

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky



Výskyt sporulujících bakterií v jedlém hmyzu

Bakalářská práce

Kateřina Cinková

Obor studia: Výživa a potraviny

Vedoucí práce: Ing. Roman Švejtil

© 2020 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Výskyt sporulujících bakterií v jedlém hmyzu" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 17. 7. 2020

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala vedoucímu práce Ing. Romanu Švejstilovi za cenné rady a připomínky, pomoc při práci v laboratoři a ochotu při psaní této bakalářské práce. Také bych chtěla poděkovat Národní referenční laboratoři pro dezinfekci a deratizaci Státního zdravotního ústavu v Praze za poskytnutí vzorků hmyzu pro praktickou část práce. Díky patří také mé rodině a přátelům, kteří mě po celou dobu podporovali.

Výskyt sporulujících bakterií v jedlém hmyzu

Souhrn

Se současným zvyšováním lidské populace roste i poptávka po množství kvalitních a nutričně hodnotných potravin. Proto možná za několik let nebudou pro lidskou populaci tradiční zdroje potravin dostačovat. Konvenční druhy živočišných bílkovin, včetně všech druhů masa už nebudou muset stačit. Lze předpokládat, že se budou hledat kvalitní alternativní zdroje potravin. Jedním z takových by mohl být právě jedlý hmyz, který obsahuje kvalitní podíl všech makroživin. Ten je zajímavý i z hlediska nízkého využití půdy nebo vysoké konverze krmiva. V porovnání s konvenčními druhy může hmyz obsahovat i větší podíl bílkovin, minerálních látek nebo vitamínů. Pro konzumenta ale může požívání jedlého hmyzu představovat i různá rizika. Jedná se hlavně o mikrobiologická rizika nebo alergie.

Cílem této práce bylo zjistit mikrobiologickou kvalitu Cvrčka domácího (*Acheta domestica*) z kvantitativního i kvalitativního hlediska se zvláštním zřetelem na sporulující bakterie. Byly testovány čerstvé vzorky ošetřené dvěma tepelnými úpravami, a to spařením vroucí vodou, smažením. Po vyhodnocení výsledků bylo zjištěno, že množství přítomných mikroorganismů v jedlém hmyzu se s tepelnou úpravou statisticky významně ($P < 0,01$) snižuje s rostoucím stupněm tepelného opracování. Celkové počty aerobních mikroorganismů se spařením snížily z $7,25 \pm 0,35 \log \text{KTJ/g}$ na $1,97 \pm 0,39 \log \text{KTJ/g}$ a smažením pod mez detekce $1,0 \log \text{KTJ/g}$. Sporulující bakterie byly zjištěny jak ve vzorcích čerstvých, tak tepelně opracovaných. U bakterií rodu *Bacillus* mělo tepelné ošetření podobný vliv, z $1,81 \pm 0,84 \log \text{KTJ/g}$ se spařením snížil počet na $1,64 \pm 0,94 \log \text{KTJ/g}$ a smažením pod mez detekce $1,0 \log \text{KTJ/g}$. Snížení počtu bacilů ale bylo statisticky nevýznamné. Spaření a smažení můžeme tedy považovat za optimální tepelné ošetření jedlého hmyzu. Avšak i na takto ošetřených vzorcích byly pomocí MALDI-TOF hmotnostní spektrometrie nalezeny a identifikovány některé druhy rodů *Clostridium*, *Bacillus* a *Klebsiella*, které mohou být patogenní pro člověka. Pokud by se i v dalším zkoumání potvrdil jejich výskyt, mohly by tyto bakterie představovat nebezpečí při konzumaci jedlého hmyzu.

Klíčová slova: jedlý hmyz; bacillus; clostridium; mikrobiota; bezpečnost potravin

Occurrence of spore-forming bacteria in edible insect

Summary

As the human population increases, so does the demand for high-quality, nutritionally valuable foods. Therefore, in a few years, traditional food sources may not be sufficient for the human population. Conventional types of animal protein, including all types of meat, will no longer be enough to feed the world's population. It can be assumed that quality alternative food sources will be sought. One of these could be edible insects, which contain a quality share of all macronutrients. It is also interesting in terms of low land use or high feed conversion. Compared to conventional species, insects may also contain a higher share of proteins, minerals or vitamins. However, eating edible insects can also pose various risks for the consumer. These are mainly microbiological risks or allergies.

The aim of this work was to determine the microbiological quality of the domestic cricket (*Acheta domesticus*) from a quantitative and qualitative point of view with special regard to spore-forming bacteria. Fresh samples treated with two types of heat treatment, steamed with boiling water and frying, were tested. After evaluation of the results, it was found that the amount of microorganisms present in edible insects decreases significantly ($P < 0,01$) with increasing degree of heat treatment. Total counts of aerobic microorganisms were reduced from $7,25 \pm 0,35$ log CFU/g to $1,97 \pm 0,39$ log CFU/g by steaming and below the detection limit of 1,0 log CFU/g by frying. Spore-forming bacteria were detected in both fresh and heat-treated samples. For bacillus bacteria, heat treatment had a similar effect, from $1,81 \pm 0,84$ log CFU/g, the number of steamed decreased to $1,64 \pm 0,94$ log CFU/g and frying below the detection limit of 1,0 log CFU/g. Although the decrease in counts of bacilli was non-significant. Steaming and frying can therefore be considered the optimal heat treatments of edible insects. However, even on such treated samples, some species of the genera *Clostridium*, *Bacillus* and *Klebsiella*, which may be pathogenic to humans, were found and identified by MALDI-TOF mass spectrometry. If their occurrence is confirmed in further research, these bacteria could pose a hazard in the consumption of edible insects.

Keywords: edible insect, bacillus, clostridium, microbiota, food safety

Obsah

1	Úvod	8
2	Cíl práce	9
2.1	Hypotéza	9
3	Literární rešerše	10
3.1	Využití hmyzu ve výživě	10
3.1.1	Historie	10
3.2	Cvrček domácí (<i>Acheta domestica</i>)	11
3.3	Potemník moučný (<i>Tenebrio molitor</i>)	12
3.4	Legislativní opatření	12
3.5	Rizika entomofágie	13
3.5.1	Toxicita	13
3.5.2	Alergie	14
3.5.3	Parazitologická rizika	14
3.6	Výživové vlastnosti	15
3.6.1	Obsah bílkovin	17
3.6.2	Obsah tuků	17
3.6.3	Mikronutrienety	18
3.6.4	Obsah vlákniny	19
3.7	Mikrobiologie jedlého hmyzu	20
3.8	Možnosti kulinární úpravy hmyzu	21
3.8.1	Vaření	22
3.8.2	Smažení	22
3.8.3	Mražení	22
3.8.4	Sušení	23
3.8.5	Lyofilizace	23
4	Metodika	24
4.1	Příprava vzorků	24
4.2	Kultivace	25
4.3	Stanovení <i>Clostridium</i> spp.	25
4.4	Stanovení <i>Salmonella</i> spp.	25
4.5	Identifikace pomocí MALDI-TOF hmotnostní spektrometrie	26
4.5.1	Příprava vzorku	26
4.6	Statistické vyhodnocení	27

5	Výsledky.....	28
5.1	Kultivace vzorků	28
5.1.1	Celkový počet aerobních mikroorganismů	28
5.1.2	Celkový počet anaerobních mikroorganismů	28
5.1.3	<i>Bacillus</i> spp.....	29
5.1.4	<i>Salmonella</i> spp.....	29
5.2	Identifikace bakterií pomocí MALDI-TOF hmotnostní spektrometrie....	30
5.2.1	Čerstvý hmyz	30
5.2.2	Spařený hmyz	31
5.2.3	Smažený hmyz.....	31
6	Diskuse	32
6.1	Celkové počty aerobních mikroorganismů	32
6.2	Celkový počet anaerobních mikroorganismů.....	33
6.3	<i>Bacillus</i> spp. v jedlém hmyzu	33
6.4	<i>Salmonella</i> spp. v jedlém hmyzu	34
6.5	<i>Clostridium</i> spp. v jedlém hmyzu	34
7	Závěr	35
8	Literatura.....	36
9	Samostatné přílohy	I

1 Úvod

Entomofágie, tedy využívání hmyzu jako potravin, se používala už v prehistorických dobách napříč všemi kontinenty. Jsou konzumována všechna vývojová stádia (dospělci, larvy, vajíčka). V chudých oblastech je hmyz stále využíván jako vítaný zdroj bílkovin místo těžko dostupného masa. V Evropě mají lidé často k tomuto způsobu stravování výhrady. Hmyz je vnímán jako moderní nebo luxusní záležitost a často se také používá v zážitkové gastronomii. Pomalu ale také začíná být vyhledáván z důvodu nahrazení tradičních zdrojů potravy, které jsou těžko udržitelné. Proto by se mohl hmyz zapojit do běžného jídelníčku lidí už v blízké době. Hmyz totiž obsahuje nutričně významné látky, které jsou považovány za kvalitní zdroj makroživin a cenných minerálních látek. Spousta odborných studií dokazuje výskyt prospěšných látek pro výživu člověka. Neméně důležité je také zaměření na výskyt možných rizik pro konzumenty, které by mohly představovat nebezpečí.

Teoretická část práce se zabývá poznatky, které jsou spojené s konzumací hmyzu, jeho mikrobiologickými vlastnostmi, legislativním opatřením a možnými riziky, která by mohla s konzumací vzniknout.

Praktická část je zaměřená na výskyt mikroorganismů a sporulujících bakterií v dospělém stádiu cvrčka domácího v závislosti na různých stupních jeho tepelného opracování.

2 Cíl práce

Hmyz obsahuje nutričně cenné látky, které mohou být využity ve výživě člověka. Vzhledem k rapidně vzrůstající celosvětové populaci roste i poptávka po nových zdrojích potravy. Jedním z těchto zdrojů může být hmyz. Jedlý hmyz lze chovat v kontrolovaných podmínkách, je však nutné dodržet hygienu chovu a správný způsob zpracování, aby se dodržela mikrobiologická nezávadnost.

Cílem práce je ověřit výskyt sporulujících bakterií v různých druzích jedlého hmyzu a při různých metodách opracování.

2.1 Hypotéza

Hypotézou je, že opracování bude mít vliv na počet sporulujících bakterií obsažených ve vzorcích.

3 Literární rešerše

3.1 Využití hmyzu ve výživě

Nárůst poptávky po mase je v poslední době velký, proto se hledají alternativní zdroje bílkovin (Van Huis 2016). Celovětový nárůst populace bude mít za následek zvýšenou poptávku po potravinách. Konvenční zdroje živočišných bílkovin, včetně hovězího, vepřového a kuřecího masa nemusí pro splnění této potřeby stačit (Akhtar & Isman 2018). Jednou z možností může být jedlý hmyz jako zdroj bílkovin pro lidskou stravu i jako krmivo pro zvířata. Je zajímavý z hlediska, nízkého využití půdy, emisí skleníkových plynů, vysoké účinnosti přeměny krmiva a jejich schopnosti transformovat nízkohodnotné organické složky na vysoce hodnotné proteinové produkty (Van Huis 2016). Hmyz také spotřebuje méně vody a půdy ve srovnání s obratlovcí v tradičním chovu zvířat. Spotřeba hmyzu proto pozitivně přispívá k životnímu prostředí, potravinové a výživové bezpečnosti a zdravému životnímu stylu (Akhtar & Isman 2018).

Uspokojení poptávky po vysoce hodnotných živočišných bílkovinách vyvíjí tlak na odvětví živočišné výroby. Odvětví chovu hospodářských zvířat roste nebývalým tempem. Hnacím motorem tohoto nárůstu je kombinace růstu populace, rostoucí příjmy obyvatel a urbanizace. Předpokládá se, že do roku 2030 se roční produkce masa zvýší na 376 milionů tun. V letech 1997–1999 to bylo 218 milionů tun. Velmi silný a pozitivní vztah existuje mezi úrovní příjmů a spotřebou živočišných bílkovin, kdy spotřeba masa, mléka a vajec roste na úkor základních potravin. Globální poptávku po živočišných produktech výrazně ovlivňuje urbanizace, která stimuluje zlepšování infrastruktury chladících řetězců a umožňuje obchod s rychle se kazícím zbožím. Živočišné produkty poskytují vysoce hodnotné bílkoviny, ale jsou i významnými zdroji základních mikroživin (WHO 2020).

Rostoucí poptávka po živočišných produktech pravděpodobně bude mít vliv na životní prostředí. Průmyslová výroba, které se stále rozšiřuje, bude daleko blíže k městským centrům. To s sebou nese rizika pro životní prostředí a veřejné zdraví (Spedding 1990). Nízký poměr přeměny energie z krmiva na maso je dalším problémem, protože některé vyrobené rostlinné produkty se přesouvají na živočišnou výrobu. Pravděpodobně se také budou zvyšovat nároky na půdu a vodu pro výrobu masa, což může být s rostoucí poptávkou také problém (Pimental et al. 1997).

Yoon a kol. (2015) podávali rozemleté larvy japonského nosorožíka (*Allomyrina dichotoma*) obezním myším. Viscerální tuk byl snížen, což by mohlo naznačovat potenciál pro vývoj doplňků stravy nebo rozvoj farmaceutických přípravků proti obezitě. Jedná se však o málo probádanou oblast výzkumu.

3.1.1 Historie

První zmínky o entomofáгии jsou již z osmého století před naší letopočtem, kdy na východě nosili služebníci kobylky naservírované na tyčích ke královským banketům (Van Huis et al. 2013). Další důkazy konzumace v lidské historii můžeme získat z analýzy maleb např. z jeskyní v Mexiku, USA nebo Španělsku (9000-3000 př. n. l.). Člověk jako potomek původních primátů se v raném vývoji živil jako všežravec do značné míry

i hmyzem. Hmyz se stával vítaným zdrojem bílkovin, a protože člověk obýval převážně teplé oblasti, byl hmyz k nalezení celoročně i při nedostatku masa obratlovců (Škarabalová 2009). V Evropě jsou první zmínky z Řecka, kde se konzumovaly cikády a byly považované za pochoutku. Toto popsal ve svých knihách Aristoteles. Hmyz byl hodně vyhledávaný i ve starém Římě a uplatnění našel i v čínské medicíně (Van Huis et al. 2013).

Až do 19. století nebyl západní svět úplně seznámen s konzumací hmyzu, to přinesli až průzkumníci z tropických zemí, kteří popisovali chutě a různé úpravy hmyzu ve svých knihách jako například David Livingstone, Henry Morton Stanley nebo Barth Heinrich (Van Huis et al. 2013).

Konzumace hmyzu je rozšířená ve 113 zemích světa a dalších etnických skupinách, kterých může být až 3000. Např. jen v Mexiku se používá asi 200 druhů hmyzu (Škarabalová 2009).

3.2 Cvrček domácí (*Acheta domestica*)

Cvrčci patří mezi řád rovnokřídlých (*Orthoptera*), jedná se o velmi početný řád, do kterého se počítá 26 000 druhů, které byly dosud popsány. V současnosti řád dělíme na dva podřády: saranče (*Cealifera*) a kobyly (*Ensifera*). Většina druhů vyhledává teplejší pásmo, takže je můžeme najít v tropickém a subtropickém pásmu. Vyvíjí se proměnou nedokonalou a životní cyklus se skládá z vajíčka, která samička klade do spár a skulin, nymfy a dospělce. Do řádu kobylek jsou zařazeni právě cvrčci a v našich podmínkách je nejčastější zástupce právě cvrček domácí (Kočárek 2013).

Vyskytují se v teplém, vlhkém a tmavém prostředí, kde v dospělosti může dorůst 16-20 mm. Dospělci mají slámově žlutou až šedavě hnědou barvu, skákavý třetí pár končetin a dlouhá, tenká tykadla. Dospělcům jsou nymfy hodně podobné, nemají však vyvinutá křídla. Dospělci se mohou dožít 1-2 let (Sedláčková & Hrudová 2011).

Cvrčci se volně vyskytují až v jižní Evropě, severní Africe a Asii. Mezi místa, kde se obvykle vyskytuje můžeme zařadit pivovary, mlýny, pekárny, sklady a byty, kde najde dostatek tepla i potravin. Ukrývá se ve štěrbinách, škvírách nebo pod podlahou a aktivní je hlavně v noci, protože se jedná o noční hmyz. Může škodit hlavně pozerem a následnou kontaminací (Hanzák a kol. 1973).

Konzumace hmyzu je v mnoha zemích tradicí a způsob stravování lehce přijatelný. Západní země mají na hmyzí stravu poněkud kritičtější pohled a chybí zde tradice používat hmyz jako potravinu. Často je totiž vnímán jako nebezpečný, špinavý a nechutný. Možností by mohlo být atraktivnější balení hmyzu pro konečné zákazníky nebo přidávat hmyz v podobě mouky do pekárenských výrobků. Známějšími výrobky mohou být proteinové tyčinky nebo sušenky, kam se hmyz může přidávat v práškové formě (Van Broekhoven a kol. 2016).



Obrázek č.1 – Cvrček domácí použitý pro rozbor (Foto: Autor, 2019)

3.3 Potemník moučný (*Tenebrio molitor*)

Potemník moučný patří mezi řád brouci (*Coleoptera*) a čeleď potemníkovití. Přední křídla brouků se nazývají krovky, které mohou být kožovité nebo tvrdé. Chrání tak zadní pár blanitých křídel, který hmyz používá k letu. Většina druhů brouků umí létat, ale let je většinou využíván pouze na přenesení k nízké vegetaci nebo na krátké vzdálenosti, častější je pohyb po zemi (Imes 1997). Mohou mít různé velikosti, společným znakem je přítomnost tykadel a kousacího ústního ústrojí. Využívají se s proměnou dokonalou a jejich larvy často konzumují jinou stravu než dospělci daného druhu (Kovařík 2000).

Brouci z čeledi potemníkovití (*Tenebrionidae*) jsou velice tvarově rozmanití, jsou tmavěhnědí, černí a některé druhy mohou mít i barevnou kresbu na krovkách. Jako škůdci ničí zásoby moučných výrobků a sušených potravin. V současné době bylo popsáno a objeveno 20 000 druhů (Kovařík 2000). Samice kladou vajíčka velmi brzo po páření přímo do míst, kde se později vyvíjí, aby dobře splynula s okolím a pokrývají je lepivým sekretem (Hůrka 1980). Dospělci potemníka moučného mají 14-18 mm dlouhé tělo tmavohnědé až černé barvy. Velikost larev je 25 mm, její barva je zlatohnědá s tmavšími posledními články těla. Jsou známé jako mouční červy (Bruins 2005). V přírodě se vyvíjejí v drti vykotlaných stromů a tlejícím dřevě. Často se také vyskytují v pekárnách, skladech a mlýnech, kde se larvy vyvíjejí v mouce a dalších výrobcích (Reitschel 2004).

3.4 Legislativní opatření

Hmyz je v mnoha částech světa hodnocen jako jídlo nebo doplněk stravy (Klunder 2012). Na evropský trh postupně vstupují potravinové výrobky na bázi hmyzu i hmyz samotný. To přináší otázky o bezpečnosti této potraviny a potřebu zřízení nového právního rámce. Všechny potraviny na bázi hmyzu se považují za potraviny nového typu (novel foods). Spadají pod nařízení EU a před uvedením výrobku na trh je zapotřebí zažádat u Evropské komise o posouzení, které je provedeno na základě vědeckého hodnocení Evropským úřadem bezpečnosti potravin (EFSA). Nevhodně chovaný hmyz může pro konzumenty představovat

chemická, mikrobiologická rizika a hmyzí proteiny mohou představovat riziko i pro subpopulaci alergických jedinců. Nařízení EU z roku 2017 umožnilo zařazení užšího seznamu sedmi druhů hmyzu do skupiny krmiv pro akvakulturu. Dříve nebylo možné přidávat hmyz do jakéhokoli krmiva pro hospodářská zvířata, z důvodu rizika nemocí pocházejících z prionů. Zavedení nového nařízení ale vyvolává problém přechodu z klasických metod detekce nepřipustných látek založené na mikroskopii na nové druhově specifičtější metody (Garino 2019).

Rizika, která mohou vzniknout při konzumaci hmyzu a ovlivnit tak zdraví konzumenta:

- samotný hmyz by mohl být toxický (použití toxických látek na svou obranu)
- hmyz mohl získat během svého života toxické látky z prostředí, ve kterém žije
- nevhodné skladování „po sklizni“, (kontaminace plísněmi, bakteriemi, rychlý nástup kažení suroviny) a tím znehodnocení potravin k lidské konzumaci
- spotřebitel může být na některé látky alergický
- příměsi mechanických nečistot spojené s přemísťováním (zbytky písku, hlíny, krmiva záleží na použitém substrátu).
- fyzické látky – tvrdé části hmyzu, které mohou způsobit potíže při konzumaci

V tropických zemích se konzumuje spousta druhů hmyzu, který používá na svou obranu nejrůznější toxické látky. Místní lidé však používají při kulinární úpravě hmyzu metody, kterými se toxických látek zbavují. Proto by měly být chovány jen bezpečné druhy v hygienických podmínkách, pro možnou kontaminaci z prostředí.

Výrobci, kteří uvádějí na trh produkty na bázi jedlého hmyzu, by měli přijmout systém analýzy rizik a kritických kontrolních bodů, aby se předcházelo možné biologické, chemické a fyzikální kontaminaci produktů (Van Huis 2016).

3.5 Rizika entomofágie

V západním světě je postoj spotřebitelů hlavním tématem a navrhuje se řada strategií na podporu konzumace hmyzu. Bezpečnost potravin může být ovlivněna kontaminací patogeny, toxicitou hmyzu, kažením potravin během konzervace a alergiemi (Van Huis 2016).

3.5.1 Toxicita

Tato oblast stále vyžaduje rozsáhlý výzkum. Zejména se jedná o přeměnu organických látek, jako jsou dioxiny, polychlorované bifenyly, těžké kovy, pesticidy, fungicidy a antibiotika v těle hmyzu. Na tvorbu toxických látek může mít vliv i způsob tepelného opracování, při kterém mohou vznikat heterocyklické aromatické aminy, polyaromatické uhlovodíky, akrylamid, chlorpropanoly a furany (Van Huis 2016).

3.5.2 Alergie

U senzitivních jedinců může požití celého hmyzu nebo produktů z něj vyvolat klinické příznaky typické pro alergické reakce. Jako krmivo pro zvířata se často používají druhy jako *T. molitor*, *Alphitobius diaperinus* a *Zophobas morio*, protože se snado chovají, mají vysokou výživovou hodnotu a nízký obsah chitinu, protože se zpracovávají v larválním stádiu před vývojem exoskeletu. V Evropě se nachází i několik chovných zařízení, zejména v Nizozemsku (Garino 2019).

Zatím jako jediný hmyz, u kterého byla u klinicky alergických jedinců provedena dvojitě zaslepená, placebem kontrolovaná studie, byl potěmník moučný (Broekman et al. 2016). Tato data jsou jediná, která lze použít k definování prahových dávek pro potraviny vyvolávající alergické reakce u vnímavých pacientů. Prahová dávka (Eliciting dose - ED) je definována jako dávka vyvolávající alergické reakce u daného podílu vnímavých pacientů (Bindslev-Jensen et al., 2002). U studie provedené Puringtonem et al. (2018), která měla 428 dobrovolně testovaných jedinců na potravinový protein, který se vyskytuje v jedlém hmyzu, se u 410 (96 %) z nich prokázala alergie. Ti, kteří byli testováni na arašidy, měli nejvyšší ED₅₀ 29,9 mg a nejnižší měli ti, kteří byli testováni na vejce a pistácie 1,7 mg.

U dříve zdravých jedinců však také může dojít k alergii prostřednictvím „de novo“ senzibilizace, v tomto případě není možné předpovědět, u kolika jedinců se tak může stát, protože příčiny alergie jsou do značné míry neznámé. Předmětem dalšího zkoumání, by měla být analýza o množství alergenů v potravině a z toho vyplývající odhad expozice. Důležité je také stanovení mezních (bezpečných) hodnot pro alergeny v potravinách a přesná charakteristika rizik spojených s definovanou úrovní alergenu ve výrobku (Garino 2019).

Členovci mohou obsahovat specifické bílkoviny, které mohou po konzumaci u citlivých lidí vyvolávat alergické reakce. Tyto alergeny mohou způsobovat různé typy dermatitid, ekzémů, záněty spojivek, rýmu nebo bronchiální astma. Někteří lidé mají tuto formu alergické přecitlivělosti vrozenou a u jiných se může vyvinout například po dlouhodobém působení (Phillips & Burkholder 1995, Barletta & Pini 2003).

Dobře známé jsou alergické reakce na včelí nebo vosí bodnutí (jed). Největšímu riziku vzniku alergických reakcí jsou vystaveni například entomologové, kteří jsou s hmyzem v úzkém kontaktu nebo laboratorní pracovníci, kteří zpracovávají materiál v práškové formě, kde nastává možná inhalace prachu (Siracusa et al. 2003). Mezi dvěma druhy hmyzu může také nastat takzvaná křížová reaktivita. Jde o imunitní jev, kdy rozpoznávající látky vyvolají imunologickou odpověď na podobné alergenní molekuly. Křížová reaktivita je známá u rostlinných produktů nebo pylu specifických rostlin. Často se vyskytuje u velice příbuzných druhů nebo druhů, které patří do stejné čeledi, obsahující podobné proteiny (Popescu 2015). Také je velice těžké zjistit, zda je člověk alergický celkově na členovce nebo jen na určitý druh (Barletta & Pini 2003).

3.5.3 Parazitologická rizika

Se spotřebou hmyzu představují paraziti potenciální riziko nebezpečí. Přítomnost je dobře zdokumentovaná v přehledu o potravních střevních chřipkách v jihovýchodní Asii, kde proběhla izolace vzorků od šesti různých druhů hmyzu (Belloco et al. 2015). Důkazy z pitev lidí, kteří hmyz konzumovali a analýz hmyzu, naznačují možný přenos parazitů patřících

k čeledi *Plagiorchiidae* (třída motolic-*Trematoda*) do potravin. V zemích jihovýchodní Asie jsou běžně konzumovány, proto zde mají tuto problematiku dobře prozkoumanou (Chai et al. 2009). A je zde také dlouhá tradice spojená s konzumací hmyzu. Riziko se samozřejmě liší s podmínkami chovu hmyzu a použitím substrátu, na kterém se hmyz chová. Příklad, ve kterém hmyz vykazuje svůj potenciál jako biologický vektor, je trypanozomiáza. Odhad Světové zdravotnické organizace (2010) je, že v Americe je infikováno více než 10 000 lidí. Historicky dochází k přenosu hlavně ve venkovských oblastech Latinské Ameriky, kde špatné podmínky k bydlení podporují kontakt s infikovanými vektory. Literatura spojuje infekci s náhodným požitím hmyzu nebo konzumací kontaminovaných potravin (Pereira et al. 2000). Zdokumentovaný výskyt parazitů u hmyzu a obecná souvislost mezi sporadickými lidskými parazitickými chorobami a konzumací hmyzu ukazuje, že u řádně chovaného hmyzu neexistují žádné údaje o výskytu parazitů. Řádně řízené uzavřené zemědělské prostředí postrádá všechny hostitele, kteří jsou potřeba k dokončení životních cyklů parazitů. Potenciální rizika také můžeme eliminovat například zmrazením nebo vařením (EFSA 2015).

3.6 Výživové vlastnosti

Výživovou hodnotu hmyzu lze snadno ovlivnit krmivem. S dnes běžně konzumovanou stravou je srovnatelná. Do krmiva můžeme přidat práškové vitaminy nebo je dodávat přirozenou cestou v podobě ovoce nebo zeleniny, to je však ve velkochovech hůře realizovatelné (Škrabalová 2009).

Nutriční hodnoty se liší i podle druhu hmyzu, pohlaví, vývojového stádia, stravy a prostředí. Záleží i na použité analytické metodě, protože se jednotlivé metody mohou lehce lišit (Van Huis 2016).

Výživová hodnota je velmi variabilní hlavně kvůli široké rozmanitosti druhů. I ve stejné skupině se mohou hodnoty lišit v závislosti na metamorfním stádiu hmyzu a prostředí, ve kterém žijí i na stravě. Stejně jako většinu potravin ovlivňuje hodnoty také příprava a metody zpracování (sušení, vaření, smažení), (Van Huis et al. 2013). Několik nezávislých studií analyzovalo nutriční hodnoty jedlého hmyzu, data však nejsou srovnatelná vzhledem k výše zmíněným variacím. Odborníci však nejvíce doporučují konzumaci kukly nebo larvy, protože sama příroda vkládá do těchto stádií nejvíce živin. Také mají minimální množství chitinu, proto tolik nekřupou a jsou lehce stravitelné (Borkovcová a kol. 2009). Pokud se hmyz běžně konzumuje, tvoří pouze část stravy. Například v některých afrických komunitách tvoří 5-10 procent konzumované bílkoviny (Ayieko & Oriaro, 2008).

Rumpold a Schlüter (2013) sestavili seznam 236 druhů jedlého hmyzu, na základě obsahu nutričních látek v sušině. Ačkoliv byla v získaných datech vysoká variabilita, souhrně by se dalo konstatovat, že jedlý hmyz poskytuje dostatečné množství energie a proteinů, které splňují požadavky na aminokyseliny u lidí. Obsahují monoenoové a polyenoové mastné kyseliny a jsou bohaté na mikroživiny jako je meď, železo, hořčík, mangan, fosfor, selen a zinek, riboflavin, kyselina pantothenová, biotin, a v některých případech i kyselina listová.

Ramos Elorduy a kol. (1997) analyzovali v Mexiku 78 druhů hmyzu a určili kalorický obsah, který činil 293-762 kcal na 100 g sušiny. Hrubá energie, která je obvykle vyšší než metabolizovatelná energie, byla měřena u *Locusta migratoria* 598-816 kJ na 100 g čerstvé hmotnosti v závislosti na stravě hmyzu (Oonincx & van der Poel 2011).

Tabulka č.1: **Příklady energetického obsahu různých druhů hmyzu** (FAO 2012).

Druh hmyzu	Latinský název	Energetický obsah (kcal/100 g živé váhy)
Potemník moučný, larva v syrovém stavu	<i>Tenebrio molitor</i>	206
Potemník moučný, dospělec v syrovém stavu	<i>Tenebrio molitor</i>	138
Mravenec krejčík (syrový)	<i>Oecophylla smaragdina</i>	1 272
Saranče tlustá (syrový)	<i>Chortoicetes terminifera</i>	499
Saranče stěhovavá	<i>Locusta migratoria</i>	179
Bourec morušový	<i>Bombyx mori</i>	94

Finke (2002) zkoumal nutriční hodnoty několika druhů hmyzu. Larvy potemníka moučného představují možnost hromadného odchovu i v západních zemích, protože se dají snadno chovat ve velkém měřítku, jsou endemické v mírném podnebí, mají velice krátký životní cyklus a jejich chov je dobře popsán v odborné literatuře. Ve své studii Finke (2002) porovnával hovězí maso s larvami potemníka moučného, které nechal 24 hodin lačnit, aby se zbavil obsahu trávicího traktu. A byly vyhodnoceny výsledky, které jsou uvedeny v tabulce číslo 2.

Tabulka č.2: **Srovnání výživových hodnot potemníka moučného a hovězího masa v procentech sušiny s výjimkou obsahu vody**

	Potemník moučný	Hovězí maso
Voda (% čerstvé hm.)	61,9	52,3
Bílkoviny	49,1	55,0
Tuky	35,2	41,0
Metabolizovatelná energie kcal/kg	2 056	2 820

Prezentováno na základě jedné analýzy, průměrná hodnota jedné larvy 0,13 g
Zdroj: (Finke 2002)

3.6.1 Obsah bílkovin

Aminokyseliny slouží jako základní stavební kameny pro biosyntézu všech proteinů a na základě lidského metabolismu zajišťují správný růst, vývoj a údržbu organismu. Esenciální aminokyseliny jsou pro tělo nezbytné, protože si je neumí nasyntetizovat, musí je tak získat potravou (Van Huis 2013).

Stravitelnost bílkovin z hmyzu je velmi variabilní, protože se částečně váže na kutikulární bílkovinu – chitin, který je složkou exoskeletu hmyzu. Zejména cvrčci a kolbylky jsou bohaté na bílkoviny a představují cenný alternativní zdroj bílkovin, které jsou srovnatelné s konvenčními masnými výrobky (Van Huis 2016).

Výživová hodnota závisí na několika faktorech:

- obsah bílkovin (odlišný u různých potravin)
- kvalita bílkovin (závisí na druhu přítomných aminokyselin – esenciální nebo nenesenciální)
- kvalita odpovídající lidským potřebám
- stravitelnost bílkovin

Tabulka č.3: **Obsah některých aminokyselin ve vybraných druzích hmyzu (g/100 g)** (Ramos-Elorduy 1998)

	Saranče	Mravenec	Včela
Izoleucin	4,2	5,3	4,1
Leucin	8,9	8,0	6,6
Valin	5,7	6,4	5,9
Methionin	2,5	3,4	2,5
Glutamin	10,7	10,4	13,8
Fenylalanin	10,3	8,8	7,0
Serin	4,8	4,4	4,8

3.6.2 Obsah tuků

Tuk má u hmyzu druhé největší zastoupení z nutričního hlediska, 13-33% sušiny. Obsah se liší v závislosti na druhu a životní fázi hmyzu. Celkový obsah lipidů u housenek motýlů (*Lepidoptera*) se pohybuje od 8,6 g do 15,2 g/100 g čerstvé hmotnosti, kobylinky a příbuzné druhy *Orthoptera* mají relativně nízký obsah lipidů od 3,8 g do 5,3 g/100 g čerstvé hmotnosti (Bukkens 1997). S tím by se dalo pracovat v rozvojových zemích, protože při podvýživě je mnohdy problém s nedostatkem energetické složky než té proteinové (Van Huis 2016).

Tabulka č.4: **Základní nutriční hodnoty** (Bednářová 2010)

Druh hmyzu	% sušiny	% tuku	BE MJ/kg	Prům % NL
Potemník moučný (<i>Tenebrio molitor</i>)	29,412	37,57	26,995	46,984
Cvrček stepní (<i>Gryllus assimilis</i>)	33,898	34,55	24,614	59,162

Pozn.: BE – běžná energie, NL – nutriční látky

Některé druhy hmyzu, které obsahují větší množství tuku, mohou být zajímavým zdrojem menších lipofilních sloučenin jako jsou steroly (fytoosterol a cholesterol) a tokoferoly (Sabolová 2016). Steroidy jsou syntetizovány v organismech pomocí komplexních mechanismů z izoprenových jednotek. U živočichů, jako jsou hmyz a koryši, je lanosterol považován za hlavní prekurzor biosyntézy cholesterolu. Meziprodukt k biosyntéze cholesterolu je 7-dehydrocholesterol, který je předchůdcem vitamínu D3. Cholesterol se v těle používá k syntéze steroidních hormonů a žlučových kyselin (Velíšek 2014). Hmyz potřebuje cholesterol jak na syntézu vitamínu D3, tak svých hmyzích steroidních hormonů zvaných jako ekdysteroidy, musí na to ale používat rostlinné fytosteroly.

Steroly jsou nezbytnými složkami lipoproteinů a lipidových membrán u zvířat. Důležité jsou v nervových tkáních a při transportu lipidů, které se váží na lipoproteiny. Nadměrný transport cholesterolu v lipoproteinech s nízkou hustotou může způsobit kardiovaskulární onemocnění. Proto se doporučuje, aby denní příjem nepřesáhl 300 mg (Dinh et al. 2011, Velíšek 2014).

3.6.3 Mikronutrienty

Hmyz patří mezi bezobratlé, nemá tedy mineralizovanou kostru a obsahuje tedy málo vápníku (Finke MD & Oonincx D 2014). Některé druhy jako jsou cvrčci a termity jsou bohaté na obsah zinku a železa. To by mohlo být zajímavé z hlediska vysokého podílu světové populace, která je ohrožena deficitem zinku (více než 17 %) a železa (25 %), (Gibson 2015, McLean et al. 2009). Studie, která proběhla v Keni, prokázala, že cvrčci a termity mají vysoký obsah zinku a železa. Za předpokladu 10 % dostupnosti by 10 g pokrylo denní příjem zinku u mužů 36 % a u žen 51 % a u železa 114 % u mužů a 53 % u žen z doporučeného příjmu živin na den (Christensen et al. 2006).

Bylo by však zapotřebí více studií o biologické dostupnosti minerálů u lidských jedinců z jedlého hmyzu (Van Huis et al. 2013).

Biologická dostupnost živin se týká podílu živin, které jsou absorbovány z potravy a jsou využívány pro normální tělesné funkce. Závisí na různých procesech například na účinku trávicích enzymů ve střevě, vazbě a absorpci střevní sliznicí, přenos přes stěnu střeva do krevního oběhu, metabolickém a funkčním využití a vylučování močí nebo stolicí (Aggett 2010).

U obratlovců se železo obvykle vyskytuje ve svalech ve formě myoglobinu a v krvi ve formě hemoglobinu. U hmyzu se však železo v primární formě nachází v cytochromech. Předpokládá se, že biologická dostupnost cytochromového, hemoglobinového

a myoglobinového železa je stejná (Locke & Nichol 1992). Železo je u hmyzu přítomno hlavně v nehemových molekulách jako je ferritin a holoferritin, jako je tomu u obratlovců. Hmyzí ferritin však není v současné době dobře charakterizován, je ale známé, že se od sebe liší. Ferritin funguje jako zásobní protein pro železo a každá molekula může obsahovat tisíce atomů železa (Nichol & Locke 1990).

Nehemové složky železa u většiny druhů jedlého hmyzu se mohou ve střevech špatně rozpouštět a mohou ovlivňovat i jiné složky potravy. Biologická dostupnost mikroživin přítomných v různých druzích jedlého hmyzu nebyla široce prostudována, ale očekává se, že bude následovat trendy masa, ryb a drůbeže (Hurrell & Igli 2010).

Pokud jde o vitamíny, hmyz má obecně nízký obsah retinolu (vitamin A), protože vysoké teploty tento vitamín ničí, záleží tedy velmi na způsobu přípravy (Mlček et al. 2014). Bohatý je na riboflavin (vitamin B2), kyselinu pantothenovou (vitamin B5), biotin a v některých případech i na kyselinu listovou (Finke MD & Oonincx D 2014).

Tabulka č.5: Výživná hodnota hmyzu na 100 g (Ramos-Elorduy 1998)

	Vápník	Železo	Kalorie
Cvrček	75,8	9,5	121,5
Saranče malá	35,2	5,0	152,9
Mravenec	47,8	5,7	98,7
Kukly bource morušového	41,7	1,8	98,0
Ploštice (<i>Lethocerus</i>)	34,5	13,6	62,3

3.6.4 Obsah vlákniny

Vláknina se u hmyzu vyskytuje ve formě chitinu. Jedná se o nerozpustnou formu vlákniny získanou z exoskeletu. Chitin je strukturně podobný celulóze, která se běžně vyskytuje v rostlinách. Je to hlavní složka exoskeletu hmyzu, která je složena z dlouhého polymeru molekul N-acetylglukosaminu, derivátu glukózy (Paoletti et al. 2007). O obsahu vlákniny u hmyzu je velké množství údajů, jsou však získané různými metodami a jsou tak těžko srovnatelné (Klunder 2012). Záleží na vývojovém stádiu a druhu hmyzu, protože všechna vývojová stadia nechrání exoskelet. Finke (2007) odhaduje u komerčně chovaného hmyzu určeného jako potrava pro hmyzožravce obsah chitinu v rozmezí od 2,7 mg do 49,8 mg na kg čerstvého hmyzu a 11,6 mg do 137,2 mg na kg sušiny.

3.7 Mikrobiologie jedlého hmyzu

Mikrobiologie hmyzu a údaje týkající se potenciálního přenosu patogenů jsou k dispozici hlavně ve studiích, ve kterých se hmyz považuje spíše za škůdce než za potravu. V těchto případech byl hmyz zkoumán z hlediska jejich potenciálu působit jako vektor pro potravinové patogeny v podmínkách chovu. Poskytují však některé informace, které jsou vhodné pro lidskou spotřebu. Tyto údaje mají v souvislosti s chovem hmyzu omezenou hodnotu (Belluco et al. 2015). Jedna z častých nemocí přenášených potravinami po celém světě je kampylobakterová enteritida jejímž původcem je *Campylobacter jejuni*. Snadno se izoluje z členovců, kteří přicházejí do styku s hejny drůbeže, hlavně z mušek, které byli popsány jako vektor pro infikování hejn drůbeže negativních na *Campylobacter* (Wales a kol. 2010).

Zajímavé studie jsou o době přežití potravinových patogenů u jedlého hmyzu, protože na hmyzích farmách by mohla poskytnout určitý vhled do dynamiky infekce. Farma, která se věnuje chovu hmyzu, by se měla vyhýbat přítomnosti jakýchkoliv jiných zvířat. Příslušná kontaminace patogeny existuje pouze tehdy, pokud podmínky chovu umožňují bakteriální vstup nebo růst (Belluco et al. 2015).

Ve studii, kde byly analyzovány čtyři vzorky komerčně dostupných druhů hmyzu (*Zoophobas morio*, *Tenebrio molitor*, *Galleria mellonella* a *Acheta domesticus*), bylo nalezeno velké množství mikrobů. Jejich mikrobiota byla především složena z grampozitivních, fekálních bakterií a z koliformních bakterií. Grampozitivní populace se skládala většinou z *Micrococcus spp.*, *Lactobacillus spp.*, a *Staphylococcus spp.* V testovaných vzorcích nebyly detekovány bakterie rodu *Salmonella* nebo *Listeria monocytogenes*. Vzorky pocházely z uzavřeného cyklu hmyzích farem, které ho nevyráběly pro lidskou spotřebu (Giaccone 2005).

Klunder et al. (2012) si ve své studii dali za cíl zhodnotit mikrobiologický obsah jedlého hmyzu. Pro analýzu byly vybrány druhy *Tenebrio molitor*, *Acheta domesticus*, *Brachytrupes sp.* Analýza proběhla v čerstvém, vařeném nebo praženém stavu. Vzorky byly skladovány v chladu a při pokojové teplotě. Skladování čerstvého hmyzu v chladu (4-6°C) vzorky nezneškodnovalo. Sledován byl výskyt bakterií čeledi *Enterobacteriaceae*, ve vzorcích vařeného čerstvého hmyzu oproti hmyzu vařenému, který byl skladován déle než 2 týdny v chladu. Samotné vaření všechny *Enterobacteriaceae* nezabilo, proto se doporučuje další úprava, například pražení. Dále se také ukázalo, že ošetření hmyzu kyselinou mléčnou je schopné inaktivovat všechny *Enterobacteriaceae* a udržet i sporotvorné bakterie na přijatelné úrovni.

V potravinovém průmyslu by se znalosti o mikrobiologii jedlého hmyzu měly řešit specifickým a cíleným výzkumem. Potenciálním patogenům by měla být věnována zvláštní pozornost jako i na správné skladování, účinné dekontaminační ošetření, které by zaručilo ochranu spotřebitele (Belluco et al. 2015).

Za potenciální nebezpečí můžeme u hmyzu chovaného pro produkci potravin a krmiv, považovat dva typy mikrobiot.

- vnitřně spojené s hmyzem jako součást jejich organismu
- zavedené během chovu, zpracování a dále přenesené do potravního řetězce

Mikrobiota je přítomna ve střevech hmyzu a je nezbytná pro přežití, chování a metabolismus hmyzu. Obvykle je odrazem životního stylu hmyzu v přírodě i v podmínkách chovu. Průchod střevního obsahu se liší v závislosti na druhu potravy a hmyzu jako takového (El-Tabey, 1951). Zpracování hmyzu jak pro krmivo i potravu probíhá i s obsahem střeva. I když je před tím střevo vyprázdněno vylučněním, mohou v substrátu zůstat části obsahu střeva a kontaminovat tak výsledný produkt. Ve stresových podmínkách se mohou některé mikrobioty stát patogenními pro hmyz samotný. Stejně jako některá zvířata může mít hmyz na i povrchu těla specifické bakterie, z nichž některé mohou být také patogení (EFSA 2015).

3.8 Možnosti kulinární úpravy hmyzu

Kulinární úprava je časově nenáročná a velmi jednoduchá. Hmyz je blízký příbuzný humrů a krevet (patří do stejného kmene) a může být stejně chutný, jako konzumování korýši. Mezi nejpočetnější suchozemské živočichy patří termiti a mravenci, kteří také patří k nejčastěji konzumovanému hmyzu. Existuje široké spektrum jedlých druhů mouční červi, termiti, mravenci, sarančata, brouci, larvy vos a včel nebo cvrčci. Hmyz, který tvoří husté populace a dá se tak rychle nasbírat, patří k těm nejčastěji pojídaným (Škrabalová 2009).

Pro lidi, kteří vyrůstali v západních společnostech, může být konzumace celých hmyzích těl obtížná. Proto je pro mě vhodnější například použití mouky. Naopak některé společnosti a kultury vyžadují, aby byl hmyz v jídle vidět (Nonaka 2009). Jak uvádí Deroy a kol. (2015) přijatelnost hmyzu jako udržitelného zdroje potravy by měla být založena na vnímání potravy, což vyžaduje úzkou spolupráci mezi kognitivní neurovědou, lidskými a gastronomickými vědami.

Usmrcení hmyzu pro následnou kulinární úpravu by mělo být v každém případě humánní, tedy co nejrychlejší. Usmrcení během jedné vteřiny proběhne například vhozením živého hmyzu do vroucí vody nebo do rozpáleného oleje (Houser 2011). Pro lepší manipulaci s velmi pohyblivým hmyzem ho můžeme na pár minut umístit do ledničky. Inaktivujeme tím určitá nervová centra a hmyz bude méně pohyblivý. Čerstvost vstupní suroviny a práce s živým hmyzem v kuchyni je důležitá, protože rozkladné procesy nastupují velmi rychle. Proto hmyz usmrcujeme vždy těsně před přípravou pokrmu (Borkovcová a kol. 2009).

Pilotní vědecká studie, která podporuje tuto formu entomofágie, provedla pokus, kde byly hodnoceny dva druhy tortil. První byla vyrobená klasicky z kukuřičné mouky a druhá s přídavkem prášku (mouky) z larev potemníka moučného. I když měla tortilla s larvami o něco tmavší barvu, než ta kontrolní a měla u konzumentů velký ohlas. Hodnocení konzumentů bylo velmi kladné, chuť plná velmi dobrá, textura a barva přijatelná. Navíc došlo ke zvýšení celkového proteinu a značnému nárůstu esenciálních aminokyselin i zvýšení obsahu tuku. Hodnoty se zvýšily o 1-2 procenta (Aguilar-Miranda et al. 2002).

3.8.1 Vaření

Vaření může především sloužit k velmi krátkému usmrcení hmyzu. K dalším metodám využívaných k usmrcování hmyzu patří třeba zmrazení, zadušení oxidem uhličitým, sušení nebo usmrcení horkou párou. Je to nejzákladnější velice jednoduchá kuchyňská úprava (Ramos-Elorduy 1997, Ministerstvo zemědělství 2018). Tento způsob opracování má však za následek odstranění feromonů, ty tvoří přirozenou chuť a vůni hmyzu v hotovém pokrmu, proto by se mělo provádět co nejkratší dobu v řádu několika sekund (Borkovcová et al. 2009).

3.8.2 Smažení

Smažení a fritování se uvádí jako hlavní způsob přípravy některých druhů housenek, používá se však i pro kobylky a cvrčky. Chuť se velice často přirovnává k hranolkům. Jde asi o nejpoblárnější formu přípravy hmyzu. Příprava je velice snadná a jednoduchá. Pokrm, ale většinou neslouží jako hlavní jídlo, často se jedná pouze o pochoutku velké brouky a cvrčky lze také připravovat na grilu nebo pékat (Ramos-Elorduy 1997).



Obrázek č.2 – Smažený cvrček domácí použitý pro rozbor (Foto: Autor, 2019)

3.8.3 Mražení

Jde o asi nejpoblárnější způsob konzervace hmyzu. Před zamražením je třeba hmyz roztřídit (odstranit nevhodné jedince ke konzumaci) a co nejrychleji ho zpracovat. Doba zpracovatelnosti se totiž velmi rychle zkracuje. Nejeftivnější je vkládat mražené balíčky přímo na pánev (Brouk na talíři 2015).

3.8.4 Sušení

Sušení je nutné provádět co nejrychleji. Vhodné je sušení v horkovzdušné troubě, kdy nutriční ztráty nejsou moc velké. Správné usušený hmyz by měl mít zlatavou nebo světle hnědou barvu a měl by jít snadno rozdrtit v prstech. Připravenou mouku můžeme přidávat do různých pokrmů a vylepšit tak tím jejich chuťové i výživové kvality. Mouka v suchém prostředí vydrží několik týdnů, jedná se tak o vhodný způsob uchovávání hmyzu (Borkovcová a kol. 2009).

3.8.5 Lyofilizace

Je proces sušení mrazem, kdy teplota během 48 hodin klesne cca na -50°C . Vymrazí se tak veškerá voda a zachovají se tak všechny nutriční hodnoty. Hmyz je potom velmi křupavý, takže je velmi podobný sušenkám nebo preclíkům (Elorduy 1998).

4 Metodika

4.1 Příprava vzorků

Pro praktickou část této práce byly vybrány vzorky jednoho druhu hmyzu, a to dospělci cvrčka domácího (*Acheta domestica*). Dospělí jedinci byli odchováni v Národní referenční laboratoři pro desinsekci a deratizaci Státního zdravotního ústavu v Praze. Jedinci byli před rozbořem vyláčnění po dobu 48 hodin.

Hmyz byl rozdělen do tří skupin podle stupně tepelného opracování:

- a) bez tepelné úpravy (pozitivní kontrola)
- b) spaření horkou vodou (100°C, po dobu 10 sekund)
- c) smažení (180°C, 2 minuty)

Každá skupina obsahovala 7 jedinců, kteří byli analyzováni každý zvlášť. Vzorky byly pečlivě zhomogenizovány v třecí misce a převedeny do zkumavky s ředícím médiem. Poté byla vytvořena decimální ředící řada a 1 ml z každého ředění byl naočkován na Petriho misku s kultivačním médiem metodou rozčtu nebo přelití. Vzorky pro analýzu *Bacillus spp.* byly před nanesením na Petriho misku pasterovány 80 °C/10 min.

Tabulka č.6: Složení ředícího média

Složka	Množství g/l
Trypton	5
Nutrient broth No. 2	5
Kvasničný extrakt	2,5
Tween 80	0,5
L-cystein	0,25

4.2 Kultivace

Tabulka č.7: Složení kultivačních médií, doba a teplota kultivace jednotlivých mikroorganismů

Druh mikroorganismu	Kultivační medium	Čas	Podmínky kultivace	Metoda
Celkové počty aerobních mikroorganismů	Nutrient Agar (Oxoid™)	48 h	37°C (aerobně)	Přelití
Celkové počty anaerobních mikroorganismů	Wilkins-Chalgren Anaerobe Agar (Oxoid™)	48 h	37°C (anaerobně)	Přelití
<i>Bacillus spp.</i>	Yeast Extract Agar (Oxoid™)	24 h	30°C (aerobně)	Roztěr
<i>Clostridium spp.</i>	Cooked Meat Medium (Oxoid™)			Pomnožovací
<i>Salmonella spp.</i>	SS Agar (Oxoid™)			Pomnožovací
<i>Bacillus cereus</i>	Bacillus Cereus Selective Agar (Oxoid™)	24 h	30°C (aerobně)	Roztěr
<i>E. coli</i>	TBX Agar (Oxoid™)	24 h	37°C (aerobně)	Roztěr

4.3 Stanovení *Clostridium spp.*

Pro stanovení bylo použito 0,1 ml roztoku z prvního ředění a naočkováno do lahvičky, která obsahovala Cooked Meat Medium. Poté byly vzorky po dobu dvou dní inkubovány v anaerobním prostředí při 37°C. K vytvoření endospor druhů *Clostridium spp.* byly lahvičky ponechány další dva týdny při pokojové teplotě. Poté byly vzorky pasterovány 80°C/30 min a následně naočkovány na selektivní médium Reinforced Clostridial Agar (Oxoid™), kultivace probíhala 48 hodin při 37°C. Kolonie, které narostly, byly izolovány do Wilkins-Chalgren Anaerobe Broth, kde za 24 hodin při 37°C narostly a poté byly připraveny na analýzu na MALDI-TOF.

4.4 Stanovení *Salmonella spp.*

Pro stanovení salmonel byl odměřen 1 g jednotlivých vzorků do zkumavek, které obsahovaly peptonovou vodu a celá směs byla kultivována 24 hodin při 37°C. Poté bylo odebráno 0,1 ml vzorku a převedeno do zkumavky, která obsahovala Rappaport-Vassiliadis bujón, vzniklá směs byla kultivována 48 hodin při 37°C. Aby bylo možné potvrdit narostlé

bakterie, bylo odebráno 0,1 ml vzorku, rozetřeno na SS agar a kultivováno 24 hodin při 37°C. Poté byl proveden latexový aglutinační test Salmonella Latex Test (Oxoid™). Podle přiloženého návodu byla nejdříve provedena na testovací podložce kontrola pomocí zkušebního roztoku přiloženého od výrobce. Z kultivačního média byly odebrány kolonie, které vykazovaly podobnost a koloniemi salmonel (kolonie s černým středem) a byly rozetřeny s kapkou testovacího roztoku na tetovací podložce. Výsledky byly zaznamenány po dvou minutách pozorování.

4.5 Identifikace pomocí MALDI-TOF hmotnostní spektrometrie

Identifikace mikroorganismů, která probíhá pomocí této metody je prováděna přesně na úrovni rodu, někdy i druhu. Dosavadní výsledky různých pokusů dokazují, že tato metoda dokáže rozlišit bakterie nebo jiné mikroorganismy na druhové, rodové a často i kmenové úrovni (Trevino 2012, Pinto 2010). Přesné stanovení mikroorganismů může sloužit při zpracování potravin, ochraně veřejného zdraví, pro monitoring životního prostředí nebo i v klinické diagnostice (Schafer 2014). Výhodou této metody je její časová a finanční nenáročnost, díky kterým je možné analyzovat velký počet vzorků za relativně krátkou dobu.

První, kdo se zajímal o hmotnostní spektrometrii a položil teoretické základy, byl J. J. Thomson v roce 1913. O několik let později na něj navázal F. W. Aston, který sestrojil první moderní hmotnostní spektrometr, založený na separaci iontů v silném magnetickém poli. S jeho pomocí identifikoval přirozeně se vyskytující izotopy, za což dostal v roce 1922 Nobelovu cenu za chemii (Huong et al. 2014).

Původní využití této metody byla analýza peptidů a bílkovin. Později se začala využívat i k analýze nukleových kyselin nebo nízkomolekulárních anorganických i organických látek (Havliš 1999). V dnešní době se metoda využívá v klinické praxi i mikrobiologii. Významnou roli hraje při kontrole potravin, umožňuje identifikaci kvasinek, bakterií a plísní z různých potravin a biologických materiálů (Bursová et al. 2014).

U MALDI-TOF hmotnostní spektrometrie je laserové záření aplikováno na krystaly matrice se vzorkem. Záření způsobí desorbci molekul matrice s molekulami vzorku a zároveň zde dojde i k ionizaci molekul vzorku předáním H⁺ od molekul matrice. Mezi MALDI destičku a vstupní šterbinu průletového analyzátoru je aplikováno extrační napětí, kde dojde k extrakci nabitých molekul podle zvolené polaritě napětí a k analýze v průletovém analyzátoru. Podle doby letu molekul od analyzátoru k detektoru se vypočítá poměr m/z (Huong et al. 2014).

4.5.1 Příprava vzorku

Testovány byly kolonie ze všech medií, kromě média pro salmonely (tyto kolonie byly identifikovány pomocí Latex Testu).

Vzorky byly připraveny podle protokolu dodaného výrobcem. Do čisté Eppendorfy bylo napipetováno 300 µl 70% ethanolu, do kterého bylo přeneseno sterilní kličkou 5-10 mg biologického materiálu, celý obsah byl důkladně promíchán. Poté byly vzorky centrifugovány po dobu tří minut při maximálních otáčkách (14 000 ot. /min.). Supernatant, vzniklý po dokončení centrifugace, byl odstraněn a pelet byl do vyschnutí ponechán při laboratorní teplotě. K peletu bylo přidáno 30 µl 70% kyseliny mravenčí a 30 µl 100% acetonitrilu, směs byla následně zhomogenizována pipetou a připravené vzorky byla opět centrifugovány.

Na připravenou čistou MALDI destičku bylo naneseno 1 μ l vzniklého supernatantu a ihned po zaschnutí byl vzorek překryt 1 μ l roztoku matrice. Po zaschnutí všech takto připravených vzorků při pokojové teplotě byly identifikovány na přístroji MALDI-TOF.

Vzorky, které nebyly správně identifikovány, byly vyloučeny ze statistického vyhodnocení. Vyloučené byly také vzorky, které dosáhly nižšího skóre než 1,800. A pokud vzorky dosáhly vyššího skóre než 1,800 a lišily se od sebe o více než 0,200, byly také vyloučeny. Tedy hranice pro identifikaci na úrovni rodu nebo druhu byla stanovena na 0,200 (Švejtil et al. 2018).

Skóre, uvedené v tabulkách v příloze, určuje míru pravděpodobnosti:

1,700 - 1,999	→ pravděpodobná identifikace na úrovni rodu
2,000 - 2,299	→ bezpečná identifikace rodu, pravděpodobná identifikace druhu
2,300 - 3,000	→ vysoce pravděpodobná identifikace na úrovni druhu

4.6 Statistické vyhodnocení

V programu Statgraphic Centirion XV (Statpoint Technologies, Inc.) bylo provedeno statistické vyhodnocení. Jednofaktorová analýza rozptylu (ANOVA) byla použita pro zjištění statisticky významných rozdílů mezi vzorky. Mnohonásobné porovnání s hladinou významnosti $P = 0,01$ proběhlo Schéffého metodou.

5 Výsledky

5.1 Kultivace vzorků

V tabulce jsou uvedené výsledky v log KTJ/g, které byly zachycené po skončení kultivace v čerstvých, spařených a smažených vzorcích cvrčka domácího. Hodnoty jsou průměry 7 opakování \pm směrodatná odchylka.

Tabulka č.8: Uvedené výsledky po skončení kultivace, uvedeno v log KTJ/g. Hodnoty jsou průměry 7 opakování \pm směrodatná odchylka. Statisticky významné rozdíly jsou znázorněny odlišnými horními indexy (a, b, c) u jednotlivých hodnot.

Vzorek	Celkový počet aerobních mikroorganismů	Celkový počet anaerobních mikroorganismů	<i>Bacillus spp.</i>
Čerstvé	$7,25 \pm 0,35^c$	$6,88 \pm 0,55^c$	$1,81 \pm 0,84$
Spařené	$1,97 \pm 0,39^b$	$2,17 \pm 0,89^b$	$1,64 \pm 0,94$
Smažené	$\leq 1,0^a$	$1,08 \pm 0,15^a$	$\leq 1,0$

5.1.1 Celkový počet aerobních mikroorganismů

Podle tabulky č.8 můžeme konstatovat, že v čerstvém hmyzu se vyskytují největší počty aerobních mikroorganismů ($7,25 \pm 0,35$ log KTJ/g). Naopak ve smaženém hmyzu se žádné aerobní mikroorganismy neprokázaly ($\leq 1,0$ log KTJ/g). Ve spařených vzorcích bylo množství aerobních mikroorganismů stanoveno na $1,97 \pm 0,39$ KTJ/g. Po provedeném statistickém vyhodnocení byl mezi všemi třemi metodami zaznamenán statisticky významný rozdíl ($P < 0,01$).

5.1.2 Celkový počet anaerobních mikroorganismů

V tabulce č.8 můžeme vidět, že tepelná úprava hmyzu má vliv na množství celkových počtů anaerobních mikroorganismů. Po provedeném statistickém šetření byl zaznamenán mezi všemi třemi metodami statisticky významný rozdíl ($P < 0,01$). V čerstvém hmyzu se vyskytovalo $6,88 \pm 0,55$ KTJ/g vzorku, ve spařeném hmyzu $2,17 \pm 0,89$ KTJ/g vzorku a ve smaženém hmyzu $1,08 \pm 0,15$ KTJ/g vzorku.

5.1.3 *Bacillus* spp.

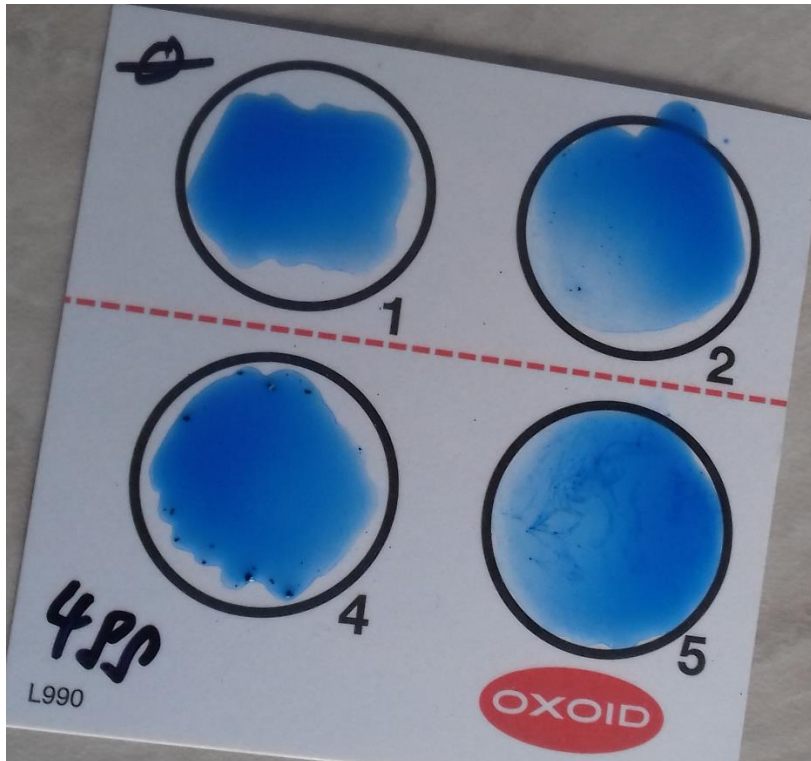
Po statistickém vyhodnocení nebyl zjištěn významný statistický rozdíl mezi vzorky. Na počet bakterií rodu *Bacillus* může mít vliv spaření i smažení. V čerstvém hmyzu se vyskytovalo $1,81 \pm 0,84$ KTJ/g vzorku, ve spařeném vzorku $1,64 \pm 0,94$ KTJ/g vzorku a ve smaženém hmyzu se žádné kolonie neprokázaly ($\leq 1,0$ KTJ/g).

5.1.4 *Salmonella* spp.

Po kultivaci na SS agaru byly na vzorcích 2,3,4 čerstvého hmyzu pozorovány černé kolonie podobné koloniím salmonel. Po provedeném aglutinačním testu bylo zjištěno, že žádný ze vzorků jedlého hmyzu neobsahoval bakterie rodu *Salmonella*. V žádném ze vzorků nebyla pozorována vzniklá sraženina s provnáním s provedenou pozitivní kontrolou. Na obrázcích můžeme pozorovat testované vzorky, které nevykazují vznik sraženiny.



Obrázek č.3: Negativní výsledky testu na přítomnost salmonely



Obrázek č.4: Negativní výsledky testu na přítomnost salmonely

5.2 Identifikace bakterií pomocí MALDI-TOF hmotnostní spektrometrie

Pomocí MALDI-TOF bylo celkem prověřeno 293 vzorků, bakteriální rody a druhy byly identifikovány v 62 vzorcích. Úspěšnost se tedy pohybovala okolo 21 %.

Z médií pro aerobní a anaerobní bakterie byly kvůli vysokému množství kolonií u vzorků čerstvého hmyzu vybrány náhodné kolonie pouze z nejvyšších ředění, což umožnilo identifikaci pouze nejhojněji zastoupených druhů a rodů bakterií. U ostatních vzorků jde o izoláty z ředění 10^{-1} a 10^{-2} .

Ve výsledcích jsou ve formě tabulek uvedeny pouze kumulativní počty identifikovaných izolátů z médií pro aerobní a anaerobní bakterie. Všechny identifikované izoláty jsou uvedeny v příloze.

5.2.1 Čerstvý hmyz

Na médiu pro *Bacillus cereus* bylo prostřednictvím MALDI-TOF hmotnostní spektrometrie zjištěno 5 kolonií druhu *Bacillus cereus*. Na médiu pro bacily bylo identifikováno 8 kolonií druhu *Bacillus cereus*. Na médiu pro klostridie byla ve vzorcích identifikována jedna kolonie druhu *Clostridium perfringens*, *Klebsiella pneumoniae*, *Eubacterium tenue*, *Lactobacillus murinus*, *Clostridium butyricum*. Bakterie stanovené na médiu pro aerobní a anaerobní mikroorganismy jsou uvedené v tabulce č.9. Vzhledem k vysokému počtu kolonií byly tyto izoláty brány pouze z ředění 10^{-5} a 10^{-6} , jde tedy o nejhojněji zastoupené rody, které se ve vzorcích vyskytují v nejvyšších počtech (min. log 6 KTJ/g).

Tabulka č.9: Výsledky identifikace pomocí MALDI-TOF

Kultivační médium	Rod / druh	Počet nálezů
pro anaerobní mikroorg.	<i>Klebsiella oxytoca</i>	2
pro anaerobní mikroorg.	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1
pro anaerobní mikroorg.	<i>Enterococcus thailandius</i>	1
pro anaerobní mikroorg.	<i>Enterococcus faecium</i>	1
pro anaerobní mikroorg.	<i>Enterococcus</i> sp.	2
pro aerobní mikroorg.	<i>Bacillus</i> sp.	1
pro aerobní mikroorg.	<i>Klebsiella oxytoca</i>	1

5.2.2 Spařený hmyz

Na médiu pro *Bacillus cereus* bylo prostřednictvím MALDI-TOF hmotnostní spektrometrie zjištěno 5 kolonií druhu *Bacillus cereus* a 1 kolonie rodu *Bacillus*. Na médiu pro bacily, byly identifikovány 4 kolonie druhu *Bacillus cereus* a 1 rodu *Bacillus*. Na médiu pro klostridie byly identifikovány 2 kolonie druhu *Clostridium perfringens*, 2 kolonie druhu *Clostridium sordellii* a 1 kolonie druhu *Enterococcus faecalis*. Bakterie stanovené na médiu pro aerobní a anaerobní mikroorganismy jsou uvedené v tabulce č.10.

Tabulka č.10: Výsledky identifikace pomocí MALDI-TOF

Kultivační médium	Rod / druh	Počet nálezů
pro anaerobní mikroorg.	<i>Bacillus cereus</i>	5
pro anaerobní mikroorg.	<i>Bacillus</i> sp.	4
pro aerobní mikroorg.	<i>Bacillus cereus</i>	1
pro aerobní mikroorg.	<i>Bacillus</i> sp.	8

5.2.3 Smažený hmyz

Ve smažených vzorcích byly prostřednictvím MALDI-TOF hmotnostní spektrometrie identifikovány pouze 2 kolonie bakterií druhu *Clostridium perfringens*.

6 Diskuse

6.1 Celkové počty aerobních mikroorganismů

Podle Vandeweyera et al. (2017) byl počet aerobních mikroorganismů v čerstvých vzorcích cvrčka domácího stanoven na $8,4 \pm 0,1 \log \text{KTJ/g}$. Autoři uvádí, že hmyz byl rozemlet na dokonalý prášek, proto se ze vzorku vyextrahovalo maximální množství mikroorganismů. Klunder et al. (2012) stanovil ve svém pokusu počet mikroorganismů na $7,2 \log \text{KTJ/g}$. Megido et al. (2017) se zabýval mikrobiologickým rozbořem různých druhů hmyzu včetně cvrčka domácího. Celkové počty aerobních mikroorganismů v syrových vzorcích cvrčka domácího byl stanoven $7,97 \pm 0,10 \log \text{KTJ/g}$. V praktické části této práce byl stanoven celkový počet aerobních mikroorganismů na $7,25 \pm 0,35 \log \text{KTJ/g}$. Tato hodnota odpovídá výsledkům publikovaným v odborné literatuře.

Ve spařených vzorcích cvrčka domácího bylo v praktické části zjištěno $1,97 \pm 0,39 \log \text{KTJ/g}$ aerobních mikroorganismů. Hmyz byl ve vodě ponechán 10 sekund. Megido et al. (2017) ve svých vzorcích cvrčka domácího blanšírovaného po dobu 4 minut stanovil celkové počty na $4,39 \pm 0,01 \log \text{KTJ/g}$. Tyto výsledky jsou v rozporu jak s našimi výsledky, tak s výsledky, které provedl Klunder et al. (2012). Ten ve své práci uvádí obsah mikroorganismů ve vařených vzorcích cvrčka domácího, které byly vařeny po dobu 5 minut, $1,7 \log \text{KTJ/g}$. Tyto odlišnosti mohou být spojené s tím, že vzorky byly ve vodě ponechány různě dlouhou dobu a také tím, že Megido et al. použili odlišnou kultivační metodu.

Smažené vzorky zkoumané v praktické části této práce žádné aerobní mikroorganismy neobsahovaly, respektive jejich případné množství bylo pod limitem detekce $\leq 1,0 \log \text{KTJ/g}$. Klunder et al. (2012) ve své práci uvádí u vzorků smažených po dobu 5 minut $2,7 \log \text{KTJ/g}$ aerobních mikroorganismů. Tyto výsledky mohou být ovlivněné různou dobou smažení, teplotou. Je ale zřetelné, že tepelná úprava hmyzu má vliv na výskyt celkových počtů aerobních mikroorganismů.

Z námi provedené identifikace pomocí MALDI-TOF vyplývá, že cvrček obsahuje vysoké množství (min. $10^6/\text{g}$) bakterií rodu *Klebsiella*, konkrétně byly identifikovány druhy *Klebsiella oxytoca* a *Klebsiella pneumoniae* (u anaerobů). Jsou to gramnegativní, nesporulující, fakultativně anaerobní bakterie, které se vyskytují v mikrobiální flóře GIT a v respiračním ústrojí. Tyto patogeny mohou být, jako většina patogenů, přenášeny hmyzem. V práci Grabowského (2017) se tyto bakterie objevily ve vzorcích mravenců a bource morušového. Tepelná úprava hmyzu měla v našem pokusu vliv na výskyt bakterií *Klebsiella oxytoca* a *Klebsiella pneumoniae*. Velká většina infekcí způsobených *Klebsiellou* je spojená s hospitalizací. Nejběžnějším místem, kde způsobuje infekci, jsou močové cesty. Ohrožení jsou hlavně pacienti, kteří trpí na tyto infekce, pacienti s diabetem, pacienti trpící chronickou plicní obstrukcí, problémy může také způsobovat předčasně narozeným dětem a pacientům na jednotce intenzivní péče (Podschn 1998).

6.2 Celkový počet anaerobních mikroorganismů

V praktické části této práce byl stanoven celkový počet anaerobních bakterií v čerstvém hmyzu na $6,88 \pm 0,55$ log KTJ/g, ve spařeném hmyzu byl stanoven na $2,17 \pm 0,89$ log KTJ/g, a ve smaženém hmyzu $1,08 \pm 0,15$ log KTJ/g. Z toho můžeme tvrdit, že tepelná úprava má vliv na výskyt anaerobních mikroorganismů v jedlém hmyzu. Literatura, která by se zabývala anaerobními mikroorganismy, není dostupná, proto výsledky nemůžeme srovnat.

V praktické části byly identifikované bakterie rodu *Bacillus* a *Klebsiella*. Rod *Klebsiella* už byl diskutován výše. V čerstvých vzorcích byl identifikován rod *Enterococcus*, což je fakultativně anaerobní mikroorganismus. Tyto bakterie byly zjištěny i v práci, kterou provedla Ch. Garofalo et al. (2017). Bakterie se vyskytovaly jak ve vzorcích cvrčka domácího, tak i larvách potemníka moučného. Tyto bakterie také identifikovala v jedlém hmyzu A. Osimani et al. (2017). Tepelná úprava měla vliv na výskyt Enterokoků, v naší provedené analýze. Enterokoky mohou způsobovat infekce u dlouhodobě hospitalizovaných pacientů, kteří se opakovaně léčí antibiotiky. Příležitostně patogenní může být i pro jedince s oslabeným imunitním systémem. U novorozenců může působit jako potencionální původce tzv. neonatální sepse (Furtado et al. 2014).

6.3 *Bacillus* spp. v jedlém hmyzu

V praktické části této práci bylo v čerstvých vzorcích jedlého hmyzu zjištěno $1,81 \pm 0,84$ log KTJ/g. Ve spařených vzorcích se vyskytovalo $1,64 \pm 0,94$ log KTJ/g a ve smaženém hmyzu se žádné kolonie neprokázaly ($\leq 1,0$ KTJ/g). Fasolato et al. (2018) ve své práci stanovili $6,6$ log KTJ/g. V práci, kterou provedli Kluner et al., stanovili počet bakteriálních spor v čerstvých vzorcích cvrčka domácího na $3,6$ log KTJ/g. Tyto výsledky si vzájemně neodpovídají, může to být způsobeno odlišnou metodou stanovování. V této práci byly stanovovány spory, kterých se v živých vzorcích vyskytuje méně, ale protože byl rod *Bacillus* identifikován i v celkových počtech mikroorganismů, lze předpokládat, že počet bakterií bude pravděpodobně větší. Stanovené množství by nemělo představovat riziko při konzumaci, ale protože se bacily vyskytují i v tepelně opracovaném hmyzu, mohly by způsobovat problémy při dalším zpracování.

Bacillus cereus, který se vyskytoval ve velkém množství identifikovaných izolátů, je vysoce termorezistentní, přežívá pasterizaci a může se vyskytovat i v sušených potravinách. Jedná se o grampozitivní, aerobní nebo fakultativně anaerobní, sporotvornou bakterii, která má široký výskyt v životním prostředí. Tato bakterie je známá hlavně v souvislosti s potravinovými otravami a je spojována i se závažnými očními infekcemi (Bottone 2010). Toxiny produkované touto bakterií mohou způsobovat emetický a průjemový syndrom. Tyto syndromy jsou příležitostně spojovány s konzumací vařených rýžových pokrmů, některých mléčných výrobků a kontaminovaným masem (McKillip 2000). Spory této bakterie mají hydrofóbnější povrch než jiné rody těchto bakterií a dokážou tak snáze přilnout k několika typům povrchů. Onemocnění je ale pravděpodobně velmi málo hlášeno kvůli relativně mírným příznakům krátkého trvání. Výrobky s prodlouženou trvanlivostí a chlazené výrobky představují vhodné prostředí pro přežití a růst této bakterie. Zvýšený zájem spotřebitelů o tyto výrobky může představovat vyšší riziko výskytu těchto nemocí (Granum & Linbäck 2013).

6.4 *Salmonella* spp. v jedlém hmyzu

Výskyt bakterií typu *Salmonella* spp. byl ověřován pomocí Salmonella Latex Test. Po provedení tohoto testu nebyly zjištěny žádné pozitivní výsledky výskytu těchto bakterií. Bakterie typu *Salmonella* spp. se tedy ve vzorcích nevyskytovaly. Tyto výsledky korespondují s výsledky dalších prací, které se zabývaly touto tematikou (Vandeweyer et al. 2017, Garofalo 2017).

6.5 *Clostridium* spp. v jedlém hmyzu

Bakterie rodu *Clostridium* byly identifikovány pomocí MALDI-TOF hmotnostní spektrometrie ve vzorcích čerstvého, spařeného i smaženého hmyzu. Pravděpodobně se jednalo o druhy *C. perfringens*, *C. sordellii*, *C. butyricum*. Garofalo (2017) ve své práci uvádí výskyt spor *Clostridium perfringens* nižší než 2,00 log KTJ/g.

Jedná se o grampozitivní anaerobní bakterii vytvářející spory. Běžně se vyskytuje v půdě, odpadních vodách a střevech zvířat. Produkované toxiny mohou způsobovat gastrointestinální onemocnění (Petit 1999). *Clostridium butyricum* je grampozitivní, anaerobní, sporotvorný bacil, který dostal své jméno podle své schopnosti produkovat velké množství kyseliny máselné. Je to běžná komenzální bakterie, která se vyskytuje v lidské i zvířecí mikrobiotě. V asijských zemích se používá i jako probiotikum, některé kmeny se však mohou zapojovat do patologických stavů jako je botulismus u kojenců (Cassir 2016). Botulismus je onemocnění způsobované botulinovým neurotoxinem, který nejčastěji produkují *Clostridium botulinum*. Velmi podobný toxin může produkovat právě i *Clostridium butyricum* (Fenicia 2007). Bakterie rodu *Clostridium* mohou vykazovat fyziologickou i genetickou podobnost (Cassir 2016). Proto by měl být výskyt těchto druhů bakterií v cvrčcích domácích předmětem dalšího zkoumání. Pokud by se potvrdila přítomnost a tvorba toxinů, vzniká tak potenciální nebezpečí při konzumaci a zpracování jedlého hmyzu.

7 Závěr

Stejně jako u jiných potravin tak i u hmyzu je důležité dodržovat základní hygienická a mikrobiologická pravidla. Hmyz je veden jako potrava nového typu, je tak důležité při zpracování dodržovat zavedená pravidla. Pro výživu člověka může být kvalitním zdrojem bílkovin i dalších nutričních látek. Pro zajištění mikrobiologické nezávadnosti je důležité zajištění správného stupně tepelného opracování hmyzu.

Na základě zjištěných výsledků z pokusu můžeme tvrdit, že předem stanovené cíle i hypotéza byly potvrzeny. Tepelné opracování má vliv na rozmanitost a množství sporulujících bakterií i patogenů v jedlém hmyzu, i přesto se ale v omezené míře vyskytují i ve smažených vzorcích patogenní bakterie.

Pro lidi, kteří netrpí žádnou potravinovou alergií, by konzumace jedlého hmyzu v našich podmínkách neměla představovat nebezpečí. Hmyz a výrobky z něj mohou být zajímavým zpestřením jídelníčku, jak z nutričního, tak chuťového hlediska. Lidé, kteří doposud žádný hmyz nebo výrobek z něj neochutnali, se určitě nemusejí bát tuto novou potravinu ochutnat.

8 Literatura

Aggett, PJ (2010) Population reference intakes and micronutrient bioavailability: a European perspective. *Am J Clin Nutr* 91, 1433–1437.

Aguilar-Miranda E. D., Lopez, M. G. Escamilla-Santana, C., Barba De La Rosa A. P., 2002: Characteristics of maize flour tortilla supplemented with ground *Tenebrio molitor* larvae. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 192-195.

Akhtar Y., Isman M. B. 2018. Insects as an Alternative Protein Source, In: *Proteins in Food Processing (Second Edition)*. Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition.

Ayieko, M.A. & Oriaro, V. 2008. Consumption, indigeneous knowledge and cultural values of the lakefly species within the Lake Victoria region. *African Journal of Environmental Science and Technology*, 2(10): 282–286.

Barletta, B. & Pini, C. 2003. Does occupational exposure to insects lead to species-specific sensitization? *Allergy*, 58: 868–870.

Bednářová, M., [online]. [cit. 2011-1-2]. Dostupný z WWW: <http://web2.mendelu.cz/af_291_mendelnet/mendelnet2010/articles/18_bednarova_372.pdf>.

Belluco S., Losasso C., Maggioletti M., Alonzi C., Ricci A., Paoletti M. G. 2015. Edible insects: a food security solution or a food safety concern? *Animal Frontiers*, 5, 25-30.

Bindslev-Jensen C, Briggs D and Osterballe M, 2002. Can we determine a threshold level for allergenic foods by statistical analysis of published data in the literature? *Allergy*, **57**, 741-746.

Bottone EJ. 2010. *Bacillus cereus*, a volatile human pathogen. *Clinical microbiology reviews* 23:382–398. American Society for Microbiology (ASM). Available from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20375358>.

Borkovcová, M. a kolektiv. *Kuchyně hmyzem zpestřená*. 1.vyd. Brno: LYNX, 2009. 135s. ISBN 978-80-86787-37-4.

Broekman HC, Verhoeckx KC, den Hartog Jager CF, Kruizinga AG, Pronk-Kleinjan M, Remington BC, Bruijnzeel-Koomen CA, Houben GF and Knults AC, 2016. Majority of shrimp-allergic patients are allergic to mealworm. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, **137**, 1261-1263.

Bruins, E. *Teraristika: encyklopedie*. 2. vyd. Čestlice: Rebo, 2005, 317 s. ISBN 80-723-4477-3.

Brouk na talíři: Trvanlivost hmyzu: Jak hmyzí jídlo uchovat? [online], 2015. Web: <http://www.brouknataliri.cz/trvanlivost-hmyzu-suseni-mrazeni/>

Bukkens, S. G. F. (1997). The nutritional value of edible insects. *Ecology of Food and Nutrition*, 36(2–4), 287–319.

Bursová, Šárka, Marta Dušková, Lenka Necidová, Renáta Karpíšková a Petra Myšková, 2014. Mikrobiologické laboratorní techniky [online]. Brno. [cit. 2016-10-14]. Dostupné z: <http://www.vfu.cz/inovace-bc-a-navmgr/realizovane-klicove-aktivity/skripta/ls-2013-2014/mikrobiologicke-laboratorni-metody.pdf>. Skripta. Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

Cassir, N., S. Benamar a B. La Scola, 2016. *Clostridium butyricum*: from beneficial to a new emerging pathogen. *Clinical Microbiology and Infection*. 22(1), 37-45. DOI: Show less <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2015.10.014>.

Deroy O, Reade B & Spence C (2015) The insectivore's dilemma, and how to take the West out of it. *Food Qual Preference* 44, 44-55

Dinh, T. T. N., Thompson, L. D., Galyean, M. L., Brooks, J. C., Patterson, K. Y., Boylan, L. M. 2011. Cholesterol content and methods for cholesterol determination in meat and poultry. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, vol. 10, p. 269-289. <http://dx.doi.org/10.1111/j.15414337.2011.00158.x>

EFSA SCIENTIFIC COMMITTEE. Risk profile related to production and consumption of insects as food and feed. *EFSA Journal*. 2015, 13(10), 1-60.

El-Tabey AM, Shihata A and Mrak EM, 1951. The fate of yeast in the digestive tract of *Drosophila*. *The American Naturalist*, 85, 381–383.

Elorduy, J.R. Hmyz na talíři. Praha: Volvox Globator, 1998. 130. ISBN 80-7207-193-9.

FAO. 2012 Composition database for Biodiversity Version 2, BioFoodComp2. (Latest update: 10 January 2013). Accessed January 2012. (available at www.fao.org/infoods/infoods/tables-and-databases/en/).

Fasolato, Luca, Barbara Cardazzo, Lisa Carraro a Federico Fontana, 2018. Edible processed insects from e-commerce: Food safety with a focus on the *Bacillus cereus* group. *Food Microbiology*. 76(12), 296-303. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.06.008>.

Fenicia, L., Anniballi, F. & Aureli, P. Intestinal toxemia botulism in Italy, 1984–2005. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 26, 385–394 (2007). <https://doi.org/10.1007/s10096-007-0301-9>

Finke, M.D. 2002. Complete nutrient composition of commercially raised invertebrates used as food for insectivores. *Zoo Biology*, 21(3): 269–285.

Finke, M.D. 2007. Estimate of chitin in raw whole insects. *Zoo Biology*, 26, 105–115.

Finke MD & Oonincx D (2014) Chapter 17—insects as food for insectivores. In *Mass Production of Beneficial Organisms*, pp. 583–616 [Shapiro-Ilan JAM-RGRI, editor]. San Diego: Academic Press.

Furtado I, Xavier PCN, Tavares LVM, Alves F, Martins SF, Martins A de S, Palhares DB. 2014. *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* in blood of newborns with suspected nosocomial infection. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo* 56:77–80. Instituto de Medicina Tropical. Available from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24553613>.

Garino, Cristiano, Jutta Zagon a Albert Braeuning. Insects in food and feed – allergenicity risk assessment and analytical detection. *EFSA Journal*. 2019, **17**(S2), 1-12.

Garofalo, Christiana, Andrea Osimani, Vesna Milanović, Manuela Taccari, Federica Cardinali a Lucia Aquilanti, 2017. The microbiota of marketed processed edible insects as revealed by high-throughput sequencing. *Food Microbiology*. **1**(62), 15-22. DOI: doi.org/10.1016/j.fm.2016.09.012.

Giaccone, V. 2005. Hygiene and health features of “minilivestock”. In M.G. Paoletti, ed. *Ecological implications of minilivestock; role of rodents, frogs, snails, and insects for sustainable development*, pp. 579–598. New Hampshire, Science Publishers.

Gibson RS (2015) Dietary-induced zinc deficiency in low income countries: challenges and solutions The Avanelle Kirksey Lecture at Purdue University. *Nutr Today* 50, 49–55.

Grabowski, Nils Th. a Günter Klein, 2017. Bacteria encountered in raw insect, spider, scorpion, and centipede taxa including edible species, and their significance from the food hygiene point of view. *Trends in Food Science & Technology*. **63**(5), 80-90.

Granum, P.E. a T. Linbäck, 2013. *Bacillus cereus*. *Food Microbiology*. **4**(1), 491-502. DOI: [10.1128/9781555818463.ch19](https://doi.org/10.1128/9781555818463.ch19).

Hanzák, J., Halík, L., Mikulová, M. a kol. *Světlem zvířat. Bezobratlí 1. část*. Albatros, Praha, 1973.

Hanzák, J., Moucha, J., Zahradník, J. a kol. *Světlem zvířat. Bezobratlí 2. část*. Albatros, Praha, 1973.

Havliš, Jan, 1999. Hmotnostní spektrometrie MALDI TOF. *Vesmír* [online]. 78(8), s. 448 [cit. 2016-10-03]. Dostupné z: <http://casopis.vesmir.cz/clanek/hmotnostni-spektrometrie-maldi-tof>

Houser, P. Hmyz se dá jíst, a to nejen jako exotická kuriozita. [online]. [cit. 2011- 1-11]. Dostupné z WWW: < <http://scienceworld.cz/biologie/hmyz-se-da-jist-a-tonejen-jako-exoticka-kuriozita-6029>>.

- Huong, Truong Thanh, Markéta Komínková, Roman Guráň, et al. Identifikace mikroorganismů pomocí MALDI-TOF MS. *Journal of Metallomics and Nanotechnologies* [online]. 2014, 1(1), 64-66 [cit. 2020-03-19]. Dostupné z: http://web2.mendelu.cz/af_239_nanotech/J_Met_Nano/0214/pdf/d-microbial_identification_by_maldi-tof_ms.pdf
- Hurka, Karel, Alena Čepická. *Rozmnožování a vývoj hmyzu*. 1. Vyd. Praha. 1980, 224 s.
- Hurrell, R & Egli, I (2010) Iron bioavailability and dietary reference values. *Am J Clin Nutr* 91, 1461–1467.
- Chai JY, Shin EH, Lee SH and Rim HJ, 2009. Foodborne intestinal flukes in South-east Asia. *Korean Journal of Parasitology*, 47, 69–102.
- Christensen DL, Orech FO, Mungai MN et al. (2006) Entomophagy among the Luos of Kenya: a potential mineral source? *Int J Food Sci Nutr* 57, 198–203.
- Imes, Rick. *Svět hmyzu: Praktický průvodce entomologií*. Čes. vyd. 1. Praha: Svojtka a Vašut, 1997, 160 s. ISBN 80-7180-253-0.
- Klunder, H.C., J. Wolkers-Rooijackers, J.M. Korpela a J.M.R. Nout, 2012. Microbiological aspects of processing and storage of edible insects. *Food Control*. 2(26), 628-631. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.02.013>.
- Kočárek, Petr. *Rovnokřídlí (Insecta: Orthoptera) České republiky*. 1.vyd. Praha: Academia, 2013, 283 s. ISBN 978-80-200-2173-1.
- Kovařík, František. *Hmyz: chov, morfologie*. Vyd. 1. Jihlava: Madagaskar, 2000, 295 s. ISBN 80-86068-24-2.
- Locke, M & Nichol, H (1992) Iron economy in insects: transport, metabolism, and storage. *Ann Rev Entomol* 37, 195–215.
- McKillip, J.L., 2000. Prevalence and expression of enterotoxins in *Bacillus cereus* and other *Bacillus* spp., a literature review. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 77(1), 393-399. DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1002706906154>.
- McLean E, Cogswell M, Egli I et al. (2009) Worldwide prevalence of anaemia, WHO Vitamin and Mineral Nutrition Information System, 1993–2005. *Public Health Nutr* 12, 444–454.
- Megido, Rudy Caparros, Christophe Blecker, François Béra, Éric Haubruge, Taofic Alabi a Frédéric Francis, 2017. Microbiological Load of Edible Insects Found in Belgium. *Insects* 2017. 12(8), 1-8. DOI: <https://doi.org/10.3390/insects8010012>.
- Ministerstvo zemědělství. 2018. Zásady správné zemědělské a výrobní praxe produkce hmyzu určeného pro lidskou spotřebu. Odbor bezpečnosti potravin.

Mlček, Jiří, Otakar Rop, Marie Borkovcová a Martina Bednářová. A Comprehensive Look at the Possibilities of Edible Insects as Food in Europe – a Review. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*. 2014-01-1, 64(3), DOI: 10.2478/v10222-012-0099-8. ISSN 2083-6007.

Nichol, H & Locke, M (1990) The localization of ferritin in insects. *Tissue Cell* 22, 767–777.

Nonaka K., 2009: Feasting on insects. *Entomological Research*, 39: 304-312.

Oonincx, D.G.A.B. & van der Poel, A.F.B. 2011. Effects of diet on the chemical composition of migratory locusts (*Locusta migratoria*). *Zoo Biology*, 30: 9–16.

Osimani A et al. 2017. Insight into the proximate composition and microbial diversity of edible insects marketed in the European Union. *European Food Research and Technology* 243:1157–1171. Available from <https://doi.org/10.1007/s00217-016-2828-4>.

Paoletti, M.G., Norberto, L., Damini, R. & Musumeci, S. 2007. Human gastric juice contains chitinase that can degrade chitin. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 51(3): 244–251.

Petit, Laetitia, Maryse Gibert a Michel R. Popoff, 1999. *Clostridium perfringens*: toxinotype and genotype. *Trends in Microbiology*. 7(3), 104-110. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0966-842X\(98\)01430-9](https://doi.org/10.1016/S0966-842X(98)01430-9).

Pereira NR, Tarley CRT, Matsushita M and de Souza NE, 2000. Proximate composition and fatty acid profile in Brazilian poultry sausages. *Journal of Food Composition and Analysis* 13, 915–20.

Phillips, J.K. & Burkholder, W.E. 1995. Allergies related to food insect production and consumption. *The Food Insects Newsletter*, 8(2): 1, 2–4.

Pimental D et al. Water resources: agriculture, the environment and society. *Bioscience*, 1997, 47:97-106.

Pinto L., Poeta P., Vieira S., Caleja C., Radhouani H., Carvalho C., Vieira-Pinto M., Th emudo P., Torres C., Vitorino R., Domingues P., Igrejas G.: *Journal of Proteomics*, 73, 1535 (2010).

Podschun, R. a U. Ullmann, 1998. *Klebsiella* spp. as Nosocomial Pathogens: Epidemiology, Taxonomy, Typing Methods, and Pathogenicity Factors. *CLINICAL MICROBIOLOGY REVIEWS*. 11(4), 589-603. DOI: 10.1128/CMR.11.4.589.

Popescu, Florin-Dan. Cross-reactivity between aeroallergens and food allergens. *World journal of methodology*. 2015, 5(2), 31-50.

- Purington, Natasha, R. Sharon Chinthrajah a Andrew Long. Eliciting Dose and Safety Outcomes From a Large Dataset of Standardized Multiple Food Challenges. *Frontiers in immunology*. 2018, **9**(2057), 1-11.
- Ramos-Elorduy, Julieta. Insects: A sustainable source of food?. *Ecology of Food and Nutrition*. 1997, roč. 36, 2-4, s. 247-276. ISSN 0367-0244.
- Ramos-Elorduy, Julieta, 1998. *Creepy crawly cuisine: the gourmet guide to edible insects*. 2. Rochester, Vermont: Park Street Press. ISBN 0-89281-747-X.
- Ramos Elorduy, J., Pino, J.M., Prado, E.E., Perez, M.A., Otero, J.L. & de Guevara, O.L. 1997. Nutritional value of edible insects from the state of Oaxaca, Mexico. *Journal of Food Composition and Analysis*, 10: 142–157.
- Rietschel, S. Hmyz: klíč ke spolehlivému určování - 3 znaky. 1. vyd. Překlad Dalibor Povolný. Čestice: Rebo Productions, 2004, 239 s. Průvodce přírodou (Rebo). ISBN 80-723-4294-0.
- Rumpold, B.A. & Schlüter, O.K. 2013. Nutritional composition and safety aspects of edible insects. *Molecular Nutrition and Food Research*, 57(3) (DOI 10.1002/ mnfr.201200735).
- Sabolová, Monika, Anna Adámková, Lenka Kouřimská, Diana Chrpová a Jan Pánek. Minor lipophilic compounds in edible insects. *Potravinářstvo*. 2016, **10**(1), 400-406.
- Sedláčková J., Hrudová, E. Škodliví a obtížní živočichové kolem nás. Kapesní příručka pro domácnosti. TeMi CZ, Velké Bílovice, 2011. ISBN 978-80-87156
- Schafer M. O., Genersch E., Funfh aus A., Poppinga L., Formella N., Bettin B., Karger A.: *Veterinary Microbiology*, 170, 291 (2014).
- Siracusa, A., Marcucci, F., Spinozzi, F., Marabini, A., Pettinari, L., Pace, M.L. & Tacconi, C. 2003. Prevalence of occupational allergy due to live fish bait. *Clinical and Experimental Allergy*, 33(4): 507–510.
- Spedding CRW. The effect of dietary changes on agriculture. In: Lewis B, Assmann G, eds. *The social and economic contexts of coronary prevention*. London, Current Medical Literature, 1990.
- Škrabalová, Blanka. Entomofágie - Kontumace hmyzu. *Jak na hmyz* [online]. 2009 [cit. 2020-02-13]. Dostupné z: <http://www.jaknahmyz.cz/entomofagie>
- Švejstil, R., H. Salmonová a J. Čížková, 2018. ANALYSE OF CUTANEOUS MICROBIOTA OF PIGLETS WITH HEREDITARY MELANOMA. *Animal sciences*. **49**(4), 285-290. DOI: doi: 10.2478/sab-2018-0035.
- Trevino M., Areses P., Penalver M. D., Cortizo S., Pardo F., del Molino M. L. P., Garcia-Riestra C., Hernandez M., Llovo J., Regueiro B. J.: *Anaerobe*, 18, 37 (2012).

Van Broekhoven, S., Bastiaan-net, S., De Jong, M. V. a kol. Food Chemistry. 2016. Dostupné z: file:///C:/Users/husko/Downloads/Zásilka%20+cvrček%20vonhackewitz_1_180906.pdf [cit. 3.4.2019]

Van Huis A, 2016. Edible insects are the future?. Proceedings of the Nutrition Society **75**:294–305

Van Huis A, Itterbeek JV, Klunder H, Mertens E, Halloran A, Muir G and Vantomme P, 2013. Edible insects: Future prospects for food and feed security. FAO Forestry paper, 171. Food & Agriculture Organization, Rome, Italy.

Velíšek, J. 2014. The Chemistry of Food. 1st ed. CHICHESTER, UK: John Wiley & Sons, Ltd. 348 p. ISBN 978-1-118-38381-0.

Yoon Y-I, Chung MY, Hwang J-S, Han MS et al. (2015) *Allomyrina dichotoma* (Arthropoda: Insecta) larvae confer resistance to obesity in mice fed a high-fat diet. *Nutrients* **7**, 1978–1991.

Vandeweyer D, Crauwels S, Lievens B, Van Campenhout L. 2017. Microbial counts of mealworm larvae (*Tenebrio molitor*) and crickets (*Acheta domesticus* and *Grylodes sigillatus*) from different rearing companies and different production batches. *International journal of food microbiology* **242**:13–18. Elsevier.

Wales AD, Carrique-Mas JJ, Rankin M, Bell B, Thind BB and Davies RH, 2010. Review of the carriage of zoonotic bacteria by arthropods, with special reference to *Salmonella* in mites, flies and litter beetles. *Zoonoses and Public Health*, **57**, 299–314.

WHO: Global and regional food consumption patterns and trends [online], 2020. Web: WHO [cit. 2020-06-17]. Dostupné z: https://www.who.int/nutrition/topics/3_foodconsumption/en/index4.html

9 Samostatné přílohy

Bakterie stanovené pomocí MALDI-TOF v čerstvých vzorcích jedlého hmyzu jsou uvedené v tabulce č.11.

Tabulka č.11: Výsledky identifikace pomocí MALDI-TOF (čerstvé vzorky)

Kultivační medium	Určeno na úroveň druhu	Skóre
pro Bacillus cereus	Bacillus cereus	1,984
pro Bacillus cereus	Bacillus cereus	2,082
pro Bacillus cereus	Bacillus cereus	1,886
pro Bacillus cereus	Bacillus cereus	1,955
pro bacillus	Bacillus cereus	2,101
pro bacillus	Bacillus cereus	2,052
pro bacillus	Bacillus cereus	2,057
pro bacillus	Bacillus cereus	1,904
pro anaerobní mikroorg.	Klebsiella pneumoniae	1,913
pro anaerobní mikroorg.	Klebsiella oxytoca	2,181
pro anaerobní mikroorg.	Klebsiella oxytoca	2,091
pro anaerobní mikroorg.	Enterococcus thailandicus	2,033
pro anaerobní mikroorg.	Enterococcus faecium	1,803
pro aerobní mikroorg.	Bacillus sp.	1,918
pro aerobní mikroorg.	Klebsiella oxytoca	1,895
pro klostridie	Clostridium perfringens	2,056
pro klostridie	Klebsiella pneumoniae	1,948
pro klostridie	Eubacterium tenue	1,982
pro klostridie	Lactobacillus murinus	2,158
pro klostridie	Clostridium butyricum	2,153
Kultivační medium	Určeno na úroveň rodu	Skóre
pro Bacillus cereus	Bacillus sp.	2,072
pro bacillus	Bacillus sp.	1,847
pro bacillus	Bacillus spp.	1,823
pro bacillus	Bacillus sp.	1,928
pro bacillus	Bacillus sp.	1,896
pro anaerobní mikroorg.	Enterococcus sp.	1,975
pro anaerobní mikroorg.	Enterococcus sp.	1,889

Stanovené bakterie ve vzorcích spařeného jedlého hmyzu jsou uvedené v tabulce č.12.

Tabulka č.12: Výsledky identifikace pomocí MALDI-TOF (spařené vzorky)

Kultivační medium	Určeno na úroveň druhu	Skóre
pro Bacillus cereus	Bacillus cereus	2,108
pro Bacillus cereus	Bacillus cereus	2,148
pro Bacillus cereus	Bacillus cereus	2,154
pro bacillus	Bacillus cereus	1,917
pro bacillus	Bacillus cereus	1,88
pro bacillus	Bacillus cereus	2,108
pro bacillus	Bacillus cereus	2,009
pro anaerobní mikroorg.	Bacillus cereus	1,992
pro anaerobní mikroorg.	Bacillus cereus	1,981
pro anaerobní mikroorg.	Bacillus cereus	1,982
pro anaerobní mikroorg.	Bacillus cereus	1,824
pro anaerobní mikroorg.	Bacillus cereus	1,811
pro aerobní mikroorg.	Bacillus cereus	2,047
pro klostridie	Clostridium perfringens	2,124
pro klostridie	Clostridium perfringens	2,239
pro klostridie	Clostridium sordellii	1,895
pro klostridie	Enterococcus faecalis	2,354
pro klostridie	Clostridium sordellii	1,905
Kultivační medium	Určeno na úroveň rodu	Skóre
pro Bacillus cereus	Bacillus sp.	2,051
pro bacillus	Bacillus sp.	2,001
pro anaerobní mikroorg.	Bacillus sp.	2,1
pro anaerobní mikroorg.	Bacillus sp.	2,178
pro anaerobní mikroorg.	Bacillus sp.	2,175
pro anaerobní mikroorg.	Bacillus sp.	2,018
pro aerobní mikroorg.	Bacillus sp.	1,978
pro aerobní mikroorg.	Bacillus sp.	1,936
pro aerobní mikroorg.	Bacillus sp.	1,818
pro aerobní mikroorg.	Bacillus sp.	2,097
pro aerobní mikroorg.	Bacillus sp.	1,99

pro aerobní mikroorg.	Bacillus sp.	1,885
pro aerobní mikroorg.	Bacillus sp.	2,081
pro aerobní mikroorg.	Bacillus sp.	2,034

Stanovené bakterie ve vzorcích smaženého jedlého hmyzu jsou uvedené v tabulce č.13.

Tabulka č.13: Výsledky identifikace pomocí MALDI-TOF (smažené vzorky)

Kultivační medium	Určeno na úroveň druhu	Skóre
pro klostridie	Clostridium perfringens	2,064
pro klostridie	Clostridium perfringens	2,123