



evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

STANDARDNÍ OPERAČNÍ POSTUP 2.2

Aktivita 2350/KA1-2	Stanovení čisté hmotnosti a původního podílu produktu: zmrazené rybí filety
Dílčí SOP 2.2	STANOVENÍ OBSAHU CELKOVÉHO TUKU
Registrační číslo projektu	CZ.1.07/2.2.00/15.0063
Název projektu	Inovace výuky veterinárních studijních programů v oblasti bezpečnosti potravin
Název příjemce podpory	Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

1 Předmět a vymezení

SOP 2.2 je určen pro stanovení obsahu celkového tuku ve vzorcích pomocí metody s hydrolyzou a následnou extrakcí hydrolyzovaných vzorků organickým rozpouštědlem pomocí systému SoxCap 2047 v kombinaci se Soxtec 2055 Avanti Manual System extrakčním systémem.

2 Princip metody

Tuk je definován jako extrahovatelný materiál při extrakci vzorku pomocí specifického rozpouštědla. Hrubý tuk je stanoven extrakcí. Stanovení celkového tuku zahrnuje ještě přípravný hydrolyzační krok. V tomto kroku je tuk vázaný na rozpouštědlem neextrahovatelný materiál separován a extrahován rozpouštědlem.

3 Bezpečnost práce

Metoda vyžaduje manipulaci s chemikáliemi jako jsou kyseliny a organická rozpouštědla. Opatrné zacházení s roztoky je nutnou podmínkou pro bezpečnost v laboratoři.

4 Přístroje, chemikálie a další laboratorní pomůcky

pracovní desky, nůž
homogenizátor (např. vysokootáčkový rotační kutr)
váha s přesností na 0,0001 g
mikrovládná trouba
hydrolyzační systém SoxCap 2047 s příslušenstvím (skleněné hydrolyzační kapsle, držák kapslí, hydrolyzační nádoba)
molitanové filtry, extrakční celulózové čepičky, beztuková vata
extrakční systém Soxtec 2055 s příslušenstvím (Al kelímky)
exsikátor
zásobní lahev na petroléter s dávkovačem o objemu 90 ml
odměrný válec 600 ml
odměrná baňka 1 000 ml



evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

STANDARDNÍ OPERAČNÍ POSTUP 2.2	
Aktivita 2350/KA1-2	Stanovení čisté hmotnosti a původního podílu produktu: zmrazené rybí filety
Dílčí SOP 2.2	STANOVENÍ OBSAHU CELKOVÉHO TUKU
Registrační číslo projektu	CZ.1.07/2.2.00/15.0063
Název projektu	Inovace výuky veterinárních studijních programů v oblasti bezpečnosti potravin
Název příjemce podpory	Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

chemikálie musí být čistoty p.a.
kyselina chlorovodíková, HCl
petroléter 40-60 °C
dest. voda
skleněná tyčinka

Příprava 4N roztoku HCl je následující. Odměřené množství HCl (340 ml) se opatrně nalije do odměrné baňky 1 000 ml, ve které je 500 ml dest. vody. Roztok se ochladí na 20 °C a doplní po rysku dest. vodou. Poté se obsah baňky promíchá jejím obrácením. Provede se kontrola naplnění po rysku, případně se ještě jednou obsah baňky doplní a promíchá.

5 Pracovní postup

Originální balení hluboce zmrazených filetů vyjmeme z mrazničky. Bezprostředně nato otevřeme obal, pokud jsou hluboce zmrazené filety glazurovány, odstraníme glazuru podle SOP 1.

5.1 Příprava analytického vzorku – rozmrazování

Reprezentativní vzorek filetů (min. 200 g), ze kterých byla odstraněna glazura, vložíme do dostatečně velké skleněné nádoby a necháme rozmrazit při teplotě max. +21 °C. Pomocí vpichového teploměru monitorujeme vnitřní teplotu produktu. Rozmrazování ukončíme, když se teplota produktu pohybuje mezi -1 až +2 °C.

Rozmrazování musí být prováděno ve shodě s nařízením (ES) č. 852/2004, Kapitola IX, tak, aby se minimalizovalo riziko růstu patogenních mikroorganismů nebo tvorba toxinů. Při rozmrazování musí být filety vystaveny takovým teplotám, které nevedou k ohrožení zdraví.



evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

STANDARDNÍ OPERAČNÍ POSTUP 2.2

Aktivita 2350/KA1-2	Stanovení čisté hmotnosti a původního podílu produktu: zmrazené rybí filety
Dílčí SOP 2.2	STANOVENÍ OBSAHU CELKOVÉHO TUKU
Registrační číslo projektu	CZ.1.07/2.2.00/15.0063
Název projektu	Inovace výuky veterinárních studijních programů v oblasti bezpečnosti potravin
Název příjemce podpory	Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

5.2 Homogenizace

Rozmrazený reprezentativní vzorek filetů včetně tekutiny uvolněné v důsledku rozmrazení vložíme do vhodného homogenizátoru a zhomogenizujeme. Důležité je, aby nedošlo ke ztrátám uvolněného tekutého podílu filetu. Zhomogenizovaný vzorek se analyzuje bezprostředně nebo se do analýzy přechovává ve vzduchotěsném obalu chránícím před změnami jeho vlhkosti při teplotě chladničky. Z každého vzorku se provedou dvě stanovení.

6 Metoda stanovení celkového tuku

A: Pracovní postup doporučený ke stanovení obsahu celkového tuku ve filetech, na jejichž přípravu NEBYLA POUŽITA jako složka voda a zvlhčující přídatné látky.

6.1 Hydrolýza vzorků

Do každé skleněné kapsle se vloží molitanový filtr tak, aby byl vložen paralelně se spodním okrajem kapsle (manipulační kryt z filtru se odstraní). Kapsle se vloží na váhu a pomocí tlačítka se její hmotnost nastaví na 0,0000 g.

Do kapsle se naváží zhomogenizovaný vzorek o hmotnosti cca 10,0 – 15,0 g s přesností na 0,0001 g. Kapsle se vzorky se vloží do držáku a ten se umístí do hydrolyzační nádoby. Poté se do nádoby naleje 800 ml 4N HCl.

Hydrolyzační nádoba se umístí na topnou plotýnku hydrolyzačního systému SoxCap 2047 a zakryje se kondenzačním víkem.

Příprava hydrolyzačního systému SoxCap 2047 je následující. Musí být otevřeny kohouty pro studenou vodu pro funkci vodní vývěvy a kondenzační systém. Soxcap se zapne hlavním vypínačem, tlačítko ohřívání je nastaveno na maximum.

Jakmile začne kyselina vařit, musí být ohřev topné plotýnky zmírněn nastavením ohřívání na intenzitu 8 až 9. Vzorky se nechají hydrolyzovat při mírném varu kyseliny 60 minut.

Po 60-ti minutách varu se systém SoxCap 2047 vypne. Vrchním výpustní ventilem se otočí do polohy, při které dojde k automatickému odsátí obsahu hydrolyzační nádoby. Poté se ventil vrátí do původní polohy.



evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

STANDARDNÍ OPERAČNÍ POSTUP 2.2

Aktivita 2350/KA1-2	Stanovení čisté hmotnosti a původního podílu produktu: zmrazené rybí filety
Dílčí SOP 2.2	STANOVENÍ OBSAHU CELKOVÉHO TUKU
Registrační číslo projektu	CZ.1.07/2.2.00/15.0063
Název projektu	Inovace výuky veterinárních studijních programů v oblasti bezpečnosti potravin
Název příjemce podpory	Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

Poté se otočí ventilem pro vodu do polohy, při které dojde k naplnění hydrolyzační nádoby vodou (cca 900 až 1000 ml). Po naplnění nádoby vodou se ventil uzavře. Otevře se vrchní výpustní ventil do polohy, při které dojde k automatickému odsátí obsahu hydrolyzační nádoby. Poté se ventil opět zavře. Toto promývání vzorků vodou se opakuje 6 až 7 krát.

Po posledním odsátí promývací vody z hydrolyzační nádoby se z ní držák se skleněnými kapslemi vyndá a odloží se na buničitou vatu položenou na stole. Jakmile je vata mokrá. Držák se přemístí na suché místo na vatě. Přemístění držáku se provádí 2 až 3 krát.

Poté se do skleněné kapsle jemně vloží z obou stran vatový polštářek. Na straně kapsle, kde je umístěn molitanový filtr se tento pomocí vaty jemně vtlačí do střední části kapsle.

Držák s kapslemi se poté umístí do mikrovlnné trouby s otočným talířem a suší se 60 min.

Poznámka: Nastavení mikrovlnné trouby je následující. Voda ve 100 ml kádince o dané teplotě (změřit s přesností na 0,1 °C) by se měla po 60 s zapnutí mikrovlnné trouby ohřát max. o 2 až 2,5 °C.

Po usušení vzorků se držák s kapslemi vyjme z mikrovlnné trouby a na vrchní stranu kapsle se umístí jednorázová extrakční celulósová čepička. Pomocí skleněné tyčinky se z druhé strany opatrně zatlačí molitanový filtr obklopený vatou až k celulósově čepičce. Na kapsle se umístí kovové adaptéry a vloží se do extrakční jednotky Soxtec 2055.

6.2 Extrakce vzorků

Al kelímky se vloží do sušárny a suší se 1 hodinu při teplotě +103 °C. Poté se přemístí do exsikátoru a nechají se vychladnout na teplotu místnosti.

Po vychladnutí se zváží s přesností na 0,0001 g, jejich hmotnost se zapíše do laboratorního protokolu.

Zvážené Al kelímky se vloží do systému Soxtec 2055, ve kterém jsou již umístěny skleněné kapsle s hydrolyzovanými vzorky.

Systém se pomocí ovládacích pák uzavře.

Do jednotlivých extrakčních kolon se ke každému vzorku nadávkuje přes vrchní systém plnění 90 ml petrolétheru.



evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

STANDARDNÍ OPERAČNÍ POSTUP 2.2

Aktivita 2350/KA1-2	Stanovení čisté hmotnosti a původního podílu produktu: zmrazené rybí filety
Dílčí SOP 2.2	STANOVENÍ OBSAHU CELKOVÉHO TUKU
Registrační číslo projektu	CZ.1.07/2.2.00/15.0063
Název projektu	Inovace výuky veterinárních studijních programů v oblasti bezpečnosti potravin
Název příjemce podpory	Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

Kohoutek studené vody (cca 15 °C) pro zpětné chladiče musí být otevřen (průtok 2l/minutu).

Extrakční systém Soxtec 2055 musí mít nastaveny následující parametry:

Teplota vyhřívací plotýnky musí být nastavena tak (max. 135 °C), aby rozpouštědlo prokapávalo rychlostí 3 až 5 kapek za sekundu.

Nastavena a zamknuta musí být tepelná ochrana přístroje max. 210 °C.

Na řídicí jednotce musí být nastaven následující režim extrakce: var 30 minut, promývání 45 minut, odpařování 10 minut, předsušení 1 minuta.

Po spuštění přístroje hlavním vypínačem je extrakce vzorků provedena automaticky. Při zaznění zvukového signálu musí být provedena změna polohy ručních pák podle nákresu na přístroji.

Po skončení extrakce se vyjmou Al kelímky s vyextrahovaným tukem a vloží se do sušárny, kde se suší při teplotě 103 °C po dobu 60 minut. Poté se kelímky přenesou do exsikátoru a nechají se 1 hodinu vychladit na teplotu místnosti.

Poté se kelímky zváží s přesností na 0,0001 g a jejich hmotnost se zapíše do laboratorního protokolu.

Zbytkové množství rozpouštědla musí být vypuštěno ze zařízení výpustním ventilem do zásobní lahve. Recyklované rozpouštědlo je možné opětovně použít k následující extrakci vzorků.

B: Pracovní postup doporučený ke stanovení obsahu celkového tuku ve filetech, na jejichž přípravu BYLA POUŽITA jako složka voda a zvlhčující přídatné látky.

Na celulózové patrony se umístí kovové adaptéry a naváží se do nich zhomogenizovaný vzorek o hmotnosti cca 15,0 – 20,0 g s přesností na 0,0001 g.

Patrony s naváženými vzorky se vloží do sušárny vyhřáté na 135 °C a nechají se v ní předsušovat po dobu 3 hodin. Po jejich částečném vychlazení se patrony s předsušenými vzorky nasadí do extrakční jednotky Soxtec 2055.

Další pracovní postup se provádí podle bodu **6.2 Extrakce vzorků**.



evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

STANDARDNÍ OPERAČNÍ POSTUP 2.2

Aktivita 2350/KA1-2	Stanovení čisté hmotnosti a původního podílu produktu: zmrazené rybí filety
Dílčí SOP 2.2	STANOVENÍ OBSAHU CELKOVÉHO TUKU
Registrační číslo projektu	CZ.1.07/2.2.00/15.0063
Název projektu	Inovace výuky veterinárních studijních programů v oblasti bezpečnosti potravin
Název příjemce podpory	Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

7 Vyjádření výsledků

Obsah celkového tuku ve vzorku se vyjadřuje v hmotnostních procentech. Výsledek se uvádí na dvě desetinná místa.

$$x = \frac{A - B}{C} \times 100$$

x.....obsah tuku v %

A.....hmotnost Al kelímku s vyextrahovaným tukem

B.....hmotnost prázdného Al kelímku

C.....navážka vzorku

8 Opakovatelnost

Rozdíl mezi dvěma nezávislými jednotlivými výsledky rozboru při použití téže metody, na stejném zkušebním materiálu, v téže laboratoři, při použití téhož vybavení nesmí být větší než 0,5 %.

9 Literatura

ČSN ISO 1443:1973 Meat and meat products – Determination of total fat (Reference method)

ČSN 57 0147/1994 Maso a masné výrobky – Stanovení celkového obsahu tuku

Application Note AN 3904 Total fat determination using the SoxCap 2047 in combination with Soxtec extraction system in meat and meat products

2047 Sox Cup User Manual, FOSS Analytical AB, Höganäs, Švédsko

2055 Soxtec Avanti Manual System User Manual, FOSS Analytical AB, Höganäs, Švédsko