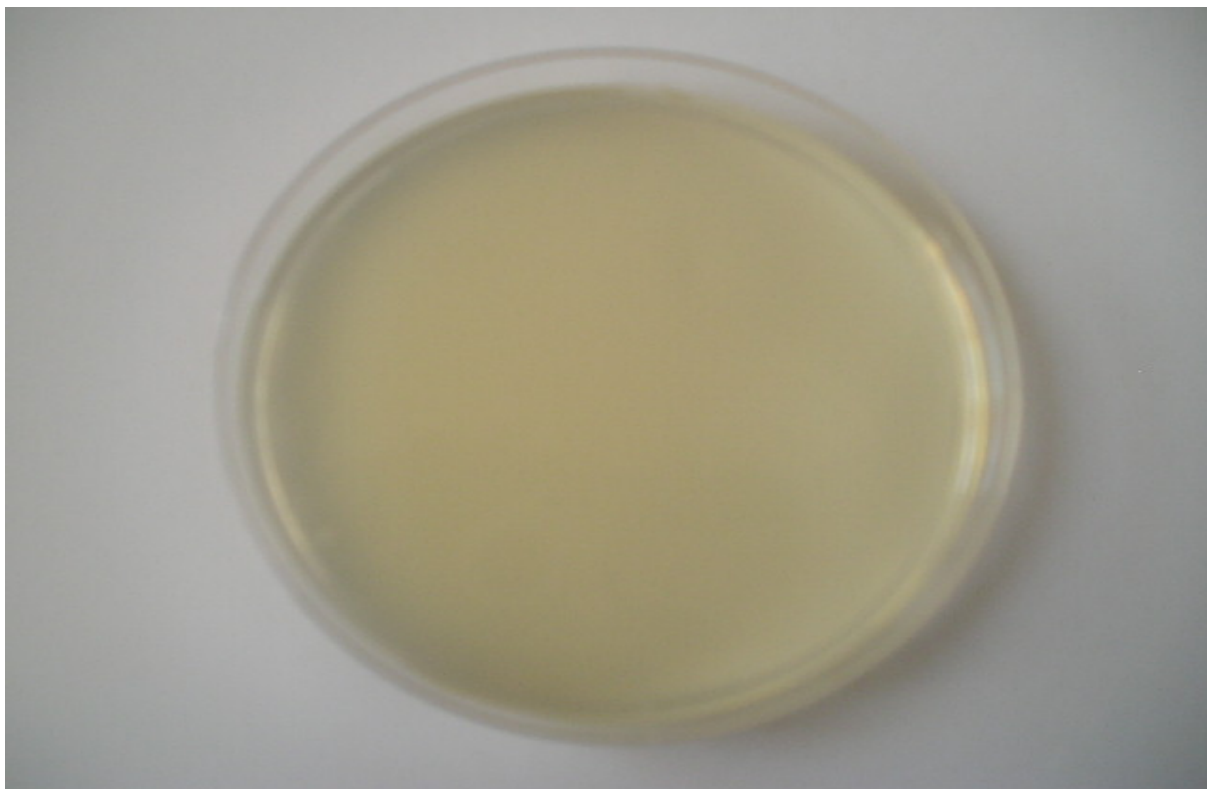
Obr. č. 7: Půda GTKA

Na přípravu půdy VČŽL (obr. č. 8) výrobce uvádí potřebu 41,53 g na 1000 ml. Na moji potřebu tedy přepočít na 200 ml navážka činí 8,306 g směsi. Ta byla navážena do Erlenmayerovy baňky a dolita do 200 ml destilovanou vodou. Vzniklou směs vaříme 10 minut. Tuto půdu nenaléváme přímo na Petriho misky. Používá se na zalití inokula. Půdu uzavřeme v Erlenmayerově baňce víčkem z hliníkové folie, autokládáme. Po vychladnutí je nutno ji uchovat v chladničce až do přímého používání, kdy ji rozvaříme nad kahanem.



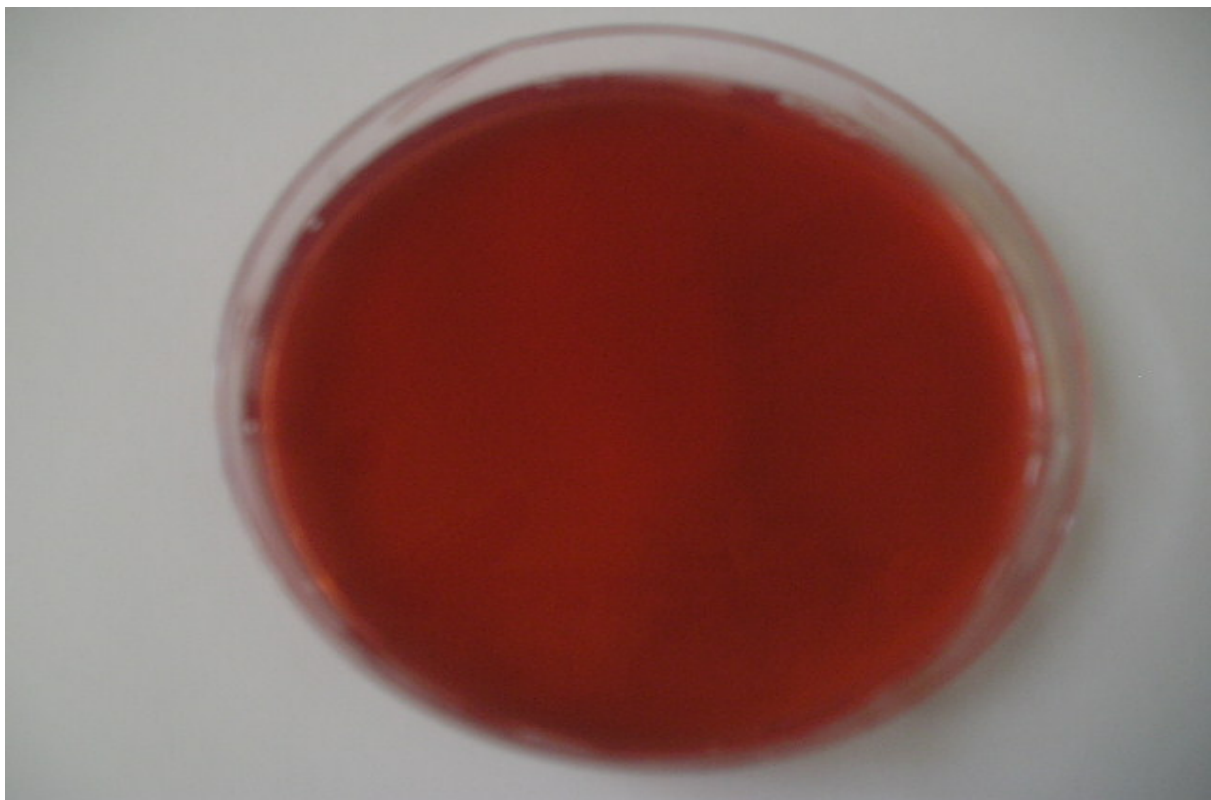
Obr. č. 8: Půda VČŽL

Na přípravu půdy B-P (obr. č. 9) výrobce uvádí potřebu 63 g na 950 ml. Na moji potřebu tedy přepočet na 200 ml navážka činí 13,263 g směsi. Tuto navážíme do Erlenmayerovy baňky a dolijeme do 200 ml destilovanou vodou. Vzniklou směs vaříme do rozpuštění, pak autokládujeme při 121° C 20 minut. Po vychladnutí na dotyk přidáme žloutkovou emulzi (Egg Yolk Tellurite Emulsion), jejíž potřebu musíme opět přepočítat. Výrobce uvádí potřebu 50 ml žloutkové emulze na 950 ml půdy. Při našem objemu 200 ml potřebujeme žloutkové emulze jen 10,5 ml. Smícháme, naléváme v tenké vrstvě na Petriho misky a necháme utuhnout.



Obr. č. 9: Půda B-P

Na přípravu půdy XLD (obr. č. 10) výrobce uvádí potřebu 54,8 g na 1000 ml. Na moji potřebu tedy přepočet na 200 ml navážka činí 10,96 g směsi. Tuto navážíme do Erlenmayerovy baňky a dolijeme do 200 ml destilovanou vodou. Vzniklou směs necháme projít varem, necháme vychladnout a naléváme v tenké vrstvě na Petriho misky, necháme utuhnout.



Obr. č. 10: Půda XLD

Pokud utuhlé půdy nepoužíváme hned, je možno je uskladnit v chladničce, balila jsem je do skupinek obalených hliníkovou folií (obr. č. 11).



Obr. č. 11: Balíčky půd pro uskladnění v chladu

Pro získání vhodné koncentrace mikroorganismů a snadnější spočítání jejich narostlých kolonií, je potřeba vzorky naředit. Na to se používá fyziologický roztok chloridu sodného: 1,8g NaCl do 200 ml destilované vody, autoklávovat při 121° C 20 minut.

4.3.3 Příprava vzorků a nanášení na půdy

Příprava masové suspenze a suspenze z jater

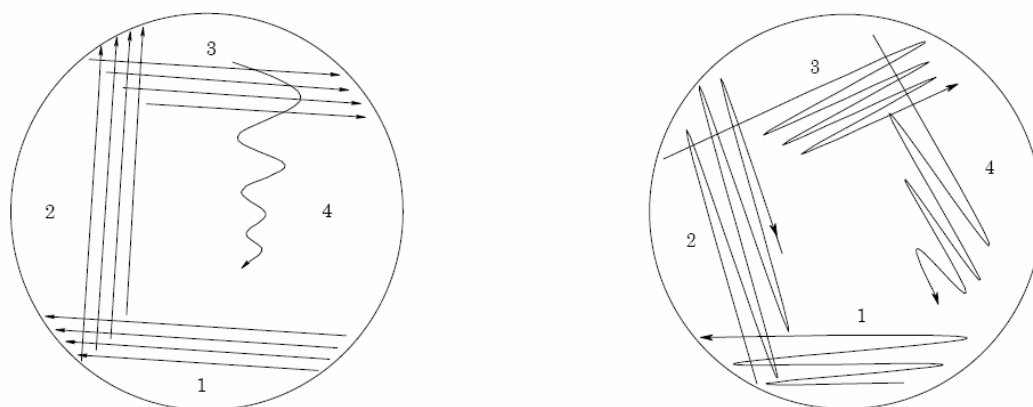
Odebrané vzorky se do vyšetření skladujeme v chladu při teplotě 4 °C. Do PE sáčku odvážíme 10 g vzorku masa (jater) odebraného sterilně z hloubky tkáně a přidáme 100 ml ředicího roztoku sterilním odměrným válcem (tj. 0,1 % pufovaná peptonová voda, 0,9 % roztok chloridu sodného). Tento sáček vložíme do pevného igelitového sáčku a upevníme do homogenizátoru. Homogenizujeme 1 minutu. Tímto vznikne ředění 10^{-1} . Do sterilních zkumavek připravíme sadu dalších dekadických ředění. Pracujeme zvlášť se vzorkem masa a zvlášť se vzorkem jater.

Příprava materiálů po odběrech ze stěrů

V laboratoři se tampon důkladně (energicky) promyje v roztoku ve zkumavce, ve kterém byl přepravován. Tímto vznikne ředění 10^{-1} . Do sterilních zkumavek připravíme sadu dalších dekadických ředění.

Nanášení na půdy a kultivace

Nanášení na půdu XLD - kouskem masa, který držíme v pinzetě několikrát přejedeme tam a zpět po pomyslné úsečce u okraje Petriho misky s XLD živnou půdou. Potom opálenou očkovací kličkou provedeme křížový roztěr (obr. č. 12).



Obr. č. 12 : Křížový roztěr. Mezi jednotlivými kroky (1-4) je nutné vyžít kličku!

Na ostatní zkoušky používáme desetinásobné ředění vzorků (viz postup přípravy výše). Z této řady nanášíme vždy z každého ředění 0,1 ml na půdu B-P, rozetřeme sterilní skleněnou zahnutou tyčinkou (hokejkou). Misky uzavřeme víčkem. Pro každé ředění máme 2 Petriho misky. Ponecháme je na pracovním stole 15 minut (vsáknutí inokula).

Při zalévání inokula do půdy VČŽL a GTKA používáme z daného ředění vždy 1 ml inokula. Nejprve půdu rozvaříme, aby ztekutěla a zchladíme ji na 45°C. Příslušné ředění vzorku naočkujeme souběžně na 2 Petriho misky, zalijeme přiměřeným množstvím půdy (3-4 mm), misky uzavřeme víčkem a krouživým pohybem promícháme. Necháme ztuhnout.

Mikroorganismy inkubujeme v termostatu 48 hodin při teplotě 37° C obrácené dnem vzhůru.

4.3.4 Vyhodnocení narostlých kolonií

Všechny výsledky testování se zaznamenávají v kolonie tvořících jednotkách (KTJ) na cm² plochy povrchu. Protože jsem neměla k dispozici vzorky masa získané pouze z povrchu, ale i z hloubky tkáně, jsou výsledky předkládané v této práci vyjádřeny jako KTJ na gram vzorku masa, pouze v případě stěru z pracovní plochy jako KTJ na cm² [27].

Z Petriho misek vybereme následující po sobě jdoucí ředění mikroorganismů, na kterých je méně než 150 narostlých kolonií. Kolonie počítáme vždy z obou misek daného ředění, dosazením hodnot do vzorce dopočítáme počet kolonií tvořících jednotek na g, ml nebo 100 cm² plochy.

Při stanovení celkového počtu mikroorganismů (CPM) se odečítají všechny vyrostlé kolonie, při stanovení daných taxonomických skupin pouze kolonie s příslušnými morfologickými charakteristikami.

Počet mikroorganismů v původním vzorku (v 1 g nebo 1 ml) se vypočítá jako vážený aritmetický průměr ze dvou po sobě následujících ředění podle vzorce:

$$N = \frac{\sum C}{V \cdot (n_1 + 0,1 \cdot n_2) \cdot d}$$

kde $\sum C$ je celkový počet kolonií vyrostlých na všech plotnách, které byly vybrány pro výpočet. Je to součet kolonií vyrostlých při dvou po sobě následujících ředěních, v rámci každého ředění vždy na dvou souběžně očkovaných miskách.
 V je objem inokula v mililitrech (tedy buď 1 nebo 0,1 při metodě zalití nebo roztěru).

n_1 je počet ploten vybraných k výpočtu z prvního zvoleného ředění (tedy $n_1 = 2$).

$n_2 \dots$ je počet ploten vybraných k výpočtu z druhého zvoleného ředění (tedy $n_2 = 2$).

$d \dots$ je faktor ředění odpovídající prvnímu z obou vybraných ředění.

Výsledek se vyjádří jako počet mikroorganismů v mililitru (u tekutých vzorků) nebo v gramu (u pevných vzorků), a to jako číslo v intervalu 1,0 až 9,9 násobené 10^x .

5. VÝSLEDKY A DISKUSE

V diplomové práci byla sledována mikrobiální kontaminace masa a provozních ploch v rámci jateční výroby a bourání. Vzorky masa a stěrů byly odebírány v rámci výrobního podniku Jatky Bučovice. Vzorky byly zvoleny dle postupného zpracovávání masa v závodě. Maso před rychloschlazovnou, maso z bourárny, játra, stěr z bourárenského pásu. Byly sledovány mikroorganismy rodu *Salmonella* resp. *Shigella*, stanovení celkového počtu mikroorganismů, stanovení počtu koliformních mikroorganismů, stanovení počtu bakterií *Staphylococcus aureus*. Vybrané mikroorganismy byly kultivovány klasickými plotnovými kultivačními metodami na selektivních půdách.

5.1 Vyhodnocení nárůstu

Obsah bakterií ve vzorcích masa a na stěrech z provozních ploch byl zkoumán nárůstem kolonií na specifických půdách. Princip spočívá v dostatečném zředění mikrobiální směsi takovým způsobem, aby kolonie, které vzniknou rozmnožováním, vyrostly z jedné buňky. Na Petriho miskách sledujeme vyvíjející se kolonie.

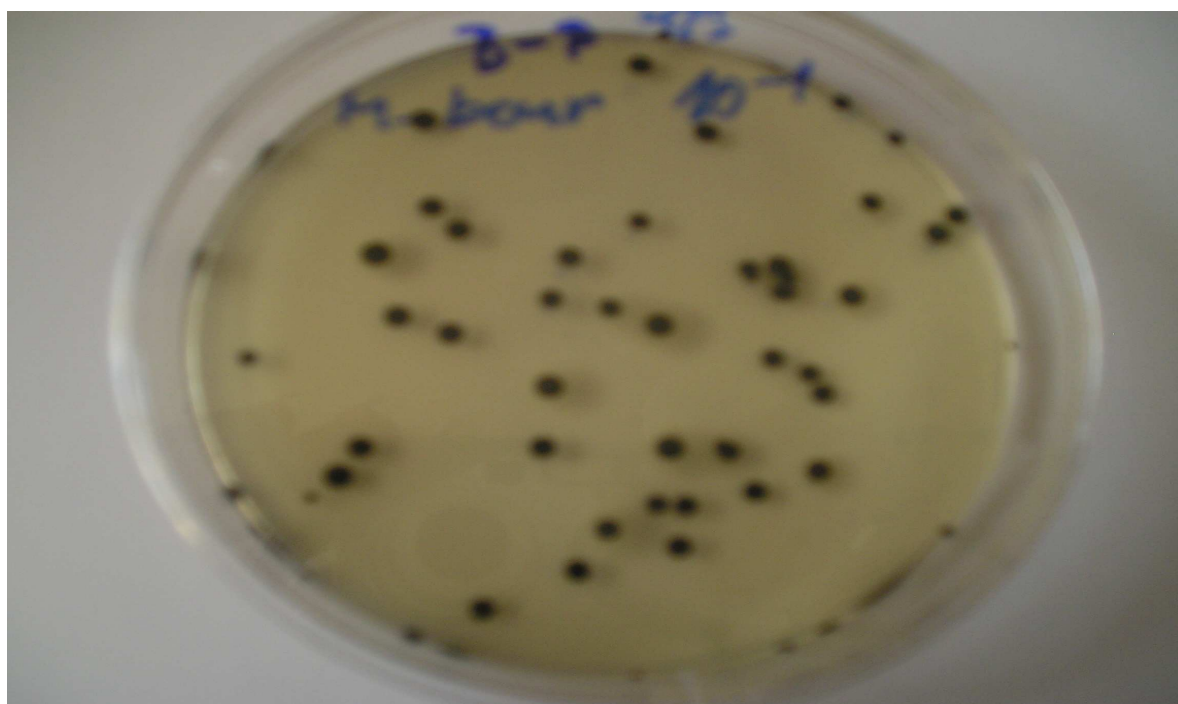
Na následujících obrázcích (obr. č. 13,14,15,16) jsou ukázky morfologie narostlých kolonií na jednotlivých selektivních půdách.



Obr. č. 13: Narostlé kolonie na půdě GTKA



Obr. č. 14: Narostlé kolonie na půdě VČŽL



Obr. č. 15: Narostlé kolonie na půdě B-P



Obr. č. 16: Narostlé kolonie na půdě XLD

Počty kolonií narostlé na Petriho miskách byly sledovány v závislosti na změně ročního období odběru vzorků (tabulka č. 1, 2, 3, 4), kdy se předpokládalo, že v teplejších měsících roku bude počet narostlých kolonií sledovaných mikroorganismů vyšší. Tento předpoklad se ale nepotvrdil.

U celkového počtu organismů se dokonce zvýšil počet narostlých kolonií u masa odebíraného z bourárny v měsících prosinci a únoru. Co do nárůstu počtu sledovaných mikroorganismů narostl počet bakterií *Staphylococcus aureus* ve výsledcích ze zimních měsíců, ve vzorcích z října a dubna nebyl vůbec detekován. To bylo pravděpodobně způsobeno působením lidského faktoru. Počet koliformních mikroorganismů detekovaných ve vzorcích je možno zhodnotit jako stabilní. Jediným výkyvem bylo neidentifikování na stěru pracovních ploch při odběrech v dubnu 2009.

Následující tabulky shrnují počty narostlých kolonií seřazené dle data analýzy.

Tabulka č. 1: Počty kolonií narostlých na Petriho miskách. 8.10.2008.

vzorek	inokulum	první ředění	1. plotna	2. plotna	3. plotna	4. plotna
játra CPM	1	1,00E-02	120	150	18	15
játra koliformní	0,1	1,00E-01	23	13	0	0
játra <i>S.aureus</i>	0,1	1,00E-01	52	48	6	9
maso schlazovna CPM	1	1,00E-02	65	68	10	19
maso schlazovna koliformní	0,1	1,00E-01	20	31	5	15
maso schlazovna <i>S.aureus</i>	0,1	1,00E-01	14	21	3	2
maso bourárna CPM	1	1,00E-02	255	240	35	29
maso bourárna koliformní	0,1	1,00E-01	80	95	16	19
maso bourárna <i>S.aureus</i>	0,1	1,00E-01	23	31	8	10
stěr CPM	1	1,00E+00	140	123	12	16
stěr koliformní	0,1	1,00E+00	12	15	0	0
stěr <i>S.aureus</i>	0,1	1,00E+00	0	0	0	0

Tabulka č. 2: Počty kolonií narostlých na Petriho miskách. 15.12.2008.

vzorek	inokulum	první ředění	1. plotna	2. plotna	3. plotna	4. plotna
játra CPM	1	1,00E-03	90	83	15	6
játra koliformní	0,1	1,00E-01	25	27	4	2
játra <i>S.aureus</i>	0,1	1,00E-01	158	132	12	14
maso schlazovna CPM	1	1,00E-02	160	174	18	19
maso schlazovna koliformní	0,1	1,00E-01	85	32	7	4
maso schlazovna <i>S.aureus</i>	0,1	1,00E-01	14	21	15	18
maso bourárna CPM	1	1,00E-03	320	295	34	45
maso bourárna koliformní	0,1	1,00E-01	120	115	15	16
maso bourárna <i>S.aureus</i>	0,1	1,00E-01	310	286	39	56
stěr CPM	1	1,00E-01	43	54	3	5
stěr koliformní	0,1	1,00E-01	16	24	2	0
stěr <i>S.aureus</i>	0,1	1,00E+00	8	11	0	0

Tabulka č. 3: Počty kolonií narostlých na Petriho miskách. 16.2.2009.

vzorek	inokulum	první ředění	1. plotna	2. plotna	3. plotna	4. plotna
játra CPM	1	1,00E-02	110	132	25	36
játra koliformní	0,1	1,00E-01	36	30	7	9
játra <i>S.aureus</i>	0,1	1,00E-01	115	142	17	20
maso schlazovna CPM	1	1,00E-03	23	36	8	12
maso schlazovna koliformní	0,1	1,00E-01	40	23	3	0
maso schlazovna <i>S.aureus</i>	0,1	1,00E-01	22	28	2	5
maso bourárna CPM	1	1,00E-04	34	27	7	5
maso bourárna koliformní	0,1	1,00E-01	88	75	24	19
maso bourárna <i>S.aureus</i>	0,1	1,00E-01	214	244	33	28
stěr CPM	1	1,00E-01	32	47	17	26
stěr koliformní	0,1	1,00E+00	18	31	2	2
stěr <i>S.aureus</i>	0,1	1,00E+00	42	38	7	1

Tabulka č. 4: Počty kolonií narostlých na Petriho miskách. 3.4.2009.

vzorek	inokulum	první ředění	1. plotna	2. plotna	3. plotna	4. plotna
játra CPM	1	1,00E-03	15	20	4	3
játra koliformní	0,1	1,00E-02	3	6	0	0
játra <i>S.aureus</i>	0,1	1,00E-01	40	46	3	2
maso schlazovna CPM	1	1,00E-01	174	164	27	15
maso schlazovna koliformní	0,1	1,00E-01	12	14	0	3
maso schlazovna <i>S.aureus</i>	0,1	1,00E-01	22	24	2	1
maso bourárna CPM	1	1,00E-02	156	147	13	8
maso bourárna koliformní	0,1	1,00E-01	68	72	7	9
maso bourárna <i>S.aureus</i>	0,1	1,00E-01	92	87	15	28
stěr CPM	1	1,00E+00	5	16	0	0
stěr koliformní	0,1	1,00E+00	0	0	0	0
stěr <i>S.aureus</i>	0,1	1,00E+00	0	0	0	0

Druhým hlediskem bylo sledování počtů kolonií narostlých na Petriho miskách v závislosti na odběru vzorků v rámci zpracovatelského řetězce (tabulka č. 5,6,7,8). Předpokládalo se, že počet mikroorganismů bude růst zejména ve srovnání masa odebíraného před rychloschlazovnou a masa z bourárny. Porcováním masa na menší části se totiž zvyšuje jeho povrch, tím i možnost větší kontaminace.

Mikroorganismy rodu *Salmonella* resp. *Shigella* nebyly prokázány v žádném vzorku v žádném ročním období ani v závislosti na technologickém postupu srovnání postupu prací v podniku (tabulka č. 5).

Ze srovnání výsledků celkového počtu mikroorganismů vyplývá, že nejvyšší počet byl ve všech čtyřech kultivacích zjištěn při zpracování masa na bourárně. Vysoký je ale i počet mikroorganismů zjištěný na homogenizátu jater (graf č. 1).

Počet koliformních mikroorganismů opět potvrzuje zvolenou hypotézu, že počet MO je ovlivněn technologickým zpracováním. Maso z bourárny je oproti masu odebíranému před rychloschlazovnou kontaminováno více. I počet koliformních mikroorganismů na játrech byl při všech kultivacích poměrně vysoký, přičemž nejvyšší hodnota byla detekována v dubnu 2009 ($4,09 \cdot 10^3$ KTJ/g) (tabulka č. 7).

Počet bakterií *Staphylococcus aureus* je opět možno zhodnotit jako rostoucí při postupném opracování člověkem. Jejich vzrůst kontaminace tedy viditelný při všech srovnáních masa před rychloschlazovnou a masa odebíraného v bourárně. Vysoký je i počet bakterií detekovaný na játrech. Na pracovních plochách nebyl ve dvou případech detekován, mohlo jít o chybu v laboratorním postupu (tabulka č. 8).

V následujících tabulkách je uveden souhrn výsledků sledovaných mikroorganismů dle postupného odběru vzorků ve zpracovatelském řetězci. Výsledky předkládané jsou vyjádřeny jako KTJ na gram vzorku masa, pouze v případě stěru z pracovní plochy jako KTJ na cm².

Tabulka č. 5: Primokultivace na záchyt rodů *Salmonella* resp. *Shigella*

	8.10.2008 VUT	15.12.2008 SPŠCH	16.2.2009 SPŠCH	3.4.2009 VUT
Maso – schlazovna	neg.	neg.	neg.	neg.
Maso – bourárna	neg.	neg.	neg.	neg.
Játra	neg.	neg.	neg.	neg.
Stěr pracovní plocha	neg.	neg.	neg.	neg.

Tabulka č. 6: Celkový počet mikroorganismů (KTJ/g)

	8.10.2008 VUT	15.12.2008 SPŠCH	16.2.2009 SPŠCH	3.4.2009 VUT
Maso - schlazovna	7,36E+03	1,69E+04	3,59E+04	1,73E+03
Maso - bourárna	2,54E+04	3,15E+05	3,32E+05	1,47E+04
Játra	1,38E+04	8,82E+04	1,38E+04	1,91E+04
Stěr pracovní plocha	1,32E+02	4,77E+02	5,55E+02	9,55E+00

Tabulka č. 7: Počet koliformních mikroorganismů (KTJ/g)

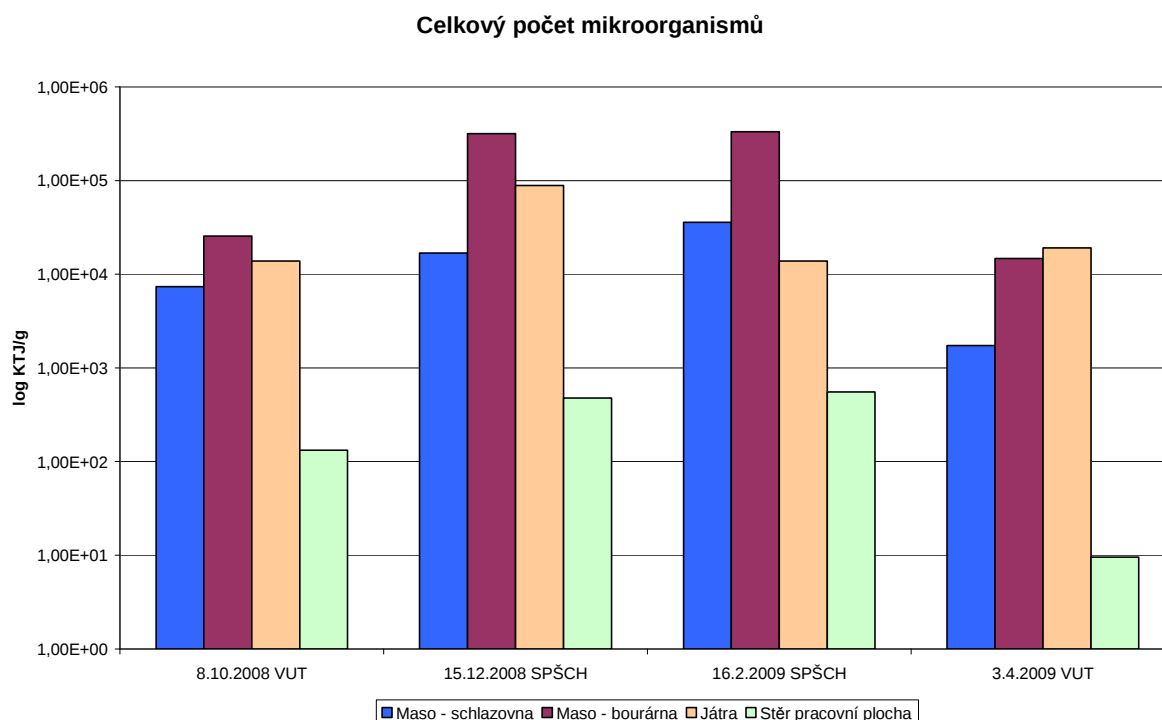
	8.10.2008 VUT	15.12.2008 SPŠCH	16.2.2009 SPŠCH	3.4.2009 VUT
Maso - schlazovna	3,23E+03	5,82E+03	3,00E+03	1,32E+03
Maso - bourárna	9,55E+03	1,21E+04	9,36E+03	7,09E+03
Játra	1,64E+03	2,64E+03	3,73E+03	4,09E+03
Stěr pracovní plocha	1,23E+02	1,91E+03	2,41E+02	0,00E+00

Tabulka č. 8: Stanovení počtu *Staphylococcus aureus* (KTJ/g)

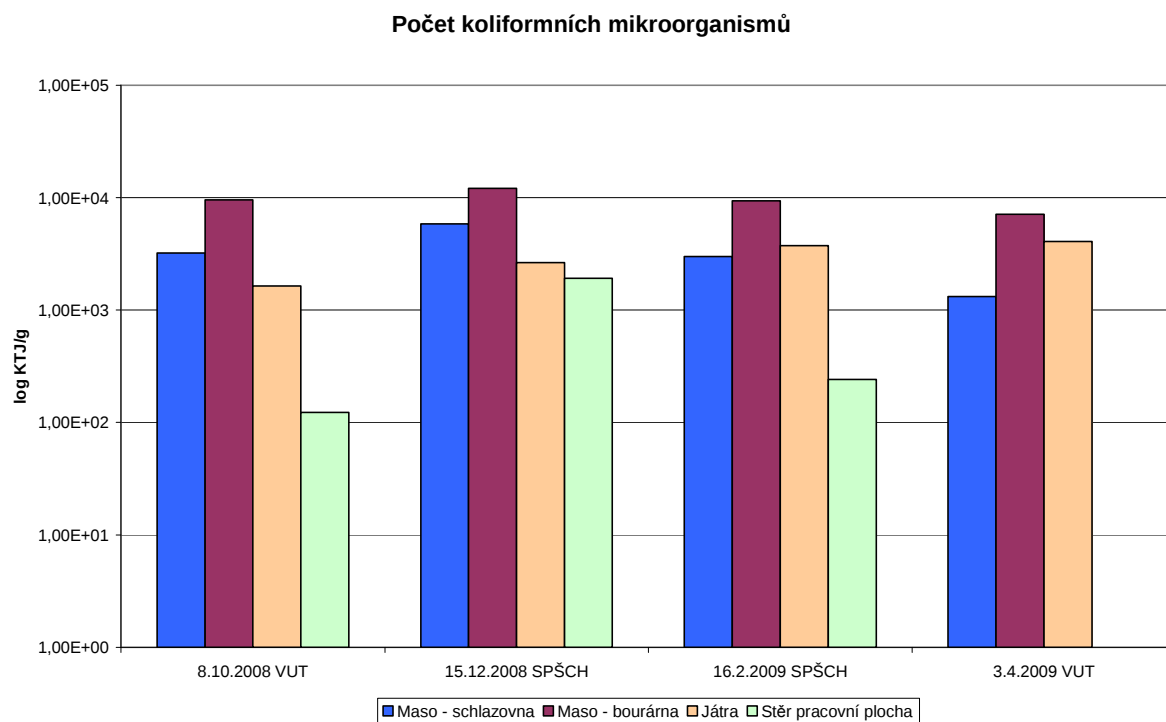
	8.10.2008 VUT	15.12.2008 SPŠCH	16.2.2009 SPŠCH	3.4.2009 VUT
Maso - schlazovna	1,82E+03	3,09E+03	2,59E+03	2,23E+03
Maso - bourárna	3,27E+03	3,14E+04	2,36E+04	1,01E+04
Játra	5,23E+03	1,44E+04	1,34E+04	4,14E+03
Stěr pracovní plocha	0,00E+00	8,64E+01	4,00E+02	0,00E+00

5.2 Celkové srovnání výskytu mikroorganismů

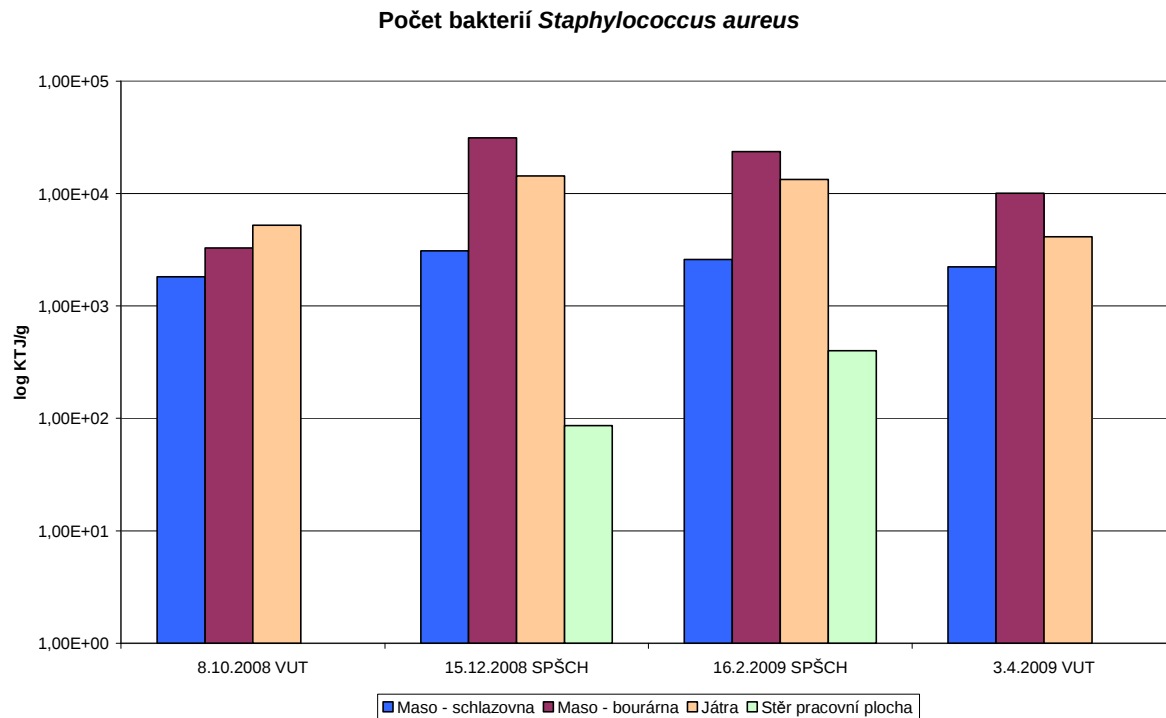
Protože rozdíly v počtech jednotlivých mikroorganismů jsou číselně velké, je pro grafické vyjádření výsledků použita logaritmická stupnice. V případě, že stanovený počet mikroorganismů byl menší než 10 KTJ/g, není v grafu tento výsledek znázorněn.



Graf č. 1: Celkový počet mikroorganismů



Graf č. 2: Počet koliformních mikroorganismů



Graf č. 3: Počet bakterií *Staphylococcus aureus*

5.3 Diskuse

V diplomové práci byly zkoumány vzorky masa odebrané v průběhu zpracování masa na jatkách tak, aby bylo možno srovnat jejich kontaminaci v průběhu zpracovatelského procesu. Taktéž byly odebírány v průběhu různých ročních období a posouzen i tento vliv.

Kolonie rodu *Salmonella* či *Shigella* nebyly na půdě XLD zachyceny ani u jednoho z vyšetřovaných vzorků v žádném sledovaném ročním období. Křížovým roztěrem byly u většiny vzorků identifikovány pouze kolonie laktózo-pozitivních bakterií (koliformních). Ty byly detekovány na půdě VČŽL. Podle platné legislativy – v současné době je to nařízení ES č. 2073/2005 nesmí být salmonely přítomny ve 25 g vzorku [24]. Tuto podmínku tedy všechny testované vzorky masa splnily, ve stěrech z pracovní plochy byl nález také negativní.

Celkový počet mikroorganismů (CPM) stanovený kultivační metodou na půdě PCA představuje veškeré bakterie, kvasinky i plísně vyrostlé za aerobních podmínek během 72 hodin při 30 °C. Můžeme tedy říci, že jde o veškeré mezofilní aerobní a fakultativně anaerobní mikroorganismy. Podle již zmíněného legislativního předpisu nesmí celkový počet aerobně kultivovaných mikroorganismů překročit hranici $5 \cdot 10^6$ KTJ/g u žádného z vyšetřovaných vzorků masa jatečně upraveného těla zvířete [24]. Všechny vyšetřované vzorky toto kritérium splnily.

Ve vzorcích s datem odběru v zimních měsících, byly u CPM zaznamenány vyšší hodnoty. To bylo pravděpodobně způsobeno tím, že vzorky analyzované v zimě na SPŠCH byly vždy transportovány delší dobu, než při analýze na FCH VUT a mikroorganismy se tudíž mohly pomnožit.

Při srovnání postupu manipulace s masem a jeho možnost kontaminace je jednoznačný také nárůst CPM u vzorku masa z bourárny oproti vzorku z jatečního provozu, což dokládá obecně známý jev, že počet mikroorganismů v mase jatečního zvířete se při bourání jatečně upraveného těla výrazně zvyšuje jeho mechanickým porušením a tím zvětšením jeho relativního povrchu (graf č. 1).

Při vyšetřování vzorků masa na koliformní mikroorganismy byly počítány charakteristické kolonie (karmínově červené o průměru 1 – 3 mm) vyrostlé na selektivním médiu VČŽL bez zahrnutí oxidázového testu. V tomto pojetí se tedy jedná o veškeré laktózo-pozitivní bakterie, které produkují kyselinu a plyn. Rozhodnutí Komise 2001/471/ES ze dne 8. června 2001, kterým se stanovují zásady pravidelných kontrol všeobecné hygieny stanoví, že zatímco celkové počty mikroorganismů se analyzují vždy, počty koliformních mikroorganismů se podle tohoto předpisu stanovovat nemusí, pouze je zmíněn dobrovolný odběr vzorků na stanovení počtu enterobakterií (může jej ovšem požadovat úřední veterinární lékař) [28]. Mezní hodnoty pro počet koliformních mikroorganismů nezmiňuje ani nařízení Komise ES č. 2073/2005 (najdeme zde pouze limity pro čeleď *Enterobacteriaceae* jako celek nebo naopak jen pro počty bakterií *Escherichia coli*) [24]. I v případě počtu koliformních bakterií můžeme sledovat obdobný trend jako u CPM, tedy nárůst počtu koliformní mikroorganismů u vzorku masa z bourárny oproti vzorku z jatečního provozu. V bourárně se dělením zvyšuje obsah plochy masa a její kontaminace noži, dělicím zařízením, rukama pracovníků, pracovními plochami a pak následným pomnožováním mikroflóry (graf č. 2).

Při srovnání časového odběru vzorků v různých ročních obdobích byl zaznamenán nárůst počtu MO pouze u stěrů z pracovních ploch, což je pravděpodobně způsobeno působením lidského faktoru.

Původce alimentárního onemocnění *Staphylococcus aureus* byl stanoven na agarové půdě podle Baird-Parkera, kde tvoří charakteristické černé kolonie (vzniklé redukcí telluričitanu draselného na kovový tellur) o průměru 1 až 1,5 mm, které jsou lesklé a vypouklé a které na okolní půdě tvoří kolem sebe kruhovou zónu projasnění o průměru 2 až 5 mm (zóna proteolýzy). Po 48 hodinách se v projasněné zóně tvoří opakní (slovu nerozumím) zóny způsobené aktivitou lecithinázy. Konfirmace se provádí na králičí plazmě, kde *Staphylococcus aureus* poskytuje výrazně pozitivní koagulázovou reakci. Konfirmace v rámci vyšetřování v laboratoři nebyla prováděna a proto byly počítány veškeré kolonie vyrostlé na plotnách jako suspektní.

Stanovení počtu koagulázapozitivních stafylokoků není rozhodnutím Komise č. 471/2001 vyžadována a nařízení Komise ES č. 2073/2005 nevyžaduje splnění limitů počtu koagulázapozitivních stafylokoků pro jatečně upravená těla zvířat ani maso jakožto produkt bourárny (limity jsou stanoveny pouze pro sýry, sušené mléko a sušenou syrovátku a výrobky z vařených korýšů a měkkýšů [24]). Dřívější, dnes již neplatné, legislativní předpisy (vyhláška 132/2004 Sb.) udávaly nejvyšší mezní hodnotu počtu koagulázapozitivních stafylokoků 10^5 KTJ/g pro všechny potraviny, které nejsou určeny k přímé spotřebě (např. před tepelnou úpravou) a 10^4 KTJ/g pro všechny potraviny určené k přímé spotřebě [29].

Zjištěné výsledky jsou ale spíše orientační, neboť byly odečítány všechny suspektní kolonie, nikoliv konfirmované, pracoviště využívaných laboratoří nejsou akreditované laboratoře pro mikrobiologické rozborů potravin, mohlo dojít ke kontaminaci z prostředí, případně z člověka, způsobené neopatrnou manipulací.

I přes tyto nedostatky můžeme vyvodit, že počet bakterií *Staphylococcus aureus* a dalších koagulázapozitivních stafylokoků se velmi výrazně zvyšuje při bourání masa. Stěry z pracovních ploch opakovaně vyšetřované v laboratoři VUT však nezjistily žádnou kontaminaci touto bakterií (stěry vyšetřované na SPŠCH zachytily 86 a 400 KTJ/cm², avšak v rozporu se zjištěními laboratoře VUT lze usuzovat spíše na kontaminaci v průběhu zpracování vzorku nebo samotného vyšetření) (graf č. 3).

Obě tato zjištění dokládají obecně známou skutečnost, že ke kontaminaci potravin touto bakterií dochází při kontaktu potravin s lidským faktorem – uvádí se, že až 50 % zdravých jedinců nosí tuto bakterii na kůži nebo na sliznicích).

6. ZÁVĚR

Cílem diplomové práce bylo zhodnotit mikrobiologickou kontaminaci masa a prostředí zpracovatelského řetězce v provozovně Jatky Bučovice. Byly sledovány vybrané mikroorganismy a jejich zjištěné počty porovnány v závislosti na změně ročního období.

Vzorky masa byly odebrané z okolí páteře před rychloschlazovnou, maso z okolí páteře z bourárny, vzorek z jater a stěry z bourárenského pásu.

Z výsledků vyplývá, že během zpracování masa v průběhu jatečného zpracování a bourání dochází k nárůstu počtu kontaminujících mikroorganismů, nicméně během sledovaného období nebyl zjištěn vzorek, který by neodpovídal platným legislativním předpisům.

Z hlediska sledování nárůstu počtu mikroorganismů v závislosti na změně ročního období se předpokládal nárůst počtu mikroorganismů v teplejších měsících. Toto ale prokázáno nebylo z důvodu zavedeného fungujícího systému HACCP.

7. POUŽITÁ LITERATURA

1. ČSN 56 0100 Mikrobiologické zkoušení potravin, předmětů běžného užívání a prostředí potravinářských provozoven. Praha: Český normalizační institut, 1968.
2. ČSN EN ISO 4833 Mikrobiologie potravin a krmiv. Horizontální metoda pro stanovení celkového počtu mikroorganismů – Technika počítání kolonií. Praha: Český normalizační institut, 2003.
3. ČSN EN ISO 6579 Mikrobiologie potravin a krmiv. Horizontální metoda průkazu bakterií rodu *Salmonella*. Praha: Český normalizační institut, 2006.
4. ČSN EN ISO 6887-1 Mikrobiologie potravin a krmiv. Úprava analytických vzorků, příprava výchozí suspenze a desetinasobných ředění – Část 1: Všeobecné pokyny pro přípravu výchozí suspenze a desetinasobných ředění. Praha: Český normalizační institut, 1999.
5. ČSN EN ISO 6887-2 Mikrobiologie potravin a krmiv. Úprava analytických vzorků, příprava výchozí suspenze a desetinasobných ředění – Část 2: Specifické pokyny pro vzorky masa a masných výrobků. Praha: Český normalizační institut, 1999.
6. ČSN EN ISO 6888-1 Mikrobiologie potravin a krmiv. Horizontální metoda stanovení počtu koagulázopozitivních stafylokoků (*Staphylococcus aureus* a další druhy) – Část 1: Technika s použitím agarové půdy podle Baird-Parkera. Praha: Český normalizační institut, 1999.
7. ČSN ISO 17410 Mikrobiologie potravin a krmiv - Horizontální metoda stanovení počtu psychrotrofních mikroorganismů. Český normalizační institut, 2003.
8. ČSN ISO 17604 Mikrobiologie potravin a krmiv. Vzorkování těl poražených zvířat pro mikrobiologické vyšetření. Praha: Český normalizační institut, 2006.
9. ČSN ISO 18593 Mikrobiologie potravin a krmiv – Horizontální metody specifikující techniky vzorkování z povrchů pomocí kontaktních ploten a stěrů. Praha: Český normalizační institut, 2008.
10. ČSN ISO 18593 Mikrobiologie potravin a krmiv. Horizontální metody specifikující techniky vzorkování z povrchu pomocí kontaktních ploten a stěrů. Praha: Český normalizační institut, 2006.
11. ČSN ISO 2293 Maso a masné výrobky. Stanovení počtu mikroorganismů. Technika počítání kolonií. Praha: Český normalizační institut, 1996.
12. ČSN ISO 3100-2 Maso a masné výrobky. Odběr vzorků a příprava analytických vzorků. Část 2: Příprava analytických vzorků pro mikrobiologické zkoušení. Praha: Český normalizační institut, 2006.
13. ČSN ISO 4832 Mikrobiologie. Všeobecné pokyny pro stanovení počtu koliformních bakterií. Technika počítání kolonií. Praha: Český normalizační institut, 1995.
14. ČSN ISO 7218 Mikrobiologie potravin a krmiv. Všeobecné pokyny pro mikrobiologické zkoušení. Praha: Český normalizační institut, 2007.
15. ČSN P ENV ISO 11133-1 Mikrobiologie potravin a krmiv. Všeobecné pokyny pro přípravu a výrobu kultivačních půd – Část 1: Všeobecné pokyny pro zabezpečování jakosti při přípravě kultivačních půd v laboratoři. Praha: Český normalizační institut, 2001.
16. Drdák, M., Studnický, J., Mórová, E., Karovičová, J.: Základy potravinářských technologií. Bratislava: Malé centrum, 1996, ISBN: 80-967064-1-1.
17. Görner, F., Valík, L.: Aplikovaná mikrobiologie potravin. Bratislava, 2004.

18. Ingr, I.: Máme jíst maso? [online]. 2009, [cit. 18. 4. 2009] Dostupné z:<
http://www.cszm.cz/clanek.asp?typ=1&id=1075>.
19. Ingr, I.: Máme se bát masných výrobků?. *Výživa a potraviny*, roč. 63, č. 3, s. 58-60.
20. Komprda, T.: *Obecná hygiena potravin*. Brno: MZLU v Brně, 2004.
21. Látová, J., Steinhauserová, I.: Mikrobiologie masa. In Steinhauser, L. a kol.: *Hygiena a technologie masa*. Brno: Last, 1995, ISBN:80-900260-4-4.
22. Leclerc, V., Dufour, B., Lombard, B., Gauchard, F., Barin-Bastuji, B., Salvat, G., Brisabois, A., Poumeyrol, M., DeBuyser, M-L., Gnanou-Besse, N., Lahellec, C.: Pathogens in meat and milk products: surveillance and impact on human health in France. *Livestock Production Science*. 2002, no. 76, s. 195-202.
23. MCDONALD, Karl, DA-WEN, Sun.: Predictive food microbiology for the meat industry. *International Journal of Food Microbiology*. 1999, no. 52, s. 1-27.
24. Nařízení Komise (ES) č. 2073/2005 ze dne 15. listopadu 2005 o mikrobiologických kritériích pro potraviny.
25. Pipek, P.: Maso a jeho složení. In Steinhauser, L. a kol.: *Hygiena a technologie masa*. Brno: Last, 1995, ISBN:80-900260-4-4.
26. Pipek, P.: *Technologie masa I*. Praha, 1995.
27. Pipek, P.: *Technologie masa II*. Kostelní Vydří: Karmelitánské nakladatelství, 1998.
28. Rozhodnutí Komise 2001/471/ES ze dne 8. června 2001, kterým se stanovují zásady pravidelných kontrol všeobecné hygieny, které provádějí provozovatelé zařízení v souladu se směrnicí 64/433/EHS o hygienických podmínkách výroby a uvádění čerstvého masa na trh a směrnice 71/118/EHS o hygienických problémech ohrožujících výrobu a uvádění čerstvého drůbežího masa na trh (oznámeno pod číslem K(2001) 1561).
29. Ruprich, J.: Spotřeba masa. In Steinhauser, L. a kol.: *Hygiena a technologie masa*. Brno: Last, 1995, ISBN:80-900260-4-4.
30. Shimi, E., Labuza, T.: Modeling pathogen growth in meat products: future challenges. *Trends in Food Science and Technology*. 2000, no. 11, s. 394-402.
31. Vyhláška č. 132/2004 Sb. Ministerstva zdravotnictví ČR o mikrobiologických požadavcích na potraviny, způsobu jejich kontroly a hodnocení.