

Změny mikrobiologických hodnot hotových jídel v průběhu skladování

Bc. Anna PÁTERKOVÁ

Diplomová práce
2010



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav biochemie a analýzy potravin

akademický rok: 2009/2010

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Anna PÁTERKOVÁ**
Osobní číslo: **T08812**
Studijní program: **N 2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin**

Téma práce: **Změny mikrobiologických hodnot hotových jídel
v průběhu skladování.**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Zpracovat literární rešerzi zaměřenou na mikrobiologii, výrobu hotových jídel a změny chemického složení v průběhu skladování.

II. Praktická část

1. Vypracovat cíle, kapitolu Materiál a metodický postup.
2. Na základě stanovených metodických postupů provést přípravu vzorků hotových jídel, provést jejich mikrobiologické vyšetření.
3. Získané výsledky vyhodnotit variačně statisticky a diskutovat s jinými autory.
4. Vypracovat závěry diplomové práce pro další využití v potravinářské praxi.

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování diplomové práce: tištěná/elektronická

Seznam odborné literatury:

[1] BLATTNÝ, C., PIPEK, P., INGR, I. Konzervářské suroviny. VŠCHT Praha, 1986, 216 s.

[2] INGR, I. Základy konzervace potravin, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, Brno, 2007, 119 s. ISBN 978-80-7375-110-14.

[3] TREMLOVÁ, B. Histologie potravin. Veterinární a farmaceutická univerzita, Brno, 1998, 60 s. ISBN 80-85114-22-4.

[4] DOSTÁLOVÁ, J. Co se děje s potravinami při přípravě pokrmů. Forsapi, Praha, 2008, 53 s. ISBN 978-80-903820-8-4.

[5] VLKOVÁ, E., TOMÁNKOVÁ, E., RADA, V., KILLER, J. Potravinářská mikrobiologie. Česká zemědělská univerzita v Praze, Praha, 2006, 168 s. ISBN 80-213-1583-0.

Vedoucí diplomové práce: prof. Ing. Stanislav Kráčmar, DrSc.
Ústav potravinářského inženýrství

Datum zadání diplomové práce: 4. ledna 2010

Termín odevzdání diplomové práce: 19. května 2010

Ve Zlíně dne 8. dubna 2010



doc. Ing. Petr Hlaváček, CSc.
děkan



prof. Ing. Ignác Hoza, CSc.
ředitel ústavu

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby ¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 ²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 12.5.2010

.....
Páterková Anna

¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevydělčně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

²⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacího zařízení (školní dílo).

³⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výtěžku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlédne k výši výtěžku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Cílem diplomové práce bylo sledovat změny mikrobiologických ukazatelů a sušiny u dvou sad hotových pasterovaných pokrmů, Svíčková na smetaně s houskovým knedlíkem a Vepřová játra s rýží, jež byly skladovány ve dvou provedeních, tj. v obalu nenarušeném a obalu proříznutém po dobu čtyř týdnů. Bylo zjištěno, že protržený obal ovlivňuje růst některých skupin mikroorganismů (zejména celkový počet mikroorganismů, psychrotrofní bakterie) a také má vliv na obsah sušiny, kdy může docházet buď k vysychání, nebo vlhnutí zkoumané suroviny.

Klíčová slova: hotový pokrm, technologický postup výroby hotových pokrmů, onemocnění z potravin, sušina, živná půda, Petriho miska, ředění, bakterie, odběr vzorku, očkování, kolonie.

ABSTRACT

The aim of this thesis was studying of changes in microbiological parameters and solids for the two sets of pasteurized ready meal - Sirloin in cream sauce with dumplings and Pork liver with rice. This meals were stored for four weeks in two types of packaging, it means in the unopened packaging and in the cutting container. It was found that the bursting of packaging affects the growth of certain groups of microorganisms (especially total count of microorganism, psychrophilic microorganism) and also affects the dry matter content which can occur either drying up or rising damp of examined material.

Keywords: ready meal, technological procedure of ready meal, illness from food, solids, breeding ground, Petri dish, dilution, bacteria, sampling, vaccination, colony.

V úvodu této diplomové práce bych velmi ráda poděkovala svému vedoucímu práce prof. Ing. Stanislavu Kráčmarovi DrSc. za cenné rady, odborné vedení a vstřícnost při vypracování této práce. Také bych chtěla poděkovat doc. RNDr. Leoně Buňkové Ph.D. za cenné rady a pomoc v otázkách týkajících se mikrobiologických stanovení. Mé díky patří i firmě Hamé a.s. za poskytnutá pasterovaná hotová jídla. V neposlední řadě děkuji svým rodičům a příteli, kteří mě podporovali po celou dobu mého studia a směřovali k cílevědomé práci, přátelům děkuji za jejich psychickou podporu.

Prohlašuji, že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

ÚVOD.....	10
I TEORETICKÁ ČÁST.....	11
1 LEGISLATIVNÍ POŽADAVKY NA VÝROBU POKRMŮ.....	12
1.1 POŽADAVKY NA POTRAVINÁŘSKÉ PROSTORY	12
1.1.1 Obecné požadavky na potravinářské prostory	12
1.1.2 Zvláštní požadavky na prostory pro přípravu, ošetření nebo zpracování potravin	13
1.2 POVINNOSTI PROVOZOVATELE POTRAVINÁŘSKÉHO PODNIKU.....	14
1.3 ZÁSADY PROVOZNÍ HYGIENY.....	15
1.4 ZÁSADY OSOBNÍ HYGIENY	16
1.5 ZDRAVOTNÍ NEZÁVADNOST A TEPELNÁ ÚPRAVA POKRMŮ	17
2 CHARAKTERISTIKA HOTOVÝCH POKRMŮ	18
2.1 SUROVINY A PŘÍSAKY POUŽÍVANÉ PŘI VÝROBĚ	18
2.1.1 Maso	19
2.1.2 Rýže.....	20
2.1.3 Brambory.....	20
2.1.4 Koření.....	21
2.1.5 Zelenina.....	21
2.2 DRUHY HOTOVÝCH POKRMŮ	22
2.2.1 Hotové hluboko mražené pokrmy	23
2.2.2 Chlazené pokrmy	24
2.2.3 Hotové pokrmy sterilované teplem	25
3 TECHNOLOGICKÝ POSTUP PŘI PŘÍPRAVĚ HOTOVÝCH POKRMŮ	27
3.1 PŘEDBĚŽNÁ ÚPRAVA	27
3.1.1 Předběžná úprava mechanická	27
3.1.2 Předběžná úprava biochemická.....	29
3.2 TEPELNÁ ÚPRAVA	29
3.2.1 Vaření	29
3.2.2 Dušení	30
3.2.3 Pečení	30
3.2.4 Smažení	31
3.3 DOHOTOVOVÁNÍ POKRMŮ	31
3.3.1 Zahušťování pokrmů	32
3.3.2 Dochucování pokrmů	32
3.3.3 Krájení a porcování	32

4	STERILACE A ZMĚNY NUTRIČNÍCH HODNOT	33
4.1	ZAŘÍZENÍ PRO STERILACI HOTOVÝCH POKRMŮ V OBALECH = AUTOKLÁV	33
4.2	VLIV STERILACE A PODMÍNEK SKLADOVÁNÍ NA ZMĚNY BÍLKOVIN	34
4.3	VLIV STERILACE A SKLADOVÁNÍ NA ZMĚNY TUKŮ	36
4.4	VLIV STERILACE NA ZMĚNY SACHARIDŮ A POLYSACHARIDŮ.....	37
5	ONEMOCNĚNÍ Z POKRMŮ A POTRAVIN DLE PŮVODCŮ	38
5.1	ONEMOCNĚNÍ BAKTERIÁLNÍHO PŮVODU	38
5.1.1	Salmonelóza	39
5.1.2	Kampylobakteriόza	40
5.1.3	Listeriόza.....	41
5.1.4	Shigelόza = Bacilární úplavice.....	42
5.1.5	Stafylokoková enterotoxikόza.....	43
5.1.6	Onemocnění způsobené <i>Bacillus cereus</i>	44
5.1.7	Botulizmus	45
5.2	PLÍSNĚ JAKO PŮVODCE ONEMOCNĚNÍ.....	46
5.2.1	Nejvýznamnější plísně v potravinářství	46
5.2.1.1	Rod <i>Aspergillus</i>	46
5.2.1.2	Rod <i>Penicillium</i>	47
5.2.1.3	Rod <i>Fusarium</i>	47
5.2.1.4	Rod <i>Cladosporium</i> a <i>Botrytis</i>	48
5.2.2	Toxiny produkované plísněmi (mykotoxiny).....	48
5.2.2.1	Aflatoxiny	48
5.2.2.2	Patulin	49
5.2.2.3	Ochratoxiny	49
5.2.2.4	Zearalenony	49
II	PRAKTICKÁ ČÁST	51
6	CÍLE PRÁCE	52
7	POUŽITÝ MATERIÁL A METODIKA PRÁCE	53
7.1	POUŽITÝ MATERIÁL.....	53
7.1.1	Svíčková na smetaně s houskovými knedlíky.....	53
7.1.2	Vepřová játra s rýží	54
7.2	POUŽITÉ ŽIVNÉ PŮDY, POMŮCKY A ZAŘÍZENÍ	54
7.2.1	Živné půdy	54
7.2.2	Pomůcky použité při experimentu	57
7.2.3	Zařízení použitá při rozborech	58
7.3	PŘÍPRAVA VZORKŮ K JEDNOTLIVÝM STANOVENÍM.....	60
7.3.1	Lyofilizace.....	61
7.3.2	Úprava vzorků pro mikrobiální analýzu	62
7.3.3	Hodnocení růstu bakterií na živných půdách v Petriho miskách	64

7.4	METODIKA JEDNOTLIVÝCH STANOVENÍ.....	65
7.4.1	Stanovení obsahu sušiny	65
7.4.2	Stanovení celkového počtu mikroorganismů	65
7.4.3	Stanovení počtu psychrotrofních mikroorganismů	66
7.4.4	Stanovení koliformních bakterií (enterobakterie)	67
7.4.5	Stanovení počtu enterokoků	68
7.4.6	Stanovení počtu kolonií stafylokoků	68
7.4.7	Stanovení kvasinek a plísní	69
7.4.8	Způsoby výpočtu počtu mikroorganismů.....	69
8	VÝSLEDKY A DISKUSE	71
8.1	STANOVENÍ SUŠINY	71
8.1.1	Svíčková na smetaně s houskovými knedlíky.....	71
8.1.1.1	Sušina u knedlíku.....	71
8.1.1.2	Sušina svíčkové omáčky s vepřovým masem.....	73
8.1.2	Vepřová játra s rýží	75
8.1.2.1	Sušina rýže	75
8.1.2.2	Vepřová játra s omáčkou	76
8.2	STANOVENÍ CELKOVÉHO POČTU MIKROORGANISMŮ	78
8.2.1	Svíčková na smetaně s houskovým knedlíkem.....	79
8.2.1.1	Stanovení CPM u houskového knedlíku.....	79
8.2.1.2	Stanovení CPM u svíčkové omáčky s vepřovým masem.....	81
8.2.2	Vepřová játra s rýží	83
8.2.2.1	Stanovení CPM u rýže	83
8.2.2.2	Vepřová játra s omáčkou	85
8.3	STANOVENÍ PSYCHROTROFNÍCH MIKROORGANISMŮ.....	87
8.3.1	Svíčková na smetaně s houskovým knedlíkem.....	88
8.3.1.1	Psychrotrofní mikroorganismy v houskovém knedlíku.....	88
8.3.1.2	Psychrotrofní mikroorganismy ve svíčkové omáčce a vepřovém mase.....	89
8.3.2	Vepřová játra s rýží	89
8.3.2.1	Psychrotrofní mikroorganismy v rýži	90
8.3.2.2	Psychrotrofní mikroorganismy ve vepřových játrech s omáčkou	90
8.4	STANOVENÍ KOLIFORMNÍCH BAKTERIÍ.....	91
8.4.1	Svíčková na smetaně s houskovým knedlíkem.....	91
8.4.1.1	Koliformní bakterie v houskovém knedlíku	92
	Obr 15. Narostené kolonie na VČŽL.....	92
8.4.1.2	Koliformní bakterie ve svíčkové omáčce s vepřovým masem	92
8.4.2	Vepřová játra s rýží	93
8.4.2.1	Koliformní bakterie v rýži	93
8.4.2.2	Koliformní bakterie ve vepřových játrech s omáčkou.....	94

8.5	STANOVENÍ ENTEROKOKŮ	95
8.5.1	Svíčková na smetaně s houskovým knedlíkem	95
8.5.2	Vepřová játra s rýží	96
8.6	STANOVENÍ STAFYLOKOKŮ	97
8.6.1	Svíčková na smetaně s houskovým knedlíkem	98
8.6.1.1	Stafylokoky v houskovém knedlíku	98
8.6.1.2	Stafylokoky ve svíčkové omáčce s vepřovým masem	98
8.6.2	Vepřová játra s rýží	99
8.6.2.1	Počty stafylokoků v rýži	99
8.6.2.2	Počty stafylokoků ve vepřových játrech s omáčkou.....	100
8.7	STANOVENÍ KVASINEK A PLÍSNÍ.....	100
8.7.1	Svíčková na smetaně s houskovým knedlíkem	101
8.7.2	Vepřová játra s rýží	102
ZÁVĚR		104
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY		106
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK		111
SEZNAM OBRÁZKŮ		112
SEZNAM TABULEK.....		113
SEZNAM PŘÍLOH.....		116

ÚVOD

Pasterované hotové pokrmy se v průmyslové výrobě připravují z potravin a dalších surovin kulinární úpravou. Hlavním účelem při jejich úpravě je zvýšení stravitelnosti potravin a využitelnosti živin, také žádoucím způsobem ovlivnit sensorické vlastnosti potravin, tj. zejména chuť, vůni, barvu, texturu. Původním účelem průmyslové výroby hotových pokrmů bylo zajistit přiměřeným způsobem stravování větších skupin osob v podmínkách, kdy není možné či výhodné připravovat čerstvé pokrmy v místě spotřeby.

V dnešní době je zdravotní nezávadnost hotových pokrmů jedním z hlavních problémů týkajících se potravinářské výroby. Zabezpečení zdravotní nezávadnosti pokrmů je stanoveno v mnoha zákonech a vyhláškách o potravinách, které byly vydané Parlamentem České republiky. Za bezpečné jsou považovány pokrmy, které neobsahují patogenní, podmíněně patogenní mikroorganismy, krom toho dále musí být bez výskytu cizorodých, zdraví škodlivých či toxických látek, včetně cizích těles. Pro dokonalé zabezpečení potravin před těmito škodlivými faktory je zapotřebí rozsáhlý systém preventivních opatření. Tato preventivní opatření musí mít svůj počátek již v prvovýrobě a dále probíhají přes samotnou výrobu a distribuční síť do obchodních domů či jiných zařízení, kde mohou být hotové pokrmy využívány, např. nemocnice až do domácností spotřebitele.

Hlavním cílem této diplomové práce bylo zjistit, zda má protržený obal pasterovaného hotového pokrmu vliv na mikrobiologické složení a sušinu v průběhu skladování v porovnání s hotovým pokrmem, jež byl skladován v obalu nepoškozeném. V teoretické části diplomové práce je pojednáváno o legislativě vztahující se na provozovatele potravinářských podniků, charakteristice a možném dělení hotových pokrmů včetně technologické přípravy, změnách hlavních živin v průběhu sterilace a možných onemocnění z potravin vyvolaných bakteriemi a plísněmi. Hlavním cílem praktické části bylo stanovení mikrobiologických ukazatelů a sušiny u dvou sad pasterovaných hotových výrobků – Svíčková na smetaně s houskovým knedlíkem a Vepřová játra s rýží. Tyto pokrmy byly skladovány po dobu 4 týdnů, jednak v obalu nenarušeném a také v obalu úmyslně proříznutém, stanovení byla prováděna po každém uplynulém týdnu skladování.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 LEGISLATIVNÍ POŽADAVKY NA VÝROBU POKRMŮ

Pro přípravu pokrmů je hygienickými předpisy stanovena celá řada limitujících opatření. K požadavkům výchozím, uplatňovaným již při výstavbě či rekonstrukci provozovny, patří členění vnitřních prostor - jejich dispoziční řešení, vzájemné oddělení a návaznosti z hlediska zajištění technologických postupů. Patří zde hlavně zásada, že prostory provozovny, které by na sebe navzájem negativně působily při opracování potravin a pokrmů, musí být odděleny. Způsob jejich oddělení může být proveden stavebně, nebo provozně [1].

1.1 Požadavky na potravinářské prostory

Příprava potravin pro konečné zpracování na pokrmy spočívá v hrubé a čisté přípravě, tedy v třídění, čištění, přebírání, krájení a mělnění jednotlivých surovin. Při hrubé přípravě se oddělují nepoživatelné části potravin a provádí se jejich čištění, hrubé dělení (zejména masa). Děje se tak v místnostech hrubé přípravy (brambor, zeleniny, masa, ryb, zvěřiny) [2].

1.1.1 Obecné požadavky na potravinářské prostory

Potravinářské prostory musí být udržovány v čistotě a v dobrém stavu.

Uspořádání, vnější úprava, konstrukce, poloha a velikost potravinářských prostor musí:

- umožňovat odpovídající údržbu, čištění nebo dezinfekci, vylučovat nebo minimalizovat kontaminaci z ovzduší a poskytovat dostatečný pracovní prostor pro hygienické provedení všech postupů,
- být takové, aby se zabránilo hromadění nečistot, styku s toxickými materiály, odlučování částic do potravin a vytváření kondenzátu nebo nežádoucích plísní na površích,
- umožňovat správnou hygienickou praxi, včetně ochrany před kontaminací a zejména regulace škůdců,
- poskytovat, je-li to nezbytné, odpovídající kapacity s vhodnými teplotními podmínkami pro manipulaci s potravinami a pro jejich skladování při vhodných teplotách a s možností monitorovat, a je-li to nezbytné, zaznamenávat jejich teplotu [3].

Potravinářské prostory musí mít náležité přírodní nebo umělé osvětlení.

K dispozici musí být dostatečný počet splachovacích záchodů připojených na účinný kanalizační systém a dostatečný počet umyvadel na mytí rukou, vhodně rozmístěných a označených. Umyvadla na mytí rukou musí být vybavena přívodem teplé a studené tekoucí vody, prostředky na mytí rukou a hygienické osušení. Jeli to nezbytné, musí být zařízení na mytí potravin odděleno od zařízení na mytí rukou [3].

1.1.2 Zvláštní požadavky na prostory pro přípravu, ošetření nebo zpracování potravin

Uspořádání a vnější úprava prostor pro přípravu, ošetření nebo zpracování potravin musí mezi technologickými postupy a během postupů umožňovat používání správné hygienické praxe, včetně ochrany před kontaminací [3].

Zejména musí být dodrženy tyto požadavky týkající se prostorů pro přípravu, ošetření nebo zpracování potravin:

- podlahové povrchy udržovány v bezvadném stavu a musí být snadno čistitelné, a je-li to nezbytné, snadno dezinfikovatelné, proto je nutné použití odolných, nenasákavých, omyvatelných a netoxických materiálů, popřípadě musí podlahy umožňovat vyhovující odvod vody z povrchu,
- povrchy stěn udržovány v bezvadném stavu a musí být snadno čistitelné, a je-li to nezbytné, snadno dezinfikovatelné, toto vyžaduje použití odolných, nenasákavých, omyvatelných a netoxických materiálů a hladký povrch až do výšky odpovídající pracovním operacím,
- stropy (nebo v provozech bez stropů vnitřní povrch střechy) a stropní instalace konstruovány a opatřeny takovou konečnou úpravou, aby se zabránilo hromadění nečistot a omezila kondenzace, růst nežádoucích plísní a odlučování částic,
- okna a jiné otvory konstruovány tak, aby se zabránilo hromadění nečistot. Okna a otvory, které jsou otevíratelné do vnějšího prostředí, musí být, je-li to nezbytné, vybaveny sítěmi proti hmyzu, které lze při čištění snadno vyjmout,
- dveře snadno čistitelné, a je-li to nezbytné, snadno dezinfikovatelné, to vyžaduje použití hladkých a nenasákavých povrchů,
- povrchy (včetně povrchů zařízení) v oblastech, kde se manipuluje s potravinami a zejména povrchy přicházející do styku s potravinami udržovány v bezvadném stavu a snadno čistitelné, a je-li to nezbytné, snadno dezinfikovatelné, toto vyžaduje použití hladkých, omyvatelných, korozivzdorných a netoxických materiálů [3].

1.2 Povinnosti provozovatele potravinářského podniku

Provozovatel potravinářského podniku je povinen:

- dodržovat smyslové, fyzikální, chemické a mikrobiologické požadavky na jakost potravin,
 - dodržovat ve všech fázích výroby a uvádění potravin do oběhu technologické a hygienické požadavky, způsob a podmínky přepravy, skladování a manipulace s potravinami,
 - dodržovat požadavky pro obsah, podmínky a způsob použití vitaminů, minerálních látek a dalších látek s nutričním nebo fyziologickým účinkem, dále látek přídatných, pomocných a látek určených k aromatizaci,
 - dodržovat požadavky pro druhy a přípustná množství kontaminujících látek, reziduí pesticidů, toxikologicky významných látek a látek vznikajících činnostmi mikroorganismů v potravinách a surovinách,
 - zajistit, aby v potravinách nebylo překročeno nejvyšší přípustné množství zbytků veterinárních léčiv a biologicky aktivních látek používaných v živočišné výrobě,
 - poskytnout potřebný počet zaměstnanců a odpovídající technické vybavení pro zajištění výkonu [4].

Primární odpovědnost za bezpečnost potravin nese provozovatel potravinářského podniku, přičemž je nezbytné zajistit bezpečnost potravin v celém potravinovém řetězci, musí zajistit, aby potraviny splňovaly příslušná mikrobiologická kritéria a byly dodrženy požadavky na kontrolu teploty, založené na vědeckém posouzení rizika. Tato opatření jsou důležitá zejména u potravin určených k přímé spotřebě, které podporují růst např. *Listeria monocytogenes* a mohou tak představovat riziko pro veřejné zdraví [3,5].

Pro zajištění bezpečnosti potravin musí provozovatelé potravinářských podniků ve všech fázích výroby, zpracování a distribuce potravin, včetně maloobchodu, v rámci svých postupů založených na zásadách HACCP spolu s uplatňováním správné hygienické praxe přijímat opatření k zajištění toho,

- aby suroviny a potraviny podléhající jejich kontrole byly dodávány, zpracovávány a bylo s nimi manipulováno tak, že se dodrží kritéria hygieny výrobního procesu,
- aby kritéria bezpečnosti potravin platná po celou dobu údržnosti produktů mohla být dodržena za rozumně předvídatelných podmínek distribuce, skladování a používání [5].

1.3 Zásady provozní hygieny

Kromě vlastní přípravy pokrmů jsou při jejich výrobě prováděny i další související činnosti, u kterých je třeba vyloučit možný nežádoucí vliv na celkové prostředí provozu [1].

Pro provozování stravovacích služeb, výrobu potravin a uvádění potravin do oběhu platí tyto zásady provozní hygieny:

- udržování sanitárních zařízení (šaten, umýváren, sprch, záchodů), pomocných zařízení (zařízení k umývání pracovní obuvi, sušení pracovních oděvů, místností pro odpočinek, prostory pro uskladnění úklidových prostředků) a jejich vybavení v čistotě a provozu schopném stavu, aby nedocházelo k ohrožování jakosti a zdravotní nezávadnosti potravin a pokrmů,
- skladování produktů potravin jen v samostatném, označeném chladícím a mrazícím zařízení umístěným mimo prostor výroby, přípravy, skladování, oběhu potravin,
- nepřechovávání předmětů nesouvisejících s výkonem pracovní činnosti v prostorách manipulace s potravinami a produkty,
- nepřipuštní vstupu nepovolaných osob do prostor manipulace s potravinami a produkty,
- odkládání osobních věcí, občanského oděvu a obuvi pouze v šatně nebo ve vyčleněném prostoru,
- pro úklid používání jen mycích prostředků, které jsou určeny pro potravinářství,
- úklid všech pracovišť a prostor se provádí průběžně za použití mycích, popřípadě dezinfekčních prostředků podle povahy technologického procesu a zpracovávaných potravin a návodu výrobce,
- nekouření v prostorách manipulace s potravinami a produkty,
- preventivně je nutno působit k zamezení výskytu hmyzu a hlodavců, průběžně musí být prováděna běžná ochranná dezinfekce, dezinfekce a deratizace,
- skladování čisticích prostředků a přípravků pro provádění běžné ochranné dezinfekce, dezinfekce a deratizace v originálních obalech mimo prostory manipulace s potravinami a produkty,
- nepoužívání nádob a obalů určených pro potraviny k úschově čisticích přípravků a přípravků pro provádění běžné ochranné dezinfekce, dezinfekce a deratizace,
- průběžné doplňování a dodržování znalostí nutných k ochraně veřejného zdraví [1,6,7].

1.4 Zásady osobní hygieny

Pro všechny osoby, které přicházejí ve výrobním zařízení do kontaktu s potravinami a produkty platí určité zásady osobní hygieny:

- pečování o tělesnou čistotu před započítím vlastní práce, při přechodu z nečisté práce na čistou, po použití záchodu, po manipulaci s odpady a při každém znečištění je nutno si umýt ruce v teplé vodě s použitím vhodného mycího (případně dezinfekčního) prostředku v umyvadle určeném pro mytí rukou personálu, používání k osoušení rukou vysoušeče či ručníky pro jednorázové použití,
- nošení čistých ochranných prostředků odpovídající charakteru činnosti, zejména pracovní oděv, pracovní obuv a pokrývku hlavy při výrobě potravin a pokrmů. Pracovní oděv musí být udržován v čistotě a podle potřeby měněn v průběhu směny. Při pracovní činnosti vyžadující vysoký stupeň čistoty nebo při vyšším riziku kontaminace (např. komplementace zchlazených a zmrazených pokrmů, příprava kojenecké stravy) musí být používány jednorázové ochranné rukavice a ústní rouška,
- nelze opouštět provozovnu v průběhu pracovní doby v pracovním oděvu a pracovní obuvi,
- je nutno zdržet se jakéhokoli nehygienického chování na pracovišti (např. konzumace jídla, kouření, úprava vlasů a nehtů);
- zajištění péče o ruce, nehty na rukou ostříhané na krátko, čisté, bez lakování, na ruku nenosit ozdobné předměty,
- použitý pracovní oděv, jakož i občanský oděv je nutno odkládat na místo tomu vyčleněné; pracovní oděv a občanský oděv se ukládají odděleně [1,6,7].

Žádná osoba, která trpí chorobou, nebo je přenašečem choroby, která může být přenášena potravinami, nebo je postižena např. infikovanými poraněními, kožními infekcemi, vředy nebo průjmy, obecně nesmí manipulovat s potravinami nebo vstupovat do jakékoli oblasti, kde se manipuluje s potravinami, pokud existuje jakákoli možnost přímé nebo nepřímé kontaminace. Takto postižená osoba, která je zaměstnaná v potravinářském podniku a může přijít do styku s potravinou, musí neprodleně ohlásit onemocnění nebo jeho příznaky, a je-li to možné jejich příčinu provozovateli potravinářského podniku [4].

1.5 Zdravotní nezávadnost a tepelná úprava pokrmů

Tepelné zpracování pokrmů musí zabezpečovat, aby dokončené pokrmy a jejich jednotlivé části byly nejen chutné, ale aby v jejich jednotlivých částech byly přítomné mikroby zničeny, případně jejich počet zredukován. Pokrmy a jejich součástí však musí být soustavně chráněny před novým mikrobiálním znečištěním, především křížovou kontaminací – stykem s tepelně neopracovanou nebo znečištěnou potravinou, znečištěním z pracovní plochy, nástroje nebo z rukou pracovníků [2].

Potraviny je nutné tepelně upravovat po dobu zabezpečující zdravotní nezávadnost pokrmů a zachovávající jejich co nejvyšší nutriční hodnotu. Přísady přidávané do pokrmů za účelem ochucení, zahuštění nebo jiné úpravy (např. koření, mouka) v poslední fázi výroby musí být dostatečně tepelně opracovány [7].

Pro bezpečnou přípravu a výrobu pokrmů musí být ve všech jeho částech dosaženo tepelného účinku odpovídajícího působení nejméně +75 °C po dobu nejméně 5 minut. Pokud charakter pokrmu vyžaduje při přípravě teplotu nižší, tzn. pod 70 °C, musí doba působení zajistit nezávadnost pokrmu [1,7].

Pokrmy musí být zdravotně nezávadné, vyhovovat mikrobiologickým, chemickým požadavkům a musí mít smyslové vlastnosti (barvu, vůni, chuť, konzistenci) odpovídající charakteru pokrmu. Pokrmy, v nichž jsou překročeny nejvyšší mezní hodnoty mikrobiologické kontaminace, přípustné, speciální nebo nejvyšší přípustné množství chemických látek, jakož i pokrmy, které nespĺňují požadavky na smyslové vlastnosti pokrmu či výživové požadavky, nelze uvádět do oběhu [7,54].

Kontaminace provozu cizími mikroorganismy vede nejen ke snížení výtěžků výroby, ale i ke vzniku nekvalitního produktu, dále kontaminace způsobuje většinou také potíže při izolaci a přečišťování konečného produktu. Kromě toho mohou kontaminanty produkovat antimikrobiální nebo toxické látky a dokonce mohou být i patogenní [54].

2 CHARAKTERISTIKA HOTOVÝCH POKRMŮ

Hotový pokrm je potravina upravená určitým způsobem k požívání (hovězí polévka, vepřový guláš, hovězí maso vařené, dušená rýže). Původním smyslem průmyslové výroby hotových pokrmů bylo zajistit přiměřeným způsobem stravování větších skupin osob v podmínkách, kdy není možné nebo výhodné připravovat čerstvou stravu v místě spotřeby. Takovými situacemi bylo např. zásobování armád, později i stravování na cestách, při individuální rekreaci, zajišťování hmotných rezerv, nověji stravování v nemocnicích a na prostorově nebo časově odloučených pracovištích. Průmyslová výroba hotových pokrmů patří mezi obory, které prodělaly v uplynulých padesáti letech poměrně bouřlivý vývoj a které později u nás významně zasáhly transformace ekonomického systému [8,52].

V dnešní době, kdy je společnost stále více pracovně vytížená a má tak stále méně času na přípravu poledních či večerních pokrmů, se na trhu stále více objevují různé druhy chlazených nebo mrazených hotových produktů. K jejich regeneraci postačí nejčastěji jen mikrovlnná trouba nebo vodní lázeň, tímto se zkracuje doba potřebná k ohřevu pokrmu. Společnost tak ušetří čas potřebný na přípravu oběda či večeře [9].

Pokrm vykazující smyslové změny, zejména změnu barvy, chutě, nebo pach, svědčící pro mikrobiologické kažení nebo po chemických látkách se hodnotí jako zdravotně závadné a nelze je uvádět do oběhu. Pokrm vykazující vady smyslových vlastností, např. přepálení, nedopečení, přesolení a pokrm se zjištěnou nevhodnou záměnou nebo nevhodným použitím potraviny z hlediska dietních, fyziologických a specifických požadavků spotřebitelů se rovněž hodnotí jako zdravotně závadné a nelze je uvádět do oběhu [7].

Při uvádění do oběhu, přepravě a rozvozu musí být pokrm chráněn před mikrobiální kontaminací, znečištěním nebo jiným narušením zdravotní nezávadnosti [7].

2.1 Suroviny a přísady používané při výrobě

Při výrobě sterilovaných a pasterovaných hotových pokrmů je hlavním cílem dát spotřebiteli jakostní a plnohodnotné pokrm. Proto je třeba volit k výrobě suroviny nejvyšší jakosti se zřetelem na požadavky konzervářské technologie. Velká pozornost se musí věnovat také přísadám a pomocným látkám, protože použití nevhodného a mikrobiálně zamořeného koření vede k podstatnému zhoršení jakosti hotového výrobku. Vybírají se proto potraviny s nízkou četností mikroorganismů [10].

Základními surovinami k výrobě hotových pokrmů jsou především hovězí a vepřové maso. Přílohou bývají zpravidla brambory, rýže, knedlíky. Jako další suroviny se používají sterilovaná nebo mražená zelenina, koření a další přípravky zlepšující chuť a vůni [10].

2.1.1 Maso

Maso je hlavní surovinou pro výrobu sterilovaných hotových pokrmů. Jeho obsah v hotových pokrmech činí přibližně 27 %. Pod pojmem maso rozumíme požitelné součásti jatečných zvířat, především však kosterní svalovinu. Maso použité pro přípravu hotových pokrmů je získáváno s ohledem na dlouhou dobu údržnosti pouze z jatečně opracovaných kusů ve výborném zdravotním stavu a při veterinární prohlídce musí být uznáno za požitelné bez omezení. Požitelné maso je označené úředním kruhovým razítkem veterinární kontroly (průměr razítka je 30 mm) na předepsaných místech a rozdělených částech opracovaných těl jatečných zvířat. Preferuje se maso středního stáří a středního výkrmu. Příliš mladé maso obsahuje více vody a je méně chutné, po sterilaci je pak příliš měkké a rozpadává se. Naopak maso příliš staré je tvrdší, suché a svojí chutí neodpovídá sensorickým požadavkům. Obecně se pro výrobu hotových pokrmů používá maso vychlazené na předepsanou vnitřní teplotu, zbavené krevních sraženin, kostní tříště a třásní. U gulášových výrobků se používá zejména maso prorostlé, protože příprava jen z libového masa vede k suché konzistenci [2,11,12,13,23,57].

Chemické složení masa závisí na druhu a kosterním původu masa, dále na plemenu, pohlaví, věku, způsobu výživy, ustájení a jatečné kondici zvířete. Podstatnou část svalové tkáně představuje voda a bílkoviny. Proměnlivý bývá podíl tuku a malou část představuje velmi početná skupina nebílkovinných látek (vitaminy, minerální a extraktivní látky) [9,14].

Hovězí maso obsahuje v průměru 20,7 % bílkovin a maso vepřové 14,5 %. Z pohledu aminokyselinového složení jsou myofibrilární bílkoviny masa považovány za téměř plnohodnotné, neboť některé esenciální aminokyseliny jsou zde mírně nedostatkové. Bílkoviny pojivových tkání jsou označovány za neplnohodnotné, protože neobsahují některé esenciální aminokyseliny (sírné aminokyseliny či tryptofan) [10,15].

Kromě vody a proteinů maso běžně obsahuje asi 1,5 % tuku, asi 1 % minerálních látek a malé množství cukrů. Obsah glykogenu ve svalové tkáni bývá 1-2 % a *post mortem* se jeho obsah mění na 0,02-1 % [15].

2.1.2 Rýže

V naší legislativě se rýží rozumí zrna získaná z kulturní rostliny rýže seté (*Oryza sativa L.*) a jejich odrůd. Dále platí, že skupiny rýže se nesmí vzájemně mísit, ale povoluje se přítomnost až 10 % jiné rýže. Nejčastěji se používá rýže dlouhozrná, která se nerozváří a zrna se nelepí, vzhledem k tomu, že po uvaření váží menší obsah vody než je tomu třeba u rýže kulaté [16,17].

Rýže je velmi dobře stravitelná a kaloricky bohatá potravina. Energetická hodnota rýže je vysoká. 100 g představuje 1482 kJ (354 kcal). Ve 100g porce rýže se nachází zhruba 12 g vody, 6,7 až 7,5 g bílkovin, 0,4 až 1,9 g tuků, 77,4 až 80,4 g sacharidů, 0,3 až 0,9 g vlákniny a 0,5 až 1,2 g popelovin [16].

Rýže se vyznačuje vysokým obsahem polysacharidů především škrobu (70,4 %). Mezi základní proteiny patří albuminy, globuliny, oryzin a oryzenin, jejichž obsah se pohybuje kolem 7,4 %. Lipidy jsou zastoupeny asi ve 2,4 % a obsah minerálních látek je 1,2 % [17].

2.1.3 Brambory

Brambory (*Solanum tuberosum*) slouží k přímému konzumu, jsou rovněž významnou potravinou, krmnou surovinou, průmyslovým způsobem se z nich získává škrob a líh. V poslední době se však stále více stávají významnější surovinou pro průmyslovou výrobu různých pokrmů. V lidské výživě mají brambory význam především jako zdroj energie, kterou dodává škrob a vitamin C, plní tak funkci sytící (sacharidická složka) a ochrannou (obsah vitaminů a minerálů). Brambory by měly být jednotné odrůdy, velikostně vyrovnané, nepoškozené, s plně vyzrálými hlízkami s mělkými očky. Hlízky by neměly být zelené nebo napadené chorobami. K výrobě hotových pokrmů se používá varný typ A, který je pro svoji pevnou a nerozvářivou konzistenci vhodný k přípravě příloh Chemické složení bramborové hlízky je velmi různorodé. Mezi základní látky bramborové hlízky patří voda, škrob, cukry, dusíkaté látky, vláknina, tuk a minerální látky [2,19,20,21,56].

Voda je v bramborové hlízce zastoupena v 75–80 %. Sušina představuje v průměru 24 % a je tvořena ze 70 % škrobem 9,5 % zaujímají dusíkaté látky, 1 % tuk, 3 % cukr, 2,5 % organické kyseliny, 11 % připadá na balastní látky a 0,5 % tvoří zbytek (vitaminy a podobně). Z vitaminů brambory obsahují kyselinu askorbovou v průměru kolem 20–30mg/100g. Dalšími vitaminy obsaženými v bramborách jsou thiamin, riboflavin, niacin, pyridoxin, kyselina listová a kyselina pantotenová. Tepelnou úpravou obsah vitaminů

klesá, což lze částečně eliminovat vhodnou přípravou (např. vaření v páře, dušení v malém množství vody apod.) [19,22,56].

2.1.4 Koření

Podle vyhlášky č. 331/1997 Sb. se kořením rozumí části rostlin jako kořeny, oddenky, kůra, listy, nať, květy, semena nebo jejich části, v nezbytné míře technologicky zpracované a užívané k ovlivňování chutě a vůně potravin, u mletých koření se připouští přídavek protispékavých látek nejvýše do 1% hmotnosti [22].

Koření patří mezi základní přísady používané k výrobě sterilovaných hotových pokrmů. Jedná se o různé části rostlin, sušené nebo jinak upravené, výrazné chuti a vůně, které se přidávají k pokrmům pro zvýraznění jejich chuti a vůně, někdy i barvy. Specifická chuť a vůně je dána obsahem různých alkaloidů, glykosidů, silic, tříslovin, hořčin, organických kyselin a dalších látek, které jsou obsaženy v takových množstvích, že na úpravu sensorických vlastností pokrmu stačí obvykle nepatrné množství koření. Koření nemá výživovou hodnotu. Jeho význam spočívá v povzbuzování chuťových a čichových smyslů, vzbuzuje chuť k jídlu, podporuje vylučování trávicích šťáv v zažívacím ústrojí, což umožňuje lepší využívání a vstřebávání živin, lepší stravitelnost pokrmů a zrychluje oddělování a vylučování odpadních látek. Koření se může přidávat prakticky do všech pokrmů, může prodloužit trvanlivost výrobku a je cenné i pro svůj antioxidační účinek, který je dán především obsahem flavonoidů. Většina druhů koření se k nám dováží, některé druhy (např. kmín, paprika, majoránka, libeček) se pěstují také u nás [2,20,22,23].

2.1.5 Zelenina

Velmi vhodnou surovinou pro výrobu hotových pokrmů je také zelenina, která je důležitou součástí potravy, protože je zdrojem vitaminů a minerálních látek. Zeleninou se rozumí jedlé části, zejména kořeny, bulvy, listy, nať, květenství a plody jednoletých nebo víceletých rostlin, které se používají v podobě čerstvé (syrové) nebo upravené k lidské spotřebě (sterilované a mražené). Při správné kombinaci a dávkování zvyšuje sensorickou hodnotu sterilovaných hotových pokrmů [2,20,56].

Z hlediska výživového je zelenina cennou potravinou a její energetická hodnota je nízká. Hlavní složkou zeleniny je voda, ve které jsou rozpuštěny organické a anorganické látky ve fyziologicky přijatelné formě, její podíl se pohybuje od 70–95 % v závislosti na druhu, odrůdě, stáří a vegetačních podmínkách. Obsah bílkovin v zelenině je 0,5–5%,

obsah tuků je poměrně zanedbatelný, řádově do 1 %. Největší energetický význam mají v zelenině sacharidy (škrob, celulóza, lignin, apod.), jejich průměrný obsah je 7 %. Jednoduché cukry, glukóza, fruktóza jsou obsaženy téměř ve všech druzích zeleniny. Zelenina je zdrojem především vitaminů (vitamin C, β -karoten, B₁) a minerálních látek (Fe, Ca, P, K), a proto účelně může doplňovat v hotových pokrmech řadu nutričně významných složek, které v jiných surovinách chybí. Důležitý je také obsah vlákniny 0,5–2 %, kterou lze podle vyhlášky č. 450/2004 Sb. definovat jako rostlinné a živočišné složky potravin nehydrolyzovatelné endogenními enzymy trávicího traktu [2,19,20,21,22].

2.2 Druhy hotových pokrmů

Průmyslová výroba pokrmů a redukce jejich finální úpravy před spotřebou, včetně zavedení plně funkčních, jednorázových, snadno zneškodnitelných obalů, které při zachování určitých estetických požadavků mohou sloužit přímo jako jídelní nádoby, jsou vyvrcholením snah po racionalizaci individuálního, ale i určitých forem hromadného stravování. Tento současný světový trend rostoucí oblíbenosti hotových vícesložkových jídel je reprezentován především USA a západními státy, vychází zde sice z poněkud odlišných stravovacích zvyklostí a společenských poměrů, ale má jistě globální perspektivu [25,30].

Hotové pokrmy nebo jejich jednotlivé složky jsou v okamžiku ukládání do misky již natolik dokončeny, že jsou schopny okamžitého podávání. Balení do plastické misky slouží k předložení pokrmu nebo porce o žádané velikosti spotřebiteli, k umožnění dopravy a zvláště pak k tomu, aby bylo možno po dodatečném ošetření skladovat pokrm po delší dobu. Pokrmy, jako např. maso s omáčkou nebo polévky jsou tedy v okamžiku balení zcela tepelně zpracovány a po uzavření se jen dalším ošetřením, pasterací, sterilací nebo zmrazením, dosáhne jejich trvanlivosti [31].

Díky širokému sortimentu velikostí misek je umožněna výroba nejrůznějších velikostí balení. Existují jednodílné, dvoudílné a třídílné misky s obsahem jedné porce. Na obvykle dvou komponentní obaly, tvořené středně hlubokými miskami i více dílnými obaly vyrobenými ze zušlechtěných kartonů, z plastů či hliníku, uzavřenými potištěnými přřezy rovněž z obdobných materiálů, se klade řada zásadních požadavků. Obaly musí především vykazovat dokonale bariérově vlastnosti vůči působení chemicko-fyzikálních faktorů (vodní páry, teploty, plynů, aromatických látek a světla), ale musí i umožnit ochranu proti působení mikroorganismů vhodnou metodou konzervace a optimálními podmínkami skladování a prodeje finálních výrobků [4,30,52].

Misky jsou z hlediska potravinářských předpisů nezávadné, odolné vůči řezu i lomu a je možno je snadno uzavírat nastavením vhodné fólie. Misky jsou ve svém čistém provedení poněkud průhledné. Lze je však vyrábět i v nejrůznějších barvách. Nejčastěji se však používá nebarevných přírodních misek a misek v bílém provedení. Plastické misky se pevně a spolehlivě uzavírají nastavením speciální fólie. Tavný uzávěr se provádí teplotou 160–200 °C podle velikosti misky během 0,8–3,0 sekund [31,53].

Podle způsobu úpravy a skladování je možno hotová jídla používaná pro individuální konzumaci nebo hromadné stravování zařadit do 3 hlavních skupin, tj. hluboko mrazené potraviny, chlazené potraviny a sterilizované potraviny [30].

2.2.1 Hotové hluboko mrazené pokrmy

Potraviny lze ochránit před mikroorganismy zmrazením pod -18 °C, kdežto činnost enzymů běžných potravin se podstatně omezí až při teplotě -30 °C a nižší. Při této teplotě (-18 °C) většinou však nemusí dojít k usmrcení mikroorganismů, dochází pouze k zastavení jejich růstu a množení. Pokud se pak mikroorganismy dostanou do vhodných teplot, začnou růst a množit se. Při výrobě hotových mrazených pokrmů je nutné dodržet všechny hygienické požadavky. Pokrmy jsou připraveny k přímé konzumaci, strážník si je však musí ohřát v horké vodě. Počet mikrobů nemá přesahovat před výdejním ohřevem 10⁴/g. Dobrým indikátorem mikrobiální jakosti u těchto výrobků je *Staphylococcus aureus* [25,26,30,55].

Mrazírenské skladování zmrazených potravin je pokračováním vlastního zmrazování. Hlavním požadavkem je důsledné udržování řetězce mrazírenských teplot. V podstatě by měly být při mrazírenském skladování uplatněny stejné teploty, při nichž byly pokrmy zmrazeny. Nelze připustit pokles teploty skladovaného zboží, již pokles o 3 °C je krajně nežádoucí, může aktivovat enzymy a příslušné změny potravin. Distribuce zmrazených potravin musí zabezpečit optimální podmínky zmrazených pokrmů až do okamžiku jejich předání spotřebiteli, který by měl obdobné podmínky zabezpečit až do doby přímé spotřeby zmrazených pokrmů [25,52].

Kritickými složkami hotových mrazených pokrmů jsou brambory a knedlíky, které jsou občas značně kontaminovány. Salmonely ani shigely nebývají zaznamenány, stejně tak *Clostridium perfringens*, které je jinak častým kontaminantem masitých polévek a omáček. Mykotoxiny se rovněž nesmí vyskytovat [27,55].

U tohoto typu konzervace se kladou nejnižší nároky na obal, prakticky pouze na zábranu vysychání produktů při mrazírenském skladování, čemuž vyhovují i různé zušlechtnuté kartony a prakticky všechny běžné typy potravinářských plastů [27].

2.2.2 Chlazené pokrmy

Chlazené pokrmy jsou hotové pokrmy připravené běžnými kulinářskými postupy, které se ihned po přípravě zchladí na teplotu +4 °C. Konzumují se po zahřátí. Poklesem teploty dojde k zastavení růstu mezofilních mikrobů (např. koliformních), pokud růst pokračuje, pak se generační doby značně prodlužují. Mezofilní mikroorganismy se tak stávají nevýznamnou mikroflórou a dominantní složkou jsou zde psychrofilní a psychrotrofní druhy, hlavně zástupci rodů *Pseudomonas*, *Leuconostoc*, *Aeromonas*, *Acinetobacter*, *Clostridium*, *Yersinia* a další [24].

Nízké teploty působí na jednotlivé druhy mikroorganismů a na různé enzymy rozdílně. Pokud teplota potravin neklesla pod bod mrazu, dochází jen ke zvolnění rozkladných procesů, nemnoží se prakticky jen termofilní a mezofilní mikroorganismy. Výsledkem je, že za těchto teplot dochází k pomalému kažení potravin, které se může projevit málo zřetelným pachem a mírně změněnou chutí (zatuchlá, atypická, cizorodá). Změny se začínají projevovat asi po pěti dnech skladování. V té době již bývají počty psychrotrofních mikroorganismů značně vysoké. Např. *Clostridium botulinum*, *Escherichia coli* a *Proteus vulgaris* se přestávají množit při teplotě +2 °C. Růst patogenních mikroorganismů je nízkými teplotami rovněž citelně inhibován. Salmonely rostou obvykle od 10 °C, *Clostridium perfringens* roste dobře až od 12 °C. Psychrofilní mikroorganismy vegetují ještě při teplotě 0 °C, byť pomaleji. Nejzávažnějším z nich je patogenní *Listeria monocytogenes*, dále bakterie rodu *Pseudomonas* a *Micrococcus*, z kvasinek rod *Candida* a z plísní rody *Penicillium*, *Cladosporium* a *Mucor*. Pro chlazené hotové pokrmy je maximální povolená doba skladování pět dní při teplotě nejvýše + 4 °C [24,25,52].

Doba uchovatelnosti neúdržných potravin se neustále prodlužuje a např. obchodní řetězce ve světě i u nás požadují od výrobců stále větší uchovatelnost neúdržných potravin pro chladírenské teploty. Dosahuje se toho různými zásahy, např. zvýšením teploty nebo prodloužením doby pasterace potravin, vakuovým balením potravin nebo balením v ochranné atmosféře, okyselováním potravin, ale i zvýšenými nároky na vstupní

mikrobiologickou čistotu potravinových surovin a zvýšením hygienické úrovně ve výrobě potravin (systém HACCP) [25,53,55].

Podle způsobu prodloužení trvanlivosti je možno dále rozlišovat:

- **Hotové pokrmy bez dodatečného tepelného ošetření**, tzv. „chilled foods“, pouze balené se zvýšenými hygienickými nároky a s krátkým cyklem procesu jejich zchlazení (v tzv. kryogenní spirále) a skladování při optimální teplotě 0–2 °C, s trvanlivostí 2–3 dny.

- **Hotové pokrmy s dodatečným tepelným ošetřením**, tzv. pasterizací nad 60°C a se stejnými zchlazovacími a skladovacími podmínkami. Tento systém balení hotových jídel se v současné době značně rozvíjí právě pro nižší energetické nároky na technologii tepelné úpravy a skladování. Při dodržení všech hygienických podmínek a teplot při výrobě dosahuje trvanlivost takto balených pokrmů 10–28 dní [30].

U vakuovaných potravin nebo u balení s ochrannou atmosférou jsou požadavky na obaly podstatně vyšší než v případě hluboko mražených potravin a musí vykazovat nejen dokonalou nepropustnost pro vlhkost, ale také nepropustnost pro plyny a aromatické látky [30].

2.2.3 Hotové pokrmy sterilované teplem

Při sterilizaci hotových pokrmů se jejich trvanlivosti dosahuje prvořadně účinkem různě intenzivního tepelného působení, to se uplatňuje především u konzerv a polokonzerv [30].

Potřebné zahřátí sterilované potraviny urychluje nejen žádoucí koagulační reakce, ale i nežádoucí nemikrobní a neenzymové procesy (autooxidace lipidů, Maillardovy reakce neenzymového hnědnutí), které v nezahřátých potravinách probíhají jen velice zvolna. Konzervy jsou baleny tak, aby nemohlo dojít k sekundárnímu pronikání mikroorganismů do sterilní poživatiny [25,26].

Přestoupí-li teplota zahřívání potraviny teplotní maximum mikroflóry, která zde může žít, i teplotní maximum přítomných enzymů, přestávají mikroorganismy nejprve prospívat, při dalším vzestupu teploty a při prodlužovaném záhřevu postupně hynou. Nejprve hynou jejich vegetativní stádia a posléze i spóry. Jestliže jsme dosáhli zahříváním určité potraviny trvalé inaktivace všech forem, které zde mohou vegetovat, považujeme pokrm za sterilovaný. Zabráníme-li dekontaminaci sterilovaného pokrmu, pak se nemůže kazit a je trvale skladovatelný [25].

U těchto výrobků nemá význam vodní aktivita ani obsah živin. Dominantní je pH, které svou hranicí 4 dělí konzervy na kyselé a na málo kyselé. V kyselých konzervách nemá *Clostridium botulinum* podmínky pro rozvoj, zatímco v málo kyselých tato možnost je. Charakteristickým znakem pro konzervy je tzv. komerční sterilita tzn., mohou být přítomny pouze ojedinělé spory aerobních mikroorganismů, které nemají možnost vyklíčit ani se pomnožovat. Suroviny používané pro výrobu konzerv musí být kvalitní a musí mít vyhovující mikrobiální jakost. Tepelná rezistence mikroorganismů je značně variabilní. Inaktivace při dané teplotě probíhá logaritmičtě, a to tím rychleji, čím je teplota vyšší. Vyšší počty mikrobů v polotovaru vyžadují delší dobu nebo vyšší teplotu záhřevu [27,28].

Pokud se nejedná o metalickou bázi jako u konvekčních konzerv, jsou plasty použité na výrobu misek obvykle vícevrstevné. Tyto primární plastové obaly se alternativně vkládají do atraktivně potištěných skládaček nebo přebalů [27].

Častým projevem zkažení konzervy je bombáž, způsobovaná převážně činností sporulujících anaerobů produkujících plyn, jako jsou *Clostridium perfringens*, *Cl. sporogenes*, *Cl. putrefaciens*, *Cl. bifermentans*, *Cl. butyricum* a *Cl. pasteurianum*. Ty se pomnožují v málo kyselých konzervách, hlavně masitých. Z fakultativně anaerobních se na kažení mohou podílet *Bacillus cereus*, *B. subtilis*, *B. circulans* a další. Bombáže, vyvolávané činností nesporulujících mikrobů, např. koliformními mikroby nebo kvasinkami jsou ojedinělé a dokazují, že konzerva nebyla řádně uzavřena [29].

Kvalita polotovarů před plněním do plechovek nebo do skla a dodržování zásad správné sterilace jsou dva hlavní kritické body konzervářské výroby [27].

3 TECHNOLOGICKÝ POSTUP PŘI PŘÍPRAVĚ HOTOVÝCH POKRMŮ

Při kulinární úpravě potravin připravujeme z potravin pokrmy. Jejím účelem je zvýšit stravitelnost potravin a využitelnost živin a žádoucím způsobem ovlivnit sensorické vlastnosti potravin, tj. chuť, vůni, barvu, texturu (tvrdost, křehkost, hustotu, jemnost apod.) i celkový vzhled. Úprava musí zajistit zdravotní nezávadnost pokrmů, měla by také snížit obsah znečišťujících i přirozeně toxických látek na minimum při minimálních ztrátách živin a ochranných látek [32].

Vlastní výroba sterilovaných hotových pokrmů se skládá ze dvou základních fází, a to předběžné přípravy a konečného zpracování. Předběžná příprava zahrnuje úpravu a tepelné opracování masa, přípravu příloh a omáček. Konečné zpracování zahrnuje plnění a uzavírání konzerv, sterilaci a ošetření konzerv po sterilaci [18].

3.1 Předběžná úprava

Vlastní předběžné úpravě předcházejí přípravné práce, které zahrnují nákup potravin, výdej potravin ze skladu, přípravu potřebných dávek (vážení potravin, odměrování tekutin aj.) [2].

Předběžná úprava potravin zahrnuje řadu operací, kterými se odstraňují všechny, nebo alespoň většina pro výživu nevhodných nebo nežádoucích složek potravin. Dosahuje se tak lepší stravitelnosti a využitelnosti živin, zvýšení hygienické a sensorické jakosti potravin, zlepšení celkového vzhledu potraviny při maximálním zachování výživové hodnoty. Je třeba si uvědomit, že je správnější tolerovat případné hmotné ztráty než vystavovat strávnický nebezpečí onemocnění, jak akutního, tak chronického, nebo znehodnocení pokrmů z hlediska sensorického, tj. především chuti. Na to je třeba upozornit zejména v případě, když jsou potraviny nějakým způsobem zkaženy. V tom případě nestačí pouze odstranit např. shnilou část, ale je nutné vyhodit celou potravinu, protože škodlivé látky, které se při kažení potraviny tvoří, přecházejí i do nenapadených částí potraviny [2,32].

3.1.1 Předběžná úprava mechanická

Při mechanické úpravě se odstraňují z potravin látky zdravotně závadné nebo k jídlu nevhodné, např. písek, hlína, hmyz, zbytky pesticidů, herbicidů a dalších kontaminantů, látky chuťově nepříjemné, toxické a antinutriční, části napadené chorobami nebo škůdci,

části nevzhledné a nestravitelné. Čištění se provádí omýváním v nezávadné pitné vodě, oškrabáváním, okrojováním, vykrajováním, loupáním. Přebírání a prosévání slouží k odstranění nežádoucích příměsí. Čištění provádíme podle druhu potravin a stupně znečištění [2,32].

Zeleninu zbavujeme kořínků, některých tvrdých nestravitelných částí a vrchních povadlých listů, některé druhy se můžou lehce oloupat nebo oškrábat. Před nakrájením se zelenina omývá, aby se snížily ztráty vitaminů, minerálních i chuťových látek vyluhováním. Dále je nutno odstranit místa nahnílá, především u kořenové zeleniny (celer, petržel), protože se v nich vytvořily přírodní toxické látky (furanokumariny, psoraleny), které působí jako silné alergeny a fotokarcinogeny. U brambor se odstraňují místa zelená a v jarních měsících okolí klíčících oček, kde se kumuluje přírodní toxická látka solanin [32,35].

Rýže se několikrát propláchně teplou vodou, čímž se odstraní přebytečný škrob, který by při varu zmazovatěl, a rýže by se lepila.

Maso a vnitřnosti se vždy před úpravou omývají vcelku a jen krátce pod tekoucí vodou (libové pod studenou, tučné pod teplou), aby nedocházelo k vyluhování bílkovin, minerálních látek a vitaminů skupiny B. Maso se nejprve upraví na požadovanou velikost a dále se pak zpracovává vařením, dušením pečením nebo smažením. Tyto technologické operace přispívají k údržnosti masa a využívají se ve výrobě k zajištění struktury, stravitelnosti a organoleptických vlastností výrobků, zejména barvy. U masa se dále odstraňují šlachy a blány (obsahují nestravitelný elastin), chrupavky, kosti apod., pokud chceme omezovat v pokrmu tuk, odstraňujeme i tučné části [2,32,34].

Do předběžné úpravy se zahrnuje i zpracování suroviny do požadovaného tvaru, rozměru, vzhledu, tzn. rozřezávání, rozměňování, naklepávání, formování apod. [2].

Při zpracování zeleniny a brambor je nutné pracovat rychle a používat dobře nabroušené nerezové náčiní, aby nedocházelo ke ztrátám živin (především vitamínu C) oxidací. Nakrájené suroviny je třeba urychleně zalít zálivkou nebo je tepelně zpracovat.

Kromě ztrát vitaminů tím zabráníme i hnědnutí či modrání, ke kterému dochází po oloupání u některých druhů zeleniny a brambor [32].

3.1.2 Předběžná úprava biochemická

Odležení a zrání masa. Některé druhy masa (především hovězí maso na pečeně, minutky, na dušení) se za účelem získání křehké textury a požadované chuti nakládají do láků různého složení, případně se nechají zrát po potřetí olejem nebo rozpuštěným máslem a přidání koření, plátků cibule či jiné zeleniny. V mase probíhají biochemické pochody. Hlavní zrání masa však probíhá u výrobce. Nedostatečně vyzrálé maso by nemělo přijít do tržní sítě, protože se velmi obtížně tepelně upravuje [32].

3.2 Tepelná úprava

Tepelná úprava potravin je při přípravě pokrmů nejvýznamnější operací. V potravinách při ní dochází k nejrozsáhlejším změnám v nutriční i sensorické hodnotě. Tyto změny mohou být pozitivní, ale i negativní, a je proto nutné stanovit optimální podmínky tepelné úpravy tak, aby bylo dosaženo žádoucích změn při minimalizaci změn negativních. Tepelná úprava má i zásadní vliv na hygienickou jakost pokrmů. Jednak je to vliv pozitivní, kdy dochází ke zničení všech vegetativních forem mikroorganismů a částečně k destrukci jejich toxinů, zejména termolabilních, pokud se již v potravine vytvořily, a destrukci přírodních toxických a antinutričních látek. Tepelná úprava může mít však i negativní vliv, kterým je vznik látek z hygienického hlediska nebezpečným, mnohdy i karcinogenních, které se v potravine tvoří vlivem zvýšené teploty (např. akrolein) [2,32].

Tepelné procesy při kulinární úpravě rozdělujeme do několika skupin. Kritériem je výše teploty a prostředí, ve kterém tepelná úprava probíhá, a do jisté míry i způsob záhřevu [32].

3.2.1 Vaření

Vaření je tepelná úprava potravin vařící tekutinou nebo párou za normálního nebo zvýšeného tlaku. Jedná se o nejběžnější způsob tepelné úpravy potravin a z hlediska výživového nejšetrnější. Vařené pokrmy jsou lehce stravitelné a vhodné i pro výživu při onemocněních trávicího ústrojí. Vzhledem k nízkým teplotám při vaření vzniká z potravin méně sensoricky významných látek, a proto vařené pokrmy jsou méně chuťově atraktivní, zejména ve srovnání s pokrmy smaženými [32].

3.2.2 Dušení

Dušení je tepelná úprava, při které se potraviny upravují působením menšího množství tekutiny, případně i tuku a páry v uzavřené nádobě. Pokud potravina neobsahuje dostatek vody, aby se dusila ve „vlastní šťávě“, je nutno dolévat vodu. Množství tekutiny nesmí být větší než dvě třetiny objemu potravin, aby pokrm neměl charakter vařeného pokrmu. Potraviny dusíme ve stejně velkých kusech. Dusit lze na sporáku nebo v troubě, vždy pod pokličkou. Dušení v troubě je rychlejší, stejnoměrnější, neboť teplo působí na celém povrchu nádoby. Potraviny se musí občas míchat, ne však příliš intenzivně, aby se do tekutiny nevpravoval vzduch. Pokud potravinu před dušením neopékáme, je dušení šetrná tepelná úprava, probíhá při teplotě nepatrně vyšší než 100 °C a lze ji použít i pro úpravu pokrmů při nemocech trávicího ústrojí. Podobně jako při vaření, vznikají při dušení chuťové a vonné látky v daleko menší míře než při pečení a smažení, a proto jsou dušené pokrmy méně atraktivní [32].

Maso a někdy i jiné potraviny před dušením opékáme. Bílkoviny na povrchu denaturují, denaturovaná vrstvička bílkovin zabraňuje vyluhování chuťových látek a maso zůstává šťavnaté a bohatší chuti. Maso dusíme na tzv. základech (rozehřátý tuk a na něm osmahnuté přísady). Tyto základy rozdělujeme podle použitých přísad na cibulový, cibulovo-paprikový, zeleninový, podle krájení na hrubé a jemné, podle intenzity vzniklého zbarvení na světlé a tmavé. Maso bychom před opékáním na základech neměli solit, protože při vysoké teplotě vzniká ze soli a tuku 3-monochlorpropandiol, který je považován za látku s karcinogenními účinky, a proto je jeho množství v potravinách limitované zákonem [2,32].

3.2.3 Pečení

Pečení je způsob tepelné úpravy potravin působením horkého suchého vzduchu, v některých případech částečně vypečeného tuku a šťávy. Rozlišujeme několik způsobů pečení podle zařízení, ve kterém pečeme, a technologického postupu, např. pečení v troubě, alobalu, papilotě, konvektomatu. Pokrmy připravené různými způsoby pečení se liší svými sensorickými vlastnostmi, stupněm snížení výživové hodnoty i množstvím vznikajících látek, které působí nepříznivě na zdraví člověka [32].

3.2.4 Smažení

Smažení je tepelná úprava potravin tukem na teplotu 150–190 °C. Při vyšších teplotách vzniká u většiny tuků namodralý kouř, který je důsledkem hlubších chemických změn. Některé z látek, které při nich vznikají, jsou z hlediska zdravotního nebezpečné, proto se teplota 190 °C nemá překračovat. Při smažení je nutno používat vhodné druhy tuků a olejů. Doporučením výrobce na obale se nemůžeme vždy řídit, protože výrobce doporučení „vhodné i pro smažení“ dává i na etikety olejů, které se pro smažení nehodí. Smažit se na těchto tucích dá, ale pouze malé množství potravin a smažení nesmí trvat příliš dlouho. Typickým příkladem tuku nevhodného pro delší smažení je slunečnicový olej (výjimku tvoří speciálně vyšlechtěný slunečnicový olej s vysokým obsahem kyseliny olejové). U olejů je nejvhodnější, tj. tepelně nejstabilnější, rafinovaný olivový olej používaný na smažení především v zemích v oblasti Středozemního moře, lze použít i kvalitní olej řepkový. Zcela nevhodné na smažení jsou tuky obsahující vodu, tj. margaríny a další roztíratelné tuky. Pro dlouhodobější smažení se mají používat pouze tuky k tomu určené – pokrmové tuky, např. Ceres soft, Omega, Lukana na smažení, nebo fritovací oleje, případně vepřové sádlo. Tyto tuky neobsahují vodu a vysokou teplotou se rozkládají velmi omezeně. Sádlo má nevýhodu v tom, že obsahuje cholesterol, který za vysokých teplot oxiduje na produkty, které z hlediska srdečně-cévních onemocnění působí hůře než neoxidovaný cholesterol [2,32].

Smažit můžeme rozmanité potraviny, různé druhy masa, vnitřnosti, drůbež, zeleninu, brambory, různé druhy masových a zeleninových míšenin, které lze kombinovat s obilovinami nebo luštěninami. Potraviny můžeme smažit syrové (maso) nebo částečně tepelně zpracované – předvařené i uvařené do měkka (různé druhy zeleniny). Potraviny před smažením většinou obalujeme v trojobalu (mouka, vejce, strouhanka) nebo v těstíčku (z mouky, vajec, příp. mléka). Potraviny vkládáme do tuku zahřátého na teplotu smažení, aby nepřijímaly příliš mnoho tuku a vytvořila se typická chuť [2,32].

3.3 Dohotovování pokrmů

K důležitým technologickým postupům, které mají velký vliv na podíl konečné jakosti pokrmů, patří jejich dohotovování. Závěr přípravy pokrmů tvoří jejich degustace, kdy se hodnotí nejen chuť a vůně, ale i barva, konzistence, celkový vzhled pokrmu a jeho úprava na talíři [32].

3.3.1 Zahušťování pokrmů

Zahušťování pokrmů je důležitý způsob dokončování přípravy pokrmů, který je typický pro českou kuchyni. V poslední době se od zahušťování (zejména zeleniny a masových šťáv) často upouští, protože zahušťováním se zvyšuje energetická hodnota pokrmů. Mění se i preference způsobů zahušťování a jejich technologie. Méně se zahušťuje jíškou, která obsahuje vyšší množství tuku. Nepřipravuje se tmavá jíška, protože působením vyšších teplot mohou vznikat zdravotně závadné produkty. Nedoporučuje se zahušťovat moukou rozmíchanou ve smetaně, ale pouze v nízkotučném mléce. Rovněž při zahušťování žloutky zvyšujeme energetickou hodnotu pokrmu a navíc zvýšíme obsah cholesterolu. Vhodnější je zahušťovat moukou opraženou na sucho, protlakem z uvařených potravin, zejména zeleniny, škrobovou moukou, zaprášením moukou nebo strouhaným pečivem [2,32].

3.3.2 Dochucování pokrmů

Dochucování pokrmů je technologicky významnou součástí přípravy pokrmů. Zařazujeme zde především solení, kořenění, slazení a okyselování. Zlepšujeme tak chuť a vůni u pokrmů vyrobených z potravin chuťově nevýrazných a v některých případech zvýrazňujeme i barvu. Dochucovacích prostředků používáme jen tolik, kolik je nezbytně nutné, přičemž dávky nelze předem dosti dobře stanovit. Dochucování nesmí být v žádném případě použito k zakrytí technologických nedostatků, vad surovin a nemá zastírat chuť základní potraviny. Koření se má přidávat až ke konci varu, aby se dlouhodobým varem neničilo aroma. Solit pokrmy při přípravě by se měly co nejméně, pokrmy lze přisolit při jejich konzumaci [2,32].

3.3.3 Krájení a porcování

Krájení a porcování je konečnou úpravou pokrmů, při které se musí také dodržovat určitá pravidla. Především se nikdy nesmí na stejné pracovní ploše zpracovávat syrové i tepelně opracované maso nebo jiné potraviny. Maso a knedlíky je důležité krájet až po vychladnutí. Maso by mělo být krájeno vždy přes svalová vlákna, tuto zásadu však často nedodržují ani profesionální kuchaři [2,32].

4 STERILACE A ZMĚNY NUTRIČNÍCH HODNOT

Konzervace zahříváním (termosterilace) je abiotická metoda, založená na tepelné denaturaci mikrobiálních a enzymových bílkovin. Potřebné zahřátí sterilované potraviny však urychluje nejen žádoucí koagulační reakce, ale i nežádoucí nemikrobiální a neenzymové procesy (autooxidace lipidů, Maillardovy reakce neenzymového hnědnutí), které v nezahřátých potravinách probíhají jen velice zvolna. Hlavním nepříznivým důsledkem sterilačního záhřevu bývá jisté snížení výživové hodnoty potravin, způsobené ztrátou esenciálních aminokyselin, vitaminů, mastných kyselin, snížení stravitelnosti, hmotnostní ztráty, změny tuku, aromatu a chuti a výskyt nežádoucích barevných změn. Je proto třeba pracovat vždy s co možná vysokou koagulační teplotou, ale aplikovanou tak, aby zbytečně neškodila. Sterilace zahříváním je velmi obvyklý, celkem pohodlný a velmi osvědčený způsob konzervace potravin [19,25,36].

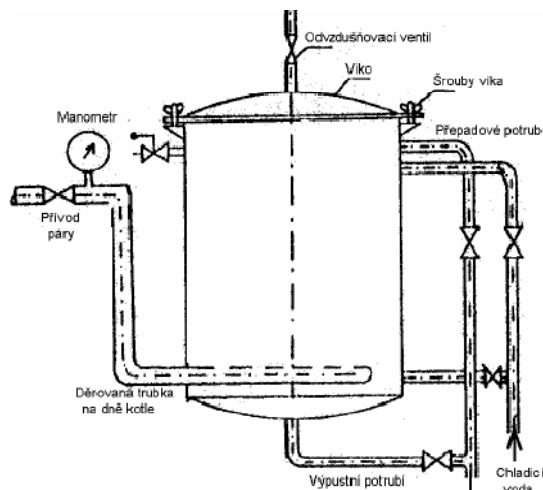
Potravina naplněná do obalu, který se hermeticky uzavře, se zahřívá tak, aby se usmrtily všechny přítomné organismy a spory, které by se mohly v náplni obalu množit [25].

4.1 Zařízení pro sterilaci hotových pokrmů v obalech = autokláv

Zařízení pro sterilaci nekyselých potravin v obalu se obecně nazývá autokláv, jde o tlakovou nádobu, ve které je možno uzavřít a sterilovat pokrmy při příslušné teplotě [37].

Z diskontinuálních autoklávů je nejjednodušší stacionární vertikální autokláv, což je stojatá válcová tlaková nádoba s víkem přes celý průřez na horním konci. Do autoklávu se hotová jídla spouštějí shora jeřábem v koších. Po vložení košů s hotovými pokrmy se autokláv uzavře, napustí vodou tak, že jsou pokrmy ponořeny a ke dnu se začne přivádět topná pára, která ve vodě v autoklávu kondenzuje a celý jeho obsah zahřívá. Po dokončení předepsaného ohřevu se zastaví pára a do autoklávu se začne přivádět chladná voda, která vytlačuje horkou vodu a chladí pokrmy. Pokrmy se po sterilaci přeloží na paletu, a co nejdříve expedují [33,37,52].

Při tepelné sterilaci probíhá kromě inaktivace mikroorganismů současně i inaktivace labilních živin (hlavně vitaminů a růstových faktorů), případně vznikají toxické látky [47].



Obr. 1. Stacionární vertikální autokláv [50].

4.2 Vliv sterilace a podmínek skladování na změny bílkovin

Bílkoviny jsou vysokomolekulární látky složené z aminokyselin, resp. z polypeptidových řetězců, jejichž velmi složité uspořádání a z toho vyplývající chemické a fyzikální vlastnosti způsobují, že bílkoviny jsou vlastními nositelkami života. Jsou také základním stavebním materiálem buněk [25,57].

Nutriční hodnota bílkovin se odvozuje od jejich aminokyselinového složení, přesněji od obsahu esenciálních aminokyselin. Dalším důležitým ukazatelem kvality bílkovin je využitelnost lyzinu. Bílkoviny (aminokyseliny) jsou přitom nejcitlivějším nutričním faktorem vůči působení vysokých teplot při zpracování potravin. Změna struktury bílkovin je vyvolána tepelným pohybem molekul, tedy peptidových řetězců. Uvolňují se vodíkové můstky, a tím se mění struktura celé bílkovinné molekuly, po ochlazení se vodíkové můstky zase vytvoří, jsou však již orientovány jinak [15,34].

U bílkovin obecně (vyjma termostabilních) dochází k významným změnám již při dosažení teploty nad 55 °C. Kromě denaturace bílkovin dochází také k destrukci aminokyselin. Denaturace je většinou doprovázena koagulací proteinů, při níž dochází ke změnám konformace molekul kolagenu. Rychlost denaturace značně závisí na obsahu vody v soustavě. V přítomnosti většího obsahu vody proběhne denaturace rychle již při teplotách do 100 °C, zatímco u potravinářských materiálů s nízkým obsahem vody je zapotřebí dlouhodobý záhřev na 120 až 150 °C. Denaturace bílkovin a jejich štěpení může mít následky na sensorickou a nutriční hodnotu potravin. Denaturace bílkovin při teplotách nepřesahujících 100 °C a při neporušení primární struktury bílkovin nepoškozuje zpravidla

nutriční ani senzoričnou hodnotu potraviny. U zeleniny vede denaturace bílkovin ke zpevnění pletiva [19,25,40,50].

Při teplotách nad 80 °C jsou koagulovány všechny myofibrilární i sarkoplasmatické proteiny masa, volné thiolové skupiny aktinomyosinu se oxidují na disulfidové. Při teplotách nad 90 °C se kolagen denaturuje na želatinu a zvyšuje se vaznost masa. Při vyšších teplotách dochází k chemickým změnám tzv. desulfuraci a deaminaci, čímž vznikají sulfan a amoniak, které se významně podílejí na vzniku vonných a chuťových látek masa. Rovněž dochází ke změnám barvy masa, neboť myoglobin a oxymyoglobin se oxidují na metmyoglobin. Myoglobin se proto u mnoha masných výrobků stabilizuje pomocí dusitanových solí. V přítomnosti dusitanu dochází během záhřevu k vytvoření nitroxyhemochromu, což je růžové barvivo salámů a jiných masných výrobků. Metmyoglobin je převeden redukčními reakcemi thiolové skupiny za pomoci enzymů, které se v mase nachází, zpět na myoglobin [14,15,18,19,33,50].

V případě rostlinných proteinů má denaturace pozitivní vliv na výživovou hodnotu zlepšením stravitelnosti a větší dostupností sirných aminokyselin, zvláště u sóji a jiných luštěnin [18].

Jednou z nejvýznamnějších reakcí probíhajících během zpracování a skladování je reakce redukcující cukrů s aminokyselinami tzv. Maillardova reakce neboli reakce neenzymového hnědnutí, jedná se o složitý systém chemických reakcí, během kterého vznikají senzoričny významné těkavé látky a hnědé pigmenty melanoidiny. Bílkoviny reagují s redukcujícími sacharidy především prostřednictvím ϵ -aminoskupiny vázaného lysinu, při záhřevu se snižuje jeho využitelnost a dochází k jeho největším ztrátám. Mnohé termické procesy urychlující Maillardovu reakci jsou spojeny i s reakcemi částečné pyrolýzy, které zvláště u sacharidů vedou rovněž k tvorbě hnědě zbarvených produktů. Reakcemi pyrolytickými jsou označovány reakce probíhající při termickém rozkladu organických látek za použití vysokých teplot. Při pyrolýze se zpravidla rozkládají látky o vysoké molekulové hmotnosti (např. hemicelulosa) a vzniká větší počet látek jednodušších [32,40,50].

Některé stupně reakčního mechanismu Maillardovy reakce jsou provázeny tvorbou mnoha degradačních produktů, zejména produktů Streckerovy degradace aminokyselin. Při Streckerově odbourávání aminokyselin je odštěpován amoniak a vznikají aldehydy o jeden atom uhlíku kratší, než měla výchozí aminokyselina. O výsledných produktech rozhoduje

druh aktivní karbonylové skupiny, druh aminokyseliny a přítomnost dalších složek potravin, např. iminů. Negativní stránkou Streckerova odbourávání aminokyselin jsou určité ztráty esenciálních a semiesenciálních aminokyselin, které podlely degradaci jako např. valin, leucin, isoleucin, threonin, methionin, fenylalanin, arginin, tryptofan, histidin a lysin [38,41].

Celková ztráta aminokyselin při sterilační teplotě 120 °C po dobu 30 minut činí asi 8 až 15 %. Nejvyšší ztráty zpravidla bývají u cysteinu (až 25 %). Při teplotě 110 °C dochází k rozkladu cca 5 % aminokyselin a při teplotách nad 140 °C jsou ztráty cca 15 až 20 % [38].

4.3 Vliv sterilace a skladování na změny tuků

Lipidy, zejména tuky a oleje, jsou zásobárnou zkoncentrované energie v potravinách, obsahují esenciální výživové složky (nenasycené mastné kyseliny) a jsou prostředím pro některé nutričně významné faktory (např. pro lipofilní vitaminy). Příčinou změn u tuků mohou být biologické i chemické pochody, díky kterým dochází ke změně chemického složení tuků, což se projeví jak v jejich výživové hodnotě, tak i v sensorických vlastnostech (nepříjemný pach a chuť, změny barvy a konzistence). Hlavními nežádoucími změnami lipidů jsou deesterifikace či hydrolýza tuků, oxidace či žluknutí tuků a tzv. přepálení tuků [15,25,38,57].

Tuky jsou triacylglyceroly, tedy estery vyšších mastných kyselin s glycerolem. Hydrolytickou deesterifikací se uvolňují mastné kyseliny a glycerol. Nezbytnou podmínkou hydrolýzy tuků je přítomnost vody a enzymů lipas (nativních nebo mikrobiálních). Hydrolyzované tuky snadněji podléhají oxidačnímu žluknutí s výraznými negativními sensorickými důsledky. Při přepálení tuků vznikají nepříjemně páchnoucí produkty, především akrylaldehyd (akrolein, $\text{CN}_2 = \text{CN} - \text{CHO}$) [25,57].

Žluknutí tuků je doprovázeno vyšším či nižším stupněm oxidace, přičemž rozeznáváme několik typů oxidačních reakcí lipidů v potravinách, např. autooxidace vzdušným kyslíkem, oxidace hydroperoxydy či peroxidem vodíku, oxidace singletovým kyslíkem, oxidace katalyzovaná enzymy aj. Nejvýznamnější a podstatnou složkou všech lipidů jsou mastné kyseliny, jejich autooxidace je nejběžnějším typem oxidace za podmínek, které přicházejí v úvahu při zpracování nebo skladování potravin. Při běžných teplotách se vzdušným kyslíkem oxidují jen nenasycené mastné kyseliny. Za vyšších teplot

odpovídající teplotám pečení a smažení dochází také k autooxidaci nasycených mastných kyselin. Obecně lze říci, že oxidované tuky bývají zpravidla hůře stravitelné a odštěpené oxidované mastné kyseliny se obtížněji vstřebávají na rozdíl od výchozích neoxidovaných tuků, zhoršuje se senzorická jakost [15,38,39,50,57].

4.4 Vliv sterilace na změny sacharidů a polysacharidů

Sacharidy jsou sloučeniny odvozené od alifatických polyhydroxyaldehydů nebo polyhydroxyketonů, uplatňují se jako okamžitý zdroj energie (glukosa, sacharosa), rezervní látky, energetické zásoby (škrob, glykogen) a stavební látky (celulosa). Z hlediska konzervace potravin jsou významné pentosy, především však hexosy, a to jak ve vodě rozpustné mono-, di- a oligosacharidy, tak i jako složky nerozpustných nebo jen koloidně rozpustných polysacharidů i jako složky heteroglykosidů. V disacharidech i ve složitějších cukrech jsou molekuly jednoduchých cukrů spojeny poměrně labilními glykosidickými vazbami (kyslíkovými můstky), což vede k jejich snadným přeměnám [25,57].

Reakce sacharidů v potravinách jsou zpravidla komplexní, enzymové i neenzymové a podílejí se na nich všechny funkční skupiny molekuly sacharidu v závislosti na pH prostředí, teplotě, obsahu vody a na dalších faktorech. V tomto ohledu je nejvýznamnější již zmíněná reakce s bílkovinami, tzv. Maillardova reakce. Mezi nejvýznamnější sacharidy podílející se v potravinách na neenzymovém hnědnutí patří z monosacharidů glukosa, fruktosa, v případě masa ribosa, z disacharidů maltosa a také například neredukující cukry (sacharosa) [15,25,50].

Zahříváním při vyšších teplotách (nad 150 °C) podléhají sacharidy pyrolýze, vznikají četné interakce, deriváty a tmavě zbarvené produkty. Důležitými meziprodukty jsou furfuraly a výslednými produkty jsou tzv. karamelové látky. Karamelizace sacharidů je tedy proces, při kterém vznikají hnědé až hnědočerné produkty různého složení, nazývané karamely (kulér), který se může používat k barvení některých pokrmů (vývar, omáčka). Tvorba karamelu závisí na všech faktorech, které se uplatňují při reakcích neenzymového hnědnutí, tj. na obsahu vody, teplotě, pH prostředí, reakční době apod. V přítomnosti aminosloučenin probíhá karamelizace již za teplot podstatně nižších, protože aminosloučeniny mohou působit katalyticky [25,32,40,57].

5 ONEMOCNĚNÍ Z POKRMŮ A POTRAVIN DLE PŮVODCŮ

Potraviny představují téměř ideální živnou půdu pro rozvoj mikroflóry. Pokud potravina na konci technologického procesu není dokonale sterilní a není asepticky dokonale zabalena, tak přítomná reziduální mikroflóra se v ní za příznivých podmínek zpravidla začne rychle rozmnožovat [22].

Negativní dopad činnosti mikroorganismů v potravině spočívá v jejich obrovské rychlosti rozmnožování a intenzitě metabolismu, které jim umožňují za vhodné teploty, pH, dostatečného množství vody rozložit a tak znehodnotit značné množství substrátu. Ve vztahu k lidskému zdraví můžeme nežádoucí mikroorganismy členit na patogenní (některé vyvolávají onemocnění přímo, např. salmonely, nebo produkcí toxinů, např. *Clostridium botulinum*), na podmíněně patogenní (patogenní účinek se dostavuje jen za určitých podmínek) a na nepatogenní (tzv. banální či obecná mikroflóra rozkládající potraviny). Zdravotní nezávadnost pokrmů a potravin je z hlediska mikrobiálního dána nepřítomností patogenních mikroorganismů a jejich toxinů. Dále členíme mikroorganismy podle jejich vztahu ke kyslíku (aerobní, fakultativně anaerobní, anaerobní) nebo k teplotě (termo-, mezo- a psychrofilní), což je velmi významné pro ochranu neúdržných potravin. Velmi významná je schopnost mikroorganismů vytvářet spory jako velmi odolné formy či stádia pro přežití v nepříznivých podmínkách. Obecně pro mikroorganismy platí, že kyselé prostředí je pro většinu z nich nevhodné [22,25,37,46].

5.1 Onemocnění bakteriálního původu

Bakterie zahrnují rozsáhlý počet rodů a druhů (Bergeyův manuál pro *Prokaryotae*, oddíl *Bacteria*). Jednotlivé rody až druhy bakterií mají rozdílné vztahy k potravinám, jejich složkám a různě reagují na zásahy prostředí. Závažný problém přinášejí sporotvorná klostridia a bacily. Jejich spory obsahují vodu konstitučně vázanou, takže jsou fyziologicky suché a proto velmi odolné vůči teplotě i jiným vlivům. Tepelnou úpravou nejsou většinou zničeny sporotvorné mikroorganismy, proto při výrobě hotových pokrmů je nezbytné provést co nejrychlejší zchlazení na teplotu, při které již nedochází k pomnožování většiny mikroorganismů nebo při které je jejich růst výrazně zpomalen [25].

Onemocnění způsobené patogenními bakteriemi je možno rozdělit na alimentární infekce a alimentární intoxikace. **Alimentární infekce** je důsledkem konzumace potraviny

obsahující danou patogenní bakterii v množství překračujícím minimální infekční dávku, tato bakterie v trávicím traktu v průběhu množení vytváří toxiny poškozující strukturu nebo funkci tkání hostitele. V případě **alimentární intoxikace** je souslednost dějů odlišná, tj. příslušná patogenní bakterie se pomnožila v potravíně, ve které v průběhu své metabolické činnosti vytváří toxin, tzn., konzument přijme v potravíně preformovaný (předem vytvořený) toxin, který po uvolnění z matrice potraviny v trávicím traktu vyvolá onemocnění (otravu), vlastní patogen již v okamžiku konzumace potraviny nemusí být vůbec přítomen [37,42].

5.1.1 Salmonelóza

Původce: Původcem tohoto onemocnění jsou bakterie *Salmonella*, kterých je dnes známo více než 2000 typů. Nejzávažnější onemocnění člověka způsobují *Salmonella enterica* subs. *enterica*, kvantitativně největší význam v počtu onemocnění mají dnes *S. enterica* subs. *enterica* sér. Typhimurium a *S. enterica* subs. *Enterica* sér. Enteritidis. Rod *Salmonella* je významným zástupcem čeledi *Enterobacteriaceae*, což jsou gramnegativní (G⁻), fakultativně anaerobní nesporelující krátké tyčinky. Většina druhů je peritrichinózní, pohyblivé. Optimální teplota pro růst je 37 °C, teplota 60 °C pod dobu 20 minut salmonely ničí [37,42].

Výskyt: V roce 2003 bylo v ČR zaznamenáno 99 epidemií, kdy cestou přenosu byly zdravotně závadné potraviny či pokrmy. Od r. 1997 do r. 2003 u nás zemřelo na salmonelózu 199 osob [43].

Tab. 1. Počet osob onemocněných salmonelózou v ČR v letech 1999 – 2008 [44].

rok	1999	2000	2001	2002	2003
počet nemocných osob	44 845	40 233	33 594	27 964	26 899
rok	2004	2005	2006	2007	2008
počet nemocných osob	30 724	32 927	25 102	18 204	11 009

Zdroje nákazy: Mezi rizikové potraviny patří např. masné výrobky. Častou příčinou salmonelóz je také konzumace tepelně nedostatečně opracovaných vajec. Na šíření salmonel se kromě surovin na výrobu pokrmů podílí také člověk, a to zjevně nemocný nebo asymptomatický nosič (bez klinických příznaků), dále hlodavci, volně žijící ptáci a hmyz. *S. typhi* a *S. paratyphi* způsobují dnes v důsledku importu z rozvojových zemí v hospodářsky vyspělých zemích sporadické, ale závažné, život ohrožující onemocnění břišní tyfus a paratyfus. Člověk se nakazí potravinou nebo nápojem, které byly

kontaminovány prostřednictvím osoby nebo živočicha vylučující patogen ve výkalech [2,42,54].

Infekční dávka a inkubační doba salmonelóz: Infekční dávka může být velice rozdílná podle věku, zdravotního stavu hostitele, druhu inkriminované potraviny – 2×10^1 – 10^6 . Inkubační doba je 16–72 hodin, v průměru 24–48 hodin [42].

Projevy onemocnění: Běžné onemocnění salmonelóza se klinicky projevuje průjmem, nevolností, bolestmi břicha, teplotou a zimnicí, občas i zvracením a bolestmi hlavy. Typické symptomy břišního tyfu jsou trvalá horečka 39–40°C, malátnost, břišní křeče, bolesti hlavy [42].

Prevence: Prevence salmonelóz při průmyslové výrobě pokrmů, resp. při manipulaci s potravinami, spočívá ve vyloučení asymptomatických nosičů z veškeré manipulace s potravinami, dokonalé provedení veterinární prohlídky všech surovin živočišného původu, vysoká úroveň hygieny v potravinářských provozech, ochrana potravin před hmyzem a hlodavci, oddělení čistých a rizikových provozů, oddělení potravin a surovin živočišného původu od ostatních při jejich uložení v chladničce, správná tepelná úprava potravin, použití pouze nezávadných zdrojů pitné i užitkové vody, dodržování správné výrobní praxe a zavedení systému HACCP [2,42].

5.1.2 Kampylobakteriόza

Původce: Původci tohoto v současnosti velice častého onemocnění patří mezi G⁻ bakterie z čeledi *Campylobacteriaceae*. Hlavními termotolerantními patogenními druhy jsou *Campylobacter jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, *C. upsaliensis*, z morfologického hlediska se jedná o tyčinky. Teplotní optimum pro růst je 42–43 °C, teplota 46 °C již růst téměř zcela inhibuje, při pH pod 7,7 již není kampylobakter schopen růstu, při pH 5 a 4 °C však zůstává životaschopný [37,42].

Výskyt: Onemocnění je rozšířeno po celém světě, u nás je druhou nejčastější alimentární nákazou.

Tab. 2. Počet osob onemocněných kampylobakteriόzou v ČR v letech 1995 – 2006 [43,44].

rok	1995	1996	1997	1998	1999	2000
počet nemocných osob	3 030	2 278	3 623	5 542	9 843	16 916
rok	2001	2002	2003	2004	2005	2006
počet nemocných osob	21 653	23 206	20 063	25 492	30 268	22 713

Zdroje nákazy: Jedná se o onemocnění zoonotického charakteru (přenos ze zvířat na člověka). Rezervoárovými živočichy jsou různé druhy drůbeže, podstatně menší význam mají skot, prasata, králíci [42].

Infekční dávka a inkubační doba: Infekční dávka je relativně nízká, 10^2 buněk/gram potraviny. Inkubační doba je několik dní, tj. 2–7 [42].

Projevy onemocnění: Onemocnění se projevuje horečkou, křečemi, bolestmi břicha, průjmem, který může být buď vodnatý (neobsahuje leukocyty) nebo krvavý (obsahuje značný počet leukocytů). Závažnou, ale velice řídkou komplikací je tzv. Guillain-Barré syndrom, který se projevuje svalovou slabostí, vyhasnutím svalových reflexů až obrnou kosterního svalstva [42].

Prevence: Prevence kampylobakteriózy je založena na přísném dodržování hygienických předpisů při zpracování, skladování, transportu a uvádění do oběhu potravin především živočišného původu, obzvláště to platí při porážení drůbeže a produkci mléka. Pozornost je třeba také věnovat zdravotní nezávadnosti pitné vody [42].

5.1.3 Listerióza

Původce: Původcem je grampozitivní (G^+), aerobní, nesporulující patogenní tyčinka *Listeria monocytogenes*, která běžně roste při rozmezí teplot 5–45 °C, její růst není stoprocentně inhibován ani při teplotě kolem 0 °C, je však schopna přežít teplotu 60 °C po dobu 30 minut, respektive teplotu 73 °C po dobu 2 minut. Snáší rozmezí pH 5–10 a velmi vysoké koncentrace soli (až 10 % NaCl) [37,42].

Výskyt: Incidence onemocnění je ve srovnání s ostatními alimentárními bakteriálními infekcemi relativně nízká, tj. méně než 1 případ na 100 000 obyvatel za rok, na druhé straně však listerióza dominuje v procentu nutných hospitalizací – až 88 % a v procentu úmrtnosti [42].

Tab. 3. Počet osob onemocněných Listeriózou v ČR v letech 1999 – 2008 [44].

rok	1999	2000	2001	2002	2003
počet nemocných osob	13	23	21	20	12
rok	2004	2005	2006	2007	2008
počet nemocných osob	16	15	78	51	37

Zdroje nákazy: Významným faktorem nákazy jsou kontaminované potraviny (např. masné a rybí výrobky, delikatesy, sýry, nakládané maso), při výrobě a zpracování potravin

hraje velkou roli křížová kontaminace. Listérie se začínají uplatňovat až v extrémnějších podmínkách, tzn. v potravinách technologicky zpracovaných, balených, skladovaných při chladírenských teplotách. V epidemiologii listeriózy se významně uplatňuje bacilonosičství, tomuto způsobu přenosu je připisováno asi 12 % všech diagnostikovaných případů listeriózy, nezanedbatelná je též možnost transplacentárního přenosu [42,45].

Infekční dávka a inkubační doba: Minimální infekční dávka není přesně známa. V některých zemích existuje tolerance 10^2 kolonií tvořících jednotky v 1 gramu (KTJ/gram) potravin, jiné státy však praktikují nulovou toleranci. Onemocnění má poměrně dlouhou inkubační dobu (týdny až měsíce) [42].

Projevy onemocnění: U osob s normálním imunitním systémem se onemocnění projevuje jako gastrointestinální listerióza s nízkou morbiditou (nemocností) s projevy jako je horečka, zvracení a průjem. U osob s oslabeným imunitním systémem přechází onemocnění do formy tzv. invazivní listeriózy s vysokou, až 50% morbiditou a vysokou mortalitou (úmrtností) až 30 %, poškozuje nervovou tkáň a další orgány. U těhotných matek je častým projevem spontánní potrat nebo porod mrtvého dítěte. U dětí živě narozených dochází k zánětu mozkových plen a často k sepsi [42,45].

Prevence: V rámci nejdůležitějších preventivních opatření je možno jmenovat: zavedení systému HACCP, monitorování invazivní listeriózy, důsledné provádění hygienického dozoru ze strany kontrolních orgánů, včetně testování produktů na přítomnost listérií, důsledná sanitace povrchu strojů a zařízení, dodržování zásad osobní a provozní hygieny, využití přirozených konzervačních látek (např. nizin) při výrobě [42].

5.1.4 Shigelóza = Bacilární úplavice

Původce: Rod *Shigella* je tvořen čtyřmi druhy, nejzávažnější onemocnění způsobuje *Shigella dysenteriae*, rezistence je relativně nízká, pasterací tato bakterie spolehlivě devitalizována. V potravinách se shigely prakticky nepomnožují [42].

Výskyt: Bacilární úplavice byla dříve velmi častá nákaza s 3–4letými cykly. Od r. 1986 docházelo k trvalému poklesu nemocnosti. Díky snadnému šíření se často vyskytuje ve větších či menších epidemiích [43].

Tab. 4. Počet osob onemocněných shigelózou v ČR v letech 1999 – 2008 [44].

rok	1999	2000	2001	2002	2003
počet nemocných osob	519	548	354	286	381
rok	2004	2005	2006	2007	2008
počet nemocných osob	325	278	289	349	229

Zdroje nákazy: Hlavním zdrojem onemocnění je nemocný člověk nebo bacilonosič, potraviny mohou být tedy kontaminovány pouze sekundárně [42].

Inkubační doba: Inkubační doba *Sh. dysenteriae* je 1 týden [42].

Projevy onemocnění: Onemocnění se projevuje průjmem, horečkou, nevolností, zvracením a břišními křečemi, častý je nález hleny a krve ve stolici nemocného. Velké nebezpečí hrozí především u kojenců, kde vlivem silné dehydratace může dojít až k úmrtí. Onemocnění trvá 6–8 týdnů [42].

Prevence: V rámci preventivního opatření je možno zdůraznit hygienické zpracování potravin a jejich uchovávání při nízkých teplotách, vyloučení bacilonosičů z jakékoli manipulace s potravinami [42].

5.1.5 Stafylokoková enterotoxikóza

Původce: *Staphylococcus aureus* je G^+ fakultativně anaerobní bakterie sférického tvaru (kok), vyskytuje se v párech, krátkých řetězcích a shlucích. Při svém pomnožení v potravinách produkuje bílkovinné enterotoxiny, které mohou způsobit vážné až smrtelné otravy. Bakterie roste a tvoří toxin, tzv. enterotoxin, v rozmezí teplot 7–48 °C, pH 4–10. Pokud jde o termorezistenci enterotoxinu, ten je termostabilní, není inaktivován ani působením teploty 100 °C po dobu 20 minut [42,54].

Zdroje nákazy: Příčinou onemocnění je konzumace potraviny obsahující stafylokokový enterotoxin vytvořený toxinogenními kmeny bakterie *St. aureus*. Lidé a zvířata jsou primárními rezervoáry stafylokoka. Více než 50 % zdravých osob jsou nositeli *St. aureus* na kůži, v dutině nosní nebo ústní, proto jsou zpracovatelé potravin obvykle hlavní zdrojem kontaminace pokrmů, ačkoliv vstupy ze zařízení a vnějšího prostředí jsou také nezanedbatelné. V kontaminované potravíně či pokrmu, které nejsou uchovávány při teplotě vyšší než 60 °C nebo nižší než 7 °C, následně dochází k pomnožení *St. aureus* a tvorbě toxinu. Obecně lze konstatovat, že častou příčinou otrav stafylokokovým enterotoxinem je potravina vyžadující rozsáhlejší tepelné opracování v průběhu více

technologických kroků, po přípravě uchovávána při mírně zvýšené teplotě, např. maso, masné výrobky, mleté maso, vejce, saláty na bázi brambor, těstovin, mléko [42,45].

Infekční dávka a inkubační doba: Symptomy otravy jsou vyvolány již dávkou toxinu menší než 1 µg/kg potravin. Pro vytvoření této dávky stačí množství 10 buněk *St. aureus*/g potravin. Typická je velmi krátká inkubační doba, cca 2–3 hodiny, může být však i delší [42].

Projevy onemocnění: Po konzumaci potravin kontaminované enterotoxinem se dostaví nevolnost, zvracení, silné břišní křeče. V závažnějších případech se mohou přidružit bolesti hlavy, svalové křeče, přechodné změny krevního tlaku a pulzu. Onemocnění obvykle samo odeznívá po 2–3 dnech [42].

Prevence: Mezi preventivní opatření můžeme zařadit zajištění dobré kvality výchozí suroviny, veškerou manipulaci s potravinami by měli vykonávat pouze zdraví pracovníci (bez zánětlivých procesů kůže), dodržování přísné osobní hygieny, pravidelné čištění a dezinfekce nástrojů a zařízení používaných při výrobě, chladírenské skladování potravin [42].

5.1.6 Onemocnění způsobené *Bacillus cereus*

Původce: Původce se řadí mezi G⁺ sporogenní, fakultativně anaerobní bakterie. *Bacillus cereus* produkuje dva typy toxinů, tzv. diarioický enterotoxin, který je produkován v průběhu množení patogena v tenkém střevě člověka (tzn. jedná se o infekci), emetický toxin je tvořen při množení *B. cereus* v potravině (k intoxikaci dojde požitím preformovaného toxinu v potravině). Enzym fosolipasa C – pomocí něj rozkládá bacilus v potravině přítomný lecitin na toxický produkt lysolecitin, který poškozují červené krvinky (hemolýza erytrocytů). Optimální rozmezí teplot, při kterých se může *Bacillus cereus* množit je 10–45 °C [2,42,45,54].

Zdroje nákazy: K rizikovým potravinám patří zejména maso a masné výrobky, konzervy, rýže, brambory, těstoviny, směsné potraviny typu omáček, polévek. Do potravin se dostávají většinou spory s infikovanými surovinami a přísadami. Spóry mohou přežívat následující tepelné úpravy daných potravin [42,46].

Infekční dávka a inkubační doba: Inkubační doba je poměrně krátká, u diarioické formy 8–24 hodin, u emetické formy 0,5–6 hodin. V potravině je běžný výskyt v množství < 10² KTJ/g, které považováno za hodnotu přijatelnou z hlediska zdravotní nezávadnosti.

V případě chybné manipulace s potravinou může dojít k pomnožení patogena na hodnoty $> 10^5$ KTJ/g, což již stačí k intoxikaci [42,46].

Projevy onemocnění: Nejdůležitějším symptomem diaroické formy onemocnění je vodnatý průjem, k dalším projevům patří břišní křeče, nevolnost, zřídka dochází ke zvracení. Emetická forma se projevuje nevolností a především zvracením, v ojedinělých případech se mohou objevit břišní křeče a průjem. V obou případech odezní onemocnění po uplynutí asi jednoho dne [42].

Prevence: Základní podmínkou uchování zdravotní nezávadnosti potravin je zabránit vyklíčení spor *B. cereus* a následnému množení vegetativních forem, a to především v tepelně opracovaných potravinách pro přímé použití, toho se dosáhne uchováváním potravin při teplotě nižší než 10 °C. Po tepelné úpravě pokrmů je třeba se vyvarovat jejich ponechání delší dobu při pokojové teplotě [42].

5.1.7 Botulizmus

Botulizmus je smrtelné onemocnění vyvoláno konzumací potravin obsahující neurotoxický protein botulotoxin, který je pro člověka jeden z nejučinnějších smrtelných jedů, kdy 1mg představuje smrtící dávku pro 16 000 lidí [42,46].

Původce: Nejvýznamnějším producentem botulotoxinu je především *Clostridium botulinum*, G^+ sporogenní peritrichózní tyčinka, striktní anaerob. Podle antigenních vlastností toxinu se *Cl. botulinum* rozděluje na sedm typů (A, B, C, D, E, F, G), příčinou lidského botulizmu jsou typy A, B, E a F. Vegetativní forma roste v rozmezí teplot 10–50 °C, přestává se množit při $pH < 4,5$. Toxin je vytvářen za anaerobních podmínek, při teplotách 4–40 °C, v rozmezí $pH 4,7–8,5$. Spory *Clostridium botulinum* přežívají působení teploty 121°C po dobu tří minut. Klostridia jsou citlivá na obsah solí, účinnou zábranu množení v potravinách představuje dusitan [42,46,48].

Zdroje nákazy: Botulizmus je obecně asociován s konzervovanými potravinami o nízké kyselosti, konkrétněji se jedná o zeleninu, ryby a masné výrobky [42].

Infekční dávka a inkubační doba: Inkubační doba závisí na množství přijatého toxinu a pohybuje se v rozmezí asi 5 hodin až 5 dnů od požití kontaminované potravin [42].

Projevy onemocnění: Po požití kontaminované potravin se dostávají všeobecné příznaky jako malátnost, bolesti břicha, zvracení. Následují příznaky nervové, tj. dvojité

vidění, mydriasis (rozšíření očních zornic), sucho v ústech, poruchy polykání, zástava střevní peristaltiky, poruchy dýchání. Neléčené onemocnění může skončit smrtí v průběhu 3–6 dnů, mortalita je asi 10 %. Účinnou léčbou je podání specifického antiséra [23, 42].

Prevence: Základem prevence je ochrana potravin před kontaminací sporama *Cl. botulinum*, která spočívá v pečlivé očištění zeleniny, masa a ostatních surovin určených ke konzervaci, dále při výrobě konzerv je nutno dodržovat sterilační režim (121 °C po dobu alespoň 3 minuty), potraviny uchovávat při nízkých teplotách (pod 4 °C) a pokud možno při nízkém pH (pod 4,5) [23,42].

5.2 Plísně jako původce onemocnění

Plísně patří z hlediska botanického do skupiny pravých hub stejně jako kvasinky, preferují prostředí s převahou sacharidů, oblast pH 3–6, jsou málo odolné vůči záhřevům a jsou přizpůsobivé k nižším teplotám. Plísně vystačí často se zcela nepatrným množstvím živin, jsou vysloveně aerobní, ale nesvědčí jim rychlý pohyb vzduchu, vytvářejí makroskopicky viditelné porosty, některé plísně vytvářejí velmi toxické zplodiny (mykotoxiny), některé jsou typické specifickým pachem [2,25,50].

5.2.1 Nejvýznamnější plísně v potravinářství

5.2.1.1 Rod *Aspergillus*

Rod *Aspergillus* má kolem 150 druhů a poddruhů. Vegetativně se rozmnožuje konidiami, které vznikají v řetízcích z fialid na rozšířeném konci konidioforu. Kolonie bývají sametově nebo vločkovitě bílé, popř. slabě zbarvené, konidie jsou různě zbarvené až černé. Vyskytuje se na nejrůznějším materiálu, neboť je velmi bohatě vybaven amylolytickými, pektolytickými a proteolytickými enzymy [46,48].

Pro produkční mikrobiologii má význam hlavně *Aspergillus niger*, mycelium je z počátku bílé, později vznikají žluté plochy. Konidiofory vyrůstající z mycelia, dlouhého od 200µm do několika mm, jsou hladké a bezbarvé, končí okrouhlou hlavičkou velikou 20–50µm. Na hlavičce rostou sterigmy, ze kterých vyrůstají vlastní konidie tmavé barvy, jež dávají povrchu vysporulované kultury tmavou až černou barvu. Konidie jsou svým černým zbarvením chráněny proti nepříznivým účinkům slunečního světla [48,49].

Aspergillus flavus má silnou proteolytickou a amylolytickou aktivitu, která je využívána pro přípravu lihových nápojů (saké), fermentovaných sojových omáček.

Konidie jsou žlutozelené. Produkuje velmi účinné toxiny, tzv. aflatoxiny, které způsobují rakovinu jater a jsou mutagenní [46,48].

A. oryzae dává u zralých kultur kolonie žlutozelené barvy, konidie jsou drsné a hruškovitého tvaru [48].

Aspergillus, spolu s dalšími plísněmi jako *Penicillium*, *Cladosporium*, *Mucor*, je nejčastějším původcem plesnivění potravin, tj. prorůstání potravin či jiných hmot drobnými i souvislými koloniemi rozličných plísní. Porosty bývají nejprve bělavé, vatovité, později nabývají známých, zpravidla zelenošedých až temných, ale i nápadnějších barev (žluté, oranžové) [50].

5.2.1.2 Rod *Penicillium*

Rod *Penicillium* je velmi rozsáhlý, zahrnuje okolo 140 druhů [48].

Příslušníci rodu *Penicillium*, *Botrytis*, *Fusarium*, *Rhizopus* způsobují plísňové (houbové) hniloby, jedná se o zhoubné škůdce skladovaných zásob nekonzervovaného ovoce a zeleniny. Konzervářský technik se při své praxi přejímání surovin setkává s četnými druhy těchto onemocnění, např. s tzv. zelenou, šedou a hořkou hnilobou ovoce, s hnilobou cibule, bramborových hlíz, rajčat [50].

5.2.1.3 Rod *Fusarium*

Rod *Fusarium* je velmi rozsáhlý a v přírodě velmi rozšířený. Některé druhy produkují výrazné barvivo (červené, tmavě modré, zelené až černé), jež je uvolňováno do prostředí a zabarvuje také starší mycelium. Některé jeho druhy způsobují nemoci rostlin, jiné produkují toxiny, které mohou vést k vážnému onemocnění člověka, např. požití chleba, který byl připraven z mouky vyrobené z napadeného obilí (*Fusarium sporotrichinella*), může vyvolat onemocnění zvané septická angína, které se objevuje již za několik hodin a projevuje se zvýšením teploty, otoky rtů, ústní dutiny i zažívacího traktu. Další fuzáriotoxikózou je otrava způsobená požitím potravin připravených z obilí napadeného *Fusarium graminearum*, projevuje se slabostí, třesením končetin, bolestí hlavy, závratí, zvracením a průjmem. Teplota při ní klesá pod normál a druhý den má nemocný pocitu jako po těžké opilosti [37,46].

5.2.1.4 Rod *Cladosporium* a *Botrytis*

Rod *Cladosporium* tvoří řetízky vícebuněčných spor, které jsou tmavě zbarveny. Vyskytuje se na stěnách potravinářských provozoven, na chlazeném i mraženém masu, na chlazených vejcích [46].

Rod *Botrytis* je psychrofilní, způsobuje hnilobu masa i ovoce skladovaného při nízkých teplotách. Tvoří nepravidelně větvené konidiofory obalené jednobuněčnými konidii vyrůstajícími z krátkých výběžků nebo sterigmat. *Botrytis cinerea* tvoří tzv. ušlechtilou plíseň na vinných hroznech, neboť poškozením slupek bobulí zvyšuje výpar vody, což je žádoucí pro přípravu vín tokajského typu [46].

5.2.2 Toxiny produkované plísněmi (mykotoxiny)

Mykotoxiny představují toxické látky nebiřkovinné povahy, jedná se o sekundární produkty metabolismu některých mikroorganismů mající fyziologické a toxické účinky na vyšší živočichy a člověka. Mykotoxiny nižší účinnosti produkuje většina plísní, a proto lze plesnivě suroviny i výrobky pokládat za závadné. Některé produkují dokonce několik toxických sloučenin zcela odlišného složení [40,46,54,58].

5.2.2.1 Aflatoxiny

Aflatoxiny (difurankumariny) patří k nejnebezpečnějším mykotoxinům, jsou tvořeny druhy *Aspergillus flavus* a *Aspergillus parasiticus* a mnohými dalšími. Významné jsou hlavně aflatoxiny B₁, G₁, B₂, G₂ a v mléce a mléčných výrobcích M₁ a M₂. Aflatoxiny jsou velmi termostabilní, odolné vůči působení kyselin, v silně alkalickém prostředí dochází ke změnám ve struktuře (např. z aflatoxinu B₁ vzniká aflatoxin B₂). Aflatoxin B₁ je nejsilnější dosud známý přírodní karcinogen. Způsobují rakovinu jater u drůbeže, u člověka jsou schopny vyvolat Reyův syndrom, zánět jater a stavy útlumu imunity. Aflatoxiny se nejčastěji vyskytují na sóji, arašídech a podobném materiálu, dováženém z vlhkých tropických krajín [40,46,50,54,58].

Studium o vlivu pepře, skořice, kmínu, zázvoru a hřebíčku na vegetaci plísně *Aspergillus flavus* a na produkci aflatoxinu ukázaly, že hřebíčkový prášek potlačuje obojí v koncentraci 1 000 mg/kg. Ostatní vyjmenovaná koření potlačují tvorbu již při nižších přísadách, než jakých je k zapotřebí k růstu mycelia, tj. při < 10 % přísady [50].

5.2.2.2 Patulin

Patulin byl původně ve 40. letech popsán jako antibiotikum a dokonce po krátký čas léčebně využíván. Po objevení karcinogenity vůči zvířatům byl stažen a dnes je považován za významný mykotoxin [58].

Hlavními producenty patulinu jsou plísně rodu *Penicillium* (*P. expansum*, *P. patulum*), *Aspergillus*, *Byssochlamys*. Substrátem jsou různé druhy ovoce (výskyt hlavně v ovocných šťávách, moštech). Akutní otravy jsou popsány u dobytka, většinou dominuje poškození plic s edémem. Je silně karcinogenní, jeho detoxikace je možná teplem či reakcí s thioley [40,50].

5.2.2.3 Ochratoxiny

Ochratoxiny A, B, C jsou produkovány plísněmi rodů *Aspergillus* (*A. ochraceus*) a *Penicillium* (*P. viridicatum*). Nejtoxičtější je ochratoxin A, který způsobuje poškození cytoplazmatických organel, a přímo zasahuje do základních metabolických funkcí buněk, jako jsou tvorba energie a syntéza proteinů. U ochratoxinu A byly potvrzeny imunotoxické, teratogenní a karcinogenní účinky. Resorbované mykotoxiny vyvolávají toxické poškození ledvin, které je doprovázeno nechutenstvím, depresí, průjmami, horečkou, žíznivostí, častým a vydatným močením, postupnou dehydratací organismu. Při ochratoxikose dochází k výraznému podráždění sliznice trávicího ústrojí a k rozvoji akutní gastroenteritidy. Přípustné množství ochratoxinu v mase činí 0,005mg/kg (vyhláška 298/97Sb.) [40,54,58].

Ochratoxiny se vyskytují zejména v ječmeni, žitě, ovsu, pšenici, rýži a kukuřici. V našich klimatických podmínkách se nacházejí poměrně často a byly zjištěny v obilovinách už dva týdny před sklizní, resp. po sklizni při skladování zrna s vlhkostí kolem 20 % a při teplotě 3–5 °C. Z dalších potravin, které mohou být napadené toxinem, mohou být masné výrobky, což je dáno faktem, že ochratoxin A vytváří rezidua ve tkáních. Dále se ochratoxin A může vyskytovat v kávě, toto zjištění souvisí s nálezy toxikologicky významných koncentrací ochratoxinu A v krevních konzervách používaných u lidí [51,58].

5.2.2.4 Zearelenony

Zearelenon, i přesto, že nemá steroidní strukturu, tak má podobné účinky steroidních hormonů estrogenů, a proto může vyvolat potraty a dočasnou sterilitu. Je produkován některými druhy rodu *Fusarium* (*F. graminearum*) a *Myrothecium*. V organismu se

aktivuje metabolismem, asi 5 % se vyloučí močí, zbytek stolicí, během laktace asi 40 % mlékem. Zearalenon a příbuzné látky byly prokázány v kukuřici, drůbeži i v používaném krmivu. Problémy také mohou nastat při konzumaci naklíčeného obilí a dalších semen, kdy během klíčení dochází k nárůstu mykotoxinů [51,54,58].

Zearalenon není pravděpodobně karcinogenní, i když podporuje rozvinutý karcinom. Pro zjištění rizika u lidí byly použity dospělé opičí samice. Nebyl však zjištěn žádný hormonální efekt při příjmu nižším než 50 μ g zearalenonu/kg tělesné hmotnosti denně. Zearalenon může u lidí i hospodářských zvířat způsobovat hyperestrogenismus [58].

II. PRAKTICKÁ ČÁST

6 CÍLE PRÁCE

V diplomové práci byly stanoveny tyto cíle:

- zpracování legislativních požadavků týkajících se výroby a bezpečnosti pokrmů,
- charakterizování hotových pokrmů a případných změn nutričních hodnot v průběhu sterilace,
- popsání případných onemocnění z potravin dle možných původců,
- úprava vzorků pro rozbor a prořezání obalu vždy u poloviny sady daného vzorku,
- lyofilizace vzorků hotových pokrmů,
- provedení stanovení sušiny a mikrobiální analýzy vzorků na živných půdách v týdenních intervalech po celkovou dobu skladování čtyř týdnů při chladírenské teplotě, vždy provedení rozboru vzorku s prořezaným a nepoškozeným obalem paralelně,
 - vyhodnocení výsledků a jejich diskutování s jinými autory,
 - vypracování závěrů pro další využití v potravinářské praxi.

7 POUŽITÝ MATERIÁL A METODIKA PRÁCE

7.1 Použitý materiál

Pro účely této práce a pro rozbor byly použity dvě sady pasterovaných hotových jídel – Svíčková na smetaně s houskovými knedlíky a Vepřová játra s rýží. Tyto hotové pokrmy byly vyrobeny a poskytnuty firmou Hamé a.s. Kunovice dne 14. 10. 2009.

7.1.1 Svíčková na smetaně s houskovými knedlíky

Svíčková na smetaně s houskovými knedlíky bylo pasterované hotové jídlo o hmotnosti obalu 500g. Tento hotový pokrm byl zabalen v dělené plastové misce potažené fólií. Miska byla rozdělena na dvě části, tzn. na přílohu (4–5 knedlíků) a omáčku s masem.

Svíčková na smetaně a její složení dle výrobce uvedené na obalu:

- voda,
- knedlík (pšeničná mouka, voda, vejce, droždí, sůl) – 34 % hmotnostních,
- hovězí maso – 11 % hmotnostních,
- přísady (rostlinný tuk, zahuš'ovadlo, modifikovaný škrob, cukr, maltodextrin, pšeničná mouka, mléčná bílkovina, sůl, koření a aromatické látky, rostlinná bílkovina),
 - celer, cibule,
 - vepřové sádlo,
 - sůl.

Na obalu bylo upozornění, že hotové jídlo obsahuje lepek, vejce, mléčný produkt a celer, tyto složky mohou být pro člověka možnými alergeny.

Obsah masa v okamžiku zpracování byl na obale uveden 11 % hm., přičemž část pevné složky masa přechází zpracováním do omáčky. Na obalu byla uvedená doporučená teplota skladování 0–5 °C.

Na obale byly uvedeny pro spotřebitele postupy úpravy pokrmů před konzumací, tj. v mikrovlnné troubě nebo ve vodě.

1. Postup přípravy v mikrovlnné troubě: před ohřevem by měl konzument propíchnout krycí fólii (misku s přílohou 1krát, druhou misku 3krát) a ohřívat cca 3,5 min. při výkonu 750 W, poté je nutno krycí fólii odříznout.

2. Postup při přípravě ve vodě: bez porušení fólie by se mělo jídlo ohřívat cca 15 min., nesmí se však vařit. Po uplynutí doby ohřevu je nutno odříznout krycí fólii.

7.1.2 Vepřová játra s rýží

Vepřová játra s rýží byla rovněž pasterovaným hotovým pokrmem o hmotnosti 530g. Doporučená teplota skladování 0–5 °C. Postup přípravy pro konzumenta tohoto jídla byl stejný jako u Svíčkové na smetaně s houskovými knedlíky. Miska byla také rozdělena na dvě části – přílohu (rýže) a omáčka s kousky vepřových jater, a překryta průhlednou fólií.

Vepřová játra s rýží a jejich složení dle výrobce uvedené na obalu:

- voda,
- rýže – 16,2 % hm.,
- vepřová játra – 14 % hm.,
- cibule,
- rostlinný olej,
- pšeničná mouka,
- sůl,
- uzená vepřová slanina,
- zahušťovadlo: pšeničný modifikovaný škrob,
- koření, stabilizátory: E 322, E 466, E 412,
- cukr.

Jako možný alergen byl na obale uveden lepek.

Obsah jater v okamžiku zpracování je dle výrobce 14 % hm., avšak část pevné složky jater přechází dle údajů výrobce do omáčky.

7.2 Použité živné půdy, pomůcky a zařízení

Pro úpravu vzorků, stanovení sušiny a pro lyofilizaci byla použita řada pomůcek a zařízení. V průběhu mikrobiologického šetření vzorků hotových pokrmů bylo použito celkem 5 živných půd, dále fyziologický roztok, četné množství pomůcek a různé typy zařízení.

7.2.1 Živné půdy

Plate Count Agar (PCA): obsah přípravku v balení 500 g, Standard Methods Agar

Použití: Pro stanovení počtu mikroorganismů v potravinách a vodě.

Příprava: Na 1 000 ml destilované vody bylo naváženo 23,5 g přípravku PCA do infuzní láhve, v pořadí přípravek PCA a následně destilovaná voda. Obsah láhve byl dokonale

promíchán až do úplného rozpuštění přípravku PCA a následně autoklávován při teplotě 123 °C po dobu 15 minut. Následně byl agar rozlit na Petriho misky a nechal se utuhnout.

Složení:

enzymatický hydrolyzát kaseinu	5,0 g/l
kvasničný extrakt	2,5 g/l
glukosa	1,0 g/l
agar	15,0 g/l

Konečné pH při 25 °C: $7,0 \pm 0,2$.

Mannitol Salt Agar (MSA): obsah přípravku v balení 500g.

Použití: Selektivní médium pro izolaci patogenních stafylokoků.

Příprava: Na 1 000 ml destilované vody bylo naváženo 111 g přípravku MSA. Naváželo se do infuzní láhve a následně se přilila destilovaná voda. Obsah láhve byl důkladně promícháván do úplného rozpuštění naváženého přípravku MSA. Směs rozpuštěného přípravku v destilované vodě byla následně autoklávována při teplotě 123 °C po dobu 15 minut. Po sterilaci byl agar rozlit na Petriho misky.

Složení:

proteosový pepton	10,0 g/l
hovězí extrakt	1,0 g/l
NaCl	75,0 g/l
D-mannitol	10,0 g/l
agar	15,0 g/l
fenolová červeň	0,025 g/l

Konečné pH při 25 °C: $7,4 \pm 0,2$.

Slanetz and Bartley Medium (SB): obsah přípravku v balení 500 g.

Použití: Živná půda je vhodná pro detekci a stanovení počtu bakterií rodu *Enterococcus* ssp.

Příprava: Bylo naváženo 38,53 g přípravku SB do 1 000 ml destilované vody. Infuzní láhev s přípravkem SB a destilovanou vodou byla promíchávána do úplného rozpuštění přípravku. Půda byla následně sterilována při teplotě 123 °C po dobu 15 minut, poté byl agar rozlit na připravené Petriho misky.

Složení:

tryptosa	20,0 g/l
kvasničný extrakt	5,0 g/l
dextrosa	2,0 g/l
hydrogenfosforečnan (di)draselný	4,0 g/l
azid sodný	0,4 g/l
trifenyltetrazolium chlorid	0,1 g/l
agar	15,0 g/l

Konečné pH při 25 °C: $7,2 \pm 0,2$.

Violet Red Bile Agar (VRBA = VČŽL = agarová živná půda s krystalovou violetí, neutrální červení, žlučovými solemi a laktózou): obsah přípravku v balení 500 g.

Použití: Vhodná pro selektivní izolaci a stanovení počtů koliformních bakterií z vody a potravin.

Příprava: Na 1 000 ml destilované vody bylo naváženo 38,5 g přípravku VRBA. Po dokonalém rozpuštění byl vzniklý roztok živné půdy sterilován v autoklávu při teplotě 123 °C po dobu 15 minut a následně byl agar rozlit na Petriho misky.

Složení:

masový pepton	7,0 g/l
kvasničný extrakt	3,0 g/l
žlučové soli, směs	1,5 g/l
laktosa	10,0 g/l
NaCl	5,0 g/l
neutrální červeň	0,03 g/l
krystalová violet'	0,002 g/l
agar	12,0 g/l

Konečné pH při 25 °C: $7,4 \pm 0,2$.

Chloramphenicol Yeast Glucose Agar (CHYGA): obsah přípravku v balení 500g.

Použití: Živná půda vhodná pro izolaci a stanovení počtu kvasinek a plísní.

Příprava: Na 1 000 ml destilované vody bylo naváženo 41,1 g přípravku CHYGA. Po dokonalém rozpuštění byl roztok sterilován v autoklávu při teplotě 123 °C po dobu 15 minut a následně byla půda rozlita na připravené Petriho misky.

Složení:

kvasničný extrakt	5,0 g/l
dextrosa	20,0 g/l
chloramfenikol	0,1 g/l
agar	14,9 g/l

Konečné pH při 25 °C: $6,6 \pm 0,2$.

Fyziologický roztok:

Použití: Fyziologický roztok používáme při úpravách a homogenizaci vzorku, dále pak při přípravě ředění.

Příprava: V 1 000 ml destilované vody bylo rozpuštěno 9 g NaCl, dále byl vzniklý roztok sterilován v autoklávu podobně jako živné půdy při teplotě 123 °C po dobu 15 minut a po vychlazení používán k úpravám studovaných vzorků včetně ředění.

Složení: Jedná se o 0,9% vodný roztok chloridu sodného, čili jeho složení lze vyjádřit jako NaCl rozpuštěný ve vodě.

7.2.2 Pomůcky použité při experimentu

Pro mikrobiologické stanovení a stanovení sušiny byly použity následující pomůcky:

- sterilní lžíce,
- nůž,
- váženky (vysoušečky) na stanovení sušiny s tyčinkami, mořský písek,
- kádinky,
- stojan,
- odměrné válce,
- Petriho misky,
- pipety,
- hokejky,
- exsikátor,
- mikropipety = pipety používané k odměřování malých objemů kapalin (od 0,001 ml až 5 ml).



Obr. 2. Mikropipety [58].

- Špičky = vyměnitelné nástavce k mikropipetám, do špiček je pipetovaná kapalina nasávána. Obvykle se uvádí, že jsou na jedno použití, je možno je destilovanou vodou vyčistit a po případné sterilaci použít opakovaně, toto se však v praxi provádí jen velmi zřídka, a to pouze tam, kde jsou omezeny finanční prostředky. Vyrábějí se přímo pro konkrétní pipety a není možno je zaměňovat [58].



Obr. 3. Špičky do mikropipet [58].

- Laboratorní stříčky = používají se pro pohodlné nalévání kapalin do nádob s úzkým hrdlem nebo na přesně zvolené místo. Obvykle se pomocí stříček tímto způsobem nalévá voda, avšak v odůvodněných případech je možno používat je i na jiné látky nebo roztoky (např. ethanol). Je však nutno si uvědomit, že stříčky nejsou neprodyšně uzavřené, takže kapalina se z nich odpařuje [58].



Obr. 4. Stříčky používané v mikrobiologii [58].

7.2.3 Zařízení použitá při rozborech

V průběhu mikrobiologických rozborů a stanovení sušiny byla použita tato zařízení:

- elektrické analytické váhy = u vah je důležitý jejich pracovní rozsah (tedy údaj o tom, jaké nejtěžší těleso se na ně smí umístit) a citlivost. Aby se váhy nepoškodily, musejí

být umístěny ve stínu, suchu a v prostředí bez otřesů. K tomu účelu se často umisťují do zvláštních místností (tzv. váhovna) a na speciální stůl (tzv. váhový stůl) [58].



Obr. 5. Elektrické analytické váhy [58].

- Sušárna = byla používána při stanovení sušiny a také k vysušování umytých používaných laboratorních pomůcek.



Obr. 6. Sušárny [58].

- Germicidní lampa = používá se pro dezinfekci vzduchu v místnosti, ve které dochází k dezinfekci povrchu (např. stolu, na kterém dochází k očkování).

- Termostaty,
- homogenizátor – Stomacher = pro homogenizaci vzorku po navážení a přidání fyziologického roztoku.

- Plynový kahan = slouží k zahřívání a žhání vzorků či pomůcek používaných při odběru vzorku a jeho očkování, také používán k vytvoření aseptického prostředí.



Obr. 7. Plynové kahany [58].

- Sterilizátor = má možnost zahřívání na podstatně vyšší teplotu než sušárna, obvykle je vybaven programovací jednotkou (teplota, čas). Slouží ke sterilizaci laboratorního materiálu [58].

- Autokláv = pro dosažení vyšších teplot než ve sterilizátoru je v něm přetlak.

- třepačka = míchá vzorek tím, že pohybuje celou nádobou. Třepačky se vyrábějí v různé velikosti, s možností zpracování vzorků různé velikosti, v některých případech i s možností současné temperace vzorku [58].

- chladnička,
- zařízení k provedení lyofilizace.

7.3 Příprava vzorků k jednotlivým stanovením

Hotová jídla byla vyrobena dne 14. 10. 2009 a tento den byla také převezena do univerzitní laboratoře. Byla uskladněna v lednici při teplotě 0-4 °C. Následující den byly provedeny níže uvedené rozbory a další rozbory pak následovaly vždy po týdnu skladování. Celková doba skladování byla 4 týdny. V průběhu uskladnění byly sledovány změny mikrobiologického složení a sušiny po dobu záruční doby dané výrobcem a jeden rozbor byl proveden i týden po uplynutí data spotřeby. Celkem bylo od jednoho druhu hotového jídla dovezeno vždy 10 kusů, u poloviny z nich byl naříznut obal, aby bylo možno sledovat a určit, zda je tímto ovlivněn rozvoj mikroorganismů, pokud u spotřebitele dojde k narušení obalu hotového pokrmu v průběhu uskladnění.

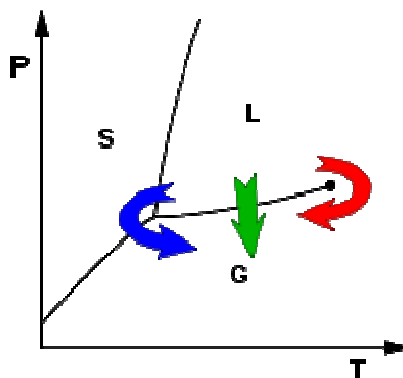
Na začátku rozboru byl obal hotového pokrmu v laboratoři dezinfikován potřením etanolem. Sterilním nožem byl v blízkosti plamene, který sloužil k vytvoření sterilního prostředí, obsah pokrmu rozřezán na menší kousky a do připravených sterilních vzorkovnic byla přenesena část určitého vzorku. Z hotového pokrmu Svíčková na smetaně s houskovým knedlíkem byly odebrány do jedné sterilní vzorkovnice části knedlíků a do další vzorkovnice vzorek masa s omáčkou. U pokrmu Vepřová játra s rýží byl opět do jedné sterilní vzorkovnice sterilní lžící přenesen vzorek rýže a do další vzorkovnice byla dána játra s omáčkou. Tento postup se opakoval každý týden a vždy po odběru do vzorkovnic následovalo mikrobiologické stanovení.

Po odběru vzorků do vzorkovnic byl zbytek daného pokrmu rozmixován, tzn., zvlášť byly rozmixovány knedlíky a dále pak omáčka spolu s masem z pokrmu Svíčková na smetaně s houskovým knedlíkem a zvlášť byla rozmixována rýže a omáčka s játry z pokrmu Vepřová játra s rýží. Po rozmixování byla část z každé přílohy a omáčky s masem použita ke stanovení sušiny a zbytek byl lyofilizován.

7.3.1 Lyofilizace

Lyofilizace neboli vakuové vymrazování, či sublimační sušení je metodou sušení vlhkých materiálů, které se využívá při sušení potravin, dále pak ve farmaceutickém a biotechnologickém průmyslu. Jedná se o metodu určenou ke konzervaci biologických vzorků a k vytvoření materiálu, jež bude výhodnější pro dopravu. Při sublimačním sušení se malé kousky výrobku určeného k sušení rychle zmrazí, a to tak, aby se minimalizovalo poškození struktury potravin vznikajícími krystalky ledu. Následně se výrobek umístí do sušárny, v které je udržován tlak nižší než je tlak vodní páry v trojném bodu (610,5 Pa) a voda tak ze zmrazené potravin sublimuje, tzn. přechází z pevné fáze (ledu) přímo do fáze plynné (vodní páry). Výhoda lyofilizace spočívá v tom, že při ní nedochází k přímému přechodu vody z kapalného do plynného skupenství, což je v mnoha případech příčina poškození sušeného materiálu. Vzhledem k tomu, že lyofilizace je poměrně složitou a nákladnou formou sušení, je omezena na ty materiály, které jsou citlivé na teplo a mají jemnou strukturu [60,61].

Ve fázovém diagramu (viz. obr. 11) je hranice mezi plynem (G) a kapalinou (L) vymezena od trojného bodu k bodu kritickému. Lyofilizace (modrá šipka v obr. 11) přenáší systém kolem trojného bodu, aby se zabránilo přímému přechodu kapalina-plyn (zelená šipka v obr. 11), který je typický pro běžné sušení [62].



Obr. 8. Fázový diagram [62].

Postup lyofilizace má tři fáze, kdy se nejdříve vlhký materiál zmrazí a následně se ve dvou krocích suší.

Zmražení: Během tohoto kroku se materiál zmrazí pod eutektický bod, tedy na teplotu, při které může existovat jen v pevném skupenství. Toto zajistí, aby nedocházelo k tání místo k sublimaci. Je nutno tuto fázi provádět velmi opatrně, aby nedošlo

k poškození původně živých buněk. Obvykle se materiál zmrazí na teplotu mezi -50–-100 °C [60,62].

První sušení: V mrazícím zařízení je snížen tlak vzduchu na několik stovek Pascalů, poté je dodáno tolik tepla (hlavně vedením a zářením), aby voda mohla začít sublimovat, takto se odstraní z materiálu asi 95 % vody. Sušení trvá obvykle několik hodin. Vzniklá vodní pára nesublimuje na chladičích, které mívají teplotu pod -50 °C, tím se zabrání vzniku vodních par do vývěvy, což by zhoršilo její účinnost [60,62].

Druhé sušení: K této fázi dochází v případech, kdy je cílem dosáhnout ještě suššího stavu materiálu. Zbytek vody, zejména zbývající nezamrzlé molekuly vody, které se drží na povrchu pevných látek díky adsorpci, se při této fázi odstraní. Během tohoto sušení se teplota v sušící komoře zvedne, někdy až nad 0 °C, což naruší vazby mezi vodou a pevným materiálem. Tlak se obvykle ještě více sníží, až na zlomky Pa. Po druhém sušení zůstává v materiálu okolo 1 až 4 % vody [60,62].

Náklady na energii a zařízení pro lyofilizaci jsou přibližně 2–3 krát vyšší než u ostatních metod sušení. Sušená potravina si tak v maximální míře zachová svou původní texturu a aroma. Tento způsob sušení se používá zejména u kávy, mléka, masa či zeleniny, ale i dalších druhů potravin. Procesem sublimačního sušení se ze vzorku odstraní většina vody, proto jsou lyofilizované materiály vysoce absorpční a přidáním vody lze obnovit vzorek téměř do původního stavu [60,61].

Pokud je lyofilizovaný materiál uzavřen a tak chráněn před vstřebáváním vlhkosti může být skladován při pokojové teplotě bez chlazení i několik let, jelikož se lyofilizací výrazně snižuje obsah vody a zabraňuje se tak působení mikroorganismů a enzymů, které by za normálních okolností mohly způsobit kažení potraviny či způsobit degradaci látek [60].

Jednotlivé části hotových jídel byly po rozmixování naváženy do hliníkových mistichek a lyofilizovány, následně byly uloženy do exsikátoru a po dostatečném vychlazení byly předány do sáčků a skladovány v mrazícím boxu. V budoucnu budou tyto lyofilizované vzorky sloužit jako materiál zkoumání pro další studenty.

7.3.2 Úprava vzorků pro mikrobiální analýzu

Při mikrobiologické analýze vzorků se postupovalo podle normy ČSN 56 0100. Vzorky byly odebrány z obalu do sterilní vzorkovnice za aseptických podmínek sterilním

nářadím. Před samotným očkovaním na připravené živné půdy bylo potřeba vzorek k mikrobiální analýze upravit. Do sterilního igelitového sáčku bylo nutno za aseptických podmínek odvážit přiměřené množství vzorku, následně zředit 10x stanoveným množstvím fyziologického roztoku (tj. 9-ti násobek hmotnosti navážky) a homogenizovat pomocí Stomacheru. V homogenizátoru byl vzorek homogenizován 1 až 2 minuty. Homogenizátor Stomacher nesmí být používán pro poživatiny, u nichž by hrozilo nebezpečí proděravění sáčku (např. přítomnost ostrých, tvrdých nebo suchých částic), nebo pro výrobky, které jsou obtížně homogenizovatelné pro svoji texturu (např. uzeniny salámového typu). Po homogenizaci byl vzniklý homogenizát za sterilních podmínek rozředěn do zkumavek.

Ředění vzorků bylo prováděno tzv. desítkovým způsobem ředění, které se připravuje přenesením 1 ml předchozí suspenze sterilní špičkou do sterilní zkumavky, do níž bylo předem nepipetováno 9 ml fyziologického roztoku tak, aby se špička mikropipety nedotkla tohoto roztoku. Obsah byl dobře promíchán buď pomocí jiné sterilní špičky, nebo krouživým pohybem míchačky na zkumavky po dobu několika sekund. Bylo důležité mít na paměti, že pro přípravu každého dalšího ředění je nutno použít jinou sterilní špičku.

Při prvních rozborech bylo připraveno první (tj. směs po homogenizaci v sáčku) a druhé ředění, v dalších týdnech se číslo ředění u některých stanovení postupně zvyšovalo, jelikož narůstalo množství narostlých mikroorganismů. Po ředění následovalo očkování za sterilních podmínek na příslušné živné půdy. Z každého ředění byly vždy paralelně očkovány 2 Petriho misky u jednotlivých stanovení. Očkování bylo prováděno výsevem kultivačního média, tj. roztěrem inokula na povrch tuhé půdy pomocí sterilní hokejky (viz. obr. 12). U každého stanovení byla vždy jedna Petriho miska ponechána bez vzorku, tzn., že Petriho miska obsahovala pouze živinou půdu, a sloužila tak jako kontrola čistoty živné půdy. Všechny Petriho misky byly řádně popsány, aby bylo ihned jasné, o které ředění a vzorek se jedná.



Obr. 9. Roztěr inokula hokejkou [64].

Doba mezi ukončením přípravy homogenizátu a započetí přípravy dalších ředění nesměla překročit 30 minut. Bylo stanovováno celkem 6 skupin mikroorganismů – celkový počet mikroorganismů, psychrotrofní mikroorganismy, stafylokoky, enterokoky, enterobakterie, kvasinky a plísně.

7.3.3 Hodnocení růstu bakterií na živných půdách v Petriho miskách

Hodnocení morfologie kolonií představuje důležitý diagnostický krok. Při posuzování bakteriálních kolonií na pevných půdách na Petriho miskách si všímáme následujících znaků:

- velikost – kolonie mohou být tečkovité nebo se jejich velikost vyjadřuje průměrem v mm,
- pigmentace – barva kolonie daná tvorbou pigmentu (např. *Micrococcus luteus* – žlutá, *Kocuria rosea* – růžová) nebo změnou barevného indikátoru v živné půdě,
- tvaru – pravidelný, okrouhlý, nepravidelný, kořenovitý, zubatý, výběžkatý (viz. obr. 13),
- okrajů – rovné, laločnaté, zvlněné, výběžkaté, zubaté, vláknité, vyvýšené,
- profilu – plochý, mírně vypouklý, vypouklý, výrazně vypouklý, pupkovitý,
- povrchu – lesklý, hladký, matný, drsný, zvrásnělý,
- transparence – průhledná, průsvitná, neprůsvitná,
- změny okolí - posuzujeme změnu barvy (produkce ve vodě rozpustných pigmentů, změna pH média – změna barvy indikátoru), na krevním agaru stupně hemolýzy erytrocytů,
- vrůstání do půdy,
- konzistence – mazlavá, máslovitá, drobivá, vosková, hlenovitá,
- zápachu – fekální, hnilobný, kyselý, nasládlý [64].



Obr. 10. Tvary kolonií na Petriho miskách [64].

7.4 Metodika jednotlivých stanovení

7.4.1 Stanovení obsahu sušiny

Voda byla stanovena rozhodčí metodou, tj. sušením s pískem. Následně byl obsah vody zjištěn z rozdílu hmotnosti vzorku před a po ukončení sušení za podmínek metody.

Podle spočítaného množství potřebných vysoušeček bylo do každé z nich naváženo asi 25 g mořského písku, do každé z vysoušeček byla vložena skleněná tyčinka a vše bylo vysoušeno 1 hodinu při teplotě 102 °C. Po vychladnutí v exsikátoru byly vysoušečky zváženy a označeny. Z připravených rozmixovaných vzorků hotových jídel (houskový knedlík, hovězí maso s omáčkou, rýže a vepřová játra s omáčkou) bylo odváženo 5 g do 3 připravených a označených váženek s předsušeným mořským pískem z každého vzorku. Vzorek byl důkladně rozmíchán s pískem. Každá váženka byla následně zvážena na analytických vahách. Vzorky byly následně vloženy do sušárny a vysoušeny při teplotě 102 °C do konstantní hmotnosti (asi 3 hodiny) za občasného promíchání skleněnou tyčinkou. Po vysoušení byly váženky vloženy do exsikátoru a po vychlazení byly opět zváženy na analytických vahách.

Obsah vody ve vzorku v hmotnostních % byl vypočten podle vztahu:

$$X_v = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_3} * 100, \quad (1)$$

kde m_1 hmotnost vysoušečky s pískem, vzorkem a tyčinkou před usušením [g],
 m_2 hmotnost vysoušečky s pískem, vzorkem a tyčinkou po usušení [g],
 m_3 hmotnost vysoušečky s pískem a tyčinkou [g] [63].

Obsah sušiny v jednotlivých vzorcích byl přepočten podle vztahu:

$$S = 100 - X_v [63]. \quad (2)$$

7.4.2 Stanovení celkového počtu mikroorganismů

Celkový počet mikroorganismů jsou aerobní a fakultativně anaerobní mikroorganismy (bakterie, kvasinky a plísňe) tvořící počitatelné kolonie, které vyrostly za podmínek metody. Tato skupina se nejvíce přibližuje absolutnímu celkovému počtu a nejlépe vystihuje stupeň mikrobiálního znečištění daného substrátu. Rozborem se nestanoví termofilní MO, psychrotrofní MO, striktní anaeroby, kultivačně náročné druhy a některé

kvasinky a plísně. CPM poskytuje základní informace o stupni mikrobiální kontaminace a dekontaminace surovin, hotových výrobků a prostředí provozoven. Z výsledků lze usuzovat úroveň technologie a dodržování hygienických směrnic při výrobě, přepravě a uskladnění. Metoda stanovení nezachycuje počet všech aktivních buněk, ale pouze počet buněk tzv. kolonie tvořící jednotky [64, 65].

Celkový počet mikroorganismů byl stanovován plotnovou metodou. Při tomto stanovení byla jako živná půda použita Plate Count agar. Do Petriho misky bylo na živnou půdu za aseptických podmínek naočkováno mikropipetou 0,1ml upraveného a naředěného vzorku. Inokulát byl rozetřen sterilní hokejkou po celém povrchu PCA. Naočkované plotny byly vloženy do termostatu dnem vzhůru, aby se zabránilo případnému ztékání z kondenzované vody na povrch živné půdy. Misky byly kultivovány v termostatu při 30 °C po dobu 48 hodin. Počet bakterií v jednom gramu vzorku byl stanoven z počtu kolonií vyrostlých na plotnách z ředění zvolených tak, aby počty narostlých kolonií poskytly hodnotitelný výsledek.

Hodnocení: Po skončení inkubace, tzn. po vytáhnutí Petriho misek z termostatu, byly pro výpočet celkového množství mikroorganismů použity misky obsahující ne více než 300 KTJ ve dvou po sobě jdoucích ředěních.

7.4.3 Stanovení počtu psychrotrofních mikroorganismů

Stanovení psychrotrofních mikroorganismů se provádí technikou počítání kolonií vyrostlých při 6,5 °C. Psychrotrofní mikroorganismy jsou bakterie, kvasinky a plísně, které za podmínek specifikovaných normou (ČSN 75 7842) vytvářejí počitatelné kolonie. Tyto bakterie mají schopnost růst při teplotách do 7 °C do 10 dní. Jedná se především o rody *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Aeromonas*, *Vibrio*, *Serratia*, *Bacillus* a mnohé další, které mají proteolytické a lipolytické vlastnosti. Celkový počet psychrotrofních mikroorganismů poskytuje základní informace o stupni mikrobiální kontaminace a dekontaminace surovin, hotových výrobků a prostředí provozoven. Z výsledků lze pak usuzovat na míru primární či sekundární kontaminace potravin z hlediska jejich chladírenského uchovávání [64, 65].

Počet psychrotrofních mikroorganismů byl stanovován na živné půdě PCA. Do dvou Petriho misek bylo paralelně naočkováno sterilní špičkou 0,1 ml zkoušeného vzorku. Stejným způsobem bylo provedeno očkování i z připravených ředění. Inokulum bylo rozetřeno sterilní skleněnou hokejkou a necháno vsáknout do živného média. Naočkované

plotny byly kultivovány dnem vzhůru v lednici při chladírenské teplotě (do max. 10 °C) po dobu 7 dní. Počet psychrotrofních mikroorganismů v jednom gramu byl po kultivaci stanoven z počtu kolonií vyrostlých na plotnách jednotlivých ředění tak, aby počty těchto kolonií poskytly hodnotitelný výsledek.

Hodnocení: Po skončení inkubace byly pro výpočet počtu psychrotrofních mikroorganismů použity misky obsahující ne více než 10–300 KTJ ve dvou po sobě jdoucích ředěních.

7.4.4 Stanovení koliformních bakterií (enterobakterie)

Koliformní bakterie jsou gramnegativní fakultativně anaerobní tyčinky z čeledi *Enterobacteriaceae*. Kmeny patřící mezi koliformní bakterie jsou součástí střevní mikroflóry člověka a hospodářských zvířat, současně se vyskytují i ve vnějším prostředí. Patří sem *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae* a zástupci rodů *Klebsiella* a *Citrobacter*. V potravinářské mikrobiologii mají význam jako indikátorové mikroorganismy. Jsou indikátory sekundární kontaminace potravin, indikátory správné sanitace technologického zařízení a nářadí, v pitné vodě jsou indikátorem její jakosti. Koliformní bakterie jsou bakterie, které při určité teplotě (30 °C, 35 °C a 37 °C) tvoří charakteristické kolonie v půdě s krystalovou violetí, neutrální červení, žlučí a laktózou. 30 °C je pro účel technologický, 37 °C je pro vyšetření v souvislosti s ochranou zdraví lidí [64, 65].

Zkoušený vzorek byl po úpravě a ředění naočkován v objemu 0,1 ml vždy paralelně na 2 Petriho misky z každého ředění. Očkování bylo prováděno na živnou půdu VRBA (VČŽL). Po vsáknutí inokulátu do média byly plotny inkubovány dnem vzhůru v termostatu při teplotě 37 °C po dobu 24 hodin. Počet koliformních bakterií v jednom gramu zkoumaného vzorku byl stanoven z počtu charakteristických kolonií, jež vyrostly na plotnách po kultivaci. Charakteristické kolonie koliformních bakterií jsou fialově červené o průměru 0,5 mm a větší, někdy obklopené červenou zónou precipitace.

Hodnocení: Po skončení inkubace byly spočítány charakteristické kolonie na plotnách s 15 – 150 charakteristickými koloniemi. Barva kolonií byly jasně růžová, světle růžová až fialová se světlejším až bezbarvým okrajem.

7.4.5 Stanovení počtu enterokoků

Zástupci bakteriálního rodu *Enterococcus* se vyskytují jako saprofyty a komenzálové trávicího ústrojí člověka a zvířat. Jsou značně rozšířené ve stájích a povrchových vodách. Enterokoky jsou poměrně rezistentní, přežívají záhřev při 60 °C po dobu 30 min. Intestinální enterokoky jsou grampozitivní koky, které často tvoří diplokoky. Převládající počet kmenů tzv. fekálních enterokoků náleží k druhům *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus avium*. Výskyt enterokoků v potravinách nelze dávat do souvislosti s přímou kontaminací fekáliemi, protože se enterokoky nezávisle na fekálním znečištění nacházejí i v životním prostředí. U některých potravin ukazuje jejich zvýšená přítomnost na nedostatečné zahřátí nebo kontaminaci z pracovních ploch, které nebyly dostatečně očištěny a dezinfikovány [66].

Očkování vzorků bylo provedeno na živnou půdu Slanetz-Bartley. Vždy bylo paralelně na dvě Petriho misky nepipetováno 0,1ml upraveného či popřípadě naředěného vzorku. Inokulát byl rozetřen sterilní hokejkou. Naočkované živné půdy byly vloženy dnem vzhůru do termostatu a kultivovány při teplotě 37 °C po dobu 24 hodin.

Hodnocení: Po skončení kultivace byly spočítány charakteristické kolonie na miskách s 15 – 150 charakteristickými koloniemi tmavě růžového až hnědočerveného zbarvení.

7.4.6 Stanovení počtu kolonií stafylokoků

Stafylokoky jsou mezofilní bakterie, jedná se o nepohyblivé koky s průměrem 0,5–1,0µm. Jsou fakultativně anaerobní, s chemoautotrofním typem metabolismu. I přesto, že netvoří spory, jsou poměrně odolné proti vlivům vnějšího prostředí, dlouhodobě přežívají i při teplotách blízcích se bodu mrazu, při teplotě +60 °C přežijí půl hodiny. Podle produkce koagulázy, enzymu, který mění fibrinogen na fibrin, se rod rozlišuje na dvě velké skupiny, koaguláza pozitivní a koaguláza negativní stafylokoky. Některé koaguláza pozitivní stafylokoky mají dále schopnost tvořit pouzdro a exotoxiny, jako jsou hemolyziny, enterotoxiny nebo toxiny syndromu toxického šoku. Mezi stafylokoky je také rozšířená rezistence vůči antibiotikům, známé a nebezpečné jsou methicilin-rezistentní *Staphylococcus aureus* = MRSA stafylokok [64, 65].

Hodnocení: K výpočtu byly použity plotny, které obsahovaly 15–150 kolonií po kultivaci. Charakteristické kolonie jsou oranžového, žlutého až krémovitého zbarvení.

7.4.7 Stanovení kvasinek a plísní

Kvasinky a plísně jsou mikroorganismy, které při aplikaci metody tvoří kolonie na selektivní půdě při 25 °C. Tyto mikroorganismy mají pozitivní i negativní význam. Mohou být producenty mykotoxinů, původci kažení potravin nebo indikátorem mikrobiologické jakosti potravin. Vyznačují se významnou proteolytickou, lipolytickou a sacharolytickou aktivitou, někdy jsou termorezistentní. Způsobují kažení masa a masných výrobků i při chladírenském skladování, kažení salátů a majonéz [64].

Zkoušený vzorek byl po úpravě a přípravě ředění nanesen v objemu 0,1 ml na připravenou plotnu obsahující živnou půdu CHYGA, následně byl rozetřen sterilní hokejkou a vložen dnem vzhůru do prostoru o teplotě 25 °C (v krabici do skříně) po dobu 7 dní.

Hodnocení: Po skončení kultivace byly pro výpočet použity misky obsahující ne více než 150 KTJ. Byly spočítány zvlášť kvasinky a zvlášť plísně.

7.4.8 Způsoby výpočtu počtu mikroorganismů

Z naočkovaných ploten po kultivaci byly spočítány počty kolonií na každé z živných půd. Pro správnost výsledků bylo důležité, aby alespoň jedna naočkovaná Petriho miska, která byla vybrána pro výpočet mikroorganismů ve vzorku obsahovala minimálně 15 kolonií. Pro zjišťování počtu určitých mikroorganismů na jednotlivých živných půdách byly pro výpočet použity 2 vzorce.

Počet mikroorganismů přítomných ve zkušebním vzorku se vypočítá jako vážený průměr ze dvou po sobě jdoucích ředění podle následujícího vzorce:

$$N = \frac{\sum C}{V * (n_1 + 0,1 * n_2) * d}, \quad (3)$$

kde	N	počet mikroorganismů ve vzorku,
	$\sum C$	součet kolonií mikroorganismů ve vybraných miskách,
	n_1	počet vybraných misek z prvního (nižšího) ředění,
	n_2	počet vybraných misek z druhého (vyššího) ředění,
	d	ředící faktor odpovídající prvnímu (nižšímu) pro výpočet použitému ředění,
	V	objem inokula v ml očkovaného na každou plotnu [64].

Výsledek se zaokrouhlí tak, aby obsahoval pouze dvě platné číslice (různé od nuly). Je-li poslední číslice čísla určeného k zaokrouhlení nižší než 5, předchozí číslice se nemění. Je-li poslední číslice čísla určeného k zaokrouhlení 5 nebo vyšší než 5, předchozí číslice se zvýší o hodnotu jedna. Takto se postupuje až do získání dvou platných číslic. Výsledek se vyjádří jako počet mikroorganismů v jednom gramu, a to jako číslo 1,0 až 9,9 násobené 10^x , kde x je příslušná mocnina 10 [64].

Pokud na dvou plotnách s naočkovaným neředěným vzorkem vyrostlo méně než 15 kolonií, pak byl počet mikroorganismů v 1 g vzorku vypočítán jako aritmetický průměr počtu narostlých kolonií na obou Petriho miskách a výsledek byl vyjádřen jako odhad počtu mikroorganismů v gramu vzorku.

Počet mikroorganismů vypočet z aritmetického průměru se vyjádří jako:

$$N_E = \frac{y}{d}, \quad (4)$$

kde N_E odhad počtu mikroorganismů v gramu,
 y aritmetický průměr počtu kolonií,
 d ředící faktor výchozí suspenze [64].

Pokud na dvou naočkovaných Petriho miskách neředěného vzorku nenarostly žádné kolonie, pak byl výsledek vyjádřen jako: méně než $1/d$ mikroorganismů v jednom gramu vzorku.

8 VÝSLEDKY A DISKUSE

Pro účely zkoumání byly použity dvě sady hotových výrobků – Svíčková na smetaně s houskovými knedlíky a Vepřová játra s rýží, u každého z těchto výrobků byl u poloviny sady protržen obal, aby bylo možno sledovat vliv skladování na rozvoj mikroorganismů. Tyto výrobky byly skladovány v lednici po dobu 4 týdnů, v průběhu každého týdne byly podrobeny rozborům: stanovení sušiny a dále mikrobiální analýze (stanovení CPM, psychrotrofních a koliformních bakterií, stafylokoků, enterokoků, kvasinek a plísní). U Svíčkové na smetaně s houskovými knedlíky byly analýzám podrobeny zvlášť knedlíky a zvlášť omáčka s masem a u hotového pokrmu Vepřová játra s rýží byly rozborům podrobeny vždy rýže samostatně a játra s omáčkou rovněž.

Výsledky stanovení sušiny byly statisticky vyhodnoceny, byla stanovena průměrná sušina po každém týdnu skladování, dále směrodatná odchylka a variační koeficient. U mikrobiologických analýz tyto statistické veličiny nebyly stanoveny.

8.1 Stanovení sušiny

Postup stanovení sušiny je popsán v kapitole 7.4.1. Sušina byla počítána pomocí vztahů (1) a (2). V průběhu skladování docházelo ke změnám sušiny vlivem vysychání, či vlhnutí skladované potraviny.

8.1.1 Svíčková na smetaně s houskovými knedlíky

U hotového pokrmu Svíčková na smetaně s houskovými knedlíky byla stanovována sušina knedlíků a sušina omáčky společně s vepřovým masem.

8.1.1.1 Sušina u knedlíku

Hodnota sušiny houskového knedlíku u hotového pokrmu byla ihned po přivezení do laboratoře $54,29 \pm 0,28$ %. Další obsahy sušiny hotových pokrmů Svíčková na smetaně s houskovým knedlíkem, jež byly skladovány po dobu 4 týdnů v neporušeném obalu, jsou uvedeny v tab. 5, a které byly skladovány v obalu porušeném, jsou uvedeny v tab. 5.

Tab. 5. Procentuální obsah sušiny knedlíků skladovaných v neporušeném obalu

doba skladování	sušina [%]	S. D.	CV [%]
0. týden	54,29	0,28	0,5
1. týden	53,32	1,19	2,2
2. týden	52,08	0,92	1,8
3. týden	53,3	0,57	1,1
4. týden	53,78	0,19	0,4

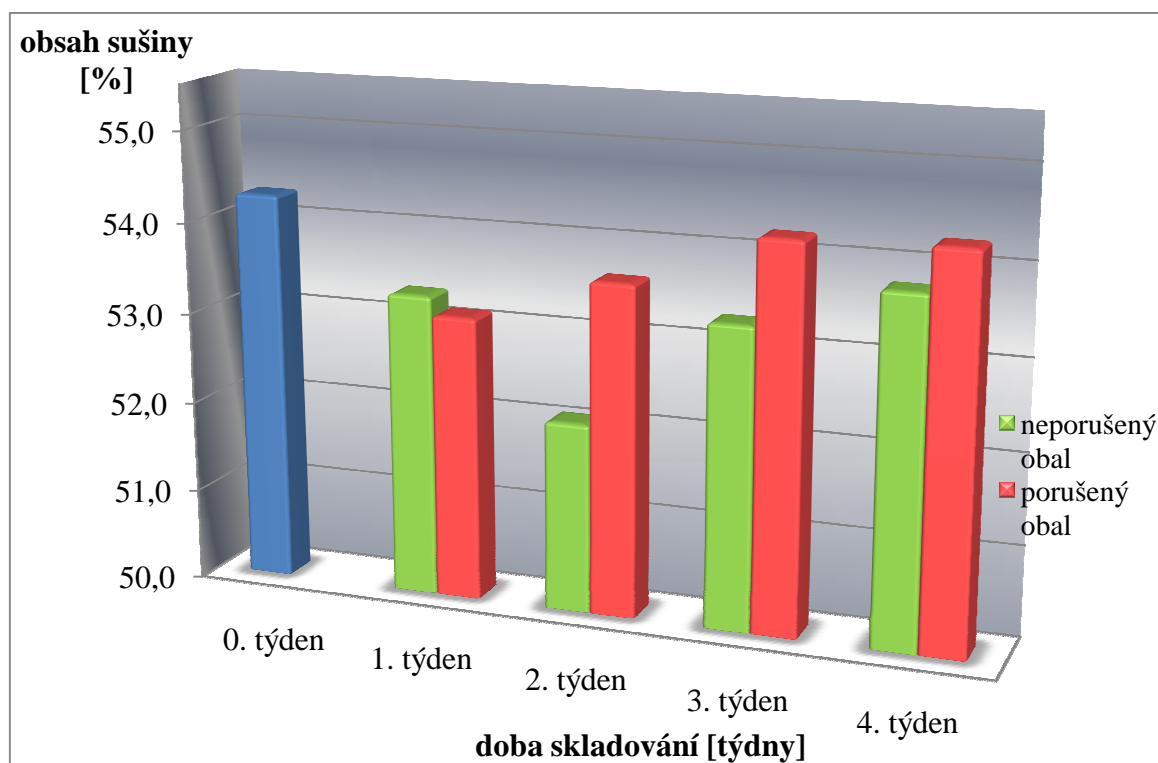
Tab. 6. Procentuální obsah sušiny knedlíků skladovaných v protrženém obalu

doba skladování	sušina [%]	S. D.	CV [%]
0. týden	54,29	0,28	0,5
1. týden	53,12	0,21	0,4
2. týden	53,63	0,94	1,8
3. týden	54,22	0,08	0,2
4. týden	54,26	0,02	0,03

Z chemické analýzy stanovení sušiny knedlíků v obou typech obalu vyplývá, že v průběhu čtyřtýdenního skladování vzorků nedocházelo k výrazným změnám sušiny.

Pro lepší porovnání sušiny vzorků knedlíků u hotového pokrmu Svíčková na smetaně s houskovým knedlíkem s neporušeným a narušeným obalem jsou zjištěné hodnoty sušiny znázorněny do grafu 1.

Graf 1 znázorňuje změny sušiny knedlíků v průběhu skladování v obalu neporušeném a porušeném. Sušina vzorku knedlíků u hotového pokrmu v neporušeném obalu se po prvním a druhém týdnu skladování snížila, avšak po třetím a čtvrtém týdnu skladování se hodnota sušiny mírně zvýšila. Lze tedy říci, že nejdříve došlo k vlhnutí knedlíků a následně k jejich vysychání po 3. týdnu skladování. U knedlíků, které byly skladovány v porušeném obalu, došlo po prvním týdnu skladování rovněž k poklesu hodnoty sušiny, na rozdíl od pokrmu s obalem neporušeným se po druhém až čtvrtém týdnu skladování sušina zvyšovala, z čehož vyplývá, že došlo k dřívějšímu vlhnutí knedlíků, jež mohlo být důsledkem protrženého obalu.



Graf 1. Sušina knedlíků v průběhu skladování

U vzorků houskových knedlíků hotového pokrmu Svíčková na smetaně s houskovým knedlíkem, které byly skladovány v obalu neporušeném a narušeném, hodnota sušiny v průběhu 4 týdnů skladování nikdy nepřevýšila obsah sušiny původní, tzn. sušiny, jež byla naměřena ihned po výrobě a převezení daného hotového pokrmu do laboratoře.

8.1.1.2 Sušina svíčkové omáčky s vepřovým masem

Sušina vepřového masa s omáčkou byla stanovena před skladováním a její hodnota byla $24,75 \pm 0,10$ %. Po tomto prvním stanovení byla provedena další stanovení v každém následujícím týdnu skladování a zjištěné hodnoty sušiny pro skladování v neprotrženém obalu jsou uvedeny v tab. 7 a skladování v obalu protrženém v tab. 8.

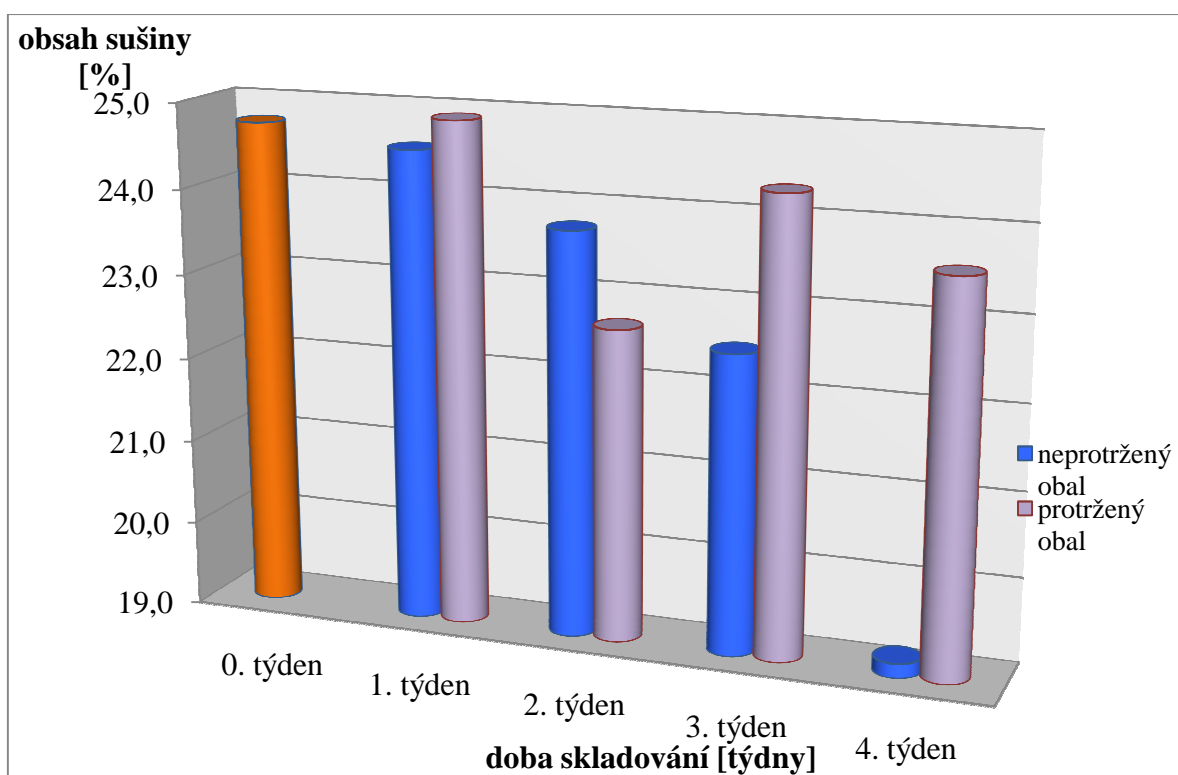
Tab. 7. Sušina svíčkové omáčky s vepřovým masem skladované v neprotrženém obalu

doba skladování	sušina [%]	S. D.	CV [%]
0. týden	24,75	0,10	0,0041
1. týden	24,54	0,09	0,0036
2. týden	23,75	1,67	0,0703
3. týden	22,51	1,52	0,0676
4. týden	19,17	1,76	0,0921

Tab. 8. Procentuální obsah sušiny svíčkové omáčky s vepřovým masem skladované v protrženém obalu

doba skladování	sušina [%]	S. D.	CV [%]
0. týden	24,75	0,10	0,4
1. týden	24,90	0,18	0,7
2. týden	22,67	0,60	2,6
3. týden	24,32	0,23	0,9
4. týden	23,56	0,23	1,0

Hodnota sušiny svíčkové omáčky s vepřovým masem v neporušeném obalu v průběhu skladování po dobu 4 týdnů v celkovém rozmezí 19,17 % až 24,54 %. U vzorku, jenž byl skladován v porušeném obalu, byla sušina při skladování v rozmezí 22,67 % až 24,90 %.



Graf 2. Sušina svíčkové omáčky s masem v průběhu skladování

V grafu 2 jsou zaznamenány změny sušiny daných vzorků v průběhu skladování po dobu čtyř týdnů. U vzorku s nepotrženým obalem se hodnota sušiny v závislosti na době skladování postupně snižovala, tzn. docházelo k postupnému vlhnutí zkoumaného vzorku. U vzorku, jenž byl skladován v protrženém obalu, se po prvním týdnu skladování sušina

mírně zvýšila, po dalším týdnu se hodnota snížila, ve třetím týdnu pak zvýšila a po čtvrtém týdnu opět snížila. Toto kolísání sušiny může být způsobeno právě protržením obalu, kdy se do pokrmu mohla dostat, případně z něj odpařit voda.

Obsah sušiny u vzorku svíčkové omáčky s vepřovým masem hotového pokrmu Svíčková na smetaně s houskovými knedlíky v průběhu skladování nepřevyšil původní stanovenou hodnotu sušiny. Výjimku tvořil vzorek v porušeném obalu po prvním týdnu skladování, kde byla prvotní hodnota sušiny mírně překročena.

8.1.2 Vepřová játra s rýží

U pasterovaného hotového pokrmu vepřová játra s rýží byla stanovována sušina rýže a sušina vepřových jater s omáčkou po celkovou dobu skladování 4 týdnů.

8.1.2.1 Sušina rýže

Sušina rýže po přivezení do laboratoře byla $31,67 \pm 0,13$ %. Obsahy sušin v průběhu skladování 4 týdnů v protrženém a neprotrženém obalu jsou shrnuty v tab. 9 a tab. 10.

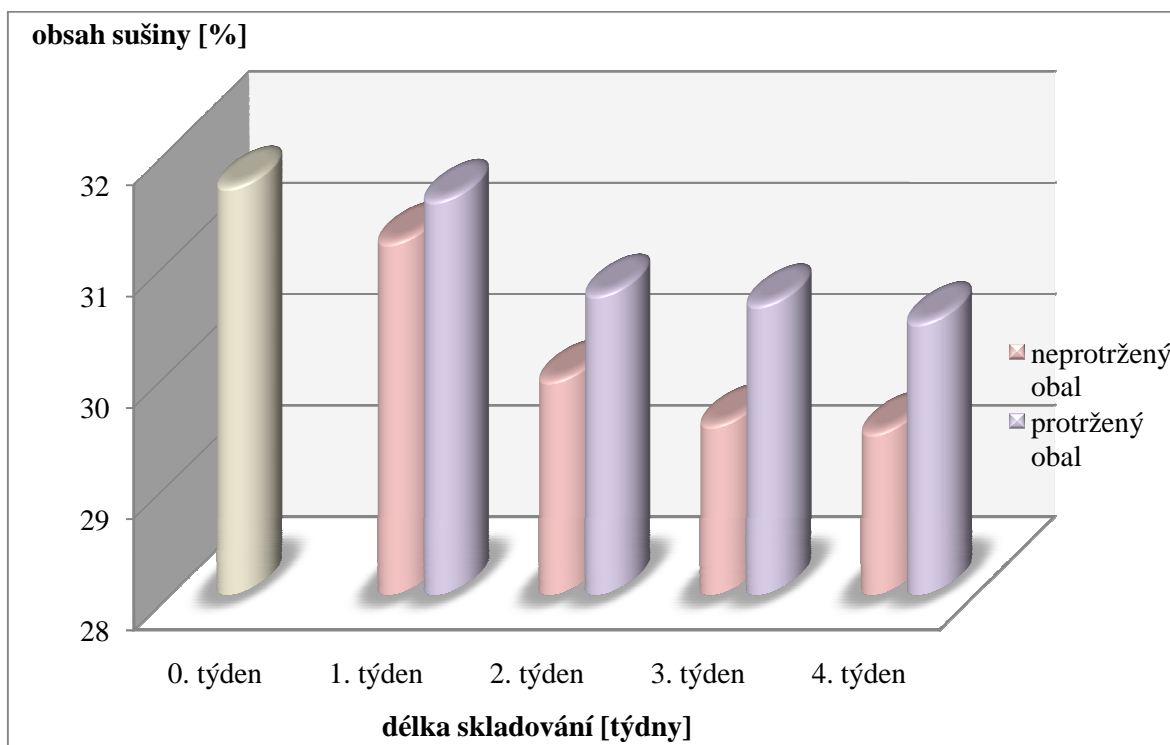
Tab. 9. Procentuální obsah sušiny rýže v průběhu skladování v neprotrženém obalu

doba skladování	sušina [%]	S. D.	CV [%]
0. týden	31,67	0,13	0,4
1. týden	31,17	0,42	1,4
2. týden	29,93	0,80	2,7
3. týden	29,53	0,19	0,7
4. týden	29,46	0,03	0,1

Tab. 10. Procentuální obsah sušiny rýže v průběhu skladování v protrženém obalu

doba skladování	sušina [%]	S. D.	CV [%]
0. týden	31,67	0,13	0,4
1. týden	31,55	0,36	1,1
2. týden	30,7	1,18	3,9
3. týden	30,61	0,21	0,7
4. týden	30,45	0,35	1,2

Sušina rýže byla stanovována po týdnu skladování po celkovou dobu skladování 4 týdnů v protrženém obalu v rozmezí 29,46 % až 31,17 % a v obalu protrženém 30,45 % až 31,55 %.



Graf 3. Změny sušiny rýže v průběhu skladování

Z grafu 3 lze říci, že u rýže v obalu protrženém i neprotrženém, se hodnota sušiny v průběhu skladování snižovala, tudíž docházelo k jejímu postupnému vlhnutí. Sušina rýže skladované v obalu protrženém, byla v jednotlivých týdnech vždy vyšší než sušina rýže v obalu nenarušeném.

8.1.2.2 Vepřová játra s omáčkou

Na počátku stanovení byla hodnota sušiny vepřových jater s omáčkou $17,96 \pm 0,74$ %, sušina zjištěná v dalších týdnech v obalu neporušeném je uvedena v tab. 11 a v obalu protrženém v tab. 12.

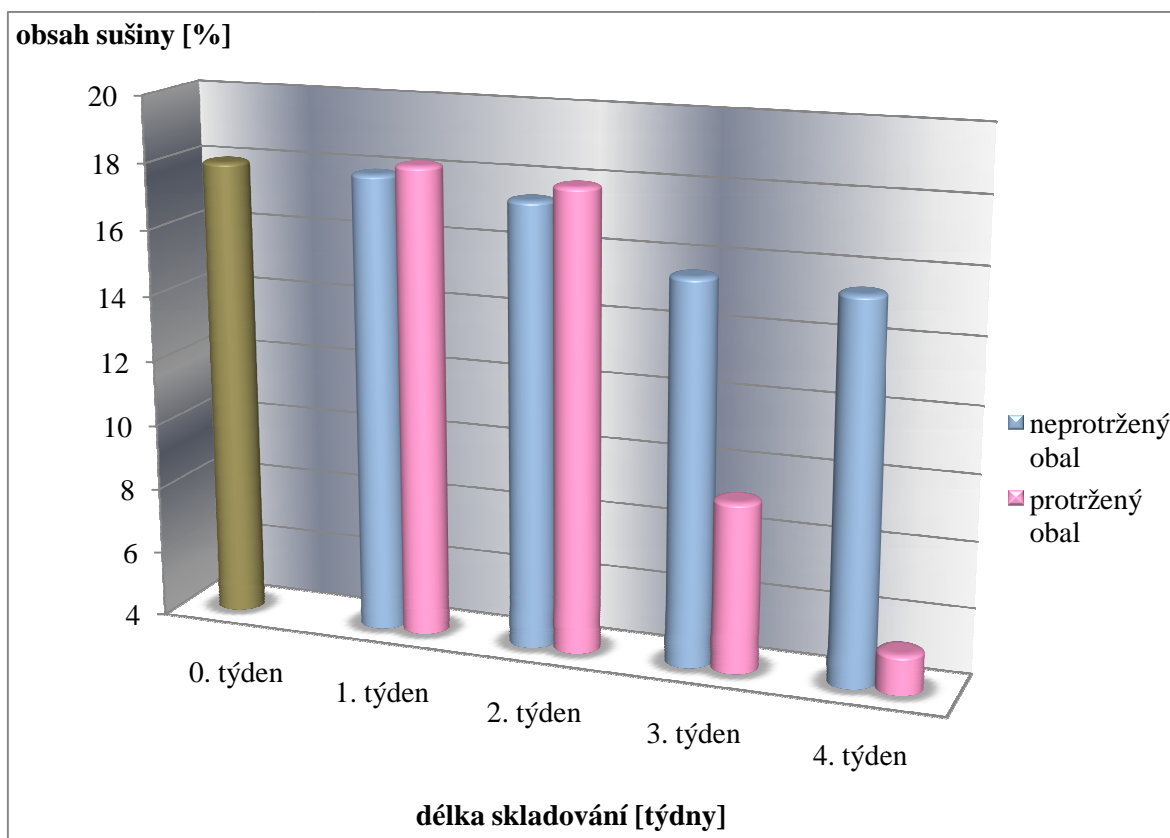
Tab. 11. Procentuální obsah sušiny vepřových jater s omáčkou skladovaných v obalu neprotrženém

doba skladování	sušina [%]	S. D.	CV [%]
0. týden	17,96	0,74	4,1
1. týden	17,88	0,16	0,9
2. týden	17,42	0,81	4,7
3. týden	15,57	0,91	5,9
4. týden	15,44	0,20	1,3

Tab. 12. Procentuální obsah sušiny vepřových jater s omáčkou skladovaných v obalu protrženém

doba skladování	průměrná sušina [%]	směrodatná odchylka	variální koeficient
0. týden	17,96	0,74	4,1
1. týden	18,21	0,25	1,4
2. týden	17,90	0,81	4,5
3. týden	9,15	1,28	13,7
4. týden	5,20	0,83	15,6

V průběhu čtyřtýdenního skladování hotového pokrmu Vepřová játra s rýží docházelo ke změnám hodnot sušiny vepřových jater s omáčkou. Sušina vepřových jater s omáčkou byla v obalu neprotrženém v průběhu 4 týdnů v rozmezí 15,44 % až 17,88 % a při skladování v protrženém obalu v rozmezí 5,20 % až 18,21 %. Průběh změn hodnot sušin v jednotlivých týdnech skladování u vzorků v obou typech obalu vyjadřuje graf 4.



Graf 4. Změny sušiny vepřových jater s omáčkou

U vzorku vepřových jater s omáčkou skladovaných v neprotrženém obalu docházelo k postupnému snižování sušiny, čili k vlhnutí potraviny s prodlužující se dobou skladování. Zatímco u vzorku jater v protrženém obalu se po prvním týdnu skladování sušina zvýšila a v následujících týdnech se snižovala. U tohoto vzorku byl zaznamenán velký rozdíl mezi hodnotou sušiny původní a sušiny na po ukončení skladování, tj. po čtvrtém týdnu skladování.

Sušina pasterovaných hotových jídel se v průběhu skladování měnila vlivem odpařování vody (vysycháním), popř. vlhnutím. Hodnoty sušiny pro jednotlivá pasterovaná jídla, případně pro jejich části nebylo možno srovnat s jinými autory, jelikož jsem žádné údaje týkající se těchto výrobků nenašla.

8.2 Stanovení celkového počtu mikroorganismů

Celkový počet mikroorganismů byl stanovován u houskových knedlíků a svíčkové omáčky s vepřovým masem hotového pasterovaného pokrmu Svíčková na smetaně s houskovými knedlíky, dále u rýže a vepřových jater s omáčkou u pasterovaného hotového pokrmu Vepřová játra s rýží. Metodika stanovení je popsána v kapitole 7.4.2.

Celkový počet mikroorganismů je považován za indikátor hygienické jakosti a může také představovat možný výskyt původců alimentárních onemocnění člověka.

Vzorky byly kultivovány na živné půdě PCA při teplotě 30 °C po dobu 48 hodin. Narostené kolonie byly spočítány a následně byl zjištěn počet CPM podle vztahu (3).

Zjištěné počty mikroorganismů u jednotlivých stanovení týkající se mikrobiální analýzy všech vzorků budou srovnávány s vyhláškou 132/2004 Sb., i když tato vyhláška již byla nahrazena Nařízením Komise ES č. 2073/2005 Sb. V tomto Nařízení nejsou totiž uvedeny limitní množství výskytu určitých mikroorganismů, a proto bude v této diplomové práci odkazováno na vyhlášku 132/2004 Sb. uvádějící přísnější limity výskytu mikroorganismů v potravinách.

Kolonie, jež na živné půdě PCA při stanovení CPM narostly, byly kruhovitěho tvaru, s pravidelnými okraji, vypouklé, převážně bílé barvy, vyskytly se i kolonie barvy oranžové.

Zvýšené množství CPM většinou nepředstavuje riziko onemocnění pro zdravého, průměrného jedince, avšak oslabený jedinec může reagovat jinak a výsledkem zvýšeného CPM může být řetězec změn končící zdravotním postižením jedince.

8.2.1 Svíčková na smetaně s houskovým knedlíkem

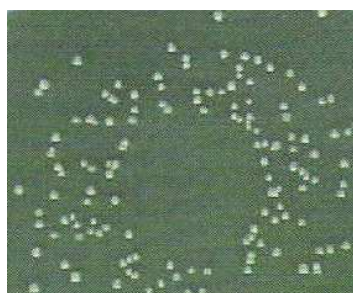
8.2.1.1 Stanovení CPM u houskového knedlíku

CPM v houskovém knedlíku byl stanovován jak u pokrmu, jenž byl skladován v obalu nenarušeném, tak v pokrmu skladovaném v obalu narušeném. Zjištěné výsledky CPM po jednotlivých týdnech skladování jsou u výrobku skladovaného v obalu nepoškozeném uvedeny v tab. 13 a výrobku skladovaného v narušeném obalu jsou znázorněny v tab. 14. V příslušných tabulkách jsou rovněž uvedena ředění použitá k výpočtu, teplota a doba kultivace vzorku.

U CPM houskových knedlíků, skladovaných v neporušeném obalu po celkovou dobu skladování vztahující se na datum spotřeby (tj. 3 týdny), nebylo překročeno maximální povolené množství mikroorganismů 10^6 CFU/g [67]. Týden po uplynutí data spotřeby byla limitní hodnota překročena pouze mírně.

Tab. 13. CPM houskového knedlíku v neporušeném obalu

doba skladování	číslo ředění k výpočtu	CPM [KTJ/g]	teplota kultivace [°C]	doba kultivace [dny]
0. týden	10^{-1}	$7,5 \cdot 10^2$	30	2
1. týden	10^{-1}	$2,9 \cdot 10^4$	30	2
	10^{-2}			
2. týden	10^{-2}	$2,2 \cdot 10^5$	30	2
	10^{-3}			
3. týden	10^{-2}	$4,1 \cdot 10^5$	30	2
	10^{-3}			
4. týden	10^{-4}	$1,8 \cdot 10^6$	30	2
	10^{-5}			



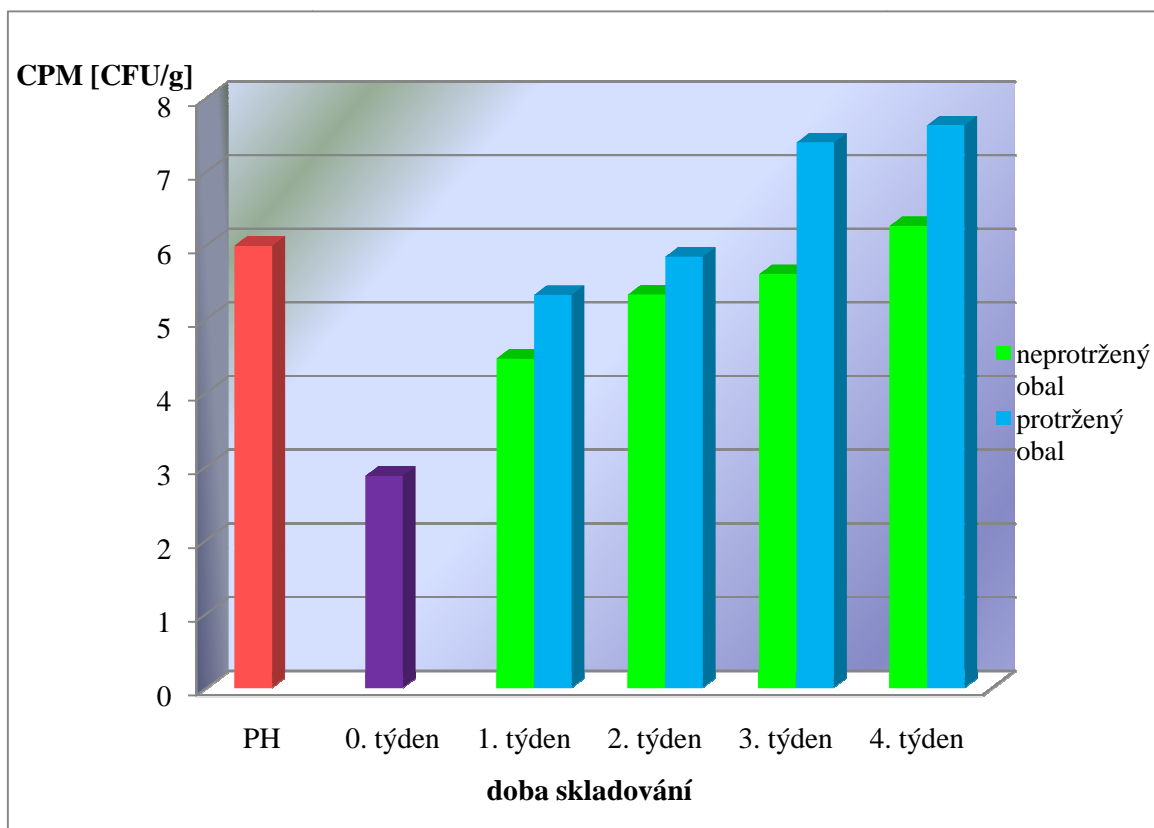
Obr. 11. Vzhled kolonií při stanovení CPM

Tab. 14. CPM houskového knedlíku v obalu narušeném

doba skladování	číslo ředění k výpočtu	CPM [KTJ/g]	teplota kultivace [°C]	doba kultivace [dny]
0. týden	10^{-1}	$7,5 \cdot 10^2$	30	2
1. týden	10^{-1}	$2,1 \cdot 10^5$	30	2
	10^{-2}			
2. týden	10^{-2}	$7,1 \cdot 10^5$	30	2
	10^{-3}			
3. týden	10^{-4}	$2,5 \cdot 10^7$	30	2
	10^{-5}			
4. týden	10^{-4}	$4,3 \cdot 10^7$	30	2
	10^{-5}			

V průběhu čtyřtýdenního skladování hotového pokrmu Svíčková na smetaně s houskovým knedlíkem, u něhož byl naříznut obal, došlo postupnému narůstání množství mikroorganismů ve vzorku. CPM houskových knedlíků skladovaných v obalu narušeném nepřekročilo limitní hodnotu 10^6 KTJ/g danou vyhláškou 132/2004 Sb. v průběhu prvních dvou týdnů skladování. Po třetím a čtvrtém týdnu skladování již byla limitní hodnota překročena. Pro lepší názornost byly do grafů hodnoty CPM u všech vzorků vyjádřeny

dekadickým logaritmem a PH v grafech vyjadřuje přípustnou hodnotu povolenou vyhláškou 132/2004 Sb.



Graf 5. Srovnání CPM houskových knedlíků u obou typů vzorků

Celkový počet mikroorganismů byl po převezení do laboratoře $7,52 \cdot 10^2$ KTJ/g, tento nízký počet mikroorganismů svědčí o provedení tepelného ošetření výrobku. Z grafu 5 lze pozorovat, že u obou vzorků, tj. v protřženém i neprotřženém obalu docházelo v průběhu skladování k nárůstu CPM. U vzorku v neprotřženém obalu nebyla v průběhu skladování překročena přípustná hodnota výskytu mikroorganismů ($PH = 10^6$), i když mírné překročení bylo po uplynutí doby spotřeby, tj. po 4 týdnu skladování, zatímco u vzorku v obalu protřženém došlo k výraznému překročení přípustné hodnoty výskytu mikroorganismů již po třetím týdnu skladování.

8.2.1.2 Stanovení CPM u svíčkové omáčky s vepřovým masem

Výsledky stanovení CPM u svíčkové omáčky s vepřovým masem hotového pokrmu Svíčková na smetaně s houskovým knedlíkem skladované v obalu nenarušeném a obalu naříznutém jsou uvedeny v tab. 15 a v tab. 16.

Tab. 15. CPM svíčkové omáčky s vepřovým masem skladované v obalu nenarušeném

doba skladování	číslo ředění k výpočtu	CPM [KTJ/g]	teplota kultivace [°C]	doba kultivace [dny]
0. týden	10^{-1}	$1,6 \cdot 10^3$	30	2
1. týden	10^{-1}	$1,3 \cdot 10^5$	30	2
	10^{-2}			
2. týden	10^{-3}	$6,2 \cdot 10^5$	30	2
3. týden	10^{-3}	$2,3 \cdot 10^6$	30	2
	10^{-4}			
4. týden	10^{-4}	$2,3 \cdot 10^7$	30	2
	10^{-5}			

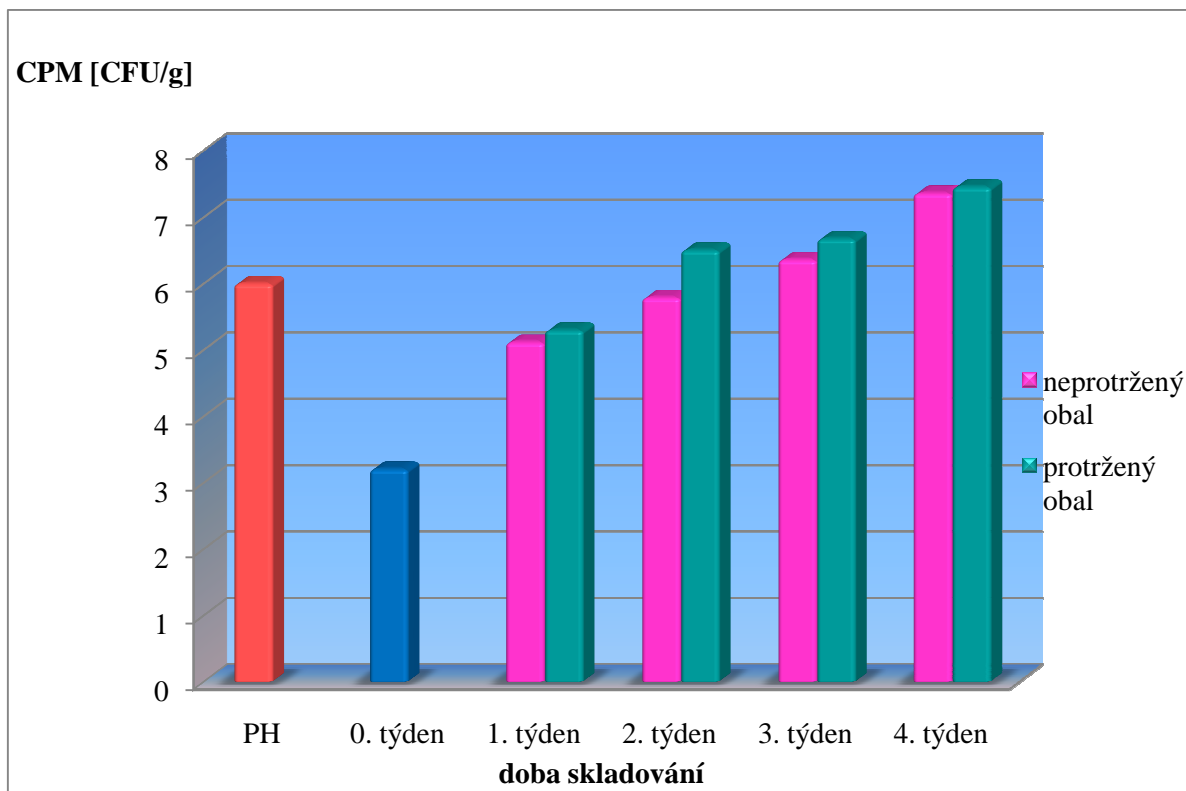
CPM naměřeno ještě před uskladněním u tohoto vzorku bylo $1,6 \cdot 10^3$ KTJ/g. V průběhu skladování docházelo k růstu mikroorganismů a limitní hodnota daná vyhláškou 132/2004 Sb. byla překročena po třetím týdnu skladování.

U svíčkové omáčky hotového pokrmu skladovaného v naříznutém obalu došlo v průběhu skladování k postupnému nárůstu CPM (viz. tab. 16). Přípustná hodnota 10^6 KTJ/g byla překročena již po druhém týdnu skladování.

Tab. 16. CPM svíčkové omáčky s vepřovým masem skladované v obalu naříznutém

doba skladování	číslo ředění k výpočtu	CPM [KTJ/g]	teplota kultivace [°C]	doba kultivace [dny]
0. týden	10^{-1}	$1,6 \cdot 10^3$	30	2
1. týden	10^{-1}	$2,0 \cdot 10^5$	30	2
	10^{-2}			
2. týden	10^{-3}	$3,2 \cdot 10^6$	30	2
	10^{-4}			
3. týden	10^{-3}	$4,7 \cdot 10^6$	30	2
	10^{-4}			
4. týden	10^{-4}	$2,9 \cdot 10^7$	30	2
	10^{-5}			

Pro snadnější srovnání nárůstu CPM v průběhu skladování vzorku s obalem narušeným i nenarušeným byl sestrojen graf 6.



Graf 6. CPM u svíčkové omáčky s vepřovým masem v obalu narušeném a nenarušeném

Z grafu 6 je patrné, že v průběhu skladování narostlo více mikroorganismů ve výrobku, který byl skladován v obalu narušeném (protřženém), což je pochopitelné, jelikož vzniklým protřžením se do výrobku mohla dostat mikroflóra z okolního prostředí. Přípustná hodnota byla překročena po třetím a čtvrtém týdnu skladování u výrobku v nenarušeném obalu a u výrobku v protřženém obalu byla hodnota CPM překročena již po druhém týdnu skladování.

8.2.2 Vepřová játra s rýží

8.2.2.1 Stanovení CPM u rýže

CPM rýže bylo stanovováno v průběhu 4 týdnů u výrobku, jenž byl skladován v obalu naříznutém i v obalu zcela nenarušeném, zjištěné hodnoty jsou uvedené v tab. 17 pro nenarušený obal a v tab. 18 pro obal narušený.

Tab. 17. CPM rýže skladované v obalu nenarušeném

doba skladování	číslo ředění k výpočtu	CPM [KTJ/g]	teplota kultivace [°C]	doba kultivace [dny]
0. týden	10^{-1}	$5,0 \cdot 10^2$	30	2
1. týden	10^{-1}	$2,1 \cdot 10^4$	30	2
	10^{-2}			
2. týden	10^{-3}	$6,7 \cdot 10^5$	30	2
3. týden	10^{-3}	$1,6 \cdot 10^6$	30	2
	10^{-4}			
4. týden	10^{-4}	$1,8 \cdot 10^7$	30	2
	10^{-5}			

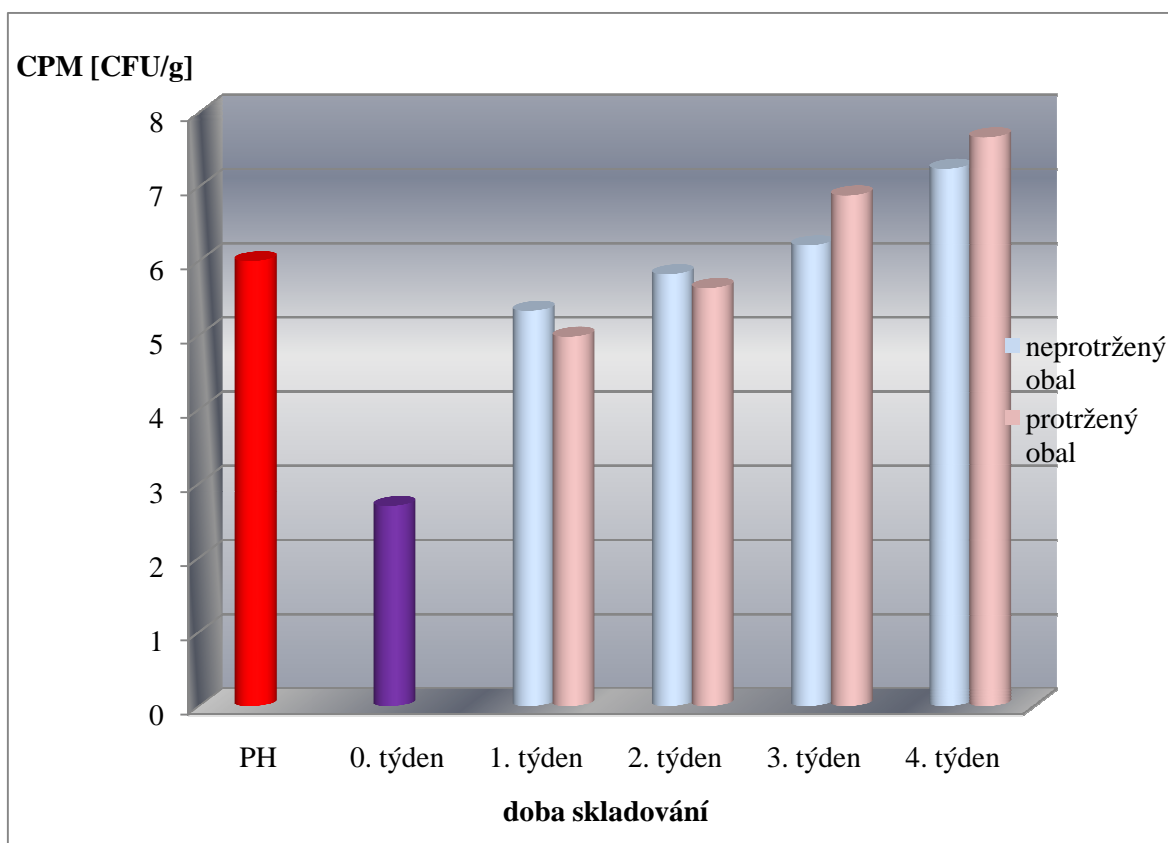
Přípustná hodnota CPM byla mírně překročena již po třetím týdnu skladování, tzn. ještě před uplynutím data spotřeby. V průběhu skladování docházelo k postupnému zvyšování počtu CPM.

Tab. 18. CPM rýže skladované v obalu narušeném

doba skladování	číslo ředění k výpočtu	CPM [KTJ/g]	teplota kultivace [°C]	doba kultivace [dny]
0. týden	10^{-1}	$5,0 \cdot 10^2$	30	2
1. týden	10^{-1}	$9,5 \cdot 10^4$	30	2
	10^{-2}			
2. týden	10^{-3}	$4,3 \cdot 10^5$	30	2
	10^{-4}			
3. týden	10^{-3}	$7,7 \cdot 10^6$	30	2
	10^{-4}			
4. týden	10^{-5}	$4,7 \cdot 10^7$	30	2

V průběhu čtyřtýdenního skladování rýže v narušeném obalu došlo k nárůstům hodnot CPM po každém týdnu skladování. Limitní přípustná hodnota CPM byla překročena již po třetím týdnu skladování.

Graf 7 vyjadřuje průběh nárůstu a srovnání CPM u rýže hotového pokrmu Vepřová játra s rýží skladované po dobu čtyř týdnů v obalu nenarušeném a také v obalu narušeném. Limitní přípustná hodnota pro stanovení CPM je dle vyhlášky 132/2004 Sb. 10^6 KTJ/g.



Graf 7. Porovnání CPM rýže skladované v obalu narušeném a nenarušeném

Z grafu 7 je patrné, že CPM bylo v průběhu a na konci skladování vyšší u rýže skladované v obalu narušeném, jelikož díky narušení obalu mohla do výrobku proniknout snáze okolní mikroflóra.

8.2.2.2 Vepřová játra s omáčkou

Podobně jako u ostatních vzorků byla i vepřová játra zkoumána po dobu 4 týdnů a to v obalu protřženém a v obalu nenarušeném, tak jak byl přijat od výrobce. Zjištěné hodnoty CPM jsou uvedeny v tab. 19 pro výrobek v nenarušeném obale a v tab. 20 pro výrobek skladovaný v obalu narušeném, čili narušeném.

Z tab. 19 vyplývá, že v průběhu skladování hotového pokrmu docházelo v závislosti na prodlužující se době skladování k nárůstu počtu mikroorganismů. Limitní přípustná hodnota pro CPM, která je daná vyhláškou 132/2004 Sb., u vepřových jater s omáčkou byla překročena již po druhém týdnu skladování a také v týdnech následujících.

Tab. 19. CPM vepřových jater s omáčkou skladovaných v obalu nenarušeném

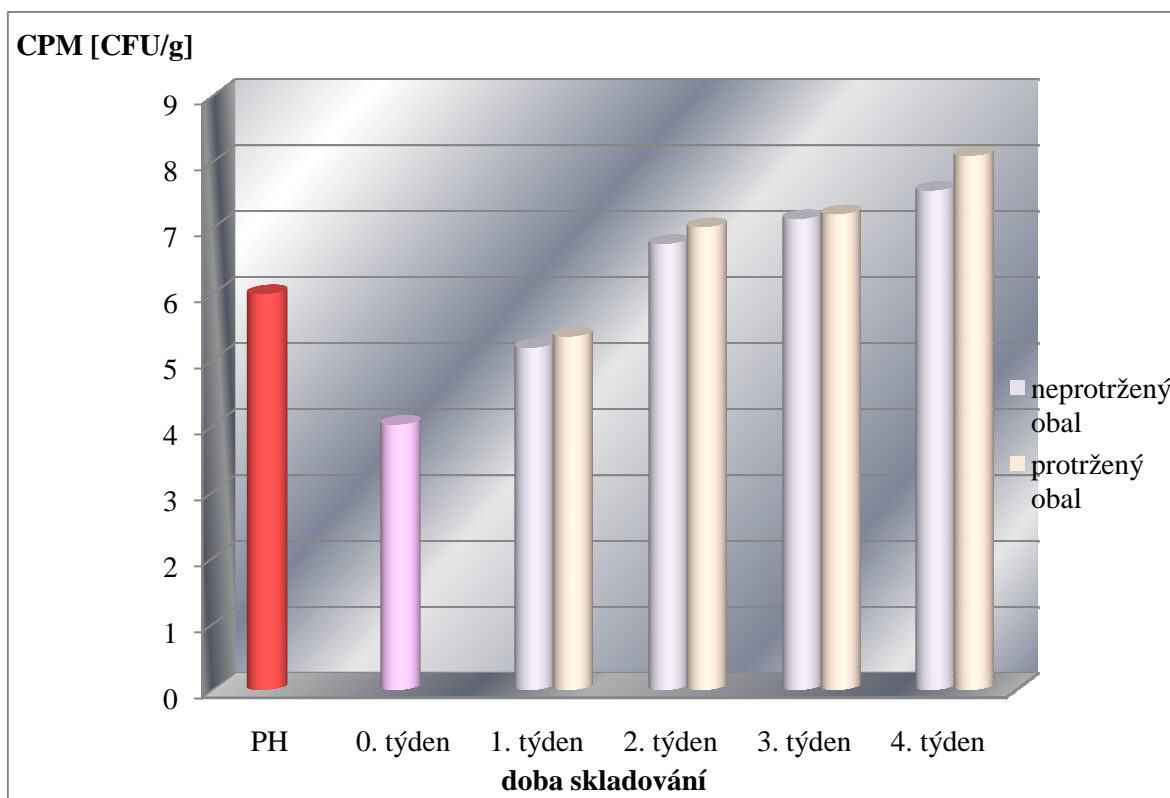
doba skladování	číslo ředění k výpočtu	CPM [KTJ/g]	teplota kultivace [°C]	doba kultivace [dny]
0. týden	10^{-1}	$1,1 \cdot 10^4$	30	2
1. týden	10^{-1}	$1,5 \cdot 10^5$	30	2
	10^{-2}			
2. týden	10^{-4}	$5,8 \cdot 10^6$	30	2
3. týden	10^{-4}	$1,4 \cdot 10^7$	30	2
	10^{-5}			
4. týden	10^{-4}	$3,7 \cdot 10^7$	30	2
	10^{-5}			

Tab. 20. CPM vepřových jater s omáčkou skladovaných v obalu naříznutém

doba skladování	číslo ředění k výpočtu	CPM [KTJ/g]	teplota kultivace [°C]	doba kultivace [dny]
0. týden	10^{-1}	$1,1 \cdot 10^4$	30	2
1. týden	10^{-1}	$2,3 \cdot 10^5$	30	2
	10^{-2}			
2. týden	10^{-4}	$1,0 \cdot 10^7$	30	2
3. týden	10^{-4}	$1,6 \cdot 10^7$	30	2
	10^{-5}			
4. týden	10^{-5}	$1,2 \cdot 10^8$	30	2

V průběhu skladování hotového pokrmu Vepřová játra s rýží došlo u vzorku jater s omáčkou v narušeném obalu k poměrně velkému nárůstu mikroorganismů, jež byl pravděpodobně způsoben právě typem obalu, kdy mohlo dojít ke kontaminaci daného vzorku okolní mikroflórou během skladování. Přípustná hodnota 10^6 KTJ/g byla značně překročena již po druhém týdnu skladování.

Pro srovnání nárůstu mikroorganismů ve vepřových játrech a omáčce byly zjištěné hodnoty CPM v závislosti na době skladování vyneseny do grafu 8. Z tohoto grafu je vidět, že nárůst mikroorganismů je mnohem vyšší u vzorku vepřových jater s omáčkou skladovaných v obalu, jež byl naříznut oproti vzorku skladovanému v obalu nenaříznutém.



Graf 8. CPM u vepřových jater s omáčkou skladovaných v obalu narušeném a nenarušeném

Vzhledem k poměrně vysokým hodnotám CPM, kterých bylo dosaženo již po druhém týdnu skladování u vzorků v obou typech obalu a jež mohou vyvolat onemocnění z potravin pro osoby citlivé, by vepřová játra s omáčkou mohla mít zkrácený datum spotřeby o týden.

8.2.3 Stanovení psychrotrofních mikroorganismů

Psychrotrofní bakterie jsou mikroorganismy, jež jsou schopny růstu při nízkých teplotách (0–7 °C). Tyto mikroorganismy způsobují kažení potravin, které jsou skladovány při chladírenských teplotách. Postup stanovení této skupiny mikroorganismů je popsán v kapitole 7.4.3.

Psychrotrofní mikroorganismy byly kultivovány na živné půdě PCA při chladírenské teplotě po dobu 7 dní. Narostené kolonie byly spočítány a následně byl zjištěn počet této skupiny mikroorganismů pomocí vztahu (3) nebo (4). Počet psychrotrofních mikroorganismů se podle vyhlášky 137/2004 Sb. nestanovuje, jelikož psychrotrofní mikroorganismy jsou součástí celkového počtu mikroorganismů. Pokud je jejich obsah

v hotovém pokrmu vysoký poukazuje to na brzké kažení těchto výrobků skladovaných v chladu.

Tato skupina mikroorganismů byla stanovována u hotových pasterovaných výrobků – Svíčková na smetaně s houskovým knedlíkem a Vepřová játra s rýží.

Kolonie, které na živné půdě narostly, byly barvy bílé, tvaru kulovitěho a s pravidelnými okraji.

8.2.4 Svíčková na smetaně s houskovým knedlíkem

V tomto hotovém pokrmu byly psychrotrofní mikroorganismy stanovovány u pokrmu skladovaného v nenarušeném a také porušeném obalu zvlášť u houskových knedlíků a zvlášť u svíčkové omáčky s vepřovým mase.

8.2.4.1 Psychrotrofní mikroorganismy v houskovém knedlíku

Výsledky stanovení psychrotrofních mikroorganismů ve vzorcích houskových knedlíků skladovaných po dobu čtyř týdnů v obalu narušeném i zcela nepoškozeném jsou uvedeny v tab. 21.

Tab. 21. Psychrotrofní mikroorganismy v houskovém knedlíku

doba skladování	číslo ředění k výpočtu	počet psychrotrofních mikroorganismů [KTJ/g]		teplota kultivace [°C]	doba kultivace [dny]
		obal nenarušený	obal narušený		
0. týden	10^{-1}	méně než 10		do 10	7
1. týden	10^{-1}	méně než 10	méně než 10	do 10	7
2. týden	10^{-1}	$6,4 \cdot 10^1$	$9,8 \cdot 10^1$	do 10	7
3. týden	10^{-1}	$1,4 \cdot 10^2$	$5,5 \cdot 10^2$	do 10	7
4. týden	10^{-1}	$7,6 \cdot 10^2$	$7,2 \cdot 10^3$	do 10	7

Ihned po převezení do laboratoře byl stanoven počet psychrotrofních mikroorganismů v houskových knedlicích, na Petriho miskách po naočkování nenarostla ani jedna kolonie, což je udáváno jako počet kolonií ve vzorku je méně než 10 KTJ/g. Po prvním týdnu skladování byl narostlý počet mikroorganismů rovněž 0, což v přepočtu na 1 g vzorku je méně než 10 KTJ a to jak u vzorku skladovaného v obalu nepoškozeném, tak v obalu narušeném. V následujících týdnech skladování, jak je patrné z tab. 21, došlo již k postupnému narůstání psychrotrofních bakterií ve vzorku. Při porovnání vzorků skladovaných v obou typech obalu po 2. až 4. týdnu skladování je zřejmé, že u knedlíků

skladovaných v obalech naříznutých byl počet psychrotrofních mikroorganismů nepatrně vyšší.

8.2.4.2 Psychrotrofní mikroorganismy ve svíčkové omáčce a vepřovém masu

Počet psychrotrofních mikroorganismů byl u vzorku svíčková omáčka s vepřovým masem stanovován rovněž v průběhu 4týdenního skladování a to v obalu nenarušeném i obalu úmyslně proříznutém. K výpočtu počtu KTJ/g bylo použito vždy jen první ředění, jelikož při druhém ředění byl nárůst psychrotrofních mikroorganismů negativní. Výsledky tohoto stanovení jsou shrnuty v tab. 22.

Tab. 22. Psychrotrofní mikroorganismy ve svíčkové omáčce s vepřovým masem

doba skladování	číslo ředění k výpočtu	počet psychrotrofních mikroorganismů [KTJ/g]		teplota kultivace [°C]
		obal nenarušený	obal narušený	
1. týden	10 ⁻¹	méně než 10	méně než 10	do 10
2. týden	10 ⁻¹	méně než 10	méně než 10	do 10
3. týden	10 ⁻¹	méně než 10	méně než 10	do 10
4. týden	10 ⁻¹	2,0*10 ¹	6,2*10 ¹	do 10

Před uskladněním byl počet psychrotrofních mikroorganismů ve zkoumaném vzorku méně než 10 KTJ/g, tj. na Petriho misce nenarostla žádná kolonie. Po prvním až třetím týdnu skladování byl vzorek rovněž bez nárůstu mikroorganismů, tj. počet psychrotrofních mikroorganismů byl méně než 10 KTJ/g a to u vzorku skladovaného v obalu nepoškozeném i obalu naříznutém. Po čtvrtém týdnu skladování došlo k nárůstu počtu kolonií, u obalu nenarušeného byl počet psychrotrofních mikroorganismů nižší než u vzorku v obalu narušeném. Lze tedy konstatovat, že k nárůstu kolonií ve svíčkové omáčce s vepřovým masem došlo až po uplynutí data spotřeby zkoumaného hotového pasterovaného pokrmu Svíčková na smetaně s houskovým knedlíkem.

8.2.5 Vepřová játra s rýží

Počet psychrotrofních mikroorganismů byl stanovován zvlášť u rýže a zvlášť u vepřových jater s omáčkou a to po dobu skladování 4 týdnů v lednici. Výrobek byl skladován v obalu nenarušeném a také naříznutém.

8.2.5.1 Psychrotrofní mikroorganismy v rýži

Výsledky stanovení psychrotrofních mikroorganismů v rýži daného hotového pokrmu skladovaného v obalu narušeném i nenarušeném jsou uvedeny v tab. 23. Tato skupina mikroorganismů byla stanovována u tohoto vzorku pouze v prvním ředění, jelikož v druhém ředění na Petriho miskách nenarostly žádné kolonie.

Tab. 23. Psychrotrofní mikroorganismy v rýži

doba skladování	číslo ředění k výpočtu	počet psychrotrofních mikroorganismů [KTJ/g]		teplota kultivace [°C]	doba kultivace [dny]
		obal nenarušený	obal narušený		
1. týden	10 ⁻¹	méně než 10	2,4*10 ¹	do 10	7
2. týden	10 ⁻¹	6,5*10 ¹	4,5*10 ³	do 10	7
3. týden	10 ⁻¹	1,1*10 ²	4,9*10 ³	do 10	7
4. týden	10 ⁻¹	3,8*10 ³	5,9*10 ³	do 10	7

Při přivezení hotového pokrmu do laboratoře byl ihned stanoven počet psychrotrofních mikroorganismů, který byl méně než 10 KTJ/g vzorku, z čehož vyplývá, že na miskách nenarostly žádné kolonie, podobně tomu bylo i u vzorku, skladovaném v obalu nenarušeném, po prvním týdnu skladování. Po druhém a dalších týdnech skladování došlo již k nárůstu počtu psychrotrofních mikroorganismů ve vzorcích rýže uskladněné v nenarušeném obalu. U rýže skladované v obalu narušeném byl počet psychrotrofních mikroorganismů již po prvním týdnu skladování vyšší než u rýže v nenarušeném obalu a s narůstající dobou skladování rostl i tento počet. Lze tedy soudit, že na rozvoj mikroorganismů ve vzorcích rýže má vliv narušení obalu.

8.2.5.2 Psychrotrofní mikroorganismy ve vepřových játrech s omáčkou

Vzhledem k tomu, že játra se řadí k vnitřnostem, byl počet psychrotrofních mikroorganismů ve vzorcích vyšší než u ostatních druhů vzorků. Výsledky tohoto stanovení jsou uvedeny v tab. 24.

Počet psychrotrofních mikroorganismů ve vzorcích vepřových jater s omáčkou před uskladněním byl méně než 10 KTJ/g, což je dáno tím, že na Petriho miskách při tomto stanovení nenarostly žádné kolonie, podobně tomu bylo i po prvním týdnu skladování a to u vzorku v obalu narušeném i nenarušeném. V následujících týdnech již docházelo k poměrně značnému nárůstu počtu psychrotrofních mikroorganismů u obou typů vzorků.

Počet psychrotrofních mikroorganismů byl nejvyšší po čtvrtém týdnu skladování v obalu naříznutém.

Tab. 24. Psychrotrofní mikroorganismy ve vepřových játrech s omáčkou

doba skladování	číslo ředění k výpočtu	počet psychrotrofních mikroorganismů [KTJ/g]		teplota kultivace [°C]	doba kultivace [dny]
		obal nenarušený	obal narušený		
1. týden	10 ⁻¹	méně než 10	méně než 10	do 10	7
2. týden	10 ⁻¹	5,5*10 ³	5,6*10 ³	do 10	7
3. týden	10 ⁻¹	6,2*10 ³	2,0*10 ³	do 10	7
4. týden	10 ⁻¹	8,7*10 ³	3,2*10 ⁴	do 10	7

Shrnutím by se dalo říci, že čím delší byla doba skladování, tím vyšší byl i počet psychrotrofních mikroorganismů v jednotlivých vzorcích, tento počet byl vždy vyšší u vzorků skladovaných v obalech naříznutých oproti vzorkům v obalech nenarušených, čili původních.

8.3 Stanovení koliformních bakterií

Koliformní bakterie nebo enterobakterie byly stanovovány na živné půdě VČŽL, teplota kultivace byla 37 °C. Metodický postup stanovení této skupiny mikroorganismů je popsán v kapitole 7.4.4. Počet enterobakterií byl zjišťován podle vztahu (3) případně (4). Přípustné množství stanovené vyhláškou 132/2004 Sb. je 10⁵ KTJ v 1g zkoumaného vzorku.

Zvýšený počet koliformních bakterií svědčí o případné sekundární kontaminaci potravin, tyto mikroorganismy jsou rovněž považovány za indikátory správné sanitace technologického nářadí a zařízení, i indikátory správné pasterace.

Tato skupina mikroorganismů byla stanovována opět u pasterovaných pokrmů Svíčková na smetaně s houskovým knedlíkem a Vepřová játra s rýží.

8.3.1 Svíčková na smetaně s houskovým knedlíkem

Podobně jako i u ostatních stanovení byl počet koliformních mikroorganismů stanovován v houskovém knedlíku a svíčkové omáčce s vepřovým masem, jež byly skladovány jednak v obalu nepoškozeném a jednak v obalu naříznutém. Celková doba skladování byla 4 týdny a stanovení bylo provedeno vždy po týdnu.

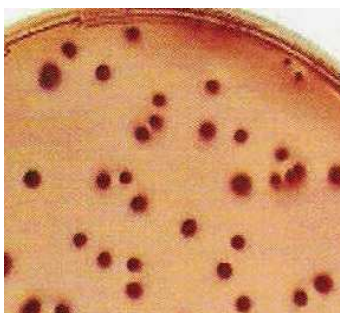
8.3.1.1 Koliformní bakterie v houskovém knedlíku

Petriho misky byly u této skupiny mikroorganismů očkované pouze prvním ředěním a výsledky počtu koliformních bakterií v houskovém knedlíku v průběhu skladování 4 týdnů jsou uvedeny v tab. 25.

Tab. 25. Počty koliformních bakterií v houskovém knedlíku

doba skladování	číslo ředění k výpočtu	počet koliformních bakterií [KTJ/g]		teplota kultivace [°C]	doba kultivace [dny]
		obal nenarušený	obal narušený		
0. týden	10 ⁻¹	méně než 10		37	1
1. týden	10 ⁻¹	méně než 10	méně než 10	37	1
2. týden	10 ⁻¹	méně než 10	méně než 10	37	1
3. týden	10 ⁻¹	méně než 10	méně než 10	37	1
4. týden	10 ⁻¹	méně než 10	méně než 10	37	1

Počet koliformních bakterií na začátku stanovení po přivezení do laboratoře byl méně než 10 KTJ/g. V průběhu následujícího čtyřtýdenního skladování nenarostla na Petriho misce ani jedna kolonie, z čehož vyplývá, že počty koliformních bakterií po jednotlivých týdnech skladování ve vzorcích houskového knedlíku v obalu narušeném i nenarušeném byly méně než 10 KTJ/g.



Obr 12. Narostené kolonie na VČŽL

8.3.1.2 Koliformní bakterie ve svíčkové omáčce s vepřovým masem

Počty koliformních bakterií ve vzorcích svíčkové omáčky s vepřovým masem skladovaných v obalu nepoškozeném a také v obalu naříznutém jsou uvedeny v tab. 26. Počet koliformních bakterií ve vzorku svíčkové omáčky s vepřovým masem byl na začátku stanovení méně než 10 KTJ/g, na Petriho misce nenarostla žádná kolonie. I v následujících týdnech byl počet koliformních bakterií méně než 10 KTJ/g u obou typů obalů, tzn. u

vzorku svíčkové omáčky s masem skladované v obalu narušeném a také původním nenarušeném.

Tab. 26. Počty koliformních bakterií ve svíčkové omáčce s vepřovým masem

doba skladování	číslo ředění k výpočtu	počet koliformních bakterií [KTJ/g]		teplota kultivace [°C]	doba kultivace [dny]
		obal nenarušený	obal narušený		
0. týden	10 ⁻¹	méně než 10		37	1
1. týden	10 ⁻¹	méně než 10	méně než 10	37	1
2. týden	10 ⁻¹	méně než 10	méně než 10	37	1
3. týden	10 ⁻¹	méně než 10	méně než 10	37	1
4. týden	10 ⁻¹	méně než 10	méně než 10	37	1

Na základě zjištěných výsledků týkajících se koliformních bakterií u hotového pokrmu Svíčková na smetaně s houskovým knedlíkem lze říci, že tento pokrm byl dostatečně pasterován a nedošlo k následné sekundární kontaminaci jednotlivých složek pokrmu.

8.3.2 Vepřová játra s rýží

Vepřová játra s rýží byla podrobena rozborům na počet koliformních bakterií v průběhu skladování 4 týdnů. Samostatně byla zkoumána játra s omáčkou a jako další vzorek byla rýže.

8.3.2.1 Koliformní bakterie v rýži

Počty koliformních bakterií u rýže jako přílohy hotového pokrmu skladovaného v obalu nepoškozeném a narušeném jsou uvedeny v tab. 27.

Tab. 27. Počty koliformních bakterií v rýži

doba skladování	číslo ředění k výpočtu	počet koliformních bakterií [KTJ/g]		teplota kultivace [°C]	doba kultivace [dny]
		obal nenarušený	obal narušený		
0. týden	10 ⁻¹	méně než 10		37	1
1. týden	10 ⁻¹	méně než 10	méně než 10	37	1
2. týden	10 ⁻¹	méně než 10	méně než 10	37	1
3. týden	10 ⁻¹	méně než 10	méně než 10	37	1
4. týden	10 ⁻¹	3*10 ¹	7*10 ¹	37	1

Počet koliformních bakterií v rýži při převezení hotových pokrmů do laboratoře byl méně než 10 KTJ/g. Po prvním až třetím týdnu skladování nenarostla na živné půdě VČŽL

žádná koliformní bakterie a tedy celkový počet koliformních bakterií byl méně než 10 KTJ/g zkoumaného vzorku. Tento počet se týkal jak výrobku skladovaného v neprotrženém obalu, tak výrobku uskladněném v obalu naříznutém. Po čtvrtém týdnu skladování, čili po uplynutí data spotřeby byl počet koliformních bakterií ve vzorku rýže v neprotrženém obalu 30 a v obalu narušeném 70.

8.3.2.2 Koliformní bakterie ve vepřových játrech s omáčkou

Vepřová játra s omáčkou jako součást hotového pokrmu Vepřová játra s rýží byly skladovány po dobu 4 týdnů v obalu nenarušeném a narušeném, po každém uplynulém týdnu byl u tohoto vzorku stanoven počet koliformních bakterií (tab. 28.)

Tab. 28. Počty koliformních bakterií ve vepřových játrech s omáčkou

doba skladování	číslo ředění k výpočtu	počet koliformních bakterií [KTJ/g]		teplota kultivace [°C]	doba kultivace [dny]
		obal nenarušený	obal narušený		
0. týden	10 ⁻¹	méně než 10	méně než 10	37	1
1. týden	10 ⁻¹	méně než 10	méně než 10	37	1
2. týden	10 ⁻¹	méně než 10	méně než 10	37	1
3. týden	10 ⁻¹	méně než 10	méně než 10	37	1
4. týden	10 ⁻¹	méně než 10	1,8*10 ¹	37	1

Počet koliformních mikroorganismů ve vzorku vepřových jater s omáčkou byl na začátku stanovení méně než 10 KTJ/g. V průběhu čtyřtýdenního skladování tohoto vzorku v obalu nepoškozeném a narušeném došlo k nárůstu koliformních bakterií pouze po čtvrtém týdnu skladování, tedy po uplynutí data spotřeby a to u vzorku skladovaného v obalu narušeném. V ostatních týdnech byl počet koliformních bakterií u obou typů vzorků méně než 10 KTJ/g.

U pasterovaného hotového pokrmu Vepřová játra s rýží byl počet koliformních bakterií po dobu záruční lhůty, čili do data spotřeby méně než 10 KTJ/g, z čehož lze usuzovat, že hotový pokrm byl dostatečně pasterován a nedošlo k jeho případné sekundární kontaminaci.

8.4 Stanovení enterokoků

Enterokoky náleží k termorezistentním bakteriím, jež jsou schopny přežívat pasterační teploty. Doposud však nebylo jednoznačně prokázáno, že enterokoky z potravin jsou přímou příčinou klinických infekcí, jsou však podezřívány jako původci, jelikož byly ve vysokých koncentracích izolovány z jídel, která způsobila otravu např. účinkem biogenních aminů.

Enterokoky byly stanovovány na živné půdě SB při teplotě kultivace 37 °C. Nežádoucí zvýšené množství enterokoků v potravinách poukazuje na nedostatečné zahřátí nebo kontaminaci z pracovních ploch, které nebyly dostatečně očištěny a dezinfikovány. Tyto bakterie byly stanovovány rovněž u dvou sad pasterovaných hotových jídel, jež byly uskladněny v obalu nenarušeném a naříznutém, jednalo se o pokrmy Svíčková na smetaně s houskovým knedlíkem a Vepřová játra s rýží.

8.4.1 Svíčková na smetaně s houskovým knedlíkem

Podobně jako u ostatních stanovení byly enterokoky stanovovány v tomto pokrmu zvlášť u houskového knedlíku a zvlášť ve svíčkové na smetaně s vepřovým masem.

Celkové počty enterokoků v houskovém knedlíku v průběhu skladování po dobu 4 týdnů v obalu narušeném a nenarušeném jsou uvedeny v tab. 29 a v tab. 30 jsou uvedeny počty enterokoků v svíčkové omáčce s vepřovým masem.

Tab. 29. Počet enterokoků v houskovém knedlíku

doba skladování	číslo ředění k výpočtu	počet enterokoků [KTJ/g]		teplota kultivace [°C]	doba kultivace [dny]
		obal nenarušený	obal narušený		
0. týden	10 ⁻¹	méně než 10		37	1
1. týden	10 ⁻¹	méně než 10	méně než 10	37	1
2. týden	10 ⁻¹	méně než 10	méně než 10	37	1
3. týden	10 ⁻¹	méně než 10	méně než 10	37	1
4. týden	10 ⁻¹	méně než 10	méně než 10	37	1

Tab. 30. Počet enterokoků ve svíčkové omáčce s vepřovým masem

doba skladování	číslo ředění k výpočtu	počet enterokoků [KTJ/g]		teplota kultivace [°C]	doba kultivace [dny]
		obal nenarušený	obal narušený		
0. týden	10 ⁻¹	méně než 10		37	1
1. týden	10 ⁻¹	méně než 10	méně než 10	37	1
2. týden	10 ⁻¹	méně než 10	méně než 10	37	1
3. týden	10 ⁻¹	méně než 10	méně než 10	37	1
4. týden	10 ⁻¹	méně než 10	méně než 10	37	1

V pasterovaném hotovém pokrmu Svíčková na smetaně byl počet enterokoků v průběhu čtyřtýdenního skladování méně než 10 KTJ/g a to jak u vzorku houskového knedlíku, tak u svíčkové omáčky s vepřovým masem skladovaných v obalu nenarušeném i úmyslně proříznutém. Z tohoto lze soudit, že protržení obalů nemělo na počet enterokoků v tomto hotovém pokrmu vliv, a také že pokrm byl dostatečně pasterován.

8.4.2 Vepřová játra s rýží

V tomto hotovém pasterovaném pokrmu byl stanovován počet enterokoků v rýži a ve vepřových játrech s omáčkou, jak v obalu nenarušeném, tak v obalu narušeném.

Počty enterokoků v rýži v jednotlivých týdnech skladování jsou uvedeny v tab. 31 a v tab. 32 jsou počty enterokoků ve vepřových játrech s omáčkou.

Tab. 31. Počty enterokoků v rýži

doba skladování	číslo ředění k výpočtu	počet enterokoků [KTJ/g]		teplota kultivace [°C]	doba kultivace [dny]
		obal nenarušený	obal narušený		
0. týden	10 ⁻¹	méně než 10		37	1
1. týden	10 ⁻¹	méně než 10	méně než 10	37	1
2. týden	10 ⁻¹	méně než 10	méně než 10	37	1
3. týden	10 ⁻¹	1,6*10 ¹	2,7*10 ¹	37	1
4. týden	10 ⁻¹	2,9*10 ¹	7,4*10 ¹	37	1

Před uskladněním hotového pokrmu byl v rýži stanoven počet enterokoků, jež byl méně než 10 KTJ/g. Stejných výsledků dosáhla rýže v obalu nenarušeném i v obalu narušeném po prvním a druhém týdnu skladování. Po třetím a čtvrtém týdnu skladování došlo k mírnému nárůstu enterokoků u obou vzorků, tj. uskladněním v obalu

nepoškozeném a proříznutém, lze však říci, že počty u těchto vzorků se navzájem moc neliší a tudíž, že protržení obalu nemělo značný vliv na rozvoj enterokoků v rýži.

Tab. 32. Počty enterokoků ve vepřových játrech a omáčce

dobu skladování	číslo ředění k výpočtu	počet enterokoků [KTJ/g]		teplota kultivace [°C]	dobu kultivace [dny]
		obal nenarušený	obal narušený		
0. týden	10 ⁻¹	méně než 10		37	1
1. týden	10 ⁻¹	méně než 10	méně než 10	37	1
2. týden	10 ⁻¹	1,9*10 ¹	2,1*10 ¹	37	1
3. týden	10 ⁻¹	2,4*10 ¹	2,7*10 ¹	37	1
4. týden	10 ⁻¹	1,7*10 ²	2,9*10 ²	37	1

Počet enterokoků ve vepřových játrech s omáčkou po převezení od výrobce do laboratoře byl méně než 10 KTJ/g. Po 1 týdnu skladování byl počet enterokoků ve vzorku skladovaném v obalu narušeném a nenarušeném rovněž méně než 10 KTJ/g. S prodlužující se dobou skladování se zvyšoval i počet enterokoků ve vzorcích a to jak v obalu narušeném tak v obalu nepoškozeném, přičemž počet těchto bakterií byl u obou typů obalů přibližně srovnatelný. Dle zjištěných výsledků lze opět usuzovat, že protržení obalu nemělo značný vliv na rozvoj enterokoků a že hotový pasterovaný pokrm Vepřová játra s rýží byl dostatečně pasterován.

8.5 Stanovení stafylokoků

Stafylokoky se mohou za vhodných podmínek pomnožit v kontaminované potravíně a produkovat enterotoxin, následně může dojít k stafylokokové enterotoxikóze. Zdrojem nákazy jsou nejčastěji lidé s hnisavými kožními ložisky, kteří připravují pokrmy. Pomnožení těchto mikrobů napomáhá vysoký obsah bílkovin v pokrmu a teplé období.

Stafylokoky byly stanovovány na živné půdě MSA s teplotou kultivace 37 °C u hotových pasterovaných pokrmů Svíčková na smetaně s houskovým knedlíkem a Vepřová játra s rýží, tyto pokrmy byly skladovány v lednici a to v obalu nepoškozeném a v obalu úmyslně naříznutém. Postup stanovení je popsán v kapitole 7.4.6. Přípustná hodnota enterokoků v pokrmech je dle vyhlášky 132/2004 Sb. 10⁴ KTJ/g.

8.5.1 Svíčková na smetaně s houskovým knedlíkem

U tohoto hotového pokrmu byl sledován růst stafylokoků u houskového knedlíku a svíčkové omáčky s vepřovým masem po dobu čtyř týdnů.

8.5.1.1 Stafylokoky v houskovém knedlíku

Počty stafylokoků v houskovém knedlíku v obalu narušeném a neprotrženém jsou shrnuty v tab. 33.

Tab. 33. Počty stafylokoků v houskovém knedlíku

doba skladování	číslo ředění k výpočtu	počet stafylokoků [KTJ/g]		teplota kultivace [°C]	doba kultivace [dny]
		obal nenarušený	obal narušený		
0. týden	10^{-1}	méně než 10		37	1
1. týden	10^{-1}	méně než 10	$1,4 \cdot 10^1$	37	1
2. týden	10^{-1}	$1,9 \cdot 10^1$	$2,1 \cdot 10^1$	37	1
3. týden	10^{-1}	$2,8 \cdot 10^1$	$5,2 \cdot 10^1$	37	1
4. týden	10^{-1}	$3,7 \cdot 10^1$	$7,8 \cdot 10^1$	37	1

Při prvním stanovení stafylokoků byl jejich počet méně než 10 KTJ/g vzorku houskového knedlíku. Stejný výsledek byl i po prvním týdnu skladování u vzorku v obalu nenarušeném, v dalších týdnech skladování se počet stafylokoků postupně zvyšoval s prodlužující se dobou skladování, avšak přípustná hodnota 10^4 KTJ/g nebyla překročena. U vzorku skladovaného v obalu naříznutém došlo k nárůstu stafylokoků již po prvním týdnu skladování a s následujícími týdny skladování se počet ještě zvyšoval, avšak podobně jako u houskového knedlíku v obalu nenarušeném nebyla překročena přípustná hodnota daná vyhláškou 132/2004 Sb. Při porovnání vzorků skladovaných v obou obalech, lze říci, že počet stafylokoků byl vždy mírně vyšší u houskového knedlíku skladovaného v obalu naříznutém.

8.5.1.2 Stafylokoky ve svíčkové omáčce s vepřovým masem

Vzorky svíčkové omáčky s vepřovým masem byly uskladněny v obalu narušeném a nepoškozeném po dobu 4 týdnů, po každém týdnu skladování byl stanoven počet stafylokoků, výsledky jsou uvedeny v tab. 34.

Tab. 34. Počty stafylokoků ve svíčkové omáčce s vepřovým masem

doba skladování	číslo ředění k výpočtu	počet stafylokoků [KTJ/g]		teplota kultivace [°C]	doba kultivace [dny]
		obal nenarušený	obal narušený		
0. týden	10 ⁻¹	méně než 10		37	1
1. týden	10 ⁻¹	méně než 10	2,2*10 ¹	37	1
2. týden	10 ⁻¹	3,1*10 ¹	3,7*10 ¹	37	1
3. týden	10 ⁻¹	3,8*10 ¹	5,8*10 ¹	37	1
4. týden	10 ⁻¹	4,3*10 ¹	6,5*10 ¹	37	1

Podobně jako u stanovení stafylokoků v houskovém knedlíku byl počet stafylokoků ve svíčkové omáčce s vepřovým masem před uskladněním méně než 10 KTJ/g. Stejný počet byl i po první týdnu skladování u vzorku v obalu nenarušeném, zatímco u vzorku v obalu nařiznutém byl již zaznamenán nárůst kolonií. U vzorku uskladněných v obou typech došlo k postupnému zvyšování počtu kolonií s prodlužující se délkou skladování, přičemž u vzorku v obalu narušeném byl počet vždy mírně vyšší. Počty stafylokoků v jednotlivých týdnech však nepřekročily přípustnou hodnotu danou vyhláškou 132/2004. Sb.

8.5.2 Vepřová játra s rýží

U tohoto druhu hotového pokrmu byl počet stafylokoků stanovován u vzorků skladovaných v obalu nepoškozeném a v obalu narušeném a to u rýže a vepřových jater s omáčkou.

8.5.2.1 Počty stafylokoků v rýži

Zjištěné počty stafylokoků v rýži skladované v obalu nepoškozeném a narušeném po dobu 4 týdnů jsou uvedeny v tab. 35.

Tab. 35. Počty stafylokoků v rýži

doba skladování	číslo ředění k výpočtu	počet stafylokoků [KTJ/g]		teplota kultivace [°C]	doba kultivace [dny]
		obal nenarušený	obal narušený		
0. týden	10 ⁻¹	méně než 10		37	1
1. týden	10 ⁻¹	méně než 10	méně než 10	37	1
2. týden	10 ⁻¹	méně než 10	1,9*10 ¹	37	1
3. týden	10 ⁻¹	2,7*10 ¹	3,2*10 ¹	37	1
4. týden	10 ⁻¹	3,0*10 ¹	3,6*10 ¹	37	1

Počty stafylokoků v rýži v obalu naříznutém i nepoškozeném nepřekročil v průběhu skladování hodnotu stanovenou vyhláškou 132/2004 Sb. Při převezení vzorků do laboratoře a po prvním týdnu skladování byl počet stafylokoků méně než 10 KTJ/g vzorku. Podobně tomu bylo i po druhém týdnu skladování u vzorku v obalu nenarušeném, v následujících týdnech však již počet stafylokoků narůstal. U vzorku v obalu narušeném začal počet stafylokoků narůstat již po druhém týdnu skladování a zvyšoval se až do čtvrtého týdne skladování, přičemž počet stafylokoků byl u tohoto vzorku vždy vyšší než u vzorku v obalu nenarušeném.

8.5.2.2 Počty stafylokoků ve vepřových játrech s omáčkou

Počty stafylokoků ve vepřových játrech v omáčce jsou uvedeny v tab. 36 a týkají se vzorků skladovaných v obalu nenarušeném i narušeném. Počet stafylokoků byl po přivezení do laboratoře $1,2 \cdot 10^1$ KTJ/g. U obou vzorků se s prodlužováním doby skladování zvyšoval i počet stafylokoků, jenž byl u vzorku skladovaného v obalu nepoškozeném vždy nižší než u vzorku v obalu proříznutém. Počty stafylokoků v hotovém pokrmu Vepřová játra s rýží byl poměrně vyšší než u ostatních zkoumaných vzorků.

Tab. 36. Počty stafylokoků ve vepřových játrech s rýží

doba skladování	číslo ředění k výpočtu	počet stafylokoků [KTJ/g]		teplota kultivace [°C]	doba kultivace [dny]
		obal nenarušený	obal narušený		
0. týden	10^{-1}	$1,2 \cdot 10^1$		37	1
1. týden	10^{-1}	$1,4 \cdot 10^1$	$3,2 \cdot 10^1$	37	1
2. týden	10^{-1}	$1,7 \cdot 10^1$	$3,7 \cdot 10^1$	37	1
3. týden	10^{-1}	$2,6 \cdot 10^1$	$5,8 \cdot 10^1$	37	1
4. týden	10^{-1}	$2,8 \cdot 10^1$	$3,1 \cdot 10^2$	37	1

8.6 Stanovení kvasinek a plísní

Kvasinky a plísně byly stanovovány na živné půdě CHYGA, postup stanovení je popsán v kapitole 7.4.7. Plísně a kvasinky při přemnožení v pokrmu mohou způsobovat jeho kažení doprovázené např. změnou pachu, či vzhledu.

Plísně spolu s kvasinkami byly rovněž stanovovány ve dvou sadách hotových pasterovaných pokrmů – Svíčková na smetaně s houskovým knedlíkem a Vepřová játra s rýží, oba pokrmy byly skladovány jak v obalu neporušeném tak v obalu narušeném.

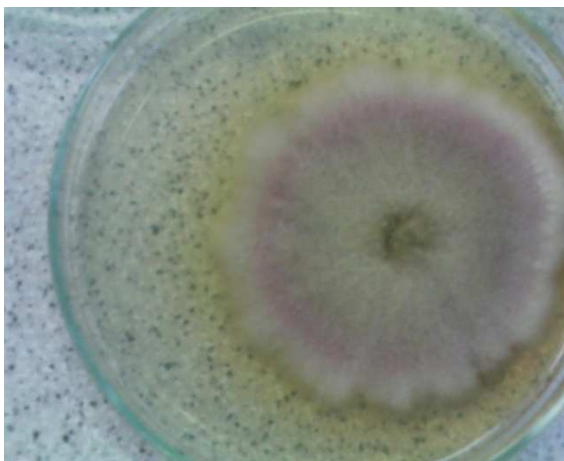
8.6.1 Svíčková na smetaně s houskovým knedlíkem

Plísně a kvasinky byly stanovovány v houskovém knedlíku a ve svíčkové omáče na smetaně, počty ve vzorcích houskového knedlíku jsou uvedeny v tab. 37.

Tab. 37. Kvasinky a plísně v houskovém knedlíku

doba skladování	číslo ředění k výpočtu	počet kvasinek a plísní [KTJ/g]		teplota kultivace [°C]	doba kultivace [dny]
		obal nenarušený	obal narušený		
0. týden	10 ⁻¹	0		25	7
1. týden	10 ⁻¹	0	0	25	7
2. týden	10 ⁻¹	0	2	25	7
3. týden	10 ⁻¹	0	0	25	7
4. týden	10 ⁻¹	0	1	25	7

V průběhu skladování hotového pokrmu byly kvasinky v houskovém knedlíku zjištěny pouze po druhém týdnu skladování u vzorku v obalu narušeném. Po čtvrtém týdnu skladování, byl již na knedlicích okem viditelný nárůst plísně u vzorku skladovaného v obalu narušeném, na živné půdě narostla 1 kolonie plísně.



Obr. 13. Plíseň narostlá na houskovém knedlíku

Ve svíčkové omáče s vepřovým masem nebyl u žádného vzorku v průběhu čtyřtýdenního skladování zjištěn nárůst kvasinek ani plísní.

8.6.2 Vepřová játra s rýží

Kvasinky a plísňe byly stanoveny jednak u vzorků skladovaných v obalu narušeném a také u vzorku v obalu nenarušeném po dobu 4 týdnů. Jednalo se o vzorky vepřová játra s omáčkou a rýže.

U rýže byla zjištěna pouze jedna kvasinka po třetím týdnu skladování u vzorku v obalu narušeném. Po čtvrtém týdnu skladování byly na rýži okem viditelné plísňe u vzorku v obalu narušeném, na živné půdě vyrostly 2 kolonie plísni. Jinak v ostatních týdnech skladování byl výskyt plísni a kvasinek v rýži skladované v obalu nenarušeném a proříznutém negativní.



Obr. 14. Plísňe narostené na rýži

Ve vzorku vepřových jater s omáčkou byly zjištěny plísňe po třetím týdnu skladování u vzorku v obalu narušeném (1 kolonie) a po čtvrtém týdnu narostlo na živné půdě 76 kolonií oranžovorůžové barvy, které však nebylo možno v laboratoři identifikovat, pravděpodobně se však jednalo o kvasinky. Ve vzorku skladovaného v obalu nenarušeném nebyly zjištěny žádné plísňe kvasinky.



Obr. 15. Plíseň na vepřových játrech v obalu narušeném



Obr. 16. Kvasinky narostené na vepřových játrech v obalu narušeném

Výsledky jednotlivých stanovení nebylo možno diskutovat a srovnat s jinými autory, z důvodu, že nebyly nalezeny žádné literární zdroje se stejnou, popř. obdobnou problematikou.

ZÁVĚRY

Průmyslová výroba hotových pokrmů patřila mezi potravinářské obory, které v uplynulých padesáti letech prodělaly poměrně bouřlivý vývoj. Na rozdíl od mnoha jiných potravinářských technologií se současná průmyslová výroba hotových pokrmů vyvíjela v rámci několika výchozích oborů, a to zejména konzervárenství a mrazírenství na jedné straně a v rámci společného stravování na straně druhé.

Správné zacházení s potravinami má významný vliv na naše zdraví, jež může být ovlivněno výživovou, hygienickou i senzoricou stránkou pokrmů. Vhodným zpracováním surovin pro výrobu hotových pokrmů by měla být zabezpečena zdravotní nezávadnost pokrmů, která spočívá ve zničení všech patogenních a nežádoucích mikroorganismů včetně případných toxinů. Při přípravě hotových pokrmů by měl být snížen obsah kontaminantů i přirozeně toxických látek ovlivňující zdraví člověka na minimum.

V teoretické části této diplomové práce byly popsány legislativní požadavky vztahující se na provozovatele potravinářského podniku, dále charakteristika, dělení a technologický postup výroby hotových pokrmů. V poslední kapitole byly rozepsány možná onemocnění z potravin způsobeny jednak bakteriemi, ale také plísněmi, respektive jejich toxiny.

Hlavním cílem praktické části bylo sledovat změny sušiny a mikrobiálního složení u dvou druhů pasterovaných hotových pokrmů, které byly skladovány jednak v obale nenarušeném a také v obale proříznutém. Tyto změny byly sledovány v závislosti na délce skladování hotových pokrmů a jednotlivá stanovení u vzorku v obalu narušeném a nenarušeném u téhož hotového pokrmu byly porovnávány se záměrem určit, zda jsou velké rozdíly ve výsledcích stanovení.

Svíčková na smetaně s houskovým knedlíkem: Se vzrůstající dobou skladování se zvyšovaly i obsahy sušiny u vzorků v obou obalech (protržený, neprotržený), přičemž sušiny houskových knedlíků v obalech protržených byly vždy vyšší než v obalu neprotrženém. V omáčce s vepřovým masem se sušiny snižovaly v závislosti na délce skladování. Při mikrobiologických stanoveních byly počty mikroorganismů ve vzorcích uskladněných v obalu nenarušeném téměř vždy nižší, než u vzorků skladovaných v obalu narušeném. Při stanovení CPM v tomto pokrmu nebyla výrazně překročena přípustná hodnota stanovená vyhláškou 132/2004 Sb. do doby data spotřeby u vzorku v obalu neprotrženém, po uplynutí tohoto data již byla přípustná hodnota mírně překročena, avšak v omáčce v obalu protrženém došlo k překročení přípustné hodnoty již po druhém týdnu

skladování. Ze stanovení koliformních bakterií a enterokoků v tomto pokrmu vyplývá, že protržení obalů nemělo vliv na rozvoj těchto bakterií, dále že pokrmy byly dostatečně pasterovány a nedošlo u nich k sekundární kontaminaci. Stafylokoky se podařilo v pokrmu prokázat, jak v obalu narušeném tak i nenarušeném, avšak jejich počty nepřekročily přípustnou hodnotu stanovenou vyhláškou 132/2004 Sb. V pokrmu byly po druhém týdnu skladování v protrženém obalu stanoveny 2 kvasinky a po 4. týdnu i jedna kolonie plísně.

Vepřová játra s rýží: S prodlužující se dobou skladování došlo k poklesu procentuálního obsahu sušiny, přičemž sušiny vzorků v pokrmech protržených byly vždy vyšší než v pokrmu neproříznutém. CPM byly v rýži v obou obalech překročeny po třetím týdnu skladování a u jater již po druhém týdnu. U rýže i jater skladovaných v obalu naříznutém byly počty psychrotrofních mikroorganismů již po prvním týdnu skladování vyšší než u vzorků v nenarušeném obalu a s narůstající dobou skladování rostly i tyto počty. Nárůsty koliformních bakterií byly až po datu spotřeby, enterokoky se u rýže zvýšily po 3. týdnu skladování a u jater po týdnu druhém. Stafylokoky byly v játrech stanoveny a prokázány ihned po převezení pokrmu do laboratoře. V těchto hotových pokrmech se v narušených obalech po 4. týdnu skladování vyskytly plísně i kvasinky.

Závěrem můžeme konstatovat, že sušiny výrobků byly ovlivněny více u pokrmů skladovaných v obalu proříznutém a rovněž i počty mikroorganismů byly u těchto pokrmů vyšší v závislosti na délce skladování. Po provedených testech a vyhodnoceních se domníváme, že datum spotřeby (21 dní) je pro tyto hotové pokrmy optimální za dodržení podmínek skladování. Zjištěné výsledky nebylo možno srovnávat a diskutovat s jinými autory, jelikož nebyly zjištěny a nalezeny žádné publikace týkající se tohoto tématu.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] MLEJNKOVÁ, J., VALENTOVÁ, J., INDORVÁ, J., KOTEK, P. *Služby společného stravování*. 1. vyd., Vysoká škola ekonomická, Oeconomica, Praha, 2005, s. 44–71. ISBN 80-245-0870-2.
- [2] GAJDŮŠEK, S., DOSTÁLOVÁ, J., OTOUPAL, P. *Společné stravování*. 1. vyd., Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, Brno, 1999, s. 70–86. ISBN 80-7157-395-7.
- [3] Nařízení Evropského parlamentu a rady (ES)č. 852/ 2004 *o hygieně potravin*.
- [4] Zákon 110/1997 Sb. *o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů*. Sbírka zákonů České republiky.
- [5] Nařízení Komise (ES) č. 2073/2005 *o mikrobiologických kritériích pro potraviny*.
- [6] Vyhláška č. 602/2006 Sb., *kteřou se mění vyhláška č. 137/2004 Sb., o hygienických požadavcích na stravovací služby a zásadách osobní a provozní hygieny při činnostech epidemiologicky závažných*. Sbírka zákonů České republiky.
- [7] Vyhláška Ministerstva zdravotnictví č. 107/2001 Sb. *o hygienických požadavcích na stravovací služby a o zásadách osobní a provozní hygieny při činnostech epidemiologicky závažných*.
- [8] ČEŘOVSKÝ, M. *Výroba hotových pokrmů a lahůdek* [online]. [cit. 21. 1. 2010]. VŠCHT, Praha. Dostupné z WWW: http://www.vscht.cz/ktk/www_324/studium/HP.html.
- [9] ILČÍK, F., VAGUNDA, J., BEBJAK, P. *Technologie konzervárenství: Pro 4. ročník střední průmyslové školy konzervářské*. 1. vyd., SNTL, Praha, 1981, 368 s.
- [10] PIPEK, P. *Základy technologie masa*. 1. vyd., VVŠ PV, Vyškov, 1998, 104 s. ISBN 80-7231-010-0.
- [11] BŘEZINA, P., KOMÁR, A., HRABĚ, J. *Technologie, zbožížnalství a hygiena potravin II. část*. 1. vyd., VVŠ PV, Vyškov, 2001, 177 s. ISBN 80-7231-079-8.
- [12] BEZDĚK, J. *Výroba uzenin, specialit a konserv*. 3. vyd., OSSIS, Tábor, 1999, 159 s. ISBN 80-902391-6-1.
- [13] PIPEK, P. *Suroviny pro výrobu hotových pokrmů – maso*. In *Sborník Perspektivy průmyslové výroby hotových pokrmů*. VŠCHT, Praha, 1995, 35 s.
- [14] PIPEK, P. *Technologie masa I*. 3. přepracované vydání, VŠCHT, Praha, 1993, 212 s. ISBN-80-7080-174-3.

- [15] VELÍŠEK, J. *Chemie potravin I*. 1. vyd., OSSIS, Tábor, 1999, 352 s. ISBN 80902391-3-7.
- [16] *Rýže – druhy rýže a její jakost*. Výživa a potraviny, 2008., č. 63, roč. 3, s. 76–79. ISSN 1211-846X.
- [17] PŘÍHODA, J., SKŘIVAN, P., HRUŠKOVÁ, M. *Cereální chemie a technologie I: cereální chemie, mlýnská technologie, technologie výroby těstovin*. 1. vyd., VŠCHT, Praha, 2004, s. 11–23. ISBN 80-7080-530-7.
- [18] HRABĚ, J., KOMÁR, A. *Technologie, zbožiznalství a hygiena potravin III. část*. 1. vyd., VVŠ PV Vyškov, 2003, 163 s. ISBN 80-7231-107-7.
- [19] ROP, O., VALÁŠEK, P., HOZA, I. *Teoretické principy konzervace potravin I. Hlavní konzervářenské suroviny*. 1. vyd., UTB, Zlín, 2005, s. 102–126. ISBN 80-7318-339-0.
- [20] BLATTNÝ, C., PIPEK, P., INGR, I. *Konzervářenské suroviny*. 3. přepracované vydání, SNTL, Praha, 1986, 216 s.
- [21] BALAŠTÍK, J. *Konzervace ovoce a zeleniny*. 1. vyd., SNTL Praha, 1975, s. 36–57.
- [22] PEŠEK, M., a kolektiv. *Potravinářské zbožiznalství*. 1. Vyd., Jihočeská univerzita, České Budějovice, 2000, s. 134–165. ISBN 80-7040-399-3.
- [23] TREMLOVÁ, B. *Histologie potravin*. 1. vyd., Veterinární a farmaceutická univerzita, Brno, 1998, 60 s. ISBN 80-85114-22-4.
- [24] OBDRŽÁLEK, V. *Kultivace bakterií. Praktikum – vyšetřovací metody*. 1. vyd., vydavatelství MU, Brno, 1992.
- [25] INGR, I. *Základy konzervace potravin*. 2. nezměněné vydání, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, Brno, 2005, 130 s. ISBN 80-7157-849-5.
- [26] HALAČKA, K. *Výživové a hygienické minimum pro závodní stravování*, 1. vyd., Merkur, Praha, 1982, 193 s., ISBN 51-337-82.
- [27] GROSSMANN, M. *Mikrobiologie v hygieně speciální část*. Vyškov, 1999, 90 s. ISBN 80-7231-037-2.

[28] BENEŠOVÁ, L. *Potravinářství*. 1. vyd., Praha, Ústav zemědělských a potravinářských informací, 1993, 200 s., ISBN 80-85120-38-0.

[29] ŠILHÁNKOVÁ, L. *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology*. Academia, Praha, 2002, 363 s. ISBN 80-200-1024-6.

[30] VÍTEK, M. *Plastové misky pro každý den*. Packing, odborný časopis pro obaly, logistiku a transport, č. 6 (listopad – prosinec), ročník 10, 2006, ISSN 1211-9202.

[31] KARSCH, J. *Rozvoj obalů a techniky balení pro hotové pokrmy a polotovary – Balicí systémy DYNO na hotové pokrmy*. Středisko technických informací potravinářského průmyslu, Praha, 1981, s. 77–91.

[32] DOSTÁLOVÁ, J. *Co se děje s potravinami při přípravě pokrmů*. 1. vydání, Forsapí, s. r. o., Praha, 2008, 53 s. ISBN 978-80-903820-8-4.

[33] HAN, J. *Innovation in food packing*. Elsevier Academic Press, London, 2005, s. 5–12. ISBN 80-967945-6-6.

[34] HRABĚ, J., BŘEZINA, P., VALÁŠEK, P. *Technologie výroby potravin živočišného původu*. 1. vyd., UTB, Zlín, 2006, 180 s. ISBN 80-7318-405-2.

[35] DRDÁK, M. *Technológia rastlinných neúdržných potravín*. 1. vyd., Alfa, Bratislava, 1989, 301 s. ISBN 80-05-00121-5.

[36] FRIEDMAN, M. *Food browning and its prevention*. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. American Chemical society, 1996, s. 631–653.

[37] VLKOVÁ, E., TOMÁNKOVÁ, E., RADA, V., KILLER, J. *Potravinářská mikrobiologie*. Česká zemědělská univerzita v Praze, Praha, 2006, 168 s. ISBN 80-213-1583-0.

[38] HRABĚ, J. *Vývoj a hodnocení jakosti konzervovaných dávek potravin pro Armádu ČR* [Disertační práce]. VVŠ PV, Vyškov, 2000, 117 s.

[39] PIPEK, P. *Technologie masa II*. 1. vyd. Karmelitánské nakladatelství, 1998, 360 s. ISBN 80-7182-283-8.

[40] DAVÍDEK, J., HAJŠLOVÁ, J., POKORNÝ, J., VELÍŠEK, J. *Chemie potravin*. 2. vyd. VŠCHT, Praha, 1991, 142 s. ISBN 80-7080-097-6.

[41] FREDERICK, J. *Military food*. *Wiley encyclopedia of Food Science and Technology (2nd Edition)*. 1999, s. 276–301. ISBN 0-471-19285-6.

[42] KOMPRDA, T. *Obecná hygiena potravin*. 1. vyd., Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, Brno, 2004, 148 s. ISBN 978-80-7157-757-7.

[43] VOLDŘICH, M., JECHOVÁ, M., *Bezpečnost pokrmů v gastronomii*, 1. vyd., Praha, 2004, 178 s., ISBN 80-903401-0-5.

[44] *Vybrané infekční nemoci v ČR v letech 1999 – 2008*. [online]. [cit. 2. 2. 2010]. Státní zdravotní ústav, Epidat. Dostupný z WWW: <http://www.szu.cz/publikace/data>.

[45] HOBBS, B. C., CHRISTIAN, J. H. B. *The Microbiological Safety of Foods*. Academic Press, London, 1973.

[46] ŠILHÁKOVÁ, L. *Mikrobiologie pro potravináře*. 1. vyd., SNTL – Nakladatelství technické literatury, n. p., Praha, 1983, s. 152–268. ISBN 04-824-83.

[47] DEINDOERFER, F. H., HUMPFREY, A. E. *Scale-up of heat sterilization operations*. 1967, p. 134–139.

[48] HAĽAMA, D., DROBNICA, Ľ., BROZMNAOVÁ, J., HRAMEC, M., HRONČEK, J. *Technická mikrobiológia*. 1. vyd., Slovenské vydavateľstvo technickej literatury, Bratislava, 1967, s. 38–51. ISBN 63-004-68.

[49] RAPER, K. B., FENNEL, D. I., AUSTWICK, P. K. C. *The Genus Aspergillus*. Williams and Wilkins, Baltimore, USA, 1965.

[50] KYZLINK, V. *Teoretické základy konzervace potravin*. 1. vyd., SNTL – Nakladatelství technické literatury, n. p., Praha, 1988, 512 s. ISBN 04-812-88.

[51] JAY, J., M., *Modern Food Microbiology*, 6th Edition, Aspen Publishers, Maryland, 2000.

[52] BALAŠTÍK, J. *Průmyslová výroba hotových pokrmů*. SNTL – Nakladatelství technické literatury, n. p., Praha, 1983, 344 s. ISBN 4-813-83.

[53] DOBIÁŠ, J., ČURDA, D. *Balení potravin*. VŠCHT, Praha, 2004, s. 95–134.

[54] ŠILHÁNKOVÁ, L. *Hygiena mikrobiálních výrob*. 1. vyd., VŠCHT, Praha, 2007, s. 13–40. ISBN 80-7080-274-X.

[55] ŠULC, Š., PAVLACKÁ, G. *Průmyslová výroba polotovarů i hotových pokrmů a jejich využití ve společném stravování - Priemiselná výroba hotových jedál*. 1. vyd., Dům techniky, Plzeň, 1979, s. 29–50. ISBN 57-482-79.

[56] KUČEROVÁ, J., PELIKÁN, M., HŘIVNA, L. *Zpracování a zbožiznalství rostlinných produktů*. 1. vyd., Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, Brno, 2007, s. 52–56, 106–109. ISBN 978-80-7375-088-6.

[57] ODSTRČIL, J., ODSTRČILOVÁ, M. *Chemie potravin*. 1. vyd., Národní centrum ošetrovatelství a nelékařských zdravotnických oborů, Brno, 2006, s. 35–119. ISBN 80-7013-435-6.

[58] KUBÁŇ, V., KUBÁŇ, P. *Analýza potravin*. 1. vyd., Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, Brno, 2007. s. 174–184. ISBN 978-80-7375-036-7.

[59] *Laboratorní technika*. [online]. [cit. 12. 3. 2010]. Dostupný z WWW: <http://www.ped.muni.cz/wchem/sm/hc/labtech/index.html>.

[60] JENNINGS, T. A. *Lyophilization – Introduction and Basic Principles*. 1. vyd., Interpharm, United States of America, 1999, s. 1–55. ISBN 1-57491-081-7.

[61] POLLICK, M. *What is Freezing Drying?* [online]. [cit. 13. 3. 2010]. Dostupný z WWW: z <http://www.wisegeek.com/what-is-freeze-drying.htm>.

[62] *The freeze-drying process*. Wikipedia. [online]. [cit. 13. 3. 2010]. Dostupný z WWW: http://en.wikipedia.org/wiki/Freeze_drying.

[63] SEVEROVÁ, M., BŘEZINA, P. *Návody pro laboratorní cvičení z analýzy potravin*. 1. vyd., VVŠ PV, Vyškov, 1998, 83 s. ISBN 80-7231-022-4.

[64] BURDYCHOVÁ, R., SLÁDKOVÁ, R. *Mikrobiologická analýza potravin*. 1. vyd., Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, Brno, 2007, s. 29 – 127. ISBN 978-80-7375-116-6.

[65] CAPPUCINO, J., G., SHERMAN, N. *Microbiology: a laborator manual*. 8. vyd., Stane University, New York, 2007, s. 12–45, 128–187. ISBN 0-321-48820-2.

[66] ŘÍHOVÁ AMBROŽOVÁ, J. *Enterokoky*. From *Encyklopedie hydrobiologie: výkladový slovník* [online]. VŠCHT Praha, Praha, 2007 [cit. 2010-04-17]. Dostupný z WWW: http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_es-006/ebook.html?p=E002.

[67] Vyhláška č. 132/2004 Sb. *o mikrobiologických požadavcích na potraviny, způsobu jejich kontroly a hodnocení*. Sbírka zákonů České republiky.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

HACCP	Hazard Analysis and Critical Control Points (analýza nebezpečí a kritické kontrolní body)
G ⁻	gramnegativní bakterie
G ⁺	grampozitivní bakterie
NaCl	chlorid sodný
S. D.	směrodatná odchylka
CV	variační koeficient
KTJ	kolonie tvořící jednotku
PH	přípustná hodnota
CFU	Colony forming units

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1. Stacionární vertikální autokláv	34
Obr. 2. Mikropipety	58
Obr. 3. Špičky do mikropipet.....	58
Obr. 4. Stříčky používané v mikrobiologii	58
Obr. 5. Elektrické analytické váhy.....	59
Obr. 6. Sušárny	59
Obr. 7. Plynové kahany.....	59
Obr. 8. Fázový diagram	61
Obr. 9. Roztěr inokula hokejkou.....	63
Obr. 10. Tvary kolonií na Petriho miskách.....	64
Obr. 11. Vzhled kolonií při stanovení CPM	80
Obr. 12. Narostené kolonie na VČŽL.....	92
Obr. 13. Plíseň narostlá na houskovém knedlíku.....	101
Obr. 14. Plísně narostené na rýži	102
Obr. 15. Plíseň na vepřových játrech v obalu narušeném.....	102
Obr. 16. Kvasinky narostené na vepřových játrech v obalu narušeném.....	103

SEZNAM GRAFŮ

Graf 1. Sušina knedlíků v průběhu skladování	73
Graf 2. Sušina svíčkové omáčky s masem v průběhu skladování	74
Graf 3. Změny sušiny rýže v průběhu skladování	76
Graf 4. Změny sušiny vepřových jater s omáčkou	78
Graf 5. Srovnání CPM houskových knedlíků u obou typů vzorků.....	81
Graf 6. CPM u svíčkové omáčky s vepřovým masem v obalu narušeném a nenarušeném	83
Graf 7. Porovnání CPM rýže skladované v obalu narušeném a nenarušeném	85
Graf 8. CPM u vepřových jater s omáčkou skladovaných v obalu narušeném a nenarušeném	87

SEZNAM TABULEK

Tab. 1. Počet osob onemocněných salmonelózou v ČR v letech 1999 – 2008	39
Tab. 2. Počet osob onemocněných kampylobakterií v ČR v letech 1995 – 2006.....	40
Tab. 3. Počet osob onemocněných Listerií v ČR v letech 1999 – 2008.....	41
Tab. 4. Počet osob onemocněných shigelózou v ČR v letech 1999 – 2008	43
Tab. 5. Procentuální obsah sušiny knedlíků skladovaných v neporušeném obalu	72
Tab. 6. Procentuální obsah sušiny knedlíků skladovaných v protrženém obalu	72
Tab. 7. Sušina svíčkové omáčky s vepřovým masem skladované v neprotrženém obalu	73
Tab. 8. Procentuální obsah sušiny svíčkové omáčky s vepřovým masem skladované v protrženém obalu	74
Tab. 9. Procentuální obsah sušiny rýže v průběhu skladování v neprotrženém obalu	75
Tab. 10. Procentuální obsah sušiny rýže v průběhu skladování v protrženém obalu	75
Tab. 11. Procentuální obsah sušiny vepřových jater s omáčkou skladovaných v obalu neprotrženém	77
Tab. 12. Procentuální obsah sušiny vepřových jater s omáčkou skladovaných v obalu protrženém	77
Tab. 13. CPM houskového knedlíku v neporušeném obalu	80
Tab. 14. CPM houskového knedlíku v obalu narušeném	80
Tab. 15. CPM svíčkové omáčky s vepřovým masem skladované v obalu nenarušeném	82
Tab. 16. CPM svíčkové omáčky s vepřovým masem skladované v obalu naříznutém.....	82
Tab. 17. CPM rýže skladované v obalu nenarušeném.....	84
Tab. 18. CPM rýže skladované v obalu naříznutém.....	84
Tab. 19. CPM vepřových jater s omáčkou skladovaných v obalu nenarušeném.....	85
Tab. 20. CPM vepřových jater s omáčkou skladovaných v obalu naříznutém.....	86
Tab. 21. Psychrotrofní mikroorganismy v houskovém knedlíku.....	88
Tab. 22. Psychrotrofní mikroorganismy ve svíčkové omáčce s vepřovým masem.....	89
Tab. 23. Psychrotrofní mikroorganismy v rýži.....	90
Tab. 24. Psychrotrofní mikroorganismy ve vepřových játrech s omáčkou	91
Tab. 25. Počty koliformních bakterií v houskovém knedlíku.....	92
Tab. 26. Počty koliformních bakterií ve svíčkové omáčce s vepřovým masem.....	93
Tab. 27. Počty koliformních bakterií v rýži.....	93

Tab. 28. Počty koliformních bakterií ve vepřových játrech s omáčkou	94
Tab. 29. Počet enterokoků v houskovém knedlíku	95
Tab. 30. Počet enterokoků ve svíčkové omáčce s vepřovým masem	96
Tab. 31. Počty enterokoků v rýži	96
Tab. 32. Počty enterokoků ve vepřových játrech a omáčce.....	97
Tab. 33. Počty stafylokoků v houskovém knedlíku.....	98
Tab. 34. Počty stafylokoků ve svíčkové omáčce s vepřovým masem	99
Tab. 35. Počty stafylokoků v rýži	99
Tab. 36. Počty stafylokoků ve vepřových játrech s rýží.....	100
Tab. 37. Kvasinky a plísně v houskovém knedlíku	101

SEZNAM PŘÍLOH

PŘÍLOHA PI: Příklad kontrolního listu pro interní zkoušení jakosti kultivační půdy

PŘÍLOHA P I: PŘÍKLAD KONTROLNÍHO LISTU PRO INTERNÍ ZKOUŠENÍ JAKOSTI KULTIVAČNÍ PŮDY

Kultivační půda		připravený objem	datum rozplnění:	interní číslo šarže:
dehydratovaná půda (a kód)	dodavatel	šarže	množství	datum/podpis
suplement	dodavatel	šarže	množství	datum/podpis
Kontrola jakosti fyzikálními metodami				
očekávaná hodnota pH:	naměřená hodnota pH:	jakost potvrzena ano ne	závady:	datum/podpis
očekávané rozplňované množství a/nebo tloušťka vrstvy:	zjištěno:	jakost potvrzena ano ne	závady:	datum/podpis
očekávané zbarvení	zjištěno:	jakost potvrzena ano ne	závady:	datum/podpis
očekávaná čirost/přítomnost viditelných artefaktů:	zjištěno:	jakost potvrzena ano ne	závady:	datum/podpis
očekávaná stabilita gelu/konzistence/ vlhkost:	zjištěno:	jakost potvrzena ano ne	závady:	datum/podpis
Mikrobiální kontaminace				
počet zkoušených ploten nebo zkumavek inkubace:	výsledek:	jakost potvrzena ano ne	počet kontaminovaných ploten nebo zkumavek:	datum/podpis
Růst mikroorganismů – produktivita		metoda kontroly:	kvantitativní	kvalitativní
kmeny: inkubace: referenční půda:		kritérium:	jakost potvrzena ano ne	datum/podpis
Růst mikroorganismů – selektivita		metoda kontroly:	kvantitativní	kvalitativní
kmeny: inkubace: referenční půda:		kritérium:	jakost potvrzena ano ne	datum/podpis
Růst mikroorganismů – specifita		metoda kontroly:	kvantitativní	kvalitativní
kmeny: inkubace: referenční půda:		kritérium:	jakost potvrzena ano ne	datum/podpis
Uvolnění šarže				
podrobnosti o úchově		Šarže uvolněna	ano ne	datum/podpis