

Mendelova univerzita v Brně
Agronomická fakulta
Ústav technologie potravin

Mikrobiologická kvalita masných výrobků
Diplomová práce



Vedoucí práce:

MVDr. Olga Cwíková, Ph. D.

Vypracovala:

Bc. Lucie Koutníčková

Brno 2016

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem práci: Mikrobiologická kvalita masných výrobků vypracovala samostatně a veškeré použité prameny a informace uvádím v seznamu použité literatury. Souhlasím, aby moje práce byla zveřejněna v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách ve znění pozdějších předpisů a v souladu s platnou Směrnicí o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací.

Jsem si vědoma, že se na moji práci vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., autorský zákon, a že Mendelova univerzita v Brně má právo na uzavření licenční smlouvy a užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona.

Dále se zavazuji, že před sepsáním licenční smlouvy o využití díla jinou osobou (subjektem) si vyžádám písemné stanovisko univerzity, že předmětná licenční smlouva není v rozporu s oprávněnými zájmy univerzity, a zavazuji se uhradit případný příspěvek na úhradu nákladů spojených se vznikem díla, a to až do jejich skutečné výše.

V Brně dne:

.....

podpis

Děkuji paní MVDr. Olze Cwиковé, Ph.D., vedoucí mé diplomové práce, za odborné rady a čas, který mi věnovala při psaní práce. V neposlední řadě bych také ráda poděkovala svým rodičům za podporu během studia.

ABSTRAKT

Diplomová práce se zabývá mikroorganismy v masných výrobcích. Definuje mikroorganismy způsobující kažení potravin a mikroorganismy způsobující alimentární onemocnění. Popisuje jednotlivé druhy masných výrobků, jejich mikroflóru a částečně i výrobu. Navrhuje preventivní opatření proti nežádoucím mikroorganismům a to ve formě správné hygienické praxe a zavedení systému HACCP.

Součástí této práce je i experimentální stanovení významných skupin mikroorganismů v tepelně opracovaných masných výrobcích. V první části byla srovnána mikrobiální kontaminace masných výrobků od tří různých výrobců a v druhé části porovnání mikrobiální kontaminace výrobků na začátku výroby a po skončené doby minimální trvanlivosti. Z výsledků vyplývá, že mikrobiologická kontaminace masných výrobků nepřekročila limity dané vyhláškou nebo ČSN 56 9609, a to ani po skončení doby údržnosti.

KLÍČOVÁ SLOVA: tepelně opracované masné výrobky, mikroorganismy, alimentární onemocnění

ABSTRACT

The thesis deals with microorganisms in meat products. Defines the microorganisms that cause food spoilage and foodborne disease-causing microorganisms. It describes the different types of meat products, their microflora and partially production. Proposes preventive measures undesirable microorganisms in the form of good hygiene practices and the implementation of HACCP system.

Part of this work is the experimental determination of important groups of microorganisms in cooked meat products. The first part was compared to microbial contamination meats products from three different manufacturers and in the second part was compared to microbial contamination products at the beginning and after expiration of the minimum durability. The results show that the microbiological contamination of meat products exceeded the limits set by the decree or CSN 56 9609, even after the end of their shelf-life.

KEYWORDS: cooked meat products, microorganisms, foodborne diseases

OBSAH

1	ÚVOD	9
2	CÍL	10
3	LITERÁRNÍ PŘEHLED.....	11
3.1	Maso, jako vstupní surovina	11
3.1.1	Postmortální biochemické změny.....	11
3.1.1.1	Autolýza masa	11
3.1.1.2	Proteolýza masa	13
3.1.2	Mikrobiální kontaminace.....	13
3.1.2.1	Primární kontaminace.....	13
3.1.2.2	Sekundární kontaminace.....	14
3.2	Mikroorganismy v mase	14
3.2.1	Bakterie způsobující kažení masa	15
3.2.1.1	rod <i>Pseudomonas</i>	15
3.2.1.2	<i>Brochothrix thermospacta</i>	16
3.2.1.3	rod <i>Flavobacterium</i>	16
3.2.1.4	<i>Proteus</i> sp.	17
3.2.2	Plísně	17
3.2.2.1	rod <i>Cladosporium</i>	17
3.2.2.2	rod <i>Geotrichum</i>	18
3.2.2.3	rod <i>Mucor</i>	18
3.2.2.4	rod <i>Thamnidium</i>	18
3.2.2.5	rod <i>Sporotrichum</i>	18
3.2.3	Mikroorganismy způsobující alimentární onemocnění	19
3.2.3.1	rod <i>Salmonella</i>	19
3.2.3.2	<i>Listeria monocytogenes</i>	20
3.2.3.3	rod <i>Shigella</i>	21

3.2.3.4	rod <i>Clostridium</i>	22
3.2.3.5	rod <i>Bacillus</i>	24
3.2.3.6	<i>Escherichia coli</i>	25
3.2.3.7	<i>Staphylococcus aureus</i>	26
3.2.3.8	<i>Campylobacter jejuni</i>	27
3.2.3.9	<i>Yersinia enterocolitica</i>	27
3.2.3.10	<i>Aeromonas hydrophila</i>	28
3.3	Mikrobiota surovin pro masnou výrobu	29
3.3.1	Maso	29
3.3.2	Tuky.....	30
3.3.3	Sůl a koření.....	30
3.4	Rozdělení masných výrobků.....	31
3.4.1	Tepelně opracovaný masný výrobek.....	32
3.4.1	Tepelně neopracovaný výrobek.....	33
3.4.2	Trvanlivý tepelně opracovaný výrobek	33
3.4.3	Trvanlivý fermentovaný výrobek	33
3.4.3.1	Technologie výroby trvanlivého fermentovaného výrobku	34
3.4.4	Masný polotovar	35
3.4.5	Kuchyňský masný polotovar	36
3.4.6	Konzerva.....	37
3.4.7	Polokonzerva	37
3.5	Preventivní opatření	37
3.5.1	System HACCP	38
3.5.2	Překážkový efekt	39
3.5.3	Ovlivňování růst mikroorganismů.....	39
3.5.3.1	pH.....	40
3.5.3.2	Oxidačně redukční potenciál	40

3.5.3.3	Aktivita vody	41
3.5.3.4	Teplota	42
3.5.4	Konzervace potravin	42
4	MATERIÁL A METODIKA	45
4.1	Použité přístroje a zařízení	45
4.2	Materiál	45
4.3	Postup mikrobiologické analýzy	46
4.3.1	Stanovení CPM (celkový počet mikroorganismů)	47
4.3.2	čeled' <i>Enterobacteriaceae</i>	47
4.3.3	Postup analýzy při stanovení <i>Salmonella</i> spp.	48
4.3.4	Postup analýzy při stanovení <i>Listerie monocytogenes</i>	48
4.3.5	Vyhodnocení	49
4.3.6	Statistické metody	50
5	VÝSLEDKY A DISKUZE	51
5.1	Porovnání mikrobiologické jakosti masných výrobků pocházejících od různých výrobců	51
5.1.1	Špekáček	51
5.1.2	Šunkový salám	52
5.1.3	Gothaj	53
5.2	Porovnání mikrobiologické jakosti masných výrobků na počátku a na konci doby údržnosti	54
5.2.1	Mendláček	54
5.2.2	Cigáro	55
5.2.3	Tlačenka	55
5.2.4	Játrová paštika	56
5.2.5	Libový párek	57
5.2.6	Myslivecká klobása	57

5.2.7	Chilli klobása.....	58
5.2.8	Gothaj	59
5.2.9	Šunkový salám.....	59
5.2.10	Špekáček.....	60
5.2.11	Grilovací klobása.....	61
6	ZÁVĚR	65
7	PŘEHLED POUŽITÉ LITERATURY	66
8	SEZNAM TABULEK.....	72
9	SEZNAM OBRÁZKŮ	73

1 ÚVOD

Mikrobiologie masa je jedním z nejobtížnějších úseků potravinářské mikrobiologie. Různé podmínky při zpracování a dovozu masa, v chovu jatečných zvířat způsobují, že osídlení masa mikroby je velmi pestré a široké. Maso patří mezi potraviny, které velmi rychle podléhají kažení a to z důvodu dostatku vhodné a_w , hodnotě pH a celkovému chemickému složení.

Maso a masné výrobky patří mezi nejoblíbenější a nejvyhledávanější potraviny. Ze zdravotního hlediska je ceněno zejména pro obsah biologicky hodnotných bílkovin. Maso je nedílnou součástí jídelníčku obyvatel na celém světě, jeho spotřeba však od roku 2009 mírně klesá. Spotřeba masa v České republice je 78,6 kg na jednoho obyvatele za rok, včetně ryb. Mezi nejvíce konzumovaný druh masa v roce 2011 se řadilo maso vepřové s 42,1 kg na jednoho obyvatele za rok, což je 53,56 %.

Masné výrobky jsou zpracované výrobky získané zpracováním masa nebo dalším zpracováním takto zpracovaných výrobků, takže je z řezné plochy zřejmé, že produkt pozbyl znaků charakteristických pro čerstvé maso

Dle Nařízení ES 853/2004 je maso charakterizováno jako všechny části zvířete, které jsou vhodné k lidské spotřebě, o jejíž použitelnosti bylo rozhodnuto podle zvláštního právního předpisu.

Nízký počáteční stav bakterií pomáhá udržovat nízký počet bakterií v průběhu výrobního procesu a značně zvyšuje životnost produktu. Počáteční mikrobiální kontaminace závisí na fyziologickém stavu zvířete při poražení, na stupni kontaminace prostředí jatek a prostorů, kde probíhá manipulace s masem, včetně hygieny zaměstnanců, nástrojů a zařízení

Mikrobiologický stav masa a masných výrobků je pravidelně kontrolován. Výsledné počty musí být na takové úrovni, aby nemohlo dojít k ohrožení lidského zdraví.

Požadavky jsou stanoveny v NAŘÍZENÍ EP A RADY (ES) č. 2073/2005. Evropskou legislativou je také dána povinnost provozovatelů potravinářských podniků zavést a uplatňovat programy bezpečnosti potravin, založené na zásadách systému HACCP.

2 CÍL

Cílem této diplomové práce bylo:

- nastudovat problematiku mikrobiologické kvality masných výrobků a systému státní kontroly
- zaměřit se na tyto mikrobiologické ukazatele: plísně a kvasinky, salmonely, listerie, CPM, koagulázapozitivní stafylokoky, Clostridium perfringens, enterobakterie
- pravidelně provádět mikrobiologické rozbory masných výrobků jako kontrolu produkce provozu masné výroby
- získané výsledky zpracovat a vyhodnotit, porovnat s legislativou
- z výsledků vyvodit závěry-doporučení pro konzumenta a výrobce (minimalizace zdravotních rizik)

3 LITERÁRNÍ PŘEHLED

3.1 Maso, jako vstupní surovina

Definice masa

Masem, v užším smyslu, rozumíme kosterní svalstvo běžných jatečných zvířat pak i drůbeže nebo divoce žijící zvěře, v širším pak i vnitřnosti a masné výrobky.

Dle Nařízení ES 853/2004 je maso charakterizováno jako všechny části zvířete, které jsou vhodné k lidské spotřebě, o jejíž použitelnosti bylo rozhodnuto podle zvláštního právního předpisu.

3.1.1 Postmortální biochemické změny

I po usmrcení zvířete probíhají dále ve svalových vláknech biochemické reakce. Aktivita většiny nativních enzymů velmi klesá a postupně mizí nebo se naopak, u některých aktuálně relativně zvýší a pak také mizí. Postmortální období, v němž aktivně působí nativní enzymy, se označuje jako autolýza neboli samovolný rozklad masa. Je to proces, ve kterém jsou složky masa postupně degradovány na stále jednodušší látky až na konečné produkty rozkladu (např. voda, oxid uhličitý, amoniak aj.).

Při usmrcení zvířete dojde k přerušení krevního oběhu a současně i přerušení přívodu kyslíku. V důsledku toho začínají ve svalech převládat anaerobní pochody nad aerobními (Steinhauser et al., 1995).

3.1.1.1 Autolýza masa

Autolýza má u jednotlivých druhů masa odlišný průběh v rychlosti a intenzitě. Má několik fází s plynulým přechodem jedné ve druhou. Jedná se o přeměnu svalové tkáně v maso jako potravinu se všemi požadovanými vlastnostmi. Biokatalyzátory těchto přeměn jsou nativní enzymy. V zásadě se autolýza masa člení na čtyři základní fáze: období před rigorem (prae-rigor), posmrtné ztuhnutí (rigor mortis), zrání a hluboká autolýza (Steinhauser et al., 1995).

Prae rigor

Období před nástupem rigoru mortis, je charakterizováno přítomností dostatečného množství ATP, takže jsou aktin a myosin udržované v disociovaném stavu. V tomto období má maso vysokou vaznost, není tuhé, neuvolňuje vodu, je vhodné pro zpracování na mělněné masné výrobky (Ingr, 2003). Označuje se jako maso „teplé“. Toto maso je možné zmrazit a uchovávat v něm vlastnosti teplého masa. Nejprve se uvolní vápenaté ionty ze sarkoplazmatického retikula do prostoru myofibril. Dokud je dostatečné množství ATP jsou Ca^{2+} ionty přesouvány do sarkoplazmatického retikula. Při poklesu pH a koncentrace ATP se vápenaté ionty hromadí v prostoru myofibril, což následně vyvolá kontrakci. Zatím se však nejedná o posmrtné ztuhnutí (Pipek, 1998).

Rigor mortis - posmrtné ztuhnutí

Poklesne-li koncentrace ATP na určitou hladinu, nestačí se aktin a myosin udržovat v disociovaném stavu (Pipek, 1998). Dochází především odbourávání glykogenu a adenosintrifosfátu (ATP). Jejich hlavní meziprodukty, kyselina mléčná a kyselina inosinová, přechodně okyselí svalovinu. Hlavní myofibrilární bílkoviny myosin a aktin přechodně vytvoří aktinomyosinový komplex. Posmrtné ztuhnutí proběhne u některých druhů svaloviny velmi rychle (rybí, kuřecí), u vepřové a hovězí za 24 až 48 hodin, v závislosti na teplotě. Ve vrcholném stadiu rigoru mortis je veškerý glykogen odbourán na kyselinu mléčnou a ATP na kyselinu inosinovou, pH dosahuje nejnižší hodnoty, tzv. pH ult (Ingr, 2003).

Svalovina v rigoru mortisu je ztuhlá, ztrácí se její pružnost, sval se zkracuje o 7 – 10 % své délky, svalová vlákna mají tendenci se lámat. Maso v rigoru nelze zpracovávat díky snížené vaznosti a tuhosti (Pipek, 1998).

Zrání masa

Zrání je třetí fází autolýzy a často se tímto pojmem označuje celý autolytický proces. Kyselina mléčná se postupně odbourává, aktinomyosinový komplex disociuje na výchozí bílkoviny (Ingr, 2003). V tomto období se uvolňuje ztuhlost svalu, zlepšuje se vaznost, mírně roste pH a výrazně se zlepšují organoleptické vlastnosti (Pipek, 1998). Bílkovinné makromolekuly jsou odbourávány na stále nižší a nižší meziprodukty, které vytvářejí typickou vůni, chuť a texturu zralého masa. Optimálně vyzrálé maso je třeba

kulinárně nebo technologicky využít. Další zrání by mohlo přejít do fáze hluboké autolýzy (Ingr, 2003).

Hluboká autolýza

Zrání masa přechází po delším skladování v hlubokou autolýzu (Pipek, 1998). Ta je u běžných druhů mas nežádoucí, poněvadž v ní dochází až ke vzniku konečných produktů (amoniak, aminy, sulfan, merkaptany, oxid uhličitý, voda) rozkladu bílkovin a dalších složek masa s nežádoucími projevy. Hluboká autolýza se v mírné formě připouští pouze u zvěřiny, pokud byla po ulovení správně ošetřena, je-li zájem o dosažení její typické, ostřejší, mírně přezrálé chuti a vůně (Ingr 2,2003).

3.1.1.2 Proteolýza masa

Proteolýza se v počátečním postmortálním období neprojevuje, poněvadž svalovina zdravých a v dobré kondici poražených zvířat je prakticky sterilní. Navíc přirozené okyselení svaloviny působí bakteriostaticky na mikroorganismy, které postupně kontaminují maso zvenčí. Teprve postupné odbourávání kyseliny mléčné a vzestup hodnoty pH masa umožňují rozvoj mikroflóry (Ingr 2, 2003).

Proteolýza (hnutí) masa je vyvoláno hned několika druhy bakterií a jejich proteolytickými enzymy. Při hodnotách 10^7 až 10^8 mikroorganismů v 1 g nebo 1 cm³ povrchu dochází k povrchovému osliznutí dále ke změně barvy a povrchové až hloubkové hnilobě. Zvláštní formou kažení masa je tzv. zapaření, ložisková hniloba, kažení masa od kosti (Steinhauser et al., 1995).

3.1.2 Mikrobiální kontaminace

3.1.2.1 Primární kontaminace

K primární kontaminace dochází po nakrmení zvířat při svalové únavě, kdy mohou mikroorganismy trávicího traktu pronikat do masa. Ke svalové únavě dochází nejčastěji při přepravě na porážku. Další možnou kontaminací je řezem nebo vpichem při vykrvování, kdy se dostávají do krevního oběhu mikroorganismy z povrchu nože a těla zvířete. Tímto způsobem může být maso kontaminováno salmonelami, *Clostridium perfringens*, *Cl. botulinum* atd (Vlková et al., 2009).

3.1.2.2 Sekundární kontaminace

K sekundární kontaminaci dochází až po poražení zvířete při jatečném opracování a při další manipulaci s masem a masnými výrobky. Maso je jí vystaveno až do okamžiku spotřeby. Maso je velmi dobrým živným prostředím pro veškerou kontaminující mikroflóru. (Steinhauser et al., 1995). Mezi zdroje kontaminace patří kůže a srst zvířat, trávicí trakt a lymfatické uzliny zvířat. Dále také nože, jatečné nástroje, obaly a mikroorganismy z prostředí, ve kterém je maso zpracováno a skladováno (Vlková et al., 2009). Mikroby na mase nejen přežívají, ale za dobrých podmínek, jako je například teplota, se i rychle pomnožují a svou proteolytickou, lipolytickou a sacharolytickou činností způsobují kažení masa. Závažným zdrojem sekundární kontaminace je i člověk (Steinhauser et al, 1995).

3.2 Mikroorganismy v mase

Mikrobiologie je věda, která se zabývá studiem vlastností a činností mikroorganismů. Jako mikroorganismy označujeme jednobuněčné nebo vícebuněčné organismy, které jsou schopny tvořit funkční diferencované tkáně nebo pletiva. Společným znakem mikroorganismů jsou velmi malé rozměry jejich těl, od několika desetin μm do několika desetin mm. V systematice organismů jsou mikroorganismy označovány jako Protista; dělí se na Prokaryota, jež nemají diferencované jádro, a mikrobiální Eukaryota, tj. organismy s pravým jádrem (Šilhánková, 2002).

V historii mikrobiologie rozlišujeme dvě období. Do roku 1679 využívali lidé mikroorganismy bez jejich vědomí, například při výrobě alkoholických nápojů. V roce 1676 Holanďan Antonius van Leewenhoek objevil a popsal bakterie a jeho objev byl posléze roku 1684 uznán. Významný objev učinil Luis Paster a to pasterizaci, způsob odstraňování choroboplodných zárodků z tekutých potravin. Dalším významným jménem bylo Robert Koch, zakladatel bakteriologie, imunologie a sérologie.

Mikrobiologie masa je jedním z nejobtížnějších úseků potravinářské mikrobiologie. Různé podmínky při zpracování a dovozu masa, v chovu jatečných zvířat způsobují, že osídlení masa mikroby je velmi pestré a široké.

Čerstvé maso obsahuje velmi málo mikroorganismů. Jejich počet se může zvyšovat, pokud jsou zvířata unavená a vyčerpaná přepravou a čekáním na jatkách.

Nejčastěji se na mase vyskytují gramnegativní tyčinky a mikrokoky, především zástupci rodu *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Moraxella* a představitelé čeledi *Enterobacteriaceae*. Méně četné jsou streptokoky a lactobacily, ojediněle se vyskytují bacily a uvnitř masa se mohou vyskytovat i klostridia. Častější jsou psychrofilní druhy. Kvasinky a plísně jsou přítomny ojediněle tehdy, je-li povrch masa suchý. Počty mikrobů v mase velmi kolísají od nulových hodnot až po milionové na gram. Povrch masa je vždy více kontaminovaný než vnitřek. Počty mikroorganismů v čerstvém mase jsou velmi důležité pro jeho další zpracování (Šroubková, 1996).

3.2.1 Bakterie způsobující kažení masa

Kažení masa může probíhat dvěma směry a to od povrchu ke kosti, nebo uvnitř ve hmotě masa. Nejvýznamnějšími mikroorganismy podílející se na kažení masa jsou proteolytické a lipolitycké pseudomonády *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas fragii*, dále například *Serratia*, *Proteus*, *Micrococcus*, *Staphylococcus* a *Bacillus*, v případě kažení masa uvnitř ve hmotě i příslušníci rodu *Clostridium* (*Cl. perfringens*, *Cl. sporogenes* aj.).

3.2.1.1 rod *Pseudomonas*

Rod *Pseudomonas* byl popsán v roce 1894 a je jedním z nejvíce různorodých a všudypřítomná bakteriálních rodů, jejichž druhy byly izolovány po celém světě ve všech různých prostředích, z Antarktidy do tropů, přítomné v sedimentech, klinických vzorcích rostlin, hub a nemocných zvířat, ve vodě, půdě atd. Taxonomie rodu byla kontroverzní řadu let.

Mnoho bakteriálních taxonů, původně zahrnutých do rodu *Pseudomonas* byly přesunuty do jiných rodů nebo druhů z jiné třídy *Proteobacteriacea* (Peix et al., 2009).

Jsou to gramnegativní tyčinky. Rostou při teplotách 5 – 42 °C a pH 7,0 – 8,5. Nejčastěji se nacházejí ve vodě, v půdě a na rostlinách, některé druhy způsobují kažení potravin, protože produkují proteázy a lipázy (Burdychová, 2007).

Zahrnují přísně aerobní bakterie bez kvasných schopností. Využívá nejrozumnější organické sloučeniny jako zdroj energie a uhlíku a je bez nároků na specifické růstové

látky (Šilhánková, 2002). Některé druhy tvoří žlutozelený fluoreskující, modrozelený a zelený pigment. Příležitostně i hnědé, růžové a fialové barvivo, dobře pozorovatelné v UV světle. Tvorbu těchto barevných pigmentů podporuje přítomnost železa v médiu (Görner a Valík, 2004).

Silné proteolytické schopnosti jim umožňují rozklad bílkovinných potravin, proto patří k nejpočetnějším mikroorganismům na povrchu masa. Jejich lipolytické schopnosti se uplatňují při kažení tuků. Některé druhy např. *Pseudomonas aeruginosa* jsou patogenní pro člověka (Šilhánková, 2002).

3.2.1.2 *Brochothrix thermospacta*

Dříve zařazovaný do rodu *Microbacterium*. Patří do skupiny pravidelných nesporulujících grampozitivních tyčinek. Roste i při 6,5% NaCl a může způsobovat kažení masných výrobků. Pro růst vyžaduje velmi bohatou půdu obsahující lipoovou kyselinu. Je to anaerobní mikroorganismu, způsobuje mléčné kvašení (Šilhánková, 2002).

Není dokázáno, že by byl patogenní. Je úzce spjat s rody *Listeria* a *Lactobacillus*. Je to převládající mikroorganismus, který znehodnocuje chlazené masné suroviny. Rozsah růst v teplotách od 0 – 30 °C, optimum 20 – 25 °C a pH 5 – 9. Snáší i nízké hodnoty pH (Arrowscientific, 2001).

3.2.1.3 rod *Flavobacterium*

Rod *Flavobacterium* zahrnuje bakterie z velmi různých ekologických stanovišť s různými fyziologickými vlastnostmi, jako jsou např. nemocné ryby, sladkovodní a říční sedimenty, mořské vody a mořské sedimenty, půda, ledovce a antarktická jezera. V současné době existuje 34 druhů. *Flavobacterium* spp., které jsou patogenní nebo považovány za oportunní patogeny a způsobují onemocnění v široké škále organismů, včetně rostlin, ryb a člověka (Flemming et al., 2007). Optimu růstu na běžných půdách je 25 – 37 °C (Patočka et al., 1972).

Flavobacterie mohou být jak pohyblivé, tak nepohyblivé gramnegativní tyčinky. Tvoří kolonie se žlutými, oranžovými až načervenalými pigmenty. Jsou fyziologicky velmi rozmanité: mohou být psychofilní, psychrotolerantní nebo mesofilní, stejně jako halofilní, halotolerantní nebo citlivé na soli (Waśkiewicz a Irzykowska, 2014).

3.2.1.4 *Proteus sp.*

Rod *Proteus* je řazen do střevních bakterií, spolu s *Escherichia coli* a řádem *Salmonella*, *Shigella*, *Enterobacter* a *Serratia*. Jsou to gram negativní tyčinky, fakultativně anaerobní. Tento rod patří především k půdním obyvatelům, zejména jsou běžné při rozkladu organické hmoty. *Proteus* a příbuzný rod *Providencia* může být poměrně častou příčinou infekcí močových cest (The Microbial World).

Význam mají hlavně díky zkvašování glukosy a hydrolasy močoviny, nikdy nekvasí laktosu a manit. Produkují proteínasy, které kromě želatiny rozpouštějí i jiné živočišné bílkoviny. Velmi mnoho kmenů produkuje indol a skatol, což je příčinou jejich odporného zápachu (Patočka et al., 1972).

Proteus má dvě další zajímavě vlastnosti a to je jeho pohyblivost a jeho schopnost degradovat močovinu na amoniak, výrobou enzymu ureáza (The Microbial World).

Rod *Proteus hauseri*, zahrnující druhy *Pr. vulgaris* a *Pr. mirabilis*, je hojně rozšířen v přírodě, v půdě, povrchových vodách obsahující organické látky a běžně v odpadních vodách ve velkém množství.

Rod *Proteus morgani* patří mezi tzv. potenciální patogenní enterobakterie. Byl zjištěn jako původce onemocnění mezi kojenci i většími dětmi (Patočka et al., 1972).

3.2.2 Plísně

Plesnivění masa se vyskytuje poměrně často, protože plísně se množí i při nízkých skladovacích teplotách. Zpočátku se nárůst mikromycet projevuje lepkavostí na povrchu masa, v dalším stádiu dochází k barevným změnám. Plísně rozkládají zejména bílkoviny a tuk masa, což se projevuje uvolňováním amoniaku a těkavých kyselin, maso získává zatuchlý pach. Plesnivění masa se účastní hlavně plísně rodů *Thamnidium*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Cladosporium*, *Penicillium*, *Geotrichum* a *Sporotrichum* (Vlková et al., 2009).

3.2.2.1 rod *Cladosporium*

Tato plíseň má septované mycelium olivově zelené až černé barvy. Působí „černé skvrnky“ na hovězím mase, způsobují kažení jak chlazeného tak mraženého masa, vajec, másla a jiných tuků, obilovin, ovoce a zeleniny. Vyskytují se na stěnách potravinář-

ských provozů, vinných a pivních sklepů (Vlková et al., 2009). Způsobuje také těžké alergie dýchacích cest (Šilhánková, 2002).

3.2.2.2 rod *Geotrichum*

Tvoří přechod mezi kvasinkami a vláknitými houbami. Morfologií připomínají spíše kvasinky, ale nejsou schopny kvašení. Vykytuje se všudypřítomně ve vodě, půdě, ve vzduchu. Je velmi rozšířená v mlékařské mikrobiologii, proto má triviální název „mléčná plíseň“. Je kontaminantem pekařského droždí, kyselé kapusty, masa (nejvíce tukového pleťiva). Uplatňuje se ve fermentačním průmyslu při výrobě krmných bílkovin biosyntéze tuků (Görner a Valík, 2004).

3.2.2.3 rod *Mucor*

Je systematicky řazen do třídy *Zygomycetes*. Vyskytuje se zejména na zelenině a ovoci, ale způsobuje kažení mraženého masa, masných výrobků (hlavně slaniny), fermentovaných potravin, pečiva a pekařských kvasnic. Některé druhy jsou využívány pro průmyslovou výrobu proteolytických enzymů a amyláz (Vlková et al., 2009).

3.2.2.4 rod *Thamnidium*

Systematicky se řadí mezi *Zygomycetes*, vytváří řídké šedé mycelium. Vyskytuje se v půdě, mléce i různých potravinách. Působí často potíže v chladírnách neboť jeho činností maso, zvláště libové hnědne, nepříjemně zapáchá a kazí se (Hampl, 1968).

3.2.2.5 rod *Sporotrichum*

Je to saprofytická psychrotrofní houba. Nejčastěji se vyskytuje na rostlinných materiálech a při chladírenských teplotách na mase, kde tvoří bílé plstnaté někdy i nažloutlé nebo slabě růžové kolonie. *S. aureum* se využívá při výrobě sýrů francouzského typu (Görner a Valík, 2004).

3.2.3 Mikroorganismy způsobující alimentární onemocnění

Alimentární onemocnění lze rozdělit na infekce a intoxikace. Infekce jsou vyvolány bakteriemi, které se pomnoží v trávicím traktu člověka a vyvolají onemocnění. Intoxikace vznikají z pomnožení bakterií a produkce toxinů již v potravíně (Forsythe, 2000).

Přehled bakterií způsobující alimentární onemocnění najdeme v následující tabulce 1.

Tabulka 1 Přehled bakterií způsobující alimentární onemocnění (Fernandes, 2009)

Organismus	Buněčná morfolo-gie	Přístup ke kyslíku	Teplotní nároč-nost	Alimentární onemocnění
<i>A. hydrophilia</i>	G-	fakultativní	psychrotrofní	infekce
<i>Bacillus cereus</i>	G+	fakultativní	mezofilní	intoxikace
<i>Campylobacter</i> spp.	G-	mikroaerofilní	mezofilní	infekce
<i>C. botulinum</i>	G+	anaerobní	mezofilní	intoxikace
<i>C. perfringens</i>	G+	anaerobní	mezofilní	intoxikace
<i>E. coli</i>	G-	fakultativní	mezofilní	infekce
<i>L. monocytogenes</i>	G+	fakultativní	psychrotrofní	infekce
<i>Salmonella</i> spp.	G-	fakultativní	mezofilní	infekce
<i>Staph. aureus</i>	G+	fakultativní	mezofilní	intoxikace
<i>Y. enterocolitica</i>	G-	fakultativní	psychrotrofní	infekce

3.2.3.1 rod *Salmonella*

Jsou to gramnegativní tyčinky, které infikují lidi a zvířata, a způsobují široké spektru onemocnění. Může dojít k systémovým infekcím a gastroenteritidám v závislosti na druhu zvířete a bakteriálního kmene (Mastroeni a Sheppard, 2004). Počet případů salmonelózy se zvyšuje a kontrola potravin na přítomnost salmonel se stává rutinou po celém světě (D'Ostuni et al, 2016).

Patří do čeledi *Enterobacteriaceae*. Rostou v rozmezí +5 – 47 °C a při pH 4,0 – 9,0. Teploty nad 70 °C salmonely rychle devitalizují (Burdychová, 2007). Invazivní druhy rodu salmonela jsou původci některých onemocnění zažívacího ústrojí a jsou zodpovědné za střevní horečky u lidí a několika druhů zvířat. Salmonely jsou stále rozšířenější, mohou způsobovat břišní tyfus nebo časté případy otravy jídlem. Vzhledem k tomu, že salmonely mohou být přítomny u zvířat nebo produktů živočišného původu, tato bak-

terie představuje cílový patogeny celosvětového epidemiologického dozoru (Lalmanach a Lantier, 1999).

Jsou značně rezistentní na chlad, za normálních podmínek se rychle rozmnožují, varem se rychle ničí. *S. cholerae* je původce paratyfu prasat; *S. typhimurium* je patogenní pro všechny teplokrevné organismy; *S. enteritidis* vyvolává salmonelózy domácích zvířat a u lidí způsobuje otravu mase a *S. typhi* způsobuje u lidí břišní tyfus (Ambrož, 1991).

Podezření na salmonelózu vzniká při hromadném výskytu horečnatých průjmových onemocnění po požití jednoho stejného pokrmu. Příznaky onemocnění jsou nevolnost, zvracení, tlak v břiše, zimnice, bolest hlavy, průjem a mohou být doprovázeny kloubními bolestmi. Nemocný je vyčerpaný, dochází k dehydrataci organismu (Cempírková et al., 1997).

Zpráva z testu v programu ověřování podle třídy produktů a velikosti provozovny v době od 1 července 2007 do září 30, 2007 FSIS ukázal, že 80 % vzorků mletého kuřecího masa, 16,5 % z mletého krůtího masa, 10,8 % z mletého hovězího masa, 9,6 % krůt, a 8,2 % brojlerů bylo pozitivních na salmonely.

V současné době, počet případů salmonelóz představují velmi významné ekonomické ztráty v mnoha zemích. Alternativou pro prevenci salmonel kvůli spotřebě masných a drůbežích produktů, jsou organické kyseliny (kyselina octová, kyselina citrónová, kyselina mléčná, kyselina jablečná, kyselina propionová, vinná a jiné). Organické kyseliny byly používány po mnoho let pro dekontaminaci produktů z hovězího, vepřového a drůbežního masa (Mani-López et al., 2012).

3.2.3.2 *Listeria monocytogenes*

Další mikroorganismus, jehož přítomnost je problémem pro potravinářský průmysl, je *L. monocytogenes*, grampozitivní patogen a kontaminant nezpracovaných potravin, jako je syrové maso, ryby a mléko (D'Ostuni et al., 2016). Rod *Listeria* zahrnuje 6 druhů, široce rozšířených v prostředí. Naleznout ho můžeme v půdě, prachu, potravinách rostlinného i živočišného původu i v krmivech (Kameník, 2004). Tyto bakterie lze také nalézt v některých zpracovaných potravinách, jako je sýr, zmrzlina a zpracované maso (Quinto et al., 2016).

Listerie je velice tolerantní k nízkým hodnotám pH a koncentracím solí. Hodnota $a_w < 0,92$ a $pH < 4,39$ jsou nejnižší hodnoty, při kterých bakterie ještě může růst (Kameník, 2004). Vzhledem k jejich schopnosti přežít nepříznivé podmínky, představuje tento patogen velký problém v masném průmyslu (Shen et al., 2016).

Listerióza se může projevovat například jako septikemie, meningitida či meningoencefalitida nebo pneumonie. Obvykle se však projevuje chřipkovými a gastrointestinálními příznaky, které se mohou a nemusí rozvinout v závažnější onemocnění. (Julák, 2012).

Je důležité si uvědomit, že množství patogenů ve zpracovatelských závodech, silně souvisí s původem suroviny a nedostatečnou hygienu pracovníků zapojených do výroby. Identifikace těchto bakterií je umožněna kombinací mikrobiologických metod s moderními molekulárními přístupy, jako je například polymerázová řetězová reakce nebo pulsní gelová elektroforéza. Zejména multiplexní real-time PCR analýza prokázala, že je rychlá a důvěryhodná metoda pro efektivní screening výskytu patogenu v různých masných výrobcích (D'Ostuni et al., 2016).

V těhotenství může bakterie přejít přes placentu a infikovat plod. Poté může docházet k potratům, k narození mrtvých dětí nebo k úmrtí novorozenců (Black J. a Black L., 2013).

Listerióza může mít 25% – 30% úmrtnosti mezi infikovanými jedinci (D'Ostuni et al., 2016). Vzhledem k vysoké úmrtnosti spojené s listeriózou se v globálním měřítku řadí mezi nejčastější příčiny úmrtí v důsledku nemocí přenášovaných potravinami.

3.2.3.3 rod *Shigella*

Bakterie z rodu *Shigella* jsou gramnegativní nepohyblivé tyčinky, které nefermentují lakotózu. Patří do čeledi *Enterobacteriaceae*. Jsou původcem shigelóz, úplavic a bakteriálních dysenterii (Görner a Valík, 2004). Je to vysoce nakažlivá bakterie, která infikuje střevní trakt. Do rodu *Shigella* patří čtyři druhy: *Shigella dysenteriae* (serotyp), *Sh. flexneri* (serotyp B) *Sh. boydii*, (serotyp C), *Sh. sonnei* (serotyp D). Obecně lze říci, že *Sh. dysenteriae*, *flexneri* a *boydii* převládají v rozvojových zemích. *Shigella* kontaminuje vodu nebo potraviny a může být přenášena přímým i nepřímým kontaktem s infikovaným jednotlivcem. Symptomy nastávají 12 - 96 hodin po nakažení. Nejzávažnější onemocnění způsobuje *Sh. dysenteriae*.

V potravinách se nerozmnožuje, její rezistence je vůči vysokým teplotám nízká, ničí ji pasterační teploty. *Shigella* nepatří mezi patogeny hospodářských zvířat, ale hlavním přenašečem je nemocný člověk. Je to typická nemoc dětského věku, nazývaná také „nemoc špinavých rukou“. Proto ke kontaminaci dochází pouze sekundárním přenosem (Forsythe, 2000). Při výrobě masných výrobků musí být dodržována přísná hygienická pravidla a to zvláště při manipulaci a skladování už tepelně opracovaných výrobků, z důvodů sekundární kontaminace. Onemocnění se projevuje průjmem, horečkou, zvracením, nevolností, břišními křečemi. Často se ve stolici nemocného objevuje krev a hlen. Nebezpečí dehydratace nastává u kojenců, kde může onemocnění končit smrtí (Komprda, 2004).

3.2.3.4 rod *Clostridium*

Jeho druhy jsou striktně anaerobní grampozitivní tyčinkovité bakterie, které vytvářejí spory. Jejich metabolismus je fermentativní s tvorbou organických kyselin, alkoholů a plynů. Vyskytují se hlavně v půdě, trávicím ústrojí lidí a zvířat a mohou být kontaminanty potravin (Ambrož, 1991).

Mají silné sacharolytické a proteolytické schopnosti. Při anaerobní oxidaci sacharidů tvoří velké množství plynu, což se nepříznivě projevuje v sýraštví. Průmyslové využití mají *Clostridium butyricum* a *Clostridium acetobutylicum*. Některé druhy tvoří velmi nebezpečné toxiny. Nevýznamnější z potravinářského hlediska jsou *Clostridium botulinum* a *Clostridium perfringens* (Šilhánková, 2002).

Clostridium botulinum

Cl. botulinum je producentem jednoho z nejnebezpečnějších jedů způsobující alimenterární intoxikaci, botulotoxinu. *Cl. botulinum* je grampozitivní tyčinka, která tvoří spory. Spory můžeme najít jak ve střevě lidí, tak i zvířat. Do půdy se dostávají z organických hnojiv nebo odpadních vod. Toxin, který produkují, je protein s vysokou molekulovou hmotností 900000 Daltonů (Alcarno, 2001). Botulotoxin je neurotoxin, který blokuje vstřebávání a sekreci z acetylcholinu z cholinergních nervových zakončení, což vede k paralýze a to zejména dýchací soustavy. *C. botulinum* produkuje sedm různých toxinů (typy A - G). Tyto toxiny byly hlášeny jako významné nebezpečí pro bezpečnost potravin (Tavakoli et al., 2009). Typy A, B a E způsobují většinu lidských onemocnění.

Pro léčení je důležité vědět jaký typ klostridia nemoc způsobil (Alcamo, 2011). Typy A a B se nacházejí v půdě a živočišných hnojivech, a proto můžou být nalezeny v potravinách rostlinného původu, včetně rajčat, špenátu a fazole. Typ E, je naopak nalezen ve vodním prostředí, v mořských plodech a mořských sedimentech. Tento toxin je celosvětově známý (Tavakoli et al., 2009).

Produkováný neurotoxin botulotoxin, zvaný taky jako „klobásový jed“ způsobuje botulismus. Je to smrtelné onemocnění, které je vyvoláno konzumací potravin, obsahující neurotoxický protein botulotoxin. Botulismus se nejčastěji objevuje při konzervování potravin o nízké kyselosti, zvláště v domácnostech. Konkrétně v zelenině, rybách a masných výrobcích. Po požití jedu v potravine dojde k v trávicím traktu k jeho aktivaci, aktivovaný toxin se vstřebává ze střev do tělních tekutin dále do jednotlivých orgánů (Komprda, 2004). Příznaky botulismu se rozvíjejí v rámci několika hodin. Pacient trpí rozmazaným viděním, poruchou artikulace, ztíženým polykáním a žvýkáním. Toto je výsledkem procesu, kdy toxin působí na konec nervových buněk, kde inhibuje uvolňování neurotransmiteru acetylcholinu (Alcamo, 2011).

Botulismus je typ alimentární intoxikace, kdy antibiotika nemají žádný účinek a musí být v co nejkratším časovém intervalu podán protijed. Otravě se jde vyhnout tepelným ošetřením potravin, toxin nepřežívá 90 °C po dobu 10 minut. Potraviny spojené s botulismem jsou hlavně olivy, párky a žampiony (Alcamo, 2001). Letální dávka pro člověka je 0,1 až 1,0 µg (Görner a Valík, 2004).

Vegetativní forma roste v rozmezích teplot 10 – 50 °C, přestává se množit při pH nižší než 4,5. Toxin je vytvářen při teplotách 4 až 40 °C a pH 4,7 – 8,5. Účinnou zábranou pro množení klostridií představuje dusitan, jsou totiž relativně citlivá na obsah soli. Spory přežívají var 121 °C po dobu 3 minut, pokud nedojde k adekvátnímu působení teploty, dojde k opětovnému vyklíčení spor v momentě, kdy dojde ke snížení teploty, na teplotu, vhodnou pro množení a růst klostridií (Komprda, 2004).

Clostridium perfringens

Clostridium perfringens je možné považovat za jeden z hlavních patogenů, a to díky mnoha hlediskům. Zaprvé, je to široké distribuování patogenních mikroorganismů v přírodě (jeho výtrusy vysoce převládají v půdě a střevním traktu lidí a zvířat). Za druhé, jeho rychlý růst, s generační dobou, za optimálních podmínek, kratší než 10 minut. Za třetí, produkuje více než 15 jedů způsobujících řadu různých onemocnění u lidí

a zvířat. Tato bakterie způsobuje onemocnění přenášené potravinami po celém světě (Lindström et al., 2011).

Clostridium perfringens je původce alimentární infekce. Podle přítomností enterotoxinu rozeznáváme pět typů. Typ A, C, a D jsou lidské patogeny a typy B, C, D, a E jsou zvířecí patogeny. Ve střevě člověka a živočichů se nacházejí běžně vegetativní formy. Spory přežívají v půdě, sedimentech a to především v oblastech, které jsou znečištěny zvířecími nebo lidskými exkrementy (Komprda, 2004).

Vegetativní buňky *Cl. perfringens* se pomnoží ve střevním traktu a sporulují, vytváří se enterotoxin. Toxin poškozuje buňky střevního epitelu a inhibuje absorpci glukózy, což vede k vyplavení iontů (Na^+ a Cl^-) a vody. (Cempírková et al., 1997).

Onemocnění však nastává až při silné kontaminaci potravin touto bakterií, tj. při koncentraci v potravine alespoň 10^6 g^{-1} . I když je *C. perfringens* součástí normální střevní mikroflóry člověka, může docházet k infekci. Do potravin se může dostat přímou nebo nepřímou kontaminací půdy nebo vody fekáliemi, také může dojít ke kontaminaci během porážky a manipulaci s masem, *C. perfringens* je mezofil, který roste v rozmezí teplot 20 – 50 °C, toleruje rozmezí pH 5 – 8,5. Spory přežívají teplotu 100 °C po dobu jedné hodiny. Základní opatření před alimentární infekcí je správné tepelné ošetření a následné rychle zchlazení. Opakovaným záhřev před vlastní konzumací se zničí veškeré vegetativní formy klostridií.

Z konzervářského hlediska je důležitý i druh *Clostridium thermosaccharolyticum* s optimální teplotou rozmnožování 55 – 62 °C. Jeho velmi termorezistentní spory přežívají běžné sterilační teploty používané u nekyselých konzerv. Nemůže se však rozmnožovat při teplotách nižších než 30 °C, a proto může způsobit kažení konzerv za tvorby plynu (bombáže) pouze při jejich skladování za vyšších teplot.

3.2.3.5 rod *Bacillus*

Je v přírodě velmi rozšířený. Jeho druhy tvoří většinou grampozitivní tyčinky s bohatým enzymatickým vybavením. Některé druhy mají amylolytické, pektolytické nebo proteolytické enzymy. Řada druhů produkuje antibiotika (např. bacitracin).

Bacillus cereus

Je to pohyblivá fakultativně anaerobní grampozitivní tyčinka. Patří do čeledi *Bacillaceae*. (Cempírková et al., 1997). *B. cereus* roste mezi 10 – 48 °C s optimem mezi 28 – 35 °C v rozmezích pH 4,3 – 4,9 (Görner a Valík, 2004). Jedná se v přírodě o všudypřítomného mikroba, který může snadno kontaminovat potravinářskou výrobu nebo systémy pro zpracování. V surovinách se vyskytuje ve formě spor, které jsou velmi termorezistentní. Spory jsou také poměrně odolné vůči gama záření, které se používá ke snížení patogenů v potravinách. Spory jsou hydrofobní a mají schopnost ulpívat na povrchu, což způsobuje problémy zejména v mlékárnách (Kotirata et al., 2000).

B. cereus, který se vyskytuje v masných výrobcích, se dává do spojitosti s kořením, které je často kontaminované prachem nebo půdou (Görner a Valík, 2004).

Vegetativní formy se v potravině množí jen omezeně, protože jim v tom zabraňuje ostatní mikroflóra, ale díky sporám přežívají sucho i vysoké teploty a po tepelném zákroku, kdy dojde ke zničení ostatní mikroflóry, dojde při teplotě 10 °C k vyklíčení spor a produkci toxinu (Vlková et al., 2009).

Na otravu *Bacillus cereus* je potřeba $10^5 - 10^6$ KTJ . g⁻¹ v konzumované potravině. Alimentární onemocnění způsobují dva toxiny, emetic a diarrhoeal toxin.

- Emetický syndrom: Při jeho působení reaguje organismus po 1 až 5 hodinách. Příznaky jsou hlavně zvracení, nevolnost a výjimečně průjem. Toxin se nachází hlavně v rýži a těstovinách. Emetický toxin je rezistentní vůči proteolytickým enzymům a také termorezistentní, přežívá záhřev 120 °C a nízké hodnoty pH (až 2,0)
- Diaorický syndrom: Způsobuje akutní enteritidu s inkubační dobou 8 až 10 hodin. Způsobuje průjem, ale i nekrotické poškození sliznice střev a jiných tkání. Toxin je velmi termolabilní, zničí se záhřevem už na 60 °C (Görner a Valík, 2004).

3.2.3.6 *Escherichia coli*

Patří do čeledi *Enterobacteriaceae*, jde o gramnegativní fakultativně anaerobní bakterie. Jsou to krátké tyčinky, vyskytující se pravidelně v tlustém střevě, většinou saprofytní, pouze příležitostně patogenní. Zkvašují velký počet glycidů za tvorby kyselin a plynů. *E. coli* je významným producentem vitamínů, zvláště vitamínu K. V pitné vodě

je hledán jako indikátor fekálního znečištění (Ambrož, 1991). Roste v teplotách 10 – 45 °C, snáší kyselá i zásaditá pH (4,4 – 9) a je schopná růst i při 5% koncentraci NaCl. Jejich výskyt v potravinách indikuje nízkou úroveň hygieny výroby a nevhodné zacházení s potravinou (Burdychová, 2007).

E. coli je fakultativní patogen. Při oslabení lidského organismu může nastat onemocnění způsobené invazivními sérovary *E. coli*. Mezi tyto sérovary patří enteroinvazivní *E. coli* (EIEC), enteropatogenní *E. coli* (EPEC), enterotoxické *E. coli* (ETEC) a enterohemoragické *E. coli* (EHEC) (Komprda, 2004).

Největším problémem současné výroby potravin jsou enterohemoragické kmeny bakterie *E. coli*. Způsobují hemoragickou kolitidu (zánět střev s krvavými průjmy), hemolyticko-uremický syndrom (HUS), kde jsou rizikovou skupinou děti do 5 let, kde způsobuje akutní selhání ledvin. Pokud se vyskytují v potravinech je velmi těžké je odstranit, protože tolerují široké rozmezí pH i aw, nízké teploty, včetně teplot mrazírenských a relativně vysoké koncentrace soli. K preventivním opatřením patří důkladné tepelné opracování, aplikace systému HACCP, použití dusitanových solících směsí, vhodné technologické a hygienické podmínky (Komprda, 2004).

3.2.3.7 *Staphylococcus aureus*

Stafylokoky jsou kulaté buňky, 0.5 – 1.5 um v průměru, vyskytující se samostatně, ve dvojicích nebo v nepravidelných shlucích. Jsou gram pozitivní, tvoří spory a jsou fakultativně anaerobní. Teplotní optimum pro růst je v rozmezích 35 – 37 °C, ale roste již v rozmezích teplot 6,5 – 46 °C. Snáší záhřev nad 60 °C po dobu 30 minut a dobře se rozmnožuje v potravinách s vysokým obsahem soli a cukru. Za vhodných podmínek produkuje enterotoxin A, B, C, D, E a F. Z hlediska alimentárních intoxikací jsou významné typy A až E (Görner a Valík, 2004).

K výrobě dostatečného množství enterotoxinu, který způsobí onemocnění je potřeba 10^5 stafylokokových jednotek tvořících kolonie (CFU) / g. Stafylokokové enterotoxiny (SE), jsou skupinou charakterizovanou jedním řetězcem a nízkou molekulovou hmotností (27.000 - 34.000). Vznikají ve všech fázích růstu, ale hlavně v polovině a na konci exponenciální fáze. Jsou odolné proti proteolytickým enzymům, jako jsou pepsin a trypsin a jsou relativně stabilní (Soraino et al., 2002).

Hlavním příznakem stafylokokové otravy jídlem je zvracení do 1 – 6 hodiny po požití kontaminované potravy a obvykle následuje průjem, břišní křeče, a vyčerpání. V těžších případech se mohou přidat další příznaky, jako například bolesti hlavy, svalů křeče a změny v krevním tlaku a tepové frekvence. Smrt ze stafylokokové otravy jídlem je vzácná (0,03 % případů), ale může se objevit u některých vysoce rizikových osob, jako jsou děti, starší a chronicky nemocní jedinci (François et al., 2010).

S. aureus je celosvětově známým patogenním mikroorganismusem. Je zodpovědný za široké spektrum infekcí a kožních infekcí. Patogenita bakterie je velice složitá, je prokázáno, že akutní infekce jsou spojeny s produkcí vysokého množství exotoxinu a hydrolytických enzymů. *S. aureus* je také zodpovědný za četné chronické nemoci, jako je osteomyelitida nebo zánět středního ucha (François et al., 2010).

3.2.3.8 *Campylobacter jejuni*

C. jejuni je mikroaerofilní zakřivená nesporulující tyčinka (Julák, 2012). Je to gramnegativní bakterie, která způsobuje u lidí gastroenteritidu a Guillain-Barré syndrom, ten vzniká obvykle dva až tři týdny po počátečním onemocnění (Phongsisay et al., 2016). Přenáší se na člověka prostřednictvím konzumace kontaminovaných potravin, a to zejména drůbeže (Zhong et al., 2016). Zdrojem infekce může být i kontaminovaná voda a nepasterizované mléko (Julák, 2012). Odhaduje se, že ve Spojených státech dochází ke 2,4 milionu případů kampylobakterií každý rok. Většina případů kampylobakterií nevyžaduje léčbu, protože mají krátké trvání, jsou klinicky mírné a sami odezní (Zhon et al., 2016).

Charakteristickými příznaky nákazy jsou nevolnost, malátnost, bolest břicha, průjem a horečka (Julák, 2012).

3.2.3.9 *Yersinia enterocolitica*

Je to gramnegativní bakterie patřící do čeledi *Enterobacteriaceae*, která vyvolává onemocnění zvířat, u lidí způsobuje akutní průjmová onemocnění (Julák, 2012).

Y. enterocolitica je v přírodě široce rozšířená. Můžeme ji nalézt ve vodě a u zvířat, jako jsou prasata, drůbež, krávy a ovce. Hlavním zdrojem bakterie u lidí jsou kontaminované potraviny. Mnohé studie identifikovaly prasata jako hlavní zdroj nálezů. A to

vzhledem k vysokému výskytu kmenů s vysokou virulencí pro člověka (Ye et al., 2016).

Kromě akutního průjmu může způsobovat enterokolitidu, terminální ileitis a mezen-
terickou lymfadenitidu (Julák, 2012).

3.2.3.10 *Aeromonas hydrophila*

Růstové optimum 28 °C, roste i při chladničkových teplotách. Může způsobovat průjmová onemocnění. Je přenášena rybami, masem, drůbeží, syrovým mlékem a salátovou zeleninou (UniConsulting, 2012).

Jsou nezdědká přítomny v počáteční mikroflóře masa. Jsou psychrotrofní a mohou tvořit součást mikroflóry způsobující kažení masa vakuově balených výrobků a v menší míře výrobků balených v CO² atmosféře. Nejpravděpodobnějším zdrojem této bakterie je voda použitá k mytí jatečně upravených těl a zařízení.

Je široce distribuována ve sladkovodních a mořských vodách a dále také v odpadních vodách. Aeromonady mohou být také nacházeny ve stolici zdravých zvířat. Prevalence (počet výskytů) u hospodářských zvířat je variabilní, 4 – 12 %, u drůbežního masa je toto číslo vyšší (Fernandes, 2009).

V následující tabulce 2 je přehled bakteriálních původců onemocnění z potravin.

Tabulka 2 Bakteriální původci onemocnění z potravin (nařízení ČSN 56 96609)

Mikroorganismus	Kategorie potravin	Nejvyšší mezní hodnota na g (ml)
<i>Bacillus cereus</i>	potraviny neurčené k přímé spotřebě	10 ⁵
	potraviny určené k přímé spotřebě	10 ⁴
Termotolerantní <i>Campylobacter</i>	potraviny určené k přímé spotřebě	negat/25
<i>Clostridium perfringens</i>	potraviny neurčené k přímé spotřebě	10 ⁵
	potraviny určené k přímé spotřebě	10 ⁴
<i>Escherichia coli</i> verocytotoxin pro-	všechny druhy potravin	negat/25

dukující <i>E. coli</i> (VTEC)		
<i>Listeria monocytogenes</i>	potraviny určené k přímé spotřebě (kromě níže uvedených) masné výrobky o a_w nižší než 0,92	negat/25 10 ²
<i>Salmonella</i> spp.	potraviny určené pro kojeneckou a dětskou výživu potraviny určené k přímé spotřebě	negat/50 negat/25
<i>Shigella</i> spp.	potraviny určené k přímé spotřebě	negat/25
Koagulázopozitivní stafylokoky <i>Staphylococcus aureus</i> a další druhy)	potraviny neurčené k přímé spotřebě potraviny určené k přímé spotřebě	10 ⁵ 10 ⁴
<i>Yersinia enterocolitica</i> (suspektní patogenní kmeny)	potraviny určené k přímé spotřebě	negat/25

3.3 Mikrobiota surovin pro masnou výrobu

Základní surovinou pro masnou výrobu je maso a vedlejší masné produkty. Počáteční kontaminace výrobků by měla být co nejnižší.

3.3.1 Maso

Maso patří mezi potraviny, které velmi rychle podléhají kažení a do z důvodu dostatku vhodné a_w , hodnotě pH a celkovému chemickému složení.

Za optimální počet mikroorganismů pro fermentované masné výrobky je považována hodnota mezi 10² a 10³/g masa. Hodnota nad 10⁵ mikroorganismů/g masa by měla být vnímána jako maximální hranice. Počet *Enterobacteriaceae* celkově by měl být méně než 10⁴/g masa (Feiner, 2006). Snížením skladovací teploty lze prodloužit údržnost masa. Při teplotách 0,2 a 5 °C klesá jeho údržnost na 70 %; 50 % nebo 30 % doby ve srovnání s masem uchovávaným při -1,5 °C (Kameník, 2012).

Pro tepelně opracované masné výrobky je vyhovující počet mikroorganismů mezi 10^2 a 10^4 na gram výrobku. Nízký počáteční stav bakterií pomáhá udržovat nízký počet bakterií v průběhu výrobního procesu a značně zvyšuje životnost produktu (Feiner, 2006). Počáteční mikrobiální kontaminace závisí na fyziologickém stavu zvířete při poražení, na stupni kontaminace prostředí jatek a prostorů, kde probíhá manipulace s masem, včetně hygieny zaměstnanců, nástrojů a zařízení (Kameník, 2012).

3.3.2 Tuky

Tuková tkáň se využívá z velké části přímo v masné výrobě: slanina, součást receptury salámů (zejména fermentované), špeková vložka do salámů apod. Velká část se izoluje a dodává jako živočišný tuk (Kadlec et al., 2012).

Tuky, vzhledem k jejich nízkému obsahu bílkovin a vody, nepředstavují vhodné prostředí pro množení mikroorganismů. Ke kontaminaci tuku dochází především při oddělování tuku od masitých částí a při manipulaci s ním. U dlouho skladovaných tuků může za zvýšené vlhkosti dojít k plesnivění (Cempírková, 1997).

Nežádoucí jsou zejména lipolytické bakterie, které produkují enzym lipázu. Tento enzym má za následek žluknutí tuků a tudíž i znehodnocení masných výrobků. Pomocí lipázy dojde k vytvoření volných mastných kyselin, které jsou náchylné k oxidaci (Feiner, 2006).

Žluknutí můžeme částečně zabránit použitím antioxidantů nebo skladováním tučného masa (tuku) při teplotě $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$. Některé lipázy však vykazují aktivitu i při teplotách $-28\text{ }^{\circ}\text{C}$. Proto by masné vepřové maso nebo vepřové sádlo nemělo být skladováno déle než 3 – 4 měsíce při $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$, hovězí maso maximálně 6 měsíců. Libová masa mohou být skladovány po dobu až 1 rok při teplotě $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Feiner, 2006).

3.3.3 Sůl a koření

Kromě masa a tuku se používají různé ochucující složky, jako je sůl a koření. Které mohou takové ovlivňovat mikroflóru výrobku.

Na koření se vyskytuje značně rozdílné množství mikroorganismů. Vliv na následnou kontaminaci má sklizeň, veškeré fáze zpracování potravin a také balení a skladování.

Některé druhy koření obsahují látky s antimikrobiálními vlastnostmi, jsou to například silice obsažené v hřebíčku, skořici, anýzu.

Silice působí hlavně na kvasinky a plísně, méně na bakterie. Vzhledem k malému množství koření užívaného k výrobě potravin a přípravě pokrmů není možné, aby se projevíly jejich antimikrobiální vlastnosti, do jisté míry se však mohou projevit při skladování většího množství koření.

Množství mikroorganismů kontaminujících koření je různé, hodnoty se mohou pohybovat od $10 \cdot \text{g}^{-1}$ do cca $10^9 \cdot \text{g}^{-1}$. Z mikroorganismů jsou v koření významně zastoupeny sporující bakterie, zejména bacily, a to druhy *subtilis* – *mesentericus*, dále sporující anaeroby zejména termofilní, mikrokoky, pseudomonády, flavobakterie a streptokoky.

Mohou se také vyskytovat toxigenní plísně, například *Aspergillus flavus*. V tabulce 3 můžete nalézt doporučené limity pro mikroorganismy v koření.

Tabulka 3 Doporučené limity pro koření (Görner a Valík, 2004)

Mikroorganismy	Doporučený limit	Výstražný limit
<i>Salmonella</i>	-	neg. v 25g
<i>Staphylococcus aureus</i>	$10^3 \text{ KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$	$10^3 \text{ KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$
<i>Bacillus cereus</i>	$10^4 \text{ KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$	$10^5 \text{ KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$
<i>Escherichia coli</i>	$10^4 \text{ KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$	-
klostridie	$10^4 \text{ KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$	$10^5 \text{ KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$
plísně	$10^5 \text{ KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$	$10^6 \text{ KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$

Sůl může být kontaminována zejména halofilními mikroorganismy, např. *Halobacterium salinarum* a *Staphylococcus aureus*, ale i rody *Bacillus* a *Micrococcus* (Cempírková, 1997). Většina soli se v masné výrobě uplatňuje ve formě dusitanových nebo dusičnanových solících směsí, jejíž maximální množství může být 150 mg/kg výrobku (Vyhláška č. 122/2011 Sb.)

3.4 Rozdělení masných výrobků

Dle Vyhlášky MZE č. 159/2014 Sb. lze masné výrobky rozčlenit do skupin uvedených v tabulce 4

Tabulka 4 Rozdělení masných výrobků

Druh	Skupina
Masný výrobek	tepelně opracovaný
	tepelně neopracovaný
	trvanlivý tepelně opracovaný
	trvanlivý fermentovaný
	masný polotovár
	kuchyňský masný polotovár
	Konzerva
	Polokonzerva

3.4.1 Tepelně opracovaný masný výrobek

Výrobek, u kterého bylo ve všech částech dosaženo minimálně tepelného účinku odpovídajícího působení teploty plus 70 °C po dobu 10 minut (Vyhláška MZE č. 159/2014 Sb.). Teplota výrobku při skladování je maximálně 5 °C (Kadlec et al., 2012).

Mikrobiologická kontaminace je ve většině případu velmi malá, záleží na podmínkách výroby. K nadměrnému počtu mikroorganismů ve výrobcích může dojít v případě vysoké kontaminace suroviny nebo při nepřiměřeně nízké teplotě tepelného opracování. Při nedostatečném záhřevu může dojít k růstu některých laktobacilů, kteří produkují peroxid vodíků. Peroxid vodíku reaguje s myoglobinem a dochází k zelenání výrobků. Může také například dojít k hnilobě, která je způsobena bakteriemi čeledi *Enterobacteriaceae*, nebo bakteriemi z rodu *Bacillus* a *Clostridium*. Příznaky hniloby jsou nepříjemný zápach sirovodíku a změny konzistence (Görner a Valík 2004).

Na přípravu tepelně opracovaných produktů se jemně rozpracované dílo plní do technologických obalů a na zabránění jejich bakteriálního kažení se ihned podrobí tepelnému opracování. Přibližně při 50 °C se produkty nejprve vybarví, při 75 °C se za horka udí a nakonec při 72 – 78 °C (v jádře musí být 70 – 75 °C) ve varné skříni nebo horké vodě vaří. Vybarvování výrobků většinou probíhá chemickou cestou pomocí dusičnanových solících směsí. U žlutých nebo bílých výrobků se místo dusitanových směsí používá pouze chlorid sodný (Kadlec et. al., 2012)

Mezi tepelně opracované výrobky patří na českém trhu například Vysočina a Selský salám.

3.4.1 Tepelně neopracovaný výrobek

Výrobek určený k přímé spotřebě bez další úpravy, u něhož neproběhlo tepelné opracování surovin ani výrobku (Vyhláška MZE č. 159/2014 Sb).

Tyto výrobky si zachovávají typickou chuť syrového masa, jejich výroba je však náročná na dokonalou hygienu a zachování chladicího řetězce. Teplota nesmí překročit 5 °C a chladicí řetězec nesmí překročit ani konzument (Kadlec et al., 2012).

Patří sem například čajovky, Dunajská klobása.

3.4.2 Trvanlivý tepelně opracovaný výrobek

Výrobek, u kterého bylo ve všech částech dosaženo minimálně tepelného účinku odpovídajícího působení teploty plus 70 °C po dobu 10 minut a navazujícím technologickým opracováním (zráním, uzením nebo sušením za definovaných podmínek) došlo k poklesu aktivity vody s hodnotou a_w (max.) = 0,93 a k prodloužení minimální doby trvanlivosti na 21 dní při teplotě skladování plus 20 °C (Vyhláška MZE č. 159/2014 Sb). Díky tomu lze trvanlivé masné výrobky uchovávat i při teplotě prostředí aniž by nastalo jejich mikrobiální kažení (Kameník, 2012).

Snížení aktivity na požadovanou hranici je pro celý proces důležitým a základním krokem. Pokles aktivity vody znamená, že pro určité organismy nebude k dispozici voda potřebná k jejich metabolismu. Mikroorganismy se potom nemohou množit a tudíž ani kazit potraviny (Fernandes, 2009).

Tyto salámy jsou vyrobené sušením, proto musí být uchovávány v suchu pokud možno bez střídání teplot. Mohlo by dojít k orosení, což by mělo za následek plesnivění. Proto může někdy uchovávání v lednici způsobovat problémy (Kadlec et al., 2012).

3.4.3 Trvanlivý fermentovaný výrobek

Výrobek tepelně neopracovaný určený k přímé spotřebě, u kterého v průběhu fermentace, zrání, sušení, popřípadě uzení za definovaných podmínek došlo ke snížení aktivity vody s hodnotou a_w (max.) = 0,93, s minimální dobou trvanlivosti 21 dní při teplotě plus 20 °C (Vyhláška MZE č. 159/2014 Sb.).

Podskupiny tvoří trvanlivé fermentované salámy, trvanlivé šunky a trvanlivá masa.

3.4.3.1 Technologie výroby trvanlivého fermentovaného výrobku

Technologie výroby sestává z těchto úseků: mělnění masa, míchání díla, narážení, zrání, sušení a uzení. Takto vyrobené masné výrobky jsou podrobené činnosti mikroorganismů, což jim propůjčuje specifické sensorické vlastnosti ceněné spotřebiteli. Na druhé straně to představuje zvýšené nároky při výrobě z hlediska hygienického a technologického (Steinhauser et al., 1995).

Startovací mikrobiální kultury obsahují bakterie mléčného kvašení rodu *Lactobacillus* tvořící kyselinu mléčnou, druhy rodu *Pediococcus*, netoxinogenní druhy rodu *Staphylococcus* a *Micrococcus*. Kromě bakterií můžeme používat i kvasinky a plísň, z plísní například *Penicillium nalgiovense* nebo *P. chrysogenum* (Görner a Valík, 2004).

Tepelně neopracované masné výrobky jsou náchylné na mikrobiální kažení. Základou pro zajištění bezpečnosti potravin je použití vysoce jakostních surovin a dodržení podmínek zrání, teploty, vlhkosti a cirkulaci vzduchu (Görner a Valík 2004). Vady tepelně neopracovaných masných výrobků jsou popsány v tabulce 5.

Tabulka 5 Vady tepelně neopracovaných masných výrobků (Görner a Valík, 2004)

Mikroorganismy	Senzorické změny
Bakterie mléčného kvašení homofermentativní	zvýšení kyselosti
heterofermentativní	tvorba plynu, odchylky chuti a vůně
Druhy produkující peroxid <i>Leuconostoc</i> spp.	změna barvy, nitkovitost
<i>Enterobacteriaceae</i>	hniloba v jádře, tvorba plynu
<i>Micrococcus</i> spp.	Mazovitost
<i>Staphylococcus</i> spp.	šedivý okraj
Klostrídie	okrajová hniloba, nejvíce v přírodních střevech
Kvasinky	mazovitost povrchu, kvasných pach a chuť
Plísň	defekty na povrchu, zatuchlá pach a chuť

U fermentovaných výrobků je množství přidané soli vysoké, což má za následek vysokou úroveň sodíku v konečném produktu. Na rozdíl od ostatních masných výrobků, kde je voda přidávána, je v tomto případě voda odstraňována a optimalizuje se pevnost, trvanlivost a chuť (Feiner, 2006). Údržnost fermentovaných výrobků je daná zvláště pak snížením pH (tvorbou kyseliny mléčné) a následným sušením (Kadlec et al., 2012). Doporučená kritéria pro fermentované masné výrobky jsou uvedeny v následující tabulce 6.

Tabulka 6 Doporučená kritéria pro fermentované masné výrobky v log KTJ/g (DGHM 2011)

Mikroorganismus	Výrobek	Doporučení	Limit
<i>Enterobacteriaceae</i>	rozíratelné	log 2/g	log 3/g
	Krájitelné	log 3/g	log 4/g
koagulázopozitivní stafylokoky	log 3/g	log 4/g	koagulázopozitivní stafylokoky
<i>Salmonella</i> spp.		log 3/g	log 4/g
<i>E. coli</i>		log 1/g	log 2/g
<i>Listeria monocytogenes</i>			log 2/g

Příkladem těchto výrobků jsou například Poličan, Herkules, z klobás například Čabajska.

3.4.4 Masný polotovar

Masný polotovar je maso tepelně neopracované, u kterého zůstaly zachovány vnitřní buněčná struktura masa a vlastnosti čerstvého masa a k němuž byly přidány potravinářské koření, přípravy nebo přídatné látky. Je určen k tepelné kuchyňské úpravě před spotřebou a splňuje požadavky zvláštních právních předpisů; za masný polotovar se považuje i výrobek z mletého masa s přídatkem jablečné soli vyšším než 1 % hmotnostní (Vyhláška MZE č. 159/2014 Sb.).

Typickými polotovary jsou klobásy určené ke smažení nebo zapékání do těsta např. vinné nebo bílé či směsi na přípravu sekané. Patří sem i všechna uzená masa, u kterých nebylo dosaženo uzením takové teploty, abychom je mohli řadit do tepelně opracovaných výrobků. Takové maso lze konzumovat až po tepelné úpravě a skladovat se musí při teplotách max. 5 °C (Kadlec et al., 2012).

Masné polotovary by se měly dle dnes už neplatné Vyhlášky MZE č. 202/2003 Sb. balit a uvádět do oběhu:

- chlazené, to znamená zchlazené co nejrychleji na vnitřní teplotu nižší než 2 °C – pokud byly připraveny z mletého masa, nižší než 7 °C – pokud byly připraveny z čerstvého masa, nižší než 4 °C – pokud byly připraveny z drůbežího masa, a nižší než 3 °C – pokud obsahují vnitřnosti;
- anebo hluboce zmrazené, to znamená zchlazené co nejrychleji na vnitřní teplotu nižší než -18 °C.
- kritéria pro obsah *Salmonell* a *E. coli* v mletém masu a polotovarech jsou uvedeny v tabulkách 7 a 8.

Tabulka 7 Kritéria pro salmonely v mletém masu a polotovarech (NAŘÍZENÍ EP A RADY (ES) č. 2073/2005)

Kategorie potravin	Mikroorganismus	Limit
mleté maso a polotovary ke spotřebě za syrova	<i>Salmonella</i>	nepřítomnost v 25 g
mleté maso a polotovary z drůbežího masa ke spotřebě po tepelné úpravě	<i>Salmonella</i>	nepřítomnost v 25 g
mleté maso a polotovary z jiného než drůbežího ke spotřebě po tepelné úpravě	<i>Salmonella</i>	nepřítomnost v 10 g

Tabulka 8 Kritéria pro *E. coli* v mletém masu a polotovarech (NAŘÍZENÍ EP A RADY (ES) č. 2073/2005)

Kategorie potravin	Mikroorganismus	n	C	m	M
mleté maso	<i>E. coli</i>	5	2	50 KTJ/g	500 KTJ/g
polotovary	<i>E. coli</i>	5	2	500 KTJ/g nebo KTJ/cm ²	5000 KTJ/g nebo KTJ/cm ²

Legenda: n...počet jednotek tvořících vzorek, c...počet jednotek vzorků, jejichž hodnoty převyšují m nebo leží mezi m a M

3.4.5 Kuchyňský masný polotovar

Částečně tepelně opracované upravené maso nebo směsi mas, přídatných a pomocných látek, popřípadě dalších surovin a látek určených k aromatizaci, určené k tepelné kuchyňské úpravě (Vyhláška MZE č. 159/2014 Sb).

3.4.6 Konzerva

Výrobek neprodyšně uzavřený v obalu, sterilovaný (Ingr, 1996).

Konzervy jsou takové výrobky, u kterých bylo dosaženo takového účinku odpovídajícího $F_{121} = 10$ minut (ekvivalent záhřevu 10 minut při 121 °C).

Jde o maso, masné výrobky, ke kterým mohly být přidány i další potraviny, a které jsou hermeticky uzavřeny v obalu vysterylizovány v autoklávu na daný sterilační efekt. Jsou údržné dlouho dobu při pokojové teplotě. Mezi masné konzervy patří různé druhy játrových paštik a hašé, některé párky a buřty v konzervě, vepřové nebo hovězí maso ve vlastní šťávě aj. Největší důkladnost při sterilaci musíme aplikovat na konzervy vyráběné pro tropickou a subtropickou oblast (Ingr, 1996).

3.4.7 Polokonzerva

Jedná se o výrobek neprodyšně uzavřený v obalu, pasterovaný. Typickými polokonzervami jsou např. pasterované šunky a plece v konzervě, při jejichž pasteraci se dosahuje v jádře výrobků teploty kolem 70 °C. Další skupinou polokonzerv, při jejichž opracování se používá teplot kolem 100 °C, jsou např. moravské klobásy nebo kostelecké párky v konzervě (Ingr, 1996).

Požadavek na skladování polokonzerv bývá běžně 3 měsíce při teplotách do 15 °C. Konkrétní hodnoty si však stanoví výrobce a uvede na obalu (Kadlec et al., 2012).

Jedním z typů konzerv jsou třičtvrtě konzervy, mají údržnost 6 – 12 měsíců při skladovací teplotě nižší než 15 °C. Při jejich tepelném opracování se musí usmrtit nejen vegetativní formy, ale i spory mezofilních kmenů rodu *Bacillus* (Lát, 1954). Zvyšování další teploty u těchto druhů konzerv už není možné, pokud nechceme, aby došlo k poškození obalů (Ingr, 1996).

3.5 Preventivní opatření

Maso, pokud není rychle zpracováno, podléhá rychle vlastním autolytickým změnám a je snad napadáno mikroorganismy. Při zacházení s masou surovinou je proto nezbytné dodržovat vysokou hygienu provozu a účinné chlazení (Kadlec et al., 2012).

Než mohou být použity konkrétní strategie pro detekci a snížení nebo odstranění specifických patogenů. Mělo by se konat celkové posouzení zpracovatelské operace. Toto celkové posouzení by mělo začít s obecnými strategiemi a postupovat do bodu, kdy mohou být použity konkrétní strategie. Existují programy, které jsou typicky pro posouzení obecně zpracovatelských operací: Good Manufacturing Practises (GMP), Hazard Critical Control Points (HACCP) a Food Safety Objectives (FSOs) Kert, 2013).

Správné výrobní, technologické nebo hygienické praxe (v literatuře označovaná jako GMP) je základním předpokladem správné pracovní činnosti v jakémkoliv standardizovaném výrobním systému.

V celé technologii masa a masné výroby jsou zásady správné výrobní a hygienické praxe (GMP/GHP) představovány:

- zásadami správné hygienické a výrobní praxe,
- požadavky norem zpracovaných na různých úrovních, např. firemní nebo podnikové normy, EN normy, apod.,
- zásadami dodržování správné technologie ve vztahu k zařízení ve výrobním procesu, systémem HACCP v dané technologii, systémem jakosti a jejím zabezpečováním podle požadavků norem řady EN (Kopřiva, 2002).

3.5.1 Systém HACCP

HACCP (HACCP) je systém řízení bezpečnosti potravin, který je účinně a aktivně používán v potravinářském průmyslu spolu se správnou výrobní praxí (SVP) a správnou hygienickou praxí pro zvýšení bezpečnosti potravin. Posouzení rizik je definováno a vysvětleno spolu s principy HACCP (Varzakas et al., 2015). Systém HACCP je považován za nástroj pro správu, který se zaměřuje na plánování, řízení a dokumentaci o výrobě bezpečných produktů. Zatímco SVP se zaměřuje na kvalitu a bezpečnost nějakém, HACCP se zaměřuje pouze na bezpečnost potravin (Kert, 2013).

Je to vědecky podložený systematický preventivní přístup k zajištění bezpečnosti potravin. Je určen ke snížení rizik při přípravě potravin na bezpečnou úroveň. Tradiční HACCP se zaměřuje pouze na problematiku zdravotní nezávadnosti výrobku a nikoli kvalitu výrobku, ale principy HACCP jsou už velmi často aplikovány na programy, které zajišťují jakost potravin (Featherstone et al., 2015).

V našich podmínkách je zavedení HACCP do praxe vyžadováno Nařízením EU č. 852/2004 Sb., o způsobu stanovení kritických bodů v technologii výroby, ve znění vyhlášky č. 196/2002 Sb.

Při zpracování systému kritických bodů se vychází ze zásad postupu stanovení systému kritických bodů a posloupnosti jejich plnění podle přílohy k vyhlášce č. 147/1998 Sb., ve znění vyhlášky č. 196/2002 Sb.

Tabulka 9 11 kroků při zavádění systému HACCP(Codex Alimentarius)

- | |
|---|
| <ol style="list-style-type: none">1) vymezení výrobní činnosti a odpovědnosti výrobce,2) provedení popisu výrobku, včetně zjištění jeho očekávaného (předpokládaného) použití,3) sestavení diagramu výrobního procesu,4) potvrzení diagramu výrobního procesu za provozu,5) provedení analýzy nebezpečí,6) stanovení kritických bodů,7) stanovení znaků a hodnot kritických mezí pro každý kritický bod,8) vymezení systému sledování zvládnutého stavu v kritických bodech,9) stanovení nápravných opatření pro každý kritický bod,10) stanovení časového harmonogramu ověřovacích postupů a vnitřních auditů,11) zavedení evidence obsahující dokumentaci o postupech a vedení záznamů. |
|---|

3.5.2 Překážkový efekt

Údržnosti masných výrobků se dosahuje kombinací několika konzervačních zákroků, jejichž účinek se vzájemně zesiluje: sterilace (pasterace), snížení aktivity vody, snížením pH u fermentovaných salámů, chemický účinek některých složek kouře a dusitanů, snížená teplota při skladování. Výsledný konzervační efekt se pak často znázorňuje jako kombinace „překážek“ a mluví se o tzv. překážkovém efektu (Kadlec et al., 2012).

3.5.3 Ovlivňování růst mikroorganismů

Dle FEINER (2006) patří mezi nejpoužívanější bariéry v masné výrobě tyto:

- nízké počáteční množství mikroorganismů v mase,

- skladování masa a masných výrobků při nebo pod 4 °C,
- vakuové balení a balení masných výrobků do modifikované atmosféry,
- hodnota a_w ,
- snížení redoxního potenciálu (výjimkou z tohoto pravidla jsou obligátně anaerobní bakterie *Clostridium* spp.),
- konzervační látky,
- přídavek konkurenční mikroflóry,
- správné tepelné opracování pasterovaných i sterilovaných masných výrobků,
- hygiena může být také považována za bariéru, i když je nemožné ji kvantifikovat (Feiner, 2006)

Podle Kertha (2013) patří mezi další činitele ovlivňující růst mikroorganismů také ještě pH, dostupnost živin.

3.5.3.1 pH

Každý mikroorganismus má dané rozmezí pH ve kterém může růst, dané maximální a minimální hodnotou, kde jsou ještě schopni růst. Optimální pH růst je takové, kdy máme největší nárůst daného mikroorganismu (Forsythe, 2000).

Většina mikroorganismů roste nejlépe při neutrálním pH s odchylkou 0,5 na obou stranách neutrální bodu. Bakterie, zejména ty, které způsobují alimentární onemocnění, není možné pěstovat při hodnotách pH nižší než 4.0. Tato hodnota však není striktně dána. Mnoho dalších faktorů, jak vnitřních tak vnějších, může ovlivnit minimální hodnotu pH, v nichž některé z těchto bakterií můžou růst. Všechna alimentární onemocnění však nejsou způsobeny bakteriemi. Častými původci jsou i plísňe a kvasinky a ty mají větší toleranci ke kyselému prostředí (Kerth, 2013).

3.5.3.2 Oxidačně redukční potenciál

Oxidačně – redukční potenciál látky lze definovat jako schopnost látky, získat nebo ztratit elektrony. Je uveden v milivoltech. Oxidačně redukční potenciál prostředí (EH) je rozdíl potenciálu mezi Pt elektrodou umístěnou do daného prostředí a normální H^2 elektrodou (Kerth, 2013).

Mikroorganismy se velmi liší svým vztahem ke kyslíku, proto požadují odlišný oxidačně redukční potenciál. Aerobní mikroorganismy potřebují přítomnost rozpuštěného kyslíku, musí mít Eh v oblasti pozitivní (+), zatímco anaerobní mikroorganismy působí kyslík škodlivě a někdy až letálně, musí mít Eh v negativní oblasti (-). Snížení oxidačně redukčního potenciálu dosáhneme tak, že odstraníme kyslík například varem, nebo přidáme různá redukční činidla. Jako redukční činidlo se používá cystein a kyselina askorbová (Šilhánková, 1995).

Většina patogenních bakterií, které jsou spojeny s masem a masnou výrobou jsou považovány za aerobní.

Oxidace – redukční potenciál pro potraviny je dán čtyřmi vlastnostmi:

1. typický oxidačně – redukční potenciál potraviny.
2. napětí kyslíku v atmosféře, která obklopuje jídlo.
3. přístup atmosféry kolem potravin na potraviny samotné.
4. odpor ke změnám v oxidačně – redukčním potenciálu potraviny nebo otravy kapacity (Kerth,2013).

3.5.3.3 Aktivita vody

Mikroorganismy potřebují vody k přežití, růstu, reprodukování. Potřebují také dostatečné množství dostupné vody pro biologické procesy v buňce. Aktivita vody (a_w) je termín znamenající dostupnou vodu právě pro tyto biologické procesy. Měřítka pro vodní aktivitu je od 0,00 – 1,00, přičemž čistá voda má a_w 1,00 (Tapia et al., 2007).

A_w je poměr tlaku vodní páry ve vzorku ku tlaku vodní páry čisté vody při stejné teplotě.

Aktivita vody se liší pro různé druhy mikroorganismů. Můžeme ale říci, že bakterie potřebují a_w nad 0,91; kvasinka 0,87 a plísně 0,70.

Potraviny s nízkým obsahem vody jsou zpravidla déle údržné z hlediska mikrobiálního napadení. Vodní aktivita je často používána jako konzervační faktor a to za použití soli nebo cukru. Cukr je tradičně používán při konzervaci ovoce, naopak sůl může být používána při konzervaci masa a ryb (Forsythe, 2000).

Při zvlhnutí může dojít k nárůstu původních MO (optimalizace podmínek) a případně i k produkci toxinů (zejména mykotoxinů v důsledku plesnivění).

3.5.3.4 Teplota

Stejně jako pH má i teplota hodnoty minima a maxima a také teplotu optimální, při níž daný mikroorganismus roste nejlépe. Podle teplotní náročnosti dělíme na základní psychrofilní, mezofilní a termofilní. Můžeme mít i menší skupiny hypertermofili, které mají optimum při 74 °C a extrémní hypertermofili, kteří mají optimum při 106 °C (Baker et al, 2007). Z potravinářského hlediska jsou důležité i psychrotrofní mikroorganismy, které se ještě dost dobře rozmnožují při teplotách 0 °C až +10 °C bez ohledu na jejich optimální teplotu. Patří sem například *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Flavobacterium* (Šilhánková, 1995).

Na údržnosti má vliv nejen úroveň těchto faktorů ale i výchozí četnost mikroorganismů a poměrné zastoupení jejich jednotlivých skupin. Pro většinu masných výrobků je rozhodujícím základem termoinaktivace. (Kadlec et al., 2012).

3.5.4 Konzervace potravin

Cílem konzervace potravin je zachovat zdravotní nezávadnost a původní kvalitu v co nejvyšší možné míře. Použitím různých metod se zabrání chemickým reakcím v potravině a pomnožování mikroorganismů. Prodlužování trvanlivosti potravin začíná podle Kyzlinka (1988) již v dávnověku. Nejstarší způsoby konzervování jsou přidávání soli nebo cukrů, jako například solení masa, ryb a proslazování ovoce, přičemž musí být dosaženo obsahu minimálně 60 % a dále pak odstraňování vody (sušení, zahušťování a další metody), kterým se sníží vodní aktivita (a_w) a zvýší osmotický tlak, tak, že prostředí je nevhodné pro růst mikroorganismů.

Termín konzervace se obvykle používá v užším smyslu, kdy zahrnuje jen používání chemických konzervačních prostředků nebo tepelnou sterilaci. Ke konzervačním prostředkům můžeme však řadit i přírodní antimikrobiální látky (např. lysozym ve vejcích, kyselinu benzoovou v brusinkách, sírné sloučeniny v cibuli, česneku, křenu či ředkvičkách) biologicky produkovaná antibiotika (např. nisin) nebo udicí kouř (ICBP, 2012).

Konzervace se může provádět:

1. Vylučování mikroorganismů z prostředí
 - prevence kontaminace – přísně sanitární předpisy ve výrobě
 - ochuzování potravin o mikroorganismy, praní surovin, čiření

- odstranění mikroorganismů – (ultra)filtrace, centrifugace
2. Inhibice mikrobiálního růstu a metabolismu úpravou substrátu (anabiosa)
 - uchování potravin při nízkých teplotách
 - dehydratace potravin (lyofilizace, sušení vysoká koncentrace solí, cukru)
 - skladování v ochranné atmosféře (NO, SO₂, CO₂)
 - konzervace chemickými stabilizátory
 3. Zabití mikroorganismů (přímá inaktivace – abiosa)
 - vysoké teploty (pasterace, sterilace)
 - radiace (γ -záření), neionizující záření UV (Sedlářová, 2009)

Konzervační faktory z jednotlivých skupin se mohou navzájem a kombinovat a tím zvyšovat konzervační efekt. V následující tabulce 10 jsou shrnuty účinky jednotlivých operací na mikroorganismy.

Tabulka 10 Účinky jednotlivých operací při zpracování potravin na mikroorganismy (Červenka a Samek, 2003)

Operace	Potravina	Předpokládaný účinek
čištění, mytí	všechny čerstvé potraviny	snižuje celkový počet mikroorganismů
antimikrobiální lázeň	většina zeleniny a ovoce	usmrcuje vybrané mikroorganismy
chlazení (pod 10 °C)	všechny potraviny	omezuje růst patogenních bakterií, zpomaluje růst kazících mikroorganismů
zmrazování (pod -10 °C)	všechny potraviny	omezuje růst všech mikroorganismů
pasterace (60 – 80 °C)	mléko, nápoje atd.	usmrcuje většinu nesporotvorných bakterií, kvasinek a plísní
blanšírování (95 – 110 °C)	zelenina, krevety	usmrcuje vegetativní formy bakterií, kvasinek a plísní
sterilace (nad 100 °C)	konzervované potraviny	usmrcuje všechny patogenní bakterie včetně spor
Sušení	maso, ryby, ovoce, zelenina	zastavuje růst mnoha mikroorganismů při $a_w < 0,60$
nasolování	maso, ryby, zelenina	zastavuje růst mnoha mikroorganismů

		mů při obsahu soli 10 %
proslazování	ovoce, marmelády, rosoly	zastavuje růst při $a_w < 0,60$
okyselování	fermentované mléčné a zeleninové výrobky	zastavuje růst většiny bakterií (závisí na druhu kyseliny)
Ozařování	Různé	usmrtí v závislosti na velikosti dávky

4 MATERIÁL A METODIKA

Cílem této diplomové práce bylo experimentální stanovení významných skupin mikroorganismů v tepelně opracovaných masných výrobcích. V první části byla srovnána mikrobiální kontaminace masných výrobků od tří různých výrobců a v druhé části porovnání mikrobiální kontaminace výrobků na začátku a po skončení doby údržnosti. V daných výrobcích byly stanovovány tyto mikroorganismy: CPM (celkový počet mikroorganismů), počet bakterií rodu *Enterobacteriaceae*, a dále jsem indikovala přítomnost či nepřítomnost *Salmonella* spp. a *Listeria monocytogenes*.

4.1 Použité přístroje a zařízení

- autokláv, Sanyo MLS-3750/3780 (Schoeller instruments, Praha, ČR)
- běžné laboratorní sklo, laboratorní materiál a pomůcky
- horkovzdušný sterilizátor, D-91126, Memmert (Germany)
- laboratorní váhy, 220 A (Schoeller instruments, Praha, ČR)
- chladnička, Liebherr, 7082212-01 (Germany)
- myčka, G 7883, Miele professional (Labor, Brno)
- termostat, Sanyo (Schoeller instruments, Praha, ČR)
- vodní lázeň, Julabo TW 20 (Schoeller instruments, Praha, ČR)
- bio Vortex VI (Biotech, ČR).

4.2 Materiál

Analyzovány byly tyto masné výrobky: chilli klobása, myslivecká klobása, grilovací klobása, šunkový salám, mendláček, gothaj, špekáček, cigáro, tlačěnka a játrová paštika.

Analyzované výrobky pocházely od tří různých výrobců. Skladovány byly po dobu údržnosti při deklarované teplotě dané výrobcem.

Výrobce 1

Jedná se o rodinný podnik sídlící v Jihomoravském kraji, s prodejny po celé republice. Řeznická a potravinářská firma se zaměřuje na prodej a výrobu širokého sortimentu mas a masných výrobků, a to od drobných masných výrobků, šunek, salámů přes

speciality až po vyzrálá hovězí masa. Společnost se během posledních let zaměřila na výrobu tradičních masných výrobků, kde v recepturách vychází z tzv. ČSN.

Výrobce 2

Jedná se o maloprovoz, sídlící také v Jihomoravském kraji. Toto rodinné řeznictví se zaměřuje se na výrobu, zpracování a konzervování masa a to už od roku 1991.

Výrobce 3

Jedná se o maloprovoz sídlící v Jihomoravském kraji. Tento maloprovoz funguje zatím krátkou dobu a vyrábí jen v určitých obdobích, v závislosti na poptávce. Vyrábí například klobásy, cigáro, šunky, játrovou paštiku, bok a další.

Vzorky byly zakoupeny jednak v běžné tržné síti (výrobce 1 a 2), a jednak byly přímo dodány z výroby (výrobce 3) do mikrobiologické laboratoře.

Analýzy probíhaly od března do prosince 2015. Celkový počet analyzovaných vzorků byl 91, od každého vzorku byly vždy analyzovány 3 kusy.

4.3 Postup mikrobiologické analýzy

U analyzovaných výrobků byly stanovovány tyto mikrobiologické ukazatele: CPM (celkový počet mikroorganismů) dle ČSN ISO 4833, bakterie čeledi *Enterobacteriaceae* dle ČSN ISO 4832, rod *Salmonella* validovanou metodou ISO 6579: 2002 a NF EN ISO 16140 (AFNOR BKR 23/07-10/11 a *Listeria monocytogenes* validovanou metodou dle ISO 16140 (AFNOR BKR 23/2-11/02).



Obrázek 1 Desítkové ředění



Obrázek 2 Homogenizátor

4.3.1 Stanovení CPM (celkový počet mikroorganismů)

Na analytických váhách bylo naváženo pomocí sterilní pinzety a skalpelu 10 g vzorku a vloženo do sáčku. K navážce bylo přidáno 90 ml sterilního fyziologického roztoku a vzorek byl homogenizován po dobu 90 s. Následně bylo provedeno desítkové ředění. Z výchozího ředění bylo naočkováno 1 ml vzorku na předem popsané Petriho misky a zalito půdou Plate Count Agar (PCA) (Noack, Francie). Misky byly inkubovány 72 hodin při 30 °C. Po inkubaci byly odečteny veškeré narostlé kolonie.

- Složení PCA:
 - trypton 5,0 g
 - kvasničný extrakt 2,5 g
 - glukóza 1,0 g
 - bakteriologický agar 12,9 g

4.3.2 Stanovení čeledi *Enterobacteriaceae*

Na analytických váhách bylo naváženo pomocí sterilní pinzety a skalpelu 10 g vzorku a vloženo do sáčku. K navážce bylo přidáno 90 ml sterilního fyziologického roztoku a vzorek byl zhomogenizován dobu 90 s. Následně bylo provedeno desítkové ředění. Z výchozího ředění bylo naočkováno 1 ml vzorku na předem popsané Petriho misky a zalito půdou Violet Red Bile Glukose (VRBG). Misky byly inkubovány 24 – 48 hodin při 30 °C. Po inkubaci byly odečteny všechny červenofialové kolonie.

- Složení VRBG:
 - krystalová violet² 2,0 mg
 - neutrální červen 30,0 mg
 - žlučové soli 1,5 g
 - glukóza 10,0 g
 - natrávené maso žaludečními šťávami 7,0 g
 - kvasniční extrakt 3,0 g
 - chlorid sodný 5,0 g
 - bakteriologický agar 12,0 g

4.3.3 Stanovení *Salmonella* spp.

Na analytických vahách bylo naváženo 25 g vzorku. K navážce bylo přidáno 225 ml sterilní tekuté předmnožovací půdy Salmonella Enrichment. K bujónu byly přidány 3 ml suplementu IRIS Salmonella® Liquid Supplement. Vzorky byly inkubovány v termostatu při 41,5 °C. Po 18 – 24 hodinách předmnožování bylo vyočkováno 0,1 ml inokula na IRIS Salmonella agar, a to metodou roztěru. Misky byly následně inkubovány 24 hodin při 37°C. Po inkubaci se indikovala přítomnost či nepřítomnost růžových kolonií.

- IRIS Salmonella® Liquid Supplement:
 - selektivní složka na potlačení nežádoucí atmosféry 0,1 g
 - barvivo 0,005 g
- Salmonella Enrichment:
 - pepton 10,0 g
 - NaCl 5,0 g
 - fosfátový pufr 5,06 g

IRIS Salmonella agar:

- pepton 10,0 g
- kvasničný extrakt 5,0 g
- NaCl 4,0 g
- fosfátový pufr 7,0 g
- chromogenic mix 1,0 g
- selektivní částice 10,2 g
- opalescenční částice 30,0 ml
- bakteriologický agar 16,0 g

4.3.4 Stanovení *Listeria monocytogenes*

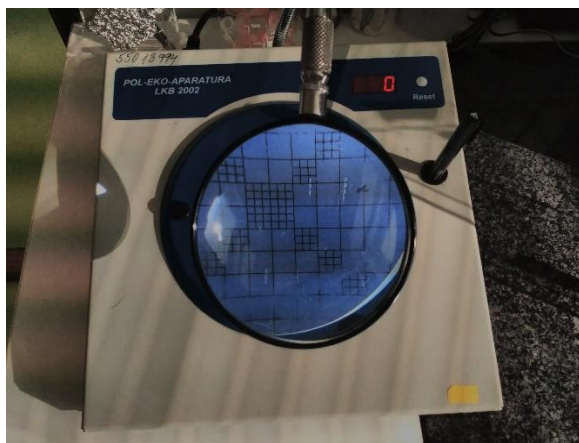
Na analytických vahách bylo naváženo 25 g vzorku. K navážce bylo přidáno 225 ml sterilní tekuté předmnožovací půdy Half-Fraser Broth. Vzorky byly inkubovány v termostatu při 30 °C. Po 24 hodinách bylo vyočkováno 0,1 ml inokula na COMPASS Listeria agar, a to metodou roztěru. Misky byly následně inkubovány 48 hodin při 37°C.

Po inkubaci se indikovala přítomnost či nepřítomnost modrých kolonií se zónou projasnění, typickou při *Listeria monocytogenes*.

- COMPASS *Listeria* Agar:
 - masový výtažek 18,0 g
 - trypton 6,0 g
 - kvasničný extrakt 10,0 g
 - pyruvát sodný 2,0 g
 - glukosa 2,0 g
 - chlorid sodný 5,2 g
 - L- α -phosphatidyl-inositol 2,0 g
 - bezvodý hydrogenfosforečnan sodný 0,50 g
 - chlorid lithný 10,0 g
 - 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D-glucopyranoside 0,05 g
 - ceftazidime 0,02 g
 - polymyxin B (sulfate) 76700 UI
 - cyklohexamid 0,05 g
 - glycerofosfát hořečnatý 10 g
 - bakteriologický agar 12,0 g

4.3.5 Vyhodnocení

Po inkubaci byly odečteny kolonie a výsledky byly vyjádřeny podle následujícího vzorce. U salmonely a listerie se hodnotila pouze přítomnost či nepřítomnost specificky zbarvených kolonií.



Obrázek 3 Počítání narostlých kolonií

Výsledky se vyjadřují v KTJ na gram výrobku

$$N = \frac{\Sigma a + b + c + d}{V \cdot (n_1 \cdot 0,1 \cdot n_2) \cdot d}$$

Kde:

$\Sigma a+b+c+d$ je součet kolonií napočítaných na Petriho miskách,

n_1 je počet Petriho misek použitých pro výpočet z prvního ředění,

n_2 je počet Petriho misek použitých pro výpočet z druhého ředění,

d je faktor prvního ředění použitého pro výpočet,

V je objem napipetovaného inokula.

4.3.6 Statistické metody

Konečné výsledky byly zpracovány do tabulek v programu Microsoft Excel a vyjádřeny ve formě obrázků. Výsledky byly statisticky vyhodnoceny v programu Statistica.cz verze 10. Byly spočítány základní statistické charakteristiky tj. průměr, směrodatná odchylka a směrodatná chyba průměru. Soubory získaných dat byly analyzovány pomocí metody jednoduchého třídění tj. analýzy rozptylu (ANOVA).

5 VÝSLEDKY A DISKUZE

Předmětem mikrobiální analýzy byly masné výrobky. První část práce se zaměřila na porovnání mikrobiální kontaminace stejných výrobků od tří různých výrobců. Druhá část práce se zaměřila a porovnání mikrobiální kontaminace tepelně opracovaných masných výrobků na začátku a konci doby údržnosti.

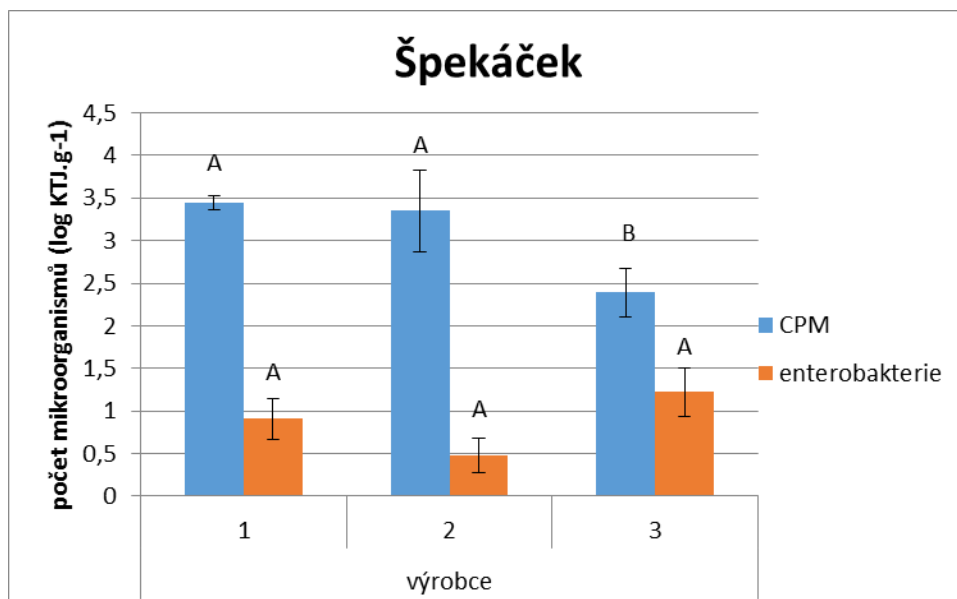
U všech vzorků byly sledovány následující skupiny mikroorganismů: celkový počet, *Enterobacteriaceae*, *Salmonella* spp. a *Listeria monocytogenes*.

5.1 Porovnání mikrobiologické jakosti masných výrobků pocházejících od různých výrobců

V následujících obrázcích (4, 5 a 6) jsou porovnávány výrobky od tří výrobců. Jedná se o šunkový salám, gothaj a špekáček.

5.1.1 Špekáček

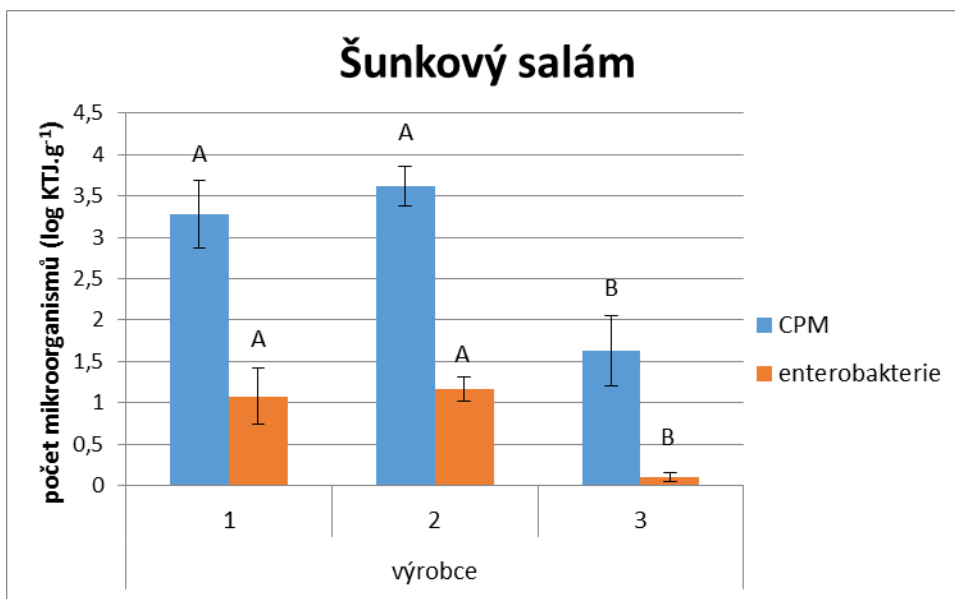
Z obrázku 4 je patrné, že nejnižší celkový počet mikroorganismů (CPM) byl zjištěn u výrobce 3 a to $2,4 \log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$. U výrobců 1. a 2. byly výsledky srovnatelné. Počty enterobakterií byly ve špekáčku od všech tří výrobců srovnatelné, i když dle obrázku můžeme říci, že nejmenší hodnoty enterobakterií byly zaznamenány u výrobce č. 2 a to $0,5 \log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$.



Obrázek 4 Porovnání počtu mikroorganismů (log KTJ . g⁻¹) v masném výrobku Špekáček. Průměry označené různými písmeny se v rámci sledovaného faktoru (výrobce) statisticky liší ($p < 0,05$)

5.1.2 Šunkový salám

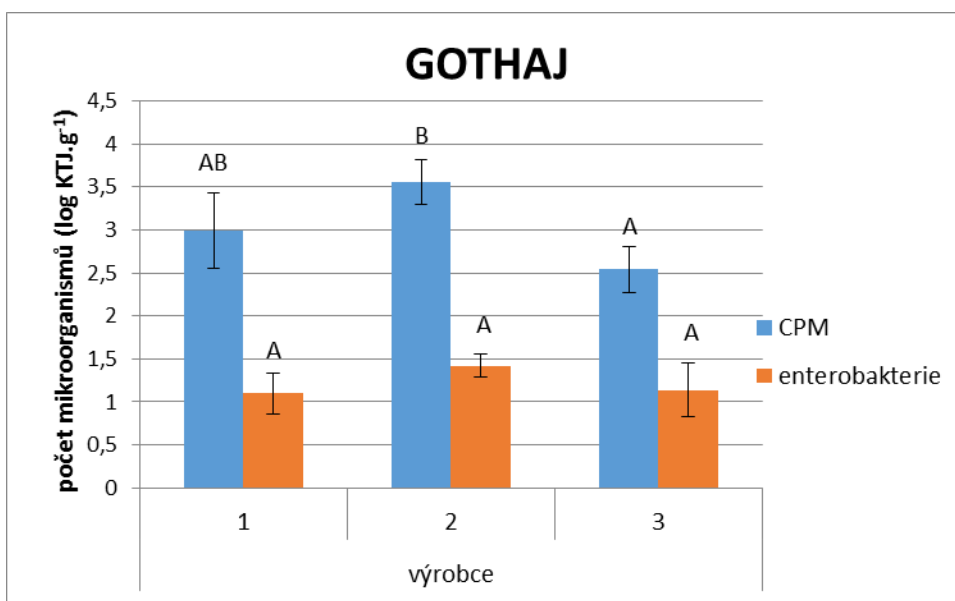
Z obrázku 5 je patrné, že nejnižší celkové počty mikroorganismů byly zjištěny u výrobce 3 a to 1,7 log KTJ . g⁻¹. U ostatních dvou výrobců byly celkové počty mikroorganismů téměř srovnatelné a pohybovali se kolem 3,5 log KTJ . g⁻¹. Nejnižší počty enterobakterií byly zjištěny u výrobce 3 a to 0,1 log KTJ . g⁻¹. U zbylých dvou výrobců byly počty enterobakterií srovnatelné ($p > 0,05$)



Obrázek 5 Porovnání počtu mikroorganismů (log KTJ . g⁻¹) v masném výrobku Šunkový salám (n=10). Průměry označené různými písmeny se v rámci sledovaného faktoru (výrobce) statisticky liší (p<0,05)

5.1.3 Gothaj

Z obrázku 6 vyplývá, že celkové počty mikroorganismů u výrobce č. 1 a ostatních výrobců byly srovnatelné. Můžeme, ale také říci, že u výrobce dva byly naměřeny hodnoty nejvyšší, a to 1,7 log KTJ . g⁻¹. Průkazně se lišily (p<0,05) CPM u výrobců 2 a 3. Hodnoty počtů enterobakterií byly v gothaji u všech výrobců srovnatelné.



Obrázek 6 Porovnání počtu mikroorganismů (log KTJ . g⁻¹) v masném výrobku Gothaj (n=10). Průměry označené různými písmeny se v rámci sledovaného faktoru (výrobce) statisticky liší (p<0,05)

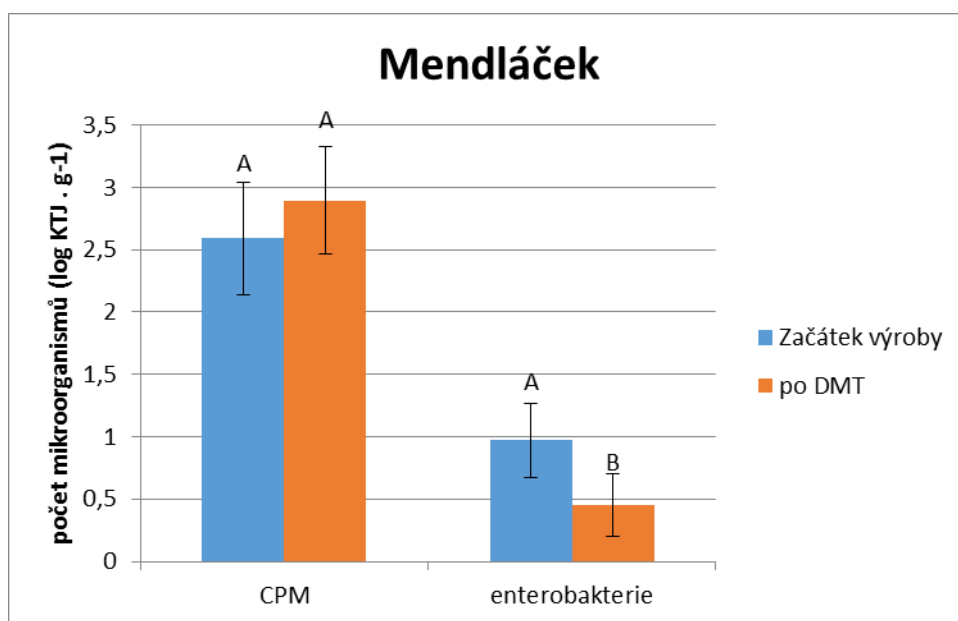
Průkaz rodu *Salmonella* spp. ve všech vzorcích od všech výrobků negativní v 25 g.
Výskyt *Listeria monocytogenes*: ve všech vzorcích od všech výrobků negativní v 25 g.

5.2 Porovnání mikrobiologické jakosti masných výrobků na počátku a na konci doby údržnosti

Sledovány byly tyto výrobky: mendláček, chilli klobása, myslivecká klobása, játrová paštika, gothaj, šunkový salám, grilovací klobása, špekáček, libový párek, tlačěnka a cigáro. Všechny výrobky pocházeli od výrobce 3.

5.2.1 Mendláček

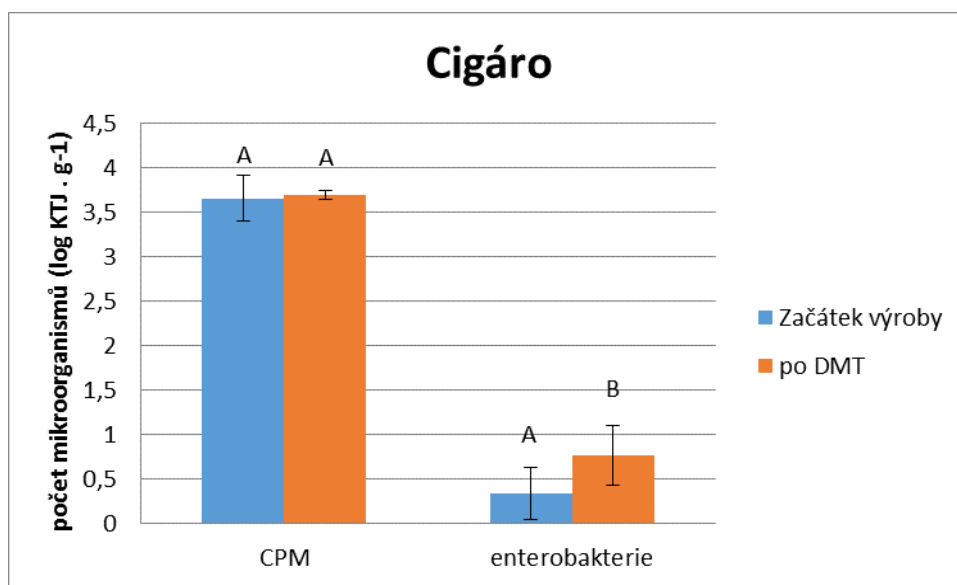
Z obrázku 7 můžeme vyčíst, že byla zaznamenaná tendence nárůstu ($p > 0,05$) celkového počtu mikroorganismů po skončení doby údržnosti. Počty enterobakterií se naopak snížily ($p < 0,05$) z 1 log KTJ . g⁻¹ na 0,5 log KTJ . g⁻¹.



Obrázek 7 Porovnání počtu mikroorganismů (log KTJ . g⁻¹) v masném výrobku Mendláček (n=7). Průměry označené různými písmeny se v rámci sledovaného faktoru (změny počtu log KTJ . g⁻¹) statisticky liší ($p < 0,05$)

5.2.2 Cigáro

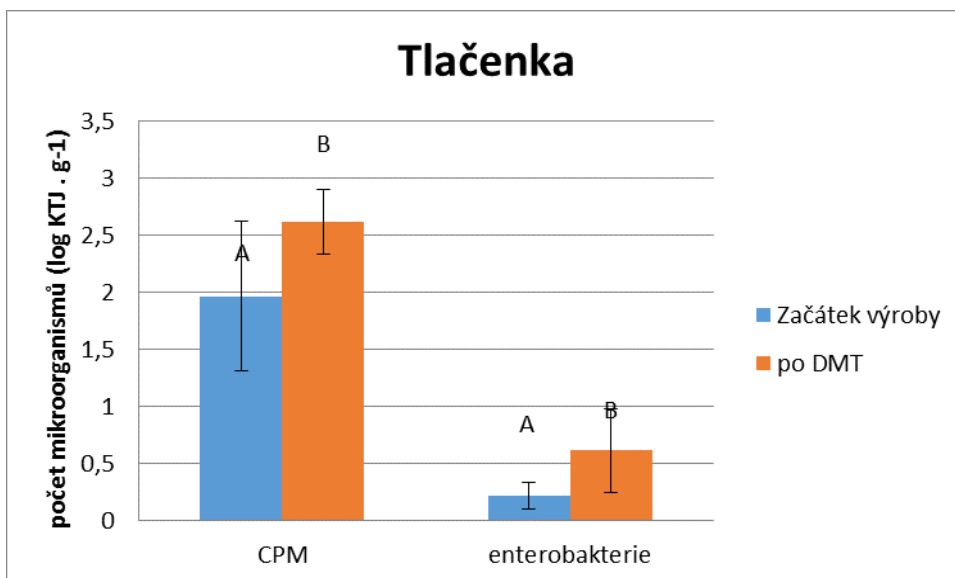
Z obrázku 8 vyplývá, že u analyzovaného vzorku cigáro, se celkové počty mikroorganismů na začátku a na konci doby údržnosti nezměnily. Počty enterobakterií se však po skončení doby údržnosti zvýšily ($p > 0,05$), a to o $0,43 \log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$.



Obrázek 8 Porovnání počtu mikroorganismů ($\log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$) v masném výrobku Cigáro ($n=3$). Průměry označené různými písmeny se v rámci sledovaného faktoru (změny počtu $\log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$) statisticky liší ($p < 0,05$)

5.2.3 Tlačénka

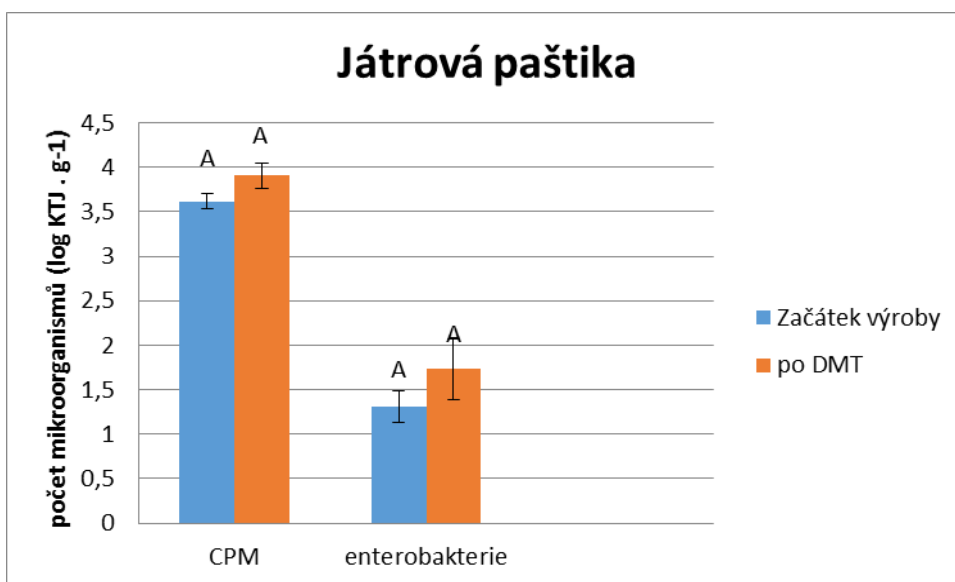
U analyzovaného vzorku tlačénka můžeme z obrázku 9 vyčíst zvýšení ($p < 0,05$) celkového počtu mikroorganismů na začátku výroby a po skončení doby údržnosti, a to o $0,66 \log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$. Z obrázku vyplývá, že počet enterobakterií se také zvýšil ($p < 0,05$), a to o $0,4 \log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$.



Obrázek 9 Porovnání počtu mikroorganismů ($\log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$) v masném výrobku Tlačěnka ($n=6$). Průměry označené různými písmeny se v rámci sledovaného faktoru (změny počtu $\log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$) statisticky liší ($p<0,05$)

5.2.4 Játrová paštika

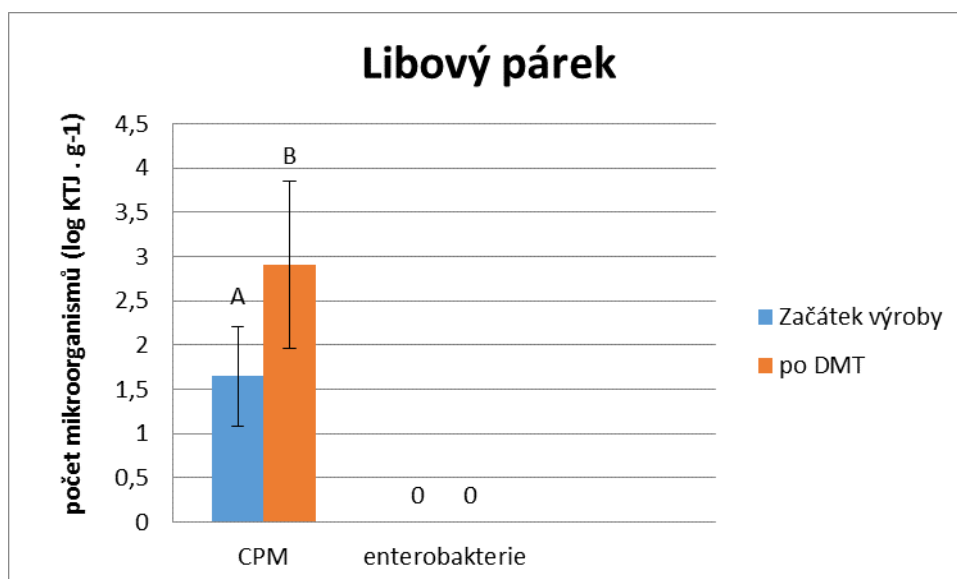
Z obrázku 10 můžeme vyčíst, že nedošlo ke změně ($p>0,05$) celkového počtu mikroorganismů ani počtu bakterií čeledi *Enterobacteriaceae*.



Obrázek 10 Porovnání počtu mikroorganismů ($\log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$) v masném výrobku Játrová paštika ($n=6$). Průměry označené různými písmeny se v rámci sledovaného faktoru (změny počtu $\log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$) statisticky liší ($p<0,05$)

5.2.5 Libový párek

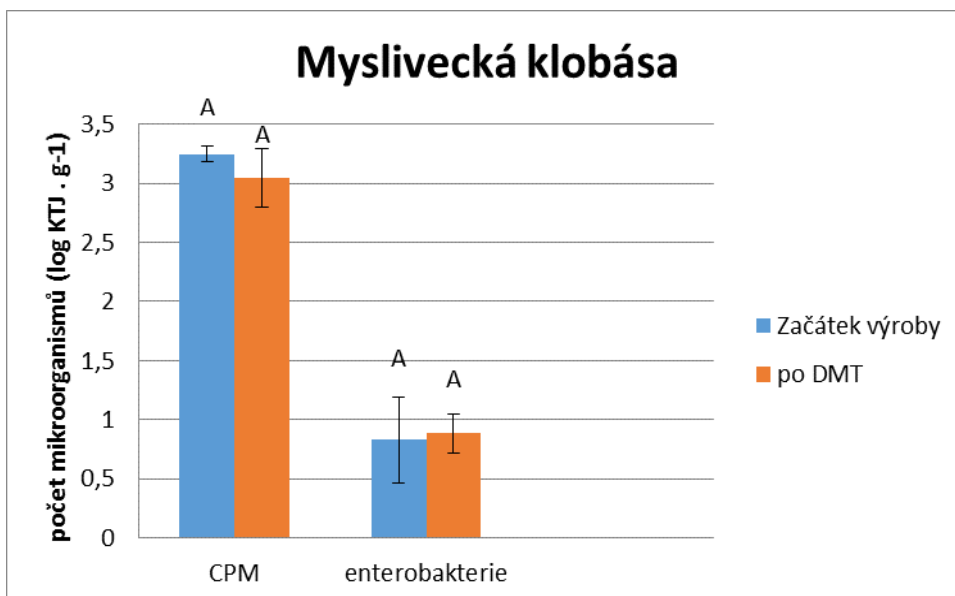
Z obrázku 11 je patrné, že po skončení doby údržnosti, došlo k nárůstu ($p < 0,05$) celkového počtu mikroorganismů. Změna nárůstu byla o $1,25 \log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$. Bakterie čeledi *Enterobacteriaceae* ve vzorku libového párku nebyly detekovány vůbec, a to ani na začátku ani na konci doby údržnosti.



Obrázek 11 Porovnání počtu mikroorganismů ($\log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$) v masném výrobku Libový párek ($n=3$). Průměry označené různými písmeny se v rámci sledovaného faktoru (změny počtu $\log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$) statisticky liší ($p < 0,05$)

5.2.6 Myslivecká klobása

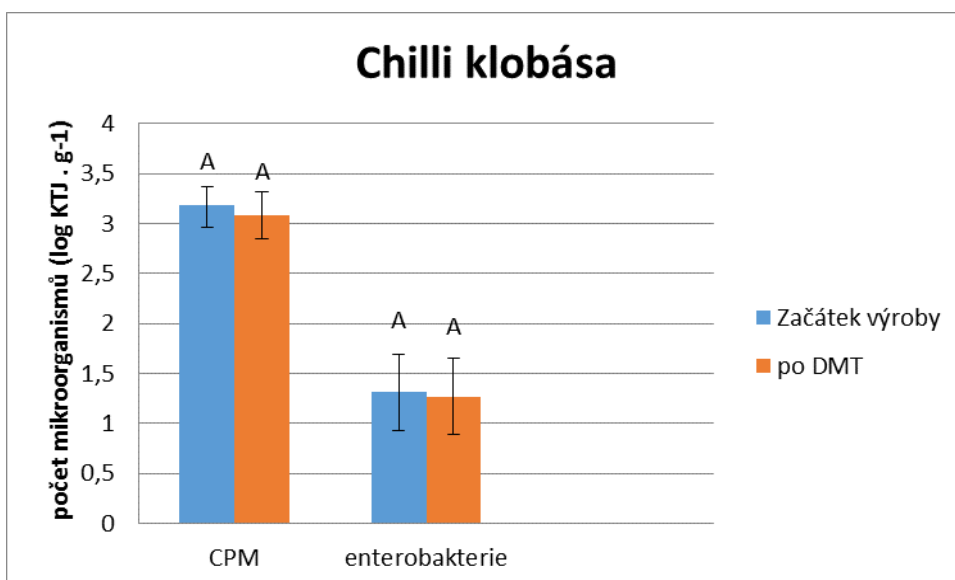
Z obrázku 12 vyplývá vyčíst, že nedošlo ke změnám celkového počtu bakterií ani ke změnám počtu enterobakterií na začátku výroby a po skončení doby údržnosti myslivecké klobásy.



Obrázek 12 Porovnání počtu mikroorganismů ($\log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$) v masném výrobku Myslivecká klobása ($n=9$). Průměry označené různými písmeny se v rámci sledovaného faktoru (změny počtu $\log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$) statisticky liší ($p < 0,05$)

5.2.7 Chilli klobása

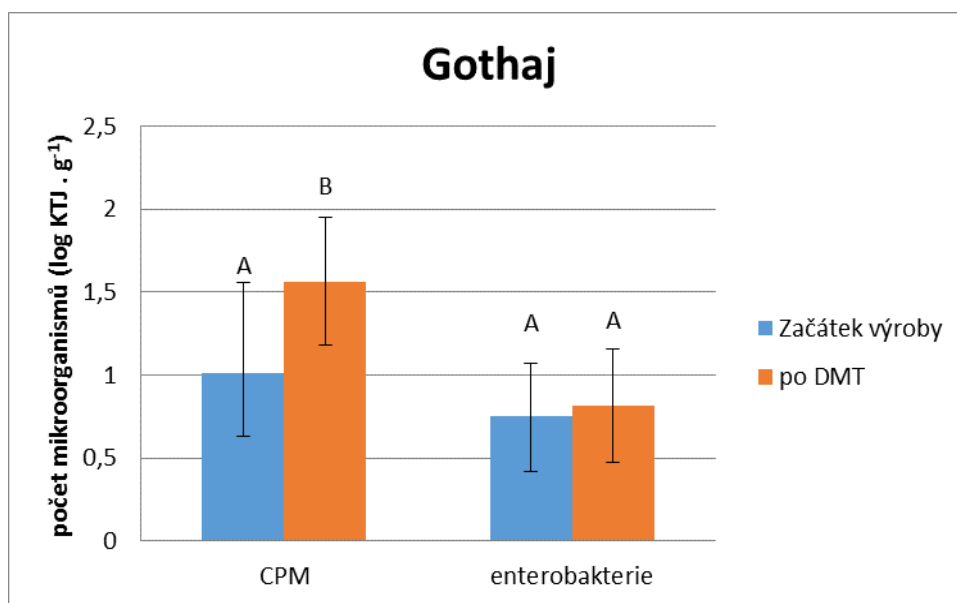
Z obrázku 13 vyplývá vyčíst, že nedošlo ke změnám celkového počtu bakterií ani ke změnám počtu enterobakterií na začátku výroby a po skončení doby údržnosti chilli klobásy.



Obrázek 13 Porovnání počtu mikroorganismů ($\log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$) v masném výrobku Chilli klobása ($n=9$). Průměry označené různými písmeny se v rámci sledovaného faktoru (změny počtu $\log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$) statisticky liší ($p < 0,05$)

5.2.8 Gothaj

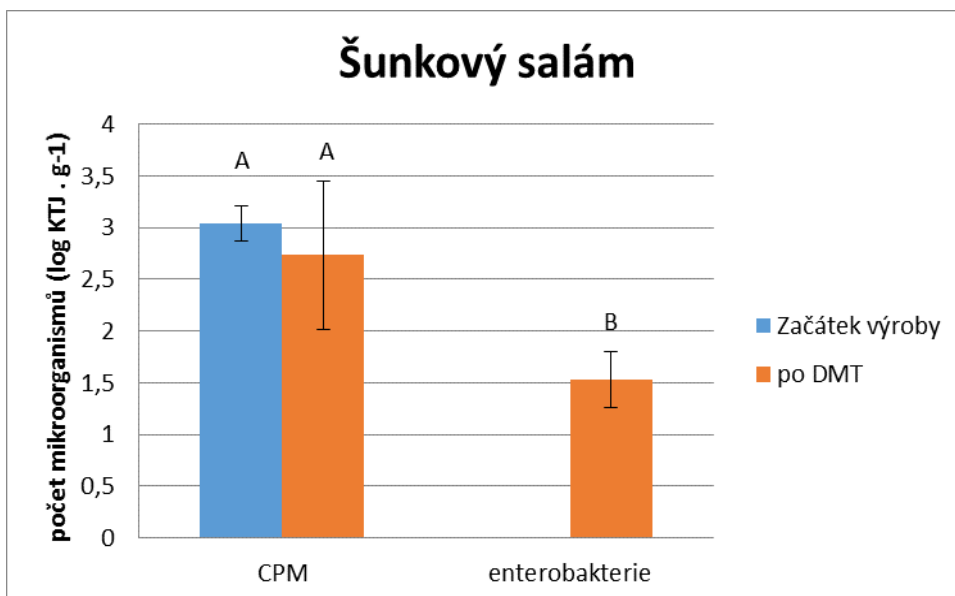
Z obrázku 14 vyplývá, že u gothaje došlo k nárůstu ($p < 0,05$) celkového počtu mikroorganismů, a to o $0,54 \log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$. Rozdíly počtu enterobakterií na začátku výroby a po skončení doby údržnosti nebyly zaznamenány.



Obrázek 14 Porovnání počtu mikroorganismů ($\log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$) v masném výrobku Gothaj ($n=9$). Průměry označené různými písmeny se v rámci sledovaného faktoru (změny počtu $\log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$) statisticky liší ($p < 0,05$)

5.2.9 Šunkový salám

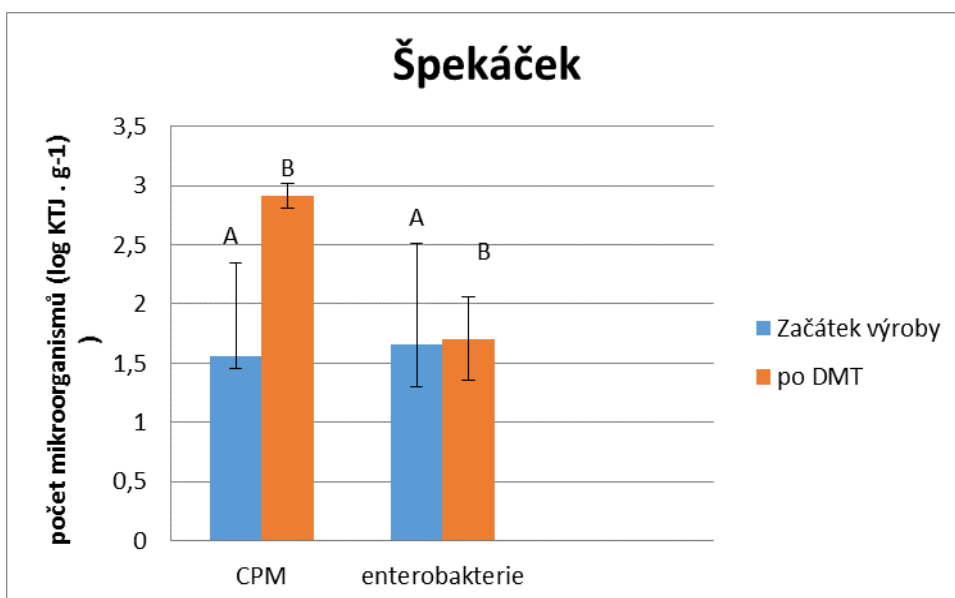
Z obrázku 15 vyplývá, že u šunkového salámu nedošlo ke změnám celkového počtu mikroorganismů ($p > 0,05$) Bakterie rodu *Enterobacteriaceae* nebyly detekovány na počátku doby údržnosti vůbec, po skončení doby údržnosti počet vzrostl ($p < 0,05$) o $1,53 \log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$



Obrázek 15 Porovnání počtu mikroorganismů ($\log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$) v masném výrobku Šunkový salám ($n=3$). Průměry označené různými písmeny se v rámci sledovaného faktoru (změny počtu $\log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$) statisticky liší ($p < 0,05$)

5.2.10 Špekáček

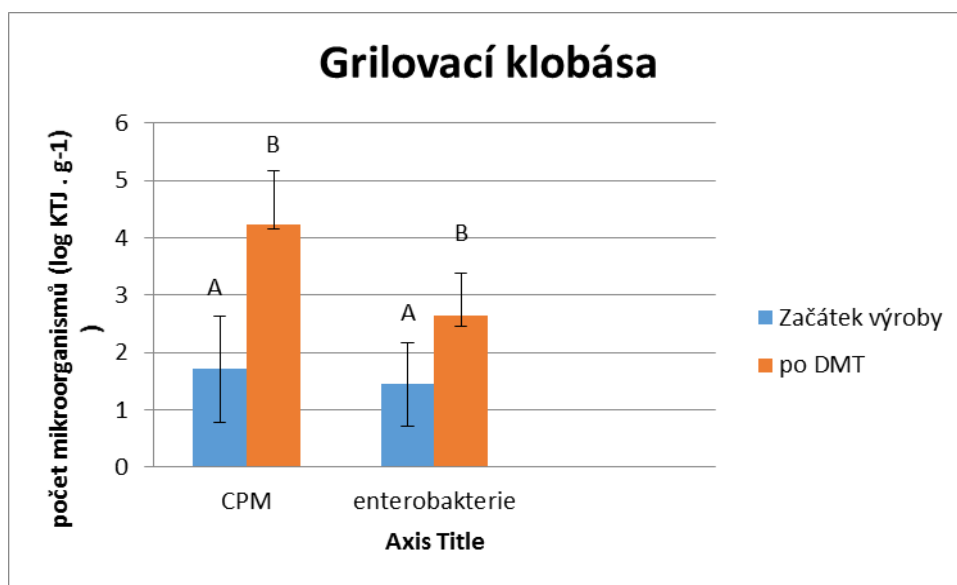
Z obrázků 16 je patrné, že ve špekáčku došlo k nárůstu celkového počtu mikroorganismů ($p < 0,05$) po skončení doby údržnosti, a to o $1,36 \log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$. Ke změně počtu enterobakterií nedošlo ($p > 0,05$).



Obrázek 16 Porovnání počtu mikroorganismů ($\log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$) v masném výrobku Špekáček ($n=3$). Průměry označené různými písmeny se v rámci sledovaného faktoru (změny počtu $\log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$) statisticky liší ($p < 0,05$)

5.2.11 Grilovací klobása

Z obrázku 17 vyplývá, že u grilovací klobásy došlo k nárůstu jak celkového počtu bakterií tak enterobakterií. Narůst celkového počtu bakterií po skončení doby údržnosti byl 2,53 log KTJ . g⁻¹, počet enterobakterií byl vyšší (p<0,05) o 1,2 log KTJ . g⁻¹.



Obrázek 17 Porovnání počtu mikroorganismů (log KTJ . g⁻¹) v masném výrobku Grilovací klobása (n=3). Průměry označené různými písmeny se v rámci sledovaného faktoru (změny počtu log KTJ . g⁻¹) statisticky liší (p<0,05)

Průkaz rodu *Salmonella* spp.: ve všech vzorcích od všech výrobků negativní v 25 g.

Výskyt *Listeria monocytogenes*: ve všech vzorcích od všech výrobků negativní v 25 g.

Diskuze

CPM poskytuje základní informace o stupni mikrobiální kontaminace. Z jeho hodnot lze usuzovat na dodržování hygienických směrnic při výrobě, přepravě a skladování výrobků (Burdychová, Sládková, 2007). NAŘÍZENÍ EP A RADY (ES) č. 2073/2005 nestanovuje legislativní limit pro celkový obsah mikroorganismů v tepelně opracovaných výrobcích. Toto nařízení pouze udává, že potraviny nesmí obsahovat mikroorganismy, jejich toxiny nebo metabolity v množství představujícím riziko pro lidské zdraví. Limity jsou dány pouze pro určité mikroorganismy a určité výrobky jako například strojně oddělené maso, mleté maso a masné polotovary.

Hodnoty celkového počtu mikroorganismů můžeme najít v ČSN 56 9606, kde je u potravin určených k přímé spotřebě (s výjimkou potravin, kde jsou takové mikroorganismy součástí kulturní mikroflóry) jako nejvyšší mezní hodnota 10^8 aerobních mezofilních mikroorganismů (tj. CPM). Kameník (2004) udává, že při hodnotách 10^8 již dochází k významným senzorickým změnám. U sledovaných výrobků nedošlo ani v jednom případě k překročení limitů, uvedených v ČSN 56 9606. Nejvyšší celkové počty mikroorganismů byly nalezeny u výrobku gothaj a to $1,9 \cdot 10^4$ KTJ \cdot g⁻¹. Tato hodnota nepřekračuje limity dané normou ČSN 56 9606, ale mohli bychom říci, že tyto hodnoty u vzorku gothaj jsou na hranici. Další limitní hodnoty byly nalezeny u gothaje od výrobce 2 a to $1,5 \cdot 10^5$ KTJ \cdot g⁻¹ a u špekáčku od výrobce 1 a to $2 \cdot 10^5$ KTJ \cdot g⁻¹. Podle Feinera (2006) je pro tepelně opracované masné výrobky vyhovující počet mikroorganismů mezi 10^2 a 10^4 na gram výrobku. Hodnota nad 10^5 mikroorganismů v gramu masa by měla být vnímána jako maximální hranice

Podle Fernandes (2009) jsou akceptovatelné hodnoty pro klobásy menší než 10^5 . také stanovuje hodnoty pro tlačenko, a to menší než 10^7 . U sledovaných vzorků tlačinky byly nejvyšší CPM $7,1 \cdot 10^3$ KTJ \cdot g⁻¹.

K nejvyšší změně počtu CPM na začátku a po skončení doby údržnosti došlo u výrobku grilovací klobása. Nárůst byl o 2,5 log KTJ \cdot g⁻¹, kdy byl po skončení doby údržnosti počet CPM $1,8 \cdot 10^4$ KTJ \cdot g⁻¹. Tato hodnota CPM je však vyhovující a grilovací klobása neporušuje normu ČSN ani doporučení jiných autorů. Nárůstu CPM byl zjištěn i u špekáčku, gothaje, libového párku a tlačinky. Žádný z výrobků však nalezeným počtem CPM nepřekračoval stanovené limity.

Dnes už neplatná VYHLÁŠKA č. 132/2004 o mikrobiologických kritériích pro potraviny uvádí u tepelně opracovaných nekrájených masných výrobků přípustnou hodnotu CPM 10^5 KTJ \cdot g⁻¹. Dva výrobky byly na hranici tohoto limitu a to gothaje od výrobce 2 a to $1,5 \cdot 10^5$ KTJ \cdot g⁻¹ a u špekáčku od výrobce 1 a to $2 \cdot 10^5$ KTJ \cdot g⁻¹. Feiner (2006) tvrdí, že při počtu bakterií kolem 10^7 na cm² nebo gram masa či masného výrobku lze pozorovat typické nežádoucí změny, které jsou výsledkem kažení masa.

Enterobacteriaceae, běžně zvaná enterobakterie, je rodově i druhově početná čeleď zahrnující gramnegativní, fakultativně anaerobní tyčinky, z nichž většina žije v trávicím traktu obratlovců jako přirozená součást mikroflóry střeva. Většina je nepatogenních, ale některé jsou podmíněně patogenní a některé druhy jsou nebezpečnými původci vážných i smrtelných nemocí (např. *Salmonella*, *Shigella*, *Y. pestis*, některé

kmeny *E.coli*). NAŘÍZENÍ EP A RADY (ES) č. 2073/ 2005 udává kritéria pro bakterie rodu *Enterobacteriaceae* pouze na jatečně upravená těla prasat a to $2 \log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$ výrobku. Neplatná vyhláška č. 132/2004 udává však přípustnou hodnotu 10^3 *Enterobacteriaceae* v gramu u nekrájených tepelně opracovaných masných výrobců. Nejvyšší hodnoty byly zjištěny u výrobku grilovací klobása $9,2 \cdot 10^2 \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$. Fernandes (2009) stanovuje akceptovatelné hodnoty pro tepelně opracované masné výrobky méně než 10^4 . Námi analyzované vzorky obsahovaly bakterie čeledi *Enterobacteriaceae* maximálně do $10^2 \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$. Největší nárůst enterobakterií po skončení doby údržnosti můžeme pozorovat u šunkového salámu a to o $1,5 \log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$, kdy na začátku výroby nebyly detekovány a na konci doby údržnosti byl počet enterobakterií $4,6 \cdot 10^1 \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$. Co že je i podle Feinera (2006) hodnota akceptovatelná, protože dle jeho poznatků by měl být počet bakterií čeledi *Enterobacteriaceae* celkově méně než $10^4 \cdot \text{g}^{-1}$ masa.

Salmonella spp., která také patří do čeledi *Enterobacteriaceae*, nesmí být podle NAŘÍZENÍ EP A RADY (ES) č. 2073/2005 Sb., přítomna v 25 g nekrájeného tepelně opracovaného masného výrobku. Fernandes (2009) udává také počet bakterií *Salmonella* spp. negativní v 25 g výrobku. Barell (1988) dokázal snížení počtu *S. typhimurium* asi o 50 % v tepelně opracovaném mase skladovaném 10 týdnů při teplotě - 20 až - 18°C. *Salmonella* sp., která je původcem onemocnění salmonelóza, nebyla nalezena v žádném z výrobců.

Nezávazná ČSN 56 9606 neudává počet bakterií rodu *Enterobacteriaceae*, ale počet bakterií *E. coli* a to $5 \cdot 10^2 \cdot \text{g}^{-1}$ u tří vzorků z 5, další dva mohou obsahovat pouze $5 \cdot 10^3 \cdot \text{g}^{-1}$. *Salmonella* spp. nesmí být přítomna v 25 g vzorku.

Kritické limity pro bakterii *Listeria monocytogenes* můžeme najít v NAŘÍZENÍ EP A RADY (ES) č. 2073/2005. Zde jsou hodnoty pro listerii rozděleny do několika kategorií. Masné výrobky patří do skupiny: Potraviny určené k přímé spotřebě, podporující růst *L. monocytogenes*, jiné než pro kojence a zvláštní léčebné účely, kde je stanoveno, že nesmí být obsažena v 25 g výrobku. I v ČSN 56 9606 je stanoven limit pro *L. monocytogenes* negativní v 25 g výrobku. *Listeria* dobře snáší také mrazírenské teploty během tří měsíců skladování při -18°C až - 20°C se počty snížily o méně než 1 logaritmický řád.

U všech vzorků masných výrobců jsme zjistili, že jejich CPM splňují limity dané neplatnou vyhláškou č. 132/2004 Sb. a nezávaznou normou ČSN 56 9609. Nejvyšší zjištěná hodnota v případě srovnávání výrobců od různých výrobců byla nalezena

ve špekáčku od výrobce č. 1 a to $2,1 \cdot 10^5 \text{ KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$, což už je však podle mnoha autorů hodnota limitní.

V případě srovnávání nárůstu mikroorganismů na začátku a po skončení doby trvanlivosti byla nejvyšší hodnota nárůstu u grilovací klobásy od výrobce 3, a to o $2,53 \log \text{ KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$. Celkově po uplynutí minimální doby trvanlivosti nedocházelo k velkým nárůstům mikroorganismů, tudíž bychom mohli říci, že by se doba minimální trvanlivosti mohla i prodloužit.

6 ZÁVĚR

Masné výrobky jsou široce osídleny různými mikroorganismy. Ať se jedná o mikroorganismy žádoucí např. startovací kultury pro fermentované masné výrobky, nežádoucí (způsobující kažení potravin) nebo takové, která způsobují alimentární onemocnění a jsou zdraví škodlivé. K docílení zdravotní nezávadnosti potravin musíme zajistit dostatečná preventivní opatření, fungující systém HACCP a správnou výrobní a hygienickou praxi. Důležité jsou i různé konzervační zákroky, sloužící k usmrcení nebo potlačení nežádoucí mikroflóry. U tepelných masných výrobků je to především dostatečné tepelné opracování a následně správné skladování.

Praktická část diplomové práce byla zaměřena na analyzování tepelně opracovaných masných výrobků. Analyzované byly tyto výrobky: mendláček, grilovací klobása, chilli klobása, myslivecká klobása, libový párek, játrová paštika, gothaj, špekáček, šunkový salám, tlačěnka a cigáro. Vzorky byly analyzovány od března do prosince 2015. Do doby mikrobiální analýzy byly uchovávány dle doporučení výrobce a legislativních limitů.

První část se zaměřovala na srovnávání výrobků od tří různých výrobců. Srovnávány byly tyto výrobky: šunkový salám, gothaj a špekáček. Může říci, že statisticky průkazně měl špekáček výrobce 3 nejmenší počet CMP a také šunkový salám výrobce 3 měl nejmenší počet CPM i enterobakterií. Žádný z výsledků však nepřekročil limit daný vyhláškou nebo ČSN 56 9609.

Druhá část se zaměřila na srovnávání počtu mikroorganismů na začátku a po uplynutí doby minimální trvanlivosti. Největší nárůst CPM byl sledován u grilovací klobásy. V žádném z daných vzorku nebyla ve 25 g identifikována *Salmonella* spp. ani *Listeria monocytogenes*.

Můžeme tedy konstatovat, že u žádného výrobku nedošlo k takovému nárůstu, který by překračoval legislativní limity. Tudíž i po skončení doby údržnosti nepředstavovaly tyto masné výrobky nebezpečí pro člověka.

7 PŘEHLED POUŽITÉ LITERATURY

- AMBROŽ, Z. *Mikrobiologie* (obecná část). Brno: VŠZ, 1991. 100 s.
- ALCAMO, E. I. *Fundamentals of microbiology*. 6th ed. Sudbury, Massachusetts: Jones and Bartlett, 2000. 832 s. ISBN 0-7637-1067-9
- ARROW SCIENTIFIC, [online] 2001.[cit. 2012-09-07]. Dostupný z:
http://www.arrowscientific.com.au/Brochothrix_thermosphacta.html
- BLACK, J. G., BLACK L. J., *Microbiology*. 8. ed., internat. student version. Hoboken, NJ: Wiley, 2013, xx, 747 s., příl. ISBN 978-0-470-64621-2.
- BURDYCHOVÁ R., SLÁDKOVÁ P. *Mikrobiologická analýza potravin*. 1. vyd. Brno: MZLU v Brně, 2007, 208 s. ISBN 978-80-7375-116-6.
- CEMPÍRKOVÁ R., LUKÁŠOVÁ J. a HEJLOVÁ Š. *Mikrobiologie potravin*. 1. vyd. České Budějovice: Jihočeská univerzita, 1997, 165 s. ISBN 80-7040-254-7.
- ČERVENKA, J.; SAMEK, M. *Skladování a konzervace zemědělských produktů*. Praha: Česká zemědělská univerzita v Praze, Provozně ekonomická fakulta, 2003. 148 s.
- D'OATUNI V., TRISTEZZA M., GIORGI M., RAMPINO P.: *Occurrence of Listeria monocytogenes and Salmonella spp. in meat processed products from industrial plants in Southern Italy*. Food control [online] May 2016, Volume 62, Pages 104- 109 [cit. 2016-01-26]. Dostupný z:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713515302474>
- DEACON, J.: *The Microbial World: Proteus vulgaris and clinical diagnostics*, [online] [cit. 2013-04-03]. Dostupný z:
<http://archive.bio.ed.ac.uk/jdeacon/microbes/proteus.htm>
- FEATHERSTONE S. Hazard analysis and critical control point (HACCP) systems in food canning. A Complete Course in Canning and Related Processes (Fourteenth Edition) [online] 2015, Volume 2, Pages 215- 234 [cit. 2016-01-26]. Dostupný z:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780857096784000099>
- FEINER G. *Meat products handbook*. Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 2006, 648 s. ISBN-10: 1-84569-172-5.
- FERNANDES, R. *Microbiology handbook: meat products*. Leatherhead: Leatherhead Pub., 2009, xiv, 297 s. ISBN 978-1-905224-66-1.
- FORSYTHE S. J. *The Microbiology of Safe Food*. 1. vyd. Londýn: Blackwell Science, 2000, 412 s. ISBN 0-632-05487-5.

FLEMMING, L., RAWLINGS, D., CHENIA, H. *Phenotypic and molecular characterisation of fish-borne Flavobacterium johnsoniae-like isolates from aquaculture systems in South Africa. Research in Microbiology* [online] , January–February 2007, Volume 158, Issue 1, Pages18-30[cit. 2013-04-17]. Dostupný z:

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0923250806002099>

FRANÇOIS, P., SCHERL , A., HOCHSTRASSER, D., SCHRENZEL, J.: *Proteomic approaches to study Staphylococcus aureus pathogenesis. Journal of Proteomics* [online] February 2010, Volume 73, Issue 4, Pages 701-708 [cit. 2013-03-04]. Dostupný z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160505005878>

GALOVÁ, V. *Mikrobiologie masa a masných výrobků*. Bakalářská práce. Brno: MZLU 2011. 47 s.

GÖRNER, F. VALÍK, L. *Aplikovaná mikrobiologie požívatin* 1. vyd. Bratislava: Malé Centrum, 2004, 528 s. ISBN 80-967064-9-7.

HAMPL, B. *Potravinářská mikrobiologie*. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1968. 276 s.

INGR, I: *Atypické zrání a kažení masa*, [online] 2003. [cit. 2012-09-08]. Dostupný z: <http://www.cszm.cz/clanek.asp?typ=2&id=894>

INGR I. *Zrání masa a jeho praktický význam* [online]. Český svaz zpracovatelů masa, 2003 [cit. 2013-03-07]. Dostupné na <http://www.cszm.cz>

INGR, I. *Technologie masa*. Brno: MZLU 1996. 290 s. ISBN 80-7157-193-8

INFORMAČNÍ CENTRUM PRO BEZPEČNOST POTRAVIN: *Konzervace potravin* [online]. *Bezpečnost potravin*, 2012 [cit. 2016-03-017]. Dostupné z:

<http://www.bezpecnostpotravin.cz/vyhledavani/konzervace%20potravin.aspx>

JULÁK, J. *Klinicky významné bakterie*. 1. vyd. Praha: Triton, 2012, 123 s. ISBN 978-80-7387-588-6.

KADLEC P., MELZOCH K., VOLDŘICH M.: *Procesy a zařízení potravinářských a biotechnologických výrob: [technologie potravin]*. Vyd. 1. Ostrava: Key Publishing, 2012. ISBN 978-80-7418-086-6.

KADLEC P., MELZOCH K., VOLDŘICH M.: *Přehled tradičních potravinářských výrob: technologie potravin*. Vyd. 1. Ostrava: Key Publishing, 2012. ISBN 978-80-7418-145-0.

KAMENÍK, J. *Maso jako potravina: produkce, složení a vlastnosti masa*. Vyd. 1. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita, 2014, 327 s. ISBN 978-80-7305-673-5.

- KAMENÍK J. *Trvanlivé masné výrobky*. 1. vyd. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita, 2010, 262 s. ISBN 978-80-7305-106-8. 91
- KAMENÍK J. *Hygiena a technologie masa: Trvanlivé masné výrobky*. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2012, 117 s. ISBN 978-80-7305-608-7
- KOPŘIVA V., MATYÁŠ Z., STEINHAUSEROVÁ I.: *Zásady správné výrobní hygienické praxe pro masnou technologii*. Brno: Český svaz zpracovatelů masa Praha, 2002, 66 s
- KOUTNÍČKOVÁ L. *Mikrobiologické vlastnosti masných konzerv a polokonzerv*. Bakalářská práce. Mendelova univerzita v Brně, 2013, 49 s.
- KOTIRANTA, A., LOUNATMAA, K., HAAPASALO, M. *Epidemiology and pathogenesis of Bacillus cereus infections*. *Microbes and Infection* [online] February 2000, Volume 2, Issue 2, Pages 189-198 [cit. 2013-04-15]. Dostupný z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1286457900002690>
- LALMANACH, A., LANTIER, F.: *Host cytokine response and resistance to Salmonella infection*. *Microbes and Infection* [online] July 1999, Volume 1, Issue 9, Pages 719-726 [cit. 2013-04-15]. Dostupný z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1286457999800732>
- LINDSTRÖM, M., HEJKINHEJMO, A., LAHTI, P., KORKEALA, H.: *Novel insights into the epidemiology of Clostridium perfringens type A food poisoning*. *Food Microbiology* [online] April 2011, Volume 28, Issue 2, Pages 192-198 [cit. 2013-04-15]. Dostupný z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0740002010000626>
- LEISTNER, L.: (1985) *Allgemeines über Rohwurst und Rohschinken*, s. 1 – 29; In: Leistner, L. *et al.* : *Mikrobiologie und Qualität von Rohwurst und Rohschinken*; Bundesanstalt für Fleischforschung, Kulmbach, 1985, 244 s.
- MASTROENI, P., SHEPPARD, M.: *Salmonella infections in the mouse model: host resistance factors and in vivo dynamics of bacterial spread and distribution in the tissues*. *Microbes and Infection* [online] April 2004, Volume 6, Issue 4, Pages 398-405 [cit. 2013-04-15]. Dostupný z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1286457904000334>
- MANI-LOPEZ E., GARCÍA H., LÓPEZ-MALO A.: *Organic acids as antimicrobials to control Salmonella in meat and poultry products*. *Food Research International* [online] March 2012, Volume 45, Issue 2, Pages 713- 721 [cit. 2016-01-26]. Dostupný z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S096399691100278X>

NAŘÍZENÍ EVROPSKÉHO PARLAMENTU A RADY (ES) č. 852/2004, o hygieně potravin. 93

NAŘÍZENÍ EVROPSKÉHO PARLAMENTU A RADY (ES) č. 853/2004, stanovující zvláštní hygienické předpisy pro potraviny živočišného původu.

NAŘÍZENÍ EVROPSKÉHO PARLAMENTU A RADY (ES) č. 2073/2005 o mikrobiologických kritériích pro potraviny.

PHONSISAY V.: *The immunobiology of Campylobacter jejuni: Innate immunity and autoimmune diseases. Immunobiology* [online] April 2016, Volume 221, Issue 4, Pages 535–543 [cit. 2016-03-02]. Dostupný z:

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0171298515301042>

PEIX, A., RAMIRÉZ-BAHENA, M., VELÁZQUEZ, E.: *Historical evolution and current status of the taxonomy of genus Pseudomonas. Infection, Genetics and Evolution* [online] December 2009, Volume 9, Issue 6, Pages 1132-1147 [cit. 2013-04-17].

Dostupný z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1567134809001853>

PIPEK P.: *Technologie masa II*. 1.vyd. Kostelní Vydří: Karmelitánské nakl., 1998, 348 s. ISBN 80-7192-283-8.

QUINTO E., MARIN J., SCHAFFNER.: *Effect of the competitive growth of Lactobacillus sakei MN on the growth kinetics of Listeria monocytogenes Scott A in model meat gravy. Food control* [online] May 2016, Volume 63, Pages 34-45 [cit. 2016-03-02]. Dostupný z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713515302978>

SHEN Q., PANDARE P., SONI K., NANNAPANENI R., MAHMOUD B., SHARMA CH.: *Influence of temperature on alkali stress adaptation in Listeria monocytogenes. Foo control* [online] April 2016, Volume 62, Pages 74-80 [cit. 2016-03-02]. Dostupný z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S095671351530195X>

SEDLÁŘOVÁ M.: *Potravinářská mikrobiologie* [online] 2009.[cit. 2016-03-07]. Dostupný z: http://old.botany.upol.cz/prezentace/sedlarova/MB_14.pdf

SORAINO M. J., FONT, J., MOLTÓ C., MĀNES J.: *Enterotoxigenic staphylococci and their toxins in restaurant foods. Trends in Food Science & Technology*[online] February 2002, Volume 13, Issue 2, Pages 60-67 [cit. 2013-03-4]. Dostupný z:

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924224402000304>

STEINHAUSER L.: a kolektiv. *Hygiena a technologie masa*. 1. vyd. Brno: LAST, 1995, 643 s. ISBN 80-900260-4-4.

ŠILHÁNKOVÁ L.: *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology*. 3. vyd. Praha: Academia, 2002, 363 s. ISBN 80-200-1024-6.

ŠROUBKOVÁ, E.: *Technická mikrobiologie*. Brno: MZLU 1996. 150 s. ISBN 80-7157-226-8

TAVAKOLI, H. R., MESHGI, M., JAFARI, N. J., IZADI M., RANJBAR, R., IMANI FOOLADI A.: *A survey of traditional Iranian food products for contamination with toxigenic Clostridium botulinum*. *Journal of Infection and Public Health* [online] 2009, Volume 2, Issue 2, Pages 91-95 [cit. 2013-04-10]. Dostupný z:

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1876034109000252>

TAPIA M. A., ALZAMORA S. M., CHIRIFE J., 2007: *Effects of Water Activity on Microbial Stability: As a Hurdle in Food Preservation*. *Water Activity in foods*. Electronic ISBN 978 – 1 – 61583 - 095 – 4

UNICONSLUTNIG – *Program rozvoje venkova: Základy uchování potravin* [online] 2012, [cit. 2016-03-7]. Dostupný z:

http://www.uniconsulting.cz/download/ucebni-text/Zaklady_uchovani_potravin.pdf

VARZAKAS T.: *HACCP and ISO22000: Risk Assessment in Conjunction with Other Food Safety Tools Such as FMEA, Ishikawa Diagrams and Pareto*. *Encyclopedia of Food and Health* [online] 2016, Pages 295-302 [cit. 2016-03-18]. Dostupný z:

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123849472003202>

VLKOVÁ, E., RADA V., KILLER, J.: *Potravinářská mikrobiologie*. Praha: Česká zemědělská univerzita 2009. 168 s. ISBN 978-80-213-1988-2

VYHLÁŠKA 202/2003 Sb. o veterinárních požadavcích na čerstvé maso, mleté maso, masné polotovary a masné výrobky

VYHLÁŠKA č. 132/2004 o mikrobiologických požadavcích na potraviny, způsobu jejich kontroly a hodnocení.

VYHLÁŠKA č. 159/2014 Sb. pro maso, masné výrobky, ryby, ostatní vodní živočichy a výrobky z nich, vejce a výrobky z nich.

WAŚKIEWICZ A., IRZYKOWSKA L.: *Flavobacterium* spp. – Characteristics, Occurrence, and Toxicity. *Encyclopedia of Food Microbiology (Second Edition)* [online] August 2014, Pages 938 –942 [cit. 2016-15-04]. Dostupný z:

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123847300001269>

YE Q., WU Q., HUIJUAN H., ZHANG J., HUANG H.: *Prevalence and characterization of Yersinia enterocolitica isolated from retail foods in China. Food control* [online] March 2016, Volume 61, Pages 20-27 [cit. 2016-03-02]. Dostupný z:

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S095671351530195X>

ZHONG X., WU. Q , ZHANG J, SHEN S.: *Prevalence, genetic diversity and antimicrobial susceptibility of Campylobacter jejuni isolated from retail food in China. Food control* [online] April 2016, Volume 62, Pages 10–15 [cit. 2016-03-02]. Dostupný z:

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713515302115>

8 SEZNAM TABULEK

<i>Tabulka 1 Přehled bakterií způsobující alimentární onemocnění (Fernandes, 2009)</i>	19
<i>Tabulka 2 Bakteriální původci onemocnění z potravin (nařízení ČSN 56 96609)..</i>	28
<i>Tabulka 3 Doporučené limity pro koření (Görner a Valík, 2004)</i>	31
<i>Tabulka 4 Rozdělení masných výrobků</i>	32
<i>Tabulka 5 Vady tepelně neopracovaných masných výrobků (Görner a Valík, 2004).</i>	34
<i>Tabulka 6 Doporučená kritéria pro fermentované masné výrobky v log KTJ/g (DGHM 2011)</i>	35
<i>Tabulka 7 Kritéria pro salmonely v mletém mase a polotovarech (NAŘÍZENÍ EP A RADY (ES) č. 2073/2005)</i>	36
<i>Tabulka 8 Kritéria pro E. coli v mletém mase a polotovarech (NAŘÍZENÍ EP A RADY (ES) č. 2073/2005)</i>	36
<i>Tabulka 9 11 kroků při zavádění systému HACCP(Codex Alimentarius)</i>	39
<i>Tabulka 10 Účinky jednotlivých operací při zpracování potravin na mikroorganismy (Červenka a Samek, 2003).</i>	43

9 SEZNAM OBRÁZKŮ

<i>Obrázek 1 Desítkové ředění</i>	<i>Obrázek 2 Homogenizátor</i>	46
<i>Obrázek 3 Počítání narostlých kolonií</i>		50
<i>Obrázek 4 Porovnání počtu mikroorganismů (log KTJ . g⁻¹) v masném výrobku Špekáček. Průměry označené různými písmeny se v rámci sledovaného faktoru (výrobce) statisticky liší (p<0,05)</i>		52
<i>Obrázek 5 Porovnání počtu mikroorganismů (log KTJ . g⁻¹) v masném výrobku Šunkový salám (n=10). Průměry označené různými písmeny se v rámci sledovaného faktoru (výrobce) statisticky liší (p<0,05)</i>		53
<i>Obrázek 6 Porovnání počtu mikroorganismů (log KTJ . g⁻¹) v masném výrobku Gothaj (n=10). Průměry označené různými písmeny se v rámci sledovaného faktoru (výrobce) statisticky liší (p<0,05)</i>		53
<i>Obrázek 7 Porovnání počtu mikroorganismů (log KTJ . g⁻¹) v masném výrobku Mendláček (n=7). Průměry označené různými písmeny se v rámci sledovaného faktoru (změny počtu log KTJ . g⁻¹) statisticky liší (p<0,05)</i>		54
<i>Obrázek 8 Porovnání počtu mikroorganismů (log KTJ . g⁻¹) v masném výrobku Cigáro (n=3). Průměry označené různými písmeny se v rámci sledovaného faktoru (změny počtu log KTJ . g⁻¹) statisticky liší (p<0,05)</i>		55
<i>Obrázek 9 Porovnání počtu mikroorganismů (log KTJ . g⁻¹) v masném výrobku Tlačěnka (n=6). Průměry označené různými písmeny se v rámci sledovaného faktoru (změny počtu log KTJ . g⁻¹) statisticky liší (p<0,05)</i>		56
<i>Obrázek 10 Porovnání počtu mikroorganismů (log KTJ . g⁻¹) v masném výrobku Játrová paštika (n=6). Průměry označené různými písmeny se v rámci sledovaného faktoru (změny počtu log KTJ . g⁻¹) statisticky liší (p<0,05)</i>		56
<i>Obrázek 11 Porovnání počtu mikroorganismů (log KTJ . g⁻¹) v masném výrobku Libový párek (n=3). Průměry označené různými písmeny se v rámci sledovaného faktoru (změny počtu log KTJ . g⁻¹) statisticky liší (p<0,05)</i>		57
<i>Obrázek 12 Porovnání počtu mikroorganismů (log KTJ . g⁻¹) v masném výrobku Myslivecká klobása (n=9). Průměry označené různými písmeny se v rámci sledovaného faktoru (změny počtu log KTJ . g⁻¹) statisticky liší (p<0,05)</i>		58

<i>Obrázek 13 Porovnání počtu mikroorganismů (log KTJ . g⁻¹) v masném výrobku Chilli klobása (n=9). Průměry označené různými písmeny se v rámci sledovaného faktoru (změny počtu log KTJ . g⁻¹) statisticky liší (p<0,05)</i>	<i>58</i>
<i>Obrázek 14 Porovnání počtu mikroorganismů (log KTJ . g⁻¹) v masném výrobku Gothaj (n=9). Průměry označené různými písmeny se v rámci sledovaného faktoru (změny počtu log KTJ . g⁻¹) statisticky liší (p<0,05).....</i>	<i>59</i>
<i>Obrázek 15 Porovnání počtu mikroorganismů (log KTJ . g⁻¹) v masném výrobku Šunkový salám (n=3). Průměry označené různými písmeny se v rámci sledovaného faktoru (změny počtu log KTJ . g⁻¹) statisticky liší (p<0,05</i>	<i>60</i>
<i>Obrázek 16 Porovnání počtu mikroorganismů (log KTJ . g⁻¹) v masném výrobku Špekáček (n=3). Průměry označené různými písmeny se v rámci sledovaného faktoru (změny počtu log KTJ . g⁻¹) statisticky liší (p<0,05).....</i>	<i>60</i>
<i>Obrázek 17 Porovnání počtu mikroorganismů (log KTJ . g⁻¹) v masném výrobku Grilovací klobása (n=3). Průměry označené různými písmeny se v rámci sledovaného faktoru (změny počtu log KTJ . g⁻¹) statisticky liší (p<0,05)</i>	<i>61</i>