

Antimikrobiální účinek kyseliny kaprylové na mikroflóru chlazené drůbeže

Veronika Šteklová

Diplomová práce
2006



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav potravinářského inženýrství a chemie
akademický rok: 2005/2006

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Veronika ŠTEKLOVÁ**
Studijní program: **N 2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie a ekonomika výroby tuků, detergentů
a kosmetiky**

Téma práce: **Antimikrobiální účinek kyseliny kaprylové na
mikroflóru chlazené drůbeže**

Zásady pro vypracování:

Vypracujte rešerši, ve které se zaměřte na fyzikální a chemické vlastnosti kyseliny kaprylové, její využití ve výzkumu, v potravinářství. Dále se zaměřte na mikroflóru chlazené drůbeže, kontaminace drůbeže při zpracování.

V experimentální části diplomové práce ověřte antimikrobiální účinek kyseliny kaprylové na mikroflóru chlazené drůbeže.



Rozsah práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

Dle doporučení vedoucího diplomové práce.

Vedoucí diplomové práce:

Ing. Eva Lukášková, Ph.D.

Ústav potravinářského inženýrství a chemie

Datum zadání diplomové práce:

10. října 2005

Termín odevzdání diplomové práce:

31. května 2006

Ve Zlíně dne 20. dubna 2006


prof. Ing. Ignác Hoza, CSc.
děkan




prof. Ing. Ignác Hoza, CSc.
ředitel ústavu

Ráda bych poděkovala Ing. Evě Lukáškové, Ph.D. za odbornou pomoc, trpělivost a rady při zpracování diplomové práce. Dále bych chtěla poděkovat Mgr. Leoně Čechové, Ph.D. a Mgr. Magdě Janalíkové za jejich spolupráci, konzultaci a odborné rady.

Prohlašuji, že jsem na celé diplomové práci pracovala samostatně a použitou literaturu jsem citovala.

Ve Zlíně, 18/ 05/ 2006

.....

jméno diplomanta

ABSTRAKT

Abstrakt česky

Cílem diplomové práce je vypracování rešerše, která je zaměřena na fyzikální a chemické vlastnosti kyseliny kaprylové, její využití ve výzkumu, v potravinářství. Dále diplomová práce pojednává o chemickém složení, zpracování, mikroflóře drůbežního masa.

V experimentální části diplomové práce je úkolem ověřit antimikrobiální účinek kyseliny kaprylové v koncentracích 0,5%, 1%, 2%, 3% a 4% na mikroflóru chlazené drůbeže se zaměřením na aerobní a fakultativně aerobní bakterie, koliformní bakterie, kvasinky a plísně. Provést biochemické identifikační testy bakterií na izolovaných testovaných kmenech z kůže kuřete.

Klíčová slova:

kyselina kaprylová, antimikrobiální účinek, chlazená drůbež, mikroflóra chlazené drůbeže, aerobní a fakultativně anaerobní, koliformní bakterie, kvasinky, plísně, biochemické testy

ABSTRACT

Abstrakt ve světovém jazyce

The aim of the theses is to dispose literature search, which is dedicated on physical and chemical characteristics of caprylic acid, the use of caprylic acid in research and food industry. Another point of the work is about processing, microflora and chemical structure of poultry meat.

In the experimental part of the theses is to prove the antimicrobial effect of caprylic acid in concentration 0,5%, 1%, 2%, 3% a 4% on microflora of chilled chicken (especially aerobic and facultative anaerobic bacteria, coliform bacteria, yeasts and fungi). The next point is to made biochemical identification tests of bacteria on tested culture.

Keywords:

caprylic acid, antimicrobial effect, chilled poultry, microflora of chilled poultry, aerobic and facultative anaerobic bacteria, coliform bacteria, yeasts, fungi, biochemical tests

OBSAH

ÚVOD.....	5
I. TEORETICKÁ ČÁST	6
1 MASTNÉ KYSELINY.....	7
1.1 Nasycené kyseliny.....	8
1.2 Kyselina kaprylová.....	9
1.3 Využití mastných kyselin v potravinářském průmyslu	11
1.4 Výzkum v oblasti aplikace kyseliny kaprylové a dalších mastných kyselin.....	12
2 DRŮBEŽÍ MASO	16
2.1 Složení drůbežního masa.....	16
2.2 Zpracování drůbežního masa	17
2.3 Kontaminace během zpracování	21
3 CHARAKTERISTIKA MIKROORGANISMŮ VYSKYTUJÍCÍCH SE NA KŮŽI CHLAZENÉ DRŮBEŽE.....	23
II. PRAKTICKÁ ČÁST.....	30
4 CÍL DIPLOMOVÉ PRÁCE	31
5 METODIKA PRÁCE.....	32
5.1 Mikrobiologická analýza.....	33
5.1.1 Pracovní postup při mikrobiologické analýze.....	33
5.2 Identifikace mikroorganismů	34
• Zkvašování glukosy (s tvorbou plynu), laktosy a sacharosy a produkce H ₂ S.....	36
5.3 Statistické vyhodnocení výsledků	37
6 VÝSLEDKY A DISKUSE.....	39
6.1 Antimikrobiální účinek 0,5% kyseliny kaprylové na kůži chlazené drůbeže	39
6.2 Antimikrobiální účinek 1% kyseliny kaprylové na kůži chlazené drůbeže	43
6.3 Antimikrobiální účinek 2 % kyseliny kaprylové na kůži chlazené drůbeže	47
6.4 Antimikrobiální účinek 3% kyseliny kaprylové na kůži chlazené drůbeže	52
6.5 Antimikrobiální účinek 4% kyseliny kaprylové na kůži chlazené drůbeže	57
6.6 Statistické vyhodnocení	62
6.6.1 Statistické srovnání antimikrobiálního účinku 0,5%, 1%, 2%, 3% a 4% v prvním dnu skladování	62
6.6.2 Statistické srovnání antimikrobiálního účinku 0,5%, 1%, 2%, 3% a 4% ve druhém dnu skladování	63
6.6.3 Statistické srovnání antimikrobiálního účinku 0,5%, 1%, 2%, 3% a 4% ve třetím dnu skladování	64
6.6.4 Statistické srovnání antimikrobiálního účinku 0,5%, 1%, 2%, 3% a 4% ve čtvrtém dnu skladování	65
6.7 Identifikace bakterií	66
6.7.1 Výsledky biochemických testů - KOH test, důkaz na katalázu, OXI test.....	66
6.7.2 Výsledky biochemických testů – O/F test.....	67
6.7.3 Výsledky testu zkvašování glukosy (s tvorbou plynu), laktosy a sacharosy a produkce H ₂ S	68
6.7.4 Vznik kyseliny z glukosy, sacharosy, laktosy, galaktosy, fruktosy, maltosy.....	69
6.7.5 VPT test, ONP test, hydrolýza kaseinu, růst při různých teplotách.....	70
6.7.6 Výsledky ENTEROtestu 24	70
6.7.7 Zpracování výsledků dle programu TNT Lite 6.5 a Diagnostického seznamu u testovaných kultur č. 1, 4, 5, 8, 9, 17, 21	72
6.8 Doporučení.....	72
ZÁVĚR	74
SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ	75
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	79

SEZNAM OBRÁZKŮ	80
SEZNAM TABULEK	81
SEZNAM PŘÍLOH	83

ÚVOD

Základním principem evropské potravinové politiky je vysoký standard kvality a zdravotní nezávadnosti potravin, který zaručuje ochranu zdraví spotřebitelů.

Spotřebitelům je třeba nabídnout široký sortiment zdravotně nezávadných a vysoce hodnotných výrobků ze všech členských států. Je to stěžejní úkol vnitřního trhu. Chceme-li přiměřeně chránit zdraví spotřebitelů, musí být každý jeho článek stejně silný. Tuto zásadu je nutné dodržovat nezávisle na tom, jsou-li potraviny vyrobeny v rámci Evropského společenství nebo dovezeny ze třetích zemí. Vyžaduje hodnocení a kontrolu zdravotních rizik spojených s výchozími vstupy, zemědělskými postupy a zpracováním potravin; vede dále k vydávání účinných pravidel pro ovládání těchto rizik, vyžaduje zřízení a provozování kontrolních systémů, jejichž pomocí lze kontrolovat a prosazovat aplikaci těchto pravidel.

V rámci nové evropské strategie snižování rizik se klade důraz na vývoj a aplikaci různých systémů preventivní povahy s cílem zajistit bezpečnost potravin od počátku jejího vzniku až po okamžik spotřeby. Nedílnou součástí správné zemědělské, výrobní a hygienické praxe a systému kritických kontrolních bodů musí být prvky cíleně zaměřené ke snižování mikrobiologického rizika. Mezi alimentárními infekcemi bakteriálního původu zřetelně převažují salmonelózy a kampylobakteriózy, roste podíl bakterií rezistentních vůči antibiotikům, vzrůstá počet alimentárních onemocnění vyvolaných přítomností virů v potravinách.

Další snahou v oblasti potravinářství je omezit používání antibiotik a nahradit je přirozenými látkami. Používání antibiotik je v dnešní době posuzováno kriticky. Takovou náhradou mohou být mastné kyseliny a jejich deriváty, monoacylglyceroly či enzymy. Byly analyzovány účinky různých mastných kyselin (C8:0 – C12:0) v oblasti aplikace na kůži drůbeže nebo jako aditivum do krmiv pro zvířata.

Cílem této práce je ověřit antimikrobiální účinek kyseliny kaprylové o různých koncentracích na celkový počet mikroorganismů, kvasinky a plísně na kůži chlazené drůbeže.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 MASTNÉ KYSELINY

Mastné kyseliny jsou podstatnou a nejvýznamnější složkou všech lipidů. Jsou vázány v přírodních lipidech a od sebe se navzájem liší délkou a charakterem uhlovodíkového řetězce, stupněm nenasycenosti, a v některých případech také přítomností dalších substituentů [1].

Mastné kyseliny se vyskytují hlavně jako estery v přírodních tucích a olejích, ale mohou být přítomné i v neesterifikované formě jako volné, kdy jsou transportní formou přítomnou v krevní plasmě. Nejčastěji používané systematické názvosloví pojmenovává mastné kyseliny podle uhlovodíků se stejným počtem atomů.

Většina mastných kyselin má sudý počet uhlíkových atomů, protože jsou obvykle syntetizovány spojením C_2 jednotek. Více než polovina mastných kyselin jsou nenasycené. Bakteriální mastné kyseliny bývají navíc často rozvětvené (kyselina isovalerová nebo tuberkulostearová), hydroxylované nebo obsahují cyklopropanové kruhy. Neobvyklé mastné kyseliny se také objevují jako složky olejů a vosků (estery mastných kyselin a alkoholů s dlouhými řetězci) v některých rostlinách.

Body tání mastných kyselin se sudým počtem atomů uhlíku se zvyšují s délkou řetězce a klesají s přibývajícím počtem dvojných vazeb. Membránové lipidy, které musí zůstat tekuté při všech změnách okolního prostředí, jsou více nenasycené než zásobní tuky [2].

Podle názvosloví užívaného v organické chemii se jako mastné kyseliny označují karboxylové kyseliny s alifatickým uhlovodíkovým řetězcem. V přírodě se vyskytují v lipidech tyto skupiny mastných kyselin:

- nasycené mastné kyseliny,
- nenasycené mastné kyseliny,
- nenasycené mastné kyseliny s několika dvojnými vazbami (polyenové),
- mastné kyseliny s trojnými vazbami a s různými substituenty (rozvětvené, cyklické, s kyslíkatými, sírnými nebo dusíkatými funkčními skupinami) [3].

1.1 Nasycené kyseliny

Nasycené mastné kyseliny přítomné v lipidech mají obvykle sudý počet atomů uhlíku v molekule a rovný, nerozvětvený uhlovodíkový řetězec.

V přírodě se vyskytují v lipidech zpravidla nasycené kyseliny se 4 až 30 atomy uhlíku, jen zřídka homology vyšší. Kyseliny se 4 až 12 atomy uhlíku jsou značně zastoupeny v mléčném tuku. Kromě nejnižších členů (se 4 až 6 atomy uhlíku) jsou volné nasycené kyseliny ve vodě jen nepatrně rozpustné, dobře se však rozpouštějí např. v chloroformu nebo petroletheru. S vodní parou těkají jen nižší mastné kyseliny (do 10 atomů uhlíku). V následující tabulce je uveden přehled nasycených mastných kyselin. Nasycené mastné kyseliny jsou chemicky velmi stálé a mění se teprve při dlouhodobém záhřevu nebo za vysokých teplot. Za běžných podmínek zpracování a skladování potravin se téměř nemění. Normální nasycené kyseliny jsou dobře stravitelné, pokud se v lipidech vyskytují ve směsi s nenasycenými kyselinami.

Nižší nasycené MK jsou kapalné, od kyseliny dekanové výše jsou při teplotě místnosti tuhé. Jejich bod tání závisí jednak na počtu atomů uhlíku a také na povaze vazeb. Při počtu atomů uhlíku nad 20 se již bod tání příliš nemění. Čím je větší počet vázaných nasycených mastných kyselin, tím vyšší je bod tání tuku. Nižší MK jsou těkavé za atmosférického tlaku, vyšší MK jsou netěkavé. Bod varu roste s rostoucím počtem atomů uhlíku, počet dvojných vazeb nemá na bod varu významný vliv. Mastné kyseliny s krátkým uhlíkovým řetězcem jsou s vodou mísitelné, další jsou rozpustné. Rozpustnost ve vodě rychle klesá s rostoucím počtem atomů uhlíku v molekule[1].

Tab. 1. Nasycené mastné kyseliny


Mastná kyselina	Počet atomů uhlíku	Triviální název
butanová	4	máselná
hexanová	6	kapronová
oktanová	8	kaprylová
dekanová	10	kaprinová
dodekanová	12	laurová
tetradekanová	14	myristová
hexadekanová	16	palmitová
oktadekanová	18	stearová
eikosanová	20	arachová

Kyseliny máselná, valerová, kapronová, kaprylová a kaprinová se v malém množství vyskytují v másle a kozím mléce. Zároveň jde o produkty fermentace sacharidů v batoru přežvýkavců. V potravinách bývají složkou lipidů nejčastěji kyselina palmitová a stearová. V hovězím loji převládá kyselina stearová a palmitová. Taktéž ve vyšších rostlinách převládají zbytky mastných kyselin s 16 až 18 atomy uhlíku. Tyto mastné kyseliny bývají doprovázeny mastnými kyselinami s lichým počtem uhlíků, zejména pentadekanovou a heptadekanovou (margarovou) kyselinou. Kyselinu arachovou lze nalézt v podzemnici olejné (arašídě) [2].

1.2 Kyselina kaprylová

Kyselina kaprylová má ve svém řetězci osm atomů uhlíku a je součástí skupiny nasycených mastných kyselin, vyskytujících se v olejích a živočišných tucích. Přirozeně se tato kyselina vyskytuje v mateřském mléce, kravském mléce a v kokosovém oleji. Název kyseliny kaprylové je odvozen od slova caper, což latinsky znamená kozel. Je to bezbarvá, průhledná lehce nažloutlá olejová kapalina s nepříjemným zápachem [4]. Bod tání kyseliny kaprylové je 8,3°C a její rozpustnost klesá se snižující se teplotou [5]. Teplota varu této kyseliny je 128°C, je nerozpustná ve vodě, ale rozpustná v alkoholu nebo etheru.

Tab. 2. Kyselina kaprylová [6]

	
Chemický název	oktanová kyselina
Chemický vzorec	$C_8H_{16}O_2$
Hustota	0.910 g/cm^3

Kyselina kaprylová má antifungální charakter a mimo jiné je doporučena užívat v případě onemocnění kvasinkovou infekcí, kterou způsobuje kvasinka *Candida* [5].

Některé chemické látky jsou navrhovány jako sanitační prostředky při zpracování drůbeže, pro zabránění růstu mikrobiální flóry. V masných produktech je monolaurin schopen za přítomnosti kyseliny mléčné potlačit růst *Staphylococcus aureus*, dále snižovat rychlost růstu spor *Bacillus cereus* při tepelné inaktivaci a v kombinaci monokaprinem inhibovat růst *Listeria monocytogenes*. Monokaprin je velice účinný vůči Gram-positivním kokům (rozkládá cytoplasmatickou membránu), taktéž působí inhibičně na kvasinky a houby s výjimkou druhu *Mucor racemosus* [7],[8],[9]. Další uplatnění nachází ve výrobě parfémů, medicíně, jako potravinářské aditivum, ve farmacii, při výrobě lubrikantů, plastů, mazadel [5].

Tab. 3. Charakteristické hodnoty fyzikálních a chemických veličin triacylglycerolů [1]

Triacylglyceroly mastných kyselin	Molekulová hmotnost (g/mol)	Číslo zmýdelnění (mg KOH/g)	Bod tání (°C)	Bod varu (°C) při 0,13Pa	Index lomu při 60°C
kapronová	386,51	436	-25,0	85	-
kaprylová	470,67	358	8,3	128	-
kaprinová	554,83	303	31,5	159	1,4370
laurová	638,98	263	46,4	188	1,4402
myristová	723,14	233	57,6	216	1,4428
palmitová	807,34	208	65,5	239	1,4452

1.3 Využití mastných kyselin v potravinářském průmyslu

Vyhláška Ministerstva zdravotnictví 38/2001 Sb. ze dne 19. ledna 2001 o hygienických požadavcích na výrobky určené pro styk s potravinami a pokrmy povoluje použití kyseliny kaprylové pro styk s potravinami pod č. 14320 000124-07-2 [10].

Jednou z možností využití kyseliny kaprylové je její použití jako aditivum do potravinářských výrobků. Aditiva jsou látky, které se z technologických důvodů záměrně přidávají do potravin při jejich výrobě a stávají se tak součástí konečné potraviny. K nejvíce používaným přídatným látkám patří barviva, náhradní sladidla, konzervační látky, antioxidanty, látky chuťové, kyseliny, tavicí soli a zahušťovadla. Každé aditivum, které má být schváleno pro použití do potravin, musí projít přísným hodnocením zdravotní nezávadnosti [11].

Vyhláška 304/2004 Sb. ze dne 18. května 2004, kterou se stanoví druhy a použití přídatných a pomocných látek při výrobě potravin povoluje použití:

- mono a diacylglyceroly mastných kyselin mají označení E 471 a slouží jako emulgátory a stabilizátory,
- soli sodné, draselné a vápenaté mastných kyselin z jedlých tuků jsou označeny E 470a - slouží jako emulgátory, stabilizátory a protispékavé látky,
- hořečnaté soli mastných kyselin z jedlých tuků jsou označeny E 470b.

Emulgátory jsou látky, které umožňují tvorbu stejnorodé směsi dvou nebo více nemísitelných kapalných fází nebo které tuto směs udržují.

Množství látky E471, která smí být používána při výrobě příkrmů pro kojence a malé děti - piškoty, sušenky a suchary, obilné výrobky, ostatní výrobky pro kojence a malé děti činí 5000 NPM mg.l^{-1} resp. mg/kg . Množství látky E471, která může být používána k výrobě kojenecké výživy, vyrobené na bázi kravského mléka a určené k výživě kojenců do ukončeného čtvrtého měsíce věku pokud nemohou být kojeni (počáteční mléčná výživa) a k výrobě výživy pro nedonošené děti a děti s nízkou porodní hmotností je 4000 NPM mg.l^{-1} resp. mg/kg (nejvyšší přípustné množství) [12].

Tab. 4. Seznam potravin v nichž je možné použít E 471 [12]

Název potraviny	NPM ¹⁾ mg.l ⁻¹ nebo mg.kg ⁻¹
kakao, čokoláda a výrobky z čokolády	NM ²⁾
džemy a výběrové rosoly	NM ²⁾
ovocné pomazánky a podobné výrobky z ovoce včetně těchto výrobků se sníženým obsahem využitelné energie	NM ²⁾
předvařená rýže	NM ²⁾
neemulgované oleje a tuky živočišného nebo rostlinného původu (kromě panenských olejů a olivových olejů)	10 000
oleje a tuky živočišné nebo rostlinného původu speciálně určené k vaření a/nebo smažení a pro přípravu omáček	10 000
chléb (druhy připravené výlučně z mouky, vody, soli, droždí, kypřících látek a koření)	NM ²⁾
nesušené (čerstvé) těstoviny	NM ²⁾
běžný francouzský chléb	NM ²⁾

¹⁾ nejvyšší povolené množství

²⁾ nezbytné množství podle § 2 odst.1 vyhláška č. 304 /2004Sb.

1.4 Výzkum v oblasti aplikace kyseliny kaprylové a dalších mastných kyselin

Antimikrobiální aktivita mastných kyselin je známá už dlouhou dobu. Antimikrobiálním spektrem různých mastných kyselin se zabývá např. Výzkumný ústav živočišné fyziologie a genetiky AV ČR se zaměřením na účinek v trávicím traktu králíků. Kyselina kaprylová je přítomna v králíčím mléce a je aktivní vůči různým druhům mikroorganismů [13]. Byl zkoumán účinek kyseliny kaprylové na výkonnost a úmrtnost chovaných králíků, kteří snadno podléhají různým infekcím. Po odstavení od mléka trpí průjmy, což je nejčastější příčina jejich úmrtnosti. Provedly se dva krmící pokusy na 126 a 162 odstavených králících ve věku 5 týdnů na dvou různých farmách po dobu 42 dnů.

Byli krmeni granulovanou stravou s přidavkem kyseliny kaprylové v množství 0 a 2,5 g/kg. Bylo prokázáno, že užití kyseliny kaprylové ve stravě králíků snížilo úmrtnost mláďat [14].

Mezi hlavní patogeny zapojující se do degradace potravinářských výrobků (bombáží) patří *Listeria monocytogenes* a *Escherichia coli* O157:H7. Touto degradací jsou postihovány nepasterované i pasterované mléčné pokrmy a produkty. Byl sledován antibakteriální účinek kyseliny kaprylové (CA, C8:0) a jejího monoglycerolu „monokaprylinu (MC)“ na *L. monocytogenes* a *E. coli* O157:H7 v mléce. Do vzorků pasterovaného mléka obsahující dané koncentrace C8:0 a MC byly naočkovány směsí těchto mikroorganismů. Tato studie prokázala antibakteriální účinek kyseliny kaprylové a jejího MC na *E. coli* O157:H7 a *L. monocytogenes* v mléce zejména při teplotách 4°C a 8°C, které představují chladicí teploty v chladírenských zařízeních při skladování mléka. Výsledky ukázaly, že MC může být potenciálně použit k potlačení *L. monocytogenes* a *E. coli* O157:H7 v mléce a mléčných výrobcích, ale je ještě potřeba provést senzorké studie předtím, než se doporučí jejich použití [5].

Jak již bylo řečeno v průběhu zpracování, dochází ke kontaminaci drůbeže a to bakteriemi z čeledi *Enterobacteriaceae*, rody *Campylobacter* a *Staphylococcus*, *Pseudomonas* a dalšími aerobními a anaerobními bakteriemi. Využití kyseliny olejové ke snížení mikrobiální kontaminace drůbeží kůže bylo provedeno v USA. Kůže z běžně prodejných kuřat byla omývána jednou nebo dvakrát v roztocích kyseliny olejové o koncentraci 0, 2, 4, 6, 8 a 10% a poté proplachována peptonovou vodou. Omývání jednotlivých vzorků kůže v 10% roztoku kyseliny olejové mělo za následek významné snížení počtu aerobních bakterií *Enterobacteriaceae*, *Campylobacter* a enterokoků na napadené kůži. Výsledky výzkumu ukazují, že olejová kyselina snižuje počet bakterií na kůži drůbeže a má baktericidní účinek na různé patogenní bakterie [15].

Další studie byla věnována antimikrobiálnímu účinku 1-monoacylglycerolům připraveným kalalytickou reakcí glycidolu s mastnými kyselinami. Tato práce byla zaměřena na využití dvou typů monoacylglycerolů (monokaprinu a monolaurinu, připravených reakcí glycidolu s odpovídající mastnou kyselinou) proti bakteriím, houbám a kvasinkám [16]. Monoacylglyceroly jsou substance využívané v potravinářském a farmaceutickém průmyslu. Antimikrobiální aktivita monoacylglycerolů je proměnlivá a závisí na počtu atomů uhlíku v řetězci a na přítomných dvojných vazbách.

Dosud provedené výzkumy ukazují, že tyto substance jsou více účinné proti Gram – pozitivním než proti Gram – negativním druhům. Kyselina mléčná, monolaurin potlačují růst *Staphylococcus aureus* na výrobcích z masa. Monokaprin má vynikající účinky proti Gram – pozitivním kokům, což spočívá v rozpadu cytoplasmatické membrány. Bylo prokázáno, že monokaprin v koncentraci 100 – 250 mg/l je schopen zastavit růst testovaných Gram – pozitivních bakterií, kvasinek a také hub. Na druhou stranu některé Gram – negativní bakterie a houby byly odolné vůči působení monokaprinu. Testované bakterie (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus Faecalis*), Gram – negativní bakterie (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter lwoffii*), houby (*Penicillium ochrochloron*, *Aspergillus niger*, *Trichoderma viridae*, *Mucor racemosus*), kvasinky (*Candida albicans*, *Candida tropicalis*). Antimikrobiální efekt některých typů monoacylglycerolů není dostatečně velký na to, aby jich bylo použito jako samostatných činidel pouze k těmto účelům. Naproti tomu je možné uplatnit monokaprin k prevenci nebo snížení růstu některých staphylokoků nebo dalších Gram – pozitivních koků, bacilů, kvasinek či hub ve specifických aplikacích [16].

Mykotická onemocnění jsou způsobena plísněmi a kvasinkami. V současnosti je zde velký počet antimykotických přípravků, lišících se v jejich biologické aktivitě. Při léčbě antimykotických onemocnění nachází uplatnění monoacylglyceroly, z důvodu jejich vysokého antimikrobiálního účinku vůči kožním a pohlavním nemocem. Většina monoacylglycerolů je využita v potravinářském průmyslu díky jejich emulgačním schopnostem. Tento výzkum byl zaměřen na využití monoacylglycerolů jako mikrobicidní látky při léčbě onemocnění v obuvnickém průmyslu. Byl testován mikrobicidní účinek monoacylglycerolů připravených z glycerolu a mastných kyselin se sudým počtem atomů uhlíků v řetězci – kyseliny kaprylové (MAG C8:0), kapronové (MAC C10:0), 2-ethylkaproin (MAG 2Eth-C6:0) a kyseliny laurové (MAG C12:0). Tyto látky byly aplikovány jako etanolický roztok k jednotlivým vzorkům materiálu. Výzkum byl prováděn s kvasinkami *Candida albicans* a *Candida parapsilosis*, byla prokázána citlivost k MAG C8:0 a MAG C10:0, tyto MAG potlačily růst těchto mikroorganismů v koncentraci 100 – 150 mg/l. MAG C8:0 (100mg/l) inhiboval růst fibrilárních plísní. Když byla tato koncentrace MAG aplikována k testovanému materiálu s plísněmi *Aspergillus niger*, *Mucor racemosus* a *Penicillium ochrochloron*, tyto mikroorganismy byly vůči této koncentraci MAG C8:0 rezistentní [17].

Dále byl zkoumán antiparazitický účinek kyseliny kaprylové proti různým druhům rybích parazitů (*Cryptocaryon irritans*, *Benedenia seriolae*, *Pseudocaligus fugu*, *Kudoa shiomitsui*) in vitro. Kyselina kaprylová v koncentraci 1mM měla antiparazitický účinek proti *C. irritans*, *B. seriolae*, *K. shiomitsui*, ale žádný účinek proti *P. fugu*. Tyto výsledky nasvědčují o tom, že kyselina kaprylová má antiparazitický účinek proti rybím parazitům a to především proti monogenním, řasinkovitým a myxosporogenním [18].

2 DRŮBEŽÍ MASO

Pro intenzivní produkci drůbežního masa jsou vyšlechtěny masné typy drůbeže – masní hybridy, především kura, krůty (hrabavá drůbež), kachny, husy (vodní drůbež). Hospodářsky využívané jsou i další ptačí druhy jako perličky, holubi, bažanti, křepelky, pštrosi [18].

Mezi základní užitkové vlastnosti drůbeže patří produkce vajec, produkce masa a peří. Významné jsou rovněž vedlejší produkce – trus a jatečné odpady z drůbežích porážek.

Produkce drůbeže je díky výkonnosti drůbežního organismu navíc jedna z nejrentabilnějších, vykazuje nejnižší nároky na plochy zemědělské půdy a moderní drůbežářské provozy nemají negativní vliv na životní prostředí [20].

2.1 Složení drůbežního masa

Základními složkami masa drůbeže jsou voda, bílkoviny a lipidy, dále maso obsahuje nebílkovinné dusíkaté látky, vitamíny, sacharidy, organické kyseliny. Voda je nejvíce zastoupená složka masa s významem technologickým a organoleptickým. Podíl vody závisí na obsahu tuků a bílkovin v mase. Masná „šťáva“ vytváří prostředí pro enzymové reakce, je roztokem bílkovin, solí, sacharidů a dalších ve vodě rozpustných látek. Obsah vody se v kuřecím a krůtím masem pohybuje mezi 70 až 74 %.

Bílkoviny jsou nejvýznamnější složkou masa. Největší význam z hlediska technologického i nutričního mají svalové bílkoviny (sarkoplazmatické a myofibrilární). Nejvýznamnější a nejvíce zastoupenými svalovými bílkovinami jsou myosin (36 – 40%), globulin X (20%), aktin (12 – 15%), myogen (20%) [18].

Drůbeží maso je z nutričního hlediska velmi cenné. Je zdrojem plnohodnotných bílkovin, vitamínů, nenasycených mastných kyselin a minerálních látek [21]. V drůbežím mase je nižší podíl vaziva, nižší obsah tuku. Drůbeží tuk má rozdílné složení a vlastnosti, než tuk velkých hospodářských zvířat, je tekutější, vyznačuje se vyšším zastoupením esenciálních mastných kyselin, což má z hlediska výživy člověka příznivý dopad, z hlediska technologického však může docházet ve větší míře k oxidaci [22]. Podíl tuku je

zanedbatelný, ale s věkem se zvyšuje. Nejzřetelnější depotní oblastí je břišní část. Dalšími výraznými centry jsou krk a podkoží. Abdominálního tuku je přibližně 3–4x více než krčního a obvykle také více než subkutánního [21].

Ve vztahu ke složení jatečného těla je přírůstek v prvních týdnech tvořen především svalstvem a kostmi. Protože svalstvo roste rychleji, podíl kostí s věkem drůbeže klesá. Množství tuku v těle je zpočátku zanedbatelné, ale s věkem drůbeže se výrazně zvyšuje[21].

Mezi masem velkých jatečných zvířat a masem drůbeže existují obecně některé rozdíly. Obsah tuku v mase kura, skotu a prasat je uváděn poměr 1 : 4 : 6, obsah bílkovin ve stejných druzích masa v poměru 1,0 : 0,9 : 0,7.

Tab. 5. Průměrné chemické složení masa drůbeže [21]

Druh	Voda [%]	Bílkoviny [%]	Tuk [%]
kuřata	72	22-23	4-6
slepice	70	21-22	5-6
jatečné krůty	70,5	24-25	3-4
krůty dospělé	67	24	8
jatečné kachny	63	17	19-20
kachny dospělé	58	17,5	22-25
jatečné husy	68	20	12
husy dospělé	60	18	23-26

2.2 Zpracování drůbežního masa

V současné době je průmyslové zpracování drůbeže založeno na moderních technologiích s minimálním využitím lidské práce. Její největší podíl je při navěšování živé drůbeže na výrobní linku. Linky jsou konstruovány tak, že zvířata jsou automaticky

převěšována z jednotlivých výrobních okruhů a na automatických strojích se rovněž kuchají, porcují a balí.

Drůbežářské podniky mají dvě hlavní části provozu – tzv. nečistou, v níž je drůbež omráčena, vykrvena, napařena a oškubána. Následuje druhá, tzv. čistá, část provozu, kde jsou zvířata nejdříve vykuchána a poté zkontrolována veterinářem. Rozhodne-li, že maso jednotlivých kusů drůbeže je požitelné, přichází na řadu jejich opláchnutí a chlazení. U nás se výhradně využívá chlazení vzduchem v chladicích tunelech, v nichž se musí jádro masa zchladit na 4°C. Maso v něm zůstává až 90 minut. V případě, že by drůbež byla chlazená vodou, musela by být podle platných předpisů následně zamrzena.

Z chladicího tunelu je drůbež na automatických linkách dopravena buď na porcování, nebo do balírny, kde se třídí podle hmotnosti a poté balí. Část produkce se pak může i zamrazit. Stejně mohou být zamrzeny i jednotlivé porce drůbežního masa. Část drůbežního masa se dále zpracovává na drůbeží výrobky a polotovary [23].

Vlivů působících na jakost jatečných těl je mnoho a patří k nim vliv genotypu, věku, pohlaví, způsobu výživy, krmení, systému výkrmu – technologie, zdravotního stavu, přepravy, porážky, technologie jatečního opracování, chlazení, zmrazování a uskladnění.

Rychlost procesu kažení masa závisí na počtu a druhu mikroorganismů přítomných na mase, na jejich schopnosti růstu, dále pak na podmínkách skladování masa (teplota, složení atmosféry) a na vlastnostech masa (hodnota pH, hodnota a_w) [24]. Průběh postmortálních změn se u drůbežního masa liší od změn v mase velkých jatečných zvířat, autolýza probíhá podstatně rychleji a je významný rozdíl v průběhu autolýzy mezi prsní a stehenní svalovinou. Čím vyšší je hodnota glykogenu ve svalech, tím je maso křehčí. Krutí maso se ponechává min. 12 hodin zrát ve zchlazeném stavu před vykostováním, zrání se doporučuje i u ostatní celé drůbeže po dobu 4 až 8 hodin [22].

Jedním z nejvýznamnějších hygienických problémů je mikrobiální kontaminace porážené drůbeže a drůbežích těl. Důležitá je zejména sekundární mikrobiologická kontaminace znečištěnou vodou při chlazení drůbežích těl, kontaminace obsahem zažívacího traktu. K tomu přispívá vysoká absorpční schopnost kůže, která je požitelnou částí masa. Riziko představují hlavně zdraví škodlivé mikroorganismy [22]. Dále teplota je hlavní faktor určující růst bakterií.

S výjimkou fermentace tepelně neopracovaných a trvanlivých masných výrobků, kde jsou aktivity vybraných mikroorganismů nezbytné pro řádný průběh zrání, jsou bakterie v maso (včetně povrchu masa) a masných produktech obecně nežádoucí. Podle jejich schopnosti vyvolat u člověka zdravotní poruchy nebo zkrátit trvanlivost masa, rozlišujeme 2 základní skupiny nežádoucích mikroorganismů. Jedná se o mikroby patogenní a mikroby vyvolávající kažení masa [25].

Chladicí okruh

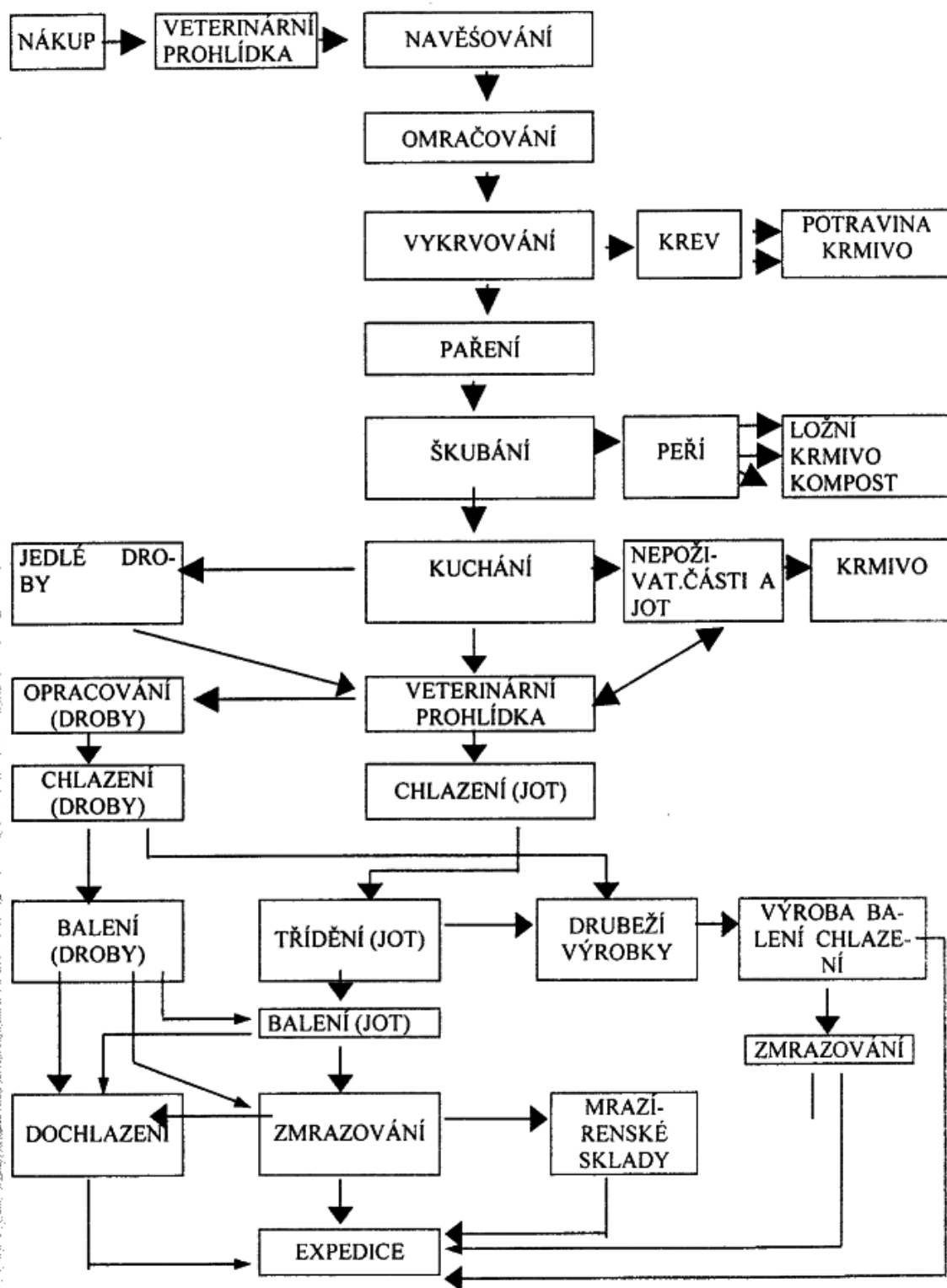
Veškeré drůbeží maso a droby se před dalšími technologickými operacemi musí okamžitě chladit tak, aby bylo nejpozději do 2 hodin zchlazeno a stále udržováno při teplotě pod + 4°C. Pro zajištění nepřetržitého chladicího řetězce musí být v dalších úsecích teplota prostředí max. + 12°C. Chlazení je možno provádět prostřednictvím ledu, ledové tříště, ledové vody, vzduchu, nebo inertním plynem (CO₂).

Dle principu je možno v praxi rozlišit tři základní postupy chlazení:

- vzduchové,
- sprejové (vychlazeným vzduchem s postříkem),
- ve vodní lázni ponořením.

Chlazení vzduchem je nejlepším systémem z hlediska hygieny. Nedochozí k vzájemnému kontaktu jatečně opracovaných těl. Podmínkou je vysoká rychlost chlazení a co nejmenší ztráty vysušením. Chladí se z teploty + 37°C na výstupní + 4°C .

Chlazené drůbeží maso musí být uchováváno při teplotě pod + 4°C a relativní vlhkosti v rozmezí 85 – 95 %. Pro prodej chlazených kuřat se doporučuje paření při 52°C, vychlazení na 0 až 4°C a skladování při této teplotě max. 4 dny [22].



Pozn: * JOT = Jatečně opracovaná těla

Obr. 1. Schéma zpracování drůbeže [22]

2.3 Kontaminace během zpracování

Maso obecně patří k potravinám s nízkou údržností. U drůbežního masa je navíc zjišťován vyšší výskyt mikroorganismů, včetně saprofytických, rychle probíhá proces zrání, vyšší jsou i hodnoty pH zvláště u stehenní svaloviny, takže pH nepůsobí inhibičně na množení mikroorganismů, což vše podporuje možnost kažení v kratším intervalu než u masa velkých hospodářských zvířat. Proteolýza je provázena hydrolyzou a rychlou oxidací lipidů a hemových barviv, se všemi důsledky jako u jiných druhů masa – osliznutí, změna barvy, zápach, vznik rozkladných produktů. Při nevhodném uložení (vysoká relativní vlhkost, nízké proudění vzduchu) je riziko plesnivění masa. Rozhodující pro zamezení kažení je minimalizace výchozí mikrobiální kontaminace, dokonalé opracování a vychlazení, délka a podmínky skladování, hygiena, teplota, relativní vlhkost, proudění vzduchu a antioxidanty [18].

Drůbeží maso má skladbu živin optimální pro mikrobiální růst, pH svaloviny činí 5,7 až 6,7, s prodlužujícím se skladováním pH stoupá až na 7,2. Svalovina u živých zvířat má aerobní prostředí, dostatek kyslíku, zajišťuje krevní oběh. Po porážce pokračuje tkáň v dýchání, záhy se nahromadí CO_2 a prostředí se stává anaerobním, s výjimkou tenké povrchové vrstvy. Anaerobní prostředí ve svalovině zůstává i při chlazení nebo mrazení. Kůže, na které jsou zachycena kvanta mikroorganismů, tvoří i po porážce bariéru bránící svalovinu před přímou kontaminací.

Čerstvé maso obsahuje velice málo mikroorganismů. Jejich počet je vyšší, pokud zvíře před porážkou trpělo stresem nebo hladem. Do svaloviny pronikají hlavně aerobní mikroorganismy, anaerobní v mnohem menší míře. Mikrobiální stav masa odráží i podmínky chovu, způsob ustájení, krmení a hlavně transport a manipulace před porážkou. Sekundární kontaminace masa může pocházet z obsahu střev nebo z povrchu kůže. Předchlazení a chlazení masa ovlivňuje mikroflóru. Rychlé snížení teploty a proudění vzduchu redukuje počty mikrobů a mikroflóra přechází z mezofilní na psychrofilní [26].

V experimentální části práce jsou využity vzorky chlazené drůbeže. Chlazeným masem se rozumí maso uchovávané mírně nad bodem mrazu. Při těchto podmínkách se pomnožují psychrotrofní, proteolytické kmeny bakterií (*Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, méně již *Serratia*, *Micrococcus* a *Flavobacterium*). Na povrchu se vyskytují také kvasinky, např. *Cryptococcus* nebo *Trichosporon*, popř. plísně (*Geotrichum*,

Thamnidium, *Cladosporium*). Dosáhnou-li počty psychrotrofních mikrobů na povrchu masa hodnot 10^7 cm², jsou již patrné sensorické změny. Maso ztrácí barvu a začíná páchnout. Rozmnožovat se také může *Yersinia enterocolitica*.

V první fázi jatečního zpracování je zdrojem kontaminace peří. Při paření se dostávají kvanta mikroorganismů do pařící vody, která musí být vyměňována, přesto, že při teplotě vody 60-63°C řada mikroorganismů, např. *Enterobacteriaceae*, hyne. Během šubání dochází na strojích k významnému přenosu mikroorganismů, hlavně salmonel, na další kusy. Kritickým bodem výroby je i kuchání. Omývání drůbeže snižuje počty mikrobů včetně počtu bakterií skupiny *Enterobacteriaceae*. Během opracování drůbeže se zvyšuje počet mikrobů asi na dvojnásobek. Salmonely bývají přítomny jak ve střevech drůbeže, tak i na kůži .

U drůbeže je běžný výskyt *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni*, který se nachází ve střevním obsahu a snadno se může přenést na kůži nebo do vnitřních částí vykuchané drůbeže. Na kůži drůbeže se vyskytuje i *Clostridium perfringens*, ale v relativně malých denzitách. Povrch kůže svým aerobním charakterem není vhodným prostředím pro rozvoj anaerobních klostridií [26].

3 CHARAKTERISTIKA MIKROORGANISMŮ VYSKYTUJÍCÍCH SE NA KŮŽI CHLAZENÉ DRŮBEŽE

Enterobacteriaceae

Čeď *Enterobacteriaceae*, zahrnující Gram-negativní střevní tyčinky, má velký význam z hygienického hlediska, a proto je jí v potravinářství věnována mimořádná pozornost. Jde o nesporulující tyčinky, peritrichální nebo bez bičků, které mají oxidační i fermentační metabolismus. Většinou jsou prototrofní. Vedle nepatogenních a podmíněně patogenních rodů sem patří i obávané střevní patogeny (*Salmonella*, *Shigella*), patogeny dýchacích cest a fytopatogeny [27].

Již v r. 1887 zjistil Escherich, že bakterie *Escherichia coli* se vyskytuje ve stolici lidí a Schardinger v r. 1892 navrhl, aby byla používána jako indikátor fekálního znečištění, neboť je snadněji zjistitelná než patogenní rod *Salmonella* [28]. Z hygienického hlediska je nejdůležitější rod *Escherichia*, jehož jednotlivé druhy jsou obyvateli střevního traktu různých živočichů. Nejdůležitější druh je *Escherichia coli*, který se nachází ve spodní části střevního traktu člověka a teplokrevných zvířat, a vyskytuje se tedy i ve výkalech. Jeho přítomnost ve vodách nebo v potravinách je proto ukazatelem, že zde došlo k znečištění fekáliemi. Některé jeho kmeny (tzv. enteropatogenní *Escherichia coli* čili EPEC) způsobují průjemová střevní onemocnění a onemocnění močových cest. Přítomnost *E. coli* ve vodě nebo v potravine ukazuje, že stejným způsobem se do tohoto prostředí mohou dostat patogenní střevní bakterie (tj. příslušníci rodu *Salmonella* nebo *Shigella*) [27].

Escherichia coli je nejprozkoumanějším mikrobiálním druhem, neboť slouží jako modelový organismus pro biochemické, genetické i fyziologické studie. Je prvním bakteriálním druhem, u něhož byla pozorována a prostudována konjugace (tj. spájení) buněk a výměna genetického materiálu, jeho chromozom byl podrobně zmapován a také bakteriofágy, které jej napadají, patří k nejvíce prostudovaným.

Kmeny *E. coli* různých serotypů produkující dva typy cytotoxinu byly poprvé popsány v r. 1977 Konowalchukem a nazvány verotoxiny (tj. toxické pro Vero buňky ledvin afrických opic), pro něž se nyní používá název shigatoxiny. Jako příčina průjemového onemocnění z potravin byla potvrzena až v roce 1982 ve státě Michigan a Oregon [29].

Escherichia coli zkvašuje cukry (např. glukosu, laktosu, některé pentosy alkoholické cukry) za intenzivní tvorby kyselin a plynu. Vedle *E. coli* a dalších příslušníků tohoto rodu zde tvoří typické kvasné kolonie ještě příslušníci rodu *Enterobacter* a některé další rody střevních tyčinek. Všechny je proto označujeme jak „koliformní“, i když mají různou hygienickou hodnotu [27].

E. coli patří mezi střevní patogenní *E. coli*, které jsou definovány jako bakteriální kmeny, schopné vyvolat průjemové onemocnění u lidí a zvířat. Podle mechanismu vzniku onemocnění jsou patogenní *E. coli* vyvolávající alimentární onemocnění dále členěny do těchto skupin: enteropatogenní (EPEC), enterotoxigenní (ETEC), enteroinvazivní (EIEC), enterohemoragické nebo shigatoxigenní (EHEC/STEC) a enteroagregativní (EaggEC) [29]. Za nejzávažnější jsou považovány enterohemoragické *E. coli* serotypu O157:H7. Zdrojem bývá syrové hovězí maso a mohou jím být jakékoli syrové potraviny a voda a člověk nosič, jenž může kontaminovat potravinu při nesprávném zacházení a špatné osobní hygieně [30].

Ačkoliv neexistuje u lidí přímý důkaz o povaze kolonizace střevního traktu *E. coli*, je ze studií na zvířatech zřejmé, že kolonizace se odehrává především v tlustém střevě. EHEC/STEC kolonizují střevní trakt a vytvářejí shigatoxiny, které mají afinitu ke stěně cév a kapilár a mohou je narušit (výskyt krve ve stolici) [29].

Většina bakterií roste v neutrálním nebo slabě alkalickém prostředí. Mezi bakterie, které snáší extrémní pH patří střevní bakterie, neboť musí přežít velmi nízké pH žaludečních šťáv i alkalické pH žluči. U *E. coli* je minimální hodnota pH 4,3, optimální hodnota pro růst je při pH 6,0 – 8,0 a maximální hodnota pH je 9,5 [27].

Některé kmeny patogenních *E. coli* rostou v teplotním rozmezí 7°C-46°C s optimem mezi 35-40°C. Patogenní *E. coli* přežívají poměrně dobře v chladničkových teplotách (3-7°C) a při mrazicích teplotách [29].

Salmonella

Patogenní rod *Salmonella* většinou netvoří kyseliny, neboť většinou nezakvašuje laktosu. Rod *Salmonella* obsahuje podle nejnovějších taxonomických studií pouze 4 druhy. Tyto druhy zahrnují přes 2000 sérotypů a všechny jsou patogenní. *Salmonella typhi* způsobuje velmi vážné a často i smrtelné střevní onemocnění lidí – břišní tyfus, který se projevuje silnými bolestmi břicha, malátností a vysokými teplotami spojenými

s blouzněním. Během inkubační doby, trvající jeden až tři týdny, se bakterie ve střevním traktu pomnoží. Infekce se do zažívacího traktu dostává potravinami nebo pitnou vodou. *Salmonella typhi* je patogenní pouze pro člověka. *Salmonella typhimurium*, která je v přírodě velmi rozšířená a dostává se do organismu také potravinami, je patogenní pro člověka a pro hlodavce [27]. *Salmonella enteritidis* se vyskytuje často v trusu ptáků (hlavně kachen a holubů), odkud se může dostat do potravin. U člověka vede požití potravin, jež ji obsahují, k lehčím onemocněním, která jsou charakterizována krátkou inkubační dobou (6 až 20 hodin), průjmy a často i zvracením. Tento typ onemocnění se označuje jako salmonelóza. Salmonelózu vyvolává také poslední druh rodu *Salmonella*, tj. *S. choleraesuis*, který obsahuje šest poddruhů. Od *E. coli* se po biochemické stránce liší schopností využívat citrát jako zdroj uhlíku a slabší schopností nebo až neschopností zkvašovat laktosu. Jejich zjišťování v potravinách je založeno na jejich poněkud vyšší odolnosti k inhibičnímu účinku některých barviv, např. brilantní zeleně, čímž se růst buněk *E. coli* a ostatních gramnegativních tyčinek částečně potlačí. Přítomnost salmonel však musí být potvrzena řadou biochemických testů. Salmonely jsou schopny množit se v potravinách živočišného původu [27].

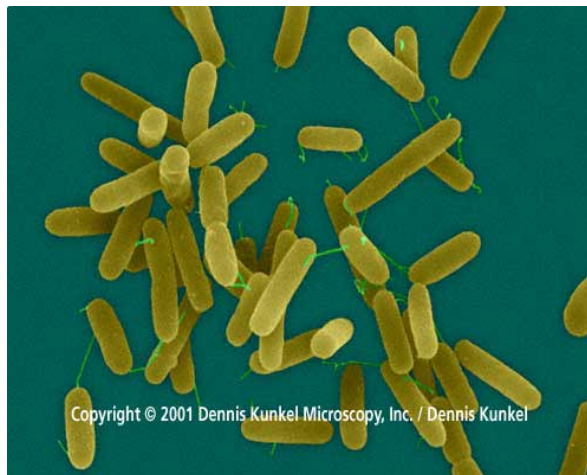
Těžším průběhem onemocnění a vážnějšími důsledky jsou postiženi kojenci a malé děti, staré osoby a osoby se sníženou odolností způsobenou jinou infekční či chronickou nemocí. Hlavním vehikulem je drůbež, vejce a výrobky z nich, maso a tepelně neopracované masné výrobky, z potravin rostlinného původu je to koření. Infekční dávka může být velmi nízká (1–10 buněk), obvykle však je značně vyšší (více než 10^5) [30].

Gramnegativní aerobní tyčinky a koky

Rod *Pseudomonas* zahrnuje striktně aerobní bakterie bez fermentačního metabolismu. Využívá nejrůznější organické sloučeniny jako zdroj energie a uhlíku a je bez nároku na specifické růstové látky. Široké enzymové vybavení způsobilo, že se některé druhy tohoto rodu používají pro průmyslové oxidace různých organických sloučenin, hlavně při výrobě léků. Některé druhy jsou schopny využívat jednouhlíkaté sloučeniny (např. metanol) jako zdroje živin a energie (probíhaly pokusy pro získávání krmných bílkovin) [27].

Řada druhů tvoří fenazinová barviva žlutých, zelených, modrých nebo červených odstínů, které uvolňují do růstového prostředí. Některé druhy uvolňují do prostředí fluoreskující žlutozelené barvivo. Určité druhy vyvolávají v potravinách cizí vůně nebo

pachy (ovocné, rybí) nebo pachuti (mýdlovou, hořkou). Silné proteolytické schopnosti jim umožňují rozklad bílkovinných potravin, a proto patří k nejpočetnějším mikroorganismů na povrchu masa.



Obr. 2. Mikroskopický snímek bakterie *Pseudomonas aeruginosa* [31]

Většinou jsou psychrofilní povahy, takže jejich nežádoucí činnost v potravinách probíhá i při poměrně nízkých skladovacích teplotách. Psychrofilní, které rostou při teplotách chladniček (tj. 0 až + 10°C) a jejich optimální teplota růstu je nižší než 20°C [28]. Některé druhy (např. *Pseudomonas aeruginosa*) jsou patogenní pro člověka, zvířata i rostliny, některé druhy jsou patogenní jen pro rostliny. Po morfologické stránce jsou to monotrichní nebo lofotrichní tyčinky [27].

Campylobacter

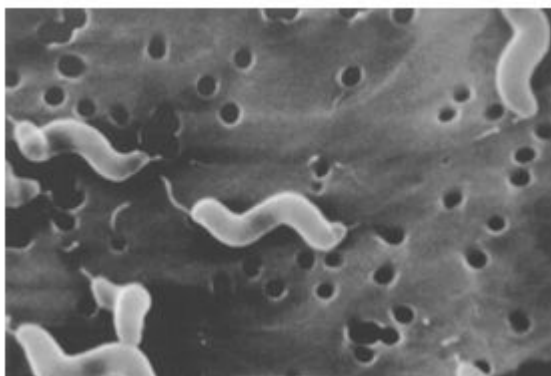
Organismy patřící do čeledi *Campylobacteraceae* jsou zakřivené nebo rovné tyčinky 0,2 – 0,9 μm široké a 0,5 – 5 μm dlouhé. Tvar buněk je nejčastěji spirálovitý podobný písmeni S nebo V a buňky mohou tvořit krátké nebo delší řetězce. Buňky netvoří spóry, jsou Gram negativní. Optimální růstová teplota se pohybuje v rozmezí 30 – 37°C. Rostou za mikroaerobních podmínek.

Bakterie rodu *Campylobacter* jsou typickými zástupci čeledi. V rámci rodu *Campylobacter* existuje skupina termofilních druhů, které jsou schopny růst při teplotě 42°C. Do skupiny jsou řazeny *C. jejuni*, *C. coli*, *C. upsaliensis*. *C. jejuni* je patogenní pro člověka. Způsobuje střevní onemocnění, neboť může být přenášen také potravinami, tedy cyklem výkaly – ústa. *C. jejuni* jsou aerobní nebo mikroaerofilní pohyblivé bakterie spirálového nebo vibriového tvaru [27].

Za hlavní příčinu kampylobakterových infekcí jsou považovány drůbež a drůbeží maso. Drůbež vstupuje na jatka především s vysokým počtem *Campylobacter sp.* v jejich střevech, ale i na kůži a peří. Stres drůbeže během transportu na jatka způsobuje zvýšené kálení a tím i znečištění kůže a peří, což vede ke zvýšení zachytu *Campylobacter sp.* na povrchu poražené drůbeže [32].

Počet gastrointestinálních onemocnění vyvolaných tímto mikroblem v Evropě neustále roste. Hemoragická gastroenteritida vyvolána touto bakterií může mít zejména u dětí velmi těžký průběh. *Campylobacter* dokáže vyvolat onemocnění i u zvířat. Je nacházen u drůbeže, skotu, ovcí, prasat, domácích zvířat a hlodavců. Prostřednictvím potravin může být přenesen na člověka. Snad nejvýznamnějším zdrojem nákazy pro člověka je drůbež, protože více než 50 % poražené drůbeže je kontaminováno tímto organismem a ten může přežívat na chlazené a mražené drůbeži několik dnů až 3 měsíce.

Častým zdrojem nákazy pak mohou být tepelně nedostatečně opracované výrobky (hamburgery, steaky, tatarské bifteky). Původce je značně citlivý vůči nepříznivým vnějším podmínkám, jako je sucho, vyšší teplota, což jsou hlavní překážky pro jeho šíření potravinami [33].



Obr. 3. Mikroskopický snímek *Campylobacter jejuni* [34]

Kvasinky

V některých případech se na povrchu chlazeného masa mohou vyskytovat kvasinkové mikroorganismy rodu *Cryptococcus* a *Trichosporon*. Patogenní druh rodu *Cryptococcus* (tj. *Cryptococcus neoformans*) může napadat vnitřní tkáně lidí i zvířat. Diagnóza tohoto onemocnění je velmi obtížná, a proto často končí smrtí. *Cryptococcus* tvoří kulovité až protáhlé buňky, obalené heteropolysacharidovým slizovitým obalem,

takže kolonie vyrostlé na tuhých půdách jsou lesklé a slizovité. V kyselém prostředí tvoří buňky obaly, jež se jodem barví modře. Kolonie některých druhů jsou v důsledku tvorby karotenoidních barviv nažloutlé .

Pro rod *Trichosporon* je typické bohaté mycelium, na němž pučí buňky různých tvarů. Mycelium se u některých druhů rozpadá v artrospory. Některé druhy tvoří vegetativní endospory. Kvasné schopnosti u některých druhů chybí. Obsahuje 15 druhů, z nichž některé jsou za určitých podmínek patogenní pro člověka (napadení kůže a nehtů na nohou, případně napadení vnitřních tkání). Některé druhy jsou schopny štěpit deriváty benzenu.

Kvasinky vyžadují pro růst kyselé prostředí (jejich optimální pH se pohybuje mezi 4,2 – 5,5) a již slabě alkalické ústojné prostředí (kolem pH 7,5) zastavuje jejich růst. V nestálém prostředí si však kvasinky velmi brzy upravují pH směrem k optimální hodnotě [27].

Plísně

Některé plísně rostou i za velmi nízké teploty (i při - 10°C), což je podmíněno jejich poměrně vysokým vnitrobuněčným osmotickým tlakem, způsobují ztráty při dlouhodobém skladování potravin a jejich surovin dokonce i za chladu. Nejčastěji poškozují maso, máslo a vejce, uplatňují se zde hlavně proteolytické a lipolytické účinky plísní. U chlazeného masa se mohou vyskytovat rody *Thamnidium*, *Cladosporium*, *Geotrichum*.

Pro rod *Thamnidium* je typická přítomnost sporangiol, které vyrůstají na postranních větvích sporangioforu nesoucího sporangium. Pro silné proteolytické schopnosti a psychrofilní povahu způsobuje značné škody hlavně při chladírenském uchovávání masa a jiných potravin. Řadí se mezi třídu *Zygomycetes*.

Rod *Cladosporium* tvoří řetízky vícebuněčných spor, které vznikají pučením, takže jde o blastospory. Spory i starší mycelium jsou tmavě zbarveny. Vyskytuje se na stěnách potravinářských provozoven, ve vinařských a pivovarských sklepích, na chlazeném i mraženém mase a na chlazených vejcích. Rozkládá celulosu, pektiny a tuky.

Rod *Oospora* (dříve nazývaný *Oidium* nebo *Geotrichum*) se rozmnožuje pomocí oidií. Druh *Oospora lacti* (čili *Geotrichum candidum*) se nejčastěji vyskytuje na mléčných výrobcích, na droždí, kysaném zelí a tukovitých tkáních masa, neboť obsahuje proteolytické i lipolytické enzymy [27].

Optimální pH většiny plísní je poblíž neutrálního bodu, avšak mohou se rozmnožovat ve velmi širokém rozmezí pH (1,2 až 11). Při silně kyselém pH prostředí (0,5 až 2,0) se rozmnožují především druhy tvořící značné množství organických kyselin [27].

II. PRAKTICKÁ ČÁST

4 CÍL DIPLOMOVÉ PRÁCE

Cílem diplomové práce s názvem Antimikrobiální účinek kyseliny kaprylové na mikroflóru chlazené drůbeže bylo:

- v teoretické části zpracovat literární rešerši týkající se mastných kyselin, kyseliny kaprylové a výzkumů v oblasti aplikace mastných kyselin a kyseliny kaprylové, mikroflóry chlazené drůbeže, zpracování drůbežního masa,
- v praktické části sledovat antimikrobiální účinek kyseliny kaprylové na mikroflóru chlazené drůbeže, sledovat mikrobiální změny celkového počtu mikroorganismů, koliformních bakterií, kvasinek a plísní na daných médiích, sledovat změny pH v průběhu skladování,
- provést identifikační testy mikroorganismů vyskytujících se na kůži chlazené drůbeže a provést jejich vyhodnocení,
- na základě teoretické části a výsledků praktické části formulovat návrhy a doporučení týkající se aplikace mastných kyselin na kůži chlazené drůbeže.

5 METODIKA PRÁCE

Charakteristika vzorků

K mikrobiologické analýze byla použito chlazených kuřat od firmy Raciola-Jehlička s.r.o. se spotřebou do 4 dnů.

Seznam použitých chemikálií

Plate Count Agar (HiMedia Laboratories, India)
Violet Red Bile Agar (HiMedia Laboratories, India)
Czapek Dox Agar (HiMedia Laboratories, India)
Triple Sugar Iron Agar (HiMedia Laboratories, India)
Simmons Citrate Agar (HiMedia Laboratories, India)
Protose – BE (HiMedia Laboratoriem, India)
Peptone, Bacteriological (HiMedia Laboratoriem, India)
Agar I (HiMedia Laboratoriem, India)
Bromkresolpurpur (indikátor pH 5,2 – 6,8 pro zkvašování cukrů)
Bromthymolová modř (indikátor pH pro OF test)
D – Glukosa
Sacharosa (CHEMAPOL PRAHA)
Laktosa monohydrát (Lach – Ner s.r.o.)
D – Galaktosa (Lachema n.p. Brno)
D – Fruktosa (Lachema n.p. Brno)
Maltosa (Lachema n.p. Brno)
Mléko (hydrolýza kaseinu)
Masopeptonový agar (hydrolýza kaseinu)
3% roztok H₂O₂ (důkaz produkce katalázy)
2% roztok KOH (KOH test)

Činidlo VPT I (α -naftol pro VPtest)

Činidlo VPT II (roztok KOH pro VPtest)

Činidlo pro test INDOL (ENTEROtest)

Činidlo pro test FENYLALANIN (ENTEROtest)

Činidlo pro test ACETOIN (ENTEROtest)

Sterilní parafinový olej (OF test, ENTEROtest)

Sterilní fyziologický roztok (0,85% NaCl)

Sterilní roztok kyseliny kaprylové (0,5 %, 1%, 2%, 3%, 4%)

Sterilní destilovaná voda

5.1 Mikrobiologická analýza

Mikrobiologická analýza se skládala ze stanovení celkového počtu mikroorganismů, celkového počtu koliformních bakterií, kvasinek a plísní. Následně byly provedeny identifikační testy mikroorganismů vyskytujících se na kůži chlazené drůbeže. Metodicky se postupovalo v souladu s českými technickými normami, a to především:

- ČSN ISO 4833 Všeobecné pokyny pro stanovení celkového počtu mikroorganismů, technika počítání kolonií vykultivovaných při 30°C [35],
- ČSN ISO 7218 Všeobecné pokyny pro mikrobiologické postupy [36].

5.1.1 Pracovní postup při mikrobiologické analýze

Postup při stanovení byl proveden v souladu s normou ČSN ISO 4833. Chlazené kuře bylo rozděleno na dvě poloviny. Jedna polovina kuřete byla potřena 25 ml sterilní destilované vody a označena jako kontrolní vzorek. Druhá polovina kuřete byla potřena 25 ml kyseliny kaprylové o dané koncentraci (0,5 %, 1 %, 2%, 3% a 4 %). Byly zvoleny tyto koncentrace, jelikož byl již zkoumán účinek 2% a 5% kyseliny kaprylové na mikroflóru chlazené drůbeže. Byl odebrán vzorek kůže kuřete o hmotnosti 10 g a homogenizován se 100 ml sterilního fyziologického roztoku po dobu 15 minut. Z takto upraveného vzorku se připraví desítkové ředění a to až do stupně, ve kterém je možné stanovit předpokládaný počet mikroorganismů v 1 g zkoumaného vzorku. Do 8 Petriho misek bylo sterilní pipetou

napipetováno 0,1 ml vzorku z vybraného ředění na danou půdu. Ke stanovení CPM byla použita půda Plate Count Agar, ke stanovení celkového počtu koliformních bakterií byla použita půda Violet Red Bile Agar. Petriho misky s inokulem byly umístěny do termostatu dnem vzhůru a inkubovány při teplotě 37°C po dobu 24 h. Pro stanovení celkového počtu kvasinek a plísni byla použita půda Czapek Dox Agar. Takto připravené inokulum na Petriho misce bylo umístěno do termostatu dnem vzhůru a inkubovány při teplotě 25°C po dobu 72 h. Po uplynulé době inkubace se spočítaly narostlé kolonie a výsledek se pře počítal na KTJ/g (Kolonie Tvořící Jednotku) [37].

$$x = \frac{\text{početMO}}{m} \cdot \check{r} \cdot 1000 \quad (1)$$

kde

MO - mikroorganismů

x – celkový počet mikroorganismů (KTJ/g)

m – navážka vzorku kůže kuřete (g)

ř – ředění

Chlazená kuřata byla skladována po dobu 4 dnů při teplotě 6°C a každý den byla provedena mikrobiologické analýza. V průběhu skladování bylo měřeno pH kůže kuřete pomocí pH metru GRYF.

5.2 Identifikace mikroorganismů

Úkolem identifikace bakteriální kultury je stanovení příslušnosti studovaného kmene k určité taxonomické skupině. Identifikace je možná jen tehdy, pokud pracujeme s čistou kulturou (ověření Gramovým barvením nebo křížovým roztěrem). Při identifikaci sledujeme několik skupin vlastností:

- Morfologické vlastnosti – makroskopické i mikroskopické, tvar a zbarvení kolonií, charakter růstu, různá identifikační barvení (např. Gramovo nebo acidorezistentní barvení), tvorbu spor, přítomnost pouzdra, bičíků.
- Fyziologické vlastnosti – vztah ke kyslíku, teplotní rozmezí pro růst, rezistence k teplotě, tolerance k NaCl, citlivost k žlučovým solím,

na antibiotika, typ metabolismu (fermentativní, aerobně nebo anaerobně respirační).

- Biochemické vlastnosti – využívání zdrojů uhlíku, redukce nitrátů, tvorba indolu, acetoinu.
- Doplnující testy – elektronová mikroskopie, sérotypizace, fagotypizace, chemická analýza buněčné stěny, důkaz produkce toxinu [38].

Bylo izolováno 20 čistých bakteriálních kultur křížovým roztěrem z povrchu kůže chlazené drůbeže a následně byly provedeny biochemické identifikační testy bakterií a zkoumány fyziologické vlastnosti jednotlivých kultur.

Použité testy:

- **KOH test**

U jednotlivých bakterií můžeme Gramovu reakci zjistit pomocí rychlého testu s KOH, založeného na rozdílném složení buněčné stěny G+ a G- bakterií [39].

- **Důkaz produkce katalázy**

Při některých biochemických procesech vzniká toxický peroxid vodíku. Některé bakterie mají schopnost produkovat enzym katalázu, který rozkládá H_2O_2 na vodu a molekulární vodík [38].

- **Oxidačně – fermentační test (OF test)**

Tento test slouží k určení oxidačního nebo fermentačního typu metabolismu mikroorganismů. OF test se používá k určení bakterií, které mají enzym nezbytný pro aerobní rozklad glukosy (oxidace) a/nebo pro fermentaci glukosy.

Pro tento test se připraví médium pro fermentaci cukrů obsahující glukosu, peptone, pH indikátor – bromthymolová modř, NaCl, destilovanou vodu, protose – BE a agar [40].

Tab. 6. Výsledky OF testu

Zkumavka bez parafínu	Zkumavka s parafínem	Výsledek
žlutá barva	zelená barva	oxidace
žlutá barva	žlutá barva	fermentace
zelená barva	zelená barva	žádná aktivita na glukose

- **Zkvašování glukosy (s tvorbou plynu), laktosy a sacharosy a produkce H₂S**

Tento biochemický test se zjišťuje na Triple Sugar Iron Agar (TSI Agar), sešikmeném ve zkumavce [28]. Důkaz tvorby H₂S a fermentace cukrů jsou všeobecné znaky pro specifickou skupinu bakterií, zejména pro čeleď *Enterobacteriaceae* [40].

- **Důkaz produkce oxidázy**

Test se používá k diferenciaci druhů rodu *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium* (pozitivní reakce na oxidázu) [38]. Test slouží k detekci cytochromoxidázy, přítomnost je detekována barevnou reakcí N,N-dimethyl-1,4-fenylendiaminu s α -naftolem za vzniku indofenolové modří. K vyhodnocení produkce oxidázy bylo použito OXItestu MIKROLATEST (PLIVA – Lachema Diagnostika s.r.o., Brno), který obsahuje 50 ks proužků pro důkaz produkce oxidázy.

Na základě produkce oxidázy byly následně jednotlivé izolované kultury rozděleny na dvě skupiny. Ty které měly pozitivní reakci na oxidázu, byly použity pro další biochemické testy (zkvašování cukrů, SCI test, ONP test, VPT, hydrolýza kaseinu). Ty které měly negativní reakci na oxidázu, byly použity pro ENTEROtest.

- **Důkaz využívání citrátů – Simmons citrátový test (SC test)**

Sledujeme využívání citrátu jako jediného zdroje uhlíku. Test využívá půdy Simmonsův citrát. Jako indikátor růstu je použita bromthymolová modř. Pozitivní reakce se projeví změnou zeleného zbarvení na modré [39].

- **ONP test – důkaz produkce β -galaktosidázy**

ONP test je určen pro detekci β -galaktosidázy. K detekci bylo použito ONP testu MIKROLATEST (PLIVA - Lachema Diagnostika s.r.o.). Jedno balení testu obsahuje 50 testovacích proužků pro stanovení β -galaktosidázy. V případě pozitivní reakce je β -galaktosidázou hydrolyzován o-nitrofenyl- β -D-galaktopyranosid, reakce je detekována žlutým zbarvením uvolněného o-nitrofenolu.

- **Voges-Proskauerův test (VPT)**

Sledujeme tvorbu acetoinu jako meziprojektu rozkladu glukosy [38]. Detekuje tvorbu diacetylu, neboli acetoinu (vzniká oxidací acetylmethylkarbinolu) a guenidinových zbytků peptonu [39]. Bylo použito VPtestu MIKROLATEST (PLIVA – Lachema Diagnostika s.r.o.). Jedno balení testu obsahuje 50 testovacích proužků, činidlo VPT I (α -

naftol) a VPT II (roztok KOH). V případě tvorby acetoinu vzniká červené, růžové zbarvení, reakcí s α -naftolem (čínidlo pro VPT I) v alkalickém prostředí (čínidlo pro VPT II).

- **Vznik kyseliny z glukosy, sacharosy, laktosy, galaktosy, fruktosy, maltosy**

Sleduje se rozklad cukrů za tvorby kyselin, pozitivní reakce se projeví červeným zbarvením acidobazického indikátoru (bromkresolpurpur).

- **Růst izolovaných kultur při teplotách 6°C, 37°C, 42°C**

Sleduje se růst testovaných kultur při daných teplotách. Jednotlivé izolované kultury se naočkují na Petriho misky s PCA a následně se inkubují při teplotách 37°C a 42°C po dobu 24 h. Při teplotě 6°C se výsledek vyhodnocuje po 14 dnech od naočkování.

- **Hydrolyza kaseinu**

Připraví se Masopeptonový agar s mlékem pro hydrolyzu kaseinu z protose – BE, peptonu, NaCl, agaru, destilované vody a odstředěného mléka. Po inkubaci se sleduje tvorba vyjasněných zón kolem kolonií vyrostlých na agarové půdě, které indikují tvorbu proteolytických enzymů [39].

- **ENTERO test**

Byla použita souprava ENTEROtest 24, která je určena pro identifikaci významných druhů střevních bakterií z čeledi *Enterobacteriaceae*. Souprava umožňuje provést 24 biochemických testů. Testy jsou umístěny v jamkách mikrotitrační destičky, vždy tři řady po osmi jamkách obsahují testy pro identifikaci jednoho kmene.

ENTEROtest 24 byl vyhodnocen pomocí programu TNT Lite 6.5 a Diagnostického seznamu pro MIKRO - LA – TEST ENTEROtest 24 (Pliva – Lachema Diagnostika s.r.o.).

5.3 Statistické vyhodnocení výsledků

Výsledky z provedené mikrobiologické analýzy byly vyhodnoceny statisticky za použití programu STATVYD, verze 2.0 beta. Pro mikrobiologickou analýzu byly zvolena 5% hladina významnosti (maximální pravděpodobnost chybného zamítnutí správné hypotézy je 5 % tzn., že testy jsou prováděny s 95% spolehlivostí). Byly srovnány výsledky kontrolního vzorku a vzorku s kyselinou kaprylovou o dané koncentraci v jednotlivých dnech. Byly srovnávány hodnoty pH kontrolního vzorku a vzorku s kyselinou kaprylovou o dané koncentraci v jednotlivých dnech. Pro srovnání těchto

hodnot byl použit Wilcoxonův test jako neparametrický test. Dále byly statisticky vyhodnoceny jednotlivé koncentrace kyselin mezi sebou ve 4 dnech skladování. U těchto dat, které nemají normované normální rozdělení, byl použit Kruskal-Wallisův test určený pro srovnání více jak dvou výběrů (neparametrický test).

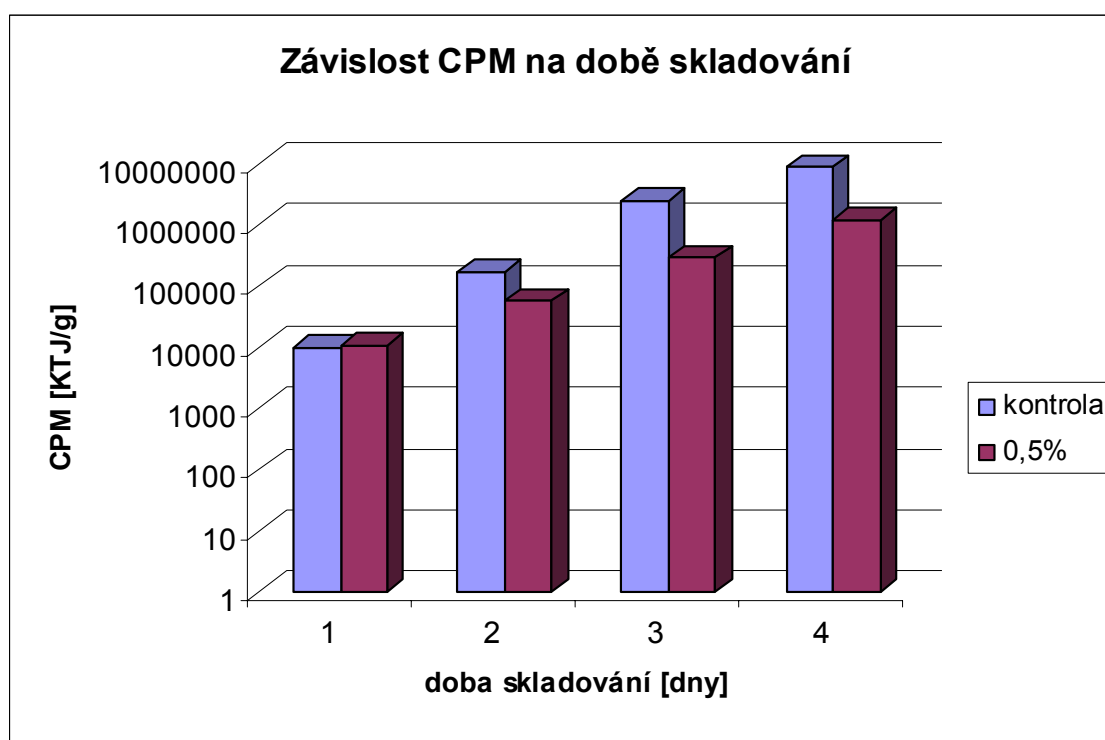
6 VÝSLEDKY A DISKUSE

6.1 Antimikrobiální účinek 0,5% kyseliny kaprylové na kůži chlazené drůbeže

V jednotlivých tabulkách jsou uvedeny aritmetické průměry ze dvou měření (8 Petriho misek).

Tab. 7. Celkový počet mikroorganismů v průběhu skladování na povrchu kuřecí kůže

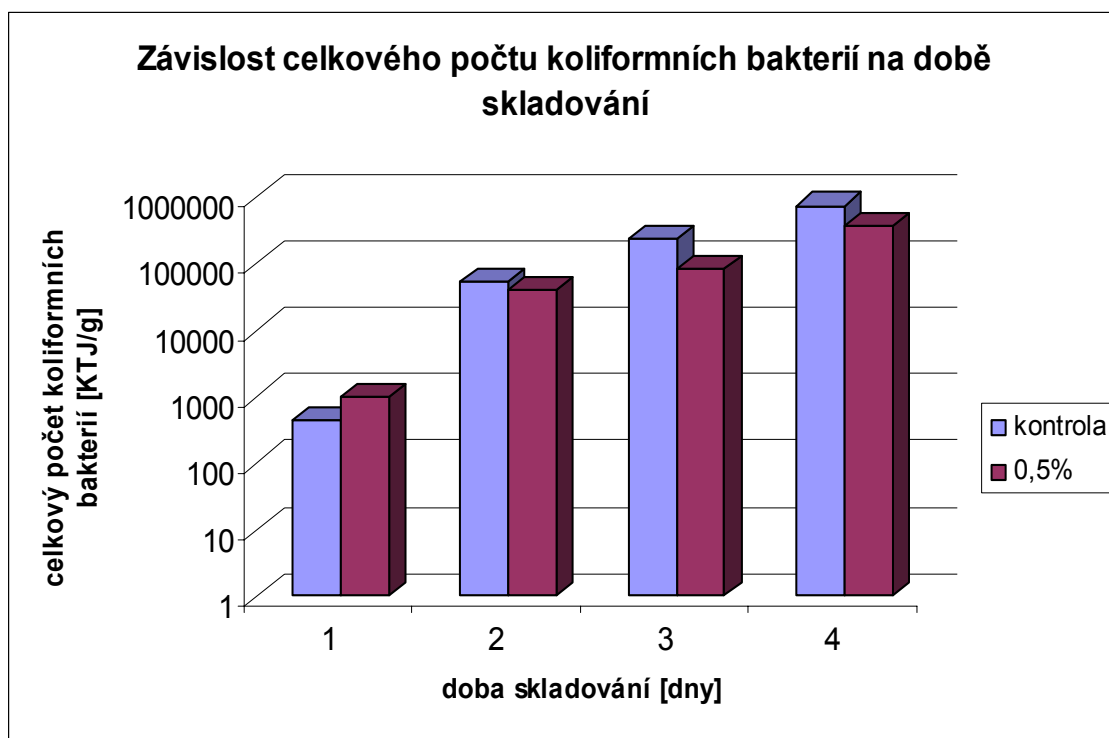
Den skladování	Kontrola [KTJ/g]	0,5% C8:0 [KTJ/g]
1	$9,89 \cdot 10^3$	$1,07 \cdot 10^4$
2	$1,71 \cdot 10^5$	$5,74 \cdot 10^4$
3	$2,47 \cdot 10^6$	$2,90 \cdot 10^5$
4	$8,69 \cdot 10^6$	$1,19 \cdot 10^6$



Obr. 4. Závislost CPM na době skladování na povrchu kuřecí kůže

Tab. 8. Celkový počet koliformních bakterií v průběhu skladování na povrchu kuřecí kůže

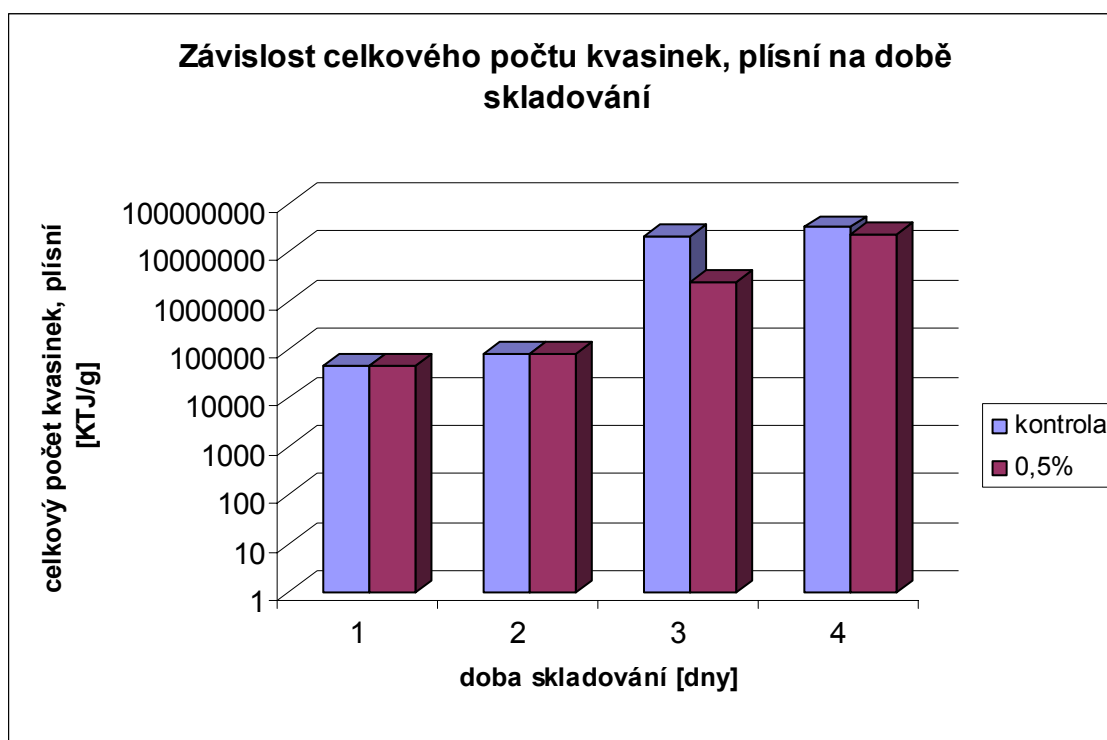
Den skladování	Kontrola [KTJ/g]	0,5% C8:0 [KTJ/g]
1	$4,54 \cdot 10^2$	$1,01 \cdot 10^3$
2	$5,53 \cdot 10^4$	$4,01 \cdot 10^4$
3	$2,39 \cdot 10^5$	$8,22 \cdot 10^4$
4	$7,52 \cdot 10^5$	$3,77 \cdot 10^5$



Obr. 5. Závislost celkového počtu koliformních bakterií na době skladování na povrchu kuřecí kůže

Tab. 9. Celkový počet kvasinek, plísní v průběhu skladování na povrchu kuřecí kůže

Den skladování	Kontrola [KTJ/g]	0,5% C8:0 [KTJ/g]
1	$4,41 \cdot 10^4$	$4,67 \cdot 10^4$
2	$7,79 \cdot 10^4$	$7,82 \cdot 10^4$
3	$2,01 \cdot 10^8$	$2,42 \cdot 10^7$
4	$3,16 \cdot 10^8$	$2,24 \cdot 10^8$



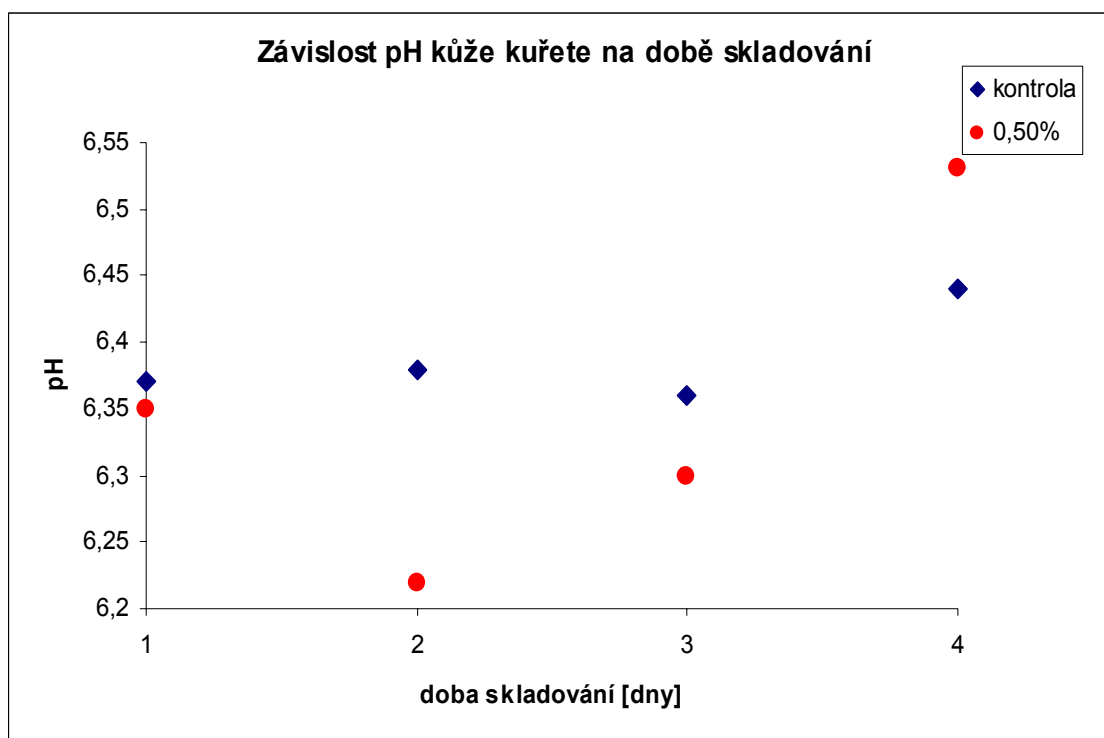
Obr. 6. Závislost celkového počtu kvasinek, plísní na době skladování na povrchu kuřecí kůže

Z výsledků vyplývá, že nedošlo ke snížení celkového počtu mikroorganismů, celkového počtu koliformních bakterií, kvasinek a plísní při použití 0,5% C8:0 na kůži chlazené drůbeže. Úbytek mikroorganismů je v tomto případě porovnatelný s kontrolním vzorkem, což je způsobeno nízkou koncentrací kyseliny kaprylové aplikované na kůži chlazené drůbeže. Výsledky oproti kontrole jsou řádově stejné. Výsledky byly statisticky vyhodnoceny - mezi srovnávanými hodnotami nebyly statisticky významné rozdíly ve všech dnech skladování. Použití 0,5% C8:0 neovlivnilo snížení nárůstu mikroorganismů na kůži chlazené drůbeže.

Tab. 10. Hodnoty pH v průběhu skladování¹⁾

Den skladování	pH kontrola	pH 0,5% C8:0
1	6,37 ± 0,13	6,35 ± 0,16
2	6,38 ± 0,12	6,22 ± 0,29
3	6,36 ± 0,21	6,30 ± 0,25
4	6,44 ± 0,16	6,53 ± 0,37

1) V tabulce jsou uvedeny aritmetické průměry jednotlivých stanovení ze dvou měření ± výběrová směrodatná odchylka



Obr. 7. Závislost pH kůže kuřete na době skladování

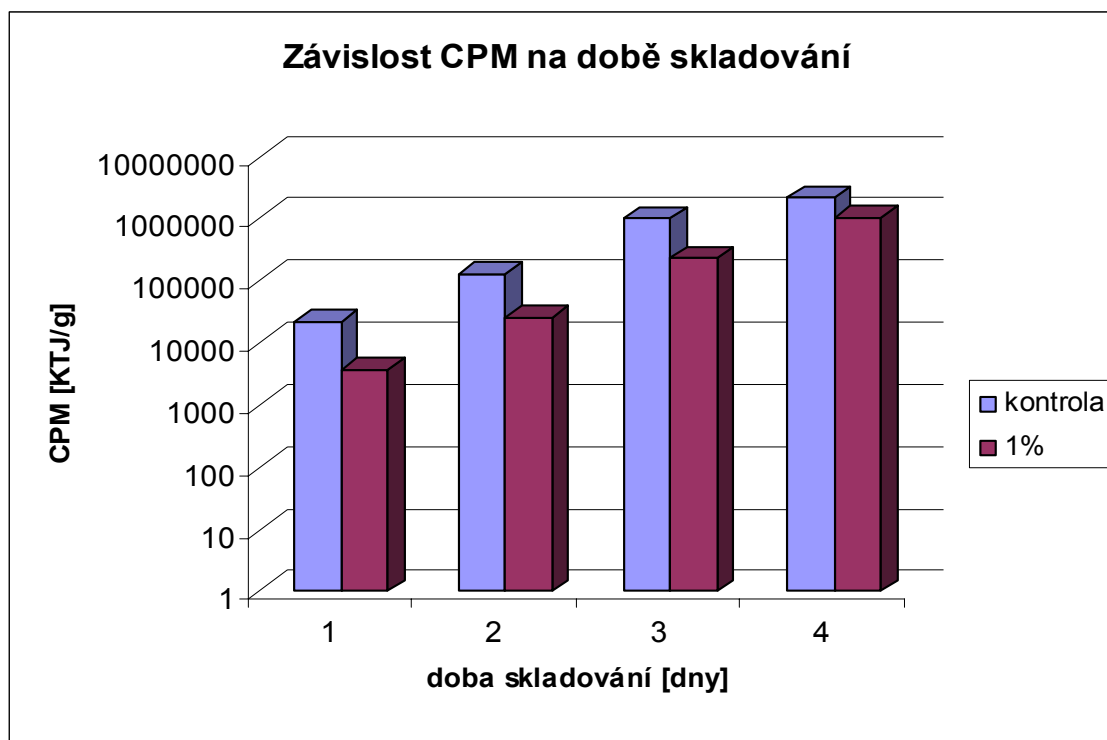
Z výsledků tab. 10. a obr. 9. vyplývá, že v průběhu skladování došlo k mírnému nárůstu pH a to jak v případě kontrolního vzorku, tak v případě vzorku s 0,5 % C8:0. V průběhu skladování dochází k nárůstu hodnoty pH a tím ovlivnění údržnosti z hlediska mikrobiálního. Výsledky byly statisticky vyhodnoceny a bylo zjištěno, že mezi srovnávanými hodnotami nebyly statisticky významné rozdíly ve všech dnech skladování. Použití 0,5% C8:0 neovlivnilo snížení hodnoty pH kůže kuřete.

6.2 Antimikrobiální účinek 1% kyseliny kaprylové na kůži chlazené drůbeže

V tabulkách jsou uvedeny aritmetické průměry ze dvou měření (8 Petriho misek).

Tab. 11. Celkový počet mikroorganismů v průběhu skladování na povrchu kuřecí kůže

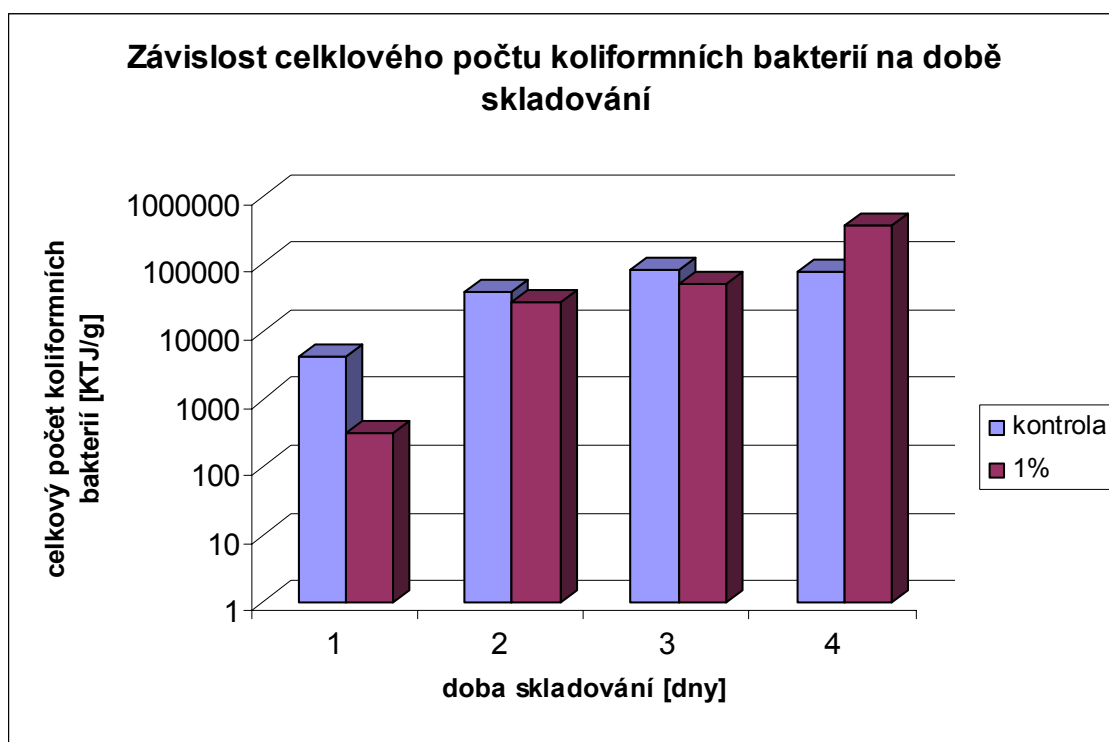
Den skladování	Kontrola [KTJ/g]	1% C8:0 [KTJ/g]
1	$2,14 \cdot 10^4$	$3,66 \cdot 10^3$
2	$1,31 \cdot 10^5$	$2,54 \cdot 10^4$
3	$1,00 \cdot 10^7$	$2,32 \cdot 10^6$
4	$2,18 \cdot 10^7$	$1,03 \cdot 10^7$



Obr. 8. Závislost CPM na době skladování na povrchu kuřecí kůže

Tab. 12. Celkový počet koliformních bakterií v průběhu skladování na povrchu kuřecí kůže

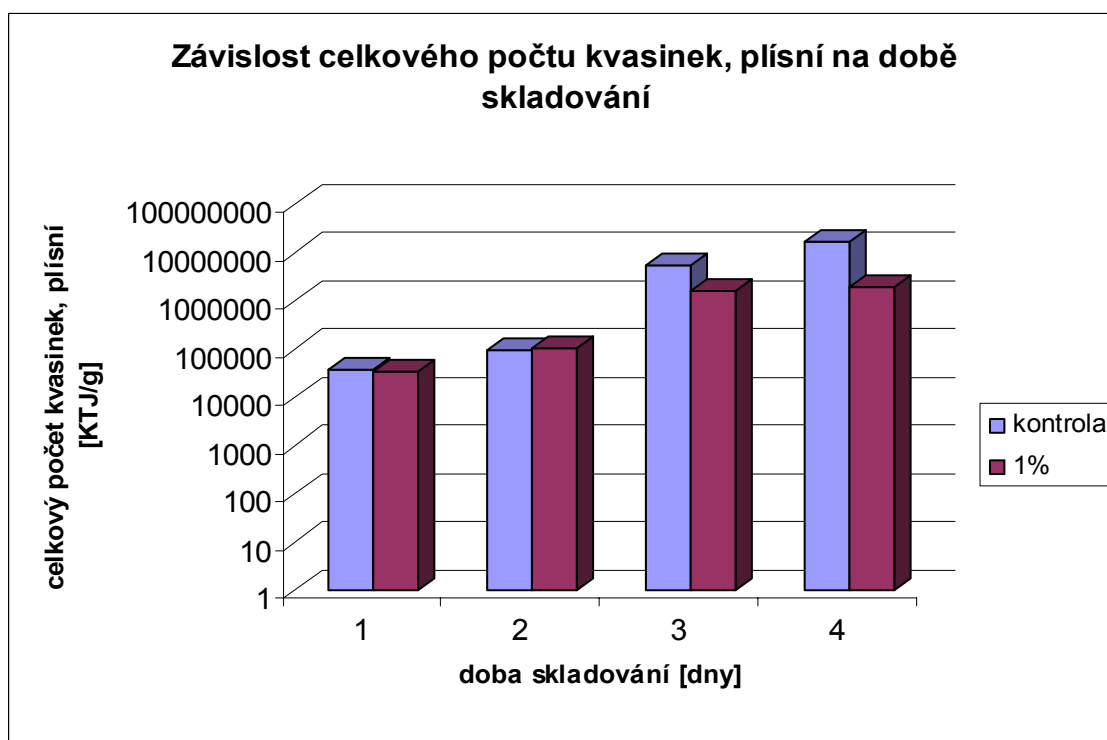
Den skladování	Kontrola [KTJ/g]	1% C8:0 [KTJ/g]
1	$4,17 \cdot 10^3$	$3,11 \cdot 10^2$
2	$3,78 \cdot 10^4$	$2,66 \cdot 10^4$
3	$8,02 \cdot 10^4$	$4,95 \cdot 10^4$
4	$7,33 \cdot 10^4$	$3,53 \cdot 10^5$



Obr. 9. Závislost celkového počtu koliformních bakterií na době skladování na povrchu kuřecí kůže

Tab. 13. Celkový počet kvasinek, plísni v průběhu skladování na povrchu kuřecí kůže

Den skladování	Kontrola [KTJ/g]	1% C8:0 [KTJ/g]
1	$3,78 \cdot 10^4$	$3,34 \cdot 10^4$
2	$9,43 \cdot 10^4$	$1,04 \cdot 10^5$
3	$5,50 \cdot 10^6$	$1,63 \cdot 10^6$
4	$1,59 \cdot 10^7$	$1,95 \cdot 10^6$



Obr. 10. Závislost celkového počtu kvasinek, plísni na době skladování na povrchu kuřecí kůže

Z výše uvedených výsledků vyplývá, že v průběhu skladování přídatek 1% C8:0 neovlivnil nárůst celkového počtu mikroorganismů, celkového počtu koliformních bakterií, celkového počtu kvasinek a plísni oproti kontrolnímu vzorku. Výsledky byly statisticky vyhodnoceny - mezi srovnávanými hodnotami nebyly statisticky významné rozdíly ve všech dnech skladování. Použití 1% C8:0 neovlivnilo nárůst mikroorganismů na kůži chlazené drůbeže.

Tab. 14. Hodnoty pH v průběhu skladování¹⁾

Den skladování	pH kontrola	pH 1% C8:0
1	6,38 ± 0,09	6,20 ± 0,08
2	6,41 ± 0,10	6,25 ± 0,10
3	6,41 ± 0,11	6,26 ± 0,03
4	6,59 ± 0,04	6,48 ± 0,23

1) V tabulce jsou uvedeny aritmetické průměry jednotlivých stanovení ze dvou měření ± výběrová směrodatná odchylka



Obr. 11. Závislost pH kůže kuřete na době skladování

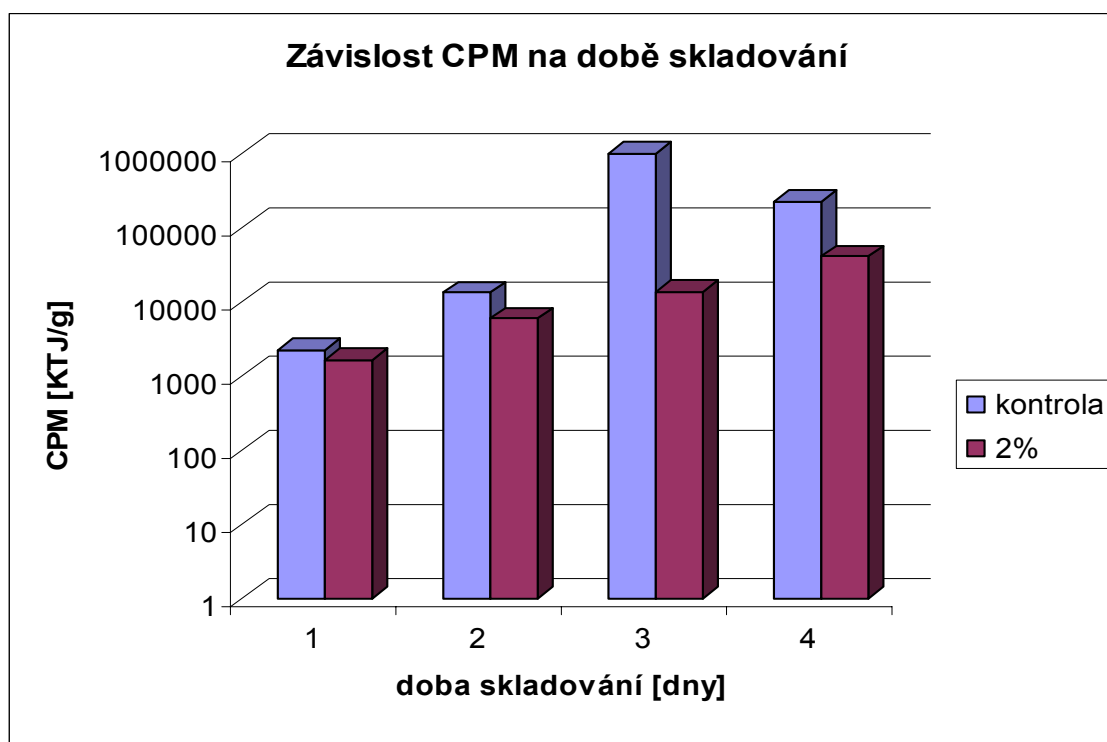
V průběhu skladování došlo k nárůstu hodnoty pH jak u kontrolního vzorku tak u 1% C8:0. Hodnoty pH kůže kuřete s 1% C8:0 se pohybují v rozmezí 6,20 – 6,48 oproti hodnotám kontrolního vzorku kůže kuřete, které jsou v rozmezí 6,40 – 6,60. Z toho vyplývá, že 1% C8:0 měla mírný účinek na snížení pH kůže kuřete. Výsledky byly statisticky vyhodnoceny - mezi srovnávanými hodnotami byly statisticky významné rozdíly v prvním a druhém dnu skladování. Při aplikaci 1% C8:0 došlo k okyselení kůže kuřete a tím ke zlepšení mikrobiální údržnosti kuřete. Třetí a čtvrtý den skladování nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly.

6.3 Antimikrobiální účinek 2 % kyseliny kaprylové na kůži chlazené drůbeže

V tabulkách jsou uvedeny aritmetické průměry ze dvou měření (8 Petriho misek).

Tab. 15. Celkový počet mikroorganismů v průběhu skladování na povrchu kuřecí kůže

Den skladování	Kontrola [KTJ/g]	2% C8:0 [KTJ/g]
1	$2,21 \cdot 10^3$	$1,68 \cdot 10^3$
2	$1,33 \cdot 10^4$	$5,94 \cdot 10^3$
3	$1,74 \cdot 10^6$	$1,38 \cdot 10^4$
4	$2,25 \cdot 10^5$	$4,06 \cdot 10^4$



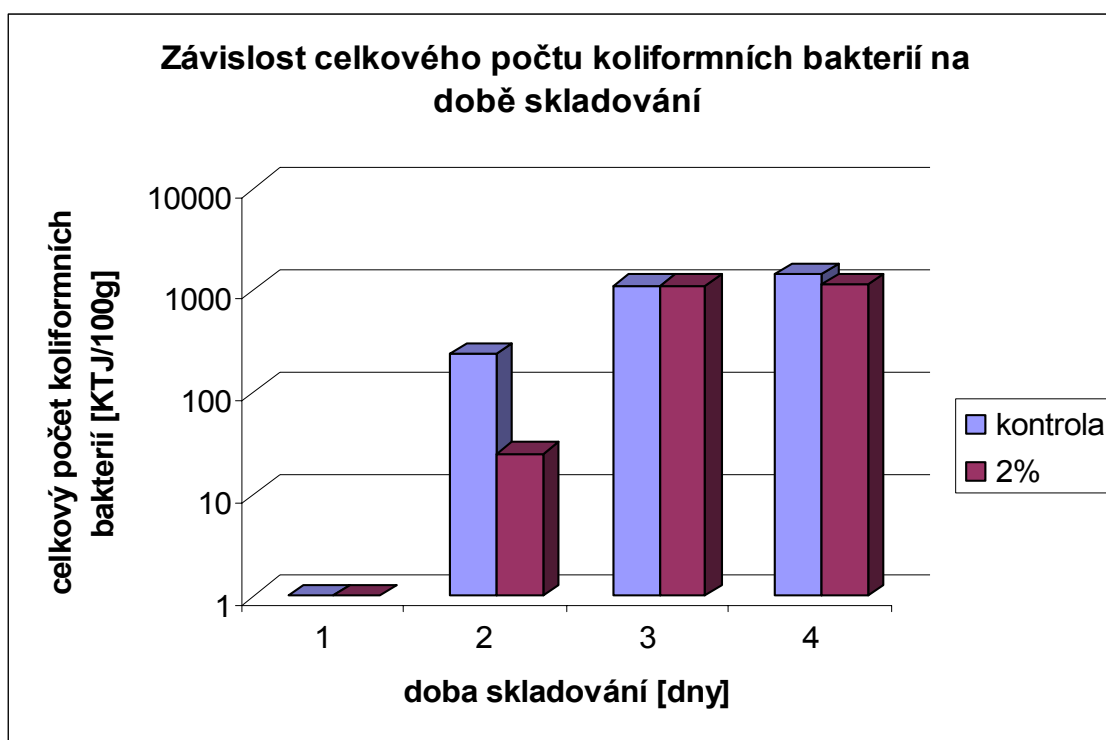
Obr. 12. Závislost CPM na době skladování na povrchu kuřecí kůže

Z výsledků tab. 15. a obr. 14. vyplývá, že účinek 2% C8:0 v prvním dnu neměl vliv na úbytek CPM oproti kontrolnímu vzorku. Postupně v průběhu skladování lze sledovat úbytek CPM u 2% C8:0 a to o jeden řád oproti kontrolnímu vzorku. Z toho plyne, že došlo ke snížení CPM při použití 2% C8:0 na kůži chlazené drůbeže. 2% C8:0 má vliv na snížení

CPM oproti kontrole, což již bylo potvrzeno i v jiných studiích, kdy vzrůstající koncentrace kyseliny kaprylové eliminovala nárůst mikroorganismů [7],[8],[9]. Výsledky byly statisticky vyhodnoceny - mezi srovnávanými hodnotami byly statisticky významné rozdíly ve všech dnech skladování. Použití 2% C8:0 ovlivnilo nárůst CPM na kůži chlazené drůbeže.

Tab. 16. Celkový počet koliformních bakterií v průběhu skladování na povrchu kuřecí kůže

Den skladování	Kontrola [KTJ/g]	2% C8:0 [KTJ/g]
1	0	0
2	$2,37 \cdot 10^2$	$2,5 \cdot 10^1$
3	$1,10 \cdot 10^3$	$1,11 \cdot 10^3$
4	$1,42 \cdot 10^3$	$1,14 \cdot 10^3$

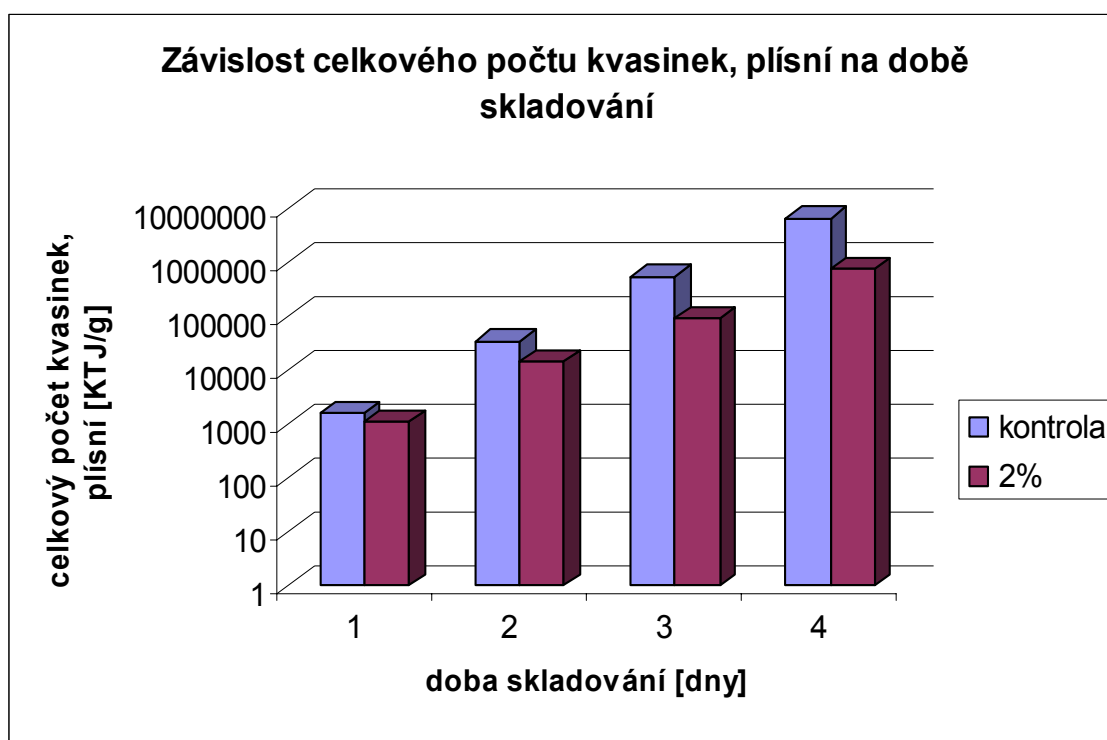


Obr. 13. Závislost celkového počtu koliformních bakterií na době skladování na povrchu kuřecí kůže

Z výsledků tab. 16. a obr. 15. vyplývá, že účinek 2% C8:0 na kůži kuřete není příliš patrný. Pouze druhý den skladování došlo ke snížení nárůstu celkového počtu koliformních bakterií u vzorku s 2% C8:0 oproti kontrolnímu vzorku, kdy koliformní bakterie jsou více vnímavé vůči kyselině kaprylové již od nižších koncentrací [7],[8],[9]. V třetím a čtvrtém dnu skladování byl nárůst koliformních bakterií řádově u obou vzorků shodný, což mohlo být způsobeno kontaminací vzorku. Výsledky byly statisticky vyhodnoceny - mezi srovnávanými hodnotami nebyly statisticky významné rozdíly s výjimkou čtvrtého dne skladování.

Tab. 17. Celkový počet kvasinek, plísní v průběhu skladování na povrchu kuřecí kůže

Den skladování	Kontrola [KTJ/g]	2% C8:0 [KTJ/g]
1	$1,62 \cdot 10^3$	$1,09 \cdot 10^3$
2	$3,53 \cdot 10^4$	$1,46 \cdot 10^4$
3	$5,57 \cdot 10^5$	$9,09 \cdot 10^4$
4	$6,70 \cdot 10^6$	$7,64 \cdot 10^5$



Obr. 14. Závislost celkového počtu kvasinek, plísní na době skladování na povrchu kuřecí kůže

Z výše uvedených výsledků vyplývá, že v průběhu skladování došlo ke snížení celkového počtu kvasinek a plísní při použití 2% C8:0 oproti kontrolnímu vzorku. Účinek kyseliny kaprylové a jejího monoacylglycerolu na některé kvasinky a houby byl prokázán viz. kapitola 1.4. Pouze první den byl nárůst kvasinek a plísní řádově shodný u obou vzorků, což mohlo být způsobeno kontaminací vzorku s C8:0. Výsledky byly statisticky vyhodnoceny - mezi srovnávanými hodnotami byly statisticky významné rozdíly s výjimkou prvního dne skladování. Použití 2% C8:0 ovlivnilo nárůst kvasinek, plísní na kůži chlazené drůbeže.

Tab. 18. Hodnoty pH v průběhu skladování¹⁾

Den skladování	pH kontrola	pH 2% C8:0
1	6,24 ± 0,14	6,03 ± 0,19
2	6,21 ± 0,15	6,16 ± 0,16
3	6,30 ± 0,33	6,28 ± 0,15
4	6,60 ± 0,19	6,29 ± 0,11

1) V tabulce jsou uvedeny aritmetické průměry jednotlivých stanovení ze dvou měření ± výběrová směrodatná odchylka



Obr. 15. Závislost pH kůže kuřete na době skladování

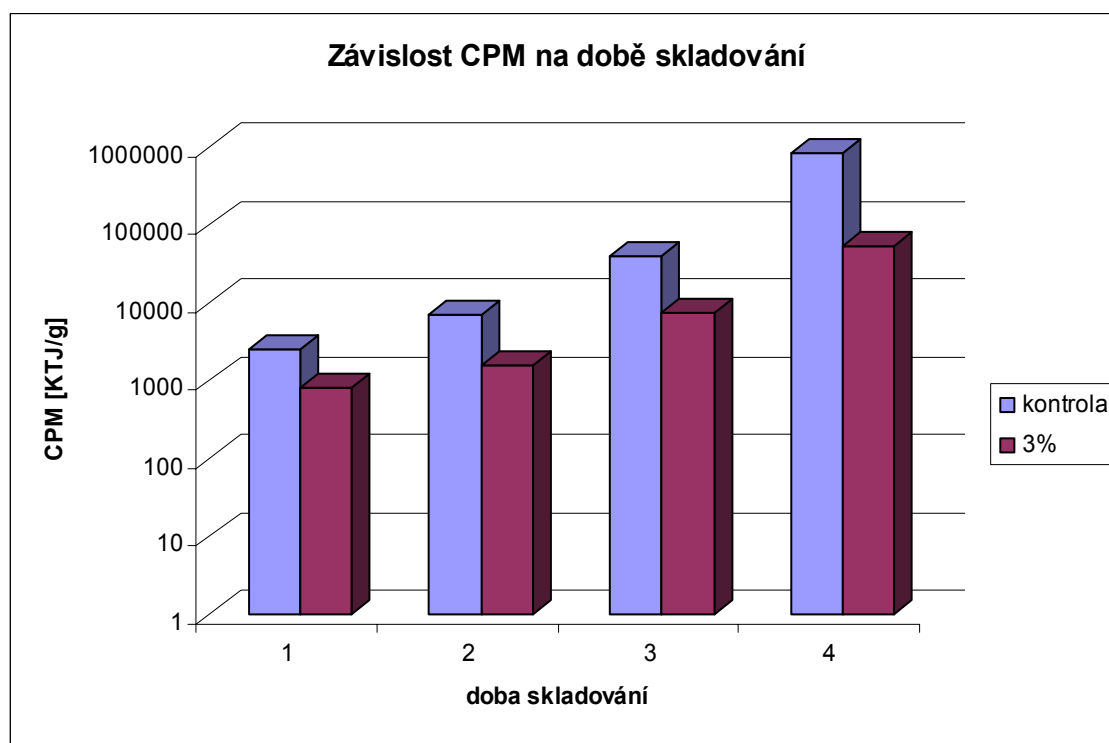
Z výsledků tab. 18. a obr. 17. vyplývá, že došlo ke zvýšení hodnoty pH v průběhu skladování. U kontrolního vzorku hodnoty pH jsou o něco vyšší než u vzorku s 2% C8:0. Došlo k okyselení kůže kuřete a tím k mírnému snížení pH. Výsledky byly statisticky vyhodnoceny - mezi srovnávanými hodnotami byly statisticky významné rozdíly ve druhém, třetím, a čtvrtém dnu skladování s výjimkou prvního dne skladování. Z toho vyplývá, že 2% C8:0 měla vliv na mírné snížení hodnoty pH kůže kuřete v průběhu skladování a tím ovlivnění její mikrobiální údržnosti.

6.4 Antimikrobiální účinek 3% kyseliny kaprylové na kůži chlazené drůbeže

V tabulkách jsou uvedeny aritmetické průměry ze dvou měření (8 Petriho misek).

Tab. 19. Celkový počet mikroorganismů v průběhu skladování na povrchu kuřecí kůže

Den skladování	Kontrola [KTJ/g]	3% C8:0 [KTJ/g]
1	$2,55 \cdot 10^3$	$8,23 \cdot 10^2$
2	$6,87 \cdot 10^3$	$1,58 \cdot 10^3$
3	$4,03 \cdot 10^4$	$7,55 \cdot 10^3$
4	$8,47 \cdot 10^5$	$5,32 \cdot 10^4$



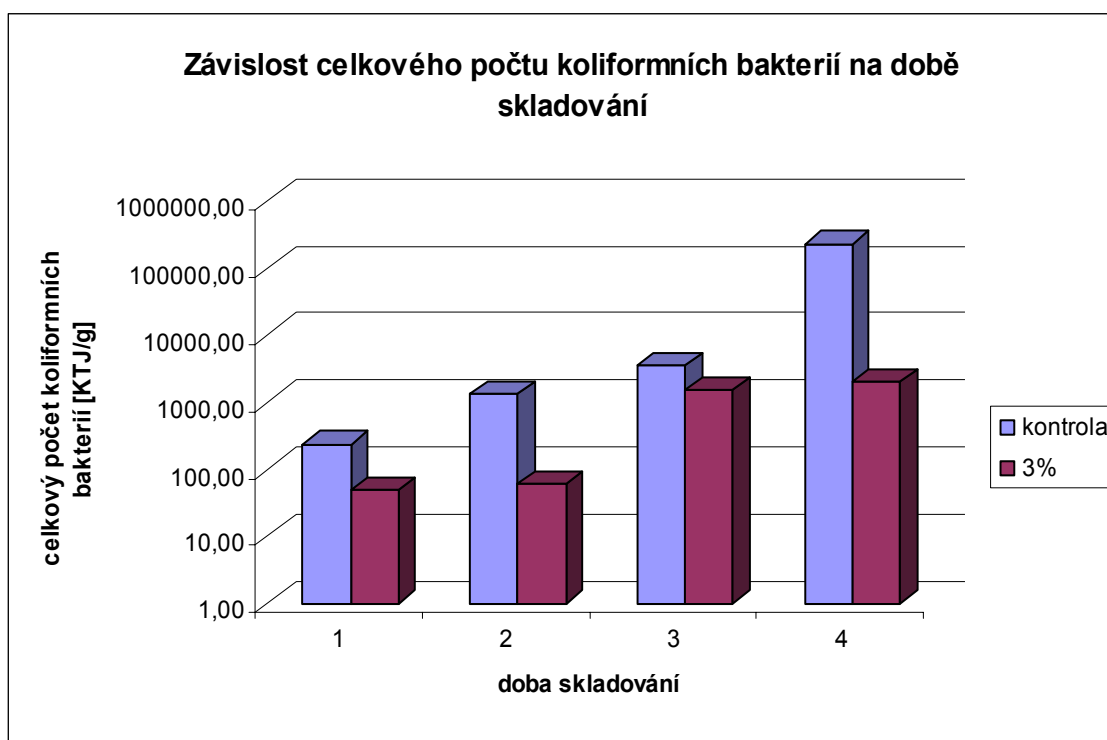
Obr. 16. Závislost CPM na době skladování na povrchu kuřecí kůže

Z výsledků tab. 19. a obr. 18. vyplývá, že v průběhu skladování došlo ke snížení CPM při použití 3% C8:0 oproti kontrolnímu vzorku. Hodnoty u vzorku s 3% C8:0 jsou o řád nižší oproti hodnotám kontrolního vzorku. Můžeme zde zaznamenat výraznější antimikrobiální účinek 3% C8:0 na kůži chlazené drůbeže. Z toho plyne, že se zvyšující se koncentrací dochází k úbytku CPM na kůži chlazené drůbeže. Výsledky byly statisticky

vyhodnoceny - mezi srovnávanými hodnotami byly statisticky významné rozdíly ve všech dnech skladování. Použití 3% C8:0 ovlivnilo nárůst CPM na kůži chlazené drůbeže.

Tab. 20. Celkový počet koliformních bakterií v průběhu skladování na povrchu kuřecí kůže

Den skladování	Kontrola [KTJ/g]	3% C8:0 [KTJ/g]
1	$2,35 \cdot 10^2$	$4,80 \cdot 10^1$
2	$1,34 \cdot 10^3$	$6,00 \cdot 10^1$
3	$3,53 \cdot 10^3$	$1,56 \cdot 10^3$
4	$2,33 \cdot 10^5$	$2,02 \cdot 10^3$

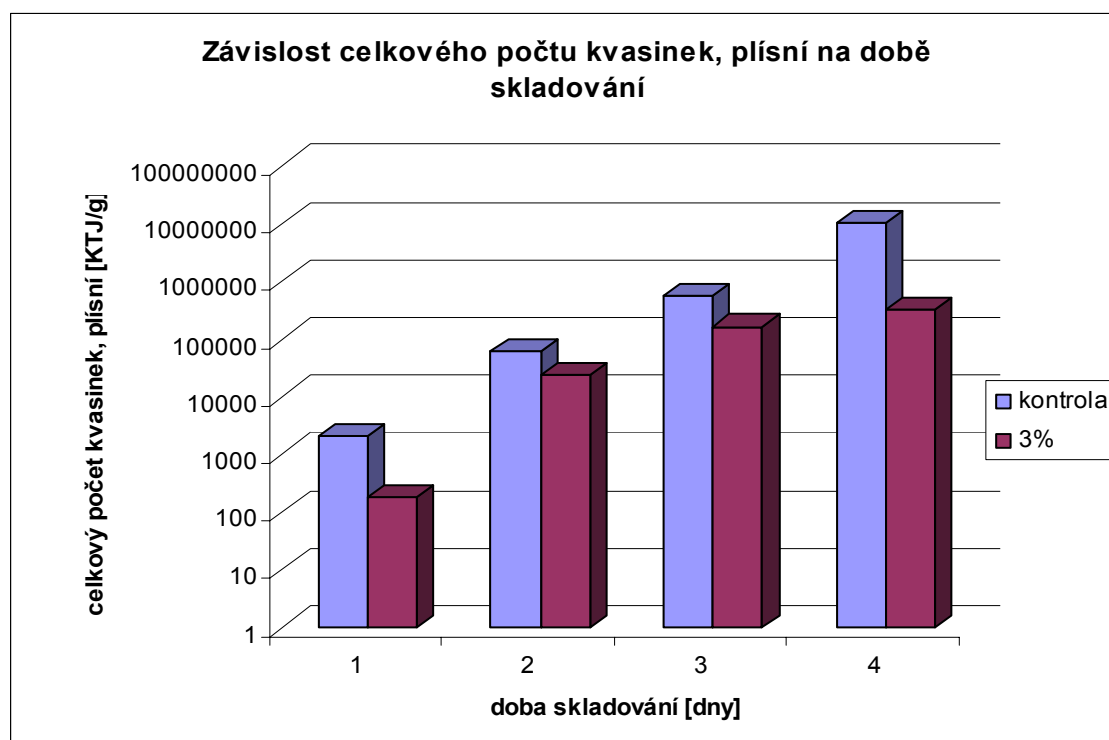


Obr. 17. Závislost celkového počtu koliformních bakterií na době skladování na povrchu kuřecí kůže

Z výsledků tab. 20. a obr. 19. vyplývá, že v průběhu skladování došlo ke snížení nárůstu celkového počtu koliformních bakterií u vzorku s 3% C8:0 oproti kontrolnímu vzorku, kdy koliformní bakterie jsou více vnímavé vůči kyselině kaprylové již od nižších koncentrací [7],[8],[9]. Pouze třetí den skladování byla hodnota celkového počtu bakterií vzorku s 3% C8:0 řádově shodná s hodnotou kontrolního vzorku, což mohlo být způsobeno kontaminací vzorku. Výsledky byly statisticky vyhodnoceny - mezi srovnávanými hodnotami byly statisticky významné rozdíly s výjimkou třetího den skladování, což mohlo být způsobeno kontaminací vzorku.

Tab. 21. Celkový počet kvasinek, plísní v průběhu skladování na povrchu kuřecí kůže

Den skladování	Kontrola [KTJ/g]	3% C8:0 [KTJ/g]
1	$2,08 \cdot 10^3$	$1,81 \cdot 10^2$
2	$6,08 \cdot 10^4$	$2,45 \cdot 10^4$
3	$5,71 \cdot 10^5$	$1,63 \cdot 10^5$
4	$1,05 \cdot 10^7$	$3,24 \cdot 10^5$



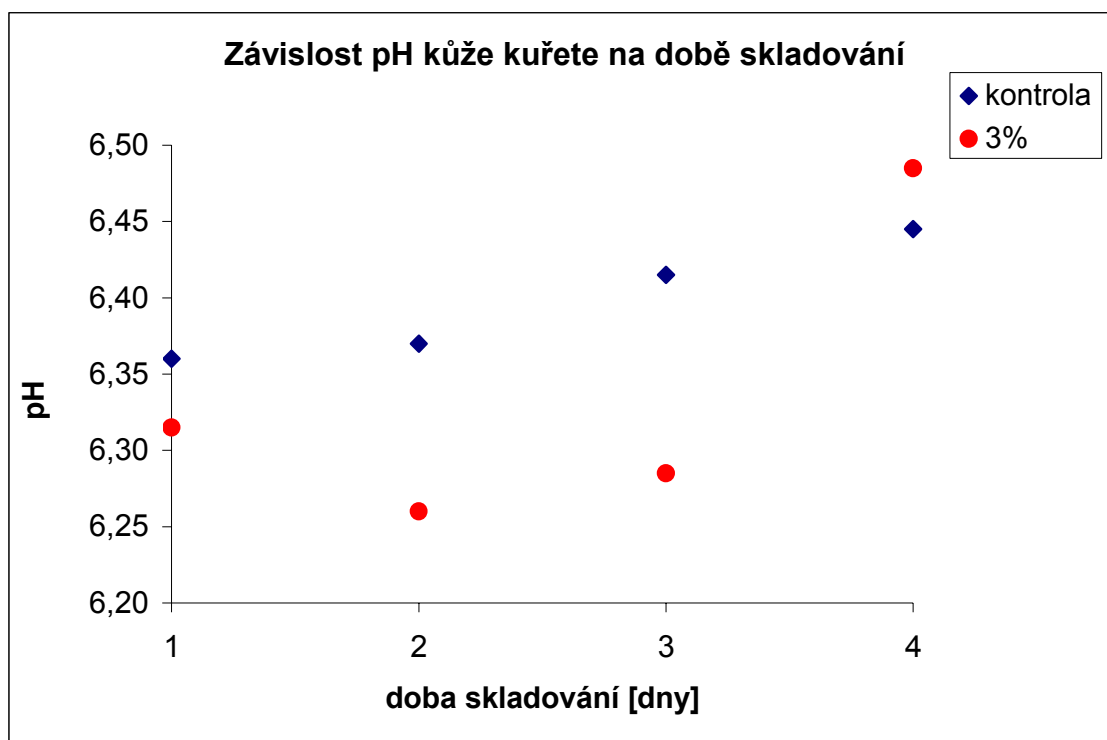
Obr. 18. Závislost celkového počtu kvasinek, plísní na době skladování na povrchu kuřecí kůže

Z výsledků tab. 21. a obr. 20. vyplývá, že došlo ke snížení celkového počtu kvasinek a plísní při použití 3% C8:0. Účinek kyseliny kaprylové a jejího monoacylglycerolu na některé kvasinky a houby byl prokázán viz. kapitola 1.4. Pouze druhý a třetí den skladování se hodnoty vzorku s 3% C8:0 řádově shodují s kontrolním vzorkem, což mohlo být způsobeno kontaminací vzorku s C8:0. Výsledky byly statisticky vyhodnoceny - mezi srovnávanými hodnotami byly statisticky významné rozdíly. Použití 3% C8:0 ovlivnilo nárůst kvasinek a plísní na kůži chlazené drůbeže.

Tab. 22. Hodnoty pH v průběhu skladování¹⁾

Den skladování	pH kontrola	pH 3% C8:0
1	6,36 ± 0,14	6,32 ± 0,21
2	6,37 ± 0,14	6,26 ± 0,23
3	6,42 ± 0,13	6,29 ± 0,28
4	6,45 ± 0,15	6,49 ± 0,43

1) V tabulce jsou uvedeny aritmetické průměry jednotlivých stanovení ze dvou měření ± výběrová směrodatná odchylka



Obr. 19. Závislost pH kůže kuřete na době skladování

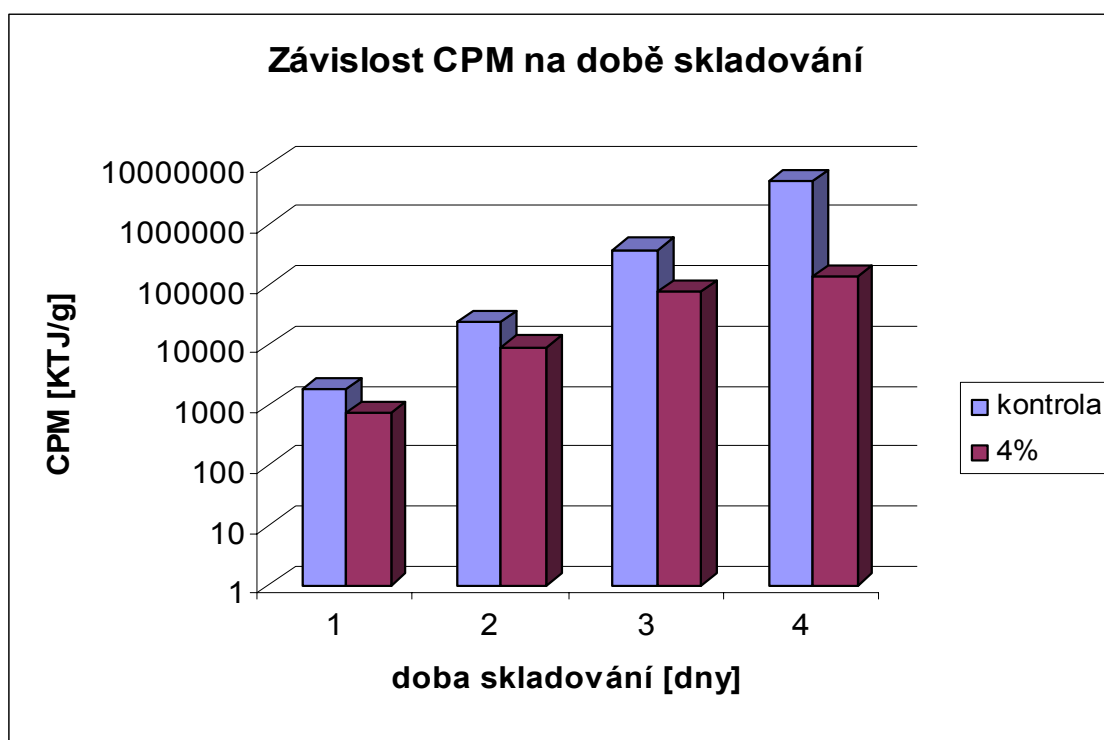
Z výše uvedených výsledků vyplývá, že došlo k nárůstu hodnot pH v průběhu skladování. U kontrolního vzorku se hodnoty pH pohybují v rozmezí 6,36 – 6,45. U vzorku s 3% C8:0 je to v rozmezí 6,30 – 6,49. Hodnoty pH vzorku s 3 % C8:0 jsou nižší než u kontrolního vzorku, což je způsobeno vyšší koncentrací C8:0 a vede ke zlepšení údržnosti kuřecího masa z hlediska mikrobiálního. Výsledky byly statisticky vyhodnoceny - mezi srovnávanými hodnotami byly statisticky významné rozdíly ve všech dnech skladování.

6.5 Antimikrobiální účinek 4% kyseliny kaprylové na kůži chlazené drůbeže

V tabulkách jsou uvedeny aritmetické průměry ze dvou měření (8 Petriho misek).

Tab. 23. Celkový počet mikroorganismů v průběhu skladování na povrchu kuřecí kůže

Den skladování	Kontrola [KTJ/g]	4% C8:0 [KTJ/g]
1	$1,91 \cdot 10^3$	$7,34 \cdot 10^2$
2	$2,37 \cdot 10^4$	$9,33 \cdot 10^3$
3	$3,91 \cdot 10^5$	$7,99 \cdot 10^4$
4	$5,27 \cdot 10^6$	$1,44 \cdot 10^5$



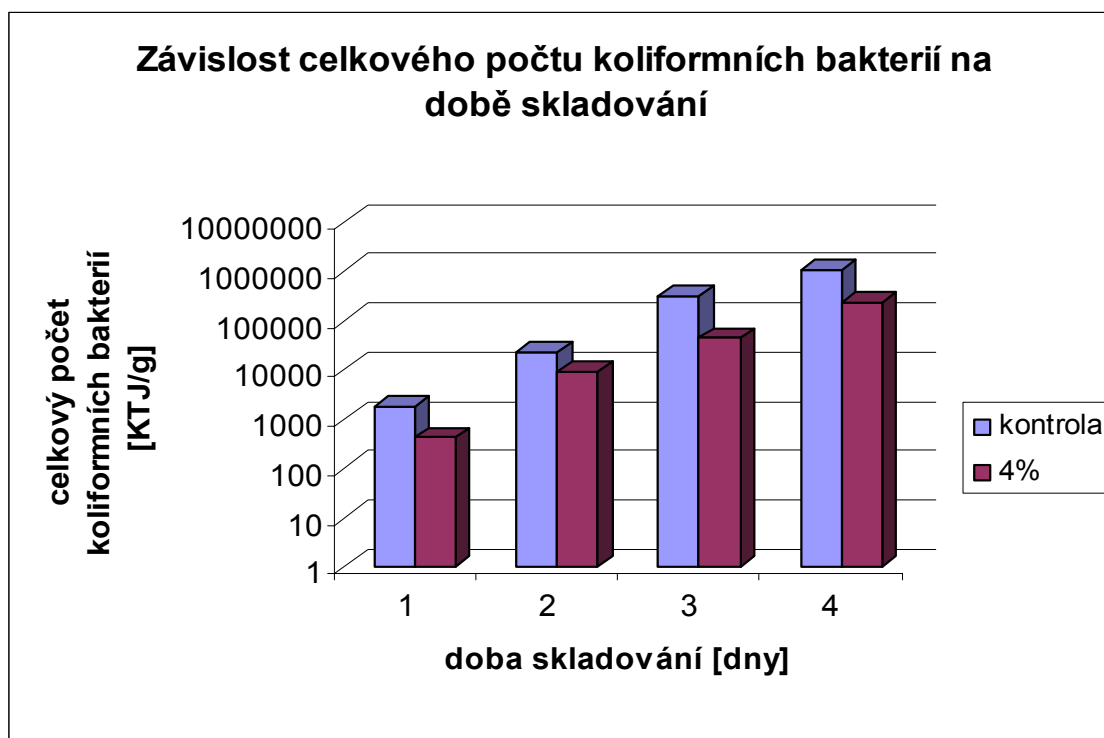
Obr. 20. Závislost CPM na době skladování na povrchu kuřecí kůže

Z výsledků tab. 23. a obr. 22. vyplývá, že došlo ke snížení nárůstu CPM u vzorku s 4% C8:0 oproti kontrolnímu vzorku. Hodnoty u vzorku s 4% C8:0 jsou o řád nižší než hodnoty kontrolního vzorku, a to ve všech dnech skladování. 4% koncentrace C8:0 eliminuje CPM v průběhu celého skladování, což plyne i z dalších výzkumů, které potvrzují, že vzrůstající koncentrace kaprylové kyseliny výrazně redukuje celkový počet

bakterií. Staphylokoky, mikrokoky, *Pseudomonas* nacházející se na povrchu kuřecí kůže byly vnímavé vůči koncentraci kyseliny kaprylové od 4% [7],[8],[9]. Výsledky byly statisticky vyhodnoceny - mezi srovnávanými hodnotami byly statisticky významné rozdíly ve všech dnech skladování. Použití 4% C8:0 ovlivnilo nárůst CPM na kůži chlazené drůbeže.

Tab. 24. Celkový počet koliformních bakterií v průběhu skladování na povrchu kuřecí kůže

Den skladování	Kontrola [KTJ/g]	4% C8:0 [KTJ/g]
1	$1,77 \cdot 10^3$	$4,22 \cdot 10^2$
2	$2,26 \cdot 10^4$	$8,99 \cdot 10^3$
3	$3,28 \cdot 10^5$	$4,37 \cdot 10^4$
4	$1,04 \cdot 10^6$	$2,27 \cdot 10^5$

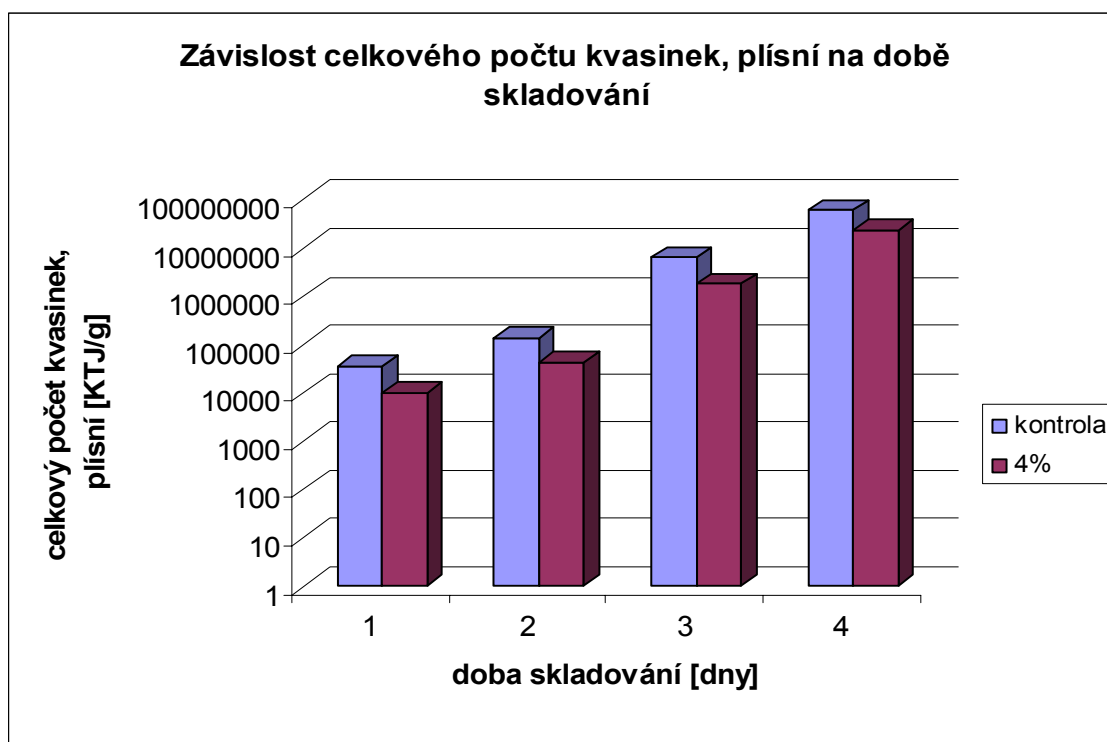


Obr. 21. Závislost celkového počtu koliformních bakterií na době skladování na povrchu kuřecí kůže

Z výsledků tab. 24. a obr. 23 vyplývá, že došlo ke snížení celkového počtu koliformních bakterií u vzorku s 4% C8:0 oproti kontrolnímu vzorku. Hodnoty u vzorku s 4% C₈ jsou o řád nižší než hodnoty kontrolního vzorku, a to ve všech dnech skladování. 4% C8:0 plně eliminuje růst koliformních bakterií na kůži chlazené drůbeže. Výsledky byly statisticky vyhodnoceny a bylo zjištěno, že mezi srovnávanými hodnotami byly statisticky významné rozdíly. To znamená, že použití 4% C8:0 ovlivnilo nárůst koliformních bakterií na kůži chlazené drůbeže.

Tab. 25. Celkový počet kvasinek, plísní v průběhu skladování na povrchu kuřecí kůže

Den skladování	Kontrola [KTJ/g]	4% C8:0 [KTJ/g]
1	$3,65 \cdot 10^4$	$1,04 \cdot 10^4$
2	$1,41 \cdot 10^5$	$4,38 \cdot 10^4$
3	$6,29 \cdot 10^6$	$1,76 \cdot 10^6$
4	$5,92 \cdot 10^7$	$2,24 \cdot 10^7$



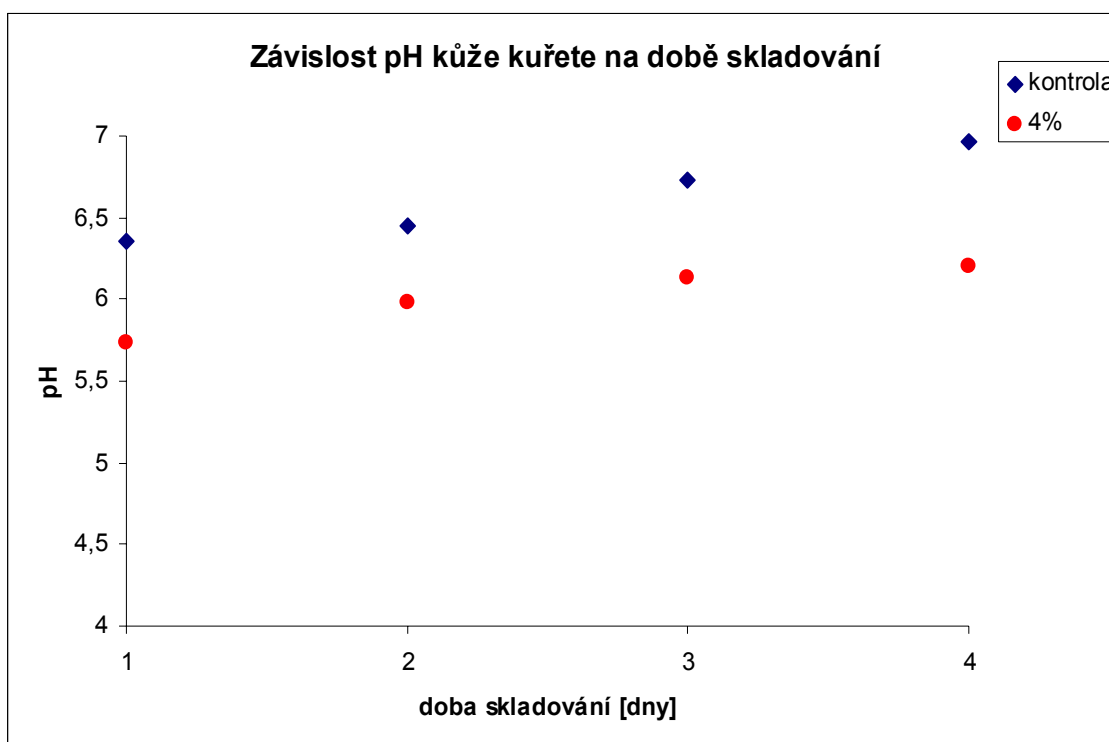
Obr. 22. Závislost celkového počtu kvasinek, plísní na době skladování na povrchu kuřecí kůže

Z výsledků tab. 25. a obr. 24. vyplývá, že došlo k mírnému snížení u vzorku s 4% C8:0 oproti kontrolnímu vzorku v průběhu skladování. Hodnoty u vzorku s 4% C8:0 jsou řádově shodné s hodnotami kontrolního vzorku, a to ve všech dnech skladování. 4% koncentrace C8:0 má mírný účinek na kvasinky, plísně. Účinek na kvasinky, plísně není příliš výrazný, z toho důvodu je možné, že vyšší koncentrace C8:0 by eliminovaly nárůst kvasinek a plísní na kůži chlazené drůbeže. Výsledky byly statisticky vyhodnoceny - mezi srovnávanými hodnotami byly statisticky významné rozdíly a to druhý a třetí den skladování. U prvního a čtvrtého dne skladování nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly.

Tab. 26. Hodnoty pH v průběhu skladování¹⁾

Den skladování	pH kontrola	pH 4% C8:0
1	6,35 ± 0,28	5,74 ± 0,36
2	6,45 ± 0,26	5,98 ± 0,18
3	6,73 ± 0,42	6,13 ± 0,25
4	6,96 ± 0,09	6,20 ± 0,33

1) V tabulce jsou uvedeny aritmetické průměry jednotlivých stanovení ze dvou měření ± výběrová směrodatná odchylka



Obr. 23. Závislost pH kůže kuřete na době skladování

Z výsledků tab. 26. a obr. 25. vyplývá, že došlo k nárůstu hodnot pH v průběhu skladování. U kontrolního vzorku se hodnoty pH pohybují v rozmezí 6,35 – 6,96. U vzorku s 4% C8:0 je to v rozmezí 5,74 – 6,20. Z toho vyplývá, že 4 % C8:0 má výrazný účinek na snížení pH kůže kuřete. Výsledky byly statisticky vyhodnoceny - mezi srovnávanými hodnotami byly statisticky významné rozdíly ve druhém, třetím a čtvrtém dnu skladování. Z toho plyne, že se zvyšující se hodnotou koncentrace kyseliny kaprylové dochází ke snižování hodnoty pH.

6.6 Statistické vyhodnocení

6.6.1 Statistické srovnání antimikrobiálního účinku 0,5%, 1%, 2%, 3% a 4% v prvním dnu skladování

Tab. 27. Statistické srovnání antimikrobiálního účinku C8:0 na CPM na kůži chlazené drůbeže

Koncentrace C8:0	Koncentrace C8:0			
	0,5%	1%	2%	3%
0,5%				
1%	S			
2%	S	S		
3%	R	S	S	
4%	R	S	S	S

R) byly zjištěny statisticky významné rozdíly

S) nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly

Tab. 28. Statistické srovnání antimikrobiálního účinku C8:0 na koliformní bakterie na kůži chlazené drůbeže

Koncentrace C8:0	Koncentrace C8:0			
	0,5%	1%	2%	3%
0,5%				
1%	S			
2%	S	S		
3%	S	S	S	
4%	S	S	S	S

R) byly zjištěny statisticky významné rozdíly

S) nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly

Tab. 29. Statistické srovnání antimikrobiálního účinku C8:0 na kvasinky, plísňe na kůži chlazené drůbeže

Koncentrace C8:0	Koncentrace C8:0			
	0,5%	1%	2%	3%
0,5%				
1%	S			
2%	S	S		
3%	S	S	S	
4%	S	S	S	S

R) byly zjištěny statisticky významné rozdíly

S) nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly

6.6.2 Statistické srovnání antimikrobiálního účinku 0,5%, 1%, 2%, 3% a 4% ve druhém dnu skladování

Tab. 30. Statistické srovnání antimikrobiálního účinku C8:0 na CPM na kůži chlazené drůbeže

Koncentrace C8:0	Koncentrace C8:0			
	0,5%	1%	2%	3%
0,5%				
1%	S			
2%	R	S		
3%	R	R	S	
4%	S	S	S	S

R) byly zjištěny statisticky významné rozdíly

S) nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly

Tab. 31. Statistické srovnání antimikrobiálního účinku C8:0 na koliformní bakterie na kůži chlazené drůbeže

Koncentrace C8:0	Koncentrace C8:0			
	0,5%	1%	2%	3%
0,5%				
1%	S			
2%	R	S		
3%	R	S	S	
4%	S	S	S	S

R) byly zjištěny statisticky významné rozdíly

S) nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly

Tab. 32. Statistické srovnání antimikrobiálního účinku C8:0 na kvasinky, plísňe na kůži chlazené drůbeže

Koncentrace C8:0	Koncentrace C8:0			
	0,5%	1%	2%	3%
0,5%				
1%	S			
2%	S	R		
3%	S	S	S	
4%	S	S	S	S

R) byly zjištěny statisticky významné rozdíly

S) nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly

6.6.3 Statistické srovnání antimikrobiálního účinku 0,5%, 1%, 2%, 3% a 4% ve třetím dnu skladování

Tab. 33. Statistické srovnání antimikrobiálního účinku C8:0 na CPM na kůži chlazené drůbeže

Koncentrace C8:0	Koncentrace C8:0			
	0,5%	1%	2%	3%
0,5%				
1%	S			
2%	R	R		
3%	S	R	S	
4%	S	S	S	S

R) byly zjištěny statisticky významné rozdíly

S) nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly

Tab. 34. Statistické srovnání antimikrobiálního účinku C8:0 na koliformní bakterie na kůži chlazené drůbeže

Koncentrace C8:0	Koncentrace C8:0			
	0,5%	1%	2%	3%
0,5%				
1%	S			
2%	R	S		
3%	R	S	S	
4%	S	S	S	S

R) byly zjištěny statisticky významné rozdíly

S) nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly

Tab. 35. Statistické srovnání antimikrobiálního účinku C8:0 na kvasinky, plísňe na kůži chlazené drůbeže

Koncentrace C8:0	Koncentrace C8:0			
	0,5%	1%	2%	3%
0,5%				
1%	S			
2%	S	S		
3%	R	R	S	
4%	S	S	S	R

R) byly zjištěny statisticky významné rozdíly

S) nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly

6.6.4 Statistické srovnání antimikrobiálního účinku 0,5%, 1%, 2%, 3% a 4% ve čtvrtém dnu skladování

Tab. 36. Statistické srovnání antimikrobiálního účinku C8:0 na CPM na kůži chlazené drůbeže

Koncentrace C8:0	Koncentrace C8:0			
	0,5%	1%	2%	3%
0,5%				
1%	S			
2%	R	R		
3%	S	R	S	
4%	S	S	R	S

R) byly zjištěny statisticky významné rozdíly

S) nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly

Tab. 37. Statistické srovnání antimikrobiálního účinku C8:0 na koliformní bakterie na kůži chlazené drůbeže

Koncentrace C8:0	Koncentrace C8:0			
	0,5%	1%	2%	3%
0,5%				
1%	S			
2%	S	R		
3%	S	S	S	
4%	S	S	S	S

R) byly zjištěny statisticky významné rozdíly

S) nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly

Tab. 38. Statistické srovnání antimikrobiálního účinku C8:0 na kvasinky, plísňe na kůži chlazené drůbeže

Koncentrace C8:0	Koncentrace C8:0			
	0,5%	1%	2%	3%
0,5%				
1%	S			
2%	S	S		
3%	S	S	S	
4%	S	S	S	R

R) byly zjištěny statisticky významné rozdíly

S) nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly

Byl prokázán antimikrobiální účinek kyseliny kaprylové na kůži chlazené drůbeže. Antimikrobiální účinek jednotlivých koncentrací C8:0 je rozdílný. Se vzrůstající koncentrací kyseliny kaprylové rostla redukce počtu aerobních mesofilních a koliformních

bakterií. Antibakteriální efekt byl pozorován při použití 2%, 3% a 4% kyseliny kaprylové. Účinek kyseliny kaprylové na kvasinky nebyl příliš výrazný, proto budou provedeny další testy s vyššími koncentracemi. Rozmezí hodnot pH kontrolního vzorku během čtyř dnů skladování se pohybovalo mezi 6,3 až 7,0. Vliv 0,5 – 3% kyseliny kaprylové na pH kůže nebyl významný, pouze aplikace 4% kyseliny snížila pH u vzorků až na 5,3.

6.7 Identifikace bakterií

6.7.1 Výsledky biochemických testů - KOH test, důkaz na katalázu, OXI test

Tab. 39. Výsledky testů KOH test, důkaz na katalázu, OXI test

Číslo testované kultury	Izolace z půdy	Makroskopická morfologie baterií	KOH test	Katalasa	OXI test
1	PCA	bílá barva, hladký, lesklý povrch, okrouhlý tvar, vypouklý profil kolonií	G-	+	+
2	PCA	žlutá barva, hladký, matný povrch, okrouhlý tvar kolonií	G-	+	-
4	VRBA	bílá barva, hladký, lesklý povrch, okrouhlý tvar kolonií	G-	+	+
5	VRBA	bílá barva, hladký, lesklý povrch, vypouklý profil kolonií	G-	+	+
6	VRBA	bílá barva, hladký, lesklý povrch, okrouhlý tvar kolonií	G-	+	-
7	PCA	bílá barva, hladký, lesklý povrch, okrouhlý tvar kolonií	G-	+	-
8	PCA	bílá barva, hladký, lesklý povrch, okrouhlý tvar kolonií	G-	+	+
9	VRBA	bílá barva, hladký, matný povrch, s propadlým středem kolonií	G-	+	+
10	VRBA	bílá barva, hladký, matný povrch, okrouhlý tvar kolonií	G-	+	-
11	VRBA	bílá barva, hladký, matný povrch, okrouhlý tvar kolonií	G-	+	-
12	VRBA	bílá barva, hladký, lesklý povrch, okrouhlý tvar kolonií	G-	+	-

+) pozitivní reakce testu

-) negativní reakce testu

G-) gramnegativní bakterie

G+) grampozitivní bakterie

Tab. 40. Pokračování tab. 26.

Číslo testované kultury	Izolace z půdy	Makroskopická morfologie baterií	KOH test	Katalasa	OXI test
13	VRBA	bílá barva, hladký, lesklý povrch, okrouhlý tvar kolonií	G-	+	+
14	VRBA	bílá barva, hladký, matný povrch, okrouhlý tvar kolonií	G-	+	-
15	VRBA	bílá barva, hladký, matný povrch, okrouhlý tvar kolonií	G-	+	+
16	VRBA	bílá barva, hladký, lesklý povrch, okrouhlý tvar kolonií	G-	+	+
17	PCA	žlutá barva, hladký, lesklý povrch kolonií	G+	+	+
18	PCA	bílá barva, hladký, lesklý povrch kolonií	G-	+	-
19	PCA	bílá barva, hladký, lesklý povrch, okrouhlý tvar kolonií	G-	+	+
20	PCA	bílá barva, hladký, lesklý povrch, okrouhlý tvar kolonií	G-	+	-
21	PCA	bílá barva, hladký, matný povrch kolonií	G-	+	+

+) pozitivní reakce testu

-) negativní reakce testu

G-) gramnegativní bakterie

G+) grampozitivní bakterie

6.7.2 Výsledky biochemických testů – O/F test

Tab. 41. Výsledky OF testu

Číslo testované kultury	Fermentační metabolismus	Oxidační metabolismus	Fakultativně anaerobní	Tvorba plynu (s parafinem)	Tvorba plynu (bez parafinu)
1	+	-	+	-	-
2	+	-	+	-	-
4	+	-	+	-	-
5	+	-	+	+	+
6	+	-	+	-	-
7	+	-	+	-	-
8	+	-	+	-	-
9	+	-	+	+	+
10	+	-	+	+	+

+) pozitivní reakce testu

-) negativní reakce testu

Tab. 42. Pokračování tab. 28.

Číslo testované kultury	Fermentační metabolismus	Oxidační metabolismus	Fakultativně anaerobní	Tvorba plynu (s parafinem)	Tvorba plynu (bez parafinu)
11	+	-	+	+	+
12	+	-	+	+	+
13	+	-	+	+	+
14	+	-	+	+	+
15	+	-	+	-	-
16	+	-	+	-	-
17	N	N	N	-	-
18	-	-	+	-	-
19	+	-	+	+	+
20	+	-	+	+	+
21	+	-	+	+	+

+) pozitivní reakce testu

-) negativní reakce testu

6.7.3 Výsledky testu zkvašování glukosy (s tvorbou plynu), laktosy a sacharosy a produkce H₂S

Tab. 43. Výsledky testu na zkvašování glukosy, laktosy, sacharosy, tvorba H₂S

Číslo testované kultury	Tvorba H ₂ S	Zkvašování glukosy	Zkvašování laktosy, sacharosy
1	-	+	+
2	-	+	-
4	-	+	+
5	-	+	+
6	-	+	+
7	-	+	-
8	-	+	+
9	-	+	+
10	-	+	+
11	-	+	+
12	-	+	-
13	-	+	+
14	-	+	+
15	-	+	+
16	-	+	+
17	-	+	-
18	-	+	+
19	-	+	+
20	-	+	+
21	-	+	+

+) pozitivní reakce testu

-) negativní reakce testu

Z výsledků těchto testů vyplývá, že všechny testované kultury se řadí mezi fakultativně anaerobní, gramnegativní bakterie s fermentačním typem metabolismu, kromě testovaného kmene č. 17, který měl negativní reakci při OF testu, je Gram-pozitivní. Na základě těchto výsledků a především výsledků OXI testu, byly testované kultury rozděleny do dvou skupin. Ty které měly negativní reakci na OXI test byly dále testovány na ENTERO test, další testované kultury s pozitivní reakcí na OXI test byly testovány na další testy (hydrolýza kaseinu, VPT, ONP test, růst při různých teplotách, hydrolýza kaseinu, SCI test).

6.7.4 Vznik kyseliny z glukosy, sacharosy, laktosy, galaktosy, fruktosy, maltosy

Tab. 44. Výsledky testu vzniku kyseliny z testovaných cukrů

Číslo testované kultury	Glukosa	Sacharosa	Laktosa	Galaktosa	Fruktosa	Maltosa
1	+	+	+	+	+	+
4	+	+	+	+	+	+
5	+	+	+	+	+	+
8	+	+	+	+	+	+
9	+	+	+	+	+	+
13	+	+	+	+	+	+
15	+	+	+	+	+	+
16	+	+	+	+	+	+
17	-	-	-	-	-	-
19	+	+	+	+	+	+
21	+	+	-	+	+	+

+) pozitivní reakce testu

-) negativní reakce testu

6.7.5 VPT test, ONP test, hydrolýza kaseinu, růst při různých teplotách

Tab. 45. Výsledky testů VPT, ONP, SC, růstu při různých teplotách, hydrolýza kaseinu

Číslo testované kultury	VPT	ONP test	SC test	Růst při 6°C	Růst při 37°C	Růst při 40°C	Hydrolýza kaseinu
1	-	+	-	-	+	+	+
4	-	+	-	+	+	+	+
5	-	+	-	+	+	+	+
8	-	+	-	+	+	+	+
9	-	+	-	+	+	+	+
13	-	+	-	+	+	+	+
15	-	+	-	+	+	+	+
16	-	+	-	+	+	+	+
17	-	-	-	+	+	+	+
19	-	+	-	+	+	+	+
21	-	+	+	+	+	+	+

+) pozitivní reakce testu

-) negativní reakce testu

6.7.6 Výsledky ENTEROtestu 24

ENTEROtest 24 byl vyhodnocen pomocí programu TNT Lite 6.5 a Diagnostického seznamu pro MIKRO - LA – TEST ENTEROtest 24. U každého profilu v registru jsou uvedeny hodnoty Procento identifikace a T-index, jsou uvedeny u každého taxonu:

- Procento identifikace - % id. udává pravděpodobnost, s jakou daný výsledek odpovídá danému taxonu,
- T- index (Tin) – hodnota udávající, do jaké míry daný výsledek odpovídá nejtypičtějším výsledku pro daný taxon, zcela typickému výsledku odpovídá hodnota Tin rovna jedné, hodnota Tin může ležet v intervalu od 0 do 1, a je nepřímo úměrná počtu atypických testů.

Procento identifikace

% id \geq 99 kmen je výborně odlišen

% id \geq 95 kmen je velmi dobře odlišen

% id \leq 90 kmen je odlišen

% id $<$ 90 kmen není dostatečně odlišen

T - index

T – index \geq 0.75 typický kmen

T – index \geq 0.50 málo typický kmen

T – index \geq 0.25 atypický kmen

T – index $<$ 0.25 zcela atypický kmen

Vyhodnocení testu

2. *Pantoea dispersa*. Kmen není odlišen. Kmen je pro *Pantoea dispersa* naprosto netypický.

Neidentifikováno

6. *Escherichia coli*. Kmen je výborně odlišen. Výborná identifikace. Kmen je typický pro *E. coli*. (% id = 99,63/Tin = 0,958)

7. *Enterobacter amnigenus*. Kmen je odlišen. Kmen je pro *Enterobacter amnigenus* naprosto netypický. Neidentifikováno.

10. *Escherichia coli*. Kmen je výborně odlišen. Kmen je pro *E. coli* typický. Výborná identifikace. (% id = 99,21/ Tin = 0,863)

11. *Citrobacter braakii*. Kmen není odlišen Kmen je pro *Citrobacter braakii* netypický. Intermediární kmen. (% id = 38,55/ Tin = 0,335)

12. *Escherichia coli*. Kmen není odlišen. Kmen je pro *E. coli* nepříliš typický. Intermediární kmen. (% id = 89,93/Tin = 0,698)

14. *Escherichia coli*. Kmen je výborně odlišen. Kmen je pro *E. coli* typický. Výborná identifikace. (% id = 99,68/ Tin = 0,835)

18. Kmen není odlišen. Neidentifikováno. Kmen je naprosto netypický. (% id = 65,91/ Tin = 0,275), neřadí se mezi čeled' *Enterobacteriaceae*

20. *Klebsiella sp.* Kmen není odlišen. Kmen je pro *Klebsiella pneumoniae* nepříliš typický. Rodová identifikace.

Na základě výsledků se podařilo určit s velkou přesností, v případě testovaných kmenů 6, 10, 12 a 14, že se jedná o *Escherichia coli*, což je typická koliformní bakterie vyskytující se na kůži chlazené drůbeže.

6.7.7 Zpracování výsledků dle programu TNT Lite 6.5 a Diagnostického seznamu u testovaných kultur č. 1, 4, 5, 8, 9, 17, 21

Testované kultury č. 1, 4, 5, 8, 9 a 21 z výsledků vyplývá, že jednotlivé znaky získané z předcházejících testů odpovídají čeledi *Vibrionaceae*, kde patří rody *Aeromonas* a *Vibrio*.

17. *Micrococcus luteus*. Kmen je odlišen. Kmen je pro *Micrococcus luteus* typický. Dobrá identifikace. (% id = 91,21/Tin = 1,000)

Kmen *Aeromonas* se řadí mezi Gram-negativní tyčinky, patřící do čeledi *Vibrionaceae*. Produkují velké množství plynu při fermentaci cukrů. Jsou běžnými obyvateli zažívacího traktu ryb a někteří z nich jsou patogenní pro ryby. Některé z nich se vyskytují na chlazeném drůbežím mase, také jsou původci kažení masa hovězího [41].

Kmen *Micrococcus* se řadí mezi Gram-positivní koky, katalasa pozitivní a některé z nich produkují růžový nebo oranžovo červený pigment, zatímco některé nepigmentují. Většina z nich roste při vysokých koncentracích NaCl, řadí se mezi mezotrofní bakterie, i když některé z nich vykazují vlastnosti psychrotrofních bakterií [41]. Tento kmen roste při chladírenských teplotách a je to typický kmen vyskytující se na kůži chlazené drůbeže.

6.8 Doporučení

K experimentu byly použity chlazená kuřata od Racioly-Jehlička s.r.o., která jsou běžně dostupná spotřebiteli. Při aplikaci kyseliny kaprylové pomocí sterilního tamponu na kůži chlazené drůbeže může dojít k částečnému ovlivnění množství aplikované kyseliny a to z důvodů nedostatečného vsáknutí kyseliny kůží. Proto by mohla být změněna aplikace

C8:0 na kůži kuřete, např. sprejovým postřikem či odležením kuřete v roztoku kyseliny kaprylové po určitou dobu.

Antimikrobiální efekt kyseliny kaprylové na kvasinky, plísňe byl výrazně znatelný až od 4% koncentrace C8:0. Dále je možné se zaměřit na aplikaci C8:0 o vyšších koncentracích na kvasinky a plísňe.

Kyselina kaprylová je látka s nepříjemným zápachem a proto před vlastní aplikací v potravinářství by měla být provedena senzorická analýza.

ZÁVĚR

V diplomové práci byl zkoumán antimikrobiální účinek kyseliny kaprylové na kůži chlazené drůbeže. Bakteriální flóra vyskytující se na kuřecí kůži může obsahovat koliformní bakterie, *Pseudomonas*, stafylokoky, salmonely, mikrokoky, kvasinky, plísně a další aerobní a anaerobní bakterie. Některé z těchto bakterií mohou v průběhu jatečného zpracování drůbeže infikovat kuřecí kůži a tím se dostat ke spotřebiteli. Řada z nich může být pro člověka patogenních a způsobovat závažná onemocnění jako jsou např. salmonelózy, kampylobakteriόzy a další střevní onemocnění.

V dnešní době je kvalita a zdravotní nezávadnost prioritou potravinářských podniků. Je nutné aby se ke konečnému spotřebiteli dostaly bezpečné, kvalitní a hlavně zdravotně nezávadné potraviny. Proto se hledají různé alternativy zajištění bezpečnosti potravin. Jednou z mnoha alternativ je použití mastných kyselin a jejich monoacylglycerolů v potravinářském průmyslu.

Cílem bylo prokázat antimikrobiální účinek kyseliny kaprylové na mikroflóru kuřecí kůže. Kyselina kaprylová je mastná kyselina, která se běžně vyskytuje např. v kokosovém oleji a tedy je dobře vstřebatelná lidským organismem. Kyselina kaprylová byla aplikována na kuřecí kůži v koncentracích 0,5%, 1%, 2%, 3% a 4%. Sledoval se antimikrobiální účinek na aerobní a fakultativně anaerobní bakterie, koliformní bakterie, kvasinky a plísně v průběhu čtyř dnů skladování při teplotě 6°C. V průběhu této doby bylo měřeno pH kůže kuřete a sledován účinek kyseliny na snížení hodnoty pH. Z výsledků vyplývá, že účinnosti kyseliny kaprylové na mikroflóru kuřecí kůže se zvyšovala se zvyšující se koncentrací C8:0. Antibakteriální efekt byl pozorován při použití 2%, 3% a 4% koncentrace kyseliny kaprylové. Účinek na kvasinky a plísně byl podstatně menší a byl zaznamenán od 3%, 4% koncentrace kaprylové. Je možné doporučit provedení dalších testů na antimikrobiální efekt s vyššími koncentracemi C8:0 na kvasinky a plísně. V průběhu skladování bylo měřeno pH kůže kuřete. Účinek kyseliny kaprylové na snížení hodnoty pH kůže kuřete byl zaznamenán až při použití 4% koncentrace C8:0.

Byl prokázán antimikrobiální účinek C8:0 na mikroflóru chlazené drůbeže. Možnost využití kyseliny kaprylové jako antimikrobiální látky snižující kontaminaci povrchu kuřecí kůže, je významným faktorem z hlediska zabezpečení zdravotní nezávadnosti.

SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] DAVÍDEK J., JANÍČEK G., POKORNÝ J. *Chemie potravin*. 1. vyd. Praha 1: Nakladatelství technické literatury, 1983. 632 s. ISBN 04-815-83.
- [2] HOZA I., KRAMÁŘOVÁ D. *Potravinářská biochemie I*. 1. vyd.. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2005. 168 s. ISBN 80-7318-295-5.
- [3] VELÍŠEK, J. *Chemie potravin I*. 1. vyd. Tábor: OSSIS, 1999. 352 s. ISBN 80-902391-3-7.
- [4] *Chemical Land 21* [online]. Caprylic acid. 2004, říjen [cit. 15. října 2005]. Dostupný z URL: <<http://www.chemicalland21.com/arokorhi/industrialchem/organic/CAPRYLIC ACID.htm>>.
- [5] NAIR, M.K.M., VASUDEVAN, P., HOAGLAND, T., VENKITANARAYANAN, K.: Inactivation of *Escheria coli O157:H7* and *Listeria monocytogenes* in milk by caprylic acid and monocaprylin. *Food Mikrobiology*. 21, 2004, 5, 611-616.
- [6] *Wikipedia* [online]. Caprylic acid. 2006, leden [cit. 12. ledna 2006]. Dostupný z URL: <http://en.wikipedia.org/wiki/Caprylic_acid>.
- [7] KRAMÁŘOVÁ, D., LUKÁŠKOVÁ, E., VELICHOVÁ, H., BŘEZINA, P. Application of Caprylic Acid on Skin Poultry. Proceedings of „International Conference” Bezpečnosť a kontrola potravín“, 6. – 7. duben 2005, Nitra SR, p. 81 – 83, ISBN 80-8069-503-2.
- [8] LUKÁŠKOVÁ, E., KRAMÁŘOVÁ, D., ČECHOVÁ, L. Inhibice bakteriální flóry drůbeže mastnými kyselinami, sborník XIV. Konference mladých mikrobiologů, Tomáškovy dny 8. – 10.6. 2005, Brno, s. 27-28.
- [9] KRAMÁŘOVÁ, D., LUKÁŠKOVÁ, E., BŘEZINA, P., MAROUNEK, M. The Use of C8 Fatty Acid to Bacterial Flora of Chicken Skin. International Conference „3rd Meeting on Chemistry & Life“, september 20-22. Chemical Paper, 99, No.9, (2005) p. 303-304, ISSN 009-2770.
- [10] Vyhláška 38/2001 Sb. Ministerstva zdravotnictví ze dne 19. ledna 2001.
- [11] BRÁZDILOVÁ, O. *Využití kyseliny kaprylové v různých odvětvích průmyslu* [Bakalářská práce]. UTB ve Zlíně, 2005, s. 42.

- [12] Vyhláška 304/2004 Sb. Ministerstva zdravotnictví ze dne 6. května 2004.
- [13] MAROUNEK, M., SKŘIVANOVÁ V. Effect of caprylic acid on performance and mortalitz of growing rabbits [online]. 2002, říjen [cit. 22. října 2005]. Dostupný z URL: <<http://www.vfu.cz/acta-vet/vol71/435-02.html>>.
- [14] MAROUNEK, M.; SKŘIVANOVÁ, E.; RADA, V. Susceptibility of Escherichia coli to C2 – C18 Fatty Acids. *Folia Microbial* [online]. 2003, květen [cit. 20. října 2004]. Dostupný z URL: <<http://www.biomed.cas.cz/mbu/fofia/>>.
- [15] HINTON, A.; INGRAM, K. D. Use of Oleic Acid To Reduce the Population of the Bacterial Flora of Poultry Skin. *Journal of Food Protection*, 2000, vol. 63, no. 9, p. 1282 – 1286.
- [16] RŮŽIČKA, J., VELCLOVÁ, K., JANIŠ, R., KREJČÍ, J. Antimicrobial effects of 1-monoacylglycerols prepared by catalytic reaction of glycidol with fatty acids. *Eur Food Res Technol*, 2003, DOI 10,1007/S00217-003-0764-6.
- [17] RAHULA, J., BOBALOVA, J., KREJCI, J., HOMOLKOVA, J., VELICHOVA, H. The Monoacylglycerols as Microbicidal Treatment in Shoemaking Industry. *Leather Science and Engineering*, 2004, vol. 14, No. 6, p. 3-6.
- [18] HIRAZAWA, N., OSHIMA, S., HATA, K. In vitro assessment of the antiparasitic effect of caprylic acid against several fish parasites. *Science direct* [online]. 2001, srpen [citace 2. listopadu 2005]. Dostupný z URL: <<http://www.sciencedirect.com/>>.
- [19] SIMOENOVÁ, J., MÍKOVÁ, K., KUBIŠOVÁ, S., INGR, I. *Technologie drůbeže, vajec a minoritních živočišných produktů*. 1. vyd. Brno: Mendelova zemědělská a technická univerzita v Brně, 1999. 247 s. ISBN 80-7157-405-8.
- [20] ŠUBRT, J. Chov drůbeže [online]. 2001, leden [citace 3. listopadu 2005]. Dostupný z URL: <<http://old.mendelu.cz/~subrt/drubez.htm>>.
- [21] ARENT, E., HOLOUBEK, J., SKŘIVAN, M., TŮMOVÁ, E. Základy chovu drůbeže [online]. 2003, listopad [citace 3. listopadu 2005]. Dostupný z URL: <<http://kchpd.af.czu.cz/drubez/maso.html>>.
- [22] BŘEZINA, P., KOMÁR, A., HRABĚ, J. *Technologie, zbožíznalství a hygiena potravin živočišného původu II. část*. 1. vyd. Vyškov: VVŠ PV Vyškov, 2001. 91 s. ISBN 80-7231-079-8.

- [23] MATES, F., PEŠKOVÁ, Z. Kam kráčí český drůbežářský průmysl. *Potravinářský zpravodaj*, 2005, roč. VI., č. 3, s. 13.
- [24] Zpravodaj časopisu Veterinářství. *Mikrobiologie čerstvého masa* [online]. 2005, březen [citace 5. dubna 2005]. Dostupný z URL: <<http://www.vetweb.cz/projekt/clanek.asp?pid=2&cid=3482>>.
- [25] UPMANN, M. et al. *Mikrobiologie masa* [online]. 2000, duben [citace 12. dubna 2006]. Dostupné z URL: <<http://www.vetnet.cz/aktuality/aktualit30.htm>>.
- [26] GROSMANN, M. *Mikrobiologie v hygieně*. 1. vyd. Vyškov: VVŠ PV Vyškov, 1999. 175 s. ISBN 80-7231-057-2.
- [27] ŠILHÁNKOVÁ, L. *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology*. 1. vyd. Praha: Academia, 2002. 363 s. ISBN 80-200-1024-6.
- [28] ŠILHÁNKOVÁ, L. *Mikrobiologické zkoumání potravin*. 1. vyd. Praha: VŠCHT v Čs. redakce VN MON, 1987. 104 s. č. 63/166/87/Pr.
- [29] ŠPELINA, V., OSTRÝ, V. Stanovisko Vědeckého výboru pro potraviny ve věci: *E. coli* O 157:H7 v potravinách. *Vědecký výbor pro potraviny* [online]. 2004, listopad [citace 3. října 2005]. Dostupný z URL: <<http://www.chpr.szu.cz/vedvybor/vvp.htm>>.
- [30] ŠPELINA, V., OSTRÝ, M., JECHOVÁ, M., KOZÁKOVÁ, M. Mikrobiologické kontaminanty v potravinách. *Vědecký výbor pro potraviny* [online]. 2004, únor [citace 3. října 2005]. Dostupný z URL: <<http://www.chpr.szu.cz/vedvybor/vvp.htm>>.
- [31] KUNKEL, D. Scientific Stock Photography Through the Microscope. *Dennis Kunkel Microscopy, Inc. Science Stock Photography*. [online]. 2005, červen [citace 11. ledna 2006]. Dostupný z URL: <<http://www.denniskunkel.com/>>.
- [32] BŘEZINOVÁ, K. *Výskyt termofilních Campylobacter sp. v potravním řetězci* [Atestační práce]. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita, 2003. 91 s.
- [33] RUPRICH, J. Bakterie a jejich toxiny šířené převážně potravinami, včetně masa. *CHPR SZU Brno* [online]. 2004, červen [citace 4. října 2005]. Dostupný z URL: <<http://www.chpr.szu.cz/>>.

- [34] ALTEKRUSE, S. F., STERN, N. J., FIELDS, P. I., SWERDLOW, D. L. *Campylobacter jejuni*—An Emerging Foodborne Pathogen. *Emerging infectious diseases* [online]. 2005, prosinec [citace 12. ledna 2006]. Dostupný z URL: <<http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol5no1/altekruse.htm>>.
- [35] ČSN ISO 4833 Všeobecné pokyny pro stanovení celkového počtu mikroorganismů, technika počítání kolonií vykultivovaných při 30°C.
- [36] ČSN ISO 7218 Všeobecné pokyny pro mikrobiologické postupy.
- [37] KRAMÁŘOVÁ, D., LUKÁŠKOVÁ, E., DLOUHÁ, G., MAROUNEK, M. The Effect of Caprylic Acid on Bacterial Flora of Poultry Skin. 23. kongres Československé společnosti mikrobiologické. Bulletin Československé společnosti mikrobiologické. Brno 6.- 9.9. 2004. ISSN 0009-0646.
- [38] JANDOVÁ, B., KOTOUČKOVÁ, L. *Praktikum z mikrobiologie*. 1. vyd. Brno: Masarykova univerzita Brno, 1996. 69s. ISBN 80-210-1374-5.
- [39] DEMNEROVÁ, K a kol. *Laboratorní cvičení z mikrobiologie*. 3. vyd. Praha: VŠCHT Praha, 2001. 179 s. ISBN 80-7080-415-7.
- [40] Whitewolf Site Index. *Bacterial Biochemical Tests* [online]. 2006, březen [citace 20. dubna 2006]. Dostupný z URL: <http://whitewolf.newcastle.edu.au/techinfo/proc_bacto_biochem.html>.
- [41] JAY, J.M. *Modern food mikrobiology*. 6. vyd. Gaithersburg, Maryland: Aspen Publishers, Inc., 2000. 637s. ISBN 0-8342-1671-X.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

ARG – arginin

AV – Akademie věd

CA – caprylic acid

CPM – celkový počet mikroorganismů

EaggEC – enteroagregativní *E. coli*

EHEC – enterohemorhagická *E. coli*

EIEC – enteroinvazivní *E. coli*

EPEC – enteropatogenní *E. coli*

ETEC – enterotoxigenní *E. coli*

IND – indol

KTJ – kolonie tvořící jednotku

LYS – lysin

MAG – monoacylglycerol

MC – monokaprylin

NM – nezbytné množství

NPM – nejvyšší přípustné množství

OF test – oxidačně fermentační test

ORN - ornithin

PCA – Plate Count Agar

SCA – Simmons Citrate Agar

STEC – shigatoxigenní *E. coli*

VPT – Voges-Proskauerův test

VRBA – Violet Red Bile Agar

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1. Schéma zpracování drůbeže	20
Obr. 2. Mikroskopický snímek bakterie <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	26
Obr. 3. Mikroskopický snímek <i>Campylobacter jejuni</i>	27
Obr. 4. Závislost CPM na době skladování na povrchu kuřecí kůže.....	39
Obr. 5. Závislost celkového počtu koliformních bakterií na době skladování na povrchu kuřecí kůže.....	40
Obr. 6. Závislost celkového počtu kvasinek, plísní na době skladování na povrchu kuřecí kůže.....	41
Obr. 7. Závislost pH kůže kuřete na době skladování	42
Obr. 8. Závislost CPM na době skladování na povrchu kuřecí kůže.....	43
Obr. 9. Závislost celkového počtu koliformních bakterií na době skladování na povrchu kuřecí kůže.....	44
Obr. 10. Závislost celkového počtu kvasinek, plísní na době skladování na povrchu kuřecí kůže.....	45
Obr. 11. Závislost pH kůže kuřete na době skladování	46
Obr. 12. Závislost CPM na době skladování na povrchu kuřecí kůže.....	47
Obr. 13. Závislost celkového počtu koliformních bakterií na době skladování na povrchu kuřecí kůže.....	49
Obr. 14. Závislost celkového počtu kvasinek, plísní na době skladování na povrchu kuřecí kůže.....	50
Obr. 15. Závislost pH kůže kuřete na době skladování	51
Obr. 16. Závislost CPM na době skladování na povrchu kuřecí kůže.....	52
Obr. 17. Závislost celkového počtu koliformních bakterií na době skladování na povrchu kuřecí kůže.....	54
Obr. 18. Závislost celkového počtu kvasinek, plísní na době skladování na povrchu kuřecí kůže.....	55
Obr. 19. Závislost pH kůže kuřete na době skladování	56
Obr. 20. Závislost CPM na době skladování na povrchu kuřecí kůže.....	57
Obr. 21. Závislost celkového počtu koliformních bakterií na době skladování na povrchu kuřecí kůže.....	59
Obr. 22. Závislost celkového počtu kvasinek, plísní na době skladování na povrchu kuřecí kůže.....	60
Obr. 23. Závislost pH kůže kuřete na době skladování	61

SEZNAM TABULEK

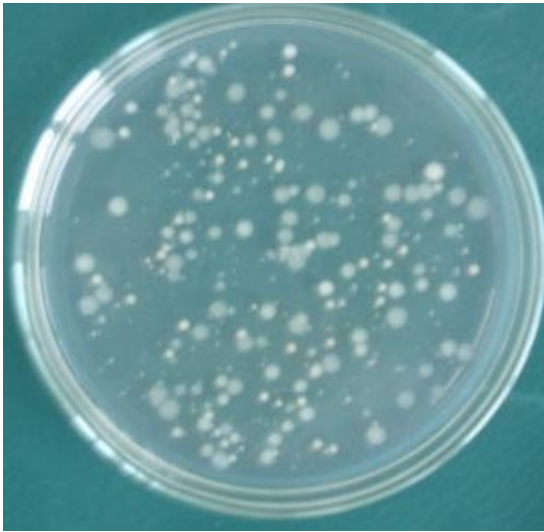
Tab. 1. Nasycené mastné kyseliny	9
Tab. 2. Kyselina kaprylová	10
Tab. 3. Charakteristické hodnoty fyzikálních a chemických veličin triacylglycerolů [1]....	10
Tab. 4. Seznam potravin v nichž je možné použít E 471.....	12
Tab. 5. Průměrné chemické složení masa drůbeže	17
Tab. 6. Výsledky OF testu.....	35
Tab. 7. Celkový počet mikroorganismů v průběhu skladování na povrchu kuřecí kůže	39
Tab. 8. Celkový počet koliformních bakterií v průběhu skladování na povrchu kuřecí kůže	40
Tab. 9. Celkový počet kvasinek, plísní v průběhu skladování na povrchu kuřecí kůže	41
Tab. 10. Hodnoty pH v průběhu skladování ¹⁾	42
Tab. 11. Celkový počet mikroorganismů v průběhu skladování na povrchu kuřecí kůže ..	43
Tab. 12. Celkový počet koliformních bakterií v průběhu skladování na povrchu kuřecí kůže.....	44
Tab. 13. Celkový počet kvasinek, plísní v průběhu skladování na povrchu kuřecí kůže ..	45
Tab. 14. Hodnoty pH v průběhu skladování ¹⁾	46
Tab. 15. Celkový počet mikroorganismů v průběhu skladování na povrchu kuřecí kůže ..	47
Tab. 16. Celkový počet koliformních bakterií v průběhu skladování na povrchu kuřecí kůže.....	49
Tab. 17. Celkový počet kvasinek, plísní v průběhu skladování na povrchu kuřecí kůže ...	50
Tab. 18. Hodnoty pH v průběhu skladování ¹⁾	51
Tab. 19. Celkový počet mikroorganismů v průběhu skladování na povrchu kuřecí kůže ..	52
Tab. 20. Celkový počet koliformních bakterií v průběhu skladování na povrchu kuřecí kůže.....	54
Tab. 21. Celkový počet kvasinek, plísní v průběhu skladování na povrchu kuřecí kůže ...	55
Tab. 22. Hodnoty pH v průběhu skladování ¹⁾	56
Tab. 23. Celkový počet mikroorganismů v průběhu skladování na povrchu kuřecí kůže ..	57
Tab. 24. Celkový počet koliformních bakterií v průběhu skladování na povrchu kuřecí kůže.....	59
Tab. 25. Celkový počet kvasinek, plísní v průběhu skladování na povrchu kuřecí kůže ...	60
Tab. 26. Hodnoty pH v průběhu skladování ¹⁾	61
Tab. 27. Statistické srovnání antimikrobiálního účinku C8:0 na CPM na kůži chlazené drůbeže.....	62
Tab. 28. Statistické srovnání antimikrobiálního účinku C8:0 na koliformní bakterie na kůži chlazené drůbeže.....	62
Tab. 29. Statistické srovnání antimikrobiálního účinku C8:0 na kvasinky, plísně na kůži chlazené drůbeže.....	62
Tab. 30. Statistické srovnání antimikrobiálního účinku C8:0 na CPM na kůži chlazené drůbeže.....	63
Tab. 31. Statistické srovnání antimikrobiálního účinku C8:0 na koliformní bakterie na kůži chlazené drůbeže.....	63
Tab. 32. Statistické srovnání antimikrobiálního účinku C8:0 na kvasinky, plísně na kůži chlazené drůbeže.....	63
Tab. 33. Statistické srovnání antimikrobiálního účinku C8:0 na CPM na kůži chlazené drůbeže.....	64
Tab. 34. Statistické srovnání antimikrobiálního účinku C8:0 na koliformní bakterie na kůži chlazené drůbeže.....	64

Tab. 35. Statistické srovnání antimikrobiálního účinku C8:0 na kvasinky, plísně na kůži chlazené drůbeže.....	64
Tab. 36. Statistické srovnání antimikrobiálního účinku C8:0 na CPM na kůži chlazené drůbeže.....	65
Tab. 37. Statistické srovnání antimikrobiálního účinku C8:0 na koliformní bakterie na kůži chlazené drůbeže.....	65
Tab. 38. Statistické srovnání antimikrobiálního účinku C8:0 na kvasinky, plísně na kůži chlazené drůbeže.....	65
Tab. 39. Výsledky testů KOH test, důkaz na katalázu, OXI test.....	66
Tab. 40. Pokračování tab. 26.	67
Tab. 41. Výsledky OF testu.....	67
Tab. 42. Pokračování tab. 28.	68
Tab. 43. Výsledky testu na zkvašování glukosy, laktosy, sacharosy, tvorba H ₂ S.....	68
Tab. 44. Výsledky testu vzniku kyseliny z testovaných cukrů.....	69
Tab. 45. Výsledky testů VPT, ONP, SC, růstu při různých teplotách, hydrolýza kaseinu .	70

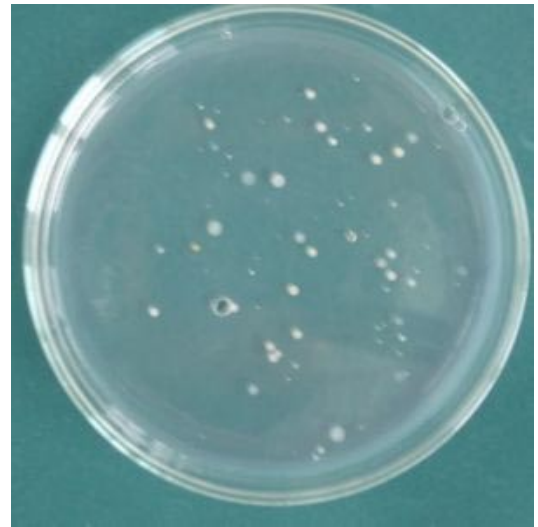
SEZNAM PŘÍLOH

PŘÍLOHA P 1: Srovnání kontrolního vzorku a vzorku 1% C8:0.....	84
PŘÍLOHA P 2: Srovnání kontrolního vzorku a vzorku 2% C8:0.....	85
PŘÍLOHA P 3: Srovnání kontrolního vzorku a vzorku 3% C8:0.....	86
PŘÍLOHA P 4: Srovnání kontrolního vzorku a vzorku 4% C8:0.....	87
PŘÍLOHA P 5: Výsledky ENTEROtestu 24.....	88
PŘÍLOHA P 6: Ukázka výsledků ENTEROtestu	89
PŘÍLOHA P 7: Hydrolýza kaseinu u testovaného kmene č. 1, 17.....	90

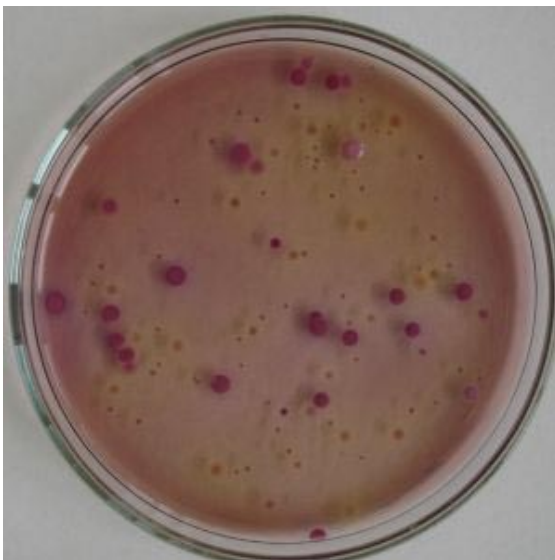
PŘÍLOHA P 1: Srovnání kontrolního vzorku a vzorku 1% C8:0



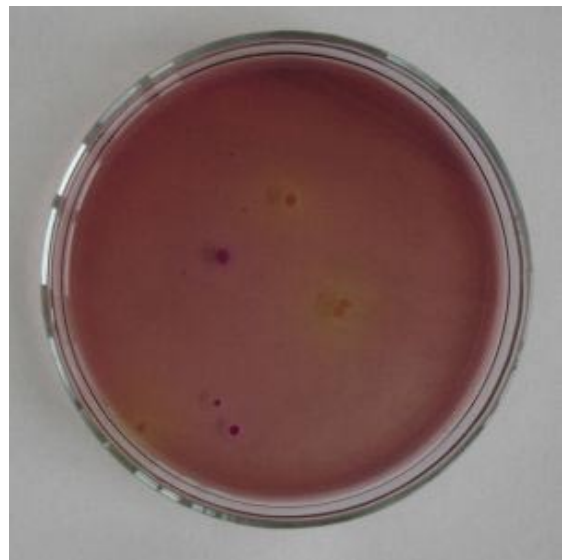
Kontrolní vzorek 1% C8:0 ředění 10^0 (PCA)



Vzorek 2% C8:0 ředění 10^0 (PCA)



Kontrolní vzorek 1% C8:0 ředění 10^0 (VRBA)

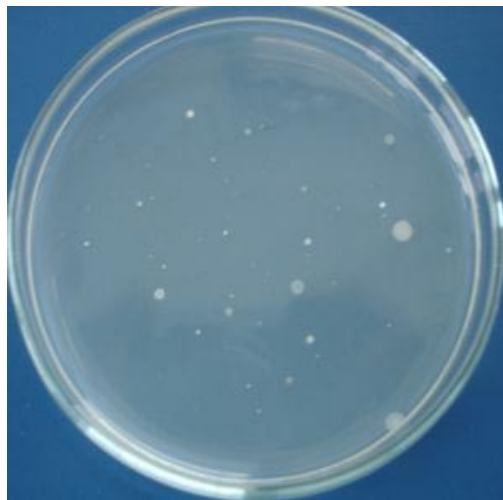


Vzorek 2% C8:0 ředění 10^0 (VRBA)

PŘÍLOHA P 2: Srovnání kontrolního vzorku a vzorku 2% C8:0



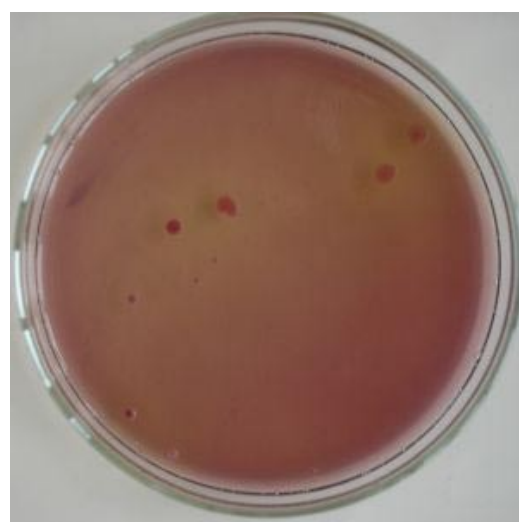
Kontrolní vzorek 2% C8:0 ředění 10^0 (PCA)



Vzorek 2% C8:0 ředění 10^0 (PCA)

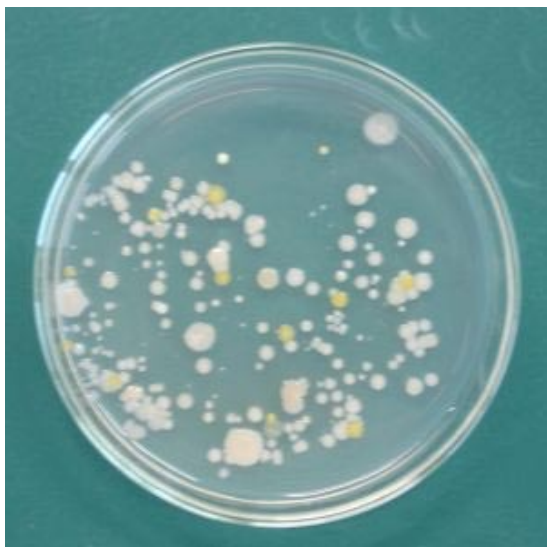


Kontrolní vzorek 2% C8:0 ředění 10^0 (VRBA)

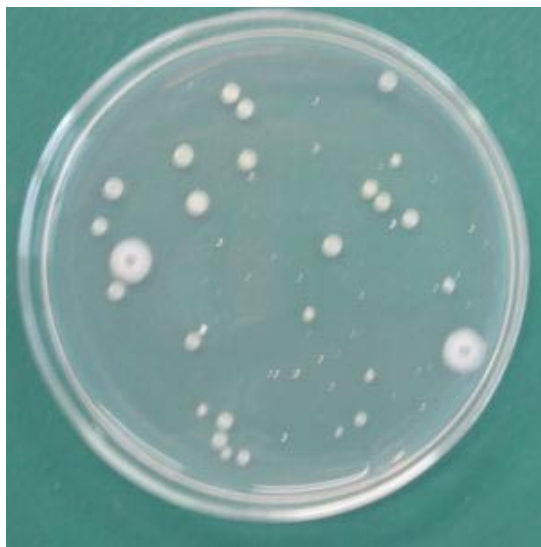


Vzorek 2% C8:0 ředění 10^0 (VRBA)

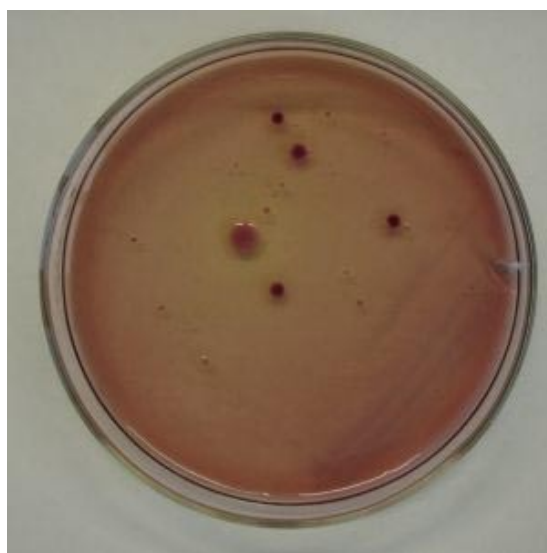
PŘÍLOHA P 3: Srovnání kontrolního vzorku a vzorku 3% C8:0



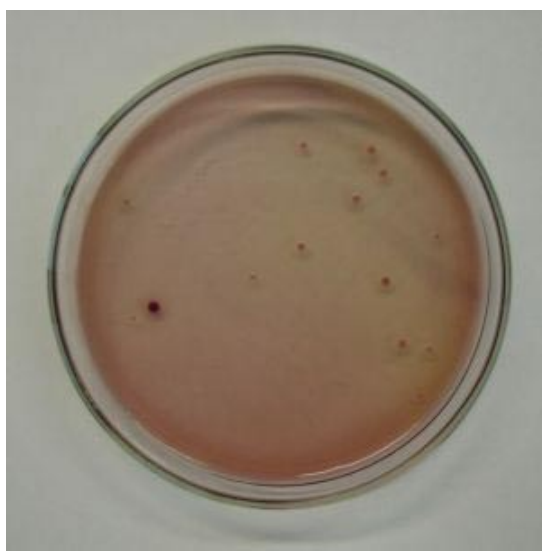
Kontrolní vzorek 3% C8:0 ředění 10^0 (PCA)



Vzorek 3% C8:0 ředění 10^0 (PCA)

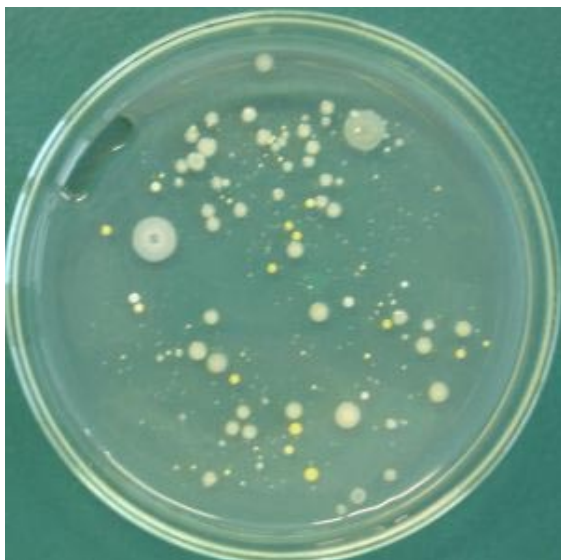


Kontrolní vzorek 3% C8:0 ředění 10^0 (VRBA)

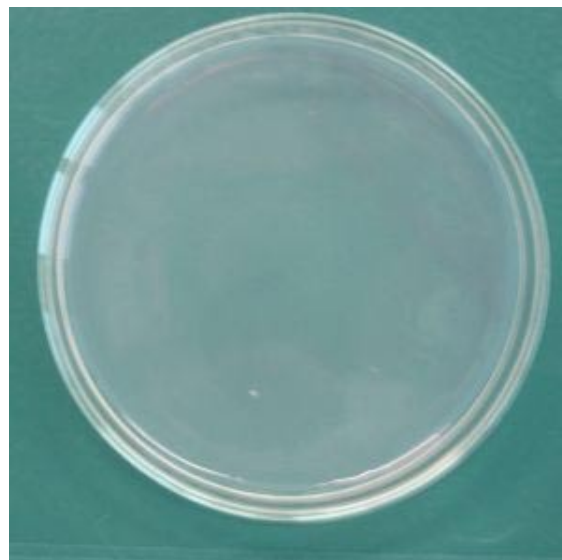


Vzorek 3% C8:0 ředění 10^0 (VRBA)

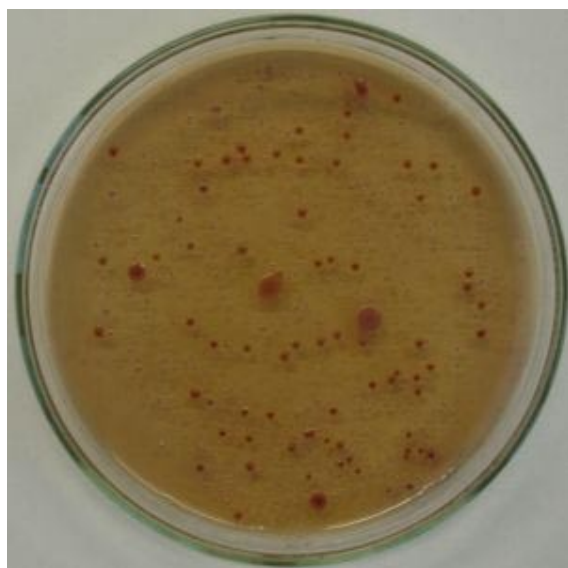
PŘÍLOHA P 4: Srovnání kontrolního vzorku a vzorku 4% C8:0



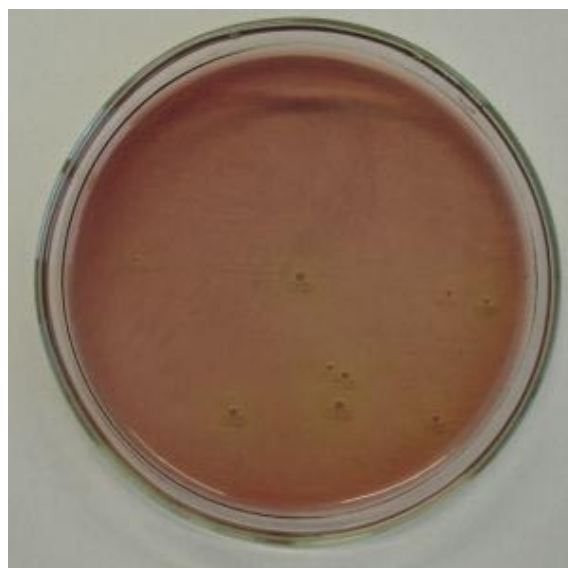
Kontrolní vzorek 4% C8:0 ředění 10^0 (PCA)



Vzorek 4% C8:0 ředění 10^0 (PCA)

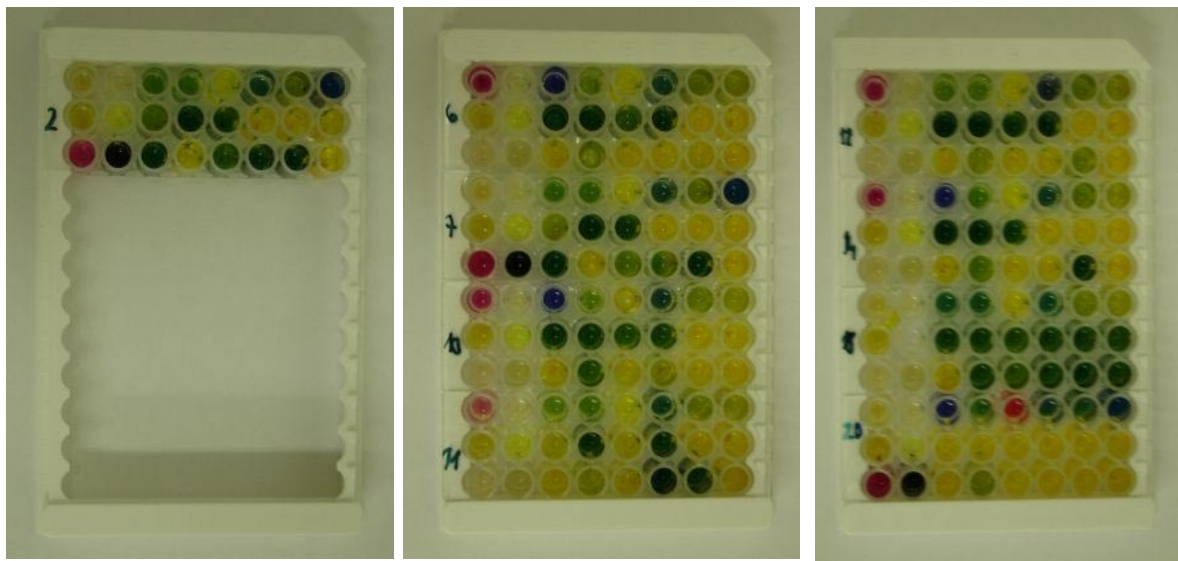


Kontrolní vzorek 4% C8:0 ředění 10^0 (VRBA)



Vzorek 4% C8:0 ředění 10^0 (VRBA)

PŘÍLOHA P 5: Výsledky ENTEROtestu 24



Výsledky ENTEROtestu 24 u jednotlivých testovaných kmenů

PŘÍLOHA P 6: Ukázka výsledků ENTEROtestu

MIKRO-LA-TEST®

ENTEROtest 24

Date/Date/Date/Date

Spec./Spec./Ref./Hazard symbol

PLIVA-Lachema Diagnostika s.r.o. Karásek 1 621 33 Brno, CZ

Enter / Enter / Enter No./No. /No. /No.

Posledky/Notes/Remarks

2

	H		G		F		E		D		C		B		A	
1	I N D	1 -	H 2 S	1 -	L Y S	1 -	O R N	1 -	U R E	1 -	A R G	1 -	S C I	1 -	M A L	1 +
2	P H E	2 -	O N P	2 +	I N O	2 -	A D O	2 -	C E L	2 -	S U C	2 +	T R E	2 +	M A N	2 +
3	V P T	4 +	E S L	4 +	S D R	4 -	R H A	4 +	M L B	4 -	R A F	4 -	D U L	4 -	G L U	4 +
															=Profil/Profile/Профиль	

Dodatkové testy/Additional tests/Дополнительные тесты

OXI CAT

Identifikace/Identifikácia/Identification/Идентификация

3/5

MIKRO-LA-TEST®

ENTEROtest 24

Date/Date/Date/Date

Spec./Spec./Ref./Hazard symbol

PLIVA-Lachema Diagnostika s.r.o. Karásek 1 621 33 Brno, CZ

Enter / Enter / Enter No./No. /No. /No.

Posledky/Notes/Remarks

6

	H		G		F		E		D		C		B		A	
1	I N D	1 +	H 2 S	1 -	L Y S	1 +	O R N	1 -	U R E	1 -	A R G	1 -	S C I	1 -	M A L	1 -
2	P H E	2 -	O N P	2 +	I N O	2 -	A D O	2 -	C E L	2 -	S U C	2 -	T R E	2 +	M A N	2 +
3	V P T	4 -	E S L	4 -	S D R	4 +	R H A	4 +/-	M L B	4 +	R A F	4 +	D U L	4 +	G L U	4 +
															=Profil/Profile/Профиль	

Dodatkové testy/Additional tests/Дополнительные тесты

Escherichia coli

Identifikace/Identifikácia/Identification/Идентификация

3/5

PŘÍLOHA P 7: Hydrolýza kaseinu u testovaného kmene č. 1, 17



Identifikace mikroorganismů - hydrolýza kaseinu u testovaného kmene č. 1 a 17