

Protokol 01	
Sledovaná složka potraviny	Kostní úlomky
Druh potraviny	Masné výrobky
Způsob vyšetření vzorku	Histochemicky, stanovení alizarinovou červení
Zkrácený protokol/plná verze	Zkrácená verze

1 Detekční limit vyšetření

Detekční limit není nutné stanovit v objemových procentech, protože se jedná o příměs, která se v masných výrobcích nachází ojediněle. Běžným nálezem je jen v případě použití strojně odděleného masa, jehož součástí jsou úlomky kostí. Za průkaz použití strojně odděleného masa se považuje nález 3 kostních úlomků na 10 histologických řezech.

2 Časová náročnost

příprava vzorků
24 hod.

vlastní pracovní postup
41 min.

3 Vlastní vyšetření

3.1 Barvení preparátů

Řezy je nutné před barvením zbavit parafínu. Parafín se v řezech rozpouští rozpouštědlem (xylen) a přes etanol se řezy převedou do vody, protože histologická barviva jsou převážně rozpustná ve vodě. Barví se ručně ve speciálních kyvetách nebo v barvicím automatu. Barviva a směsi barviv se aplikují dle popsaného postupu.

Alizarinová červeně

Cíl: zvýraznění kostní tkáně

Protokol 01	
Sledovaná složka potraviny	Kostní úlomky
Druh potraviny	Masné výrobky
Způsob vyšetření vzorku	Histochemicky, stanovení alizarinovou červí
Zkrácený protokol/plná verze	Zkrácená verze

Postup:

odparafinování	xylén.....	10 min
	100 % alkohol + éter (2/3+1/3).....	10 min
1% kyselina octová.....		oplach
destilovaná voda.....		oplach
roztok kyselina pikrová – alizarin.....		5 minut
destilovaná voda.....		oplach
indigokarmín.....		3 min
destilovaná voda.....		oplach
odvodnění (alkohol)	96%.....	oplach
	100%.....	oplach
xylén I (čistý)	5 min
xylén II (p. a.)	5 min

Příprava roztoků:

Kyselina pikrová – alizarin:

0,5 g	alizarinová červeň S
50 ml	destilované vody
50 ml	1,2 % kyseliny pikrové

- alizarin rozpustit v destilované vodě, přidat kyselinu pikrovou a zamíchat. Pomocí NaOH upravit pH na 4,3 – 4,5. Přefiltrovat, přidat thymol (konzervace).

Indigokarmín:

0,2 g	indigokarmínu
80 ml	destilované vody

Výsledek:

kost	– žlutočerveně
vazivo	- modře

3.2 Vyšetření preparátů a hodnocení výsledků

Obarvené řezy jsou vyšetřovány ve světelném mikroskopu při menším zvětšení (např. 32 x nebo 40 x), pro studium detailů je používáno většího zvětšení. Obvykle se jedná o kvalitativní vyšetření. Popisuje se přítomnost jednotlivých druhů tkání ve vyšetřovaných vzorcích.

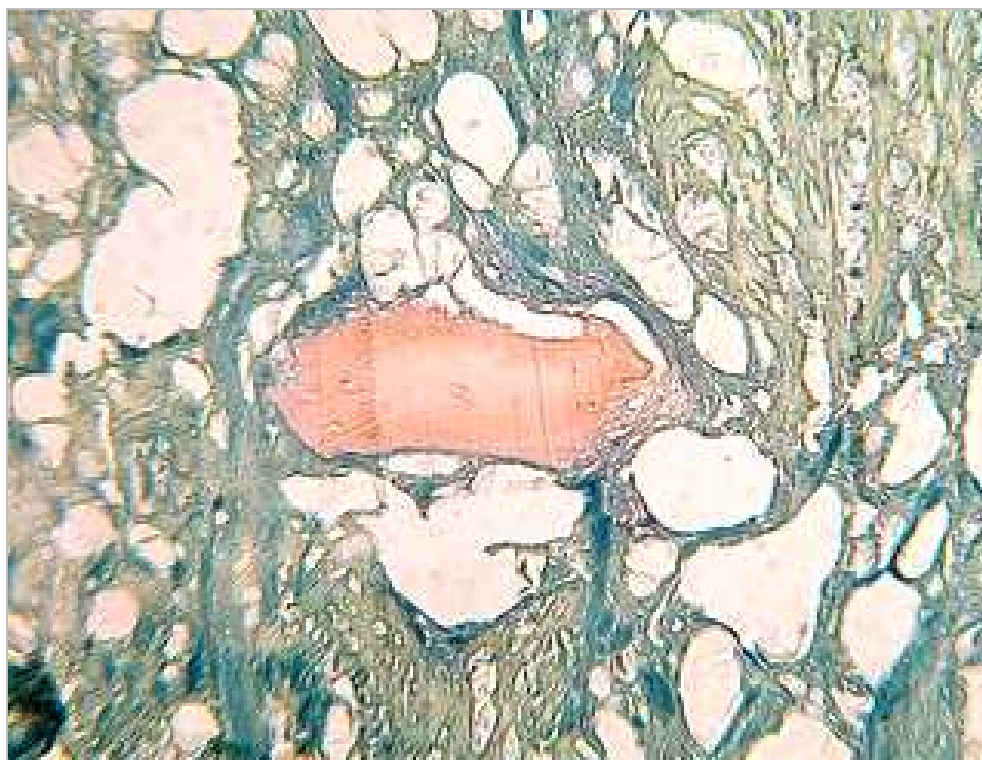
Protokol 01	
Sledovaná složka potraviny	Kostní úlomky
Druh potraviny	Masné výrobky
Způsob vyšetření vzorku	Histochemicky, stanovení alizarinovou červení
Zkrácený protokol/plná verze	Zkrácená verze

Jemožné se zaměřit jen na průkaz vybraných druhů tkání zvýrazněných speciálním barvicím postupem. Při identifikaci tkání živočišného i rostlinného původu je nutné vycházet z údajů v literatuře, pro srovnávání používat vzorky, připravené v laboratoři a dále také schématické obrázky a fotodokumentaci z literatury.

3.3 Výsledky

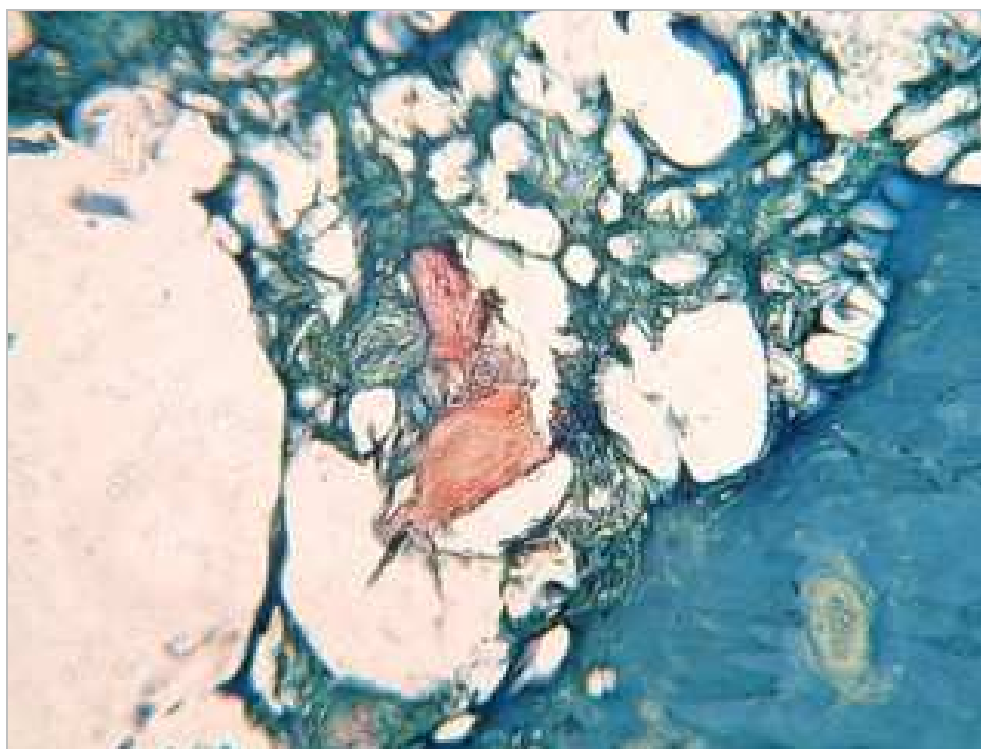
Kostní úlomky jsou barveny červeně.

4 Fotodokumentace



Vídenský párek, AČ, kostní úlomek, zvětšení 250x

Protokol 01	
Sledovaná složka potravin	Kostní úlomky
Druh potravin	Masné výrobky
Způsob vyšetření vzorku	Histochemicky, stanovení alizarinovou červení
Zkrácený protokol/plná verze	Zkrácená verze



Kabanos, AČ, kostní úlomek, zvětšení 250x

5 Seznam použitých zkratk

AČ - alizarinová červen