




Mikrobiologické a chemické analýzy masa a masných výrobků

Školení pracovníků masného průmyslu
8.10.2013



RIGHT SOLUTIONS | RIGHT PARTNER

Analýzy dle platné legislativy




Mikrobiologické analýzy dle platné legislativy

- Povinnost analýz vyplývá z Nařízení Komise (ES) č. 2073/2005 o mikrobiologických kritériích pro potraviny a pozdějších novelizací (např. Nařízení ES 1441/2007)
- Potraviny by měly být prosté patogenních bakterií a jejich toxinů. V závislosti na druhu potraviny je zjišťována přítomnost bakterií rodu Salmonella, Listeria, Staphylococcus aj.
- Za zdravotní nezávadnost zodpovídá PPP (výrobce, dovozce, prodejce)
- Dle nařízení se potraviny k přímé spotřebě analyzují z 5-ti dílčích vzorků
- MO kritéria nastavena pro rizikové potraviny, výrobky
- Vyrobít zdravotně nezávadný výrobek - dodržení teplotního řetězce

2

Analýzy dle platné legislativy



Kontrolní analýzy dle platné legislativy

Kategorie potravin	Metoda odběru	Parametry	Platná legislativa
Jatečně upravené tělo (prasata, skot, ovce, kozy, koně)	Dvědílná metoda (pečeť, kůže)	CPM - mikrobiologické	Nařízení komise č. 1441/2007, kterým se mění nařízení č. 2073/2005
Jatečně upravená těla (prasata, skot, ovce, kozy, koně)	Chcok s následným hořelivem	Salmonella	
Jatečně upravená těla drůbeže (brusleři, krouci, krůty)	Smíšený vzorek kůže a krku	Salmonella	
Staty a vstříknuté maso (SOM)	5 dílčích vzorků	Salmonella, CPM, E. coli	
Pulchovny	5 dílčích vzorků	5 dílčích vzorků	
Mleté maso	5 dílčích vzorků	CPM, E. coli, Salmonella	
Masné výrobky určené ke spotřebě za syrova	5 dílčích vzorků	Salmonella	
Masné výrobky vyrobené v důležitých maso, určené ke spotřebě v tepelně upraveném stavu	5 dílčích vzorků	Salmonella	
Tepelně opracované masné výrobky	5 dílčích vzorků	státní mikrobiologický ústav, požad.	
Staty ze zvířecího	5 dílčích vzorků	Liseleni a monocytogenes průkaz	
Staty po dezinfekci	5 dílčích vzorků	CPM, Salmonella	Vyhláška 288/2007 Sb.

**Toto kritérium se nevztahuje na mleté maso vyrobené na úrovni maloobchodu, pokud je účinnost výrobku nižší než 24 hodin*

3

Analýzy dle platné legislativy

Otisk abrazivní houbičkou

- Otisk (dále jen stěr) se provádí dle Nařízení ES 2073/2005 z jatečně upravených těl.
- Provádí se na jatkách z připravených jatečně upravených těl – pěti vepřových a pěti hovězích.
- Ke stěru je potřeba abrazivní houbička (sterilní houbička ve sterilním plastovém sáčku), sterilní rukavice, šablona 10 x 10 cm a odběrový protokol, kde se uvede číslo vzorkovaného jatečně upraveného těla.
- Abrazivní houbičky a šablony poskytne laboratoř.

4

Analýzy dle platné legislativy

Stěry po dezinfekci z výrobního prostředí a zařízení

- Dle Vyhlášky 289/2007 Sb. o veterinárních a hygienických požadavcích na živočišné produkty předepsán limit celkového počtu mikroorganismů 100 KTJ a nepřítomnost Salmonella sp. z plochy 10x10 cm².
- Dle Nařízení Komise (ES) č. 2073/2005 a pozdějších novelizací je povinnost výrobců potravin provádět stěry ze zařízení na stanovení parametru Listeria monocytogenes – průkaz
- Možnost sledování i dalších mikroorganismů ve stěrech, např. enterobacteriaceae (E.coli, koliformní), Staphylococcus aureus...
- Stěrové sety a sterilní šablony dodá laboratoř.

5

Zpracování vzorků v laboratoři


Stanovení počtu mikroorganismů

- Navážka vzorku 10g
- Přidavek ředícího roztoku v poměru 1:9 (90ml)
- Homogenizace na stomacheru (zařízení pro dávkování ředícího roztoku a homogenizaci vzorku)
- Technika zalévání - 1 ml inokula zalit agarovou půdou
- Technika rozetření - 0,2 ml vzorku rozetřít sterilní tyčinkou po povrchu agarové půdy
- Inkubace v termostatu

Metoda průkazu - přítomnost mikroorganismů

- Navážka vzorku 25g
- Pomnožení v neselektivní tekuté půdě (v poměru 1:9)
- Selektivní pomnožení v 10ml tekuté půdě
- stanovení ELISOU nebo izolace na selektivní agarové půdy
- Konfirmace a identifikace



6

Zpracování vzorků v laboratoři 

Stanovení patogenů

ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay)

- Rychlá metoda pro detekci potravinových patogenů Salmonella sp. a Listeria monocytogenes
- ELISA je imunochemická metoda, jejíchž základem je reakce protilátek na antigen bakterií. Před vlastní imunodetekcí se bakterie pomnoží ve vzorcích potravin běžnými kultivačními metodami
- Vlastní stanovení je plně automatizované
- Negativní výsledek do 48 hodin od příjmu vzorku
- V případě pozitivního výsledku se provedou potvrzující testy dle příslušné referenční metody

7

Analýzy dle platné legislativy - KONTAMINANTY 

Nařízení Komise (ES) č. 1881/2006
kterým se stanoví maximální limity některých kontaminujících látek v potravinách a pozdější novelizace.

Na základě těchto limitů je nutné kontrolovat v konkrétních potravinách/surovinách předepsané kontaminanty.

Sledované kontaminanty u masa a masných výrobků:

- Olovo
- Kadmium
- Dioxiny a PCB
- Polycyklické aromatické uhlovodíky
- Benzo(a)pyren



Nařízení evropského parlamentu a rady (ES) č. 1333/2008 o potravinářských přídatných látkách

- Limity pro dusičnany (E249-E250), dusičnany (E251-E252) pro konkrétní typy výrobků

8

KONTAMINANTY - Stanovení LEPKU 

Stanovení lepku pomocí metody ELISA
(Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay)

- nejpoužívanější imunologická metoda sloužící k detekci protilátek
- metoda funguje na bázi imunoenzymatické reakce
- vzorky se stanovují v sérii
- připravený zhomogenizovaný vzorek se napipetuje na destičky, kde se změří intenzita zabarvení úměrná koncentraci lepku
- lepek je obsažen v pšenici (až 80%), ječmenu, žitu



9

Analýzy dle platné legislativy



Stanovení nutričních ukazatelů dle Nařízení č. 1169/2011

Povinné údaje:

- Energetická hodnota
- Tuky
- Nasycené MK
- Sacharidy
- Cukry
- Bílkoviny
- Na, sůl

Nepovinné údaje:

- Vlákna
- Polyalkoholy
- Škroby
- Mononenasyčené MK
- Polynenasycené MK
- Vitaminy
- Minerální látky

Navíc laboratoř stanoví údaje potřebné pro výpočet:

- Obsah popela
- Sušina
- Vlhkost

Nutrition Facts

Amount Per Serving		% Daily Value*
Calories 220	Calories from Fat 140	
Total Fat 16g		25%
Saturated Fat 5g		25%
Trans Fat 0g		
Cholesterol 55mg		18%
Sodium 650mg		27%
Total Carbohydrate 4g		1%
Dietary Fiber 1g		4%
Sugars 0g		
Protein 14g		
Vitamin A 2%	Vitamin C 2%	
Calcium 2%	Iron 4%	

*Percent Daily Values are based on a diet of 2,000 calories a day. Your daily values may be higher or lower depending on your calorie needs.

10

Stanovení a výpočet nutričních hodnot



• Energetická hodnota I (kJ/100g)

$$= 37 \cdot \text{tuk}(\%) + 17 \cdot \text{bílkoviny}(\%) + 7 \cdot \text{celkové sacharidy}(\%)$$

• Obsah celkových sacharidů (%)

$$= 100\% - \text{popel}(\%) - \text{vlhkost}(\%) - \text{tuk}(\%) - \text{bílkoviny}(\%)$$



Energetická hodnota II (při stanovení dietární vlákniny)

$$= 37 \cdot \text{tuk}(\%) + 17 \cdot \text{bílkoviny}(\%) + 17 \cdot \text{dostupné sacharidy}(\%) + 8 \cdot \text{dietární vláknina}$$

• Obsah dostupných sacharidů (%)

$$= 100\% - \text{popel}(\%) - \text{vlhkost}(\%) - \text{tuk}(\%) - \text{bílkoviny}(\%) - \text{dietární vláknina}(\%)$$

*Je tedy rozdíl ve výpočtu při stanovení dietární vlákniny
(rozpuštěná i nerozpuštěná vláknina)*

11

Stanovení nutričních hodnot



- **Stanovení obsahu popela** – pálení vzorku při 550°C a následně gravimetrické stanovení
- **Stanovení obsahu sušiny** – sušení vzorku většinou při 105°C/4 hod. a následně gravimetrické stanovení
- **Stanovení obsahu tuku**

A) po kyselé hydrolyze vzorku a extrakci organickým rozpouštědlem (hexan, heptan, diethylether) –
- referenční metoda



B) s využitím pulsní NMR (nukleární magnetická rezonance)

- přesné a rychlé stanovení cca 16 vteřin
- předpoklad dokonale vysušeného vzorku sušení v délce 16 hodin
- úspora extrakčních rozpouštědel
- bezpečná manipulace se vzorkem



12

Stanovení nutričních hodnot - bílkoviny



Stavení obsahu bílkovin (dusíku)

A) dle Kjeldahla - mineralizace vzorku po dobu 4-12 hodin kyselinou sírovou s přidavkem selenu následná destilace digestátu do předlohy a titrace kyselinou boritou

- nejčastěji používaná metoda
- doporučovaná v předpisech typu Vyhlášek a Nařízení EU
- zdlouhavý postup
- práce s horkou koncentrovanou kyselinou



13

Stanovení nutričních hodnot - bílkoviny



B) dle Dumase

rozklad vzorku v cínové fólii v prostředí kyslíku a následná redukce na platinovém a měďném katalyzátoru oxidů dusíku na dusík - následná chromatografická detekce a kvantifikace dusíku

- Mžikový rozklad vzorku
- Přesné stanovení
- Doba měření 8-10 minut
- Plně srovnatelná s metodou dle Kjeldahla



14

Stanovení nutričních hodnot - vláknina



- **Enzymatická metoda** - simuluje časový průběh pohybu potravin v trávicí soustavě člověka - časově náročná, vzorek je postupně vystaven působení enzymů amylázy, lipázy, proteázy při různých teplotách a pH
- Vláknina - z definice rozpustná i nerozpustná
- Dříve uvažována vláknina pouze jako rostlinného původu
Dnes - vláknina definována jako stanovená vláknina dle předepsaných metodik - tzn. jako vláknina se stanoví i vybrané nerozložené částčky chrupavek či kolagenní částic
- Dietární význam u masných výrobků zanedbatelné obsahy 0-2%
obsah závisí dle přidaného množství např. strouhanky, koření apod.

15

Úskalí při stanovení nutričních hodnot



- Příjem vzorků
 - zachování žádoucí teploty při příjmu vzorku 4-8°C
 - hrozí rozklad vzorku, změna vybraných hodnot (sušina, bílkoviny)
- Homogenizace vzorku
 - některé výrobky obtížně homogenizovatelné v laboratorním prostředí
 - vepřová šunka x vepřové uši
- Nedostatek vzorku
 - potřebné množství vzorku k analýzám
 - 150 - 200g, pro homogenizaci
 - optimální 300 g - 400 g



16

Stanovení obsahu masa



Balíček – stanovení obsahu masa

Popel

Sušina

Tuk celkový po hydrolyze

Obsah masa

Dusíkaté látky

Kolažen

Sója *

Výpočty vychází z následující legislativy:

Vyhláška č. 264/2003 Sb.
(Směrnice komise č.2001/101/ES)

Nařízení Komise č. 2004/2002/ES
o postupu určování obsahu masa
a tuku v některých výrobcích
z vepřového masa

Nařízení Komise č. 2429/86/EHS
o postupu určování obsahu masa
v masných polotovarech a
konzervách

* Obsah sóji se stanovuje po domluvě. Stanovení se provádí, pokud je sója do výrobku záměrně přidávána.

17

Stanovení čisté svalové bílkoviny (ČSB)



Výpočtová metoda

- ČSB (%) = bílkoviny (%) - kolagen (%) - rostlinné bílkoviny (%)
- bez pojivové tkáně a bez rostlinných bílkovin
- legislativou definován minimální obsah u vybraných výrobků např. šunky, trvanlivé salámy apod.

Ing. Lenka Kleperádová
Ing. Jiří Bastl
ALS Czech Republic, s.r.o.
czsupport.food@alsglobal.com
+420 226 226 998
www.alsfood.cz

18
