

Univerzita Karlova v Praze
Pedagogická fakulta
Katedra biologie a environmentálních studií

*Tvorba a ověření učebního textu
pro laboratorní cvičení z mikrobiologie
na střední odborné škole*

Rigorózní práce

Autor: Ing. Mgr. Stanislav Hamerský

Tutor: RNDr. Lenka Pavlasová, Ph.D.

Praha 2010

Abstract

The creation and verification of the textbook for the practice in food microbiology at the secondary technical schools

The thesis describes the creation of the studying material – textbook for the practice in food microbiology for the students of the secondary technical schools of chemistry and food science. Verification of practical utility and didactical advisability of submitted exercises was realized at The Secondary Technical School of Chemistry in Brno.

Abstrakt

Tvorba a ověření učebního textu pro laboratorní cvičení z mikrobiologie na střední odborné škole

Práce popisuje tvorbu učebního textu – návodů pro laboratorní cvičení z mikrobiologie, určených studentům středních odborných škol s potravinářským zaměřením. Ověření funkčnosti a didaktické vhodnosti jednotlivých úloh proběhlo v rámci výuky studentů Střední průmyslové školy chemické v Brně.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem rigorózní práci vykonal samostatně pod vedením RNDr. Lenky Pavlasové, Ph.D. a že jsem citoval všechny použité informační zdroje.

Praha, 19. 11. 2010

.....

podpis

Poděkování

Děkuji své tutorce paní RNDr. Lence Pavlasové, Ph.D. za všestrannou pomoc a cenné rady, které mi v průběhu práce s ochotou poskytovala.

Dále děkuji vedení Střední průmyslové školy chemické v Brně a paní třídní profesorce oboru Analýza potravin, absolventský ročník 2010 Mgr. Kateřině Bílé za podporu, bez které by tato práce nemohla vzniknout.

OBSAH

1. ÚVOD	7
2. TEORETICKÁ VÝCHODISKA	9
2.1 VÝUKA STUDIJNÍHO OBORU ANALÝZA POTRAVIN NA STŘEDNÍCH ODBORNÝCH ŠKOLÁCH V ČESKÉ REPUBLICE.....	9
2.2 RÁMCOVÝ VZDĚLÁVACÍ PROGRAM STUDIJNÍHO OBORU ANALÝZA POTRAVIN.....	9
2.3 ŠKOLNÍ VZDĚLÁVACÍ PROGRAM ANALÝZA POTRAVIN NA STŘEDNÍ PRŮMYSLOVÉ ŠKOLE CHEMICKÉ BRNO	13
2.3.1 Profil absolventa	14
2.3.2 Výsledky vzdělávání v profilující oblasti odborného vzdělávání	14
2.3.3 Způsob ukončení vzdělání.....	15
2.3.4 Metody a formy výuky.....	16
2.3.5 Charakteristika vzdělávací oblasti „odborné vzdělávání“	16
2.3.6 Hodinové dotace a učební osnova předmětu „metody analýzy potravin“	18
2.3.7 Učební osnova předmětu <i>Metody analýzy potravin</i>	18
2.3.7.1 Pojetí vyučovacího předmětu	18
2.3.7.2 Rozpis výsledků vzdělávání a obsahu učiva	20
2.4 PUBLIKACE POUŽÍVANÉ PRO VÝUKU PŘEDMĚTU „METODY ANALÝZY POTRAVIN“	25
2.5 SKUPINY MIKROORGANISMŮ DŮLEŽITÉ Z HLEDISKA POTRAVINÁŘSKÉ MIKRO-BIOLOGIE A JEJICH IDENTIFIKACE NA AGAROVÝCH PŮDÁCH	25
2.5.1 Koliformní mikroorganismy.....	26
2.5.2 Enterokoky.....	26
2.5.3 Psychrotrofní mikroorganismy	27
2.5.4 <i>Clostridium perfringens</i>	28
2.5.5 <i>Salmonella spp.</i>	28
2.5.6 <i>Listeria monocytogenes</i>	29
2.5.7 <i>Staphylococcus aureus</i>	30
2.5.8 Aerobní a fakultativně anaerobní sporotvorné mikroorganismy	31
2.5.9 Proteolytické a lipolytické mikroorganismy.....	31
2.5.10 Vlákňité mikroskopické houby (plísňe)	32
3. PRAKTICKÁ ČÁST	35
3.1 TVORBA UČEBNÍHO TEXTU	35
3.2 OVĚŘENÍ UČEBNÍHO TEXTU VE VÝUCE	36
3.2.1 Metodika použitá studenty	36
3.2.2 Přístroje a zařízení.....	38
3.2.3 Živné půdy	38
3.2.4 Výsledky a vyhodnocení studentských prací.....	39
3.2.5 Grafické výstupy studentských prací	48
3.2.6 Komentář k výsledkům ověření učebního textu ve výuce	51
3.3 ZHODNOCENÍ VÝUKOVÉHO TEXTU STUDENTY A ABSOLVENTY	51
3.3.1 Hypotézy dotazníkového šetření	51
3.3.2 Charakteristika vzorku respondentů	53
3.3.3 Metodika	53

3.3.4 Výsledky	54
3.3.4.1 návratnost dotazníků	54
3.3.4.2 Souhrnné vyhodnocení dotazníkového šetření zahrnující odpovědi všech respondentů	54
3.3.4.3 Vyhodnocení dotazníkového šetření zahrnující pouze odpovědi studentů oboru Analýza potravin	58
3.3.4.4 Vyhodnocení dotazníkového šetření zahrnující pouze odpovědi absolventů oboru Analýza potravin	62
4. DISKUSE	66
5. ZÁVĚR	70
6. LITERATURA	71
7. PŘÍLOHY	75

1. ÚVOD

Výuka odborných předmětů na středních odborných školách má oproti výuce všeobecně vzdělávacích předmětů svá specifika a vyžaduje tedy také speciální učební texty, které akcentují požadavky na profil absolventa střední odborné školy podle konkrétního studijního programu a oboru. Před rokem 1989 zajišťovalo tehdejší Státní nakladatelství technické literatury vydávání celostátních středoškolských odborných učebnic pro všechny střední školy zařazené do sítě SOŠ s technickým zaměřením, přičemž tyto učebnice byly koncipovány podle tehdejších platných osnov pro výuku daných odborných předmětů. Již řadu let je však u nás situace zcela odlišná a SOŠ již nemají zajištěny přísun aktualizovaných učebnic pro odborné předměty.

V dnešní době je na trhu nabízena celá řada učebnic všeobecně vzdělávacích předmětů jako například biologie, chemie, zeměpisu atd., většinou s přívlastkem „pro gymnázia a střední školy gymnaziálního typu“. Méně se však již setkáme s nabídkou učebnic pro odborné střední školy a pro úzce profilované odborné střední školy neexistují povětšinou aktuální učební texty, odrážející nejnovější poznatky v oboru, vůbec.

Od školního roku 2005/2006 působím jako učitel na Střední průmyslové škole chemické v Brně, kde se studenti vzdělávají mimo jiné také ve studijním oboru Analýza potravin. Nedílnou součástí jejich výuky je i výuka potravinářské mikrobiologie, která je z velké části realizovaná formou praktických laboratorních cvičení. Situace ohledně učebnic či jiných učebních textů je taková, že student v podstatě nemá k dispozici žádný vhodný učební text k tomuto předmětu. Jistěže takové učební texty vycházejí, avšak prakticky pouze v podobě vysokoškolských skript a učebnic, které jsou pro výuku na střední škole nevhodné. Je tedy na vyučujícím, aby si sám obsahovou náplň cvičení nachystal ve formě příprav na vyučování a následně je předával svým studentům. Pro studenty samotné by však učební text, ze kterého by mohli čerpat návody ke cvičení, byl nedocenitelnou pomůckou.

Předložená rigorózní práce se zabývá tvorbou a pilotním ověřením učebního textu „Laboratorní cvičení z mikrobiologie“ [24]. Text byl publikován v roce 2008 a doposud

byl využit při výuce studentů dvou po sobě jdoucích ročníků oboru Analýza potravin na Střední průmyslové škole chemické v Brně.

Cíle rigorózní práce:

1. Tvorba výukového textu „Laboratorní cvičení z mikrobiologie“
2. Ověření učebního textu ve výuce na střední odborné škole
3. Hodnocení učebního textu studenty i absolventy střední odborné školy metodou dotazníkového šetření

2. TEORETICKÁ VÝCHODISKA

2.1 Výuka studijního oboru Analýza potravin na středních odborných školách v České republice

Studijní obor Analýza potravin je v současné době (pro školní rok 2010/2011) nabízen ke studiu na devíti středních odborných školách v České republice. Podle portálu Ministerstva práce a sociálních věcí se jmenovitě jedná o tyto školy [27]:

- Střední průmyslová škola chemická Brno,
- Vyšší odborná škola potravinářská a Střední průmyslová škola mlékárenská Kroměříž,
- Střední škola potravinářská Smiřice,
- Vyšší odborná škola, střední odborná škola a střední odborné učiliště Bzenec,
- Střední škola hotelnictví, gastronomie a služeb Šilheřovice,
- Střední škola obchodu, služeb a podnikání a Vyšší odborná škola České Budějovice,
- Vyšší odborná škola ekonomických studií a Střední průmyslová škola potravinářských technologií Praha,
- Švehlova střední škola Prostějov,
- Střední průmyslová škola potravinářská Pardubice.

2.2 Rámcový vzdělávací program studijního oboru Analýza potravin

Rámcový vzdělávací program pro obor vzdělání 29-42-M/01 Analýza potravin byl Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy vydán dne 28. 6. 2007 [33]. Tento kurikulární dokument vymezuje závazné požadavky na vzdělávání v oboru Analýza potravin, tzn. zejména výsledky vzdělávání, kterých má žák v závěru studia dosáhnout, obsah vzdělávání, základní podmínky realizace vzdělávání a pravidla pro tvorbu školních vzdělávacích programů. Je rozčleněn do několika vzdělávacích oblastí, z nichž se dále věnuji pouze oblasti “Odborné vzdělávání”.

Výuka mikrobiologie směřuje podle zmíněného Rámcového vzdělávacího programu k získání následujících odborných kompetencí:

A) Kompetence provádět laboratorní a senzorickou analýzu, vyhodnocovat výsledky a navrhnout opatření, tzn. aby absolventi:

- volili vhodný způsob analýzy, znali principy, postupy a užití klasických i moderních metod laboratorní analýzy v potravinářství;
- odebírali a upravovali vzorky k analýze podle technologického postupu;
- prováděli kompletní analýzy vzorků a kontrolní analýzy výrobních operací v souladu s platnými předpisy;
- vyhodnocovali výsledky prováděných analýz a navrhovali příslušná opatření;
- obsluhovali laboratorní techniku a zajišťovali její údržbu;
- vedli provozní záznamy;
- dbali na dodržování hygieny, bezpečnosti práce a požární prevence v laboratoři.

b) Kompetence řídit, plánovat a organizovat systém kontroly technologického procesu a jakosti potravinářských výrobků, tzn. aby absolventi:

- organizovali a plánovali systém kontroly jakosti technologických procesů a potravinářských výrobků;
- dbali na dodržování technologických norem (standardů) a systému kontroly jakosti a požadavků na bezpečnost potravin;
- dbali na dodržování právních předpisů v oblastech osobní hygieny a sanitace pracovního prostředí, bezpečnosti a ochrany zdraví při práci a požární prevence v potravinářském provozu;
- vedli dokumentaci a provozní evidenci;
- využívali i nové kontrolní laboratorní metody zohledňující národní a mezinárodní standardizaci.

c) Kompetence dbát na bezpečnost práce a ochranu zdraví při práci, tzn. aby absolventi:

- chápali bezpečnost práce jako nedílnou součást péče o zdraví své i spolupracovníků (i dalších osob vyskytujících se na pracovištích, např. klientů, zákazníků, návštěvníků) i jako součást řízení jakosti a jednu z podmínek získání či udržení certifikátu jakosti podle příslušných norem;
- znali a dodržovali základní právní předpisy týkající se bezpečnosti a ochrany zdraví při práci a požární prevence;
- osvojili si zásady a návyky bezpečné a zdravé neohrožující pracovní činnosti, rozpoznali možnost nebezpečí úrazu nebo ohrožení zdraví a byli schopni zajistit odstranění závad a možných rizik;
- byli vybaveni vědomostmi o zásadách poskytování první pomoci při náhlém onemocnění nebo úrazu a dokázali první pomoc sami poskytnout.

d) Kompetence usilovat o nejvyšší kvalitu své práce, výrobků nebo služeb, tzn. aby absolventi:

- chápali kvalitu jako významný nástroj konkurenceschopnosti a dobrého jména podniku;
- dodržovali stanovené normy (standarty) a předpisy související se systémem řízení jakosti zavedeným na pracovišti;
- dbali na zabezpečování parametrů (standardů) kvality procesů, výrobků nebo služeb,
- zohledňovali požadavky klienta (zákazníka, občana).

e) Kompetence jednat ekonomicky a v souladu se strategií udržitelného rozvoje, tzn. aby absolventi:

- znali význam, účel a užitečnost vykonávané práce
- zvažovali při plánování a posuzování určité činnosti (v pracovním procesu i v běžném životě) možné náklady, výnosy a zisk, vliv na životní prostředí, sociální dopady;
- nakládali s materiály, energiemi, odpady, vodou a jinými látkami ekonomicky a s ohledem na životní prostředí.

Absolvent, připravovaný na základě tohoto rámcového vzdělávacího programu, se uplatní při výkonu povolání potravinářský technik - kontrolor jakosti při výrobě a kontrole potravin v potravinářském odvětví a dalších příbuzných odvětvích. Uplatní se zejména jako laborant v oblasti kontroly jakosti potravin v podnicích a institucích zabývajících se fyzikálně-chemickými, chemickými, biologickými a mikrobiologickými rozbory (např. provozní laboratoře potravinářských závodů, státní laboratoře inspekce jakosti potravin, soukromé akreditované laboratoře, úpravny vod a čistírny odpadních vod, instituce ochrany životního prostředí, stravovací zařízení, apod.). Uplatní se ve výrobních provozech potravinářských závodů v oblasti nákupu surovin a pomocných látek, odbytu a prodeje surovin a potravinářských výrobků, v obchodních firmách v oblasti marketingu potravin, případně jako technolog v potravinářském provozu. Může se uplatnit také v oblasti kontroly a péče o životní prostředí.

Obsahový okruh „Mikrobiologie potravin“ připravuje žáky k osvojení vědomostí a dovedností v oblasti metod analýzy potravin z hlediska mikrobiologických šetření. Cílem je naučit žáky vypěstovat, izolovat a identifikovat základní mikroorganismy vyskytující se zejména v potravinách a potravinářských provozech, zařadit je do příslušných skupin a posoudit je z hlediska bezpečnosti potravin. Tento obsahový okruh plní funkci průpravnou vzhledem k navazujícímu okruhu metody analýzy potravin, kde žáci aplikují získané vědomosti a dovednosti při vlastních mikrobiologických rozbořech v potravinářském průmyslu.

Podstatná část výuky probíhá formou laboratorních cvičení. Jejich cílem je aplikovat teoretické znalosti v praxi, ověřit principy jednotlivých mikrobiologických metod, vyhodnotit získané výsledky a osvojit si praktické dovednosti při provádění mikrobiologických rozborů. Žáci jsou vedeni k práci s odbornou literaturou a k využívání informací z různých informačních zdrojů.

Všechny činnosti v laboratoři musí žák vykonávat v souladu s platnými předpisy. Praktická (laboratorní) cvičení představují minimálně 50 % výuky.

Obsahový okruh „Metody analýzy potravin“ je stěžejním okruhem rámcového vzdělávacího programu pro obor vzdělání analýza potravin. Obsahově navazuje na

ostatní obsahové okruhy. Plní funkci aplikační a je zaměřen prakticky, praktická cvičení představují minimálně 70 % výuky. Výuka probíhá převážně formou laboratorních cvičení, kde žáci provádějí komplexní analýzy vybraných skupin potravinářských surovin, polotovarů a výrobků. Hlavním cílem je připravit žáky tak, aby dovedli prakticky aplikovat osvojené postupy klasických i moderních metod při analýze potravin, provádět průběžné kontroly na všech stupních výroby a na základě výsledků kvalifikovaně rozhodnout o jakosti surovin a hotových výrobků a vyvodit příslušná opatření. Žáky je nutné vést k osvojování hygienických návyků a dodržování hygienických požadavků.

Žáci se v souvislosti s požadavky na bezpečnost potravin, resp. produkci hygienicky nezávadných potravin, seznámí s postupy zavádění, provozování a kontroly systému kritických bodů ve výrobě, např. HACCP (systém analýzy kritických kontrolních bodů) a s konkrétními zákony, vyhláškami a předpisy souvisejícími s činností v potravinářském průmyslu.

Žáci jsou vedeni k dodržování bezpečnostních předpisů a požární prevenci v laboratořích a potravinářských provozech, jsou seznámeni s běžnými riziky a úrazy a s nutností používat předepsané pracovní oděvy a ochranné pomůcky. Všechny činnosti vykonávají v souladu s ekologickými předpisy.

Vzhledem k tomu, že je nezbytné, aby si žáci vytvořili ucelený pohled na výrobu i kontrolu potravinářských výrobků, je vhodné realizovat část praktické přípravy ve vybraných laboratořích a provozech vybavených příslušnou technologií.

2.3 Školní vzdělávací program Analýza potravin na Střední průmyslové škole chemické Brno

Výuka studijního oboru Analýza potravin se uskutečňuje na různých středních školách podle různých školních vzdělávacích programů, které vycházejí se společného rámcového vzdělávacího programu v souladu s Národním programem vzdělávání v

České republice, tzv. Bílou knihou a zákonem č. 561/2004 Sb. o předškolním, základním, středním, vyšším odborném a jiném vzdělávání (školský zákon).

Na střední průmyslové škole chemické Brno je školní vzdělávací program pro tento obor zpracován s platností od 1. 9. 2009 do 30. 6. 2013 [31]. Jeho důležité části jsou uvedeny v následujícím textu.

2.3.1 Profil absolventa

Školní vzdělávací program je sestaven tak, aby absolvent našel uplatnění v potravinářském průmyslu, především jako potravinářský technik pro kontrolu jakosti a hygieny. Na této pozici má zajišťovat vstupní, mezioperační a výstupní kontrolu potravinářských a krmivářských surovin, polotovarů a hotových výrobků. Uplatní se také jako laborant v oblasti kontroly kvality potravin v podnicích a institucích zabývajících se mikrobiologickými, chemickými, biologickými a fyzikálně-chemickými rozbory, např. v provozních laboratořích potravinářských závodů, státních laboratořích inspekce potravin, soukromých akreditovaných laboratořích, úpravnách vod a institucích ochrany životního prostředí.

Po ukončení studia a úspěšném složení maturitní zkoušky je absolvent připraven rovněž ke studiu na vysokých školách a na vyšších odborných školách, zaměřených zejména na analýzu potravin a příbuzné obory. Absolvent disponuje vysokou odborností v oblasti mikrobiologie, analytické chemie, znalostmi přírodních věd, technologiemi v potravinářství a také znalostí dvou světových jazyků a schopností pracovat s odbornými texty a informačními technologiemi.

2.3.2 Výsledky vzdělávání v profilující oblasti odborného vzdělávání

V profilující oblasti odborného vzdělávání je výsledkem tohoto vzdělávání to, že absolvent:

- používá správnou odbornou terminologii,
- vystihne podstatu chemických, fyzikálně-chemických a biochemických procesů a aplikuje je v praxi,
- pracuje s odbornou literaturou, technickou dokumentací a normami,
- orientuje se v právních předpisech ČR a EU v oblasti potravinářství,
- provádí kompletní analýzy vzorků potravin (mikrobiologickou, chemickou, senzorickou),
- vyhodnocuje výsledky prováděných analýz a navrhuje příslušná opatření,
- má pracovní návyky pro praktickou činnost v laboratoři,
- odebírá a upravuje vzorky k analýze,
- obsluhuje laboratorní techniku a diagnostikuje závady,
- vede laboratorní záznamy, vyhodnocuje výsledky prováděných analýz s využitím výpočetní techniky,
- nakládá s materiály, energiemi, vodou, chemickými látkami a odpady ekonomicky a s ohledem na životní prostředí.

Absolvent je veden k tomu, aby:

- dodržoval příslušné normy a standardní postupy,
- dodržoval zásady bezpečné práce s chemickými látkami, přístroji, stroji a zařízeními se zřetelem na zdraví a minimalizaci škodlivých vlivů na pracovní a životní prostředí,
- dodržoval právní předpisy v oblastech hygieny a sanitace pracovního prostředí, bezpečnosti a ochrany zdraví při práci v laboratoři i potravinářském provozu,
- pracoval se svěřenými pracovními prostředky šetrně,
- chápal kvalitu jako významný nástroj konkurenceschopnosti.

2.3.3 Způsob ukončení vzdělání

Maturitní zkouška se skládá ze společné a profilové části. Žák získá střední vzdělání s maturitní zkouškou, jestliže úspěšně vykoná obě části maturitní zkoušky [31].

Společná část maturitní zkoušky je v kompetenci Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy a podle současné koncepce má obsahovat 3 povinné zkoušky: z českého jazyka a literatury, z cizího jazyka a z volitelného předmětu (matematika, občanský a společenskovědní základ, informatika).

Profilová část maturitní zkoušky obsahuje také 3 povinné zkoušky. Jedna z nich je konána formou **praktické zkoušky z analýzy a mikrobiologie potravin** nebo formou vypracování dlouhodobé maturitní práce a její obhajobou před komisí. Druhá zkouška je zkouška z **teorie analýzy a mikrobiologie potravin**. Pro konání třetí zkoušky si student volí z těchto předmětů: anglický jazyk, německý jazyk, matematika, biologie, fyzika, informační a komunikační technologie, chemie, hygiena a technologie potravin.

2.3.4 Metody a formy výuky

Vzdělávací formy pro obor analýza potravin zahrnují frontální, individuální, skupinové, týmové a projektové vyučování. Mezi stěžejní metody školní výuky využívané v rámci teoretického a praktického vyučování na naší škole patří metody slovní, názorné a praktické. Podle struktury vyučovacího procesu lze metody rozdělit na motivační, expoziční, fixační a diagnostické [32]. Využíváme také metody autodidaktické, tzn. učíme studenty technikám samostatného učení a práce. K tomuto účelu je na naší škole zřízeno speciální středisko informací, které zahrnuje studovnu, odbornou knihovnu a knihovnu beletrie.

Všichni naši vyučující mají ve svém rozvrhu zařazeny každý týden konzultační hodiny, ve kterých pomáhají studentům řešit jejich studijní problémy.

2.3.5 Charakteristika vzdělávací oblasti „odborné vzdělávání“

Vzdělávací oblast „Odborné vzdělávání“ je rozdělena do 4 obsahových okruhů.

Obsahový okruh mikrobiologie potravin připravuje žáky k osvojení vědomostí a dovedností z hlediska mikrobiologických šetření, což se děje zejména ve vyučovacích předmětech „analýza a mikrobiologie potravin“ a „hygiena a technologie potravin“ v návaznosti na učivo biologie.

Dalším obsahovým okruhem je potravinářská chemie, který v návaznosti na učivo přírodovědného vzdělávání poskytuje znalosti o chemickém složení a vnitřní struktuře látek a jejich vlastnostech, o principech fyzikálních a analytických metod využívaných při rozborech vzorků, o podstatě biochemických pochodů probíhajících v živých organismech, o přírodních a cizorodých látkách v potravinách a o faktorech ovlivňujících kvalitu potravin. V tomto obsahovém okruhu je zařazen tematický celek o výživě, který se zabývá druhy výživy, výživovými hodnotami a důsledky nevhodného stravování. Podstatnou součástí výuky jsou praktická cvičení, ve kterých si studenti ověřují získané poznatky. Vzdělávání v tomto obsahovém okruhu se odehrává zejména v předmětech chemie, analytická chemie, fyzika, biochemie a výživa a v předmětu metody analýzy potravin.

V obsahovém okruhu potravinářská technologie se studenti seznamují se surovinami, aditivními a pomocnými látkami využívanými při výrobě potravin, způsoby úpravy a zpracování surovin na hotové výrobky, trvanlivostí, uchováváním, skladováním a vadami potravin.

Stěžejním obsahovým okruhem školního vzdělávacího programu Analýza potravin jsou metody analýzy potravin. Plní funkci aplikační a jeho hlavním cílem je připravit studenty tak, aby dovedli prakticky využít osvojené postupy metod analýzy potravin, provádět průběžné kontroly na všech stupních výroby a na základě výsledků kvalifikovaně, v souladu se zákony, vyhláškami a dalšími předpisy, rozhodnout o kvalitě surovin a hotových výrobků a vyvodit příslušná opatření. Ve školním vzdělávacím programu na Střední průmyslové škole chemické v Brně je tento okruh zařazen jednak v rámci stejnojmenného předmětu, dále pak do předmětů analýza a mikrobiologie potravin, biologie, fyzikální chemie a analytická chemie [31].

2.3.6 Hodinové dotace a učební osnova předmětu „metody analýzy potravin“

Předmět metody analýzy potravin má celkovou hodinovou dotaci 10 týdenních vyučovacích hodin za studium (to znamená, že součet hodin tohoto předmětu ze všech týdenních rozvrhů žáka musí být 10). 4 týdenní vyučovací hodiny jsou realizovány ve 3. ročníku, 6 zbývajících hodin ve 4. ročníku studia. Tento předmět je vyučován výhradně formou laboratorních cvičení z potravinářské mikrobiologie a analytické chemie potravin.

Kromě této praktické laboratorní výuky mají studenti předmět analýza potravin, který zahrnuje celkem 6 týdenních vyučovacích hodin za studium, z toho 4 hodiny ve 3. ročníku a 2 hodiny ve 4. ročníku studia. Předmět je vyučován ve školní třídě za využití obvyklé didaktické techniky, včetně dataprojektoru.

2.3.7 Učební osnova předmětu Metody analýzy potravin

V následujícím textu jsou uvedeny základní údaje o učební osnově předmětu Metody analýzy potravin studijního oboru 29-42-M/01 Analýza potravin [31].

2.3.7.1 Pojetí vyučovacího předmětu

Obecný cíl:

Metody analýzy potravin (MAP) jsou stěžejním předmětem praktického vyučování pro obor Analýza potravin. Předmět plní funkci aplikační a je prakticky zaměřený na chemickou a mikrobiologickou analýzu potravin, přičemž vychází z teoretických znalostí získaných v předmětu analýza a mikrobiologie potravin. Tímto předmětem žáci získají nezbytné intelektuální a manuální dovednosti z oblasti metod práce v analytické a mikrobiologické laboratoři a se připravují se na práci v potravinářských laboratořích. V souvislosti s požadavky na bezpečnost potravin se žáci seznámí s konkrétními zákony, vyhláškami a předpisy souvisejícími s činností v potravinářském průmyslu.

Charakteristika učiva:

Předmět metody analýzy potravin umožňuje žákům prakticky aplikovat teoretické poznatky získané v předmětu analýza a mikrobiologie potravin. Žáci se zaměřují na chemický a mikrobiologický rozbor potravin, přičemž provádějí komplexní analýzu potravinářských komodit, jako např. rozbor pitné vody, chleba, mouky apod. Žáci si rovněž vyzkouší základy senzorického posuzování potravin. Praktické rozbor probíhají na reálných vzorcích z obchodní sítě a výsledky jsou srovnávány s hodnotami uvedenými v příslušné legislativě.

Předmět využívá poznatků získaných v analytické chemii (analytické metody), biologii (mikroskopování, zdraví a organismy), hygieně a technologii potravin (systém kritických kontrolních bodů HACCP, hygiena), matematice (výpočty), fyzice (principy fyzikálněchemických metod), chemii (chemické rovnice, principy chemických metod analýzy) a v neposlední řadě informačních a komunikačních technologiích (zpracování protokolů).

Pojetí výuky:

Výuka je realizována formou laboratorních cvičení, které se rovnoměrně dělí na chemickou a mikrobiologickou analýzu. Žáci tedy pracují jak v laboratoři odměrné analytické chemie, tak i ve speciálně zařízené mikrobiologické laboratoři. Mimo pravidelnou výuku si žáci teoretické znalosti osvojí a prohloubí v odborné praxi (4 týdny) a v rámci laboratorního cvičení probíhá i učební praxe. Na zadaném cvičení žáci pracují podle pokynů vyučujícího a návodů samostatně nebo ve dvojicích a své výsledky zpracovávají do protokolů. V přiměřeném rozsahu jsou zařazené exkurze zaměřené na mikrobiologickou a chemickou kontrolu potravin a na potravinářskou výrobu.

Hodnocení výsledků:

Hodnocení žáků vychází z klasifikačního řádu školy. Zahrnuje hodnocení práce v laboratoři, individuální přístup k praktickým problémům a úkolům, znalost

problematiky. Důraz je kladen na správné a včasné zpracování výsledků laboratorního cvičení do protokolu, u něhož je hodnocena i grafická úprava.

Přínos k rozvoji klíčových kompetencí a průřezových témat:

Praktická výuka v laboratoři vede žáky k odpovědnosti, samostatnosti a dodržování předpisů bezpečné práce s chemickými látkami a odpady, čímž dochází k posilování občanských kompetencí žáků. Komunikativní kompetence podporuje zpracovávání odborných textů, jako jsou protokoly, zprávy z odborné praxe a exkurzí. Personální kompetence žáci získávají vyhodnocováním dosažených výsledků. Týmová práce v laboratoři přispívá k posílení sociálních kompetencí. Velký důraz je kladen na využívání prostředků informačních a komunikačních technologií. Žáci pracují s osobním počítačem s běžným základním a aplikačním softwarem při zpracování výsledků analýzy a tvorbě protokolů, jejichž součástí jsou grafy a tabulky.

2.3.7.2 Rozpis výsledků vzdělávání a obsahu učiva

Vyučovací předmět je rozdělen na dvě části – část analytické chemie potravin a část mikrobiologie potravin, které jsou vyučovány během školního roku současně (tedy např. ve 3. ročníku představuje 2 hodiny v týdnu část analytická, další 2 hodiny část mikrobiologická). Rozvržení učiva, počet vyučovacích hodin a cíle vzdělávání pro 3. a 4. ročník jsou uvedeny v následujících tabulkách č. 1 – 4 na str. 19 až 22.

Tabulka č.1: Výsledky vzdělávání a obsah učiva ve 3. ročníku – část analytické chemie potravin (2 hodiny týdně, celkem 64 hodiny za školní rok) [31]

Výsledky vzdělávání	Učivo	Počet hodin
<p>Žák - popíše a dodržuje zásady bezpečné práce v laboratoři;</p>	<p>1. Bezpečnost a zásady práce v laboratoři - laboratorní řád - BOZP - zpracování výsledků</p>	4
<p>- provádí rozbor pitné a minerální vody; - naměří relevantní výsledky a správně je interpretuje;</p>	<p>2. Chemická kontrola pitné vody - chemický rozbor pitné a minerální vody (stanovení tvrdosti vody, stanovení CHSK, stanovení chloridů, stanovení alkality a acidity atd.)</p>	20
<p>- rozliší základní vlastnosti vzorků pomocí smyslů – chuť, vůně, barva, konzistence; - připraví vzorek a předloží jej k senzorické analýze; - provádí senzorickou analýzu vybraných potravin;</p>	<p>3. Senzorické hodnocení potravin - rozeznávání chutí, vůní a barev - senzorické hodnocení potravinářských komodit</p>	10
<p>- provádí chemický rozbor jednotlivých druhů potravin; - připravuje odměrné roztoky, používá správné indikátory, připravuje roztoky kyselin, zásad, čířících a reakčních roztoků; - pracuje podle pracovního návodu; - provádí správné vyhodnocení potravinářského vzorku; - zpracovává výsledky analýzy do protokolu.</p>	<p>4. Rozbor mouky a pečiva - stanovení vlhkosti, popela, cukrů, kyselosti, lepku a chloridů</p>	16
	<p>5. Rozbor mléka - stanovení sušiny, hustoty, kyselosti, cukrů a bílkovin</p>	20
	<p>6. Rozbor vína - stanovení kyselosti, cukrů a oxidu siřčitého</p>	12

Tabulka č.2: Výsledky vzdělávání a obsah učiva ve 4. ročníku – část analytické chemie potravin (3 hodiny týdně, celkem 84 hodiny za školní rok) [31].

Výsledky vzdělávání	Učivo	Počet hodin
Žák - zná a dodržuje zásady bezpečné práce v laboratoři	1. Bezpečnost a zásady práce v laboratoři - laboratorní řád - BOZP - zpracování výsledků	3
- provádí chemický rozbor jednotlivých druhů potravin;	2. Rozbor ovoce a zeleniny - stanovení popela, kyselosti, cukrů a vitamínu C	9
- připravuje odměrné roztoky, používá správné indikátory, připravuje roztoky kyselin, zásad, čířících a reakčních roztoků;	3. Rozbor dětské výživy, hořčice a kečupu - stanovení sušiny, popela, písku, obsahu kyselin a chloridů - stanovení konzervantů (např. kyseliny sorbové)	24
- pracuje podle pracovního návodu;	4. Rozbor masa a uzenin - důkazy bílkovin - stanovení sušiny, popela, písku - stanovení obsahu kyselin, chloridů a fosfátů	12
- provádí správné vyhodnocení potravinářského vzorku;	5. Rozbor tuků a olejů - stanovení tukových charakteristik	9
- zpracovává výsledky analýzy do protokolu.	6. Rozbor láku - stanovení chloridů a dusitanů	6
	7. Rozbor destilátů - stanovení cukrů	6
	8. Rozbor nápojů - stanovení obsahu kyselin, vitamínu C	6
	9. Opakování volumetrických stanovení - acidobazické, srážecí, komplexometrické a redoxní stanovení	9

Tabulka č.3: Výsledky vzdělávání a obsah učiva ve 3. ročníku – část mikrobiologie potravin (2 hodiny týdně, celkem 64 hodiny za školní rok) [31].

Výsledky vzdělávání	Učivo	Počet hodin
<p>Žák</p> <ul style="list-style-type: none"> - uvede příklady bezpečnostních rizik, nejčastější příčiny úrazů a jejich prevenci; - při obsluze, běžné údržbě a čištění přístrojů postupuje v souladu s předpisy a pracovními postupy; - poskytne první pomoc při úrazu na pracovišti; 	<p>1. Bezpečnost a hygiena práce, požární ochrana</p> <ul style="list-style-type: none"> - bezpečnost a ochrana zdraví při práci v mikrobiologické laboratoři - hygiena a sanitace v mikrobiologické laboratoři - první pomoc - bezpečnost technických zařízení - první pomoc 	4
<ul style="list-style-type: none"> - připraví fixovaný preparát mikroorganismů a obarví jej methylenovou modří nebo dle Grama; - pozoruje mikroorganismy pod mikroskopem; 	<p>2. Barvení a pozorování mikroorganismů</p> <ul style="list-style-type: none"> - fixovaný preparát - barvení methylenovou modří - Gramovo barvení 	10
<ul style="list-style-type: none"> - provádí kultivaci mikroorganismů v souladu s obecnými zásadami; - volí a připravuje vhodné živné půdy; - připravuje čisté kultury mikroorganismů; - provádí identifikaci mikroorganismů; - dodržuje hygienu při práci s mikroorganismy; - výsledky práce zpracovává do protokolů a formuluje z nich závěry. 	<p>3. Kultivace mikroorganismů</p> <ul style="list-style-type: none"> - vliv vnějších faktorů na mikroorganismy - živné půdy - izolace a selekce mikroorganismů - identifikace mikroorganismů 	50

Tabulka č.4: Výsledky vzdělávání a obsah učiva ve 4. ročníku – část mikrobiologie potravin (3 hodiny týdně, celkem 84 hodiny za školní rok) [31].

Výsledky vzdělávání	Učivo	Počet hodin
<p>Žák</p> <ul style="list-style-type: none"> - dodržuje zásady bezpečnosti, ochrany zdraví a hygieny v mikrobiologické laboratoři; - poskytne první pomoc při úrazu v laboratoři; 	<p>1. Bezpečnost a hygiena práce, požární ochrana</p> <ul style="list-style-type: none"> - bezpečnost a ochrana zdraví při práci v mikrobiologické laboratoři - hygiena a sanitace v mikrobiologické laboratoři - první pomoc - bezpečnost technických zařízení - první pomoc 	6
<ul style="list-style-type: none"> - odebírá asepticky a vhodným způsobem vzorek ke kontrole; - po vhodné úpravě vzorku provede kultivační vyšetření; - provádí mikrobiologickou kontrolu surovin, polotovarů, finálních výrobků, pracovních ploch a obalů potravin; - podle platných norem posuzuje výsledky vyšetření a zpracuje záznam o provedeném rozboru; - aplikuje příslušné právní předpisy pro hodnocení jakosti a bezpečnosti potravin; 	<p>2. Kultivační metody průkazu a stanovení počtu mikroorganismů</p> <ul style="list-style-type: none"> - odběr vzorků pro mikrobiologické vyšetření a jejich uchování - primokultivace - stanovení počtu mikroorganismů plotnovou metodou - metoda membránových filtrů - metoda Most Probably Number 	60
<ul style="list-style-type: none"> - objasní obecný princip imunochemických metod; - popíše konkrétní imunochemické metody používané v mikrobiologii; - provede mikrobiologické vyšetření potravin na konkrétní antigen v rámci možností školní mikrobiologické laboratoře; 	<p>3. Imunochemické metody průkazu a stanovení bakteriálních antigenů</p> <ul style="list-style-type: none"> - princip imunochemické reakce antigen – protilátka - produkce protilátek - příklady imunochemických metod a jejich aplikace (ELISA, sandwich, průtoková cytometrie, imunomagnetická separace) 	9
<ul style="list-style-type: none"> - objasní princip metody PCR a RT-PCR; - popíše konkrétní postup provedení PCR pro účely mikrobiologického vyšetření včetně následné elektroforézy specifického PCR produktu; - provede dílčí úkony metody PCR a elektroforézy v rámci možností školní mikrobiologické laboratoře. 	<p>4. Molekulárně-biologické metody průkazu a stanovení počtu mikroorganismů</p> <ul style="list-style-type: none"> - princip metody PCR - praktické využití PCR při detekci mikroorganismů - využití PCR v ostatních oborech lidské činnosti 	9

2.4 Publikace používané pro výuku předmětu „metody analýzy potravin“

Pro předmět metody analýzy potravin nejsou v současné době k dispozici žádné učebnice, nebo souhrn návodu, které by se daly ve výuce použít.

Mezi dříve používané učebnice mikrobiologie na středních průmyslových školách patří například:

- Biologie pro 3. ročník SPŠ potravinářských: mikrobiologie z roku 1986 [25],
- Laboratorní cvičení mikrobiologická pro 2. ročník středních průmyslových škol potravinářských z roku 1977 [38].

Uvedené učebnice jsou již nedostupné, neodpovídají současným požadavkům a navíc jsou zaměřeny spíše teoreticky než aby mohly sloužit jako návody pro laboratorní cvičení.

Z tohoto důvodu jsem vytvořil učební text pro předmět metody analýzy potravin (část mikrobiologie potravin), který by mohl být případně použit i na jiných středních odborných školách s potravinářským zaměřením. V současné době je již učební text pilotně ověřen ve výuce dvou ročníků oboru analýza potravin.

2.5 Skupiny mikroorganismů důležité z hlediska potravinářské mikrobiologie a jejich identifikace na agarových půdách

V následujícím textu je uveden přehled nejdůležitějších skupin mikroorganismů. Jedná se zejména o mikroorganismy, jejichž přítomnost v potravine se vyšetřuje z legislativních důvodů, způsobující alimentární infekce či intoxikace.

Základním ukazatelem celkové hygienické úrovně potravinářského provozu je stanovení celkového počtu mikroorganismů. Jedná se o veškeré bakterie, kvasinky a plísňově vyrostlé na neselektivní, nutričně bohaté půdě (např. půda s obsahem glukosy, tryptonu, kvasničného extraktu a agaru, označovaná jako GTKA nebo PCA) za

aerobních podmínek během 72 hodin při 30 °C. Můžeme tedy říci, že jde o veškeré mezofilní aerobní a fakultativně anaerobní mikroorganismy [4].

2.5.1 Koliformní mikroorganismy

Jsou to fakultativně anaerobní gramnegativní tyčinkovité bakterie z čeledi *Enterobacteriaceae*, které **zkvašují laktosu** za tvorby kyseliny a plynu (jsou laktoso-pozitivní). Jedná se např. o rody např. rody *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella* a *Citrobacter*.

Patří mezi tzv. indikátorové mikroorganismy, indikují fekální kontaminaci potravin či obecně nízkou hygienickou úroveň potravinářského provozu.

Koliformní mikroorganismy mohou být identifikovány na živné půdě s krystalovou violetí, neutrální červení, žlučovými solemi a agarem (běžné označení VČŽL nebo VRBL), kde po kultivaci při 37 °C po dobu 24 hodin vytváří karmínově červené kolonie o průměru 1 – 3 mm. Charakteristický vzhled kolonií vyplývá ze schopnosti koliformních mikroorganismů zkvašovat laktosu za produkce kyseliny, což se projeví změnou pH v okolí kolonie a tím i barevnou změnou acidobazických indikátorů, které jsou v půdě obsaženy [17].

2.5.2 Enterokoky

Nejvýznamnějšími druhy rodu *Enterococcus* jsou *E. faecalis* a *E. faecium*. Jde o saprofyty (saprofyt je organismus využívající ke svému životu rozkládajících se částí jiného organismu nebo jeho výměšků) a komenzály (komezál je organismus žijící v blízkém vztahu k jinému organismu, aniž by jej poškozoval) trávicího ústrojí zvířat i člověka. Enterokoky jsou rozšířeny ve fekálně kontaminovaném prostředí (stáje, povrchové vody). Přežívají teplotu 60 °C po dobu 30 minut [36].

Jde o indikátorové mikroorganismy fekálního znečištění v případech, kdy koliformní bakterie byly zničeny působením vyšší teploty, obvykle při technologickém zpracování. Protože ve vodě přežívají jen krátkou dobu a téměř se zde nepomnožují, mohou být využity jako indikátor čerstvého fekálního znečištění vody.

Enterokoky se identifikují na agarovém médiu Slanetz – Bartleyové, které obsahuje pepton, kvasničný extrakt, glukosu, K_2HPO_4 , azid sodný a agar. Na této půdě se enterokoky po inkubaci při 37 °C po dobu 2 dnů manifestují jako červeno-růžové, hladké a lesklé kolonie o průměru 1 – 2 mm. Půda je dost selektivní a proto v běžných případech postačí makroskopické posouzení kolonií bez nutnosti diferencovat enterokoky od ostatních streptokoků podle např. biochemických vlastností apod. [3].

V případě, že se jedná o kolonie získané technikou membránové filtrace (při mikrobiologickém vyšetření pitné vody), potom se tyto kolonie podle platné ISO normy potvrzují přeočkováním na žluč-eskulin-azidový agar, kde enterokoky hydrolyzují eskulin. Produkt reakce eskuletin reaguje s železitým iontem a tvoří černohnědý komplex. Azid přítomný v médiu inhibuje růst gramnegativních organismů a žluč inhibuje většinu grampozitivních organismů [9].

2.5.3 Psychrotrofní mikroorganismy

Jedná se o mikroorganismy, které jsou schopny pomnožovat se při 7 i méně °C, tedy při uchovávání mléka v chladovém režimu. Vyšetřují se v mléce, protože psychrotrofní bakterie produkují termostabilní enzymy způsobující proteolýzu a lipolýzu mléka. Tak dochází k závažným změnám ve složení mléka, které se projevují sensorickými změnami mléka a mléčných výrobků. Dochází zejména k porušení chuti a vůně, k tvorbě sedimentu. U vysoce tepelně ošetřených mlék vzniká hlenovatění.

Pro stanovení počtu psychrotrofních mikroorganismů se používá stejná půda, jako pro stanovení celkového počtu mikroorganismů (tedy GTKA, resp. PCA). Rozdíl je pouze v podmínkách kultivace (6,5 °C po dobu 10 dnů) [11].

2.5.4 *Clostridium perfringens*

Clostridium perfringens způsobuje alimentární infekce člověka. Vegetativní formy tohoto mikroorganismu pozřené s pitnou vodou či potravou v tenkém střevě zahájí sporulaci a přitom produkují toxin.

Spory přežívají var (100°C) 1-2 hodiny. Po zchlazení spory ihned vyklíčí a pokud je potravinu ponechána při pokojové teplotě (20-50 °C), vegetativní formy se velmi rychle množí.

Rizikové jsou především velké kusy masa (vytvoření anaerob. podmínek uvnitř, růst *Clostridium perfringens* podporuje i fakt, že varem potravin se z ní vypudí kyslík). Důležité je proto rychlé zchlazení tepelně opracované potravin (masa), čímž se zabrání vyklíčení spor. Důkladným ohřevem před další konzumací zničíme vegetativní formy klostridií a vyhneme se tak infekci (spory se v žaludku a střevech množit nemohou) [28].

Pro stanovení počtu *Clostridium perfringens* se používá m-CP agarová půda se složením: trypton, kvasničný extrakt, sacharosa, L-cystein, MgSO₄, bromkresolový purpur, agar s přídavkem suplementu o složení: D-cykloserin, polymyxinsulfát, idoxylglukosid, fenolftalein a FeCl₃. *Clostridium perfringens* je nutné kultivovat za anaerobních podmínek (v anaerostatu). Počítáme matné, neprůhledné žluté kolonie, které potvrdíme konfirmačním testem. Charakteristické kolonie (žluté) vystavíme parám amoniaku po dobu 20-30 sec. Ty, které změní barvu do růžova nebo červena jsou potvrzené kolonie [40].

2.5.5 *Salmonella* spp.

Rod *Salmonella* je významným zástupcem čeledi *Enterobacteriaceae*, což jsou gramnegativní, fakultativně anaerobní nesporelující krátké tyčinky. Salmonely zkvašují glukosu s produkcí kyseliny a plynu, nezkvašují však laktosu – jsou laktoso-negativní.

Z pohledu šíření alimentárních onemocnění je možno vyčlenit 3 nejdůležitější druhy salmonel:

- *Salmonella typhi* - patogen, způsobující velmi vážné (často smrtelné) onemocnění břišní tyfus. Tyfus se projevuje silnými bolestmi břicha a horečkami. Bakterie jsou vylučovány výkaly nemocného, takže při špatných hygienických podmínkách může dojít k epidemii. Patogenní je pouze pro člověka.
- *Salmonella typhimurium* – v přírodě velmi rozšířená, je patogenní pro člověka i pro zvířata.
- *Salmonella enteritidis* – patogenní pro člověka i pro zvířata a často se vyskytuje v trusu ptáků (holubi).

Druhy *S. typhimurium* a *S. enteritidis* způsobují alimentární onemocnění (přenos na člověka se děje převážně kontaminovanými potravinami) salmonelózu, která se projevuje průjmy, často i zvracením (gastroenteritida) [28].

Jednou ze selektivně-diagnostických pūd pro identifikaci salmonel je pūda XLD (s xylosou, lysinem a desoxycholátem). Po inkubaci při 37 °C po dobu 24 hodin jsou kolonie salmonel (a dalších laktoso-negativních mikroorganismů, např. bakterií rodu *Shigella*) černé barvy. Kolonie koliformních (laktoso-pozitivních) mikroorganismů odlišíme snadno – nejsou černé, nýbrž žluté barvy se žlutým zabarvením okolí kolonie [5].

2.5.6 *Listeria monocytogenes*

Listeria monocytogenes je obávaným patogenním mikroorganismem. Onemocnění vyvolaná touto bakterií – listeriózy, jsou velmi závažná a zasahují specifické skupiny lidí: děti, těhotné ženy a osoby s oslabenou imunitou. Mezi alimentárními onemocněními má největší procento úmrtnosti, které dosahuje až 33 % [1].

Mezi potraviny s největším rizikem patří mléčné výrobky (měkké, zrající a plísňové sýry), maso a tepelně neopracované masné výrobky.

Identifikaci listerií lze provést na živné půdě ALOA (výrobce AES Laboratoire). Důkaz je založen na průkazu β -glukosidázy, obsažené v buňkách bakterií rodu *Listeria*. Způsobuje modré až modrozelené zbarvení kolonií. *Listeria monocytogenes* navíc tvoří působením fosfolipázy C kolem kolonií žlutou zónu. Součástí agaru je inhibiční systém, který znemožňuje v prvních 24 hodinách inkubace jiných bakterií a specificky i jiných listerií než *Listeria monocytogenes* (po 24 hodinách je odečtena *L. monocytogenes*, po delší době inkubace další druhy listerií) [1].

2.5.7 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus je grampozitivní fakultativně anaerobní bakterie kulatého tvaru. Patogenní kmeny bakterií *Staphylococcus aureus* jsou nebezpečné tím, že produkují stafylokokový enterotoxin, který je termostabilní (není inaktivován ani působením teploty 100°C po dobu 20 minut). *Staphylococcus aureus* je typickým příkladem mikroorganismu, který způsobuje alimentární intoxikace [28].

Staphylococcus aureus tvoří charakteristické kolonie na půdě podle Baird-Parkera s obsahem telluričitanu draselného. Tyto kolonie jsou černé barvy (redukce telluričitanu draselného na kovový tellur) o průměru 1 až 1,5 mm, které jsou lesklé a vypouklé, a na opakní (zakalené) půdě tvoří projasněnou kruhovou zónu (o průměru 2 až 5 mm) kolem kolonie, odpovídající zóně proteolýzy (způsobené lipo-proteinázou), a opakní zóny, způsobené aktivitou lecitinázy, objevující se někdy se zpožděním (48 hodin i více) v projasněné kruhové zóně. Konfirmace kolonií se provádí koagulázovým testem na králičí plazmě. *S. aureus* poskytuje výrazně pozitivní koagulázovou reakci [8].

2.5.8 Aerobní a fakultativně anaerobní sporotvorné mikroorganismy

Protože převážná většina aerobních sporotvorných bakterií má významné enzymatické vlastnosti, lze z jejich počtu posoudit mj. uchovatelnost potravin. Jedná se zejména o zástupce rodu *Bacillus* – např. *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus cereus* ad. [34]

Z výše uvedených je nebezpečný především fakultativně anaerobní *Bacillus cereus*, který pokud dojde k jeho pomnožení v potravíně, produkuje silně termostabilní emetický toxin (vyvolává zvracení), dále enzym fosfolipázu C, který přeměňuje v potravíně přítomný lecitin na lyzolecithin, který poškozuj e červené krvinky (hemolýza erytrocytů). Pokud se *Bacillus cereus* pomnoží v tenkém střevě člověka, produkuje diaroický enterotoxin (v tomto případě jde tedy o infekci, zatímco tvorba emetického toxinu a lyzolecithinu způsobuje intoxikaci) [28].

Do potravin se dostávají většinou spory *Bac. cereus* s infikovanými surovinami a přísadami (cukr, koření, škrob). Tyto spory pak přežívají i následné tepelné úpravy daných potravin.

Počet aerobních sporotvorných bakterií se stanoví tak, že se nejprve naředený vzorek zahřívá po dobu 15 minut na vodní lázni o teplotě 70 °C (likvidace vegetativní mikroflóry) a poté se z tohoto zásobního roztoku připraví sada dekadických ředění, které se očkují na půdu MPA (masopeptonový agar). Inkubace probíhá 2 dny při teplotě 33 °C a poté se počítají veškeré narostlé kolonie [3].

2.5.9 Proteolytické a lipolytické mikroorganismy

Řada mikroorganismů vylučuje do svého okolí enzymy, které rozkládají složky potravin. Proteolytické bakterie produkuje proteázy – enzymy, rozkládající bílkoviny, lipolytické produkuje lipázy, které rozkládají tuky. Tím obě skupiny mikroorganismů způsobují zhoršení sensorických vlastností potravin a tedy jejich kažení.

Proteolytické vlastnosti mají např. zástupci rodů *Bacillus*, *Serratia*, *Proteus* nebo *Pseudomonas*. Lipolytické vlastnosti vykazují např. rody *Staphylococcus*, *Pseudomonas* i již dříve jmenované rody *Bacillus* a *Serratia* [36].

Proteolytické a lipolytické mikroorganismy identifikujeme s výhodou na jediném živném médiu – agaru se želatinou a tweenem. Inkubace probíhá při teplotě 30 °C po dobu 72 hodin. Po ukončení inkubace spočítáme nejprve charakteristické kolonie lipolytických mikroorganismů, které mají kolem sebe zónu precipitace (zakalení). Poté převrstvíme povrch agaru kyselým roztokem chloridu rtuťnatého. Jsou-li přítomny kolonie proteolytických mikroorganismů, objeví se kolem nich zóna projasnění. Počet proteolytických a lipolytických mikroorganismů se vyjádří zvlášť.

2.5.10 Vlákňité mikroskopické houby (plísňě)

Toxinogenní vláknité mikromycety (plísňě) jsou mikroorganismy, které mají schopnost produkovat mykotoxiny. Patří k významným faktorům, které mohou v negativním smyslu ovlivnit zdraví člověka. Plesnivé potraviny, obsahující toxinogenní mikromycety a jejich toxické metabolity mykotoxiny, představují významné nebezpečí pro zdraví populace v ČR, zejména z hlediska tzv. pozdních toxických účinků (např. karcinogenních, vývojové toxicity).

V souvislosti s potravinami jsou v popředí zájmu toxinogenní mikromycety *Aspergillus flavus* a *Aspergillus parasiticus*. Vyskytují se na celém světě, hojněji však v subtropických a tropických oblastech, a to na různých substrátech rostlinného původu a v půdě. Velmi často bývá izolován také z arašídů a z cereálií. Může produkovat hepatotoxické a kancerogenní aflatoxiny B a kyselinu cyklopiazonovu [30].

Mezi další mykotoxiny s významným zdravotním dopadem se řadí především námelové látky, trichotheceny, zearalenony, ochratoxiny, sterigmatocystin, peniciliová kyselina, patulin, citrinin, rubratoxiny, skupina tremorgenních látek a fumonisiny. Některé významné mykotoxiny a jejich producenty uvádí tabulka č. 5.

Plísně jsou spolu s kvasinkami dobře kultivovatelné na Sabouraudově agaru. V případě, že je třeba prokázat aflatoxinogenní druhy plísní v potravinách *Aspergillus flavus* a *Aspergillus parasiticus*, postupují mikrobiologické laboratoře většinou podle metodického doporučení k mikrobiologickému zkoušení potravin a pokrmů: Kultivační metoda průkazu aflatoxinogenních mikromycetů (plísní) *Aspergillus flavus* a *Aspergillus parasiticus* v potravinách a pokrmech (Acta hygienica, epidemiologica et microbiologica číslo 1/2003) [30]. V soustavě českých technických norem (ČSN) totiž neexistuje předpis pro kultivační metodu průkazu aflatoxinogenních mikromycetů (plísní) v potravinách a pokrmech. Zmíněné metodické doporučení vychází a navazuje na doporučení Mezinárodní komise pro mykologii potravin (ICFM), která byla vytvořena v rámci Mezinárodní unie mikrobiologických společností (IUMS).

Tab. č. 5: Některé významné mykotoxiny a jejich producenti (podle [37])

Mykotoxin	Producenti
Aflatoxiny	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. parasiticus</i>
Deoxynivalenol	<i>Fusarium graminearum</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. roseum</i>
Ochratoxin A	<i>Aspergillus ochraceus</i> , <i>P. verruculosum</i>
Patulin	<i>Penicillium expansum</i> , <i>P. patulum</i> , <i>Byssochlamys nivea</i>
Sterigmatocystin	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. versicolor</i> ,
Citrinin	<i>Penicillium citrinum</i> , <i>P. roqueforti</i> , <i>Aspergillus candidus</i>
Kyselina α -cyklopiazonová	<i>Penicillium cyclopium</i> , <i>P. cammemberti</i> , <i>Aspergillus flavus</i>
Zearalenon	<i>Fusarium graminearum</i> , <i>F. roseum</i> , <i>F. culmorum</i>

Průkaz toxinogenních mikromycetů *Aspergillus flavus* a *Aspergillus parasiticus* je založen na reakci kyseliny aspergilové, produkované toxinogenními mikromycety a železitých iontů (Fe^{3+}), které jsou součástí testovacího média. Při této reakci dochází ke vzniku oranžovo - žlutého komplexu, který způsobuje pigmentaci spodní strany kolonie. Na půdě s označením ADMB *Aspergillus flavus* a *Aspergillus parasiticus* produkují oranžovo-žlutou (chromově žlutou) pigmentaci spodní strany kolonie, *Aspergillus niger* někdy také produkuje světle žlutou pigmentaci na spodní straně kolonie. Je však snadno rozeznatelný po další 24 – 48 hodinové inkubaci, kdy se začnou vytvářet černé hlavičky konidioforů [30].

3. PRAKTICKÁ ČÁST

3.1 Tvorba učebního textu

Z důvodů, které jsou shrnuty v teoretické části rigorózní práce, jsem vypracoval učební text, který obsahuje konkrétní návody pro praktická laboratorní cvičení z mikrobiologické části předmětu metody analýzy potravin. Tento text byl publikován v roce 2008 pod názvem Laboratorní cvičení z mikrobiologie.

Učební text je určen pro studenty 3. a 4. ročníku oboru Analýza potravin na střední odborné škole. Jednotlivé kapitoly učebního textu (návody ke cvičením) odráží požadavky Rámcového vzdělávacího programu pro obor vzdělání 29-42-M/01 Analýza potravin, které musí být vzaty v potaz při tvorbě školního vzdělávacího programu na každé střední odborné škole, která vyučuje studijnímu oboru Analýza potravin.

Učební text seznamuje studenty s vybavením mikrobiologické laboratoře, laboratorním řádem a pravidly práce v mikrobiologické laboratoři (včetně dekontaminace a sterilizace laboratorního skla a pomůcek). V jednotlivých návodech je kladen důraz na aseptický postup práce. Studenti jsou instruováni o správném postupu při práci s optickým mikroskopem, včetně imerzního mikroskopování a přípravy nativních mikroskopických preparátů. Podle návodu v učebním textu si studenti vyzkouší barvicí techniky jako je např. klasické barvení dle Grama nebo barvení spor mikroorganismů. Během laboratorních cvičení se studenti také prostřednictvím jednotlivých úloh seznamují s vlastnostmi mikroorganismů, jako jsou např. závislost jejich růstu na vnějších podmínkách (osmotický tlak, pH, přítomnost antibiotik apod.). Podstatná část úloh je věnována správnému způsobu přípravy živných agarových médií. Na tyto úlohy vždy navazují metody průkazu či stanovení počtu specifických skupin mikroorganismů kultivační metodou podle příslušné normy ČSN.

V poslední době dochází k nevídanému rozvoji moderních metod detekce a stanovení počtu mikroorganismů v potravinách (a samozřejmě i jiných materiálech). Patří mezi ně např. imunochemické metody, které je možné kombinovat s různými separačními technikami a především pak PCR v různých aplikacích. Tyto metody není možné

z pochopitelných důvodů provádět v podmínkách školní laboratoře a jsou proto stručně zmíněny teoreticky, jako náplň cvičení v době, kdy je již praktická výuka v laboratoři ukončena z důvodu příprav na praktické maturitní zkoušky.

3.2 Ověření učebního textu ve výuce

Cílem této části práce bylo ověřit, zda jsou studenti 4. ročníku oboru s Analýza potravin s využitím učebního textu schopni aplikovat své dovednosti a pracovní návyky na vyřešení komplexního praktického úkolu, kterým bylo stanovení mikrobiální kontaminace masa a provozních ploch v rámci jateční výroby a bourání. Vzorky pro mikrobiologickou analýzu poskytla Játka Bučovice. Ve vzorcích masa a na pracovních plochách z provozu měli studenti zjistit následující mikrobiologické ukazatele:

- ☞ průkaz bakterií rodu *Salmonella* resp. *Shigella*,
- ☞ stanovení celkového počtu mikroorganismů,
- ☞ stanovení počtu koliformních mikroorganismů,
- ☞ stanovení počtu bakterií *Staphylococcus aureus*.

Tyto skupiny mikroorganismů jsou totiž z hlediska potravinářské mikrobiologie obzvláště důležité.

Ověřování se zúčastnilo 23 studentů ve školním roce 2008/2009 a ve školním roce 2009/2010. Jedná se o studenty dvou po sobě jdoucích ročníků (třetího a čtvrtého) oboru Analýza potravin na Střední průmyslové škole chemické v Brně.

3.2.1 Metodika použita studenty

Posouzení mikrobiální kontaminace masa a provozních ploch v rámci jateční výroby a bourání bylo provedeno klasickými kultivačními metodami, které jsou v učebním textu popsány v souladu s příslušnými normami:

- ČSN ISO 7218 Mikrobiologie potravin a krmiv. Všeobecné pokyny pro mikrobiologické zkoušení
- ČSN ISO 17604 Mikrobiologie potravin a krmiv. Vzorkování těl poražených zvířat pro mikrobiologické vyšetření
- ČSN ISO 3100-2 Maso a masné výrobky. Odběr vzorků a příprava analytických vzorků. Část 2: Příprava analytických vzorků pro mikrobiologické zkoušení
- ČSN EN ISO 6887-1 Mikrobiologie potravin a krmiv. Úprava analytických vzorků, příprava výchozí suspenze a desetinasobných ředění – Část 1: Všeobecné pokyny pro přípravu výchozí suspenze a desetinasobných ředění
- ČSN EN ISO 6887-2 Mikrobiologie potravin a krmiv. Úprava analytických vzorků, příprava výchozí suspenze a desetinasobných ředění – Část 2: Specifické pokyny pro vzorky masa a masných výrobků
- ČSN P ENV ISO 11133-1 Mikrobiologie potravin a krmiv. Všeobecné pokyny pro přípravu a výrobu kultivačních půd – Část 1: Všeobecné pokyny pro zabezpečování jakosti při přípravě kultivačních půd v laboratoři
- ČSN ISO 4832 Mikrobiologie. Všeobecné pokyny pro stanovení počtu koliformních bakterií. Technika počítání kolonií
- ČSN EN ISO 6579 Mikrobiologie potravin a krmiv. Horizontální metoda průkazu bakterií rodu *Salmonella*
- ČSN EN ISO 6888-1 Mikrobiologie potravin a krmiv. Horizontální metoda stanovení počtu koagulázopozitivních stafylokoků (*Staphylococcus aureus* a další druhy) – Část 1: Technika s použitím agarové půdy podle Baird-Parkera
- ČSN 56 0100 Mikrobiologické zkoušení poživatin, předmětů běžného užívání a prostředí potravinářských provozoven
- ČSN ISO 2293 Maso a masné výrobky. Stanovení počtu mikroorganismů. Technika počítání kolonií
- ČSN ISO 18593 Mikrobiologie potravin a krmiv. Horizontální metody specififikující techniky vzorkování z povrchu pomocí kontaktních ploten a stěrů

- ČSN EN ISO 4833 Mikrobiologie potravin a krmiv. Horizontální metoda pro stanovení celkového počtu mikroorganismů – Technika počítání kolonií

Návody pro provedení vyšetření podle těchto technických norem jsou v učebním textu uvedeny jako laboratorní cvičení číslo 7, 17, 18 a dále 25 až 43.

3.2.2 Přístroje a zařízení

Všechna prováděná mikrobiologická vyšetření byla prováděna podle návodů *Laboratorní cvičení z mikrobiologie*. Vycházelo se přitom z předpokladu, že musí být standardně proveditelná ve školní mikrobiologické laboratoři a nejsou tedy zapotřebí žádné neobvyklé či speciální pomůcky nebo přístroje.

Kromě běžného laboratorního vybavení bylo k vyšetřování vzorků masa zapotřebí zejména:

- parní sterilizátor (autokláv) vertikální AUT 26/II (výrobce Brněnská medicínská technika a. s., ČR)
- parní sterilizátor (autokláv) PS 20A/I (výrobce Brněnská Medicínská Technika a. s., ČR)
- termostat BT 120 (výrobce Chirana Brno, ČR)
- pedálový homogenizátor Stomacher (výrobce Vezola Brno, ČR)
- ultrazvuková lázeň (výrobce Tesla, ČR)

3.2.3 Živné půdy

Pro kultivaci mikroorganismů při ověřování návodů k laboratorním cvičením byly použity tyto živné půdy:

- Violet Red Bile Agar 1.2% (dodavatel Čaderský – Envitek, spol. s.r.o., ČR)
- Plate Count Agar (dodavatel Čaderský – Envitek, spol. s.r.o., ČR)
- Baird-Parker Agar Base (dodavatel Čaderský – Envitek, spol. s.r.o., ČR)

- Egg Yolk Tellurite Emulsion (dodavatel Čaderský – Envitek, spol. s.r.o., ČR)
- Xylose Lysine Deoxycholate Agar (dodavatel Čaderský – Envitek, spol. s.r.o., ČR)

Pozn.: V následujícím textu jsou používány obvyklé zkratky živných půd:

- ☞ Violet Red Bile Agar – VRBL, česky VČŽL (česká zkratka dle složení půdy: krystalová violet, neutrální červeň, žlučové soli, laktosa),
- ☞ Plate Count Agar – PCA, česky GTKA (česká zkratka dle složení půdy: glukosa, trypton, kvasničný extrakt, agar),
- ☞ Baird-Parker Agar – B-P,
- ☞ Xylose Lysine Deoxycholate Agar – XLD.

3.2.4 Výsledky a vyhodnocení studentských prací

V následujícím textu jsou pro ilustraci uvedeny výsledky práce studentů s využitím učebního textu Laboratorní cvičení z mikrobiologie, aby bylo zřejmé, jaké komplexní úkoly musí studenti zvládnout v rámci své přípravy na praktickou maturitní zkoušku.

Výsledkem mikrobiologického vyšetření je druh a počet zjištěných kolonií mikroorganismů. Studenty odečtené kolonie byly vyhodnoceny podle návodů v učebním textu v souladu s postupy, které jsou popsány v příslušných normách ISO pro mikrobiologické vyšetřování potravin. V případě stanovení celkového počtu mikroorganismů byly odečteny veškeré kolonie, v případě stanovení počtu koliformních mikroorganismů a stanovení počtu bakterie *Staphylococcus aureus* byly odečteny pouze kolonie s příslušnými morfologickými charakteristikami.

V tabulkách č. 6 až 9 jsou na následujících stranách uvedeny odečtené počty kolonií narostlých na Petriho miskách při 4 sadách mikrobiologických vyšetření vzorků jatečně upravených těl prasat z jatek a vepřového masa z bourárny.

Tab. č. 6: Počty kolonií narostlých na Petriho miskách. Datum vyšetření 8.10.2008.

vzorek	inokulum	první ředění	1. miska	2. miska	3. miska	4. miska
játra CPM	1	1,00E-02	120	150	18	15
játra koliformní	0,1	1,00E-01	23	13	0	0
játra <i>S.aureus</i>	0,1	1,00E-01	52	48	6	9
maso schlazovna CPM	1	1,00E-02	65	68	10	19
maso schlazovna koliformní	0,1	1,00E-01	20	31	5	15
maso schlazovna <i>S.aureus</i>	0,1	1,00E-01	14	21	3	2
maso bourárna CPM	1	1,00E-02	255	240	35	29
maso bourárna koliformní	0,1	1,00E-01	80	95	16	19
maso bourárna <i>S.aureus</i>	0,1	1,00E-01	23	31	8	10
stěr CPM	1	1,00E+00	140	123	12	16
stěr koliformní	0,1	1,00E+00	12	15	0	0
stěr <i>S.aureus</i>	0,1	1,00E+00	0	0	0	0

Tab. č. 7: Počty kolonií narostlých na Petriho miskách. Datum vyšetření 15.12.2008.

vzorek	inokulum	první ředění	1. miska	2. miska	3. miska	4. miska
játra CPM	1	1,00E-03	90	83	15	6
játra koliformní	0,1	1,00E-01	25	27	4	2
játra <i>S.aureus</i>	0,1	1,00E-01	158	132	12	14
maso schlazovna CPM	1	1,00E-02	160	174	18	19
maso schlazovna koliformní	0,1	1,00E-01	85	32	7	4
maso schlazovna <i>S.aureus</i>	0,1	1,00E-01	14	21	15	18
maso bourárna CPM	1	1,00E-03	320	295	34	45
maso bourárna koliformní	0,1	1,00E-01	120	115	15	16
maso bourárna <i>S.aureus</i>	0,1	1,00E-01	310	286	39	56
stěr CPM	1	1,00E-01	43	54	3	5
stěr koliformní	0,1	1,00E-01	16	24	2	0
stěr <i>S.aureus</i>	0,1	1,00E+00	8	11	0	0

Tab. č. 8: Počty kolonií narostlých na Petriho miskách. Datum vyšetření 16.2.2009.

vzorek	inokulum	první ředění	1. miska	2. miska	3. miska	4. miska
játra CPM	1	1,00E-02	110	132	25	36
játra koliformní	0,1	1,00E-01	36	30	7	9
játra <i>S.aureus</i>	0,1	1,00E-01	115	142	17	20
maso schlazovna CPM	1	1,00E-03	23	36	8	12
maso schlazovna koliformní	0,1	1,00E-01	40	23	3	0
maso schlazovna <i>S.aureus</i>	0,1	1,00E-01	22	28	2	5
maso bourárna CPM	1	1,00E-04	34	27	7	5
maso bourárna koliformní	0,1	1,00E-01	88	75	24	19
maso bourárna <i>S.aureus</i>	0,1	1,00E-01	214	244	33	28
stěr CPM	1	1,00E-01	32	47	17	26
stěr koliformní	0,1	1,00E+00	18	31	2	2
stěr <i>S.aureus</i>	0,1	1,00E+00	42	38	7	1

Tab. č. 9: Počty kolonií narostlých na Petriho miskách. Datum vyšetření 3.4.2009.

vzorek	inokulum	první ředění	1. miska	2. miska	3. miska	4. miska
játra CPM	1	1,00E-03	15	20	4	3
játra koliformní	0,1	1,00E-02	3	6	0	0
játra <i>S.aureus</i>	0,1	1,00E-01	40	46	3	2
maso schlazovna CPM	1	1,00E-01	174	164	27	15
maso schlazovna koliformní	0,1	1,00E-01	12	14	0	3
maso schlazovna <i>S.aureus</i>	0,1	1,00E-01	22	24	2	1
maso bourárna CPM	1	1,00E-02	156	147	13	8
maso bourárna koliformní	0,1	1,00E-01	68	72	7	9
maso bourárna <i>S.aureus</i>	0,1	1,00E-01	92	87	15	28
stěr CPM	1	1,00E+00	5	16	0	0
stěr koliformní	0,1	1,00E+00	0	0	0	0
stěr <i>S.aureus</i>	0,1	1,00E+00	0	0	0	0

Kolonie suspektní pro rod *Salmonella* či *Shigella* nebyly na půdě XLD zachyceny ani u jednoho z vyšetřovaných vzorků (viz tabulka č. 10). Křížovým roztěrem byly u většiny vzorků identifikovány pouze žluté kolonie laktosa-pozitivních bakterií (koliformních) – viz obr. č. 1, které byly kvantifikovány na půdě VRBL. Podle platné legislativy – v současné době je to nařízení ES č. 2073/2005 nesmí být salmonely přítomny ve 25 g vzorku [29]. Tuto podmínku tedy všechny testované vzorky masa splnily, ve stěrech z pracovní plochy byl nález také negativní.



Obr. č.1: Primokultivace na půdě XLD se záchytem koliformních mikroorganismů.

Tab. č. 10: Vyhodnocení primokultivace na záchyt rodů *Salmonella*, resp. *Shigella*.

	8.10.2008	15.12.2008	16.2.2009	3.4.2009
Maso - schlazovna	neg.	neg.	neg.	neg.
Maso - bourárna	neg.	neg.	neg.	neg.
Játra	neg.	neg.	neg.	neg.
Stěr pracovní plocha	neg.	neg.	neg.	neg.

Celkový počet mikroorganismů (CPM) stanovený kultivační metodou na půdě PCA představuje veškeré bakterie, kvasinky i plísně vyrostlé za aerobních podmínek během 72 hodin při 30 °C. Můžeme tedy říci, že jde o veškeré mezofilní aerobní a fakultativně

anaerobní mikroorganismy. Podle již zmíněného legislativního předpisu nesmí celkový počet aerobně kultivovaných mikroorganismů překročit hranici $5 \cdot 10^6$ KTJ/g u žádného z vyšetřovaných vzorků masa jatečně upraveného těla zvířete [29]. Zkratka KTJ znamená počet kolonie tvořících jednotek, tedy počet životaschopných mikroorganismů ve vyšetřovaném vzorku potravin. Všechny vyšetřované vzorky toto kritérium splnily (viz tab. č. 11).

U ukazatele CPM byly studenty zaznamenány řádově 10x vyšší hodnoty u vzorků, které byly vyšetřovány ve dnech 15. 12. 2008 a 16. 2. 2009 oproti vzorkům vyšetřovaným ve dnech 8. 10. 2008 a 3. 4. 2009. Tento rozdíl sice nelze interpretovat jednoznačně, neboť se jednalo vždy o různé vzorky masa, ale lze usoudit, že CPM stanovené ve dnech 15. 12. 2008 a 16. 2. 2009 je vyšší z toho důvodu, že vzorky byly analyzovány po delší době po odběru (norma umožňuje skladování v chladu po dobu až 24 hodin) než v případě analýz ve dnech 8. 10. 2008 a 3. 4. 2009 a mohlo tedy dojít k pomnožení mikroorganismů v období mezi odebráním vzorku a jeho analýzou. Ukázka výsledku kultivace CPM je na obr. č. 2.

Jednoznačný je také nárůst CPM u vzorku masa z bourárny oproti vzorku z jatečního provozu, což dokládá obecně známý jev, že počet mikroorganismů v mase jatečního zvířete se při bourání jatečně upraveného těla výrazně zvyšuje jeho mechanickým porušením a zvětšením jeho relativního povrchu (z toho důvodu kladou masokombináty mimořádný význam na hygienu bourárny).



Obr. č.2: Ukázka výsledku kultivace na půdě GTKA (PCA), stěr z pracovní plochy, ředění 10^{-1} . Laboratoř SPŠCH 15.12.2008.

Tab. č. 11: Vyhodnocení – celkový počet mikroorganismů. Výsledky jsou uvedeny v KTJ/g, v případě stěru z pracovní plochy v KTJ/cm².

	8.10.2008	15.12.2008	16.2.2009	3.4.2009
Maso - schlazovna	7,36E+03	1,69E+04	3,59E+04	1,73E+03
Maso – bourárna	2,54E+04	3,15E+05	3,32E+05	1,47E+04
Játra	1,38E+04	8,82E+04	1,38E+04	1,91E+04
Stěr pracovní plocha	1,32E+02	4,77E+02	5,55E+02	9,55E+00

Při vyšetřování vzorků masa na **koliformní mikroorganismy** byly počítány charakteristické kolonie (karmínově červené o průměru 1 – 3 mm) vyrostlé na selektivním médiu VRBL bez zahrnutí oxidasového testu – viz obr. č. 3. V tomto pojetí se tedy jedná o veškeré laktosa-pozitivní bakterie, které produkují kyselinu a plyn. Rozhodnutí Komise 2001/471/ES ze dne 8. června 2001, kterým se stanovují zásady pravidelných kontrol všeobecné hygieny stanoví, že zatímco celkové počty mikroorganismů se analyzují vždy, počty koliformních mikroorganismů se podle tohoto předpisu stanovovat nemusí. V tomto předpisu je pouze zmíněn dobrovolný odběr vzorků na stanovení počtu enterobakterií (může jej ovšem požadovat úřední veterinární lékař) [34].

Mezní hodnoty pro počet koliformních mikroorganismů nezmiňuje ani nařízení Komise ES č. 2073/2005 (najdeme zde pouze limity pro čeleď *Enterobacteriaceae* jako celek nebo naopak jen pro počty bakterií *Escherichia coli*) [29]. I v případě počtu koliformních bakterií můžeme sledovat obdobný trend jako u CPM, tedy nárůst počtu koliformní mikroorganismů u vzorku masa z bourárny oproti vzorku z jatečního provozu (viz tab. č. 12).



Obr. č.3: Ukázka výsledku kultivace na půdě VČŽL (VRBL), maso – schlazovna, ředění 10^{-1} . Laboratoř SPŠCH 16.2.2009.

Tab. č. 12: Vyhodnocení – počet koliformních mikroorganismů. Výsledky jsou uvedeny v KTJ/g, v případě stěru z pracovní plochy v KTJ/cm².

	8.10.2008	15.12.2008	16.2.2009	3.4.2009
Maso - schlazovna	3,23E+03	5,82E+03	3,00E+03	1,32E+03
Maso – bourárna	9,55E+03	1,21E+04	9,36E+03	7,09E+03
Játra	1,64E+03	2,64E+03	3,73E+03	4,09E+03
Stěr pracovní plocha	1,23E+02	1,91E+03	2,41E+02	<1,00E+01

Původce alimentárního onemocnění *Staphylococcus aureus* byl stanoven na agarové půdě podle Baird-Parkera, kde tvoří charakteristické černé kolonie (vzniklé redukcí telluricitanu draselného na kovový tellur) o průměru 1 až 1,5 mm, které jsou lesklé a vypouklé a které na okolní půdě tvoří kolem sebe kruhovou zónu projasnění o průměru 2 až 5 mm (zóna proteolýzy) – viz obr. č. 4. Po 48 hodinách se v projasněné zóně tvoří opakní zóny způsobené aktivitou lecithinasy. Konfirmace se provádí na králičí plazmě, kde *Staphylococcus aureus* poskytuje výrazně pozitivní koagulasovou reakci. Konfirmace v rámci vyšetřování v laboratoři SPŠCH nebyla prováděna a proto byly počítány veškeré kolonie vyrostlé na plotnách jako suspektní.

Stanovení počtu koagulázapozitivních stafylokoků není rozhodnutím Komise č. 471/2001 vyžadována a nařízení Komise ES č. 2073/2005 nevyžaduje splnění limitů počtu koagulázapozitivních stafylokoků pro jatečně upravená těla zvířat ani maso jakožto produkt bourárny (limity jsou stanoveny pouze pro sýry, sušené mléko a sušenou syrovátku a výrobky z vařených koryšů a měkkýšů [29]). Je paradoxem, že v tomto ohledu je tedy evropská norma méně důsledná, než dnes už neplatná vyhláška Ministerstva zdravotnictví ČR č. 132/2004 Sb. o mikrobiologických požadavcích na potraviny, způsobu jejich kontroly a hodnocení (byla zrušena vyhláškou 467/2006 Sb. od 11. 10. 2006 [41]).

Přestože jmenovaná vyhláška již není pro potravinářské podniky závazná, využívají výrobci potravin v ČR některé ukazatele stanovené touto vyhláškou (např. ve formě vnitropodnikových norem) jako kontrolní body pro analýzu rizik. Vyhláška 132/2004 Sb. udávala nejvyšší mezní hodnotu počtu koagulasapozitivních stafylokoků 10^5 KTJ/g pro všechny potraviny, které nejsou určeny k přímé spotřebě (např. před tepelnou úpravou) a 10^4 KTJ/g pro všechny potraviny určené k přímé spotřebě [39].

Z tohoto pohledu všechny vyšetřované vzorky dříve platné vyhlášce odpovídají (viz tab. č. 9), ale vzhledem k tomu, že jde o čerstvé maso přímo z jatek, je počet zjištěných bakterií překvapivě vysoký – např. maso z bourárny vyšetřované na SPŠCH 15. 12. 2008 je sice s počtem bakterií $3,14 \cdot 10^4$ KTJ/g s bývalou vyhláškou v souladu (limit 10^5 KTJ/g), ovšem tatarský biftek z tohoto masa bychom připravit nemohli (limit 10^4 KTJ/g pro potraviny určené k přímé spotřebě). Je zde ovšem nutno uvést, že předkládané výsledky jsou v tomto ohledu více než orientační, a to zejména proto, že:

- byly odečítány veškeré suspektní kolonie, nikoliv potvrzené
- pracoviště SPŠCH Brno není akreditovanou laboratoří pro mikrobiologické rozbory potravin a vzhledem k výuce, která zde probíhá není možné v laboratoři udržet požadovaný stupeň sterility prostředí.

I přes tyto nedostatky lze ze zjištěných výsledků usuzovat na tyto skutečnosti:

- počet bakterií *Staphylococcus aureus* a dalších koagulasapozitivních stafylokoků se velmi výrazně zvyšuje při bourání masa
- stěry z pracovních ploch opakovaně vyšetřované ve dnech 8. 10. 2008 a 3. 4. 2009 však nezjistily žádnou kontaminaci touto bakterií (stěry vyšetřované na SPŠCH ve dnech 15. 12. 2008 a 16. 2. 2009 zachytily 86 a 400 KTJ/cm², avšak v rozporu se zjištěními výše uvedených negativních vyšetření lze usuzovat spíše na kontaminaci v průběhu zpracování vzorku nebo samotného vyšetření)

Obě tato zjištění dokládají obecně známou skutečnost, že ke kontaminaci potravin touto bakterií dochází při kontaktu potravin s lidským faktorem – podle běžně dostupných zdrojů [28] se *Staphylococcus aureus* běžně vyskytuje na kůži člověka (více než 50 % zdravých jedinců nosí *Staphylococcus aureus* na kůži nebo sliznici dutiny nosní či ústní).



Obr. č.4: Ukázka výsledku kultivace na půdě podle Baird-Parkera , maso – schlazovna, ředění 10⁻². Laboratoř SPŠCH 15.12.2008.

Tab. č. 13: Vyhodnocení – počet bakterií *Staphylococcus aureus*. Výsledky jsou uvedeny v KTJ/g, v případě stěru z pracovní plochy v KTJ/cm².

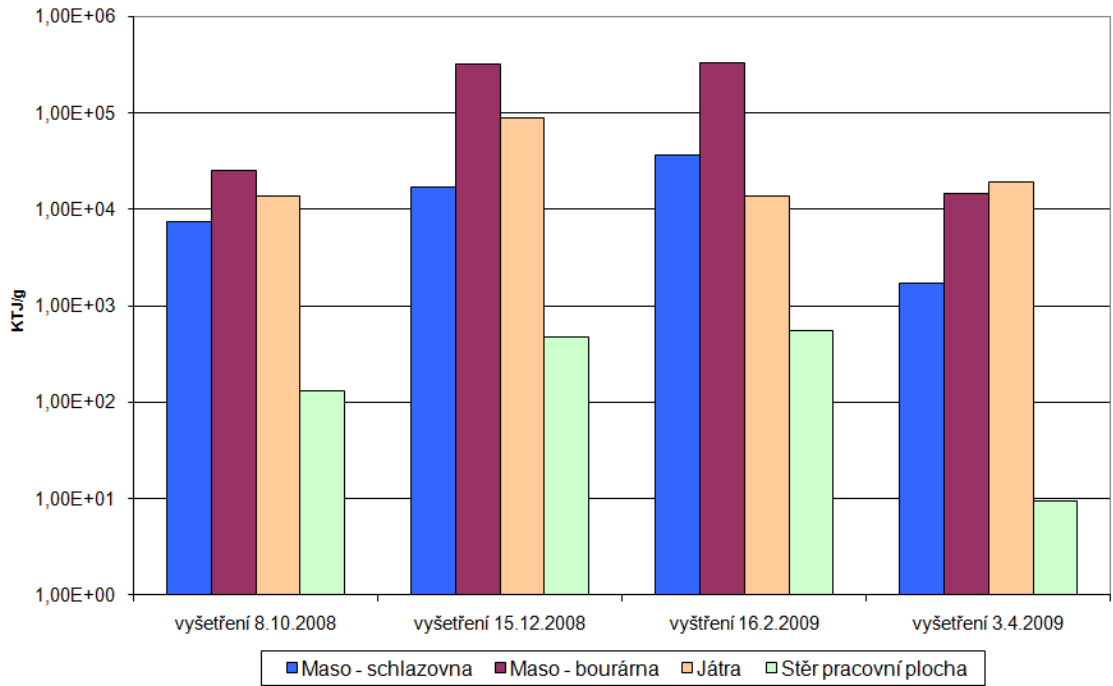
	8.10.2008	15.12.2008	16.2.2009	3.4.2009
Maso - schlazovna	1,82E+03	3,09E+03	2,59E+03	2,23E+03
Maso - bourárna	3,27E+03	3,14E+04	2,36E+04	1,01E+04
Játra	5,23E+03	1,44E+04	1,34E+04	4,14E+03
Stěr pracovní plocha	<1,00E+01	8,64E+01	4,00E+02	<1,00E+01

3.2.5 Grafické výstupy studentských prací

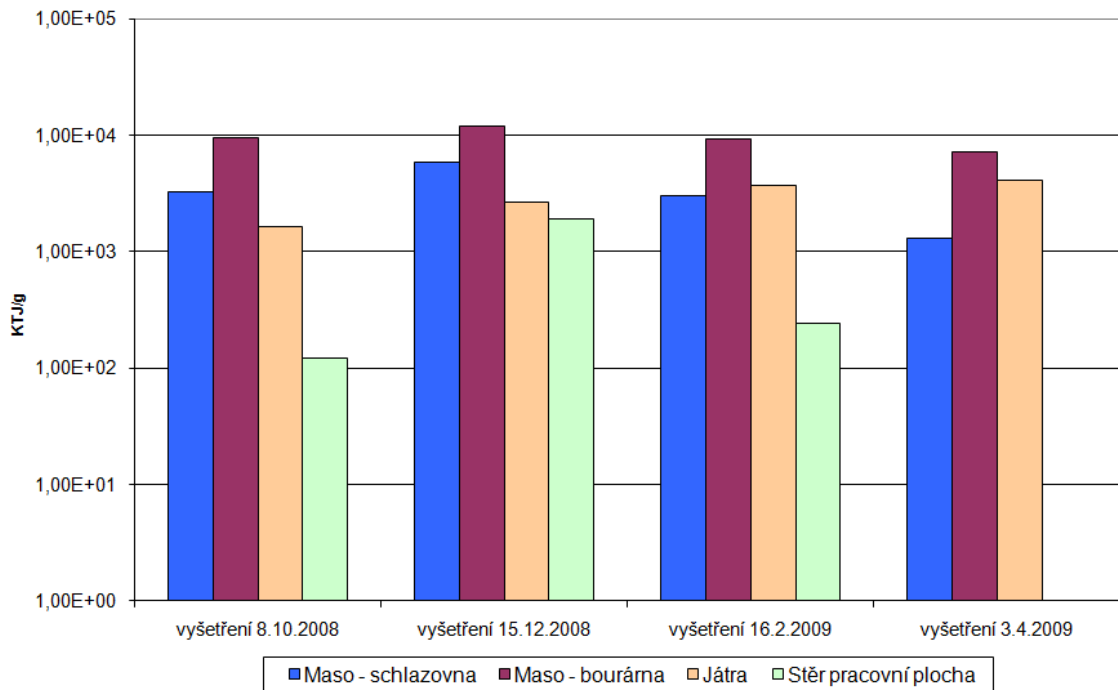
Grafické zpracování výsledků slouží k názornějšímu porovnání počtu jednotlivých skupin mikroorganismů zjištěných ve vyšetřovaných vzorcích potravin. Umožní tak studentům snadněji učinit závěry z výsledků vyšetření a v jejich budoucí praxi potom navrhnout příslušná hygienická opatření.

Protože rozdíly v počtech jednotlivých skupin mikroorganismů jsou číselně velké, což je pro mikrobiologická stanovení typické (jde až o řádové rozdíly), je pro grafické vyjádření výsledků použita logaritmická stupnice.

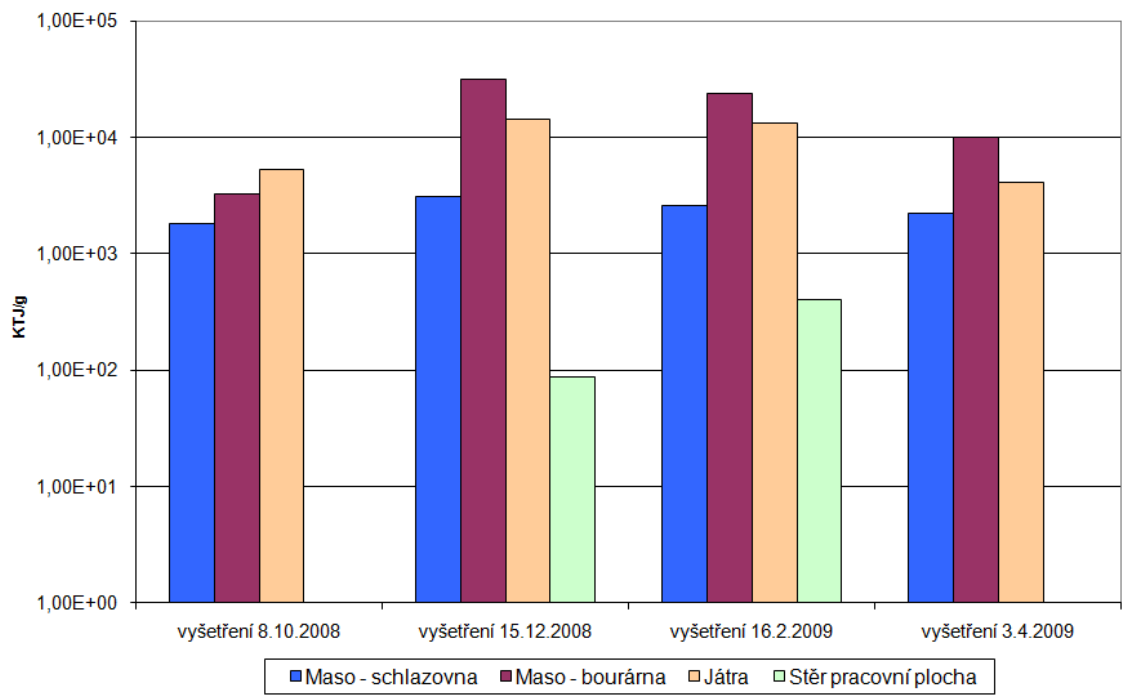
V případě, že stanovený počet mikroorganismů byl menší než 10 KTJ/g, není v grafu tento výsledek znázorněn. Jde o výsledky stěru pracovní plochy, konkrétně počtu koliformních mikroorganismů ze dne 3. 4. 2009 (viz graf č. 2) a dále o počet bakterií *Staphylococcus aureus* ze dne 8.10. 2008 a ze dne 3. 4. 2009 (viz graf č. 3). Toto omezení grafického výstupu se netýká grafu č. 1.



Graf č. 1: Celkový počet mikroorganismů



Graf č. 2: Počet koliformních mikroorganismů



Graf č. 3: Počet bakterií Staphylococcus aureus

3.2.6 Komentář k výsledkům ověření učebního textu ve výuce

Výsledky ověření učebního textu ilustruje kapitola 3.2.4, která shrnuje výsledky studentských prací a zároveň ukazuje, že studenti 4. ročníku oboru Analýza potravin byli schopni na základě instrukcí obsažených v učebním textu Laboratorní cvičení z mikrobiologie nejen prakticky provést zadaná mikrobiologická vyšetření, ale také že jejich výsledky se pohybovaly v mezích, které se daly u předložených vzorků očekávat.

Z těchto výsledků studentské práce mohou jako učitel vyvodit, že předložené návody jsou zřejmě pro studenty dobře srozumitelné a umožňují jim dospět k relevantním výsledkům mikrobiologických vyšetření. Takovýto závěr je však z velké části subjektivním názorem vyučujícího, neboť studenti po celou dobu pracovali pod odborným vedením.

Objektivnější výsledky může poskytnout zhodnocení výukového textu studenty a také absolventy studia metodou anonymního dotazníkového šetření realizovaného podle zásad pedagogického výzkumu, o kterém pojednávají následující kapitoly.

3.3 Zhodnocení výukového textu studenty a absolventy

Velmi důležitými vlastnostmi každého učebního textu jsou kromě vysoké odborné úrovně také jeho celková srozumitelnost, grafická přehlednost a to zda skutečně žákům usnadňuje ovládnutí daného učiva. Pro zjištění a vyhodnocení těchto aspektů byl proveden pedagogický výzkum formou anonymního dotazníkového šetření.

3.3.1 Hypotézy dotazníkového šetření

Hypotézy pro provádění pedagogický výzkum jsou formulovány takto:

Protože základním předpokladem učebního textu je jeho srozumitelnost pro studenta a učební text byl takto koncipován, měl by být hodnocen jako srozumitelný nejméně 90 procenty respondentů (tedy součtu současných studentů i absolventů).

H1 Učební text je srozumitelný nejméně pro 90 % respondentů.

Primárním impulzem pro tvorbu učebního textu bylo usnadnění přípravy k povinné praktické maturitní zkoušce. Protože učební text je tomuto požadavku maximálně přizpůsoben, měl by být hodnocen jako usnadňující přípravu k praktické maturitní zkoušce nejméně 90 procenty respondentů.

H2 Učební text usnadní přípravu k praktické maturitní zkoušce nejméně 90 % respondentů.

Grafická úprava učebního textu je omezena tím, že nejde o klasickou učebnici s možností vyobrazení fotografií, barevných schémat apod. Protože studenti jsou spíše zvyklí na klasické učebnice, předpokládám že grafická stránka učebního textu bude hodnocena jako vyhovující alespoň 60 procenty respondentů

H3 Grafickou úpravu učebního textu bude kladně hodnotit nejméně 60 % respondentů.

Řada studentů má v úmyslu pokračovat ve studiu na vysoké či vyšší odborné škole ve stejném či příbuzném oboru nebo pracovat v oboru, ve kterém získají střední vzdělání s maturitní zkouškou. Mnozí ovšem pokračují ve studiu zcela jiného oboru nebo jsou zaměstnáni v jiné oblasti, než pro kterou byli na střední škole připravováni. Z tohoto důvodu předpokládám, že učební text ve svém dalším studiu nebo zaměstnání využije alespoň 50 procent studentů.

H4 Učební text využije ve svém dalším studiu nebo zaměstnání nejméně 50 % respondentů.

3.3.2 Charakteristika vzorku respondentů

Pro účely výzkumu byly osloveny dvě skupiny respondentů. Jednu z nich tvořilo 21 studentů 3. ročníku oboru Analýza potravin Střední průmyslové školy chemické v Brně, Vranovská 65, 61400 Brno. Druhou skupinu tvořili absolventi oboru Analýza potravin téže střední školy, absolventský ročník 2010. Z této skupiny bylo osloveno všech 23 absolventů.

V rámci vzorku nebyla provedena žádná selekce, byl použit celý základní soubor.

3.3.3 Metodika

Použitou metodu představuje anonymní dotazníkové šetření. Dotazník byl vytvořen podle zásad formulovaných Chráskou [26].

Dotazník obsahuje oslovení a krátký úvod, ve kterém je sdělen subjekt a účel dotazníkového šetření. Následuje výběr kategorie respondenta (student či absolvent), 5 uzavřených otázek s možnostmi odpovědí formou čtyřstupňové škály (rozhodně souhlasím – spíše souhlasím – spíše nesouhlasím – rozhodně nesouhlasím) a jedna otázka s možností otevřené odpovědi. Plné znění dotazníku je uvedeno v příloze č. 1.

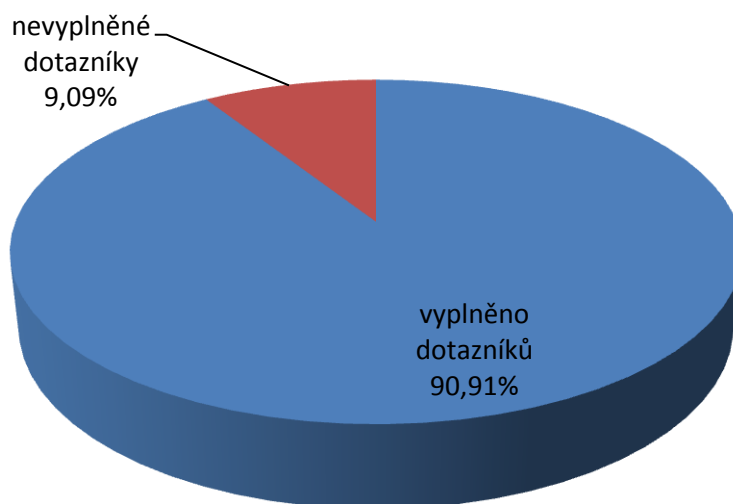
Dotazníky byly v případě skupiny studentů 3. ročníku rozdány a vyplněny ve třídě v době školního vyučování. Absolventi byli osloveni prostřednictvím sociální sítě Facebook nebo e-mailem, někteří telefonicky a následně se dle svých časových možností dostavovali na Střední průmyslovou školu chemickou v Brně za účelem vyplnění dotazníku.

Respondenti z obou skupin měli v okamžiku vyplňování dotazníku učební texty k dispozici, aby do nich mohli nahlédnout a v případě absolventů si připomenout jednotlivé úlohy učebního textu.

3.3.4 Výsledky

3.3.4.1 Návratnost dotazníků

Návratnost dotazníků od studentů 3. ročníku oboru Analýza potravin Střední průmyslové školy chemické v Brně byla 100 % (21 dotazníků z 21 oslovených respondentů). Dotazníky byly vyplněny hromadně ve třídě v rámci vyučování. Návratnosti dotazníků od absolventů oboru Analýza potravin byla 82,61 % (což představuje 19 vyplněných dotazníků z 23 oslovených respondentů). Celková návratnost za obě dvě skupiny činí 91,67 % - viz graf č. 4.

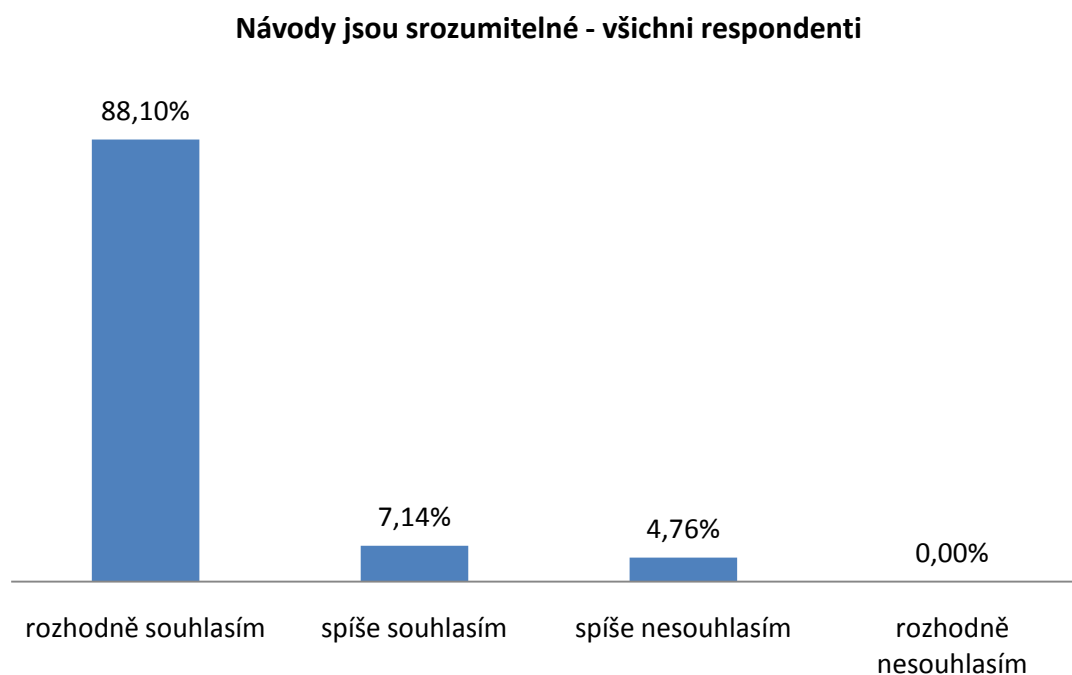


Graf č. 4: Celková návratnost dotazníků

3.3.4.2 Souhrnné vyhodnocení dotazníkového šetření zahrnující odpovědi všech respondentů

Vyhodnocení odpovědí na první otázku dotazníku, zda jsou návody do cvičení srozumitelné, znázorňuje graf č. 5. Vyplývá z něj, že 88,10 % respondentů odpovědělo, že rozhodně ano, 7,14 % soudí že spíše ano, 4,76 % se domnívá, že spíše ne. Odpověď „rozhodně nesouhlasím“ nebyla zaznamenána.

Procentuální zastoupení odpovědí na otázku, zda mají návody vyhovující grafickou úpravu je vyjádřeno v grafu č. 6. Odpověď „rozhodně souhlasím“ je zastoupena 83,33 %, odpověď „spíše souhlasím“ 14,29 %, „spíše nesouhlasím“ 2,38 %. Odpověď „rozhodně nesouhlasím“ nebyla zaznamenána.

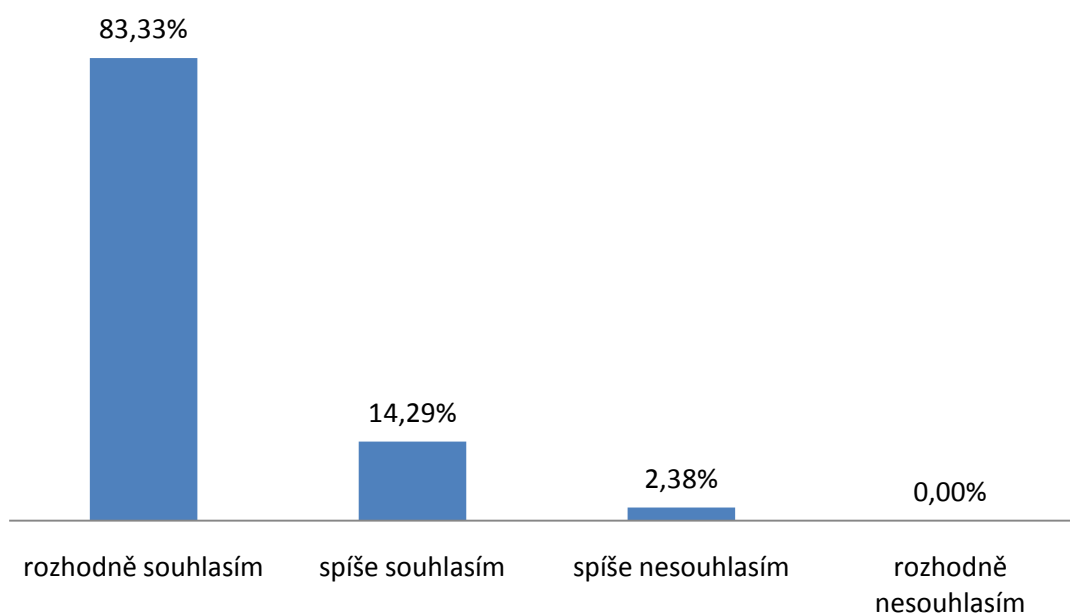


Graf č. 5: Procentuální zastoupení všech odpovědí na otázku, zda jsou návody srozumitelné

K výroku, že návody umožňují pracovat samostatně bez doplňujícího výkladu vyučujícího, se respondenti vyjádřili tako (viz graf č. 7): 64,29 % odpovědělo, že rozhodně souhlasí, 23,81 % spíše souhlasí a 11,90 % spíše nesouhlasí. Odpověď „rozhodně nesouhlasím“ nebyla zaznamenána.

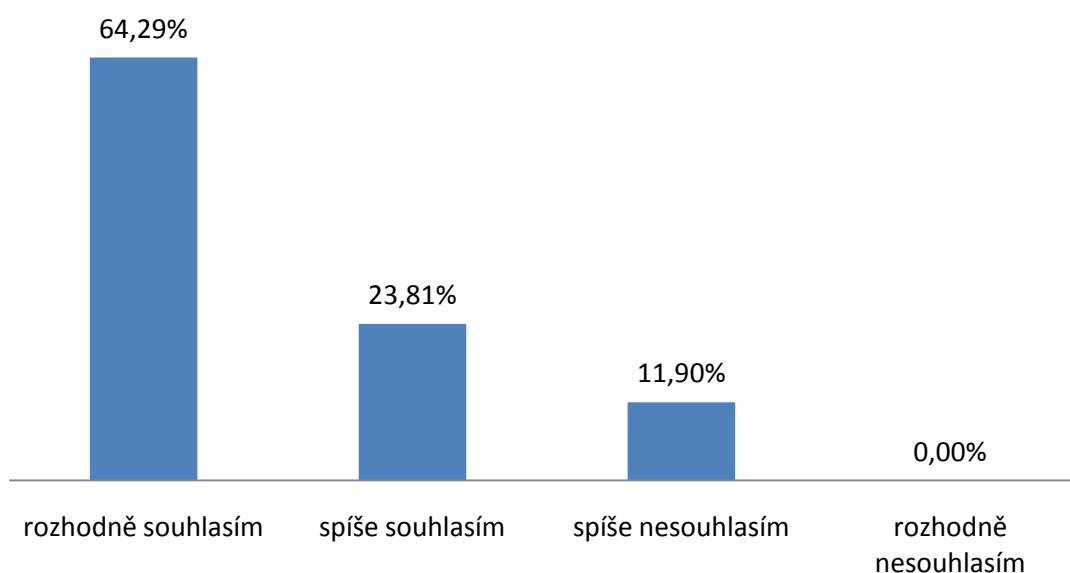
Na otázku, zda návody ke cvičení usnadňují přípravu k praktické maturitní zkoušce, byly zaznamenány pouze kladné odpovědi, a to ve 92,86 % „rozhodně souhlasím“ a v 7,14 % „spíše souhlasím“ (viz graf č. 8).

Návody mají vyhovující grafickou úpravu - všichni respondenti



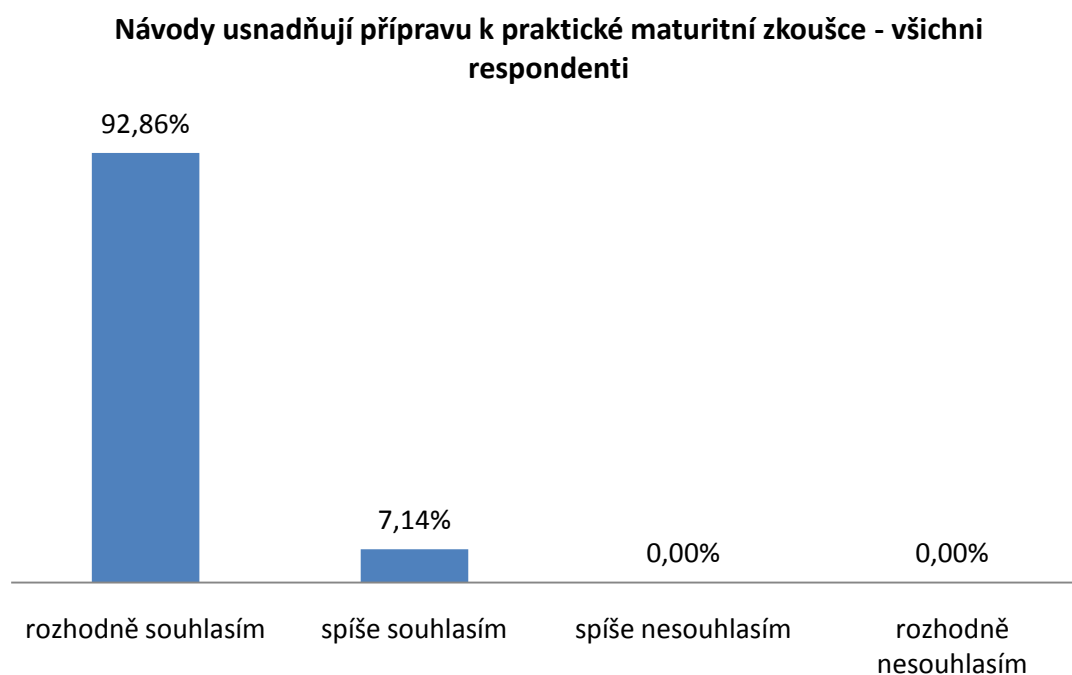
Graf č. 6: Procentuální zastoupení všech odpovědí na otázku, zda mají návody vyhovující grafickou úpravu

Návody umožňují pracovat samostatně bez doplňujícího výkladu vyučujícího - všichni respondenti



Graf č. 7: Procentuální zastoupení všech odpovědí na otázku, zda návody umožňují pracovat samostatně bez doplňujícího výkladu vyučujícího

S výrokem, že návody student či absolvent využije ve svém dalším studiu nebo v zaměstnání rozhodně souhlasí 64,29 % respondentů, spíše souhlasí 19,05 %, spíše nesouhlasí 14,29 % a rozhodně nesouhlasí 2,38 % (viz graf č. 9).

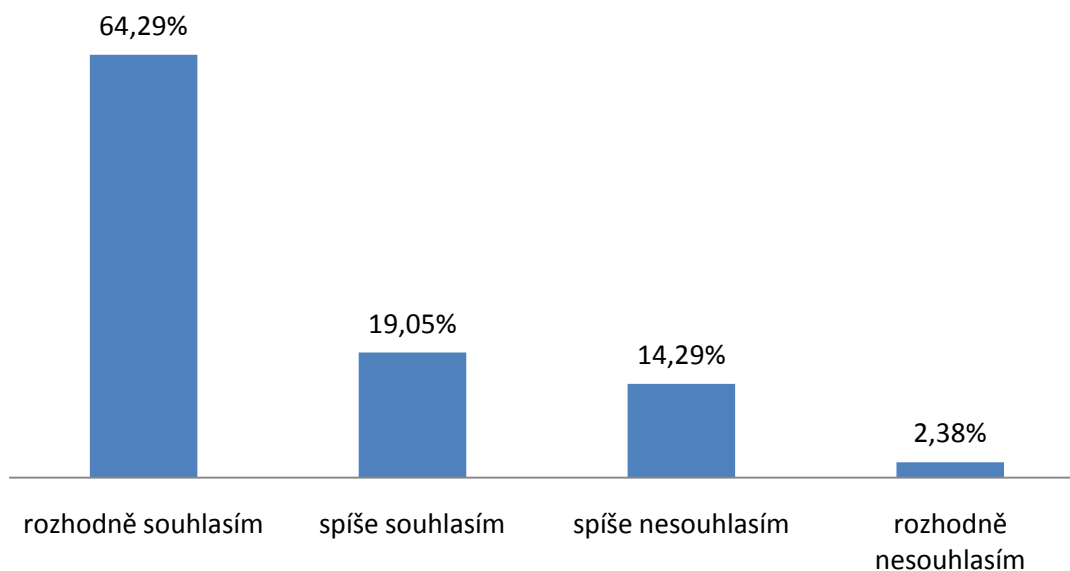


Graf č. 8: Procentuální zastoupení všech odpovědí na otázku, zda návody usnadňují přípravu k praktické maturitní zkoušce

Na otevřenou otázku, co studentům či absolventům v návodech chybí (chybělo) a co by naopak vyzdvihli jako jejich přednost, odpovědělo z 44 dotazovaných pouze 13. Zjištěné odpovědi s největší četností jsou následující:

1. V učebním textu by mělo být více obrázků. (7 respondentů)
2. Návodům nelze nic vytknout. (3 respondentů)
3. Předností je dobrá srozumitelnost. (2 respondenti)

Návody využiji při svém dalším studiu nebo v zaměstnání - všichni respondenti



Graf č. 9: Procentuální zastoupení všech odpovědí na otázku, zda studenti či absolventi návody využiji ve svém dalším studiu nebo v zaměstnání

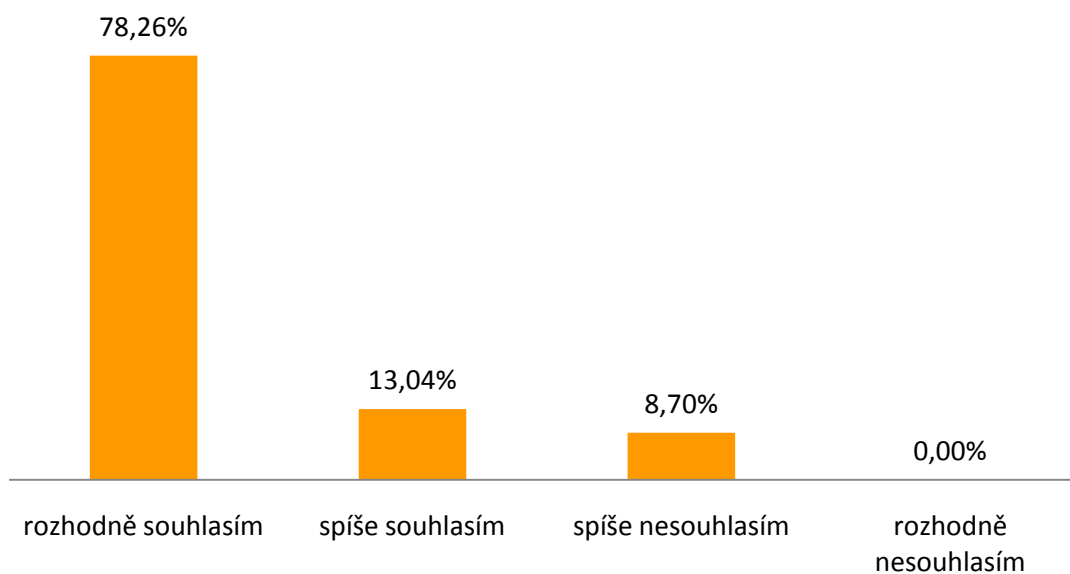
3.3.4.3 Vyhodnocení dotazníkového šetření zahrnující pouze odpovědi studentů oboru Analýza potravin

S výrokem, že návody jsou srozumitelné rozhodně souhlasí 78,26 % studentů, spíše souhlasí 13,04 %, spíše nesouhlasí 8,70 % (viz graf č. 10). Odpověď „rozhodně nesouhlasím“ nebyla zaznamenána.

Grafickou úpravu učebního textu hodnotili studenti takto: 82,61 % rozhodně souhlasí, že grafická úprava je vyhovující a 17,39 % s tímto výrokem spíše souhlasí (viz graf č. 11). Odpovědi „spíše nesouhlasím“ a „rozhodně nesouhlasím“ nebyly zaznamenány.

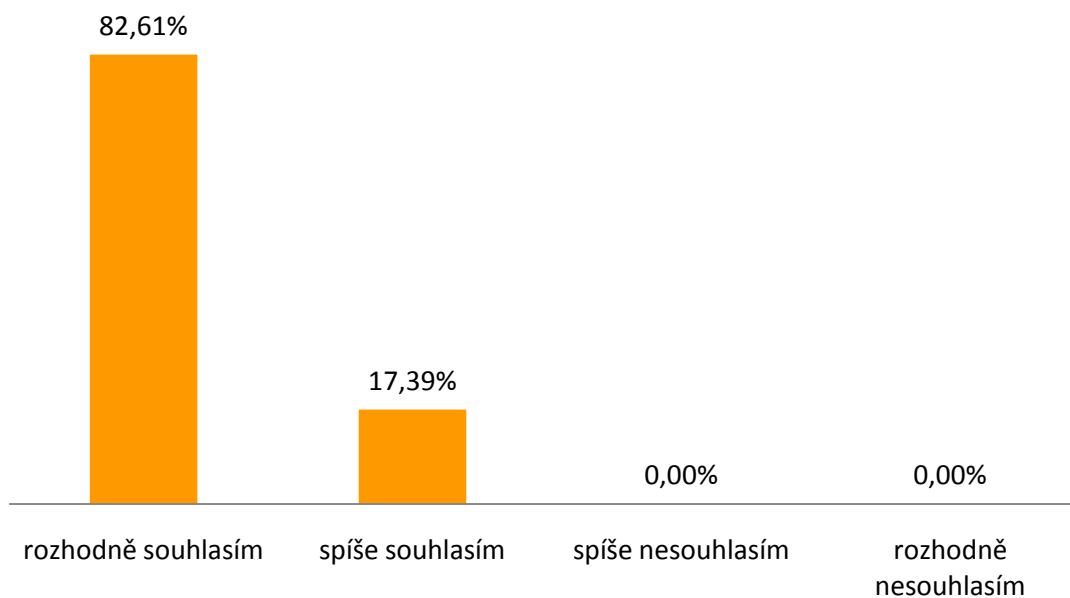
52,17 % studentů rozhodně souhlasí s tím, že návody umožňují pracovat samostatně bez doplňujícího výkladu vyučujícího. 26,09 % studentů s tím spíše souhlasí a 21,74 % spíše nesouhlasí (viz graf č. 12). Odpověď „rozhodně nesouhlasím“ nebyla zaznamenána.

Návody jsou srozumitelné - hodnocení studenty



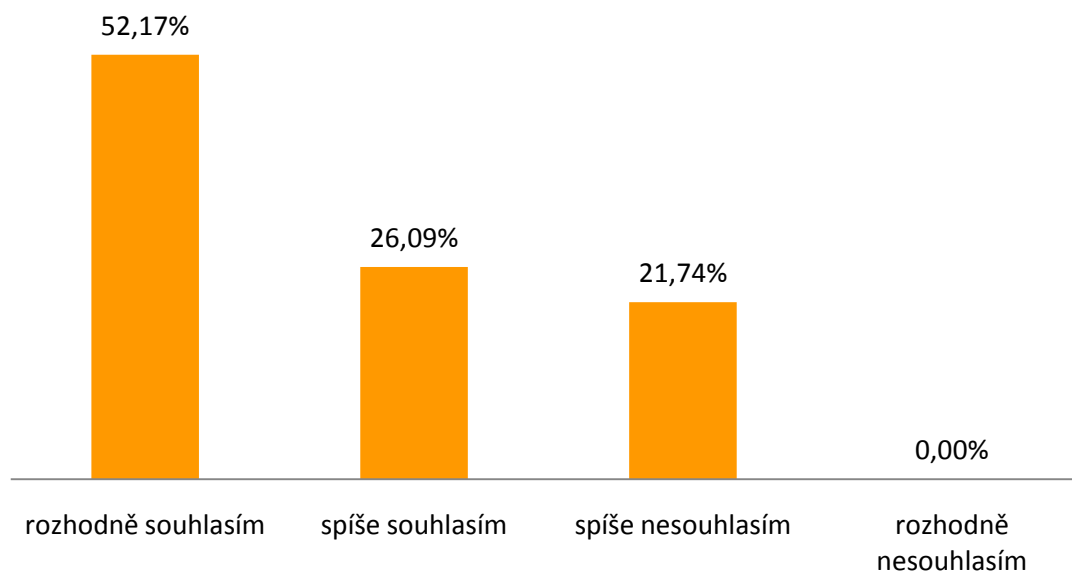
Graf č. 10: Procentuální zastoupení odpovědí studentů na otázku, zda jsou návody srozumitelné

Návody mají vyhovující grafickou úpravu - hodnocení studenty



Graf č. 11: Procentuální zastoupení odpovědí studentů na otázku, zda mají návody vyhovující grafickou úpravu

Návody umožňují pracovat samostatně bez doplňujícího výkladu vyučujícího - hodnocení studenty

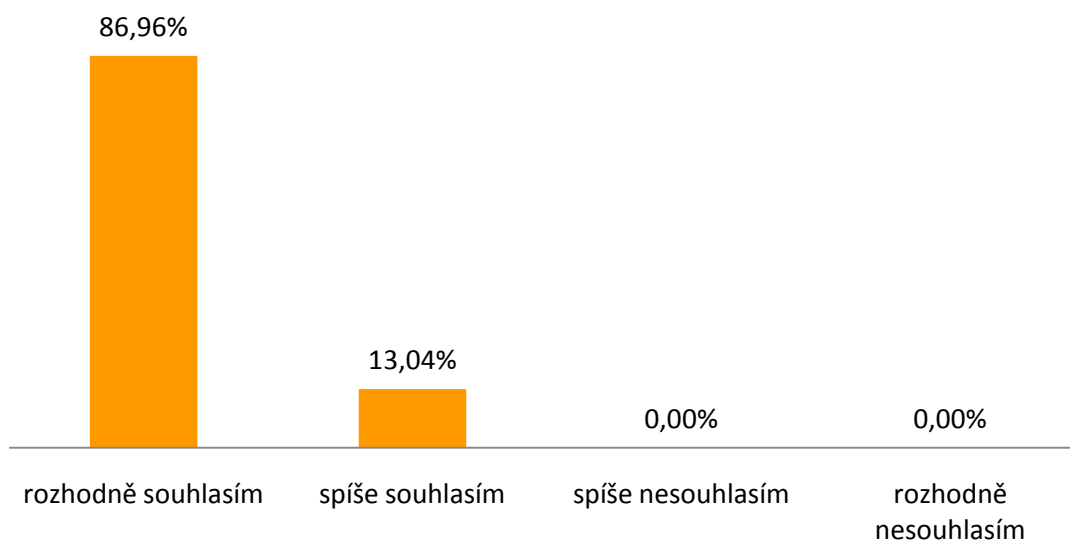


Graf č. 12: Procentuální zastoupení odpovědí studentů na otázku, zda návody umožňují pracovat samostatně bez doplňujícího výkladu vyučujícího

Z grafu č. 13 lze vyčíst, že 86,95 % studentů rozhodně souhlasí s tím, že jim návody do cvičení usnadňují přípravu k praktické maturitní zkoušce. Zbýlých 13,04 % s tím spíše souhlasí. Odpovědi „spíše nesouhlasím“ a „rozhodně nesouhlasím“ nebyly zaznamenány.

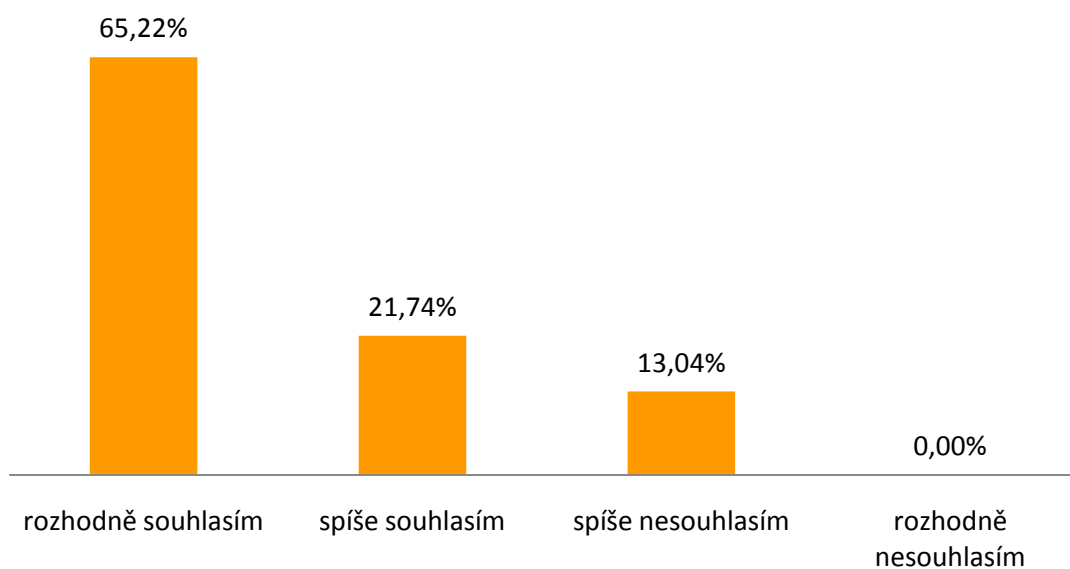
Graf č. 14 ukazuje, že 64,22 % studentů se domnívá (rozhodně souhlasí), že učební text využije ve svém dalším studiu nebo v zaměstnání. S tímto spíše souhlasí 21,74 % studentů a spíše nesouhlasí 13,04 % studentů. Odpověď „rozhodně nesouhlasím“ nebyla zaznamenána.

**Návody usnadňují přípravu k praktické maturitní zkoušce -
hodnocení studenty**



Graf č. 13: Procentuální zastoupení odpovědí studentů na otázku, zda jim návody usnadňují přípravu k praktické maturitní zkoušce

**Návody využiji při svém dalším studiu nebo v zaměstnání -
hodnocení studenty**



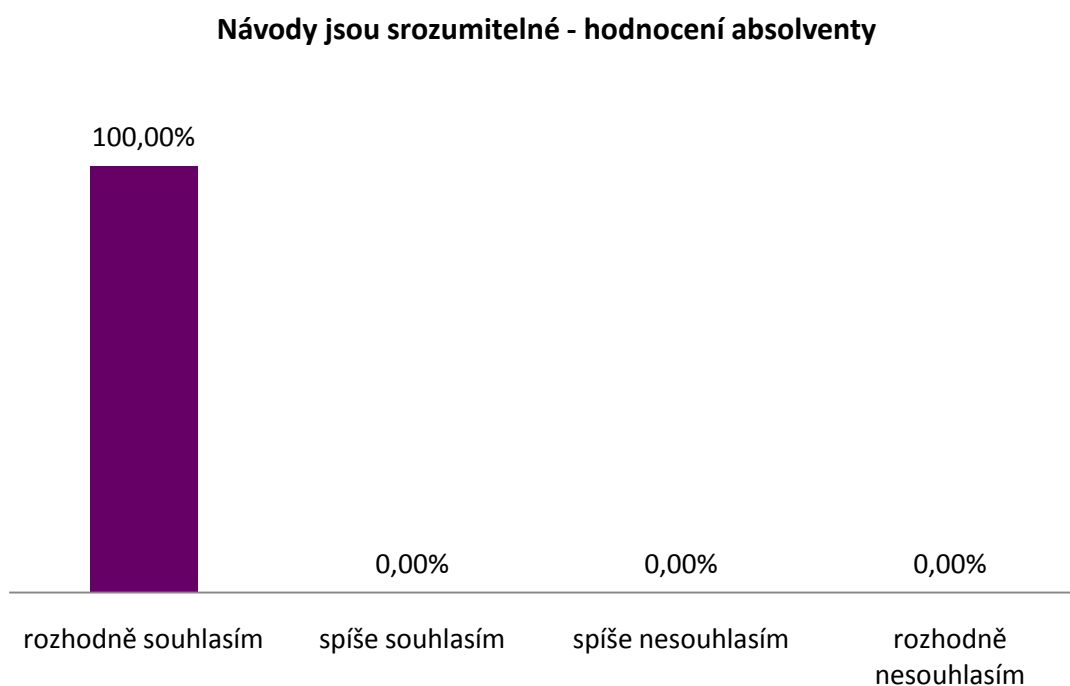
Graf č. 14: Procentuální zastoupení odpovědí studentů na otázku, zda se domnívají, že návody využiji při svém dalším studiu nebo v zaměstnání

3.3.4.4 Vyhodnocení dotazníkového šetření zahrnující pouze odpovědi absolventů oboru Analýza potravin

Všichni dotázaní absolventi rozhodně souhlasí s tím, že návody do cvičení jsou srozumitelné (viz graf č. 15).

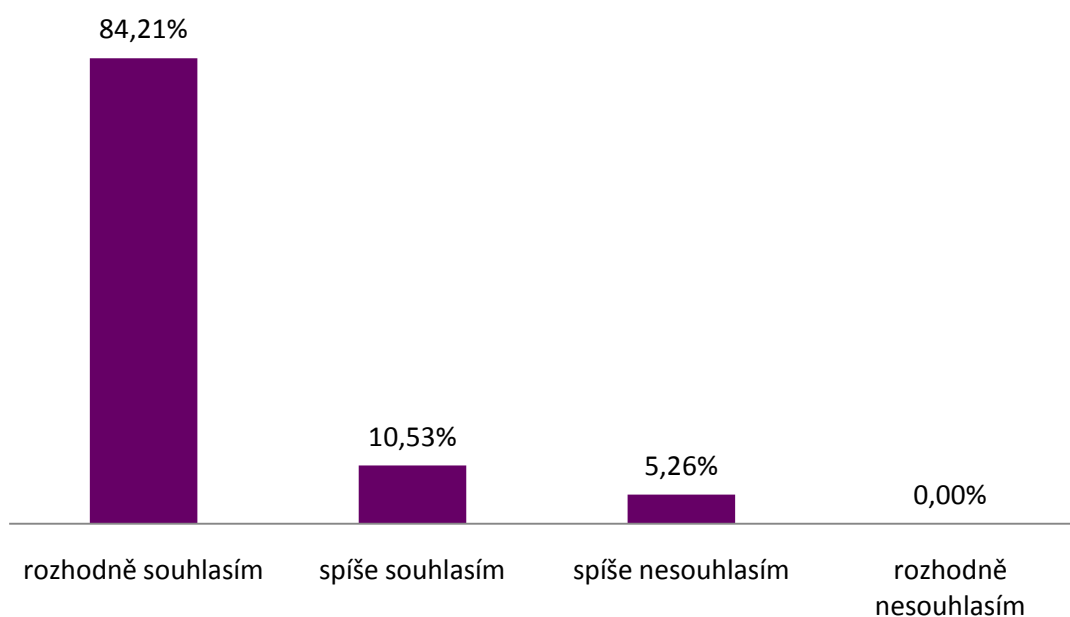
Na otázku, zda mají návody do cvičení vyhovující grafickou úpravu, odpovědělo 84,21 % absolventů, že rozhodně souhlasí s tím, že ano. 10,53 % absolventů s tím spíše souhlasí a 5,26 % spíše nesouhlasí (viz graf č. 16). Odpověď „rozhodně nesouhlasím“ nebyla zaznamenána.

Na otázku, zda návody umožňují pracovat samostatně bez doplňujícího výkladu vyučujícího, odpověděli absolventi pouze kladně. 78,95 % z nich se domnívá, že rozhodně ano, 21,05 % se domnívá, že spíše ano (viz graf č. 17).



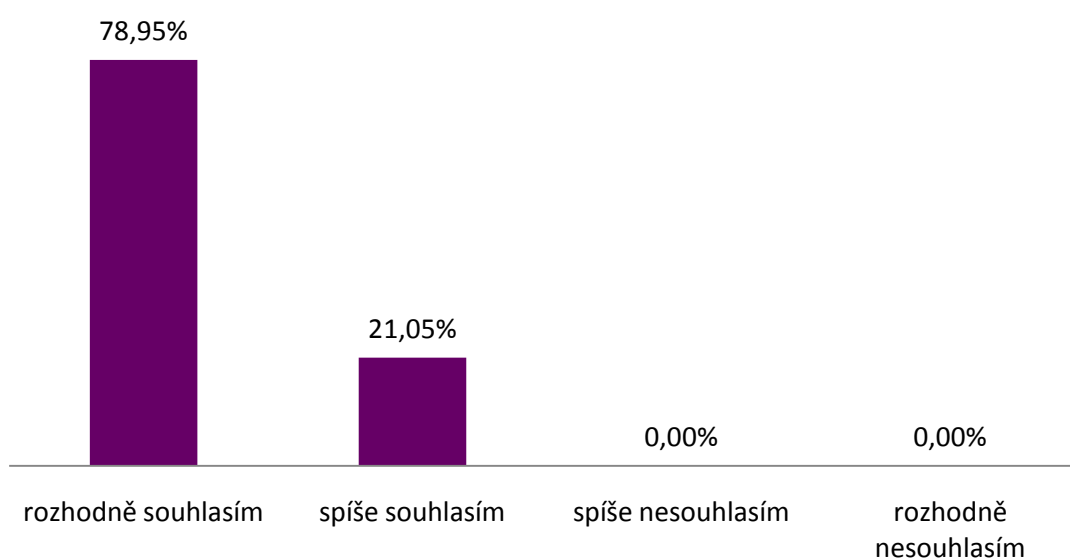
Graf č. 15: Procentuální zastoupení odpovědí absolventů na otázku, zda jsou návody srozumitelné

Návody mají vyhovující grafickou úpravu - hodnocení absolventy



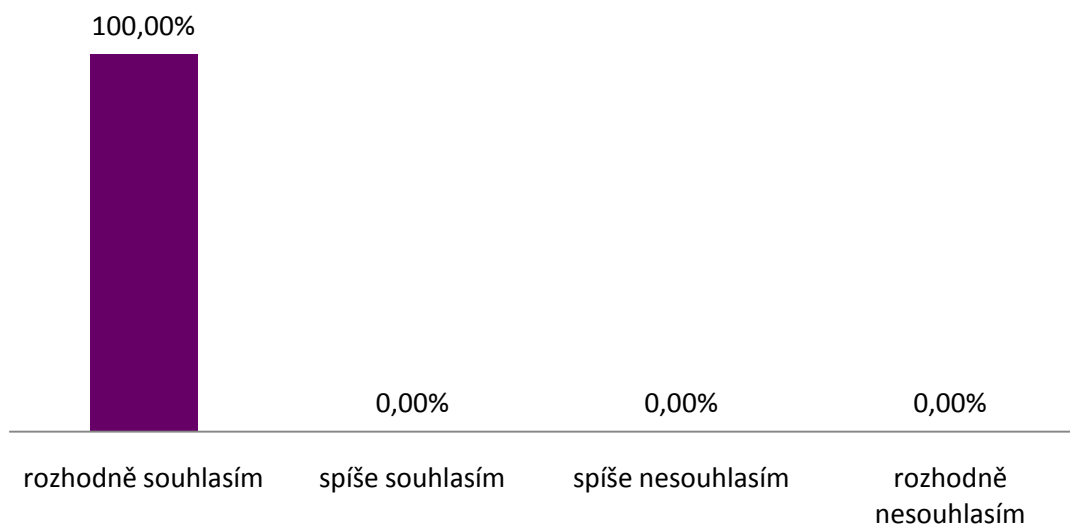
Graf č. 16: Procentuální zastoupení odpovědí absolventů na otázku, zda mají návody vyhovující grafickou úpravu

Návody umožňují pracovat samostatně bez doplňujícího výkladu vyučujícího - hodnocení absolventy



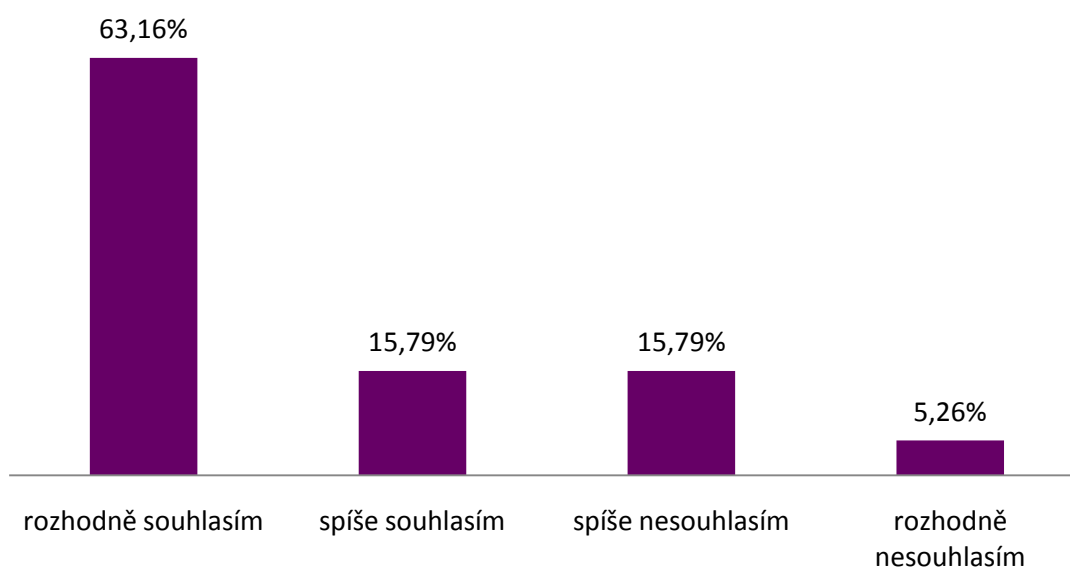
Graf č. 17: Procentuální zastoupení odpovědí absolventů na otázku, zda návody umožňují pracovat samostatně bez doplňujícího výkladu vyučujícího

Návody usnadňují přípravu k praktické maturitní zkoušce - hodnocení absolventy



Graf č. 18: Procentuální zastoupení odpovědí absolventů na otázku, zda návody usnadňují přípravu k praktické maturitní zkoušce

Návody využiji při svém dalším studiu nebo v zaměstnání - hodnocení absolventy



Graf č. 19: Procentuální zastoupení odpovědí absolventů na otázku, zda návody využijí (nebo již využívají) při svém dalším studiu nebo v zaměstnání

Všichni dotázaní absolventi rozhodně souhlasí s tím, že návody do cvičení usnadňují přípravu k praktické maturitní zkoušce (viz graf č. 18).

63,16 % absolventů rozhodně souhlasí s tím, že návody využijí (nebo již využívají) ve svém dalším studiu nebo v zaměstnání. S tímto spíše souhlasí 15,79 % absolventů, stejný počet absolventů (15,79 %) s tím spíše nesouhlasí a 5,26 % s tím rozhodně nesouhlasí (viz graf č. 19).

Vyhodnocení hypotéz včetně komentářů uvádím v kapitole 4. Diskuse.

4. Diskuse

Ověření učebního textu Laboratorní cvičení z mikrobiologie ve výuce ukázalo, že studenti jsou s jeho pomocí schopni řešit i úkoly komplexního charakteru, jako jsou mikrobiologické rozbory potravinářských surovin a potravin a posouzení hygienických podmínek potravinářského provozu. Tyto úkoly lze přitom považovat za náročné z hlediska nutnosti dodržovat aseptické techniky práce, znalosti normalizovaných postupů přípravy živných médií pro kultivaci mikroorganismů, kvalifikované posouzení suspektních kolonií mikroorganismů apod.

Velmi však záleží na tom, jak sami studenti hodnotí důležité aspekty učebního textu, jakými jsou srozumitelnost, grafické uspořádání nebo dostatečná podrobnost umožňující samostatné provedení požadovaného úkonu bez doplňujícího vysvětlení. Ověřením skutečnosti, zda student ovládá požadované mikrobiologické laboratorní techniky, je praktická maturitní zkouška. Je proto důležité i to, jak studenti hodnotí přínos učebního textu při jejich přípravě na tuto zkoušku. Absolvováním střední odborné školy však praktická laboratorní činnost pro většinu z nich nekončí (spíše naopak) a z tohoto pohledu je důležitý i fakt, zda studenti v budoucnu využijí učební text ve své praxi či ve svém dalším profesním růstu formou studia na vyšší odborné škole nebo univerzitě. Ke zjištění těchto faktů bylo použito dotazníkové šetření, jehož velkou výhodou byl fakt, že respondenty tvořili jednak 21 studentů 3. ročníku oboru Analýza potravin a také 23 absolventů toho studijního oboru. Z tohoto pohledu je tedy možné určité srovnání.

Vyhodnocení první z otázek dotazníku, zda respondenti považují návody do cvičení za srozumitelné, vyznívá příznivě a **potvrzuje hypotézu H1 (učební text je srozumitelný nejméně pro 90 % respondentů)**. Výsledek 88,10 % pro odpověď „rozhodně souhlasím“ se sám o sobě k hranici 90 % velmi blíží. Součet odpovědí „rozhodně souhlasím“ a „spíše souhlasím“ představuje 97,62 %. Podíváme-li se na skutečnost, jak odpovídali studenti a jak absolventi, zjistíme právě u této otázky podstatný rozdíl v hodnocení učebního textu. Zatímco studenti hodnotili návody do cvičení jako srozumitelné v 78,26 % případů, absolventi je hodnotili jako srozumitelné všichni – tedy 100 %. Vysvětlení tohoto rozdílu v hodnocení spočívá nejspíše v rozdílné praktické zkušenosti s prací v mikrobiologické laboratoři u obou skupin respondentů.

Zatímco absolventi mají za sebou 2 roky praktické laboratorní přípravy na střední škole, studenti 3. ročníku jsou (alespoň co se týče práce v mikrobiologické laboratoři) v podstatě na počátku své odborné profesní přípravy. Proto nepokládám rozdíl v hodnocení srozumitelnosti návodů za nijak překvapivý. Je-li například v učebním textu na str. 27 uvedeno „Na povrch agaru inokuluj 0,1 ml tekuté půdy s obsahem testovaného mikroorganismu, ...“, může být některý ze studentů v rozpacích, co znamená slovo inokulace, zatímco ve 4. ročníku nebo po absolvování školy bude tento termín používat zcela běžně.

Podobný jev lze pozorovat také u vyhodnocení dotazníkové otázky, zda návody umožňují pracovat samostatně bez doplňujícího výkladu vyučujícího. Součet odpovědí „rozhodně souhlasím“ a „spíše souhlasím“ představuje ve vyhodnocení odpovědí všech respondentů 88,10 %. Pro skupinu studentů byl součet těchto pozitivních odpovědí 78,26 %, zatímco pro skupinu absolventů 100 % (z toho 78,95 % absolventů spíše souhlasí a 21,05 % spíše souhlasí). I zde se projevuje rozdíl v praktické zkušenosti s prací v mikrobiologické laboratoři a tím také rozdílnou míru samostatnosti studentů 3. ročníku a absolventů školy. Navíc jsou studenti na doplňující výklad učitele zvyklí, počítají s ním a nejsou tak nuceni spoléhat se při vykonávání zadaného úkolu pouze sami na sebe a předložené návody. Z tohoto zjištění plyne jednoznačné doporučení pro pedagogickou praxi v tom smyslu, aby byli studenti více vedeni k samostatnosti při laboratorní práci. Z hlediska bezpečnosti práce je ovšem nezbytné, aby po nastudování příslušného návodu studentem vyučující vždy zkontroloval, zda student postup skutečně pochopil a je schopen ho předepsaným způsobem provést. Tato otázka byla v dotazníku zařazena kvůli zjištění, nakolik jsou studenti schopni pracovat podle návodů samostatně a její vyhodnocení poslouží vyučujícím jako zpětná vazba (vyhodnocení této otázky tedy v tomto případě nemá potvrdit nebo vyvrátit konkrétní hypotézu).

Testovanou hypotézou H2 byl předpokládán fakt, že výukový text usnadní přípravu k praktické maturitní zkoušce nejméně 90 % respondentů. **Hypotéza H2 (výukový text usnadní přípravu k praktické maturitní zkoušce nejméně 90 % respondentů) byla dotazníkovým šetřením potvrzena**, neboť na danou otázku odpovědělo 92,86 % respondentů „rozhodně souhlasím“ a zbylých 7,14 % „spíše souhlasím“. Rozdíly

v odpovědích studentů a absolventů zde nejsou výrazné, respondenti z obou skupin volili pouze kladné odpovědi „rozhodně souhlasím“ a „spíše souhlasím“. Všichni absolventi (100 %) s daným tvrzením rozhodně souhlasí, studentů rozhodně souhlasí 86,96 %, spíše souhlasí 13,04%. Tento nevýrazný rozdíl v hodnocení je pravděpodobně dán faktem, že zatímco absolventi mají praktickou maturitní zkoušku již za sebou, studenty teprve čeká a nemohou se tedy vždy vyjádřit ve smyslu „rozhodně souhlasím“.

Další testovanou hypotézou H3 byl předpoklad, že alespoň 60 % respondentů bude kladně hodnotit grafickou úpravu učebního textu. Tato hodnota byla zvolena proto, že učební text byl vydán edičním střediskem vysoké školy (Mendelovy univerzity v Brně) v podobě skripta, které má omezené grafické možnosti. Snahou autora bylo zejména to, aby byl učební text pro studenty finančně dostupný, a proto je koncipován pro černobílý režim tisku bez možnosti vyobrazení barevných schémat nebo fotografií. Na druhou stranu grafickou úpravu zahrnuje např. i členění textu, které významně usnadňuje pochopení principu prováděné laboratorní úlohy. Vyhodnocením dotazníku **byla hypotéza H3 (grafickou úpravu učebního textu bude kladně hodnotit nejméně 60 % studentů) potvrzena**. Ukázalo se, že grafická úprava byla dokonce kladně hodnocena ve výrazně větším měřítku než byl původní předpoklad: 88,33 % všech respondentů rozhodně souhlasí, 14,29 % spíše souhlasí a pouze zbylých 2,38 % spíše nesouhlasí, přičemž odpovědi studentů a odpovědi absolventů se v tomto případě lišily jen nevýznamně. Pozitivním zjištěním pro autora textu a také pro pedagogy, kteří učební texty využívají nebo by v budoucnu chtěli užívat je tedy fakt, že grafická úprava učebního textu je respondenty nad očekávání vysoce hodnocena. Na druhou stranu z výzkumu vyplynulo, že by respondenti uvítali větší množství názorných obrázků – tento fakt byl zjištěn vyhodnocením otevřené otázky, co respondentům v návodech chybí (nebo chybělo). Odpověď s největší četností je ta, že by mělo být v učebním textu více obrázků.

Poslední testovanou hypotézou je domněnka, že alespoň 50 % respondentů využije (v případě absolventů možná již využívá) učební text při svém dalším studiu nebo při výkonu povolání. Zde je nutné podotknout, že odpovědi studentů na tuto otázku byly převážně intuitivní, neboť ještě nevědí, zda budou učební texty po skončení studia

využívat či nikoliv. Na druhou stranu je z této otázky možné částečně vycítit emoční vztah k učebnímu textu (možná ale také k celému vyučovacímu předmětu). Odpověď „rozhodně nesouhlasím“ nebo „spíše nesouhlasím“ by tak v tomto případě mohly vyjadřovat postoj studenta „nechci v tomto oboru pracovat (nebo dále studovat) – nebaví mě to“. Stejně tak ale mohou tyto odpovědi vypovídat o postoji typu „na vysoké škole budu nejspíš potřebovat jiná skripta, většího rozsahu ...“ apod. Proto s interpretací výsledků získaných vyhodnocením této otázky studenty musíme být opatrní. V každém případě „rozhodně souhlasím“ odpovědělo 65,22 % studentů, „spíše souhlasím“ 21,74 % studentů a zbylých 13,04 % odpovědělo „spíše nesouhlasím“. Konkrétnější představu, která se více blíží reálnému posouzení možnosti dalšího využití učebního textu (mimo prostředí střední školy), ukazuje vyhodnocení odpovědí absolventů. Za zmínku stojí fakt, že jde v tomto případě o jedinou otázku z celého dotazníku, na kterou absolventi odpovídali mimo jiné možnosti „rozhodně nesouhlasím“ (týká se konkrétně o 5,26 % absolventů). Uvážíme-li ovšem fakt, že určitá část absolventů Střední průmyslové školy chemické se ve svém zaměstnání či dalším studiu věnuje jinému oboru, než je analýza potravin, je tento údaj pochopitelný. Vyhodnocením odpovědí všech respondentů **byla hypotéza H4 (učební text využije ve svém dalším studiu nebo zaměstnání nejméně 50 % respondentů) potvrzena**, neboť 64,29 % respondentů odpovědělo na tuto otázku „rozhodně souhlasím“ a 19,05 % „spíše souhlasím“.

Závěrem lze konstatovat, že všechny cíle rigorózní práce byly splněny a všechny hypotézy dotazníkového šetření byly ověřeny.

5. Závěr

V roce 2008 byl publikován učební text „Laboratorní cvičení z mikrobiologie“, který obsahuje konkrétní návody pro práci v mikrobiologické laboratoři vhodné pro studenty středních odborných škol s potravinářským zaměřením. V předkládané rigorózní práci je tento soubor návodů doplněn o dvě vyhodnocené sady mikrobiologických vyšetření jatečně upravených těl, masa a provozních ploch z jateční výroby a bourání masa, jako ukázkou aplikace návodů v praxi. Při mikrobiologickém vyšetřování vzorků se ukázalo, že návody obsažené v učebním textu jsou relativně snadno proveditelné v podmínkách školní mikrobiologické laboratoře a zároveň odpovídají požadavkům příslušných norem v této oblasti.

Proběhlo také zhodnocení učebního textu studenty oboru Analýza potravin na Střední průmyslové škole chemické v Brně a absolventy oboru Analýza potravin téže školy. Vzhledem ke skutečnosti, že všechny testované hypotézy byly potvrzeny, lze konstatovat, že učební text je vhodný pro výuku praktických činností prováděných v mikrobiologické laboratoři a je možné jej doporučit i jiným středním školám vyučujícím studijní obor Analýza potravin.

6. Literatura

- [1] Blažková, M., Karamonová, L., Fukal, L., Rauch, L.: *Listeria monocytogenes* – nebezpečný patogen a jeho detekce v potravinách. *Chemické listy*, 2005, č.99, s. 467- 473.
- [2] Composite authors: *Catalogue of Cultures. Bacteria, Fungi. 6th edition*. Brno: Czech Collection of Microorganisms, Masaryk University Brno, Faculty of Science, 1999.
- [3] ČSN 56 0100 Mikrobiologické zkoušení poživatin, předmětů běžného užívání a prostředí potravinářských provozoven. Praha: Český normalizační institut, 1968.
- [4] ČSN EN ISO 4833 Mikrobiologie potravin a krmiv. Horizontální metoda pro stanovení celkového počtu mikroorganismů – Technika počítání kolonií. Praha: Český normalizační institut, 2003.
- [5] ČSN EN ISO 6579 Mikrobiologie potravin a krmiv. Horizontální metoda průkazu bakterií rodu *Salmonella*. Praha: Český normalizační institut, 2006.
- [6] ČSN EN ISO 6887-1 Mikrobiologie potravin a krmiv. Úprava analytických vzorků, příprava výchozí suspenze a desetinasobných ředění – Část 1: Všeobecné pokyny pro přípravu výchozí suspenze a desetinasobných ředění. Praha: Český normalizační institut, 1999.
- [7] ČSN EN ISO 6887-2 Mikrobiologie potravin a krmiv. Úprava analytických vzorků, příprava výchozí suspenze a desetinasobných ředění – Část 2: Specifické pokyny pro vzorky masa a masných výrobků. Praha: Český normalizační institut, 1999.
- [8] ČSN EN ISO 6888-1 Mikrobiologie potravin a krmiv. Horizontální metoda stanovení počtu koagulázopozitivních stafylokoků (*Staphylococcus aureus* a další druhy) – Část 1: Technika s použitím agarové půdy podle Baird-Parkera. Praha: Český normalizační institut, 1999.
- [9] ČSN EN ISO 7899 Jakost vod - Stanovení intestinálních enterokoků. Český normalizační institut, 2000.
- [10] ČSN EN ISO 9308 Jakost vod - Stanovení *Escherichia coli* v povrchových a odpadních vodách. Český normalizační institut, 2000.

- [11] ČSN ISO 17410 Mikrobiologie potravin a krmiv - Horizontální metoda stanovení počtu psychrotrofních mikroorganismů. Český normalizační institut, 2003.
- [12] ČSN ISO 17604 Mikrobiologie potravin a krmiv. Vzorkování těl poražených zvířat pro mikrobiologické vyšetření. Praha: Český normalizační institut, 2006.
- [13] ČSN ISO 18593 Mikrobiologie potravin a krmiv – Horizontální metody specifikující techniky vzorkování z povrchů pomocí kontaktních ploten a stěrů. Praha: Český normalizační institut, 2008.
- [14] ČSN ISO 18593 Mikrobiologie potravin a krmiv. Horizontální metody specifikující techniky vzorkování z povrchu pomocí kontaktních ploten a stěrů. Praha: Český normalizační institut, 2006.
- [15] ČSN ISO 2293 Maso a masné výrobky. Stanovení počtu mikroorganismů. Technika počítání kolonií. Praha: Český normalizační institut, 1996.
- [16] ČSN ISO 3100-2 Maso a masné výrobky. Odběr vzorků a příprava analytických vzorků. Část 2: Příprava analytických vzorků pro mikrobiologické zkoušení. Praha: Český normalizační institut, 2006.
- [17] ČSN ISO 4832 Mikrobiologie. Všeobecné pokyny pro stanovení počtu koliformních bakterií. Technika počítání kolonií. Praha: Český normalizační institut, 1995.
- [18] ČSN ISO 7218 Mikrobiologie potravin a krmiv. Všeobecné pokyny pro mikrobiologické zkoušení. Praha: Český normalizační institut, 2007.
- [19] ČSN ISO 7954 Všeobecné pokyny pro stanovení počtu kvasinek a plísní. Technika počítání kolonií vykultivovaných při 25 °C. Praha: Český normalizační institut, 1994.
- [20] ČSN ISO 8199 Jakost vod – obecné pokyny pro stanovení mikroorganismů kultivačními metodami. Praha: Český normalizační institut, 2008.
- [21] ČSN P ENV ISO 11133-1 Mikrobiologie potravin a krmiv. Všeobecné pokyny pro přípravu a výrobu kultivačních půd – Část 1: Všeobecné pokyny pro zabezpečování jakosti při přípravě kultivačních půd v laboratoři. Praha: Český normalizační institut, 2001.
- [22] Demnerová, K.: *Laboratorní cvičení z mikrobiologie*. Praha: VŠCHT, 2001.

- [23] Frébortová, J.: *Laboratorní cvičení z mikrobiologie*. Olomouc: Přírodovědecká fakulta UP Olomouc, 2005.
- [24] Hamerský, S.: *Laboratorní cvičení z mikrobiologie*. Brno: SPŠCH Brno, 2008.
- [25] Hofman, M.: *Biologie pro 3. ročník SPŠ potravinářských oborů průmyslová výroba krmiv a mlynářství: mikrobiologie*. Praha: SNTL, 1986.
- [26] Chráška, M.: *Metody pedagogického výzkumu*. Praha: Grada, 2007.
- [27] Integrovaný portál Ministerstva práce a sociálních věcí [online]. MSPV, 2010 [citováno 5. 9. 2010]. Dostupný na WWW: < <http://portal.mpsv.cz>>.
- [28] Komprda, T.: *Hygiena potravin*. Brno: MZLU v Brně, 2003.
- [29] Nařízení Komise (ES) č. 2073/2005 ze dne 15. listopadu 2005 o mikrobiologických kritériích pro potraviny.
- [30] Ostrý, V., Škarková, J.: *Kultivační metoda průkazu aflatoxinogenních mikromycetů (plísní) Aspergillus flavus a Aspergillus parasiticus v potravinách a pokrmech*. Acta hygienica, epidemiologica et microbiologica, 1/2003, s. 1 - 28.
- [31] Pavlíčková, I., a kol.: *Školní vzdělávací program Analýza Potravin*. Brno: SPŠCH Brno, 2008.
- [32] Průcha, J., Walterová, E., Mareš, J.: *Pedagogický slovník*. Praha: Portál, 2009.
- [33] *Rámcový vzdělávací program Analýza potravin* [online]. Portál Národního ústavu odborného vzdělávání, 2010 [citováno 20. 9. 2010]. Dostupný na WWW: < <http://zpd.nuov.cz>>.
- [34] Rozhodnutí Komise 2001/471/ES ze dne 8. června 2001, kterým se stanovují zásady pravidelných kontrol všeobecné hygieny, které provádějí provozovatelé zařízení v souladu se směrnicí 64/433/EHS o hygienických podmínkách výroby a uvádění čerstvého masa na trh a směrnice 71/118/EHS o hygienických problémech ohrožujících výrobu a uvádění čerstvého drůbežního masa na trh (oznámeno pod číslem K(2001) 1561).
- [35] Steinhäuser, L. a kol.: *Hygiena a technologie masa*. Brno: LAST, 1995.
- [36] Šilhánková, L.: *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology*. Praha: Academia, 2002.
- [37] Šimůnek, J., Březina, P.: *Mykotoxiny*. Vyškov: Vysoká vojenská škola pozemního vojska, Fakulta ekonomiky obrany státu, 1996.

- [38] Tvrdoň, M.: *Laboratorní cvičení mikrobiologická pro 2. ročník středních průmyslových škol potravinářských*. Praha: SNTL, 1977.
- [39] Vyhláška č. 132/2004 Sb. Ministerstva zdravotnictví ČR o mikrobiologických požadavcích na potraviny, způsobu jejich kontroly a hodnocení.
- [40] Vyhláška č. 252/2004 Sb. Ministerstva zdravotnictví ČR o požadavcích na pitnou a teplou vodu.
- [41] Vyhláška č. 467/2006 Sb. Ministerstva zdravotnictví ČR kterou se zrušuje vyhláška č. 132/2004 Sb. o mikrobiologických požadavcích na potraviny, způsobu jejich kontroly a hodnocení.

7. Přílohy

Příloha č. 1: Dotazník použitý pro zjišťování hodnocení učebního textu studenty a absolventy studijního oboru Analýza potravin Střední průmyslové školy chemické Brno

DOTAZNÍK pro uživatele návodů „Laboratorní cvičení z mikrobiologie“

Vážený studente či absolvente potravinářského oboru SPŠCH v Brně,

obracím se na Vás s prosbou o vyplnění krátkého dotazníku. Zjišťuji v něm, jak se Vám pracuje (nebo pracovalo) se souborem návodů „Laboratorní cvičení z mikrobiologie“. Vyplněním dotazníku mi pomůžete s vypracováním mé rigorózní práce na Pedagogické fakultě Univerzity Karlovy v Praze a zároveň přispějete ke zkvalitnění výuky mikrobiologických laboratorních cvičení na SPŠCH v Brně.

1. Jsem (vyznačte křížkem): student(ka) 3. ročníku SPŠCH
 student(ka) 4. ročníku SPŠCH
 absolvent(ka) SPŠCH, rok ukončení

2. Vyznačte křížkem míru souhlasu nebo nesouhlasu s následujícími výroky:

Návody	rozhodně souhlasím	spíše souhlasím	spíše nesouhlasím	rozhodně nesouhlasím
jsou srozumitelné	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
mají vyhovující grafickou úpravu	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
umožňují pracovat samostatně bez doplňujícího výkladu vyučujícího	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
usnadňují přípravu k praktické maturitní zkoušce	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
využiji při svém dalším studiu nebo v zaměstnání	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

3. Co Vám v návodech chybělo a co byste naopak vyzdvihli jako jejich přednost?

.....
.....

4. Datum vyplnění dotazníku:

Děkuji za Váš čas věnovaný vyplnění tohoto dotazníku.


Ing. Mgr. Stanislav Hamerský