

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky**



**Fakulta agrobiologie,  
potravinových a přírodních zdrojů**

**Vliv tepelného zpracování na stravitelnost a kvalitu  
proteinu u *Tenebrio molitor* a *Gryllus assimilis*  
Diplomová práce**

**Autor práce: Bc. Josef Klabík  
Obor studia: Výživa a potraviny**

**Vedoucí práce: Ing. Ivo Doskočil, PhD.**

© 2023 ČZU v Praze

## Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Vliv tepelného zpracování na stravitelnost a kvalitu proteinu u *Tenebrio molitor* a *Gryllus assimilis*" jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autor uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 30.3 2023

---

## **Poděkování**

Rád bych touto cestou poděkoval Ing. Ivu Doskočilovi PhD. za to, že mi byl při psaní této práce byl k dispozici se svou erudicí. Velký dík patří také Ing. Barboře Lampové, která jako konzultantka mé práce vyvinula značné úsilí pro její zdárné dokončení. A především ze srdce děkuji své manželce, která mě po celou dobu mých studií vytrvale podporovala.

# Vliv tepelného zpracování na stravitelnost a kvalitu proteinu u *Tenebrio molitor* a *Gryllus assimilis*.

## Souhrn

Rychlý růst světové populace s sebou nese potřebu hledat nové zdroje potravin pro člověka. Takový zdroj by měl obsahovat plnohodnotné bílkoviny a zároveň by mělo být možné ho vyprodukovat dostatečné množství s minimálním environmentálním dopadem. Tyto parametry spojuje jedlý hmyz, který je tradičně konzumován v některých částech světa. Aby však mohl být za tímto účelem hromadně chován, musí k tomu být vyvinuta potřebná technologie. S tím souvisí také výzkum nutričního profilu jednotlivých hmyzích druhů a zhodnocení zdravotních rizik, které mohou být spojeny s jejich konzumací. Je třeba také prozkoumat, jak se na celkové výživové hodnotě hmyzu projeví kulinární úpravy.

Cílem této práce bylo zhodnotit stravitelnost a kvalitu proteinu u *Tenebrio molitor* (TM) a *Gryllus assimilis* (GA). Tyto dva hmyzí druhy jsou relativně nenáročné na chovné podmínky a mají proto potenciál k využití v hromadném chovu. K určení stanovovaných hodnot byl využit *in vitro* trávicí protokol INFOGEST. Jedná se o statickou metodu trávení, jejíž největší výhodou je vedle jednoduchosti také standardizace, která umožňuje porovnání výsledků mezi laboratořemi. U všech analyzovaných vzorků byl stanoven aminokyselinový profil. Stravitelnost byla vypočtena jako podíl sumy aminokyselin v sušině natrávených a netrávených vzorků. Hodnota DIAAS byla kalkulována pomocí metodiky FAO a jako referenční skupina byla vybrána populace starší 3 let.

Stravitelnost a hodnota DIAAS byla stanovována u natrávených a nenatrávených vzorků. Analyzován byl hmyz v syrovém stavu a dále po uvaření, pražení, sušení a mikrovlnném ohřevu. V každé kategorii byl analyzován jeden vzorek. Z hlediska stravitelnosti se jako nejvhodnější metoda kulinární úpravy ukázalo sušení, kdy u *T. molitor* dosahovala 94,17 % a u *G. assimilis* 84,01 %. Nejvyšších hodnot DIAAS bylo dosaženo u obou hmyzích druhů po uvaření, kdy u TM dosahovala hodnoty 100,94 a u GA 105,20. U obou hmyzích druhů byly limitujícími sирné aminokyseliny. Většina kulinárních úprav vedla ke zvýšení hodnoty stravitelnosti a DIAAS, nedocházelo však k výrazným změnám. Naše závěry potvrzují údaje uvedené v odborné literatuře, které popisují vysokou kvalitu hmyzího proteinu a relativně malý vliv tepelných úprav na jeho kvalitu a využitelnost. Relevance našich výsledků je však omezena nízkým množstvím zpracovaných vzorků.

**Klíčová slova:** *In vitro* trávení; INFOGEST; aminokyseliny; kulinární úpravy; jedlý hmyz

# Effect of heat treatment on protein digestibility and quality in *Tenebrio molitor* a *Gryllus assimilis*.

## Summary

The rapid growth of the world's population brings the need to find new food sources for men. Such a source should contain high-quality protein, and at the same time, it should be possible to produce it in an adequate amount with minimal environmental impact. Edible insects, which are traditionally consumed in some parts of the world, meet these demands. But before it can be reared on a large scale, the necessary technology has to be developed. That is related to the research of the nutritional profile of the insect species and the assessment of health risks connected with their consumption. The impact of culinary preparation on the nutritional value of the insects has to be examined as well.

This work aimed to assess the digestibility and quality of protein in *Tenebrio molitor* (TM) and *Gryllus assimilis* (GA). These two insect species don't have big demands on the rearing conditions and thus have a big potential for rearing on a large scale. The in vitro digestion protocol INFOGEST was used to determine selected values. It is a static model of digestion whose biggest asset is its simplicity and standardization, which enables the comparison of results between laboratories. In all samples, the amino acid profile was analysed. The digestibility was calculated as a ratio of the sum of the amino acids in the sample's dry matter before and after digestion. The DIAAS value was calculated based on the FAO methodology, and as a reference group, the population older than 3 years was selected.

The digestibility and the DIAAS value were determined in the digested and undigested samples. The insects were analysed as raw, cooked, roasted, dried and microwaved. Only one sample was analysed for each category. Regarding digestibility, the best culinary preparation was drying for both species, with a value of 94,17 % for *T. molitor* and 84,01 % for *G. assimilis*. In both species, the highest values of DIAAS were measured after cooking, with 100,94 for TM and 105,20 for GA. In both cases, limiting were the sulfuric amino acids. Most of the culinary preparations led to an increase in digestibility and DIAAS, but the changes weren't significant. Our results confirm the published scientific literature data, which describes the high quality of insect protein and the relatively small effect of heat processing on its quality and availability. However, the relevancy of our results is limited by the low number of analysed samples.

**Keywords:** *In vitro* digestion; INFOGEST; amino acids; culinary preparation; edible insects

# Obsah

<b>1 Úvod .....</b>	<b>7</b>
<b>2 Vědecká hypotéza a cíle práce .....</b>	<b>8</b>
<b>3 Literární rešerše.....</b>	<b>9</b>
<b>3.1 Hmyz ve výživě člověka .....</b>	<b>9</b>
3.1.1 Enviromentální dopady chovu hmyzu .....	10
3.1.2 Zdravotní rizika spojená s konzumací hmyzu .....	12
<b>3.2 Výživové hodnoty hmyzu.....</b>	<b>12</b>
3.2.1 Tuky a sacharidy .....	13
3.2.2 Mikroživiny .....	14
3.2.3 Bílkoviny .....	15
3.2.4 Chemické složení <i>Tenebrio molitor</i> .....	16
3.2.5 Chemické složení <i>Gryllus assimilis</i> .....	18
<b>3.3 Stanovení kvality proteinu .....</b>	<b>18</b>
3.3.1 Protein digestability-corrected amino acid score (PDCAAS) .....	19
3.3.2 Digestible indispensable amino acid score (DIAAS) .....	20
3.3.3 Hodnota DIAAS u vybraných potravin .....	22
3.3.4 Stravitelnost hmyzího proteinu a vliv tepelné úpravy .....	25
3.3.5 Vliv metody usmrcení na nutriční hodnotu hmyzu .....	27
<b>3.4 Protokol <i>in vitro</i> trávení INFOGEST .....</b>	<b>27</b>
<b>4 Metodika .....</b>	<b>30</b>
<b>4.1 Materiál.....</b>	<b>30</b>
4.1.1 Příprava vzorků.....	30
4.1.2 Model trávení INFOGEST .....	31
<b>5 Výsledky.....</b>	<b>33</b>
<b>5.1 Profil aminokyselin zkoumaných druhů hmyzu .....</b>	<b>33</b>
<b>5.2 Stravitelnost bílkovin v závislosti na druhu hmyzu a tepelné úpravě.....</b>	<b>36</b>
<b>5.3 Hodnota DIAAS v závislosti na druhu hmyzu a tepelné úpravě .....</b>	<b>39</b>
<b>6 Diskuze .....</b>	<b>43</b>
<b>7 Závěr .....</b>	<b>47</b>
<b>8 Literatura.....</b>	<b>48</b>

# 1 Úvod

S ohledem na předpokládaný růst světové populace a s ním související požadavek na zabezpečení dostatečného nutričního příjmu vzniká tlak na celosvětové zvýšení produkce potravin. Současně s rostoucí populací a zvyšujícími nároky dochází k úbytku úrodné půdy umožňující produkovat dostatečné množství potravin. Předpokládá se, že celkové požadavky na produkci bílkovin vzrostou do roku 2050 až o 76 %. Současným trendem v agrárním sektoru je snaha produkovat co největší množství kvalitních potravin na jednotku plochy. Na zemědělskou činnost se zároveň uplatňují stále přísnější požadavky z Evropské unie, které nutí zemědělce zcela nesmyslně omezovat použití hnojiv či pesticidů. Jedním z možných řešení hrozící alimentární krize je využití jedlého hmyzu v masovém měřítku. Ten se v některých oblastech Afriky a Číny řadí mezi tradiční pokrmy, v Evropě je to stále netradiční součást jídelníčku omezeného počtu osob.

Ve vědeckých kruzích je mu však už několik let věnována zvýšená pozornost a zájem stále narůstá. V roce 2021 bylo na Web of Science k tématu “jedlý hmyz“ publikováno téměř čtyři sta článků. Za rok 2016 jich byla zveřejněna pouze čtvrtina. Hmyz má totiž oproti tradičně chovaným zvířatům řadu výhod. K produkci ekvivalentního množství bílkovin je třeba méně vody a krmiva než u skotu. Vedle toho nedochází při chovu k produkci skleníkových plynů a je realizovatelný i ve vertikálním uspořádání, čímž efektivně využívá prostor. Zkoumá se také využití vedlejších produktů potravinového průmyslu jako chovného substrátu, což by vedlo ke zvýšení efektivity produkce. Vedle toho hmyzí výkaly představují kvalitní hnojivo, deriváty exoskeletonu (chitosan) zase vhodné krmné aditivum, které u dobytka snižuje emise methanu.

Před tím, než bude možné hmyz ve velké míře využívat k výživě člověka, je třeba vyvinout technologii pro masový chov. V první řadě je však nutné provést analýzy nutričních hodnot a zhodnotit rizika spojená s konzumací hmyzu. Z hlediska lidské nutriční je hmyz velice slibným zdrojem živin, který se kvalitativně vyrovná masu hospodářských zvířat. Konkrétní chemické složení hmyzu z hlediska makronutrientů a mikronutrientů je zatím prozkoumáno jen málo. Situace je komplikována tím, že jedlých hmyzích druhů jsou stovky (udává se 2 000 jedlých druhů) a jejich chemické složení se liší dle užitého chovného substrátu a životního stádia daného druhu (larva, dospělec). Stejně jako u ostatních potravin je výživová hodnota hmyzu ovlivněna zvoleným způsobem kuchyňské úpravy, která ovlivňuje stravitelnost jednotlivých živin. U bílkovin dochází k denaturaci, ale také k ireversibilním reakcím s ostatními živinami, po kterých se stávají nestravitelnými. Širší využití jedlého hmyzu ve výživě populace tedy vytváří nutnost prozkoumat vliv jednotlivých metod přípravy na jeho výživovou hodnotu.

## **2 Vědecká hypotéza a cíle práce**

Hypotéza: Způsob tepelného zpracování bude mít zásadní vliv na stravitelnost proteinů a jednotlivých aminokyselin při průchodu trávicím traktem.

Cílem práce je pomocí statického modelu in vitro trávení INFOGEST zpracovat rozdílně tepelně upravené vzorky jedlého hmyzu a následně stanovit obsah aminokyselin. Poté ze získaných hodnot určit stravitelnost hmyzího proteinu.



## 3 Literární rešerše

### 3.1 Hmyz ve výživě člověka

Člověk pro svou obživu v současnosti využívá asi 2000 druhů hmyzu. Nejpestřejší zastoupení jedlého hmyzu se nachází v Jižní Americe, v Asii a Africe. Mezi nejčastěji konzumovaný hmyz patří zástupci řádů *Orthoptera* (rovnokřídli); *Lepidoptera* (motýli) a *Coleoptera* (brouci) (Villaseñor et al. 2021). Konzumovaný hmyz tvoří z 31 % brouci, z 18 % housenky (vývojové stádium motýlů), z 15 % blanokřídli (včely, mravenci) a z 13 % zástupci rovnokřídých, jako je cvrček nebo kobylka. Na zbylé druhy připadá asi 23 % z celkově zkonsumovaného množství hmyzu (Van Huis 2016). Výčet je takto široký, pokud bereme v úvahu volný sběr hmyzu v přírodě. Počet druhů hmyzu využívaných k intenzivnímu chovu je výrazně nižší a představuje ho zejména *Acheta domesticus*, *Locusta migratoria*, larvální stádium *Tenebrio molitor* a *Hermetia illucens* (Huang et al. 2019; Van Huis 2020b).

Entomofágie (pořádání hmyzu) je praktika provozována celé lidské dějiny. Je možné o ní najít zmínky v textech Staré Číny nebo Bibli (kniha Leviticus 11:22) (Villaseñor et al. 2021). V Evropské unii (EU) se hmyz řadí mezi tzv. nové potraviny (novel foods). To jsou komodity, které se na evropském trhu nevyskytovaly před rokem 1997. K této kategorii potravin se vztahuje Nařízení evropského parlamentu a rady 2015/2283. V roce 2021 byl Evropskou komisí prováděcím nařízením 2021/882 schválen prodej sušených larev *T. molitor*.

#### Výskyt entomofágie

Hmyz a hmyzí produkty se v posledních letech stávají předmětem intenzivního vědeckého bádání a veřejné diskuze. Dokládá to například založení odborného periodika *Insect as Food and Feed* v roce 2015 (Van Huis 2016). V České republice se spotřebiteli postupně nabízí přístup k hmyzím produktům všeho druhu (WormUp 2022). Rozšíření hmyzu jako běžné potraviny však stále brání četné překážky (Van Huis 2016). Hmyz je ve velkém konzumován v tropických oblastech, jako jsou deštné pralesy a pouště. V těchto oblastech je vlivem příznivého podnebí velká druhová pestrost hmyzu a nabízí tak člověku řadu možností k jeho volnému sběru. Hmyz v chladnějších oblastech je menšího vzrůstu (to souvisí s horším transportem kyslíku ve vzdušnicích) a navíc není dostupný celoročně (Van Huis 2016). Dle Lesnik (2017) se na odporu k entomofágii podílí skutečnost, že hlavním způsobem obživy bylo v těchto oblastech (tj. v Evropě) vždy zemědělství a hmyz je zde vnímán především jako škůdce. Z pohledu kolonialistů se pak jednalo o potravu typickou pro chudé oblasti. Van Huis (2016) uvádí, že vyspělost státu opravdu negativně koreluje s mírou konzumace hmyzu. Zajímavostí je, že s pronikáním západního způsobu stravování do těchto států se začíná objevovat také averze k entomofágii, ačkoliv je místní gastronomii vlastní.

Wassman et al. (2021) se zabývali v metaanalýze faktory, které se podílejí na ochotě respondentů konzumovat hmyz. Užili k tomu ukazatel willingness to consume (WTC). Výsledky ukazují, že nejvyšší vliv na preference konzumentů měly negativní, citově zabarvené reakce. Hmyz u velké části z nich vyvolával znechucení, které bylo doplněno strachem z nového (neofobie). Na základě tohoto výzkumu autoři navrhuji, jakým způsobem do budoucna zvýšit atraktivitu hmyzu jako potraviny. V první řadě je dle výzkumníků třeba potlačit u veřejnosti strach z neznámého. Toho by se mělo dosáhnout zviditelněním

problematiky v médiích, uspořádávání ochutnávek a neustálé zdůrazňování výživových a environmentálních benefitů spojených s konzumací hmyzu, v kterých spočívají jeho největší přednosti. Studie Verneau et al. (2016) provedená italskými výzkumníky z Neapole ukázala, že po dostatečném vysvětlení problematiky jsou jedinci ochotni potlačit svůj odpor k hmyzím produktům a změnit svoje preference kvůli zájmu společnost. Z těchto důvodů má hmyz potenciál oslovit jedince, kteří se zajímají o zdravý životní styl a biopotraviny. Tento aspekt spojený s konzumací hmyzu je však třeba osvětlit široké veřejnosti. S touto osvětlovou činností by bylo vhodné začít již od útlého věku a tím postupně měnit společenské preference. Ukazuje se totiž, že WTC stoupá s předchozí zkušeností strávníka s touto komoditou. U lidí, kteří se s hmyzem ve svém jídelníčku nikdy nesetkali, lze předpokládat nejvyšší stupeň odporu (Wassmann et al. 2021). Ten je obzvláště vysoký u seniorů (nad 65 let) a malých dětí. Naopak u adolescentů a lidí středního věku ochota konzumovat hmyz stoupá. Ukazuje se, že na WTC má také vliv nejvyšší dosažené vzdělání. U vysokoškolsky vzdělaných respondentů byla zaznamenána větší otevřenost vůči konzumaci hmyzu. Vliv pohlaví je však překvapivě zanedbatelný (Grasso et al. 2019; Dupont & Fiebelkorn 2020).

V případě zvýšení oblíbenosti hraje významnou úlohu marketing. Jeho cílem by mělo být atraktivnit jedlý hmyz ať už volbou vhodných obalů nebo vyvinutím „líbivějších“ názvů komodit. Zákazník je často odrazen již samotným jménem produktu a ani neuvažuje o koupi. Důležitou roli hraje také forma, ve které se hmyz v potravině vyskytuje. Spotřebitelé jsou obecně více nakloněni konzumovat hmyzí produkty, které jsou součástí jinak běžné potravin (Wassmann et al. 2021). To je specifikum spotřebitelů Západu. V Číně, kde je hmyz tradičním pokrmem, nemá jeho nabízená forma vliv na preference spotřebitele (Verneau et al. 2016). Právě proto představuje kategorie zpracovaných hmyzích produktů (packaged processed insects - PPI) jeden z prvních kroků, jak oslovit touto potravinou nové zákazníky. Posledních deset let vzniklo v Evropě a USA velké množství startupů, které tyto výrobky nabízí (Reverberi 2021). Výjimku v tomto trendu nepředstavuje ani Česká republika (WormUp 2022). Základem PPI je různé množství přidané hmyzí mouky (též nazývané hmyzí prášek). V současnosti lze na trhu zakoupit masové kuličky, těstoviny nebo suchary obsahující její podíl. Vyrábí se nejčastěji z farmově chovaného cvrčka domácího nebo potěmníka moučného (Reverberi 2021). Podstatnou úlohu v popularizaci hmyzu jako potravin hrají také slavní kuchaři, kteří poukazují na jeho využití v gastronomii (Van Huis 2016).

Dle studie Adánek et al. (2018) v České republice by se respondenti nebránili konzumaci proteinových tyčinek s přídavkem hmyzího proteinu. Studie však měla méně než 100 účastníků a týkala se věkové kategorie 20-29 let. V rámci Evropy zkoumal vztah dotázaných ke konzumaci jedlého hmyzu Mancini et al. (2019). Populace Švédska a Finska jsou například entomofágie více nakloněné než německé a české. Celkově však autoři soudí, že heterogenita studií je příliš velká a bylo jich provedeno příliš málo na to, než aby bylo možné vyvozovat konkrétnější závěry. Celkově je u evropské populace hmyz považován za exotickou novinku, kterou čeká ještě dlouhá cesta k tomu, aby se stala masivně konzumovanou.

### **3.1.1 Environmentální dopady chovu hmyzu**

I přes odpor části veřejnosti ke konzumaci hmyzu představuje šetrnost jeho masivního chovu jeden z hlavních argumentů, proč se zaměřit na vyšší míru užívání této komodity. V současné době je to předmětem rozsáhlého výzkumu, a ačkoliv je možné říct, že intenzivní

chov hmyzu je oproti běžným hospodářským zvířatům šetrnější k životnímu prostředí, nemusí to být ve všech případech pravda. Celkový dopad na životní prostředí je také ovlivněn způsobem, jakými je hmyzí biomasa dále zpracovávána (Halloran et al. 2018). Berggren et al. (2019) dokonce upozorňují na to, že plně rozvinutý intenzivní chov hmyzu může být při zanedbání důležitých otázek stejně zatěžující pro životní prostředí jako chov tradičních hospodářských zvířat. Jednou z největších výhod chovu hmyzu je efektivní konverze krmiva (Feed conversion Ratio – FCS). Ta udává množství krmiva, které je třeba podat k dosažení přírůstku 1 kg hmotnosti. Vysoká efektivita je způsobena mimo jiné tím, že je hmyz poikilotermní (nemá stabilní tělesnou teplotu a nemusí tedy využívat energii na její udržování). V tomto ohledu hmyz předčí ostatní hospodářská zvířata (van Broekhoven et al. 2015). U hmyzu jsou však v rámci FCS velké mezidruhové a vnitrodruhové rozdíly. Především se liší schopnost konverze krmiva v závislosti na životním stádiu jedince (larva/dospělec). FCS také závisí na chovných podmínkách a užitém krmivu (Berggren et al. 2019).

Jedním z hlavních ekologických problémů chovu hospodářských zvířat je nutnost produkce krmiva na osevních plochách, které by jinak mohly sloužit k pěstování plodin k výživě člověka (Berggren et al. 2019). To je třeba zohlednit při zkoumání nákladů chovu. Pro příklad uveďme, že voda použitá k zavlažování zemědělských plodin pěstovaných jako krmivo pro zvířata představuje 7 % z celkové spotřeby vody zemědělským sektorem (Halloran et al. 2018). Přezvýkavci jsou sice schopni přeměnit pro člověka nestrávitelnou celulózu a hemicelulózu na kvalitní zdroj bílkovin, to je však vykoupeno emisemi skleníkových plynů. V rámci sektoru chovu hospodářských zvířat je asi 70 % emisí produkováno chovem skotu. Z toho 40 % emisí vznikajících chovem dobytka má svůj původ ve fermentačních procesech žaludku. Nejvýznamnějším skleníkovým plynem produkováným skotem je metan. Dochází ale také k tvorbě oxidu uhličitého a dusného, které se také podílejí na skleníkovém efektu (Herrero et al. 2016). Naproti tomu emise skleníkových plynů u běžně chovaných druhů hmyzu (*L. migratoria*, *A. domesticus*, *T. molitor*) jsou zanedbatelné (Ooninx et al. 2010).

Dalším aspektem je celkově nižší spotřeba vody v porovnání s běžnými hospodářskými zvířaty. Některé pouštní druhy hmyzu jsou dokonce schopné přežít pouze s pomocí metabolické vody (vzniká jako vedlejší produkt metabolismu). I u více náročných druhů hmyzu badatelé očekávají, že spotřeba vody bude v intenzivních chovech výrazně nižší (Halloran et al. 2018). Nízká spotřeba vody je dána mimo jiné skutečností, že hmyz nemusí v rámci termoregulace využívat perspiraci k udržení stálé tělesné teploty (Clarkson et al. 2018). Z hlediska rizika znečištění podzemních a povrchových vod vyžaduje však masový způsob produkce stejná opatření, jako u ostatních metod chovu hospodářských zvířat (Halloran et al. 2018).

Metabolismus hmyzu a jeho mikrobiota představují možnost využití zdrojů krmiva pro jiné živočichy jedovatých nebo nestrávitelných (Berggren et al. 2019). Další odlišností od ostatních hospodářských zvířat je míra využití jatečných těl. U cvrčka domácího lze konzumovat až 80 % živé váhy, což představuje významný rozdíl proti drůbežímu a vepřovému masu (55 % živé váhy) a hovězímu masu (40 % živé váhy). Hmyz se také rychleji množí, což lze ilustrovat na cvrčku domácím, který za jeden měsíc naklade i 1 500 vajíček (Churchward- Venne et al. 2017). Je ale nutné podotknout, že koncentrace velkého množství hmyzí biomasy v sobě skrývá hrozbu úniku hmyzu do okolí a vzniku ekologické katastrofy (Berggren et al. 2019).

### 3.1.2 Zdravotní rizika spojená s konzumací hmyzu

K bezpečnosti konzumace jedlého hmyzu se v roce 2015 vyjádřil Evropský úřad pro bezpečnost potravin (EFSA). Za hlavní faktor ovlivňující zdravotní nezávadnost hmyzích produktů označil substrát, na kterém je hmyz chován. Dle oficiálního vyjádření při užití standartních krmiv, schválených pro živočišnou výrobu, by konzumace hmyzu neměla představovat pro spotřebitele zvláštní riziko. To ale pro nedostatek informací neplatí při použití odpadů a vedlejších produktů potravinářského průmyslu jako krmného substrátu. Z tohoto důvodu jejich použití pro chov hmyzu zatím v EU není povoleno (Finke et al. 2015).

Z mikrobiologického hlediska je možné konstatovat, že hmyzí patogeny nejsou přenosné na člověka z důvodu fyziologických odlišností členovců a obratlovců. Mikrobiologická bezpečnost je dále zvýšená tepelnou úpravou a skutečností, že u většiny hmyzu kulinární úprava zahrnuje také vykuchání (Van Huis et al. 2013). Hmyz však stále může sloužit jako vektor pro člověka patogenních mikroorganismů, jako je *Pseudomonas spp.*, *Bacillus spp.*, nebo *Campylobacter spp.* Nebezpečnost těchto bakteriálních agens je však snížena tím, že se v gastrointestinálním traktu hmyzu nedovedou množit (Mézes 2018). Jisté nebezpečí může u konzumace hmyzu představovat akumulace rizikových prvků, jako je kadmium, olovo nebo rtuť. Významná akumulace kadmia byla zaznamenána v pokusném chovu *T. molitor* či *H. illuciens* (Meyer et al. 2021). Rizikové prvky se u hmyzu ukládají v tukové tkáni, exoskeletu, střevech a reprodukčních orgánech (Mézes 2018). Alergie na hmyz jsou popsány zejména u jedinců, kteří jsou s ním v častém kontaktu, jako jsou pracovníci v zemědělství nebo entomologové. K rozvoji alergií u nich dochází opakovaným kontaktem s hmyzími těly a vdechováním prachu, který obsahuje např. hmyzí výkaly. Alergie, která vzniká jako důsledek konzumace hmyzu, jsou však výrazně méně zdokumentovány (Van Huis et al. 2013). Nelze však vyloučit výskyt tzv. křížové reaktivity, kdy je alergická reakce jedince vyvolána strukturálně podobným alergenem. Tropomyozin, který se nalézá u krevet i švábů, může být takovou molekulou. U jedince citlivého na korýše by pak konzumace hmyzu mohla vyvolat alergickou reakci (Mézes 2018). Podobně jako analýzy enviromentálních dopadů vyžaduje posouzení bezpečnosti konzumace hmyzu další výzkum. Přesto EFSA uvádí, že rizika spojená s entomofágií jsou srovnatelná s konzumací jiných živočišných produktů a v některých aspektech mohou být pro konzumenta dokonce nižší (Finke et al. 2015).

## 3.2 Výživové hodnoty hmyzu

Kvůli druhové pestrosti (více než 2000 jedlých druhů) je velice obtížné sestavit tabulky s výživovými hodnotami hmyzu. Mezi nejprobádanější druhy v tomto ohledu patří *A. domesticus*, *L. migratoria*, *T. molitor*. Vedle těchto tří je vůbec nejpopsanějším druhem mucha černá (*Hermetia illucens*) (Van Huis 2020a). Krom vývojového stádia nutriční hodnotu hmyzu ovlivňuje prostředí chovu. Největší vliv na složení hmyzu má vzdušná vlhkost, fotoperioda a teplota (Van Huis 2016). Pokusy ukázaly, že vystavením ultrafialovému záření lze u *L. migratoria*, *A. domesticus* a *T. molitor* indukovat produkci vitamínu D. Tuto syntézu je možné do jisté míry posílit zvýšením intenzity ozařování (Oonincx et al. 2018).

### 3.2.1 Tuky a sacharidy

Z hlediska nutriční je u jedlého hmyzu příznivý obsah a složení tuku. Ten může u některých brouků (*Coleoptera*) dosahovat až 33 % sušiny. U larev brouka *Rhynchophorus ferrugineus* mohou lipidy tvořit až 67 % sušiny (Van Huis 2016). Mezi hmyz s největším obsahem tuku patří larvální stádium řádu motýlů (*Lepidoptera*), neboli housenky. V sušině larev mūr rodu *Phasus spp.* bylo zaznamenáno 77 % tuku v sušině (Ramos-Elorduy et al. 1997). U *Rhynchophorus phoenicis* (*Coleoptera*) a *Polistes instabilis* (Hymenoptera – blanokřídli) bylo naměřeno v sušině 69 % tuku (Rumpold & Schlüter 2013). Larvální stádia hmyzu mají zpravidla vyšší obsah lipidů než dospělí jedinci téhož druhu. To je vysvětlováno potřebou energetických zásob nutných pro zdárný vývoj v imágo (Payne et al. 2016). Vedle obsahu tuku je významné především zastoupení obsažených nenasycených mastných kyselin (MK). Poměr n-6 ku n-3 MK se nejvíce odvíjí od zvoleného krmiva užitého v chovu. Při vhodném složení krmného substrátu lze dosáhnout poměru n-6 : n-3 až pět ku jedné, což se blíží doporučeným výživovým hodnotám pro člověka (Van Huis 2020b). Kvalitativní složení MK v hmyzím tuku je srovnatelné s rybím nebo drůbežím masem. Hmyzí tuková tkáň je však bohatší na polynenasycené mastné kyseliny (PUFA) (Van Huis 2016). Ne všechny druhy hmyzu však mají pro člověka příznivé složení MK. Larvy *Rhynchophorus ferrugineus* nebo zástupci rodu *Macrotermes spp.* (termity) jsou bohatým zdrojem nasycených mastných kyselin. Tím je ilustrována skutečnost, jak moc se jednotlivé druhy hmyzu liší ve svém složení a vhodnosti pro pravidelnou konzumaci (Payne et al. 2016)

Stejně jako ostatní živočišné potraviny není hmyz významným zdrojem sacharidů. Na rozdíl od nich však představuje pro člověka zdroj vlákniny. Ta je představována především chitinem, což je polymer *N*-acetylglukosaminu a je po celulóze druhou nejhojněji zastoupenou chemickou sloučeninou na Zemi (Van Huis 2020b). Chitin je svou strukturou podoben celulóze a řadíme ho taktéž mezi její nerozpustné formy. Je součástí exoskeletu všech členovců, pokrývá jejich dýchací cesty a trávicí trakt (Van Huis 2020b; Stull 2021). Více chitinu je u dospělých jedinců, protože jejich vnější kostra je plně vyvinutá. Tvrdost kutikuly se ale odvíjí především od množství v ní deponovaných bílkovin, které zvyšují stupeň sklerotizace. Při stanovení vlákniny je u hmyzu vedle té acidodetergentní a neutrálně detergentní nutné stanovit ještě frakci acidodetergentní vlákniny vázající bílkoviny. Množství chitinu a jeho vliv na stravitelnost bílkovin reprezentuje nejlépe velikost acidodetergentní vlákniny, která chitin obsahuje (Finke 2007; Marono et al. 2015; Nowak et al. 2016). V *in vitro* podmínkách byla prokázána negativní korelace mezi množstvím chitinu a stravitelností přítomného proteinu (Marono et al. 2015). Nicméně v krmném *in vivo* pokusu na drůbeži se chitin uvádí pouze jako jeden z možných faktorů, který snižuje stravitelnost bílkovin. Zpomalení růstu brojlerů pozorováno nebylo. Naopak se výskytu chitinu v krmivu přičítala větší odolnost kuřat k nemocem (De Marco et al. 2015; Bovera et al. 2015) Deacetylací chitinu vznikají jeho rozpustnější formy – chitosan a další chitoooligosacharidy (COS). Chitosan je touto cestou připravován průmyslově jako aditivum do krmiv, tato reakce probíhá ale také v lidském tlustém střevě. COS jako skupina látek je intenzivně zkoumána pro své pozitivní dopady na zdraví lidí, zvířat i rostlin (Haryati et al. 2019; Van Huis 2020b; Stull 2021). U člověka se předpokládá jejich protinádorové, antikoagulační a protizánětlivé působení. Vedle toho pravděpodobně přispívají ke snížení krevního tlaku, zvyšují glukózovou toleranci a sekreci insulinu. Jedním

z mechanismů účinku je zřejmě modulování střevní mikrobioty. Proto se chitosan řadí mezi prebiotika. Potlačuje růst některých patogenů (*Clostridium perfringens* nebo *Vibrio cholerae*) a naopak podporuje růst člověku prospěšných bakterií, jako je například *Bifidobacterium animalis* (Van Huis 2020b; Stull 2021). *In vitro* pokusy naznačují, že adice chitosanu do krmiv přežvýkavců by mohla snižovat produkci methanu. U laboratorního modelu bachoru došlo adicí chitosanu k modulaci fermentačních procesů a omezení jeho tvorby. U fermentujících bakterií dochází přítomností chitosanu (nebo chitinu) k omezení tvorby acetátu a zvýšení produkce propionátu. Acetát v metabolických drahách slouží jako donor vodíku pro vznik molekuly methanu. Snížením jeho tvorby tedy dochází také k omezení produkce tohoto skleníkového plynu v bachoru přežvýkavců (Haryati et al. 2019). U drůbeže fortifikace krmiva chitosanem zlepšila konverzi krmiva a snížila ukládání abdominálního tuku. Ten je u drůbeže nežádoucí, protože nezvyšuje tržní hodnotu prodávaného masa a představuje pro producenta ztrátu. Vedle toho byla u pokusných skupin brojlerů pozorována výrazně nižší úmrtnost oproti ptactvu, které chitosan v krmivu nepřijímalo (Lokman et al. 2019).

### 3.2.2 Mikroživiny

Hmyz je obecně považován za zdroj minerálních látek jako je draslík, fosfor, mangan, měď a selen (Stull 2021). Cvrček domácí, kobylky a některé housenky navíc představují bohatý zdroj vápníku (Akhtar & Isman 2018). U druhů obsahujících nižší množství požadovaného prvku lze jeho množství v sušině zvýšit použitím speciálních krmiv. Tato metoda se nazývá gut-loading a hmyz je při ní těsně před porážkou nakrmen substrátem s vysokým obsahem požadované živiny. Do potraviny je pak zpracován i s vnitřnostmi (Nowak et al. 2016). Z hlediska lidské výživy spočívá přednost hmyzu ve vysokém množství obsaženého zinku a železa (Stull 2021). Vzhledem k tomu, že až 17 % světové populace trpí nedostatkem zinku a 25 % nedostatkem železa, může představovat zařazení hmyzu do jídelníčku jedno z řešení tohoto problému (Van Huis 2016). Celkový obsah železa a zinku je u hmyzu větší, než ve stejné hmotnosti drůbežního nebo hovězího masa. V sušině (100 g) sarančete stěhovavého bylo detekováno množství železa v rozmezí 8–20 mg. To může představovat až trojnásobek množství vyskytujícího se v sušině hovězího masa (6 mg/100 g). Larvy bráněnek (*Diptera*) obsahují oproti hovězímu masu sedmdesátkrát více vápníku a dvojnásobné množství hořčíku a zinku (Akhtar & Isman 2018). Železo se na rozdíl od jiných živočišných produktů nevyskytuje v hemové, ale v zásobní formě – ferritinu a holoferritinu. Jako součást hemu se železo u hmyzu nachází pouze v cytochromech. Dostupnost obou minerálních látek je srovnatelná s dostupností z jiných živočišných zdrojů. Hmyzí prášek tak představuje vhodný způsob fortifikace rostlinných výrobků jako jsou například obilné mouky (Stull 2021). Hmyz je také dobrým zdrojem vitaminů skupiny B, jako je listová kyselina, pyridoxin, riboflavin, pantotenová kyselina a kobalamin (Nowak et al. 2016). Cvrček domácí obsahuje na 100 g sušiny 8 µg vitamínu B<sub>12</sub>, což představuje asi čtyřnásobek doporučené denní dávky (EFSA 2019; Stull 2021). Larvy bráněnek obsahují 15× více thiaminu a 9× více riboflavinu než hovězí maso v ekvivalentním množství (Akhtar & Isman 2018). Naopak na askorbovou kyselinu, vitamin E, a retinol jsou hmyzí produkty zpravidla chudé (Ayensu et al. 2019).

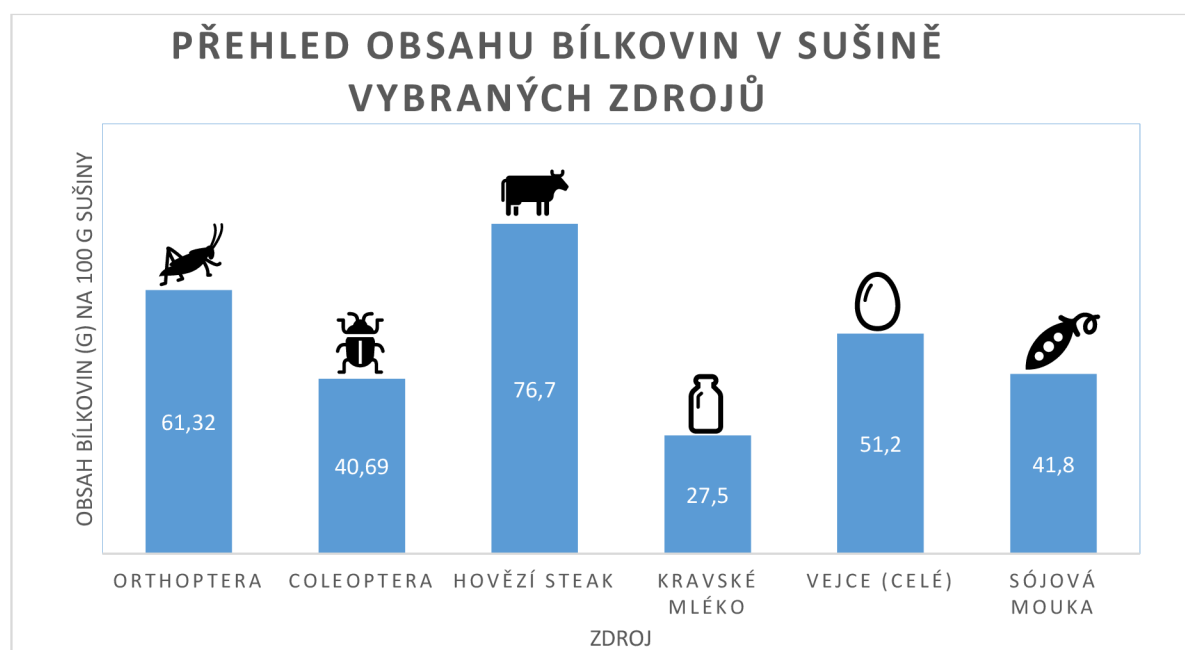
### 3.2.3 Bílkoviny

Při stanovování hmyzích bílkovin je třeba dbát na specifika stavby hmyzího těla. V chitinu je totiž navázáno 3-9 % celkového dusíku (Nowak et al. 2016). Bílkovinná složka chitinu spojuje jednotlivá chitinová vlákna reakcí funkčních skupin s přítomnými chinony. V procesu sklerotizace (tvrdnutí exoskeletonu) množství proteinů přibývá (Jonas-Levi & Martinez 2017). Při stanovení hrubé bílkoviny (celkové množství dusíku) je započítáván dusík vázaný také v exoskeletu, zejména ve frakci acidodetergentní vlákniny. Tuto skutečnost je třeba respektovat a po měření provést korekci (Finke 2007; Nowak et al. 2016). Toho lze dosáhnout například snížením konverzního faktoru z 6,25 na 4,76. Bez tohoto kroku může dojít k nadhodnocení obsahu bílkovin u některých druhů až o 20 % (Manditsera et al. 2019a). Pro výpočet hrubé bílkoviny cvrčka domácího doporučují Ritvanen et al. (2020) konverzní faktor 5,0. Množství chitinu na 1 kg sušiny se pohybuje v rozmezí 11,6 až 137,2 mg v závislosti na druhu a vývojovém stádiu hmyzu (Churchward-Venne et al. 2017). Ačkoliv u dospělých jedinců nacházíme větší množství chitinu než u mladších vývojových stádií, u larev je situace složitější. Tvrdost jejich kutikuly se odvíjí od dokonalosti přeměny. Larvy hmyzu s neúplnou přeměnou (hemimetabolobní), jako jsou například kobylky, mají v exoskeletu vyšší množství chitinu než larvy druhů s přeměnou dokonalou (holometabolobní), jako je např. moucha (Jonas-Levi & Martinez 2017).

Celkový obsah bílkovin u živého hmyzu se pohybuje v hodnotách od 7 do 41 %. To v některých případech překonává jiné živočišné zdroje (cca 25 % bílkovin u hovězího masa) (Churchward-Venne et al. 2017). Přehled obsahu bílkovin v sušině u vybraných zdrojů zobrazuje graf 1. Jejich stravitelnost pak opět závisí na konkrétním druhu hmyzu, protože se proteiny váží na exoskelet tvořený z chitinu. Takto vázané bílkoviny jsou potom člověku nedostupné. Vazba bílkovin na chitin snižuje biologickou dostupnost oproti jiným živočišným zdrojům nebo proti kvalitnímu rostlinnému proteinu, jaký představuje sója. I přes tato omezení je obecně stravitelnost hmyzích bílkovin považována za dobrou. Negativní vliv chitinu na stravitelnost je navíc možné odstranit jeho extrakcí za přípravy bílkovinného izolátu (Rumpold & Schlüter 2013; Van Huis 2016; Stull 2021). To potvrzuje také provedená studie stravitelnosti syrovátkového, sójového a hmyzího prášku u lidí. V experimentu byla měřena postprandiální hladina aminokyselin (AMK) v krvi v průběhu dvou hodin po konzumaci. Nejrychleji se vstřebával syrovátkový protein. Sledované hodnoty esenciálních a rozvětvených AMK dosahovaly po jeho konzumaci nejvyšších hodnot. Co do obsahu AMK byl hmyzí prášek srovnatelný se sójovým. Ze tří testovaných doplňků se však vstřebával nejpomaleji. Tuto skutečnost výzkumníci přisuzují obsaženému chitinu (Vangsoe et al. 2018).

Nejlepším zdrojem proteinu z hmyzí říše jsou členové řádu *Orthoptera*, jako je cvrček domácí nebo saranče stěhovavé. Jejich sušina je z 60 % tvořena bílkoviny. Z hlediska aminokyselinového složení jsou nejhojněji zastoupeny fenylalanin a tyrosin. Nejmenší zastoupení má v hmyzím proteinu naopak cystein a methionin. Lze konstatovat, že hmyzí protein splňuje výživová doporučení WHO pro příjem AMK (Rumpold & Schlüter 2013; Oibiokpa et al. 2018). Z tohoto důvodu probíhá na toto téma intenzivní výzkum jeho využití v potravinářském průmyslu. Aby se mohla hmyzí bílkovina stát součástí běžných komodit, je třeba podrobněji zkoumat jejich vlastnosti jako je rozpustnost, pěnivost nebo gelotvorná a emulzifikační schopnost (Gravel & Doyen 2020). Chemická extrakce hmyzích bílkovin vedle

zlepšení stravitelnosti představuje také možnost jeho širšího uplatnění, neboť je možné ho „ukrýt“ v běžných potravinách, aniž by vyvolával znechucení. Extrakce se provádí vodní nebo alkalickou isoelektrickou precipitací. Jednotlivé frakce se od sebe oddělí za užití různých teplot, pH či centrifugace. Oddělením získáme frakce ve vodě rozpustných a nerozpustných bílkovin (Clarkson et al. 2018).



**Graf 1:** Obsah bílkovin v sušině hmyzu. V řádu *Orthoptera* byly popsány druhy s obsahem bílkovin v rozmezí 15-81 %. Pro saranče stěhovavé se udává průměrný obsah proteinu v sušině imága v rozmezí 50-65 %. U řádu *Coleoptera* se můžeme setkat s druhy obsahující pouze 8 % bílkovin v sušině. Nejvyšší naměřené hodnoty proteinu se u tohoto řádu se pohybovaly okolo 70 %. Tato data ilustrují obrovskou variabilitu v chemickém složení řádů a druhů hmyzu. Údaje o nutričním složení hmyzu byly převzaty od (Rumpold & Schlüter 2013). Složení jednotlivých potravin bylo převzato a přepočítáno na sušinu z databáze U.S. Department of Agriculture (U.S. Department of Agriculture 2022)

### 3.2.4 Chemické složení *Tenebrio molitor*

Množství vody se u jedince potměníka mezi vývojovými stádii výrazně neliší. Tato skutečnost není u hmyzu vždy pravidlem – u jiných druhů, jakým je například včela medonosná nebo octomilka, je podíl vody na celkové hmotnosti jedince v konečném vývojovém stádiu nižší než v larválním. Jedna porce obsahuje asi 62 g vody nezávisle na vývojovém stádiu (Finke 2002). Obsah proteinu u larev a imág se podle metaanalýz pohybuje průměrně v rozmezí 13 až 22 g/100 g jedlé porce (Nowak et al. 2016). Tomu odpovídá 47 až 65 % bílkovin v sušině (Rumpold & Schlüter 2013). Aby mohla být potravina na etiketě označena jako zdroj proteinu, musí obsahovat minimálně 5 g bílkovin na 100 g jedlé porce (Evropská rada 2006). Celkový obsah tělesných bílkovin nebyl u chovaných jedinců příliš ovlivněn obsahem proteinu v chovném substrátu, a to ani při trojnásobném navýšení koncentrace. Vědci si tuto skutečnost vysvětlují schopností larev potměníka regulovat příjem dusíkatých sloučenin vylučováním různě koncentrované kyseliny močové (van Broekhoven et al. 2015). Jako limitující AMK se u *T. molitor* v publikované literatuře udávají cystein a methionin (Bovera et al. 2015; Jayanegara et al. 2017; Yoo et al. 2019). Lze ale také uvést studie, které jako limitující aminokyselinu udávají tryptofan (Bednářová et al. 2011; Stull et al. 2019).



Obsah vlákniny je u potměníka vyšší v dospělosti než v larválním stádiu a představuje asi 12 g na 100 g sušiny (Adámková et al. 2017). To platí vedle celkově stanovené hrubé vlákniny také pro její jednotlivé frakce, kterými jsou acidodetergentní vláknina (ADF) a neutrodetergentní vláknina (NDF). ADF se u larev pohybuje v množství 2,38 g/100 g, kdežto u dospělců dosahuje hodnot až 6,8 g/100 g. NDF je zastoupena hojněji jak u larev (5,2 g/100 g) tak u dospělců (12 g/100 g) (Nowak et al. 2016). Tomu odpovídá asi 17% a 32% podílu sušiny (Oonincx & Dierenfeld 2012). Podle schválených výživových tvrzení může být potravina označena jako zdroj vlákniny v případě, že obsahuje alespoň 3 g vlákniny na 100 g jedlé porce (Evropská Rada 2011).

Celkové množství lipidů naměřené u larev nebo kulek potměníka se pohybovalo v rozmezí 9–18 g/100 g hmotnosti. Z dostupných dat lze odvodit, že larvy tohoto druhu jsou tučnější (cca 12 g tuku na porci), než dospělí jedinci, kteří ho obsahují polovinu. Tyto údaje ukazují proměnlivost chemického složení mezi vývojovými stádii, ale také značnou variabilitu mezi jedinci téhož druhu. Celkový obsah PUFA dosahoval hodnot v rozmezí 3,17 – 6,75 g na porci. Horní hranice představuje až 61 % z celkového složení tuků. Zastoupení nasycených (SFA) a mononenasycených mastných kyselin (MUFA) bylo v obou případech asi poloviční (kolem 3 g/100 g). Vzhledem k tomu, že příjem SFA by měl být ve výživě člověka omezován, představuje potměník i z tohoto hlediska zdravou potravinu (Nowak et al. 2016). Z jednotlivých mastných kyselin patří mezi nejhojnější palmitová kyselina, dále olejová a linolová kyselina. Vliv chovného substrátu na spektrum mastných kyselin v tuku není zatím úplně zřejmý. V jednom případě se vliv chemického složení substrátu na kompozici tělesného tuku potměníka jevil jako nevýznamný (Oonincx et al. 2015). Byla však pozorována i zřejmá závislost, kdy s rostoucím obsahem PUFA v krmivu množství těchto mastných kyselin v tuku larev překvapivě klesalo (van Broekhoven et al. 2015).

Celková energetická hodnota porce larev potměníka se pohybuje v průměru okolo 215 kcal/100 g jedlé porce. Larvy jsou bohatším zdrojem energie díky většímu podílu obsaženého tuku. Dospělci dodají člověku asi 175 kcal/100 g (Nowak et al. 2016). Ale byl publikován také obsah 307 kcal/100 g (Payne et al. 2016). Stejná porce kuřecího prsa poskytne člověku 158 kcal a hovězí biftek asi 139 kcal (U.S. Department of Agriculture 2022).

Obsah minerálních látek je obecně nejvariabilnější proměnnou ve výživovém složení hmyzu. Larvy *T. molitor* lze považovat za významný zdroj hořčíku, zinku a železa (Nowak et al. 2016). Doporučený denní dávkou hořčíku pro dospělého muže je 350 mg, 9,4 mg zinku a 11 mg železa (EFSA 2019). V jedné porci larev (100 g) se nachází asi 142 mg hořčíku, 6 mg zinku a 2,5 mg železa (Payne et al. 2016). Oproti tomu stejně velká porce hovězího steaku obsahuje obdobné množství železa, 3,5 mg zinku a pouze 10,7 mg hořčíku (U.S. Department of Agriculture 2022).

Z hlediska ostatních živin jsou larvy potměníka nejbohatší zejména na vitaminy skupiny B, jako je pyridoxin, niacin, listová kyselina a biotin (Nowak et al. 2016). Podle EFSA (2019) by měl dospělý muž denně potravou přijmout 330 µg listové kyseliny, 1,6 mg niacinu a 1,7 mg pyridoxinu. V 100 g jedlé porce larev se nachází asi 4 mg vitamínu B<sub>3</sub>, 137 µg vitamínu B<sub>9</sub> a 0,7 mg pyridoxinu (Payne et al. 2016; Nowak et al. 2016).

### 3.2.5 Chemické složení *Gryllus assimilis*

*G. assimilis* (Orthoptera) se standartně používá jako krmivo. Jeho příznivý nutriční profil však v poslední době vedl k jeho intenzivnějšímu zkoumání za účelem využití jako potraviny. Současným trendem je jeho využití v podobě prášku k obohacení mouky při pečení chleba. Vysoký obsah bílkovin a tuku z něj dělají výbornou alternativu k luštěninové nebo pohankové mouce při pečení bezlepkových pekařských výrobků (da Rosa Machado & Thys 2019). Obsah bílkovin se pohybuje v rozmezí 56 – 69 g/100 g sušiny a u imág bývá zpravidla větší (Bednářová et al. 2013; Adámková et al. 2017; Soares Araújo et al. 2019; Dourado et al. 2020). Z hlediska zastoupení aminokyselin byly u cvrčka shledány limitujícími methionin (0,63 g/100 g) a cystein (0,74 g/100 g). Naopak nejhojněji zastoupenou aminokyselinou byl arginin (8,64 g/100 g) (Bednářová et al. 2013).

Nymfy obsahují 29-35 g tuku/100 g sušiny (Bednářová et al. 2013; Adámková et al. 2017; Dourado et al. 2020). U dospělců potom obsah tuku klesá a pohybuje se v rozmezí 11,9- 21 g/100 g sušiny (Mlček et al. 2018; Soares Araújo et al. 2019). Vedle vysokého obsahu tuku je u cvrčka příznivé také zastoupení mastných kyselin. Obsah nasycených a nenasycených mastných kyselin je téměř vyrovnaný (43,72-44,6 % SFA ku 27,49-35 % MUFA a 15- 28,8 % PUFA). Z hlediska lidské nutriční je pozoruhodný zejména vysoký obsah esenciální kyseliny linolové (C18:2), která tvoří asi 15-26 % ze všech obsažených mastných kyselin (Mlček et al. 2018; Soares Araújo et al. 2019).

Vlákninová frakce představuje asi 8 g/100 g sušiny, z toho 5,15 g představuje ADF a 3,24 g NDF (Bednářová et al. 2013). U nymf je toto množství o něco nižší (7 g/100 g sušiny) (Adámková et al. 2017). Celková metabolizovatelná energie představuje v živé váze asi 597,5 kcal/100 g u nymf a 397 kcal/100 g u dospělců (Oibiokpa et al. 2017; Dourado et al. 2020). Obsah popelovin se u cvrčka pohybuje kolem 4 g/100 g sušiny (Soares Araújo et al. 2019; Dourado et al. 2020; Khatun et al. 2021). *G. assimilis* je bohatým zdrojem vápníku (45 mg/100 g sušiny); hořčíku (27 mg/100 g), zinku (5,2 mg/100 g) a železa (2,8 mg/100 g) (Soares Araújo et al. 2019). Jeho chemické složení je také zkoumáno kvůli vysokému obsahu listové kyseliny (80 µg/100 g živé váhy) (Weber et al. 2022) a kobalaminu (asi 20 µg/100 g sušiny) (Khatun et al. 2021). Dle publikované literatury může cvrček představovat také zdroj vitamínu C (asi 1 mg/100 g živé váhy) a vitamínu A (2,9 mg/100 g živé váhy) (Oibiokpa et al. 2017)

### 3.3 Stanovení kvality proteinu

Kvalitu bílkovin z libovolného zdroje posuzujeme vždy na základě obsažených aminokyselin. Ačkoliv se v přírodě vyskytuje asi 200 různých AMK, pouze 20 jich tvoří tělesné bílkoviny. Z této skupiny jich lidské tělo dokáže samo syntetizovat devět, zbytek je nutné přijímat potravou (Gropper & Smith 2013). Množství esenciálních AMK (nebo také indispensable amino acids–IAA) v proteinu určuje výši jeho biologické hodnoty (Poelaert et al 2018). Biologická hodnota bílkoviny reflektuje, do jaké míry je složení zkoumaného proteinu podobné bílkovinám lidského těla (Brestensky et al. 2019). Biologická dostupnost (bioavailability) jednotlivých aminokyselin je dále ovlivněna několika faktory. Prvním z nich je stravitelnost, tedy čisté množství AMK, které se vstřebá střevním epitelem do krevního oběhu. Vedle toho nesmí být v přijaté potravě přítomny interferující látky a samotná

aminokyselina musí být v chemicky nezměněna, aby mohlo dojít k jejímu využití organismem (Fuller 2012). Kvalitu bílkovin dále rozdělujeme podle vhodnosti pro jednotlivé věkové skupiny jako jsou děti, dospělí a senioři, nebo také těhotné a kojící ženy (WHO/FAO/ 2007). Nepostradatelnost jednotlivých AMK pro lidský život vedla odborníky k tomu, aby byly vnímány jako jednotlivé živiny a jejich množství v potravině se hodnotilo individuálně. Z tohoto důvodu došlo v hodnocení kvality proteinu ke změně metodiky. Vědeckou komisí FAO bylo v roce 2011 doporučeno nahradit stávající ukazatel PDCAAS (protein digestibility-corrected amino acid score) přesnějším DIAAS (digestible indispensable amino acid score) (FAO/WHO 2013). V odborné literatuře se však v současnosti stále používají oba.

### 3.3.1 Protein digestibility-corrected amino acid score (PDCAAS)

Kalkulace PDCAAS byla mezi lety 1991-2011 doporučovanou metodikou pro hodnocení kvality bílkovin (FAO/WHO 1991, 2013). Skóre dosahuje hodnot 100 % (1) a vypočítá se následujícím způsobem (Schaafsma 2000):

$$\left[ \frac{\text{hmotnost (mg) limitující AMK v 1 g referenční bílkoviny}}{\text{hmotnost (mg) limitující AMK v 1 g stanovované bílkoviny}} \right] * \text{fekální stravitelnost} * 100$$

Hodnota 100 % u tohoto ukazatele znamená, že po konzumaci zkoumaného proteinu v daném množství bude pokryta veškerá potřeba IAA dané věkové kategorie. Při zavádění PDCAAS se neočekávalo, že pro člověka mají význam proteiny s hodnotou přesahující 1. Z tohoto důvodu se vyšší hodnoty nezaznamenávaly. To ovšem vedlo k problémům s porovnáváním vysoce kvalitních proteinů z různých zdrojů (Schaafsma 2000; Wolfe et al. 2016). Pomocí PDCAAS například není možné posoudit rozdíl v kvalitě sójového a mléčného proteinu, protože oba dosahují hodnoty vyšší, než 100 (FAO/WHO 2013). PDCAAS také nebere v potaz výskyt antinutričních látek, které mohou zabraňovat vstřebávání AMK ze střeva. Při jeho použití k hodnocení bílkovin ve směsích s jinými živinami tak může dojít k nadhodnocení biologické hodnoty proteinu (Gilani et al. 2012). Vedle antinutrientů tento ukazatel nereflektuje ani možné chemické změny vznikající tepelnou úpravou proteinů. Typickým příkladem je lysin, který za vysoké teploty podléhá Maillardovým reakcím a stává se tak nestravitelným (Rutherford & Moughan 2007). I v tomto případě dochází při použití tohoto ukazatele k nadhodnocování biologické hodnoty proteinu (FAO/WHO 2013). Největším nedostatkem PDCAAS je jeho založení na fekální stravitelnosti bílkovin. Tu získáme jako dusíkovou bilanci mezi přijatou potravou a stolicí. Celkové množství dusíku, které je součástí obsahu tlustého střeva, však nepochází pouze ze stravy. Studie na lidech ukazují, že až 75 % bílkovin ve stolici je syntetizováno střevní mikrobiotou. Toto množství je relativně stabilní a není příliš ovlivněno množstvím proteinů přijatých v potravě (Fuller 2012; Moughan & Rutherford 2012). Část bílkovin a jiných látek obsahujících dusík je organismem do lumen střeva aktivně vylučována. Jedná se o trávicí enzymy obsažené ve slinách či žaludeční a pankreatické šťávě. Významný podíl na této sekreci má také mucin, který je aktivně syntetizován enterocyty a tvoří hlavní součást hlenu, který chrání střevní stěnu a napomáhá formování tráveniny. Pouze v tenkém střevě se k trávenině takto přimísí asi 90 g bílkovin (Moughan & Rutherford 2012). Usuzovat na využití bílkovin organismem z nestrávených dusíkatých zbytků ve stolici je tedy nutně zatíženo chybou. Vedle toho byly hodnoty fekální

stravitelnosti převzaty z pokusů na krysách, které se svým metabolismem nepodobají člověku tolik, jako například prase (FAO/WHO 2013). Fekální stravitelnost užitá ve výpočtu se nevztahuje na jednu konkrétní AMK, ale na celou bílkovinu (Mathai et al. 2017). Při výpočtu PDCAAS má tedy každý protein jedinou hodnotu své fekální stravitelnosti, bez ohledu na další komponenty potravy. Hodnota stravitelnosti je zároveň stejná pro všechny aminokyseliny, z kterých se daný protein skládá, což neodpovídá skutečnému chování jednotlivých AMK (Wolfe et al. 2016).

### 3.3.2 Digestible indispensable amino acid score (DIAAS)

Výpočet hodnoty DIAAS pro konkrétní aminokyselinu je následující. Všechny vzorce byly přeřazeny a upraveny podle (Herreman et al. 2020). (SID =standardizovaná ileální stravitelnost)

$$1. \left[ \frac{\text{množství esenciální AMK} * \text{SID}}{\text{množství (mg) stejné esenciální AMK v referenční bílkovině}} \right] \text{ mg/g bílkoviny}$$

Pomocí množství limitující AMK v bílkovině se poté vypočítá celkové DIAAS skóre:

$$2. \text{ DIAAS limitující AMK } \left( \frac{\text{mg}}{\text{g}} \right) * 100 (\%)$$

Užitím těchto vzorců lze vypočítat hodnotu DIAAS také pro aminokyseliny, které pochází ze směsi proteinů:

$$3. \text{ DIAAS} = c_1 * R_1 + c_2 * R_2 \dots c_n * R_n$$

Jednotlivé proteiny ( $P_n = c_n * R_n$ ) jsou charakterizovány součinem hodnoty DIAAS ( $c_n$ ) s míchacím poměrem  $R_n$ . Ten je vyjádřen jako množství konkrétní bílkoviny vůči všem bílkovinám, které se v daném zdroji nacházejí:

$$4. R_n = \frac{M_i}{\sum M_i}$$

Hodnoty DIAAS se dělí do tří hlavních kategorií a číselně vyjadřují kvalitu zdroje z hlediska obsahu esenciálních aminokyselin. Celková hodnota, která umožňuje porovnávat jednotlivé zdroje, je vztažena na množství limitující AMK, čili té esenciální aminokyseliny, které je v dané bílkovině obsaženo nejméně (FAO/WHO 2013):

DIAAS < 100: vysoký obsah IAA

DIAAS < 75-99: dobrý zdroj IAA

DIAAS < 75: bez nároku na výživové tvrzení

Na rozdíl od PDCAAS se ukazatel nevztahuje na celou bílkovinu, ale konkrétní AMK. Vedle toho se ve vzorcích nevyužívají hodnoty fekální stravitelnosti, ale stravitelnosti stanovené na konci tenkého střeva – terminálním ileu. Hodnoty stravitelnosti jednotlivých AMK se totiž mohou výrazně lišit i v rámci jednoho bílkovinného zdroje (Wolfe et al. 2016). Stravitelnost zvolené složky potravy lze vyjádřit několika způsoby. Prvním z nich je tzv. zdánlivá (AID –

apparent ileal digestibility) ileální stravitelnost, kterou vyjadřujeme jako rozdíl v množství bílkoviny na začátku a konci kyčelníku. Tato hodnota ale nebere v úvahu velké množství bílkovin, které se do lumen střeva dostává v podobě trávicích enzymů. Toto množství se popisuje jako tzv. endogenní ztráty (Mathai et al. 2017). Ty lze dělit na ztráty nezávislé na přijímané potravě (tzv. bazální) a na ztráty potravou vyvolané (například zvýšenou produkcí hlenu či trávicích enzymů). V praxi se využívá tzv. standardizovaná ileální stravitelnost, která představuje rozdíl mezi zdánlivou ileální stravitelností a bazálními endogenními ztrátami (Fuller 2012). V ideálním případě by se SID měla stanovovat u člověka. Vzhledem k metodologické náročnosti takového postupu je ileální stravitelnost většinou stanovována u selat (FAO/WHO 2013). Hodnoty získané prací s mladými prasaty dosahují vysoké shody s daty stravitelnosti stanovené s lidskými subjekty (Moughan & Rutherford 2012; Mathai et al 2017) Zaměření na jednotlivé AMK výrazně zvyšuje přesnost kalkulace. Stravitelnost jednotlivých aminokyselin se odvíjí od ostatních živin, se kterými se vyskytují ve směsi. Bylo prokázáno, že stravitelnost jednotlivých AMK se v závislosti na složení stravy může lišit až o 20 % (Wolfe et al. 2016).

Mezi látky ovlivňující stravitelnost bílkovin patří například lektiny, taniny, fytáty, inhibitory trypsinu, glukosinoláty a izothiokyanáty. Nejkoncentrovanějším zdrojem inhibitorů trypsinu jsou sójové boby (Gilani et al. 2012). Postupný sběr dat za použití živých modelů umožňuje do kalkulace výživového skóre zahrnout také tyto sloučeniny a hodnotit tak výživové hodnoty bílkoviny v konkrétní směsi (FAO/WHO 2013). Krom toho jsou analyticky stanovovány hodnoty SID i pro tepelně upravené bílkoviny. Dostupnost AMK z takto upravených proteinů se totiž liší oproti syrovým produktům. Lysin za tepla podléhá Maillardovým reakcím s redukujícími cukry a stává se pro člověka nevyužitelný. Jde o typický chemický jev, ke kterému dochází při tepelných úpravách mléka, kdy z reakce mezi laktózou a lysinem vzniká laktulolysin. Při vysokých teplotách se karbonylové skupiny lysinu stávají reaktivními a napadají další AMK, čímž zabrání jejich využití (Rerat et al. 2002). Z tohoto důvodu se doporučuje pracovat při určování stravitelnosti lysinu s tzv. reaktivním lysinem, který představuje nepoškozenou frakci této AMK (Rutherford & Moughan 2007). Oxidaci při tepelné úpravě podléhají také sírné aminokyseliny. Methionin se oxiduje na sulfon či sulfoxid, cystein na kyselinu cysteovou. Ta může dále podléhat Maillardovým reakcím za vzniku thiazolů a polysulfidů. I v tomto případě je vhodné při výpočtu množství sírných AMK dostupných pro člověka vzít v úvahu pouze reaktivní podíl (Rutherford & Moughan 2008a). Stejně tak je nutné brát v potaz tvorbu D isomerů AMK, které jsou pro člověka pravděpodobně nevyužitelné a pouze snižují výživovou hodnotu potraviny (FAO/WHO 2013). Tyto isomery se ve vyšším množství vyskytují pouze u koryšů a některých zástupců jedlého hmyzu. V běžně konzumovaných potravinách (maso, mléko) jejich množství roste s mírou tepelné úpravy, případně vystavením vysokému pH (Gilani et al. 2012).

Oproti PDCAAS nemá v běžném případě DIAAS maximální hodnotu a může tedy dosahovat hodnot větších než jedna. To umožňuje mezi sebou porovnávat vysoce kvalitní zdroje bílkovin. Vedle toho je také možné využít tyto hodnoty k tvorbě směsí proteinů tak, aby se navzájem doplňovaly méně hodnotné zdroje (s menší hodnotou skóre) pro splnění minimálních požadavků příjmu aminokyselin (Mathai et al. 2017). Skóre DIAAS se počítá pro tři referenční skupiny obyvatel. Kojenci (děti do 6 měsíců věku), dále děti od půl roku do tří let a poté následuje třetí kategorie, která obsahuje předškoláky, děti školou povinné, dospívající

a dospělé. V případě potravin pro kojene děti se jako výchozí referenční materiál používá aminokyselinové složení mateřského mléka. Vypočtená hodnota pro ostatní skupiny se porovnává s teoretickým proteinem, který nejpřesněji vystihuje složení somatických bílkovin dané věkové kategorie (FAO/WHO 2013).

### 3.3.3 Hodnota DIAAS u vybraných potravin

Hodnota DIAAS a tedy celkové skóre se odvíjí od toho, jaká referenční skupina obyvatel je zvolena (kojenci, batolata a zbytek populace). Pro jeden zdroj můžeme dle zvolené kategorie získat tři hodnoty DIAAS, kdy se limitující může stát v každém případě jiná AMK. Požadavky na zastoupení AMK v potravě se totiž mezi jednotlivými skupinami liší a tak nemusí být jednotlivé zdroje proteinů univerzálně vhodné pro všechny. Pouhý obsah AMK v mg/g bílkoviny ještě nemusí vypovídat o tom, jestli vystačí výživovým požadavkům konkrétní části populace (FAO/WHO 2013; Herreman et al. 2020). Obecně platí, že pokud má nějaká potravina hodnotu DIAAS vyšší než 100, žádná z obsažených AMK v ní obsažena není limitující a lze ji doporučit všem jedincům. Pokud se v takovém případě použije termínu limitující AMK, myslí se tím prostě ta aminokyselina, které je obsaženo v dané bílkovině nejméně. U bílkovin s nižší hodnotou DIAAS je pro splnění požadavků minimálního příjmu buď zvýšit konzumované množství nebo je kombinovat s dalšími proteiny. Nižší hodnoty DIAAS jsou typické pro rostlinné zdroje AMK (Brestensky et al. 2019). Hodnoty DIAAS pro vybrané potraviny ukazuje Tabulka 1.

**Tabulka 1:** DIAAS a limitující aminokyseliny vybraných zdrojů. Hodnoty převzaty od (Cervantes-Pahm et al. 2014; Bailey et al. 2020a; Herreman et al. 2020; Fanelli et al. 2021)

Zdroj	DIAAS	Limitující aminokyselina
syrovátka	85	histidin
slepičí vejce	101	histidin
kasein	117	methionin a cystein
hovězí – spodní šál (syrové)	97	valin
hovězí – mleté (syrové)	121	leucin
hovězí – sušené	120	methionin a cystein
vepřová slanina–uzená	109	valin
pšenice	43	lysin
žito	47	lysin
bílá rýže	64	lysin
oves (loupaný)	77	lysin
čirok	29	lysin
kukuřice	36	lysin
kukuřičné vločky	16	lysin
hrách	70	methionin a cystein
sója	91	methionin a cystein
brambory	100	histidin

I přes některé výjimky je živočišný protein považován pro člověka z hlediska výživy biologicky hodnotnější. Vůbec největší hodnotu DIAAS má mléčný kasein (117). Naopak nejméně vhodným zdrojem AMK pro člověka je želatina, která vzniká vařením pojivových tkání jatečných zvířat. Limitující aminokyselinou je zde tryptofan a hodnota DIAAS se rovná 2 (Herreman et al. 2020). Syrovátkový protein je všeobecně považován za vynikající zdroj

aminokyselin pro člověka a z toho důvodu je používán také v kulturistice. V publikovaných studiích mají ale hodnoty DIAAS obrovský rozptyl, kdy je možné se setkat s hodnotami v rozmezí 78 až 141. V případě nižšího skóre je limitující AMK histidin. Příklad syrovátkového proteinu ukazuje, jak velký vliv mají výrobní procesy na výslednou výživovou hodnotu produktu (Mathai et al. 2017; Bailey et al. 2020b; Herreman et al. 2020). U masných produktů sice odpadá role antinutričních látek, velký vliv má však metoda úpravy a volba konzumované části jatečného zvířete. Masné produkty se zpravidla řadí ke zdrojům s vysokým obsahem AMK (DIAAS > 100), u hovězího steaku se však hodnota DIAAS pohybovala v rozmezí 97 (v syrovém stavu) po 80 (grilování). Nezávisle na metodě úpravy však byl limitující AMK vždy valin (Hodgkinson et al. 2018). V experimentu provedeném Bailey et al. (2020) se vzhledem ke skóre DIAAS ukázalo jako výhodnější metoda úpravy sušení a mletí před dušením, kdy mělo sušené hovězí maso vyšší hodnoty než mleté maso obsažené v salámu. Mletí sice na jednu stranu zvyšuje riziko oxidace AMK (zejména argininu, histidinu a lysinu), ale zároveň zvyšuje plochu tráveniny dostupné trávicím enzymům a tím usnadňuje trávení a vstřebávání. Je nutné si uvědomit, že zvolená metoda přípravy může hodnotu DIAAS změnit jak kvantitativně (změní se velikost skóre), tak kvalitativně. To znamená, že limitující se po úpravě stává jiná AMK. U mletého hovězího masa je limitující aminokyselinou tryptofan (DIAAS = 111). Po uvaření se jí ale stává leucin (DIAAS = 92). Je také důležité poznamenat, že různé způsoby úpravy s sebou vedle specifických kvantitativních změn mohou nést i odlišné kvalitativní změny. Pro stejnou surovinu tedy můžeme evidovat vícero limitujících AMK v závislosti na způsobu přípravy (Bailey et al. 2020b, 2020a). Ačkoliv jsou tedy živočišné bílkoviny hodnotnější než ty rostlinné, nelze spoléhat pouze na tyto zdroje. Vyvážená strava by měla sestávat vždy z produktů obou říší. Vysoký obsah lysinu v mase jej činí ideálním doplňkem k obilovinám. Naopak u masa může být limitující leucin, který je ve velkém množství obsažen v čiroku či kukuřici (Herreman et al. 2020).

Pro rostlinné zdroje platí, že luštěniny jsou obecně špatným zdrojem sirných AMK. DIAAS pro methionin a cystein se u vařeného hrachu dosahuje hodnot 57,9, u vařených fazolí 58,8 (Rutherford et al. 2015). U obilovin je typickou nedostatkovou aminokyselinou lysin. U pšenice je hodnota DIAAS pro lysin rovna 43, u čiroku pouze 29. Kombinace těchto dvou skupin ale nemusí nutně vést k lepšímu profilu AMK daného pokrmu, závisí také na použitém množství (Cervantes-Pahm et al. 2014). U lupiny je DIAAS pro lysin rovno 75, což je hraniční hodnota pro označení bílkoviny za zdroj esenciálních AMK. Pokud bychom ji v pokrmu kombinovali například s kukuřicí (DIAAS lysinu = 48), adekvátního příjmu bychom dosáhli pouze konzumací velké porce (Cervantes-Pahm et al. 2014; Herreman et al. 2020). V případě nepříznivého profilu AMK je ideální kombinace původního zdroje s brambory. Jejich složení je z hlediska DIAAS ( $\geq 100$ ) shodné s kaseinem nebo vepřovým masem (ve všech věkových kategoriích) a ve správném poměru tak mohou doplnit limitující aminokyseliny. Dalšími vhodnými doplňky méně kvalitních bílkovinných zdrojů jsou hrášek nebo sója, jejichž skóre se pohybuje v rozmezí 75-99 a lze je tedy označit za dobrý zdroj esenciálních aminokyselin (Mathai et al. 2017; Herreman et al. 2020). Hodnocení hodnot DIAAS u rostlinných potravin má svá úskalí. Celkový obsah bílkovin a aminokyselinové složení se může mezi jednotlivými kultivary značně lišit a tyto diskrepance nejsou ve vědeckých pracích vždy reflektovány (Gilani et al. 2012; Herreman et al. 2020). Vedle proteinového složení také jednotlivé odrůdy odlišuje obsah antinutričních faktorů, jako jsou glukosinoláty, fytáty, lektiny, inhibitory

trypsinu a taniny. Jejich celkový vliv je pak výrazně ovlivněn úpravou před zkrmením prasatům, jako je namáčení či loupání, které jejich působení snižuje. Významným procesem, který může zlepšit ileální stravitelnost je také fermentace používaná především u sójových bobů (Cervantes-Pahm et al. 2014; Sá et al. 2019; Herreman et al. 2020). Aktivita inhibitorů trypsinu u misa (sójová pasta naočkovaná specifickou kulturou mikroorganismů) může být v porovnání s aktivitou v sójových bobech v nativním stavu 5× až 10× menší (Gilani et al. 2012).

Tepelná úprava nemusí vždy výrazně ovlivnit hodnotu DIAAS. Liu et al. nezaznamenali u dvou druhů rýži (*Oryza sativa* subsp. *japonica* a *indica*) významnou změnu stravitelnosti proteinu ani při běžném a vysokotlakém vaření (2019). Obdobně vaření, pečení ani extruze výrazně neovlivnilo DIAAS ani u zeleného a žlutého hrášku (*Pisum sativum*) (Nosworthy et al. 2017). Zvolená tepelná úprava však měla vliv na stravitelnost cizrnového proteinu (*Cicer arietinum*). Z výživového hlediska se jako nejvýhodnější způsob úpravy cizrny ukázalo pečení (DIAAS = 84), poté extruze (DIAAS = 82) a následně vaření (DIAAS = 78). Tepelná úprava měla vliv na velikost skóre, kvalitativně ho však neovlivnila. Limitujícími aminokyselinami zůstaly ve všech případech cystein a methionin (Nosworthy et al. 2020).

Pro relevanci sesbíraných hodnot DIAAS pro jednotlivé potraviny má veliký význam samotné provedení studií, které se projevuje na získaných hodnotách. Ačkoliv by pro stanovování hodnot DIAAS měly být primárně používány pokusy s prasaty, lze se setkat také se studii provedenými na krysách (Rutherford et al. 2015; Nosworthy et al. 2017) Při pokusech s prasaty je DIAAS dále ovlivněno celou řadou proměnných, jako je například použité krmivo. Existuje rozdíl ve vstřebávání čistého bílkovinného hydrolyzátu (z libovolného zdroje) a kompletního krmiva tvořeného směsí živin. Udává se, že polysacharidy společně s vlákninou obsažené v úplném krmivu více stimulují zažívací trakt, což vede k intenzivnější sekreci zažívacích šťáv a mucinu. To ve výsledku způsobuje větší endogenní ztráty bílkovin a snižuje tak standartní ileální stravitelnost, která má přímý vliv na konečnou hodnotu DIAAS (Morel et al. 2005; Lee et al. 2020). Další důležitou složkou výzkumu je věk (váha) prasat, ve kterém se s pokusem začíná. Činnost trávicího traktu se liší v závislosti na stáří také mezi samotnými selaty. Jejich hmotnost v provedených studiích se může pohybovat v rozmezí 17- 86 kg a to se odráží ve výsledných hodnotách DIAAS. Mladší jedinci vykazují obvykle větší endogenní ztráty, než ti starší, a proto je u nich měřená standartní ileální stravitelnost nižší (Nítrayová & Brestenský 2013; Jacyno et al. 2016) Posledním důležitým faktorem při stanovování bílkovinného skóre je množství zkrmovaného proteinu. Při postupném zvyšování podávání bílkovin ve průměru až k trojnásobku doporučeného množství byl pozorován lineární úbytek endogenních ztrát, tedy zvýšení standartní ileální stravitelnosti. U těchto zvířat by tedy výzkumníci dospěli k vyšším hodnotám DIAAS než u zvířat krmených běžnou krmnou dávkou (Moter & Stein 2004).

K nižším hodnotám DIAAS může přispět samotná stavba proteinu, nezávisle na tom, jestli pochází z rostlinného nebo živočišného zdroje. Stravitelnost je ovlivněna už sekvencí AMK, kterými je protein tvořen, neboť je tím ovlivněna afinita trávicích enzymů. Gastrický pepsin má nízkou substrátovou specifitu, oproti tomu pankreatický trypsin cílí primárně na vazby mezi lysinem a argininem a chymotrypsin napadá vazby mezi aromatickými aminokyselinami (tryptofan, fenylalanin, tyrosin) a methioninem, asparaginem a histidinem. Už primární struktura tedy ovlivňuje stravitelnost proteinů (Gropper, & Smith 2013; Herreman et al. 2020). Vedle sekvence má vliv také sekundární konformace proteinu, která



ovlivňuje přístup enzymu k místu štěpení. Z hlediska enzymatické činnosti je méně vhodná beta- konformace. Ta se vyskytuje častěji u rostlinných proteinů, čímž je dále snižována jejich využitelnost způsobená přítomností antinutričních látek. Jak bylo prokázáno Ramanovou spektroskopií, asi 40 % sójových bílkovin je tvořena konformací skládaného listu (Herrero et al. 2009). Obdobná hodnota byla zjištěna také u izolátů rýžového proteinu (45 %) (Wang et al. 2016) a obilného proteinu (38 %)(Tang et al. 2019). V těchto studiích byl zároveň pozorován efekt zvolené úpravy na poměr bílkovin zaujímající  $\alpha$  a  $\beta$  konformaci. Po záhřevu nebo zmražení došlo k úbytku proteinů v  $\alpha$ -helix konformaci a nárůstu bílkovin ve formě  $\beta$ - skládaného listu (Herrero et al. 2009; Wang et al. 2016; Tang et al. 2019) K podobným závěrům došli také Herrero et al. (2008) při pokusech s mletým vepřovým masem. V syrovém stavu zaujímalo  $\beta$ -konformaci pouze 15 % obsažených proteinů oproti téměř 60 % bílkovin tvořící  $\alpha$ -helix. Po tepelné úpravě a přidání kuchyňské soli se však množství bílkovin v konformaci skládaného listu téměř zdvojnásobilo.

### 3.3.4 Stravitelnost hmyzího proteinu a vliv tepelné úpravy

Stejně jako u ostatních potravinových zdrojů pouhý obsah živin v sušině ještě nevyovídá o výživové hodnotě jedlého hmyzu. U něj je navíc situace komplikována skutečností, že na rozdíl od masa a dalších živočišných produktů obsahuje podobně jako rostlinné produkty antinutriční látky, zejména chitin. Problematika stravitelnosti a vliv kuchyňských úprav na výživovou hodnotu hmyzu nejsou dostatečně prozkoumány (Van Huis et al. 2021). Tato otázka však má zásadní význam, jelikož je hmyz stejně jako ostatní živočišné produkty v syrovém stavu konzumován spíše výjimečně (Poelaert et al. 2018). Studie Musundire et al. (2014) uskutečněná v Africe ukazuje, že stravitelnosti hmyzího proteinu se více podobá stravitelnosti bílkovin pocházejících z rostlinných zdrojů. Je to dáno přítomností vlákniny a řady antinutričních látek. Zkoumaný druh hmyzu *Henicus whellani* (řád *Orthoptera*) obsahoval na 100 g živé hmotnosti asi 10 g vlákniny. Jedná se o druh, jehož dospělci mají mohutně vyvinutý exoskeleton. Konzumací 300 g porce by tedy došlo ke splnění doporučené denní dávky vlákniny pro dospělého muže, jak ji doporučuje EFSA (2019). Nicméně vedle vlákniny obsahuje *H. whellani* také saponiny (53,3 mg/100 g), taniny (0,17 mg/100 g) a oxaláty (9,31 mg/100 g). Fytová kyselina byla zaznamenána pouze ve stopovém množství (Musundire et al. 2014). Hlíza *Solanum tuberosum* obsahuje ve stejné porci 26 mg oxalátů a 55 mg fytátu. Taniny v ní však obsaženy nejsou (Lo & Wu 2018).

V doposud publikovaných výsledcích existují neshody v hodnocení stravitelnosti hmyzích bílkovin. Již v roce 1997 provedli Ramos-Elorduy et al. (1997) rozsáhlou studii se sesbíraným hmyzem vyskytujícím se volně v mexické přírodě. *In vitro* stravitelnost se u většiny zkoumaných druhů pohybovala okolo 85 %. O téměř 20 let později byla provedena obdobná studie v africké Ugandě. Chemické složení a stravitelnost zkoumali u tří nejčastěji konzumovaných druhů hmyzu (*Syntermes* spp., *Macrotermes* spp.; *Brachytrupes* spp.) v dané oblasti. Stravitelnost bílkovin těchto druhů se na základě *in vitro* metody pohybovala v rozmezí 30-50 % (Akullo et al. 2018). Vědci předpokládají, že stravitelnost bude vedle konkrétní tepelné úpravy záviset opět také na druhu hmyzu a jeho vývojovém stádiu (Rumpold & Schlüter 2013). Mezi tradiční metody přípravy hmyzu patří vaření ve vodě nebo v páře, smažení, pečení a sušení (Manditsera et al. 2019b)

Tým vědců z africké Univerzity v Chinhoy zkoumal vliv vaření a pečení na jedince brouka *Eulipida mashona* a cvrčka *H. whellani*, kteří byli nasbíráni v přírodě. Vaření ve vodě vedlo u obou druhů k poklesu celkového obsahu bílkovin, způsobeným únikem do vody. U obou druhů představovaly ztráty asi 10 % obsažených bílkovin (Manditsera et al. 2019b). Vliv vaření na celkový obsah bílkovin ale nebyl pozorován u *T. molitor*. Při různých způsobech vaření se významně nezměnil, po smažení ale došlo k poklesu obsažených proteinů o 60 % (Caparros Megido et al. 2018). Dle Poelarta et al. (2018) nemělo pečení v peci ani autoklávování vliv na celkové množství proteinu jak u *T. molitor*; tak u *A. domesticus* (Poelaert et al. 2018)

Manditsera et al. (2019b) pomocí statického modelu trávení INFOGEST porovnávali stravitelnost jedinců *Eulipida mashona* (EM) a *Henicus whellani* (HW) v syrovém stavu a po různých tepelných úpravách. Za syrova dosahovala stravitelnost bílkovin u obou druhů asi 60 %. Po dvojitým převaření po dobu 30 minut klesla stravitelnost u EM i HW na 46 %. Rozdíl mezi oběma druhy nastal u pečení, které nemělo sice vliv na stravitelnost brouků, u cvrčka však došlo k poklesu stravitelnosti o 15 % proti syrovému stavu. Různý dopad tepelné úpravy na stravitelnost hmyzího proteinu *in vitro* v závislosti na konkrétním druhu pozorovali také Kinyuru et al. (2010). U zástupce okřídleného termita (*Macrotermes subhylanus*) nedošlo ke změně stravitelnosti, která dosahovala v syrovém stavu 90 %, ani po pečení a usušení. U zelené kobylky (*Ruspolia differens*) ale došlo po upečení a následném usušení k poklesu stravitelnosti z původních 82 % na 76 %. Poelaert et al. (2018) porovnávali za užití krysího modelu změnu hodnoty PDCAAS u *Acheta domesticus* a *Tenebrio molitor* v závislosti na tepelné úpravě vzorků. Ukázalo se, že z hlediska nejlepší stravitelnosti je pro každý druh vhodná jiná metoda zpracování. U cvrčka mělo největší vliv na stravitelnost autoklávování při teplotě 200 °C po dobu 25 minut, kdy došlo k poklesu hodnoty skóre z 83,9 na 78,9. Pečení v troubě na 150 °C po dobu 30 minut nemělo na využití bílkovin tohoto druhu téměř žádný vliv. Pro *T. molitor* ale tento způsob přípravy naopak působil největší změny ve stravitelnosti, kdy došlo k poklesu PDCAAS z 86,4 za syrového stavu na 68,9 po upečení. Také autoklávování způsobovalo u potměšáka moučného výrazné změny stravitelnosti, kdy došlo k poklesu celkového skóre o deset bodů. U *T. molitor* byl také pozorován výrazný vliv zvolené doby a teploty pečení. Zatímco půlhodinové pečení v troubě při 150 °C způsobilo výrazné změny ve stravitelnosti, při zvýšení teploty na 200 °C a zkrácení procedury na deset minut došlo ke změně skóre PDCAAS z 86,4 na 83,6. Pozorování hlodavci krmení syrovým hmyzem rostli rychleji než ti krmení tepelně opracovaným hmyzem. To bylo pravděpodobně způsobeno změnami přítomných AMK vlivem vysoké teploty na nestravitelné sloučeniny, a to vedlo ke snížení celkové výživové hodnoty hmyzu. Vliv zvolené metody tepelné úpravy na nutriční hodnotu bílkovin zkoumali také Huang et al. (2019), kteří k tomu použili larvy muchy černé (*H. illucens*) a *in vitro* stanovení hodnoty DIAAS. Hmyzí mouka připravená konvenční metodou (sušení při 60 °C konstantní hmotnosti) se ukázala jako nutričně hodnotnější, než prášek připravený sušením v mikrovlnné troubě o výkonu 500 W po dobu 15 minut. Hodnota DIAAS u standartně připravené hmyzí mouky byla 82, zatímco mouka připravená za pomoci mikrovlnného záření dosahovala hodnoty 75. Připravené mouky se od sebe lišily také první limitující AMK. V případě konvenční metody sušení to byl lysin, při užití mikrovlnného záření to byl valin.

Jak ovlivní zvolený způsob úpravy stravitelnost hmyzího proteinu závisí především na jeho chemickém složení v syrovém stavu. V první řadě byla popsána negativní korelace

mezi množstvím obsaženého chitinu a stravitelností bílkovin (Marono et al. 2015). Vysoká teplota podporuje vznik disulfidových můstků mezi proteiny, což omezuje přístup hydrolytickým enzymům (Manditsera et al. 2019b). Při vaření dochází k oxidaci AMK, na kterou je náchylný zejména lysin (Rutherford & Moughan 2007), ale také arginin a aromatické aminokyseliny (Poelaert et al. 2018). Za zvýšené teploty dochází také k reakcím s přítomnými sacharidy (Maillardova reakce) a oxidativními produkty tuků, které vytvářejí nestravitelné lipido- proteinové komplexy. Z tohoto důvodu může být po tepelné úpravě více ovlivněna stravitelnost bílkovin u tučnějších druhů hmyzu (Caparros Megido et al. 2018). Dochází také k reakcím s přítomnými antinutričními látkami (Musundire et al. 2014). Při výrobě hmyzí mouky ovlivnila zvolená metoda sušení texturu výsledného produktu. Prášek připravený v mikrovlnné troubě byl tvořen většími částicemi následkem polymerizace za vysokých teplot. Velikost částic měla negativní vliv na přístup trávicích enzymů a z tohoto důvodu dosahoval tento prášek nižších hodnot stravitelnosti (Huang et al. 2019).

### 3.3.5 Vliv metody usmrcení na nutriční hodnotu hmyzu

Na nutriční hodnotu jedlého hmyzu má vliv také použitá metoda jeho usmrcení. Ta musí splňovat mikrobiální, senzorycké, technologické a v rámci velkovýroby také ekonomické požadavky. Běžně užívanými metodami porážky je v případě hmyzu spaření, zmražení, udušení (vysokou koncentrací CO<sub>2</sub> či N<sub>2</sub>), vysušení a mletí (Larouche et al. 2019). Usmrcení hmyzu spařením má z potravinářského hlediska řadu výhod. Dochází ke stabilizaci barvy a snížení aktivity enzymů, které snižují trvanlivost při skladování. Spaření zabraňuje také oxidaci lipidů a působí příznivě na organoleptické vlastnosti produktu. Pro hmyz samotný pak představuje rychlý a bezbolestný způsob usmrcení (Larouche et al. 2019; Leni et al. 2019). Ponořením do vroucí vody však dochází k vylouhování některých vitamínů a minerálů. Takto připravené vzorky pak obsahují menší obsah popelovin než ty vystavené jiné metodě usmrcení. Vedle toho byla také popsána snížená *in vitro* stravitelnost přítomných proteinů u hmyzu usmrceného spařením. To je vysvětlováno denaturací bílkovin vlivem vysokých teplot. Takový protein se potom stává nedostupným pro trávicí enzymy (Zhen et al. 2020). Leni et al. (2019) však ve své práci s prepupami muchy černé dospěli k opačnému závěru. Vzorky usmrcené zmražením v jejich studii vykazovaly nižší stravitelnost a snížené množství cysteinu a lysinu v celkové frakci aminokyselin oproti spařeným vzorkům. K jejich úbytku došlo pravděpodobně vlivem nízkých teplot způsobujících agregaci bílkovin. Úbytek cysteinu po zmražení je významný zejména z toho důvodu, že siřné aminokyseliny jsou u hmyzu často limitující. Naopak spařené vzorky byly v jejich studii stravitelnější, což si výzkumníci vysvětlovali tím, že denaturované proteiny jsou naopak trávicím enzymům přístupnější.

## 3.4 Protokol *in vitro* trávení INFOGEST

Řada civilizačních chorob (obezita, diabetes mellitus II. typu) úzce souvisí se stravovacími návyky. K tvorbě relevantních výživových doporučení je nutné znát způsob, jakým jsou jednotlivé živiny organismem tráveny a vstřebávány. Řada meziproductů, které při trávicích procesech vzniká (např. peptidy) je biologicky aktivní a má přímý dopad na zdraví konzumenta (Ménard et al. 2014). Zlatým standardem pro zkoumání stravitelnosti živin jsou *in vivo* pokusy. Tyto studie jsou však finančně i časově nákladné a mohou být také eticky

problematické, například v případě, že studujeme trávicí trakt novorozenců. Metody *in vitro* pak představují levnější alternativu, která výzkumníkům umožňuje tyto experimenty provádět v přesně definovaných podmínkách. Standardizace postupů pak zajišťuje dobrou mezilaboratorní reprodukovatelnost a vytvoření databáze o trávených živinách (Ménard et al. 2014; Brodkorb et al. 2019; Sousa et al. 2020).

Simulace trávení *in vitro* lze rozdělit na dynamické a statické *in vitro* modely. Dynamické systémy reflektují skutečnost, že koncentrace trávicích enzymů se v jednotlivých částech gastrointestinální soustavy mění a umožňuje badatelům v průběhu trávicích procesů zasahovat do jejich koncentrace. Vedle toho simuluje také mechanické působení trávicího traktu, kterému je trávenina za fyziologických podmínek vystavena (Dupont et al. 2019). Tento způsob uspořádání sice věrněji simuluje skutečné poměry v zažívacím traktu, vyžaduje však specifické laboratorní vybavení a řídicí software. Představiteli dynamických modelů trávení jsou modely TIM-1, simulující procesy v žaludku a tenkém střevě (Minekus 1995), a TIM-2, simulující prostředí tlustého střeva (Minekus et al. 1999). Samotný trávicí model je tvořen kompartmenty představujícími jednotlivé části trávicího traktu, navzájem propojenými pomocí ventilů. Řídicím softwarem je pak možné ovládat míchání tráveniny, teplotu, sekreci trávicích enzymů či dobu průchodu. Množství trávicích enzymů je pak možné regulovat přímo v závislosti na potravě, která má být trávena. Systém tak například reflektuje rozdílnou produkci žaludečních šťáv při samostatném příjmu vody či proteinů. Intenzitu sekrece je také možné upravit tak, aby reflektovala sníženou činnost GIT například u seniorů nebo naopak dětí (Guerra et al. 2012; Dupont et al. 2019). Dalším představitelem je model SHIME (Simulator of Human Intestinal Microbial Ecosystem), který byl vyvinut pro zkoumání mikrobiálních procesů v lidském tlustém střevě. Seskládá z pěti navzájem propojených reaktorů, z nichž první dva představují fáze trávení probíhající v žaludku a tenkém střevě. Další tři reprezentují části tračníku (colon ascendens, transcendens a descendens) a jejich specifické mikrobiální osídlení (Guerra et al. 2012; Dupont et al. 2019). SHIME umožňuje zkoumat procesy probíhající v tlustém střevě při různých chorobách, jako jsou zánětlivá onemocnění střev, Crohnova choroba a ulcerózní kolitida (Vigsnaes et al. 2013). Existují také modifikace užívané ke zkoumání chování mikrobioty u dětí, dospělých či seniorů, ale také u psů a koček a jiných zvířat (Marzorati et al. 2014). U statických modelů se parametry jako je pH nebo množství trávicích enzymů nemění, nedochází ani k simulaci průchodu tráveniny trávicí soustavou a doba působení enzymů je pevně dána. Jejich provedení je však výrazně jednodušší a stačí k němu i běžné laboratorní vybavení. I přes svoji jednoduchost dosahují dobré shody s pokusy *in vivo*. S jejich pomocí však není možné zkoumat kinetiku trávicích procesů, ale pouze porovnávat výsledné produkty trávení orální, gastrické nebo intestinální fáze (Brodkorb et al. 2019).

Statický *in vitro* protokol trávení INFOGEST byl vyvinut mezinárodním týmem vědců (Minekus et al. 2014) a od té doby je neustále vylepšován. Cílem autorů bylo vyvinout universální a snadno reprodukovatelnou metodu, která umožní porovnávat výsledky mezi jednotlivými laboratořemi a napomůže vytvoření jednotné knihovny s údaji o stravitelnosti jednotlivých živin. Vypracovaná metodika rozlišuje tři základní fáze – přípravu, vlastní trávení a analýzu tráveniny (Brodkorb et al. 2019). V přípravné fázi je nutné experimentálně stanovit koncentraci žlučových solí a použitých trávicích enzymů (pepsin, trypsin, chymotrypsin,  $\alpha$ -amyláza). To je nutné provést za přesně definovaných podmínek, mezi které patří konkrétní hodnota pH a vlastnosti testovacího substrátu. Správné provedení těchto kroků je kritické pro

validitu získaných výsledků (Minekus et al. 2014). Následuje simulace vlastního trávicího procesu, která je ve snaze co nejděleji simulovat průchod tráveniny v trávicím traktem člověka rozdělena na tři na sebe navazující části – orální, gastrickou a intestinální. Nezávisle na vzorku je třeba provést trávení ve všech fázích z důvodu zachování způsobu, jakým je trávenina v jednotlivých fázích ředěna trávicími šťávami. V orální fázi je sousto smícháno s tekutinou svým složením odpovídající lidským slinám. Vzorek je nutné rozdrtit, aby bylo zohledněno žvýkání, které probíhá *in vivo*. Tato část protokolu trvá dvě minuty za neutrálního pH. Přítomnost ptyalinu se odvíjí od živiny, jejíž stravitelnost stanovujeme. Následně je trávenina smíchána s připravenými gastrickými šťávami obsahujícími pepsin a žaludeční lipázu. Dojde k poklesu pH na 3 a za stálého třepání vzorku se po 2 hodiny nechá probíhat trávení. Intestinální fáze trvá další dvě hodiny a k trávenině při ní přidáváme zvolené pankreatické enzymy a žlučové soli. Dochází k obnovení neutrálního pH. Provedením celého protokolu získáme vzorek, který je třeba dále analyzovat (Brodkorb et al. 2019).

Protokol trávení INFOGEST je možné využít k vyšetření stravitelnosti celé řady látek. Vedle výzkumu trávení makroživin (Brodkorb et al. 2019) je možné zkoumat také uvolňování a biodostupnost specifických látek z konkrétní matrice, jako jsou například karotenoidy (Hempel et al. 2017) nebo železo (Wang et al. 2017). Jiným způsobem využití je analýza produktů štěpení bílkovin s těstovin a zkoumání alergenního potenciálu takto vniklých peptidů (Mamone et al. 2015). Provedené experimenty ukazují, že harmonizovaný protokol INFOGEST umožňuje přesnou predikci štěpných produktů makroživin. Platí to zejména v případě jednoduchých směsí, jako jsou roztoky bílkovin, škrobu nebo lipidových emulzí (Bohn et al. 2018). Dokazuje to například studie Sanchón et al. (2018) provedená na lidech, která porovnávala štěpné produkty kaseinu a syrovátkového proteinu získané nasogastrální sondou na konci lidského jejunu. Spektrum peptidů, které vzniklo *in vitro* za užití jejunální simulace protokolem INFOGEST odpovídalo kvalitativně i kvantitativně produktům štěpení získaných z lidského střeva (Sanchón et al. 2018). Vysoké korelace dosahovaly výsledky metodiky INFOGEST také při porovnání trávicích procesů u prasat. Při *in vitro* trávení skutečných směsí živin míra korelace klesá, stále však představuje dobrý odhad výsledného produktu trávení na konci jednotlivých trávicích fází (Egger et al. 2017). Limitujícím faktorem je zde neschopnost statického modelu reprodukovat motilitu gastrointestinálního traktu a závislost sekrece trávicích šťáv ve spojitosti s konkrétní matrix potravy. Problematické může být také stanovení některých mikronutrientů, jako jsou například polyfenoly. Jejich bioaktivita se odvíjí také od interakcí se střevní mikrobiotou, pochody v tlustém střevě však v tomto modelu trávení přítomny nejsou. *In vitro* model trávení však stále může posloužit ke spolehlivému odhadu při porovnávání dostupnosti mikronutrientů mezi dvěma konkrétními zdroji (Bohn et al. 2018). Metodika tohoto trávicího protokolu zatím také nezohledňuje činnost trávicích enzymů na povrchu enterocytů. Jejich činností se zvětšuje množství vstřebaných štěpných produktů. Nelze také zanedbat biologickou aktivitu takto vznikajících látek, neboť řada z nich vykazuje biologickou aktivitu a v místě vzniku moduluje trávicí procesy. Zahnutí činností trávicích enzymů střevní mukózy představuje tedy důležitý krok pro zvýšení přesnosti *in vitro* metod vyšetřujících stravitelnost (Picariello et al. 2016; Brodkorb et al. 2019).

## 4 Metodika

### 4.1 Materiál

Larvy *T. mollitor* a *G. assimilis* byly odchovány v laboratorním inkubátoru Bordlab při teplotě  $27 \pm 1$  °C. Vyvinutí dospělci byly drženi v plastové přepravce o rozměrech 39×28×14 cm s vyříznutým dnem nahrazeným hliníkovou sítí. K namíchání trávicích šťáv byl použit dihydrogenfosforečnan draselný p. a., hydrogenuhlíčan sodný p. a., chlorid sodný p. a. a hydroxid sodný p. a. zakoupené od Lach:Ner s.r.o.. Dále hexahydrát chloridu hořečnatého p.a., kyselina chlorovodíková p. a. a dihydrát chloridu vápenatého p. a. zakoupený od VWR International. Použity byly také chlorid draselný p. a. a uhlíčan amonný p. a. od Sigma – Aldrich s.r.o. Enzymy a žluč použité v experimentu pocházely od stejného výrobce. Použita byla prasečí  $\alpha$ -amyláza o aktivitě  $\geq 5$  U/mg, prasečí pepsin izolovaný z gastrické mukózy ( $\geq 920$  U/mg) a pankreatin (8×USP). Při pokusu bylo využito následující laboratorní vybavení: sušárna značky MEMMERT, mrazák (Liebherr), lyofilizátor (ScanVac), pH metr (WTW), laboratorní mlýnek Grindomix (Retsch), centrifuga (Schoeller), vortex Minishaker (VITRUM), vodní třepací lázeň (Schoeller), topná deska Ceran 500, inkubátor (Schoeller), rotační míchačka (VWR), mikrovlnná trouba (Samsung), a přístroj na úpravu vody AQUAOS (Millipore). Použity byly také pipety, běžné laboratorní sklo, zkumavky, navažovací a sušící misky. Analýza aminokyselin byla provedena laboratoří Eurofins Food & Feed Testing Czech Republic s.r.o. akreditovanou Českým institutem pro akreditaci (akreditační číslo 1546). Tryptofan byl stanoven pomocí kapalinové chromatografie s fluorescenčním detektorem a ostatní aminokyseliny byly stanoveny iontovou chromatografií s UV detektorem.

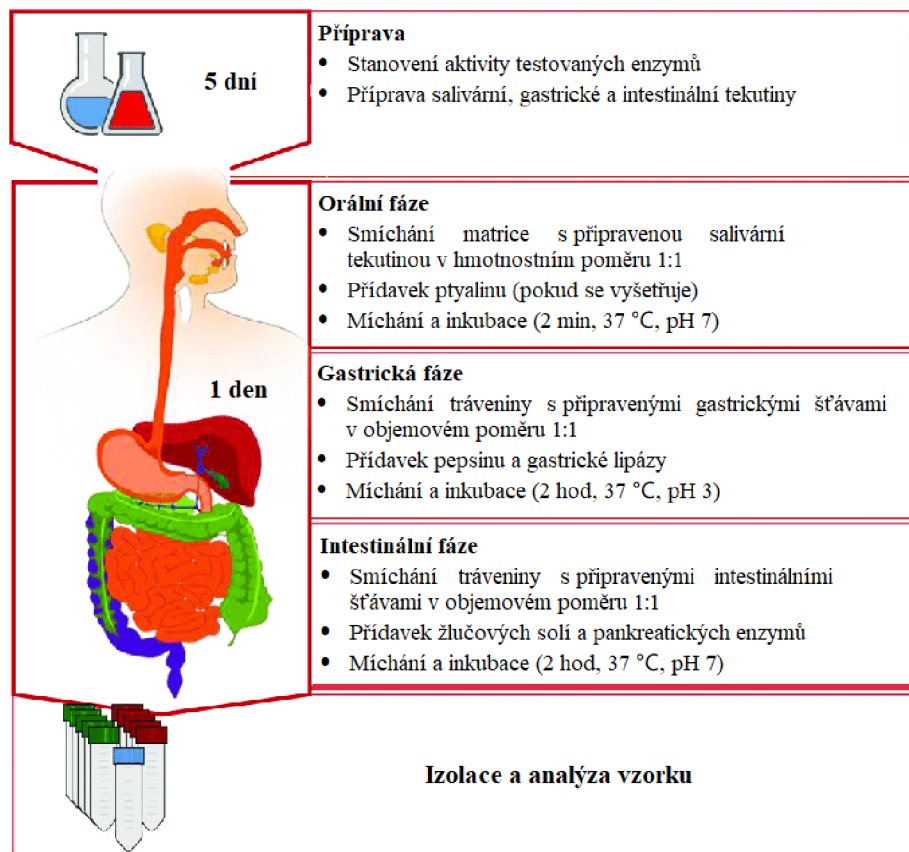
#### 4.1.1 Příprava vzorků

Zkoumaný hmyz se nechal 24 hodin před zahájením pokusu vylačnit a poté byl usmrcen spařením. Živí jedinci byli nasypáni do vařící vody a po 20 sekundách opět vyndáni a ponecháni k okapání na filtračním papíře. Poté byli opět zváženi a usmrcené vzorky hmyzu následně lyofilizovány.

Mezi kulinární úpravy bylo zařazeno vaření, pražení, sušení a mikrovlnný ohřev. Při vaření byl usmrcený hmyz nasypán do vroucí vody (300 g hmyzu ve 3 l vody) a vařen 30 min. Poté byl vyndán, ponechán k okapání na filtračním papíře a znovu zvážen. Pražení probíhalo na pánvi bez přídavku oleje. Na rozpálenou pánev byl nasypán hmyz v takovém množství, aby tvořil jednu vrstvu (cca 200-300 g). Po 5 minutách pražení byl hmyz vyndán a ponechán k vychladnutí na filtračním papíře a poté opět zvážen. Před sušením byl hmyz navážen (80 g) do hliněných kalíšků. Poté byl po dobu 15 hod sušen v sušárně při teplotě 80 °C. Po vysušení a vychladnutí byl opět zvážen. Pro mikrovlnný ohřev byl hmyz rozprostřen na talíř do jedné vrstvy (cca 280 g) a poté umístěn do trouby. Ohřev trval celkem 10 minut a výkon byl nastaven na 800 W. Aby nedocházelo k prskání bylo nutné proces jedné minutě přerušit a 4 minuty čekat. Teprve pak bylo možné s mikrovlnným záhřevem pokračovat. Po skončení byl hmyz ponechán k vychladnutí na filtračním papíře a opět zvážen. Poté byly vzorky lyofilizovány.

#### 4.1.2 Model trávení INFOGEST

K vyšetření stravitelnosti vzorků byl využit statický *in vitro* model trávení INFOGEST, jak ho popsali Brodkorb et al. (2019). Tento model simuluje orální, gastrickou a intestinální fázi trávení v lidské trávicí soustavě. Vzorky kulinárně upraveného i neupraveného hmyzu byly vystaveny všem třem fázím trávení. K analýze aminokyselinového složení byl odeslán vzorek odebraný po skončení intestinální fáze trávení. Přehled jednotlivých fází metodiky ukazuje Obrázek 1.



**Obrázek 1:** Diagram znázorňující postup *in vitro* trávení INFOGEST. Časové údaje vlevo udávají orientační časovou náročnost. Přejato a upraveno podle Brodkorb et al. (2019).

#### Příprava trávicích roztoků

Před provedením experimentu byly připraveny trávicí šťávy pro jednotlivé fáze trávení. Smísením příslušných chemikálií pak byla postupně připravena šťáva slinná (SSF), žaludeční (SGF) a střevní (SIF). Poté byl objem doplněn destilovanou vodou na 400 ml a vznikl tak zásobní roztok příslušné trávicí šťávy o koncentraci 1,25×. Koncentraci jednotlivých chemikálií v připravených trávicích šťávách popisuje Tabulka 2.

**Tabulka 2:** Objem zásobních roztoků elektrolytů trávicích šťáv doplněný na objem 400 ml destilovanou vodou (koncentrace 1,25×)

Chemikálie	Koncentrace zásobního roztoku		SSF	Výsledná koncentrace solí v SSF	SGF	Výsledná koncentrace solí v SGF	SIF	Výsledná koncentrace solí v SIF
	g/l	Mol/l	ml	(mM)	ml	(mM)	ml	(mM)
KCl	37,3	0,5	<b>15,1</b>	15,1	<b>6,9</b>	6,9	<b>6,8</b>	6,8
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	68	0,5	<b>3,7</b>	3,7	<b>0,9</b>	0,9	<b>0,8</b>	0,8
NaHCO <sub>3</sub>	84	1	<b>6,8</b>	13,6	<b>12,5</b>	25	<b>42,5</b>	85
NaCl	117	2	-	-	<b>11,8</b>	47,2	<b>9,6</b>	38,4
MgCl <sub>2</sub> *(H <sub>2</sub> O) <sub>6</sub>	30,5	0,15	<b>0,5</b>	0,15	<b>0,4</b>	0,12	<b>1,1</b>	0,33
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	48	0,5	<b>0,06</b>	0,06	<b>0,5</b>	0,5	-	-
HCl	-	6	<b>0,09</b>	1,1	<b>1,3</b>	15,6	<b>0,7</b>	8,4
CaCl <sub>2</sub> (H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub>	44,1	0,3	<b>0,025</b>	1,5	<b>0,005</b>	0,15	<b>0,04</b>	0,6

### Orální fáze

Lyofilizované vzorky hmyzu byly nejprve rozemlety na laboratorním mlýnku a následně přesypány v množství 5 g do připravených trávicích zkumavek. S trávicími roztoky byl vzorek míchán vždy v poměru 1:1. Ke vzorku byla přidána simulovaná slinná šťáva, amyláza o aktivitě 75 U/ml a roztok chloridu vápenatého o koncentraci 1,5 mM. Pro dosažení optimální pastovité konzistence byla přidána destilovaná voda. Takto upravené vzorky byly za stálého míchání inkubovány 2 minuty při teplotě 37 °C ve vodní třepací lázni.

### Gastrická fáze

Orální trávenina byla dále smíchána s přehřátou simulovanou gastrickou šťávou a pepsinem (2000 U/ml). Dále byl přidán chlorid vápenatý pro dosažení konečné koncentrace 0,15 mM a kyselina chlorovodíková za účelem snížení pH na 3. Aby bylo dosaženo poměru 1:1 mezi tráveninou a trávicími šťávami, byly vzorky doplněny vodou. Trávenina byla následně inkubována ve vodní lázni za stálého třepání při teplotě 37 °C po dobu 2 hodin.

### Intestinální fáze

V této fázi byla trávenina smíchána s přehřátou simulovanou střevní šťávou, pankreatinem a žlučí. Nejprve však bylo pH směsi upraveno přidáním hydroxidu sodného na hodnotu 7. Poté byla přidána žluč v takovém množství, aby její výsledná koncentrace byla 10 mM, obdobně byl přidán také chlorid vápenatý, aby bylo dosaženo jeho celkové koncentrace ve směsi 0,6 mM. Suspenze pankreatinu byla vytvořena tak, aby aktivita trypsinu odpovídala 100 U/ml. Směs byla pro dodržení poměru 1:1 doplněna vodou a inkubována ve vodní třepací lázni po dobu 2 hodin při teplotě 37 °C. Po skončení trávicího procesu byla enzymatická aktivita zastavena centrifugací a následným zmražením při teplotě -80°C.



## 5 Výsledky

### 5.1 Profil aminokyselin zkoumaných druhů hmyzu

Aminokyselinové složení trávených i netrávených vzorků bylo stanoveno v laboratořích Eurofins. Po ukončení trávení byly vzorky smíchány dohromady a homogenizovány. K analýze bylo za každou kategorii (metoda kulinární úpravy) odeslán jeden vzorek o hmotnosti 20 g, který byl analyzován ve třech opakováních. Následující tabulky (Tabulka 3 – Tabulka 6) podávají přehled o profilu aminokyselin dvou zkoumaných hmyzích druhů. Nejprve je uveden rozbor netráveného hmyzu po různých tepelných úpravách. Další tabulka ukazuje zastoupení aminokyselin v různě tepelně upravovaných vzorcích podstoupivších trávení *in vitro*. Množství aminokyselin ve vzorku je vyjádřeno jako průměrná hodnota na 100 g sušiny.

**Tabulka 3:** AMK v sušině kulinárně upravených netrávených vzorků *T. molitor*

g/100 g	bez úpravy	vaření	pražení	sušení	mikrovlnný ohřev
Alanin	4,25	4,26	4,09	3,96	4,22
Arginin	3,06	2,93	3,06	2,84	3,07
Asparagová k.	4,60	4,43	4,80	4,35	4,64
Glutamová k.	6,28	5,93	6,39	5,99	6,41
Glycin	2,97	2,97	2,98	2,83	3,05
Histidin	1,75	1,65	1,72	1,67	1,76
Hydroxyprolin	<0,2	<0,2	<0,2	<0,2	<0,2
Isoleucin	2,38	2,39	2,42	2,30	2,41
Leucin	4,07	4,17	4,18	3,88	4,20
Lysin	3,07	3,04	3,19	3,01	3,22
Ornitin	0,14	0,14	0,00	0,14	0,16
Fenylalanin	1,92	1,99	1,98	1,86	2,03
Prolin	4,20	3,55	4,10	4,28	4,40
Serin	2,60	2,59	2,64	2,45	2,65
Threonin	2,25	2,20	2,33	2,15	2,29
Tyrosin	3,93	3,80	3,58	3,42	3,67
Valin	3,38	3,44	3,43	3,26	3,48
Cystein + Cystin	0,53	0,51	0,56	0,53	0,55
Methionin	0,71	0,77	0,75	0,74	0,77
Tryptofan	0,69	0,69	0,72	0,66	0,73
<b>Σ AMK</b>	<b>52,79</b>	<b>51,45</b>	<b>52,94</b>	<b>50,30</b>	<b>53,71</b>

**Tabulka 4:** AMK v sušině kulinárně upravených natrávených vzorků *T. molitor*

<b>g/100 g</b>	<b>bez úpravy</b>	<b>vaření</b>	<b>pražení</b>	<b>sušení</b>	<b>mikrovlnný ohřev</b>
Alanin	2,74	2,89	3,07	2,85	2,90
Arginin	2,24	2,18	2,33	2,37	2,32
Asparagová k.	3,93	3,89	4,50	4,47	4,07
Glutamová k.	4,71	4,60	5,27	5,16	4,91
Glycin	2,53	2,61	2,87	2,71	2,63
Histidin	1,42	1,42	1,55	1,45	1,49
Hydroxyprolin	<0,2	<0,2	<0,2	<0,2	<0,2
Isoleucin	2,30	2,28	2,69	2,60	2,28
Leucin	3,63	3,61	4,20	4,04	3,80
Lysin	2,53	2,48	2,86	2,82	2,57
Ornitin	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
Fenylalanin	2,17	2,09	2,45	2,40	2,15
Prolin	3,70	2,38	1,94	2,39	4,34
Serin	2,17	2,13	2,39	2,29	2,16
Threonin	2,04	1,90	2,25	2,17	1,99
Tyrosin	4,39	4,51	4,60	4,01	4,27
Valine	2,89	2,90	3,19	3,05	2,89
Cystein + Cystin	0,68	0,66	0,79	0,83	0,69
Methionin	0,87	0,80	0,99	0,98	0,85
Tryptofan	0,76	0,70	0,82	0,79	0,74
<b>Σ AMK</b>	<b>45,70</b>	<b>44,02</b>	<b>48,76</b>	<b>47,37</b>	<b>47,23</b>

**Tabulka 5:** AMK v sušině kulinárně upravených netrávených vzorků *G. Assimilis*

<b>g/100 g</b>	<b>bez úpravy</b>	<b>vaření</b>	<b>pražení</b>	<b>sušení</b>	<b>mikrovlnný ohřev</b>
Alanin	5,48	5,52	5,52	5,88	5,26
Arginin	4,66	4,44	4,71	5,01	4,52
Asparagová k.	5,68	5,67	6,15	6,06	5,62
Glutamová k.	7,31	7,03	7,14	7,61	7,19
Glycin	3,56	3,38	3,55	3,80	3,43
Histidin	1,55	1,57	1,61	1,60	1,57
Hydroxyprolin	<0,2	<0,2	<0,2	<0,2	<0,2
Isoleucin	2,72	2,80	2,76	2,95	2,65
Leucin	4,69	4,87	4,81	5,01	4,70
Lysin	3,90	3,84	3,85	3,93	3,87
Ornitin	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
Fenylalanin	2,33	2,34	2,34	2,44	2,29
Prolin	4,28	4,40	4,27	4,63	4,26
Serin	3,20	3,15	3,11	3,44	3,03
Threonin	2,63	2,61	2,59	2,82	2,54
Tyrosin	3,56	3,61	3,48	3,67	3,61
Valin	3,77	3,85	3,84	3,92	3,71
Cystein + Cystin	0,62	0,64	0,68	0,62	0,63
Methionin	1,00	1,03	1,04	1,03	1,01
Tryptofan	0,74	0,74	0,71	0,77	0,70
<b>Σ AMK</b>	<b>61,67</b>	<b>61,50</b>	<b>62,16</b>	<b>65,20</b>	<b>60,60</b>

**Tabulka 6:** AMK v sušně kulinárně upravených natrávených vzorků *G. assimilis*

<b>g/100 g</b>	<b>bez úpravy</b>	<b>vaření</b>	<b>pražení</b>	<b>sušení</b>	<b>mikrovlnný ohřev</b>
Alanin	4,87	4,66	5,08	5,93	4,56
Arginin	2,85	2,53	2,60	3,20	2,93
Asparagová k.	3,80	3,69	3,93	4,55	3,87
Glutamová k.	4,33	4,13	4,30	4,66	4,42
Glycin	2,72	2,58	2,79	3,08	2,69
Histidin	1,32	1,28	1,32	1,41	1,27
Hydroxyprolin	<0,2	<0,2	<0,2	<0,2	<0,2
Isoleucin	2,36	2,23	2,51	2,79	2,33
Leucin	3,88	3,77	4,01	4,46	3,86
Lysin	2,55	2,29	2,39	2,68	2,46
Ornitin	<0,05	0,16	0,13	<0,05	<0,05
Fenylalanin	1,97	1,94	2,05	2,30	2,11
Prolin	3,80	4,88	3,23	4,62	2,77
Serin	2,28	2,19	2,42	2,70	2,32
Threonin	1,93	1,93	2,02	2,35	1,97
Tyrosin	3,03	3,48	3,33	3,58	3,71
Valin	3,27	3,14	3,45	3,89	3,25
Cystein + Cystin	0,59	0,59	0,66	0,74	0,65
Methionin	0,88	0,88	0,91	0,99	0,96
Tryptofan	0,74	0,65	0,71	0,82	0,72
<b>Σ AMK</b>	<b>47,18</b>	<b>46,99</b>	<b>47,86</b>	<b>54,78</b>	<b>46,83</b>

## 5.2 Stravitelnost bílkovin v závislosti na druhu hmyzu a tepelné úpravě

Stravitelnost hmyzích bílkovin byla vypočítána jako podíl celkového množství aminokyselin v sušně netrávených a trávených vzorků.

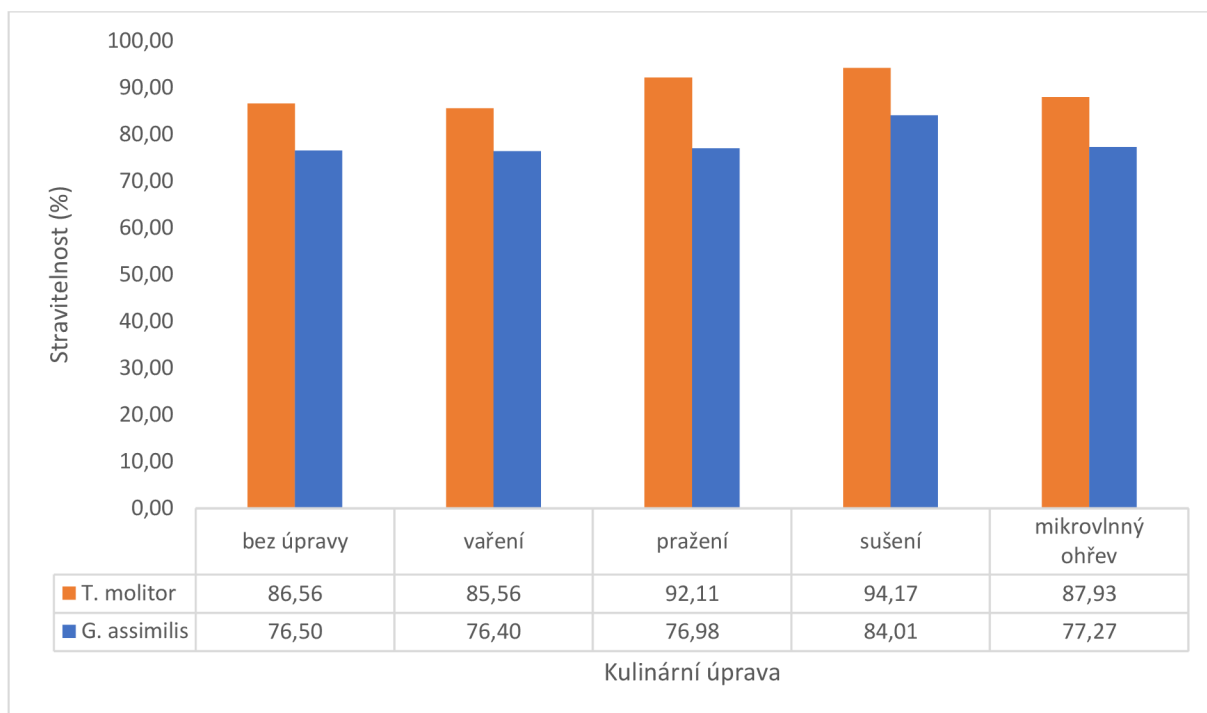
$$\text{Stravitelnost (\%)} = \frac{\sum \text{AMK v natrávených vzorcích}}{\sum \text{AMK v netrávených vzorcích}} * 100$$

**Tabulka 7:** Hodnoty stravitelnosti pro *Tenebrio molitor*

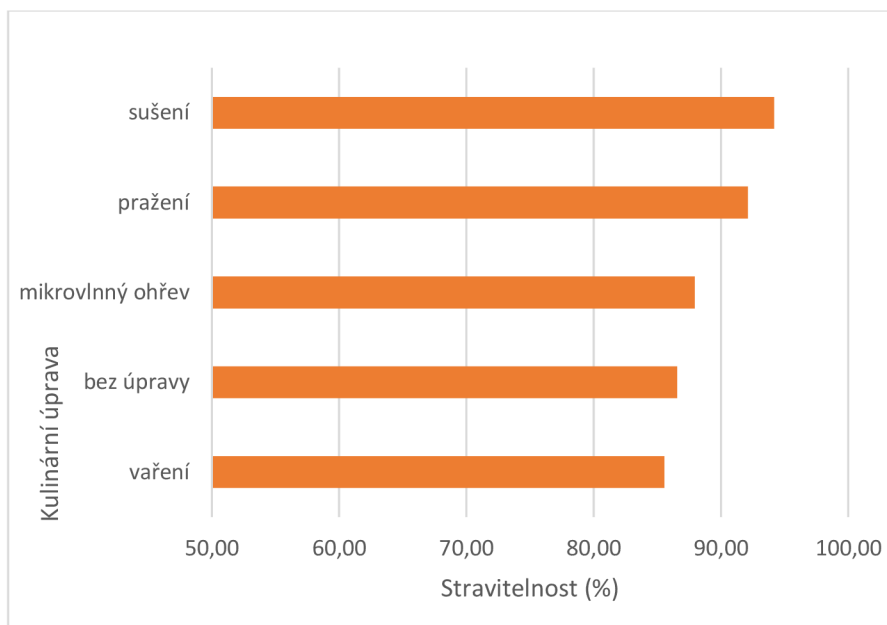
<b>g/100 g</b>	<b>bez úpravy</b>	<b>vaření</b>	<b>pražení</b>	<b>sušení</b>	<b>mikrovlnný ohřev</b>
Σ AMK nenatrávené vzorky	52,79	51,45	52,94	50,30	53,71
Σ AMK natrávené vzorky	45,70	44,02	48,76	47,37	47,23
<b>stravitelnost (%)</b>	<b>86,56</b>	<b>85,56</b>	<b>92,11</b>	<b>94,17</b>	<b>87,93</b>

**Tabulka 8:** Hodnoty stravitelnosti pro *Gryllus assimilis*

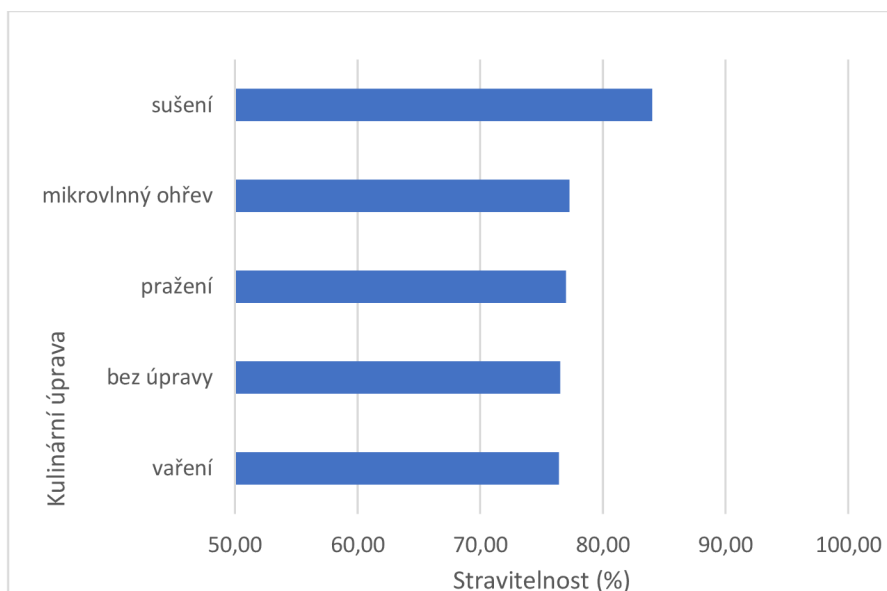
g/100 g	bez úpravy	vaření	pražení	sušení	mikrovlnný ohřev
Σ AMK nenatrávené vzorky	61,67	61,50	62,16	65,20	60,60
Σ AMK natrávené vzorky	47,18	46,99	47,86	54,78	46,83
<b>stravitelnost (%)</b>	<b>76,50</b>	<b>76,40</b>	<b>76,98</b>	<b>84,01</b>	<b>77,27</b>

**Graf 2:** Porovnání stravitelnosti *T. molitor* a *G. assimilis* v závislosti na kulinární úpravě

Z Grafu 2 je patrné, že *G. assimilis* vykazoval nižší *in vitro* stravitelnost než *T. molitor* a to nezávisle na zvolené metodě kulinární úpravy. Nejvyšších hodnot stravitelnosti bylo dosaženo při sušení, která u GA dosahovala 84,01 % a u TM 94,17 %. U obou druhů hmyzu bylo možné pozorovat negativní vliv vaření na hodnoty stravitelnosti oproti syrovému stavu. Tento efekt byl ale velice malý. U TM byla stravitelnost před vařením 86,65 % a po něm 85,56 %. U GA dosahovala stravitelnost před uvařením hodnot 76,5 % a po něm 76,4 %. Všechny ostatní metody kulinární úpravy u obou hmyzích druhů stravitelnost zvýšily. Největší změna stravitelnosti nastala po sušení, kdy došlo k jejímu nárůstu u obou druhů asi o 8 %.



**Graf 3:** Hodnoty stravitelnost *T. molitor* v závislosti na zvolené kulinární úpravě



**Graf 4:** Hodnoty stravitelnost *G. assimilis* v závislosti na zvolené kulinární úpravě

Grafy 3 a 4 ukazují hodnoty stravitelnosti seřazené od největší po nejmenší v závislosti na zvolené kulinární úpravě. Z grafů je patrné, že vzorky byly nejméně stravitelné po uvaření (TM 85,56 % a GA 76,5 %). Jejich stravitelnost byla dokonce nižší než v syrovém stavu. Oba hmyzí druhy reagovaly z hlediska stravitelnosti rozdílně na pražení. U *T. molitor* bylo pražení z hlediska stravitelnosti po sušení druhou nejvhodnější úpravou, kdy bylo možné pozorovat zvýšení z 86,56 % v syrovém stavu na 92,11 %. U cvrčka byla změna stravitelnosti po upražení zanedbatelná. Mikrovlnný ohřev měl u obou druhů hmyzu pouze minimální vliv na stravitelnost. Z průběhu obou grafů je také zřejmé, že s výjimkou sušení zůstávala stravitelnost *G. assimilis* téměř neměnná.

### 5.3 Hodnota DIAAS v závislosti na druhu hmyzu a tepelné úpravě

Hodnota DIAAS byla kalkulována podle metodiky FAO (FAO/WHO 2013). Z množství konkrétní aminokyseliny na 1 g bílkoviny vzorku a množství stejné aminokyseliny obsažené v referenčním proteinu byl vypočten referenční podíl. Jeho vynásobením 100 byla poté získána hodnota DIAAS. Jako referenční protein byla zvolena bílkovina odpovídající nutričním požadavkům starších dětí, dospívajících a dospělých, jak je definováno v metodice FAO.

$$\text{referenční podíl} = \frac{\text{množství AMK v bílkovině vzorku (mg/g)}}{\text{množství stejné AMK v referenční bílkovině (mg/g)}}$$

$$\text{DIAAS} = \text{referenční podíl} \cdot 100$$

**Tabulka 9:** Množství vybraných AMK v bílkovině *T. molitor* (mg/g) v závislosti na úpravě

mg/g proteinu	bez úpravy	vaření	pražení	sušení	mikrovlnná trouba
Histidin	30,93	29,95	29,05	29,22	28,66
Isoleucin	42,07	43,28	40,98	40,19	39,33
Leucin	71,92	75,6	70,72	67,82	68,49
Lysin	54,24	55,09	53,95	52,59	52,49
SAA	21,95	23,22	22,13	22,11	21,51
AAA	103,09	105	94,07	92,43	92,98
Threonin	39,79	39,81	39,43	37,54	37,33
Tryptofan	12,24	12,44	12,1	11,53	11,85
Valin	59,7	62,27	57,93	57,01	56,66

SAA – sirmé aminokyseliny; AAA – aromatické aminokyseliny

**Tabulka 10:** Množství vybraných AMK v bílkovině *G. assimilis* (mg/g) v závislosti na úpravě

mg/g proteinu	bez úpravy	vaření	pražení	sušení	mikrovlnná trouba
Histidin	21,42	22,9	22,6	21,52	22,96
Isoleucin	37,56	40,77	38,68	39,61	38,61
Leucin	64,69	70,91	67,37	67,3	68,57
Lysin	53,84	55,99	53,9	52,77	56,34
SAA	22,39	24,36	24,2	22,2	23,98
AAA	81,25	86,72	81,57	81,97	86,01
Threonin	36,27	37,97	36,32	37,83	36,97
Tryptofan	10,15	10,79	10,02	10,28	10,28
Valin	51,98	56,14	53,75	52,64	54,11

SAA – sirmé aminokyseliny; AAA – aromatické aminokyseliny

**Tabulka 11:** Referenční podíly stravitelnosti u *T. molitor* a DIAAS v závislosti na tepelné úpravě

Referenční podíl	bez úpravy	vaření	pražení	sušení	mikrovlnná trouba
Histidin	1,93	1,87	1,82	1,83	1,79
Isoleucin	1,4	1,44	1,37	1,34	1,31
Leucin	1,18	1,24	1,16	1,11	1,12
Lysin	1,13	1,15	1,12	1,1	1,09
SAA	0,95	1,01	0,96	0,96	0,94
AAA	2,51	2,56	2,29	2,25	2,27
Threonin	1,59	1,59	1,58	1,5	1,49
Tryptofan	1,85	1,88	1,83	1,75	1,8
Valin	1,49	1,56	1,45	1,43	1,42
<b>DIAAS</b>	<b>95,43</b>	<b>100,94</b>	<b>96,21</b>	<b>96,13</b>	<b>93,53</b>

SAA – sirn  aminokyseliny; AAA – aromatick  aminokyseliny

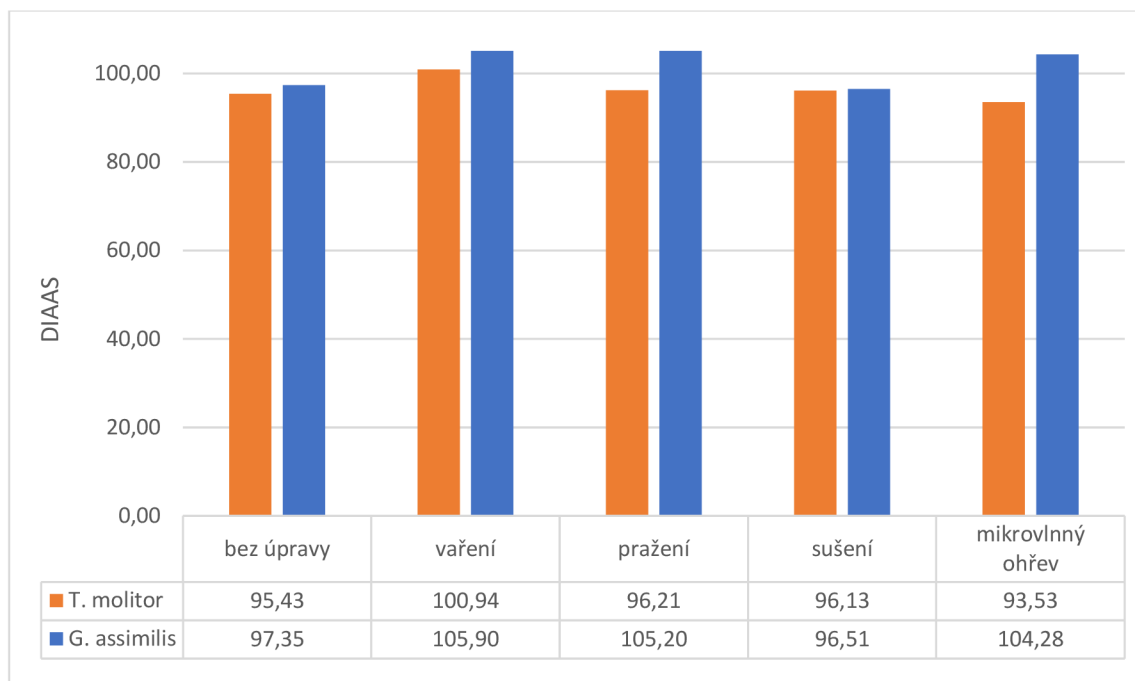
**Tabulka 12:** Referenční podíly stravitelnosti u *G. assimilis* a DIAAS v závislosti na tepelné úpravě

Referenční podíl	bez úpravy	vaření	pražení	sušení	mikrovlnná trouba
Histidin	1,34	1,43	1,41	1,35	1,43
Isoleucin	1,25	1,36	1,29	1,32	1,29
Leucin	1,06	1,16	1,1	1,1	1,12
Lysin	1,12	1,17	1,12	1,1	1,17
SAA	0,97	1,06	1,05	0,97	1,04
AAA	1,98	2,12	1,99	2	2,1
Threonin	1,45	1,52	1,45	1,51	1,48
Tryptofan	1,54	1,63	1,52	1,56	1,56
Valin	1,3	1,4	1,34	1,32	1,35
<b>DIAAS</b>	<b>97,35</b>	<b>105,9</b>	<b>105,2</b>	<b>96,51</b>	<b>104,48</b>

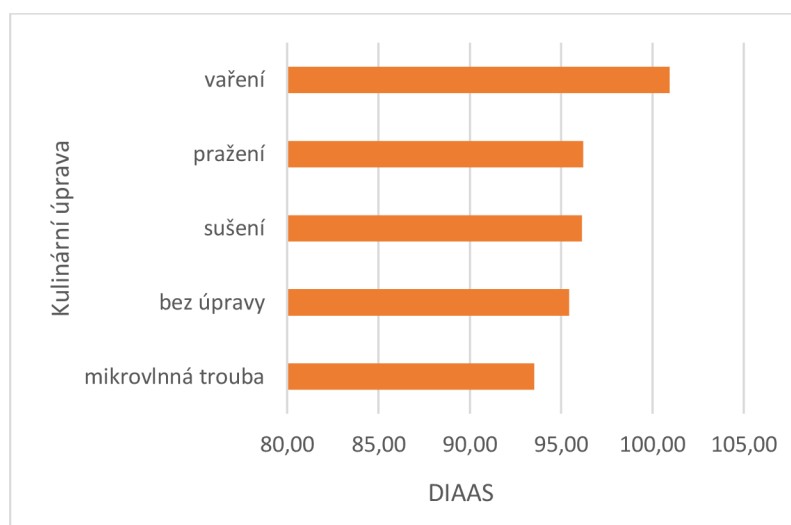
SAA – sirn  aminokyseliny; AAA – aromatick  aminokyseliny

Jak ukazuje tabulka 11 a 12, byly z hlediska kvality proteinu oba zkoumané druhy shodné. U *T. molitor* i *G. assimilis* byly limitujícími sirn  aminokyseliny (cystein, cystin, methionin), hodnota DIAAS se u nich lišila pouze kvantitativně, kdy vyšší hodnoty byly zaznamenány u GA. Ačkoliv bylo sirných AMK ve zkoumaných vzorcích nejméně, lze tyto bílkoviny stále označit jako dobrý zdroj aminokyselin, neboť dosahují hodnot DIAAS v rozmezí 75-99 (FAO/WHO 2013). V případě GA byly celkové hodnoty DIAAS dokonce vyšší než 100. Metoda kulinární úpravy měla u obou hmyzích druhů pouze kvantitativní vliv. To znamená, že se sice měnila číselná hodnota DIAAS, nedošlo však ke změně limitující AMK.

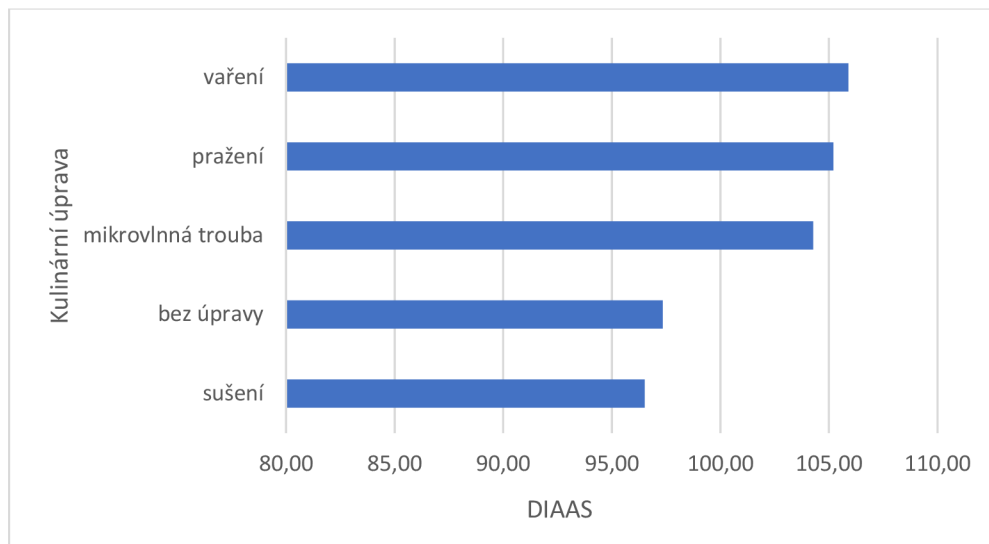




**Graf 5:** Porovnání hodnot DIAAS *T. molitor* a *G. assimilis* v závislosti na kulinární úpravě



**Graf 6:** Hodnota DIAAS u *T. molitor* v závislosti na kulinární úpravě



**Graf 7:** Hodnota DIAAS u *G. assimilis* v závislosti na kulinární úpravě

Graf 5 ukazuje, že v našem pokusu dosahoval *G. assimilis* celkově vyšších hodnot DIAAS než *T. molitor*. Na grafech 6 a 7 lze vidět, že se dopad použitých úprav na hodnotu DIAAS u zkoumaných hmyzích druhů výrazně nelišil. DIAAS dosahovalo nejvyšších hodnot po uvaření, kdy u TM mělo hodnotu 100,94 a u GA 105,90. Po upražení bylo DIAAS u obou druhů sice menší (96,24 pro TM a 105,20 pro GA), v obou případech však šlo z hlediska hodnoty skóre o druhou nejlepší metodu úpravy. U *T. molitor* bylo dosaženo nejnižších hodnot po mikrovlnném ohřevu. *G. assimilis* po této úpravě však stále dosahoval hodnot DIAAS větších než 100. Ačkoliv hodnota DIAAS byla po sušení u obou druhů prakticky totožná (96,13 pro TM a 96,51 pro GA), u cvrčka vedla tato metoda k vůbec nejnižší číselné hodnotě. U potměníka šlo z hlediska hodnoty skóre o metodu srovnatelnou se sušením čili druhou nejlepší metodou úpravy. U obou druhů vedl jeden ze způsobů přípravy ke snížení DIAAS oproti syrovému stavu. U TM k jeho poklesu došlo po mikrovlnném ohřevu, u GA po sušení.

## 6 Diskuze

Námi provedený experiment na dospělých jedlého hmyzu *T. molitor* a *G. assimilis* ukázal, že *in vitro* stravitelnost a hodnota DIAAS reaguje odlišně v závislosti na kulinární úpravě a hmyzím druhu. Tato zjištění jsou v souladu s dosud publikovanou literaturou, které uvádí rozdíly v zastoupení makro- i mikroživin mezi jednotlivými hmyzími druhy (Rumpold & Schlüter 2013). U námi zkoumaných druhů byly rozdíly v kompozici patrné již v syrovém stavu, kdy celkové množství stanovených aminokyselin činilo v nenatrávených vzorcích TM 52,79 g/100g sušiny, zatímco u GA to bylo 61,67 g/100 g. Tyto hodnoty korespondují s publikovanými údaji pro obsah aminokyselin v sušině *T. molitor* (48 g/100 g) a *G. assimilis* (56 g /100 g) (Bednářová et al. 2013). Na rozdíl od Manditsera et al. (2019b) jsme nepozorovali snížení množství volných aminokyselin způsobené jejich vylouhováním při vaření.

Námi zkoumané druhy se stravitelností lišily už v syrovém stavu. U TM jsme zaznamenali vyšší hodnoty stravitelnosti bílkovin než u GA (86,56 % a 76,5 %). Z hlediska celkové hodnoty stravitelnosti lze konstatovat, že je velice vysoká, ať už v porovnání se syrovým hrachem (80,1 %), amarantovou moukou (75 %) nebo batáty (52,8 %) (Sá et al. 2019). V případě hmyzu je vhodnější porovnání stravitelnosti s rostlinnými zdroji kvůli přítomným antinutričním látkám, jakými jsou v případě hmyzu chitin nebo taniny (El Hassan et al. 2008; Musundire et al. 2014). Pozorované hodnoty jsou ve shodě s publikovanými hodnotami *in vitro* stravitelnosti (75–98 %), kterých bylo dosaženo u hmyzích druhů různých řádů. Je ale nutné poznamenat, že Ramos-Elorduy et al. (1997) použili oproti nám odlišnou metodiku trávení (AOAC 971.09). Nižší hodnoty zaznamenané v našem experimentu je možné vysvětlit tím, že jsme pracovali s dospělými jedinci, kteří mají vyšší obsah chitinu. S jehož obsahem stravitelnost negativně koreluje (Marono et al. 2015). Analýzou zjištěné hodnoty stravitelnosti *G. assimilis* odpovídají údajům publikovaným Jayanegara et al. (2017) v jejichž experimentu byl cvrček stravitelný ze 70 %. Nižší stravitelnost bílkoviny GA oproti proteinu TM koresponduje se závěry dalších výzkumníků. Dourado et al. (2020) uvedli, že stravitelnost hrubé bílkoviny dosahovala u larev *T. molitor* 49,3 % a u nymf *G. assimilis* pouze 31,3 %. Ačkoliv panuje všeobecná shoda, že stravitelnost hmyzí bílkoviny je nepřímo úměrná množství přítomného chitinu (Musundire et al. 2014; Marono et al. 2015; Dourado et al. 2020), v případě těchto dvou hmyzích druhů to neplatí. Z publikovaných dat vyplývá, že průměrná hodnota chitinu je u cvrčka 8 g na 100 g sušiny (Adámková et al. 2017; Jayanegara et al. 2017), u potměníka je to ale až 12 g/100 g (Adámková et al. 2017). Z tohoto důvodu musíme s Dourado et al. (2020) konstatovat, že stravitelnost musí být vedle celkového obsahu chitinu ovlivněna ještě dalšími faktory. Může se jednat o specifické stavební a funkční propriety chitinu, které se liší mezi jednotlivými hmyzími druhy, případně rozdílný metabolismus, odbourávání a přestavba pomocí endogenních chitináz (Merzendorfer & Zimoch 2003).

Hodnota stravitelnosti reagovala odlišně na použité kulinární úpravy v závislosti na hmyzím druhu. Pro *T. molitor* i pro *G. assimilis* se jako nejvhodnější metoda úpravy ukázalo sušení, které u obou vedlo téměř k 10% zvýšení stravitelnosti. Druhy se však lišily v reakci na pražení. Zatímco u potměníka byla tato metoda úpravy z hlediska stravitelnosti druhou nejlepší, kdy došlo po upražení k jejímu zvýšení z 86,65 % na 92,11 %, u cvrčka došlo ke zvýšení pouze o desetiny procenta. Příznivý efekt sušení na stravitelnost obou druhů lze vysvětlit pomocí

biochemických reakcí, probíhajících v potravinách při dlouhodobém sušení za relativně nízkých teplot (v našem případě při teplotě 80 °C po dobu 15 hod). Při takto nastaveném sušícím procesu dochází ke zvětšení frakce volných amino- a mastných kyselin. Zvětšuje se také množství volných nukleosidů (García-García et al. 2018). Zejména volné AMK pak mají výrazný vliv na výslednou chuť, texturu a barvu výrobku (García-García et al. 2018; Melis et al. 2018). Jejich zvýšená hladina v supernatantu našich natrávených vzorků může být jedním z faktorů zvýšené stravitelnosti obou vzorků. Melis et al. (2018) dále spekulují, že dlouhodobé sušení hmyzu může vést k aktivaci endogenních lipolytických a proteolytických enzymů pocházejících ze střevní mikrobioty hmyzu. Činnost těchto enzymů pak může vedle senzorických vlastností významně ovlivnit také stravitelnost. Vyšší hodnoty stravitelnosti u sušených proti jinak kulinárně upraveným vzorkům jedlého hmyzu jsou ve shodě se závěry dalších vědeckých týmů, které tyto metody porovnávaly u jiných hmyzích druhů. U praženého sarančete *Anacridium melanorhodon* byla stravitelnost nižší (41,13 %) než u vařeného (49,89 %). Pražené vzorky vykazovaly proti těm vařeným také téměř dvojnásobný obsah taninů. Zvýšené množství antinutrientů v pražených vzorcích může být jeden z faktorů způsobujících nižší hodnoty stravitelnosti u pražených vzorků (El Hassan et al. 2008). Nižší hodnoty stravitelnosti u pražených vzorků potměníka se však neshodují se závěry Caparros Megido et al. (2018). *In vitro* stravitelnost byla v jejich případě u pražených vzorků 87 %, u vařených a sušených však byla vyšší než 90 %. Ačkoliv naše výsledky jsou ve shodě se zjištěním, že sušení je z hlediska stravitelnosti výhodnější než pražení, vařené vzorky *T. molitor* vykazovaly naopak nejnižší stravitelnost a jednalo se také o jedinou metodu, při které došlo k jejímu snížení. Jedním z možných vysvětlení odlišnosti výsledků může být rozdílná metoda usmrcení hmyzu před vlastní analýzou. Caparros Megido et al. (2018) usmrtili hmyz zmražením (-18°C), v případě naší práce však byly hmyzí jedinci usmrceni spařením. To je v souladu se závěry prací, které poukazují na vliv usmrcení na nutriční hodnotu hmyzu (Larouche et al. 2019; Leni et al. 2019; Zhen et al. 2020). Vedle toho byl také v práci provedené Caparros Megido et al. (2018) použit odlišný *in vitro* trávicí protokol převzatý od Bindelle et al. (2007). Rozdílné množství použitých chemikálií a různá aktivita trávicích enzymů může být také faktorem, který přispěl k odlišným výsledkům. Z dostupných údajů vyplývá, že je stravitelnost nejvíce ovlivněna zejména daným hmyzím druhem. Manditsera et al. (2019b) vyšetřovali pomocí *in vitro* trávicího protokolu INFOGEST vliv kulinární úpravy na stravitelnost brouka *Eulipida mashona* a *Henicus whellani*. Zatímco u brouka *E. mashona* nebyl pozorován významný rozdíl mezi stravitelností po uvaření nebo po pražení, u cvrčka *H. whellani* došlo po obou těchto úpravách k významnému poklesu. Obdobně nebyla u termita *Macrotermes subhyllamus* pozorována změna stravitelnosti oproti syrovému stavu jak po pražení, tak po sušení (pohybovala se stále kolem 90 %). U zelené a hnědé kobylky však byl po obou těchto úpravách pozorován její výrazný pokles. Ve své práci však Kinyuru et al. (2010) použili modifikovaný trávicí protokol vyvinutý Saunders et al. (1973), což může do jisté míry snižovat relevanci srovnání našich výsledků s jejich.

V hodnotách DIAAS se námi zkoumané druhy příliš nelišily. Pro oba dva druhy se jako limitující ukázaly sirné aminokyseliny, což je v souladu s tvrzením některých autorů (Bednářová et al. 2013; Bovera et al. 2015; Jayanegara et al. 2017; Yoo et al. 2019; Khatun et al. 2021), ale v rozporu s jinými (Bednářová et al. 2011; Rumpold & Schlüter 2013; Stull et al. 2019), kteří jako limitující AMK u potměníka udávají tryptofan. Rozdíly mezi

identifikovanými limitujícími aminokyselinami mohou být způsobeny odlišným chovným substrátem či odlišným stanovením stravitelnosti, kdy výše uvedené práce uvádějí data získané pomocí laboratorních nebo zvířecích modelů. Dle metodiky FAO/WHO (2013) lze oba hmyzí druhy popsat jako dobrý zdroj esenciálních aminokyselin, v případě vhodné úpravy dokonce jako potravinu s vysokým obsahem esenciálních AMK (DIAAS<100). Námi zjištěné hodnoty korespondují s údaji, které popisují zkoumané druhy hmyzu jako významný zdroj esenciálních aminokyselin (Bednářová et al. 2011, 2013; Rumpold & Schlüter 2013; Marono et al. 2015; Jayanegara et al. 2017; Soares Araújo et al. 2019; Yoo et al. 2019; Dourado et al. 2020; Khatun et al. 2021; Stull 2021). Je nutné poznamenat, že u našich vzorků sice používáme výraz limitující aminokyselina v případě sírných AMK, hodnota DIAAS se i v jejich případě blížila 100. Byla tedy pořád dostatečně vysoká na to, aby se jednalo z hlediska lidské výživy o plnohodnotný protein. Methionin a cystein jsou limitující aminokyselinou například také pro pšenici (DIAAS=45) a hrášek (DIAAS=62), tyto potraviny už však nelze popsat jako zdroj bílkovin a pro dosažení plnohodnotného nutričního profilu je třeba je kombinovat s jinými zdroji (FAO/WHO 2013; Mathai et al. 2017). Ne všechny provedené tepelné úpravy vedly ke zvýšení hodnoty DIAAS, což je ve shodě s dostupnou literaturou. Chemické změny probíhající vlivem tepelných úprav může vést k degradaci obsažených aminokyselin nebo tvorbě enzymům nepřístupných vazeb (Leni et al. 2019; Zhen et al. 2020). V tomto ohledu se hmyz nikterak neliší od rostlinných (Sá et al. 2019) ani ostatních živočišných produktů (Bailey et al. 2020b), u kterých v závislosti na zvolené kulinární úpravě může dojít k poklesu stravitelnosti či aminokyselinového skóre. Celková hodnota skóre je ve shodě s dosud publikovanými daty, kdy se u cvrčka DIAAS v závislosti na úpravě pohybuje v rozmezí 91 – 95 (Khatun et al. 2021). V této studii ovšem vzorky byly před provedením analýzy zbaveny tuku a provedené úpravy zahrnovaly sušení mrazem, sušení v troubě a spaření. Autoři konstatovali, že zvolená tepelná úprava sice měla vliv na aminokyselinové skóre, nedošlo však ke staticky významným změnám a bez ohledu na metodu přípravy si hmyzí protein zachoval vysokou nutriční hodnotu. U potměníka bylo v souvislosti s různými tepelnými úpravami pozorováno DIAAS v rozmezí 88,7 – 110 a limitujícími byly opět sírné aminokyseliny (Poelaert et al. 2018). Hodnota DIAAS byla překvapivě nejvyšší v syrovém stavu (110) a nejnižší po 30minutovém pečení na 150 °C (88,7). Jednotlivé metody úpravy však nevedly ke změně limitujících aminokyselin, těmi byly vždy methionin a cystein. To je v souladu i s našimi zjištěními.

Z grafů 3-4 a 6-7 vyplývá, že nejvyšší hodnoty stravitelnosti nebyly dosaženy stejnou metodou kulinární úpravy, jako nejvyšší hodnoty DIAAS. Z hlediska stravitelnosti se jako nejvhodnější metoda jevílo sušení, pro hodnotu aminokyselinového skóre bylo naopak nejvhodnější vaření. To je pravděpodobně způsobeno tím, že hodnota DIAAS má složitější způsob kalkulace a je ovlivněna vícero faktory. Celková stravitelnost se vypočítá jako podíl sumy aminokyselin ve vzorku před trávení a sumy aminokyselin v supernatantu po natrávení. V kalkulaci DIAAS ale pracuje s množstvím jediné natrávené aminokyseliny a porovnáváme jí s množstvím aminokyseliny v referenčním proteinu, která tvoří jmenovatel zlomku. Hodnota DIAAS pak vyjadřuje šetrnost zvolené metody úpravy vůči konkrétní aminokyselině. Protože jednotlivé aminokyseliny reagují na metody tepelné úpravy odlišně (Rérat et al. 2002; Rutherford & Moughan 2007, 2008b), představuje hodnota DIAAS relevantnější informaci o biologické hodnotě bílkoviny v závislosti na tepelné úpravě než pouhá hodnota stravitelnosti.

Naše zjištění jsou v souladu s dosud publikovanými údaji. Kulinární úprava ovlivňuje stravitelnost a hodnotu aminokyselinového skóre, celkový vliv byl v naší práci pouze kvantitativní. Nejvyšší hodnota stravitelnosti byla u obou druhů pozorována po sušení, nejvyšších hodnot DIAAS bylo dosaženo po uvaření. Největší limitací naší práce je především malý počet vzorků, kdy byl pro každou metodu kulinární úpravy analyzován pouze jeden. Srovnatelnost výsledků je omezená také tím, že data prezentovaná ve vědecké literatuře pochází z různých trávicích *in vitro* protokolů, ale také zvířecích modelů, které pracovaly s prasaty, krysami i drůbeží.

## 7 Závěr

Celosvětově rostoucí populace vytváří nutnost hledat nové zdroje potravin. Hmyz, který je tradičně konzumován zejména v Asii a Africe, představuje vhodnou alternativu k živočišným produktům. Aby bylo možné ho zařadit do jídelníčku také v západních zemích, je potřeba mimo jiné znát jeho nutriční profil. Otázka výživových hodnot hmyzu je komplexní zejména proto, že konzumovaných druhů je obrovské množství a jejich chemické složení se výrazně liší v závislosti na vývojovém stádiu a chovném substrátu. Z tohoto důvodu vzniká velké množství prací zabývajících se zastoupením živin v jedlém hmyzu, ale také vlivem kulinárních úprav na jejich využitelnost.

Tato diplomová práce se zabývala vyšetřením *in vitro* stravitelností bílkovin *G. assimilis* a *T. molitor*. Naše zjištění korespondují se závěry ostatních autorů, kteří popisují vysokou kvalitu hmyzího proteinu. Tomu odpovídaly vysoké hodnoty DIAAS u obou vyšetřovaných druhů. Hodnota aminokyselinového skóre kolísala v závislosti na konkrétní tepelné úpravě, téměř vždy ale bylo po opracování pozorováno její zvýšení. U obou druhů bylo dosaženo nejvyšší hodnoty DIAAS po uvaření. I v případech, kdy tepelná úprava vedla ke snížení skóre, byla tato změna pouze malá a nepodepsala se výrazně na kvalitě proteinu. Obdobně reagovala na kulinární úpravu také celková stravitelnost aminokyselin, kdy po většině zvoleného opracování hmyzu došlo k jejímu zvýšení. Nejvhodnější úpravou z hlediska celkové stravitelnosti bylo pro *T. molitor* i *G. assimilis* sušení. Vyšších hodnot stravitelnosti bylo dosaženo u TM, u GA byla sledována vyšší hodnota DIAAS. U obou hmyzích druhů byly limitujícími sirté aminokyseliny a po kulinárních úpravách docházelo v obou případech pouze ke kvantitativním změnám skóre.

Můžeme konstatovat, že námi použité úpravy neměly na stravitelnost nebo hodnotu DIAAS zásadní vliv, mezi zkoumanými druhy však bylo možné pozorovat určité rozdíly. Pro přesnější vyhodnocení výsledků by ale bylo nutné zpracovat větší množství vzorků. Závěry této práce ukazují, že je jedlý hmyz zdrojem kvalitních bílkovin dobře odolávajícím rozličným kulinárním úpravám.

## 8 Literatura

- Adámek M, Adámková A, Mlček J, Borkovcová M, Bednářová M. 2018. Acceptability and sensory evaluation of energy bars and protein bars enriched with edible insect. *Potravinárstvo Slovak Journal of Food Sciences* **12**:431–437. HACCP Consulting. Available from <https://potravinarstvo.com/journal1/index.php/potravinarstvo/article/view/925> (accessed June 13, 2022).
- Adámková A, Mlček J, Kouřimská L, Borkovcová M, Bušina T, Adámek M, Bednářová M, Krajsa J. 2017. Nutritional potential of selected insect species reared on the island of Sumatra. *International Journal of Environmental Research and Public Health* **14**:1–10.
- Akhtar Y, Isman MB. 2018. Insects as an Alternative Protein Source. Page Proteins in Food Processing: Second Edition Second Edi. Elsevier Ltd. Available from <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100722-8.00011-5>.
- Akullo J, Agea JG, Obaa BB, Okwee-Acai J, Nakimbugwe D. 2018. Nutrient composition of commonly consumed edible insects in the Lango sub-region of northern Uganda. *International Food Research Journal* **25**:159–166.
- Ayensu J, Annan RA, Edusei A, Lutterodt H. 2019. Beyond nutrients, health effects of entomophagy: a systematic review. *Nutrition and Food Science* **49**:2–17. Emerald Group Holdings Ltd.
- Bailey HM, Mathai JK, Berg EP, Stein HH. 2020a. Pork Products Have Digestible Indispensable Amino Acid Scores (DIAAS) That Are Greater Than 100 When Determined in Pigs, but Processing Does Not Always Increase DIAAS. *Journal of Nutrition* **150**:475–482. Available from %3CGo.
- Bailey HM, Mathai JK, Berg EP, Stein HH. 2020b. Most meat products have digestible indispensable amino acid scores that are greater than 100, but processing may increase or reduce protein quality. *British Journal of Nutrition* **124**:14–22. Available from <https://doi.org/10.1017/S0007114520000641>.
- Bednářová, Adam V, Jelen F, Borkovcová M. 2011. Protein Profil of *Tenebrio molitor* **5**:549–554.
- Bednářová M, Borkovcová M, Mlcek J, Rop O, Zeman L. 2013. Edible insects - Species suitable for entomophagy under condition of Czech Republic. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis* **61**:587–593.
- Berggren Å, Jansson A, Low M. 2019. Approaching Ecological Sustainability in the Emerging Insects-as-Food Industry. *Trends in Ecology and Evolution* **34**:132–138. Elsevier Ltd. Available from <https://doi.org/10.1016/j.tree.2018.11.005>.
- Bindelle J, Buldgen A, Boudry C, Leterme P. 2007. Effect of inoculum and pepsin-pancreatin hydrolysis on fibre fermentation measured by the gas production technique in pigs. *Animal Feed Science and Technology* **132**:111–122.
- Bohn T et al. 2018. Correlation between in vitro and in vivo data on food digestion. What can we predict with static in vitro digestion models? *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **58**:2239–2261. Taylor and Francis Inc.
- Bovera F, Piccolo G, Gasco L, Marono S, Loponte R, Vassalotti G, Mastellone V, Lombardi P, Attia YA, Nizza A. 2015. Yellow mealworm larvae (*Tenebrio molitor*, L.) as a possible alternative to soybean meal in broiler diets. <http://dx.doi.org/10.1080/00071668.2015.1080815> **56**:569–575. Taylor & Francis. Available from <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00071668.2015.1080815> (accessed October 13, 2022).
- Brestensky M, Nitrayova S, Patras P, Nitray J. 2019. Dietary Requirements for Proteins and Amino Acids in Human Nutrition. *Current Nutrition & Food Science* **15**:638–645.



- Available from %3CGo.
- Brodkorb A et al. 2019. INFOGEST static in vitro simulation of gastrointestinal food digestion. *Nature Protocols* **14**:991–1014. Nature Publishing Group.
- Caparros Megido R et al. 2018. Effect of household cooking techniques on the microbiological load and the nutritional quality of mealworms (*Tenebrio molitor* L. 1758). *Food Research International* **106**:503–508. Elsevier Ltd.
- Cervantes-Pahm SK, Liu Y, Stein HH. 2014. Digestible indispensable amino acid score and digestible amino acids in eight cereal grains. *British Journal of Nutrition* **111**:1663–1672. Cambridge University Press. Available from <https://www.cambridge.org/core/journals/british-journal-of-nutrition/article/digestible-indispensable-amino-acid-score-and-digestible-amino-acids-in-eight-cereal-grains/8A1D552E0A471CFA42FDBBE3B8653AC4> (accessed June 30, 2022).
- Churchward-Venne TA, Pinckaers PJM, van Loon JJA, van Loon LJC. 2017. Consideration of insects as a source of dietary protein for human consumption. *Nutrition Reviews* **75**:1035–1045. Oxford University Press.
- Clarkson C, Miroso M, Birch J. 2018. Potential of extracted *Locusta migratoria* protein fractions as value-added ingredients. *Insects* **9**. MDPI AG.
- da Rosa Machado C, Thys RCS. 2019. Cricket powder (*Gryllus assimilis*) as a new alternative protein source for gluten-free breads. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* **56**:102180. Elsevier. Available from <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2019.102180>.
- De Marco M et al. 2015. Nutritional value of two insect larval meals (*Tenebrio molitor* and *Hermetia illucens*) for broiler chickens: Apparent nutrient digestibility, apparent ileal amino acid digestibility and apparent metabolizable energy. *Animal Feed Science and Technology* **209**:211–218. Elsevier B.V. Available from <http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.08.006>.
- Dourado LRB, Lopes PM, Silva VK, Carvalho FLA, Moura FAS, Silva LB, Giannecchini LG, Pinheiro SRF, Biagiotti D, Kimpara JM. 2020. Chemical composition and nutrient digestibility of insect meal for broiler. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* **92**:1–5.
- Dupont D et al. 2019. Can dynamic in vitro digestion systems mimic the physiological reality? *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **59**:1546–1562. Taylor & Francis. Available from <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1421900>.
- Dupont J, Fiebelkorn F. 2020. Attitudes and acceptance of young people toward the consumption of insects and cultured meat in Germany. *Food Quality and Preference* **85**. Elsevier Ltd.
- EFSA. 2019. Dietary Reference Values for the EU. Available from <https://multimedia.efsa.europa.eu/drvs/index.htm> (accessed October 3, 2022).
- Egger L, Schlegel P, Baumann C, Stoffers H, Guggisberg D, Brügger C, Dürr D, Stoll P, Vergères G, Portmann R. 2017. Physiological comparability of the harmonized INFOGEST in vitro digestion method to in vivo pig digestion. *Food Research International* **102**:567–574. Elsevier Ltd.
- El Hassan NM, Hamed SY, Hassan AB, Eltayeb MM, Babiker EE. 2008. Nutritional evaluation and physicochemical properties of boiled and fried tree locust. *Pakistan Journal of Nutrition* **7**:325–329.
- Evropská rada. 2006. Nařízení Evropského parlamentu a rady (ES) č. 1924/2006 ze dne 20. prosince 2006 o výživových a zdravotních tvrzeních při označování potravin.
- Evropská Rada. 2011. Nařízení evropského parlamentu a rady (EU) č. 1169/2011 ze dne 25. října 2011 o poskytování informací o potravinách spotřebitelům, o změně nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1924/2006 a (ES) č. 1925/2006 a o zrušení směr:18–63. Available from <https://eur-lex.europa.eu/legal->

- content/CS/TXT/HTML/?uri=CELEX:32011R1169#d1e1266-18-1.
- Fanelli NS, Bailey HM, Guardiola L V., Stein HH. 2021. Values for Digestible Indispensable Amino Acid Score (DIAAS) Determined in Pigs Are Greater for Milk Than for Breakfast Cereals, but DIAAS Values for Individual Ingredients Are Additive in Combined Meals. *Journal of Nutrition* **151**:540–547. Oxford University Press.
- FAO/WHO. 1991. Protein Quality Evaluation: Report of the Joint FAO/WHO Expert Consultation ... - Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAO food and nutrition paper. Available from [https://books.google.cz/books?hl=cs&lr=&id=ieEEPqffcxEC&oi=fnd&pg=PA1&dq=FAO/wHO+\(1991\)+Protein+Quality+Evaluation:+Report+of+the+Joint+FAO/WHO+Expert+Consultation,+FAO+Food+and+Nutrition+Paper+51.+Rome:+FAO&ots=IvDGNft\\_Db&sig=2IInF3tmh8G9TETkehGag-sg3Yk&](https://books.google.cz/books?hl=cs&lr=&id=ieEEPqffcxEC&oi=fnd&pg=PA1&dq=FAO/wHO+(1991)+Protein+Quality+Evaluation:+Report+of+the+Joint+FAO/WHO+Expert+Consultation,+FAO+Food+and+Nutrition+Paper+51.+Rome:+FAO&ots=IvDGNft_Db&sig=2IInF3tmh8G9TETkehGag-sg3Yk&) (accessed October 3, 2022).
- FAO/WHO. 2013. Dietary protein quality evaluation in human nutrition: report of an FAO expert consultation, 31 March-2 April, 2011, Auckland, New Zealand. Page FAO food and nutrition paper. Available from <https://five.epicollect.net/>.
- Finke MD. 2002. Complete nutrient composition of commercially raised invertebrates used as food for insectivores. *Zoo Biology* **21**:269–285. John Wiley & Sons, Ltd. Available from <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/zoo.10031> (accessed September 27, 2022).
- Finke MD. 2007. Estimate of Chitin in Raw Whole Insects. *Zoo Biology* **26**:105–115.
- Finke MDD, Rojo S, Roos N, van Huis A, Yen ALL. 2015. The European Food Safety Authority scientific opinion on a risk profile related to production and consumption of insects as food and feed. *Journal of Insects as Food and Feed* **1**:245–247. Wageningen Academic Publishers. Available from <http://rua.ua.es/dspace/handle/10045/52114> (accessed June 13, 2022).
- Fuller M. 2012. Determination of protein and amino acid digestibility in foods including implications of gut microbial amino acid synthesis. *British Journal of Nutrition* **108**.
- García-García AB, Lamichhane S, Castejón D, Cambero MI, Bertram HC. 2018. <sup>1</sup>H HR-MAS NMR-based metabolomics analysis for dry-fermented sausage characterization. *Food Chemistry* **240**:514–523. Elsevier. Available from <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.150>.
- Gilani GS, Xiao CW, Cockell KA. 2012. Impact of antinutritional factors in food proteins on the digestibility of protein and the bioavailability of amino acids and on protein quality. *British Journal of Nutrition* **108**.
- Grasso AC, Hung Y, Olthof MR, Verbeke W. 2019. Older Consumers ' Readiness to Accept Alternative , More Sustainable Protein Sources in the.
- Gravel A, Doyen A. 2020. The use of edible insect proteins in food: Challenges and issues related to their functional properties. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* **59**:102272. Elsevier Ltd. Available from <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2019.102272> (accessed April 1, 2022).
- Gropper, Sareen S. Smith JL. 2013. Advanced Nutrition in Human. Page Advanced Nutrition in Human.
- Guerra A, Etienne-Mesmin L, Livrelli V, Denis S, Blanquet-Diot S, Alric M. 2012. Relevance and challenges in modeling human gastric and small intestinal digestion. *Trends in Biotechnology* **30**:591–600.
- Halloran A, Hansen HH, Jensen LS, Bruun S. 2018. Comparing environmental impacts from insects for feed and food as an alternative to animal production. *Edible Insects in Sustainable Food Systems*:163–180. Springer International Publishing. Available from [https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-74011-9\\_11](https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-74011-9_11) (accessed June 16, 2022).

- Haryati RP, Jayanegara A, Laconi EB, Ridla M, Suptijah P. 2019. Evaluation of chitin and chitosan from insect as feed additives to mitigate ruminal methane emission. *AIP Conference Proceedings* **2120**:1–5. AIP Publishing LLC AIP Publishing . Available from <https://aip.scitation.org/doi/abs/10.1063/1.5115646> (accessed September 22, 2022).
- Hempel J, Schädle CN, Sprenger J, Heller A, Carle R, Schweiggert RM. 2017. Ultrastructural deposition forms and bioaccessibility of carotenoids and carotenoid esters from goji berries (*Lycium barbarum* L.). *Food Chemistry* **218**:525–533. Elsevier Ltd. Available from <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.065>.
- Herreman L, Nommensen P, Pennings B, Laus MC. 2020. Comprehensive overview of the quality of plant- And animal-sourced proteins based on the digestible indispensable amino acid score. *Food Science and Nutrition* **8**:5379–5391. Wiley-Blackwell.
- Herrero AM, Carmona P, López-López I, Jiménez-Colmenero F. 2008. Raman spectroscopic evaluation of meat batter structural changes induced by thermal treatment and salt addition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **56**:7119–7124.
- Herrero AM, Jiménez-Colmenero F, Carmona P. 2009. Elucidation of structural changes in soy protein isolate upon heating by Raman spectroscopy. *International Journal of Food Science and Technology* **44**:711–717. Blackwell Publishing Ltd.
- Herrero M, Henderson B, Havlík P, Thornton PK, Conant RT, Smith P, Wirsenius S, Hristov AN, Gerber P, Gill M. 2016. Greenhouse gas mitigation potentials in the livestock sector. *Nature Publishing Group* **6**:452–461. Nature Publishing Group. Available from <http://dx.doi.org/10.1038/nclimate2925>.
- Hodgkinson SM, Montoya CA, Scholten PT, Rutherford SM, Moughan PJ. 2018. Cooking Conditions Affect the True Ileal Digestible Amino Acid Content and Digestible Indispensable Amino Acid Score (DIAAS) of Bovine Meat as Determined in Pigs. *Journal of Nutrition* **148**:1564–1569. Oxford University Press.
- Huang C, Feng W, Xiong J, Wang T, Wang W, Wang C, Yang F. 2019. Impact of drying method on the nutritional value of the edible insect protein from black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) larvae: amino acid composition, nutritional value evaluation, in vitro digestibility, and thermal properties. *European Food Research and Technology* **245**:11–21. Springer Berlin Heidelberg. Available from <http://dx.doi.org/10.1007/s00217-018-3136-y>.
- Jacyno E, Pietruszka A, Biel W, Kołodziej-Skalska A, Matysiak B, Kawęcka M, Sosnowska A. 2016. Effect of sow age on the apparent total tract digestibility of nutrients in the diet. *South African Journal of Animal Science* **46**:230–236. Available from <https://www.ajol.info/index.php/sajas/article/view/142842> (accessed October 7, 2022).
- Jayanegara A, Sholikin MM, Sabila DAN, Suharti S, Astuti DA. 2017. Lowering chitin content of cricket (*Gryllus assimilis*) through exoskeleton removal and chemical extraction and its utilization as a ruminant feed in vitro. *Pakistan Journal of Biological Sciences* **20**:523–529.
- Jonas-Levi A, Martinez JJI. 2017. The high level of protein content reported in insects for food and feed is overestimated. *Journal of Food Composition and Analysis* **62**:184–188. Elsevier Inc. Available from <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2017.06.004>.
- Khatun H, Claes J, Smets R, De Winne A, Akhtaruzzaman M, Van Der Borght M. 2021. Characterization of freeze-dried, oven-dried and blanched house crickets (*Acheta domesticus*) and Jamaican field crickets (*Gryllus assimilis*) by means of their physicochemical properties and volatile compounds. *European Food Research and Technology* **247**:1291–1305. Springer Berlin Heidelberg. Available from <https://doi.org/10.1007/s00217-021-03709-x>.
- Kinyuru JN, Kenji GM, Njoroge SM, Ayieko M. 2010. Effect of processing methods on the in vitro protein digestibility and vitamin content of edible winged termite (*Macrotermes*

- subhylanus) and grasshopper (*Ruspolia differens*). *Food and Bioprocess Technology* **3**:778–782.
- Larouche J, Deschamps M-H, Saucier L, Lebeuf Y, Doyen A, Vandenberg GW. 2019. animals Effects of Killing Methods on Lipid Oxidation , Colour and Microbial Load of Black Soldier Fly. *Animals* **9**:1–19.
- Lee SA, Ahn JY, Son AR, Kim BG. 2020. Standardized ileal digestibility of amino acids in cereal grains and co-products in growing pigs. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* **33**:1148. Asian-Australasian Association of Animal Production Societies. Available from /pmc/articles/PMC7322653/ (accessed October 4, 2022).
- Leni G, Caligiani A, Sforza S. 2019. Killing method affects the browning and the quality of the protein fraction of Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) prepupae: a metabolomics and proteomic insight. *Food Research International* **115**:116–125. Elsevier. Available from <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.08.021>.
- Liu K, Zheng J, Chen F. 2019. Effect of domestic cooking on rice protein digestibility. *Food Science and Nutrition* **7**:608–616. Wiley-Blackwell.
- Lo D, Wu J. 2018. Anti-nutrient components and their concentrations in edible parts in vegetable families. Available from <http://www.cabi.org/cabreviews> (accessed October 13, 2022).
- Lokman IH, Ibitoye EB, Hezmee MNM, Goh YM, Zuki ABZ, Jimoh AA. 2019. Effects of chitin and chitosan from cricket and shrimp on growth and carcass performance of broiler chickens. *Tropical Animal Health and Production* **51**:2219–2225. Springer Netherlands. Available from <https://link.springer.com/article/10.1007/s11250-019-01936-9> (accessed September 22, 2022).
- Mamone G, Nitride C, Picariello G, Addeo F, Ferranti P, Mackie A. 2015. Tracking the fate of pasta (*T. Durum Semolina*) immunogenic proteins by in vitro simulated digestion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **63**:2660–2667. American Chemical Society. Available from <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf505461x> (accessed November 4, 2022).
- Mancini S, Moruzzo R, Riccioli F, Paci G. 2019. European consumers' readiness to adopt insects as food. A review. *Food Research International* **122**:661–678. Elsevier Ltd.
- Manditsera FA, Luning PA, Fogliano V, Lakemond CMM. 2019a. The contribution of wild harvested edible insects (*Eulepida mashona* and *Henicus whellani*) to nutrition security in Zimbabwe. *Journal of Food Composition and Analysis* **75**:17–25. Elsevier Inc. Available from <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2018.09.013> (accessed August 3, 2022).
- Manditsera FA, Luning PA, Fogliano V, Lakemond CMM. 2019b. Effect of domestic cooking methods on protein digestibility and mineral bioaccessibility of wild harvested adult edible insects. *Food Research International* **121**:404–411. Elsevier Ltd.
- Marono S, Piccolo G, Loponte R, Meo C Di, Attia YA, Nizza A, Bovera F. 2015. In vitro crude protein digestibility of *tenebrio molitor* and *hermetia illucens* insect meals and its correlation with chemical composition traits. *Italian Journal of Animal Science* **14**:338–343. Page Press Publications.
- Marzorati M et al. 2014. The HMI<sup>TM</sup> module: A new tool to study the Host-Microbiota Interaction in the human gastrointestinal tract in vitro. *BMC Microbiology* **14**.
- Mathai JK, Liu Y, Stein HH. 2017. Values for digestible indispensable amino acid scores (DIAAS) for some dairy and plant proteins may better describe protein quality than values calculated using the concept for protein digestibility-corrected amino acid scores (PDCAAS). *British Journal of Nutrition* **117**:490–499. Cambridge University Press.
- Melis R, Braca A, Mulas G, Sanna R, Spada S, Serra G, Fadda ML, Roggio T, Uzzau S, Anedda R. 2018. Effect of freezing and drying processes on the molecular traits of edible yellow mealworm. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* **48**:138–149.

- Elsevier. Available from <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.06.003>.
- Ménard O, Cattenoz T, Guillemain H, Souchon I, Deglaire A, Dupont D, Picque D. 2014. Validation of a new in vitro dynamic system to simulate infant digestion. *Food Chemistry* **145**:1039–1045.
- Merzendorfer H, Zimoch L. 2003. Chitin metabolism in insects: Structure, function and regulation of chitin synthases and chitinases. *Journal of Experimental Biology* **206**:4393–4412.
- Meyer AM, Meijer N, van den Hil EFH, van der Fels-Klerx HJ. 2021. Chemical food safety hazards of insects reared for food and feed. *Journal of Insects as Food and Feed* **7**:823–831. Wageningen Academic Publishers.
- Mézes M. 2018. Food safety aspect of insects: A review. *Acta Alimentaria* **47**:513–522. Akademiai Kiado Rt.
- Minekus M et al. 2014. A standardised static in vitro digestion method suitable for food-an international consensus. *Food and Function* **5**:1113–1124. Royal Society of Chemistry. Available from <https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2014/fo/c3fo60702j> (accessed February 23, 2022).
- Minekus M, Smeets-Peeters M, Havenaar R, Bernalier A, Fonty G, Marol-Bonnin S, Alric M, Marteau P, Huis In't Veld JHJ. 1999. A computer-controlled system to simulate conditions of the large intestine with peristaltic mixing, water absorption and absorption of fermentation products. *Applied Microbiology and Biotechnology* **53**:108–114. Springer Verlag. Available from <https://link.springer.com/article/10.1007/s002530051622> (accessed January 17, 2023).
- Minekus MMPHM. 1995. A Multicompartmental Dynamic Computer-controlled Model Simulating the Stomach and Small Intestine.
- Mlček J, Adámková A, Adámek M, Borkovcová M, Bednářová M, Kouřimská L. 2018. Selected nutritional values of field cricket (*Gryllus assimilis*) and its possible use as a human food. *Indian Journal of Traditional Knowledge* **17**:518–524.
- Morel PCH, Melai J, Eady SL, Coles GD. 2005. Effect of non-starch polysaccharides and resistant starch on mucin secretion and endogenous amino acid losses in pigs. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* **18**:1634–1641.
- Moter V, Stein HH. 2004. Effect of feed intake on endogenous losses and amino acid and energy digestibility by growing pigs. *Journal of Animal Science* **82**:3518–3525.
- Moughan PJ, Rutherford SM. 2012. Gut luminal endogenous protein: Implications for the determination of ileal amino acid digestibility in humans. *British Journal of Nutrition* **108**.
- Musundire R, Zvidzai CJ, Chidewe C, Samende BK, Manditsera FA. 2014. Nutrient and anti-nutrient composition of *Henicus whellani* (Orthoptera: Stenopelmatidae), an edible ground cricket, in south-eastern Zimbabwe. *International Journal of Tropical Insect Science* **34**:223–231.
- Nitrayová S, Brestenský M. 2013. The effect of body weight of pigs on true and apparent ileal amino acid digestibility of rye. *Journal of Microbiology* **1**:1510–1516.
- Nosworthy MG, Franczyk AJ, Medina G, Neufeld J, Appah P, Utioh A, Frohlich P, House JD. 2017. Effect of Processing on the in Vitro and in Vivo Protein Quality of Yellow and Green Split Peas (*Pisum sativum*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **65**:7790–7796. American Chemical Society. Available from <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acs.jafc.7b03597> (accessed October 7, 2022).
- Nosworthy MG, Medina G, Franczyk AJ, Neufeld J, Appah P, Utioh A, Frohlich P, Tar'an B, House JD. 2020. Thermal processing methods differentially affect the protein quality of Chickpea (*Cicer arietinum*). *Food Science & Nutrition* **8**:2950–2958. Available from %3CCGo.

- Nowak V, Persijn D, Rittenschober D, Charrondiere UR. 2016. Review of food composition data for edible insects. *Food Chemistry* **193**:39–46. Elsevier Ltd.
- Oibiokpa FI, Akanya HO, Jigam AA, Saidu AN. 2017. Nutrient and Antinutrient Compositions of Some Edible Insect Species in Northern Nigeria. *Fountain Journal of Natural and Applied Sciences* **6**:9–24. Fountain University. Available from <https://www.fountainjournals.com/index.php/FUJNAS/article/view/159> (accessed October 9, 2022).
- Oibiokpa FI, Akanya HO, Jigam AA, Saidu AN, Egwim EC. 2018. Protein quality of four indigenous edible insect species in Nigeria. *Food Science and Human Wellness* **7**:175–183. Elsevier.
- Oonincx DG, Dierenfeld ES. 2012. An investigation into the chemical composition of alternative invertebrate prey. *Zoo biology* **31**:40–54.
- Oonincx DGAB, Van Broekhoven S, Van Huis A, Van Loon JJA. 2015. Feed Conversion, Survival and Development, and Composition of Four Insect Species on Diets Composed of Food By-Products. *PLOS ONE* **10**:e0144601. Public Library of Science. Available from <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0144601> (accessed September 29, 2022).
- Oonincx DGAB, van Itterbeeck J, Heetkamp MJW, van den Brand H, van Loon JJA, van Huis A. 2010. An Exploration on Greenhouse Gas and Ammonia Production by Insect Species Suitable for Animal or Human Consumption. *PLOS ONE* **5**:e14445. Public Library of Science. Available from <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0014445> (accessed September 20, 2022).
- Oonincx DGAB, Van Keulen P, Finke MD, Baines FM, Vermeulen M, Bosch G. 2018. Evidence of vitamin D synthesis in insects exposed to UVb light. *Scientific Reports* **2018** **8**:1–10. Nature Publishing Group. Available from <https://www.nature.com/articles/s41598-018-29232-w> (accessed September 22, 2022).
- Payne CLR, Scarborough P, Rayner M, Nonaka K. 2016. A systematic review of nutrient composition data available for twelve commercially available edible insects, and comparison with reference values. *Trends in Food Science and Technology* **47**:69–77. Elsevier Ltd. Available from <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2015.10.012>.
- Picariello G, Ferranti P, Addeo F. 2016. Use of brush border membrane vesicles to simulate the human intestinal digestion. *Food Research International* **88**:327–335. Elsevier Ltd. Available from <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2015.11.002>.
- Poelaert C, Francis F, Alabi T, Caparros Megido R, Crahay B, Bindelle J, Beckers Y. 2018. Protein value of two insects, subjected to various heat treatments, using growing rats and the protein digestibility-corrected amino acid score. *Journal of Insects as Food and Feed* **4**:77–87.
- Ramos-Elorduy J, Moreno JMP, Prado EE, Perez MA, Otero JL, De Guevara OL. 1997. Nutritional Value of Edible Insects from the State of Oaxaca, Mexico. *Journal of Food Composition and Analysis* **10**:142–157. Academic Press.
- Rérat A, Calmes R, Vaissade P, Finot PA. 2002. Nutritional and metabolic consequences of the early Maillard reaction of heat treated milk in the pig. Significance for man. *European Journal of Nutrition* **41**:1–11.
- Reverberi M. 2021. The new packaged food products containing insects as an ingredient. *Journal of Insects as Food and Feed* **7**:901–908. Wageningen Academic Publishers.
- Ritvanen T, Pastell H, Welling A, Raatikainen M. 2020. The nitrogen-to-protein conversion factor of two cricket species-acheta domesticus and gryllus bimaculatus. *Agricultural and Food Science* **29**:1–5.
- Rumpold BA, Schlüter OK. 2013. Nutritional composition and safety aspects of edible

- insects. *Molecular Nutrition and Food Research* **57**:802–823.
- Rutherford SM, Fanning AC, Miller BJ, Moughan PJ. 2015. Protein Digestibility-Corrected Amino Acid Scores and Digestible Indispensable Amino Acid Scores Differentially Describe Protein Quality in Growing Male Rats. *The Journal of Nutrition* **145**:372–379. Oxford Academic. Available from <https://academic.oup.com/jn/article/145/2/372/4585766> (accessed October 4, 2022).
- Rutherford SM, Moughan PJ. 2007. Development of a novel bioassay for determining the available lysine contents of foods and feedstuffs. *Nutrition Research Reviews* **20**:3–16.
- Rutherford SM, Moughan PJ. 2008a. Determination of sulfur amino acids in foods as related to bioavailability. *Journal of AOAC International* **91**:907–913.
- Rutherford SM, Moughan PJ. 2008b. Determination of Sulfur Amino Acids in Foods as Related to Bioavailability. *Journal of AOAC INTERNATIONAL* **91**:907–913. Oxford Academic. Available from <https://academic.oup.com/jaoac/article/91/4/907/5656148> (accessed October 4, 2022).
- Sá AGA, Moreno YMF, Carciofi BAM. 2019. Food processing for the improvement of plant proteins digestibility. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **0**:1–20. Taylor & Francis. Available from <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1688249>.
- Sanchón J, Fernández-Tomé S, Miralles B, Hernández-Ledesma B, Tomé D, Gaudichon C, Recio I. 2018. Protein degradation and peptide release from milk proteins in human jejunum. Comparison with in vitro gastrointestinal simulation. *Food Chemistry* **239**:486–494. Elsevier Ltd.
- Saunders RM, Connor MA, Booth AN, Bickoff EM, Kohler GO. 1973. Measurement of digestibility of alfalfa protein concentrates by in vivo and in vitro methods. *The Journal of nutrition* **103**:530–535. American Society for Nutrition. Available from <https://doi.org/10.1093/jn/103.4.530>.
- Schaafsma G. 2000. The Protein Digestibility–Corrected Amino Acid Score. *The Journal of Nutrition* **130**:1865S–1867S. Oxford Academic. Available from <https://academic.oup.com/jn/article/130/7/1865S/4686203> (accessed June 29, 2022).
- Soares Araújo RR, dos Santos Benfica TAR, Ferraz VP, Moreira Santos E. 2019. Nutritional composition of insects *Gryllus assimilis* and *Zophobas morio*: Potential foods harvested in Brazil. *Journal of Food Composition and Analysis* **76**:22–26. Elsevier. Available from <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2018.11.005>.
- Sousa R, Portmann R, Dubois S, Recio I, Egger L. 2020. Protein digestion of different protein sources using the INFOGEST static digestion model. *Food Research International* **130**:108996. Elsevier.
- Stull VJ. 2021. Impacts of insect consumption on human health. *Journal of Insects as Food and Feed* **7**:695–713. Wageningen Academic Publishers.
- Stull VJ, Kersten M, Bergmans RS, Patz JA, Paskewitz S. 2019. Crude Protein, Amino Acid, and Iron Content of *Tenebrio molitor* (Coleoptera, Tenebrionidae) Reared on an Agricultural Byproduct from Maize Production: An Exploratory Study. *Annals of the Entomological Society of America* **112**:533–543.
- Tang Y, Yang Y, Wang Q, Tang Y, Li F, Zhao J, Zhang Y, Ming J. 2019. Combined effect of carboxymethylcellulose and salt on structural properties of wheat gluten proteins. *Food Hydrocolloids* **97**:105189. Elsevier Ltd. Available from <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105189>.
- U.S. Department of Agriculture. 2022. FoodData Central. Available from <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/748967/nutrients> (accessed September 27, 2022).
- van Broekhoven S, Ooninx DGAB, van Huis A, van Loon JJA. 2015. Growth performance and feed conversion efficiency of three edible mealworm species (Coleoptera:

- Tenebrionidae) on diets composed of organic by-products. *Journal of Insect Physiology* **73**:1–10. Elsevier Ltd. Available from <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinsphys.2014.12.005>.
- Van Huis et al. 2013. *Edible Insects: Future Prospects for Food and Feed Security*. Page Food and Agriculture Organization of the United Nations. Available from <https://library.wur.nl/WebQuery/wurpubs/fulltext/258042>.
- Van Huis A. 2016. *Edible insects are the future?* *Proceedings of the Nutrition Society* **75**:294–305. Cambridge University Press.
- Van Huis A. 2020a. *Insects as food and feed, a new emerging agricultural sector: A review*. *Journal of Insects as Food and Feed* **6**:27–44. Wageningen Academic Publishers.
- Van Huis A. 2020b. *Nutrition and health of edible insects*. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care* **23**:228–231. Lippincott Williams and Wilkins.
- Van Huis A, Rumpold B, Maya C, Roos N. 2021. *Nutritional Qualities and Enhancement of Edible Insects*. *Annual Review of Nutrition* **41**:551–576. Annual Reviews Inc.
- Vangsoe MT, Thogersen R, Bertram HC, Heckmann LHL, Hansen M. 2018. *Ingestion of Insect Protein Isolate Enhances Blood Amino Acid Concentrations Similar to Soy Protein in A Human Trial*. *Nutrients* 2018, Vol. 10, Page 1357 **10**:1357. Multidisciplinary Digital Publishing Institute. Available from <https://www.mdpi.com/2072-6643/10/10/1357/htm> (accessed September 22, 2022).
- Verneau F, La Barbera F, Kolle S, Amato M, Del Giudice T, Grunert K. 2016. *The effect of communication and implicit associations on consuming insects: An experiment in Denmark and Italy*. *Appetite* **106**:30–36. Academic Press.
- Vignsnaes LK, Van Den Abbeele P, Sulek K, Frandsen HL, Steenholdt C, Brynskov J, Vermeiren J, Van De Wiele T, Licht TR. 2013. *Microbiotas from UC patients display altered metabolism and reduced ability of LAB to colonize mucus*. *Scientific Reports* **3**:1–10.
- Villaseñor VM, Enriquez-Vara JN, Urías-Silva JE, Mojica L. 2021. *Edible Insects: Techno-functional Properties Food and Feed Applications and Biological Potential*. *Food Reviews International* **00**:1–27. Taylor & Francis. Available from <https://doi.org/10.1080/87559129.2021.1890116> (accessed April 1, 2022).
- Wang B, Timilsena YP, Blanch E, Adhikari B. 2017. *Mild thermal treatment and in-vitro digestion of three forms of bovine lactoferrin: Effects on functional properties*. *International Dairy Journal* **64**:22–30. Elsevier Ltd.
- Wang T, Wang L, Wang R, Chen Z. 2016. *Effects of freeze-milling on the physicochemical properties of rice protein isolates*. *Lwt* **65**:832–839. Elsevier Ltd. Available from <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2015.09.016>.
- Wassmann B, Siegrist M, Hartmann C. 2021. *Correlates of the willingness to consume insects: a meta-analysis*. *Journal of Insects as Food and Feed* **7**:909–922. Wageningen Academic Publishers.
- Weber N, Kouřimská L, Kulma M, Petříčková D, Seufert F, Rychlik M. 2022. *Folate contents in insects as promising food components quantified by stable isotope dilution*. *Frontiers in Nutrition* **9**:1–10.
- WHO/FAO/UNU. 2007. *Protein and amino acid requirements in human nutrition. Report of a Joint WHO/FAO/UNU Expert Consultation*. WHO Technical Report Series **935**. Available from [www.who.int/bookorders](http://www.who.int/bookorders) (accessed October 3, 2022).
- Wolfe RR, Rutherfurd SM, Kim IY, Moughan PJ. 2016. *Protein quality as determined by the Digestible Indispensable Amino Acid Score: evaluation of factors underlying the calculation*. *Nutrition Reviews* **74**:584–599. Oxford University Press. Available from %3CGo.
- Yoo JS, Cho KH, Hong JS, Jang HS, Chung YH, Kwon GT, Shin DG, Kim YY. 2019. *Nutrient ileal digestibility evaluation of dried mealworm (Tenebrio molitor) larvae*



compared to three animal protein by-products in growing pigs. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* **32**:387–394.

Zhen Y, Chundang P, Zhang Y, Wang M, Vongsangnak W, Pruksakorn C, Kovitvadhi A. 2020. Impacts of killing process on the nutrient content, product stability and in vitro digestibility of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae meals. *Applied Sciences (Switzerland)* **10**.



