

Hygiena potravin součástí úkolu zvyšování životní úrovně

MVDr. F. NÁDVORNÍK

Jedním ze stěžejních úkolů veterinárního lékařství je péče o zdravotní nezávadnost a biologickou hodnotu potravin a surovin živočišného původu při jejich získávání, zpracování, úchově a uvádění do oběhu. Tato péče musí být nezbytně podložena — kromě soustavného sledování veškeré činnosti na všech jmenovaných úsecích — soustavným rychlým ověřováním jednotlivých výrobních stádií a dále nutným výzkumem laboratorním, který v zájmu zabránění případných škod má mít vždy určitý předstih před samotnou praxí. Práce v tomto celém oboru se provádí na různých pracovištích a je jí nutno provádět všude, kde je žádoucí. Práci tu si vynucuje skutečný život, ať zemědělská výroba nebo potravinářský průmysl, skladování a přeprava, či konsum potravin. Jsou to v každém jednotlivém úseku denní úkoly, které by měly být řešeny komplexně, na podkladě zvláštního výzkumu. To však zatím všeobecně nebylo možné, jelikož základ k Výzkumnému ústavu veterinárnímu, který by shrnoval výzkum v celém oboru, byl dán teprve v posledních dvou letech a jednotlivá jeho oddělení jsou zařizována postupně. A ani na jednotlivých pracovištích, kde pracují veterinární lékaři v hygieně a technologii potravin živočišného původu — mimo ústavy veterinárních fakult a částečně Státní vědecký veterinární ústav —, nebylo možno takové komplexní úkoly řešit, jelikož odborní pracovníci — veterinární lékaři — nemohli se věnovat pro jiné naléhavější otázky vlastní služby výzkumným pracím a neměli k tomu zatím vyhovující zařízení. Zvláštní výjimku tvoří Výzkumný ústav pro maso a ryby, který byl vybudován ministerstvem potravinářského průmyslu za podpory Vysoké školy veterinární v Brně, která poskytla nejdříve pro tento ústav pracovní možnosti a odborné pracovníky v ústavu pro hygienu a technologii potravin a později samostatný objekt, v němž byl postupně vystavěn a vybudován moderní ústav pro výzkum v oboru technologie masa a masných výrobků. O zdatnosti tohoto pracovního kolektivu, skládajícího se z veterinárních lékařů a jiných vysokoškolských a středoškolských odborných pracovníků, svědčí řada výzkumných prací, uveřejněných v odborném tisku (Veterinářství, Průmysl potravin aj.), a daleko větší řada akcí, jimiž odborné poznatky a výsledky výzkumu byly přenášeny přímo na závody masného průmyslu nebo do státních jakostních norem a technologických postupů. Ústav měl též možnost prověřovat jednotlivé otázky v příslušných závodech, ať v jatkách nebo ve výrobnách, a řešit je výzkumem.

Zvlášť je nutno se zmínit o pracích, vyřešených na ústavu pro hygienu a technologii potravin živočišného původu veterinárních fakult, kde velká část úkolů byla řešena a publikována ve formě disertačních prací (spisy Vysoké školy veterinární, po případě fakulty veterinární VŠZL). Jistě by posloužilo dokumentaci

práce těchto ústavů a informací o vykonaných pracích a vyřešených úkolech, kdyby bylo možno sestavit pro potřeby odborných pracovníků úplný přehled prací z ústavů hygieny a technologie potravin, a to ještě též z dob Lenfeldových a Höklových. Snad by se to podařilo ještě u příležitosti 40letého výročí založení Vysoké školy veterinární v Brně.

Samostatnou kapitolu tvoří práce Státního vědeckého veterinárního ústavu a jeho poboček, kde převládá většinou rutinní vyšetřování vzorků potravin, zvláště masa, mléka a výrobků z nich, ať bakteriologické, histologické nebo fyzikální a chemické. A přece, co bylo i při této práci drobných i větších úkolů, které bylo nutno výzkumem prověřovat a kde vlastně každé vyšetření vzorků vzhledem k rozdílnosti materie a k rozličným normálním a patologickým procesům je určitým výzkumem. O zvláštních výsledcích tohoto vyšetřování je čas od času referováno jednotlivými odbornými pracovníky, jinak jsou výsledky vyšetřování sdělovány přímo složkám, které si je vyžádaly, a uplatňovány v terénu.

Sborník ČSAZV — Veterinární medicína — přináší v tomto čísle ukázkou některých prací, které byly řešeny v uvedených ústavech mimo vlastní výzkum, evidovaný ve státním plánu. Všechny, i když jsou nesourodé, řeší některé aktuální dílčí problémy, které souvisí se snahami o zvýšení množství a jakosti potravin nebo o zvýšení pracovní efektivity ve smyslu směrnic XI. sjezdu KSČ. Uvedené práce jsou rovněž částečnou ukázkou péče veterinárních lékařů o zdravotní nezávadnost a zachování hodnot vyrobených potravin živočišného původu podle vl. nař. č. 99/1952 Sb. a zákona č. 4/1952 Sb. ve znění zák. č. 18/1957 Sb.

Náhrada obyčejného agaru agarem krevním při vyšetřování masa a příprava krevních konzerv pro jeho výrobu

Замена обыкновенного агара кровяным агаром при исследовании мяса и консервирование крови для его изготовления

Blood Agar as a Medium for Routine Examinations of Meat Samples and the Preparation of Blood Preserves for this Kind of Medium

MVDr. V. KUBÍN

Státní vědecký veterinární ústav v Praze, oddělení veterinární hygieny,
vedoucí MVDr. Karel Rychlý

Došlo dne 15. VII. 1958

Pro bakteriologické vyšetřování masa je stanoven postup práce vládním nařízením č. 43 z r. 1942, příloha I. Podle této přílohy se provádí vyšetření hlavně se zřetelem na

1. zárodky otrav masem (Salmonelly),
2. zárodky jiných nemocí hlavně přenosných na člověka,
3. saprofytické zárodky.

Od vydání zmíněné přílohy uplynula značná doba. Požadavky na bakteriologické vyšetření masa podezřelých zvířat se podstatně zvýšily, hlavně propracováním skupiny patogenních a potenciálně patogenních zárodků. Jinými slovy řečeno, při bakteriologickém vyšetřování masa nutno hodnotit i zárodky s vyššími nároky na živné substráty. Zmíněnou přílohou předpisovaný obyčejný agar se stává pro nynější dobu málo vyhovujícím nebo lépe nevyhovujícím. Proto jsme v našem ústavě zařadili do běžné rutinní práce krevní agary jako základní vyšetřovací půdu. Doplnili jsme tedy dosud používaný obyčejný agar agarem krevním. Selektivní půdy pro *Enterobacteriaceae* používáme nezměněně.

Hlavním důvodem pro použití této půdy je zdokonalení diagnostiky. Krevní agar umožňuje vybrat z bohaté škály primokultury i ojedinělé patogenní nebo potenciálně patogenní mikroby, jejichž kolonie jsou mnohdy na obyčejném agaru nerozlišitelné od saprofytické mikroflóry vzhledem k podobnosti kolonií.

Na některých zahraničních ústavech se používá krevních agarů pro vyšetřování vzorků nutně poražených selat a telat. V Krajském veterinárním vyšetřovacím ústavě pro Rheinland-Pfalz, Koblenz, používá P u t e a n u s krevní agar u zmíněných zvířat z důvodů zpřesnění a urychlení identifikace červenky vepřů a diplokokkové nákazy telat (6). V naší práci jsme rozšířili použití krevních agarů i na ostatní zvířata a také pokud jde o mikrobiální druhy, sledujeme je v širším spektru. Zavedením krevních agarů v nejširším měřítku pochopitelně značně stoupla spotřeba krve. Proto jsme zavedli používání krevních konzerv. Metodu přípravy používáme již rok a po tu dobu jsme sledovali znehodnocení krevních agarů kontaminací krve ve vzácných a ojedinělých případech.

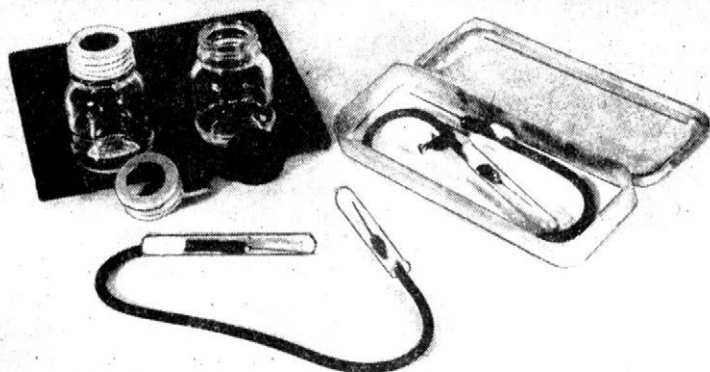
Metodika

Pro krevní agary používáme koňskou nebo beraní krev. Při běžné bakteriologické praxi jsme neshledali rozdílů v použití těchto dvou substrátů. Krevní agary vyrábíme z krevních konzerv, které si připravujeme po způsobu transfúzní služby v humánní medicíně. Odběr krve provádíme na jatkách z ustájených zvířat. Nemusíme proto k těmto účelům chovat vlastního berana.

Krev odebíráme do lahví pro transfúzní službu. Nejlépe se osvědčily lahvičky na 100 ml. Jako antikoagulační prostředek používáme 5 ml 12 % roztoku citrátu sodného ve fyziologickém roztoku pro 100 ml krve. Lahvičky pečlivě uzavřeme gumovými zátkami. Olejovou vývěvou pomocí injekční jehly a tlakové hadičky odsajeme z lahvičky vzduch. U starších vícekrát propíchnutých zátek se osvědčilo po ukončení odsávání zakapání míst vpichu 2% kolloidem. Takto evakuované lahvičky sterilujeme 25 až 35 min. v autoklávu při 120° C. Evakuované sterilizované lahvičky uchováváme při 4° C po několik dnů bez ztráty vakua.

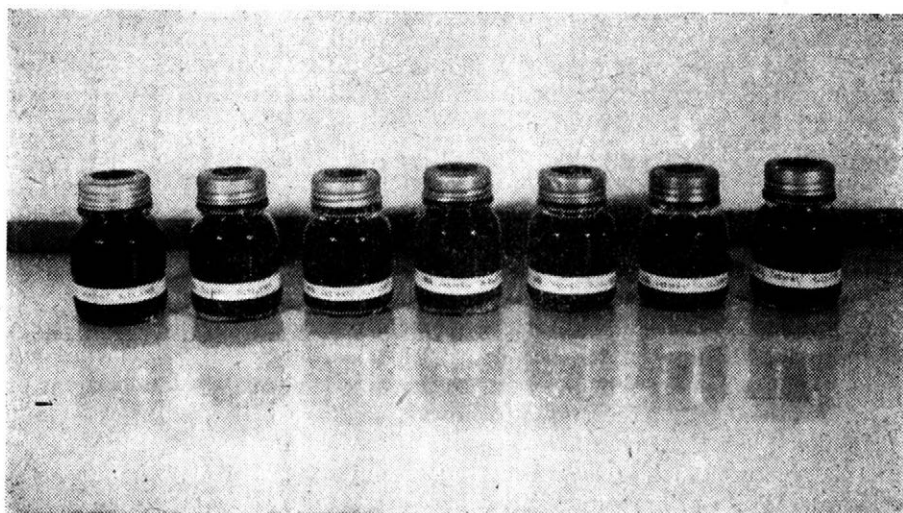
•Odběrová souprava se skládá ze dvou jehel (jedna může být kratší), které jsou k sobě připojeny sterilovatelnou gumovou hadičkou. Na jehly jsou nasazeny ochranné zkumavky. Asi ve vzdálenosti 5 cm od kratší jehly je přiložena malá šroubovací tlačka, která není utažena. Celou tuto soupravu sterilujeme asi 25 až 30 min.

Při vlastním odběru pracujeme v chirurgických rukavicích. Kratší jehlu po utažení tlačky vbodneme do zátky první skleničky a tlačku uvolníme teprve po zavedení druhé jehly do lumina veny obvyklým způsobem. Jakmile počne proudit krev do lahvičky, obrátíme tuto dnem vzhůru. Tím přichází proud krevní ihned po výstupu z jehly do styku s citrátem, dokonale se promísí a jeho rychlost se



Obr. 1. Odběrová souprava, hliníkové pouzdro pro sterilaci odběrové soupravy a prázdné transfúzní lahvičky s roztokem citrátu sodného

zpomalí natolik, že nedochází k traumatizaci krvinek o dno skleničky. Po naplnění asi jedné třetiny objemu obrátíme skleničku do normální polohy a sledujeme hladinu krve. Jakmile dostoupí těsně pod hrdlo, přepícháme jehlu do nové skleničky. Celý proces se opakuje, až naplníme všechny připravené skleničky. Všechny operace provádíme pod dokonalou desinfekční clonou (jodové tinktury).



Obr. 2. Skupina hotových krevních konzerv

Vzhledem k velkému podtlaku ve skleničkách probíhá plnění velmi rychle. Proto je výhodné použít relativně tenkých jehel (1,5 až 2 mm v průměru). Množství 100 ml lahviček (odebraných od jednoho zvířete) kolísá podle velikosti a druhu zvířete (5, 8).

Vlastní přípravu krevního agarů provádíme podle obvyklých pravidel. Abychom odstranili pění krve při resuspendaci krvinek třepáním, vkládáme do každé skleničky před autoklavizací michadélko a před přidáním krve do agarové báze promísíme krev na elektromagnetické míchačce při pomalých obrátcích, aby nedošlo k traumatizaci krvinek. Stejně tak přidáváme michadélko do lahví s agarem a při přípravě provedeme smíchání resuspendované krve s agarovou bází opět pomocí elektromagnetické míchačky. Tím dosáhneme dokonalé promísení bez vzniku mnohdy obtížně odstranitelných bublinek.

Vlastní práce

Pokud jde o vliv krve na růst u nás běžných mikrobů, dá se teoreticky i prakticky sledovat její podpůrný vliv. Předpokládáme, že vyložení haemofobních bakterií je při rutinní diagnostice zanedbatelné procento.

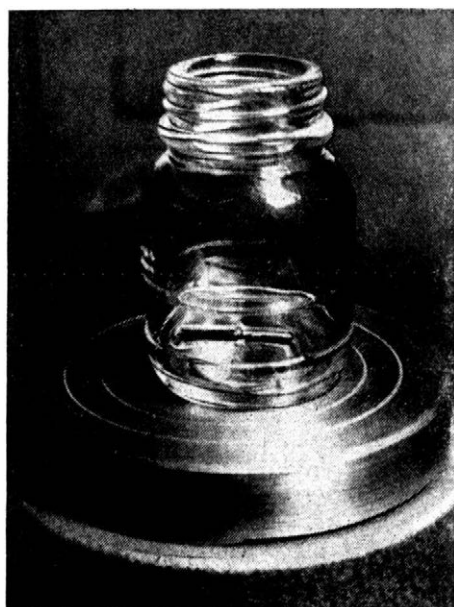
Krevní agar umožňuje hodnocení jednak morfologie kolonií, jednak vlivu bakteriálního metabolismu na haemoglobin, tj. haemolýzu. Právě haemolýza je jedním z rozhodujících faktorů při determinaci některých druhů bakterií. Tak především jde o haemolytické mikrokoky či staphylokoky. Taktéž pigmentace je u tohoto rodu zřetelnější na krevních agaroch. Při posuzování izolujeme podezřelé

	Celkem zvířat	BHS silně	BHS slabě	BHS celkem
Kusů	3.320	22	27	49
Procento	100	0,66	0,81	1,47

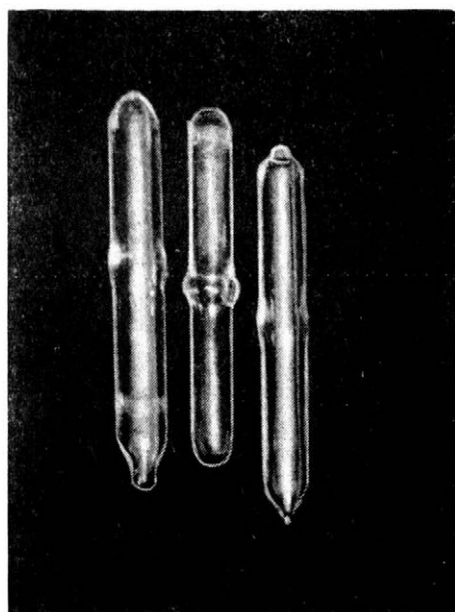
kmeny na nový krevní agar a ihned v této první izolaci podrobujeme dekapsulačnímu hyaluronidázovému testu podle Murray-Pearceho (1). Tento test je svou citlivostí zcela postaven na roven plasmokoagulační zkoušce (1). Jeho jednoduchost umožňuje zařazení do běžné praxe. Pro plasmokoagulační zkoušku používáme plazmu z krevních konzerv, kterou máme stále v dostatečné míře v zásobě (Bašťař, 9).

Pokud jde o streptokoky je krevní agar zcela nutnou a nepostradatelnou diferenciální půdou (Seelmann, 3). Na této půdě lze jednak přímo v primokultuře odlišit a determinovat téměř všechny základní druhy streptokoků, jednak přídavek krve působí stimulačně na růst tohoto bakteriálního rodu. Beta-haemolytické streptokoky poygenních skupin se při bakteriologickém vyšetřování masa vyskytují jednak v masivním porostu, se zřejmým vztahem k patologickému procesu, tj. asi u 0,6 % všech vyšetřovaných zvířat, jednak ojediněle, a to asi u 0,8 % všech vyšetřovaných zvířat (podle našich zkušeností).

S podobnou situací se setkáváme i u pneumokoků, které jsou poněkud diagnostikovatelnější z primokultury i na obyčejném agaru (Trautwein, 7). Vyskytují se asi u jednoho procenta ze všech případů vyšetřovaných telat. Charakteristická haemolýza na krevních agarrech ovšem upozorní i na ojedinělé kolonie



Obr. 3. Lahvička pro odběr krve s michadélkem pro elektromagnetickou míchačku



Obr. 4. Michadélko pro elektromagnetickou míchačku

těchto druhů ve smíšeném porostu, kdežto na obyčejném agaru snadno uniknou pozornosti.

Speciálně u skotu krevní agar umožňuje zařadit do diagnostického spektra typická a atypická korynebakteria. Je sice pravda, že pro jejich zjištění je nutno mnohdy protrahovat v primokultuře inkubaci alespoň na 48 hodin. Toto zdržení, snad speciálně v zimních měsících, vyvažuje přesnost diagnózy. Podle našich zkušeností jsou silné porosty korynebakterií dobře determinovatelné již po 24 hodinách. Ojedinelé kolonie však (pro svůj nepatrný rozměr a většinou opožděně vznikající haemolýzu) nejsou odečitatelné a je nutno prodloužit inkubaci. Ve srovnání s růstem na obyčejném agaru můžeme říci, že vyrostle-li korynebakterium vůbec na obyčejném agaru, je jeho růst po 48 hodin asi kvantitativně rovnocenný růstu na krevním agaru po 24 hodin. Protrahovanou inkubaci je tedy nutno zařadit v případě, že je jakékoli podezření na eventuelní výskyt korynebakterií a jsou-li agary po 24hodinové inkubaci sterilní. Korynebakteria jsme zjistili asi u 1 % vyšetřovaných kusů hovězího dobytka a velice vzácně u prasat jako sekundární mikroflóru při chřipce.

Pokud jde o *Listeria*, neměli jsme dosud možnost se s ní prakticky při vyšetřování masa setkat. Domníváme se však, že přídavek krve rozhodně nezhorší možnost zachytu a diagnózy. Červenka vepřů roste na krevních agarech v typických koloniích někdy bez vlivu na haemoglobin, jindy vytváří sotva znatelnou viridaci. Kolonie jsou nepatrně větší než na obyčejném agaru. Rozlišení nepůsobí potíže v žádném případě.

V čeledi *Enterobacteriaceae* působí krevní agar celkem podružně. Napomáhá negativně při diagnostice laktóz a — negativních kmenů. To znamená, že vyřazuje haemolytické kmeny z podezření na salmonelly (S e d l á k, 2). Poněkud rušivě do diagnostiky zasahuje rod *Proteus*. Jeho plazivé schopnosti se uplatňují na krevním agaru extrémně. Sledovali jsme rozdíly v přerůstání obyčejných agarů a krevních agarů *Proteem* a zjistili jsme, že v chladnějších měsících je zhruba procento přerůstání na obou druhích půd stejné. V letních měsících, kdy pomnožení hlavně pohyblivých zárodků ve vzorcích během transportu je větší, je kultivace na obou plotnách, právě vzhledem k ničivému přerůstání plazivými kmeny *Protea*, stejně problematická a posuzování maximálně znesnadněno.

U rodu *Pasteurella* je podle našeho názoru posouzení na krevních agarech usnadněno, avšak není podmínkou diagnózy z primokultury.

Vzhledem k tomu, že se velmi dobře daří kultivace *Brucell* na krevních agarech v mikroaerofilním prostředí, pokoušíme se v indikovaných případech plotny, které byly po 24hodinové inkubaci v aerobním prostředí termostatu, uzavírat do exikátoru s 10 až 15 % svítiplynu. Hodnocení provádíme až po 72hodinovém pobytu v této atmosféře. Tuto metodu kultivace pokládáme za čistě orientační a používáme ji pouze jako doplňkové vyšetření. Kultivaci jsme provedli teprve asi ve 30 případech, epizootologicky indikovaných. Pro tento malý počet vyšetření nemůžeme prozatím hodnotit konečnou prospěšnost této metody.

Z patogenních aerobních bacilů je pro posouzení masa nejdůležitější *B. anthracis*. Tento bacil roste na krevních agarech velmi dobře v typických koloniích. Během doby, po kterou rutinně používáme krevní agary, jsme zachytili dva případy infekce těmito zárodky. Nebylo obtíží při determinaci těchto mikrobů z primokultury. Patogenní anthraxové kmeny rostou na krevních agarech nehaemolyticky (S i e d e l, 4). Tím se liší od atypických kmenů, které v různém rozsahu haemolyzují. Totéž platí i o ostatních druzích tohoto rodu, které mnohdy rostou na obyčejném agaru dosti podobně jako *B. anthracis* a působí obtíže při diagnostice hlavně méně zkušenému oku.

Diskuse

Zavedením krevních agarů je umožněno zkvalitnění bakteriologického vyšetřování masa a orgánů nutně odporažených zvířat. Jsou to zejména beta-haemolytické streptokoky pyogenních skupin, které není možno z obyčejných agarů identifikovat a také jejich růst zde je velmi slabý. V mnohých smíšených porostech se často vyskytuje rozpuštění streptokokových pouzder vlivem okolní směsi kmenů, z nichž některé produkují hyaluronidázu. Proto přesné fázové odečtení z nečisté primokultury bývá často neproveditelné. Po izolaci typické S fáze ze smíšené kultury shledáváme v subkultuře zřejmou M fázi. V některých případech se následkem toho stává, že v primokultuře nacházíme v jednotlivých orgánech různé fáze streptokoků, což by indukovalo představu, že jde o nahodilý výskyt bez etiologického vztahu. Po izolaci však vidíme jednotnost fáze a později i skupiny a typu.

Na obyčejném agaru také nerostou nebo velmi špatně rostou příslušníci rodu *Corynebacterium*. Tím si také lze vysvětlit celou řadu negativních výsledků při typickém nebo alespoň podezřelém patologicko-anatomickém nález. Poměrně nízké procento výskytu (1 %) jinak u skotu hojného druhu bakterií je zřejmě vyvoláno tím, že k vyšetření dostáváme nezměněné části orgánů a svalů. Z tohoto důvodu můžeme zachytit *Corynebacteria* jenom tehdy, došlo-li k rozplavení do celého organismu nebo alespoň do celého orgánu, což je u těchto zárodků relativně vzácné vzhledem k jejich převážně lokalizovanému výskytu.

Použití krevních agarů k pomocné a doplňkové kultivaci v mikroaerofilním prostředí pro eventuální záchyt *Bruce* má pochopitelně význam spíše epizootologický. Výsledky by se oznamovaly retrogradně po provedení typisace. Jsme si vědomi plně nedostatečnosti této metody při kultivaci *Bruce*. Ve svalstvu i orgánech je koncentrace těchto zárodků nepatrná. Proto si od této kultivace příliš mnoho neslibujeme a používáme ji výhradně jako doplňkovou a orientační.

Nejsou to ovšem jen druhy a rody patogenní, které lze při použití krevního agaru z primokultury determinovat. Skupina tzv. saprofytů je velice rozsáhlá a podobnost kolonií např. se zárodky červenky vepřů, mikrokoky, enterokoky apod. je na obyčejném agaru vysoká. Krevní agar poskytuje možnost bližší, subjektivní identifikace. I když je toto určení typicky rázu orientačního, většinou zcela postačuje pro přibližnou klasifikaci bakterií alespoň do čeledi.

Je pochopitelné, že veškeré manipulace s krevními agary jsou podstatně náročnější na kvalitu práce a v neposlední řadě na čas laboratorního personálu. Hlavní starostí zejména na pracovištích jednodušeji vybavených je dosažení sterility krevních agarů po vylití. Puteanus za tím účelem ozařuje plotny 15 minut ultrafialovým světlem (Puteanus, 6). Lze předpokládat vysoce příznivý vliv pokud se týká dosažení sterility, avšak pokud jde o vliv na biologickou hodnotu půdy je, podle našeho názoru, ozařování poněkud problematické.

Získávání krve metodou odběru do konzerv má celou řadu výhod. Zaručuje totiž neustálou zásobu prakticky neomezeného množství krve. Odběr není řízen okamžitou potřebou krve, ale dá se uskutečnit příležitostně. Neméně význam mají konzervy také jako pohotová zásobárna plazmy pro různé účely. Konzervy se velice dobře osvědčily při práci v terénu. Umožňují totiž celkem jednoduchou přípravu potřebných půd v primitivních poměrech při bakteriologických depistážích. Jejich transport zaručuje zachování absolutní sterility a dlouhodobé použitelnosti krve.

Souhrn

Při vyšetřování masa a orgánů z nutně poražených zvířat byl zaveden do rutinní práce krevní agar jako základní půda. Tato půda, bohatá živinami, umožňuje kultivaci i náročných mikrobů a usnadňuje jejich přibližnou determinaci z primokultury. Půda umožňuje při posuzování patogenních mikrobů i v polybakteriální směsi specifickou orientaci. Přerůstání plazivými zárodky (*Proteus*) se nezdá být o mnoho větší než při použití obyčejného agaru. V článku je podrobně popsána metoda přípravy krevních konzerv. Transfúzní lahvičky o obsahu 100 ml s roztokem citrátu sodného jsou evakuovány ořejovou vývěvou a sterilovány v autoklávu. Odběr krve je prováděn dvěma jehlami spojenými sterilovatelnou gumovou hadičkou. Takto připravené krevní konzervy jsou upotřebitelné i po čtyřech týdnech uložení při 4° C. Bylo použito koňské a beraní krve.

Literatura

1. Kaffka A.: Erfahrungen mit einfachen Untersuchungsmethoden zum Nachweis von Hyaluronidase, Fibrinolysin und Phosphate bei Staphylokokken. Zbl. f. Bakt. I. 168: 381-5, 1957. — 2. Sedláček J.: Enterobacteriaceae jako původci střevních nákaz. St. zdrav. nakl. Praha 1955. — 3. Seelmann: Biologie der bei Tieren und Menschen vorkommenden Streptokokken, 1942. — 4. Siedel G., Straßmann R.: Zur bakteriologischen und serologischen Diagnose des Milzbrandes. Archiv. f. Exper. Vet. Med. 3: (10), 335-57, 1956. — 5. Prospekt firmy: Becton, Dickinson and Comp. Rutherford. B-D Culture Bottle. — 6. Puteanus J.: Die Bedeutung der Blutplatte zur Ergänzung der bakteriologischen Fleischuntersuchung. Berliner u. Münchner Tierärztl. Wschr. 69: 33, 1956. — 7. Trautwein: Die experimentelle Pneumokokkeninfektion des Kalbes. Arch. f. exper. Veterinärmed. 10 - 1956. — 8. Ústní sdělení: ÚVN Praha (bakteriologická laboratoř). — 9. Ústní sdělení: MVDr. M. Baštář, SVVÚ Praha.

Замена обыкновенного агара кровяным агаром при исследовании мяса и консервирование крови для его изготовления

При исследовании мяса и органов принудительно убитых животных производственная практика ввела в качестве основной питательной среды — кровяной агар. Эта среда, богатая питательными веществами, дает возможность культивировать даже требовательные микробы и облегчает их приблизительное установление в первоначальной культуре. Среда дает возможность специфической ориентации и при оценке патогенных организмов в полибактериальной смеси. Перерастание ползучими зародышами (*Proteus*) не проявляется, кажется, в значительно большей степени, чем при применении обыкновенного агара. В статье подробно описывается также и метод консервирования крови. Сосуды для трансфузии емкостью 100 мл с раствором цитрата натрия экстастируются при помощи масляного насоса и стерилизуются в автоклаве. Взятие крови производится двумя иглами, соединенными стерилизуемой резиновой трубкой. Приготовленная таким образом консервированная кровь пригодна к употреблению даже после 4 недель хранения при 4° Ц. Применялась кровь лошадей и баранов.

Blood Agar as a Medium for Routine Examinations of Meat Samples and the Preparation of Blood Preserves for this Kind of Medium

The author describes the use of blood agar as a basic medium for the examination of meat samples. It makes possible to identify the haemolytic pathogen strains and to distinguish the haemolytic strains from the great group of saprophytes. This rich medium stimulates the growth of some microorganisms as e. g. genus *Streptococcus*, *Listerella* or *Corynebacterium*. Finally the author describes the preparation of blood preserves in vacuolised blood transfusion flasks. The blood preserves are used for the preparation of blood agars.

Stanovení bílkovinných antigenů papírovou chromatografií

Определение белковых антигенов при помощи хроматографии

Die papierchromatographische Bestimmung der Eiweißantigene

Determination of Protein Antigens by Means of Paper Chromatography

MVDr. J. HOLEC

Ústav pro hygienu a technologii potravin Veterinární fakulty VŠZL v Brně,
přednosta doc. MVDr. et RNDr. Miroslav Dobeš

Došlo dne 4. XI. 1958

Úvod

Velmi citlivé laboratorní metody papírové chromatografie a papírové elektroforézy postupně pronikají do nejrůznějších vědních oborů. Význam jejich použití spočívá především v jednoduchosti provedení a ve značné jemnosti. Mnohé otázky ve spojení s používáním papírové chromatografie byly výzkumně vyjasněny. Proto chromatografie i elektroforéza se stávají při použití v některých směrech metodami běžně používanými i v méně specialisovaných laboratořích.

V práci je sledována precipitační reakce bílkovinných antigenů se specifickými imunními séry za použití papírové chromatografie. Tato reakce má úzký vztah k hygieně potravin, např. pro průkaz falšování potravin.

Při chromatografii dochází za průtoku tekuté směsi (kapaliny nebo plynu) sloupcem nebo listem práškovitého nebo vláknitého materiálu k tvorbě příčných pásů, odpovídajících chemicky různým složkám směsi (Hais, Macek a spol.). Papírová chromatografie je velmi intenzivně využívána ke studiu bílkovin, peptidů a aminokyselin, jak o tom svědčí četné práce domácích i zahraničních autorů (Ševčík, Kaláb a Novotná, Kácl a Ledvina, Král, Hais a Ženíšek a j.; Barmstedt, Niewiarowicz, Grau a Böhm, Gendon aj.).

Daleko méně však je prací, které spojují používání papírové chromatografie s metodami imunoologickými (Gurvič). Metoda precipitace na papíře spočívá v tom, že nanese-li se po sobě na totéž místo vhodného filtračního papíru zkoumaná bílkovina a pak příslušné antisérum, vypadne v místě nakápnutí precipitát z roztoku. Jestliže pak tímto místem protéká rozpouštědlo, jsou všechny bílkoviny, které nevypadly do sraženiny, postupně ze startu vymývány. Na startu zůstane promytý precipitát, složený z bílkoviny a odpovídajícího antiséra. Reakci lze použít i pro stanovení kvantitativní. Rozpouštědla o vysokém pH snižují nespecifickou adsorpci bílkovin na papíře (Gurvič), příliš koncentrované roztoky látek, jichž se používá k vysolování bílkovin, vedou k jejich vypadnutí z roztoku

hned na startu (Hais, Macek a spol.), při nízké koncentraci putují s čelem roztoku (Macek).

Spalding a Metcalf použili papírovou chromatografii k průkazu reakce mezi antigenem a anticorpory. Jako antigen použili formaldehydem umrtvené a haematoxylinem obarvené kultury *Brucella abortus*, *Salmonella typhosa* a *Pasteurella tularensis*. Antigen suspendovali ve fyziologickém roztoku, v normálním králičím séru, v 70 % roztoku sacharózy nebo v nasyceném roztoku glukózy. Aglutinační séra měla titer protilátků vůči *P. tularensis* 1 : 2560, *B. abortus* 1 : 320 a *S. typhosa* (H — aglutininy) 1 : 2560.

Kapku obarveného antigenu (1 mm³) nanесли mikropipetou na filtrační papír. Na totéž místo o průměru 4 mm nanесли zkoušené sérum, načež jeden z konců ponořili do fyziologického roztoku o pH 7,0. V přítomnosti homologního imunního séra nebyl antigen v důsledku aglutinace bakterií vymyt nasáklým fyziologickým roztokem a zůstal na místě nanesení v podobě kruhové skvrny. V přítomnosti normálního nebo heterologního séra byly obarvené bakterie vymývány a na papíře místo kruhové skvrny se objevil obarvený pás. Antigeny suspendované v glukóze bylo možno po nakápnutí na filtrační papír a po vysušení za pokojové teploty použít ještě po více než třech týdnech. Tito autoři udávají, že citlivost chromatografické metody pro toto stanovení je nižší než obyčejná aglutinace. Pro jednoduchost a rychlost získání výsledků doporučují metodu ke kvalitativnímu průkazu aglutininů.

Kaiser v literárním přehledu „O použití papírové chromatografie v medicíně“ uvádí, že tato metoda, jak v oblasti medicíny humánní, tak veterinární, má četné přednosti a že je třeba některé běžné vyšetřovací metodiky podle možnosti nahradit papírovou chromatografií.

Dosud se používá ke stanovení bílkovinného antigenu Uhlenhutova metoda spočívající v reakci precipitinogenu jako antigenu, s precipitiny imunního séra (Graul). Reakce se provádí ve zkumavkách Schnüder-Lenfildových (Langer), Pfeilerových nebo v kapilárách (Schönberg). Na styčné ploše obou tekutin dochází k vytvoření precipitátu.

Cílem práce je rozšíření počtu metodik vhodných pro průkaz bílkovinných antigenů. Za použití většího počtu metodik lze očekávat přesnější výsledky. Tato metoda, zejména při určení množství prokazovaného antigenu, řeší problém zcela novým způsobem.

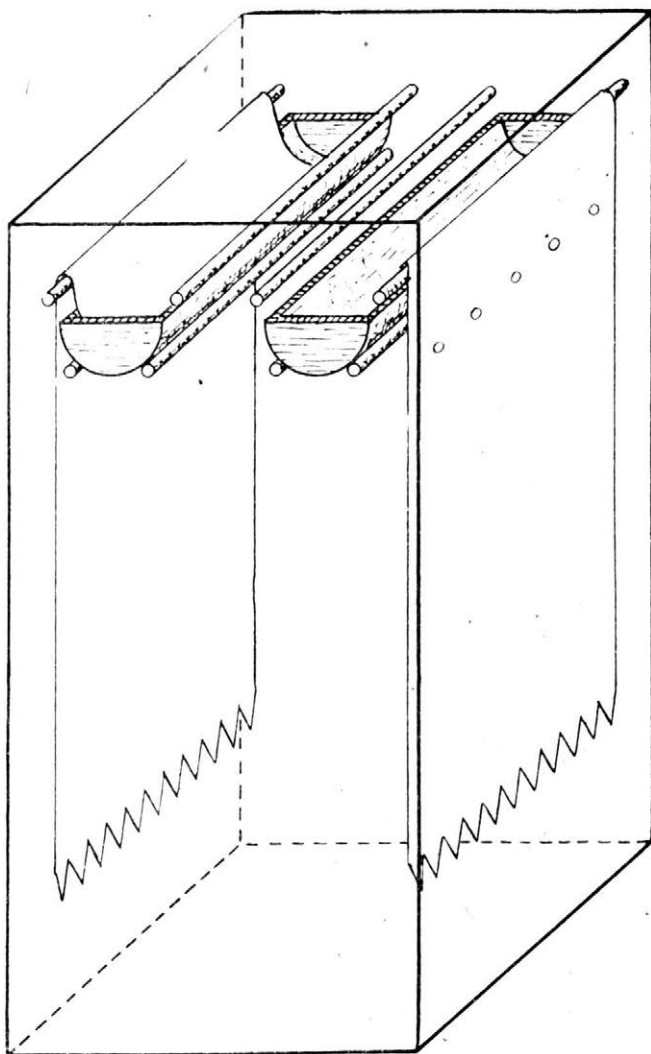
Metodika

Zařízení. K provádění precipitace na papíře se hodí obyčejná chromatografická skříň pro uspořádání sestupné, která má výšku aspoň 25 cm. Při práci jsme používali skleněnou nádobu rozměrů 20 × 20 × 40 cm. V horní části nádoby byl ve skleněných trubkách, upevněných v nádobě pomocí nástavců z pryžové hadice, zavěšen žlábek zhotovený z novoduru, do kterého se plnilo 100 ml rozpouštědla. Komora podle vlastního návrhu je znázorněna na obr. 1. Použití novoduru nebo i jiné umělé hmoty, např. akrylového skla, je možné, protože se jako rozpouštědla používá vodných roztoků. Horní okraj skříně je zabroušen do rovinné roviny a překrývá se skleněným víkem.

Papír. Jako papírový nosič byl použit chromatografický papír zn. Wattman No 1, nařezaný na pásy 18 × 35 cm. Část papíru, jehož okraj ve skříně volně visí, nese nutné poznámky a je upraven do hrotů (obr. 1), pro usnadnění odtoku rozpouštědla na dno skříně. Na hroty lze upevnit přiměřeně těžké závaží,

kteře usnadňuje manipulaci při vkládání chromatogramu do žlábků. Protějši konec chromatogramu je ponořen ve žlábků do rozpouštědla. Ve své poloze je fixován skleněným závažím. Asi 10 až 11 cm od horního okraje papíru je měkkou obyčejnou tužkou označeno místo nanášení, tzv. start.

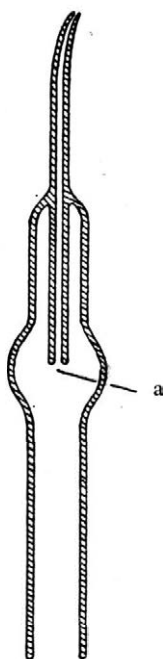
Rozpouštědlo. Jako rozpouštědla se používá veronalového nárazníku (Na-veronal — HCl). V této práci bylo použito ústojných roztoků o pH 8,6, 9,0 a 9,2.



Obr. 1. Chromatografická skříň pro sestupné uspořádání. Dva chromatogramy jsou zavěšeny. Další dva je možno zavěsit

Pipety. K přesnému odměřování nanášených vzorků antigenů a antisér doporučuje Gurvič sadu automatických mikropipet (obr. 2) o objemu 0,007 až 0,030 ml, který se stanoví zvážením kapky destilované vody vyfouknuté z kapiláry. My jsme použili k nanášení vzorků mikropipety ze Sahliho haemometru o obsahu 0,020 ml, u kterých jsme si označili ryskou objem 0,005, 0,010 a 0,015 ml.

Provedení reakce. Nastříhané pásy chromatografického papíru se kladou na vhodnou skleněnou podložku tak, aby místo nanášení viselo volně ve vzduchu. Mikropipetou se pak postupně nanáší na totéž místo sérum i anti-sérum, na sousedícím místě se nechá vsáknout kontrolní vzorek. Při nanášení tekutin na totéž místo je třeba první tekutinu nechat oschnout (částečně nebo úplně), aby při vsáknutí druhé složky nepřesáhly obrysy plochu první složky. Určený objem druhé složky se s výhodou nanáší na skvrnu po první složce přerušovaně.



Obr. 2. Automatická mikropipeta; a = otvor, kterým odtéká přebytek nasávané tekutiny

Vyvíjení chromatogramů. Chromatogramy se vyvíjí rozpouštědlem různě dlouho. Pro kvalitativní stanovení antigenu postačí vyvíjet několik hodin, pro stanovení kvantitativní je třeba vyvíjet delší dobu, aby bílkoviny, které nevypadly z roztoku, byly rozpouštědlem kvantitativně vymyty.

Vyvolávání chromatogramů. Papíry po vyjmutí z chromatografické skříně sušíme v sušárně při 100° C po 10 minut. Chromatogramy fixované teplem nebo usušené za pokojové teploty barvíme 10 minut v 0,5% roztoku bromfenolové modře v methyalkoholu nasyceném sublimátem. Přebytek vybarvovacího roztoku se odstraní několikerým promytím vodou a chromatogramy se nechají oschnout. Fixace teplem není nezbytně nutná, neboť precipitát lpí pevně ve vláknech papíru a vymyté bílkoviny při této reakci zpravidla dále nezkoumáme. Proto postačí chromatogramy po vyvíjení usušit za pokojové teploty.

Příprava imunních sér. Imunní séra, potřebná k této práci, byla získána z krve králíků, které jsme imunizovali normálními séry zdravých zvířat intravenózní aplikací do krajní ušní žíly. Teprve když titr protilátek v krevním séru pokusných zvířat byl dostatečně vysoký, bylo přistoupeno k totálnímu vykrvení za přísného dodržování podmínek asepce. Vykrvení bylo provedeno v éterové narkóze incísi vypreparované. *A. carotis communis*. Imunní séra byla zatavena do ampulek o obsahu 1 ml.

Vlastní výsledky

Při studiu precipitační reakce na papíře byla zjišťována velikost kruhových skvrn v průměru, které po nanesení a vysušení antigenu a imunního séra zanechají na chromatografickém papíře žlutavé skvrny. Jak při nanesení antigenu a odpovídajícího antiséra, tak při nanesení antigenu a neodpovídajícího antiséra, nezávisle na pořadí nanášení, je velikost skvrn závislá na stupni vysušení prvně nanesené složky a měří:

Obě složky naneseny à mm^3	5	10	15
Průměr kruhové skvrny v mm	8–9	11–12	13–14

Po obarvení chromatogramů zjišťujeme někdy nepravidelnosti v utváření kruhové skvrny precipitátu. Sledováním této otázky se zjistilo, že při pozitivních reakcích dochází ke vzniku čtyř typů skvrn. Jejich poměrná velikost a rovnoměrnost rozložení precipitátu (usuzováno podle rovnoměrnosti vybarvení) je znázorněna na obr. 3, kde u jednotlivých typů označených A až D uvádíme skutečnosti, které podle našeho pozorování a zkušeností jsou příčinou vzniku nepravidelností.

Doba potřebná k vsáknutí reagujících složek (sérum a antisérum) do chromatografického papíru trvá průměrně při nepřerušovaném nanášení:

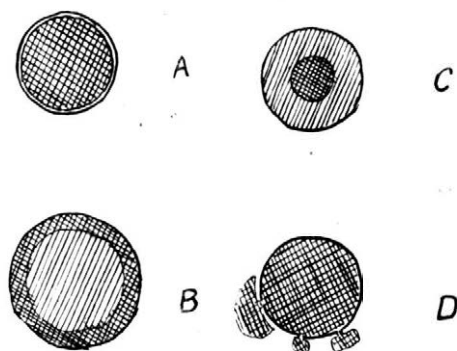
Prvá složka v mm^3	5	10	15
Doba nutná k vsáknutí ve vteř.	6	20	55
Druhá složka nanesena na částečně zaschlou skvrnu složky první ve vteř.	45	90 a více	180 a více
Druhá složka nanesena na úplně zaschlou skvrnu složky první ve vteř.	90 a více	180 a více	180 a více

Při nanášení přerušovaném několika krátkými půl- až jednovteřinovými intervaly se zkrátí doba potřebná pro vsáknutí první složky o 10 až 30 %. Časová úspora je větší při nanášení většího množství. Při přerušovaném nanášení druhé složky na částečně nebo úplně zaschlou skvrnu první složky se za stejných podmínek urychlí postup dva- až třikrát proti nepřerušovanému nanášení. Vzlínavost v papíře a v mikropipetě působí při nanášení navzájem opačně. Přerušovaným nanášením se přerušuje působení vzlínavosti v mikropipetě a přilnavosti tekutiny na její vnější stěny. V krátkých intervalech se tedy odstraňují síly, které svým působením při nepřerušovaném nanášení zmenšují kapilární síly v papíru. Rozdíly v době potřebné k vsáknutí složek závisí do značné míry na vnitřním průměru mikropipety a na tvaru jejího zakončení.

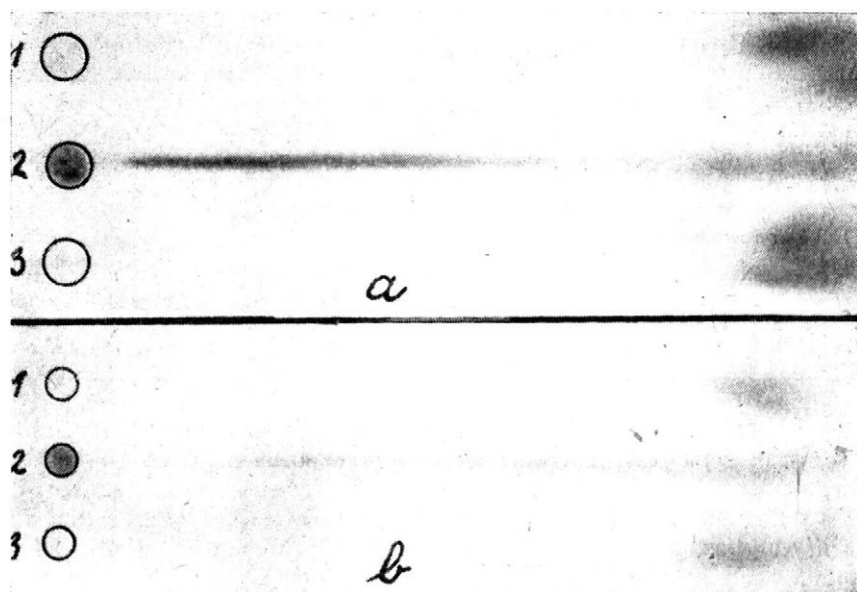
V dalším byla sledována otázka vlivu pořadí nanesení na intenzitu vybarvené skvrny při pozitivní reakci. Při nanášení stejných množství (5, 10 a 15 mm^3) na úplně zaschlou skvrnu po první složce s různě dlouhým vysycháním této složky (30 až 240 minut) nebyly zjištěny vizuálně, ani kolorimetricky takové rozdíly v propustnosti pro světlo, které by svědčily pro určitý postup při přípravě chromatogramu.

Obr. 3. Znázornění tvarů rozpouštědlem vymytých a barvením vyvolaných skvrn při precipitaci na papíře

A — správné nanesení vzájemně odpovídajících množství antigenu a imunního séra, na přiměřeně nebo úplně vyschlou skvrnu po první složce, B — druhá složka byla nanesena na příliš vlhkou skvrnu první složky, čímž došlo k jejímu částečnému vymývání směrem periferním, C — druhá složka byla nanesena v příliš malém množství vzhledem k první složce, D — druhá složka byla nanesena ve větším množství než první složka, nebo středy nanášení byly vzájemně posunuty, takže skvrny se nekryjí



Doba vymývání bílkovin, které nevstoupily do reakce, je důležitá jak pro kvalitativní, tak pro kvantitativní stanovení bílkovinného antigenu. Pro kvalitativní určení postačí vyvíjet chromatogram rozpouštědlem po tři až čtyři hodiny. Za tuto dobu postoupí čelo rozpouštědla asi o 20 až 30 cm. Při reakci menších množství antigenu a imunního séra postačí kratší vymývání a naopak. Nedokonalé



Obr. 4. • Nedokonalé vymytí bílkovin ze startu na místech precipitace na papíře
a — reagující složky nanesený po 10 mm³, b — reagující složky nanesený po 5 mm³,
1 — antigen (kontrola), 2 — antigen + antisérum (reakce), 3 — antisérum (kontrola)

vymytí bílkovin z místa reakce (startu) se na obarveném chromatogramu projeví stopou, která začíná již od startu (obr. 4). Reakční skvrna pod označením 2 (na obr. 4 chromatogram a) je v jedné polovině temnější. Z této části nebyly ještě volné bílkoviny dokonale vymyty. Ke kvantitativnímu stanovení antigenu necháváme chromatogram vyvíjet po 16 až 18 hodin (přes noc). Po takovém vyvíjení jsme dosud nepozorovali nedokonalé vymytí bílkovin.

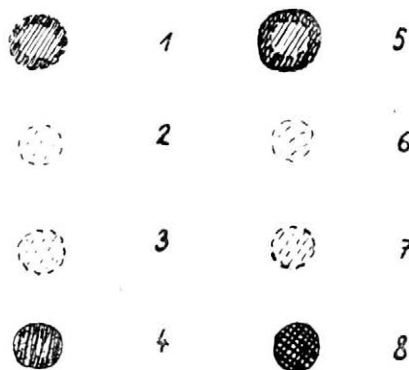
Dále byl zkoušen význam vysušení pro precipitační reakci na papíře. Sérum a odpovídající antisérum, vysušené nebo nevysušené, s příslušnými kontrolami zanechalo po obarvení různé intenzivní skvrny, které co do poměrné velikosti, intenzity a rovnoměrnosti vybarvení jsou znázorněny na obr. 5, kde skvrny pod číslem 1, 4, 5 a 8 představují pozitivní reakce a všechny je lze hodnotit jako výrazně pozitivní. Ostatní skvrny jsou kontroly obou složek.

Protože dochází k částečnému vymývání první nevysušené složky, odpovídající druhou složkou, lze soudit, že k precipitaci na papíře nedochází ihned při setkání reagujících tekutin, ale až po určité kratší době, obdobně jako při reakci ve zkumavkách.

Při sledování otázky tzv. nespecifické adsorbce bílkovin na chromatografickém papíře, která působí potíže při kvantitativním vymývání bílkovin z papíru a po obarvení zanechává nepatrné, ale přece znatelné stopy (projevuje se u složek nanesených na papír jako kontroly), jsme použili veronalové nárazníky (Na-vero-

nal — HCl o pH 8,6, 9,0 a 9,2). Skvrny byly eluovány zásaditým methanolem a byla měřena propustnost eluátu na kolorimetru „Pulfrich“. Zjištěné nepatrné rozdíly v propustnosti se však pohybovaly v mezích rozptylu použitých metodik.

Podrobněji byl zkoušen vliv různého množství antiséra a antigenu na intenzitu (tj. na množství) obarveného adsorbovaného precipitátu. Složky byly naná-



Obr. 5. Význam vysoušení pro precipitaci na papíře. Složky nanášeny à 5 mm³. Zmíněno na dvě třetiny skutečné velikosti

1 — antisérum (vysušeno) + antigen (nevysušeno), 2 — antisérum (vysušeno), 3 — antisérum (nevysušeno), 4 — antisérum (nevysušeno) + antigen (nevysušeno) 5 — antisérum (nevysušeno) + antigen (vysušeno), 6 — antigen (nevysušeno), 7 — antigen (vysušeno), 8 — antigen (vysušeno) + antisérum (vysušeno)

šeny za pokojové teploty v libovolném pořádku. Druhá složka však byla nanesena vždy až po zaschnutí první složky.

Přehled o velikosti složek a intenzitě obarveného precipitátu při čtyřhodinovém vyvíjení rozpouštědlem o pH 8,6 ukazuje tab. I., tentýž přehled při 16hodinovém vyvíjení tímto rozpouštědlem ukazuje tab. II.

Z přehledu vyplývá, že precipitace na papíře (při vysušení jedné a pak druhé složky) je nejintenzivnější, nanáší-li se stejné nebo poněkud menší množství antigenu než imunního séra.

Dále bylo pozorováno, aniž však tato otázka byla blíže studována, že stopa vymytých bílkovin, z místa kde došlo k reakci, se při vymývání rozpouštědlem opožďuje za skvrnami bílkovin vymytých z míst kde k precipitaci nedošlo, a to i při vymývání stejných kvant bílkovin. Toto pozorování je dokumentováno na obr. 6 srovnáním chromatogramu pod č. 1, 2, 3, 4, 5 a 6 a konečně srovnáním stejných kvant vymytých bílkovin pod č. 2, 4 a 6.

I.

Délka vyvíjení 4 hodiny										
antisérum / antigen	1:5	1:2,5	1:1,7	1:1,2	1:1	1:0,8	1:0,7	1:0,6	1:0,5	1:0,4
intenzita reakce	++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	+
intenzita reakce	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++
intenzita reakce	+	+++	+++	++	+++	++	++	++	+	-

Délka vyvíjení 16 hodin										
antisérum / antigen	1:5	1:2,5	1:1,7	1:1,2	1:1	1:0,8	1:0,7	1:0,6	1:0,5	1:0,4
intenzita reakce		++	++	++	+++	+++	++	+	+	+
intenzita reakce			+++	+++	+++	+++	+++	++	++	
intenzita reakce		++	+++	+++	+++	+++	++	++		



Obr. 6. Precipitace na papíře

1, 2, 3 — reagující složky naneseny po 5 mm^3 , 4, 5, 6 — reagující složky naneseny po 10 mm^3 , 2, 5 — precipitace na papíře, 1, 4 — antigen (kontrola), 3, 6 — antisérum (kontrola)

Výše specifity reakce je závislá na hodnotě použitých antisér.

Citlivost reakce je při jednoduchém (v metodice uvedeném postupu) za použití precipitačních sér běžné kvality (max. titr protilátek 1:2000 až 4000/10 minut) dostatečná. Spolehlivé a dostatečně zřetelné výsledky lze dosáhnout při zředění sérového antigenu 1:100. Při opakovaném (až 10násobném) nanášení zředěného antigenu na totéž místo lze dosáhnout stejné, v některých případech dokonce poněkud vyšší citlivosti než při klasickém provedení reakce podle Uhlenhutha (jde o průkaz antigenu ředěného fyziologickým roztokem nebo lépe destilovanou vodou). Antigen ředěný heterologním sérem není možno více než dvakrát,

maximálně třikrát nanést na totéž místo. Provedení reakce je však při opakovaném nanášení časově náročnější.

Kvantitativní stanovení antigenu. Precipitace na papíře je možno použít ke kvantitativnímu stanovení antigenu, a to elucí skvrn po dostatečně dlouhém vymývání a jejich srovnáním s porovnávacím roztokem, nebo vyznačením do grafu, který představuje závislost intenzity vybarvení precipitátu na množství přidaného antigenu.

Vystřižené skvrny jsme eluovali 3 ml alkalického methanolu po 40 minut a při filtru S 57 na Pulfrichově kolorimetru stanovili extinkci v semimikrokyvetách o délce 5 cm. Do porovnávací kyvety se dá eluát ze skvrny, kde bylo naneseno pouze antisérum. Ze získaných hodnot se sestojí kalibrační křivka, na které pak po změření extinkce odečteme hodnotu pro zkoumaný antigen.

Konečně uvádíme, že imunní séra použitá při studiu stanovení bílkovinných antigenů jsme sami vyrobili. O jejich výrobě a kvalitě podává přehled tab. III.

Počínaje druhou imunizací byl králíkům 10 minut před aplikací antigenu vstříknut 10% *Coffeinum natribenzoicum sc.* v dávce 0,1 ml na 1 kg živé váhy, pro prevenci anafylaktického šoku. Třetí a čtvrtá imunizační dávka antigenu byla rozdělena na poloviny a aplikována s 30minutovým intervalem. Králíci, kteří vyprodukovali sérum alespoň o titru 1 : 3000, byli vykrveni.

III.

Antigen	Králik číslo	Živ. váha před imunizací g	Imunisace (ml antigenu)			Kontrola titru protilátek	Živ. váha kontrola g	Imuni- sace(ml antigenu) IV	Kontrola titru protilátek	Živ. váha po 24 hod. dítě, před vy- krvením g
			I	II	III					
		Počet dní od začátku imunisace								
		1	1	5	9	16	17	18	24	25
Ovčí	1	4000	3	3	1,8+1,8	1 : 1000	3390	1,5+1,5	1 : 6000	3295
Koň- ský	2	4215	3	3	1,8+1,8	1 : 500	3285	1,5+1,5	1 : 6000	3360
Koň- ský	3	3855	3	3	1,8+1,5	1 : 100	3540	1,5+1,5	1 : 100	—
Ve- přo- vý	4	2740	3	3	1,5+1,5	1 : 100	2470	1,5+1,5	1 : 2000	—
Ve- přo- vý	5	3985	3	3	1,8+1,8	1 : 3000	3350	1,5+1,5	1 : 3000	3265
Psí	6	3150	3	3	1,5+1,5	1 : 2000	2950	1,5+1,5	1 : 2000	—
Psí	7	3140	3	3	1,5+1,5	1 : 6000	2720	1,0	1 : 12000	2780
Ho- věží	8	3080	3	3	1,5+1,5	1 : 3000	2985	1,5+1,5	1 : 3000	3020
Ho- věží	9	2450	3	3	1,6+1,6	1 : 100	2975	1,5+1,5	1 : 1000	—

Souhrn

V práci je sledována a popsána metoda precipitace bílkovinných antigenů, za použití papírové chromatografie, se zaměřením ke kvalitativním a kvantitativním stanovením.

Jsou podrobně sledovány vlivy, které působí na velikost, intenzitu, rovnoměrnost a reproduktivnost vybarvení precipitačních skvrn, jako přerušované a nepřerušované nanášení antigenu a odpovídajícího imunního séra, vliv pořadí nanášení obou složek, doba potřebná k vyvíjení chromatogramu, vliv vysoušení nanášených skvrn na výsledek precipitace, nespecifická adsorbce bílkovin na chromatografickém papíru a konečně specifická a citlivost reakce.

Touto metodou lze kvalitativně i kvantitativně stanovit přítomnost zkoumaného bílkovinného antigenu ve vodném roztoku i ve směsi bílkovin, a to u potravin a surovin živočišného původu, u nichž při zpracování nedošlo k jejich totální denaturaci.

Uvedená metoda je jednoduchá a poměrně málo pracná. Využívá se přístrojů a reagensů dostupných v běžně vybavených laboratořích. Přednost metody spočívá mimo jiné v tom, že zpracovaný chromatogram zůstává jako trvalý doklad o nálezů.

Literatura

1. Barmstedt: Arch. f. Lebensmittelhyg. 1957, č. 8, str. 183-185. — 2. Gen-don: Žurn. mikrobiol., epidemjol. a imunobiol. 1958, č. 2, str. 95-99. — 3. Grau: Die Fleischwirtschaft 1954, č. 9, str. 369-370. — 4. Grau, Böhm: Die Fleischwirtschaft 1958, č. 2, str. 70-72. — 5. Gurvič: Biochimija 1955, č. 5, str. 550-554. — 6. Hais, Macek a spol.: Papírová chromatografie, Praha 1954. — 7. Kácl, Ledvina: Chem. listy 1953, str. 242-246. — 8. Kaiser: Berl. u. Münch. tierärztl. Wchschr. 1958, č. 3, str. 55-56. — 9. Kaláb, Novotná: Vet. medicina 1958, č. 3, str. 149-160. — 10. Král, Hais, Ženíšek: Čas. lék. čes. 1953, č. 3, str. 62. — 11. Langer: Studium vlivů na precipitační reakci koňské bílkoviny, dis. VŠV Brno, 1937. — 12. Macek: Chem. listy 1954, str. 1181-1187. — 13. Niewiarowicz: Przemysł spożywczy 1956, č. 7, str. 280-282. — 14. Schönberg: Die Untersuchung von Tieren stammender Lebensmittel. Berlin 1945. — 15. Spalding a Metcalf: J. Bacteriol. 1954, č. 2, str. 160-166, cit. podle Referat. žurnal (biol.) 1956, č. 1, str. 88. — 16. Ševčík: Úvod do biochemické analýsy mikroorganismů. Praha 1954.

Определение белковых антигенов при помощи хроматографии

В этой работе исследован и описан метод precipitation белковых антигенов при помощи хроматографии на бумаге с целью их качественного и количественного определения.

Автор подробно исследует факторы, оказывающие влияние на размер, интенсивность, равномерность и воспроизведение окрашивания precipitationных пятен, как например, прерываемое и непрерываемое нанесение антигена и соответствующей иммунной сыворотки, влияние порядка нанесения обеих составных частей, время, необходимое для развития хроматограммы, влияние высушивания на-

несенных пятен на результаты преципитации, неспецифическая адсорбция белков на хроматографической бумаге, и, наконец, специфика и чувствительность реакции.

При помощи этого метода можно качественным и количественным образом определить наличие исследуемого белкового антигена в водном растворе и в смеси белков в продуктах и сырье животного происхождения, при обработке которых не произошла их полная денатурация.

Приведенный метод является простым и сравнительно нетрудным. При применении его используют приборы и реактивы, доступные в лабораториях с простым оборудованием. Преимущество метода заключается также в том, что обработанная хроматограмма остается документированным доказательством анализа.

Die papierchromatographische Bestimmung der Eiweißantigene

In der Arbeit wurde die Methode der Präzipitation der Eiweißantigene geprüft, und zwar mittels der papierchromatographischen Methode, zwecks der Qualitäts- und Quantitätsbestimmungen.

In der Arbeit folgten wir gründlich die Einflüsse, die die Größe, Intensität, Gleichmäßigkeit und die Reproduzierbarkeit der Verfärbung der Präzipitationsflecke beeinflussen. Bei dieser Gelegenheit folgten wir unterbrochenes und ununterbrochenes Auftragen des Antigens und entsprechendes Immunsersums, die Reihenfolge des Auftragens der beiden Bestandteile, den Zeitraum der zur Entwicklung des Chromatogramms nötig ist, den Einfluß des Austrocknens der aufgetragenen Tropfen auf das Präzipitationsergebnis, die unspezifische Eiweißadsorption auf dem chromatographischen Papier und endlich die Spezifität und Empfindlichkeit der Reaktion.

Diese Methode ermöglicht Qualitäts- und Quantitätsbestimmungen des geprüften Eiweißantigens, und zwar sowohl in wässrigen Lösungen als auch in dem Eiweißgemisch bei den tierischen Nahrungsmitteln und Rohstoffen, bei denen während der Verarbeitung die Totaldenaturation nicht eintrat.

Die beschriebene Methode ist einfach und verhältnismäßig wenig mühsam. Man benutzt das Gerät und die Reagentien, die in den gewöhnlich ausgerüsteten Laboratorien zur Verfügung stehen. Der Vorteil dieser Methode beruht unter anderem darin, daß das verarbeitete Chromatogramm als Untersuchungsdokument zur Disposition bleibt.

Determination of Protein Antigens by Means of Paper Chromatography

The paper deals with, and describes the method of protein antigen precipitation by means of paper chromatography with special regard to quality and quantity determinations.

Influences affecting size, intensity, equality and reproducibility of colouring the precipitations spots, such as interrupted and non-interrupted placing of antigen and corresponding immune serum, the influence of the placing order of both components, time necessary for developing the chromatogram, the effect of drying the placed spots on the precipitation results, on the specificity of protein adsorption on the chromatographic paper, and finally the specificity and sensitivity of the reaction.

This method makes possible qualitative and quantitative determinations of the presence of the tested protein in a suitable solution and in a protein mixture both in food-stuffs and raw materials in which total denaturalization did not take place in the course of treatment.

The method quoted is simple and relatively little labour-consuming, utilizing apparatuses and reagents available in normally equipped laboratories. Its advantage consists—among others—in the fact that the chromatogram obtained remains as a lasting document of the finding.

Konzervace střev lákováním

Консервирование кишок в рассоле

Gut Conservation by Pickling

Conservation des Boyaux dans la Saumure

MVDr. J. ZLÁMALOVÁ

Výzkumný ústav pro maso, Brno, vedoucí MVDr. Vladimír Pokorný

Došlo dne 4. XI. 1958

Úvod

Střeva jatečních zvířat jsou důležitou obalovou surovinou při výrobě uzenářského zboží. Kromě technologie zpracování střev, získaných z poraženého zvířete až do jejich konečné úpravy (odhlehování, sdírání, kalibrování, svazkování), zaujímá neméně důležité místo jejich konzervace. Správně konzervovaná střeva se mohou uchovávat za vhodných podmínek po řadu měsíců v jakostním stavu. Naopak nedokonale provedená konzervace může znehodnotit střeva již ve velmi krátké době.

U nás se dnes nejvíce používá ke konzervaci střev solení, méně sušení. Konzervování střev je závislé na několika účincích. Především je to snížení obsahu vody ve střevech. Osmotickým tlakem se vytěsňuje voda a sůl proniká do střeva. Na povrchu střev vlivem vlhkosti vzniká nasycený roztok soli. Bylo dokázáno, že obsah vody v solených střevech klesá z 85 až 88 % na 50 až 60 %. Tato ztráta vody brání rychlému pomnožování zárodků. Střevní tkáň se nasycuje solí, která potlačuje rozmnožování hnilobných mikroorganismů. Důležité je rovněž zabránění činnosti trávicích enzymů proteolytických (1, 2).

Správně konzervovaná střeva jsou sice po stránce technologické vhodná pro použití v uzenářské výrobě, avšak otázka mikrobiálního znečištění střev je stále předmětem výzkumu. I když umělá střeva v zahraničí často vytlačují střeva přírodní, je nutno, abychom se u nás prozatím otázkou konzervace střev a jejich ošetřením zabývali.

Za života zvířete obsahují střeva velké množství mikrobů. Běžnou konzervací nedochází k takovému snížení počtu zárodků, aby nebylo možno se obávat jejich nepříznivému vlivu na výrobky (3). Je však třeba zdůraznit, že pouhé mikrobiologické vyšetření střev nestačí pro klasifikaci skutečného stavu jakosti, např. neinformuje o pevnosti střeva pro narážení apod.

Vzhledem k tomu, že při skladování podléhají střeva často zkáze, která se zprvu jeví jako odchylka ve vůni a barvě, později snížením pevnosti střevních stěn apod., mají masné závody, zpracovávající střeva, zájem na tom, aby se skla-

dování zlepšilo a tím aby se zabránilo škodám. Někteří pracovníci hledali nové způsoby konzervace přírodních střev, a to takové, při nichž by se podstatně snížil počet zárodků ve střevech a při tom se nenarušovala pevnost střevní stěny. Tak např. bylo zjištěno, že počet zárodků ve střevech je možno podstatně snížit jejich vypráním v roztoku sody nebo v některých desinfekčních prostředcích (4). Tímto způsobem se však nedosáhne žádané mikrobiální čistoty.

Uspokojivého výsledku bylo dosaženo konzervací střev v nasyceném roztoku kuchyňské soli s malým množstvím kyseliny mravenčí a mléčné. Mikrobiologické znečištění takto konzervovaných střev bylo podstatně nižší. Kvalita střev se po stránce pevnosti střevní stěny zvýšila (5, 6, 7, 8). Jiní doporučují přidávat kyselinu mléčnou přímo do výrobků tam, kde je možno předpokládat výskyt *Bac. mesentericus* (9). O použití kyseliny mléčné při opracování střev se zmiňuje G i s s k e (10), který kyseliny mléčné používá v 7% ním roztoku, avšak nikoli ke konzervaci, nýbrž jen ke zvýšení jemnosti a vláčnosti. Máčí v ní střeva jen po dobu 10 minut před narážením. Pokusy T a k á c s o v ý m i (11) a spolupracovníků bylo zjištěno, že preparování střev v 0,5 % kyselině mléčné má velmi příznivý vliv na jakost střev, která jsou pružná a pórovitá. S e r g e r (12) zdůrazňuje účinek kyseliny mléčné na střeva, která se stávají jemnější a prostupnější pro vlhkost a údržnější pro barvu po uzení. L e r c h e (13) dosahuje máčením střev z 5% ním roztoku kyseliny mléčné snížení příliš rychlého vysychání u výrobků, narážených do takto opracovaných střev.

V našich pokusech jsme se zabývali otázkou vhodnosti konzervace střev v láku připraveném z nasyceného roztoku soli a s přidavkem organických kyselin. Sledovali jsme jakost střev po určité době uskladnění a srovnávali ji se střevy nasolovanými, skladovanými za stejných podmínek a stejnou dobu. Všimli jsme si poměrů mikrobiologických, zejména baktericidních účinků nakládacích láků a jedlé soli, vlivu konzervace střev v láku na pevnost střevních stěn, případně na jejich propustnost.

Metodika

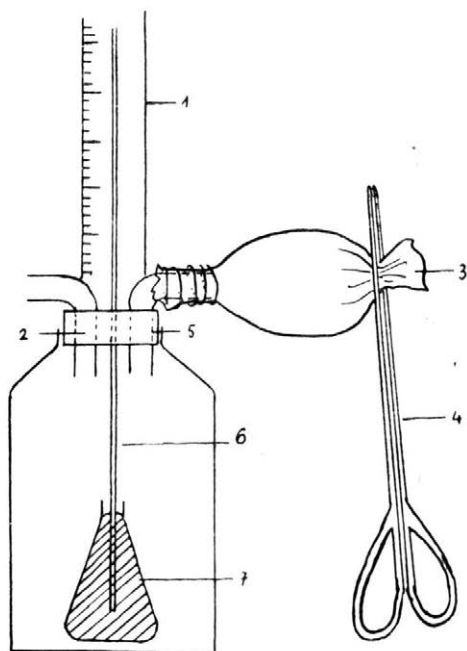
Ke všem pokusům jsme použili hovězích kroužkových sdíraných střev, která jsme nakládali dvakrát za sebou do nakládacích láků. První lák měl složení: 20 % soli, 80 % vody, 2,5 g kyseliny mravenčí a 2 g kyseliny mléčné na jeden litr. Střeva ve svazcích jsme ponořili do láku za důkladného propírání. Během máčení v láku jsme střeva několikrát míchali. Doba máčení v prvním nakládacím láku byla 10 hodin. Po této době jsme nechali střeva okapat v koši 10 hodin. Okapaná střeva jsme naložili do druhého nakládacího láku. Druhý lák měl totéž složení jako první lák, neobsahoval však kyselinu mléčnou. V tomto roztoku jsme ponechali střeva opět 10 hodin. Po okapání jsme střeva naložili do sudu, zatížili a překryli čerstvým lákem stejného složení jako druhý lák.

Jako kontroly jsme použili sdíraných hovězích kroužkovaných střev, nasolených běžným způsobem. Veškerá střeva k pokusům jsme odebírali v jeden den a uskladnili v téže místnosti.

U těchto střev jsme prováděli po určitých časových intervalech bakteriologické vyšetření na kvantitu zárodků a na obsah zárodků *sk. Coli*. Současně jsme vyšetřili i střeva syrová před nasolením.

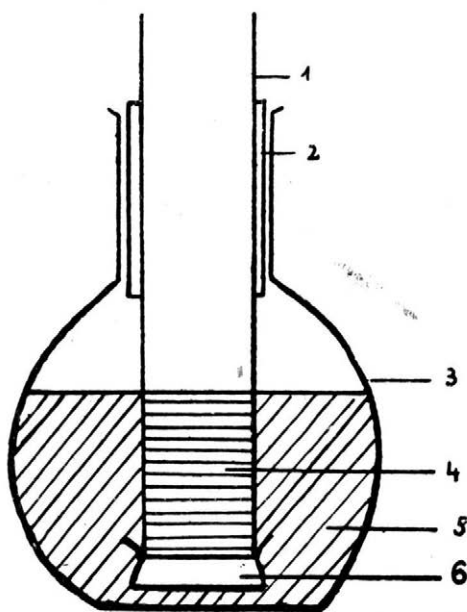
Z dalších vyšetření jsme stanovili pevnost střev. K zaznamenání rozdílů v pevnosti střev lákovaných a nasolovaných bylo použito následujícího zařízení (K l í m a — H y p r): baňka se rtutí o obsahu 100 ml byla vložena do láhve se

širokým hrdlem. Láhev byla uzavřena gumovou zátkou, v níž byly otvory pro trubičku pro přívod plynu do láhve a pro trubičku, na níž se připevňovalo zkoušené střevo. Středním otvorem v zátkě procházela trubička o průměru 1,5 mm, která sahala až do nádoby se rtutí (délka trubičky byla celkem 60 cm). Za ní byla postavena tyč s nanesenými centimetry tak, že při zvýšení tlaku v baňce a tedy



Obr. 1. Zařízení ke zkoušení pevnosti střev.

1. tyč s nanesenými milimetry, 2. trubička pro přívod plynu, 3. zkoušené střevo, 4. pean, 5. trubička pro navlečení střeva, 6. trubička pro měření sloupce rtutí, 7. baňka se rtutí



Obr. 2. Zařízení na zkoušení propustnosti střev.

1. zkumavka, 2. zátká, 3. destilační baňka, 4. destilovaná voda, 5. 5% roztok soli, 6. zkoušené střevo

i v připevněném střevě ukazoval vytlačený sloupec rtutí přetlak v mm, z čehož bylo možno vypočíst tlak v atmosférách, působících na 1 cm² zkoušené střešní stěny. Ke zvyšování tlaku v baňce bylo použito kysličníku uhličitého, vpouštěného do baňky přes redukční ventil (obr. 1).

Před stanovením pevnosti jsme střeva po vynětí z láku i střeva solená na sucho propírali ve vodě několik hodin. Střeva o délce 10, 20 a 30 cm jsme připevnili na ústí popsané trubičky motouzem. Druhý konec střeva jsme stiskli peanem. Kysličník uhličitý jsme vpouštěli do baňky velmi zvolna a tak dlouho, až střevo prasklo. Při prasknutí střeva se zaznamenal nejvyšší bod sloupce rtutí. Měření jsme prováděli u každého druhu střeva několikrát.

Kromě toho jsme zjišťovali propustnost střešní stěny, a to tímto způsobem: zkumavky stejného průměru se upravily tak, že dno zkumavky bylo odříznuto a zkumavka byla v tom místě upravena do tvaru nálevky. Na horní rozšířený okraj bylo gumovým kroužkem připevněno sledované střevo. Kousek střeva délky 2 až 3 cm byl rozříznut u poloviny vzorků na vnější straně, u druhé poloviny na vnitřní straně tak, že kousek střeva tvořil zhruba čtverec. Tento se připevnil na zkumavku

a vytvořil nové „dno“ zkumavky. Sledovali jsme nyní prostup soli ze solného roztoku určité známé koncentrace přes střevní stěnu do destilované vody. Obsah prostoupené soli se stanovil titrací.

Zkumavka s připevněným střevem byla vložena do titrační baňky s obsahem 200 ml 5% solného roztoku. Hrdlo baňky bylo utěsněno tak, aby se mohla zkumavka nastavit do jakékoli výše v baňce. Do zkumavky, jejíž „dno“ tvořil připevněný čtvereček střeva, se naměřilo 10 ml destilované vody. Zkumavka se do solného roztoku ponořila tak, aby vodní hladiny v baňce i ve zkumavce byly ve stejné výši. Pro pronikání soli byla stanovena doba 2 hodin. Po této době bylo provedeno stanovení chloridů v roztoku obsaženém ve zkumavce (obr. 2).

U střev solených na sucho i u střev lakovaných jsme provedli histologické vyšetření střevní stěny pro zjištění velikosti narušení tkáně. Vzorky střev jsme fixovali v 10 % formolu. Po fixaci jsme provedli zalití střev do parafinu. Řezy o síle 5 až 7 mí jsme barvili hematoxylinem-eosinem, Van Giesonem, podle Dominiciho a modifikovnou metodou podle Giemsy.

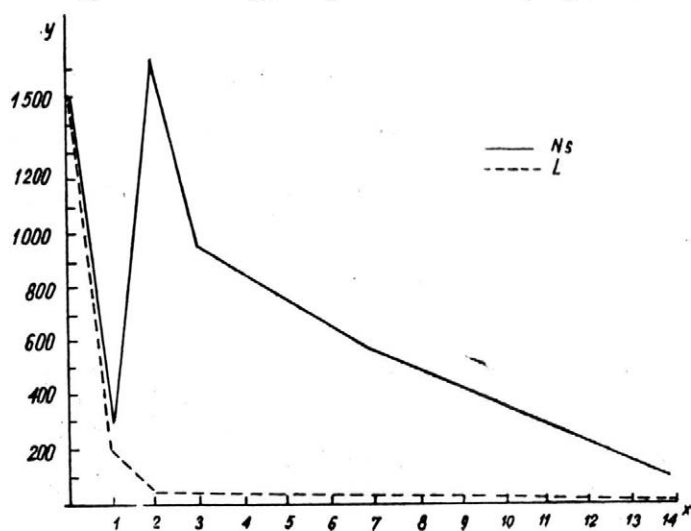
Konečně jsme použili nasolovaných i lakovaných střev jako obalů k výrobě špekáčků. U hotových výrobků jsme sledovali jejich vzhled a jejich váhové ztráty během týdenního skladování.

Výsledky

Ihned po vynětí střev z prvního nakládacího láku, obsahujícího kyselinu mravenčí a mléčnou, byla konsistence střevních stěn na omak tužší a pružnější ve srovnání se střevy syrovými nebo nasolovanými na sucho. Barva střev konzervovaných v láku byla světlejší, pach po střevech vymizel úplně, zatímco u střev nasolovaných byl charakteristický pro takto konzervovaná střeva. Lakovaná střeva byla cítit slabě kyselé. Po vyprání střev ve vodě se tento kyselý pach stal nezřetelný.

Po čtyřech měsících skladování v láku měla střeva vzhled téměř čerstvých střev, byla elastická a po okapání měla slabě kyselý pach, který po vyprání rovněž vymizel.

Značný počet zárodků obsažených ve stěně střeva před nasolením (1,4 mil. v 1 g střevní stěny) se podstatně snížil již po 24 hodinách po konzervaci, a to



Obr. 3. Grafické znázornění poklesu zárodků při konzervaci střev lakováním (L) a solením na sucho (Ns).

Na ose x je zachycena doba odběru vzorků během skladování v dnech, na ose y je počet zárodků v 1 g stěny střeva

stejnou měrou u střev naložených v láku i u nasolených. U střev lákovaných se snižoval postupně počet zárodků úměrně s dobou konzervace. Čím méně zárodků však střeva obsahovala, tím se pokles jejich počtu stával pomalejší. U lákovaných střev byl úbytek zárodků nepoměrně větší než u střev nasolených na sucho.

U nasolených střev byly poměry poněkud odlišné. Po 24hodinovém nasolení klesl počet zárodků jako u střev lákovaných, avšak po 48 hodinách od počátku nasolení dosáhl počet zárodků ještě vyšších hodnot než u střev syrových. Při dalším skladování střev solených na sucho jsme pozorovali mírný baktericidní účinek soli. Úbytek mikroorganismů byl však proti lákovaným střevům velmi pozvolný. Nasolená střeva obsahovala po čtyřměsíčním skladování až sedmkrát více zárodků než stejnou dobu skladovaná střeva v láku. Ale i tak bylo snížení počtu zárodků u nasolených střev patrné proti syrovým střevům (nekonzervovaným). Klesání počtu zárodků ve střevech konzervovaných v lácích a nasolovaných během skladovací doby je znázorněno na obr. 3.

V dalších zkouškách jsme sledovali vliv konzervace na narušení střevní stěny. Zjistili jsme, že kyselina mravenčí, přítomná v lácích, nesnižuje pevnost střevní stěny proti pevnosti u střev nasolovaných. Obsah organických kyselin v lácích ke konzervaci zvýšil propustnost střevní stěny, jak jsme prokázali pokusy s vyrovnáváním koncentrace mezi roztokem soli a destilovanou vodou přes napjaté střevo. U střev nasolovaných na sucho byla propustnost výrazně nižší.

Při posuzování výrobků (špekáčků), naražených do lákovaných i nasolovaných střev, jsme nezjistili rozdíl v pevnosti různě konzervovaných střev. Rovněž zvýšená propustnost střev konzervovaných v lácích se neprojevila při sledování váhových ztrát během skladování výrobků. V průběhu technologických postupů při výrobě nedošlo k ovlivnění obsahu vody nebo tuku ve výrobcích podle druhu střev použitých k naražení (lákovaná a nasolovaná na sucho).

Pro porovnání změn, které nastaly ve střevní stěně během konzervace v láku a konzervace solením na sucho, uvádíme histologický obraz stěny střeva čerstvého a konzervovaného obojím způsobem.

Stěna střeva je tvořena několika vrstvami. Se zevní strany je to jednobuněčná vrstva — blanka (seróza), za ní je svalová část střeva, kterou představují dvě vrstvy, a to podélná zevní a kruhová vnitřní vrstva hladké svaloviny. Na ni nasedá podslizniční vazivo, v němž probíhají četné cévy, nervy a lymfatické uzlíky. Mezi ním a vlastní sliznicí jsou dvě slabé vrstvy svalových vláken (*muscularis mucosae*), na něž přímo nasedá sliznice.

Při sdíráni se odstraňuje celá sliznice a podslizniční svalová vrstva. Zůstává podslizniční vazivo a svalové vrstvy, které však někdy také mohou chybět. Svalová vlákna u čerstvých střev přijímají dobře histologická barviva. Jejich jádra jsou protáhlá a dobře zřetelná i se svou vnitřní strukturou. Vazivo, spojující obě vrstvy, je výrazné s dobře prokreslenými jádry. U podslizničního vaziva je struktura neporušená, cévy zřetelné, bez obsahu krevních elementů. Pokud je přítomna na podslizničním vazivu tenká svalová blanka (*muscularis mucosae*), má místy obě vrstvy snopců svalových vláken, tj. vrstvu podélnou i kruhovou, místy jen vrstvu podélnou. Zbytky sliznice se téměř nevyskytují (obráz. 4).

Po čtyřech měsících konzervace střev v láku byly na vnitřní straně střeva zřetelné ojedinělé zbytky tmavěji se barvící svalové blanky. Podslizniční vazivo bylo silně zbotnalé, takže jeho struktura byla poněkud zastřena. Jádra se ještě dobře barvila, jejich struktura byla však změněná. Vazivo mezi svalovými vrstvami bylo rovněž silně zbotnalé a tvořilo mezi snopci svalových vláken nitkovité výběžky. Nabotnění jsme pozorovali i u hladkosvalových buněk. Jejich jádra byla

tvarově nezměněná, jejich struktura zůstala zachována, změna nastala pouze v uložení jader, která totiž často vycestovala z nabotnalých hladkosvalových buněk (obr. 5).

Jiné poměry byly u střev nasolených. Podslizniční vazivo bylo rovněž silně nabotnalé, avšak vazivo mezi svalovými vrstvami bylo beze změn. Svalová vlákna byla silně poškozená, vnitřní stavba jader byla rozrušená (obr. 6).

Po jednom roce skladování střev solených na sucho byla hladkosvalová vlákna značně narušená, zbytnělá, hranice mezi jednotlivými vlákny byly nezřetelné. Jejich jádra se nevýrazně barvila, struktura byla zastřena. Podslizniční vazivo bylo neuspořádané, silně zbytnělé, vazivová jádra se rovněž slabě barvila a byla zmenšená s drobnými vakuolami. Vazivo cév bylo rozrušeno. Jako zbytek cévní stěny byla zřetelná jen jádra buněk hladké svaloviny cév.

Po ročním uložení střev v láku bylo podslizniční vazivo velmi zbytnělé, rovněž tak vazivo mezi svalovými vrstvami. Naproti tomu svalová vlákna nebyla více zbytnělá než po čtyřměsíčním skladování v láku. Hranice mezi jednotlivými vlákny byly částečně vymizelé (plasmolýza). Jádra svalových buněk se vyskytovala jen ojediněle, byla protáhlá, poněkud svrstělá, jejich vnitřní struktura vykazovala zahuštění. Podslizniční vazivo bylo zbytnělé, vazivová vlákna byla zřetelná, ale bez struktury. Jádra nebyla přítomna, ojediněle se vyskytovaly ložiskové zbytky chromatinu. Lumen cév nebylo zřetelné. U svalových vláken cévních stěn došlo k rozrušení vláken i vnitřní struktury jejich jader. Tvar jader zůstal nezměněn. Tenká svalová vrstva nad podslizničním vazivem (*muscularis mucosae*) byla zcela bez struktury, hranice mezi svalovými vlákny splývaly, jádra zcela vymizela. Ojediněle se vyskytovaly zrnité zbytky chromatinu jader.

Podle popsaného je tedy zřejmé, že konzervaci utrpěla více střeva nasolovaná na sucho, a to zejména jejich svalová vrstva než střeva konzervovaná v láku, i když i u těchto střev byla hladkosvalová vlákna částečně narušena.

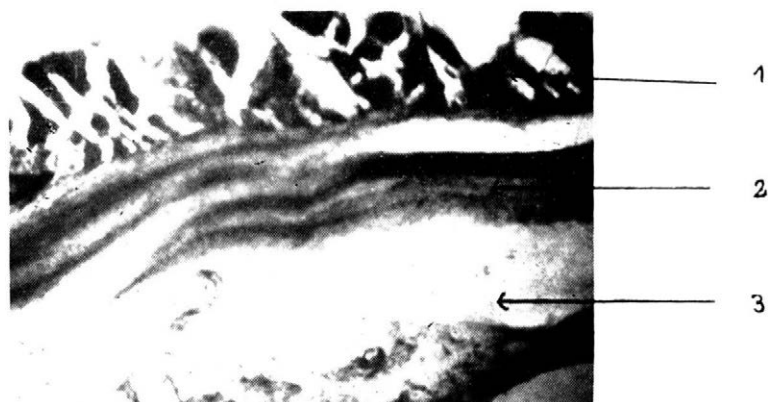
Konzervace střev lákováním má nesporně řadu výhod, ale také své nevýhody. Její velkou předností je značné snížení počet mikroorganismů v lákových střevech proti střevům nasolovaným, což má význam zejména pro uzenářské výrobky, plnění do krabic. Menší rozdíly v propustnosti střevní stěny, zjištěné při laboratorních rozbořech, mezi střevy nasolovanými a lákovánými, se v praxi neprojeví. Pevnost střev se lákováním nesnížila, ale také nezvýšila. Zdlouhavá manipulace při nakládání střev do láků mluví prozatím proti tomuto způsobu konzervace střev. Skladovatelnost lákovaných střev je vyhovující, ale i nasolovaná střeva je možno skladovat dosti dlouhou dobu bez újmy na jakosti. Rozhodující vliv na zavedení tohoto nového způsobu konzervace střev budou mít požadavky na bakteriální čistotu přírodních uzenářských obalů.

Souhrn

V práci byl sledován vliv konzervace střev v láku, připraveného z nasyceného roztoku soli s přidavkem malého množství kyseliny mravenčí a mléčné na bakteriální znečištění, pevnost a propustnost střevní stěny. Jako kontroly bylo použito střev nasolovaných. V pevnosti a propustnosti nebyly pozorovány podstatné rozdíly mezi střevy nasolovanými na sucho a lákovánými při jejich použití k výrobě uzenářského zboží. Histologickým vyšetřením byl prokázán určitý rozdíl mezi změnami ve struktuře tkáně střev lákovaných a nasolovaných. Mikrobiální zne-



Obr. 4. Kroužkové střevo hovězí čerstvé po sdirání (Zv. ROW obj. 6X, ok 6X). Barveno Van Giesonem. 1. Podélná svalová vrstva, 2. kruhová svalová vrstva, 3. podslizniční vazivo, 3a. cévy v podslizničním vazivu



Obr. 5. Totéž střevo jako na obr. č. 4, lákované a skladované 4 měsíce. (Zv. ROW, obj. 6X, ok. 6X.) Barveno Van Giesonem. Popis 1, 2 a 3 jako u obr. 4.



Obr. 6. Totéž střevo jako na obr. 4, nasolené na sucho a skladované 4 měsíce. (Zv. ROW, obj. 6X, ok. 6X). Barveno Van Giesonem. Popis 1, 2 a 3 jako u obr. 4.

čištění střev bylo již v několika dnech při lákovaní nižší než při nasolování. Po čtyřech měsících obsahovala lákovaná střeva jen velmi malé množství zárodků. Otázka bakteriálního znečištění střev bude mít rozhodující vliv na zavedení tohoto způsobu konzervace do praxe.

Literatura

1. Hökl J.: Technologie a hygiena střev, 1938. — 2. Hökl J.: Technologie živočišných produktů, 1941. — 3. Lörincz F.: Élelméz Ipar, sv. 9, číslo 9, 1955. — 4. Ogus E.: Vet. Med. Inaug. Dissertation, 1951. — 5. Lörincz F.: Élelméz. Ipar, sv. 9, č. 10, 1955. — 6. Štefánka F.: Cest. zpráva z Maďarska, 1955. — 7. Tomási: Cit. Lörincz, Élelméz. Ipar, 1955. — 8. Gisske: Fleischwirtschaft, sv. 6, č. 6, 1954. — 9. Träger: Cit. Ogus; Fleischwirtschaft, č. 9, 1952. — 10. Gisske: Cit. Ogus; Fleischwirtschaft, č. 9, 1952. — 11. Serger H.: Fleischwirtschaft, č. 7, 1952. — 12. Takács J.: Élelméz. Ipar, sv. 9, č. 9, 1955. — 13. Lerche M.: Fleischwirtschaft, č. 6, 1952.

Консервирование кишок в рассоле

В работе излагается влияние консервирования кишок в рассоле, приготовленном из насыщенного раствора поваренной соли с примесью небольшого количества муравьиной и молочной кислот, на бактериальное загрязнение, прочность и проницаемость кишечной стенки. В качестве контрольного материала были использованы кишки, консервированные сухим посолом. В результате проведенных опытов автор не обнаружил существенной разницы в прочности и проницаемости у кишок, консервированных сухим посолом, и в рассоле. Путем гистологического исследования была доказана определенная разница между изменениями в структуре ткани кишок, консервированных в рассоле и сухим посолом. Загрязнение кишок микробами при консервировании в рассоле уже через несколько дней было меньшим, чем при сухом посоле. После 4 месяцев кишки, консервированные в рассоле, содержали лишь незначительное количество бактерий. Вопрос бактериального загрязнения кишок будет иметь решающее влияние на введение в практику этого способа консервирования.

Gut Conservation by Pickling

The paper deals with studying bacterial contamination, firmness and permeability of the gut-wall as influenced by the method of conserving the guts in the pickle made of saline solution with a small amount of formic and lactic acids added. Salted guts served as control. As to firmness and permeability no substantial differences were found between dry salted guts and those pickled, when they were used in sausages production. By histological examination a certain difference was proved between the changes in tissue-structure of pickled guts and the salted ones. Within several days microbial contamination was lower in pickled guts than in salted ones. After four months' period pickled guts contained only a very small amount of germs. The problem of bacterial contamination of guts will be decisive for establishing this conservation method in everyday practice.

Conservation des Boyaux dans la Saumure

Dans le travail on a surveillé l'influence de la conservation des boyaux mis dans la saumure, préparée de la solution de sel saturée, avec l'addition d'une petite quantité de l'acide formique et laiteux à cause des impuretés bactériologiques, de la résistance et de la perméabilité de la paroi du boyau. Pour un contrôle on s'est servi des boyaux salés. Quant à la résistance et à la perméabilité, on n'a pas constaté de différences essentielles entre les boyaux salés sur une voie sèche et les boyaux saumurés, en les utilisant pour les produits de charcuterie. Par des recherches histologiques on a prouvé une certaine différence concernant les changements dans la structure cellulaire des boyaux saumurés et salés. La souillure microbiologique des boyaux saumurés a été déjà au bout de quelques jours plus basse que celle des boyaux salés. Au bout de quatre mois les boyaux saumurés ne contenaient qu'une très petite quantité d'embryons. Le problème des impuretés bactériologiques dans les boyaux exercera une influence décisive sur l'application de cette méthode de conservation dans la pratique.

Příspěvek ke kvantitativnímu stanovení dusitanů v uzenářské výrobě

**К вопросу количественного определения азотистокислых солей в производстве
копченых мясных продуктов**

**A Contribution to the Quantitative Determination of Nitrites in Cured Meat
Production**

MVDr. O. ZATOČIL

*Katedra hygieny a technologie potravin Veterinární fakulty VŠZL v Brně,
vedoucí doc. MVDr. et RNDr. M. Dobeš*

Došlo dne 4. XI. 1958

Úvod a literární přehled

Vhodná metoda ke stanovení dusitanů v uzenářské výrobě má mimořádný hygienický i provozní význam. Dusitany nebo dusičnany se používají v masném průmyslu při nakládání jako prostředek, kterým se dosahuje koktostabilního vybarvení uzenářských výrobků. Pokud se používají dusičnany, dochází během technologických procesů k jejich rozložení na dusitany, a to především činností bakterií. Vedle této hlavní funkce má přísada dusičnanů či dusitanů též význam jako nepřímý „konzervační“ činitel. Dusičnany a po jejich vyčerpání a přeměně na dusitany i dusitany jsou totiž zdrojem kyslíku při anaerobním dýchání mikroorganismů (F j o d o r o v). Pokud jsou v láku totiž přítomny dusičnany nebo dusitany, využívá jejich kyslíku jako vodíkového akceptoru při anaerobním dýchání tzv. kulturní mikroflóra láku (A g u l n i k a s p o l., B o s á k, G i l k a, H ö k l, L e n f e l d, Š e r e d a, Z a t o č i l a j.). Jakmile jsou dusičnanové a dusitanové rezervy láku spotřebovány, dochází k mikrobiálnímu napadení bílkovin masa či láku, k jejich rozkladu až na aminokyseliny, jejichž desaminací a dekarboxylací se uvolňují NH_3 , CO_2 , H_2 . Dochází k postupné alkalizaci prostředí, k rozvoji proteolytické mikroflóry a ke zkažení (hnilobě). Kvantitativní sledování dusitanů a alespoň kvalitativní zjišťování dusičnanů (dosud nemáme jednoduché provozní metody na kvantitativní stanovení dusičnanů v masném průmyslu) v průběhu nakládání jsou proto důležitými objektivními zkouškami. Podle nich lze usuzovat na stadium nakládání masa a včas zabránit zvrhnutí nakládacího procesu, zejména tehdy, byly-li provedeny opětovaně.

Vedle toho má kvantitativní stanovení dusitanů i význam čistě zdravotní, neboť dusitany jsou prudkým krevním jodem a jejich použití je omezeno přísnými předpisy téměř všude, kde se používají. U nás je to vl. nař. 211 z r. 1941, podle kterého se nesmí dusitany používat v masné výrobě v substanci, ale jen ve směsi

s kuchyňskou solí (tzv. rychlosůl), vyráběné a expedované za podmínek, uvedených v tomto nařízení. Tato sůl smí obsahovat 0,5 až 0,6 % dusitanu sodného.

Použití dusičnanů není vázáno takovými přísnými omezeními, protože jejich obvyklé použití (2 % v soli používané k nakládání), ale i mnohem vyšší obsah (5 až 10 % v kuchyňské soli) nejsou člověku nebezpečné. Při nakládání jsou redukovány v dusitany jen velmi pozvolna, takže jejich obsah, např. v láku, kde bývá koncentrace vyredukováných dusitanů vyšší než při jiných způsobech nakládání, nepřesahuje ani v období nejvyšší denitratace zpravidla 50 gm %; často je však mnohem nižší.

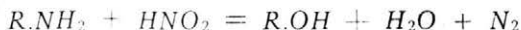
V masé a masných výrobcích je stanoven nejvyšší přípustný obsah dusitanu sodného vládním nařízením 43 z r. 1942 (prováděcí předpis D) na 15 mg %. Maso a masné výrobky s obsahem 15 až 30 mg % NaNO_2 se podle tohoto nařízení považují za podezřelé z nezákonného porušení dusitanem, s obsahem nad 30 mg % NaNO_2 za nezákonně porušené dusitanem. Celostátní norma pro nejvyšší obsah dusitanů v uzenářských výrobcích nebyla dosud u nás vydána. Úseková norma masného průmyslu, vydaná pro některé výrobky, připouští maximální obsah 20 mg % dusitanu sodného. Sovětská norma povoluje v masných výrobcích rovněž nejvýše 20 mg % dusitanu sodného. Také v řadě dalších států se nejvýše přípustný obsah NaNO_2 v masných výrobcích pohybuje poněkud od 10 do 20 mg % (Anglie 10 mg %, USA 20 mg %, Kanada 20 mg %, Dánsko 20 mg %, NDR, NSR a Rakousko 15 mg %). (G r a u).

Až dosud byla popsána řada metod na stanovení dusitanů. Můžeme je rozdělit na metody plynoměrné (J í l e k, K o f a), polarografické (P l e t i c h a, K ř í ž o v á, B á r t í k, K u p k a, M a l i n g e r o v á) a metody kolorimetrické (J í l e k, K o f a, D r o z d o v, I s k a n d a r j a n, S v a c h a j.). Většina z těchto metod však není příliš vhodná pro použití v masné výrobě. Nejčastějšími metodami stanovení dusitanů v masné výrobě jsou metody kolorimetrické, založené na vzniku intenzivně zbarvených diazolátek po diazotaci aromatických aminů (vznik tzv. diazoniových solí) a kopulaci vhodnými aromatickými sloučeninami (aminy, fenoly apod.). Předností těchto metod je zvláště jednoduchost provedení a citlivost reakce (sovětská norma GOST NKMP 37, skup. N 19; H ö k l, S v o b o d a, T e t e r n i k, A n d r e o t t i atd.). Avšak ani žádná z dosud používaných kolorimetrických metod zcela nevyhovuje všem potřebám na stanovení dusitanů v uzenářské výrobě.

Metoda stanovení dusitanů v uzenářské výrobě musí být: 1. jednoduchá a rychlá, 2. proveditelná i bez nákladného zařízení (zejména přístrojů), 3. dostatečně přesná a citlivá, při čemž má mít 4. co největší rozsah a nejširší použití (pro maso, lák atd.), 5. vzniklé zbarvení roztoku musí být stále alespoň tak, aby po vybarvení roztoku bylo dosti času ke spolehlivému změření jeho intenzity.

V uzenářské výrobě nám jde o rozlišení stop dusitanů z rozmezí desetin mg % až několika desítek mg %. Požadavek co největšího rozsahu metody sleduje též cíl dosáhnout co nejmenšího ředění a standardnosti ředění vyšetřovaného extraktu pro stanovení dusitanů. Tím se snižuje možná chyba při měření způsobená vysokým ředěním a odstraňuje se potřeba předběžného zjištění koncentrace dusitanu ve vzorku. Stanovení dusitanů nemají podstatně ovlivňovat látky obsažené v láku, masných extraktech (extraktivní bílkoviny, NaCl apod.) tak, aby nebylo nutno tyto látky před měřením pracně odstraňovat. Na druhé straně, jestliže však bílkoviny a jiné organické látky s volnými aminoskupinami z roztoku neodstraníme, mohou v určité míře ovlivnit výsledek měření, a to především částečnou reakcí kyseliny dusité (vytěsněné z volných dusitanů kyselou reakcí při diazotačních me-

todách) s volnými primárními aminoskupinami např. aminokyselin (van Slykeova reakce — Draut, Deatherage, Ševčík) podle schématu



Podíl této vedlejší reakce na chybě při měření se snižuje se stoupajícím ředěním, kterým se zase zvyšuje možnost chyby následkem ředění. Proto jsou výsledky stanovení dusitanů kolorimetrickými metodami v podstatě pouze relativní. Přesto je možno s dobrými a srovnatelnými výsledky použít kolorimetrických metod dusitanů, a to tehdy, používáme-li stejné extrakční metody a stejného ředění. Výluh potom dává i poměrně konstatní chybu vyvolanou touto vedlejší reakcí dusitanů (Rose, Peterson). U láku je však tato chyba závislá v každém případě na množství bílkovin, které se zvyšuje stářím láku až na hodnoty kolem 3 % (Cenek). Na zanedbatelnou míru snižuje tuto chybu poměrně značné ředění, kterého je zapotřebí při stanovení dusitanů v uzenářské výrobě (obvykle ředění 50- až 500krát) a vyšší koncentrace dusitanů v láku (nad 10 mg %). Relativně se však chyba zvyšuje zejména při malých koncentracích dusitanu (kolem 1 mg %).

Nejběžnější vžitou metodou kvantitativního stanovení dusitanů v uzenářské výrobě je metoda Ilosvay-Griessova (sovětská norma GOST NKMMP 37, skup. N 19, Hökl, Svoboda, Teterník atd.). Tato metoda je velmi citlivá. Endress, Kaufmann uvádějí měřicí rozsah této metody v rozmezí 0,007 až 0,07 mg % $NaNO_2$ — citováno Drozdov, Iskandarjan. Při vyšších koncentracích dusitanů v měřených roztocích dochází k chybám způsobených špatnou rozpustností azobarviva. Jílek, Kořa uvádějí jako maximální měřitelnou koncentraci dokonce jen 0,15 mg NO_2 v 1 litru, tj. asi 0,225 mg % $NaNO_2$. Proto je zapotřebí při zjišťování dusitanů v uzenářské výrobě touto metodou velmi vysokého ředění měřeného vzorku (500- až 1000krát). Aby bylo možno používat této metody v provozu bez nákladného zařízení byla v SSSR (GOST, Teterník) vypracována metoda přípravy umělých standardních roztoků z karbolfuchsinu a methylvioleti, které je však možno používat pouze velmi omezenou dobu (naředěné standardy 10 dní). Pokusy s přípravou trvanlivých standardů pro měření touto metodou se podle osobního sdělení zabýval též Hypr na Výzkumném ústavě pro maso a ryby v Brně s negativním výsledkem. Pro vysokou citlivost a malý rozsah se původní Ilosvay-Griessova metoda hodí hlavně ke stanovení dusitanů ve vodě (JAM voda, Vokounová a spol., Tomíček atd.). Vedle této metody existuje celá řada obdobných metod, založených na tomtéž principu (Jílek, Kořa).

Ve vládním nařízení o prohlídce masa 43/42 prov. předpis D je uvedena metoda kvantitativního kolorimetrického stanovení dusitanů pomocí m-fenyldiamin-chlorhydrátu. Jeho roztok však není stálý. Žluté až žlutohnědé zbarvení vznikající reakcí s dusitany není příliš výrazné, metoda je pracná a zdoluhavá (vyžaduje dvojí filtrace a několikahodinového stání). Proto se nevžila, i když má celkem příznivý rozsah měření (v rozmezí 0,1 až 1 mg % $NaNO_2$) a byla nahrazena metodou Ilosvay-Griessovou.

V nedávně době byla adaptována Svachova metoda stanovení dusitanů na základě diazotační reakce s rivanolem pro potřeby stanovení dusitanů v uzenářských výrobcích (Šárpy, Kirchner). Současně se podařilo připravit pro měření touto metodou neomezeně trvanlivé zkušavkové standardy z anorganických solí, které mají umožnit používání této metody v provozu s dostatečnou přesností bez nákladných přístrojů. Podle autorů se však této metody nedá použít ke stanovení dusitanů v láku, neboť zde dochází k vysrážení bílkovin účinkem HCl . Tato metoda je méně citlivá než metoda Ilosvay-Griessova, ale má daleko širší a tedy vhod-

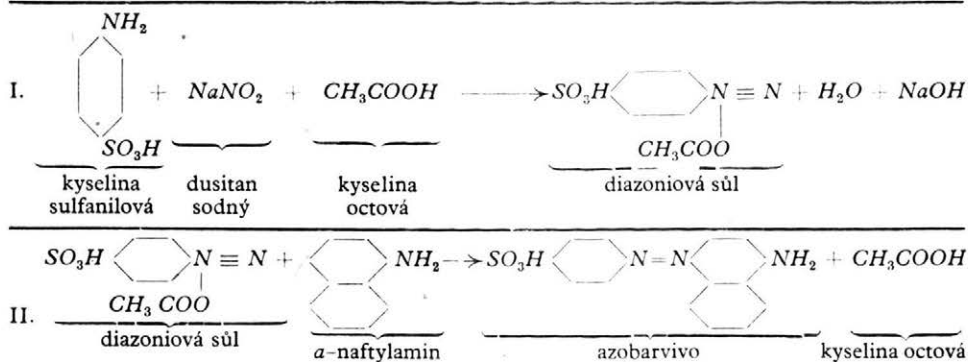
nější rozsah (0,05 až 1,0 mg %). Intenzita vybarvení je podle autorů stálá 5 až 60 minut, tj. po dostatečně dlouhou dobu. Ke kolorimetrování doporučují filtr 520 m μ . Metoda má být pojata do JAM maso.

V této práci jsme na základě zjištění vlastností diazobarviva vznikajícího při metodě Ilosvay-Griessově a zjištění možnosti zvýšení jeho rozpustnosti tuto metodu modifikovali tak, aby odpovídala především co do měřicího rozsahu i citlivosti potřebám stanovení dusitanů v uzenářské výrobě. Dále byla provedeno srovnání výsledků stanovení dusitanů v láku a uzenářských výrobcích touto metodou s původní metodou Ilosvay-Griessovou. U metody rivanolové jsme zjistili malou stálost vybarvení v rozporu s výsledky, které uvedli autoři, a proto bylo od jejího použití jako metody srovnávací pro stanovení dusitanů v uzenářských výrobcích upuštěno. Dále jsme se zaměřili na přípravu umělých neomezeně trvanlivých standardů, které by umožnily provádět metodu i tam, kde není k dispozici kolorimetr.

Metoda a výsledky

Vlastnosti diazobarviva vznikajícího při stanovení dusitanů metodou Ilosvay-Griessovou, zjištění podmínek jeho rozpustnosti a optimálních podmínek jeho vzniku

Byla provedena pokusná příprava azobarviva, vznikajícího při stanovení dusitanů, a to a) diazotací kyseliny sulfanilové podle obvyklých zásad (P r o c h á z k a) a kopulací α -naftylaminem a b) opačně. Takto bylo ověřeno, že diazobarvivo vzniká při této metodě průkazu dusitanů diazotací animoskupiny kyseliny sulfanilové a kopulací α -naftylaminem pravděpodobně podle následujícího schématu:



Azobarvivo bylo podrobena dalším zkouškám. K těmto pokusům bylo azobarvivo získáno ve formě amorfního tmavě fialového prášku po diazotaci i kopulaci v kyselém prostředí, po odsátí, promytí destilovanou vodou až do odstranění iontů kyseliny a šetrném vysušení. Toto barvivo bylo velmi nepatrně rozpustné ve vodě a poměrně dobře rozpustné v alkoholu na roztoky červené barvy s rumělkovým odstínem. Mělo vlastnosti volné kyseliny azobarviva (P r o c h á z k a). Alkalisací např. NaOH se podstatně zvyšovala jeho rozpustnost ve vodě a měnil barevný odstín na oranžově červený (ve vodě i v alkoholu). Vznikala sodná sůl volné kyseliny. Bylo zjištěno, že azobarvivo se chová jako chemický indikátor pH a mění ve vodném prostředí barvu z karmínově červené na oranžově červenou

v rozmezí pH 4,0 až 5,5 za současného podstatného zvýšení rozpustnosti. Přebytkem dusitanů k kyselém prostředí se rozkládá a odbarvuje.

Na základě těchto ve stručnosti uvedených předběžných pokusů byla vypracována a ověřena metodika stanovení dusitanů Ilosvay-Griessovou metodou za použití alkalizace vybarveného roztoku. Zpočátku jsme používali přísady 10 ml směšeného činidla obsahujícího jak kyselinu sulfanilovou (0,25 %) tak α -naftylamin (0,125 %) ve 30%ní kyselině octové k 10 až 25 ml vzorku v 50 ml odměrce s následnou alkalizací (po vybarvení) 15 ml 2N NaOH. Bylo však zjištěno, že barevné roztoky po alkalizaci od koncentrace odpovídající asi 0,5 mg % NaNO_2 opaleskovaly a od koncentrace odpovídající asi 1 mg % NaNO_2 měly krycí barvu. Dalšími pokusy bylo zjištěno, že tato opalescence nebo zákal po alkalizaci nevzniká, jestliže provádíme diazotaci kyselinou sulfanilovou a kopulaci α -naftylaminem odděleně a postupně.

Metodika měření dusitanů v uzenářských výrobcích, polotovarech a láku modifikovanou metodou Ilosvay-Griessovou s použitím alkalizace azobarviva

Potřeby: Odměrné baňky 50 ml, pipety chemické 5 ml, 10 ml, 25 ml, homogenisátor nebo výkonná laboratorní míchačka, kolorimetr (v našich pokusech byl použit Pulfrichův kolorimetr), nebo alespoň jednoduchý komparátor a zkumavkové standardy (jejich příprava bude ještě popsána), zkumavky.

Roztoky: I. 0,2%ní roztok kyseliny sulfanilové p. a. s asi 16 % kyseliny octové. Přípravuje se rozpuštěním 2 g kyseliny sulfanilové v 16 % kyselině octové (160 ml ledové kyseliny octové doplníme na 1000 ml destilovanou vodou) za případného zahřátí.

II. 0,1%ní roztok α -naftylaminu p. a. ve 2%ní kyselině octové. Přípravuje se rozpuštěním 1 g α -naftylaminu v odměrné baňce 1000 ml nejdříve ve 20 ml ledové kyseliny octové a po úplném rozpuštění doplněním po značku destilovanou vodou. Časem se roztok zabarvuje poněkud do fialova. Slabé zabarvení však není překážkou měření, neboť roztok si zachovává ještě dostatečné reakční schopnosti a jeho mírné zabarvení kompenzujeme tím, že stejné množství činidla se přidává i do srovnávacího roztoku. Silněji zabarvený, případně zakalený roztok je třeba nahradit roztokem čerstvým, neboť má sníženou míru reaktivity. Roztoky α -naftylaminu uchováváme v tmavých lahvích pokud možno na chladném místě.

III. 7%ní roztok louhu sodného. Všechny roztoky jsou přiměřeně stálé z hlediska potřeb laboratorního provozu (půl roku i déle). Koncentrace roztoků I a II je volena tak, aby vedle pokud možno nejvyšší stálosti dávaly ve stanovené dávce (5 ml do 50 ml odměrky) kvantitativní reakci při obsahu NaNO_2 v odměrce, blízkém horní hranici rozsahu metod (tab. I).

Vlastní provedení metody: Pro provádění metody vzhledem k obvyklému obsahu dusitanů v masě, masných výrobcích a láku a měřicímu rozsahu této metody je možno běžně používat konečného ředění 1 : 50; u vzorků s nižším obsahem dusitanů (pod 10 mg %) je možno použít případně i ředění ještě nižšího (např. 1 : 20).

10 g vzorku (uzeniny, prátu a pod.) jemně rozsekaného vyluhujeme v kádince s 90 ml destilované vody (u láku 10 ml láku doplníme po značku destilovanou vodou ve 100 ml odměrce) za míchání skleněnou tyčinkou nejlépe však po homogenizaci elektrickým homogenisátorem (míchačkou) půl hodiny (u láku není třeba dodržet tuto dobu extrakce). Aby bylo dosaženo srovnatelných vý-

I. Optimální koncentrace reagensů pro požadovaný rozsah modifikované Ilosvay-Griessovy metody (0,01—2 mg % NaNO_2) (filtr S47, květa 0,5 cm)

Obsah kyseliny sulfanilové v činidle I %	Obsah α -naftylaminu v činidle II %	Do 50 ml odměrky přidáno přibližně 10 mg %ního roztoku NaNO_2 ml	Přibližné konečné ředění NaNO_2 v 50 ml odměrce v mg %	Extinkce zjištěná u 1 mg %ního roztoku přímo, u cca 2 a 3 mg %ního roztoku po pětinasobném zředění vybarveného roztoku	Odpovídá mg % NaNO_2	Odpovídá mg % NaNO_2 po násobení ředěním
0,1	0,05	5	1	1,34	0,96	—
		10	2	0,49	0,35	1,75
		15	3	0,57	0,405	2,025
0,1	0,1	5	1	1,32	0,945	—
		10	2	0,53	0,375	1,875
		15	3	0,69	0,49	2,45
0,2	0,1	5	1	1,37	0,98	—
		10	2	0,55	0,39	1,95
		15	3	0,80	0,57	2,85

Bylo přidáno vždy 5 ml činidla I, 5 ml činidla II a 10 ml činidla III podle metodiky uvedené v textu. Z pokusu vyplývá, že spolehlivou reakci pro požadovaný rozsah měřitelnosti obsahu dusitanů modifikovanou Ilosvay-Griessovou metodou až 2 mg % NaNO_2 dávají činidla obsahující 0,2 % kyseliny sulfanilové a 0,1 % α -naftylaminu a že tedy musí být diazotační reagenty přítomny ve značném nadbytku (asi osminásobném u kyseliny sulfanilové a téměř pětinasobném u α -naftylaminu) proti ekvivalentním poměrům, aby nastala ve stanovené době při dané koncentraci kyseliny octové kvantitativní diazotační reakce s dusitany přítomnými v roztoku až do koncentrace 2 mg %.

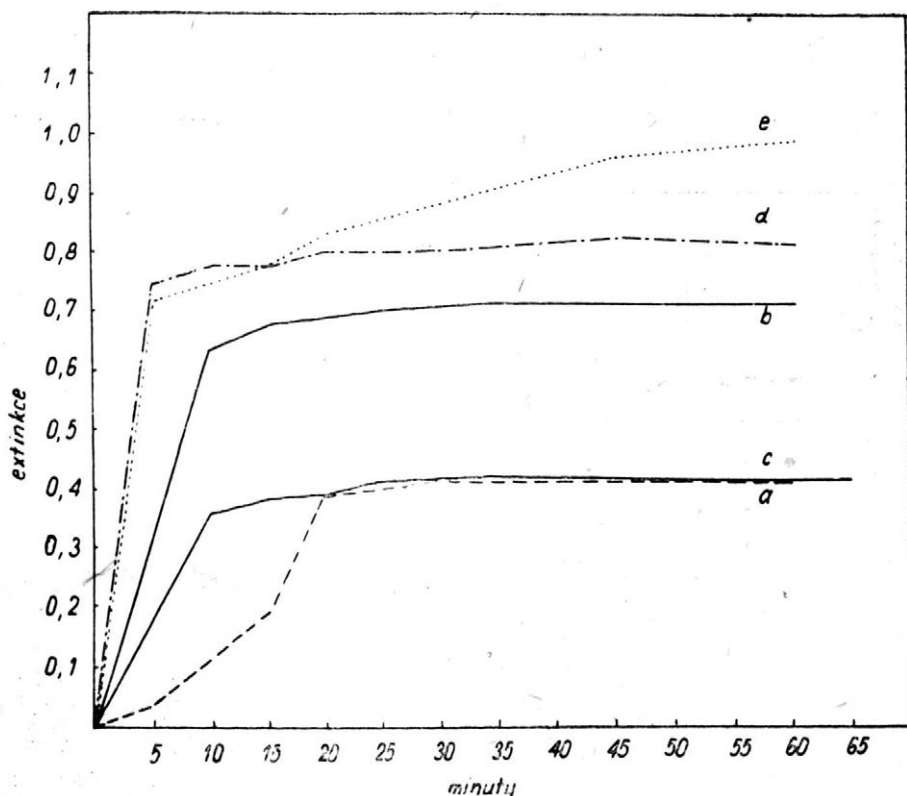
sledků, je zapotřebí dodržovat způsob extrakce, neboť na standardním provedení výluhů závisí především výsledek vyšetření. Do doby filtrace výluhu je třeba pracovat kvantitativně, tj. beze ztrát na extraktu, např. vystřikováním.

Získaný extrakt zfiltrujeme (u láku toho není zapotřebí) a z filtrátu přeneseme alikvotní podíl (10 až 25 ml) do dvou odměrných 50 ml baněk. Přeneseme-li 10 ml extraktu je výsledné ředění v 50 ml odměrce 50krát. Přeneseme-li 25 ml extraktu je výsledné ředění 20krát. Jedna 50 ml odměrka je určena pro roztok k vlastnímu měření, druhá pro roztok srovnávací. Do těchto baněk pipetujeme nyní roztoky podle následujícího přehledu:

50 ml odměrná, banka pro vlastní měření	50 ml odměrná banka srovnávací
10–25 ml extraktu 5 ml roztoku I	10–25 ml extraktu 10 ml roztoku III 5 ml roztoku I
necháme reagovat při pokojové teplotě 20–30 minut	
5 ml roztoku II	
necháme reagovat při pokojové teplotě 5 minut	
10 ml roztoku III	5 ml roztoku II

Okamžitě doplníme po značku destilovanou vodou a promícháme. Zpěnil-li roztok, umožní nám přesné doplnění po značku přikápnutí několika kapek alkoholu, kterým odstraníme s hladiny pěnu. Po přidání každého činidla vždy ihned kroužením zamícháme, aby okyselení či alkalizace proběhly najednou v celém objemu a nedošlo k nežádoucím vedlejším reakcím (např. k diazotaci ve srovnávací odměrce) a aby reakce proběhla kvantitativně ve stanovených časových intervalech.

Při alkalizaci se eventuálně vysrážené azobarvivo opět rozpouští za současné změny odstínu vybarvení z karmínového na oranžově červený. Alkalizaci vyšetřo-



Graf 1. Rychlost diazotační reakce při měření dusitanů.

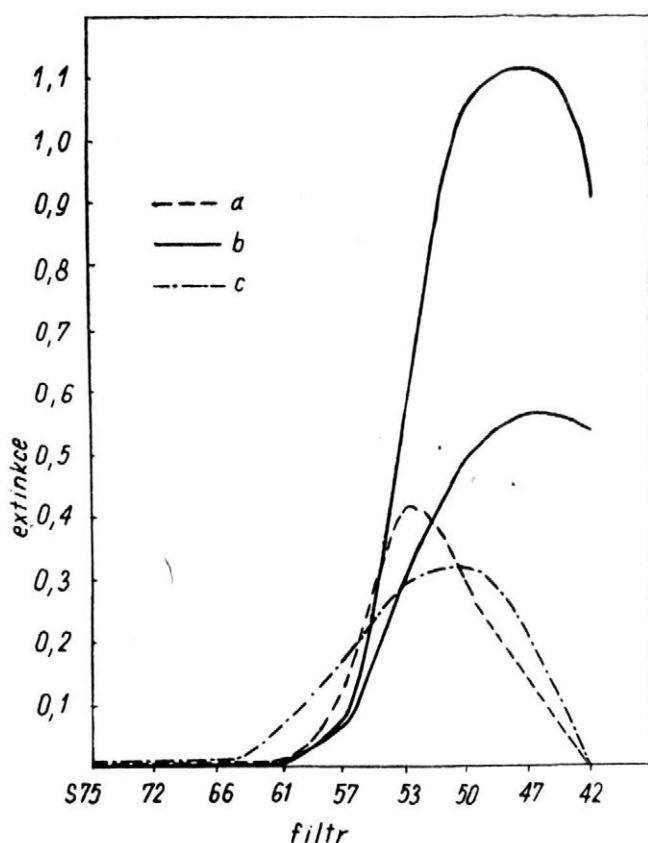
a) původní Ilosvay-Griessovou metodou (0,04 mg%ní roztok NaNO_2 , filtr S53, kyveta 2 cm), b) modifikovanou Ilosvay-Griessovou metodou (0,5 %mgní roztok NaNO_2 , filtr S47, kyveta 0,5 cm), c) modifikovanou Ilosvay-Griessovou metodou bez alkalizace (0,04 mg%ní roztok NaNO_2 , filtr S53, kyveta 2 cm), d) rivanolovou metodou (0,6 mg%ní roztok NaNO_2 , filtr S53, kyveta 2 cm), e) rivanolovou metodou (0,6 mg%ní roztok NaNO_2 , filtr S50, kyveta 2 cm).

Vybarvování při původní Ilosvay-Griessově metodě (přidáno 3 ml smíšeného činidla) probíhalo v celém objemu 50 ml, kdežto u modifikované Ilosvay-Griessovy metody v objemu 35 ml (do 50 ml odměrky bylo přidáno 25 ml dusitanového roztoku, 5 ml činidla I a 5 ml činidla II). Doba diazotační reakce, zachycená v grafu, započala vždy přísadou I činidla. Činidlo II bylo přidáváno při měření modifikovanou Ilosvay-Griessovou metodou vždy pět minut před dobou stanovenou k měření extinkce. Po uplynutí této doby byl obsah v odměrce zalkalizován (b), doplněn po značnou destilovanou vodou a měřena extinkce, nebo bez alkalizace (c) doplněn po značku destilovanou vodou a ihned měřena extinkce. V roztoku měřeném metodou rivanolovou vznikala po 50 až 60 minutách zřetelná voluminózní sraženina.

II. Nestálost vybarvení při měření dusitanů rivanolovou metodou (Šárpy-Kirchner) ve vodném prostředí

mg% NaNO_2	Extinkce (filtr S 53) měřeno po		Extinkce (filtr S 50) měřeno po	
	5–15 min.	30–45 min.	5–15 min.	30–45 min.
0,1	0,15	0,17	0,16	0,21
0,2	0,25	0,31	0,255	0,35
0,4	0,52	0,57	0,515	0,65
0,6	0,765	0,82	0,76	0,92
0,8	1,06	1,11	1,05	1,19
1,0	1,33	1,37	1,30	1,40

Poznámka: Při měření bylo použito kyvet o průměru 2 cm. Uvedené doby jsou počítány vždy od přidání reagentů.



Graf 2. Stanovení optimálních filtrů při měření obsahu NaNO_2

- a) původní Ilosvay-Griessovou metodou (0,04mg%ní roztok NaNO_2 , kyveta 2 cm)
- b) modifikovanou Ilosvay-Griessovou metodou (0,4 a 0,8mg%ní roztok NaNO_2 , kyveta 0,5 cm)
- c) metodou rivanolovou (0,05mg%ní roztok NaNO_2 , kyveta 1 cm).

vaného roztoku ve srovnávací odměrce před přísadou diazoreagencií zabránujeme vzniku diazotační reakce. Do obou odměrek současně se přidává α -naftylamin proto, aby nedošlo ve srovnávací odměrce k vedlejší reakci α -naftylaminu s NaOH (viz níže) dříve než v odměrce pro vlastní měření.

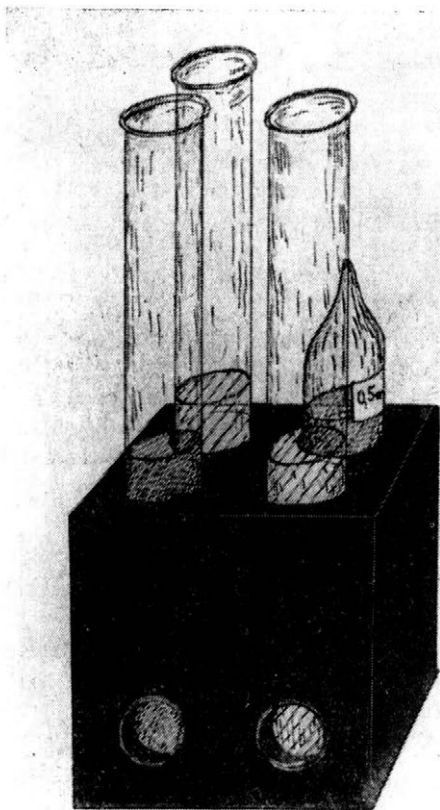
Vybarvuje-li se vyšetřovaný roztok jen velmi slabě v důsledku nízkého obsahu dusitanů, je možno provést vlastní měření bez konečné alkalisace, přičemž

použijeme nového srovnávacího roztoku bez všech tří činidel, nebo lépe bez činidla II a III. V tomto případě měříme vlastně vybarvení způsobené volnou kyselinou azobarviva, podobně jako při původní Ilosvay-Griessově metodě a měření je poněkud citlivější.

Doba potřebná ke kvantitativní diazotaci byla stanovena na základě pokusů, které jsou shrnuty v grafu 1, kde jsou současně vyjádřeny výsledky pokusů, sledujících rychlost vybarvování při použití původní Ilosvay-Griessovy metody (bez alkalizace) s přísadou 3 ml smíšeného Ilosvay-Griessova činidla do 50 ml odměrky. Dále zde jsou vyjádřeny výsledky vybarvování při použití rivanolové metody. Pokusy byly provedeny s použitím standartních roztoků dusitanů v destilované vodě. Z těchto výsledků vyplývá, že k dostatečnému vybarvení stačí při původní i modifikované metodě Ilosvay-Griessově 20 až 30 minut. Naproti tomu při rivanolové metodě se při použití nejcitlivějšího filtru (S 50) jasně projevila nestálost vybarvení i během jedné hodiny, po kterou má mít údajně roztok stále vybarvení. Při použití filtru S 53 bylo vybarvení dosažené touto metodou stabilnější, avšak v opakovaných pokusech se projevily i zde rozdíly ve vybarvení během jedné hodiny. Proto bylo upuštěno od použití rivanolové metody při dalších srovnávacích vyšetřeních.

Výsledky měření citlivosti filtrů při měření dusitanů původní i modifikovanou Ilosvay-Griessovou metodou a metodou rivanolovou jsou znázorněny v grafu 2. Na základě těchto výsledků byly stanoveny filtry, optimální pro měření.

Po doplnění obou odměrek po značku je třeba provést měření co nejdříve (pokud možno ihned), neboť asi po 1 hodině dochází při měření roztoků obsahujících koloidy v pokojové teplotě k vedlejší reakci mezi nevyvázaným α -naftylaminem v obou odměrkách a louhem sodným, která se projeví žlutavým zabarvením. Možnou chybu zejména při měření nízkých koncentrací dusitanů, způsobenou touto vedlejší reakcí, kompenzuje však částečně přísada α -naftylaminu a NaOH do srovnávací odměrky. Tato reakce se však při opožděném měření projevuje ve srovnávací odměrce poněkud intenzivněji, neboť α -naftylamin zde není částečně vyvázan diazotací, jako je tomu v odměrce s vybarveným roztokem. Při vyšetřování pouhých vodných roztoků du-



Obr. 1. Komparátor pro měření obsahu NaNO_2 pomocí zkumavkových standartních roztoků.

sitanů se tato reakce projevuje mnohem pomaleji (tab. III, IV). Používáme-li k měření zkumavkových standardů, nemá tato vedlejší reakce praktického významu. Při přesném měření za použití kolorimetru dochází však přece touto reakcí po určité době k malým odchylkám od původního ihned provedeného měření. Dodržením shora uvedeného postupu přidávání reagentů a provedením měření do půl hodiny po ukončení diazotace tuto možnou chybu vyloučíme.

Další vedlejší reakce, ke které při této metodě dochází, nemá co do omezení použitelnosti metody žádný význam. Za 24 až 48 hodin vzniká totiž jak ve vybarveném, tak ve srovnávacím roztoku práškovitá sraženina octanu sodného.

Měření zkumavkovými standardy provádíme v jednoduchém komparátoru (obr. 1). Používáme zkumavek stejného kalibru jako mají zatavené zkumavky se standardními roztoky. Příprava trvanlivých standardních roztoků k tomuto účelu bude ještě popsána. Do levé přední zkumavky v komparátoru dáváme diazotovaný vyšetřovaný extrakt, do pravé přední srovnávací extrakt. Za vybarvený extrakt dáváme zkumavku s destilovanou vodou, za srovnávací roztok se vsunuje zkumavková standarda. Pozorujeme průhledícími otvory přes matné sklo. Abychom nyní zjistili obsah NaNO_2 v mg % ve vzorku, násobíme hodnotu uvedenou na standardu, vyjádřenou v mg %, kterou bylo kompensováno vybarvení diazotovaného roztoku, celkovým ředěním extraktu.

III. Vedlejší reakce α -naftylaminu s NaOH v koloidním prostředí. Měření bylo provedeno u láku šest týdnů starého se 2,4 % bílkovin a 7,9 % NaCl modifikovanou Ilosvay-Griessovou metodou (filtr S 47, kyvety 0,5 cm)

Srovnávací roztok	Extinkce naměřená po alkalizaci za		
	1 hodinu	2 hodiny	24 hodin
a) bez α -naftylaminu	0,52	0,525	0,535
b) s α -naftylaminem	0,52	0,52	0,51

Měřený roztok: 5 ml láku desetkrát zředěného + 5 ml činidla I + 5 ml činidla II + 10 ml činidla III ve stanovených intervalech + destilovaná voda do celkového objemu 50 ml.

Srovnávací roztok: a) bez α -naftylaminu — 5 ml láku desetkrát zředěného + 10 ml činidla III + 5 ml činidla I ve stanovených intervalech + destilovaná voda do celkového objemu 50 ml; b) s α -naftylaminem — 5 ml láku desetkrát zředěného + 10 ml činidla III + 5 ml činidla I + 5 ml činidla II ve stanovených intervalech + destilovaná voda do celkového objemu 50 ml.

IV. Vedlejší reakce α -naftylaminu s NaOH ve vodném prostředí (filtr S47, kyveta 2 cm)

Extinkce naměřená po alkalizaci za												
minut				hodin						dní		
10	20	30	45	1	1,5	2	3	7	10	1	2	12
0	0	0	0	0	0	0	0	0,01	0,02	0,05	0,08	0,125

Měřený roztok: 5 ml činidla I + 5 ml činidla II + 10 ml činidla III + destilovaná voda do celkového objemu 50 ml.

Srovnávací roztok: 10 ml činidla III + 5 ml činidla I + destilovaná voda do celkového objemu 50 ml.

Přesná měření je možno provádět na kolorimetrech různého typu. V našem případě jsme používali Pulfrichova kolorimetru s filtrem S 47 (modrý) a kyvet o průměru 0,5 až 5 cm. Výsledek měření je možno vyhodnotit interpolací pomocí kalibrační křivky nebo výpočtem podle vzorce $c = E \cdot f$ kde $f = \frac{1}{k' \cdot L}$. Zjišťujeme-li extinkci a používáme-li kyvet různého průměru. Používáme-li při měření kyvety o průměru 1 cm (zjišťujeme tzv. modul extinkce), nebo přepočítáváme-li zjištěné hodnoty extinkce na m_{ext} násobením zjištěné hodnoty extinkce poměrem $\frac{\text{průměr kyvety}}{1}$, pak $f = \frac{1}{k'}$. Hodnoty f pro jednotlivé druhy kyvet při měření původní i modifikovanou metodou Ilosvay-Griessovou jsou uvedeny v tab. V. a VI. Hodnotu zjištěnou z kalibrační křivky nebo vypočtenou ze vzorce $c = E \cdot f$, je ovšem zase třeba násobit ředěním, abychom dostali obsah NaNO_2 v mg % v původním neředěném vzorku.*)

V. Hodnoty extinkce, koeficientů extinkce a faktorů k výpočtu koncentrace NaNO_2 pro původní Ilosvay-Griessovu metodu, získané za použití standardních roztoků NaNO_2 (filtr S53, kyveta 2 cm)

$\text{mg \% NaNO}_2$	I série měření		II série měření		Hodnoty po korekci				
	E	$k' \left(= \frac{E}{L \cdot c} \right)$	E	$k' \left(= \frac{E}{L \cdot c} \right)$	E	$k' \left(= \frac{E}{L \cdot c} \right)$	$f_2 \left(\frac{c}{E} \right)$	m_{ext}	$f_1 \left(= \frac{c}{m_{ext}} \right)$
0,01	0,105	5,25	0,105	5,25	0,105	5,25		0,0525	
0,02	0,215	5,375	0,215	5,375	0,210	5,25		0,105	
0,04	0,42	5,25	0,43	5,375	0,42	5,25		0,210	
0,06	0,63	5,25	0,63	5,25	0,63	5,25		0,315	
0,08	0,83	5,1875	0,84	5,25	0,835	5,22		0,4175	
0,10	1,03	5,15	1,03	5,15	1,03	5,15	0,0952380	0,515	0,190476

Vysvětlivky: E = extinkce, k' = koeficient extinkce, m_{ext} = modul extinkce, L = průměr kyvety, c = koncentrace, $f_{2,1}$ = faktory k výpočtu koncentrace NaNO_2 pro kyvetu o průměru 2–1 cm.

Korekce extinkce byla provedena pomocí sestavené kalibrační křivky. Vybarvování probíhalo u všech roztoků v celém objemu 50 ml po dobu 20 minut od přidání smíšeného činidla. Měření bylo provedeno velmi pečlivě vždy během jedné hodiny po vybarvení. Koncentrace 0,08 a 1,0 mg % NaNO_2 byly měřeny vždy nejdříve, tj. ihned po vybarvení (20 minut po přidání reagensů).

Sestavení kalibrační křivky, stanovení koeficientů extinkce a faktorů pro výpočet koncentrace dusitanu sodného při měření původní a modifikovanou Ilosvay-Griessovou metodou.

Základní dusitanový roztok byl připraven z chemikálie p. a., obsahující údajně 97 % NaNO_2 . Byl připraven čerstvý asi 100 mg % roztok, který byl stabilizován přísadou 10 ml 0,1N NaOH do celkového objemu 1000 ml. V tomto roztoku byl zjištěn skutečný obsah dusitanu sodného jodometricky a podle výsledku titrace roztok upraven na přesně 100 mg %. Tohoto roztoku bylo použito v připravě standardních roztoků azobarviva (volné kyseliny a sodné soli) ředěním dusi-

*) Vysvětlivky ke vzorcům: c = koncentrace dusitanů (v daném případě NaNO_2), E = extinkce, L = průměr kyvety, $f_{5-2-1-0,5}$ = faktor k výpočtu koncentrace NaNO_2 pro jednotlivé průměry kyvet, k' = koeficient extinkce, m_{ext} = modul extinkce, t. j. extinkce redukována na průměr kyvety 1 cm.

VI. Hodnoty extinkce, koeficientu extinkce a faktorů k výpočtu koncentrace $N\ NO_2$ pro modifikovanou Ilosvay-Griessovu metodu, získané za použití standardních roztoků $NaNO_2$ (filtr S47)

$mg\ %\ NaNO_2$	Kyveta	I. série měření		II. série měření		Hodnoty po korekci					
		E	$k' (= \frac{E}{L \cdot c})$	E	$k' (= \frac{E}{L \cdot c})$	E	$k' (= \frac{E}{L \cdot c})$	$f_{2-0,5} (= \frac{c}{E})$	m_{ext}	$f_1 (= \frac{c}{m_{ext}})$	
0,01	2	0,06	3,00	0,06	3,00	0,56	2,8	$f_{2-0,5} = 0,714285$	0,028	0,3571428	
0,02	2	0,12	3,00	0,11	2,75	0,112	2,8		0,056		
0,04	2	0,23	0,2875	0,21	2,625	0,224	2,8		0,112		
0,06	2	0,35	2,91	0,325	2,708	0,336	2,8		0,168		
0,08	2	0,43	2,6875	0,445	2,719	0,448	2,8		0,224		
0,1	2	0,560	2,8	0,555	2,775	0,56	2,8	$f_{0,5} = 0,17857142$	0,28	0,56	
	0,5	0,135	2,6	0,14	2,8	0,14	2,8				
0,15	0,5	0,21	2,8								
0,2	2			1,13	2,825	1,12	2,8				
	0,5	0,28	2,8	0,29	2,9	0,28	2,8				
0,25	0,5	0,35	2,8					$f_2 = 0,17857142$		1,12	
0,3	0,5	0,425	2,83								
0,4	0,5	0,56	2,8	0,57	2,85	0,56	2,8				
0,5	0,5	0,72	2,88								
0,6	0,5	0,85	2,83	0,84	2,8	0,84	2,8		1,68		
0,8	0,5	1,08	2,68	1,13	2,825	1,12	2,8		2,24		
1,0	0,5	1,4	2,8	1,4	2,8	1,4	2,8		2,8		

Korekce extinkce byla provedena pomocí sestavení kalibrační křivky. Vybarvování probíhalo v objemu 10–30 ml. Měření bylo provedeno pečlivě vždy během jedné hodiny po ukončení vybarvování (alkalisací a doplnění odměrky po značku destilovanou vodou).

tanů u původní Ilosvay-Griessovy metody v rozsahu 0,01 až 0,1 mg % a u modifikované Ilosvay-Griessově metody v rozsahu 0,01 až 1,0 mg % v odměrkách o obsahu 50 ml. Po přidání reagentů a vybarvení byla změřena pečlivě extinkce těchto roztoků a sestaveny kalibrační křivky pro původní i modifikovanou Ilosvay-Griessovu metodu.*)

Celý tento pokus byl opakován a z takto provedených dvou sérií měření byly sestaveny obě kalibrační křivky a vypočteny koeficienty extinkce platné pro použité barevné filtry a faktory k výpočtu koncentrace $NaNO_2$, platné pro dané filtry a průměry kyvet. Výsledky těchto měření jsou v tab. V (původní Ilosvay-Griessova metoda), v tab. VI (modifikovaná metoda) a v grafu 3 (kalibrační křivky pro stanovení obsahu $NaNO_2$ původní i modifikovanou Ilosvay-Griessovou metodou).

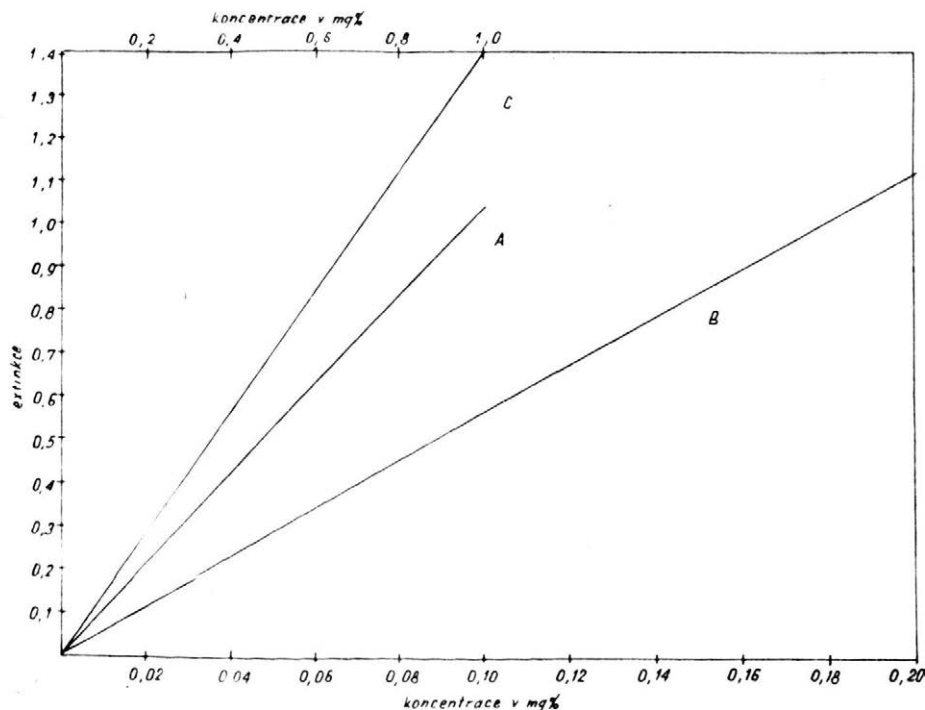
Srovnávací měření obsahu dusitanu sodného původní a modifikovanou Ilosvay-Griessovou metodou ve vzorcích láku, nakládaného masa a uzenářských výrobků

Bylo provedeno srovnávací měření obsahu $NaNO_2$ u 58 vzorků láku různého stáří, dvou vzorků prátu a u 40 vzorků ovařovaných uzenářských výrobků. U čtyř vzorků láku bylo provedeno současné stanovení $NaNO_2$ původní Ilosvay-Gries-

*) Vznikající azobarvivo je při alkalisaci rozpustné ještě v daleko větších koncentracích, které se však nedaly měřit v mezích spolehlivosti na Pulfrichově kolorimetru, ani při použití kyvety o průměru pouze 0,5 cm.

Ke spolehlivému kvantitativnímu dosažení koncentrací azobarviva, odpovídajících více než 2 mg % roztoku $NaNO_2$, by ovšem bylo zapotřebí použít vyšších přísad reagentů (kyseliny sulfanilové a α -naftylaminu).

sovou metodou na jiném pracovišti (Výzkumný ústav pro maso a ryby v Brně). Hodnoty takto zjištěné včetně hodnot zjištěných u uvedených 4 vzorků láku na jmenovaném výzkumném ústavě se vcelku dobře shodovaly a potvrdily prakticky použitelnost nové metody. Z těchto výsledků uvádíme pro nedostatek místa alespoň tabulku VII s výsledky vyšetření uvedených čtyř vzorků láku na obou pracovištích.



Graf 3. Kalibrační křivky pro stanovení obsahu NaNO_2

A. Původní Ilosvay-Griessovou metodou (filtr S53, kyveta 2 cm, rozsah měřitelnosti 0,01–0,1 mg %), dále modifikovanou Ilosvay-Griessovou metodou (filtr S47) s rozsahem měřitelnosti B 0,02(0,01)–0,2 mg % (kyveta 2 cm) a C. 0,1–1,0 mg % (kyveta 0,5 cm). U původní Ilosvay-Griessovy metody má křivka lineární průběh pouze do koncentrace 0,06–0,07 mg %, přestože měření vybarvených roztoků touto metodou bylo v nejvyšších koncentracích (0,08–0,1 mg % NaNO_2) provedeno vždy ihned po 20 minutách od ukončení diazotace, zatímco ostatní roztoky byly měřeny vždy během 1 hodiny od ukončení diazotace

Při měření původní Ilosvay-Griessovou metodou bylo používáno ředění 500- až 1000krát, při měření modifikovanou metodou 50krát. Láky obsahovaly NaNO_2 v rozmezí 0,2 až 50 mg %, uzenářské výrobky v rozmezí 0,8 až 25 mg %. Výsledky získané modifikovanou metodou byly průměrně u vzorků láku a prátu o 3,92 % nižší, u vzorků uzenářských výrobků o 7,144 % vyšší než výsledky získané Ilosvay-Griessovou metodou. Byla-li koncentrace NaNO_2 v konečném ředění extraktu, měřeném původní metodou vyšší (0,4 mg % a více), byl rozdíl hodnot, zjištěných oběma metodami ve srovnání s uvedeným průměrem zpravidla nižší u vzorků láku a vyšší u vzorků uzenářských výrobků (vliv malé rozpustnosti volné kyseliny azobarviva).

Příprava zkumavkových standardních roztoků

Zpočátku jsme se zaměřili na přípravu zkumavkových standardních roztoků ředěním základního roztoku azobarviva, vznikajícího při této metodě, které jsme na začátku našich pokusů, jak již bylo uvedeno, vyrobili v substanci. Takto vyrobené standardní roztoky pro původní i modifikovanou Ilosvay-Griessovu metodu nebyly stále ani za použití alkoholu jako rozpouštědla. Potvrdilo se tak opětovně, že požadavku dostatečně dlouhou dobu trvanlivých standardních roztoků vyhovují pouze anorganické soli. Podařilo se nám připravit trvanlivé standardní roztoky z anorganických solí pro zjišťování dusitanů původní i modifikovanou Ilosvay-Griessovou metodou. Základní roztok k přípravě těchto standardů pro měření dusitanů modifikovanou metodou obsahuje 1 objemový díl 5%ního roztoku $K_2Cr_2O_7$ p. a. a 19 objemových dílů 20%ního roztoku $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ p. a. v 0,1N HCl. Decinormální kyseliny solné bylo jako rozpouštědla základního roztoku použito proto, že roztoky těchto solí pouze v destilované vodě se po smíšení a při dalším ředění mírně zakalovaly. Dále se provede naředění části tohoto základního roztoku, zjistí se extinkce jednotlivých ředění při filtru S47 a při daném průměru kyvety a z těchto hodnot se vypočte koncentrace dusitanu sodného v mg %, které odpovídá tento základní roztok. Vlastní standardy je potom možno připravit naředěním základního roztoku v 50 ml odměrkách podle směšovacího pravidla tak, aby vznikla řada standardních roztoků, odpovídajících koncentracím $NaNO_2$ v mg %: 1,75 – 1,5 – 1,25 – 1 – 0,9 – 0,8 – 0,7 – 0,6 – 0,5 – 0,4 – 0,3 – 0,25 – 0,2 – 0,15 – 0,1 – 0,09 – 0,08 – 0,07 – 0,06 – 0,05 – 0,04 – 0,03 – 0,02 – 0,01. Veškerá ře-

VII. Výsledky měření obsahu $NaNO_2$ u čtyř vzorků láku původní a modifikovanou Ilosvay-Griessovou metodou na dvou pracovištích (Ústavu hygieny a technologie potravin Ve-

Měřeno na Ústavě pro hygienu a technologii								
původní Ilosvay-Griessova metoda							modifikovaná	
	do 50ml odměrky přidáno	výsledné zředění	kyveta	E	odpovídá mg% $NaNO_2$	odpovídá mg% $NaNO_2$ zředění	do 50ml odměrky přidáno	výsledné zředění
1	10 ml 100 × zřed. láku	500 ×	2 cm	1,05	0,1	50,00	10 ml 10 × zř. láku	50 ×
2	5 ml 100 × zřed. láku	1000 ×	2 cm	0,24	0,02275	22,75	10 ml 10 × zř. láku	50 ×
3	5 ml 100 × zřed. láku	1000 ×	2 cm	0,28	0,0265	26,5	10 ml 10 × zř. láku	50 ×
4	10 ml 10 × zřed. láku	50 ×	2 cm 5 cm	0,04 0,10	0,0035	0,175	10 ml 10 × zř. láku	50 ×

VIII. Zjištění koncentrace základního roztoku z anorganických soli (1 díl 5%ního roztoku $K_2Cr_2O_7$ a 19 dílů 20%ního roztoku $CoCl_2 \cdot H_2O$), určeného k přípravě umělých trvanlivých standardů (filtr S47, kyveta 2 cm)

Zředění	E	E.f	E. f. zředění
100 ×	0,105	0,0187499	1,875
50 ×	0,21	0,0374999	1,875
20 ×	0,52	0,0928571	1,857143
10 ×	1,04	0,1857143	1,857143

dění základního roztoku se provádějí již destilovanou vodou. Tyto standardní roztoky je možno uchovávat v čistých zatavených zkumavkách stejného kalibru o vnitřním průměru alespoň 16 mm. Takto jsme provedli opakované pokusy s přípravou umělých standardů. Jeden z nich uvádíme názorně.

Základní roztok připravený smíšením roztoků $K_2Cr_2O_7$ a $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ v poměru 1 : 19 jsme naředili v poměru 1 : 10, 1 : 20, 1 : 50 a 1 : 100. U takto naředěných roztoků jsme zjistili extinkci a vypočetli koncentraci dusitanu sodného odpovídající jednotlivým ředěním a původnímu základnímu roztoku. Tato měření jsou zachycena v tab. VIII. Základní roztok odpovídal tedy koncentraci 1,86 mg % $NaNO_2$. Z tohoto roztoku byla provedena dále ředění pro řadu standardních roztoků. Před zatavením těchto roztoků ve zkumavkách byla ještě zkontrolována je-

terinární fakulty VŠZL v Brně a Výzkumném ústavu pro maso a ryby v Brně). Hodnoty $NaNO_2$ odpovídají naměřené extinkci byly zjištěny interpolací z kalibrační křivky -

potravin				Měřeno na Výzkumném ústavě pro maso a ryby					
Illosvay-Griessova metoda				původní Illosvay-Griessova metoda					
kyveta	E	odpovídá mg % $NaNO_2$	odpovídá mg % $NaNO_2$ zředění	do 100ml odměrky přidáno	výsledné zředění	kyveta	E	odpovídá mg % $NaNO_2$	odpovídá mg % $NaNO_2$ zředění
0,5 cm	1,38	0,985	49,25	1 ml 10 × zřed. láku	1000 ×	2 cm	0,54	0,05125	51,25
0,5 cm	0,62	0,44	22,0	0,3 ml neředě- ného láku	333,3 ×	2 cm	0,73	0,0695	23,16
0,5 cm	0,72	0,5125	25,625	0,3 ml neředě- ného láku	333,3 ×	2 cm	0,80	0,076	25,33
2 cm 5 cm	0,03 0,075	0,005	0,25	2 ml neředě- ného láku	50 ×	2 cm 5 cm	0,004 0,01	0,0035	0,175

jich extinkce. Extinkce odpovídala hodnotám zjištěným za použití známého roztoku NaNO_2 . Potom byly standardy zataveny do zkumavek.

Podobně byly připraveny také trvanlivé standardní roztoky pro zjišťování dusitanů původní Ilosvay-Griessovou metodou ze základního 2%ního roztoku $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ v 70%ní kyselině fosforečné.

Diskuse a hodnocení výsledků

V rozporu s údaji Šárpyové a Kirchnera byla zjištěna nestálost vybarvení roztoků při měření dusitanů rivanolovou metodou při použití nejcitlivějšího filtru S50, tj. s maximální propustností při 500 m μ . Autoři však používali při této metodě filtru s maximální propustností při 520 m μ . Při použití tohoto filtru v našich pokusech byly hodnoceny extinkce poněkud stabilnější, ale měnily se rovněž. Vzhledem k tomu, že autoři doporučují metodu pouze pro stanovení dusitanů v masě a masných výrobcích, nikoli v láku, bylo upuštěno od použití této metody pro srovnávací měření v naší práci.

V této práci byla vypracována metoda kvantitativního průkazu dusitanů Ilosvay-Griessovou reakcí, založená na alkalisaci vybarvených roztoků před vlastním měřením. Alkalisací se podařilo podstatně rozšířit rozsah měřitelnosti proti dosavadním nejobvyklejším metodám. Měřicí obsah je u původní Ilosvay-Griessovy metody v rozmezí 0,007 až 0,07 mg % NaNO_2 , u metody rivanolové 0,1 (event. 0,05 při použití kyvety průměru 5 cm) – 1 mg % NaNO_2 a metody Ilosvay-Griessovy, modifikované touto prací 0,02 (při použití kyvety průměru 5 cm 0,01) – 2 mg % NaNO_2 (při měření na Pulfrichově kolorimetru s kyvetou průměru 0,5 cm maximálně do 1 mg % NaNO_2). Alkalisací je možno udržet v roztoku po určitou, k provedení měření dostatečně dlouhou dobu i daleko větší koncentrace sodné soli azobarviva, odpovídající až 10 mg % roztoku NaNO_2 , které však nejsou měřitelné pro vysokou optickou densitu kyvetami obvyklého průměru. Citlivost této modifikované metody je tedy téměř stejná jako u původní Ilosvay-Griessovy metody a vyšší než u metody rivanolové. Rozsah modifikované Ilosvay-Griessovy metody je značně širší než u metody původní, avšak je širší i ve srovnání s metodou rivanolovou. Proti metodě rivanolové, kterou autoři doporučují pouze k stanovení dusitanů v masě a masných výrobcích, má naše metoda i tu přednost, že je použitelná pro stanovení dusitanů v nakládacích lácích. Alkalisací bylo též u naší metody dosaženo takového odstínu vybarvení, že umožnil připravit trvanlivé standardy z anorganických solí a tím vytvořit předpoklady pro rozšíření metody do provozu. U původní Ilosvay-Griessovy metody se takové standardy dosud připravit nepodařily. Standardy používané při měření touto metodou v SSSR (sovětská norma pro potraviny GOST NKMP 37, skup. N 19, Těterník), které se připravují z karbolfuchsinu a methylvioletti, mají jen velmi omezenou trvanlivost.

Srovnávací měření jak láků a prátu obsahujících nativní bílkoviny, tak ovařovaných uzenářských výrobků, obsahujících tepelně denaturované bílkoviny, původní a modifikovanou Ilosvay-Griessovou metodou dala rovněž uspokojivé výsledky. Domníváme se, že příčinou poněkud nižších hodnot, naměřených při použití modifikované metody ve srovnání s původní Ilosvay-Griessovou metodou u vzorků láků a prátu, obsahujících nativní bílkoviny v extraktu, jsou vedlejší reakce dusitanů v kyselém prostředí, především reakce van Slykeova s primárními aminoskupinami bílkovin, obsažených ve vyšetřovaných extraktech. Naproti tomu příčinu vyšších hodnot, naměřených modifikovanou metodou Ilosvay-Griessovou

ve srovnání s metodou původní v extraktech ovařovaných uzenářských výrobků, by mohla být malá stabilita vybarvení při měření původní metodou Ilosvay-Giessovou a chyba, způsobená vyšším ředěním. Dalšími pokusy bude možno objasnit zejména nakolik může být vedlejší reakce dusitanů s nativními bílkovinami ve vyšetřovaných extraktech vyloučena např. vhodnou denaturací nativních bílkovin a jejich odfiltrováním při přípravě extraktu bez ovlivnění obsahu dusitanů.

Celkově hodnoceno jsou však tyto rozdíly při stanovení dusitanů oběma způsoby zcela bezvýznamné vzhledem k naprosto relativnímu charakteru výsledků měření dusitanů v uzenářské výrobě (Rose, Peterson) a vzhledem k požadavkům na přesnost a spolehlivost tohoto měření. Naopak nová metoda umožňuje standardní přípravu extraktů, zejména používáním stálého ředění a tím i dosažení standardnějších výsledků (Rose, Peterson). Vedle toho však provádění naší metody umožňuje též, aby při slabém vybarvení vzorku bylo provedeno poněkud citlivější měření vybarvení bez alkalisace, tj. jako při původní Ilosvay-Griessově metodě. Nedostatkem metody je vedlejší reakce NaOH s α -naftylaminem. K ovlivnění výsledků měření touto reakcí však nedochází při dodržení stanoveného postupu přidávání reagensů a doby určené k provedení vlastního měření. Uvedené přednosti vypracované modifikované metody kvantitativního průkazu dusitanů zcela vyvažují její nedostatky a vytvářejí předpoklady pro její zavedení v provozu, hygienické a technologické kontrole láku, uzenářských polotovarů a výrobků, procesu nakládání atd., ve výzkumu tohoto odvětví výroby, ale i pro její použití všude tam, kde jde rovněž o rychlé a jednoduché kvantitativní určování dusitanů.

Souhrn

Byla vypracována kolorimetrická metoda kvantitativního stanovení dusitanů, při které se měří rozdíl od původní Ilosvay-Griessovy metody vybarvení až po alkalisaci. Alkalisaci se dosahuje podstatně vyšší rozpustnosti azobarviva a odstraňuje se tak největší nevýhoda původní a dosud nejužívanější Ilosvay-Griessovy metody.

Rozsah měřitelnosti je u této nové modifikované metody podstatně širší (0,01 až 2,0 mg % NaNO_2) než u metody původní (0,007 až 0,07 mg % NaNO_2), ale i širší než u metody rivanolové (0,05 až 1,0 mg % NaNO_2).

Citlivost je u modifikované metody téměř stejná jako u metody původní a podstatně vyšší než u metody rivanolové.

Ve srovnávacích měřeních obsahu dusitanů v láku prátu a uzenářských výrobcích dávala tato metoda proti původní Ilosvay-Griessově metodě u vzorků láku a prátu průměrně o 3,92 % nižší a u uzenářských výrobků o 7,144 % vyšší výsledky. V těchto pokusech bylo vyšetřeno celkem 58 vzorků láku, dva vzorky prátu a 40 vzorků ovařovaných uzenářských výrobků.

Metoda nevylučuje v případě potřeby (slabé vybarvení v důsledku malého obsahu dusitanů) provedení citlivějšího měření bez alkalisace vybarveného vzorku.

Metoda umožňuje standardní přípravu extraktů včetně ředění a tím i dosažení standardnějších výsledků.

Pro modifikovanou Ilosvay-Griessovou metodu stejně jako pro metodu původní se podařilo v této práci připravit trvanlivé standardní roztoky z anorganických

kých solí a tím vytvořit předpoklady pro její široké uplatnění v provozu, při hygienické a technologické kontrole uzenářské výroby.

Určitou nevýhodou metody je vedlejší reakce mezi volným α -naftylaminem a louhem sodným za vzniku žlutavého zabarvení. K této reakci dochází při vyšetřování vzorků, obsahujících koloidy v pokojové teplotě asi po jedné hodině, při vyšetřování pouhých vodných roztoků dusitanu mnohem pomaleji. Dodržením stanoveného postupu přidávání reagentů a provedením měření do půl hodiny po ukončení diazotace je možno vyloučit chybu, vyplývající z této reakce.

Literatura

1. Agulnik M. A., Kornějev I. P., Stratonickaja G. A.: Veterinarija 1953, 3, 78. — 2. Agulnik M. A., Malachov Ju. A.: Veterinarija 1955, 4, 76. — 3. Andreotti R.: Ind. ital. conserve, 27 (1952), 55. — 4. Bártík M., Kupka J.: Folia veterinaria, vet. fak. Košice, 1 (1956), 1. — 5. Bosák J.: Disert. Vysoké školy veterinární, Brno 1950. — 6. Cenek Fr.: Disert. veter. fak. VŠZL, Brno 1952. — 7. Draut H. N., Deatherage F. E.: Food research, 21 (1956), 122. — 8. Drozdov N. S., Iskandarjan A. K.: Žurn. anal. chim. 11 (1956), 723. — 9. Endress G., Kaufmann L.: Ann. 530 (1937), 184, cit. Drozdov N. S., Iskandarjan A. K., Žurn. anal. chim. 11 (1956), 723. — 10. Fjodorov M. V.: Trudy akad. nauk SSSR 100, 3 (1955), 507, překlad Sovětská věda-biologie 3 (1955), 279. — 11. Gilka J.: Disert. veter. fak. VŠZL, Brno 1953. — 12. GOST (NKMP 37, skup. N19), sbírky překladů sovětských norem. 13. Grau R.: Fleischwirtschaft 10 (1958), 145. — 14. Hökl J.: Průmysl výživy, 1950, 1, 33. — 15. Jednotné analytické metody (JAM) — maso. Min. potr. prům. a výkupu (ve stadiu vypracování). — 16. Jednotné analytické metody (JAM) — voda. Min. potr. prům. a výkupu. — 17. Jilek A., Kořál J.: Vázková analýsa a elektroanalýsa, Praha 1956. — 18. Lenfeld J., Hökl J.: Klin. spisy Vys. školy zvěrol., Brno, 13 (1936), 96. — 19. Malingerová N.: Sborník agron. a zoot. fak. VŠZL 1957, 289. — 20. Pleticha, Křížová: Žurn. anal. chim. 9 (1954), 6, 366, ref. Sovětská věda-chemie 3 (1955), 388. — 21. Procházka R.: Dehtová barviva, Praha 1949. — 22. Rose D., Peterson R.: Food Technol. 9 (1953), 369. — 23. Svach M.: Disert. Vys. školy chem. technol., Praha 1953, cit. Šárpy N., Kirchner Š., Prům. potr. 5 (1954), 94. — 24. Šárpy N., Kirchner Š.: Prům. potr. 5 (1954), 94. — 25. Šereda J.: Disert. veter. fak. VŠZL, Brno 1952. — 26. Těťerník D. M., Laptěv P., Kogan M. B.: Proizvodstvenno veterinarnyj kontrol v mjasnoj promyšlennosti, Moskva 1956. — 27. Tomiček O.: Kvantitativní analýsa, Praha 1954. — 28. Vl. nař. č. 43 z 19. listopadu 1941, Sb. 1942, prov. předp. D. — 29. Vokounová-Gerová E., Chalupa J.: Čsl. hyg. epid. mikrob. 4 (1955), 269. — 30. Zatočil O.: Zvrhnutí láku. Nakládání masa, sborník masného průmyslu č. 1. Praha 1951.

К вопросу количественного определения азотистокислых солей в производстве копченых мясных продуктов

Автор разработал колориметрический метод количественного определения азотистокислых солей, с помощью которого можно измерять степень окрашивания, в отличие от первоначального метода Илосвай-Грисса, лишь после алкализации. Путем алкализации достигается существенно более высокая растворимость азокрасок и таким образом устраняется самый большой недостаток первоначального и до сих пор наиболее применяемого метода Илосвай-Грисса.

Этот новый модифицированный метод имеет более широкий диапазон измерений (0,01—2,0 мг% NaNO_2), чем первоначальный метод (0,007—0,07 мг% NaNO_2) и даже шире, чем риваноловый метод (0,05—1,0 мг% NaNO_2).

Чувствительность модифицированного метода почти одинакова, как у первоначального метода, но значительно выше, чем у риванолового метода.

Сопоставляя измерения содержания азотистокислых солей в рассоле, фарше и в копченых мясных изделиях, этот метод, по сравнению с первоначальным методом Илосвай-Грисса, давал результаты у образцов рассола и фарша в среднем на 3,92 % ниже, а у образцов копченых мясных изделий на 7,114 % выше. С целью сопоставления было исследовано всего 58 образцов рассола, 2 образца фарша и 40 образцов с вареных копченых мясных изделий.

В случае необходимости (слабая окраска в результате небольшого содержания азотистокислых солей), метод не исключает проведения более чувствительного измерения без алкализирования окрашенных образцов.

Метод дает возможность стандартно приготовить экстракты, включая и их разбавление, и тем дает также возможность достичь более стандартных результатов.

Для модифицированного метода Илосвай-Грисса точно так же как и для первоначального метода удалось приготовить устойчивые стандартные растворы из неорганических солей, и таким образом создать предпосылки для его широкого применения в практике для санитарного и технологического контроля копченых мясных изделий.

Известным недостатком метода является второстепенная реакция между свободным α -нафтиламином и щелочью натрия, в результате которой возникает желтоватая окраска. Эта реакция при исследовании образцов, содержащих коллоиды, наступает при комнатной температуре приблизительно через час, при исследовании только водных растворов азотистокислых солей — гораздо медленнее. Соблюдением установленного способа прибавления реактивов и проведением измерения не позже 30 минут после диазотирования можно исключить неточность, получающуюся как результат этой реакции.

A Contribution to the Quantitative Determination of Nitrites in Cured Meat Production

A colorimetric method for the quantitative determination of nitrites was worked out, by means of which, when compared with the original Ilosvay-Griess method, it is possible to measure the colouring up to alkalization. Due to the alkalization an essentially higher solubility of azo dyes is obtained and thus greatest drawback of the original and hitherto most employed Ilosvay-Griess method eliminated.

The range of measurability is in the case of this newly modified method essentially wider (0.01—2.0 mg % NaNO_2) than it is the case with the original method (0.007—0.07 mg % NaNO_2) and it is also wider when compared with the rivanol method (0.5—1.0 mg % NaNO_2).

The sensibility of the modified method is nearly the same as that of the original method and is fundamentally higher than in the rivanol method.

In the comparative measurements of the content of nitrites in brine, sausage meat and cured meat products this method showed lower results by 3.92 per cent on the average in the case of the samples of brine and sausage meat, and higher results by 7.114 per cent in the case of cured meat products, when compared with the original Ilosvay-Griess method. In these experiments were examined altogether 58 samples of brine, 2 samples of sausage meat and 40 samples of cured meat products boiled.

In the case of necessity (weak colouring owing to the low content of nitrites) the method does not exclude a more sensitive measuring without the alkalization of a sample coloured.

The method makes possible the standard preparation of extracts, including dilution, whereby results of the more standard character can be obtained.

Another advantage of this method is that for its use the author succeeded in preparing durable solutions of inorganic salts (potassium bichromate and chloride of cobalt) and thus it was possible to provide for its broad utilization in operation, in the hygienic and technological control of the cured meat production.

A certain disadvantage of this method is to be seen in the side-reaction between the free α -naphtylamine and caustic soda lye with the development of yellowish shade. This reaction occurs during the examination of the samples containing colloids at a room temperature after about an hour; when examining mere water solutions of the nitrite the reaction proceeds much more slowly. If the procedure laid down of adding reagents is observed and measurements are made within half an hour after the completion of diazotation, it is possible to eliminate the mistake resulting from the reaction.

Technologie porážení a jatečního opracování skotu ve visu

Технология убоя и обработки крупного рогатого скота в вертикальном положении

Technique of Killing the Cattle and Working Up the Suspended Carcasses at the Slaughter-House

MVDr. V. POKORNÝ — MVDr. J. BELICA

Výzkumný ústav pro maso v Brně, vedoucí: MVDr. Vladimír Pokorný

Došlo dne 4. XI. 1958

Úvod a literární přehled

Stejně jako na jiných úsecích výroby masného průmyslu je snaha zmechanizovat i porážení a opracování skotu zaváděním pokrokových metod opracování na linkách.

V podstatě je možno dnes známé metody na porážení a opracování skotu rozdělit takto:

1. způsob individuálního porážení na stanech;
2. způsob českolipský;
3. způsob vícefázového systému;
4. způsob kompletního opracování ve visu.

Individuální porážení skotu na stanech je charakterisováno tím, že se při porážení větší díl práce provádí přímo na podlaze, respektive na líhách v horizontální poloze. Na jednom místě, tj. na porážecím stanu, se provedou všechny operace. Vykrvení kusu a předpracování kůže se provádí v horizontální poloze. Ke konečnému stažení kůže a dalším operacím se kus zvedá pomocí zařízení různé konstrukce (1). Opracování kusu se provádí zpravidla buď jedním pracovníkem nebo ve dvojicích. Jen málokde se provádí porážení skotu na porážecích stanech specializovaně, tj. tak, že dělníci přecházejí od jednoho kusu ke druhému a provádějí každý svůj úkon (2), např. speciálně omračování apod.

Způsob českolipský: Podstatným znakem tohoto způsobu porážení je, že omračování i vykrvování skotu je soustředěno na jednom místě v hale. Porážecí místo je v podstatě vyvýšený, šikmý, betonový stůl, na který se skot po omračení položí do boční polohy pomocí kovové nebo dřevěné tyče. Vpředu stolu je kovové zábradlí, sloužící jednak k usměrnění pádu hlavy, jednak jako ochrana pracovníka před zraněním při vykrvování (1). Vykrvování se provádí na betonovém stole v horizontální poloze zvířete. Po vykrvení se opracuje kůže na hlavě, useknou se rohy a pak se kus navalí na pojízdné líhy, na nichž leží ve hřbetní poloze. Na líhách se oddělí hlava, stahuje se kůže z končetin, ze slabin, břicha,

hrudníku a s krční krajiny. Líhy na kolejkách umožňují posunování kusu. Po předpracování kůže na líhách a fixaci kusu se mechanicky stahuje kůže za použití dřevěného válce (uprostřed délky o menším průměru), vodorovně upevněného k podlaze, a to od kaudálních partií směrem ke krku. Po vytáhnutí kusu do takové výšky, aby se krk kusu nedotýkal podlahy, vyjme se obsah dutiny břišní a potom obsah dutiny hrudní. Ve vertikální poloze pak následuje rozpůlení kusu a jeho úprava.

Metoda vícefázového systému: Tato metoda je nejvíce rozšířena v NSR a ve skandinávských zemích (3). Metoda vícefázového systému má mnoho různých modifikací. Nejběžnější je tzv. třífázový systém. Název této metody vznikl od rozdělení celého technologického postupu na tři fáze:

I. fáze: Po omrácení se připevní poutací řetěz kolem zadních končetin, kus se vytáhne na vykrvovací dráhu a vykrví se. Krev je zachycována do žlabu k dalšímu zhodnocení. Na vykrvovací dráze, která vede až k porážkovým stanům, se také oddělí hlava. Pak se pomocí elektrického zvedáku kus spustí přímo na líhu do hřbetní polohy.

II. fáze: Odříznou se nožiny, stáhne se kůže ze slabin, břicha, hrudníku a krku do té míry, pokud je ve hřbetní poloze možno, nasekne se spona stydká a kost hrudní a za Achillovy šlachy se nasadí háky k rozepření.

III. fáze: Na rozporce se dokončí stažení kůže (zpravidla ručně), kus se vykolí, rozpůlí, provede se úprava a dále následuje převěšení a zvážení.

V podstatě se jedná tedy o opracování ve visu, jediné s tím rozdílem, že předpracování kůže, včetně odříznutí nožin, naseknutí spony stydké a kosti hrudní a nasazení háků (tzv. druhá fáze) se provádí v horizontální poloze kusu, na líhách a nikoli na závěsné dráze.

Tato metoda vícefázového systému porážení skotu je nejvíce rozšířena a bývá v literatuře označována pod názvem systém *Hornung — Frühwald — Stöhrer* (4). U nás tento systém byl vybudován na bratislavských jatkách.

Způsob kompletního opracování ve visu: Této metody se používá v SSSR, v některých jiných evropských zemích a v USA, kde je známá pod názvem *CAN-PAK* systém (5, 6). Princip metody opracování ve visu spočívá v tom, že po omrácení se zvíře vytáhne na závěsnou dráhu a všechny další operace se pak provádějí na závěsné dráze (ve vertikální poloze).

Naším úkolem bylo stanovit optimální technologický postup při porážení skotu ve visu a zjistit výhody tohoto způsobu proti metodám u nás, případně také v zahraničí běžně používaným. Řešení tohoto problému bylo opodstatněno také tím, že na opracování skotu ve visu nejsou v odborných kruzích jednotné názory.

Metodika

Základem práce byly pokusy s opracováním skotu v několika závodech masného průmyslu u nás, zejména v Krahulčí, Kostelci, Brně, Písku a Přerově. Protože úkolem práce bylo vypracování optimálního technologického postupu při porážení a opracování skotu na lince ve visu, museli jsme se opírat o chronometráž jednotlivých pracovních úkonů a operací a stanovit pracovní takt linky.

Práce zahrnuje technologické operace v tomto sledu: omračování, poutání, vykrvování, stažení kůže z hlavy, její oddělení a opracování, předpracování kůže.

mechanické stahování kůže, vykolování, půlení a úprava (toileta) kusů. Je třeba uvést, že v dalším navržený technologický postup je určen pro linky s porážkovou kapacitou, přiměřenou pro naše poměry a také pro daný způsob opracování, tj. pro kompletní opracování ve visu (ve vertikální poloze) 120 až 200 kusů skotu za směnu.

Výsledky práce

Na základě studia a pokusů jsme dospěli k návrhu technologického postupu při opracování skotu ve visu. V dalším popisujeme stručně jednotlivé operace v příslušném sledu od omračování až po úpravu (toiletu) kusů.

1. **O m r a č o v á n í.** Skot se omračuje v ohradě pro omračování. Tato ohra-da má být vysoká vpředu 120 cm, po straně 90 cm a široká 90 cm. Pod břicho zvířete se zavede od levé strany posunovatelná podesta, po které se omráčené zvíře převálí na betonové pódium s povrchem v podobě mělkého žlabu. Na automatic-kém omračovacím přístroji se nastaví potřebné hodnoty elektrického proudu (120 až 220 V po dobu 10 až 15 sec., udržovací proud o napětí 60 V nechat působit po dobu 10 až 20 sec.); zvíře vykrvit co nejdříve od přepnutí s vyššího napětí na nižší. Pracovník navlhčí mycí houbou místa na srsti, kam budou přiloženy elektrody (krajiny spánkové). Zvířeti se nasadí ohlávka podle konstrukce VÚMR tak, aby obě elektrody přiléhaly na obě krajiny spánkové. Nebude-li možno po-užít omračování elektrickým proudem, provede se omráčení střílečím přístrojem s fixovaným projektilem.

2. **P o u t á n í.** Kus se poutá za obě zadní končetiny. Pouta se připevní za kosti nártní (*metatarsus*). Nevylučuje se však i poutání za jednu končetinu (ob-dobným způsobem jak je řešena na bratislavských jatkách). K poutání se použije řetězu o průměru článků 8 až 10 mm a o větších okách (asi 4 cm). K dispo-sici jsou řetězy o dvou různých délkách 70 a 100 cm. Pracovník přikládá pouta; s boku, obtočí nártu a zaklesne háček do horní části řetězu. Při práci musí dbát největší opatrnosti. Doba poutání, jakož i doba vytahování kusu, musí být mini-mální. Během vytahování kusu na závěsnou dráhu nesmí nikdo z bezpečnostních důvodů stát v bezprostřední blízkosti. Nezávadnost háků, řetězů apod. je nutno důsledně kontrolovat.

3. **V y k r v o v á n í.** Omráčený kus je co nejrychlejším způsobem vytažen na vykrvovací dráhu, jejíž výška od podlahy je 4,5 až 5 m. Při odchytu krve pro technické účely pracovník napárne kůži a podélně přeráže svalstvo s vazivem v dél-ce asi 30 cm; obnaží průdušnici, oddělí jícen od přiléhající tkáně a podváže jej mo-touzem. Pro snadnější manipulaci je možno motouz nahradit vhodnou kovovou svor-kou. Aby se zabránilo znečištění krve bachorovým obsahem, provede se podvázání jí-cnu před sběrným žlabem. Potom se provede vykrvovací vpich, a to tím způso-bem, že se špičkou nože prořízne cévy v tzv. uzlu. Pak pracovník provede řezy kolem mulce. Všechny tyto úkony se provádějí co nejrychleji, bez průtahů. Krev vytéká z vykrvovací rány do sběrného žlabu pro krev, který je vykachličkovaný, betonový nebo kovový; jeho povrch je hladký, lehce čistitelný a dno má spád k od-tokovému otvoru. Pro délku žlabu je nutno počítat s tím, že vytékání krve u jed-noho kusu trvá šest minut. Délku žlabu je tedy nutno volit podle pracovního taktu linky (např. při pracovním taktu tři minuty má být žlab dlouhý 3 až 3,6 m, ši-roký 70 až 90 cm, výška stěn žlabu 60 až 70 cm od podlahy, při čemž čela žlabu

mají výkroj, výška čela žlabu od podlahy 40 až 50 cm). Ze sběrného žlabu stéká krev samospádem do nižšího patra na technické zpracování. Není-li závod etážově řešen, vypouští se krev na nejnižším místě žlabu do konví. Při odchytu potravní krve napárne pracovník kůži a provede ligaturu jícnu stejným způsobem jako při získávání technické krve. Asi 20 cm před rukojetí kosti hrudní (*manubrium sterni*) a 1 cm vlevo od mediální roviny kolmo na krční svaly, se vpíche dutý nůž, který pak směřuje mezi prvním pravým a levým žebrem do hrudní dutiny poněkud vpravo a zasáhne pravou srdeční předsíň. Použije se dutého nože, který byl navržen a vyzkoušen na VÚMR. Jeho délka je 500 mm a průměr 30 mm. Krev protéká dutým nožem a gumovou hadicí z potravinářské gumy (dlouhou 1,5 až 2 m) do sběrné konve à 25 l. Do jedné konve se zachycuje krev asi ze dvou kusů. Podle dalšího určení se krev v konvi buď defibrinuje (mechanickým defibrinátorem) nebo stabilisuje 10% roztokem stabilisačního prostředku v množství 0,75 l na 1 konev. Krev se odebírá dutým nožem po dobu jedné minuty, čímž se zachytí 75 % z vytékajícího množství krve. Po vyjmutí dutého nože se provede obyčejným nožem proříznutí cév v tzv. uzlu, stejným způsobem jako u získávání technické krve. Rovněž se provedou hluboké řezy kolem mulce. Krev pak vytéká zbývajících pět minut do sběrného žlabu a je určena k technickým účelům. Konve, naplněné krví, se zakryjí a vyčká se do konečného rozhodnutí veterinární prohlídky. Konve musí být označeny čísly kusů, od nichž byla krev získána. Po vykrvení (jednoho až dvou kusů) se dutý nůž i celé příslušenství, se kterým přijde potravní krev do styku, omyjí studenou vodou, pak teplou vodou (65° C). Po omytí se podrobí sterilizaci v horkovzdušném sterilizátoru a po vychladnutí je schopen dalšího používání.

4. Stažení kůže s hlavy, její oddělení a opracování. Stažení kůže s hlavy a oddělení hlavy se provádí mimo vykrvovací žlab (za žlabem), při čemž je vhodné počítat s mělkým žlábkem na splachování krve, odkapané při stahování kůže s hlavy a při oddělení hlavy. Pracovník stáhne kůži s hlavy tak, že po obříznutí mulce vede naparovací řez od mulce středem kosti nosní k čelu asi 1 cm nad průsečík uhlopříček od očí k protilehlým kořenům rohů; od tohoto místa se řez vidlicovitě rozdvíjí a pokračuje jednak k temennímu okraji levého rohu, jednak k temennímu okraji pravého rohu. Rohy se obříznou tak, aby u nich nezůstala žádná kůže. Provede se rovněž naparovací řez od vykrvovacího vpichu směrem k mulci po mediální linii mezisaničí. Stažení kůže se provede obyčejným nožem. Při oddělování hlavy od kusu se provede příčný řez, jímž se přerízne svalovina na spodní (ventrální) straně krku a zároveň průdušnice mezi 4. a 5. prstenec. Pracovník uvolní jícen od okolního vaziva a přerízne jej těsně při jeho ústí do hltanu. Hlava se oddělí nožem mezi týlní kostí a atlasem. Hlavy musí být evidovány tak, aby bylo známo, ke kterému kusu patří. To je možno zorganizovat tak, že se jednotlivě kladou, eventuálně zavěšují vedle sebe v řadě. S oddělené hlavy se odstraní rohy pomocí cirkulární pily nebo stroje k uštípnutí rohů. Pracovník zavěsí hlavu na hák pojízdného vozíku za úhel spodní čelisti, vyjme oční bulvy, pak přeríznutím svaloviny při okrajích spodních čelistí uvolní jazyk. Hlavu vypláchne proudem tekoucí vody. Prohlížeč provede veterinární prohlídku. Po veterinární prohlídce odejme sběrač štítnou žlázu a příštítná tělíska, očistí je od zbytků cizí tkáně a dá je zmrazit. Hlavy, zavěšené na pojízdném vozíku, se odvezou do místnosti pro bourání hlav, kde se odstraní mulec a jazyk s podjazyčím. Takto upravené hlavy se vloží do speciálního stroje na púlení hlav. Po rozpúlení se vyjme mozek, hypofýsa, eventuálně epifýsa. Hypofýsa, eventuálně epifýsa, se očistí od cizorodého odpadu a dají se zmrazit. Provedení všech operací od počátku omráčení až po vyjmutí hypofýsy, eventuálně epifýsy, musí být co nejrychlejší, aby neutrpěla jejich jakost (maximálně 45 minut od omráčení).

5. **Předpracování kůže.** Po oddělení hlavy se kus převěsí s vykrvovací dráhy na dráhu opracovací (výška opracovací dráhy 3,60 až 4,10 m). Délku opracovací dráhy je nutno volit podle kapacity linky tak, aby mezi jednotlivými stanovišti byla vzdálenost 1,8 až 2 m. Při předpracování kůže se jednotlivé úkony provádějí ve značném výškovém rozpětí. Tento výškový rozdíl je kompenzován pracovními pódií, a to buď pevnými nebo pohyblivými. Opracování skotu ve visu v našich podmínkách vyžaduje nejméně dvou pódíí (výška prvního 210 až 230 cm, výška druhého 100 až 120 cm). S úspěchem je však možno použít pódíí pohyblivých, zejména místo pevného pódia, o výšce 100 až 120 cm, K předpracování kůže skotu pro mechanické stahování se používá jak obyčejných nožů, tak i nožů diskových (např. značky EFA). Při použití diskového nože nutno naparovací řez provést obyčejným nožem. Nejdříve se nařízne kůže na obou zadních nohách od hleznového kloubu k místu přiložení poutacího řetězu, obnaží se Achillovy šlachy a do otvoru mezi Achillovými šlachami a kostí holenní se zasunou nosné háky pojízdných koček. Kus se po nakloněné části vykrvovací dráhy spustí na dráhu opracovací, kde se sejme poutací řetěz, který se zpětnou drahou odešle k místu vytahování kusu na vykrvovací dráhu. Pak se sejme kůže s obou zadních nožin a nožiny se odříznou v hleznovém kloubu, a to mezi hlavní kostí nártní a kostmi zánartními. U starších kusů se nožiny odříznou pomocí elektrické pily. Zároveň se odříznuté zadní nožiny skluzem odsunou do přistavené sběrné nádoby (vozíku). Pak provedou pracovníci roztažení zadních končetin pomocí páky. Dále se nožem sejímá kůže s vnitřní strany klížek a stehenní krajiny, nejdříve s jedné a pak s druhé strany. Nožem se nařízne kůže s vnitřní strany od žíní ke kořenu oháňky. Pak se obřízne a uvolní konečník. Všechny uvedené operace se provádějí s pódia 210 až 230 cm vysokého. S pohyblivého pódia se provádějí tyto operace: natáhne se okraj kůže s klížky a nožem se sejímá kůže s vemene ke slabinám. Po stažení kůže s vemene se nožem opatrně odřízne mléčná žláza tak, aby potřísnění masa a kůže mlékem bylo minimální. U býků a volů se odstraní nožem pyj. Varlata u býků se rovněž odříznou. Oddělená mléčná žláza se odsune skluzem (jiným než pro nožiny) s pódia k veterinární prohlídce. Tímtež skluzem se odsunují varlata. Pyje je možno odsunovat stejným skluzem jako nožiny. Všechny orgány, odsunované s linky, musí být evidovány tak, aby byla známa jejich příslušnost k patřičnému kusu. Pracovník na pohyblivém pódiu napárne kůži po bílé čáře až ke špičce hrudí. Rukou se odtahuje okraj kůže, sejmuté s vemene, a nožem seshora dolů se sejímá kůže s břicha a hrudníku. Pracovník, provádějící odsun vedlejších produktů, přistavuje ke konci skluzu nádoby a vemena zavěšuje v příslušném pořadí na háky k veterinární prohlídce. S podlahy se provádějí tyto pracovní operace: sejme se kůže s předních nožin a nožiny se odříznou v zápěstním kloubu, a to mezi kostmi zápěstními a kostmi záprstními. Odříznuté nožiny se ukládají do sběrné nádoby (vozíku). Stáhne se kůže s předplecí, plece a jedné třetiny krku. Během předpracování kůže se provedou naparovací řezy tak, že se hlavní řez vede od místa vykrvovacího vpichu mediánní rovinou po bílé čáře až k řitnímu otvoru. Napárnutí kůže se zadních končetin se provede na plantární straně tak, že se řez vede od patek až k hleznovému kloubu a odtud nejkratším směrem po vnitřní straně kýty asi do jedné třetiny od oháňky k vemeni (šourku). Přední končetiny se napárnou po dorsální straně od paznehtů ke kloubu zápěstnímu a odtud nejkratším směrem ke špičce hrudí.

6. **Mechanické stahování kůže.** Provádí se bakinským způsobem (sdírání kůže směrem od krku k oháňce), resp. českolipským způsobem (od oháňky ke krku). U vlastního mechanického stahování kůže pracovník současně dohlíží na průběh sdírání kůže a pomáhá uvolňovat kůži nožem, aby nedocházelo

k záděrám tuku a masa. Po stažení musí být kůže řádně a přesně označena, aby bylo známo, ke kterému kusu náleží.

7. **V y k o l o v á n í.** Provádí se s pódia, které má tyto rozměry: výška 120 cm, délka 200 cm a šířka 100 cm. Tyto rozměry pódia zaručují pohodlnou a bezpečnou práci na lince bez nuceného posunu kusů pro jednoho vykolovače. Plocha pódia za pracovníkem má být mírně nakloněna (směrem od kusu), což usnadňuje odsun po vykolení. Pódium má navazovat (skluzem) na manipulační a prohlížecký stůl (výška stolu 80 cm, délka 200 cm a šířka 100 cm), který je přepážkou, 5 až 10 cm vysokou, rozdělen na dvě části, z nichž větší (120 cm) je určena pro manipulaci a veterinární prohlídku střev, předžaludků a sleziny, menší (80 cm) pro játra, srdce a plíce s průdušnicí. Před vlastním vykolováním vnitřností se rozsekne (resp. rozpůlí) stydká spona a hrudní kost. Nožem se prořízne stěna břišní přesně po bílé čáře mezi stydkou sponou a hrudní kostí. Je nutno dbát, aby nedošlo k proříznutí vnitřností. U krav a jalovic se vyjme děloha tak, aby se nepoškodil močový měchýř. Vaječníky se ponechávají u kusu až do odejmutí sběračem (po veterinární prohlídce kusu). Odřízne se opatrně močový měchýř s částí močové roury a u samců i s neporušenou prostatou. Pracovník odstraní vymáčknutím z měchýře moč (poblíže stolu nad odpadem) a uloží jej do nádoby, určené pro střevárnu. Sejme se tukové pletivo s předžaludků a žaludku. Tukové pletivo se přidrží levou rukou u vrchní brázdý bachorové, jedním řezem se nařízne a pohybem levé ruky dolů se stáhne s bachoru. Střeva se převrhnou na levou stranu bachoru, tukové pletivo se napne vzhůru a odřízne se podél slezu. Pak se uvolní konečník v pánevní dutině, *mesenterium* v břišní dutině, *pankreas* od jater a celý žaludeční a střevní trakt se převálí na manipulační a prohlížecký stůl. Na stole se oddělí žaludeční trakt od střevního přefixnutím dvanácterníku asi 30 cm za žaludkem a oba konce se zauzlují. Na stole se sejme svalovina jícnu a uloží do nádoby; rovněž jícen, zbarvený svalové vrstvy, se odřízne a uloží do nádoby. Slezina se oddělí od předžaludků a zavěsí na hák k veterinární prohlídce. *Pankreas* zůstává do veterinární prohlídky u střev. Z kusu se vyjmou játra i se žlučovými měchýřem a odloží se k veterinární prohlídce. Kruhovitým pohybem nože se rozřízne bránice na přechodu mezi částí šlašitou a svalovou (část svalová zůstává u kusu). Pracovník uchopí průdušnici, přeřízne a táhne ji směrem nahoru. Přeřeže vazy, spojující osrdí s stěnami dutiny hrudní. Vyjme osrdí (srdce s osrdečnickovým tukovým pletivem a částí aorty, plíce s průdušnicí a šlašitou částí bránice) a odloží na manipulační stůl. Nařízne se chrupavčitý prstenec průdušnice a za uvolněný prstenec se zavěsí osrdí na hák k veterinární prohlídce. Pak se odřízne osrdečnickový lůž, který se zavěsí k ostatnímu loži. Pracovník vyloupne obě ledviny a nechá je zavěšeny na močovodech. Do veterinární prohlídky se ponechají u kusu rovněž nadledvinky a ledvinový lůž. Veterinární lékař provede prohlídku kusu. Nezjistí-li se u kusu závady, odstraní sběrač nadledvinky a vaječníky. Vyjmou se rovněž obě ledviny (uloží se na schránky), pánevní a ledvinový lůž (pověsí se na háky pojízdného vozíku). Je-li kus závadný, odsune se na vedlejší kolej, kde se provede další podrobná prohlídka. S kusem se pak naloží podle pokynů veterinárního lékaře.

8. **P ů l e n í k u s ů.** Provádí se elektrickou pilou. Při pūlení kusu stojí pracovník zpravidla na pódium. K provádění této operace je velmi výhodné používat zdvihací pódium (např. u nás výrobek ČKD Chocen). Při pūlení kusu pomocí elektrické pily se zpravidla nožem naznačí řez od hřbetní strany a nařízne svalovina na dorsální části krku. Pak pracovník rozřízne kus vpravo o 7 až 8 mm od střední čáry páteře, aby se neporušila mícha. Ohánka a masitá část diafragmy

(veverka) zůstávají u levé pülky. Kus se zpravidla pülí elektrickou pilou po krční obrátle, které se potom rozsekávají sekáčem. Po rozpülení kusu se sejme roztahovací zařízení (tyčka).

9. Úprava kusu (toileta). Nejdříve se provádí suchá úprava pülek, která spočívá ve vyjmutí míchy z páteřního kanálu, odstranění brzlíku, pohmožděnin, krevních podlitin, zbytkü šlašité části bránice, zbytkü vnějších pohlavních orgánü, trášní masa a tuku, zakrvavěných částí, zejména na krčních partiích apod. Jednotlivé části (odřezky) se vkládají do zvláštních nádob; nepoživatelné odřezky přicházejí do nádoby pro konfiskáty. Následuje mokrá úprava kusu, která má za účel odstranit především makroskopicky viditelnou nečistotu, případně nežádoucí mikroöoru na povrchu kusu. Mokrá úprava se provede tak, že se pitnou, zdravotně nezávadnou vodou vypláchne pomocí hadice, napojené na vodovodní síť, dutina břišní, dutina hrudní a krční partie kusu. Pülky se podrobí veterinární prohlídce a označí se razítkem. Potom se pülky zváží, oklasifikují a odsunou do chladírny.

Pro lepší přehlednost uvádíme návrh organizace práce při porážení skotu na lince ve visu o kapacitě 200 ks/420 min. (pracovní takt linky 126 sec.):

Číslo operace	Název operace	Průměrná doba k provedení operace v sec.	Počet pracovníkú, provádějících operace	Koeficient využití pracovního taktu
1.	Přihon z čekacího boxu na porážku (vzdálenost 10 m)	49	2	0,82
2.	Omráčení zvířete, včetně přípravy	2 × 53		
3.	Nasazení pouta na zadní končetiny	27		
4.	Vytažení kusu na vykrvovací dráhu	25		
		207		
5.	Posun kusu po vykrvovací dráze	15	1	0,61
6.	Napárnutí kúže na krku	10		
7.	Uvolnění a podvázání jicnu	15		
8.	Provedení vykrvovacího vpichu a provedení řezü do mulce	22		
9.	Posun kusu mimo vykrvovací žlab	15		
		77		
10.	Stažení kúže s hlavy a posun kusu	115	1	0,91
		115		
11.	Přeřiznutí prúdušnice, jicnu a jeho uvolnění	18	1	0,81
12.	Oddělení hlavy a její odložení	38		
13.	Posun kusu	15		
14.	Uřiznutí rohü a zavěšení hlavy	31		
		102		
15.	Příprava hlavy k veterinární prohlídce (vyřiznutí očí, uvolnění jazyku, jeho očištění a osprchování hlavy proudem vody)	105	1	0,83
		105		

Číslo operace	Název operace	Průměrná doba k provedení operace v sec.	Počet pracovníků, provádějících operace	Koeficient využití pracovního taktu
16.	Obnažení Achillových šlach a zasunutí háků koček za obnažené šlachy	34	2	1,00
17.	Spuštění kusu s vykrvovací dráhy na dráhu opracovací	22		
18.	Sejmutí poutacího řetězu a jeho odeslání k místu poutání	14		
19.	Sejmutí kůže s levé zadní nožiny, uříznutí nožiny a odsun skluzem	23		
20.	Sejmutí kůže s pravé zadní nožiny, uříznutí nožiny a odsun skluzem	23		
21.	Sejmutí kůže s klišky a stehenní krajiny levé zadní končetiny	32		
22.	Sejmutí kůže s klišky a stehenní krajiny pravé zadní končetiny	32		
23.	Naríznutí kůže na oháňce	13		
24.	Obříznutí a uvolnění konečnicku	9		
25.	Roztažení kusu (rozpínání)	34		
26.	Posun kusu	15		
		251		
27.	Sejmutí kůže s vemene (resp. varlat) ke slabinám	82	2	0,69
28.	Uříznutí vemene (resp. varlat a pyje) a spuštění skluzem	30		
29.	Napárnutí kůže po bílé čáře a sejmutí kůže s břicha a hrudníku do stran	63		
		175		
30.	Posun kusu	15	1	0,98
31.	Sejmutí kůže s levé přední nožiny, uříznutí a odložení nožiny	21		
32.	Sejmutí kůže s pravé přední nožiny, uříznutí a odložení nožiny	21		
33.	Sejmutí kůže s předplecí, plece a jedné třetiny krku	66		
		123		
34.	Prisunutí kusu k místu mechanického stahování kůže	18	2	0,94
35.	Upevnění předních končetin k fixační traverse	14		
36.	Upevnění kůže s předních noh do držáků (řetízkových smyček)	26		
37.	Vlastní mechanické stahování kůže	2 × 65		
38.	Spuštění kůže, uvolnění z držáků a odsun k dalšímu opracování	28		
39.	Orazítkování kusu číslem, vystřiženým na kůži	20		
40.	Prisunutí kusu k místu vykolování	20		
		256		

Číslo operace	Název operace	Průměrná doba k provedení operace v sec.	Počet pracovníků, provádějících operace	Koeficient využití pracovního taktu
41.	Rozseknutí (resp. rozpůlení) spony stydké a kosti hrudní	42	1	1,00
42.	Naríznutí stěny břišní po bílé čáře mezi stydkou sponou a hrudní kostí	24		
43.	Vyjmutí dělohy	14		
44.	Vyjmutí močového měchýře s částí močové roury (resp. s prostatou), vymáčknutí moče a uložení močového měchýře do nádoby	19		
45.	Sejmutí tukového pletiva s předžaludků a žaludku	26		
		125		
46.	Posun kusu a uvolnění konečníku, mesenteria, pankreatu od jater a vyklopení celého žaludečního a střevního traktu na stůl	42	1	0,98
47.	Vyjmutí jater	16		
48.	Rozříznutí bránice na přechodu mezi částí šlašitou a svalovou	14		
49.	Vyjmutí osrdí a odložení na stůl	18		
50.	Vyloupnutí ledvin a ledvinového lože	12		
51.	Vyjmutí ledvin a ledvinového lože	22		
		124		
52.	Oddělení žaludečního traktu od střevního, přeříznutí dvanácterníku a zauzlování obou konců	19	1	1,02
53.	Sejmutí svaloviny jícnu a uložení do nádoby	25		
54.	Oddělení sleziny od předžaludků, zbavení předžaludků a žaludku zbytků tuku a zavěšení na hák	26		
55.	Odložení dělohy do nádoby pro konfiskáty	12		
56.	Omytí a zavěšení drobů na hák	20		
57.	Odříznutí osrdečnickového lože a brzlíku	12		
58.	Přisunutí kusu k místu půlení	15		
		129		
59.	Půlení kusu el. pilou, včetně naznačení směru půlení nožem a přeříznutí šijového vazů	63	1	0,90
60.	Sejmutí rozpínacího zařízení a odnesení tyčky k místu rozpínání	50		
		113		
61.	Odsunutí půlek k místu úpravy	15	2	0,78
62.	Úprava půlek	160		
63.	Odsun půlek k vážení (5 m)	22		
		197		
64.	Odsun zvážených půlek do chladírny (30 m)	130	1	1,03
		130		

Celkem: 2.229 sec., tj. 37 min. 9 sec., 20 pracovníků, průměrný koeficient využití pracovního taktu 0,88.

Při opracování skotu na lince ve visu musí být pamatováno na veterinární prohlídku. K tomu, abychom mohli veterinární prohlídku vřadit do linky, je nutno znát časy, potřebné k prohlédnutí jednotlivých orgánů. Za tímto účelem jsme provedli chronometráž na brněnských jatkách, přičemž pracovník Ústavu pro hygienu a technologii potravin VF VŠZL prováděl prohlídku jednotlivých orgánů a pulek. Na základě tohoto měření byly stanoveny doby běžné veterinární prohlídky a vypracována organizace veterinární prohlídky, např. při porážkové kapacitě 200 ks skotu za směnu (sedm pracovních hodin, pracovní takt linky 126 sec.):

1. vet. pracovník:	dohled na průběh vykrvování, na hygienu prostředí a hygienu opracování jednotlivých kusů skotu, odstraňování zjištěných závad a nedostatků, vedení písemné agendy	126 sec.
2. vet. pracovník:	hlava vemeno nebo pohlavní orgány samčí nožiny	70 sec. 40 sec. 16 sec.
3. vet. pracovník:	střeva s okružím a pankreatem játra se žlučovým měchýřem předžaludky se žaludkem a lojem děloha s pochvou a ochoodem močový měchýř	60 sec. 30 sec. 10 sec. 16 sec. 10 sec.
4. vet. pracovník	plice s průdušnicí a srdce s osrdečníkem a bránici ledviny s ledvinovým lojem slezina	80 sec. 30 sec. 16 sec.
5. vet. pracovník:	maso před púlením a maso v púlkách podezřelé kusy na vedlejší koleji	40 sec. 86 sec. *)

*) Doba 86 sec. je na prohlídku podezřelého kusu nepostačující. Ježto podezřelých kusů se nevyskytuje velké procento, získá se tím více času na podrobnější veterinární prohlídku.

Diskuse

Omračování skotu dá se vhodně provádět elektrickým proudem střídavým, a to pomocí elektrické ohlávky (prototyp VÚMR). Většina způsobů elektrického omračování skotu význačně narušuje srdeční činnost, zejména proto, že elektrický proud prochází tímto důležitým orgánem a ve značném procentu případů dochází k zastavení srdeční činnosti a z toho resultujícím nedostatečným vykrvení zvířat. Tento nepříznivý vliv na srdeční sval se eliminuje použitím elektrické ohlávky, kdy při bitemporálním uložení elektrod prochází elektrický proud přímo mozkem.

Uvedeného způsobu omračování skotu možno výhodně používat zejména u českolipské linky, kde se provádí vykrvování v leže, na betonovém pódiu. Použití elektrického proudu však předpokládá, že vykrvovací vpich bude proveden včas a nepřekročí dobu 25 sec. od začátku působení elektrického proudu, ježto uvedená doba je kritická pro vznik extravazátů (krvácením) na orgánech (srdce, plíce, střeva apod.). Vysvětlení vzniku extravazátů nutno spojit s prudkým zvý-

šením krevního tlaku, který je ze všech způsobů omračování u použití elektrického proudu nejvýraznější. Proto tam, kde nebude možné podstatně zkrátit dobu poutání omráčených zvířat za končetiny a jejich vytažení na závěsnou vykrvovací dráhu, je vhodnější místo elektrického proudu používat střílecího přístroje s fixovaným projektilem.

Poutací řetěz se nesmí klást ani do spěnkových kloubů, ani do hleznových kloubů a výše. Při poutání za spěnkové klouby je nebezpečí roztržení kloubních vazů a spadnutí kusu se závěsné dráhy. Při upevňování pout za hleznové klouby, případně výše, se po stažení kůže zjišťují zhmožděnin, snižující kvalitu masa. Je tedy jediné správné připevňovat pouta za kosti nártní (*metatarsus*).

Souhlasíme s názory četných autorů, kteří tvrdí, že při vykrvování ve visu se zvíře vykrví úplněji a rychleji a tím se zvýší i trvanlivost masa (7, 8, 9, 10, 11, 12, 13). Důležitým předpokladem toho ovšem musí být zachovaná srdeční činnost, jež ve značné míře závisí na způsobu a technice omračování. Nedostatkem vykrvování skotu ve visu je ovšem hromadění krve v dolní části krku a hlavy. Aby se tento nedostatek odstranil, nutno provést, jak také doporučují někteří autoři (14, 15, 16), hluboké řezy kolem mulce.

Nevýhodou vykrvování skotu ve visu je znečišťování krve bachorovým obsahem, vytékajícím nosními otvory. Zabraňuje se tomu tím, že se zvířeti, těsně před vykrvovacím vpichem provede ligatura jícnu motouzem, resp. použitím vhodných kovových svorek. Znečištění krve bachorovým obsahem zabráníme však nejspolehlivěji tím, že se podvázání bachoru provede před vykrvovacím žlabem. Aby se zamezilo smíchání krve s obsahem bachoru, navrhuji někteří autoři (14) u žlabů na krev udělat přehrádky tak, aby obsah bachoru a krev se odváděly po oddělených kanálech. U tohoto návrhu musíme však počítat s tím, že nejde jen o znečištění krve, ale také o znečištění dutiny ústní a nosní bachorovým obsahem.

Při stahování kůže s hlavy se vyskytuje několik pracovních postupů, které se od sebe liší především ve směru základních naparovacích řezů a různým sledem jednotlivých úkonů. Nutno však říci, že je třeba dodržovat výše popsaný technologický postup, který vyhovuje především kožedělnému průmyslu. S kůží se lépe manipuluje (např. lépe se nasoluje, čilko je širší a netrhá se) a nejsou poškozená líčka.

Předpracování kůže, pulení kusů a úpravu kusů lze s výhodou provádět s pohyblivých pódíí (výrobce ČKD Chocẽ) místo s pevných pódíí. Zkušenosti totiž ukazují, že pracovní výkon závisí na vhodnosti pracovního místa. Protože výška pracovníků není stejná a rovněž délka jednotlivých kusů je různá, musí se pracovníci v jednom případě ke kusu natahovat a v druhém případě musí pracovat v předklonu. Proto při možnosti regulace výšky pódia se pracovníkům daleko pohodlněji pracuje a mohou podat vyšší výkony.

Pro naše poměry k mechanickému stahování kůže skotu jsou výhodné způsoby bakinský a českolipský. Je možno uvažovat ještě o způsobu omském, což je v podstatě způsob bakinský s kontinuálním chodem.

Výhodou bakinského způsobu mechanického stahování kůže je menší plocha ručně předpracované kůže (30 až 40 %), takže 60 až 70 % plochy je možno stahovat mechanicky. Nutno však podotknout, že u tučných kusů je třeba předpracovat ručně větší plochu než u kusů hubenějších. U českolipského způsobu je třeba ručně předpracovat poněkud větší plochu (50 až 60 %), avšak nedochází při něm tak často k vytrhávání tuku a svaloviny (zejména v zadních partiích). Mechanické stahování kůže českolipským způsobem probíhá vcelku rychleji a v kratší době než u bakinského způsobu; ovšem tato rychlost je na úkor větší plochy ručně předpracované kůže.

U vykolování nutno zdůraznit, že veškeré orgány, které se vyjmou z kusu a podléhají veterinární prohlídce, musí být evidovány tak, aby bylo známo, ke kterému kusu náležejí. To je možno zorganizovat tak, že příslušné orgány se kladou jednotlivě vedle sebe v řadě, např. na háky (pokud se veterinárně prohlížejí v zavěšovaném stavu) nebo na vykolovací stůl, případně prohlížecký stůl.

Zároveň nemůžeme souhlasit s praxí u nás běžnou, kdy se průdušnice, plíce a srdce očišťují od krve tím, že se ponoří (nebo vhodí) do nádoby s vodou. Výměna vody je za běžných podmínek obtížná a neúčinná a takto znečištěná voda se snadno dostává průdušnicí do plic a přes velké cévy i do srdce. Abychom se vyvarovali tohoto hygienického nedostatku, navrhuje se sprchování drobů před vlastní veterinární prohlídkou i po ní. Je třeba zdůraznit, že vyjímání vnitřností a jiných částí kusu je nutno provádět přesně podle stanovených linií a musí se přísně dbát toho, aby se zbytečně neporušila celistvost těchto orgánů. Jelikož není přípustno, aby maso a tuk byly znečišťovány obsahem zažívacího traktu, moči a žluči, musí se vnitřnosti vyjmát bez porězů a co nejdříve.

U pülání kusů je žádoucí i z veterinárního hlediska, aby se ve větší míře používalo vhodných elektrických pil. Při práci s nimi vzniká hladká a přehledná řezná plocha (výhoda např. při zjišťování tuberkulózy páteře) a maso takto pülaných kusů působí libivějším dojmem.

Úpravě (toiletě) kusů není u nás zatím věnována patřičná pozornost, ačkoli v zahraničí (např. v SSSR a USA) patří úprava právem mezi nejdůležitější úseky opracování skotu. Není pochyb o tom, že již v blízké době bude tato nutná operace plně doceněna. Musíme však zdůraznit, že zavedení důkladnější úpravy půlek, resp. čtvrtí, nesmí v žádném případě vést ke zhoršení kvality opracování kusů v předcházejících operacích.

Veterinární prohlídka skotu, poráženého na lince ve visu, je řádně proveditelná, což potvrzují jak zkušenosti v zahraničí, tak také zkušenosti s porážením prasat u nás. U uvedené linky má však veterinární prohlídka některé svérázné rysy, které vyžadují:

- a) rozdělit jednotlivé veterinární pracovníky na příslušná místa linky;
- b) zorganizovat veterinární prohlídku tak, aby veterinární pracovníci měli pevná pracoviště pro vyšetřování (taková, že materiál je stále k pracovníkovi přisunován);
- c) sloučit veterinární prohlídku jednotlivých orgánů tak, aby byla časově skoordinována s pracovním taktem linky;
- d) komplikované případy, tj. podezřelé kusy či orgány, vyžadující podrobnějšího vyšetření, budou odsunuty na vedlejší kolej, kde budou moci být podrobněji prohlédnuty;
- e) orgány pro veterinární prohlídku musí být řádně a přesně označeny, aby nedošlo k záměně, tj. aby mohla být vždy bezpečně zjištěna příslušnost orgánů ke kusu;
- f) veterinární prohlídka půlek a orgánů nutně vyžaduje především dostatečné přirozené osvětlení;
- g) je možno doporučit, aby veterinární personál prováděl pravidelná vzájemná střídání svých pracovišť.

K námi zjištěným časům veterinární prohlídky nutno podotknout, že jsou poněkud volnější než se někdy uvádí v literatuře, ovšem veterinární prohlídka je důkladnější.

Hodnotíme-li celkově linku pro porázení a kompletní opracování skotu ve visu, zjistíme, že proti jiným metodám má mnoho důležitých výhod:

1. Pracovníci jsou fyzicky šetřeni, práce se provádí bez velké námahy. Počet zranění nožem je proti jiným metodám nepatrný. Méně úrazů je v důsledku příznivějších poměrů než např. při práci na porážecích stanech.

2. Pracovní výkon je kontinuální, rovnoměrný, pracovní postup je rozdělen na určité ruční úkony. Činnost jednoho pracovníka je závislá na druhém, nemůže být přerušována, aniž se poruší celý proces.

3. Kontrola kvality práce je lehce proveditelná.

4. Provedením vykrvovacího vpichu ve visu je vykrvení dokonalejší, což se příznivě projeví v trvanlivosti masa.

5. Může být získána hygienicky nezávadná krev.

6. Není třeba střídavého zvedání a spouštění opracovaných kusů, jak je tomu u vícefázového systému.

7. Celý proces je hygieničtější, neboť je rozdělen na nečistou a čistou část a je prováděn ve visu, takže nedochází k znečištění masa, kůže apod. Rovněž styk rukou s masem je minimální. Zkrátí se doba první operace k přesunu půlek do chladíren, čímž je maso vystaveno kratší dobu nepříznivým tepelným podmínkám.

8. Je provedena specializace jednotlivých pracovníků na určité operace a úkony.

9. Zvýší se produktivita práce, sníží se ztrátové časy a vlastní náklady na opracování skotu.

10. Sníží se nároky na pracovní prostor.

Jak je vidět z výše uvedeného, má linka kompletního opracování skotu ve visu mnoho předností a patří mezi nejpokrokovější metody v současném jatečnictví.

Souhrn

Autoři na základě studií a pokusů uvádějí návrh postupu při porážení a opracování skotu na lince ve visu. V článku je rozpracován jak technologický postup (od omračování skotu po úpravu kusů), tak i organizace veterinární prohlídky na lince.

Literatura

1. Matyáš Z. — Hladký Č.: Vybrané kapitoly z hygieny a technologie masa jatečných zvířat a drůbeže. Učební texty VF VŠZ v Brně, 1954. — 2. Lázeňský J.: Zpracování skotu na jatkách v Ostravě. Dis. práce vet. fak. Brno 1950. — 3. Wernberg N. E.: Przemysłowe urządzenia rzeźniacze w krajach skandynawskich. Gosp. mięsna 1956, č. 9, str. 26. — 4. Ogulewicz J.: Postęp techniczny i kierunki rozwoju techniki w przemyśle mięsnym. Gosp. mięsna 1957, č. 6, str. 2. — 5. Ziemba J. V.: Beef Dressing "On the Rail". Food Engineering, 1952, April, str. 89 a 172. — 6. Ziemba J. V.: Liebmann opens first U. S. "On the Rail", Beef kill. Meat 1953, únor, str. 22, 44, 99. — 7. Frühwald O.: Hygienische und rationelle Rinderschlachtung durch Entbluten im Hängen und Phasenschlachtenanlage. Die Fleischwirtschaft 1957, č. 2, str. 67. — 8. Lubadel I.: Rinderschlachtung im Fließbandsystem. Der Fleischermeister 1955, č. 4, str. 12. — 9. Wagemann H.: Neuzeitliche Schlachthoftechnik. Berlin 1954. — 10. VŮMEPP: Ustájení a jateční opracování dobytka. Záv. zpráva výzk. úkolu. Praha 1952/53. — 11. Keller H.: Die Hauptursache der Keimhaltigkeit des Schlachtblutes und des Fleisches gesunder Schlachttiere. Die Fleischwirtschaft 1942, č. 3, str. 39. — 12. Anfimov A. N. — Škundina P. M.: Uboj skota i razdelka tuš. Moskva 1956. — 13. Matyáš

Z. — Neuman K.: Vykrvování jatečných zvířat dutým nožem. Průmysl potravin 1954, č. 1, str. 12. — 14. Teternik D. M. — Laptev F. P. — Kogan M. B.: Proizvodstvenno-veterinarnyj kontrol v mjasnoj promyšlennosti. Moskva 1956. — 15. Höckl J. — Matyáš Z.: Škody na mase a živočišných surovinách při zpracování zvířat na jatkách. Praha 1951. — 15. Šašin N. V.: Jateční zpracování dobytka. Praha 1953.

Технология убоя и обработки крупного рогатого скота в вертикальном положении

Авторы на основе исследования и заложенных опытов описывают технологический процесс убоя и обработки туш крупного рогатого скота в вертикальном положении. В статье разработаны как технологический метод (начиная оглушением и кончая разделкой туш), так и организация ветеринарной экспертизы на поточной линии.

Technique of Killing the Cattle and Working Up the Suspended Carcasses at the Slaughter-House

On the basis of investigations and experiments the authors suggest killing procedure for the cattle and the method of working up carcasses suspended in a line. Particulars are given concerning the technological process (from stunning to adjustment of pieces) as well as the organization of veterinary meat inspection in the line.

Vliv rychlosti odstředivky na koncentraci tuberkulózních zárodků ve smetaně a sedimentu při vyšetřování mléka na přítomnost bakterií Kochových

Влияние скорости центрифуги на концентрацию туберкулезных зародышей в сливках и седименте при исследовании молока на наличие БК

Der Einfluß der Umfangsgeschwindigkeit der Zentrifuge auf die Konzentration der Tuberkulosenbakterien im Rahm und Sediment bei der bakteriologischen Untersuchung der Milch an die Anwesenheit der Koch-Bazillen

Effect of Centrifuge Speed on Tuberculous Germs Concentration in Cream and Sediment in the Investigation of Milk for BK-Presence

MVDr. M. ŠTĚPÁNEK, MVC. J. MUDRÁKOVÁ

Z Ústavu pro hygienu a technologii potravin Veterinární fakulty VŠZL v Brně,
přednosta: doc. MVDr. et RNDr. Miroslav Dobeš

Došlo dne 4. XI. 1958

Úvod

Zjišťování *Mycob. tuberkulózy* v mléce je spojeno s řadou potíží, vyplývajících jednak z obtížného průkazu *Mycob. tuberkulózy* vůbec, jednak z některých specifických vlastností mléka jako hostitele těchto zárodků. Je celá řada okolností, ovlivňujících výsledek mikrobiologického vyšetření (způsob odběru materiálu, jeho množství vzaté do pokusu, způsob jeho ošetření, způsob barvení preparátu, složení živné půdy atd.). Jedním z nejdůležitějších jevů, uplatňujících se jak při vyšetření bakterioskopickém, tak i kultivačním a biologickým pokusu je pasivní pomnožení v materiálu přítomných tuberkulózních zárodků ve vyšetřovaném podílu, tedy ve smetaně a sedimentu. Tohoto pasivního pomnožení se snažíme dosáhnout zpravidla odstředěním vyšetřovacího materiálu. Při nedokonalém odstředění se může stát, že ve vyšetřovaném podílu smetany a sedimentu nedosáhneme takové koncentrace tuberkulózních zárodků, abychom překročili určité minimální množství bakterií Kochových (dále jen „BK“), nezbytné k vyvolání pozitivní reakce bakterioskopické, kultivační nebo biologické. Tato okolnost zdůrazňuje význam správného odstředění materiálu pro výsledek vyšetření.

Obtíže při koncentraci tuberkulózních zárodků ve vyšetřovaném podílu spočívají především v tom, že BK mají specifickou váhu velmi blízkou, částečně i shodnou se specifickou vahou některých složek mléka. Marpmann uvádí pro hustotu BK hodnoty mezi 1,018 až 1,046, podle Dilg Nebela se pohybuje specifická váha mezi 1,010 až 1,080, Stigell udává rozmezí 0,887 až 1,287. Teoreticky by tedy neměl být vliv odstředění na koncentraci tuberkulózních zárodků ve smetaně a sedimentu velký. Tuto nepříznivou skutečnost do značné míry koriguje přítomnost tukových kuliček, resp. jejich shluků a buněčných ele-

mentů v mléce, jejichž specifická váha je zřetelněji odlišná od specifické váhy ostatních složek mléka a které při samovolném vyvstávání resp. klesání strhávají tuberkulózní zárodky jednak do smetany, jednak do sedimentu. Tento efekt se urychluje a stupňuje odstředěním.

Je oprávněn předpoklad, že rychlost soustředování tuberkulózních zárodků ve smetaně a sedimentu závisí mimo jiné na frekvenci odstředivky a že se zvyšujícími se obrátkami zvýší i koncentrace tuberkulózních zárodků v těchto podílech mléka, které se používají k dalšímu vyšetření. Tento předpoklad potvrzují výsledky některých srovnávacích pokusů, jež byly až dosud prováděny pouze s materiálem jiným než mléko. D a v y - L e v a d i t i dosahují lepších výsledků při zvýšení frekvence odstředivky na 5000 obrátek/min., rovněž S c h m i d t - L a n g e měli lepší výsledky při použití vysokoobrátkových odstředivek. W e i l a n d vyšetřoval 100 vzorků punkátu hnisu po odstředění běžnou laboratorní odstředivkou (3000 obr./min.) a odstředivkou ECCO ULTIMA I. (30.000 obr./min.). Výtěžek pozitivních výsledků stoupl při použití vysokoobrátkové odstředivky o 100 %. K r ö g e r - R o s a r i u s vyšetřovali 300 vzorků hnisu, punkátu a moči stejnou metodou jako Wieland a dospěli i ke stejným výsledkům. A h r e n s - W a n k e vyšetřovali 1100 sput a dosáhli většího výsledku pozitivních výsledků při použití odstředivky o frekvenci 12.000 obr./min. proti odstředění při 3000 obr./min.

Při vyšetřování mlék na obsah tuberkulózních zárodků se doporučuje odstředění namnoze při 3000, výjimečně při 5000 obrátkách za minutu po dobu mezi 15 až 30 minutami. Z poslední doby doporučují Z i e g l e r (1953) 2000 až 2500 obr./min. po dobu 20 minut, S c h ö n h e r r (1956) odstředění 15 minut při 3000 nebo 30 minut při 2000 obrátkách. S c h ö n b e r g (1956) 3000 obrátek za 30 minut. Tento autor se však zmiňuje o tom, že použití ultrarychlých odstředivek (12.000 obr./min.) přináší zřetelně lepší výsledky.

Úkolem naší práce bylo pokud možno objektivně zjistit vliv frekvence odstředivky na rozložení tuberkulózních zárodků v mléce, resp. na stupeň jejich koncentrace ve smetaně a sedimentu, a optimální frekvenci, která by dávala předpoklady pro nejvyšší výtěžek pozitivních výsledků.

Metodika a vlastní výsledky

Čerstvě nadojené mléko zdravé dojnice o tučnosti 3,6 bylo uměle infikováno osmitýdenní kulturou *Mycob. tuberculosis var. bovis*, vyrostlou na Petragnani-Witteho půdě, a homogenisovanou rozetřením v třetí misce s fyziologickým roztokem. Pro umělou infekci bylo použito vysokých dávek (asi 5 mg kultury na 100 ml mléka) — z tohoto množství byla však část eliminována přefiltrováním suspence přes vatový filtr, aby byly odstraněny shluky zárodků, které by přecházely snáze do sedimentu a smetany než jednotlivé mikroorganismy. O dostatečné homogenizaci kultury resp. eliminaci shluků přesvědčoval mikroskopický obraz pořízených řezů ze zmrazeného sloupce mléka, kde jsme našli jen velmi málo drobných shluků (o 2 až 3 jedincích), a jen zcela výjimečně shluky o více než 3 jedincích. Infikované mléko bylo rozděleno po 15 ml do pěti odstředivkových zkumavek a odstředováno při různé frekvenci odstředivky 30 minut. (Zkumavka č. 1 při 4000, zkumavka č. 2 při 5500, zkumavka č. 3 při 9000, zkumavka č. 4 při 12.000 a zkumavka č. 5 při 15.000 obrátkách za minutu.) Bezprostředně po odstředění byly kovové zkumavky s centrifugátem uloženy v mrazárně při teplotě -20°C . Po 48 hodinách byly zmrazené sloupce mléka po mírném ohřátí zkumavky vyklopeny na vysterylizovanou skleněnou destičku a v chladárně nařezány

I. Počet pořízených nátěrů

	4.000	5.500	9.000	12.000	15.000
Smetana	6	7	7	11	11
Mléko	25	24	24	18	21
Sediment	3	4	4	7	8

ve zmrzlém stavu řezu na podložní sklička na plošku 20×30 mm, ohraničenou dermatografem. Počet preparátů z jednotlivých podílů při různých druhích odstředění je uveden v tabulce I.

Zbytky mléka ve zkumavce, rozpuštěné při přihřívání zkumavky, byly počítány jako sediment. U zkumavek s mlékem odstředěným při 4000, 5500, 9000 a 15.000 obrátkách stačily tyto zbytky k pořízení vždy po jednom nátěru, u mléka odstředěného při 12.000 obrátkách byly pořízeny dva nátěry. V tabulce II jsou tyto preparáty uváděny mezi preparáty sedimentu vždy jako první a jsou označeny hvězdičkou.

Po přenesení do pokojové teploty a rozpuštění řezu byly očíslované preparáty barveny Ziehl-Neelsenovou metodou (kontrastní dobarvení malachitovou zelení) a mikroskopicky počítány acidoalkoholostabilní tyčinky u každého preparátu v 60 namátkově zvolených zorných polích. Celkový počet nalezených zárodků (součet 60 zorných polí u každého preparátu je uveden v tabulce II).

Z výsledků vyplývá, že při odstředování na 4000 obrátek za 30 minut dochází celkem k rovnoměrnému rozdělení tuberkulózních zárodků mezi smetanu, sediment a mléko. I když bereme v úvahu, že ve smetaně a sedimentu jsou zárodky koncentrovány v mnohem menším objemu (průměrný počet zárodků zjištěných na jednom preparátu ze sedimentu byl 140, ze smetany 72 a z mléka pouze 16), je třeba si uvědomit, že přibližně jedna třetina počtu tuberkulózních zárodků v mléce zůstává nezachycena a uniká vlastnímu vyšetření. Při zvyšování frekvence na 5500 a 9000 obrátek se tento obraz mění jen nevýrazně. Teprve při 12.000 obr./min. dochází ke zlomu, kdy poměrné zastoupení tuberkulózních zá-

II. Nalezené počty zárodků na jednotlivých preparátech

a) při 4000 obrátkách

Preparát číslo	Zárodků	Preparát číslo	Zárodků	Preparát číslo	Zárodků	Preparát číslo	Zárodků
1	44	11	0	22	0	*32	95
2	72	12	50	23	0	33	208
3	35	13	0	24	0	34	117
4	73	14	5	25	89	sediment celkem	420.
5	26	15	12	26	0		
6	185	16	23	27	33		
smetana celkem	435	17	21	28	6		
7	24	18	14	29	28		
8	0	19	6	30	8		
9	5	20	41	31	42		
10	0	21	0	mléko celkem	407		

b) při 5500 obrátkách

Preparát číslo	Zárodků	Preparát číslo	Zárodků	Preparát číslo	Zárodků	Preparát číslo	Zárodků
1	41	11	27	22	0	*32	118
2	37	12	0	23	0	33	52
3	53	13	0	24	13	34	90
4	58	14	0	25	0	35	120
5	29	15	33	26	27	sediment celkem	380.
6	78	16	17	27	0		
7	64	17	7	28	0		
smetana celkem	360	18	53	29	4		
8	12	19	6	30	0		
9	6	20	0	31	32		
10	8	21	0	mléko celkem	245		

c) při 9000 obrátkách

Preparát číslo	Zárodků	Preparát číslo	Zárodků	Preparát číslo	Zárodků	Preparát číslo	Zárodků
1	12	11	0	22	3	*32	53
2	83	12	22	23	7	33	36
3	38	13	46	24	0	34	231
4	77	14	0	25	4	35	132
5	8	15	0	26	0	sediment celkem	452
6	112	16	17	27	0		
7	90	17	0	28	40		
smetana celkem	420	18	25	29	0		
8	7	19	0	30	8		
9	13	20	1	31	42		
10	0	21	3	mléko celkem	238		

d) při 12.000 obrátkách

Preparát číslo	Zárodků	Preparát číslo	Zárodků	Preparát číslo	Zárodků	Preparát číslo	Zárodků
1	30	12	21	23	12	*30	102
2	83	13	0	24	0	*31	56
3	41	14	0	25	0	32	89
4	37	15	0	26	3	33	48
5	76	16	17	27	0	34	63
6	5	17	1	28	6	35	71
7	28	18	0	29	12	36	205
8	112	19	0	mléko celkem	105	sediment celkem	634
9	11	20	0				
10	185	21	33				
11	73	22	0				
smetana celkem	681						

e) při 15.000 obrátkách

Preparát číslo	Zárodků	Preparát číslo	Zárodků	Preparát číslo	Zárodků	Preparát číslo	Zárodků
1	28	12	0	24	27	*33	23
2	43	13	7	25	10	34	85
3	19	14	1	26	0	35	132
4	62	15	3	27	2	36	111
5	23	16	3	28	8	37	92
6	71	17	1	29	0	38	31
7	105	18	11	30	8	39	68
8	23	19	0	31	0	40	166
9	212	20	0	32	29	sediment celkem	708
10	149	21	0	mléko celkem	110		
11	27	22	0				
smetana celkem	732	23	0				

III. Vliv frekvence odstředivky na koncentraci tuberkulózních zárodků ve smetaně a sedimentu

Frekvence	Celkem BK	Smetana		Mléko		Sediment	
		celkem	%	celkem	%	celkem	%
4.000	1,263	435	34,37	408	32,30	420	33,25
5.500	985	360	36,54	245	24,87	380	38,47
9.000	1.110	420	37,83	238	21,44	452	40,72
12.000	1.420	681	47,95	105	7,39	634	44,64
15.500	1.550	732	47,22	110	7,08	708	45,67

rodků v mléce klesá asi na 7 %, takže přes 90 % zárodků je soustředěno v tom podílu, který odebíráme k dalšímu vyšetření. Při dalším zvýšení frekvence na 15.500 obrátek se tento obraz nijak podstatně dále nemění.

Jako optimální se jeví tedy odstředění při 12.000 obrátkách, případně vyšší frekvenci, tedy způsob, který není dosud běžně používán. Hlavním motivem používání poměrně nízkých obrátek je, aby při odstředování nedošlo k porušení buněk a aby tak nebyl setřen cytologický obraz, který je, jak zdůrazňuje zejména Ziegler a Baumgartner a j., velmi cenným diagnostickým vodítkem. Lze ovšem pochybovat o účelnosti takového postupu, který sice umožňuje cytologické vyšetření (i když s výhradami — buňky a zejména pro tuberkulózní mastitidu charakteristické obrovské buňky jsou velmi křehké a při použití vyššího počtu obrátek se objevují v preparátu jen jejich těžko diagnostikovatelné fragmenty, Ziegler proto připouští pro cytologické vyšetření odstředění maximálně při 2500 obrátkách za 20 minut), na druhé straně však značně oslabuje průkaznost ostatních vyšetřovacích metod, mezi nimi i metody, platící všeobecně za nejspolehlivější — biologický pokus. Při vyšetřování mléka na tuberkulózu bude proto nezbytné odstředovat zvláště pro cytologické vyšetření (optimálně při 1500 obrátkách) a zvláště pro ostatní vyšetřovací metody, chceme-li, aby průkaznost všech použitých metod zůstala zachována.

K poměru zárodků zkoncentrovaných při odstředění ve smetaně a sedimentu: Celkový počet zárodků ve smetaně a sedimentu je přibližně stejný (v sedimentu je ovšem koncentrován do menšího objemu)*) a nijak podstatně se nemění se zvyšujícími se obrátkami odstředivky. Je tedy plně oprávněn požadavek pro vyšetřování směsi smetany a sedimentu při kultivaci a biologickém pokusu. Pokud bychom použili k vyšetření pouze sedimentu, ochuzujeme se tím asi o 50 % choroboplodných zárodků. Při našich pokusech jsme použili mléka zdravé dojnice, s cytologickým obrazem, odpovídajícím zdravotnímu stavu mléčné žlázy (zcela ojediněle leukocyty a lymfocyty). Lze přepokládat, že u mléka ze zánětlivého vemene (například při tuberkulózní mastitidě) s cytologicky pozitivním obrazem, bude koncentrace tuberkulózních zárodků v sedimentu poněkud vyšší (speciicky těžší buněčné elementy strhávají do sedimentu i ty zárodky, které by jinak pro malý rozdíl v hustotě jejich a mléka zůstávaly v mléčné vrstvě). Domníváme se však, že tento rozdíl nebude podstatný.

Rozdělení zárodků v jednotlivých vrstvách smetany a sedimentu je přibližně rovnoměrné, takže nelze říci, že by se tuberkulózní zárodky silněji koncentrovaly např. v horních neb spodních vrstvách sedimentů či smetany.

S o u h r n

Byl zjišťován účinek různých frekvencí odstředivky na koncentraci tuberkulózních zárodků ve smetaně a sedimentu, tedy podílech, které se odebírají k dalšímu vyšetření. Při třicetiminutovém odstředování na 4000 až 9000 obrátek nebyl koncentrační efekt uspokojivý (ve smetaně a sedimentu se koncentrovalo při 4000 obrátkách celkem pouze 67,62 %, při 5500 75,01 %, při 9000 — 78,55 % tuberkulózních zárodků), teprve při 12.000 obrátkách byl výraznější (při 12.000 obrátkách se koncentrovalo ve smetaně a sedimentu celkem 92,59 %, při 15.500 obrátkách 92,89 % veškerých *tbc* zárodků). Proti dosavadním předpisům se doporučuje při bakterioskopickém a kultivačním vyšetření a biologickém pokusu použít frekvence alespoň 12.000 obrátek za minutu po dobu 30 minut. Pro cytologické vyšetření mléka je třeba odstředovat zvláště při nižších obrátkách, aby se neporušil buněčný obraz. Dvojí odstředění je nutné, nemá-li být při komplexním vyšetřování oslabena průkaznost některé z použitých zkoušek.

L i t e r a t u r a

1. Marpmann: Zeitschrift für Fleisch und Milchhygiene, 14, —, 350, 1904. —
2. Dilg-Nebel: cit. podle Calmette: L'infection bacillaire et la tuberculose. Masson Paris 1936. —
3. Stigell: cit. podle Kruse: Allgemeine Mikrobiologie, Leipzig, 1910. —
4. Davy, Levaditi: cit. podle Ahrens-Wanke (7). —
5. Weiland: cit. podle Kröger, Rosarius (6). —
6. Kröger-Rosarius: Zentralblatt für Bakteriologie Abt. I. Orig., 154, —, 213-216, 1949. —
7. Ahrens-Wanke: Deutsches Gesundheitswesen, 9, — 1153-1158, 1954. —
8. Ziegler: Die Eutertuberkulose des Rindes, Leipzig, 1953. —
9. Schönherr: Leitfaden der Milchuntersuchung, Leipzig 1956. —
10. Schönb erg: Milchkunde und Milchhygiene, Hannover 1956. —
11. Baumgartner: Monatshefte für Veterinärmedizin, VI, 21, 409-413, 1951. —
12. Baumgartner: Schweizer Archiv für Tierheilkunde, 95, 6, 327-357, 1953.

*) Při vysokoobrátkovém odstředění mléka přecházejí do sedimentu i některé frakce bílkovinného podílu mléka, takže sediment je i u zdravého mléka poměrně bohatý.

Влияние скорости центрифуги на концентрацию туберкулезных зародышей в сливках и седименте при исследовании молока на наличие ВК

Авторы исследовали влияние разных скоростей центрифуги на концентрацию туберкулезных зародышей в сливках и седименте. При тридцатиминутном центрифугировании со скоростью 4000—9000 обор. в мин. эффект концентрации не был удовлетворительным (в сливках и седименте концентрировалось при 4000 оборотах только лишь 67,62 %, при 5500 — 75,01 %, при 9000 — 78,55 % туберкулезных зародышей), только лишь при 12000 оборотах эффект концентрации был более выразителен (при скорости 12 000 оборотов концентрировалось в сливках и седименте всего 92,59 %, при 15 500 обор. — 92,89 % всех туберкулезных зародышей). Вопреки предписанным нормам, авторы рекомендуют при бактериоскопическом исследовании, культивировании и биологическом опыте пользоваться скоростью не менее 12 000 оборотов в продолжении 30 мин. Для цитологического исследования молока необходимо центрифугировать главным образом с меньшей скоростью, чтобы не нарушить клеточную картину. Двойное центрифугирование необходимо, если при комплексном исследовании не должна быть ослаблена достоверность одного из опытов.

Der Einfluß der Umfangsgeschwindigkeit der Zentrifuge auf die Konzentration der Tuberkulosenbakterien im Rahm und Sediment bei der bakteriologischen Untersuchung der Milch an die Anwesenheit der Koch-Bazillen

In der vorliegenden Arbeit war der Einfluß von verschiedenen Drehzahlen der Zentrifuge auf die Konzentration der TBC-Bazillen in Rahm und Sediment ermittelt, d. h. in den Milchbestandteilen, die zur weiteren Untersuchung benutzt werden. Bei einem 30 Minuten dauernden Abschleudern, wo 4000—9000 U/min angewandt wurden, war der Konzentrationseffekt unbefriedigend (in Rahm und Sediment waren bei 4000 U/min nur 67.62% — bei 5500 U/min 75.01%, bei 9000 U/min 78.55% aller TBC-Bazillen konzentriert) und erst bei 12.000 U/min war der Effekt mehr ausgeprägt (bei 12.000 U/min waren in Rahm und Sediment insgesamt 92.59%, bei 15.500 U/min 92.89% aller TBC-Bazillen konzentriert). Gegen die bisherigen Vorschriften wird es in der Arbeit empfohlen bei der bakteriologischen- und Kultivierungsuntersuchung, sowie bei dem biologischen Versuche mindestens 12.000 U/min in Dauer von 30 Minuten zu verwenden. Für eine cytologische Untersuchung muß man für das Abschleudern eine niedrigere Drehzahl benützen, damit das Zellenbild nicht zerstört wird. Das zweimalige Abschleudern wird als nötig empfohlen, wenn bei der Komplexuntersuchung die Beweiskraft eines von angewandten Versuchen nicht geschwächt werden soll.

Effect of Centrifuge Speed on Tuberculous Germs Concentration in Cream and Sediment in the Investigation of Milk for BK-Presence

The effects of various frequencies of the centrifugal apparatus on the concentration of tuberculous germs in cream and sediment, i. e. portions that are taken for further investigation were ascertained. The concentration effect was not satisfactory at the rate

of 4000 to 9000 r. p. m. in duration of 30 minutes (in cream and sediment only 67,62 % of Tbc germs were concentrated at 4000 r. p. m., 75,01 % at 5500, 78,55 % at 9000 r. p. m.). There was a more marked effect only at as many as 12.000 r. p. m. The total of 92,59 % of all Tbc germs were concentrated at 12.000 r. p. m. 92,89 % at 15.500 r. p. m. — In bacterioscopic and growth investigations and bioassays, contrary to present regulations, a frequency of at least 12.000 r. p. m. in duration of 30 minutes is recommended. For cytological investigation of milk, centrifugation should be done at a lower number of revolutions, lest the cell picture should be damaged. A double rate centrifugation is necessary should not the significance of some of tests be impaired.

Galláty jako antioxydační přísada do škvařeného vepřového sádla v plechových krabicích

Галлаты как антиокислительные примеси к топленому свиному жиру
 в консервных банках

Gallaten als Antioxydationszusatz des Schweinschmalzes in Blechbüchsen

Gallates as Antioxidation Ingredients in Melted Fat in Tins

Gallates utilisés comme un ingrédient antioxygène dans la graisse du porc fondue,
 en boîtes de fer-blanc

MVDr. V. POKORNÝ

Výzkumný ústav pro maso v Brně

Došlo dne 4. XI. 1958

Úvod

Před několika lety započal náš masný průmysl plnit část vepřového škvařeného sádla do plechových krabic. Důvodem k tomuto opatření byla snaha prodloužit trvanlivost škvařeného sádla v dlouhodobých skladech, při čemž se předpokládalo, že výrobek v plechových krabicích dozná menších oxidačních změn než sádlo balené do dřevěných bedniček. V praxi se však na takto baleném sádle projevily změny, které byly podnětem k diskusi, zda je ekonomické takovýmto technologickým způsobem sádlo dále vyrábět.

Proces oxidačních reakcí probíhá v tuku podle tohoto schématu (1):

A Neaktivované molekuly tuku	+	energie světelná tepelná chemická	→ A ₁ aktivovaná molekula tuku	+	O ₂ kyslík	→ A ₁ O ₂ aktivovaný kyslík
A ₁ O ₂ Aktivovaný peroxyd	+	A neaktivované molekuly tuku	→ AO ₂ peroxyd	+	A ₁ Aktivovaná molekula, nové centrum oxidačního řetězce	
A ₂ Aktivovaná molekula tuku	+		O ₂ kyslík	→	A ₁ O ₂ aktivovaný peroxyd atd.	

Náš výzkumný ústav si vzal za úkol použít k zabránění oxidačních změn sádla v plechu gallátů, jakožto antioxydační přísady. Přidávání gallátů do tuků je zákonně povoleno v Argentině, Belgii, Dánsku, Finsku, Holandsku, Jižní Africe, Norsku, Portugalsku, Řecku, Švýcarsku a USA. Používá se jich jako přísady do sádla baleného do pergamenového papíru s kartonem a do plechových krabic.

Ve Francii, Velké Británii, Irsku a Jugoslávii se používání gallátů doporučuje, není zatím uzákoněno, v závodech se však praktikuje (2). Kromě propyl-

gallátu se ve většině uvedených států používá octylgallátu, případně dodecylgallátu. Továrně se vyrábějí tyto přísady v různých formách a v kombinaci s různými synergistickými látkami. Ze specialit je možno jmenovat Griffith 5, Tenox II, Tenox IV, Sustane, Syndodant, Synoctant, Antracine apod. (3, 4). Maximální dávka gallátů se zpravidla udává 0,01 % k váze tuku (5). Podle Rutkowského (6) mají galláty kromě antioxydačního účinku i fungicidní účinek. Zdravotní nezávadnost gallátů potvrdili Orten, Kuypers a Smith (7), Van Esch (8) Van Sluis (9) a jiní.

Princip působení jakéhokoli antioxydantu se dá vyjádřit tímto schématem (1):

A_1O_2 Aktivovaný peroxyd	+B antioxydant	$\rightarrow$ AO oxydovaný tuk	+BO oxydovaný antioxydant
AO	+BO	$\rightarrow$ A molekula tuku	+BO ₂

Materiál a metodika

K pokusu bylo použito vepřového škvařeného sádla, které bylo vyrobeno průmyslovým způsobem podle platných technologických postupů ze hřbetní suroviny. Vyškvařené sádlo ze sedimentační nádrže bylo vždy odebráno o teplotě 30° C v množství 7500 g do pocínované nádoby, z ní pak odebráno množství asi 200 g sádla do skleněné kádinky. Ve 200 g sádla v kádince byl rozpuštěn antioxydant. Ihned nato byl obsah kádinky přelit do sádla v nádobě a mícháno po dobu pěti minut. Tyto manipulace byly provedeny stejně u všech druhů antioxydantů i kontrolních vzorků. U tabletek octylgallátu muselo být přistoupeno k zahřátí 200 g sádla v kádince, neboť při teplotě 30° C se tabletky nerozpouštěly. Proto bylo použito teploty 60° C na rozpouštění tablet. Škvařeným sádlem s různými antioxydačními přísadami byly naplněny plechové krabice o rozměrech 99 mm × 122 mm, které jakostí plechu odpovídaly ČSN 420130. Celkem bylo použito těchto antioxydantů:

Antioxydants	Číslo označení	Původ antioxydantu	% aox do škvař. sádla	Počet plecho- vek à 750 g netto v ks	Na 7500 g škvař. sádla použito aox v g:
Propylgallát v etanolu	1	Lachema, n. p. Brno	0,01	10	0,75
Octylgallát v tabletách	2	N. V. Chem. Fabr. Naarden	0,01	10	0,75
Octylgallát v prášku	3	N. V. Chem. Fabr. Naarden	0,01	10	0,75
Dodecylgallát v prášku	4	N. V. Chem. Fabr. Naarden	0,01	10	0,75
Synoctant	5	N. V. Chem. Fabr. Naarden	0,07	10	5,25
Syndodant	6	N. V. Chem. Fabr. Naarden	0,07	10	5,25
Antrancine	7	N. V. Chem. Fabr. Naarden	0,05	10	3,75
Kontrola	8	N. V. Chem. Fabr. Naarden	—	10	—

Škvařené sádlo bez další sterilisace bylo uskladněno při teplotě + 6 až + 12° C. Vyšetření jakosti sádla bylo provedeno v den výroby, pak po šesti měsících skladování, po 12 měsících skladování a po 18 měsících skladování. Kromě toho byla po 15 měsících skladování provedena urychlená Schaalova zkouška při skladování v teplotě 63°C po dobu 26 dní. Při hodnocení jakosti byly zjišťovány organoleptické vlastnosti, anonymním posuzováním 20 odborníků bylo hodnoceno pořadí jakosti jednotlivých osmi vzorků škvařeného vepřového sádla, dále bylo stanovováno číslo peroxydové a číslo kyselosti na povrchu do hloubky 5 mm od obalu i uvnitř vzorku. Na počátku skladování (v den výroby) byl stanoven též obsah vody v sádle a počet dosažených bodů podle stobodové stupnice. Na počátku i během skladování byly kromě toho jednotlivé vzorky škvařeného sádla posuzovány a hodnoceny desetibodovým systémem podle směrníc HS masného průmyslu z r. 1956. Při Schaalově zkoušce, která se prováděla v plechových krabicích bez víka, se zjišťovalo 0., 4., 8., 11., 14., 18., 22. a 26. dne číslo peroxydové a číslo kyselosti a na konci Schaalovy zkoušky se provádělo organoleptické posouzení. Všechny organoleptické i laboratorní metody byly prováděny podle JAM — živočišné tuky vyjma másla (10).

Vlastní výsledky

Jakost sádla v den výroby		Ohodnoceno počtem bodů	Maximálně dosažitelné body
Chuť:	příjemná, po škař. sádle	29	30
Vůně:	příjemná, po škař. sádle	25	25
Barva:	bílá, mírně nažloutlá	10	10
Konsistence:	masťovitá	5	5
Struktura:	hladká	10	10
Čistota:	čisté, bez škvarového sedimentu	10	10
		Celkem 99	100
Číslo peroxydové 0,87 me/kg			
Číslo kyselosti 0,32 mg KOH/1 g			
Obsah vody 0,08 %			

I. Pořadí jakosti jednotlivých vzorků škvařeného sádla podle anonymního posuzování 20 odborníků (průměr) bylo ve vztahu ke skladovací době tyto: (arabské číslice v této tabulce značí číslo vzorku)

Doba skladování	Pořadí jakosti (v římských číslicích)							
	I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	VII.	VIII.
Den výroby	sádlo stejné jakosti							
6 měsíců	2	5	7	3	6	4	1	8
12 měsíců	5	4	6	7	1	2	3	8
18 měsíců	5	7	4	3	1	2	6	8

II. Jakost jednotlivých vzorků škvařeného sádla, posouzena desetibodovým systémem podle směrnice HS masného průmyslu z r. 1956

Doba skladování	Vzorek č.:							
	1	2	3	4	5	6	7	8
V den výroby bodů	10	10	10	10	10	10	10	10
Po 6 měsících bodů	8	8	8	8	8	8	8	7
Po 12 měsících bodů	8	8	7	8	8	8	8	4
Po 18 měsících bodů	6	4	6	7	7	4	7	2

III. Změny peroxydového čísla v *me/kg* u sádla v povrchové vrstvě v závislosti na době skladování

Doba skladování	Vzorek č.:							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Den výroby	0,87	0,87	0,87	0,87	0,87	0,87	0,87	0,87
6 měsíců	1,45	1,61	1,42	1,21	1,53	1,68	1,26	2,76
12 měsíců	1,87	2,45	3,32	1,95	3,33	2,88	1,84	4,12
18 měsíců	2,81	2,72	2,64	2,69	2,82	4,84	2,22	11,70

IV. Změny peroxydového čísla v *me/kg* u sádla z vnitřní vrstvy v závislosti na době skladování

Doba skladování	Vzorek č.:							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Den výroby	0,87	0,87	0,87	0,87	0,87	0,87	0,87	0,87
6 měsíců	1,28	1,24	1,26	1,19	1,23	1,66	1,09	1,56
12 měsíců	1,75	2,30	3,18	1,90	3,08	2,65	1,64	3,25
18 měsíců	2,42	2,12	2,12	2,32	1,43	2,62	1,65	3,68

V. Změny čísla kyselosti v *mg KOH/g* u sádla v povrchové vrstvě v závislosti na době skladování

Doba skladování	Vzorek č.:							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Den výroby	0,32	0,32	0,32	0,32	0,32	0,32	0,32	0,32
6 měsíců	0,42	0,30	0,46	0,34	0,39	0,51	0,40	0,35
12 měsíců	0,47	0,46	0,51	0,45	0,47	0,47	0,45	0,45
18 měsíců	0,64	0,62	0,57	0,56	0,69	0,57	0,57	0,58

VI. Změny čísla kyselosti v *mg KOH/g* u sádla z vnitřní vrstvy v závislosti na době skladování:

Doba skladování	Vzorek č.:							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Den výroby	0,32	0,32	0,32	0,32	0,32	0,32	0,32	0,32
6 měsíců	0,43	0,32	0,41	0,36	0,41	0,47	0,39	0,30
12 měsíců	0,45	0,45	0,47	0,45	0,47	0,45	0,42	0,45
18 měsíců	0,61	0,49	0,53	0,53	0,57	0,54	0,52	0,53

VII. Změny čísla peroxydového v *me/kg* během Schaalovy zkoušky při 63° C v závislosti na počtu dní skladování. (Do pokusu vzaty vzorky sádla 15 měsíců skladované při teplotě +6 až +12° C)

Vzorek číslo:	Počet dní							
	0	4	8	11	14	18	22	26
1	1,98	1,97	2,29	2,62	3,05	4,58	10,80	12,60
2	2,42	2,46	2,69	2,94	3,56	4,34	6,60	8,84
3	3,19	3,18	3,46	3,32	3,82	4,50	12,10	15,60
4	2,12	2,13	2,40	2,84	3,68	4,90	5,90	7,20
5	3,10	3,16	3,49	3,58	4,20	5,10	11,10	13,60
6	2,78	2,85	2,99	2,38	3,90	5,26	7,60	9,10
7	1,90	1,93	2,46	2,32	3,10	3,68	8,60	9,12
8	3,36	5,86	6,06	6,12	11,80	17,90	36,20	60,20

VIII. Změny čísla kyselosti v *mg KOH/g* během Schaalovy zkoušky při 63° C v závislosti na počtu dní skladování. (Do pokusu vzaty vzorky sádla 15 měsíců skladovaného při teplotě +6 až + 12° C)

Vzorek číslo	Počet dní							
	0	4	8	11	14	18	22	
1	0,52	0,54	0,55	0,59	0,57	0,56	0,55	
2	0,51	0,51	0,53	0,56	0,55	0,58	0,55	
3	0,49	0,51	0,50	0,54	0,52	0,53	0,50	
4	0,51	0,52	0,51	0,54	0,55	0,57	0,55	
5	0,55	0,53	0,53	0,54	0,53	0,56	0,56	
6	0,46	0,55	0,55	0,55	0,54	0,53	0,54	
7	0,52	0,52	0,51	0,51	0,52	0,52	0,53	
8	0,49	0,52	0,51	0,54	0,53	0,53	0,53	

IX. Jakost jednotlivých vzorků škvařeného sádla po 26 dnech Schaalovy zkoušky (63° C) ohodnocená desetibodovým systémem:

Vzorek číslo	Ohodnoceno body	Chuť a vůně:
1	2	žluklá
2	2	žluklá
3	2	žluklá
4	2	žluklá
5	2	žluklá
6	2	žluklá
7	3	mírně žluklá
8	1	silně žluklá, relativně nejhorší

Diskuse

Z tabulek, vyjadřujících organoleptické posouzení, i z tabulek, zachycujících změny peroxydového čísla, je patrné, že použité antioxydační prostředky podstatně ovlivňují jakost a trvanlivost vepřového škvareného sádla. Ve všech těchto tabulkách se jeví kontrola, tj. sádlo bez antioxydačního prostředku svou jakostí nejhorší, a to ve všech časových úsecích skladování.

V tabulce I se jeví jako nejhorší vzorek stabilně kontrola. Vzorky nejpříznivěji organolepticky posouzené byly vzorek č. 5 (s přísadou synoctantu) a vzorek č. 7, s přísadou preparátu „Antracine“). Pořadí na dalších místech se během skladování měnilo. Během skladování 18 měsíců klesly ve svém pořadí zejména vzorek s přísadou octylgallátu v tabletách (č. 2) a vzorek s přísadou syndodantu (č. 6), zatímco vzorek č. 4 s přísadou dodecylgallátu postoupil na přední místa. Kontrolní vzorek č. 8 byl stabilně posuzován jako nejhorší kvalita.

Tabulka II ukazuje, jak rychle klesá kvalita vepřového škvareného sádla bez antioxydantu v plechových krabicích. V den výroby sádla byly všechny vzorky sádla ohodnoceny 10 body, což odpovídá jakosti domácího škvareného sádla. Po šestiměsíčním skladování se nejevil velký rozdíl v kvalitě sádla bez antioxydantu a s antioxydanty. I když sádlo bez antioxydantu bylo ohodnoceno o jeden bod méně, přece všechny vzorky v tomto časovém úseku skladování odpovídají škvarenému sádlu I. jakosti.

Po 12měsíčním skladování se jeví už podstatnější rozdíl v počtu bodů. Zatímco všechny vzorky s antioxydanty obdržely osm bodů (s výjimkou vzorku s přísadou octylgallátu v prášku, který obdržel sedm bodů), bylo kontrolní sádlo bez antioxydantu ohodnoceno čtyřmi body. To znamená, že sádlo s přísadou antioxydantů odpovídá po 12měsíčním skladování škvarenému sádlu I. jakosti, zatímco sádlo kontrolní škvarenému sádlu II. jakosti. Největší rozdíl v kvalitě sádla byl zjištěn po 18měsíčním skladování, kdy sádlo s přísadou dodecylgallátu v prášku (vzorek č. 4), synoctantu (vzorek č. 5), antracine (vzorek č. 7), progylgallátu (vzorek č. 1) a octylgallátu v prášku (vzorek č. 3) odpovídalo obodování sádlu I. jakosti, sádlo s přísadou octylgallátu v tabletách (vzorek č. 2) a syndodantu (vzorek č. 6) odpovídalo obodování sádlu II. jakosti; kontrolní sádlo (vzorek č. 8) však bylo obodováno dvěma body, což odpovídá tomu, že sádlo není vhodné pro přímý konsum, ani nemůže být zchutněno, nýbrž rafinováno.

Z tabulky III je patrné, že oxydační změny v povrchové vrstvě jsou podstatně rychlejší u sádla kontrolního. Po šesti měsících bylo zjištěno, že v kontrolním sádle je číslo peroxydové 1,90krát vyšší než průměr peroxydového čísla vzatého ze sedmi vzorků s přísadou gallátů, po 12měsíčním skladování 1,73krát a konečně po 18měsíčním skladování 3,95krát. Po 18měsíčním skladování bylo peroxydové číslo v povrchové vrstvě nejnižší u sádla s přísadou antracine (vzorek č. 7), u dalších vzorků s přísadou gallátů (č. 1, 2, 3, 4 a 5) nebylo podstatných rozdílů (peroxydové číslo v hodnotách od 2,64 do 2,82 me/kg); poněkud vyšší hodnota peroxydového čísla byla zjištěna u vzorku č. 6 (s přísadou syndodantu), avšak i tato hodnota je proti kontrole 2,42krát nižší.

Tabulka IV dokazuje, že oxydační změny ve vnitřních vrstvách sádla jsou nižší než na povrchových vrstvách, a to jak u vzorků s přísadou gallátů, tak i kontrolního sádla. Tyto změny jsou u sádla s přísadou gallátů v průměru po 18měsíčním skladování 1,41krát větší v povrchových vrstvách a u sádla kontrolního

za tutéž dobu skladování 3,17krát vyšší. Po šesti měsících skladování bylo zjištěno, že ve vnitřních vrstvách kontrolního sádla je peroxydové číslo 1,22krát vyšší než průměr peroxydového čísla vzatého ze sedmi vzorků s přísadou gallátů, po 12měsíčním skladování 1,38krát a konečně po 18měsíčním skladování 1,76krát. Po 18 měsících skladování bylo peroxydové číslo ve vnitřní vrstvě nejnižší u sádla s přísadou antracine (vzorek č. 7) a s přísadou synoctantu (vzorek č. 5); u dalších vzorků s přísadou gallátů (č. 1, 2, 3 a 4) nebylo podstatných rozdílů (peroxydové číslo v hodnotách od 2,12 do 2,42 me/kg); poněkud vyšší hodnota peroxydového čísla byla zjištěna u vzorku č. 6 (s přísadou syndodantu), avšak i tato hodnota je proti kontrole 1,46krát nižší.

Z tabulek V a VI lze vidět, že číslo kyselosti nebylo v podstatě ovlivněno různými přísadami ani v povrchových, ani ve vnitřních vrstvách sádla vůči kontrole. Bylo možno jen konstatovat postupné zvyšování čísla kyselosti vzhledem k době skladování. Po 18 měsících skladování se číslo kyselosti zvýšilo v průměru ze všech osmi vzorků z povrchových vrstev sádla 1,87krát a z vnitřních vrstev sádla 1,68krát. To znamená, že v povrchových vrstvách sádla probíhaly hydrolytické procesy poněkud rychleji než ve vnitřních vrstvách.

Nejmarkantnější rozdíly byly zjištěny v tab. VII, z které je patrné, že při skončení urychlené zkoušky Schaalovy (po 26 dnech) byla hodnota peroxydového čísla kontrolního vzorku 5,53krát větší proti průměru ze vzorků s přísadou gallátů. Zatímco zlom v křivce, vyjadřující průběh peroxydového čísla se dá u kontrolního sádla konstatovat již v 11. dni Schaalovy zkoušky, nastupuje tento zlom u sádel s přísadami gallátů asi v 18. dni Schaalovy zkoušky.

Vcelku žádnou závislost nelze vyčíst z tabulky VIII o průběhu hydrolytických změn sádla při Schaalově zkoušce, až snad na to, že se nepatrně a sotva znatelně zvyšuje číslo kyselosti během zkoušky, a to bez ohledu na přísadu. Toto zvýšení je však v rámci analytických chyb.

Z tabulky IX je patrný rozdíl v organoleptických vlastnostech sádla s různými přísadami po skončení Schaalovy zkoušky. Vzorek č. 7 s přísadou antracine odpovídal ještě sádlu, které může být určeno ke zchutnění, ostatní vzorky s přísadami gallátů byly žluklé a odpovídaly svou kvalitou sádlu, určenému k rafinaci. Kontrolní sádlo (vzorek č. 8) doznalo během Schaalovy zkoušky takových značných organoleptických změn, že bylo obodováno jakožto sádlo k technickým účelům.

Závěrem je nutno dodat, že galláty slouží jako preventivní prostředek zabráňující žluknutí sádla a není možno od nich očekávat příznivý účinek v takových případech, kdy byly přidány k tuku, ve kterém již proběhly oxydační změny. Z toho důvodu je také nutné, aby sádlo s přísadou gallátů plněné do plechových krabic odpovídalo svou jakostí odst. II/4 směrnici pro kontrolu jakosti sádla, vydaných ministerstvem potravinářského průmyslu a výkupu zemědělských výrobků dne 23. 10. 1956.

Práce byla zaměřena na antioxydační účinek gallátů. V budoucnu však bude nutno blíže studovat i jejich fungicidní účinek vzhledem k praktickému použití při skladování sádla v dřevěných, resp. kartonových obalech.

Výsledky pokusů dokazují, že je žádoucí, aby vepřové škvářené sádlo plněné do plechových krabic, bylo ošetřeno gallány. Výhody, které lze očekávat od použití gallátů, jsou tyto:

1. Zabránění ztrátám, vznikajícím při skladování (eventuální náklady na rafinaci);
2. zvýšení jakosti sádla v důsledku ochranného účinku gallátů a zvýšení podílu dodávek čerstvého sádla do maloobchodu;
3. úspora nákladů na častou obměnu a překládání sádla (prodloužení skladovatelnosti o 6 až 12 měsíců);
4. úspora na nákladech chlazení (teplota při skladování nemusí být tak nízká a může se pohybovat kolem 6°C);
5. prodloužení trvanlivosti sádla (v maloobchodě a ve spotřebitelské domácnosti za nepříznivých skladovacích podmínek. Zvýšené náklady spojené se zavedením přísady gallátů do sádla lze odhadovat no 0,08 až 0,11 Kčs za 1 kg.

S o u h r n

Byla zjišťována vhodnost použití gallátů (propylgallát, octylgallát, dodecylgallát, Synoctant, Syndodant, Antracine), jakožto antioxydačních prostředků při skladování vepřového škvareného sádla v plechových krabicích za teploty vzduchu $+6$ až $+12^{\circ}\text{C}$. Výsledky ukázaly, že přísada gallátů podstatně omezí oxidační změny ve vepřovém sádle, což bylo dokázáno jednak lepšími organoleptickými vlastnostmi a jednak nižším peroxydovým číslem tuku. Na základě dosažených výsledků se konstatuje, že je žádoucí, aby se vepřové škvarené sádlo plněné do plechových krabic ošetřovalo přísadou gallátů, při čemž se vypočítávají výhody tohoto opatření.

L i t e r a t u r a

1. Liberman S. G., Petrovskij W. P., Smirnov A. V.: Referáty i obzory inostrannoj techničeskoj literatury. Moskva 1958. — 2. List of Countries where use propyl-, octyl- and dodecyl-gallate. Sep. N. V. Chem. Fabriek "Naarden", June 1956. — 3. V. Pokorný — G. Esmanský: Skladování škvareného sádla za použití propylesteru kyseliny gallové. Průmysl potravin 1958, č. 2. — 4. Prospekt firmy N. V. Chem. Fabriek „Naarden“, July, 1956. — 5. F. D. Tollenaar: Erwägungen bei der Zulassung von Antioxydanten in Nahrungsmitteln. Vortrag D. G. F. Tagung, 29. 10. 1953. — 6. Rutkowski A.: Kwas gallusowy i jego estry jako przeciwutleniające smalcu. Roczn. PZH, 2, 1952. — 7. Orten J. M. — Kuyper A. C., Smith A. H.: Studies on the toxicity of propylgallate and antioxydant mixtures containing propylgallate. Food Technology (2), 1948. — 8. G. J. Van Esch: The toxicity of the antioxydants propyl-, octyl- and dodecylgallate. Sep. Nat. Inst. of Publ. Health Utrecht (1956). — 9. Van Sluis: Food Manufacture 24, 99, 1951. — 10. Kolektiv: Jednotné analytické metody pro potravinářský průmysl - Živočišné tuky vyjma másla, Praha, v tisku.

Галлаты как антиокислительные примеси к топленому свиному жиру в консервных банках

Автор исследовал пригодность применения галлатов (пропилгаллат, октилгаллат, додецилгаллат, Synoktant, Syndodant, Antrancine) в качестве антиокислителей при хранении свиного топленого жира в консервных банках при температуре воздуха $+6^{\circ}\text{C}$ — $+12^{\circ}\text{C}$. Результаты показали, что примесь галлатов существенно ограничивает возникновение изменений в свином жире вследствие окисления; это доказывают как лучшие органолептические свойства, так и более низкое окислительное число жира. На основе достигнутых результатов можно заключить, что обработка примесью галлатов свиного топленого жира в консервных банках является желательной. В статье автор излагает преимущества этого способа контервирования жира.

Gallaten als Antioxydationszusatz des Schweinschmalzes in Blechbüchsen

In der vorliegenden Arbeit wurde die Verwendbarkeit von Gallaten (Propylgallat, Octylgallat, Dodecylgallat, Synoktant, Syndodant, Antracine) als Oxydationsmittel bei der Lagerung des Schweinschmalzes in den Blechbüchsen unter der Lufttemperatur $+6^{\circ}\text{C}$ — $+12^{\circ}\text{C}$ untersucht. Die Ergebnisse zeigten, daß der Zusatz von Gallaten die Oxydationsprozesse im Schweinschmalze wesentlich beschränkt, was teils durch bessere organoleptische Eigenschaften und teils durch niedrigere Peroxydzahl des Fettes bewiesen wurde. Auf Grund der erzielten Ergebnisse wird es konstatiert, daß es erforderlich ist, das in die Blechbüchsen eingefüllte Schweinschmalz mit dem Gallatenzusatz zu schützen, wobei die Vorteile dieser Maßnahme aufgezählt werden.

Gallates as Antioxidation Ingredients in Melted Fat in Tins

Gallates (propylgallate, octylgallate, dodecylgallate, Synoktant, Syrdodant, Antrancine) were found to be suitable antioxidation ingredients in melted fat stored at the air temperature of $+6^{\circ}\text{C}$ to 12°C . The results showed that changes in fat due to the oxidation were substantially limited by adding gallates as was proved by better organoleptic properties as well as lower peroxide number of fat.

On the basis of issues obtained the treatment of tinned melted fat by adding gallates is found to be desirable; advantages of this measure are enumerated.

Gallates utilisés comme un ingrédient antioxygène dans la graisse du porc fondue, en boîtes de fer-blanc

On a examiné la convenance de l'utilisation des gallates (propylegallate, octylgallate, dodécylegallate, Synoktant, Syndedant, Antrancine) comme des ingrédients antiexygénés pendant le stockage de la graisse du porc en boîtes de fer-blanc, dans une température

de l'air +6 jusqu'à 12° C. Les résultats ont prouvé que l'ingrédient des gallates réduit essentiellement les changements oxygènes dans la graisse du porc, le fait qu'on a pu constater d'une part par meilleures qualités organoleptiques et d'autre part par un nombre de peroxyde plus bas de la graisse. Se basant sur les résultats atteints, on constate qu'il est à désirer que la graisse du porc fondue, en boîtes de fer-blanc, soit soignée à l'aide de l'ingrédient des gallates et on énumère les avantages de cette mesure prise.

Příspěvek k poznání změn ve vejcích ozářených dlouhodobě radioaktivním kobaltem Co^{60}

К вопросу изучения изменений в яйцах при долговременном облучении радиоактивным кобальтом Co^{60}

Contribution to the Recognition of Changes in Eggs in long-term Irradiation by Radioactive Cobalt Co^{60}

Doc. MVDr. et RNDr. M. DOBEŠ

*Z Ústavu pro hygienu a technologii potravin veterinární fakulty VŠZL v Brně,
přednosta doc. MVDr. et RNDr. Miroslav Dobeš*

Došlo dne 24. 1. 1959

Úvod

V posledních letech, kdy se začíná využívat atomové energie a ionisujícího záření ve stále větší míře v různých vědních i průmyslových oborech, je i otázka jejich aplikace v potravinářství velmi aktuální. Zvláště ionisující záření je v potravinářství intenzivně studováno, a to především proto, že by mohlo být dobře využito při skladování potravin, aniž by toto skladování vyžadovalo stálý přísuv energie, jak je tomu např. při uložení potravin v mrazírnách. Zůstává zde však stále otevřená otázka, pro hygienu potravin velmi důležitá, a to do jaké míry mění ozařovaná potravina své vlastnosti a zda tím snad není ovlivňována její požitelnost.

Literární přehled

Studiem ozařování potravin za účelem jejich konzervace se zabývá celá řada autorů, kteří se zaměřují na různé aktuální problémy. Tak Nesmejanov A. N. upozorňuje na využití atomové energie, Květoň M. si všímá možností konkrétního využití radioisotopů v potravinářství u nás, Proctor B. E. — Goldblith S. A. studují k tomu potřebná technická zařízení, Hannan R. S. sleduje ekonomiku, Urbain W. M. van de Graafův generátor, Gombert H. J. — Gould S. E. — Nehemias J. W. — Brownell L. E. popisují devitalisaci trichin. Jeppson M. R. pasteuraci zářením apod.

Jiní autoři, kterých je však daleko méně než předcházejících, technicky zaměřených, zaujímají k ozařovaným potravinám zdravotní hledisko a upozorňují (Brochant M.) na možnosti vzniku hygienicky nežádoucích změn v potravine při vysokých jednorázových dávkách záření a na druhotné reakce, které se objevují i za delší dobu. Schweiger B. F. již přímo popisuje využití radioaktivního kobaltu.

Z hlediska hygieny potravin má, jak bylo uvedeno, velký význam, zda, za jakých okolností a jaké změny vznikají v ozařované potravine. Většina prací je však zaměřena na maso jatečných zvířat a drůbež, ostatní potraviny, zvláště pak vejce, jsou popisovány z uvedených hledisek velmi sporadicky. (Dobeš M.). McArdle F. J. — Desrosier N. W. sice studovali vliv záření na jednu složku vajec, a to na ovoalbumin, ale ten měli připraven v čistém vodném roztoku. Jejich výsledky však nelze spolehlivě aplikovat. Působením záření vznikají totiž např. skupiny OH^- a H^+ , ale tyto jsou v prostředí obsahujícím redukční látky mimo jiné i glutathion nebo cystein potlačovány, takže se nemohou projevit tak výrazně nepříznivě na jakosti potravin. Protože má vejce pochopitelně komplikovanější složení, než např. čisté vodné roztoky, může se projevit vliv záření ve vejci zcela jinak, než je tomu v uvedených čistých roztocích.

Radioaktivní kobalt Co^{60} je používán v potravinářství především jako zdroj gama záření. Vyzařuje sice malé množství beta záření (0,3 MeV), kterého je však podstatně méně než gama záření (1,1 MeV) jak uvádí Genaud P. i Netoušek M. Pokud jde o znalosti, jak působí různé dávky záření, jsou k dispozici především ve vztahu k devitalisaci mikroorganismů. Tak např. je D. L. 50 pro *Penicillium glaucum* 0,1 M rep při 25° C, kdežto při 5° C je to již pětikrát více; pro salmonely ve vejcích je třeba 0,5 M rep. Vztahy mezi dávkou a změnami v potravine, které mají hygienický význam, jsou známy méně.

Změny vznikající při působení radioaktivního kobaltu na vejce mohou být tedy jiné než při jeho vlivu na ostatní potraviny, a proto bylo úkolem této práce zjistit, zda se nějak jinak mění vlastnosti vajec při jejich dlouhodobém uložení v prostředí, kde působí trvale záření gama. V dostupné literatuře není problém z těchto hledisek řešen přes to, že uložení potravin v prostředí, kde stále působí gama záření, se již realizuje.

Metodika

K pokusům byla použita asi týden stará, čerstvá slepičí vejce ze zdravých chovů.

Změny na vejcích byly sledovány především smyslově, tedy zjišťována barva, konsistence a aroma.

Při objektivním fyzikálně-chemickém vyšetření byla vejce analysována pod filtrovaným ultrafialovým světlem, prohlížena v ovoskopu a kontrola zaměřená na beta a gama záření ve vejcích byla provedena nukleráním počítačem ČSAV. Při tom byla použita trubice s wolframovým vláknem pro beta a gama záření s okénkem o průměru 20 mm. Ve vaječném obsahu byl orientačně zjišťován sirovodík octanem olovnatým. Vyšetření bylo podle možností doplněno rozbořem bílkovin pomocí papírové elektroforézy (papír W. 1, veronal, 250 V, mí 0,1).

Druh vyšetření	ozářená vejce	neozářená vejce
smyslově — povrch vajec	průměrně čistý	průměrně čistý
váha před pokusem	56 g	53,5 g
váha po pokusu	51,8 g	37,4 g
váhová ztráta	7,6 %	29,8 %
ovoskopem	vzduchová komůrka 6,4 mm, výrazně patrný žloutek	vzduchová komůrka 14 mm, stín žloutku
ve filtrovaném ultrafialovém světle — povrch vajec	fluoreskuje slabě červeně se slabě modrým odstínem	fluoreskuje slabě červeně se silnějším modrým odstínem
nukleární počítač	42/min.	57/min.
smyslově — obsah vajec	bez pachu, slabě růžový až oranžový bílek s jemnými tělisky; žloutek se zpevněnou povrchovou vrstvou různé síly	bez pachu, bílek nezměněné barvy bez vloček; žloutek plochý, snadno se mísí s bílkem
ve filtrovaném ultrafialovém světle — obsah vajec	bílek fluoreskuje slabě modře; žloutek fluoreskuje slabě modře, ojediněle šedě	bílek fluoreskuje středně až silně modrofialově; žloutek fluoreskuje v nepravidelných šedobílých skvrnách
obsah H ₂ S	nehodnotitelné	nehodnotitelné
elektroforeticky	část bílkovin zůstává na startu	bílkoviny nezůstávají na startu
bakteriologicky — počet zárodků — povrch vajec	100 až 150 tisíc	100 až 200 tisíc
bílek	téměř sterilní, ojediněle plísň	téměř sterilní, ojediněle plísň
žloutek	řádově v tisících až desetitisících	řádově ve stovkách
fyziologický test vaječné směsi	pozitivní; kvalitativně podobný hist. standardu tam, kde má vejce nízký počet zárodků a silnou zpevněnou vrstvu na žloutku	pozitivní; kvalitativně málo podobné hist. standardu
biologicky	za 60 hod. pozitivní — někdy exitus	za 14 hod. pozitivní — klinicky
histologicky	ojediněle degenerace jater, jinak bez hodnotitelných změn	bez hodnotitelných změn

Bakteriologickým vyšetřením byl zjišťován hlavně počet zárodků, a to běžnou technikou na MPA, případně Gassnerově agaru a Kaufmannově půdě.

Fyziologické účinky extraktů z vajec (1 : 2) byly zjišťovány metodou (D o - b e š M.) na morčecím střevě, srovnáním s histaminem (1 : 5 miliónům).

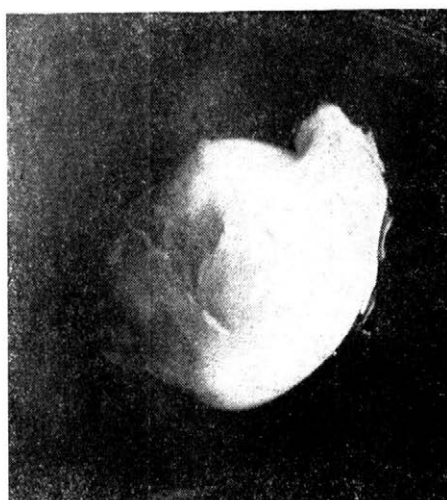
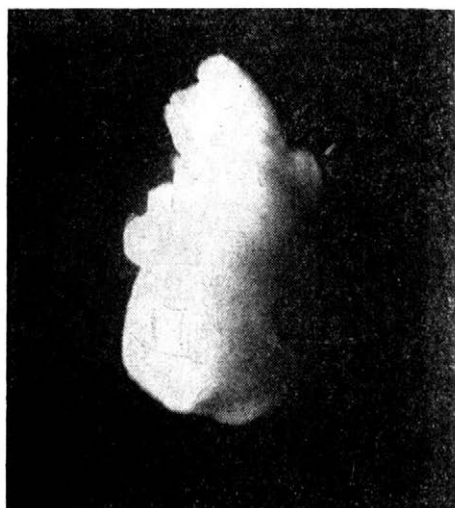
Biologická titrace na myškách (0,5 ml i. p.) byla vždy ukončena jejich pitvou a histologickým vyšetřením, zvláště jater a ledvin (haematoxylin eosin).

Vlastní výsledky

Vejsce byla vždy rozdělena do dvou skupin, kontrolní byla uložena po celou dobu pokusu v pokojových podmínkách. Pokusná skupina byla vystavena přímému ozařování radioaktivním kobaltem Co^{60} (350 mC, 2.430 r), iridiem a mesothoriem po dobu osmnácti týdnů v průmyslovém závodě ZKG Brno. Intenzita zdroje v r byla měřena elektrometricky, což není zcela přesné (H e r č í k F.), ale pro daný účel dostačující. Dosažené výsledky jsou shrnuty do tabulky na str. 245 a uváděny u jednotlivých vyšetření v průměrných hodnotách za všechna vejce v celé skupině.

Diskuse a hodnocení výsledků

Nápadné váhové rozdíly vyjádřené u neozařených vajec vysokou ztrátou na váze po skončení pokusu nelze považovat za typické, protože byly ovlivněny rozdílem v balení. Počet rozpadů zjištěných nukleárním počítačem je prakticky u obou skupin stejný a je dán pozadím použité trubice. Nápadné rozdíly jsou však ve vzhledu obsahu vajec. Bílek u ozařených vajec má růžovou až oranžovou barvu a obsahuje jemná tělíska.



Žloutky ve vejcích dlouhodobě ozařovaných radioaktivním kobaltem Co^{60}

Vysvětlení jejich vzniku činností mikroorganismů je nepravděpodobné, protože bakteriologické vyšetření nevykazuje žádný rozdíl mezi oběma skupinami. Stejná situace je i v případě zpevněné povrchové vrstvy na žloutku. Při hodnocení bakteriologického nálezu zde bylo zjištěno, že ten je u některých vajec velmi příznivý (až sterilní) a vrstva poměrně silná, kdežto u jiných nepříznivý a nález je obdobný; v jiném případě rovněž nepříznivý a vrstva velmi slabá. Úvahu vcelku potvrzuje i fyziologický test, který je kvalitativně rozdílný. Jisté malé rozdíly mezi skupinami ve fluorescenci nelze považovat za signifikantní, protože jsou zatíženy chybou plynoucí ze subjektivity dané metody. Výsledky elektroforetického vyšetření byly hodnoceny pouze kvalitativně a je možno je považovat za dostatečně průkazné, pokud jde o kvalitativní rozdíly mezi bílkovinami obou skupin vajec daných podmínkami pokusu této práce. Ostatní rozdíly mezi výsledky vyšetření mezi oběma skupinami nelze považovat za dostatečné a tedy hodnotitelné.

Souhrn

Čerstvá slepičí vejce byla vystavena po 18 týdnů ionizačnímu záření Co^{60} a bylo zjištěno, že v jejích bílku vznikají změny charakterisované zvláště změnou barvy a přítomností bělavých tělísek. Žloutek je oddělen od bílku pevnější vrstvou bílkovin. Elektroforeticky je prokazatelná jiná jakost bílkovin.

Při hygienickém hodnocení ozářených vajec a vůbec při využití ionizačního záření v potravinářství je proto třeba postupovat velmi rozvážně.

Literatura

- Nesmejanov A. N.: Trud. Akad. nauk, 1955, 3-5. — Květoň M.: Prům. potr. 1955, 12. — Proctor B. E. — Goldblith S. A.: Food tech. 1951, 1. 376-380. — Hannan R. S.: Res. 1953, 6, 376-383. — Urbain W. M.: Food Eng. 1953, 25, 77-80. — Gomberg H. J. — Gould S. E. — Nehemias J. V. — Brownell L. E.: Food Eng. 1954, 26, 78-80. — Jeppson M. R.: Food Eng. 1955, 3, 27. — Brochant M.: Rev. Tech. Ind. Al. 1955, 3, 32-35, 46-49. — Schweigert B. F.: J. Am. Diet. As. 1954, 30, 973-975. — Dobeš M.: Zprávy VTS, 1957, 4. — McArdle F. J. — Desrosier N. W.: Food Tech. 1955, 9, 527-532. — Genaud P.: La Protection contre les Radioelements, Paris 1951. — Netoušek M.: Thom. sbírka 1956, 357. 62. — Dobeš M.: Veterinářství 1957, 7, 72-74. — Herčík F.: Úvod do kvantové biologie, Praha 1949.

*

Za provedení elektroforasy děkuji dr. J. Holcovi.

К вопросу изучения изменений в яйцах при долговременном облучении радиоактивным кобальтом Co^{60}

Свежие куриные яйца были подвергнуты в течение 18 недель ионизирующему облучению Co^{60} и было установлено, что в их белке возникают изменения, особенно характерные переменной окраски и присутствием беловатых телец. Желток отделен от белка плотным слоем белковых веществ. Электрофоретически достоверно доказано иное качество белковых веществ.

Ввиду этого при гигиенической оценке облученных яиц и вообще при применении ионизирующего излучения в пищевой промышленности необходимо поступать очень осторожно.

Beitrag zur Feststellung von Veränderungen der mittels radioaktiven Kobalts Co^{60} langfristig bestrahlten Eier

Frischgelegte Hühnereier wurden über eine Dauer von 18 Wochen einer Ionisationsstrahlung Co^{60} ausgestellt; es wurde festgestellt, daß im Eiweiß Vorgänge entstehen, welche besonders durch eine Farbenveränderung und Anwesenheit von weißlichen Körperchen charakterisiert sind. Der Dotter ist vom Eiweiß durch eine festere Eiweißschicht getrennt. Eine unterschiedliche Eiweißqualität ist mittels Elektrophorese nachweisbar.

Bei hygienischer Bewertung der bestrahlten Eier und bei Anwendung von Ionisationsstrahlung im Lebensmittelsektor muß demnach sehr vorsichtig vorgegangen werden.

Contribution to the Recognition of Changes in Eggs in long-term Irradiation by Radioactive Cobalt Co^{60}

Fresh chicken eggs were exposed to ionizing irradiation Co^{60} for a period of 18 weeks and it was ascertained that in their whites, changes took place, characterized by changes of colour and presence of white particles especially. The yolk is separated from the white by a firm layer of protein. Through electrophoresis a different quality of protein can be proven.

In the hygienic evaluation of irradiated eggs and in the use of ionizing irradiation in foodstuffs on the whole, it is therefore necessary to proceed very carefully.