

MENDELOVA UNIVERZITA V BRNĚ
AGRONOMICKÁ FAKULTA

DIPLOMOVÁ PRÁCE

BRNO 2017

Bc. ADÉLA HOFERKOVÁ

Mendelova univerzita v Brně
Agronomická fakulta
Ústav technologie potravin



Mikrobiologická kvalita masa v průběhu zrání
Diplomová práce

Vedoucí práce:
MVDr. Olga Cwиковá, Ph.D.

Vypracovala:
Bc. Adéla Hoferková

Brno 2017

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem práci: **Mikrobiologická kvalita masa v průběhu zrání**, vypracoval/a 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 a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a v souladu s platnou Směrnicí o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací.

Jsem si vědom/a, 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

PODĚKOVÁNÍ

Touto cestou bych chtěla poděkovat MVDr. Olze Cwikové, vedoucí diplomové práce, za odborné vedení, cenné rady a připomínky, které mi v průběhu vypracování poskytla. Dále bych chtěla poděkovat Ing. Miroslavě Kolářové za pomoc při práci v laboratoři.

ABSTRAKT

Diplomová práce se zabývá problematikou zrání masa a mikrobiologií hovězího masa se zaměřením na významné druhy bakterií. V průběhu 8 týdnů zrání byla sledována mikrobiologická kvalita hovězího masa z hlediska anatomické části skotu (nízký roštěnec a vrchní šál z kýty). Dále byly porovnány rozdíly v mikrobiologické kvalitě na povrchu a ve vnitřní části jednotlivých vzorků bez ohledu na dobu zrání. Na povrchu a uvnitř roštěnce a kýty byl sledován celkový počet mikroorganismů, bakterie z čeledi Enterobacteriaceae a počet plísní a kvasinek. Ve vnitřní části vzorků byly navíc sledovány počty bakterií mléčného kvašení a počty psychrotrofních mikroorganismů. Počty sledovaných skupin mikroorganismů na povrchu a uvnitř roštěnce a kýty se nelišily ($p > 0,05$). Během 8 týdnů zrání došlo k nárůstu ($p < 0,05$) CPM na povrchu i uvnitř obou analyzovaných částí. Počáteční kontaminace enterobakteriemi byla nepatrná ($2 \log \text{KTJ.g}^{-1}/\text{cm}^{-2}$), ke zvýšení docházelo až v průběhu skladování. Výrazný podíl na mikrobiomu vakuově baleného hovězího masa měly bakterie mléčného kvašení.

Klíčová slova: *hovězí maso, zrání masa, vakuově balené maso, HACCP, mikrobiom*

ABSTRACT

This thesis is introducing a theme of meat maturing and beef microbiology focused on important bacteria species. Microbiological quality of beef (depending on anatomical parts of cattle – striploin and round) had been monitored during eight weeks. Differences in the microbiological quality of the surface and in the interior of the individual samples, regardless of the maturing period, are compared in this thesis. On the inside and outside of striploin and round, a final number of microorganisms, bacteria from Enterobacteriaceae family and a number of molds and yeasts had been also monitored. There had been monitored a number of lactic acid bacteria and a number of psychrotrophic microorganisms in the interior part of the samples as well. The numbers of investigated groups on the outside and inside of striploin and round were not statistically significantly ($p > 0.05$) different. During eight week of maturing an increase ($p < 0.05$) of CPM was showed on the inside and outside of both analyzed samples. First, enterobacteria initial contamination was slight ($2 \log \text{KTJ.g}^{-1}/\text{cm}^{-2}$), the increase occurred during the eight weeks of storing. A significant microbiom participation of vacuum-packed beef had a lactic acid bacterium.

Keywords: *beef, meat maturing, vacuum packaging, HACCP, microbiom*

OBSAH

1	ÚVOD	9
2	CÍL PRÁCE	10
3	LITERÁRNÍ PŘEHLED	11
3.1	Hovězí maso	11
3.1.1	Výživové aspekty konzumace masa	11
3.1.2	Produkce ve světě	11
3.1.3	Produkce v České republice.....	12
3.2	Chemické složení masa.....	13
3.2.1	Voda.....	13
3.2.2	Bílkoviny	14
3.2.3	Lipidy.....	14
3.2.4	Minerální látky a vitaminy.....	15
3.3	Postmortální procesy v mase	15
3.3.1	Autolýza.....	16
3.3.2	Zrání masa.....	17
3.3.3	Atypický průběh autolýzy masa	19
3.4	Mikrobiální kažení masa.....	20
3.4.1	Mikrobiom masa	21
3.4.2	Rozklad živin při kažení masa	24
3.4.3	Psychrotrofní klostridia na baleném mase	24
3.4.4	Plísně.....	25
3.4.5	Kvasinky	26
3.5	Alimentární biologická nebezpečí v mase	26
3.5.1	<i>Salmonella ssp.</i>	27
3.5.2	<i>Listeria monocytogenes</i>	29
3.5.3	<i>Escherichia coli</i>	31
3.5.4	<i>Staphylococcus aureus</i>	32
3.6	Analýza rizik a stanovení kritických kontrolních bodů (HACCP)	33
4	MATERIÁL A METODIKA.....	39
4.1	Materiál.....	39

4.2	Metodika	40
4.2.1	Stěr z povrchu	40
4.2.2	Rozbor vnitřní části vzorku.....	40
4.2.3	Použité přístroje a zařízení.....	41
4.2.4	Příprava kultivačních půd	41
4.2.5	Vyjádření výsledků	45
4.2.6	Statistické vyhodnocení výsledků.....	45
5	VÝSLEDKY A DISKUZE	46
5.1	Vliv části jatečně upraveného těla na počet sledovaných skupin mikroorganismů v průběhu zrání	47
5.1.1	Porovnání počtu mikroorganismů z hlediska místa odběru vzorků.....	47
5.1.2	Porovnání počtu mikroorganismů mezi povrchem a vnitřní částí analyzovaných vzorků	58
6	ZÁVĚR	60
7	POUŽITÉ ZDROJE	62
8	SEZNAM TABULEK.....	71
9	SEZNAM OBRÁZKŮ	72
10	SEZNAM ZKRATEK	74

1 ÚVOD

Hovězí maso je jedním z hlavních zdrojů živočišných potravin, které poskytují vysoce kvalitní proteiny a základní živiny, včetně esenciálních aminokyselin, nenasycených mastných kyselin, vitaminů a minerálů. Výběrem krmiv skotu lze do jisté míry ovlivnit chemické složení, obsah vody, složení tuku, včetně koncentrace mastných kyselin, ale také technologické vlastnosti.

Zaujímá ve výživě lidí dlouhodobě a celosvětově významnou pozici, je ovšem konfrontováno s dalšími druhy masa z aspektů hygienických, sensorických, nutričních, technologických, kulinárních a v neposlední řadě také z aspektů cenových. Hovězí maso a obecně produkty přežvýkavců (maso a mléko) jsou velmi cenným zdrojem konjugované kyseliny linolové (CLA), které je připisována řada pozitivních zdravotních účinků.

Stále vyšší počet spotřebitelů projevuje zájem o to, aby zvolená potravina byla kvalitní a odpovídala jejich představám o kvalitě, což v případě hovězího masa je hlavně jeho vyzrállost, ale i původ masa.

Některé studie poukazují na to, že spotřebitelé jsou ochotni si připlatit za kvalitní hovězí maso, pocházející z extenzivních chovů. Nedostatečné vyzrání se nejvíce negativně podílí na kvalitě hovězího masa. Pokud maso není dostatečně zralé a pochází ze starších kusů skotu, je příliš tuhé a tvrdé, a tedy postrádá očekávanou křehkost, šťavnatost a měkkost. Pokud ke všem těmto faktorům přičteme relativně vysokou cenu za hovězí maso, můžeme je považovat za hlavní příčiny sníženého zájmu o toto maso u nás.

Hovězí maso bylo až do počátku šedesátých let nejvíce konzumovaným druhem masa na světě. Ovšem v polovině šedesátých let byla produkce hovězího masa předstižena především produkcí masa vepřového, které vede dodnes. V roce 2013 byla spotřeba hovězího masa pouhých 7,5 kg na osobu za rok, což je proti spotřebě vepřového masa v témže roce, která činila 40,3 kg na osobu za rok, velmi málo.

Maso je ideálním prostředím pro růst bakterií. Teplota, pH a aktivita vody (a_w) mají vliv na rychlost růstu bakterií. Udává se, že ke kažení obvykle dochází, když počet bakterií dosahuje přibližně $10^7 \log \text{KTJ.cm}^{-2}$. Při zajišťování kvalitních výrobků je třeba dbát na celou zpracovatelskou vertikálu, jelikož nízký počáteční stav bakterií napomáhá udržovat nízký počet bakterií v průběhu celého výrobního procesu a značně tím zvyšuje životnost produktu.

2 CÍL PRÁCE

Cílem této práce bylo:

- Prostudování problematiky zrání masa.
- Zaměřit se na mikrobiologii masa a na změny počtu mikroorganismů v průběhu zrání.
- Provést rozbor vzorků masa ve zvolených intervalech.
- Zaměřit se na stanovení celkového počtu mikroorganismů, psychrotrofních mikroorganismů, bakterií mléčného kvašení, bakterií čeledi Enterobacteriaceae, plísní a kvasinek.
- Získané výsledky vyhodnotit a porovnat s legislativními limity.
- Ze získaných výsledků navrhnout nejvhodnější dobu zrání masa s ohledem na jeho mikrobiologickou kvalitu.

3 LITERÁRNÍ PŘEHLED

3.1 Hovězí maso

Maso obecně je důležitou součástí lidské stravy se silnými dopady v oblasti zdravotnictví, ekonomiky a kultury po celém světě. Jeho spotřeba a obliba je závislá na mnoha faktorech, jako je náboženství, pohodlí, dostupnost masa aj. Je známo, že maso má několik klíčových nutričních faktorů, jako jsou lipidy, proteiny s vysokou biologickou hodnotou, stopové prvky a vitaminy (Pighin a kol., 2016).

3.1.1 Výživové aspekty konzumace masa

Maso je jednou ze základních a tradičních potravin. Genom člověka a jeho fyzická stavba je již po dobu asi 4,5 milionů let adaptována na stravu s obsahem masa. Látky, které maso obsahuje jsou velmi bohatým a univerzálním zdrojem živin a energie (Katina a Kšána, 2012).

3.1.2 Produkce ve světě

V uplynulém dvacetiletém období zaznamenala Asie největší rozmach v oblasti hovězího masa. Od roku 1990 do 2010 se na tomto kontinentu zvedla produkce o 8,3 milionů tun. Dalším významným producentem je Latinská a Jižní Amerika s vzestupem 3,4 milionů tun. Následuje Afrika (+3,3 milionů tun) a Severní Amerika (+2,6 milionů tun). Zatímco na amerických kontinentech a v Asii probíhal v uplynulých dvaceti letech nárůst produkce, v Evropě byl trend zcela opačný. Za toto období nastal propad produkce z 20,1 milionů tun na 11,0 milionů tun, tedy o celých 45 % (Kameník a kol., 2014).

Podle předpovědí Iowa State University se do roku 2020 podstatně navýší dovozy hovězího masa do USA, Číny, Mexika, Japonska a Ruska. Naopak export naroste, a to z Austrálie, Brazílie, Indie a Nového Zélandu. Předpokládá se, že celkový objem vývozu hovězího masa v roce 2020 stoupne na 6,7 milionů tun (Kameník a kol., 2014).

Velmi dobře se daří produkci hovězího masa v Koreji, kde se roční spotřeba hovězího masa na jednoho obyvatele ve dvou desetiletích více než ztrojnásobila. V roce 1980 byla spotřeba hovězího masa pouhé 2,6 kg/osoba/rok, v roce 2012 cca 9,7 kg/osoba/rok (Oh a kol., 2016).

Tabulka 1 Deset největších producentů hovězího masa (dle Kameníka a kol., 2014)

Rok 2010		
Země	V 1000 t	Podíl v %
USA	12 047	19,3
Brazílie	6 997	11,2
Čína	6 236	10,0
Argentina	2 630	4,2
Austrálie	2 108	3,4
Mexiko	1 775	2,8
Rusko	1 711	2,7
Francie	1 550	2,5
Súdán	1 505	2,4
Kanada	1 272	2,0
10 zemí	37 831	60,7
Svět celkem	62 304	100,0

Preference zahraničních spotřebitelů

Risius a Hamm (2017) ve své studii hodnotili rozdíl v preferencích spotřebitelů mezi hovězím masem pocházejícím z extenzivního chovu a hovězím masem pocházejícím z běžných chovatelských produkčních systémů. Došli k závěrům, že spotřebitelé více preferují maso z extenzivních chovů, vyžadují mít tuto informaci uvedenou na obale a jsou ochotni zaplatit za maso více peněz.

3.1.3 Produkce v České republice

Spotřeba hovězího masa včetně telecího se po několikaleté stagnaci okolo 9 kg dostala v roce 2013 na úroveň 7,5 kg, což z celkové spotřeby masa (74,8 kg/osoba/rok) činilo pouze 10 %. Přičemž před cca 30 lety byl tento podíl na úrovni cca 30 %. Trend snižování spotřeby hovězího masa byl způsoben především cenovými rozdíly mezi jednotlivými druhy masa, změnou dietetických a stravovacích návyků, a to zejména životního stylu, kdy se nyní dává přednost přípravě rychlých teplých jídel z drůbežího či vepřového masa (Roubalová a Vodička, 2014).

Tabulka 2 Průřez spotřeby masa v kg na osobu za rok (Roubalová a Vodička, 2014)

	1975	1985	2004	2008	2011	2012	2013
Maso celkem	86,6	89,3	80,5	80,4	78,6	77,4	74,8
Z toho:							
Hovězí	28,7	29,5	10,3	10,1	9,1	8,1	7,5
Telecí	1,3	0,8	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Vepřové	42,3	43,9	41,1	41,3	42,1	41,3	40,3
Skopové kozí, koňské	*	*	0,2	0,3	0,4	0,4	0,4
Drůbež	9,6	10,6	25,3	25,0	24,5	25,2	24,3
Zvěřina	*	*	0,6	1,1	0,7	0,9	0,9
Králíci	*	*	2,9	2,5	1,8	1,4	1,3
Ryby	6,6	5,6	5,5	5,9	5,4	5,7	5,3

*v těchto letech se spotřeba uvedených druhů nesledovala

3.2 Chemické složení masa

Chemické složení masa je ovlivněno druhem masa, jeho úpravou, řadou technologických procesů výroby a zpracování masa, ale také řadou intravitálních vlivů (pohlaví, věk atd.). Všechny uvedené aspekty na složení masa působí, a proto je velmi obtížné jej jednoznačně charakterizovat. Chemické složení masa je taktéž jeho významnou jakostní charakteristikou, od níž jsou odvozeny důležité vlastnosti masa – nutriční hodnota, senzorické, technologické a kulinární vlastnosti a v neposlední řadě zdravotní bezpečnost masa (Steinhauser a Steinhauserová, 2000).

Složení masa lze orientačně stanovit podle tzv. Federova čísla, které je poměrem obsahu vody a bílkovin. Na základě stanovení jedné složky (např. tuku) snadno a rychle zjistíme složení masa. U hovězího masa se hodnota pohybuje okolo 3,5 (Ingr, 2011). Vzhledem k velkým rozdílům složení druhů mas a jednotlivých svalových partií, není jednoduché popsat biochemické složení masa. Libová svalovina se skládá z vody (70 – 75 %), bílkovin (18 – 22 %), minerálních látek (1 – 1,5 %), extraktivních látek a vitamínů (Katina a Kšána, 2012).

3.2.1 Voda

Nejvíce zastoupenou složkou masa je právě voda. Velký význam má především pro senzorickou, kulinární a technologickou jakost (Ingr, 2011).

3.2.2 Bílkoviny

Z hlediska nutričního a technologického jsou právě bílkoviny nejvýznamnější složkou masa. Jejich obsah se liší v jednotlivých částech masa. Jsou označovány jako nutričně plnohodnotné jednak proto, že obsahují všech osm esenciálních aminokyselin, ale také semiesenciální aminokyseliny (důležité zejména pro děti) cystin a tyrosin. Jsou lidským organismem vysoce využitelné, pro ideálně vyvážený poměr výše zmíněných esenciálních aminokyselin. Bílkoviny masa rozdělujeme do tří skupin podle jejich rozpustnosti ve vodě a v solných roztocích:

- *Bílkoviny sakrkokoplasmatické* – jsou rozpustné ve vodě a slabých solných roztocích
- *Bílkoviny myofibrilární* – jsou rozpustné v roztocích solí, ve vodě jsou nerozpustné
- *Bílkoviny stromatické* (bílkoviny pojivových tkání) – nejsou rozpustné ve vodě ani v solných roztocích (Ingr, 2011).

3.2.3 Lipidy

Obsah a složení tuku v mase je velmi závislé na druhu masa a části jatečného zvířete. I v rámci jednoho druhu jatečných zvířat se obsah a složení tuku masa může velmi lišit, nejvíce v závislosti na krmení (Dostálová, 2011). Živočišné tuky se velmi liší ve složení mastných kyselin, ale jsou obecně považovány za bohatý zdroj nasycených mastných kyselin a příliš málo obsahují nenasycené mastné kyseliny (PUFA) (De Smet a Vossen, 2016). Mezi lipidy masa převažují z 99 % triacylglyceroly, v malé míře jsou zastoupeny heterolipidy (fosfolipidy) a látka doprovázející tuky cholesterol. Tuk se nachází ve formě tuku svalového (intramuskulárního) a tuku depotního. Depotní tuky vytvářejí tukové tkáně (hřbetní, plstní, aj.). Svalový tuk pozitivně ovlivňuje křehkost a chutnost masa, obsahuje lipofilní látky, které se uvolňují při tepelné úpravě masa a přispívají k jeho vůni a chuti (Ingr, 2011).

V poslední době se velmi změnilo složení jatečného těla a nutriční hodnota čisté svaloviny. To je dáno vlivem šlechtitelství, kdy se nově vyšlechtěná plemena a hybridy vyznačují výbornou masitostí, disponují tedy vyšším podílem svalové tkáně na úkor tkáně tukové. Snížení podílu tukové tkáně, může ovlivnit obsah intramuskulárního tuku, významného nositele sensorických vlastností (chuť, vůně, šťavnatost aj.). Obsah intramuskulárního tuku by neměl klesnout pod 2,5 %. Extrémně masitá plemena

se pak vyznačují zhoršenými technologickými vlastnostmi, které v konečném důsledku mohou negativně ovlivnit senzorycké vlastnosti takového masa (Mojto a Zaujec, 2001).

Intramuskulární tuk zralého hovězího masa obsahuje v průměru 47 % nasycených mastných kyselin (SFA), 35 – 45 % mononenasycených mastných kyselin (MUFA) a až do 5 % polynenasycených mastných kyselin (PUFA) z celkových mastných kyselin. Hovězí maso je také důležitým zdrojem konjugované linolové kyseliny (CLA) (Scollan a kol., 2014).

3.2.4 Minerální látky a vitaminy

Nejhodnotnější minerální látkou v mase je železo. Železo obsažené v mase je člověkem využitelné až z 35 %, zatímco železo z rostlinných zdrojů jen z cca 7 %. Maso a zejména pak hovězí je výborným zdrojem zinku, jehož využití lidským organismem dosahuje až 40 %. Obsah draslíku je přímo úměrný obsahu svalových bílkovin, proto v libové svalovině je ho větší množství. Maso je také zdrojem tělu důležitých vitaminů, kdy prvenství vede vitamin B12 (důležitý pro krvetvorbu a správnou funkci nervového systému) a ostatní vitaminy skupiny B. Z povahy masa také vyplývá zastoupení vitaminů rozpustných v tucích (A, D, E), přičemž jejich množství je na krytí fyziologických potřeb spíše doplňkové (Katina a Kšána, 2012).

3.3 Postmortální procesy v mase

Okamžikem usmrcení jatečného zvířete se zásadně mění enzymové reakce ve svalovině. Nedochozí k přísunu kyslíku a k příjmu potravy, snižuje se teplota tkání, přerušením krevního oběhu dochází k hromadění metabolických produktů a mění se hodnota pH (Ingr, 2003a).

Biochemické postmortální procesy jsou souborem degradačních přeměn složek svalových tkání, především sacharidů a bílkovin, katalyzovaných nativními enzymy. Rozkladné reakce jsou ireverzibilní a směřují ke konečným degradačním produktům. Biochemické děje, katalyzované přirozenými (nativními) enzymy obsaženými ve svalových tkáních, označujeme jako autolýzu (samovolný rozklad). Dříve či později se po smrti zvířete k autolýze připojují rozkladné děje katalyzované mikrobiálními enzymy, tehdy mluvíme o proteolýze nebo také o kažení masa. Oba procesy probíhají souběžně, liší se odlišnou intenzitou. Po poražení zvířete se nastupuje autolýza, její intenzita se snižuje s úbytkem aktivity nativních enzymů. Proteolýza má v počátku

lineární průběh a se změnou podmínek se její průběh mění na geometrický až exponenciální (Ingr, 2011).

3.3.1 Autolýza

Po ukončení biologického života zvířete, tedy po jeho usmrcení, probíhají ve svalových vláknech i nadále biochemické reakce. Biokatalyzátory těchto reakcí jsou nativní enzymy podílející se na přeměně svalové tkáně v maso. Postmortální období, v němž působí nativní enzymy, označujeme jako autolýzu (samovolný rozklad) masa. Autolytické změny jsou nevratné. Autolýzu členíme do tří fází, které nejsou navzájem ostře ohraničeny a navzájem se překrývají:

- Posmrtné ztuhnutí (*rigor mortis*, včetně *prae rigor*)
- Zrání masa
- Hluboká autolýza (Ingr, 2003a)

3.3.1.1 *Prae rigor*

První fáze zahrnuje období od porážení zvířete do okamžiku nástupu posmrtného ztuhnutí (*rigor mortis*). Zpravidla trvá 1 – 8 hodin, dle druhu zvířete a ostatních vnějších podmínek. Na konci této fáze maso ztrácí své původní vlastnosti svaloviny a získává tuhou konzistenci.

Po vykrvení zvířete nastává časový úsek, kdy jsou svaly stále kontraktilní, neboť je k dispozici kreatinfosfát na obnovu adenosintrifosfátu (ATP) z adenosindifosfátu (ADP). Jakmile se zásoba kreatinfosfátu vyčerpá, hladina ATP rychle klesá, což má za následek ztrátu schopnosti disociace (uvolnění) myosinu z aktomyosinového komplexu. Vytvářejí se stabilní vazby mezi aktinem a myosinem (*rigor bonds*). Vznik vazeb běžně nastává při koncentraci ATP 1 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ tkáně a při hodnotě pH 5,9. Svalovina ztrácí svoji roztažitelnost a stává se tuhou. Nastupuje *rigor mortis* (Kameník a kol., 2014).

3.3.1.2 *Rigor mortis*

Při rigoru dochází ke zkrácení svalových vláken, odbourává se glykogen a adenosintrifosfát (ATP). Podmínkou pro nástup posmrtného ztuhnutí je snížená hladina ATP a nižší hladina pH (kolem 5,9). Oba tyto faktory společně s ionty vápníků (Ca^{2+}) vyplavující se ze sarkoplazmatického retikula, stimulují spojení myozinových hlavic s aktinovými filamenti a podélný posun aktinových vláken do středu sarkomer (Binke,

2004). Délka sarkomery se zkrátí. Samotné zkrácení je závislé na okolní teplotě. K nejmenšímu zkrácení sakromer dochází při uchování masa v 15 – 20 °C (10 %). Při teplotě 0 – 10 °C nastává zkrácení sarkomer na 50 % jejich délky (Kameník a kol., 2014). Posmrtné ztuhnutí probíhá u vepřového a hovězího masa 24 až 48 hodin v závislosti na teplotě (Ingr, 2011).

3.3.2 Zrání masa

Zrání masa je hlavní fází autolýzy a tímto pojmem se často označuje celý autolytický proces. Představuje přechod stavu masa z maximální tuhosti k pozvolnému narůstání křehkosti masa. Kyselina mléčná se postupně odbourává, aktinomyosinový komplex disociuje na výchozí bílkoviny a zvyšuje se vaznost svaloviny (Ingr, 2003a).

Je to intracelulární proces, při kterém se působením proteolytických enzymů odbourávají nejprve struktury uvnitř svalových buněk. Právě odbourávání myofibrilárních proteinů má vliv na křehkost masa. Bílkoviny pojivové tkáně (stromatické), zůstávají v tomto stádiu zrání nezměněné a proteolýzou nedotčené (Ingr, 2003a).

Zrání masa je složitý děj, na kterém se podílejí skupiny endogenních proteáz. Proteolýza svalových bílkovin má hlavní vliv na křehkost masa při jeho zrání. Proteolýzu zajišťují proteázy, tedy enzymy štěpící proteiny. Hydrolyzují peptidické vazby aminokyselin, díky kterým aminokyseliny drží v peptidickém řetězci (Cruzen a kol., 2014). Při proteolýze se uplatňují čtyři významné proteolytické systémy. První dva jsou považovány za nejvýznamnější:

- Lysosomální proteázy (katepsiny)
- Kalpainy (tzv. kalpainový systém)
- Proteazomy
- Kaspázy

3.3.2.1 Katepsiny

Jsou lysosomální cysteinové proteázy, které mají důležitou roli v mnoha fyziologických procesech, nejenom v degradaci bílkovin. Existuje několik katepsinů, v případě zrání masa se nejčastěji analyzují katepsiny B, L, H a D. Katepsin L hydrolyzuje největší množství myofibrilárních bílkovin (tropoinin T, I a C, nebulin, tropomyosin a titin).

V neutrálním pH jsou katepsiny neaktivní, pro svou aktivitu potřebují mírně kyselé prostředí. Endogenními inhibitory jsou cystatiny a thyropiny (Kameník a kol., 2014).

3.3.2.2 Kalpainový systém

Kalpainový systém je tvořen 15 izoformami kalpainu a jeho endogenního inhibitoru kalpastatinu. Největší význam je kladen na izoformy μ -kalpain a m-kalpain a zároveň jsou považovány za primární enzymy zapojené do proteolytické tenderizace masa (Mberema a kol., 2016). Ve svalové tkáni je kromě dvou výše zmíněných izoform přitomna ještě izoforma p94 (kalpain 3), ta ovšem nemá velkou roli v postmortální proteolýze (Kameník a kol., 2014). Oba enzymy štěpí stejné myofibrilární proteiny, u kterých způsobují během zrání masa degradaci. Ovšem tyto enzymy mají omezenou specifitu, nedochází tedy k degradaci bílkovin až na aminokyseliny ani k degradaci aktinu a myosinu. Kalpains jsou aktivovány vápenatými ionty (Huang a kol., 2014).

Aktivita kalpainů je závislá na teplotě a pH. Při postmortálních procesech zrání masa se uplatňuje více μ -kalpain, a to pro svou menší potřebu na koncentraci vápenatých iontů (Cruzen a kol., 2014). Při porovnávání hladin μ -kalpainu a m-kalpainu bylo zjištěno, že jalovice disponují jejich nižší hladinou než býci a volí (Mberema a kol., 2016).

Kalpastatin, endogenní inhibitor kalpainových systémů, byl nalezen ve všech tkáních obsahujících kalpains. Pro navázání kalpastatinu na kalpain jsou opět důležité ionty vápníku, tato vazba je reverzibilní. Ve svalech post mortem je kalpastatin degradován kalpainem. Vysoké hladiny kalpastatinu jsou spojovány s horší kvalitou masa, jelikož dochází k redukci proteolýzy, důležité pro křehkost masa. Vzhledem k tomu, že v aktivitě kalpastatinu hrají roli androgenní hormony, je u býků zvýšená aktivita kalpastatinů ve svalech v porovnání k volům (Cruzen a kol., 2014).

3.3.2.3 Hluboká autolýza

Hluboká autolýza nastupující po zrání masa je u masa jatečných zvířat nežádoucí. Bílkoviny a jejich degradační produkty z fáze zrání masa se dále odbourávají na peptidy, aminokyseliny, a dokonce až na amoniak, aminy, sirovodík, merkaptany aj. Tyto rozkladné produkty vedou k nepříjemným smyslovým vlastnostem masa. Začínají se ve větší míře rozkládat také tuky, dochází u nich k hydrolytickému a oxidačnímu žluknutí. Fáze hluboké autolýzy je rovněž doprovázena mikrobiální proteolýzou, maso se zřetelně kazí (Ingr, 2011).

3.3.3 Atypický průběh autolýzy masa

Kvalitu masa určují především intravitální faktory, mezi které patří plemenná příslušnost jatečného zvířete, věk, pohlaví, výživa, roční období, způsob chovu, stres, zacházení se zvířetem a technologie zpracování. Po porážce na jatkách rozhoduje o kvalitě masa postmortální metabolismus svalové tkáně (Barbut a kol., 2008).

Od standardu se vymezuje několik odchylek, které jsou charakteristické rozdílným stupněm glykolýzy ve svalových buňkách. Jejím důsledkem je abnormální průběh hodnot pH ve svalech v časných stádiích po porážení (Mungure a kol., 2016). Nejznámějšími jakostními odchylkami masa jsou vady typu PSE (pale, soft, exudative) a DFD (dark, firm, dry) (Barbut a kol., 2008). Pro hovězí maso je typická vada DFD.

3.3.3.1 DFD maso

DFD maso se vyskytuje především u hovězího masa, zejména u mladých býků, ale také u vepřového nebo skopového masa. Projevy DFD masa souvisí se špatnými podmínkami v období před porážkou. Vlivem dlouhodobého lačnění zvířete nebo zmíněné stresové situace, jsou energetické rezervy ve svalu (glykogen) před porážkou spotřebovány, potom se po porážce netvoří žádné nebo jen minimální množství kyseliny mléčné. Za těchto podmínek se bude větší možnost růstu mikrobů v mase. (Nubiato a kol., 2016).

Negativní vlastnosti DFD masa pochází od vysoké konečné hodnoty pH, která dosahuje po 24-48 hodinách od porážky hodnot nad 6,2. DFD maso má tmavou barvu, mdlé aroma a lepkavý povrch (snížená údržnost díky vysoké hodnotě pH), což je nežádoucí. Vzhledem k tomu, že se vada DFD vyskytuje často u mladých býků, dostala označení DCB (dark cutting beef).

Maso má lepší schopnost vázat vodu, lze tedy použít při výrobě měkkých salámů, ovšem pro svou nižší údržnost (pH 6,0 – 6,2) a náchylnost k mikrobiálnímu kažení není vhodná pro výrobu trvanlivých fermentovaných masných produktů (Kameník a kol., 2014).

Po mnoho let se testovaly různé techniky, které měli mít za cíl předpovědět znaky kvality masa jak u živých zvířat, tak u zvířat po porážce. Pro masný průmysl jsou zajímavé metody, které jsou neinvazivní, nedestruktivní, rychlé a přesné. Mezi nedestruktivní metody patří například magnetická rezonance nebo počítačová tomografie. Tyto metody jsou používány spíše pro šlechtitelské účely. Více využívanými

nedestruktivními metodami jsou blízká červená spektroskopie (NIR) a širokospektrální zobrazovací systém (Hyperspectral imaging bench-top system) (Nubiato a kol., 2016).

3.4 Mikrobiální kažení masa

Maso je na základě svého chemického složení, fyzikálních vlastností a vysokého obsahu vody ideální živnou půdou pro mikroorganismy. Proto je velmi náchylné ke kažení a častou příčinou onemocnění z potravin mikrobiologického původu (Görner a Valík, 2004). Kažení syrového masa je kombinací biologických a chemických činností.

Maso má vysoký obsah vody, aktivita vody (a_w) dosahuje hodnot okolo 0,98 – 0,99, je bohaté na dusíkaté a minerální látky a pH je kolem 7, což je příznivá hodnota pro množení řady mikroorganismů. Maso je tedy náchylné ke kažení a často se stává zdrojem mikroorganismů způsobujících onemocnění z potravin. Rychlost kažení masa je závislá na mnoha faktorech, mimo a_w a hodnoty pH, záleží také na podmínkách skladování a na počtu a druhu mikroorganismů kontaminujících maso. K preventivním opatřením k prodloužení trvanlivosti masa, patří především zabránění jeho primární a sekundární kontaminace, vykolení do 30 minut od porážky a dostatečně rychlé zchlazení. Po porážce je nutné maso co nejrychleji zchladit na teplotu 7 °C v jádře. U vepřových půlek této teploty dosáhneme za 10 – 15 hodin, u hovězích za 15 – 24 hodin (Jääskeläinen a Hultman, 2016).

Rozlišujeme:

a) Primární kontaminaci (intravitální) – za života zvířete infekcí virulentními patogenními mikroby kontaminací střevní mikroflórou nebo při poranění zvířete a mikrobiální kontaminací otevřené rány.

b) Sekundární kontaminaci (postmortální) – při jatečném opracování a při jakékoli další manipulaci s masem a masnými výrobky.

Svalovina zdravých a odpočatých zvířat je většinou bez mikroorganismů. U zvířat nemocných nebo po stresových situacích před porážkou, může být svalovina infikována různými mikroorganismy i za živa. Hlavní podíl mikroorganismů se ale do masa dostane během jatečného procesu, při jeho opracování a zpracování. Počet bakterií při jednotlivých operacích se může zvýšit asi o jeden logaritmický řád (Görner a Valík, 2004). Růst bakterií vyvolávajících kažení potravin ovlivňuje celá škála faktorů. Pro přehlednost je můžeme rozdělit do čtyř skupin:

- **Vnější faktory** – podmínky skladování (např. skladovací teplota).

- **Vnitřní faktory** – jsou vyjádřením fyzikálních a chemických vlastností samotných potravin (aktivita vody, obsah živin aj.).
- **Technologické faktory** – fyzikální nebo chemické způsoby ošetření potravin během jejich zpracování.
- **Implicitní faktory** – odrážejí synergické nebo antagonické vlivy mezi bakteriemi (Nychas a Drosinos, 2014).

3.4.1 Mikrobiom masa

U čerstvého masa se často vyskytují mikrobiální společenstva patřící do rodu *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Brochothrix*, *Flavobacterium*, *Psychrobacter*, *Moraxella*, *Staphylococcus*, *Micrococcus*, bakterie mléčného kvašení (BMK) a čeledi Enterobacteriaceae (Jääskeläinen a Hultman, 2016). V mletém hovězím mase se vyskytuje *Pantoea agglomerans*, *Escherichia coli* a *Serratia* (Nychas a Drosinos, 2014).

Vnitrostátní a mezinárodní obchod s hovězím masem je primárně ve formě vakuově baleného masa. Maso ve vakuovém balení (VP) nebo v modifikované atmosféře (MAP) má prodlouženou životnost ve srovnání s masem uloženým aerobně. Doba použitelnosti je určena typem atmosféry, teploty skladování a typem masa. Růst striktně aerobních, gram-negativních (zejména pseudomonád) je omezen relativní vysokou koncentrací oxidu uhličitého (CO₂) nebo omezením kyslíku (O₂). Dochází ke zvýhodnění růstu fakultativně anaerobních bakterií včetně BMK a *Brochothrix thermoshpacta*. Zástupci BMK v mase a masných výrobcích jsou převážně *Lactobacillus sakei* a *Leuconostoc mesenteroides*. Často jsou ve vysokých počtech izolovány také druhy *Lactobacillus curvatus* a *Leuconostoc carnosum*. Z čeledi Enterobacteriaceae jsou nejčastěji izolovány druhy *Serratia grimesii*, *Hafnia alvei* a *Rahnella* ssp. (Nychas a Drosinos, 2014).

Tabulka 3 Rody bakterií běžně se vyskytující u syrového masa (Casaburi a kol., 2014a)

Gram-pozitivní MO	Skladovací podmínky			Gram-negativní MO	Skladovací podmínky		
	Vzduch	MAP	VP		Vzduch	MAP	VP
<i>Bacillus</i>	+		+	<i>Acinetobacter</i>	+	+	+
<i>Brochothrix</i>	+	+	+	<i>Aeromonas</i>	+		+
<i>Corynebacterium</i>	+			<i>Alcaligenes</i>	+	+	+
<i>Clostridium</i>			+	<i>Alteromonas</i>	+	+	+
<i>Enterococcus</i>	+	+		<i>Campylobacter</i>	+		
<i>Kocuria</i>	+			<i>Citrobacter</i>	+	+	
<i>Lactobacillus</i>	+	+	+	<i>Enterobacter</i>	+	+	
<i>Lactococcus</i>	+			<i>Escherichia</i>	+		
<i>Leuconostoc</i>	+	+	+	<i>Flavobacterium</i>	+		
<i>Listeria</i>	+	+		<i>Hafnia</i>	+	+	+
<i>Micrococcus</i>	+	+		<i>Klebsiella</i>	+		
<i>Staphylococcus</i>	+	+	+	<i>Proteus</i>	+	+	
<i>Streptococcus</i>	+	+		<i>Pseudomonas</i>	+	+	+
<i>Weisella</i>	+	+	+	<i>Serratia</i>	+	+	+
				<i>Yersinia</i>	+		+
				<i>Moraxella</i>	+		

3.4.1.1 Rod *Acinetobacter*

Bakterie rodu *Acinetobacter* jsou gram-negativní, striktně aerobní nepohyblivé tyčinky. Optimum růstu je v rozmezí 20 až 30 °C, růst je možný i při teplotě 1 °C (psychrotrof). Některé druhy jsou značně termorezistentní. Kazí především bílkovinné potraviny (proteolýza, lipolýza) (Görner a Valík, 2004).

3.4.1.2 Rod *Brochothrix*

Bakterie rodu *Brochothrix* jsou gram-pozitivní, fakultativně anaerobní nepohyblivé a nesporulující tyčinky. Jsou homofermentativní, vyskytující se jednotlivě nebo v krátkých či dlouhých vláknitých řetězcích. Rostou při teplotách od 0 °C do 30 °C, optimum je 25 °C. Rod *Brochothrix* zahrnuje dva druhy – *Brochothrix thermosphacta* a *B. campestris*. *B. thermosphacta* izolujeme z masa, mořských plodů a z nástrojů používaných při zpracování masa. Společně s *Pseudomonas* se považuje za jednu dominantních bakterií spojených s kažením syrového masa. Roste na chlazeném i vakuově baleném mase (Casaburi a kol., 2014b).

3.4.1.3 Rod *Flavobacterium*

Bakterie rodu *Flavobacterium* tvoří aerobní gram-negativní nepohyblivé tyčinky. Rostou při mezofilních teplotách (existují i psychrotrofní, psychrofilní, halofilní), optimálně při pH 7,0 – 7,5. Kolonie jsou světle žlutohnědé až jasně žluté, některé druhy barvivo neprodukují. Mikroorganismy jsou široce distribuovány v přírodě a byly izolovány z různých míst. Psychrofilní *Flavobacteria* nacházíme především v trvale chladném prostředí jako je mořská voda, ledovce, vysokohorské půdy a vody (Waskiewicz a Irzykowska, 2014).

Flavobacteria jsou také spojována s kažením potravin a potravinářských výrobků. Vývoj psychrofilních nebo psychrotrofních bakterií závisí na relativní vlhkosti atmosféry skladu, v němž je produkt uložen. Následkem kažení syrového masa je pach, produkce slizu, případně změna barvy a nežádoucí chuť (nežádoucí chuť je dána vzniklými metabolickými produkty) (Waskiewicz a Irzykowska, 2014).

3.4.1.4 Rod *Proteus*

Bakterie tohoto rodu jsou gram-pozitivní, aerobní, pohyblivé tyčinky. Kmeny *Proteus* jsou schopny růst při teplotách v rozmezí od 10 °C do 43 °C. Optimální teplota je 25 °C. Bakterie se nachází v lidském i zvířecím gastrointestinálním traktu, na kůži a sliznici dutiny ústní, v půdě a vodě, ve stolici. *Proteus* způsobuje kažení potravin ze syrového masa, mořských plodů, zeleniny a konzerv. Detekce *Proteus* ssp. naznačuje, že potravina není připravena v hygienickém prostředí. Detekce *Proteus* ssp. má sezónní charakter. *Proteus mirabilis* způsobuje infekce u lidí (Wang a Pan, 2014).

3.4.1.5 Rod *Pseudomonas*

Zástupci tohoto rodu nejčastěji způsobují kažení potravin živočišného původu. Patří mezi gram-negativní, aerobní, pohyblivé tyčinky. Způsobují kažení chlazených potravin – jedná se zejména o maso, masné výrobky, mléko a mléčné výrobky (Vlková a kol., 2009).

Řada druhů tvoří fenazinová barviva různých odstínů (žluté, zelené, modré, červené), které uvolňují do růstového prostředí a způsobují tím nežádoucí zbarvení potravin. Určité druhy vyvolávají v potravinách cizí vůně a pachy (ovocné, rybí) nebo pachutí (např. mýdlovou, hořkou aj.). Zápach je detekován, pokud populace pseudomonád přesahuje 10^7 jednotek tvořících kolonie (KTJ), při 10^8 KTJ.g⁻¹ pozorujeme sliz (Nychas

a Drosinos, 2014). Mají silné proteolytické schopnosti, které jim umožňují rozklad bílkovinných potravin, a právě proto patří k nejpočetnějším mikroorganismům na povrchu masa (Šilhánková, 2002). Některé druhy (např. *Pseudomonas aeruginosa*) jsou patogenní pro člověka, zvířata i rostliny, některé druhy jsou patogenní jen pro rostliny. Z nebaleného masa se známkami kažení lze izolovat psychrotrofní druhy jako jsou *Pseudomonas fragi*, *P. lundensis*, *P. putida* nebo *P. fluorescens*. Na čerstvém mase se nejčastěji vyskytuje právě *Pseudomonas fluorescens*, během následného skladování se stává dominantním *P. fragi* (Nychas a Drosinos, 2014).

3.4.1.6 Rod *Serratia*

Bakterie rodu *Serratia* tvoří gram-negativní tyčinky, kolonie jsou bílé, červené nebo růžové. *Serratia marcescens* tvoří za aerobních podmínek (při teplotě 12 až 36 °C) červený pigment (prodigiosin). Optimum růstu je 25 až 30°C. *Serratia proteamaculans* je jedním z druhů, které mohou být zapojeny do kažení syrového masa (De Filippis a kol., 2013).

3.4.2 Rozklad živin při kažení masa

U syrového masa je glukosa prvním substrátem využívaným většinou bakterií. Pokud je hladina glukosy vyčerpána, bakterie začínají používat jiné substráty, jako jsou laktát, glukonát, glukosa-6-fosfát, pyruvát, propionát, ethanol, acetát, aminokyseliny, nukleotidy, močovinu a ve vodě rozpustné proteiny.

Bylo zjištěno, že glukosa je prekurzor mnoha zápachů (off-odors) během skladování masa jako jsou: acetát, kyselina octová, iso-máselná kyselina, iso-valerová kyselina, ethanol a jiné. Změny glukosy a laktátu a jejich produkty by mohly být použity k popisu nebo předpovídání míry znehodnocení masa. Je prokázáno, že jejich koncentrace může mít vliv na rychlost kažení a zdá se, že jsou hlavními mikrobiálními metabolity, které jsou zodpovědné za čichové detekce znehodnocení masa. To je nejvíce patrné u masa uloženého za aerobních podmínek, kdy nejvíce kazí maso pseudomonády (Casaburi a kol., 2014a).

3.4.3 Psychrotrofní klostridia na baleném mase

Kažení vakuově baleného masa mohou vyvolávat také psychrotrofní klostridia. Tento druh kažení označujeme jako „blown pack spoilage“ (BPS), čímž se zdůrazňuje výrazný znak doprovázející kažení – silné nafouknutí obalů.

Jako nejčastější původce tohoto typu kažení je považován druh *Clostridium estertheticum*, je sporulující a obligátně anaerobní. Spory jsou velmi odolné extrémnímu teplu, pH, chemikáliím a mohou přežít i některé dekontaminační zásahy. Mohou být zničeny vysokým hydrostatickým tlakem ve spojení například teploty nebo oxidačního činidla, což může mít negativní vliv na barvu masa. Spojení tlaku a oxidačního činidla není u hovězího masa účinné (Rajagopal a kol., 2016).

Rovněž do skupiny BPS jsou zařazovány některé druhy čeledi *Enterobacteriaceae* a bakterie mléčného kvašení (Rajagopal a kol., 2016).

3.4.4 Plísně

Mikroskopické houby jsou organismy s pravým jádrem, patří tedy mezi eukaryotické organismy. Z praktického hlediska se mikroskopické houby rozdělují na dvě základní skupiny a to: kvasinky a vláknité mikroskopické houby (mikromycety), které častěji označujeme jako plísně. Některé druhy jsou využívány v potravinářských technologiích při výrobě potravin a nápojů. Jiné způsobují u člověka a zvířat onemocnění kůže, sliznic i vnitřních orgánů (Vlková a kol., 2009).

Plesnivění masa se vyskytuje poměrně často, protože se plísně množí i při nízkých teplotách. Zpočátku se jejich nárůst projevuje lepkavostí na povrchu masa, v dalším stádiu dochází k barevným změnám. Plísně rozkládají zejména proteiny a lipidy masa, což se projevuje uvolňováním amoniaku a těkavých kyselin, kdy maso získává zatuchlý pach. Mezi plísně nejčastěji kontaminující maso patří rody *Cladosporidium*, *Geotrichum*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Sporotrichum* a *Thamnidium*. Rody kvasinek vyskytujících se pravidelně v mase jsou *Candida*, *Rhodotorula*, a *Torulopsis* (Vlková a kol., 2009).

3.4.4.1 Rod *Sporotrichum*

Zástupci rodu *Sporotrichum* jsou saprofytické psychrotrofní houby nejčastěji se vyskytující na rostlinných materiálech a při chladírenských teplotách na mase. Zde tvoří bílé plstnaté někdy i nažloutlé nebo slabě růžové kolonie (Görner a Valík, 2004).

3.4.4.2 Rod *Cladosporium*

Plísně rodu *Cladosporium* mají většinou olivově zelené až černé mycelium. Způsobují „černé skvrny“ na hovězím mase. Kazí jak chlazené, tak mražené maso, vejce, máslo aj. Vyskytují se na stěnách potravinářských provozů (Vlková a kol., 2009).

3.4.4.3 Rod *Geotrichum*

Tvoří přechod mezi kvasinkami a vláknitými houbami. Druhy rodu *Geotrichum* morfologií připomínají spíše kvasinky, nejsou ovšem schopny procesu kvašení. Tvoří bohaté bílé vatovité mycelium. Způsobuje kažení droždí, masa, kyselého zelí a zpracované zeleniny (Görner a Valík, 2004).

3.4.5 Kvasinky

3.4.5.1 Rod *Cryptococcus*

Jedná se o nesporulující a nefermentující kvasinky. Někdy tvoří slizovité kolonie zbarvené oranžově červeně. Nachází se v půdě a na povrchu rostlin. Způsobují kažení jahod a jiného ovoce, marinovaných ryb, chlazeného a mraženého hovězího masa (Vlková a kol, 2009).

3.5 Alimentární biologická nebezpečí v mase

Výskyt původců alimentárních nákaz u jatečných zvířat a na čerstvém mase

Za jeden z hlavních zdrojů původců alimentárních onemocnění je považováno maso a masné výrobky. Pravidelně se tato nebezpečí izolují z jatečných zvířat již na farmách. Jatečná zvířata bývají nosiči původců zoonóz, aniž by se u nich projevovaly klinické příznaky nemoci, a rovněž ani na jatkách se neobjevují při prohlídce viditelné makroskopické změny (Saucier, 2016).

V chovech skotu lze izolovat zástupce rodu *Campylobacter* (*C. jejuni*) v 50 – 60 %, ve stádech prasat (*C. coli*) až 80 % a více. Drůbež je často infikována z 85 %. Ve srovnání s kampylobaktery je incidence salmonel podstatně nižší, u skotu do 7 %, ve stádech prasat 60 %, v chovech drůbeže kolem 20 %. Na jatkách může dojít ke křížové kontaminaci jatečně upravených těl bakteriemi obsaženými v trusu poražených zvířat nebo vzájemným kontaktem poražených těl, popřípadě kontaminací z prostředí (pracovní nástroje, strojní zařízení, stěny, vzduch) (Kameník a kol., 2014).

Zdrojem kontaminace masa je také kůže. Antic a kol. (2010) z Univerzity Novi Sad provedli důkladnou mikrobiální analýzu úrovně kontaminace hovězích kůží a přenosu na maso. Vyšetřili pět rozdílných míst kůže (stehno, hrud', bok, krk, metakarpus) ze čtyřiceti kusů skotu (90 % krav) na jatkách. Celkový počet mikroorganismů (CPM) dosáhl průměrného počtu 6,7 log KTJ. cm⁻², v případě bakterií čeledi Enterobacteriaceae

to bylo 4,3 log KTJ. cm⁻². Ze všech kůží se podařilo zachytit *E. coli*, ale naopak z žádného kusu nebyly izolovány salmonely.

Při porovnávání výskytu některých původců alimentárních onemocnění u živých zvířat a na mase, mnohdy zjišťujeme rozdílné výsledky u jednotlivých bakteriálních skupin nebo druhů. Červená masa jsou kontaminována zástupci rodu *Campylobacter* do 3 % (hovězí maso) a 5 % (vepřové maso). Důvodem je nejspíš nízká fekální kontaminace na jatkách a vysoká devitalizace mikrobů na povrchu těla při chlazení. Úroveň kontaminace drůbežního masa je stále vysoká (až 77 %).

V České republice již řadu let dominuje v oblasti alimentárních nákaz kampylobakterií, druhou nejvýznamnější infekcí je salmonelóza (Kameník a kol., 2014).

3.5.1 *Salmonella* ssp.

Charakterizace

Rod *Salmonella* patří do rozmanité čeledi *Enterobacteriaceae*. Nomenklatura se v minulosti často měnila a v současnosti rod *Salmonella* zahrnuje pouze dva druhy: *Salmonella enterica* a *Salmonella bongori*. *S. enterica* je dále rozdělena do šesti poddruhů, které se navzájem liší biochemicky (Jarvis a kol., 2016). Pro patogenitu, klasifikaci a identifikaci salmonel je velmi významná jejich složitá antigenní struktura, podle níž se salmonely rozdělují do sérovarů (sérotypů). Nyní je známo přes 2 500 sérovarů salmonel a tento počet pravděpodobně není konečný (Usera a kol., 2003).

Z hlediska epidemiologického a klinického významu je nutné salmonely rozdělit do 3 skupin. Jsou to:

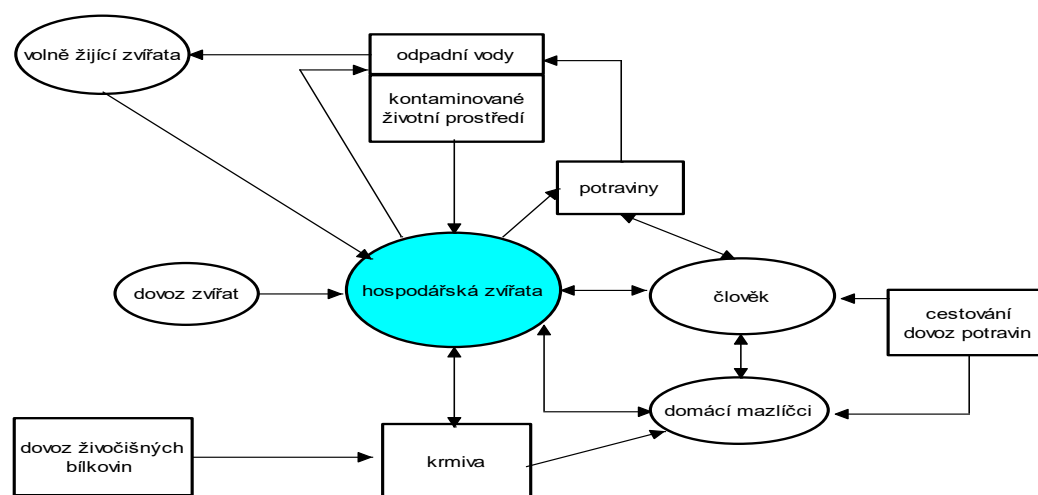
1. sérovary adaptované primárně na člověka, kam patří původce břišního tyfu *S. typhi* a původce paratyfu *S. paratyphi*,
2. sérovary adaptované primárně na určitý druh zvířete (např. *S. dublin* – skot),
3. sérovary, které nejsou adaptovány na jeden hostitelský druh a vyvolávají onemocnění člověka i zvířat (např. *S. Enteritidis* a *S. Typhimurium*) (Adams a Moss, 2008).

Rod *Salmonella* jsou gram-negativní, fakultativně anaerobní, nesporulující oxidáza negativní tyčinky. Salmonely jsou většinou citlivé k antimikrobiálním látkám, ovšem

podíl rezistentních kmenů stoupá (Bell a Kyriakides, 2002b). Z hlediska multirezistence zasluhuje zvláštní pozornost pentarezistentní *S. typhimurium* fagotyp DT 104 s antibiotickým profilem ACSSuT, který je charakterizován rezistencí k ampicilinu, chloramfenikolu, streptomycinu, sulfonamidům a tetracyklinům (Kameník a kol., 2014).

Výskyt

Salmonely lze izolovat z vody, půdy, povrchu rostlin, z hmyzu a široké škály studenokrevných nebo teplokrevných obratlovců, hospodářských a volně žijících zvířat. Jejich rozšíření je tedy ubikvitární. Ve vnějším prostředí (mimo hostitele) přežívají i po delší časová období. Zejména drůbež je pokládána za nejvýznamnější zdroj těchto bakterií pro člověka. Běžně osidluje střevní trakt zvířat, ovšem jen některé sérovary vyvolávají klinické onemocnění u dospělých zvířat. Klinické příznaky jsou pak častější u skotu než u prasat, drůbež většinou nevykazuje žádné známky infekce. Většinou se zvířata stávají asymptomatickými nosiči salmonel a pod vlivem stresu vylučují zárodky do prostředí. Výše zmíněná vysoká odolnost ve vnějším prostředí ve spojitosti s nedostatečnou asanací má za důsledek schopnost v chovech dlouhodobě přežít a být zdrojem infekce pro další zvířata (Adams a Moss, 2008).



Obrázek 1 Schéma šíření *Salmonelly* ssp. (dle Adams a Moss, 2008)

Faktory ovlivňující růst a přežívání

Optimální pH se pohybuje okolo 6,6 – 8,2 (neutrální oblast). Hodnoty nad 9,0 a pod 4,0 se považují za baktericidní. Za hraniční aktivitu vody umožňující růst *Salmonella* spp. se považuje u médií s neutrálním pH hodnota 0,94. Optimální teplota růstu je 37 °C, přičemž teplotní rozmezí růstu je 5 – 47 °C (Bell a Kyriakides, 2002b).

Onemocnění

Salmonelóza probíhá pod klinickým obrazem enteritidy. K nakažení dochází nejčastěji konzumací kontaminované potravy. Infekční dávka se u zdravého člověka pohybuje okolo hodnoty 10^4 bakterií. Inkubační doba je obvykle udávána v rozpětí 6 – 36 hodin, její délka je ovlivněna infekční dávkou a vnímavostí postiženého jedince. Nejzávažnější průběh má salmonelóza u dětí, starších osob a jedinců s oslabenou imunitou. Příznaky onemocnění jsou nevolnost, zvracení, bolest břicha, teplota kolem $39\text{ }^{\circ}\text{C}$ a průjemy (Drápal a kol., 2005).

3.5.2 *Listeria monocytogenes*

Charakterizace

Rod *Listeria* patří do čeledi *Listeriaceae*. Obecně je známo 6 druhů. Z hlediska vzniku onemocnění je nejvýznamnější *L. monocytogenes*, která je patogenní pro člověka i zvířata (Tao a kol., 2017). Kmeny *Listeria monocytogenes* se na základě antigenů (somatických a flagelárních) dělí na 13 sérotypů. Onemocnění člověka může být způsobeno všemi 13 sérotypy, ovšem z 95 % případů bývá způsobeno sérotypy 1/2a, 1/2b a 4b (Akhtar a kol., 2016).

L. monocytogenes jsou malé grampozitivní, fakultativně anaerobní, kataláza pozitivní a oxidáza negativní tyčinky. Tato bakterie tvoří spory a vyskytuje se jednotlivě nebo v krátkých řetězcích (Bell a Kyriakides, 2005).

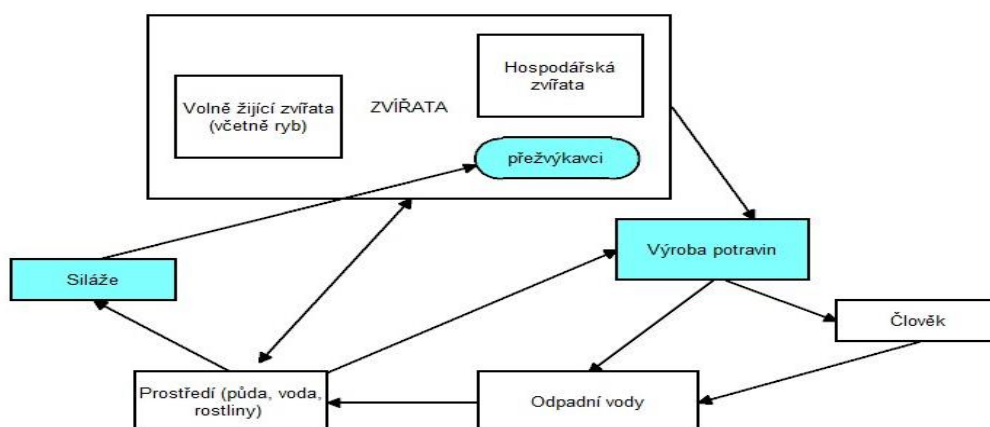
Výskyt a šíření

Bakterie je v prostředí hojně rozšířena, nachází se v povrchových i odpadních vodách, dlouhodobě přežívá v půdě a je součástí rostlinných materiálů včetně siláží. Onemocnění způsobují listerie především u přežvýkavců (skot, ovce). Také 5 – 10 % humánní populace jsou nosiči *L. monocytogenes* v trávicím traktu (Kameník a kol., 2014). Vzhledem k tomu, že se bakterie běžně nachází v trávicím traktu jatečných zvířat, může být zanesena do potravinářských provozů, kde jsou schopny perzistovat měsíce i roky např. jako biofilm na pracovních površích nebo hůře čistitelných místech, které mohou být následně zdrojem kontaminace potravin (Buchanan a kol., 2017).

L. monocytogenes se často nachází v nezpracovaných i zpracovaných potravinách, včetně syrového mléka a pasterizovaného mléka a mléčných výrobků, syrového masa a masných výrobků, syrové zeleniny, rybích produktů či lahůdkářských výrobků.

Mezi nejrizikovější potraviny obecně patří potraviny určené k přímé spotřebě, které jsou po dlouhou dobu skladovány při chladírenských teplotách, což umožní nárůst bakterie až do infekční dávky. Ačkoliv je prevalence listerií v potravinách vysoká, většinou se nenacházejí v počtech blízcích se infekční dávkou (Bell a Kyriakides, 2005).

Tato skutečnost byla zohledněna v legislativních požadavcích (Nařízení komise (ES) č. 2073/2005 v platném znění), kdy byl zaveden kvantitativní limit (100 KTJ/g) pro potraviny určené k přímé spotřebě, které díky svým vlastnostem nepodporují růst *L. monocytogenes* (Kameník a kol., 2014).



Obrázek 2 Schéma šíření *Listeria monocytogenes* (dle Adams a Moss, 2008)

Faktory ovlivňující růst a přežívání

L. monocytogenes je gram-pozitivní fakultativně anaerobní bakterie (Tao a kol., 2017). Velmi významná vlastnost této bakterie je schopnost růstu při chladírenských teplotách. Teplotní rozmezí se udává v rozpětí od 0 °C do 45 °C. Optimální teplotou je 30 – 37 °C. Dobře snáší i mrazírenské teploty. Teplotní odolnost se může u jednotlivých kmenů lišit (Epelboin a Bossi, 2011).

Onemocnění

Listerióza je onemocnění způsobené bakterií *L. monocytogenes*. Ve většině případů se přenáší kontaminovanými potravinami, sporadicky nebo epidemií. Rozlišujeme dva druhy – listerióza postihující těhotné ženy a novorozence; listerióza postihující dospělé, a to převážně lidí starší 60 let, kteří mají oslabenou imunitu. U těhotných žen může způsobit potraty, předčasné porody a úmrtí plodu v děloze. U novorozenců tato bakterie způsobuje infekci, často spojovanou s meningitidou. U dospělých jsou časté neurologické léze (Epelboin a Bossi, 2011).

3.5.3 *Escherichia coli*

Charakterizace

Rod *Escherichia* patří do čeledi Enterobacteriaceae. *Escherichia coli* (*E. coli*) je gram-negativní fakultativně anaerobní nesporeující tyčinka. *E. coli* je komenzální bakterie vyskytující se běžně v přírodě a také v tlustém střevě člověka. Mimo jiné se nachází na rostlinách, v půdě, ve vodě, i na srsti nebo peří zvířat. *E. coli* (spolu s jinými příbuznými mikroorganismy) považujeme za indikátor fekálního znečištění a porušení hygienické praxe v potravinářských provozech (Wilshaw a kol., 2000).

Zástupci rodu *Escherichia* redukují dusičnany na dusitany, jsou kataláza pozitivní a oxidáza negativní. Dle sérotypizačního schématu se *E. coli* dělí do více než 170 séroskupin na základě jejich somatického (O) antigenu, dále existuje 50 bičíkových (H) antigenů a přibližně 100 kapsulárních (K) antigenů. Řada kmenů *E. coli* je patogenní jak pro zvířata, tak pro člověka a považujeme je tedy za původce alimentárních onemocnění (Kameník a kol., 2014). Tyto patogenní *E. coli* se dělí do 6 skupin:

- Enteropatogenní (EPEC)
- Enteroinvazivní (EIEC)
- Enterotoxigenní (ETEC)
- Enterohemoragická (EHEC)
- Enteroagregativní (EAgEC)
- Difuzně adherentní (DAEC)

Na základě přítomných genů virulence (např. produkovat hemolysin) jsou známy různé typy patogenních kmenů *E. coli*. Existuje několik výrazů pro *E. coli* – verotoxigenní, shigatoxigenní a enterohemoragická (Chien a Sheen, 2017).

Faktory ovlivňující růst a přežívání

Teplotní rozmezí většiny kmenů *E. coli* je 7 – 46 °C. Z toho vyplývá, že správně vychlazené maso neposkytuje příznivé podmínky pro množení těchto kmenů. Výjimkou jsou verotoxigenní kmeny *E. coli*, které mohou při chladírenských teplotách dobře přežívat. Kmeny *E. coli* vyžadují pro svůj růst vysokou vodní aktivitu (0,95). Patogenní kmeny *E. coli* mají vyšší odolnost k NaCl než kmeny, které patogenní nejsou (Bell a Kyriakides, 2002a).

E. coli O157:H7 – lidské klinické aspekty

E. coli O157:H7 je členem enterohemoragické (EHEC) skupiny. Sérotyp O157:H7 je nejnebezpečnější z hlediska veřejného zdraví. EHEC *E. coli* se váže na endotel tlustého střeva a produkuje zde toxin (shigella toxin, jinak zvaný verotoxin). Verotoxin poškozují sliznici tlustého střeva, což vede ke krvavým průjmům a silné bolesti břicha (hemoragická kolitida). Při současném poškození ledvin onemocnění přechází do hemolyticko-uremického syndromu (HUS). Pacienti s oslabenou imunitou, včetně malých dětí a starších osob, patří do skupiny vysoce rizikových pro vznik HUS. Doba od expozice po nástup příznaků se pohybuje v rozmezí od 1 do 14 dní. S komplikacemi nemoc může trvat několik měsíců a končit smrtí (Duffy a kol., 2006).

E. coli O157:H7 – skot

E. coli O157:H7 se může vyskytovat na povrchu hovězích půlek nebo čtvrtí po porážení v důsledku křížové kontaminace z kůže nebo obsahu střev. K minimalizaci výskytu kontaminace provádíme kontrolu nad dovážením špinavých zvířat na jatka přes efektivní manipulaci na farmě, přepravu a manipulaci na jatkách. Další opatření jsou odříznutí viditelně znečištěných částí, oplach jatečného těla nebo použití organických kyselin. Naopak chlazení nebude mít na prevalenci nebo počty *E. coli* pravděpodobně vliv. Některé prameny uvádí, že skladování pod 4 °C sice nedeaktivizuje *E. coli*, ale omezí její růst (Duffy a kol., 2006).

3.5.4 *Staphylococcus aureus*

Charakterizace

Rod *Staphylococcus* řadíme do čeledi Staphylococcaceae. Do celého rodu je zařazeno více než 39 zástupců, některé druhy zahrnují ještě poddruhy, jako například *Staphylococcus aureus*. V případě *S. aureus* rozlišujeme poddruhy *aureus* a *anaerobius*. Oba poddruhy se od sebe liší rozdílným výskytem, biochemickými vlastnostmi, patogenitou i podmínkami růstu (Sutherland a Varnam, 2002).

Rod *Staphylococcus* zahrnuje gram-pozitivní, kataláza-pozitivní bakterie. Buňky jsou malé a tvoří charakteristické shluky připomínající svým tvarem hrozny. Bakterie jsou nepohyblivé, nesporotvorné, aerobní případně fakultativně anaerobní. *S. aureus* produkuje celou řadu extracelulárních enzymů, toxinů a dalších chemických látek.

Významnou vlastností *S. aureus* je tvorba adhezenčních látek, které tvoří na površích biofilm (Abdelbary a kol., 2017).

Nejčastěji používané dělení stafylokoků, je dle schopnosti štěpit koagulázu. Koaguláza-pozitivní stafylokoky (KPS) jsou pro tuto činnost enzymaticky vybavené, naopak kmeny bez enzymatické výbavy ke štěpení koagulázy nazýváme koaguláza – negativní stafylokoky (KNP). U KPS se předpokládala patogenita, u NSP nikoliv. Jejich význam však v posledních desetiletích stoupá, vzhledem ke zvýšenému výskytu jedinců s oslabenou imunitou a plošnému užívání antibiotik (Kameník a kol., 2014).

Výskyt a šíření

Výskyt stafylokoků je běžný v půdě, vodě, ve vzduchu, v potravinách, na površích zařízení i na površích těla lidí i zvířat. Primárními rezervoáry jsou zvířata i člověk, kde stafylokoky osidlují kůži i nosní sliznici. Z nosní sliznice se stafylokoky šíří do dýchacích cest, do krevního řečiště i močového ústrojí, kde mohou působit jako infekční agens (Drápal a kol., 2005).

Onemocnění

Stafylokoková enterotoxikóza je onemocnění způsobené termostabilním enterotoxinem. Tyto toxiny jsou velmi odolné, zůstávají aktivní i při varu trvajícím 20 minut. Riziko onemocnění spočívá v konzumaci potraviny obsahující stafylokokové enterotoxiny. Inkubační doba je velmi krátká, obvykle se projeví 1 – 6 hodin po požití kontaminované potraviny. Příznaky nastupují velmi náhle a projevují se úporným zvracením, křečemi v břiše, bolestí hlavy a průjmem. Onemocnění probíhá bez teplot. Příznaky většinou samovolně odezní do 24 hodin (Drápal a kol., 2005).

3.6 Analýza rizik a stanovení kritických kontrolních bodů (HACCP)

Zkratka HACCP představuje počáteční písmena anglického názvu tohoto systému **H**azard **A**nalysis **C**ritical **C**ontrol **P**oints – Analýza nebezpečí a kritické kontrolní body (Steinhauser, 1995).

Systém HACCP je systematickým prostředkem při identifikaci nebezpečí v jakékoli fázi potravinářského provozu a pro posouzení souvisejících rizik a určení míst, kde je potřeba kontrola. Postupy sledování a kontroly tvoří nedílnou součást systému při udržování bezpečnosti potravin (Walker a kol., 2003). Při zajištění bezpečnosti potravin je potřeba aktivně využívat systém HACCP, správnou výrobní praxi (SVP)

a správnou hygienickou praxi (SVHP). Systém kritických bodů je spíše založen na preventivním zajištění bezpečnosti potravin než na testování konečného produktu. Systém HACCP může být zaveden napříč celého potravního řetězce (Doménech, 2011).

Při zpracování zásad systému HACCP do technologického systému určitého výrobku musí být podrobně zhodnocen vliv surovin, přísad, technologického postupu, pravděpodobného způsobu použití výrobku, kategorie spotřebitelů a epidemiologické souvislosti, které jsou až doposud o výrobku známy, a to vše z hlediska zdravotního a jakostního nebezpečí při jednotlivé pracovní operaci (Steinhauser, 1995).

Systém HACCP je tvořen následujícími 7 principy:

1. provedení analýzy nebezpečí
2. určení kritických kontrolních bodů (CCP)
3. stanovení kritických mezí
4. stanovení systému sledování CCP
5. stanovení nápravných opatření v případě, že kritický bod není pod kontrolou
6. stanovení postupů pro ověřování, že systém HACCP funguje efektivně
7. stanovení dokumentů a záznamů

Zavedení HACCP do praxe je vyžadováno nařízením EU č. 852/2004 Sb., o způsobu stanovení kritických bodů v technologii výroby, ve znění vyhlášky č. 196/ 2002 Sb.

Tabulka 4 Analýza nebezpečí při jatečném zpracování skotu (systém HACCP)

	Druh činnosti	Typ nebezpečí	Nebezpečí	Ovládací opatření	Identifikované nebezpečí je významné?	Zdůvodnění rozhodnutí o významnosti nebezpečí	CCP/CP
1	Nákup skotu	B	Pomnožení MO	Veterinární prohlídka před porážkou; kontrola průvodní dokumentace	Ne	Důkladná veterinární prohlídka, Spolehlivý dodavatel	-
2	Omráčování	B	Kontaminace MO	Správný způsob omračování Zabránění zranění zvířete při pádu po omráčení.	Ne	Důkladně proškolený a kvalifikovaný personál pro vykonávání této činnosti zajišťuje malé riziko uplatnění nebezpečí	-
3	Vykrvení	B	Vhodnější podmínky pro rozvoj MO	Kvalifikovaný pracovník Správný postup při vykrvování Vykrvení následuje ihned po omráčení Asanace nože před použitím pro další zvíře	Ne	Při použití ostrých nožů, vykrvení v bezprostřední blízkosti od omráčení a dostatečném přeríznutí tepen je malé riziko uplatnění nebezpečí Školení pracovníků	-
4	Odstranění hlavy a nožin, stažení kůže	B	Mikrobiální kontaminace	Kontrola čistoty používaných nástrojů a pomůcek Dodržování správného postupu při stahování kůže (stahovat shora dolů)	Ne	Při dostatečném množství čistých nástrojů a používáním sterilizátorů nožů malé riziko uplatnění nebezpečí Školení pracovníků Dodržení SVHP	-
		F	Mechanické nečistoty	Zabránit kontaminaci z vnějšího povrchu těla	Ne		
5	Vykolení	B	Pomnožení MO	Včasně vykolení (do 45 min. po omráčení) Dodržování SVP (zabránění kontaminaci obsahem GIT, močí nebo žlučí) Dodržování SHP (sterilace nástrojů, osobní hygiena pracovníků, čisté oděvy, pokrývka hlavy)	Ne	Při dodržení včasného vykolení a dodržení SVP je malé riziko uplatnění nebezpečí	-

				Zajištění identity orgánů			
6	Půlení	B	Pomnožení MO	Asanace plicích zařízení Zajištění SVP	Ne	Při důkladné asanaci a zajištění SVP je malé riziko uplatnění nebezpečí	-
		F	Mechanické nečistoty	Omezení znečištění mechanickými nečistotami (jako jsou úlomky kostí) přívodem studené vody na řezný kotouč nebo opláchnutí těla vodou Vizuální kontrola			
7	Veterinární prohlídka	B	Výskyt chorob MO a parazitů	Dodržování rozhodnutí státního veterinárního lékaře Konfiskace v případě nevyhovujících těl zvířat, částí těl a orgánů	Ne	Ověřený dodavatel jatečného skotu a zkušený veterinární lékař zajišťují malé riziko uplatnění nebezpečí.	-
8	Chlazení JUT	B	Pomnožení MO	Kontrola a kontinuální záznam měření teploty chladírny	Ano	Stav vzniklý nedostatečným vychlazením JUT nelze napravit, proto je riziko uplatnění nebezpečí vysoké	CCP1
		F	Mechanické nečistoty	Pravidelné měření teploty masa pomocí kalibrovaného vpichového teploměru Teplota masa max. 7 °C Zajistit, aby se JUT navzájem nedotýkaly Zajistit proudění vzduchu 2,5 m.s ⁻¹ Chladírna je opatřena signalizačním zařízením pro případ zvýšení teploty nad 7 °C Vizuální kontrola JUT			
9	Chlazení drobů	B	Pomnožení MO	Kontrola a kontinuální záznam měření teploty chladírny	Ano	Stav vzniklý nedostatečným vychlazením drobů nelze napravit, proto je riziko uplatnění nebezpečí vysoké	CCP2
		F	Mechanické nečistoty				

				<p>Pravidelné měření teploty masa pomocí kalibrovaného vpichového teploměru</p> <p>Teplota drobů max. 3 °C</p> <p>Zajistit proudění vzduchu 2,5 m/s</p> <p>Chladírna je opatřena signalizačním zařízením pro případ zvýšení teploty nad 3 °C u drobů</p> <p>Vizuální kontrola</p>			
9	Bourání	B	Nežádoucí pomnožení MO	<p>Teplota bourárny max. 12 °C</p> <p>Dodržení teploty masa max. 7 °C</p>	Ne	Vzhledem k dostatečnému množství čistých pracovních pomůcek, monitoringu teplot a kvalifikace pracovníků je riziko uplatnění nebezpečí malé	-
		F	Mechanické nečistoty	<p>Maso zůstává v bourárně jen po nezbytně nutnou dobu jeho zpracování</p> <p>Dodržování SHP a SVP (sanitace nástrojů, udržování čistoty pracovních ploch, osobní hygiena pracovníků, čisté oděvy, pokrývka hlavy, bez šperků atd.)</p> <p>Vizuální kontrola masa</p>			
10	Balení a značení	B	Přežívání a množení MO	<p>Atest dodavatele o vhodnosti obalů pro potraviny</p> <p>Teplota balírny max. 12 °C</p>	Ne	Při použití obalů od spolehlivého dodavatele a dodržování teplot prostředí je riziko uplatnění nebezpečí malé	-

11	Chlazení – expedice	B	Přežívání a pomnožení MO	Kontrola a kontinuální záznam měření teploty masa v chladírnách Teplota masa max. 7 °C Teplota drobů max. 3 °C Maso neopustí výrobu, dokud není vychlazené na teplotu pod 7 °C, droby pod 3 °C; Teplota je měřena vložením teploměru mezi vychlazené zabalené výrobky Kontrola neporušenosti obalu	Ano	Stav vzniklý nedostatečným vychlazením masa nelze napravit, proto je riziko uplatnění nebezpečí vysoké	CCP3
		F	Mechanické nečistoty				
12	Distribuce	Zajišťuje externí firma					

SVP – správná výrobní praxe; SHP – správná hygienická praxe; B – biologické nebezpečí; F – fyzikální nebezpečí

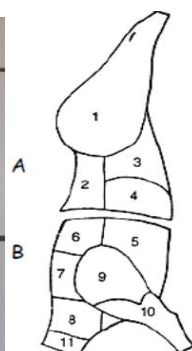
4 MATERIÁL A METODIKA

4.1 Materiál

Mikrobiologická analýza byla provedena u hovězího masa získaného ze zemědělského podniku vzdáleného 48 km od Brna. Tento zemědělský podnik se nachází v Jihomoravském kraji. Hovězí maso bylo získáno ze tří jalovic kombinovaného plemene České strakaté. Základní data týkající se hmotnosti a věku zvířat jsou uvedena v tabulce číslo 1. Porážka byla provedena na místních jatkách (20 km). Vzorky byly odebrány rozbouráním JUT po porážce. Po převozu vzorků na Mendelovu univerzitu v Brně, došlo k naplátkování masa, uložení do sáčků a zavakuování a uložení ke zrání při teplotě 2 °C. Pro tuto analýzu tedy vzorky zrály tzv. mokrou cestou. Analyzované vzorky pocházely z části nízký roštěnec a kýta – vrchní šál.



Obrázek 3 Vzorky roštěnce a kýty



Obrázek 4 Základní dělení hovězí půlky (Ingr, 2011)

- Hovězí půlka**
A – zadní čtvrt'
B – přední čtvrt'
- 1 – kýta
 - 2 – nízký roštěnec s kostmi
 - 3 – bok bez kostí
 - 4 – bok s kostmi
 - 5 – hrudí se žebry
 - 6 – vysoký roštěnec s kostmi
 - 7 – podplečí
 - 8 – krk
 - 9 – plec
 - 10 – kliška
 - 11 – špička krku

Tabulka 5 Základní údaje

Plemeno	České strakaté		
	Stáří [měsíce]	Hmotnost v živém [kg]	Hmotnost JUT [kg]
Jedinec 1	19	420	218
Jedinec 2	19	377	204
Jedinec 3	19	408	223

Tabulka 6 Termíny porážky a analýzy

Zrání – data analýzy					
	Porážka	4 týdnů	6 týdnů	7 týdnů	8 týdnů
Jedinec 1	1.2. 2016	2.3. 2016	16.3. 2016	23.3. 2016	30.3. 2016
Jedinec 2	8.3. 2016	6.4. 2016	27.4. 2016	20.4. 2016	4.5. 2016
Jedinec 3	5.10. 2016	3.11. 2016	16.11. 2016	23.11. 2016	1.12. 2016

4.2 Metodika

4.2.1 Stěr z povrchu

Pomocí stěrů z povrchu byly zjištěny celkové počty mikroorganismů (CPM), bakterie z čeledi Enterobacteriaceae a plísně a kvasinky.

Každý obal vzorku byl očištěn 70% ethanolem. Sterilním skalpelem se rozřízl obal analyzovaného vzorku a jednorázová papírová šablona (20cm²) byla položena na povrch masa. Tamponem navlhčeným ve sterilním fyziologickém roztoku se důkladně setřela celá plocha. Tampon byl vložen do zkumavky se sterilním fyziologickým roztokem a stočen na Vortexu. Z této zkumavky byl odpipetován 1 ml do následující zkumavky obsahující 9 ml sterilního fyziologického roztoku. Při dalším desítkovém ředění dostaneme celou škálu ředění, která byla proměnlivá dle stupně zrání masa.

Do každé Petriho misky byl sterilní automatickou pipetou napipetován 1 ml inokula a následně zalit připravenou sterilní kultivační půdou (agarem) o teplotě 45 °C. Agar se nechal na Petriho miskách zatuhnout a následně byly misky vloženy do termostatu ke kultivaci při vhodných teplotních podmínkách.

4.2.2 Rozbor vnitřní části vzorku

Uvnitř každého vzorku byl analyzován CPM, počet bakterií mléčného kvašení, bakterií z čeledi Enterobacteriaceae, psychrotrofních bakterií a plísní a kvasinek. Před samotným odběrem části vzorku došlo k dekontaminaci povrchu opálením. Sterilní pinzetou a skalpelem bylo odebráno množství 10 g do mikrotenového sáčku. K odváženému vzorku bylo přilito 90 ml fyziologického roztoku a byl vložen do homogenizátoru, kde se vzorek homogenizoval po dobu 90 s. Po homogenizaci bylo odebráno 10 ml homogenizátu do sterilní zkumavky, jež představovala ředění 10⁻¹. Z této zkumavky byl odpipetován 1 ml do následující zkumavky, která obsahovala 9 ml sterilního fyziologického roztoku, zkumavka byla stočena na Vortexu a představovala ředění 10⁻². Takto pokračujeme až do získání požadované ředící řady, která byla proměnlivá, dle stupně zrání vzorků.

Do každé Petriho misky byl nanesen sterilní automatickou pipetou 1 ml inokula a zalit kultivačním médiem (agarem) o 45 °C. Po zatuhnutí agarů v Petriho miskách, byly misky vloženy do termostatu a nechány kultivovat při optimálních teplotních podmínkách.

Kultivační podmínky sledovaných mikroorganismů

- Celkový počet mikroorganismů (CPM) – 72 hodin při teplotě 30 °C (ČSN ISO 2293)
- Bakterie čeledi Enterobacteriaceae – 24 hodin při teplotě 37 °C (ČSN ISO 21528)
- Plísňe a kvasinky – 5 dní při teplotě 25 °C (ČSN ISO 13681)
- Bakterie mléčného kvašení (BMK) – 72 hodin při teplotě 30 °C (ČSN ISO 13721)
- Psychrotrofní mikroorganismy – 10 dní při teplotě 6,5 °C (ČSN ISO 17410).

4.2.3 Použité přístroje a zařízení

- SANYO-LABO AUTOCLAVE, Schoeller instruments, s.r.o., Praha, ČR (maximální dosažitelná teplota 135 °C)
- Laboratorní váhy, přesnost $\pm 0,01$ g, firma Schoeller instruments, s.r.o., Praha, ČR
- Homogenizátor Bag Mixer, peristaltického typu, Paříž, Francie
- VORTEX MIXER, Itálie
- Tlakový hrnec (rozvaření a sterilizace kultivačních pūd)
- Počítačka kolonií, vybavena osvětlením a lupou, POL-EKO-APARATURA LKB 2002, EU
- Komorový termostat Sanyo incubator, udržovaná teplota 37 °C, Schoeller, s.r.o., Praha, ČR
- Komorový termostat Gallenkamp, udržovaná teplota 30 °C, Schoeller instruments, s.r.o., Praha, ČR
- Komorový termostat Julabo TW 20 (vodní lázeň), udržovaná teplota 45 °C, Schoeller, s.r.o., Praha, ČR
- Jednorázové Petriho misky (plastové), rozměr 90 x 100 mm
- Laboratorní sklo – odměrné válce, zkumavky, kádinky, skleněné lahve
- Myčka nádobí
- Pomůcky – skalpely, pinzety, mikrotenové sáčky, alobal

4.2.4 Příprava kultivačních pūd

Pro stanovení jednotlivých počtů mikroorganismů byly použity dehydratované agarové kultivační pūd firmy Biokar (Francie).

- PCA – Plate Count agar

- DRBC – Dichloran Rose-Bengal Chloramphenicol agar
- MRS – Deman, Rogosa, Sharpe agar
- PCA – Plate Count agar with skimmed milk
- VRBG – Violet Red Bile Glucose agar



Obrázek 5 Připravené půdy ke sterilaci

4.2.4.1 PCA – Plate Count agar

Pro stanovení celkového počtu mezofilních bakterií byla použita půda PCA. K přípravě kultivační půdy bylo použito 20,5 g dehydratovaného média a následně rozpuštěno v 1000 ml destilované vody. Takto připravená půda byla za stálého míchání přivedena k varu a sterilizována při 121 °C po dobu 15 min. Po sterilizaci došlo k ochlazení půdy ve vodní lázni při teplotě 45 °C. Takto ochlazenou kultivační půdou došlo k zalití 1 ml inokula uvnitř Petriho misek. Po zatuhnutí agarů na Petriho miskách byly misky vloženy do termostatu, kde došlo ke kultivaci při teplotě 30 °C po dobu 72 hodin. Počty kolonií, které vyrostly, byly spočítány na počítače kolonií.

Složení Plate Count agar (PCA) [g · l⁻¹]

- Trypton 5
- Kvasničný extrakt 2,5
- Glukosa 1
- Bakteriologický agar 12

4.2.4.2 DRBC – Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol agar

Pro stanovení počtu plísní a kvasinek byla použita agarová půda DRBC. K přípravě kultivační půdy bylo použito 30,0 g dehydratovaného média a následně rozpuštěno v 1000 ml destilované vody. Takto připravená půda byla za stálého míchání přivedena k varu a následně sterilizována při teplotě 121 °C po dobu 15 minut v tlakovém hrnci.

Po sterilizaci došlo k ochlazení půdy ve vodní lázni na teplotu 45 °C. Takto ochlazenou kultivační půdou došlo k zalití 1 ml inokula uvnitř Petriho misek. Po zatumnutí agaru na Petriho miskách bylo došlo ke kultivaci při teplotě 25 °C po dobu 5 dní. Počty kolonií, které vyrostly, byly spočítány na počítače kolonií.

Složení Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol agar (DRBC) [g · l⁻¹]

• Polypepton	5,0
• Glukosa	10,0
• Dihydrogenfosforečnan draselný	1,0
• Síran hořečnatý	0,5
• Rose bengale	0,025
• Chloramfenikol	0,05
• Síran zinečnatý	0,01
• Síran měďnatý	0,005
• Tergitol	1,0
• Chlortetracyklin	0,05
• Bakteriologický agar	12,4

4.2.4.3 MRS – DeMan, Rogosa, Sharpe agar

Pro stanovení počtu bakterií mléčného kvašení byla použita půda MRS. K přípravě kultivační půdy bylo použito 70,0 g dehydratovaného média a následně rozpuštěno v 1000 ml destilované vody. Takto připravená půda byla za stálého míchání přivedena k varu a následně sterilizována při teplotě 121 °C po dobu 15 minut v tlakovém hrnci. Po sterilizaci došlo k ochlazení půdy ve vodní lázni na teplotu 45 °C. Takto ochlazenou kultivační půdou došlo k zalití 1 ml inokula uvnitř Petriho misek. Po zatumnutí agaru na Petriho miskách došlo ke kultivaci při teplotě 30 °C po dobu 72 hodin. Počty kolonií, které vyrostly, byly spočítány na počítače kolonií.

Složení DeMan, Rogosa, Sharpe agar (MRS) [g · l⁻¹]

• Enzymaticky natrávený kasein	10
• Masový extrakt	10
• Kvasničný extrakt	4,0

• Citran amonný	2,0
• Octan sodný	5,0
• Heptahydrát síranu hořečnatého	0,2
• Tetrahydrát síranu manganatého	0,05
• Hydrogenfosforečnan didraselný	2,0
• Glukosa	20,0
• Polyoxyethylensorbitan monoenolát	1,08
• Agar	15,5

4.2.4.4 PCA – Plate Count agar with skimmed milk

Pro stanovení počtu psychrotrofních mikroorganismů byla použita půda PCA s odstředěným mlékem. K přípravě kultivační půdy bylo použito 21,5 g dehydratovaného média a následně rozpuštěno v 1000 ml destilované vody. Takto připravená půda byla za stálého míchání přivedena k varu a následně sterilizována při teplotě 121 °C po dobu 15 minut v tlakovém hrnci. Po sterilizaci došlo k ochlazení půdy ve vodní lázni na teplotu 45 °C. Takto ochlazenou kultivační půdou došlo k zalití 1 ml inokula uvnitř Petriho misek. Po zatuhnutí agarů na Petriho miskách došlo ke kultivaci při teplotě 6,5 °C po dobu 10 dní. Počty kolonií, které vyrostly, byly spočítány na počítače kolonií.

Složení Plate Count agar with skimmed milk (PCA) [g · l⁻¹]

• Trypton	5,0
• Kvasničný extrakt	2,5
• Glukosa	1,0
• Sušené odstředěné mléko bez inhibičních látek	1,0
• Bakteriologický agar	12,0

4.2.4.5 VRBL – Violet Red Bile Lactose agar

Pro stanovení počtu bakterií z čeledi Enterobacteriaceae byla použita půda VRBL. K přípravě kultivační půdy bylo použito 38,5 g dehydratovaného média a následně rozpuštěno v 1000 ml destilované vody. Takto připravená půda byla za stálého míchání přivedena k varu, půda nesmí být autoklávována. Po rozvaření došlo k ochlazení půdy ve vodní lázni na teplotu 45 °C. Takto ochlazenou kultivační půdou došlo k zalití 1 ml inokula uvnitř Petriho misek. Po zatuhnutí agarů na Petriho miskách došlo ke kultivaci

při teplotě 37 °C po dobu 24 hodin. Počty kolonií, které vyrostly, byly spočítány na počítači kolonií.

Složení Violet Red Bile Lactose agar (VRBL) [g · l⁻¹]

- Masový extrakt 7,0
- Kvasničný extrakt 3,0
- Laktosa 10,0
- Žlučové soli 1,5
- Chlorid sodný 5,0
- Neutrální červeň 0,03
- Krystalová violet 0,002
- Bakteriologický agar 12,0

4.2.5 Vyjádření výsledků

Množství (N) přítomných mikroorganismů ve vzorku se vypočítá podle vzorce:

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

$\sum C$ součet všech kolonií mikroorganismů spočítaných na všech vybraných miskách

n_1 počet vybraných misek z prvního ředění

n_2 počet vybraných misek z druhého ředění

d ředící faktor prvního pro výpočet použitého ředění

V objem inokula, který je očkovan na každou plotnu (ml)

Výsledek je vyjádřen jako celkový počet mikroorganismů v ml (u tekutých výrobků) nebo v g (u ostatních výrobků), jako číslo 1,0 až 9,9 násobené 10^x (x je příslušná mocnina 10). Jednotky jsou KTJ (kolonie tvořící jednotky).

4.2.6 Statistické vyhodnocení výsledků

Výsledky byly statisticky vyhodnoceny v programu Statistica.cz, verze 12. Tabulka dat v Excelu byla převedena do programu Statistica.cz a byly spočítány základní statistické charakteristiky souboru, tj. průměr, směrodatná odchylka a směrodatná chyba. Následovala analýza souboru získaných dat pomocí metody jednoduchého třídění tj, analýzy rozptylu (ANOVA) a regresní analýzou.

5 VÝSLEDKY A DISKUZE

Analyzované vzorky hovězího masa byly získány ze zemědělského podniku v Jihomoravském kraji. Vzorky pocházely ze tří jalovic kombinovaného plemene České strakaté. Po porážce první jalovice následoval převoz na Mendelovu univerzitu v Brně, zavakuování jednotlivých plátků nízkého roštěnce a vrchního šálu z kýty. Vzorky byly uloženy ke zrání při teplotě 2 °C. Stejný proces pokračoval u druhé a třetí jalovice. U první porážky byla mikrobiologická analýza provedena den po porážce a dále v 1., 2., 3., 4., 6., 7. a 8. týdnu zrání. U druhé a třetí porážky byl analyzován 4., 6., 7. a 8. týden zrání. Pro statistické vyhodnocení výsledků byly použity vybrané týdny zrání, a to 4., 6., 7. a 8. týden.

Sledovány byly tyto mikrobiologické ukazatele:

- **Celkový počet mikroorganismů (CPM)**
 - stěrem povrchu roštěnce a kýty;
 - odběr 10 g z vnitřní části vzorků
- **Enterobacteriaceae**
 - stěrem povrchu roštěnce a kýty;
 - odběr 10 g z vnitřní části vzorků
- **Plísňe a kvasinky**
 - stěrem povrchu roštěnce a kýty;
 - odběr 10 g z vnitřní části vzorků
- **Bakterie mléčného kvašení**
 - odběr 10 g z vnitřní části vzorků
- **Psychrotrofní mikroorganismy**
 - odběr 10 g z vnitřní části vzorků

Výsledky mikrobiologické analýzy, tedy počty mikroorganismů, byly porovnány ve třech úrovních:

1. Porovnání počtu MO mezi povrchem roštěnce, resp. povrchem kýty
2. Porovnání počtu MO mezi vnitřní částí roštěnce, resp. vnitřní částí kýty
3. Porovnání počtu MO mezi povrchem a vnitřní částí roštěnce, resp. kýty

5.1 Vliv části jatečně upraveného těla na počet sledovaných skupin mikroorganismů v průběhu zrání

5.1.1 Porovnání počtu mikroorganismů z hlediska místa odběru vzorků

V této části kapitoly jsou shrnuty výsledky z porovnání:

1. Počtu MO mezi povrchem roštěnce, resp. povrchem kýty (šálu)
2. Počtu MO mezi vnitřní částí roštěnce, resp. vnitřní částí kýty

5.1.1.1 Celkové počty mikroorganismů (CPM)

Mezi povrchy roštěnce a kýty nebyl v celkových počtech bakterií nalezen ($p > 0,05$) rozdíl. CPM byl na povrchu roštěnce $5,79 \log \text{KTJ.cm}^{-2}$ ($6,17 \cdot 10^5 \text{KTJ.cm}^{-2}$) a na povrchu kýty $5,60 \log \text{KTJ.cm}^{-2}$ ($3,98 \cdot 10^5 \text{KTJ.cm}^{-2}$), což je patrné z obrázku č. 6.

Taktéž mezi vnitřní částí roštěnce a kýty (šálu) nebyl nalezen rozdíl ($p > 0,05$) v celkovém počtu mikroorganismů. CPM byl u roštěnce $5,86 \log \text{KTJ.g}^{-1}$ ($7,24 \cdot 10^5 \text{KTJ.g}^{-1}$), u kýty $5,58 \log \text{KTJ.g}^{-1}$ ($3,80 \cdot 10^5 \text{KTJ.g}^{-1}$), což je patrné z obrázku č. 6.

Do celkového počtu bakterií jsou zahrnovány aerobní a fakultativně anaerobní mikroorganismy (bakterie, kvasinky, plísňe) (Burdychová a Sládková, 2007).

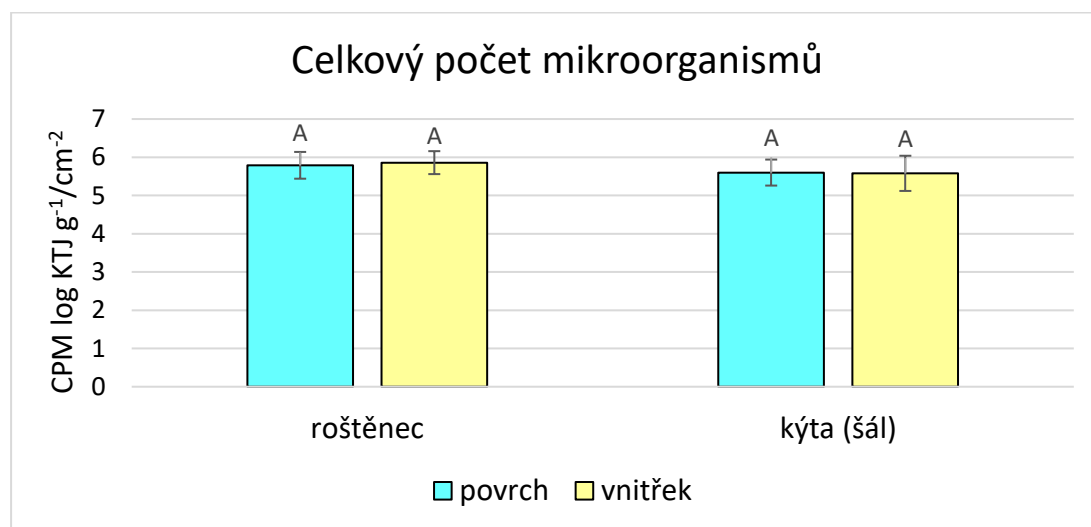
Stanovení celkových počtů organismů stanovuje jen určité procento ze skutečných počtů bakterií ve vzorcích, jelikož konkrétní kultivační parametry nevyhovují fyziologickým požadavkům veškerých rodů a druhů bakterií ve vyšetřovaných vzorcích. Proto se někdy dává označení celkový počet mikroorganismů do uvozovek (Görner a Valík, 2004). Ale nejvíce se přibližuje absolutnímu celkovému počtu a nejlépe vystihuje stupeň mikrobiálního znečištění. Toto stanovení tedy poskytuje základní informace o stupni mikrobiální kontaminace. Z výsledků lze usuzovat na úroveň technologie a dodržování hygienických směrnic při výrobě, ale i přepravě a skladování (Burdychová a Sládková, 2007).

Stopforth a kol. (2006) ve své studii o mikrobiologickém stavu hovězího masa sledoval počty jednotlivých mikroorganismů (CPM, Enterobacteriaceae a *E.coli*). Porovnával 10 různých částí jatečného těla. U roštěnce a kýty nenašel statisticky významný rozdíl v celkových počtech mikroorganismů a bakterií z čeledi Enterobacteriaceae, což koreluje i s našimi výsledky. Z našich výsledků je patrné,

že nejsou významné rozdíly nebo zjevné trendy v bakteriální kontaminaci různých částí hovězího dobytka (roštěnec a kýta).

Nejvyšší přípustné množství celkového počtu mikroorganismů v hovězím mase není v současné době legislativou nijak upravováno. Vyhláška, která upravovala nejvyšší přípustné množství celkového počtu mikroorganismů byla vyhláška č. 132/2004 Sb. O mikrobiologických požadavcích na potraviny, způsobu jejich kontroly a hodnocení. Tato vyhláška již není platná. Udávala nejvyšší přípustné množství CPM 10^6 KTJ.g⁻¹ nebo cm⁻², což v 6. týdnu u roštěnce ($1,6 \cdot 10^7$ KTJ.cm⁻²) a v 6. týdnu u kýty ($1,4 \cdot 10^6$ KTJ.cm⁻²), bylo překročeno. Při porovnání průměrných hodnot z celé mikrobiologické analýzy, pak nejvyšší přípustné množství překročeno nebylo.

Počty mikroorganismů jsou v sloupcových obrázcích vyjádřeny jako průměrné hodnoty (log KTJ. g⁻¹/cm⁻²) ze celou dobu zrání.



Obrázek 6 Porovnání celkového počtu mikroorganismů (log KTJ.g⁻¹/cm⁻²) na povrchu a uvnitř roštěnce a šálu (n=12).

Změny počtu v průběhu zrání

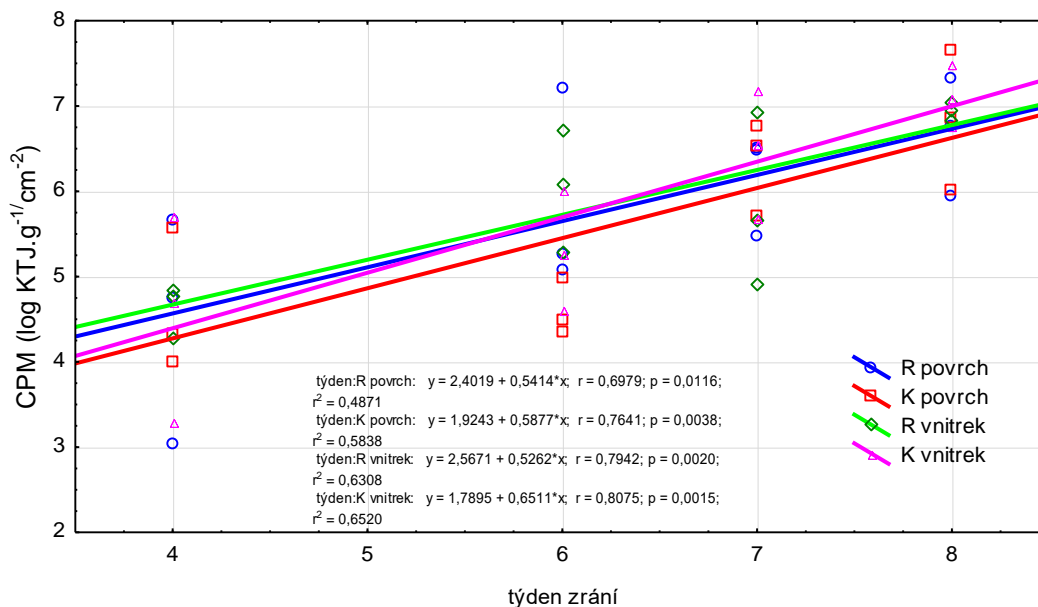
Z regresní analýzy vyplývá, že během 8 týdnů zrání došlo ke zvýšení ($p < 0,05$) CPM na povrchu, resp. uvnitř obou analyzovaných částí jatečného těla (roštěnec a kýta), jak je patrné na obrázku č. 7.

Na počátku mikrobiologické analýzy (den po porážce), bylo zjištěno, že počty mikroorganismů na povrchu a uvnitř roštěnce, resp. šálu dosahovaly hodnot 10^2 KTJ.g⁻¹. Upmanna a kol. (2000) poukazuje, že dodržováním zásad správné hygienické praxe, lze dosáhnout úrovně kontaminace 10^3 KTJ.g⁻¹.

Do 4. týdne zrání, nebyl zaznamenán pach, sliznutí ani změna barvy. Od 6. týdne zrání se počet mikroorganismů zvýšil na hodnoty v rozpětí $10^6 - 10^7$ KTJ.cm⁻², což může naznačovat začátek mikrobiálního kažení masa. Zvýšený počet mikroorganismů od 6. týdne byl patrný i na povrchu vzorku, kdy byl cítit zápach, povrch byl lehce oslzlý a barva byla změněna.

Údržnost masa lze ovlivnit dvěma způsoby, které omezují rozvoj přítomných bakterií. Prvním způsobem je snížení skladovací teploty. Pokud nemá dojít k zmrazení masa, nejnižší teplotou je -1,5 °C. Druhým způsobem je vakuové balení nebo použití modifikované atmosféry. I tak ale bakteriální populace po určité době dosáhne hladiny buněk v 1 g resp. 1 cm² $10^7 - 10^8$ KTJ, kdy se začínají objevovat sensorické známky kažení (Reid a kol, 2017b) a maso přestává být bezpečné a vhodné pro lidskou výživu (Nařízení č. 178/2002).

Uvnitř roštěnce a kýty (šálu) jsme zaznamenali v 2. týdnu zrání počty bakterií v úrovni 10^4 KTJ.g⁻¹. K překročení hranice 10^6 KTJ.g⁻¹, která je považována za ukazatele kažení masa, bylo dosaženo u každé z porážek v jiný týden. Při první porážce, bylo dosaženo úrovně 10^6 KTJ.g⁻¹ v 8. týdnu zrání uvnitř roštěnce i kýty. U druhé a třetí porážky již v 6. týdnu, a to u obou částí JUT.



Obrázek 7 Změny CPM (log KTJ.g⁻¹/cm²) v průběhu zrání roštěnce a kýty (šálu), povrch roštěnce je označen modře, povrch kýty (šálu) červeně, vnitřek roštěnce zeleně a vnitřek kýty (šálu) fialově.

5.1.1.2 Bakterie z čeledi Enterobacteriaceae

Mezi povrchy roštěnce a kýty (šálu) nebyl nalezen ($p > 0,05$) v počtech bakterií z čeledi Enterobacteriaceae rozdíl. Jejich počet byl na povrchu roštěnce $3,81 \log \text{KTJ.cm}^{-2}$ ($6,46 \cdot 10^3 \text{KTJ.cm}^{-2}$) a na povrchu kýty (šálu) $3,71 \log \text{KTJ.cm}^{-2}$ ($5,13 \cdot 10^3 \text{KTJ.cm}^{-2}$), což je patrné z obrázku č. 8.

Taktéž mezi vnitřní částí roštěnce a kýty nebyl nalezen ($p > 0,05$) v počtech bakterií z čeledi Enterobacteriaceae rozdíl. Počet bakterií čeledi Enterobacteriaceae byl uvnitř roštěnce $3,67 \log \text{KTJ.g}^{-1}$ ($4,6 \cdot 10^3 \text{KTJ.g}^{-1}$) a uvnitř kýty $3,36 \log \text{KTJ.g}^{-1}$ ($2,29 \cdot 10^3 \text{KTJ.g}^{-1}$), což je patrné z obrázku č. 8.

Bakterie z čeledi Enterobacteriaceae jsou nesporeující a fakultativně anaerobní tyčinky. Jsou součástí střevní mikroflóry teplokrevných živočichů. V potravinách se dobře rozmnožují. Často jsou stanovovány jako hygienický indikátor. Indikátorový význam těchto bakterií je i přes fekální původ potřeba posuzovat v souvislosti s charakterem vzorku (Burdychová a Sládková, 2007).

Rozvoj těchto bakterií může naznačovat na fekální znečištění skotu při porážce. Za hlavní zdroj kontaminace se považuje znečištění trávicím traktem (Hauge a kol., 2015).

Hlavním zdrojem alimentárních onemocnění je fekální znečištění hovězího masa bakteriemi z čeledi Enterobacteriaceae, jako je například *Salmonella*, *E. coli* a *Yersinia*. Masný průmysl klade důraz na zaškolení zaměstnanců, aby došlo ke zvýšení porozumění významu dobré hygieny porážky. Některá jatka také investují do dekontaminačních opatření, mezi které patří i odříznutí kontaminovaných míst (Hauge a kol. 2015).

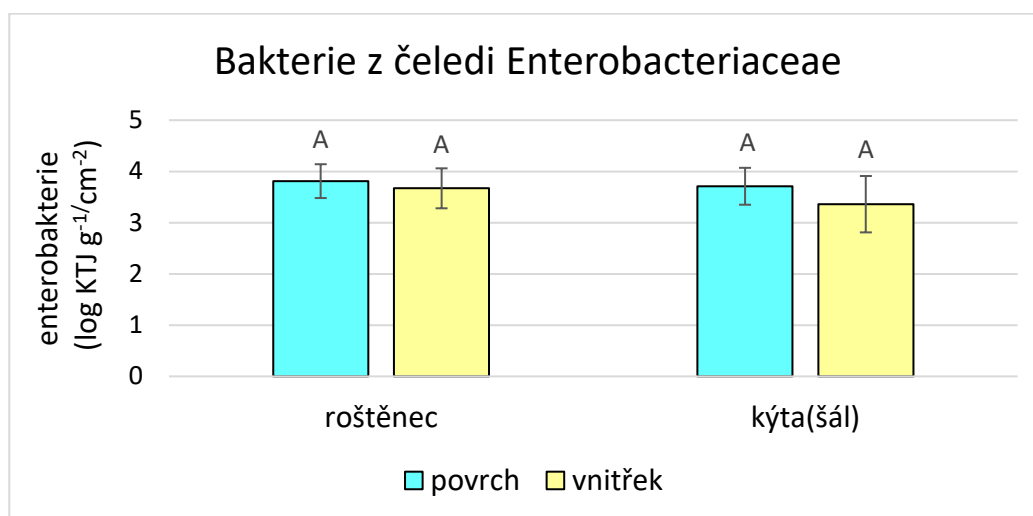
Antic a kol. (2010) se zabývali důkladnou mikrobiální analýzou přenosu bakterií z hovězích kůží na maso. Vzorky byly odebrány po porážení zvířete a rozděleny do skupin od nejméně po nejvíce znečištěné. Jednou z vyšetřovaných částí JUT byl i roštěnec. Zjištěné hodnoty u roštěnce byly $4,3 \log \text{KTJ.cm}^{-2}$. Námi zjištěná výchozí kontaminace byla v množství $1,6 \log \text{KTJ.cm}^{-2}$, což ukazuje na dodržování správné hygienické praxe na jatkách.

Hauge a kol. (2015) studovali rozdíl v počtech bakterií při porážce čistých těl a při porážce nečistých těl. Zjistili, že u čistého dobytka byly nalezeny nižší hladiny počtů bakterií z čeledi Enterobacteriaceae a to $3,1$ až $3,5 \log \text{KTJ.cm}^{-2}$.

V Nařízení Komise (ES) č. 2073/2005 o mikrobiologických kritériích po potraviny je dán limit pro jatečně upravená těla skotu $1,5$ až $2,5 \log \text{KTJ.cm}^{-2}$ pro bakterie z čeledi

Enterobacteriaceae. Tato kritéria se ovšem vztahují na fázi jatečně upravených těl po úpravě, ale před chlazením. Námi zjištěný počet bakterií z čeledi Enterobacteriaceae den po porážce byl u roštěnce 1,6 log KTJ.cm⁻² (5,00 . 10¹ KTJ.cm⁻²) a u kýty 1,7 log KTJ.cm⁻² (5,10 . 10¹ KTJ.cm⁻²), což je v porovnání s výše zmíněným nařízením v limitu a koresponduje s výsledky Hauge a kol. (2015) a tudíž není pravděpodobně, že bylo maso fekálně kontaminováno při porážce.

Počty mikroorganismů jsou v sloupcových obrázcích vyjádřeny jako průměrné hodnoty (log KTJ. g⁻¹/cm⁻²) ze celou dobu zrání.



Obrázek 8 Porovnání bakterií z čeledi Enterobacteriaceae (log KTJ.g⁻¹/cm⁻²) na povrchu a uvnitř roštěnce a šálu (n=12).

Změny počtu v průběhu zrání

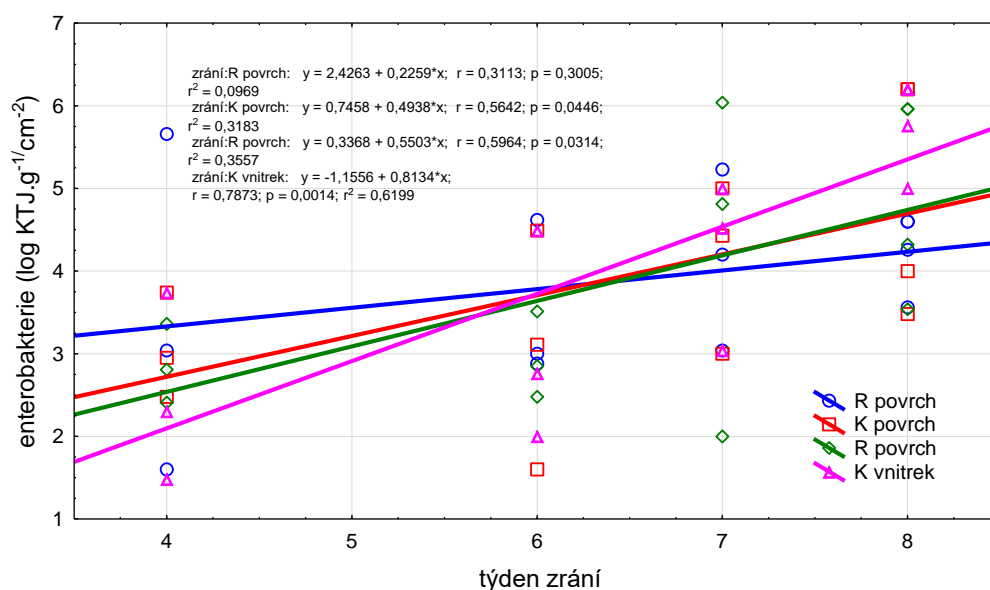
Z regresní analýzy vyplývá (obrázek č. 9), že během 8. týdnů zrání došlo ke zvýšení ($p < 0,05$) počtu bakterií z čeledi Enterobacteriaceae na povrchu kýty, resp. ve vnitřní části roštěnce a kýty. Na povrchu roštěnce nedošlo ke změně v počtech ($p > 0,05$), i když je patrná tendence zvyšování.

Na začátku zrání (den po porážce) byla kontaminace na povrchu i uvnitř obou analyzovaných částí JUT (roštěnec, kýta) na úrovni 10¹ KTJ.cm⁻², resp. 10¹ KTJ.g⁻¹. Nejvyšší počty byly nalezeny na vzorcích roštěnce v 6. a 7. týdnu, a to v hladině 10⁴ až 10⁵ KTJ.cm⁻², u šálu z kýty v 7. týdnu v hladině 10⁶ KTJ.cm⁻².

Od 2. do 4. týdne byly zjištěny počty uvnitř obou analyzovaných částí v úrovni 10² – 10⁴ KTJ.g⁻¹. Nejvyšší počet bakterií byl nalezen u roštěnce v 7. týdnu zrání u třetí

porážky ($1,1 \cdot 10^6$ KTJ.g⁻¹). U kýty (šálu) byl zjištěn nejvyšší počet bakterií v 8. týdnu taktéž u třetí porážky ($7,0 \cdot 10^6$ KTJ.g⁻¹).

Reid a kol., (2017a) zjistili po 6. týdnech skladování vakuově baleného hovězího masa nižší počty enterobakterií, a to v 6. týdnu 1,75 log KTJ.cm⁻². Námi zjištěná úroveň kontaminace enterobakteriemi v 6. týdnu byla v řádu 2 – 3 log KTJ.cm⁻², což mohlo být způsobeno vlivem špatné hygieny při manipulaci s hovězím masem, tj. při chlazení, přepravě, balení (Steinhauser a kol., 1995). K balení došlo až na univerzitě, kde byly vzorky hovězího masa naplátkovány, zabaleny a uloženy ke zrání.



Obrázek 9 Změny enterobakterií (log KTJ.g⁻¹) v průběhu zrání roštěnce a kýty (šálu), povrch roštěnce je označen modře, povrch kýty (šálu) červeně, vnitřek roštěnce zeleně a vnitřek kýty (šálu) fialově.

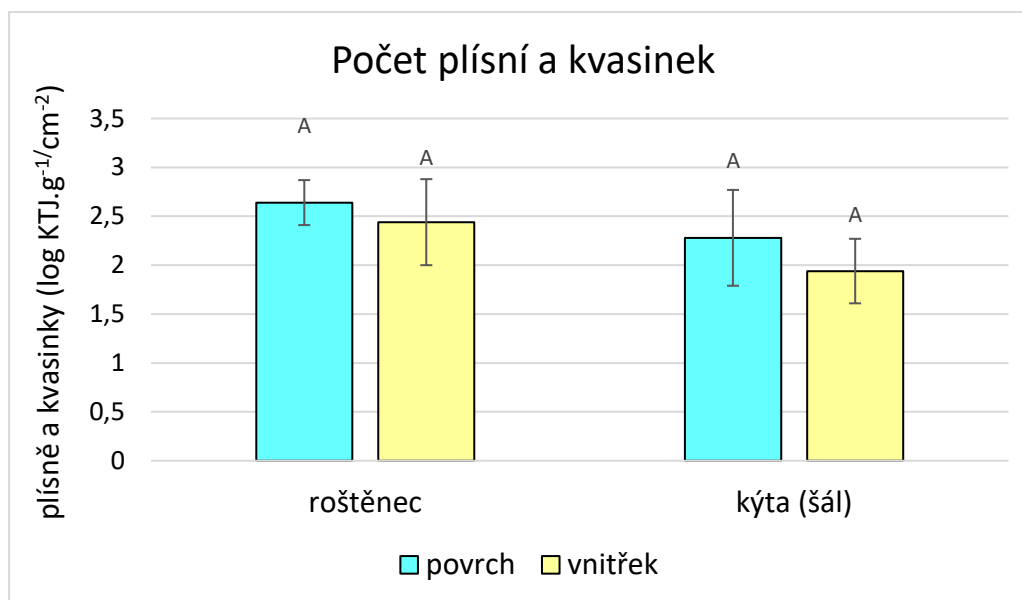
5.1.1.3 Plísně a kvasinky

Mezi povrchy roštěnce a kýty, resp. mezi vnitřní částí roštěnce a kýty nebyl nalezen ($p > 0,05$) rozdíl v počtech plísní a kvasinek. Počet plísní a kvasinek byl na povrchu roštěnce 2,64 log KTJ.cm⁻² ($4,4 \cdot 10^2$ KTJ.cm⁻²) a u kýty 2,28 log KTJ.cm⁻² ($1,9 \cdot 10^2$ KTJ.cm⁻²). Počet plísní a kvasinek byl uvnitř roštěnce 2,44 log KTJ.g⁻¹ ($2,75 \cdot 10^2$ KTJ.g⁻¹) a kýty 1,94 log KTJ.g⁻¹ ($8,70 \cdot 10^1$ KTJ.g⁻¹), což je patrné z obrázku č. 10.

Kvasinky a plísně jsou mikroorganismy, které tvoří kolonie na selektivní půdě při 25 °C. Vyznačují se výraznou proteolytickou, lipolytickou a sacharolytickou činností a malou náročností na složení živin (Görner a Valík, 2004). Jsou častými původci kažení

potravin a mohou produkovat i řadu nebezpečných mykotoxinů. Jsou schopny růst i za velmi nepříznivých podmínek jako je nízká aktivita vody (a_w), extrémní hodnoty pH a teplot. Mají také velmi nízké nároky na množství živin v prostředí (Vlková a kol., 2009).

Počty mikroorganismů jsou v sloupcových obrázcích vyjádřeny jako průměrné hodnoty ($\log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}/\text{cm}^{-2}$) ze celou dobu zrání.

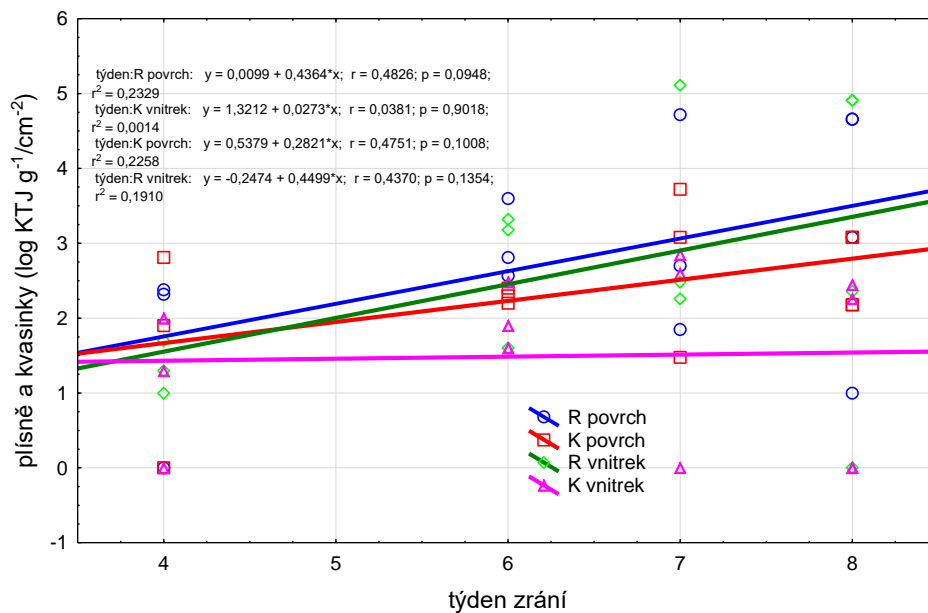


Obrázek 10 Porovnání počtu plísní a kvasinek ($\log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}/\text{cm}^{-2}$) na povrchu a uvnitř rošťence a šálu ($n=12$).

Změny počtu v průběhu zrání

Z regresní analýzy vyplývá, že se počty plísní a kvasinek na povrchu, resp. uvnitř rošťence a kýty v průběhu 8. týdnů zrání nezvyšovaly ($p > 0,05$), jak je patrné z obrázku č. 11.

Počet plísní a kvasinek byl do 4. týdne zrání na povrchu rošťence i kýty v rozmezí $10^1 - 10^2 \text{KTJ} \cdot \text{cm}^{-2}$. Od 7. týdne zrání došlo u obou částí k nárůstu v počtu plísní a kvasinek na $10^3 \text{KTJ} \cdot \text{cm}^{-2}$. Nejvyšší počet plísní a kvasinek byl v 7. a 8. týdnu na povrchu rošťence, a to v úrovni $10^4 \text{KTJ} \cdot \text{cm}^{-2}$. Tyto hodnoty mohly být projevem mikrobiálního kažení masa.



Obrázek 11 Změny počtu plísní a kvasinek ($\log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1} / \text{cm}^{-2}$) v průběhu zrání roštěnce a kýty (šálu), povrch roštěnce je označen modře, povrch kýty (šálu) červeně, vnitřek roštěnce zeleně a vnitřek kýty (šálu) fialově.

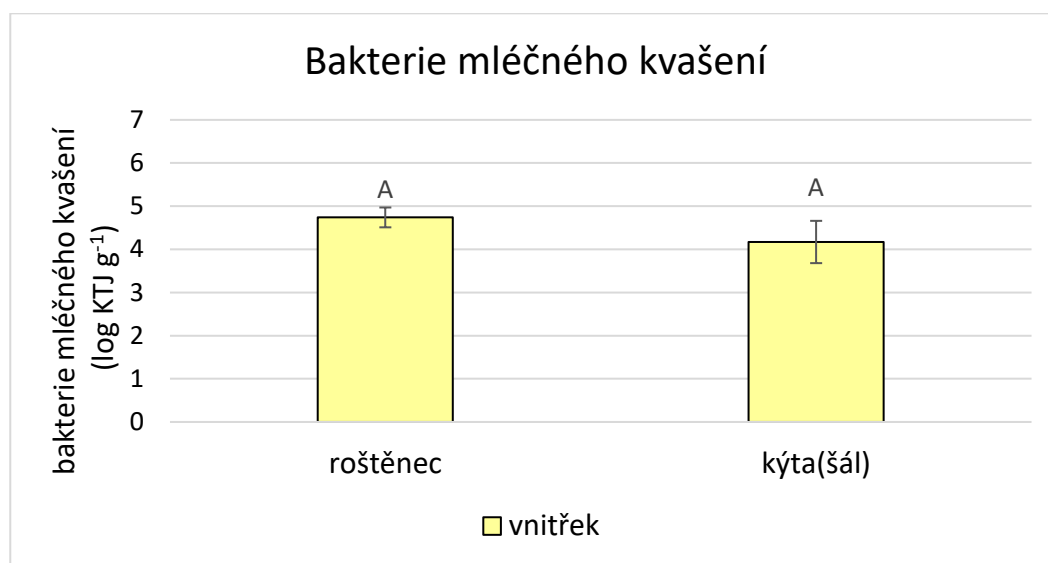
5.1.1.4 Bakterie mléčného kvašení

Počty bakterií mléčného kvašení (BMK) byly sledovány pouze uvnitř roštěnce a kýty (šálu). V počtech BMK nebyl nalezen ($p > 0,05$) mezi vnitřní částí roštěnce a vnitřní částí kýty rozdíl. Počet bakterií mléčného kvašení byl u roštěnce $4,74 \log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$ ($5,50 \cdot 10^4 \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$), u kýty $4,17 \log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$ ($1,48 \cdot 10^4 \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$), což je viditelné na obrázku č. 12.

Pojem bakterie mléčného kvašení zahrnuje skupinu rodů s podobnými fyziologickými znaky. Název této skupiny bakterií je odvozen od jejich schopnosti fermentovat sacharidy na kyselinu mléčnou (homofermentace) jako hlavní výsledný produkt. Při heterofermentaci vznikají kromě kyseliny mléčné rovněž kyseliny jablečná, jantarová, mravenčí, octová, ethanol a oxid uhličitý (Štegnarová a kol., 2007).

Bakterie mléčného kvašení tvoří součást bakteriálního osídlení respiračního systému a dominantní část mikroflóry trávicího traktu člověka a zvířat. Vykazují silný inhibiční efekt proti růstu a produkci toxinů ostatních přítomných bakterií. Těchto vlastností se využívá při zvýšení trvanlivosti a zdravotní nezávadnosti potravin. Při balení masa a masných výrobků jsou BMK faktorem, který významně negativně ovlivňuje jejich údržnost a senzorycké vlastnosti (Štegnarová a kol., 2007).

Počty mikroorganismů jsou v sloupcových obrázcích vyjádřeny jako průměrné hodnoty ($\log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$) ze celou dobu zrání.



Obrázek 12 Porovnání BMK ($\log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$) na povrchu a uvnitř roštěnce a šálu ($n=12$).

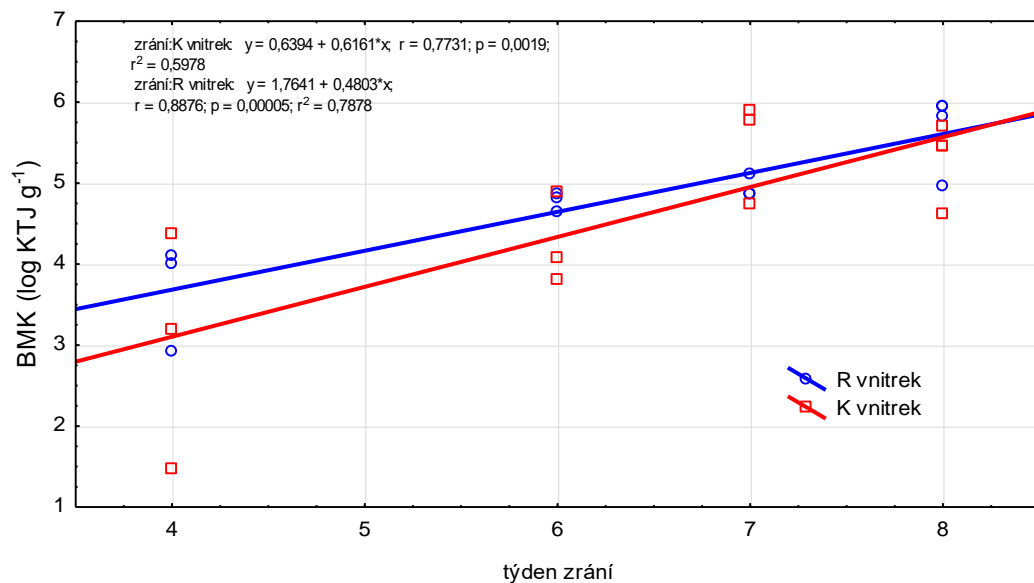
Změny počtů v průběhu zrání

Z regresní analýzy vyplývá, že se počty BMK v průběhu 8 týdnů zrání zvýšily ($p < 0,05$) u obou analyzovaných částí JUT, což je patrné z obrázku č. 13.

Počet bakterií mléčného kvašení byl na počátku analýzy (den po porážce) v úrovni $10^2 \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$. Počty BMK 2. týdny po porážce dosahovaly $10^3 \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$. Ve třetím týdnu zrání byly zaznamenány počty BMK v úrovni $10^3 \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$. Nejvyšší počet BMK byl zaznamenán u roštěnce i kýty v 8. týdnu zrání, kdy hodnoty dosahovaly u roštěnce $5,95 \log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$ ($8,90 \cdot 10^5 \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$) a u kýty $5,69 \log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$ ($4,90 \cdot 10^5 \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$).

Z námi zjištěných výsledků vyplývá, že značný negativní podíl na mikroflóře vakuově baleného hovězího masa mají právě bakterie mléčného kvašení, na což poukazuje i Doulgeraki a kol. (2012). Ten uvádí, že bakterie mléčného kvašení mají velký vliv na kažení hovězího masa uloženého ve vakuu nebo v modifikované atmosféře. Jedná se zejména o *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus sakei* a *Leuconostoc* ssp.

Pennacchia a kol. (2011) ve své studii uvádějí počet BMK na počátku skladování u hovězího masa v úrovni $10^2 \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$. Po dvaceti dnech skladování vakuově uloženého hovězího masa uvádějí počet BMK v úrovni $10^4 \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$, což odpovídá i našim výsledkům.



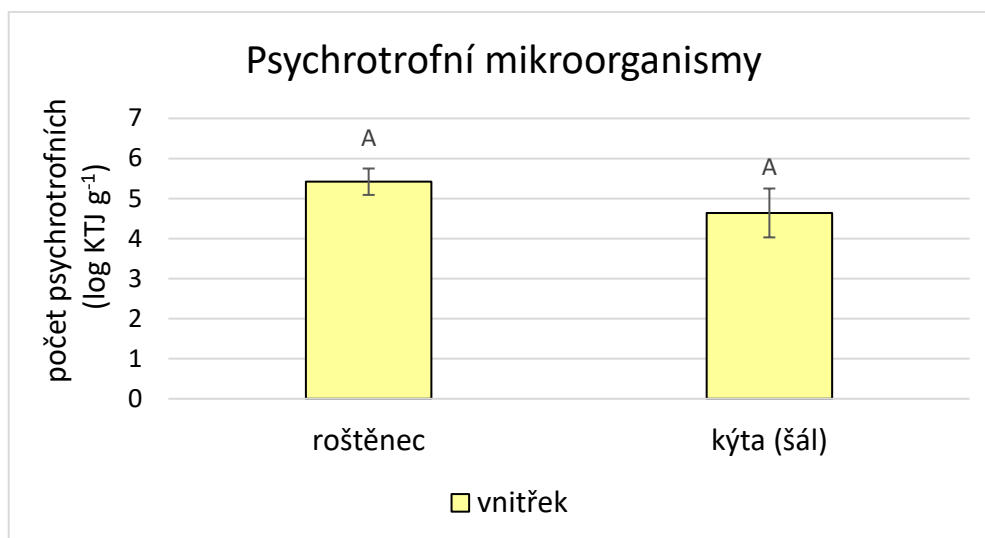
Obrázek 13 Změny počtu bakterií mléčného kvašení (log KTJ.g⁻¹) v průběhu zrání uvnitř roštěnce a kýty (šálu), vnitřek roštěnce je označen modře, vnitřek kýty (šálu) červeně.

5.1.1.5 Psychrotrofní mikroorganismy

Počty psychrotrofních mikroorganismů byly sledovány pouze uvnitř roštěnce a kýty (šálu). V počtu psychrotrofních mikroorganismů uvnitř roštěnce, resp. kýty, nebyl nalezen rozdíl ($p > 0,05$). Počet psychrotrofních bakterií byl u roštěnce $5,42 \log \text{KTJ.g}^{-1}$ ($2,63 \cdot 10^5 \text{KTJ.g}^{-1}$) a u kýty $4,64 \log \text{KTJ.g}^{-1}$ ($4,37 \cdot 10^4 \text{KTJ.g}^{-1}$).

Psychrotrofní mikroorganismy patří mezi mezofilní bakterie, které mají schopnost růst při teplotě 1 – 7 °C. Množení bakterií při těchto teplotách bývá velmi pomalé, k většímu nárůstu dochází do 10 dnů. Jsou indikátory mikrobiálního kažení potravin, které jsou skladovány při chladírenských teplotách. Ve většině případů se jedná o gram-negativní tyčinky s proteolytickou a lipolytickou aktivitou (Vlková a kol., 2009). Mezi zástupce patří *Pseudomonas* ssp., *Flavobacterium*, *Psychrobacter* aj.

Počty mikroorganismů jsou v sloupcových obrázcích vyjádřeny jako průměrné hodnoty (log KTJ. g⁻¹) ze celou dobu zrání.



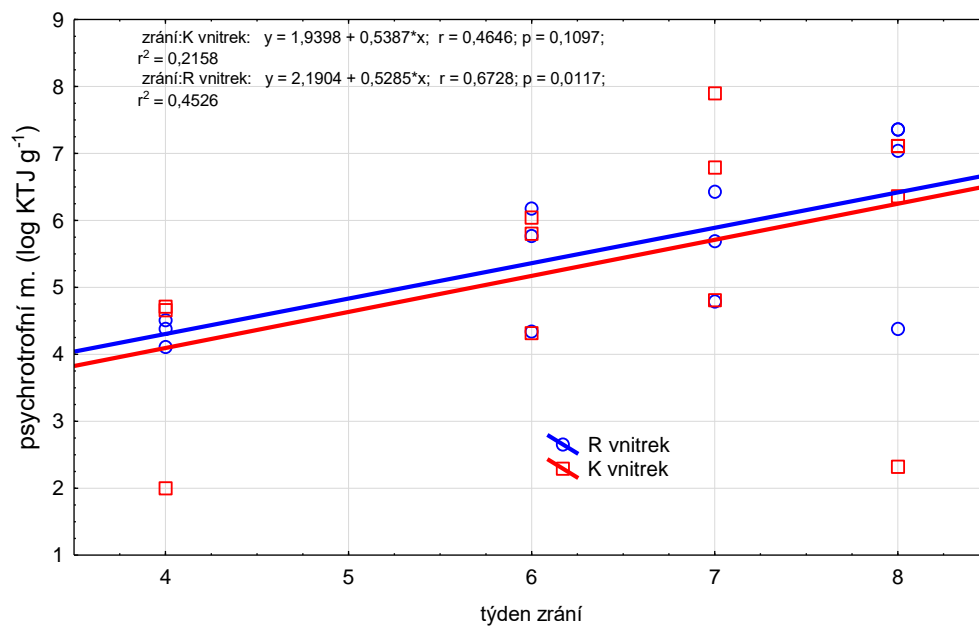
Obrázek 14 Porovnání psychrotrofních mikroorganismů ($\log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$) na povrchu a uvnitř rošťěnce a šálu ($n=12$).

Změny počtu v průběhu zrání

Z regresní analýzy vyplývá, že se uvnitř rošťěnce počty psychrotrofních mikroorganismů během 8 týdnů zrání zvýšily ($p < 0,05$). Naopak uvnitř šálu nedošlo ke změně ($p > 0,05$) v počtech psychrotrofních bakterií, i když je patrná tendence jejich zvyšování (Obrázek č. 15).

Počáteční počet psychrotrofních bakterií byl u obou sledovaných částí hovězího skotu v úrovni $10^3 \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$. Mezi 1. a 4. týdnem zrání kolísala hladina psychrotrofních bakterií v úrovni $10^2 - 10^3 \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$. Nejvyšší výskyt těchto bakterií zaznamenáváme v 7. a 8. týdnu, kdy u rošťěnce byla nejvyšší hodnota $2,30 \cdot 10^7 \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$ a u kýty (šálu) $1,32 \cdot 10^7 \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$.

Reid a kol. (2017b) zjistili, že během skladování vakuově baleného hovězího masa po dobu 6. týdnů, došlo ke zvýšení bakterií z rodu *Pseudomonas* na počet $4,42 \log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$ ($2,63 \cdot 10^4 \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$), jehož zástupci patří mezi hlavní psychrotrofní mikroorganismy masa. Námi zjištěný výsledek byl v 6. týdnu o něco vyšší (průměr všech hodnot ze 6. týdne je $5,51 \log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$), což je dáno faktem, že při naší analýze byl zjištěn počet všech psychrotrofních mikroorganismů.



Obrázek 15 Změny počtu psychrotrofních mikroorganismů ($\log \text{KTJ.g}^{-1}$) v průběhu zrání uvnitř roštěnce a kýty (šálu), vnitřek roštěnce je označen modře, vnitřek kýty (šálu) červeně.

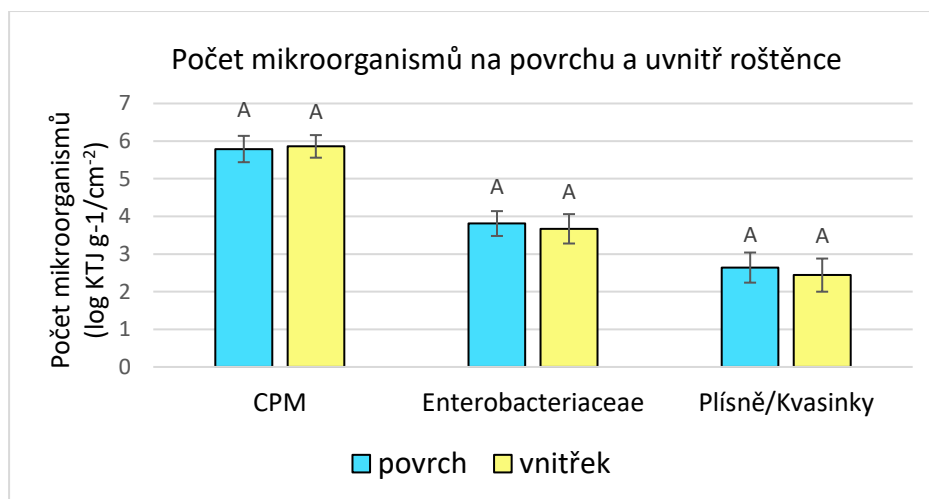
5.1.2 Porovnání počtu mikroorganismů mezi povrchem a vnitřní částí analyzovaných vzorků

Mezi vnitřní částí a povrchem roštěnce u námi sledovaných mikrobiologických ukazatelů nebyly nalezeny statisticky významné ($p > 0,05$) rozdíly v jejich počtech. Celkový počet bakterií byl na povrchu roštěnce $5,79 \log \text{KTJ.cm}^{-2}$ ($6,16 \cdot 10^5 \text{KTJ.cm}^{-2}$) a uvnitř $5,86 \log \text{KTJ.g}^{-1}$ ($7,24 \cdot 10^5 \text{KTJ.g}^{-1}$). Počet bakterií z čeledi Enterobacteriaceae byl na povrchu roštěnce $3,81 \log \text{KTJ.cm}^{-2}$ ($6,46 \cdot 10^3 \text{KTJ.cm}^{-2}$) a uvnitř $3,67 \log \text{KTJ.g}^{-1}$ ($4,68 \cdot 10^3 \text{KTJ.g}^{-1}$). Počet plísní a kvasinek byl na povrchu roštěnce $2,64 \log \text{KTJ.cm}^{-2}$ ($4,36 \cdot 10^2 \text{KTJ.cm}^{-2}$) a uvnitř $2,44 \log \text{KTJ.g}^{-1}$ ($2,75 \cdot 10^2 \text{KTJ.g}^{-1}$).

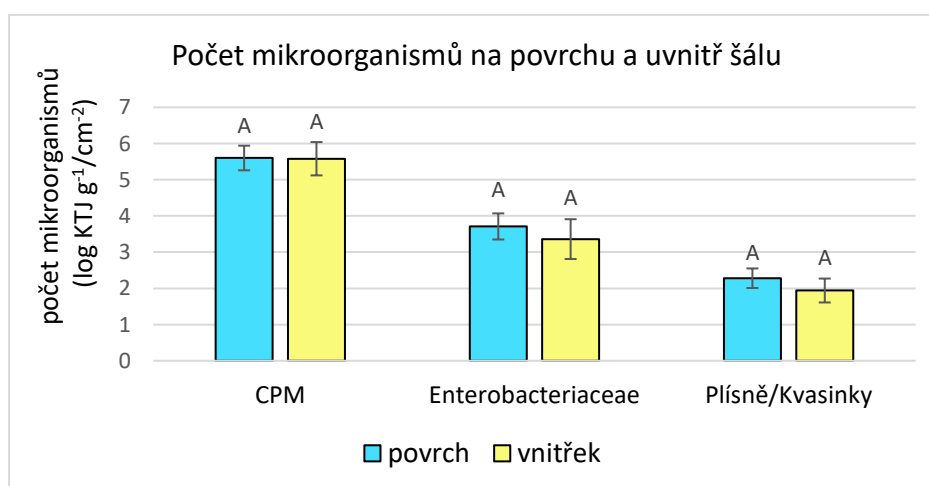
Taktéž mezi vnitřní částí a povrchem šálu nebyly nalezeny statisticky významné ($p > 0,05$) rozdíly v jejich počtech. Celkový počet bakterií byl na povrchu šálu $5,60 \log \text{KTJ.cm}^{-2}$ ($3,98 \cdot 10^5 \text{KTJ.cm}^{-2}$) a uvnitř $5,58 \log \text{KTJ.g}^{-1}$ ($3,80 \cdot 10^5 \text{KTJ.g}^{-1}$). Počet bakterií z čeledi Enterobacteriaceae byl na povrchu šálu $3,81 \log \text{KTJ.cm}^{-2}$ ($6,45 \cdot 10^3 \text{KTJ.cm}^{-2}$), uvnitř $3,36 \log \text{KTJ.g}^{-1}$ ($2,29 \cdot 10^3 \text{KTJ.g}^{-1}$). Počet plísní a kvasinek na povrchu šálu byl $2,28 \log \text{KTJ.cm}^{-2}$ ($1,90 \cdot 10^2 \text{KTJ.cm}^{-2}$) a uvnitř $1,94 \log \text{KTJ.g}^{-1}$ ($8,70 \cdot 10^1 \text{KTJ.g}^{-1}$).

Nepotvrdil se tedy známý fakt, že počet mikroorganismů je vyšší na povrchu jatečného těla, než uvnitř svaloviny (Steinhauser a kol., 1995). Tato skutečnost mohla být způsobena velikostí analyzovaných vzorků.

Abychom mohli porovnat počet mikroorganismů na povrchu a uvnitř analyzovaných vzorků, byla by potřeba mít vzorky silnější, neboť při rozboru vnitřní části vzorku musí být povrch dekontaminován opálením. Bruckner a kol. (2013) uvádí, že je potřeba aby vzorek vážil alespoň 170 g, což v našem případě nebylo možné vzhledem k počtu souběžně probíhajících analýz. Vzorky hovězího masa byly zkoumány z několika hledisek kvality. Kromě mikrobiologické analýzy, byla provedena také senzorická analýza, chemická analýza, sledování texturních vlastností a barvy hovězího masa.



Obrázek 16 Porovnání počtu mikroorganismů ($\log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1} / \text{cm}^2$) mezi povrchem a vnitřní částí roštěnce ($n=12$).



Obrázek 17 Porovnání počtu mikroorganismů ($\log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1} / \text{cm}^2$) mezi povrchem a vnitřní částí šálu ($n=12$).

6 ZÁVĚR

V současné době je ve společnosti diskutované téma zdravého stravování. Při dodržování zásad zdravého stravování je třeba klást důraz na vyváženost jídelníčku a konzumovat v přiměřeném množství ovoce, zeleninu, obilniny, ryby, mléčné výrobky a v neposlední řadě také maso. Hovězí maso je pro své složení ideální zásobárnou bílkovin a jiných látek. Snížený zájem o hovězí maso v České republice může být způsoben řadou aspektů. Jedním z nich je cena hovězího masa. Dalším z faktorů může být fakt, že v České republice byly často chovány krávy mléčných plemen a maso z těchto mnohdy starých kusů se dostalo ke spotřebiteli, který mohl být nespokojen se sensorickými vlastnostmi takového masa. Nyní se situace začíná měnit, chovají se u nás masná plemena, kdy maso z nich může spotřebiteli nabídnout daleko zajímavější sensorické vlastnosti. Ovšem nemůžeme hovořit jen o původu masa, je potřeba zmínit, že kvalitu hovězího masa ovlivňuje i aspekt věku, pohlaví, kondice zvířete, ale především zrání masa.

Cílem předložené práce bylo prostudovat problematiku zrání masa a mikrobiologii hovězího masa se zaměřením na významné druhy mikroorganismů. Předmětem mikrobiologické analýzy byly zejména skupiny mikroorganismů způsobující kažení masa. V průběhu 8. týdnů zrání byla sledována mikrobiologická kvalita hovězího masa z hlediska anatomické části skotu (nízký roštěnec a vrchní šál z kýty). Dále byly porovnány rozdíly v mikrobiologické kvalitě na povrchu a ve vnitřní části jednotlivých vzorků bez ohledu na dobu zrání. Na povrchu a uvnitř roštěnce a kýty byl sledován celkový počet mikroorganismů, bakterie z čeledi Enterobacteriaceae a počet plísní a kvasinek. Ve vnitřní části vzorků byly navíc sledovány počty bakterií mléčného kvašení a počty psychrotrofních mikroorganismů.

Mezi povrchem a vnitřní částí roštěnce, resp. kýty se počty sledovaných skupin mikroorganismů nelišily ($p > 0,05$). Nepotvrdil se tedy známý fakt, že počet mikroorganismů na povrchu je vyšší než uvnitř svaloviny, což mohlo být v našem případě dáno velikostí vzorků. Abychom mohli porovnat počet mikroorganismů na povrchu a uvnitř analyzovaných vzorků, byla by potřeba mít vzorky silnější, neboť při rozboru vnitřní části vzorku musí být povrch dekontaminován opálením. Odborná literatura uvádí, že je potřeba aby vzorek vážil alespoň 170 g, což v našem případě nebylo možné vzhledem k počtu souběžně probíhajících analýz. Vzorky hovězího masa byly zkoumány z několika hledisek kvality. Kromě mikrobiologické analýzy, byla provedena

také senzorická analýza, chemická analýza a sledování texturních vlastností a barvy hovězího masa.

Během 8 týdnů zrání došlo k nárůstu ($p < 0,05$) CPM na povrchu i uvnitř obou analyzovaných částí. Na počátku mikrobiologické analýzy (den po porážce), bylo zjištěno, že počty mikroorganismů na povrchu a uvnitř roštěnce a šálu byly v hodnotách 10^2 KTJ.g⁻¹. Odborná literatura uvádí, že dodržováním zásad správné hygienické praxe, lze dosáhnout úrovně kontaminace 10^3 KTJ.g⁻¹. Námi zjištěná hodnota byla nižší, a proto usuzuji, že na jatkách byla dodržena správná hygienická praxe. K překročení hranice 10^6 KTJ.g⁻¹ nebo cm⁻², kterou uvádí dnes již neplatná vyhláška č. 132/2004 Sb. docházelo od 6. týdne zrání.

Počáteční kontaminace enterobakteriemi byla nepatrná, ke zvýšení docházelo až v průběhu skladování, a to na povrchu kýty a uvnitř obou analyzovaných částí. Proto se domnívám, že maso nebylo fekálně kontaminováno během porážky, ale k nárůstu mikroorganismů došlo vlivem sekundární kontaminace během chlazení, plátkování či balení masa. Výrazný podíl na mikroflóře vakuově baleného hovězího masa měly bakterie mléčného kvašení. Počet psychrotrofních mikroorganismů se zvýšil ($p < 0,05$) jen uvnitř roštěnce. U kvasinek nebyla prokázána jejich zvyšující se ($p > 0,05$) tendence během zrání.

Literatura často uvádí dobu zrání pro hovězí maso 10 – 14 dní. S ohledem na zjištěné výsledky mikrobiologických analýz, doporučuji dobu zrání vakuově baleného hovězího masa 2 – 4 týdny. Delší dobu s ohledem k rozvoji mikrobiální populace nedoporučuji.

7 POUŽITÉ ZDROJE

ABDELBARY, M.M.H., P. BASSET, D.S. BLANC a E.J. FEIL, 2017: The Evolution and Dynamics of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Genetics and Evolution of Infectious Diseases* [online]. Elsevier, s. 553 [cit. 2017-03-11]. ISBN 9780127999425. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B978012799942500024X>

ADAMS, M.R. a M.O. Moss, 2008: *Food microbiology*. 3. vyd., Cambridge: The Royal Society of chemistry, s. 236-245.

AKHTAR M. a kol., 2017: Isolation, characterization and evaluation of virulent bacteriophages against *Listeria monocytogenes*. *Food Control* [online]. 75, s. 108-115 [cit. 2017-03-16]. DOI: 10.1016/j.foodcont.2016.12.035. ISSN 09567135. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713516307253>

ÁNGEL USERA, M. a kol., 2003: Caracterización de un nuevo serotipo de *Salmonella enterica* subespecie *enterica*: serotipo Bata. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* [online]. 21(3), s. 168-169 [cit. 2017-01-23]. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0213005X03729103?np=y>

ANTIC, D. a kol., 2010: Distribution of microflora on cattle hides and its transmission to meat via direct contact. *Food Control* [online]. 21(7), s. 1025-1029 [cit. 2017-03-06]. DOI: 10.1016/j.foodcont.2009.12.022. ISSN 09567135. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S095671350900348X>

BINKE R., 2004: Vom Muskel zum Fleisch. *Fleischwirtschaft*, 84, s. 224-227.

BARBUT, S. a kol., 2008: Progress in reducing the pale, soft and exudative (PSE) problem in pork and poultry meat. *Meat Science* [online]. Elsevier, (79), s. 46-63 [cit. 2017-03-12]. DOI: 10.1016/j.meatsci.2007.07.031. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0309174007002732>

BELL, Ch. a A. KYRIAKIDES, 2002a: *Foodborne pathogens: hazards, risk analysis, and control*. Cambridge, England: Woodhead. ISBN 1855734540.

BELL, Ch. a A. KYRIAKIDES, 2002b: *Salmonella: a practical approach to the organism and its control in foods*. Malden, Mass.: Blackwell Science. ISBN 0632055197

BELL, Ch. a A. KYRIAKIDES, 2005: *Listeria: a practical approach to the organism and its control in foods*. 2nd ed. Ames, Iowa, USA: Iowa State Press. ISBN 1405106182.

BRUCKNER, S., A. ALBRECHT, B. PETERSEN a J. KREYENSCHMIDT, 2013: A predictive shelf life model as a tool for the improvement of quality management in pork and poultry chains. *Food Control* [online]. 29(2), s. 451-460 [cit. 2017-04-06]. DOI: 10.1016/j.foodcont.2012.05.048. ISSN 09567135. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956713512002824>

BUCHANAN, R. a kol., 2017: A review of *Listeria monocytogenes*: An update on outbreaks, virulence, dose-response, ecology, and risk assessments. *Food Control* [online]. 75, s. 1-13 [cit. 2017-02-06]. ISSN 09567135. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956713516306892>

BURDYCHOVÁ, R. a P. SLÁDKOVÁ, 2007: *Mikrobiologická analýza potravin*. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně. ISBN 978-80-7375-116-6.

CASABURI, A. a kol. 2014a: Bacterial populations and the volatilome associated to meat spoilage, *Food Microbiology*. [online]. 45, s. 83-102 [cit. 2016-11-18]. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0740002014000276>

CASABURI, A. a kol., 2014b: Activities of strains of *Brochothrix thermosphacta* in vitro and in meat. *Food Research International* [online]. (62), s. 366-374 [cit. 2016-11-18]. DOI: 10.1016/j.foodres.2014.03.019 0963-9969. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996914001884>

CRUZEN, S., P. V.R. PAULINO a S. M. LONERGAN, 2014: Postmortem proteolysis in three muscles from growing and mature beef cattle [online]. In: *Meat Science*, s. 854-861 [cit. 2016-09-22]. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0309174013005391>

DE FILIPPIS, F., C. PENNACCHIA, R. DI PASQUA, A. FIORE, a kol., 2013: Decarboxylase gene expression and cadaverine and putrescine production by *Serratia proteamaculans* in vitro and in beef. *International Journal of Food Microbiology* [online]. 165(3), s. 332-338 [cit. 2016-11-07]. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2013.05.021. ISSN 01681605. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160513002687>

DE SMET, S. a E. VOSSSEN, 2016: Meat: The balance between nutrition and health. A review. *Meat Science* [online]. 120, s. 145-156 [cit. 2017-03-18]. DOI: 10.1016/j.meatsci.2016.04.008. ISSN 03091740. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0309174016301012>

DOMÉNECH, E., J.A. AMORÓS, M. PÉREZ-GONZALVO a I. ESCRICHE, 2011: Implementation and effectiveness of the HACCP and pre-requisites in food establishments. *Food Control* [online]. 22(8), s. 1419-1423 [cit. 2017-03-08]. ISSN 09567135. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956713511000843>

DOSTÁLOVÁ, J., 2011: Tuky v potravinách a jejich nutriční hodnocení. In: *Interní medicína pro praxi*. [online] 13(9), s. 347-349. [cit. 2017-03-11]. Dostupné z: <http://www.internimedicina.cz/pdfs/int/2011/09/08.pdf>

DOULGERAKI, A. I., 2012: Spoilage microbiota associated to the storage of raw meat in different conditions. *International Journal of Food Microbiology* [online]. 157(2), s. 130-141 [cit. 2017-03-30]. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2012.05.020. ISSN 01681605. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168160512002814>

DRÁPAL, J., K. ETTLEROVÁ, J. HAJŠLOVÁ a P. HLÚBIK a kol., 2005: *Alimentární onemocnění: infekce a otravy z potravin*. [online] [cit. 2017-02-12] Brno: Vědecký výbor pro potraviny. Dostupné z: http://czvp.szu.cz/vedvybor/dokumenty/studie/alim_2005_1_deklas_rev2.pdf

DUFFY, G., E. CUMMINS, P. NALLY, S. O' BRIEN a F. BUTLER, 2006: A review of quantitative microbial risk assessment in the management of Escherichia coli O157: H7 on beef. *Meat Science* [online]. 2006, 74(1), 76-88 [cit. 2017-04-26]. DOI: 10.1016/j.meatsci.2006.04.011. ISSN 03091740. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0309174006001136>

EDITED BY CLIVE DE W. BLACKBURN AND PETER J. MCCLURE, 2009: *Foodborne pathogens: hazards, risk analysis, and control*. 2. vyd. Boca Raton, Fla: CRC Press. ISBN 978-184-5693-626.

EPELBOIN, L. a P. BOSSI. 2011: Listeriosis. *EMC – Tratado de Medicina* [online]. 15(1), s. 1-8 [cit. 2017-02-06]. DOI: 10.1016/S1636-5410(11)70968-0. ISSN 16365410. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1636541011709680>

GÖRNER, F. a L. VALÍK, 2004: *Aplikovaná mikrobiológia požívatin: princípy mikrobiológie požívatin, potravinársky významné mikroorganizmy a ich skupiny, mikrobiológia potravinárskych výrob, ochorenia mikrobiálneho pôvodu, ktorých zárodoky sú prenášané požívatinami*. 1. vyd. Bratislava: Malé centrum. ISBN 80-967-0649-7.

HAUGE, S. J. a kol., 2015: The significance of clean and dirty animals for bacterial dynamics along the beef chain. *International Journal of Food Microbiology* [online]. 214, s. 70-76 [cit. 2017-03-20]. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2015.07.026. ISSN 01681605. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168160515300805>

HUANG, F. a kol., 2014: Cleavage of the calpain inhibitor, calpastatin, during postmortem ageing of beef skeletal muscle. *Food Chemistry* [online]. 148, s. 1-6 [cit. 2017-03-13]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2013.10.016. ISSN 03088146. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814613014489>

CHIEN, S.-Y., S. SHEEN, Ch. SOMMERS a L.-Y. SHEEN, 2017: Modeling the inactivation of Escherichia coli O157: H7 and Uropathogenic E. coli in ground beef by high pressure processing and citral. *Food Control* [online]. 73, s. 672-680 [cit. 2017-03-

19]. DOI: 10.1016/j.foodcont.2016.09.017. ISSN 09567135. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956713516305096>

INGR, I., 2003a: Zrání masa a jeho praktický význam. In: *Český svaz zpracovatelů masa* [online] [cit. 2016-09-22]. Dostupné z: <http://www.cszm.cz/clanek.asp?typ=1&id=894>

INGR, I. 2003b. Atypické zrání a kažení masa. In: *Český svaz zpracovatelů masa*. [online]. [cit. 2016-11-15]. Dostupné z: <http://www.cszm.cz/clanek.asp?typ=1&id=895>

INGR, I., 2011: *Produkce a zpracování masa*. 2. vyd. Brno: Mendelova univerzita v Brně. ISBN 978-80-7375-510-2.

JÄÄSKELÄINEN, E. a J. HULTMAN, 2016: Development of spoilage bacterial community and volatile compounds in chilled beef under vacuum or high oxygen atmospheres. *International Journal of Food Microbiology* [online]. 223, s. 25-32 [cit. 2016-10-23]. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160516300344>

JARVIS, N. A. a kol., 2016: An overview of Salmonella thermal destruction during food processing and preparation. *Food Control* [online]. 68, s. 280-290 [cit. 2017-03-16]. DOI: 10.1016/j.foodcont.2016.04.006. ISSN 09567135. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S095671351630175X>

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

KATINA, J. a F. KŠÁNA, 2012: *Hovězí a vepřové maso*. Praha: Sdružení českých spotřebitelů pro Českou technologickou platformu pro potraviny. Jak poznáme kvalitu? ISBN 978-80-904633-6-3.

MBEREMA, Ch. H. H., G. LIETZ, I. KYRIAZAKIS a O. A.E. SPARAGANO, 2016: The effects of gender and muscle type on the mRNA levels of the calpain proteolytic system and beef tenderness during post-mortem aging. *Livestock Science* [online]. 185, s.

123-130 [cit. 2017-02-25]. ISSN 18711413. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1871141316300208>

MOJTO, J. a K. ZAUJEC, 2001: Aktuálne údaje o chemickom zložení a nutričnej hodnote masa hospodárskych a divých zvierat. *Maso*. 4, s. 39-41.

MUNGURE, T. E., A. El-Din A. BEKHIT a E. J. BIRCH a kol., 2016: Effect of rigor temperature, ageing and display time on the meat quality and lipid oxidative stability of hot boned beef Semimembranosus muscle. *Meat Science* [online]. Elsevier, (114), s. 146-153 [cit. 2017-03-12]. DOI: 10.1016/j.meatsci.2015.12.015. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0309174015301534>

Nařízení Komise (ES) č. 2073/2005 ze dne 15. listopadu 2005 o mikrobiologických kritériích pro potraviny. [online] [cit. 2016-03-26]. Dostupné z: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=CELEX%3A32005R2073>

Nařízení Komise (ES) č. 178/2002 ze dne 28. ledna 2002, kterým se stanoví obecné zásady a požadavky potravinového práva. [online] [cit. 2017-04-10]. Dostupné z: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/ALL/?uri=CELEX%3A32002R0178>

NYCHAS, G-J.E. a E.H. DROSINOS, 2014: MEAT AND POULTRY Spoilage of Meat. *Encyclopedia of Food Microbiology* [online]. Elsevier, s. 514-519 [cit. 2016-10-29]. DOI: 10.1016/B978-0-12-384730-0.00194-4. ISBN 9780123847331. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780123847300001944>

NUBIATO, K. E. Z. a kol., 2016: Classifying of Nellore cattle beef on Normal and DFD applying a non conventional technique. *Infrared Physics & Technology* [online]. 78, s. 195-199 [cit. 2017-02-25]. ISSN 13504495. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1350449516301906>

OH, M. a kol., 2016: Chemical compositions, free amino acid contents and antioxidant activities of Hanwoo (*Bos taurus coreanae*) beef by cut. *Meat Science* [online]. 119, s. 16-

21 [cit. 2017-03-13]. DOI: 10.1016/j.meatsci.2016.04.016. ISSN 03091740. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0309174016301024>

RAJAGOPAL, S., L. M. MCMULLEN, C. O. GILL a X. YANG, 2016: Characterization of germination of spores of *Clostridium estertheticum*, the primary causative agent of blown pack spoilage of vacuum packaged beef. In: *Food Research International* [online], s. 109-114 [cit. 2016-10-29]. ISSN 09639969. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0963996916302769>

PENNACCHIA, C., D. ERCOLINI a F. VILLANI, 2011: Spoilage-related microbiota associated with chilled beef stored in air or vacuum pack. *Food Microbiology* [online]. 28(1), s. 84-93 [cit. 2017-03-30]. DOI: 10.1016/j.fm.2010.08.010. ISSN 07400020. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0740002010002212>

PIGHIN, D., A. PAZOS, V. CHAMORRO a kol., 2016: A Contribution of Beef to Human Health: A Review of the Role of the Animal Production Systems. *The Scientific World Journal* [online]., s. 1-10 [cit. 2016-09-07]. ISSN 2356-6140. Dostupné z: <http://www.hindawi.com/journals/tswj/2016/8681491/>

REID, R. a kol., 2017a: The microbiology of beef carcasses and primals during chilling and commercial storage. *Food Microbiology* [online]. 61, s. 50-57 [cit. 2017-03-27]. DOI: 10.1016/j.fm.2016.08.003. ISSN 07400020. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0740002016304221>

REID, R. a kol., 2017b: Comparison of hot versus cold boning of beef carcasses on bacterial growth and the risk of blown pack spoilage. *Meat Science* [online]. 125, s. 46-52 [cit. 2017-04-06]. DOI: 10.1016/j.meatsci.2016.11.012. ISSN 03091740. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0309174016305356>

RISIUS, A. a U. HAMM, 2017: The effect of information on beef husbandry systems on consumers' preferences and willingness to pay. *Meat Science* [online]. 124, s. 9-14 [cit. 2017-03-13]. DOI: 10.1016/j.meatsci.2016.10.008. ISSN 03091740. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0309174016303953>

ROUBALOVÁ, M. a J. VODIČKA, 2014: *Situační a výhledová zpráva: Skot – hovězí maso*. Praha: Ministerstvo zemědělství. ISSN 1211-7692. Dostupné z: http://eagri.cz/public/web/file/445839/Skot_2015_Web.pdf

SCOLLAN, N. a kol., 2014: Enhancing the nutritional and health value of beef lipids and their relationship with meat quality. *Meat Science* [online]. 97(3), s. 384-394 [cit. 2017-03-11]. DOI: 10.1016/j.meatsci.2014.02.015. ISSN 03091740. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0309174014000606>

STEINHAUSER, L. 1995: *Hygiena a technologie masa*. Brno: LAST. ISBN 80-900260-4-4.

STEINHAUSER L. a I. STEINHAUSEROVÁ, 2000: Chemické a biochemické složení masa – svalů, s. 24-36. In: STEINHAUSER L. et al., *Produkce masa*, LAST, Brno, 464 s., ISBN 80-900260-7-9.

SUTHERLAND, J. a A. VARAM, 2002: Enterotoxin-producing *Staphylococcus*, *Shigella*, *Yersinia*, *Vibrio*, *Aeromonas* and *Plesiomonas*. In: *Foodborne pathogens: hazards, risk analysis, and control*. Cambridge, England: Woodhead, s. 396-398. ISBN 185573454

ŠILHÁNKOVÁ, L., V. RADA a J. KILLER, 2002: *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnologii*. Vyd. 3., opr. a dopl., v nakl. Academia 1. vyd. Praha: Academia. ISBN 80-200-1024-6.

ŠTEGNEROVÁ H., E. NÁPRAVNÍKOVÁ, I. STEINHAUSEROVÁ A P. ŠVEC, 2007: Identifikace bakterií mléčného kvašení v mase baleném v podmínkách ochranné atmosféry. *Veterinářství* [online]. 57, s. 39-42 [cit. 2017-04-10]. Dostupné z: <http://vetweb.cz/identifikace-bakterii-mlacneho-kvaseni-v-mase-balenem-v-podminkach-ochranné-atmosféry/>

TAO, T. a kol., 2017: Investigation on prevalence of *Listeria* spp. and *Listeria monocytogenes* in animal-derived foods by multiplex PCR assay targeting novel genes. *Food Control* [online]. 73, s. 704-711 [cit. 2017-03-16]. DOI: 10.1016/j.foodcont.2016.09.026. ISSN 09567135. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956713516305187>

UPMANN, M. a kol., 2000: Die Mikrobiologie von Kälte behandeltem Fleisch. In: *Fleischwirtschaft*, 80 (8), s. 90 – 97.

VLKOVÁ, E., V. RADA a J. KILLER, 2009: *Potravinářská mikrobiologie*. 2. vyd. V Praze: Česká zemědělská univerzita. ISBN 978-80-213-1988-2.

Vyhláška 132/2004 Sb., o mikrobiologických požadavcích na potraviny, způsobu jejich kontroly a hodnocení. Online. [cit. 2017-03-26]. Dostupné z: www.bezpecnostpotravin.cz/attachments/132-2004mikrobiol.doc

WAŚKIEWICZ, A. a L. IRZYKOWSKA, 2014: *Flavobacterium* spp. – Characteristics, Occurrence, and Toxicity. *Encyclopedia of Food Microbiology* [online]. Elsevier. s. 938 [cit. 2016-11-07]. ISBN 9780123847331. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780123847300001269>

WALKER, E., C. PRITCHARD a S. FORSYTHE, 2003: Hazard analysis critical control point and prerequisite programme implementation in small and medium size food businesses. *Food Control*. Elsevier, 14, s. 169-174. [cit. 2017-03-08]. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713502000610>

WANG, Y. a X. PAN. 2014: Bacteria: *Proteus*. *Encyclopedia of Food Safety* [online]. Elsevier, s. 486-489 [cit. 2016-11-18]. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780123786128001086>

WILDSAW, G.A., CHEASTY T., SMITH H.R., 2000: *Escherichia coli*. In: Lund B.M., Baird-Parker, T.C. a GOULD G.W. *The microbiological safety and quality of food II*. Gaithersburg Maryland: Aspen Publishers, s. 1136-1177. ISBN 0-8342-13323-0.

8 SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 <i>Deset největších producentů hovězího masa (dle Kameníka a kol., 2014) ..</i>	12
Tabulka 2 <i>Průřez spotřeby masa v kg na osobu za rok (Roubalová a Vodička, 2014).</i>	13
Tabulka 3 <i>Rody bakterií běžně se vyskytující u syrového masa (Casaburi a kol., 2014a)</i>	22
Tabulka 4 <i>Analýza nebezpečí při jatečném zpracování skotu (systém HACCP).....</i>	35
Tabulka 5 <i>Základní údaje</i>	39
Tabulka 6 <i>Termíny porážky a analýz.....</i>	39

9 SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Schéma šíření <i>Salmonelly ssp.</i> (dle Adams a Moss, 2008)	28
Obrázek 2 Schéma šíření <i>Listeria monocytogenes</i> (dle Adams a Moss, 2008)	30
Obrázek 3 Vzorky roštěnce a kýty	39
Obrázek 4 Základní dělení hovězí půlky (Ingr, 2011)	39
Obrázek 5 Připravené půdy ke sterilaci	42
Obrázek 6 Porovnání celkového počtu mikroorganismů ($\log \text{KTJ.g}^{-1}/\text{cm}^{-2}$) na povrchu a uvnitř roštěnce a šálu ($n=12$).	48
Obrázek 7 Změny CPM ($\log \text{KTJ.g}^{-1}/\text{cm}^{-2}$) v průběhu zrání roštěnce a kýty (šálu), povrch roštěnce je označen modře, povrch kýty (šálu) červeně, vnitřek roštěnce zeleně a vnitřek kýty (šálu) fialově.	49
Obrázek 8 Porovnání bakterií z čeledi <i>Enterobacteriaceae</i> ($\log \text{KTJ.g}^{-1}/\text{cm}^{-2}$) na povrchu a uvnitř roštěnce a šálu ($n=12$).	51
Obrázek 9 Změny enterobakterií ($\log \text{KTJ.g}^{-1}$) v průběhu zrání roštěnce a kýty (šálu), povrch roštěnce je označen modře, povrch kýty (šálu) červeně, vnitřek roštěnce zeleně a vnitřek kýty (šálu) fialově.	52
Obrázek 10 Porovnání počtu plísní a kvasinek ($\log \text{KTJ.g}^{-1}/\text{cm}^{-2}$) na povrchu a uvnitř roštěnce a šálu ($n=12$).	53
Obrázek 11 Změny počtu plísní a kvasinek ($\log \text{KTJ.g}^{-1}/\text{cm}^{-2}$) v průběhu zrání roštěnce a kýty (šálu), povrch roštěnce je označen modře, povrch kýty (šálu) červeně, vnitřek roštěnce zeleně a vnitřek kýty (šálu) fialově.	54
Obrázek 12 Porovnání BMK ($\log \text{KTJ.g}^{-1}$) na povrchu a uvnitř roštěnce a šálu ($n=12$).	55
Obrázek 13 Změny počtu bakterií mléčného kvašení ($\log \text{KTJ.g}^{-1}$) v průběhu zrání uvnitř roštěnce a kýty (šálu), vnitřek roštěnce je označen modře, vnitřek kýty (šálu) červeně.	56
Obrázek 14 Porovnání psychrotrofních mikroorganismů ($\log \text{KTJ.g}^{-1}$) na povrchu a uvnitř roštěnce a šálu ($n=12$).	57
Obrázek 15 Změny počtu psychrotrofních mikroorganismů ($\log \text{KTJ.g}^{-1}$) v průběhu zrání uvnitř roštěnce a kýty (šálu), vnitřek roštěnce je označen modře, vnitřek kýty (šálu) červeně.	58
Obrázek 16 Porovnání počtu mikroorganismů ($\log \text{KTJ.g}^{-1}/\text{cm}^{-2}$) mezi povrchem a vnitřní částí roštěnce ($n=12$).	59

Obrázek 17 *Porovnání počtu mikroorganismů ($\log \text{KTJ.g}^{-1}/\text{cm}^{-2}$) mezi povrchem a vnitřní částí šálu ($n=12$). 59*

10 SEZNAM ZKRATEK

ADP – adenosindifosfát

ATP – adenosintrifosfát

a_w – aktivita vody

CLA – konjugovaná kyselina linolová (Conjugated Linoleic Acid)

JUT – jatečně upravené tělo

MAP – balení v ochranné atmosféře (Modified Atmosphere Packaging)

MUFA – mononenasyčené mastné kyseliny (Monounsaturated Fatty Acids)

NaCl – chlorid sodný

PUFA – polynenasycené mastné kyseliny (Polyunsaturated Fatty Acids)

SFA – nasycené mastné kyseliny (Saturated Fatty Acids)

t – tuna

VP – vakuové balení (Vacuum Packaging)