

Protokol 04	
Sledovaná složka potravin	Škrobová zrna
Druh potravin	Škrob, pudink
Způsob vyšetření vzorku	Histochemicky, Nebarvené preparáty
Zkrácený protokol/plná verze	Plná verze

1 Popis vzorku

Dle tohoto postupu se vyšetřují různé vzorky škrobů nebo sypkých výrobků obsahujících škrob (pudinky apod.). Pomocí mikroskopického vyšetření lze nejen prokázat přítomnost škrobu, ale také na základě charakteristických morfologických znaků lze určit původ škrobu ve vzorku.

Tento postup je vhodný pro suché, sypké materiály – škroby, pudinky apod.

2 Detekční limit vyšetření

Nestanoven.

3 Časová náročnost

příprava vzorků
0,5 hod.

vlastní pracovní postup
20 min.

4 Zpracování vzorku

4.1 Množství vzorku

Vzorky se odebírají v dostatečném množství, tak aby bylo možno provést požadovaná vyšetření.

Odebírá se:

sypký vzorek

nejméně 1 balení

4.2 Odběr vzorků

Odběr vzorků vyšetřovaného materiálu lze provádět přímo ve výrobě (z linky) nebo lze odebrat spotřební balení v tržní síti.

4.3 Vlastní zpracování vzorků

Vzhledem k tomu, že se jedná o sypké, suché materiály není nutné provádět fixaci vzorků. Vzorek uchováme v originálním spotřebním balení nebo jej nasypeme do uzavíratelné vzorkovnice, která brání vzorek proti napadení škůdci.

Protokol 04	
Sledovaná složka potravin	Škrobová zrna
Druh potravin	Škrob, pudink
Způsob vyšetření vzorku	Histochemicky, Nebarvené preparáty
Zkrácený protokol/plná verze	Plná verze

5 Metoda

5.1 Chemikálie a roztoky

- xylen čistý
- xylen p. a.
- Paraplast – parafín s včelím voskem

5.2 Přístroje a zařízení

(používané přesně dle pracovního návodu dodaného s přístrojem)

- mikrotom sáňkový/rotační
- digestoř
- speciální barvicí kyvety nebo barvicí automat
- destilační přístroj
- váhy
- topné hnízdo
- termostat

5.3 Laboratorní pomůcky

- pinzety
- skalpel
- nůž
- podložka na krájení
- zalévací komůrky
- popisovací tužky
- filtrační papír

5.4 Laboratorní sklo (kalibrované)

- pipety
- kádinky 200 ml
- podložní a krycí skla
- nálevky

Protokol 04	
Sledovaná složka potravin	Škrobová zrna
Druh potravin	Škrob, pudink
Způsob vyšetření vzorku	Histochemicky, Nebarvené preparáty
Zkrácený protokol/plná verze	Plná verze

6 Vlastní pracovní postup

6.1 Příprava parafínových řezů – zalévání

K přípravě parafínových bločků použijeme komerčně připravené zalévací medium Paraplast, jehož základem je parafín upravený včelím voskem. Jedná se o medium nerozpustné ve vodě. Vzorek smíchaný s parafinem se zalévá v zalévacích komůrkách na zalévací lince a po zchlazení získáme bloček připravený ke krájení.

Pro každý vzorek připravíme 4 bločky.

6.2 Krájení bločků

Krájení vzorků pro cílená barvení se provádí podle uvedeného schématu.

Schéma krájení řezů (4 bloky - A, B, C, D)

blok A

1. řez – asi 50 μm odkrojit – **2. řez** – asi 50 μm odkrojit – **3. řez** - asi 50 μm odkrojit – **4. řez** – asi 50 μm odkrojit – **5. řez** - asi 50 μm odkrojit – **6. řez**

blok B

7. řez – asi 50 μm odkrojit – **8. řez** – asi 50 μm odkrojit – **9. řez** - asi 50 μm odkrojit – **10. řez** – asi 50 μm odkrojit – **11. řez** - asi 50 μm odkrojit – **12. řez**

blok C

13. řez – asi 50 μm odkrojit – **14. řez** – asi 50 μm odkrojit – **15. řez** - asi 50 μm odkrojit – **16. řez** – asi 50 μm odkrojit – **17. řez** - asi 50 μm odkrojit – **18. řez**

blok D

19. řez – asi 50 μm odkrojit – **20. řez** – asi 50 μm odkrojit – **21. řez** - asi 50 μm odkrojit – **22. řez** – asi 50 μm odkrojit – **23. řez** - asi 50 μm odkrojit – **24. řez**

Tkáně zalité v paraplastu se krájí na sáňkovém nebo rotačním mikrotomu. Základní součásti mikrotomu jsou: podstavec, nůž, zařízení na upevnění bloku a zařízení na posun bloku proti noži. Tloušťka řezů se nastaví 4 μm .

Protokol 04	
Sledovaná složka potravin	Škrobová zrna
Druh potravin	Škrob, pudink
Způsob vyšetření vzorku	Histochemicky, Nebarvené preparáty
Zkrácený protokol/plná verze	Plná verze

6.3 Barvení preparátů

Pro určení druhu škrobu není nutné řezy nikterak upravovat pomocí histochemických barvení. Pro určení druhu je nejvhodnější nebarvený histologický preparát. Pouze je nutné řezy odparafinovat.

6.4 Uzavírání řezů

Správně odparafinovaný preparát se uzavírá mezi podložní a krycí sklo do vhodného montovacího média. Obvykle jsou to látky nerozpustné ve vodě, a proto je nutno řezy provést alkoholovou řadou (odvodnit) a převést do rozpouštědla (xylenu). K montování řezů použijeme montovací medium - syntetickou pryskyřici (solakryl).

Postup při montování:

Kapka média se umístí na okraji řezu, krycí sklíčko se přiloží v úhlu 45° a opatrně se spouští, důležité je, aby nevznikly bubliny. Preparát se nechá zaschnout a potom se opatrně očistí okraje.

7 Vyšetření preparátů a hodnocení výsledků

Jednotlivé řezy jsou vyšetřovány ve světelném mikroskopu při menším zvětšení (např. 32 x nebo 40 x), pro studium detailů je používáno většího zvětšení. Při identifikaci škrobových zrn je nutné vycházet z údajů v literatuře, pro srovnávání používat modelové vzorky, připravené v laboratoři a dále také schématické obrázky a fotodokumentace z literatury.

8 Dokumentace

O každém vyšetřovaném vzorku je veden laboratorní protokol s těmito údaji - datum odběru, druh výrobku, výrobce, složení (pokud bylo známé), postup zpracování, výsledek vyšetření. Aby nedošlo k záměně vzorků, je třeba označit nádobku názvem vzorku a číslem, pod kterým je vzorek veden v laboratorním protokolu, příp. i datem odběru, a dále i druh použité fixační tekutiny. Stejným způsobem označíme bločky a mikroskopická skla. Na skla s preparátem se označí také zkratka použitého barvení (nebarvené – NEB.).

Všechny zhotovené preparáty jsou uchovány, podle potřeby je zhotovena fotodokumentace.

Protokol 04	
Sledovaná složka potravin	Škrobová zrna
Druh potravin	Škrob, pudink
Způsob vyšetření vzorku	Histochemicky, Nebarvené preparáty
Zkrácený protokol/plná verze	Plná verze

9 Výsledek

Na základě morfologických znaků můžete určit o jaký druh škrobu se jedná.

Bramborový škrob

Má největší zrna ze všech domácích škrobů (70 - 100 μm). Jsou buď vejčitá, nebo eliptická s jádrem excentricky uloženým v užším konci a se zřejmým mimostředním vrstvením. Někdy se vyskytují zrna podvojná a potrojná.

Pšeničný škrob

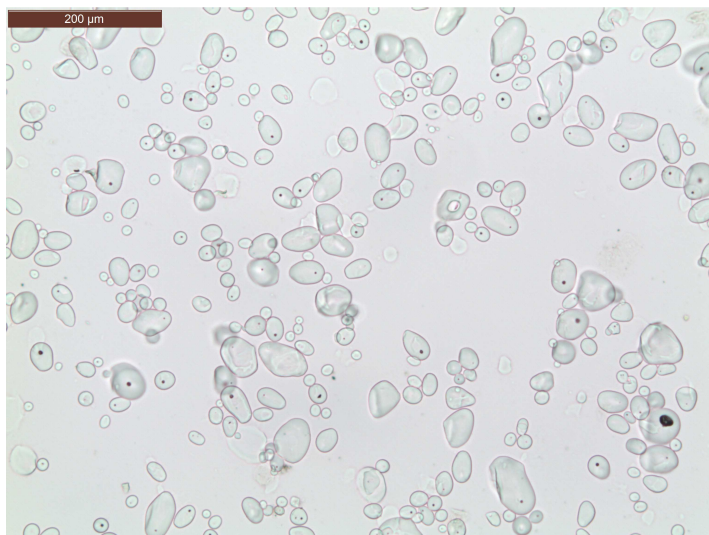
Zrna jsou dvojí - velká a malá, obojí čočkovitého tvaru. Velká zrna mají velikost 12 – 41 μm . Uprostřed je slabě zřetelné jádro a téměř nepatrné centrické vrstvení. Malá zrna jsou velká 2 - 8 μm .

Kukuřičný škrob

Má mnohostranná, tabulkovitá zrna s hvězdičkovitě rozeklanou dutinkou. Vrstvení nebývá patrné, velikost zrn je 8 - 20 μm .

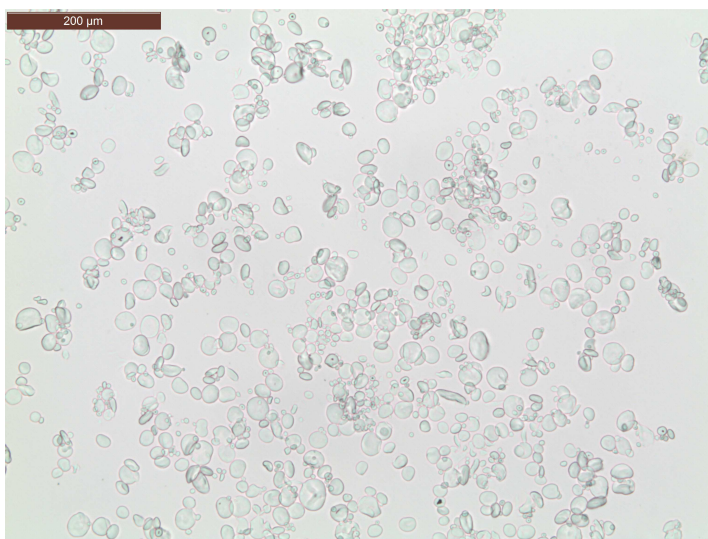
10 Fotodokumentace

Bramborový škrob nebarvený
(objektiv 10, 100 x zvětšeno)



Protokol 04	
Sledovaná složka potravin	Škrobová zrna
Druh potravin	Škrob, pudink
Způsob vyšetření vzorku	Histochemicky, Nebarvené preparáty
Zkrácený protokol/plná verze	Plná verze

Pšeničný škrob nebarvený
(objektiv 10, 100 x zvětšeno)



Kukuřičný škrob nebarvený
(objektiv 10, 100 x zvětšeno)

