



# VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

## FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

## ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

## NUTRIČNÍ PŘÍNOS CVRČČÍ MOUKY

NUTRITIONAL BENEFIT OF CRICKET FLOUR

### DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

### AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Martina Šťastná

### VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. Andrea Hároniková, Ph.D.

BRNO 2019

## Zadání diplomové práce

Číslo práce: FCH-DIP1325/2018 Akademický rok: 2018/19  
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií  
Studentka: **Bc. Martina Šťastná**  
Studijní program: Chemie a technologie potravin  
Studijní obor: Potravinářská chemie a biotechnologie  
Vedoucí práce: **Ing. Andrea Hároniková, Ph.D.**

### Název diplomové práce:

Nutriční přínos cvrččí mouky

### Zadání diplomové práce:

V rámci práce budou řešeny následující dílčí úkoly:

- vypracování literární rešerše shrnující aktuální informace o jedlém hmyzu a jeho využití v potravinářství
- charakterizace cvrččí mouky
- analýza vybraných aktivních složek obsažených v cvrččí mouce
- možnosti využití cvrččí mouky v potravinářském průmyslu

### Termín odevzdání diplomové práce: 10.5.2019:

Diplomová práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí diplomové práce.

-----  
Bc. Martina Šťastná  
student(ka)

-----  
Ing. Andrea Hároniková, Ph.D.  
vedoucí práce

-----  
prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.  
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2019

-----  
prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.  
děkan

## **ABSTRAKT**

Jedlý hmyz je už niekoľko desaťročí súčasťou jedálneho obyvateľstva mnohých krajín na celej zemi. Vo vyspelých krajinách Európy sa stáva čoraz viac populárnym najmä vďaka obsahu nutrične významných látok.

Teoretická časť práce sa zaoberá charakterizáciou jedlého hmyzu z hľadiska nutričného prínosu, približuje dôvody a spôsob chovu jedlého hmyzu.

Pre analýzu nutrične aktívnych látok bola použitá múka zo svrčka domového (*Acheta domestica*), ktorý patrí medzi zástupcov hmyzu legalizovaných od 1.1. 2018 na trhu EÚ. Z významne nutričných látok boli analyzované bielkoviny, lipidy, mastné kyseliny, vláknina a vybrané minerálne látky. Pre stanovenie veľkosti proteínových fragmentov bola prevedená optimalizácia vertikálnej elektroforézy SDS-PAGE. V druhej polovici experimentálnej časti bol pomocou senzorickej analýzy skúmaný vplyv prídavku svrčej múky na senzorické vlastnosti proteínových tyčínok.

V experimentálnej časti bolo zistené, že svrčia múka obsahuje vo významných množstvách bielkoviny, lipidy a mastné kyseliny. Rovnako sa v nej nachádzajú dôležité minerálne látky pre ľudské zdravie ako je horčík, draslík, železo či zinok. Senzorické vlastnosti proteínových tyčínok pre spotrebiteľov však neboli príliš atraktívne.

## **KLÚČOVÉ SLOVÁ**

Jedlý hmyz, bielkoviny, SDS-PAGE, mastné kyseliny, minerálne látky

## **ABSTRACT**

Edible insects have been part of the diet of many countries across the world for several decades. It is becoming increasingly popular in the European developed countries, mainly because of the content of nutritionally important substances.

The theoretical part of the thesis deals with the characterization of edible insects in terms of nutritional benefits, explains the reasons and method of breeding edible insects.

For the analysis of nutritionally active substances, flour of house cricket (*Acheta domesticus*) was used. *A. domesticus* belongs to the representatives of insects legalized from 1.1. 2018 on the EU market. Of the significantly nutritional substances, proteins, lipids, fatty acids, fiber and selected minerals were analyzed. In this study, optimization of vertical electrophoresis SDS-PAGE was performed to determine protein fragment sizes. In the second part the influence of cricket flour addition protein bars was investigated by sensory analysis.

In the experimental part that was found that cricket flour contains protein, lipids and fatty acids in significant amounts. It also contains important minerals for human health such as magnesium, potassium, iron or zinc. However, the sensory properties of protein bars for consumers were not very attractive.

## **KEYWORDS**

Edible insect, proteins, SDS-PAGE, fatty acids, minerals

ŠŤASTNÁ, Martina. *Nutriční přínos cvrččí mouky*. Brno, 2019. Dostupné také z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/113480>. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií. Vedoucí práce Andrea Hároniková.

## PREHLÁSENIE

Prehlasujem, že som diplomovú prácu vypracovala samostatne a že všetky použité literárne zdroje som správne a úplne citovala. Diplomová práca je z hľadiska obsahu majetkom Fakulty chemickej VUT v Brně a môže byť využitá ku komerčným účelom len so súhlasom vedúceho diplomovej práce a dekana FCH VUT.

.....

podpis študenta

## POĎAKOVANIE

*Na tomto mieste by som sa chcela poďakovať vedúcej mojej diplomovej práce Ing. Andrei Hároníkovej, Ph.D. za odborné vedenie a cenné rady pri spracovávaní diplomovej práce. Rada by som poďakovala Ing. Denise Romanovskej a Ing. Marekovi Raptovi za pomoc pri riešení experimentálnej časti. Veľká vďaka patrí mojej rodine, ktorá ma podporovala počas celej doby štúdia.*

## OBSAH

ABSTRAKT .....	3
KLÚČOVÉ SLOVÁ .....	3
ABSTRACT .....	4
KEYWORDS .....	4
PREHLÁSENIE .....	5
OBSAH .....	6
1 ÚVOD .....	9
2 TEORETICKÁ ČASŤ .....	10
2.1 Hmyz vo forme potravy – entomofágia .....	10
2.1.1 Výživová hodnota jedlého hmyzu .....	10
2.1.2 Dôvody pre chov hmyzu .....	11
2.1.3 Chov jedlého hmyzu .....	12
2.1.4 Príprava .....	13
2.2 Legislatíva .....	13
2.3 Anatómia hmyzu .....	14
2.3.1 Hlava .....	14
2.3.2 Hrud' .....	14
2.3.3 Brucho .....	14
2.3.4 Exoskelet .....	14
2.4 Charakteristika radu rovnokrídlovce ( <i>Orthoptera</i> ) .....	15
2.5 Charakterizácia svrčej múky .....	15
2.5.1 Významné nutrienty obsiahnuté v svrčej múke .....	15
2.5.1.1 Bielkoviny .....	15
2.5.1.2 Lipidy .....	17
2.5.1.3 Mastné kyseliny .....	17
2.5.1.4 Sacharidy .....	19
2.5.1.5 Vitamín B12 .....	20
2.5.1.6 Mikro- makroelementy .....	20
2.6 Riziká entomofágie .....	23
2.7 Analytické metódy využité pre stanovenie vybraných aktívnych látok .....	23
2.7.1 Plynová chromatografia .....	23
2.7.2 Gélová elektroforéza .....	24
2.7.3 Spektrofotometrické metódy .....	25

2.7.3.1	Spektrofotometria v UV-VIS oblasti .....	25
2.7.3.2	ICP-OES .....	25
2.8	Aktuálne poznatky a potenciálne využitie .....	26
3	CIELE PRÁCE .....	28
4	EXPERIMENTÁLNA ČASŤ .....	29
4.1	Chemikálie, prístroje a materiál .....	29
4.1.1	Chemikálie použité pre jednotlivé analýzy .....	29
4.1.2	Prístroje a pomôcky .....	30
4.1.3	Materiál .....	30
4.1.3.1	Materiál použitý pre analýzu .....	30
4.1.3.2	Materiál použitý pre senzorickú analýzu .....	31
4.2	Stanovenie celkových sacharidov podľa Duboise .....	32
4.3	Extrakcia lipidov podľa Folcha .....	33
4.4	Kvantifikácia lipidov pomocou GC .....	33
4.4.1	Príprava vzorky .....	33
4.4.2	Podmienky pre stanovenie .....	34
4.5	Stanovenie celkového dusíku podľa Kjeldahla .....	34
4.6	Optimalizácia vertikálnej elektroforézy SDS-PAGE .....	36
4.6.1	Príprava vzoriek .....	36
4.6.2	Príprava roztokov .....	37
4.6.3	Príprava gélu .....	38
4.6.4	Prevedenie elektroforézy .....	38
4.6.5	Farbenie striebrom .....	39
4.7	Stanovenie aminokyselín papierovou chromatografiou .....	40
4.8	Stanovenie obsahu mikroprvkov a makroprvkov metódou ICP-OES .....	40
4.8.1	Stanovenie mikroprvkov .....	42
4.8.1.1	Príprava vzoriek .....	42
4.8.1.2	Príprava kalibračnej rady .....	42
4.8.1.3	Prevedenie a podmienky merania .....	42
4.8.2	Stanovenie makroprvkov .....	43
4.8.2.1	Príprava vzoriek .....	43
4.8.2.2	Príprava kalibračnej rady .....	43
4.8.2.3	Prevedenie a podmienky merania .....	43
4.9	Stanovenie vlákny podľa Scharrera a Kürschnera .....	44
4.10	Stanovenie množstva chitínu .....	44

4.11	Senzorická analýza.....	44
4.11.1	Hodnotené vzorky .....	44
4.11.2	Priebeh senzorickej analýzy .....	45
5	VÝSLEDKY A DISKUSIA .....	46
5.1	Celkové sacharidy podľa Duboise .....	46
5.2	Extrakcia lipidov podľa Folcha .....	46
5.3	Kvantifikácia lipidov metódu GC.....	47
5.4	Stanovenie dusíku a hrubej bielkoviny podľa Kjeldahla.....	48
5.5	Vertikálna elektroforéza SDS-PAGE .....	49
5.6	Stanovenie aminokyselín papierovou chromatografiou .....	51
5.7	Stanovenie mikroprvkov a makroprvkov .....	54
5.8	Stanovenie vlákniny .....	57
5.9	Obsah chitínu .....	57
5.10	Senzorická analýza.....	58
6	ZÁVER.....	69
7	ZDROJE .....	71
8	ZOZNAM POUŽITÝCH SKRATIEK A SYMBOLOV .....	78
9	PRÍLOHY .....	79
	Príloha 1 – Dotazník pre senzorickú analýzu.....	79



# 1 ÚVOD

Vzhľadom k neustále stúpajúcemu počtu obyvateľov sa odhaduje, že do roku 2050 dosiahne ľudská populácia najmenej 9 miliárd. Hoci sa dopyt spotrebiteľov po živočíšnych výrobkoch stále zvyšuje, množstvo poľnohospodárskej pôdy je obmedzené. Pre uspokojenie tejto potreby pravdepodobne nebudú stačiť bežné zdroje živočíšnych bielkovín ako je bravčové, hovädzie či kuracie mäso. Tu je potrebné riešiť otázku alternatívnych zdrojov bielkovín, ktoré budú spĺňať základné požiadavky v oblasti výživy [1].

Jednou z hlavných myšlienok ako zabrániť zhoršovaniu životného prostredia a zamedziť nedostatku potravy pre ľudstvo je chov jedlého hmyzu [2]. Ten je vo vybraných častiach zeme konzumovaný už niekoľko desaťročí. Vo vyspelých krajinách Európy však tento spôsob stravy nie je veľmi obľúbený. Veľkú úlohu v tom zohráva kultúra a fakt, že tento spôsob obživy nebol bežnou súčasťou jedálneho Európanov [3,4]. Medzi hlavné dôvody, prečo môže byť jedlý hmyz potravinou 21. storočia je jeho nutričná hodnota a efektívnosť využívania zdrojov pri premene organickej hmoty na proteín. Z dôvodu širokej škály jedlého hmyzu je variabilná aj jeho nutričná hodnota. Hmyz je vysoko výživný a zdravý zdroj potravy s vysokým obsahom tuku, bielkovín, vitamínov a minerálov. Záujem o takýto spôsob obživy spustili najmä obavy z potravinovej a krmivovej neistoty, environmentálnych nátlakov, rastu populácie a dopytu po bielkovinách [3,4].

Jasný postoj k podpore entomofágie zaujala aj Európska únia, vďaka čomu je po prvýkrát v Európe regulovaná spotreba hmyzu. Od 1.1. 2018 je použiteľné *Nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) 2015/2283 o nových potravinách* z 25. novembra 2018, ktoré jasne definuje hmyz a výrobky z hmyzu ako novú potravinu [2,5].

Táto práca je zameraná na analýzu vybraných nutričných parametrov v múke zo svrčka domového (*Acheta domestica*) a jej pozitívne účinky na ľudské zdravie.

## 2 TEORETICKÁ ČASŤ

### 2.1 Hmyz vo forme potravy – entomofágia

Vo forme ľudskej potravy sa doposiaľ využilo takmer 2 000 druhov hmyzu, približne v 113 krajinách vrátane Ázie, Južnej Afriky či Latinskej Ameriky. Najčastejšie konzumované boli a stále sú termity, cvrčky, kobylky či mravce. Odhaduje sa, že hmyz je súčasťou tradičnej stravy najmenej dvoch miliárd ľudí. Stále rastúca ľudská populácia a dopyt po potravinách spôsobujú nadmerné využívanie niektorých divo žijúcich jedlých zástupcov hmyzu. Aj keď hmyz obsahuje vysoký obsah bielkovín, vitamínov a minerálov porovnateľný s bežne konzumovanými hospodárskymi zvieratami, moderná spoločnosť v podstate prehliada entomologickú kuchyňu. Pestrosť stravy s prídavkom jedlého hmyzu je zaznamenaný na *Obr. 1* [6,7].

Vo vyspelých krajinách Európy boli vždy najcennejšími domestikovanými zvieratami suchozemské bylinožravce, ktoré nielenže boli zdrojom značného množstva mäsa, ale prispeli aj ako zdroj tepla, mliečnych výrobkov, kože, vlny a ich využitie sa našlo aj vo forme dopravných prostriedkov či trakcie pluhov pri obrábaní pôdy. To je jedným z dôvodov, prečo hmyz s výnimkou priadky morušovej a včiel nebol pre obyvateľstvo príliš lákavý. Hmyz jednoducho nemohol ponúknuť rovnaké výhody, a tak sa do popredia záujmu dostalo práve poľnohospodárstvo. Konzumácia hmyzu je ovplyvnená kultúrou, životným prostredím, históriou či politicko-ekonomickými systémami [3].

V súčasnosti sa zastáva mnoho názorov, že konzumovaný hmyz by mohol byť pre spotrebiteľov dostupnejší vo forme, v ktorej ho nie je vidieť. Príkladom môže byť jeho redukcia na múku, zamaskovanie obsahu hmyzu kakaom alebo inou, výraznejšou chuťou či prehlásenie predajcu o bezpečnosti takýchto potravín [8].



*Obr. 1: Prídavok jedlého hmyzu do rôznych jedál [1]*

#### 2.1.1 Výživová hodnota jedlého hmyzu

Variabilné výživové vlastnosti jedlého hmyzu sú ovplyvnené najmä druhom, metamorfnou fázou života a typom krmiva. Príkladom môže byť štúdia, v ktorej boli porovnávané nutričné

vlastnosti kobyliiek na základe typu krmiva. Kobyliky kŕmené otrubami s podielom mastných kyselín vyšším ako v kukurici, vykazovali takmer dvojnásobnú úroveň proteínov. V ďalšej štúdií bolo zistené, že kobyliky, ktorým boli do potravy pridávané pšeničné otruby mali znížený obsah proteínov, ale vyšší obsah tukov. Zároveň sa po pridaní mrkvy ďalej zvyšoval obsah tukov, a tiež sa zvýšil obsah  $\beta$ -karoténu v telách kobyliiek. Hoci má entomofágia potenciál v boji proti podvýžive a celosvetovej potravinovej neistote je nevyhnutné získať kompletne nutričné informácie a skutočnú výživu dostupnú vo finálnom produkte [7].

Od typu a vývoja hmyzu sa obsah sušiny pohybuje v rozmedzí od 20–76 %. Hlavným predstaviteľom polysacharidov je chitín s podielom 2,7–49,8 mg/kg čerstvej hmoty. Ďalšou významnou zložkou, ktorá sa v jedlom hmyze vyskytuje je vlákna. U niektorých druhov hmyzu sa v závislosti od krmiva a sezóny môže vyskytovať primerané množstvo minerálov (K, Na, Ca, Cu, Fe, Zn, Mn a P), vitamínov skupiny B a vitamínov A, D, E, K a C. Vplyv na nutričnú hodnotu jedlého hmyzu má tiež spôsob prípravy. Zastúpenie tuku v sušine môže byť v priemere 10–60 %. Larválne štádia môžu mať tento obsah vyšší než dospelé jedince. Tuk môže byť v hmyze prítomný v niekoľkých formách. Najvyššie zastúpenie majú triacylglyceroly, ktoré tvoria približne 80 % tuku a sú využívané vo forme energetickej rezervy. Druhou najdôležitejšou skupinou sú fosfolipidy, ktorých obsah v celkovom tuku závisí najmä na životnej fáze a druhu hmyzu, a je väčšinou nižší ako 20 %. Profil mastných kyselín je ovplyvnený typom krmiva, ktorým je hmyz kŕmený. Celkový obsah polynenasýtených mastných kyselín môže byť až 70 % z celkového množstva mastných kyselín. Zaznamenaný je relatívne vysoký obsah kyseliny olejovej, linolovej, linolénovej a palmitovej [9].

Hlavnými kritériami konzumácie jedlého hmyzu sú senzorické vlastnosti ako je chuť a vôňa. Chuť je ovplyvnená najmä feromónmi vyskytujúcimi sa na povrchu hmyzu. Ďalej tiež závisí od krmiva a prostredia [9].

### 2.1.2 Dôvody pre chov hmyzu

Vzhľadom k rastúcemu dopytu po bielkovinách v ľudskej strave sa v oblasti potravinárskeho priemyslu zvažujú stále nové zdroje bielkovín. Za alternatívny zdroj živočíšnych bielkovín sú v Európe považované len niektoré druhy hmyzu. Jednou z výhod jedlého hmyzu je, že ich krmivo môže byť obmedzené na priemyselné vedľajšie produkty a obilné zrná. Produkcia hmyzu je ľahšie udržateľná než produkcia konvenčných zdrojov bielkovín vzhľadom na spotrebu vody a emisiu skleníkových plynov. Chov hmyzu predstavuje zníženie kontaminácie životného prostredia a aj environmentálne výhody vedú k rastúcemu záujmu o jedlý hmyz. Napriek výhodám sa väčšina západných obyvateľov bráni prijať hmyz ako plnohodnotný zdroj bielkovín, tukov a minerálov, pretože neboli bežnou súčasťou ich jedálničku a kultúry [3,4].

Predpokladá sa, že pre európskych spotrebiteľov by mohli byť prijateľnejšie také produkty, v ktorých hmyz nie je priamo viditeľný. V niektorých európskych krajinách ako Belgicko a Holandsko, sú v súčasnosti spracovávané potraviny na báze hmyzu. Sú to napríklad hamburgery či krokety s obsahom hmyzu od 10–35 % [7].

Organizácia pre výživu a poľnohospodárstvo (FAO) predpokladá, že v roku 2050 bude svetová populácia približne 9 miliárd. S rastúcou populáciou sa znižujú potravinové zdroje, voda, pôda. Ak aktuálny stav poľnohospodárskej výroby bude pretrvávajúť, naďalej bude dochádzať k zvyšovaniu množstva skleníkových plynov, odlesňovaniu a tiež neustálemu zhoršovaniu životného prostredia. Ďalším dôležitým faktorom je voda, ktorá má obrovský vplyv na poľnohospodárstvo. Odhaduje sa, že do roku 2025 bude žiť až 1,8 miliardy ľudí

v krajinách alebo v regiónoch s absolútnym nedostatkom vody. Výhodným riešením potravinovej neistoty je práve využitie jedlého hmyzu vďaka schopnosti rýchlej reprodukcie, rýchlym životným cyklom a minimálnemu priestoru na chov. Jedným z pozitív je aj nízka produkcia skleníkových plynov v porovnaní s dobytkom a ošípanými. Okrem toho, hnoj vznikajúci počas chovu dobytku kontaminuje povrchovú a podzemnú vodu [7,10].

Priemysel živočíšnej výroby by sa mal zaoberať vhodne vytvorenými podmienkami pre chov zvierat. Zvieratá by mali mať zabezpečený dostatok vody, potravy, malo by sa vyhnúť tomu, aby boli zranené a trpeli bolesťami či chorobami. Práve to sa týka úrovne hustoty chovu, čiže preplnenia a vzájomnej tolerancie medzi rovnakými druhmi. Tento faktor je dôležitý vyzdvihnúť z toho dôvodu, že napríklad kobyľky chované v zajatí majú tendenciu zhlukovať sa a žiť vo vysokých hustotách, čím sa znižuje potrebný priestor pre chov. Avšak stále nie je známe, do akej miery hmyz pociťuje bolesť a nepohodlie [3].

Vďaka vyššej odolnosti voči suchu je spotreba vody pre chov hmyzu oveľa nižšia. Svrčky sú vo všeobecnosti poikilotermické, čo znamená, že ich vnútorná teplota nie je regulovaná. Spotrebujú tak oveľa menej energie a živín pre svoj rast. Svrčky majú vysokú konverziu krmív. Tá je vyjadrená ako množstvo potrebného krmiva v kilogramoch pre zisk 1 kg zvierat. Pre produkciu 1 kg živých svrčkov je potreba len 1,7 kg krmiva [10,11].

### 2.1.3 Chov jedlého hmyzu

Jedlý hmyz je možné získať zberom voľne žijúceho hmyzu v prírode, semi-domestikáciou alebo poľnohospodárstvom (chov od malých klietok až po veľkú továreň). Voľne žijúci hmyz zbieraný v prírode tvorí až 92 % konzumovaného hmyzu. Vo väčšine prípadov sa zber divokého hmyzu uskutočňuje kvôli nevedomostiam o možnostiach chovu. Takto zbieraný a nekontrolovaný hmyz môže obsahovať vysoký obsah pesticídov, mykotoxínov, ťažkých kovov, prírodných toxínov či patogénnych mikroorganizmov. Zber divo žijúceho hmyzu je spojený s vplyvom na ekosystém. Nadmerný zber jedného druhu môže mať negatívny dopad na reprodukciu iných organizmov a rastlín. V oblasti chovu a produkcie hmyzu je však mnoho medzier v znalostiach, ktoré je najskôr potrebné vyriešiť. Dôležité sú dostatočné informácie o výživových hodnotách hmyzu a rovnako je potrebné pochopiť, aké dopady môže mať zber voľne žijúceho hmyzu na životné prostredie. Výber druhov hmyzu chovaných na farmách je založený na nárokoch spotrebiteľa. Svrček domový bol vybraný na základe lepšej chuti a textúry oproti iným porovnávaným druhom hmyzu [12,13].

Hmyz sa chová vo vyhradenom priestore (*Obr. 2*), kontrolujú sa jeho životné podmienky, strava a kvalita krmiva. Chovaný hmyz je držaný v zajatí a je izolovaný od svojich prirodzených populácií. Pojem „chov“ je častejšie používaný v živočíšnej výrobe než v entomológii [3].



Obr. 2: Farma pre chov svrčka domového (*Acheta domesticus*) [14]

#### 2.1.4 Príprava

Jedlý hmyz je po zbere najčastejšie usmrtený lyofilizáciou, následne je umytý v čistej vode a upravený sušením na slnku alebo varením. Hmyz môže byť sušený v uzavretých solárnych sušičoch, ktoré ho zároveň chránia pred kontamináciou. Potom môže byť konzumovaný ako celý hmyz, ďalej vo forme pasty, prášku alebo extraktu [13].

#### 2.2 Legislatíva

Pred 15. 5. 1997 nebol hmyz a produkty z hmyzu tradičnou súčasťou jedálneho stola obyvateľov EÚ. Do začiatku roku 2018 Česká republika spolu s ďalšími členskými krajinami EÚ zdieľala názor Európskej komisie, že ide o neschválenú novú potravinu podľa vtedy platného Nariadenia Európskeho parlamentu a Rady (ES) č. 258/1997 o nových potravinách a nových prídavných látkach z 27. januára 1997 [15]. Toto nariadenie bolo 1.1. 2018 nahradené Nariadením Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) 2015/2283 o nových potravinách z 25. novembra 2018, ktoré jasne definuje hmyz a výrobky z hmyzu ako novú potravinu [5].

Každý druh hmyzu by mal prejsť schvaľovacím procesom podľa nariadenia (EÚ) 2283/2015 pred tým, než je uvedený na trh. Toto nariadenie súčasne stanovilo v čl. 35 odst. 2. prechodné obdobie, ktoré umožní legalizovať všetky potraviny, ktoré nepatrili do pôsobnosti pôvodného nariadenia a boli teda uvedené na trh v súlade s predpismi, ale do pôsobnosti nového nariadenia už spadajú. To znamená, že daný druh hmyzu musí prejsť schvaľovacím procesom (autorizáciou), prípadne procesom notifikácie tradičnej potraviny z tretej zeme. Povolenie je platné pre celú EÚ. Na vnútorný trh sa na základe národných výnimiek a čl. 35 nariadenia (EÚ) 2015/2283 dostali niektoré druhy hmyzu a boli od 1. 1. 2018 legalizované na celý trh EÚ. Patria medzi druhy uvedené v Tab. 1 [16,17].

Súčasťou autorizačného procesu je aj hodnotenie rizík, aby bol výsledný produkt bezpečný pre všetkých spotrebiteľov, vrátane alergikov, malých detí a tehotných či dojčiacich žien. Tieto aspekty sú posudzované na základe dokumentácie predloženej k posúdeniu Európskou komisiou (EK), prípadne Európskym úradom pre bezpečnosť potravín (EFSA) [16,17].

Tab. 1: Legalizované druhy hmyzu na trhu EÚ [16]

<b>Latinský názov</b>	<b>Slovenský názov</b>
<i>Acheta domestica</i>	Svrček domový
<i>Alphitobius diaperinus</i>	Larvy potemníka stajňového
<i>Grylloides sigillatus</i>	Svrček krátkokřídly
<i>Locusta migratoria</i>	Saranča sťahovavé
<i>Schistocerca gregaria</i>	Saranča všežravé
<i>Tenebrio molitor</i>	Larvy múčiara obyčajného (múčný červ)

## 2.3 Anatómia hmyzu

Segmentáciu tela hmyzu je možné rozdeliť na primárnu a sekundárnu. Primárna segmentácia je charakteristická pre mäkké organizmy ako sú larvy, sekundárna segmentácia je charakteristická pre tvrdé článkonožce vrátane dospelého a nymfálneho hmyzu. Telo dospelého hmyzu je tvorené z troch hlavných segmentov – hlavy, hrudníku a bruška. Každá z nich má svoju špecifickú funkciu a ovplyvňujú ďalšie funkcie a procesy v tele. Hlava je určená pre orientáciu, hrudník pre pohyb a bruško je späté s trávením a reprodukciou. Pred mechanickým poškodením je telo hmyzu chránené exoskeletom [18].

### 2.3.1 Hlava

Hlava je komplexná časť tela hmyzu so širokou škálou funkcií a štruktúr. Jej tvar môže byť globulárny, prípadne sploštený až pretiahnutý. Je vybavená zmyslovými orgánmi ako sú vysokokomplexné zložené oči, tykadlá a svalový aparát. Zložené oči sú zvyčajne dobre vyvinuté, okrúhle alebo oválne. V niektorých skupinách môžu byť dokonca úplne redukované. Tykadlá môžu mať rôzny tvar a dĺžku, pokryté rôznymi senzormi a niektoré skupiny hmyzu môžu pomocou nich vnímať akustické signály. Ďalej sa tu nachádzajú centrálné prvky nervového systému a predná časť tráviaceho traktu. U niektorých druhov hmyzu je hlava neprimerane veľká alebo malá v porovnaní s veľkosťou tela, čo naznačuje, že u daného druhu hmyzu došlo k postupnej adaptácii potrebnej pre určitú funkciu [18,19].

### 2.3.2 Hruď

Hruď je vo väčšine prípadov dobre vyvinutá a oddelená od hlavy a brucha. Obyčajne je zložená z troch segmentov nazývaných prothorax, mesothorax a metathorax. Posledné dva sa kolektívne nazývajú pterothorax a jeho veľkosť môže byť rôzna. Práve na tomto úseku hrude sú upevnené krídla a na telo sú ďalej pripojené tri páry nôh. Plne vyvinuté krídla sa vo väčšine prípadov vyskytujú len u dospelých jedincov [18,19].

### 2.3.3 Brucho

Brušná časť je najmäkšou časťou tela. Je primárne 11-článková, no v niektorých prípadoch môžu byť posledné články redukované. Prvé články sú spravidla premenené a spájajú ho s hruďou. Bruško obsahuje najväčšiu časť tráviaceho traktu, vylučovacie orgány, pohlavné orgány, doplnkové žľazy a srdce [18,19].

### 2.3.4 Exoskelet

Pre hmyz je charakteristický diferencovaný exoskelet tvorený vonkajšou kutikulou, ktorá je vylučovaná epidermálnymi bunkami. Kutikula je biologický kompozitný materiál

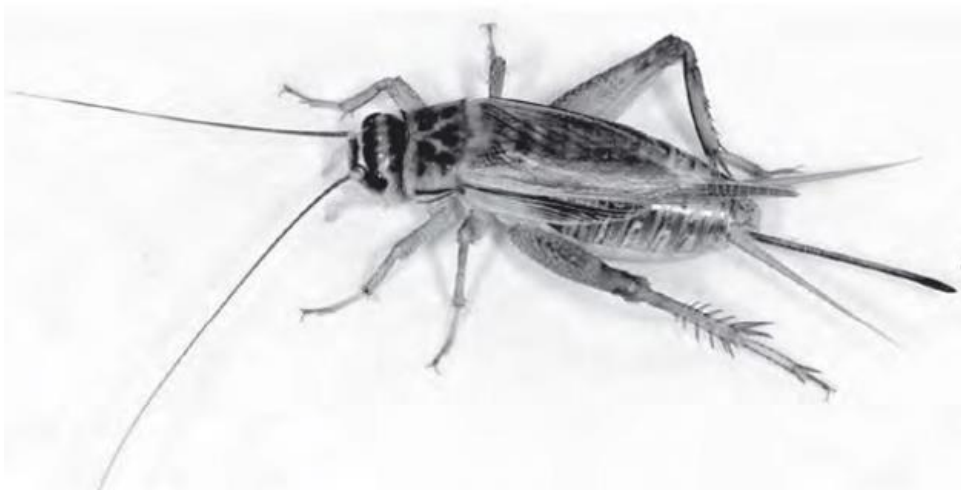
obsahujúci chitín, proteíny, lipidy a katecholamíny, vďaka ktorým má svoje špecifické mechanické vlastnosti. Exoskelet zabezpečuje mechanickú ochranu tela, a taktiež je naň pripojený komplexný svalový systém [19].

## 2.4 Charakteristika radu rovnokrídlovce (*Orthoptera*)

Rovnokrídlovce (*Orthoptera*) sú rad hmyzu, ktorý patrí k pomerne známej a preskúmanej skupine živočíchov. Vo svete sa nachádza približne 26 000 druhov tohto hmyzu, zatiaľ čo v Českej republike 96. Medzi najdôležitejšie a najobsiahlejšie druhy patria svrčky, koníky a kobylky. U samčekov sa vyvinuli zvukotvorné orgány, pomocou ktorých vydávajú pre nich charakteristické cvrlikavé zvuky. Zástupcovia čeľade svrčkovité (*Gryllidae*) majú prevažne hnedú alebo čiernu farbu. Jedným zo zástupcov tejto čeľade je svrček domový (*A. domesticus*) [20,21].

## 2.5 Charakterizácia svrčej múky

Pre prípravu svrčej múky sú svrčky (*A. domesticus* na Obr. 3) po usušení rozomleté alebo rozdrvené na jemný prášok [13].



Obr. 3: *Acheta domesticus* (svrček domový) [22]

### 2.5.1 Významné nutrienty obsiahnuté v svrčej múke

Nutričné hodnoty jedlého hmyzu sa môžu líšiť nie len v závislosti na druhu či metamorfom štádiu hmyzu ale aj vplyvom prípravy a spracovania. Hlavnými zložkami hmyzu sú bielkoviny, tuk, vláknina, následne rôzne minerálne látky či vitamíny [3].

V svrčej múke je v dostatočnom množstve obsiahnutý vitamín B12, ktorý sa vyskytuje iba v potravinách živočíšneho pôvodu a je životne dôležitý pre ľudské zdravie. Múka tiež vykazuje pomerne vysoký obsah draslíka, vápniku, železa, sodíku, horčíku a selénu. V porovnaní s rôznymi potravinami vraj cvrčky obsahujú o 15 % viac železa než špenát, dvakrát viac bielkovín ako hovädzie mäso a približne rovnaké množstvo vitamínu B12 než losos [4,7].

#### 2.5.1.1 Bielkoviny

Bielkoviny sú základnou a univerzálnou zložkou všetkých živých organizmov vznikajúce procesom proteosyntézy. Bielkoviny tvoria až polovicu suchej hmotnosti bunky. Slúžia

ako štruktúrne zložky, biokatalyzátory (vo forme enzýmov), protilátky, ako nosiče či transportéry. Celkový obsah bielkovín v hmyze, konkrétne v svrčkovi domovom (*Acheta domestica*) môže byť v závislosti na rôznych faktoroch odlišný. Príkladom môže byť štúdia od *Kulma M. a kol.*, v ktorej bolo stanovené vyššie množstvo bielkovín u samčiek než u samičiek. Stanovený obsah bielkovín sa pohyboval v rozmedzí 66–69 % u samčiek, zatiaľ čo u samičiek 61–64 % [23].

Základnými prvkami všetkých bielkovín sú aminokyseliny. Tie je možné rozdeliť na esenciálne a neesenciálne podľa toho či ich ľudské telo môže syntetizovať v dostatočnom množstve alebo ich je potrebné doplniť vo forme potravy (Tab. 2) [24].

Tab. 2: Rozdelenie aminokyselín [24]

	Názov	Označenie
<b>Esenciálne</b>	Valín	Val
	Leucín	Leu
	Izoleucín	Ile
	Treonín	Thr
	Fenylalanín	Phe
	Metionín	Met
	Tryptofán	Trp
	Lyzín	Lys
<b>Semi-esenciálne</b>	Histidín	His
	Arginín	Arg
<b>Neesenciálne</b>	Tyrozín	Tyr
	Cystein	Cys
	Glycín	Gly
	Alanín	Ala
	Serín	Ser
	Prolín	Pro
	Kyselina glutámová	Glu
	Kyselina asparágová	Asp
	Glutamín	Gln
	Asparagín	Asn

Bielkoviny, ktoré obsahujú esenciálne aminokyseliny v dostačujúcom množstve pre naše telo sa označujú ako kompletne bielkoviny. Sú primárne živočíšneho pôvodu ako sú vajcia, syr, mlieko, ryby. Za neúplné sa považujú tie, ktoré neobsahujú ani jednu alebo obsahujú viac esenciálnych aminokyselín v nevyvážených pomeroch. Zvyčajne sú tieto bielkoviny rastlinného pôvodu [24,25].

Podľa štúdie *Liya L. a kol.*, v ktorej bolo testovaných 5 druhov hmyzu vrátane svrčka domového je možné usúdiť, že množstvo proteínov v jedlom hmyze je porovnateľné



s obsahom proteínov v hovädzom, kuracom mäse či rybách. V testovaných druhoch hmyzu sa nachádzali všetky esenciálne aminokyseliny [26].

V mnohých prípadoch nie je nedostatočný len príjem bielkovín, ale aj celkový energetický príjem. Z tohto dôvodu je niekedy ťažké oddeliť symptómy len z nedostatku bielkovín od energetického deficitu, pretože syntéza proteínov kostrového svalstva je ovplyvnená akútnym nedostatkom energie [24,25].

Nedostatok bielkovín je charakteristický pre oblasti Afriky, kedy ich nedostatkom trpia najmä malé deti. V tomto veku má organizmus pre svoj rast zvýšené nároky na bielkoviny a energiu. Typickým príkladom takéhoto ochorenia je Kwashiorkor, ktorého charakteristickými znakmi sú opuchy rôznych častí tela, únava či apatia. Ďalším ochorením tohto typu je Marasmus, ktorého následkom je nedostatočne vyvinuté svalstvo či tukové tkanivo [24].

### **2.5.1.2 Lipidy**

Vo všeobecnosti tvoria lipidy skupinu zlúčenín, ktoré sú nerozpustné vo vode. Sú prítomné vo všetkých živých bunkách. Majú dôležitú úlohu v štruktúre a funkcii biologických membrán a sú prekurzormi rôznych hormónov. Slúžia ako zásobný a dlhodobý zdroj energie a chránia orgány a tkanivá pred mechanickým poškodením. Majú aktívnu úlohu v chuti a vnímaní potravín a vďaka tomu, že sa v nich rozpúšťajú vitamíny A, D, E a K sú prospešné pre ľudské zdravie. Dodávajú energiu a živiny, ako sú esenciálne mastné kyseliny, cholesterol a lipofilné vitamíny. Zo surových či spracovaných surovín sa získavajú lipidy, z ktorých najväčším zdrojom esenciálnych mastných kyselín sú triacylglyceroly. Tie predstavujú až 97 % energetického príjmu, po ktorom nasledujú polárne lipidy, najmä fosfolipidy. Avšak zastúpenie lipidov a mastných kyselín sa líši od jednotlivého typu potravy. Rozmanitosť prijatých lipidov sa odvíja aj so stravovacími návykmi a možným zavedením nových zdrojov a zložiek ako sú riasy, hmyz a pod. [24,25,27].

V prípade svrčka domového je dôležité jeho životné štádium. Množstvo triacylglycerolov sa zvyšuje od druhého až do siedmeho alebo ôsmeho týždňa postembryonického života, po tomto období prudko klesá [28].

### **2.5.1.3 Mastné kyseliny**

Mastné kyseliny obsahujú na jednom konci uhl'ovodíkového reťazca karboxylovú skupinu a na druhom metylovú. V reťazci sa môže vyskytovať rôzny počet uhlíkov, najrozšírenejší počet je 16 až 18. V prípade  $\omega$ -6 polyénových kyselín sa prvá dvojitá väzba nachádza na šiestom atóme uhlíku od konca reťazca. Termín  $\omega$ -3 (alebo tiež n-3) mastné kyseliny označuje skupinu polynenasýtených mastných kyselín (PUFA), kde n-3 znamená polohu dvojitej väzby, ktorá je najbližšie k metylovému koncu acylového reťazca mastnej kyseliny. Všetky  $\omega$ -3 mastné kyseliny majú túto dvojitú väzbu na treťom atóme uhlíka [25,27].

Okrem mastných kyselín prijímaných v potrave je človek, podobne ako iné živočíchy a rastliny, schopný syntetizovať nasýtené a niektoré nenasýtené mastné kyseliny. Na rozdiel od rastlín, však ľudské telo nedokáže syntetizovať polyénové mastné kyseliny radu  $\omega$ -6 (linolovú) a  $\omega$ -3 ( $\alpha$ -linolenovú), hoci ich nevyhnutne potrebuje k životu. Preto sa tieto mastné kyseliny nazývajú esenciálnymi a človek ich potrebuje prijímať potravou v dostatočnom množstve. Nezastupiteľnú úlohu majú v živočíšnom organizme vyššie mastné kyseliny. Sú prekurzormi biologicky aktívnych látok eikosanoidov a sú modulačnými zložkami biologických membrán [29]. Bohatým zdrojom  $\omega$ -3 mastných kyselín ako je kyselina eikosapentaenová (EPA) a dokosahexaenová (DHA) sú ryby a olejové doplnky [25,27].

Vybrané nasýtené a nenasýtené mastné kyseliny spolu so zdrojmi sú uvedené v *Tab. 3* a v *Tab. 4*.

*Tab. 3: Nasýtené mastné kyseliny vyskytujúce sa v potravinách [13]*

<b>Systematický názov</b>	<b>Triviálny názov</b>	<b>Počet uhlíkov a dvojných väzieb</b>	<b>Zdroj</b>
<b>Butánová</b>	Maslová	4:0	Maslo
<b>Hexánová</b>	Kapronová	6:0	Maslo
<b>Oktánová</b>	Kaprylová	8:0	Kokosový olej
<b>Dekánová</b>	Kaprinová	10:0	Palmový olej
<b>Dodekanová</b>	Laurová	12:0	Kokosový olej, muškátový orech
<b>Tetradekánová</b>	Myristová	14:0	Kokosový olej
<b>Hexadekánová</b>	Palmitová	16:0	Väčšina tukov a olejov
<b>Oktadekánová</b>	Stearová	18:0	Väčšina tukov a olejov
<b>Eikosanová</b>	Arachidová	20:0	Arašidový olej, bravčová masť

*Tab. 4: Nenasýtené mastné kyseliny vyskytujúce sa v potravinách [24]*

<b>Systematický názov</b>	<b>Triviálny názov</b>	<b>Počet uhlíkov a dvojných väzieb</b>	<b>Zdroj</b>
<b>9-hexadecenová</b>	Palmitolejová	16:1	Maslo, olej zo semien
<b>9-oktadecenová</b>	Olejová	18:1	Väčšina tukov a olejov
<b>9,12-oktadekadienová</b>	Linolová	18:2	Ľanový a kukuričný olej
<b>9,12,15-oktadekatrienová</b>	$\alpha$ -Linolenová	18:3	Sójový olej
<b>5,8,11,14-eikosatetraenová</b>	Arachidonová	20:4	Bavlníkový olej

Obsah mastných kyselín sa v tele svrčka domového je pestrý a je ovplyvnený najmä potravou, ktorou sa hmyz živí. Hlavnými mastnými kyselinami sú linolová (30–40 %),

olejová (23–27 %), palmitová (24–30 %) a kyselina stearová (7–11 %). V nižšom množstve sa v ich tele vyskytuje kyselina palmitoolejová (3–4 %), myristová (~ 1 %) a linolenová (< 1 %) [28].

#### 2.5.1.4 Sacharidy

Dôležitým zdrojom energie sú sacharidy. Je to jediný makronutrient, ktorý nemá stanovené minimálne požiadavky. To vyvoláva otázky o množstve a type sacharidov potrebných pre udržanie optimálneho zdravia [31].

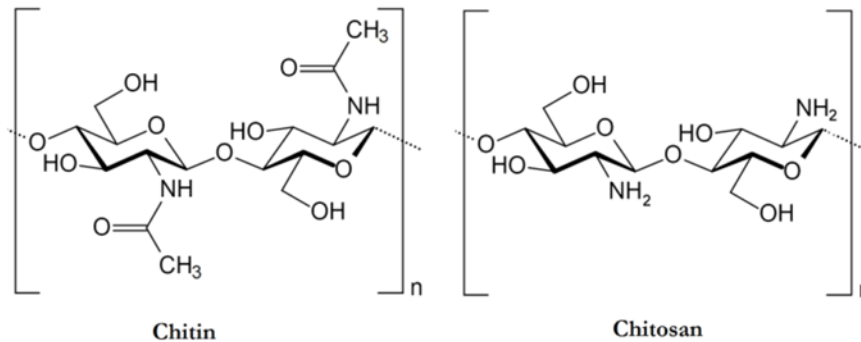
Sacharidy je možné rozdeliť podľa stupňa polymerizácie na monosacharidy, disacharidy, oligosacharidy a polysacharidy. Monosacharidy sa vyskytujú vo forme monomérov alebo ako zložky oligo- a polysacharidov. Najvýznamnejšími monosacharidmi sú glukóza, fruktóza a galaktóza. Z 2 až 10 monosacharidových jednotiek sú zložené oligosacharidy. Jednotky sú navzájom spojené  $\alpha$ - alebo  $\beta$ - glykozidovou väzbou. Medzi najvýznamnejšie oligosacharidy patrí sacharóza, maltóza a laktóza. Polysacharidy sú skupina zložená z 10 a viac monosacharidových podjednotiek, ktorých počet môže dosahovať stovky až tisíce. O homoglykánoch hovoríme vtedy, ak sú polysacharidy tvorené len jedným typom monosacharidu. Tu sa zaraďuje škrob, celulóza a glykogén. Príkladom heteroglykanov zložených z viac ako jedného typu monosacharidu môže byť kyselina hyalurónová či heparín. Predpokladá sa, že práve dĺžka reťazca určuje rýchlosť trávenia a absorpcie, a tým aj zvýšenie hladiny glukózy v krvi po jedle. Zvýšený podiel vlákniny v polysacharidoch, ktorú ľudské telo trávi pomaly má pozitívny vplyv na ľudské telo. Vďaka tomu je prísun energie pomalší a postupný, čím je udržiavaná mentálna a fyzická výkonnosť. Avšak nadmerná konzumácia potravín obsahujúcich či už jednoduché alebo zložené sacharidy je spájaná s ochoreniami ako sú cukrovka, obezita, kardiovaskulárne ochorenia a dokonca aj niektoré druhy rakoviny [30,31,32].

Hlavným polysacharidom prítomným v tele hmyzu je chitín. Jeho hladina v tele hmyzu je ovplyvnená najmä pohlavím, pričom sa vo vyššom množstve vyskytuje u samčiekov. V tele hmyzu sa môže nachádzať v množstve od 5,4–6,2 g/100 g suchej hmotnosti [23]. Chitín je po celulóze druhým najrozšírenejším polysacharidom na svete. Je zložený z molekúl *N*-acetyl-D-glukózamínu, ktoré sú navzájom spojené  $\beta$ -1,4-glykozidickou väzbou. Chitín sa v závislosti od zdroja môže vyskytovať v dvoch formách, vo forme  $\alpha$  a  $\beta$ .  $\alpha$ -forma chitínu sa vyskytuje v bunkových stenách húb a kvasiniek, v schránkach homárov a krabov, a tiež v kutikule hmyzu. Chitín je inertný v tráviacom trakte cicavcov a je biologicky odbúrateľný prítomnosťou chitináz, ktoré sú v prírode široko rozptýlené a nachádzajú sa v baktériách, hubách, rastlinách a v tráviacom trakte mnohých zvierat [33,34].

V potravinárskom priemysle sa chitín v značnej miere využíva k imobilizácii buniek a enzýmov, napríklad pri čírení ovocných štiav a spracovaní mlieka, kedy sa chitín viaže na  $\alpha$ - a  $\beta$ -amylázu. Vďaka tomu, že je chitín netoxický a biologicky odbúrateľný je okrem potravinárskeho priemyslu využívaný aj v ďalších oblastiach, napríklad vo forme biosenzorov [33,34].

Najdôležitejším derivátom chitínu je chitosan. Získava sa alkalickou deacetyláciou chitínu alebo enzymatickou hydrolýzou *N*-deacetylázy. Porovnanie štruktúry chitínu a chitosanu je zobrazené na *Obr. 4*. Chitosan má výborné biologické vlastnosti, je netoxický, biokompatibilný a biodegradabilný. Vďaka svojim vlastnostiam sa využíva v rôznych odboroch ako biomedicína, agrochémia konzervácia potravín alebo čistenie vody. Chitosan má pre ľudské telo pozitívny účinok vďaka schopnosti viazať na seba tuky a cholesterol prijaté potravou skôr ako sú spracovávané [35]. Chitosan môže ovplyvňovať metabolizmus

vápniku a urýchľovať jeho vylučovanie močom. Nežiaducim účinkom je zníženie vitamínu E v krvnej plazme, zníženie obsahu minerálov v kostiach a spomalenie rastu. Žiaducou vlastnosťou je aj jeho antibakteriálna aktivita, ktorá môže byť využívaná priamou aplikáciou k prevencii infekcie rán [36]. Antioxidačná účinnosť chitosanu závisí na veľkosti molekuly a stupni acetylácie. Nízkomolekulárny, čiastočne *N*-acetylovaný chitosan je možné považovať za prírodný antioxidant, hoci presný mechanizmus jeho antioxidačnej účinnosti nebol dosiaľ popísaný [35].



Obr. 4: Opakujúce sa jednotky v štruktúre chitínu a chitosanu [36]

### 2.5.1.5 Vitamín B12

Vitamín B12, tiež známy ako kobalamín, je jedným z vitamínov B-komplexu. Je rozpustný vo vode a nerozpustný v tukových rozpúšťadlách. Ľudský organizmus ho potrebuje k využitiu tukov a bielkovín, zdravú pokožku, vlasy, oči a pečeň. Nervový systém nie je schopný správne fungovať bez vitamínu B12. Zároveň je koenzýmom rôznych enzýmov, ako sú metyltransferáza či glutamátmutáza. Je to predovšetkým produkt mikrobiálnej syntézy a vo väčšine potravín sa nevyskytuje vo veľkom množstve [24,32].

Na základe vývinového štádia svrčka sa jeho množstvo pohybuje v rozmedzí 50–80 µg/kg [38]. Napriek tomu, že väčšina potravín živočíšneho pôvodu ako sardinky, losos či hovädzie mäso obsahuje vitamín B12, u niektorých jedincov sa môže prejaviť jeho nedostatok formou perniciózneho anémie. Príznaky zahŕňajú slabosť, bledú pokožku, necitlivosť alebo mravčenie v rukách a nohách. Väčšinou ide o ľudí, ktorí nekonzumujú potraviny živočíšneho pôvodu. Anémia však môže mať aj genetický pôvod [24,32].

### 2.5.1.6 Mikro- makroelementy

Na ochranu pred voľnými radikálmi má ľudský organizmus vyvinuté antioxidačné systémy. Tie zahŕňajú niektoré antioxidanty produkované v tele (endogénne) a antioxidanty získané z potravy (exogénne). Do prvej skupiny patria enzymatické systémy ako kataláza či superoxid dismutáza a neenzymatické, ako sú proteíny, ktoré viažu železo–transferín, feritín a glutathion. Kritickými zložkami pre celú radu týchto procesov sú minerálne látky, napríklad železo, meď, mangán, selén, a pod. Nedostatok niektorého zo základných prvkov môže negatívne ovplyvniť funkciu celkového antioxidačného systému [39].

### Sodík

Je to hlavný extracelulárny elektrolyt, cirkuluje ako plne disociovaný ión a je plne rozpustný vo vode. Väčšina prijatého sodíka pochádza z konzumácie kuchynskej soli NaCl, ale nachádza sa aj v potravinách ako je repa, zeler a mlieko [24]. V tele svrčka sa môže obsah sodíku vyskytovať v množstve dosahujúcom až 1,3 g/kg [38]. Pri nadbytočnom príjme môže z dôvodu zvýšenej citlivosti na sodík u niektorých jedincov dochádzať k hypertenzii. Potreba sodíka je ovplyvnená napríklad prácou v horúcom a suchom prostredí, kedy dochádza k strate sodíka a iných elektrolytov cez pokožku. Keďže je prítomný vo väčšine potravín a ľudské telo ho potrebuje len vo veľmi malom množstve, jeho nedostatok sa vyskytuje len veľmi zriedka [24,32].

### Draslík

Hlavným intracelulárnym elektrolytom je draslík. Voľne prechádza z gastrointestinálneho systému do enterocytu a odtiaľ do tela. Medzi zdroje draslíku patrí mlieko a mliečne výrobky, avokádo, ryby, niektoré druhy ovocia ako sú banány a zelenina [24,32]. V tele svrčka sa môže vyskytovať v množstve 300–350 mg/100 g [38]. Takmer všetok spotrebovaný draslík je z tela vylučovaný močom, u osôb postihnutých hnačkovým ochoreniami môže byť strata draslíka pomerne veľká a oslabujúca, preto je ho potrebné doplniť. Pri pretrvávajúcej hypokalémii nastáva riziko zástavy srdca a smrť. Je nevyhnutný pre správne fungovanie všetkých buniek, reguluje tep srdca, zabezpečuje správnu funkciu svalov a nervov a taktiež je dôležitý pre syntézu proteínov [24,40].

### Vápnik

Vápnik je po uhlíku, vodíku, kyslíku a dusíku piatym najrozšírenejším prvkom v tele. V najväčšom množstve (až 99 %) sa vyskytuje v kostiach a zuboch, v menšom množstve mäkkých tkanivách ako je pečeň, svalstvo či mozog. Ďalej napomáha ku kontrakcii svalov, zrážanlivosti krvi a prenosu nervového vzruchu. Až 72 % denného príjmu vápniku môžu poskytovať jeho najvýznamnejšie zdroje ako sú mlieko, syry, fermentované a nefermentované mliečne výrobky [24,40]. Podobne ako u ďalších zložiek, aj množstvo vápniku v tele svrčka závisí od jeho životného štádia. Na základe toho sa môže obsah vápniku pohybovať v rozmedzí 210–1290 mg/100 g suchej hmotnosti svrčka [41]. Fytáty a oxaláty, ktoré sú prirodzenou zložkou obilnín a listovej zeleniny viažu vápnik, a tak po zmiešaní týchto potravín s mliečnymi výrobkami znižujú jeho dostupnosť. Naproti tomu, potraviny bohaté na vitamín C zvyšujú dostupnosť vápnika a to pravdepodobne vďaka redoxnej povahe kyseliny askorbovej. Absorpcia vápniku v ľudskom tele súvisí aj s vekom a pohlavím [24].

Nedostatok vápnika je ovplyvnený viacerými faktormi napríklad nedostatočnou aktivitou vitamínu D, strata produkcie estrogénu, dysfunkcia nadobličiek alebo dysfunkcia štítnej žľazy. Ak sa vyskytne niektorý z týchto stavov, dostavia sa príznaky nedostatku vápnika. Tie zahŕňajú nedostatočnú kalcifikáciu a rast kostí u detí, slabé a porézne kosti u dospelých [24,40].

### Horčík

Zatiaľ čo je mäso, zelenina, orechy alebo ryby vhodným zdrojom horčíku, jeho relatívne chudobnými zdrojmi sú mlieko a mliečne výrobky [24]. Medzi zdroje horčíku je možné zaradiť aj svrčka domového, v ktorom sa obsah horčíku pohybuje v rozmedzí 22–160 mg/100 g suchej hmotnosti [38,41]. Horčík je kofaktorom takmer vo všetkých

fosforylačných reakciách zahŕňajúcich ATP. Horčík zohráva úlohu pri udržiavaní normálneho krvného tlaku a hladiny cukru v krvi. Môže mať vplyv na uvoľňovanie inzulínu, ktorý reguluje hladinu cukru v krvi. Nízka hladina horčíku v organizme sa prejavuje neuromuskulárnymi príznakmi ako sú svalové kŕče, zášklby, anorexia, triaška, nevoľnosť a zvracanie [24,40].

### Železo

V prostredí sa železo nachádza v rôznych anorganických soliach, najčastejšie vo forme oxidu a hydroxidu železitého. Hoci sa v strave nachádzajú železité aj železnaté soli, gastrointestinálnym traktom sú absorbované len soli železnaté. Aby bolo možné absorbovať železité soli, musia byť redukované, a to vďaka nízkemu pH v žalúdku. Dostupnosť železa z potravín závisí od zdroja [24]. Bohatými potravinami na obsah železa sú vnútornosti, mäso, vajcia, strukoviny, ďalej to je napríklad špenát či orechy. Pre porovnanie, obsah železa v hovädzom mäse je približne 22–30 mg/kg, zatiaľ čo u dospelého svrčka sa obsah môže pohybovať v rozmedzí 19–112 mg/kg [38,41,42].

Absorpciu železa zvyšuje napríklad kyselina citrónová, potraviny s vysokým obsahom bielkovín či fruktóza, naopak, negatívny vplyv vykazuje zinok alebo mangán. Medzi zlúčeniny s obsahom železa, ktoré sa považujú za nevyhnutné pre život patrí hemoglobín a molekuly podieľajúce sa na transporte (transferín) a zásobovaní (feritín) železa. Nedostatok železa nemusí byť zo začiatku u človeka pozorovaný, avšak v ďalšom stupni jeho nedostatku sa vyskytujú prejavy ako slabosť, bledosť a zmeny tvaru nechťov [24].

### Selén

V ľudskom tele sa významné množstvo selénu vyskytuje najmä v pečeni, slezine, svaloch, nechťoch, vlasoch a v zubnej sklovine. V kombinácii s vitamínom E funguje ako antioxidant a pomáha tak v boji proti voľným radikálom. Optimálne množstvo selénu sa nachádza v strave zahŕňajúcej celozrnné výrobky alebo morské plody, v menšom množstve je ho možné nájsť v širokej škále potravín ako sú krevety, hovädzie mäso či sezam [24,32]. Sladkovodné ryby (v oblasti ČR a SR) obsahujú množstvo selénu približne 0,05–0,38 mg/kg, fazuľa približne 0,09 mg/kg, pri čom svrček domový môže podľa štúdie *Finke M. D. a kol.* obsahovať až 0,19 mg/kg suchej hmotnosti [38,42].

S nízkymi koncentraciami selénu v krvnej plazme súvisí napríklad oslabenie svalstva u starších ľudí. Medzi charakteristické symptómy nedostatku selénu patrí pokles aktivity glutathionperoxidázy v rôznych typoch buniek, degeneratívne zmeny srdcového svalu, spomalenie rastu, tvorba šedého zákalu, degenerácia kostrového svalstva, znížená imunita, zmena farby kože a nechťov. Nadbytok selénu prijatého potravou je toxický, prebytok selénu sa prejavuje formou nevoľnosti, hnačiek a podráždenosťou. Jeho optimálne množstvo v organizme je zabezpečené močovým systémom [24,32].

### Zinok

Zinok slúži ako základný kofaktor pre viac ako 70 enzýmov, príkladom môže byť alkohol dehydrogenáza, RNA-polymeráza či DNA-polymeráza. Jeho úlohou je väzba na histidínové a cysteínové zvyšky enzýmových proteínov, čím stabilizuje ich aktívne miesta a tak môže dôjsť ku katalýze príslušnej reakcie [24]. Zinok tiež tvorí komplexy s peptidovým hormónom inzulínom. Medzi najvýznamnejšie potraviny obsahujúce zinok patrí bravčová pečeň (56–112 mg/kg), hovädzie mäso (30–43 mg/kg), syry (36–44 mg/kg) a sója

(29–67 mg/kg) [42]. Svrček domový môže byť porovnateľným zdrojom tohto prvku, jeho množstvo môže byť 67–186 mg/kg suchej hmotnosti [38,41].

Medzi príznaky nedostatočného príjmu zinku patrí porucha rastu, anémia, zväčšená pečeň a slezina, drsná koža a duševná letargia. Tieto príznaky boli pozorované najmä u ľudí, ktorí sa stravovali potravou ochudobnenou o živočíšne bielkoviny a zároveň obsahovali vysoký podiel produktov z obilnín. U dojčiat a malých detí môže neprimeraný príjem zinku spôsobiť abnormálny vývoj CNS. Jeho nedostatok vedie k zhoršenému príjmu vápnika a tak aj k poškodeniu vývoja kostry [24].

## **2.6 Riziká entomofágie**

Hlavný problém je rovnaký ako v prípade každej potraviny – nesprávne spracovanie a skladovanie. Ďalej môže byť konzumácia hmyzu nebezpečná:

- pre ľudí, ktorí majú určité zdravotné problémy a môže sa u nich spustiť nežiaduca reakcia po konzumácii hmyzu,
- nadmerná konzumácia jedlého hmyzu. Tá je nebezpečná hlavne pre malé deti, pri čom môže dochádzať k vývoju chronických degeneratívnych ochorení [12].

Keďže je hmyz bohatý na živiny, môže tak vytvoriť vhodné podmienky pre rast patogénnych mikroorganizmov. Pri spracovaní je potrebné vyhnúť sa nesprávnej manipulácii s potravinou a je potrebné zabezpečiť správne hygienické podmienky. Riziko kontaminácie môže byť odstránené správnym tepelným spracovaním a skladovaním [4].

Rovnako ako u poľnohospodárskych zvierat aj tu nastáva riziko zoonotických infekcií, ktoré sa vyskytujú u zvierat vo veľkochovoch. Hmyz však doteraz nebol dostatočne testovaný, aby sa s dostatočnou istotou určilo riziko prenosu chorôb na ľudí [3].

Ďalšie možné riziká sú spojené s konzumáciou nevhodného vývojového štádia hmyzu. Niektoré druhy hmyzu majú telo pokryté kutikulou z chitínu, ktorý je pre ľudské telo ťažko stráviteľný. Najviac ohrozená je skupina ľudí, ktorí sú alergickí na morské plody, u ktorých sa reakcia môže prejaviť aj po konzumácii jedlého hmyzu obsahujúceho chitín [4,11].

## **2.7 Analytické metódy využité pre stanovenie vybraných aktívnych látok**

V experimentálnej časti práce boli analyzované aktívne látky obsiahnuté v svrčej múke. Vybrané analytické metódy využité pre analýzu sú popísané v nasledujúcich kapitolách.

### **2.7.1 Plynová chromatografia**

Chromatografia je separačná analytická metóda, v ktorej sa od seba oddeľujú zložky obsiahnuté vo vzorke na základe rozdielnej afinity k mobilnej (pohyblivej) a stacionárnej (nepohyblivej) fáze [44].

Ako mobilná fáza sa v plynovej chromatografii používa plyn. Vzorka sa dávkuje do prúdu nosného plynu, ktorý nesmie reagovať s analyzovanou vzorkou a je ďalej unášaná kolónou. Nosný plyn býva inertný, najčastejšie je využívaný dusík, vodík, hélium alebo argón. Aby mohla byť vzorka transportovaná, je potrebné, aby bola premenená na plyn. To sa deje v dávkovači a odparenie vzorky musí prebehnúť v čo najkratšej dobe. V priebehu procesu sa na stacionárnej fáze zadržiavajú jednotlivé látky a kolónu opúšťajú podľa sily interakcie. Nosný plyn z kolóny preteká detektorom, ktorý po reakcii na prítomnosť analytu vysielá signál zaznamenávaný v závislosti na čase [44,45,46].

Plynovou chromatografiou môžu byť separované tepelne stále látky s relatívnou molekulovou hmotnosťou menšou ako 1 000 a s dostatočným tlakom sýtej pary. Môžu tak

byť separované plyny, mnohé organokovové látky, väčšina pevných organických molekúl či nedisociovatelných kvapalín. Separácia makromolekúl, organických a anorganických solí nie je možná [44,45,46].

Dôležitou vlastnosťou detektoru je citlivosť (nízky detekčný limit). Jeho odozva by mala byť lineárnu funkciou obsahu analytu. Jedným z najpoužívanejších detektorov je plameňový ionizačný detektor (*Flame Ionization Detector* – FID). V tomto prípade je dôležitá prítomnosť pomocných plynov. Ako palivo je využívaný H<sub>2</sub> a ako oxidovadlo vzduch. Pomocou plameňa umiestneného medzi dvomi elektródami je nosný plyn spaľovaný spolu s analytom a dochádza k tvorbe radikálov H<sup>•</sup>, OH<sup>•</sup> a O<sup>•</sup>. Organické radikály sú ďalej oxidované a medzi elektródami dochádza k prenosu určitého množstva náboja, čím sa vytvára signál. Výhodou FID je výborná stabilita signálu, malý efektívny objem a rýchla odozva [39,47,48]. Metódou GC-FID boli v experimentálnej časti kvantifikované mastné kyseliny.

### 2.7.2 Gélová elektroforéza

Medzi najúčinnšie a najpoužívanejšie metódy delenia makromolekúl patrí gélová elektroforéza. Je to relatívne jednoduchá, rýchla a citlivá metóda pre štúdium vlastností proteínov. V tomto prípade je separácia proteínov založená na migrácii nabitých molekúl cez nosič pôsobením elektrického pola, ktoré je sprostredkované dvomi elektródami ponorenými do elektródového pufu. Najčastejším nosičom je agaróza alebo polyakrylamidový gél. Použitie agarózy je vhodné v prípade separácie väčších makromolekúl ako sú nukleové kyseliny, zatiaľ čo polyakrylamidový gél je využívaný pre separáciu proteínov [49,50].

Gélová elektroforéza s použitím polyakrylamidového gélu môže byť použitá pre stanovenie veľkosti, čistoty, množstva a izoelektrického bodu polypeptidov a proteínov. Preto našla široké využitie v analytickej chémii, biochémií či molekulárnej biológii. Jednou z rôznych variant je technika diskontinuálnej gélovej elektroforézy s použitím SDS-polyakrylamidového gélu (SDS-PAGE). Ten je pripravený z akrylamidu a zosieťovacieho činidla *N,N*-metylén-*bis*-akrylamid (BIS). Polymerácia prebieha radikálovým mechanizmom a iniciačným činidlom je najčastejšie persíran amónny (APS). Ako katalyzátor sa používa *N,N'*-tetrametyléndiamín (TEMED). Inhibítorom reakcie je kyslík, ktorý je dobré odstrániť napríklad sonifikáciou [49,51].

V systéme SDS-PAGE sa využíva denaturácia proteínov formou krátkodobého zahriatia na 100 °C v roztoku SDS a thiolového reagentu a proteíny sú tak disociované vďaka rozrušeniu disulfidových väzieb. Väčšina polypeptidov sa viaže na SDS v konštantnom hmotnostnom pomere, čím sa vytvárajú polypeptidové komplexy s uniformným nábojom. To znamená, že redukované polypeptidy sa viažu na rovnaké množstvo SDS nezávisle od zloženia aminokyselín a sekvencie proteínu. Proteíny sú tak nabité negatívne s podobnou hustotou náboja a môžu tak byť oddelené len na základe veľkosti, kde veľké molekuly postupujú gélom pomalšie. Separácia proteínov je tiež ovplyvnená pórovitosťou polyakrylamidového gélu. V systéme SDS-PAGE je možné použiť dva typy gélov. Spodný rozdeľovací, ktorý je charakterizovaný malými pórmí. Na povrchu rozdeľovacieho gélu je polymerizovaná vrstva zaostrovacieho gélu, ktorého veľké póry slúžia ku zakoncentrovaniu relatívne veľkého objemu proteínov do úzkych pásov ešte pred vstupom do štiepiaceho gélu. Vďaka tomu je možné získať dobré získať frakcionáciu proteínových zložiek vo vysokom rozlíšení aj po nanosení relatívne veľkého objemu proteínových vzoriek. Táto metóda je najviac využívaná pre získanie odhadu veľkosti a čistoty proteínov, ich kvantifikácie, integrity či pre porovnanie veľkosti polypeptidových podjednotiek. V prípade, že sa vo vzorke



nachádzajú proteíny s veľkosťou menšou ako 12 kDa, je potrebné využiť alternatívne riešenie ako je napríklad kombinácia SDS s močovinou [49,50].

Pre stanovenie veľkosti proteínov je potrebné do systému zahrnúť proteíny so známou molekulovou hmotnosťou – markery. Veľkosť polypeptidových reťazcov vo vzorke je tak možné stanoviť porovnaním ich elektroforetickej pohyblivosti v SDS géli s mobilitou markerových proteínov [52].

### **2.7.3 Spektrofotometrické metódy**

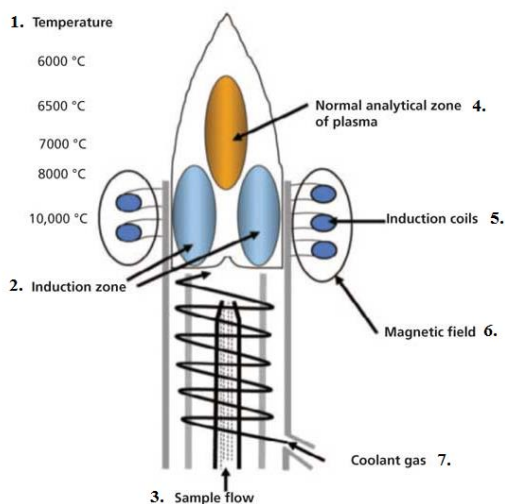
Spektrofotometrické metódy sú založené na výmene energie medzi látkou a žiarením. Spektrum je závislosť veličiny, ktorá je mierou intenzity žiarenia vysielaného alebo prechádzaného vzorkou, na vlnovej dĺžke žiarenia. Absorpčné metódy sledujú absorpciu žiarenia vzorkou a využívajú sa v nich rôzne oblasti spektra elektromagnetického žiarenia. Metódy sa tak rozdeľujú na základe použitého žiarenia a vlastnostiach vzorky [44].

#### **2.7.3.1 Spektrofotometria v UV-VIS oblasti**

Spektrofotometria v ultrafialovej a viditeľnej oblasti (UV-VIS spektrofotometria) využíva optické vlastnosti chemických látok. Počas analýzy sa sleduje absorpcia elektromagnetického žiarenia v rozsahu vlnových dĺžok 200 až 800 nm. Identifikácia danej látky je založená na porovnaní spektra so štandardom. Pre kvantifikáciu sa uplatňuje platnosť Lambert-Beerovho zákona, podľa ktorého je absorbancia závislá na koncentrácii vzorky, hrúbke kvety a molárnom absorpčnom koeficiente. Zdrojom žiarenia býva wolframová lamp a deutériová alebo vodíková výbojka. Lúč prechádza cez monochromátor ku kvete so vzorkou, prípadne s referenčnou vzorkou. Za kvetou je umiestnený detektor, ktorým býva najčastejšie fotodióda alebo fotoelektrický násobič a signál je následne spracovaný vyhodnocovacím systémom [53,54].

#### **2.7.3.2 ICP-OES**

Optická emisná spektrometria s indukčne viazanou plazmou (ICP-OES) poskytuje vynikajúci rozsah pre elementárnu kvalitatívnu, semikvantitatívnu a kvantitatívnu analýzu. To je spôsobené veľmi vysokými teplotami (až 10 000 K) plazmy použitej na atomizáciu analytu prítomného vo vzorke. Indukčne viazaná plazma je čiastočne ionizovaný plyn, ktorý je tvorený pracovným plynom vo vysokofrekvenčnom elektromagnetickom poli, vyvolávanom indukčnou cievkou (*Obr. 5*). Nosný plyn s nízkou prietokovou rýchlosťou môže ľahko preniknúť do ICP a dochádza tak k odpareniu a atomizácii a excitácii vzorky. Excitované atómy emitujú elektromagnetické žiarenie vo vlnových dĺžkach charakteristických pre daný prvok. Intenzita emisie indukuje koncentráciu prvku vo vzorke, detegovanú fotonásobičom alebo polovodičovým detektorom. ICP-OES má schopnosť viacúrovňovej analýzy, široký lineárny rozsah, nízky limit detekcie, dobrú stabilitu a reprodukovateľnosť [55,56].



Obr. 5: Schéma plazmovej hlavice (1.teplotné zóny plazmy, 2. indukčná zóna, 3. prúd vzorky, 4. analytická zóna plazmy, 5. indukčné cievky, 6. magnetické pole, 7. chladiaci plyn) [57].

## 2.8 Aktuálne poznatky a potenciálne využitie

Vo všeobecnosti sú najčastejšie konzumovanými druhmi chrobáky, húsenice a mravce. Za nimi nasledujú kobyľky, koníky, svrčky termity a mnoho ďalších. Najväčšia spotreba hmyzu je v Afrike a v Ázii, vo väčšine európskych krajín je zatiaľ stále veľmi nízka [9].

V rôznych štúdiách bolo potvrdené, že väčšina druhov hmyzu je bohatá na proteíny, mastné kyseliny, vitamíny, vlákninu a minerálne látky. Jedlý hmyz tak predstavuje dobrý alternatívny zdroj kvalitných bielkovín a živín nie len pre rozvinuté krajiny, ale aj pre obyvateľov rozvojových krajín. Prevedené chemické analýzy v rôznych štúdiách demonštrujú variabilitu živín na základe druhu, stravy, typu a vývojového štádia jedlého hmyzu [1]. Bolo potvrdené, že niektoré druhy hmyzu, ako sú termity, kobyľky alebo húsenice sú lepším zdrojom bielkovín v porovnaní s hovädzím, bravčovým, kuracím či jahňacím mäsom. Vo všeobecnosti je najmä rad *Rovnokridlovcov (Orthoptera)*, do ktorého patria svrčky či koníky, cenný alternatívny zdroj proteínov s obsahom až 77 %. Kvalitu proteínov udáva zloženie aminokyselín. Analýza takmer 100 druhov jedlého hmyzu preukázala, že obsah EAA predstavuje 46–96 % celkového množstva aminokyselín. Vysoké hodnoty boli zistené v prípade izoleucínu, luecínu, tyrozínu a glycínu vo všetkých druhoch hmyzu [1]. Väčšina druhov jedlého hmyzu podľa WHO poskytuje uspokojivé množstvo EAA potrebné pre ľudskú výživu. Priemerné aminokyselinové zloženie jedlého hmyzu spĺňa denné požiadavky na aminokyseliny u dospelých ľudí (v g/100 g proteínu) [1,58].

Jedlý hmyz je vynikajúci zdroj minerálov, vlákniny a vitamínov. *Rumpold a Schlüter* zostavili výživové zloženie 236 druhov jedlého hmyzu. Na základe údajov bolo zistené, že mnohé druhy boli bohaté na mikroživiny ako je meď, železo, horčík, mangán, fosfor, selén a zinok, ďalej tiež riboflavín, kyselina pantoténová, biotín a v niektorých prípadoch aj kyselina listová. V mnohých prípadoch sa vyskytol vyšší obsah železa než v hovädzom mäse [58].

Z výživového hľadiska je v jedlom hmyze významný obsah mastných kyselín. V rôznych štúdiách bolo identifikovaných 20 mastných kyselín prítomných v rôznych pomeroch v takmer každom druhu jedlého hmyzu. Hlavnými MK boli kyselina  $\alpha$ -linolénová, olejová, a linolová. Kyselina linolová a  $\alpha$ -linolénová sú esenciálne MK, ktoré sú nevyhnuté pre ľudské telo a sú spájané s rôznymi prospešnými účinkami pre ľudské zdravie [59].

Z uvedených znalostí hmyzu vyplýva, že jedlý hmyz môže byť skutočne potenciálnym zdrojom nutrične významných látok v oblasti ľudskej výživy. Hmyz by mohol byť nie len nutričným ale aj funkčným prínosom do mnohých potravín. Ako potenciálne texturizačné činidlo sa do pekárenských produktov zatiaľ prejavil prášok z lariev [60].

Jedlý hmyz doteraz našiel potravinárske využitie len v niektorých európskych krajinách. Aplikovaný bol do rôznych druhov potravín ako sú prášky obohatené o doplnkové bielkoviny, proteínové kaše či „mäsové náhrady.“ S prídavkom jedlého hmyzu sa tiež predávajú proteínové nápoje a tyčinky pre športovcov hmyzu. Záujem o produkciu potravín majú aj potravinárske firmy v USA. Rôzne druhy jedlého hmyzu sú zapracovávané napríklad do rôznych cukroviniek, pečených výrobkov, hamburgerov, koláčov či sušienok. Využívajú sa aj ako zložky alternatívnych náhrad mletého mäsa [61]. Vzhľadom k neustále stúpajúcej populácii sa v posledných piatich desaťročiach dramaticky zvýšila produkcia a spotreba rýb. Práve dopyt po tomto odvetví bude vyžadovať inovatívne riešenie. Tu nastáva príležitosť využiť hmyz a uspokojiť tak dopyt po mäsových výrobkoch, nahradiť tak vo veľkom napríklad rybiu múčku či rybí olej [3].

Ďalej by mohla svrčia múka nahradiť bežne používanú pšeničnú múku, čím by sa stala bezpečným výživovým doplnkom pre ľudí trpiacich alergiou na pšenicu alebo neznášanlivosťou na glutén. Vo forme prášku či extraktu sa môže využiť ako výživový doplnok do potravín či krmív. Kvôli neustále sa vyskytujúcej podvýžive vo svete FAO navrhla možné využitie hmyzej múky v potravinárskych zmesiach na liečbu podvýživy, ktoré už obsahujú zložky ako sójový proteín, sušené mlieko, či kukuričnú zmes [4].

Organizácia WHO označila nedostatok železa za jednu z najbežnejších a najrozšírenejších porúch výživy na svete. Keďže je jedlý hmyz bohatým zdrojom železa, jeho začlenenie do dennej stravy by mohlo pomôcť predchádzať anémii v rozvojových krajinách [3].

### **3 CIELE PRÁCE**

Cieľom teoretickej časti práce bolo vypracovanie literárnej rešerše zhrňujúcej aktuálne informácie o jedlom hmyze a jeho využití v potravinárstve a ďalšie možnosti využitia svrčej múky v potravinárskom priemysle.

Cieľom experimentálnej časti bola analýza vybraných aktívnych zložiek obsiahnutých v múke zo svrčka domového (*Acheta domestica*), ktorý patrí medzi zástupcov hmyzu legalizovaných od 1.1. 2018 na trhu EÚ.

## 4 EXPERIMENTÁLNA ČASŤ

### 4.1 Chemikálie, prístroje a materiál

#### 4.1.1 Chemikálie použité pre jednotlivé analýzy

- 2-merkaptoetanol, Sigma-Aldrich (Nemecko)
- Akrylamid, SERVA (Nemecko)
- Brilantná modrá G 250 – Coomassie Blue, SERVA (Nemecko)
- Brómfenolová modrá, SERVA (Nemecko)
- Butanol, Lach-Ner (ČR)
- Dimetylsufoxid (DMSO), Lach-Ner (ČR)
- Dodecylsulfát sodný (SDS), Sigma-Aldrich (Nemecko)
- Dusičnan strieborný, Sigma-Aldrich (Nemecko)
- Etanol pre UV VIS, Lach-Ner (ČR)
- Fenol, p.a., Lach-Ner (ČR)
- Formaldehyd, Lach-Ner (ČR)
- Glukóza anhydrid, p.a., Lach-Ner (ČR)
- Glycerol, Sigma-Aldrich (Nemecko)
- Glycín, SERVA (Nemecko)
- Hexakynožeľeznatán draselný trihydrát, Lach-Ner (ČR)
- Hexan, Lach-Ner (ČR)
- Hydroxid sodný, p.a., Lach-Ner (ČR)
- Hydroxid sodný, p.a., Lach-Ner (ČR)
- Chloroform p.a., Sigma – VWR Chemicals (FR)
- Izopropylalkohol, Lach-Ner (ČR)
- Kremičitan sodný, Lach-Ner (ČR)
- Kyselina dusičná, Lach-Ner (ČR)
- Kyselina heptadekánová, Sigma-Aldrich (Nemecko)
- Kyselina chlorovodíková (35 %), Lach-Ner (ČR)
- Kyselina octová, Lachema (ČR)
- Kyselina sírová (96 %), Lach-Ner (ČR)
- Kyselina šťavelová, Lach-Ner (ČR)
- Kyselina trichlóroctová, Lach-Ner (ČR)
- Metanol pre HPLC (96 %), VWR Chemicals BDH PROLABO (USA)
- Metanol, p.a., Lach-Ner (ČR)
- Molybdénan sodný, Lach-Ner (ČR)
- *N, N'*-metylén-bis-akrylamid, SERVA (Nemecko)
- *N*-acetyl-*D*-glukosamin, Sigma-Aldrich (Nemecko)
- Ninhydrín, Sigma – VWR Chemicals (FR)
- Peroxodisíran amónny, SERVA (Nemecko)
- Síran meďnatý pentahydrát p.a., Lach-Ner (ČR)
- Síran ortuťnatý, Lach-Ner (ČR)
- Síran sodný, Lach-Ner (ČR)
- Síran zinočnatý heptahydrát, p.a., Lach-Ner (ČR)
- TEMED – *N,N,N',N'*-tetramethylethylendiamin, SERVA (Nemecko)
- TRIS – tris(hydroxymethyl)aminomethan, Sigma-Aldrich (Nemecko)
- Uhličitan sodný, p.a., Lach-Ner (ČR)

- Viacprvkový vodný certifikovaný referenčný materiál ASTASOL MIX AN9090MN (ANALYTIKA spol. s.r.o., ČR)
- Viacprvkový vodný certifikovaný referenčný materiál ASTASOL MIX CZ9097MN1 (ANALYTIKA spol. s.r.o., ČR)

#### 4.1.2 Prístroje a pomôcky

- Spektrofotometer VIS, Helios  $\delta$ , Unicam (GB)
- Trepáčka IKA Yellow Line (SRN)
- Centrifúga Sigma Laborzentrifugen (SRN)
- Analytické váhy Boeco (SRN)
- Vákuová odparka RV 06, IKA (SRN)
- Vortex-Genie 2, Scientific Industries (USA)
- Ultrazvukový kúpeľ PS 02000 (ČR)
- Termoblok, SBH200D, Stuart (UK)
- Aparatúra pre elektroforézu Mini-PROTEAN 3 od firmy BIO-RAD
- Sklenené guľôčky, Roth (DE)
- Elektroforetická aparatúra, Mini-PROTEAN, BioRad (USA)
- Elektroforetický zdroj SH 300, Shelton Scientific (USA)
- Prístroj ICP-OES Ultima 2, HORIBA Scientific (*Tab. 15*)
- Plynový chromatograf TRACETM 1300 GC (ThermoQuest S.p.A, Taliansko)
- Mini-PROTEAN aparatúra BIO-RAD

#### 4.1.3 Materiál

V experimentálnej časti práce boli použité dva typy produktov s obsahom svrčej múky.

##### 4.1.3.1 Materiál použitý pre analýzu

Vybrané nutrične významné látky boli stanovované v múke zo svrčka domového (100 % *Acheta domestica*) od firmy SENS (*Obr. 6*). Zloženie vzorky uvádzané výrobcom je uvedené v *Tab. 5*.



*Obr. 6: Vzorka použitá pre analýzu nutrične významných látok*




Tab. 5: Nutričné zloženie uvádzané výrobcom

Testovaný prvok	Výsledok testu	Jednotky
Popol	6,52	g/100 g
Kalórie	440,16	kcal/100 g
Kalórie z tuku	159,84	kcal/100 g
Uhl'ohydráty	4,18	g/100 g
Cholesterol	545,67	mg/100 g
Vláknina	5,57	g/100 g
Tuky	17,76	g/100 g
Vlhkosť	5,64	g/100 g
Proteíny (% Nx 6,25)	65,92	g/100 g
Cukry	nedetegované	g/100 g
Vitamín B12	23,10	μg/100 g
Vápnik (Ca)	433,40	mg/100 g
Železo (Fe)	168,60	mg/100 g
Sodík (Na)	17,00	mg/100 g







#### 4.1.3.2 Materiál použitý pre senzoricú analýzu

Pre senzoricú analýzu boli použité rôzne druhy proteínových tyčíniek. Značka, hmotnosť a typ obsiahnutého proteínu v tyčinkách je uvedený v Tab. 6.

Tab. 6: Vzorky použité pre senzoricú analýzu

Označenie	Popis vzorky	Vzorka
A01	SENS (60 g) Proteín: svrčia múka ( <i>Acheta domesticus</i> , 20 %), Príchut': Arašidové maslo a škorica	
A02	RAW (50 g) Proteín: ryžový (15 %) Príchut': Arašidové maslo	
A03	ONE (60 g) Proteín: srvátkový a mliečny proteínový izolát Príchut': Arašidové maslo	

Tab. 6 pokračovanie: Vzorky použité pre senzorickú analýzu

Označenie	Popis vzorky	Vzorka
B01	NUTREND (85 g) Proteín: srvátkový Príchut': Ananás a kokos	
B02	NUTREND (55 g) Proteín: srvátkový Príchut': Kokos	
B03	SENS (50 g) Proteín: svrčia múka ( <i>Acheta domestica</i> , 10 %) Príchut': Ananás a kokos	
C01	MAXSPORT (60 g) Proteín: srvátkový a sójový (28,5 %) Príchut': Čokoláda	
C02	SENS (50 g) Proteín: svrčia múka ( <i>Acheta domestica</i> , 10 %) Príchut': Tmavá čokoláda a višňa	
C03	Garden of life (75 g) Proteín: Hrachový Príchut': Čokoláda	

#### 4.2 Stanovenie celkových sacharidov podľa Duboise

Pre stanovenie sacharidov sa často využívajú spektrálne metódy s využitím viditeľnej oblasti svetla. Metóda podľa Duboise je fyzikálno-chemická metóda založená na rozklade cukrov kyselinou sírovou, s následnou kondenzáciou furfuralu s fenolom. Výsledkom je zafarbený reakčný roztok s absorpciou v oblasti UV-VIS. Absorbanciu roztokov je možné zmerať pri vlnovej dĺžke  $\lambda = 490 \text{ nm}$  [51,62].

Do plastovej skúmavky s vrchnákom bol navážený 1 g vzorky (s presnosťou na 4 desatinné miesta) a bolo k nemu pridaných 10 ml destilovanej vody a 28,4  $\mu\text{l}$  35 % HCl. Vzorka bola ponechaná 1,5 hodiny na trepačke. Následne bola vzorka zriedená 100x a bolo do nej pridaných 0,5 ml Carrezovho roztoku I a 0,5 ml Carrezovho roztoku II. Roztok bol na 5 min. scentrifugovaný pri 5 000 ot/min. Z vyčíreného roztoku bol do skúmavky odobratý 1 ml,



k nemu pridaný 1 ml 5 % fenolu a 5 ml konc.  $H_2SO_4$  a zmes bola premiešaná. Po 30 minútach bola zmeraná absorbanca pri 490 nm proti blanku, v ktorom bol miesto vzorky 1 ml destilovanej vody. Meranie bolo prevedené 3x.

Rovnaký postup bol prevedený pre ďalšie 3 navážky vzorky, kde sa miesto vody využil ako rozpúšťadlo 80 % etanol s tým rozdielom, že vzorka bola riedená 10x.

V druhom prípade bol prevedený obdobný postup v etanolovom aj vodnom prostredí s tým rozdielom, že vzorka bola ponechaná na trepačke 3,5 hod. a bez prídavku 35 % HCl.

Pre prípravu kalibračnej rady bol miesto vzorky použitý roztok glukózy s koncentráciou 100  $\mu$ l/ml. Z tohto roztoku bolo následne pipetovaných 0,25; 0,5; 0,75 a 1 ml do skúmavky a bol prevedený rovnaký postup.

### 4.3 Extrakcia lipidov podľa Folcha

Metóda sa využíva na extrakciu lipidov z rôznych druhov materiálov. Bola navrhnutá Folchom v roku 1957. V pôvodnej metóde bola využívaná dvojitá extrakcia v zmesi hloroformu a metanolu v pomere 2: 1. Pre vymytie nelipidických zložiek bol využívaný soľný roztok a bol navrhnutý z dôvodu vzniku emulzie, ktorá znevýhodňovala postup tejto metódy. V súčasnosti sa využívajú rôzne modifikácie extrakcie podľa Folcha, líšia sa pomerom a množstvom používaných rozpúšťadiel [63,64].

Do centrifugačnej skúmavky bolo napipetovaných 10 ml Folchovho roztoku (chloroform: metanol= 2: 1), pridaný 1 g vzorky a lyžička sklenených guľôčok. Skúmavka bola ponechaná intenzívnemu miešaniu na vortexe 30 minút. Následne bola do čistej skúmavky odobratá kvapalná fáza, zmes bola premytá 2 ml Folchovho roztoku a opäť bola odobratá kvapalná fáza. Do odobratej kvapalnej fázy boli pridané 2 ml destilovanej vody a skúmavka s roztokom bola scentrifugovaná (5000 ot/min, 2 min.). Po oddelení fáz bola do suchej, vopred zväženej odparovacej banky odobratá spodná chloroformová fáza, ktorá obsahovala extrakt. Banka bola ponechaná na vákuovej odparke, až kým v banke zostala len lipidová fáza. Banka s lipidovou fázou bola po vychladnutí zväžená. Meranie bolo prevedené 3x.

### 4.4 Kvantifikácia lipidov pomocou GC

Pre stanovenie lipidov vo vzorke bol využívaný prístroj GC-FID. Meranie bolo prevedené po úprave vzorky, ktoré je popísané v nasledujúcej kapitole.

#### 4.4.1 Príprava vzorky

Do krimpovacej vialky bolo navážených 10 mg vzorky, ku ktorej bolo pridaných 1,8 ml transesterifikačnej zmesi, ktorej zloženie je uvedené v *Tab. 7*. Vialka bola následne zakrimpovaná a inkubovaná v termobloku pri teplote 85 °C po dobu 2 hodín. Po ukončení transesterifikácie a vychladnutí bol celý obsah vialky preliaty do 4 ml vialiek, ktoré obsahovali 0,5 ml 0,5 M roztoku NaOH. Do vialky bol následne napipetovaný 1 ml hexanu, zmes bola uzavretá a intenzívne pretrepaná na multipozičnom vortexe. Po oddelení fáz, bol z hornej hexanovej fázy odobratý 0,1 ml, ktorý bol prevedený do čistej GC vialky s 0,9 ml čistého hexanu.

*Tab. 7: Zloženie transesterifikačnej zmesi*

- 
- 15 % (v/v)  $H_2SO_4$  v metanole (HPLC grade)
  - 0,5 mg/ml C17 (interný štandard)
-

#### 4.4.2 Podmienky pre stanovenie

- Plynový chromatograf TRACE™ 1300 GC (ThermoQuest S.p.A, Taliansko)
- Autosampler AI 1310
- Kolóna Zebron ZB-FAME (30 m x 0,25 mm x 0,20 µm), kód kolóny: 7HG-G033-10)
- Detektor FID – plameňovo-ionizačný
  - Teplota detektoru: 260 °C
  - Prietok vzduchu: 350 ml/min
  - Prietok vodíku: 35 ml/min
  - Make-up dusíku: 30 ml/min
- Vstup
  - Teplota injektoru: 250 °C
  - Konštantný prietok: 1 ml/min
  - Deliacci pomer: 10

#### 4.5 Stanovenie celkového dusíku podľa Kjeldahla

Metóda podľa Kjeldahla umožňuje presné stanovenie celkového dusíku. Vzorka musí byť pred samotným meraním mineralizovaná v koncentrovanej H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, kedy sa dusík zo vzorky prevádza na amoniak, ktorý po naviazaní zostáva v podobe síranu amónneho. Amoniak je vytesnený bázou a predestilovaný vodnou parou do kyseliny. Pomocou NaOH je následne dotitovaný prebytok nezreagovanej H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Pre stanovenie hrubej bielkoviny bol stanovený faktor 6,25. Vzhľadom k tomu, že dusík sa v potravinách vyskytuje v rôznych množstvách, boli stanovené aj ďalšie faktory pre vybrané potraviny [65,66].

Pre stanovenie boli pripravené roztoky NaOH (33 %), NaOH (c= 0,01 M), H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (c= 0,05 M) a kyselina šťaveľová (c= 0,05 M). Po príprave roztokov nasledovala štandardizácia NaOH (c= 0,01 M) a H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (c= 0,05 M).

Mineralizácia bola prevedená viacerými spôsobmi. 6 vzoriek bolo mineralizovaných v mineralizačnej jednotke KT-8s podľa programov popísaných v *Tab. 8* a *Tab. 9*. Každý program bol prevedený pre 3 navážky vzorky. 1 g vzorky (s presnosťou na 4 desatinné miesta) bol spolu s 2 g Weinigerovho katalyzátoru kvantitatívne prevedený do mineralizačnej trubice. Ku vzorke bolo pridaných 10 ml konc. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, trubica bola vložená do mineralizačnej jednotky a bol spustený príslušný program.

Tab. 8. Program mineralizácie č. 1

Číslo kroku	Proces a teplota	Čas [h]
1	Zahrievanie na 400 °C	1,0
2	Mineralizácia pri 400 °C	1,5
3	Chladenie v mineralizátore	0,5
4	Chladenie na laboratórnu teplotu	0,5

Tab. 9: Program mineralizácie č. 2

Číslo kroku	Proces a teplota	Čas [h]
1	Zahrievanie na 250 °C	0,5
2	Zahrievanie na 330 °C	0,5
3	Mineralizácia pri 400 °C	1,5
4	Chladienie na laboratórnu teplotu	0,5

Ďalší spôsob mineralizácie bol prevedený tak, že do mineralizačnej trubice bol kvantitatívne prevedený 1 g vzorky (s presnosťou na 4 desatinné miesta), k nemu pridané 2 g Weinigerovho katalyzátoru a 10 ml konc.  $H_2SO_4$ . Trubica bola vložená do mineralizačného bloku a ponechaná 24 hod. pri 400 °C.

Tab. 10: Program destilácie

<b>V (NaOH)</b>	80 ml
<b>Výkon vodnej pary</b>	100 %
<b>Čas</b>	4,5 min.



Obr. 7: Destilačný prístroj VAPODEST 200

Po ukončení programu uvedeného v Tab. 8 nebola vzorka následne destilovaná z dôvodu úplného odparenia  $H_2SO_4$  a nedošlo tak k tvorbe zrazeniny. Vo zvyšných prípadoch bol mineralizát kvantitatívne prevedený do 100 ml odmernej banky a objem bol doplnený po značku. Z odmernej banky bolo odpipetovaných 10 ml nariedenej vzorky do destilačnej trubice, boli pridané 3 kvapky fenolftaleínu a trubica bola vložená do destilačného prístroja, ktorý je uvedený na Obr. 7. Po spustení programu popísaného v Tab. 9 bolo do vzorky pridaných 80 ml 33 % NaOH. Uvoľnený amoniak bol predestilovaný do predlohy s 25 ml 0,05 M  $H_2SO_4$ . Po ukončení destilácie boli k destilátu pridané 3 kvapky Tashirovho indikátoru a roztok bol titrovaný štandardizovaným roztokom NaOH ( $c = 0,01$  M). Obsah dusíku a hrubej bielkoviny bol vypočítaný podľa nasledujúceho vzťahu. Pre výpočet hrubej bielkoviny bol použitý všeobecný faktor 6,25.

$$w_N = \frac{2 \cdot \left( c_{H_2SO_4} \cdot V_{H_2SO_4} - \frac{c_{NaOH} \cdot V_{NaOH}}{2} \right) \cdot 14,01}{m_{navážka}} \cdot 100\% \quad (1)$$

## 4.6 Optimalizácia vertikálnej elektroforézy SDS-PAGE

Pre optimalizáciu metódy vertikálnej elektroforézy SDS-PAGE bolo potrebná správna príprava vzorky, gélu a samotné nastavenie podmienok pre beh.

### 4.6.1 Príprava vzoriek

Do uzatvárateľnej skúmavky bolo navážených 10–11 mg vzorky s 1 ml príslušného roztoku. Zloženie jednotlivých vzoriek je uvedené v *Tab. 11*. Po uzavretí skúmavky bola spolu so suspenziou vložená do termobloku vyhriatom na 110 °C. Boli zvolené rôzne časy pre čiastočnú hydrolýzu. Po ukončení hydrolýzy boli roztoky neutralizované a 5 min. centrifugované pri 5 000 ot/min.

Do Eppendorfovej skúmavky bola napipetovaná vzorka so vzorkovacím pufrom v pomere 1: 1 a skúmavky s premiešaným roztokom boli vložené na 5 min. do vriacej vody.

Pre analýzu bol použitý štandard PageRuler™ proteínový rebríček s veľkosťou proteínových fragmentov 10–180 kDa. Štandard bol v Eppendorfovej skúmavke zriedený so vzorkovacím pufrom v pomere 1: 1 a po premiešaní bol roztok vložený na 5 min. do vriacej vody.

*Tab. 11: 1. skupina vzoriek pripravená pre prevedenie metódy*

Č. vzorky	m [mg]	Roztok (V = 1 ml)	Čas hydrolýzy [hod.]
1.	10,5	6,0 M HCl	4,0
2.	10,4		
3.	11,4	4,2 M NaOH	4,0
4.	11,7		
5.	10,6	6,0 M HCl	8,0
6.	11,5		
7.	10,8	4,2 M NaOH	8,0
8.	11,4		
9.	10,4	mQ voda	-
10.	11,6		

Rovnakým postupom bola pripravená ďalšia skupina vzoriek s tým rozdielom, že pre naštiepenie proteínov boli zvolené kratšie časy. Po vytiahnutí vzoriek z termobloku bolo skontrolované ich pH, ktoré muselo byť v niektorých prípadoch upravené. K prevedeniu elektroforézy boli tiež použité vzorky, ktorých pH upravené nebolo.

Ďalej boli pripravené roztoky 10 mg vzorky s 1 ml mQ vody, ktoré boli následne riedené 10 a 100x a scentrifugované (5 000 ot/min.). Zloženie roztokov je uvedené v *Tab. 12*.

Tab. 12:2. skupina vzoriek pripravených pre prevedenie metódy

Č. vzorky	m [mg]	Roztok (V= 1 ml)	Čas hydrolýzy [min.]
1.	10,3	6,0 M HCl	10
2.	10,8	4,2 M NaOH	
3.	11,7	6,0 M HCl	20
4.	10,6	4,2 M NaOH	
5.	10,6	6,0 M HCl	pH = 7
6.	10,7	4,2 M NaOH	30
7.	11,1	6,0 M HCl	60
8.	10,7	4,2 M NaOH	
9.	10,8	4,2 M NaOH	pH > 7
10.	11,7	6,0 M HCl	pH < 7
11.	10,6	6,0 M HCl	pH < 7
12.	10,7	4,2 M NaOH	pH > 7
13.	10,5	mQ voda (10x zriedeň.)	
14.	10,5	mQ voda (100x zriedeň.)	
15.	10,9	mQ voda (10x zriedeň.)	
16.	10,9	mQ voda (100x zriedeň.)	pH = 7
17.	10,5	mQ voda	–
18.	10,9	mQ voda	

#### 4.6.2 Príprava roztokov

Pre prevedenie metódy boli pripravené roztoky, ktorých zloženie je uvedené v Tab. 13.

Tab. 13: Zloženie roztokov pre prevedenie elektroforézy SDS-PAGE

Akrylamid:BIS (29:1)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 38,66 g akrylamidu</li> <li>• 1,33 g BIS</li> <li>• objem doplnený mQ vodou do 100 ml</li> </ul>
1,5 M TRIS-HCl (pH = 8,8)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 18,15 g TRIS</li> <li>• objem doplnený mQ vodou do 100 ml</li> <li>• úprava pH pomocou 6 M HCl</li> </ul>
0,5 M TRIS-HCl (pH = 6,8)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 6 g TRIS</li> <li>• objem doplnený na 100 ml</li> <li>• úprava pH pomocou 6 M HCl</li> </ul>
Vzorkovací pufor	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 5 ml glycerolu</li> <li>• 1 g SDS</li> <li>• 2,56 ml β-merkaptóetanolu</li> <li>• 2,13 ml 0,5 M TRIS-HCl (pH = 6,8)</li> <li>• 1 mg bromfenol blue</li> <li>• objem doplnený mQ vodou do 10 ml</li> </ul>

Tab. 13 pokračovanie: Zloženie roztokov pre prevedenie elektroforézy SDS-PAGE

---

Elektródový pufor (pH = 8,3)	<ul style="list-style-type: none"><li>• 30,30 g TRIS</li><li>• 144.00 g glycínu</li><li>• 10 g SDS</li><li>• objem doplnený mQ vodou do 1 l</li></ul>
10 % SDS	<ul style="list-style-type: none"><li>• 1 g SDS</li><li>• objem doplnený mQ vodou do 10 ml</li></ul>
APS	<ul style="list-style-type: none"><li>• 100 mg peroxidisíranu amónneho</li><li>• 1 ml mQ vody</li></ul>

---

#### 4.6.3 Príprava gélu

Pre prípravu 2 gélov s hustotou 12 % bolo po stene kadičky pipetovaných 8,5 ml mQ vody, 10 ml roztoku AA/BIS, 6,25 ml 1,5 M TRIS-HCl a 0,25 ml 10 % SDS. Obsah bol opatrne premiešaný a 5 minút sonifikovaný. Následne bolo do roztoku pridaných 125  $\mu$ l 10 % APS a 12,5  $\mu$ l TEMEDu. Takto pripravený roztok bol pipetovaný do formy na gél, do gélu bol vložený rebríček a gél bol na 30 min. ponechaný na stuhnutie. Po stuhnutí boli oba gély premyté destilovanou vodou a vložené do BIO-RAD aparátúry.

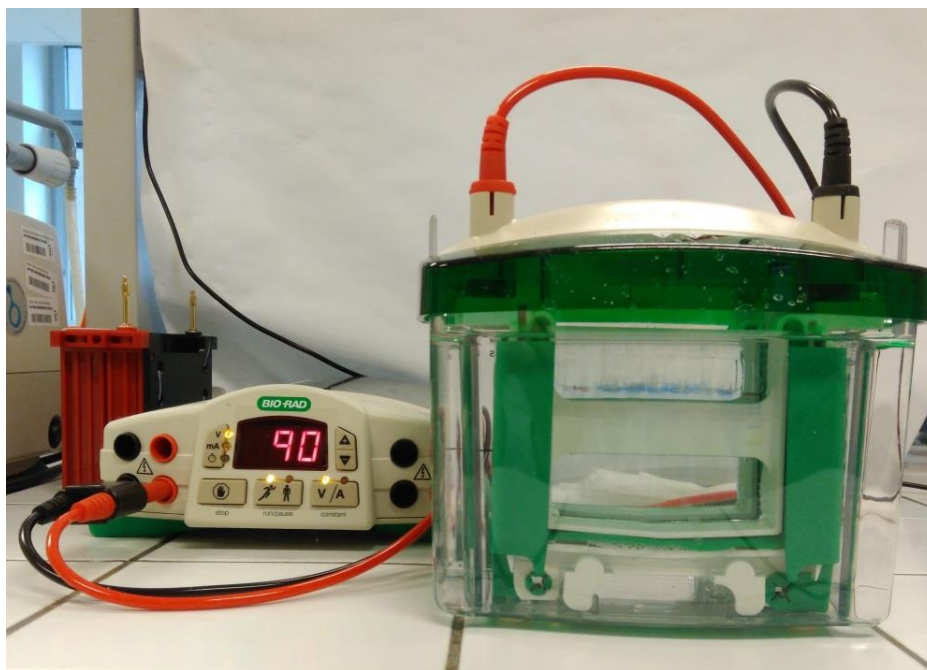
Pre prípravu 2 gélov s hustotou 8 % bol prevedený rovnaký postup s tým rozdielom, že do kadičky bolo pipetovaných 11,75 ml mQ vody, 6,75 ml roztoku AA/BIS, 6,25 ml 1,5 M TRIS-HCl a 0,25 ml 10 % SDS, množstvo 10 % APS a TEMEDu bolo rovnaké.

V prípade merania s použitím rozdeľovacieho aj zaostrovacieho gélu bol postup obdobný s tým rozdielom, že rozdeľovací gél bol do formy pre prípravu gélu nanosený približne do  $\frac{3}{4}$  výšky aparátúry, na jeho povrch bola opatrne nanosená vrstva destilovanej vody. Tá zabezpečila, že gél mal po zatuhnutí rovný povrch. Po stuhnutí gélu bola voda odsatá filtračným papierom a forma bola doplnená zaostrovacím gélom, do ktorého bol vložený hrebienok a gél bol ponechaný na stuhnutie približne 30 min. Zaostrovací gél bol pripravený z 2,35 ml mQ vody, 1,35 ml AA/BIS, 1,25 ml 0,5 M TRIS-HCl, 0,05 ml 10 % SDS. Po sonifikácii bolo pridaných 25  $\mu$ l 10 % APS a 5  $\mu$ l TEMEDu.

#### 4.6.4 Prevedenie elektroforézy

Do priestoru medzi géľmi bol naliaty 10x zriedený elektródový pufor, tak, že boli zaliate aj komôrky. Do komôrok bolo napipetovaných 5  $\mu$ l štandardu a 30  $\mu$ l roztoku vzorky a puforu. Následne bola vanička aparátúry doplnená 10x zriedeným pufrom po značku.

Vertikálna elektroforéza prebiehala 2 hodiny pri 90 V a 120 mA za použitia 12 % aj 8 % gélu. Obe koncentrácie gélu boli využité aj pri analýze spustenej na 2,5 hod. pri 70 V a 120 mA. Priebeh analýzy spolu s BIO-RAD aparátúrou je zobrazený na Obr. 8.



Obr. 8: Aparatúra BIO-RAD použitá pre prevedenie analýzy

#### 4.6.5 Farbenie striebrom

Po ukončení elektroforézy boli oba gély vytiahnuté z aparatúry a vo vaničkách premývané roztokmi, ktorých zloženie je uvedené v *Tab. 14*.

*Tab. 14: Zloženie roztokov pre farbenie striebrom*

Fixačný roztok	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 120 ml ľadovej kys. octovej (c = 99,8 %)</li> <li>• 500 ml 96 % etanolu</li> <li>• 500 µl 35 % formaldehydu</li> <li>• objem doplnený mQ vodou do 1 l</li> </ul>
Premývací roztok	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 364 ml 96 % etanolu</li> <li>• objem doplnený mQ vodou do 1 l</li> </ul>
Roztok zvyšujúci citlivosť gélu	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 0,2 g <math>\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3</math></li> <li>• objem doplnený mQ vodou do 1 l</li> </ul>
Farbiaci roztok	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 2 g <math>\text{AgNO}_3</math></li> <li>• 760 µl formaldehydu</li> <li>• objem doplnený mQ vodou do 1 l</li> </ul>
Vyvíjací roztok	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 60 g <math>\text{Na}_2\text{CO}_3</math></li> <li>• 500 µl formaldehydu</li> <li>• 4 mg <math>\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3</math></li> <li>• objem doplnený mQ vodou do 1 l</li> </ul>

Tab. 14 pokračovanie: Zloženie roztokov pre farbenie striebrom

---

Ukončovací roztok	<ul style="list-style-type: none"><li>• 120 ml ľadovej kys. octovej (c = 99,8 %)</li><li>• 500 ml 96 % etanolu</li><li>• objem doplnený mQ vodou do 1 l</li></ul>
-------------------	---

---

Po vytiahnutí z aparatury bol gél za stáleho trepania 30 minút premývaný vo fixačnom roztoku. Následne bol premývaný 15 minút v premývacom roztoku a 2 minúty zaliaty roztokom zvyšujúcim citlivosť gélu. 3 minúty bol gél premývaný mQ vodou a následne bol na 20 minút ponorený do farbiaceho roztoku. Gél bol opäť premytý mQ vodou a ponechaný vo vyvíjacom roztoku až do stavu vytvorenia viditeľných proteínových zón. Vyvíjanie bolo ukončené použitím ukončovacieho roztoku.

#### 4.7 Stanovenie aminokyselín papierovou chromatografiou

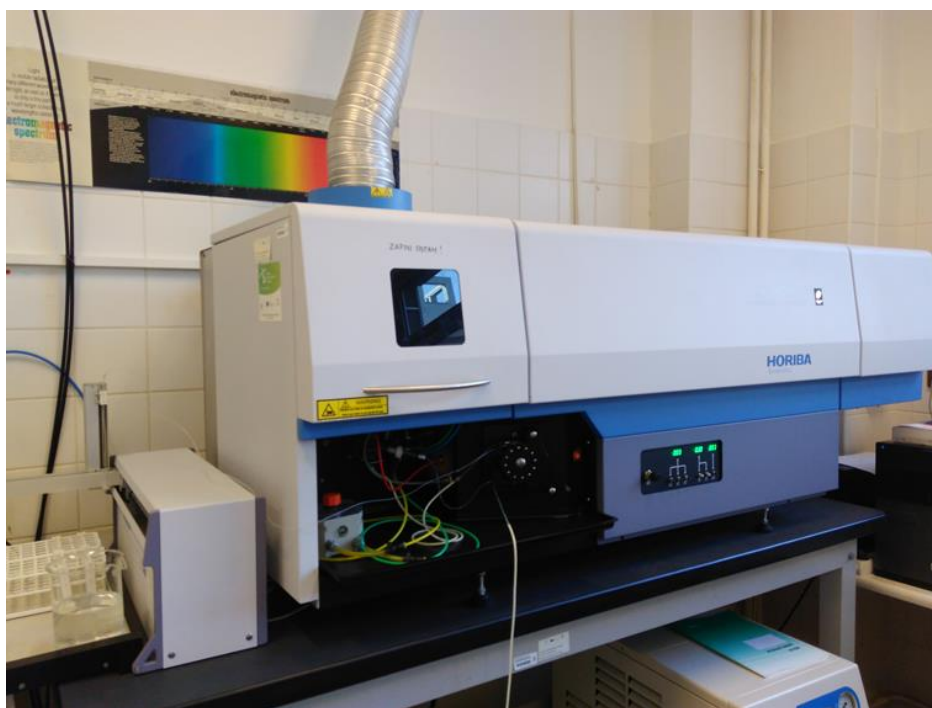
Vzorka pre prevedenie papierovej chromatografie bola upravená kyslou aj bázickou hydrolyzou. Do uzatvárateľnej skúmavky bol pripravený roztok 10 mg vzorky s 1 ml 6 M HCl, do ďalšej 10 mg vzorky s 1 ml 4,2 M NaOH. Skúmavky boli následne vložené na 23 hod. do termobloku vyhriatom na 110 °C.

Do Eppendorfových skúmaviek tak boli pripravené 0,5 % roztoky aminokyselín štandardy aminokyselín v izopropanole. Na chromatografickom papieri Whatman č. 4 bola 3 cm od kraja ceruzkou vyznačená čiara, na ktorej boli 1,5 cm od kraja a od seba poznačené značky so skratkami použitých aminokyselín. Na každé označené miesto bolo nanosených 5 µl 0,5 % roztoku aminokyseliny. Na poslednú značku bolo nanosených 5 µl roztoku vzorky. Chromatogram bol vložený do sklenenej chromatografickej skrine, v ktorej bolo približne 150 ml rozpúšťadlovej zmesi obsahujúcej butanol: kys. octová: voda (12: 3: 5). Chromatogram bol zachytený zvislo o sklenenú tyčinku tak, že bol ponorený do rozpúšťadlovej zmesi približne do výšky 0,5 cm. Vyvíjanie prebiehalo približne 7 hodín, kedy bolo čelo rozpúšťadla približne 2 cm od horného konca chromatografického papiera. Po vytiahnutí z chromatografickej skrine bolo na papieri označené čelo rozpúšťadla a papier vložený na 10 min. do sušiarne vyhriatej na 80 °C. Suchý chromatografický papier bol následne postriekaný 0,1 % roztokom ninhydrínu v etanole a opäť vložený na 10 min. do sušiarne vyhriatej na 90 °C.

#### 4.8 Stanovenie obsahu mikroprvkov a makroprvkov metódou ICP-OES

Stanovenie mikro- a makroprvkov bolo prevedené na analytickom prístroji ICP-OES Ultima 2, ktorý je zaznamenaný na Obr. 9 a jeho technická špecifikácia uvedená v Tab. 15.





Obr. 9: Analytický prístroj ICP-OES Ultima 2

Tab. 15: Technická špecifikácia prístroja [67]

Prístroj	ICP-OES Ultima 2 (Horiba Scientific Ltd., Illkirch Cedex F)
Frekvencia generátoru	40,68 MHz
Chladiaci systém pre generátor a cievku	typ GenCo
Odsávanie	priame napojenie na plazmovú komoru
Pracovný plyn	argón
Čistota pracovného plynu	99,996 %
Čerpadlo	3-kanálová peristaltická pumpa
Hmlová komora	cyklónová
Zhml'ovač	typ Meinhard tlak: 3,02 bar
Konfigurácia plazmovej hlavice	radiálna
Vlnová dĺžka	160 – 800 nm
Optický systém	ohnisková vzdialenosť: 1 m optická mriežka: 2 400 vrypov/mm optické rozlíšenie pre 160 – 320 nm: < 5 pm optické rozlíšenie pre 320 – 800 nm: < 10 pm
Detekcia	Dual PMT s HDD® systémom
Príslušenstvo	zvlhčovač argónu autosampler AS-500

#### 4.8.1 Stanovenie mikroprvkov

Stanoveniu mikroprvkov predchádzala mineralizácia vzorky, ktorá bola prevedená podľa postupu uvedeného v odseku 4.8.1.1. Po príprave kalibračnej rady nasledovalo samotné meranie.

##### 4.8.1.1 Príprava vzoriek

Do mineralizačnej trubice bol naváženy 1 g vzorky s presnosťou na 4 desatinné miesta, ku ktorému bolo pridaných 10 ml koncentrovanej  $H_2SO_4$ . Jednotlivé hmotnosti sú uvedené v Tab. 16. Trubica bola vložená do mineralizačného bloku. 3 vzorky boli mineralizované v mineralizačnom bloku po dobu 12 hodín pri teplote  $400\text{ }^{\circ}C$  a 3 vzorky boli mineralizované v mineralizačnej jednotke KT-8s podľa nastaveného teplotného programu uvedeného v Tab. 17. Po ukončení mineralizácie bola každá vzorka kvantitatívne prevedená do odmernej banky a doplnená destilovanou vodou na objem 25 ml. Následne boli roztoky prefiltrované membránovými nylonovými filtrami s priemerom 13 mm a s veľkosťou pórov  $0,45\text{ }\mu m$ .

Tab. 16. Navážky vzorky pre jednotlivé metódy mineralizácie

Mineralizačný blok (12 hod.)		Mineralizačná jednotka KT-8s	
Č. vzorky	m [g]	Č. vzorky	m [g]
1a	1,0074	1b	1,0017
2a	1,0061	2b	1,0006
3a	1,0013	3b	1,0041

Tab. 17. Program mineralizácie

Číslo kroku	Proces a teplota	Čas [h]
1	Zahrievanie na $250\text{ }^{\circ}C$	0,5
2	Zahrievanie na $330\text{ }^{\circ}C$	0,5
3	Mineralizácia pri $400\text{ }^{\circ}C$	3,0
4	Chladenie na laboratórnu teplotu	0,5

##### 4.8.1.2 Príprava kalibračnej rady

Do odmerných baniek s objemom 25 ml boli pripravené štandardné roztoky pre kremík, selén a roztoku zmesi prvkov chrómu, zinku, kadmia, olova, niklu, kobaltu, mangánu železa, medi a hliníku. Roztoky boli pripravené v koncentráciách 0; 1; 5; 10 a 20 mg/l. Objemy boli doplnené deionizovanou destilovanou vodou.

##### 4.8.1.3 Prevedenie a podmienky merania

Roztoky vzoriek boli kvantitatívne prevedené do plastových skúmaviek a následne premerané prístrojom ICP-OES za podmienok uvedených v Tab. 18. Každá vzorka bola premeraná 3x.

Tab. 18: Podmienky pre stanovenie mikroprvkov

<b>Prietok Ar</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• nosný plyn: 0,216 l/min</li> <li>• plazmový plyn: 14,440 l/min</li> <li>• pomocný plyn: 0,285 l/min</li> <li>• priemer vstrekovacej trysky: 3 mm</li> </ul>
<b>Výkon generátoru</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 1350 W</li> </ul>

#### 4.8.2 Stanovenie makroprvkov

Postup pre stanovenie makroprvkov bol takmer rovnaký ako postup pre stanovenie mikroprvkov. Odlišnosti v postupe boli v prípade riedenia vzorky, a tiež v prípade podmienok merania ako je uvedené v nasledujúcich kapitolách 4.8.2.1 a 4.8.2.3.

##### 4.8.2.1 Príprava vzoriek

Vzorky boli pripravené rovnakým postupom ako je uvedený v odseku 4.8.1.1 vrátane dvoch spôsobov mineralizácie. Po ukončení mineralizácie boli vzorky kvantitatívne prevedené do odmerných baniek a doplnené destilovanou vodou na objem 50 ml. Jednotlivé hmotnosti sú uvedené v Tab. 19.

Tab. 19: Jednotlivé navážky vzorky pre dve rôzne procesy mineralizácie

<b>Mineralizačný blok (12 hod.)</b>		<b>Mineralizačná jednotka KT-8s</b>	
Č. vzorky	m [g]	Č. vzorky	m [g]
4a	1,0022	4b	1,0052
5a	1,0080	5b	1,0077
6a	1,0045	6b	1,0056

##### 4.8.2.2 Príprava kalibračnej rady

Do odmerných baniek s objemom 25 ml boli pripravené štandardné roztoky pre vápnik, draslík, sodík, horčík a fosfor tak, že výsledné koncentrácie roztokov boli 0; 25; 50; 75 a 100 mg/l. Objemy boli doplnené deionizovanou destilovanou vodou.

##### 4.8.2.3 Prevedenie a podmienky merania

Roztoky vzoriek boli kvantitatívne prevedené do plastových skúmaviek a následne premerané prístrojom ICP-OES za podmienok uvedených v Tab. 20. Každá vzorka bola premeraná 3x.

Tab. 20: Podmienky nastavené pre stanovenie makroprvkov

<b>Prietok Ar</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• nosný plyn: 0,720 l/min</li> <li>• plazmový plyn: 14,440 l/min</li> <li>• pomocný plyn: 0,285 l/min</li> <li>• priemer vstrekovacej trysky: 3 mm</li> </ul>
<b>Výkon generátoru</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 1200 W</li> </ul>

#### 4.9 Stanovenie vlákniny podľa Scharrera a Kürschnera

Do 100 ml banky so zábrusom bol navážený 1 g vzorky, ku ktorému bolo pridaných 25 ml roztoku zloženého zo 75 ml 70 % kyseliny octovej, 5 ml 65 % kyseliny dusičnej a 2 g kyseliny trichlóroctovej. Obsah bol 30 minút varený pod spätným chladičom. Vriaca tekutina bola sfiltrovaná za zníženého tlaku vopred zväženým filtračným kelímkom. Pevný podiel v kelímku bol premytý 10 ml vrúcej destilovanej vody a trikrát 10 ml etanolu. Kelímok bol sušený v sušiarňi po dobu 1 hodiny pri teplote 105 °C. Po vychladnutí bol zväžený a ponechaný 1 hodinu pri 650 °C v muflovej peci. Po vychladnutí bol opäť zväžený. Postup bol prevedený 3x.

#### 4.10 Stanovenie množstva chitínu

Podstatou metódy je farebná reakcia Si(VI)-Mo(IV) systému, kedy je roztok spočiatku zafarbený do žltá v dôsledku tvorby žltých molybdosilikátových aniónov. Monosacharidy priamo redukujú Mo(VI) za vzniku modrého zafarbenia [68].

Do 3 uzatvárateľných skúmaviek bolo navážených 10 mg vzorky a do ďalších 3 bolo navážených 20 mg vzorky s presnosťou na 4 desatinné miesta. Ku každej vzorke bolo pridaných 5 ml 6 M HCl a boli vložené na 12 hodín do termobloku vyhriatom na 115 °C. Po vytiahnutí z termobloku a vychladnutí boli takto pripravené hydrolyzáty použité pre stanovenie obsahu chitínu vo vzorke.

Pre prípravu kalibračnej rady bol použitý štandard *N*-acetyl-*D*-glukosaminu. Do uzatvárateľných skúmaviek bol navážený štandard a k nemu pridaných 5 ml 6 M HCl, tak, že výsledné roztoky mali koncentráciu 0,2; 0,6; 1,0 a 1,4 mg/ml. Takto pripravené roztoky boli vložené do termobloku na 12 hodín pri teplote 115 °C.

Pre prevedenie metódy bol do odmernej banky s objemom 10 ml pripravený Si(IV)-Mo(VI) roztok zložený z 5 ml roztoku 0,1 mol/l Na<sub>2</sub>SiO<sub>3</sub> a 1,2 mol/l Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>, 3 ml DMSO a 1,5 ml 10 mol/l kys. octovej, doplnený destilovanou vodou po risku. Následne bol roztok kvantitatívne prevedený do centrifugačnej skúmavky a bol vložený do centrifúgy na 3 min. pri 4 000 ot/min. Takto vyčírený roztok bol použitý v nasledujúcich krokoch.

Do uzatvárateľnej skúmavky bolo napipetovaných 100 µl hydrolyzátu vzorky, 100 µl 5 M NaOH a 1 ml Si(IV)-Mo(VI) roztoku. Takto pripravený roztok bol temperovaný na 70 °C po dobu 30 min. Roztok bol počas temperovania zafarbený do modrozelená a následne bola zmeraná jeho absorbancia proti slepej vzorke pri vlnovej dĺžke 750 nm. Rovnakým spôsobom bola pripravená kalibračná rada z hydrolyzátoV štandardu. Slepá vzorka bola pripravená obdobným spôsobom, s tým rozdielom, že 100 µl vzorky bolo nahradených 100 µl destilovanej vody.

#### 4.11 Senzorická analýza

Senzorická analýza sa uskutočnila 30.4. (9–12 hod.) a 2.5. 2019 (10–14 hod). Celkovo sa senzorickej analýzy zúčastnilo 28 študentov a akademikov Fakulty chemickej VUT v Brně.

V senzorickej analýze bol skúmaný vplyv prídavku svrčej múky na senzorické vlastnosti vybraných proteínových doplnkov. Išlo o schopnosť hodnotiteľov posúdiť rozdiely medzi proteínovými tyčinkami s obsahom a bez obsahu takéhoto alternatívneho zdroja proteínov.

##### 4.11.1 Hodnotené vzorky

Pre senzorickú analýzu boli použité vzorky proteínových tyčiniiek rôznych značiek. Základným parametrom bol výber rovnakej, prípadne podobnej chute ako proteínové tyčinky

od firmy SENS, s rozdielnymi proteínovými izolátmi. Vzorky použité pre senzorickeú analýzu, ich označenie spolu s obsahujúcim proteínom sú zaznamenané v *Tab. 6*.

#### **4.11.2 Pribeh senzorickej analýzy**

Hodnotenie bolo prevedené formou vyplňovania pripravených dotazníkov. V prvej časti dotazníku hodnotitelia odpovedali na otázky týkajúce sa ich stravovacích návykov a vzťahu k doplnkom stravy. Druhá časť dotazníku bola zameraná na chuťový, čuchový a zrakový vnem hodnotiteľov a ich úlohou bolo ohodnotiť pre nich neznáme vzorky podľa vybraných kritérií.

Podľa stupnice (1 výborná → 5 nevyhovujúca) bola hodnotená chuť, vôňa, vzhľad a farba, konzistencia a celkové hodnotenie vzoriek. Päťbodovou stupnicou bola tiež hodnotená samostatná konzistencia vzoriek (1 príliš mäkká → 5 príliš tvrdá). Na základe vnímania textúry, mali hodnotitelia označiť najlepšiu a najhoršiu vzorku. Prijemnosť chuti bola hodnotená sedembodovou stupnicou (1 neprijateľná → 7 vynikajúca) a hodnotitelia dostali priestor pre popis chuti. Dotazník bol ukončený poradovým testom, kde mali hodnotitelia zoradiť vzorky podľa vlastných preferencií (1 najlepšia → 9 najhoršia). Dotazník senzorickej analýzy je uvedený v Prílohe 1.

## 5 VÝSLEDKY A DISKUSIA

### 5.1 Celkové sacharidy podľa Duboise

Podľa postupu popísaného v kapitole 4.2 bol spektrofotometrickou metódou vo vzorke stanovený obsah sacharidov. Meranie bolo prevedené pre 12 vzoriek v 4 rôznych podmienkach. Extrakcia vo vodnom a etanolovom prostredí po dobu 3,5 a 1,5 hod. bez prídavku a s prídavkom 35 % HCl. Stanovené hodnoty v percentuálnom a hmotnostnom zastúpení na 100 g sú uvedené v *Tab. 21* a v *Tab. 22*.

Kalibračná krivka bola premeraná s využitím štandardu glukózy vo vodnom a etanolovom roztoku. Jednotlivé koncentrácie celkových sacharidov boli vypočítané dosadením do kalibračnej rovnice.

*Tab. 21: Stanovenie celkových sacharidov vo vodnom prostredí*

<b>Kalibračná rovnica: <math>y = 7,9562x + 0,0113</math></b>			
Číslo vzorky	m [mg/100 g]	Zastúpenie [%]	
1	22,48		extrakcia 3,5 hod,
2	46,99	$0,036 \pm 0,009$	bez prídavku 35 %
3	38,12		HCl
4	806,27		extrakcia 1,5 hod,
5	965,68	$0,912 \pm 0,042$	s prídavkom 35 %
6	965,21		HCl

*Tab. 22: Stanovenie celkových sacharidov v prostredí 80 % etanolu*

<b>Kalibračná rovnica : <math>y = 8,3755x - 0,0063</math></b>			
Číslo vzorky	m [mg/100 g]	Zastúpenie [%]	
1	35,44		extrakcia 3,5 hod,
2	31,29	$0,033 \pm 0,006$	bez prídavku 35 %
3	32,37		HCl
4	455,26		extrakcia 1,5 hod,
5	409,85	$0,432 \pm 0,038$	s prídavkom 35 %
6	430,20		HCl

Z jednotlivých tabuliek je možné vidieť, že etanolová aj vodná extrakcia bola účinnejšia s prídavkom 35 % HCl. *Tab. 5* uvádza, že vo vzorke sa nachádzalo len veľmi malé množstvo jednoduchých cukrov. Touto metódou pravdepodobne nebolo stanovené množstvo polysacharidov, predovšetkým typu vlákniny. Vyššie hodnoty s prídavkom 35 % HCl môžu byť spôsobené len veľmi slabou až nedostatočnou hydrolýzou prítomných polysacharidov.

### 5.2 Extrakcia lipidov podľa Folcha

Metódou podľa Folcha popísaného v kapitole 4.3 bol stanovený obsah lipidov na hodnotu  $25,02 \pm 0,03$  g/100 g. Stanovené množstvo tukov je o 8 % vyššie než množstvo tukov

uvádzané firmou, ktoré je uvedené v *Tab. 5*. Výsledok analýzy je možné podložiť publikáciou *A. Osimani a kol.*, v ktorom bolo stanovené množstvo lipidov v múke zo svrčka domového na hodnotu  $28,75 \pm 1,89$  g/100 g [69].

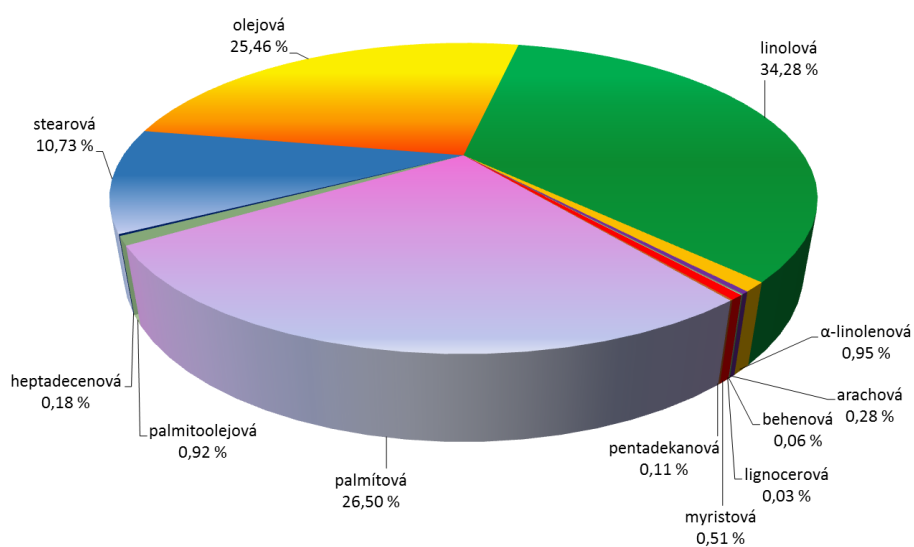
Rozdiel medzi rôznymi stanoveniami môže byť vysvetlený kapitolou 2.1.1, v ktorej je popísaný vplyv krmiva na výživovú hodnotu hmyzu. V tomto prípade je však potrebné vziať do úvahy možnosť, že pri prevedení metódy nemusia byť pri odoberaní chloroformovej fázy zachytené fosfolipidy, ktoré zostávajú na rozhraní fáz chloroform: voda, čo môže znamenať, že celkové množstvo lipidov môže byť ešte vyššie.

### 5.3 Kvantifikácia lipidov metódu GC

Plynovou chromatografiou boli stanovené mastné kyseliny obsiahnuté vo vzorke múky. Zastúpenie jednotlivých mastných kyselín a ich množstvo je uvedený v *Tab. 23*.

*Tab. 23: Percentuálne zastúpenie mastných kyselín vo vzorke*

Mastná kyselina	Počet uhlíkov a dvojných väzieb	Zastúpenie [%]
Myristová	14:0	0,507
Pentadekánová	15:0	0,107
Palmítová	16:0	26,497
Palmitolejová	16:1	0,922
Heptadecenová	17:1	0,178
Stearová	18:0	10,732
Olejová	18:1	25,460
Linolová	18:2	34,281
$\alpha$ -linolenová	18:3	0,945
Arachová	20:0	0,281
Behenová	22:0	0,059
Lignocerová	24:0	0,031
<b>Celkové zastúpenie</b>		<b>35,371</b>



*Obr. 10: Jednotlivé zastúpenie mastných kyselín vo vzorke*

Vo vzorke bolo podľa *Tab. 24* najvyššie zastúpenie kyseliny linolovej, palmítovej a olejovej. Množstvo jediného zástupcu  $\omega$ -3 mastných kyselín, kyseliny  $\alpha$ -linolenovej, bolo stanovené na 0,945 % z celkového množstva mastných kyselín. Zástupcom  $\omega$ -6 MK je kyselina linolová v zastúpení až 34 % celkového množstva MK.

Vo vzorke boli zastúpené ako nasýtené (SAFA), mononenasýtené (MUFA) tak aj polynenasýtené (PUFA) mastné kyseliny. Zastúpenie SAFA tvorí až 38 % podielu celkových mastných kyselín, MUFA 26 % a PUFA 35 % podielu celkových mastných kyselín. Znamená to, že svrčia múka je skutočne bohatá na aktívne látky a môže priaznivo pôsobiť na ľudské zdravie, najmä vďaka obsahu  $\omega$ -3 a  $\omega$ -6 mastným kyselinám, konkrétne kyseliny  $\alpha$ -linolenovej a linolovej. Prehľad obsahu MK je zaznamenaný aj na *Obr. 10*.

Výsledky je možné porovnať s publikáciou *A. Osimani a kol*, v ktorej boli stanovené mastné kyseliny pomocou plynovej chromatografie. Porovnanie výsledkov je zaznamenané v *Tab. 24* [69].

*Tab. 24: Porovnanie experimentálne získaných výsledkov a výsledkov uvedených v publikácii [69]*

	Hodnoty stanovené experimentálne [%]	Výsledky z publikácie [%]
SAFA	38,21	34,19
MUFA	26,56	29,39
PUFA	35,23	36,17

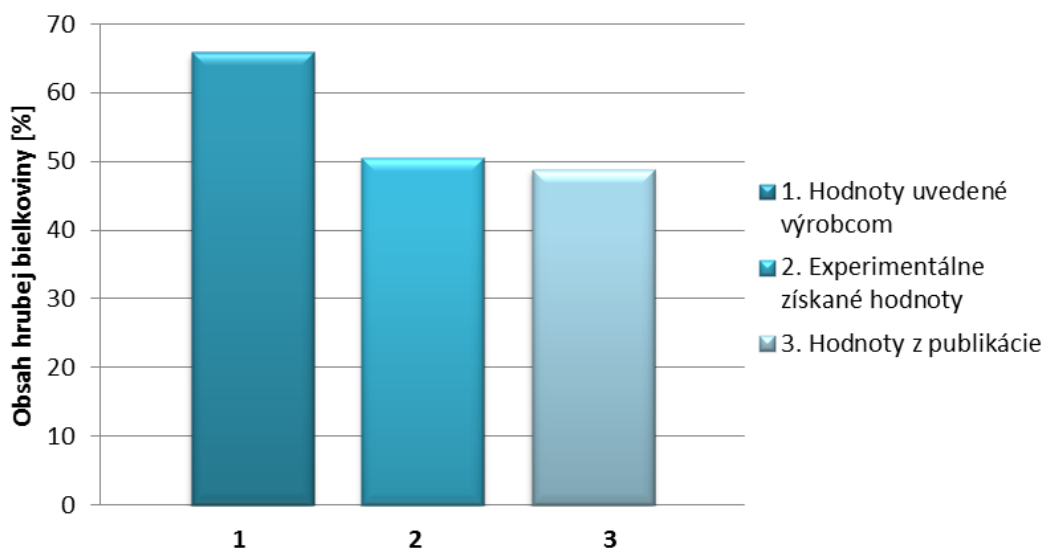
#### 5.4 Stanovenie dusíku a hrubej bielkoviny podľa Kjeldahla

Základom správnej mineralizácie, ktorá predchádzala samotné meranie, bolo postupné zahrievanie kyseliny sírovej na bod varu a následné zvyšovanie a udržanie tejto teploty na 400 °C. Po prevedení destilácie a titrácie bol stanovený obsah dusíku, ktorý tvoril základ pre výpočet hrubej bielkoviny, podrobný postup je popísaný v kapitole 4.5. a výsledky sú uvedené v *Tab. 25*.

*Tab. 25: Obsah celkového dusíku a hrubej bielkoviny*

Číslo vzorky	Obsah celkového dusíku [%]	Obsah hrubej bielkoviny [%]
1	8,144	50,897
2	8,065	50,403
3	8,058	50,363
4	8,054	50,338
5	8,034	50,213
6	8,288	51,798
7	7,934	49,588
<b>priemer</b>	<b>8,082 ± 0,101</b>	<b>50,514 ± 0,633</b>





Obr. 11: Porovnanie stanovených hodnôt hrubej bielkoviny [69]

Rozdiel v porovnaní s uvádzanými hodnotami od výrobcu a experimentálne získanými hodnotami (pozri Obr. 11) je takmer 16 %. Aj tu je možnosť porovnania výsledkov s ďalšími experimentálne získanými hodnotami uvedenými v publikácii *Osimani A. a kol.*, kde bol celkový obsah hrubej bielkoviny stanovený na  $48,78 \pm 0,33$  %. Opäť je potrebné vyzdvihnúť vplyv krmiva a vývojového štádia svrčkov na nutričnú hodnotu finálneho produktu [69].

## 5.5 Vertikálna elektroforéza SDS-PAGE

Bola optimalizovaná metóda vertikálnej elektroforézy SDS-PAGE pre stanovenie veľkosti proteínov vo vzorke svrčej múky. Zahriatie v 6 M HCl a 4,2 M NaOH po dobu 4 a viac hodín pri 110 °C nebolo vhodné pre prípravu vzorky. V takto pripravených vzorkách pravdepodobne došlo k naštiepeniu proteínov až na samotné aminokyseliny, čo spôsobilo, že v géli neboli detegované žiadne proteínové zóny. Nevhodnou prípravou bolo aj rozpustenie 10 mg vzorky v 1 ml mQ vody. Takto pripravená vzorka bola príliš koncentrovaná a v géli sa prejavila formou tmavej škvrny pozdĺž gélu.

Vhodnou prípravou vzorky bolo krátkodobé zahriatie vzorky pri 110 °C v 6 M HCl a 4,2 M NaOH po dobu kratšiu ako 1 hod. a ich následná neutralizácia. V géli bol viditeľný band 100x zriedeného roztoku 10 mg vzorky v 1 ml mQ vody.

Pre prevedenie vertikálnej elektroforézy nebolo vhodné použitie 12 % gélu z dôvodu jeho vysokej hustoty, čo sa prejavilo neúplným rozdelením jednotlivých bandov štandardu a ich nedostatočnej migrácii. Pre analýzu bol optimálny 8 % gél, v ktorom došlo k úplnej migrácii štandardu a vzoriek, pri čom bandy štandardu boli po farbení od seba viditeľne oddelené.

Vertikálna elektroforéza SDS-PAGE optimálne prebiehala za podmienok 70 V a 120 mA v celkovom trvaní 2,5 hod. kedy migrácia vzoriek a štandardu prebehla bez vychýlenia.

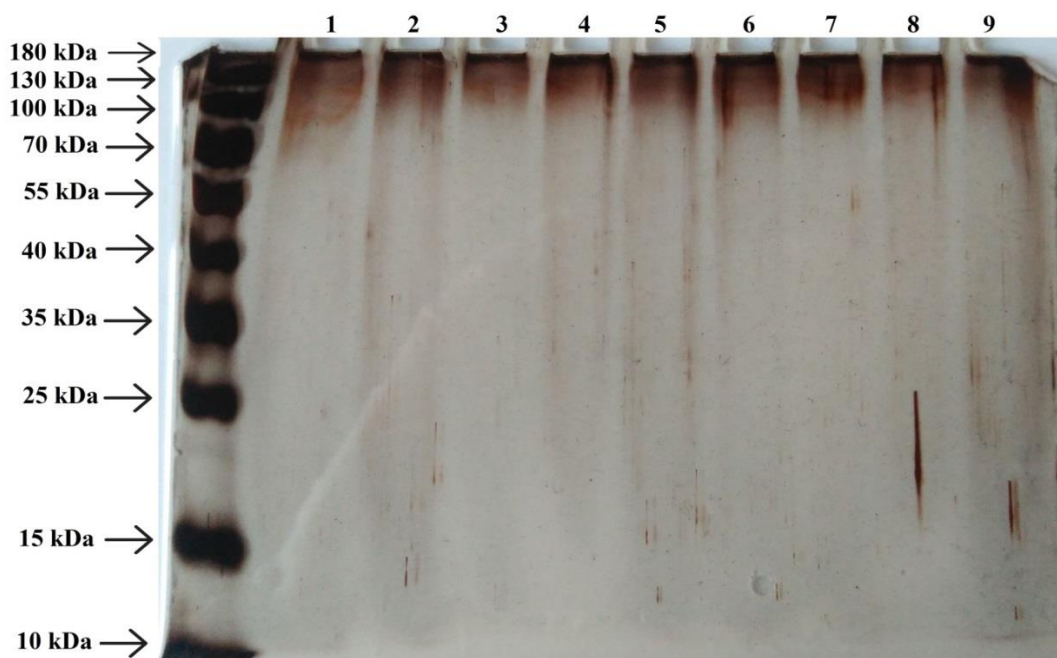
Metódou vertikálnej elektroforézy SDS-PAGE pomocou BIO-RAD aparatury boli stanovené veľkosti proteínov vyskytujúcich sa vo vzorke za podmienok uvedených v Tab. 26.

Tab. 26: Optimálne podmienky vertikálnej elektroforézy SDS-PAGE

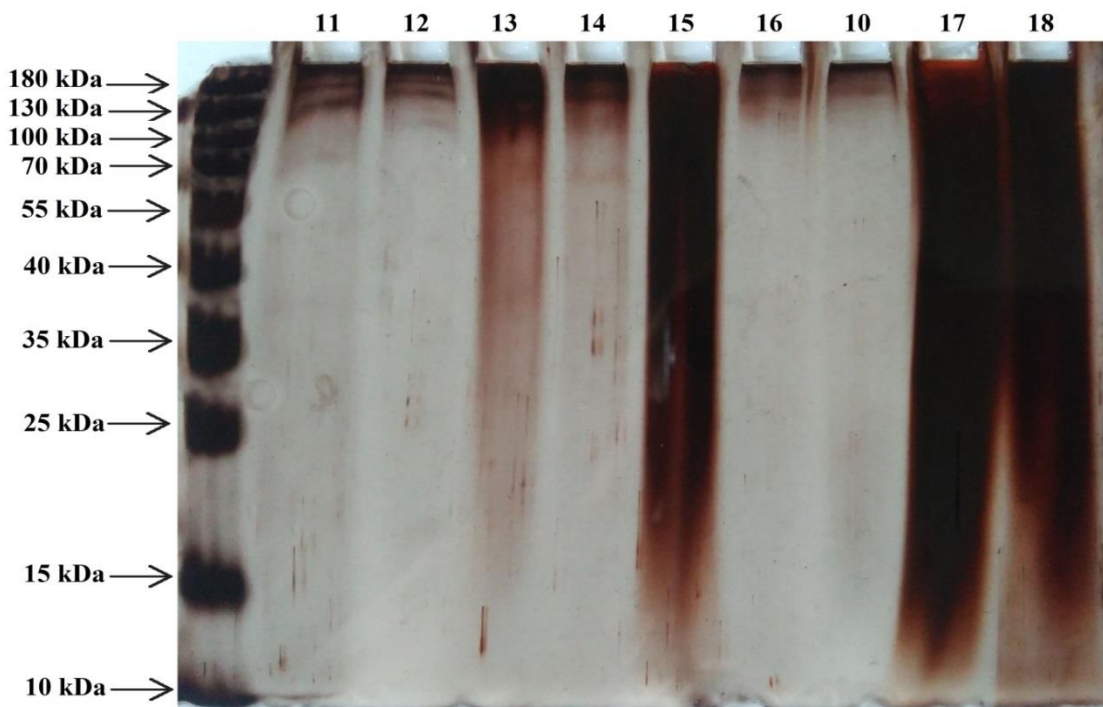
---

<b>Koncentrácia gélu</b>	8 %
<b>Napätie</b>	70 V
<b>Elektrický prúd</b>	120 mA
<b>Celkový čas</b>	2,5 hod.

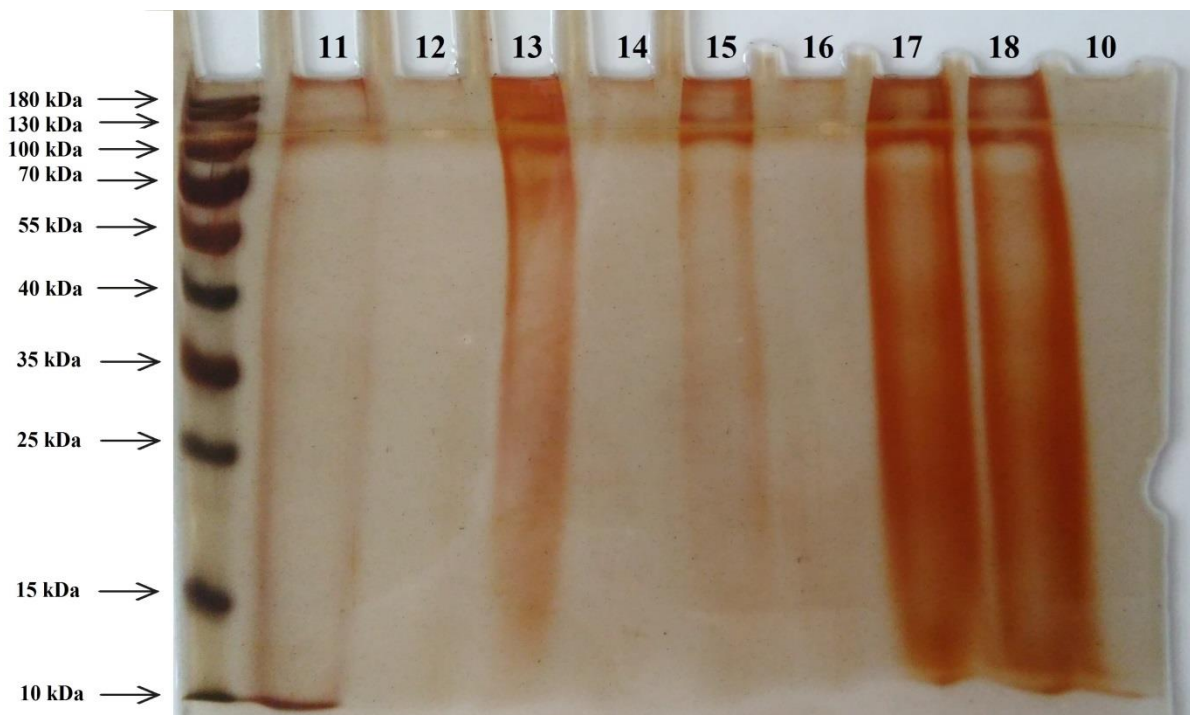
---



Obr. 12: Vertikálna gélová elektroforéza SDS-PAGE vzoriek č. 1-9. Schéma nanosenia vzoriek a štandardu s uvedenými veľkosťami proteínov v 8 % géli



Obr. 13: Vertikálna gélová elektroforéza SDS-PAGE vzoriek 10 – 18. Schéma nanosenia vzoriek a štandardu s uvedenými veľkosťami proteínov v 8 % géli



Obr. 14: Vertikálna gélová elektroforéza SDS-PAGE vzoriek 10 – 18. Schéma nanosenia vzoriek a štandardu s uvedenými veľkosťami proteínov v 8 % géli a s použitím zaostrovacieho gélu

Na Obr. 12 je uvedená schéma nanosenia vzoriek č. 1–9 v 8 % géli. Pre prípravu vzorky bolo vhodné použiť neutralizované roztoky vzoriek, ktoré boli čiastočne hydrolyzované v 4,2 M NaOH a 6 M HCl podľa postupu uvedeného v odseku 4.6.1.

Schéma nanosenia vzoriek č. 10–18 v 8 % géli je uvedená na Obr. 13. Z obrázku vyplýva, že pre metódu nie je vhodné použiť v množstve 1 mg v 1 ml rozpúšťadla a rovnako nie je vhodné použiť ani jeho 10x zriedený roztok. Na základe viditeľných bandov vzoriek s číslom 9, 10, 11 a 12 vyplýva, že pre metódu môžu byť použité aj vzorky bez úpravy pH. Po porovnaní Obr. 13 a Obr. 14 je možné usúdiť, že pre metódu je vhodné použiť aj vrstvu zaostrovacieho gélu, vďaka ktorej sú jednotlivé proteínové zóny viditeľne zúžené a rozdelené. Po porovnaní proteínových zón vzoriek so štandardom vyplýva, že vo vzorke svrčej múky sa vyskytujú proteíny s veľkosťou 130–180 kDa.

V géli sa okrem príslušných bandov vyskytovali jemné pásy v oblasti behu vzoriek. Môže to byť spôsobené prítomnosťou nežiaducich fragmentov – nerozpustených častíc vzorky alebo nevhodnou denaturáciou vzorky proteínu, ktorá viedla až k jeho deštrukcii. To môže byť podkladom pre ďalšiu optimalizáciu prípravy vzorky. Medzi rizikové faktory, ktoré ovplyvňujú výsledky tejto metódy, patrí oneskorené zahriatie roztoku vzorky a pufru, prehriatie vzorky či podtlak vyvinutý na vzorku počas varenia [49]. Vhodným krokom by mohlo byť odstránenie nerozpustných častíc ešte pred zriedením vzorky so vzorkovacím pufrom a znížiť tak riziko, že budú nanesené spolu s roztokom do komôrok gélu.

## 5.6 Stanovenie aminokyselín papierovou chromatografiou

Škvrny aminokyselín boli obtiahnuté ceruzkou a bol vypočítaný  $R_f$ -retenčný faktor ako pomer vzdialenosti stredu škvrny od štartu ku vzdialenosti čela rozpúšťadla od štartu.

Vypočítané retenčné faktory štandardov a aminokyselín nachádzajúcich sa vo vzorke sú uvedené v *Tab. 27*.

Na základe tohto výpočtu bola vo vzorke stanovená prítomnosť aminokyselín asparagínu (Asn), alanínu (Ala), arginínu (Arg), cysteínu (Cys), treonínu (Thr) a kyseliny asparágovej (Asp). Vo vzorke sa pravdepodobne nachádzal aj prolín, hoci jeho škvrna nie je na *Obr. 15* jednoznačne vidieť. Pravdepodobne ju pokrýva škvrna alanínu, s ktorým má prolín takmer zhodné retenčné faktory. Tvrdenie je možné podložiť výsledkami zo štúdie *Akhtar Y. a kol.* uvedenými v *Tab. 28*, v ktorej boli stanovované obsahy aminokyselín vo vzorke hmyzu radu *Rovnokridlovcov*. V štúdiu bola potvrdená prítomnosť prolínu s obsahom 5,9 g/100 g sušiny. Detegované škvrny aminokyselín vo vzorke sú zaznamenané na *Obr. 15*. Rovnaké aminokyseliny s výnimkou asparagínu boli stanovené vo vzorke hmyzu z radu *Rovnokridlovcov* a uvedené v štúdiu *Akhtar Y. a kol.* [1].

*Tab. 27: Retenčné faktory štandardov a aminokyselín obsiahnutých vo vzorke*

<b>Aminokyselina</b>	<b>Rf [-]</b>	<b>Vzorka</b>
	Rf [-]	Rf [-]
<b>asparagín</b>	0,272	0,277
<b>alanín</b>	0,347	0,356
<b>prolín</b>	0,347	0,356
<b>tyrozín</b>	0,426	
<b>valín</b>	0,485	
<b>tryptofán</b>	0,495	
<b>arginín</b>	0,219	0,219
<b>cysteín</b>	0,393	0,393
<b>glycín</b>	0,262	
<b>methionín</b>	0,492	
<b>treonín</b>	0,301	0,306
<b>histidín</b>	0,190	
<b>kys. asparágová</b>	0,301	0,306

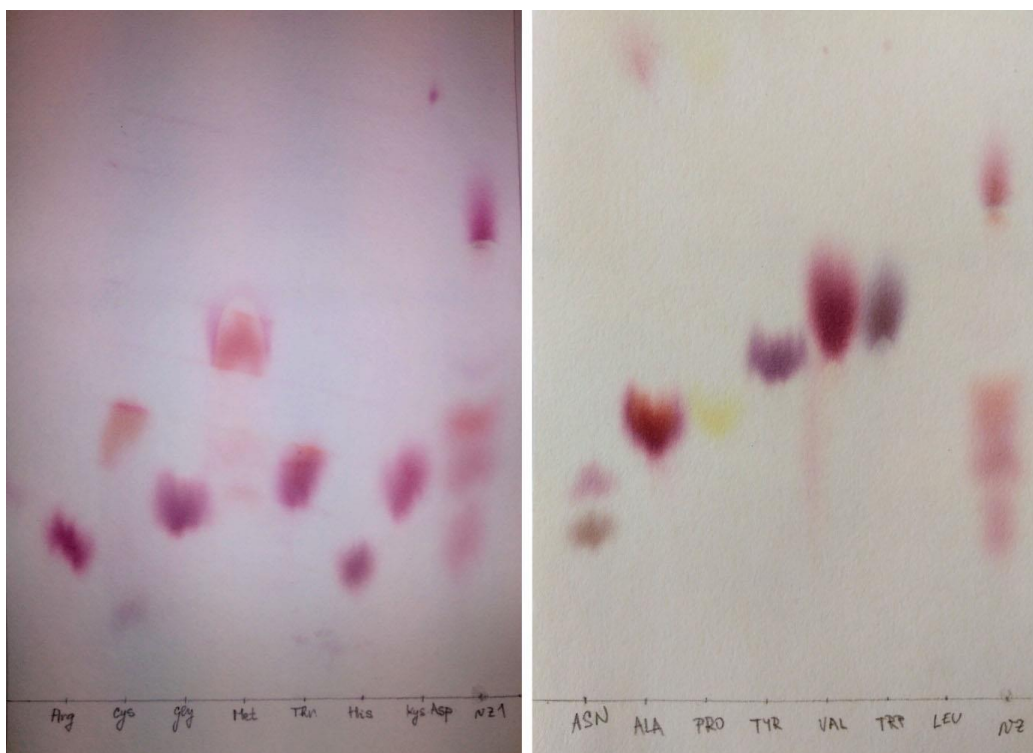
Štúdia *Akhtar Y. a kol.* bola okrem radu *Rovnokridlovcov* zameraná aj na ďalšie druhy hmyzu a množstvo aminokyselín v hmyze bolo porovnávané s obsahom aminokyselín vo vajciach, hovädzom mäse a sójovými semenami. V prípade radu *Rovnokridlovcov*, do ktorého spadá aj svrček domový či kobyľky, bola potvrdená prítomnosť takmer všetkých aminokyselín. Obsah v rozmedzí 4–8 g/100 g sušiny bol stanovený v prípade leucínu, lyzínu, fenyľalanínu, valínu, arginínu, tyrozínu a z esenciálnych aminokyselín to boli alanín, kys. asparágová, glycín, serín a prolín. Porovnanie obsahu je uvedené v *Tab. 28* [1].

Obsah jednotlivých aminokyselín v múke z hmyzu radu *Rovnokridlovcov* je takmer v každom prípade oveľa vyšší než obsah týchto aminokyselín v hovädzom mäse, semenách sóje či vajciach. Zloženie aminokyselín v jedlom hmyze sa medzi rôznymi druhmi a radmi líši, avšak analýza takmer stovky jedlých druhov hmyzu ukázala, že esenciálne aminokyseliny predstavujú až 46–96 % celkového množstva aminokyselín [1].

Na základe toho je možné usúdiť, že jedlý hmyz by mohol v budúcnosti nahradiť niektoré potraviny v jedálničku obyvateľstva najmä vďaka pomerne vysokému obsahu esenciálnych aminokyselín, ktoré nie sú syntetizované v ľudskom tele a je ich potrebné prijímať v potrave.

Tab. 28: Porovnanie zloženia aminokyselín v hmyze radu rovnokrídlovce s vybranými potravinami [1]

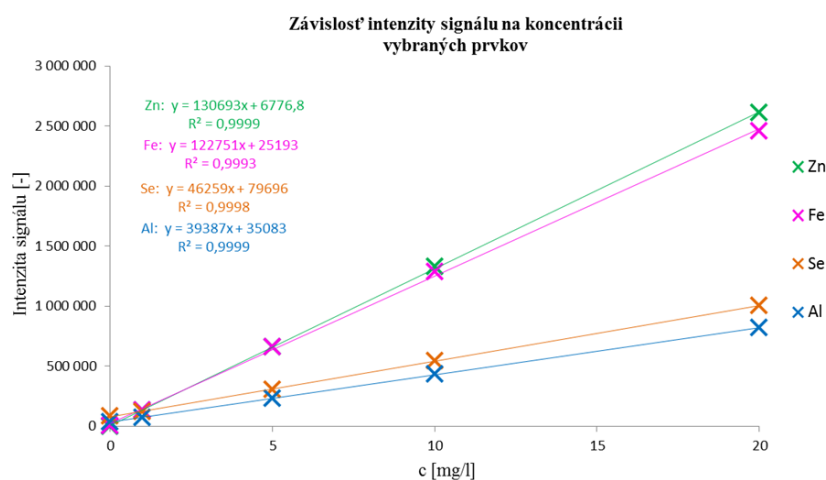
Aminokyseliny	Rad rovnokrídlovce	Sójové semená	Hovädzie mäso	Vajcia
m [g/100 g sušiny]				
Izoleucín	3,98	1,76	1,60	2,43
Leucín	7,13	2,85	4,20	4,15
Lyzín	5,54	2,39	4,50	3,33
Metionín	1,92	0,48	1,60	1,49
Fenylalanín	5,60	1,80	2,40	2,53
Treonín	3,52	1,59	2,50	2,13
Tryptofán	0,61	0,48	0,25	0,77
Valín	5,08	1,77	2,00	2,99
Histidín	2,07	1,07	2,00	1,20
Arginín	4,73	3,20	3,30	3,07
Cysteín	1,55	0,36	0,59	1,07
Tyrozín	6,81	1,43	2,20	1,96
Alanín	6,51	1,79	3,00	2,70
Kys. asparágová	7,20	4,64	5,20	5,02
Glycín	5,63	1,66	2,40	1,62
Kys. glutámová	8,54	7,48	9,00	6,39
Serín	4,17	2,22	2,70	6,07
Prolín	5,91	1,87	2,80	2,92



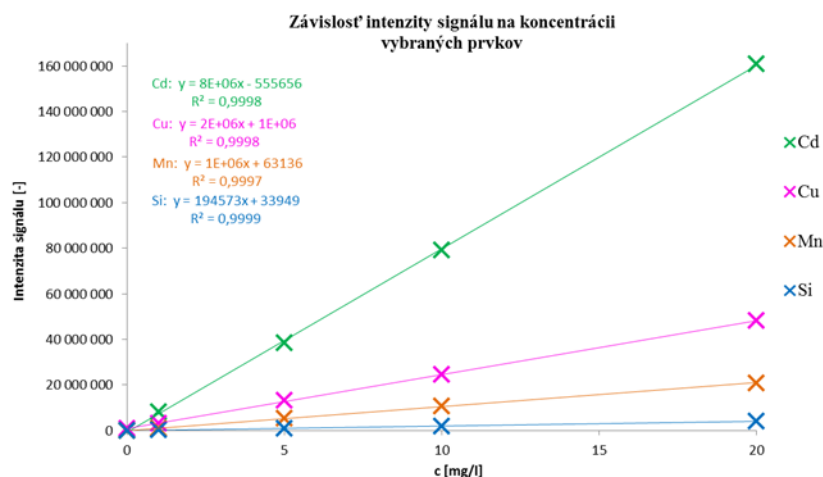
Obr. 15: Štandardy aminokyselín porovnané s aminokyselinami obsiahnutými vo vzorke pripravenej kyslou hydrolyzou

### 5.7 Stanovenie mikroprvkov a makroprvkov

Metódou ICP-OES bolo vo vzorke stanovené množstvo vybraných mikroprvkov a makroprvkov uvedených v Tab. 29 a v Tab. 30. V tabuľkách sú uvedené vlnové dĺžky použité pre priebeh analýzy vybraných prvkov a v tabuľkách je uvedený aj odporúčaný denný príjem týchto prvkov. Množstvo mikroprvkov a makroprvkov je prepočítaný na 100 g vzorky múky a bol vypočítaný pomocou kalibračných rovníc pre každý prvok zvlášť. Kalibračné rovnice sú uvedené na Obr. 16, Obr. 17 a Obr. 18.



Obr. 16: Kalibračné rovnice jednotlivých mikroprvkov



Obr. 17: Kalibračné rovnice jednotlivých mikroprvkov

Tab. 29: Stanovený obsah vybraných mikroprvkov vo vzorke [3]

Prvok	$\lambda$ [nm]	c [mg/100g]	Odporúčaný denný príjem [mg/deň]*
Al	396,152	3,413 ± 0,220	-
Cd	214,438	0,199 ± 0,001	-
Cu	327,396	1,898 ± 0,134	0,900
Fe	259,940	5,959 ± 0,468	8,000
Mn	257,610	2,755 ± 0,173	2,300
Se	206,279	0,354 ± 0,028	0,055
Si	251,611	0,848 ± 0,053	-
Zn	206,191	18,108 ± 0,802	11,000

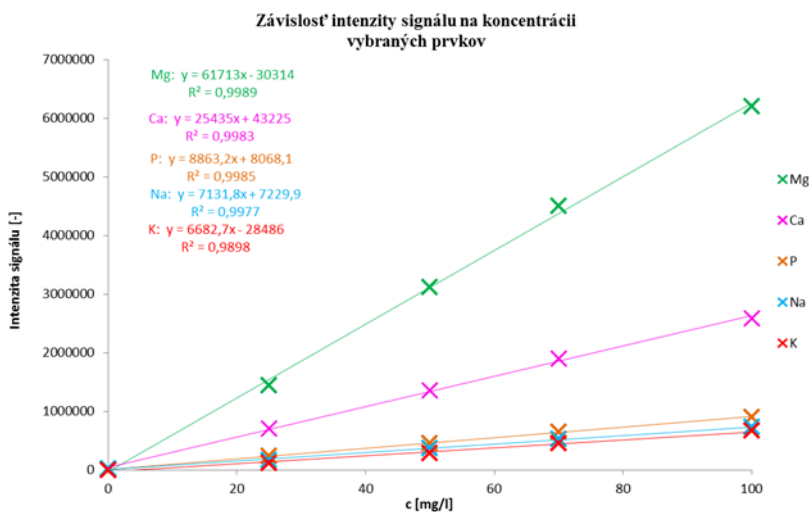
\* odporúčané denné dávky (DRIs): odporúčané denné dávky a primerané príjmy, minerály

\* vzťahnuté pre mužov vo veku 25 rokov

V Tab. 29 je možné vidieť, že sivrčia múka (*A. domesticus*) obsahuje širokú škálu mikroprvkov. Vo vzorke bol stanovený obsah zinku s koncentráciou 18,108 mg/100 g. Stanovené množstvo je porovnateľné so stanoveným množstvom zinku v sivrčkovi (dospelý jedinec) v štúdiu *Barker D. a kol.* kde bolo jeho množstvo stanovené na 18,6 mg/100 g [41].

Ďalším stanovovaným prvkom bolo železo (5,959 mg/100 g), hoci v štúdiu bol stanovený vyšší obsah, a to 11,2 mg/100 g. Vo významnom množstve bol vo vzorke stanovený mangán, a to na hodnotu 2,755 mg/100 g, ktorého množstvo sa so štúdiou líši o 0,2 mg/100 g. Stanovené množstvo medi (1,898 mg/100 g) sa s uvedeným množstvom v štúdiu líši o 1 mg/100 g. Vo významnom množstve bol vo vzorke zastúpený selén, ktorého množstvo je 0,354 mg/100 g. Ten má v ľudskom tele významnú funkciu, pretože tvorí časť antioxidantného systému a pomáha v boji proti voľným radikálom. Množstvo selénu v rôznych druhoch rastlín je ovplyvnené typom a pH pôdy [70]. Všeobecne sa tvrdí, že v dôsledku neustáleho využívania pôdy sa do rastlín dostáva stále menšie množstvo selénu. To má vplyv

aj na pokles obsahu selénu v rastlinách, ktoré ľudia prijímajú formou potravy. Následkom toho môže byť zníženie funkčnosti antioxidantného obranného systému a k nárastu rôznych závažných ochorení. Svrčia múka by mohla byť v tomto smere výhodným riešením ako udržať dostatočné množstvo selénu v strave obyvateľstva.



Obr. 18: Kalibračné rovnice jednotlivých makroprvkov

Tab. 30: Stanovený obsah vybraných makroprvkov vo vzorke porovnaný s odporúčaným denným množstvom [3].

Prvok	$\lambda$ [nm]	c [mg/100 g]	Denný príjem [mg/deň]*
<b>P</b>	214,91	734,66 ± 15,47	700,00
<b>K</b>	766,49	793,32 ± 17,64	4 700,00
<b>Na</b>	588,99	382,92 ± 14,23	1 500,00
<b>Mg</b>	285,21	111,59 ± 3,74	400,00
<b>Ca</b>	317,93	84,30 ± 5,99	1 000,00

\* odporúčané denné dávky (DRIs): odporúčané denné dávky a primerané príjmy, minerály

\* vzťahnuté pre mužov vo veku 25 rokov

V Tab. 30 sú uvedené vybrané makroprvky stanovované vo vzorke, spolu s ich odporúčaným denným príjmom. Stanovené množstvá sa líšia od uvádzaného množstva v štúdiu *Barker D. a kol.* Podľa štúdie sa v 100 g vzorky nachádza približne 780 mg fosforu, 80 mg horčíku v dospelom a 160 mg v dospievajúcom jedincovi. Množstvo vápniku v dospelom jedincovi 210 mg a v dospievajúcom približne 1290 mg v 100 g vzorky [41].

Rozdielne hodnoty obsahov stanovovaných prvkov porovnávané so štúdiou je možné podložiť mnohými faktormi, ktoré ovplyvňujú rast a životný cyklus hmyzu. Tieto faktory sú popísané v kapitole 2.5.1. a patrí medzi ne napríklad metamorfny vývin hmyzu, životné štádium, prípadne druh krmiva.

Na základe výsledkov je možné zhodnotiť, že svrčia múka je skutočne bohatým zdrojom esenciálnych prvkov pre ľudské telo. V prípade takéhoto komplexného zdroja, u ktorého



obsah (na 100 g vzorky) niektorých prvkov dosahuje odporúčaný denný príjem, je možné usúdiť, že sivrčia múka by mohla byť v budúcnosti vhodnou formou potravinového doplnku, ktorý by poskytoval širokú škálu minerálnych látok pre ľudské telo.

### 5.8 Stanovenie vlákniny

Podľa postupu v kapitole 4.9 bol stanovený obsah vlákniny, ktorý je zaznamenaný v *Tab. 31*, a zároveň je porovnaný s obsahom vlákniny uvádzaným výrobcom.

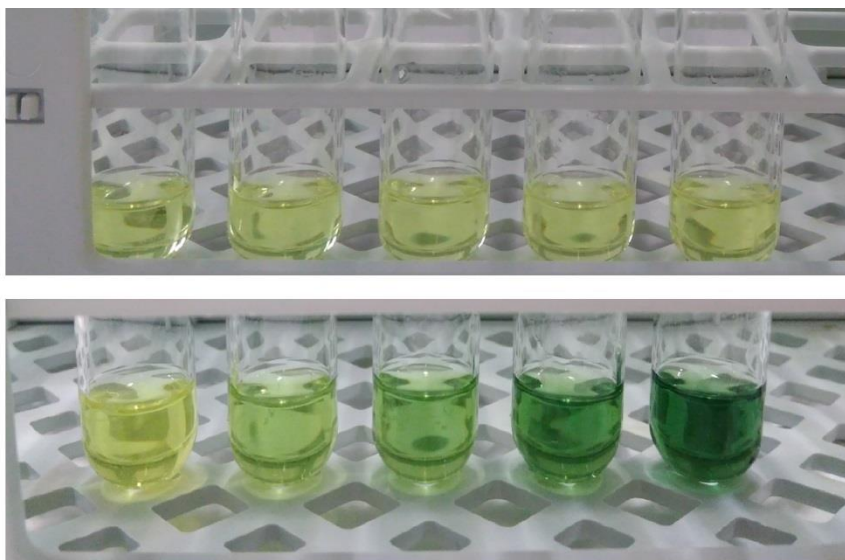
*Tab. 31: Stanovené hodnoty vlákniny*

Č. vzorky	m (vz.) [g]	m (popol) [g]	m [g/100 g]	Øm [g/100 g]	Obsah uvádzaný výrobcom [g/100 g]
1.	0,9994	0,0541	5,413		
2.	1,0000	0,0547	5,470	5,440 ± 0,023	5,570
3.	1,0007	0,0544	5,436		

Adekvátny príjem vlákniny je spojený so správnym fungovaním tráviaceho traktu, zníženým rizikom srdcových a cievnych ochorení, obezity či diabetu 2. typu. Napriek tomu ju mnoho ľudí neprijíma v dostatočnom množstve. Odporúčaný denný limit pre dospelé ženy je 21–25 g/deň a pre mužov 30–38 g/deň. Na základe metódy popísanej v kapitole 4.9 bolo zistené, že sivrčia múka obsahuje 5,4 g vlákniny v 100 g múky [71]. Obsah vlákniny je porovnateľný napríklad s obsahom vlákniny v kukurici (7,3 g/100 g) či v ryži (6,2 g/100 g) [71]. Sivrčia múka tak môže mať pozitívny vplyv na správnu funkciu tráviaceho systému a v správnej kombinácii s inými potravinami by tak spotrebitelia mohli konzumovať jej doporučený denný limit.

### 5.9 Obsah chitínu

Spektrofotometrickou metódou bolo vo vzorke stanovené množstvo chitínu. Obsah bol vypočítaný z rovnice lineárnej regresie:  $y = 0,5862x - 0,0072$ . Na *Obr. 19* je zaznamenaná farebná zmena roztokov kalibračnej rady. Výsledná hodnota bola spriemerovaná zo 6 rôznych navážok. Celkový obsah chitínu stanoveného na základe štandardu *N*-acetyl-D-glukóزامínu bol stanovený na  $8,40 \pm 0,28$  g/100 g vzorky.



Obr. 19: Farebné zmeny roztokov kalibračnej rady pred (hore) a po zahriatí (dolu) pri 70 °C po dobu 30 min.

Množstvo chitínu stanovené spektrofotometrickou metódou je porovnateľné s údajmi štúdie *Kulma M. a kol.*, v ktorej bol porovnávaný obsah chitínu medzi pohlaviami svrčka domového. V prípade všetkých testovaných skupín bol u samčekov obsah chitínu vyšší než u samičiek. Obsah chitínu u samičiek sa pohyboval v rozmedzí 5,4–5,5 g/100 g, u samčekov 6,0–6,2 g/100 g [23]. Rozdiely v stanovených množstvách môžu byť tiež ovplyvnené použitím rozličných metód.

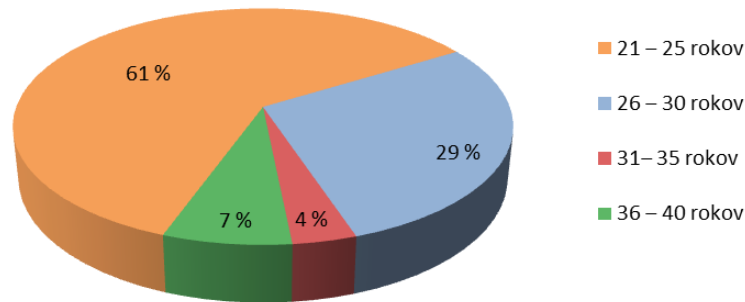
### 5.10 Senzorická analýza

Vplyv prídavku svrčej múky na senzoricke vlastnosti vybraných proteínových tyčínok bol skúmaný formou senzorickej analýzy. Išlo o zistenie či majú hodnotitelia záujem konzumovať produkty s prídavkom alternatívneho zdroja živín.

Senzorickou analýzou bolo hodnotených 9 vzoriek proteínových tyčínok od rôznych výrobcov a s rôznym typom proteínu (pozri 4.11.1). Senzorickej analýzy sa zúčastnilo 28 hodnotiteľov, ktorí najskôr odpovedali na otázky týkajúce sa ich zdravotných návykov a vzťahu k potravinovým doplnkom, následne pomocou číselných stupníc, ktoré sú popísané v kapitole 4.11.2 hodnotili chuť, vzhľad a farbu, vôňu, konzistenciu a celkové hodnotenie vzorky. Na záver usporiadali vzorky podľa vlastných preferencií od najlepšej po najhoršiu.

Hodnotenia sa zúčastnilo celkovo 28 hodnotiteľov, z toho 21 žien a 7 mužov. Až na jedného hodnotiteľa boli všetci nefajčiari. Senzorickej analýzy sa zúčastnilo najviac ľudí vo veku 21–25 rokov. Vekové rozpätie hodnotiteľov, ktorý sa zúčastnili senzorickej analýzy je uvedený na *Obr. 20*.

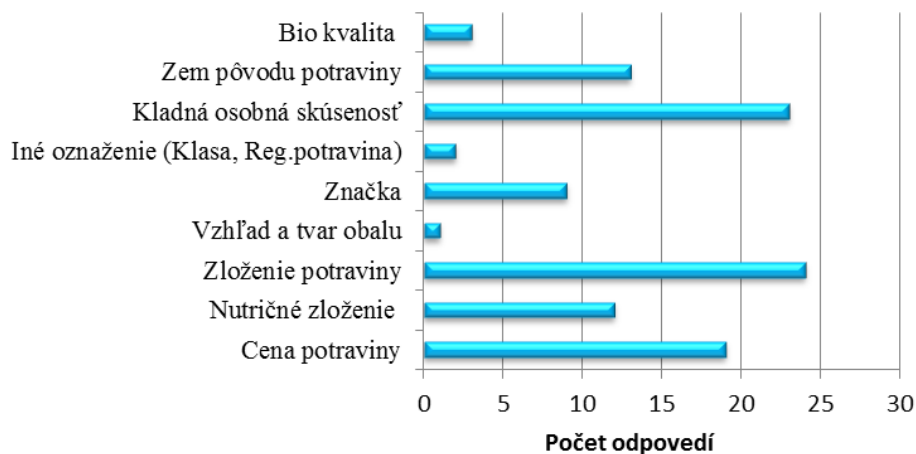
### Vekové rozpätie hodnotiteľov



Obr. 20: Vekové rozpätie hodnotiteľov

V otázke č. 2 mali hodnotitelia vybrať 1 a viac faktorov, ktoré zohľadňujú pri výbere potravín. Z grafu na Obr. 21 vyplýva, že najdôležitejšiu úlohu pri výbere potravín zohráva jej zloženie (24 odpovedí), kladná osobná skúsenosť hodnotiteľa (23 odpovedí) a cena potraviny (19 odpovedí).

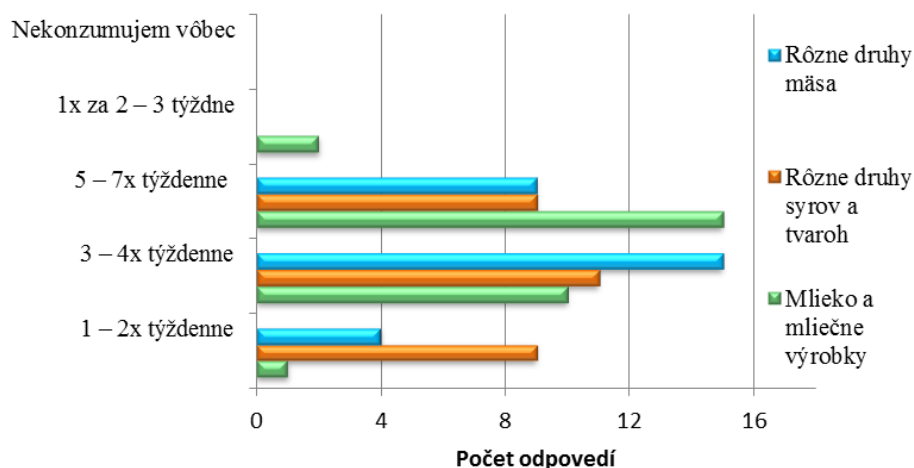
### Zohľadňujúce faktory pri výbere potravín



Obr. 21: Faktory, ktoré zohľadňujú hodnotitelia pri výbere potravín

V prípade otázok zameraných na konzumáciu rôznych zdrojov bielkovín ako sú syry, tvarohy, rôzne druhy mäsa a mliečnych výrobkov ani jeden hodnotiteľ neoznačil odpoveď, že takéto potraviny vôbec nekonzumuje. Viac ako 50 % hodnotiteľov uviedlo, že zdroje mlieka, mliečnych výrobkov a mäsa konzumuje 5–7x týždenne a takmer 40 % konzumuje rôzne druhy a tvarohov 3–4x týždenne. Obr. 22 uvádza, ako často hodnotitelia konzumujú rôzne zdroje bielkovín.

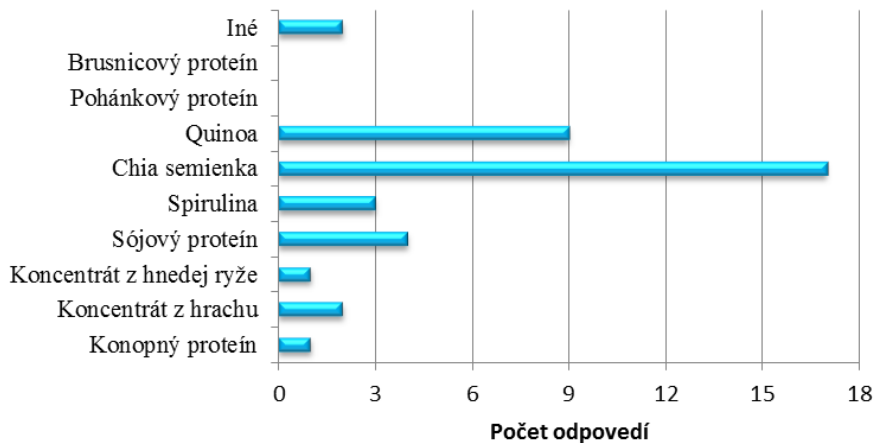
### Konzumácia rôznych zdrojov bielkovín



Obr. 22: Konzumácia rôznych zdrojov bielkovín

Na otázku týkajúcej sa alternatívnych zdrojov bielkovín bolo možné vybrať si z možností uvedených na Obr. 23. Sedem hodnotiteľov neuviedlo ani jednu z možností, čo znamená, že nekonzumujú žiadne alternatívne zdroje bielkovín a dvaja konzumujú iné zdroje mimo uvedených. Medzi hodnotiteľmi sú najviac populárne chia semenka, ktoré konzumuje až 17 z 28 hodnotiteľov a quinoa, ktorú konzumuje 9 hodnotiteľov. Brusnicový a pohánkový proteín nekonzumuje žiadny z hodnotiteľov.

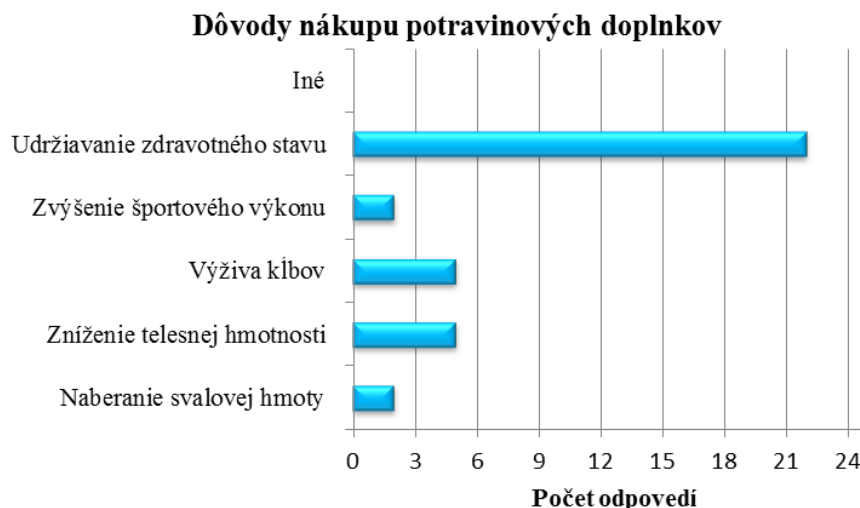
### Konzumácia alternatívnych zdrojov bielkovín



Obr. 23: Vybrané alternatívne zdroje bielkovín konzumované hodnotiteľmi

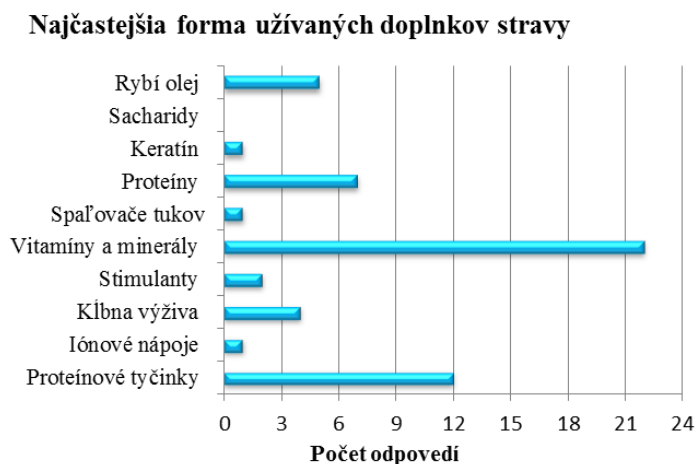
3 hodnotitelia uviedli, že nekonzumujú žiadne doplnky stravy. Z 25 hodnotiteľov, ktorí užívajú doplnky stravy 21 užíva potravinové doplnky ako sú vitamíny, minerály alebo vláknina, 9 užíva potravinové doplnky pre športovcov a 1 hodnotiteľ popíja nápoje ako sú napríklad Nutridrink či Resource.

Na Obr. 24 je možné vidieť, že 22 hodnotiteľov nakupuje potravinové doplnky kvôli udržiavaniu zdravotného stavu, 5 hodnotiteľov kvôli zníženiu telesnej hmotnosti a rovnaký počet kvôli výžive kĺbov. Najmenej hodnotiteľov uviedlo, že nakupuje doplnky kvôli naberaniu svalovej hmoty a zvýšeniu športového výkonu.



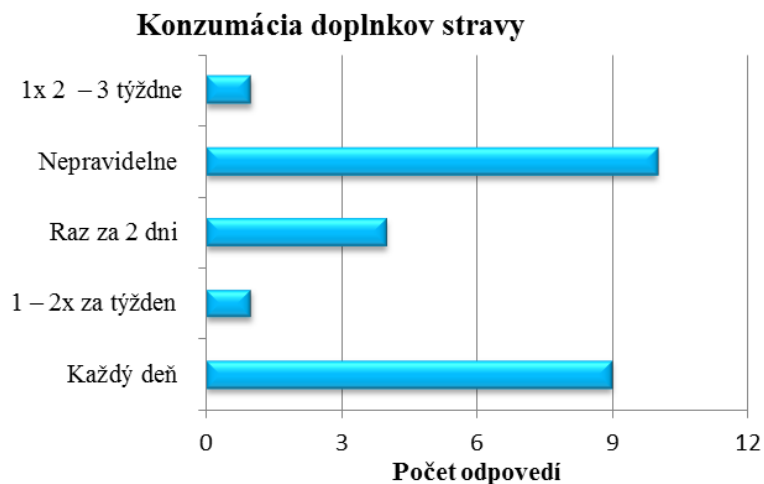
Obr. 24: Vybrané dôvody nákupu potravinových doplnkov

Medzi najčastejšie užívané formy potravinových doplnkov podľa Obr. 25 patria vitamíny a minerály, ktoré užíva takmer 80 % hodnotiteľov. 42 % hodnotiteľov uviedlo, že konzumuje proteínové tyčinky a 25 % proteíny. Necelých 18 % užíva doplnky obsahujúce rybí olej. Ani jeden z hodnotiteľov neužíva doplnky vo forme sacharidov.



Obr. 25: Vybrané formy užívaných doplnkov stravy

Na Obr. 26 je zaznamenané, ako často konzumujú hodnotitelia doplnky stravy. Až 40 % hodnotiteľov konzumujúcich doplnky stravy ich užíva každý deň, zatiaľ čo 36 % z nich užíva doplnky stravy nepravidelne.



Obr. 26: Konzumácia doplnkov stravy

Najčastejším nákupným miestom doplnkov stravy sú kamenné predajne, za ním nasleduje internetový obchod. Vo fitness centre nakupujú potravinové doplnky len 2 z 25 hodnotiteľov.

Hodnotitelia nakupujúci doplnky stravy mali usporiadať päťbodovou stupnicou (1 najviac sa zameriavam → 5 najmenej sa zameriavam) faktory, na ktoré sa zameriavajú pri nákupe doplnkov stravy. Pomocou funkcie COUNTIF v programe Excel bola zostrojená Tab. 32, v ktorej je zaznamenaná početnosť jednotlivých faktorov, ktoré boli hodnotiteľmi usporiadané. V prípade každého faktoru je vyznačená hodnota pripadajúca vždy najvyššiemu výskytu.

Tab. 32: Početnosť výskytu jednotlivých parametrov

Poradie	Cena	Značka	Zloženie	Reklama	Vzhľad produktu
1.	5	0	<u>18</u>	1	0
2.	<u>15</u>	3	4	0	3
3.	3	<u>12</u>	0	0	9
4.	1	8	2	6	<u>7</u>
5.	0	1	0	<u>17</u>	5

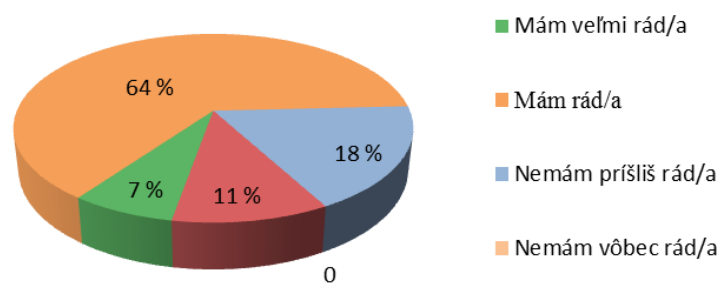
Najdôležitejším parametrom, na ktorý sa hodnotitelia zameriavajú je zloženie, ktoré uprednostňuje 18 z nich, za ním nasleduje cena, značka a vzhľad produktu. Hodnotitelia sa najmenej zameriavajú na reklamu doplnku stravy, ktorej 5. miesto priradilo 17 hodnotiteľov.

Na otázku či sú hodnotitelia ochotní priplatiť za doplnok stravy s vyššou nutričnou hodnotou odpovedalo 12 „určite áno.“ 13 hodnotiteľov uviedlo, že by boli ochotní priplatiť si za takýto doplnok len v prípade potreby, ako je napríklad odporúčanie od lekára alebo v prípade zdravotných komplikácií. Na otázku či uprednostňujú pri kúpe doplnku stravy cenu alebo kvalitu, 76 % uprednostňuje kvalitu a 24 % uprednostňuje cenu.

Cieľom otázky č. 16 bolo zistiť, na základe akých informácií si hodnotitelia vyberajú doplnky stravy. 14 hodnotiteľov si vyberá doplnky na základe vlastných skúseností, zatiaľ čo na základe skúsenosti iných (známi, recenzie) si doplnky vyberá 22 hodnotiteľov.

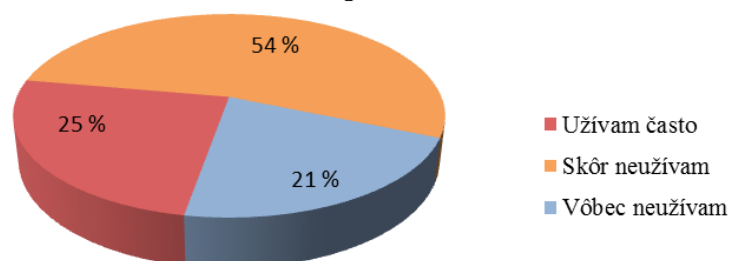
Posledné otázky prvej časti boli zamerané na stanovisko a vzťah hodnotiteľov k proteínovým doplnkom. 64 % hodnotiteľov má rado proteínové tyčinky a 11 % zatiaľ žiadnu nemalo. 54 % proteínové tyčinky skôr neužíva a 25 % hodnotiteľov proteínové doplnky užíva často. Celkové percentuálne zastúpenie odpovedí je uvedené na Obr. 27 a Obr. 28.

**Stanovisko pred ochutnávaním**



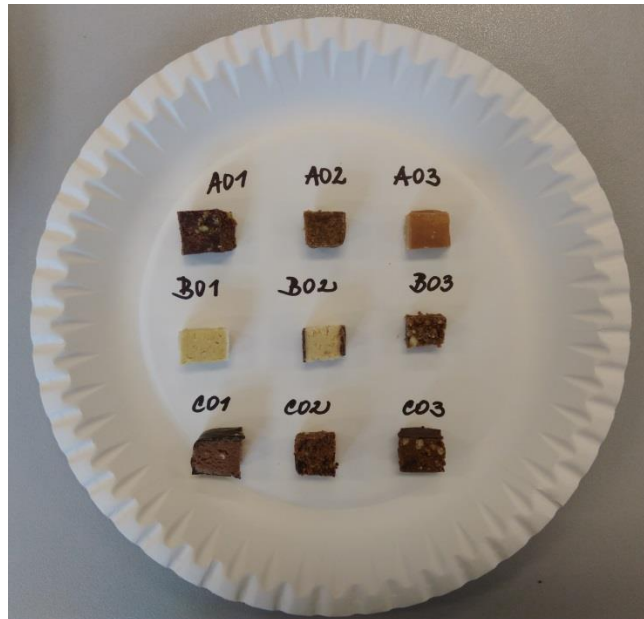
*Obr. 27: Stanovisko hodnotiteľov k proteínovým tyčinkám*

**Vzťah k potravinovým doplnkom s vyšším obsahom proteínov**



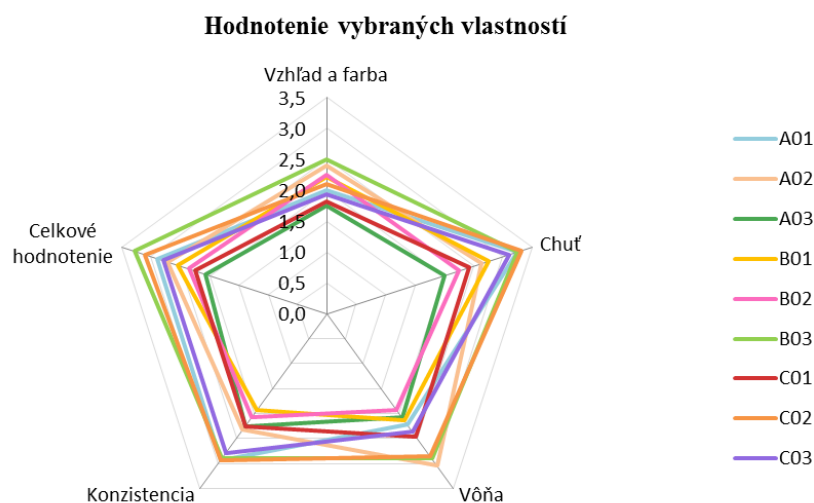
*Obr. 28: Vzťah hodnotiteľov k doplnkom stravy s vyšším obsahom proteínov*

V druhej časti dotazníku hodnotitelia sensoricky hodnotili pre nich neznáme vzorky, ktoré boli označené kódom. Ukážku hodnotených vzoriek je možné vidieť na Obr. 29.



Obr. 29: Hodnotiace vzorky označené jednotlivými kódmi

Pomocou stupnice (1 výborná → 5 nevyhovujúca) bola hodnotená chuť, vôňa, vzhľad a farba, konzistencia a celkové hodnotenie vzorky.



Obr. 30: Senzorické hodnotenie vzhľadu a farby, chuti, vône, konzistencia a celkového hodnotenia

Z grafu na Obr. 30 vyplýva, že vzhľad a farba bola najlepšie hodnotená u vzoriek A03 (tyčinka so srvátkovým a mliečnym proteínom, s príchuťou arašidové maslo), C01 (čokoládová so srvátkovým a sójovým proteínom) a C03 (čokoládová tyčinka s hrachovým proteínom) s priemerným ohodnotením 1,75, ďalej 1,82 a 1,93. Za nimi nasledovali po poradí vzorky A01, C02, B01, B02, A03 a najhoršie ohodnotenou bola B03 (tyčinka so svrčou múkou s príchuťou ananásu a kokosu).

Chuťovo boli najlepšie ohodnotené vzorky A03 (tyčinka so srvátkovým a mliečnym proteínom, s príchuťou arašidové maslo) s priemernou známku 2,00, za ňou B02 (kokosová tyčinka so srvátkovým proteínom) a C01 (čokoládová so srvátkovým a sójovým proteínom)



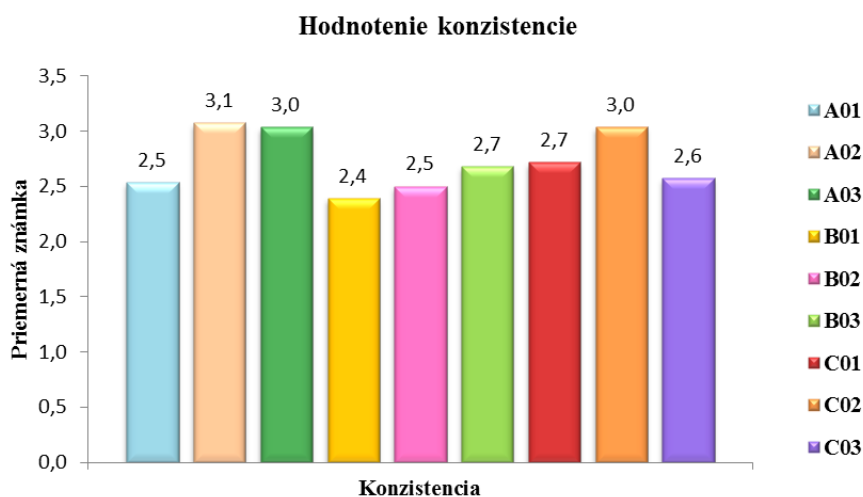
s priemerným ohodnotením 2,25 a 2,43. Ďalej boli umiestnené vzorky A02 (2,64), B01 (2,75), C03 (3,11). S rovnakým priemerným ohodnotením 3,25 sa umiestnili vzorky A01 a B03 a na poslednom mieste sa umiestnila vzorka C02 ananásovo kokosová s prídavkom svrčej múky (3,32) s priemerným ohodnotením „dobrá“.

Ďalším hodnoteným parametrom bola vôňa. Najlepšie ohodnotenou bola vzorka B02 (srvátka + kokos), ktorá dosiahla priemerné hodnotenie 1,93, za ktorou nasledovali vzorky A03 (srvátka, mliečny proteín + arašidové maslo) a B01 (srvátka + ananás s kokosom) s priemerom 2,07 a 2,14. Za nimi sa umiestnili vzorky A01, C03, C01, C02, B03. Na poslednom mieste sa umiestnila vzorka A02 (ryžový p. + arašidové maslo) s priemernou známou 3,04.

V rámci hodnotenia konzistencie sa na prvých troch miestach umiestnili rovnaké vzorky ako v prípade parametru vône, hoci v inom poradí. Najlepšia vôňa pripadá vzorke B01 (1,93), B02 (2,07) a A03 (2,25). V poradí nasledovali vzorky A02, C03, B03. Na poslednom mieste s priemernou hodnotou 2,93 a umiestnili dve vzorky pod číslom A01 a C02. Na posledných troch pozíciách sa umiestnili všetky tri vzorky obsahujúce svrčiu múku. Z toho vyplýva, že vzorky s prídavkom jedlého hmyzu nevykazujú dostatočne vyhovujúcu konzistenciu v porovnaní s tyčinkami, ktoré obsahujú iný typ proteínu.

Na základe celkového hodnotenia sa najlepšie umiestnila vzorka A03 (srvátka, mliečny proteín + arašidové maslo) s priemerným hodnotením 2,07. Druhé a tretie miesto obsadili vzorky C01 (2,25) a B02 (2,36). Po nich nasledovali vzorky B01, A02, C03. Na posledných troch miestach sa umiestnili všetky tri vzorky obsahujúce prídavok svrčiek múky A01 (2,89), C02 (3,11) a B03 (3,29).

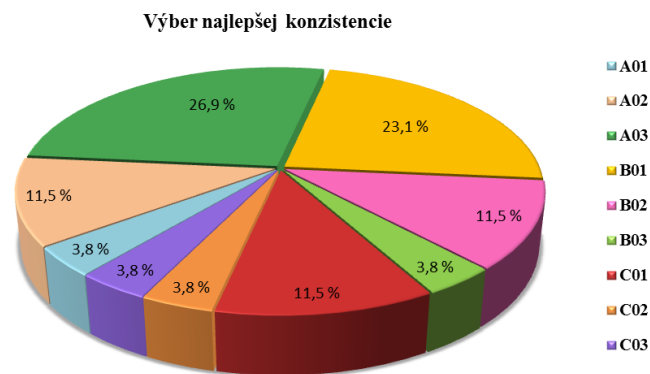
Vzorky boli hodnotené na základe konzistencie aj v samostatnej päťbodovej stupnici (1 príliš mäkká, 2 mäkká, 3 stredná, 4 tvrdá, 5 príliš tvrdá). Hodnoty priradené jednotlivým vzorkám boli spriemerované a ich porovnanie je uvedené na Obr. 31.



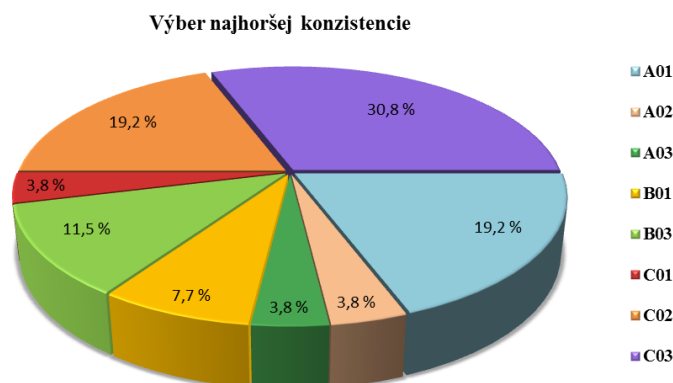
Obr. 31: Hodnotenie konzistencie/textúry vzoriek (1 príliš mäkká → 5 príliš tvrdá)

Zároveň mali hodnotitelia vybrať jednu vzorku s najlepšou a jednu s najhoršou konzistenciou. Percentuálne zastúpenie priradených hlasov je uvedení na *Obr. 32* a *Obr. 33*. Najviac hlasov v rámci najlepšej konzistencie dostala vzorka č. A03 (srvátka, mliečny proteín + arašidové maslo), ktorú označilo necelých 30 % hodnotiteľov, hneď po nej nasledovala vzorka B01 (srvátka + ananás s kokosom), ktorú označilo 23 % hodnotiteľov. Každá vzorka bola označená aspoň 1x.

V prípade označenia najhoršej konzistencie dostala najviac hlasov vzorka čokoládová tyčinka s hrachovým proteínom pod č. C03 (30,8 %) hneď za ňou sa umiestnili vzorky A01 (svrčí p. + arašidové maslo so škoricomou) a C02 (svrčí p. + tmavá čokoláda s višňou) s rovnakým počtom hlasov (19,2 %). Konzistencia vzoriek obsahujúcich svrčiu múku teda nebola pre hodnotiteľov príliš vyhovujúca. Najmenej počtov hlasov dostali vzorky A02, A03 a C01. Za najhoršiu konzistenciu nebola ani raz označená vzorka B02 (srvátka + kokos).

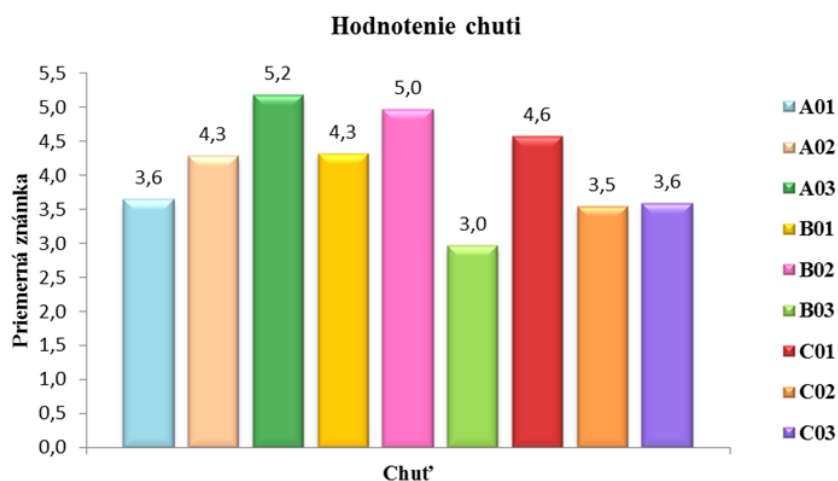


*Obr. 32: Výber vzorky s najlepšou konzistenciou*



*Obr. 33: Výber vzorky s najhoršou konzistenciou*

Sedembodovou stupnicou mali hodnotitelia popísať príjemnosť chuti vzoriek. Čím vyššia priradená hodnota, tým príjemnejšia chuť pre hodnotiteľa. Priemerné hodnoty pre každú vzorku sú uvedené na Obr. 34. Najlepšie ohodnotenou bola vzorka č. A03 obsahujúca srvátkový a mliečny proteínový izolát s priemerným ohodnotením 5,2, po nej nasledovala vzorka B02 s podielom srvátkového proteínu s kokosovou príchuťou. Na základe hodnotenia môže byť ich chuť popísaná ako „veľmi dobrá.“ Na treťom mieste bola vzorka s číslom C01 obsahujúca srvátkový proteín s čokoládovou príchuťou, ktorej hodnotenie sa pohybuje v rozmedzí „dobrá“ a „veľmi dobrá.“ Vzorka B03 obsahujúca podiel svrčej múky s príchuťou ananás a kokos dosiahla priemernú hodnotu 3,0 „menej dobrá.“ Na rozhraní hodnotenia „menej dobrá“ a „dobrá“ sa umiestnili vzorky s obsahom svrčej múky A01 a C02, podobne bola ohodnotená vzorka C03 s príchuťou čokolády obsahujúca hrachový proteín. Z výsledkov vyplýva, že hodnotiteľom najviac chutili vzorky obsahujúce srvátkový proteín, zatiaľ čo vzorky obsahujúce hrachový a hmyzí proteín boli pre nich menej chutné či nezvyčajné.



Obr. 34: Hodnotenie chuti sedembodovou stupnicou (1 neprijateľná → 7 vynikajúca)

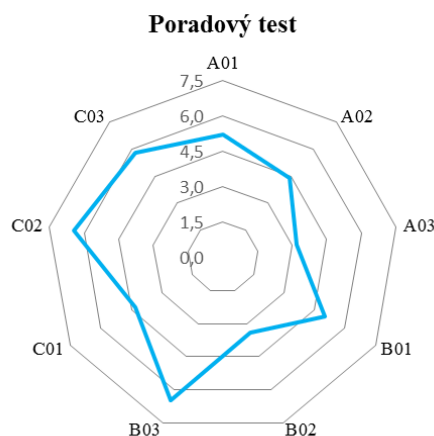
V poradovom teste mali hodnotitelia usporiadať vzorky podľa vlastných preferencií od najlepšej po najhoršiu (od 1 do 9). Pomocou funkcie COUNTIF v programe Excel bola zostrojená Tab. 33, v ktorej je zaznamenaná početnosť výskytov jednotlivých vzoriek v poradovom teste. Na základe početnosti bol zostrojený graf početnosti, ktorý je uvedený na Obr. 35.

Tab. 33: Početnosť výskytov jednotlivých vzoriek v poradovom teste

	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.
<b>A01</b>	1	1	5	5	2	<u>7</u>	2	3	2
<b>A02</b>	1	4	5	4	<u>7</u>	3	2	2	0
<b>A03</b>	<u>8</u>	5	4	5	1	2	2	1	0
<b>B01</b>	4	<u>7</u>	1	0	2	2	4	3	5

Tab. 33 pokračovanie: Početnosť výskytov jednotlivých vzoriek v poradovom teste

	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.
<b>B02</b>	4	6	<u>7</u>	3	3	4	0	1	0
<b>B03</b>	1	1	3	0	4	3	5	3	<u>8</u>
<b>C01</b>	3	5	2	<u>6</u>	4	2	4	1	1
<b>C02</b>	3	0	1	2	1	4	<u>6</u>	4	7
<b>C03</b>	2	1	2	4	3	3	3	<u>8</u>	2



Obr. 35: Výsledky poradového testu

V poradovom teste sa na prvom mieste umiestnila vzorka č. A03, vzorka značky ONE s príchuťou arašidového masla a s obsahom srvátkového a mliečného proteínového izolátu. Na druhom mieste sa umiestnila vzorka B01, vzorka značky NUTREND s obsahom srvátkového proteínu a s príchuťou ananás a kokos. Na tretie miesto sa umiestnila vzorka B02, tyčinka s obsahom srvátkového proteínu s príchuťou kokosu od značky NUTREND. Za nimi nasleduje čokoládová tyčinka s podielom srvátkového a sójového proteínu od značky MAXSPORT a RAW tyčinka s príchuťou arašidového masla obsahujúca ryžový proteín. Na šiestom a siedmom mieste sa umiestnili proteínové tyčinky SENS s obsahom svrčej múky (*Acheta domesticus*) s príchuťou arašidové maslo so škoricou a čokoláda s višňami. Na predposlednom mieste sa umiestnila tyčinka s hrachovým proteínom od značky Garden of life s čokoládovou príchuťou. Proteínová tyčinka SENS s ananásovo kokosovou príchuťou a s prídavkom svrčej múky sa umiestnila na poslednom mieste.

Senzorické vlastnosti sú dôležitými kritériami ktoré sprevádzajú konzumáciu jedlého hmyzu. Chuť je veľmi rôznorodá a je ovplyvnená najmä feromónmi. Vplyv na chuť má aj prostredie, v ktorom hmyz žije a krmivo, ktoré konzumuje. Výber krmiva môže byť prispôbený v závislosti na požadovanej finálnej chuti hmyzu [9]. To by mohlo byť podkladom pre optimalizáciu chuti produktov s obsahom hmyzieho proteínu. Viac informácií o faktoroch ovplyvňujúcich výsledné senzorické vlastnosti, môžu viesť k efektívnejšiemu vývoju príjemnejších a harmonickejších chutí výsledných produktov obsahujúcich hmyz.

## 6 ZÁVER

Predložená diplomová práca bola zameraná na analýzu svrčej múky z hľadiska jej nutričného prínosu. V experimentálnej časti boli stanovované vybrané aktívne zložky obsiahnuté v svrčej múke pomocou rôznych analytických metód.

Z vybraných aktívnych látok boli spektrofotometrickou metódou podľa Duboise stanovované celkové sacharidy, extrakcia sacharidov bola prevedená za rôznych podmienok.

Metódou podľa Folcha bol stanovený obsah lipidov, ktorý je podľa rôznych štúdií ovplyvnený najmä typom krmiva a životnou fázou hmyzu. Metódou GC-FID boli vo vzorke kvantifikované mastné kyseliny, vo vzorke boli kvantifikované nasýtené, mononenasýtené aj polynenasýtené mastné kyseliny. Pozitívny účinok na ľudské zdravie môže mať svrčia múka najmä vďaka obsahu  $\omega$ -3 a  $\omega$ -6 mastným kyselinám, ktoré zastupujú kyseliny  $\alpha$ -linolenová a linolová.

Množstvo celkového dusíku a hrubej bielkoviny bolo stanovené metódou podľa Kjeldahla, ktorú predchádzala vhodná mineralizácia vzorky. Po prevedení destilácie a titrácie bolo stanovené množstvo dusíku, na základe ktorého bolo vypočítané množstvo hrubej bielkoviny. Celkový obsah bol stanovený na  $50,5 \pm 0,6$  g/100 g. Z toho vyplýva, že svrčia múky by mohla byť vhodná vo forme potravinového doplnku s vyšším obsahom proteínov.

Pre stanovenie veľkosti proteínových fragmentov vyskytujúcich sa v analyzovanej vzorke bola využitá vertikálna gélová elektroforéza SDS-PAGE. V tomto prípade bola prevedená optimalizácia prípravy vzoriek, gélu a samotného prevedenia analýzy. Najvhodnejšia metóda prípravy vzorky spočívala v správnom riedení 10 mg vzorky v 1 ml mQ vody. Pre analýzu bolo najvhodnejšie použitie 8 % rozdeľovacieho gélu v kombinácii s 8 % zaostrovacím gélom. Samotný beh elektroforézy prebehol najlepšie pri 70 V a 120 mA po dobu 2,5 hod. Vďaka týmto podmienkam, bol rebríček štandardu viditeľne rozdelený a veľkosť proteínových štandardov bola stanovená na 130–180 kDa. Táto optimalizácia podmienok pre vertikálnu elektroforézu SDS-PAGE môže byť podkladom pre ďalšie práce, ktoré budú riešiť problematiku veľkosti proteínov vo vzorkách s podobným zložením. Na základe vytvorených pásov pozdĺž behu vzoriek, bude potrebné zistiť presnejšie informácie týkajúcej sa prípravy vzoriek. Pravdepodobne bude vhodné odstrániť zo vzorky nerozpustené fragmenty a pripraviť si vzorky s presnou koncentráciou proteínov.

Metódou tenkovrstvovej papierovej chromatografie bolo vo vzorke stanovených 6 aminokyselín. Asparagín, alanín, arginín, cysteín, treonín, prolín a kyselina asparágová boli stanovené na základe výpočtu retenčných faktorov. Obsah aminokyselín je podľa rôznych štúdií porovnateľný s obsahom aminokyselín v hovädzom mäse či v sóji. Z výsledkov teda vyplýva, že svrčia múka by skutočne mohla byť alternatívnou náhradou rôznych druhov mäsa.

Metódou ICP-OES boli vo vzorke stanovené významné množstvá minerálnych látok. V prípade mikroprvkov bola najvyššia koncentrácia stanovená pre zinok, železo, hliník a mangán, z makroprvkov to bol draslík, fosfor a sodík. Avšak ani ďalšie stanovené množstvá vybraných prvkov nie sú zanedbateľné. V experimentálnej časti bolo potvrdené, že svrčia múka je bohatá na esenciálne prvky pre ľudské telo. Vďaka vysokému obsahu zinku môže prispievať k podpore imunitného systému či hojeniu rán, obsah vápniku môže viesť k regulácii krvného tlaku a k podpore kostí a zubov. Ďalšie prvky obsiahnuté v nej môžu pozitívne vplývať na tvorbu hemoglobínu, aktiváciu rôznych enzýmov, zabraňovaniu škodlivých látok v tele alebo k udržaniu hladiny cukru v krvi.

Spektrofotometrickou metódou za použitia štandardu *N*-acetyl-D-glukóزامínu bolo stanovené množstvo chitínu vo vzorke. Pred samotným meraním bolo potrebné chitín hydrolyzovať 12 hodinovým varom v kyseline chlorovodíkovej. Množstvo chitínu bolo stanovené na  $8,4 \pm 0,3$  g/100 g.

Súčasťou experimentálnej časti bolo prevedenie senzorickej analýzy vybraných proteínových tyčínok, obsahujúcich rôzne druhy proteínov a príchutí. Podstatou senzorickej analýzy bolo, či takto nutrične obohatený produkt môže byť pre spotrebiteľa prijateľný aj po senzorickej stránke. Senzorickej analýzy sa celkovo zúčastnilo 28 hodnotiteľov, ktorí najskôr odpovedali na otázky týkajúce sa ich zdravotných návykov a následne senzoricke analyzovali vybrané, pre nich neznáme vzorky. Proteínové tyčinky s 10 % a 20 % prídavkom svrčej múky (100 % *Acheta domesticus*) skončili v poradovom teste na šiestom, siedmom a deviatom mieste. V tomto prípade by bolo vhodné optimalizovať senzoricke vlastnosti produktov obsahujúcich svrčiu múku. Keďže konzistencia hodnotiteľom príliš nevyhovovala, bolo by ju vhodné upraviť. Textúra by mohla mať homogénnejší charakter, prípadne by mohla byť upravená prídavkom kúskov ovocia s obsahom ovocných štiav. Po chuťovej stránke by mohlo mať tiež pozitívny účinok použitie širšieho sortimentu príchutí. Na základe toho, že sa v senzorickej analýze uplatnili najmä príchute ako arašidové maslo či kokos, bolo by vhodné skúsiť aj príchute s rôznymi druhmi orechov.

Svrčia múka sa preukázala ako potravina s vysokým obsahom nutrične významných látok, ktorá by mohla mať pozitívny nutričný prínos pre obyvateľstvo.

## 7 ZDROJE

1. AKHTAR, Y. a M.B. ISMAN. Insects as an Alternative Protein Source. *Proteins in Food Processing* [online]. Elsevier, 2018, 2018, , 263-288 [cit. 2019-04-20]. DOI: 10.1016/B978-0-08-100722-8.00011-5. ISBN 9780081007228. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780081007228000115>
2. BERGGREN, Åsa, Anna JANSSON a Matthew LOW. Approaching Ecological Sustainability in the Emerging Insects-as-Food Industry. *Proteins in Food Processing* [online]. Elsevier, 2019, 2018, **34**(2), 132-138 [cit. 2019-05-05]. DOI: 10.1016/j.tree.2018.11.005. ISBN 9780081007228. ISSN 01695347. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0169534718302763>
3. HUIS, Arnold van. *Edible insects: future prospects for food and feed security* [online]. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2013 [cit. 2019-04-08]. FAO forestry paper, 171. ISBN 978-92-5-107596-8.
4. GONZÁLEZ, Cristina M., Raquel GARZÓN a Cristina M. ROSELL. Insects as ingredients for bakery goods. A comparison study of *H. illucens*, *A. domestica* and *T. molitor* flours [online]. 2019, 51, 205-210 [cit. 2019-05-09]. DOI: 10.1016/j.ifset.2018.03.021. ISSN 14668564. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S146685641830016X>
5. NARIADENIE EURÓPSKEHO PARLAMENTU A RADY (EÚ) č. 2015/2283 z dňa 25. novembra 2015 o nových potravinách, ktorým sa mení nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) č. 1169/2011, ktorým sa zrušuje nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (ES) č. 25/97 a nariadenie Komisie (ES) č. 1852/2001. In: ročník 2015, č. 2283. Dostupné z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/SK/TXT/?qid=1545492416626&uri=CELEX:32015R2283>
6. GULLAN, P. J. a P. S. CRANSTON. The insects: an outline of entomology. 4th ed. Hoboken, NJ: Wiley-Blackwel, 2010. ISBN 978-1-4443-3036-6.
7. TAO, Jaynie a Yao Olive LI. Edible insects as a means to address global malnutrition and food insecurity issues. *Food Quality and Safety* [online]. 2018, **2**(1), 17-26 [cit. 2019-05-09]. DOI: 10.1093/fqsafe/fyy001. ISSN 2399-1399. Dostupné z: <https://academic.oup.com/fqs/article/2/1/17/4911878>
8. SIDALI, Katia Laura, Sofia PIZZO, Edgardo I. GARRIDO-PÉREZ a Guenter SCHAMEL. Between food delicacies and food taboos: A structural equation model to assess Western students' acceptance of Amazonian insect food. *Food Research International* [online]. 2019, **115**(2), 83-89 [cit. 2019-05-05]. DOI: 10.1016/j.foodres.2018.07.027. ISSN 09639969. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0963996918305659>
9. KOUŘIMSKÁ, Lenka, Anna ADÁMKOVÁ, Arnold VAN HUIS, Joop J. A. VAN LOON a Nikos T PAPADOPOULOS. Nutritional and sensory quality of edible insects. *NFS Journal* [online]. 2016, **4**(12), 22-26 [cit. 2019-01-15]. DOI: 10.1016/j.nfs.2016.07.001. ISSN 23523646. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2352364616300013>
10. LACEY, Rachael. CRICKETS AS FOOD: The perceptions of and barriers to entomophagy and the potential for widespread incorporation of cricket flour in American diets. *University of Michigan*, 2016. Senior Honors Thesis. University of Michigan.

11. OONINCX, Dennis G. A. B., Sarah VAN BROEKHOVEN, Arnold VAN HUIS, Joop J. A. VAN LOON a Nikos T PAPADOPOULOS. Feed Conversion, Survival and Development, and Composition of Four Insect Species on Diets Composed of Food By-Products. PLOS ONE [online]. 2015, **10**(12), 17-26 [cit. 2019-01-04]. DOI: 10.1371/journal.pone.0144601. ISSN 1932-6203. Dostupné z: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0144601>
12. YEN, A.L., Anna ADÁMKOVÁ, Arnold VAN HUIS, Joop J. A. VAN LOON a Nikos T PAPADOPOULOS. Insects as food and feed in the Asia Pacific region: current perspectives and future directions. Journal of Insects as Food and Feed [online]. 2015, 1(1), 33-55 [cit. 2019-01-08]. DOI: 10.3920/JIFF2014.0017. ISSN 2352-4588. Dostupné z: <https://www.wageningenacademic.com/doi/10.3920/JIFF2014.0017>
13. WALIA, K., A. KAPOOR, J.M. FARBER, Joop J. A. VAN LOON a Nikos T PAPADOPOULOS. Qualitative risk assessment of cricket powder to be used to treat undernutrition in infants and children in Cambodia: current perspectives and future directions. Food Control [online]. 2018, **92**(1), 169-182 [cit. 2019-01-08]. DOI: 10.1016/j.foodcont.2018.04.047. ISSN 09567135. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S095671351830210X>
14. In: Sensbar.com [online]. 2018 [cit. 2019-03-08]. Dostupné z: <https://www.sensbar.com/cz/blog/new-cricket-farm-started-production>
15. NARIADENIE EURÓPSKEHO PARLAMENTU A RADY (ES) č. 258/97 z dňa 27. januára 1997 o nových potravinách a nových prídavných látkach. In: ročník 1997, č.258. Dostupné z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/SK/ALL/?uri=CELEX:31997R0258>
16. Hmyz. Www.bezpecnostpotravin.cz [online]. 2018 [cit. 2018-12-13]. Dostupné z: <https://www.bezpecnostpotravin.cz/kategorie/hmyz.aspx>
17. Uvádění hmyzu na trh jako potraviny – situace v ČR. Www.bezpecnostpotravin.cz [online]. 2018, 29.3. 2018 [cit. 2018-12-13]. Dostupné z: <https://www.bezpecnostpotravin.cz/uvadeni-hmyzu-na-trh-jako-potravin-y-situace-v-cr.aspx>
18. H. RESH, Vincent, ed. Encyclopedia of Insects [online]. 2009-07-22. Elsevier Science & Technology, 2009 [cit. 2018-12-14]. ISBN 9780080920900. Dostupné z: <https://ebookcentral.proquest.com/lib/mzk/detail.action?docID=452854#>
19. BEUTEL, Rolf. Insect morphology and phylogeny: a textbook for students of entomology [online]. New York: De Gruyter, [2013] [cit. 2019-04-07]. ISBN 978-3-11026404-3.
20. TROPEK, Robert a Jiří ŘEHOUNEK, ed. Bezobratlí postindustriálních stanovišť: význam, ochrana a management. České Budějovice: Entomologický ústav AV ČR, 2012. ISBN 978-80-86668-23-9.
21. MCGAVIN, George. Hmyz: pavoukovci a jiní suchozemští členovci. V Praze: Knižní klub, 2005. Příroda v kostce. ISBN 80-242-1340-0.
22. dostupné z: [https://www.researchgate.net/figure/Female-house-cricket-Acheta-domesticus-Note-the-ovipositor-arrow-Photo-courtesy-of\\_fig24\\_266614745](https://www.researchgate.net/figure/Female-house-cricket-Acheta-domesticus-Note-the-ovipositor-arrow-Photo-courtesy-of_fig24_266614745)
23. KULMA, Martin, Lenka KOUŘIMSKÁ, Vladimír PLACHÝ, Matěj BOŽIK, Anna ADÁMKOVÁ a Vladimír VRABEC. Effect of sex on the nutritional value of house cricket, *Acheta domestica* L. Food Chemistry [online]. 2019, , 267-272 [cit. 2019-05-



- 04]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2018.08.049. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S030881461831450X>
24. BERDANIER, Carolyn D. a Lynne BERDANIER. Advanced nutrition: macronutrients, micronutrients, and metabolism [online]. Second edition. Boca Raton, [2015] [cit. 2019-01-10]. ISBN 978-148-2205-176]
  25. EDITORS, Navam S. Hettiarachchy a Kenji Sato ASSOCIATE EDITORS. Food Proteins and Peptides Chemistry, Functionality, Interactions, and Commercialization. Hoboken: CRC Press, 2012. ISBN 978-142-0093-421.
  26. YI, Liya, Catriona M.M. LAKEMON, Leonard M.C. SAGIS, Verena EISNER-SCHADLER, Arnold VAN HUIS a Martinus A.J.S. VAN BOEKEL. Extraction and characterisation of protein fractions from five insect species. Food Chemistry [online]. 2013, **141**(4), 3341-3348 [cit. 2019-05-01]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2013.05.115. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814613007218>
  27. MEYNIER, Anne a Claude GENOT. Molecular and structural organization of lipids in foods: their fate during digestion and impact in nutrition. OCL [online]. 2017, **24**(2) [cit. 2019-01-11]. DOI: 10.1051/ocl/2017006. ISSN 2272-6977. Dostupné z: <http://www.ocl-journal.org/10.1051/ocl/2017006>
  28. HUTCHINS, Roderick F. N. a Michael M. MARTIN. The lipids of the common house cricket, *Acheta domesticus* L. I. Lipid classes and fatty acid distribution. Lipids [online]. 1968, **3**(3), 247-249 [cit. 2019-05-01]. DOI: 10.1007/BF02531195. ISSN 0024-4201. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1007/BF02531195>
  29. VELÍŠEK, Jan. Chemie potravin. Vyd. 2. upr. Tábor: OSSIS, 2002. ISBN 80-866-5900-3.
  30. LUDWIG, David S, Frank B HU, Luc TAPPY a Jennie BRAND-MILLER. Dietary carbohydrates: role of quality and quantity in chronic disease. BMJ [online]. 2017, **24**(2) [cit. 2019-01-24]. DOI: 10.1136/bmj.k2340. ISSN 0959-8138. Dostupné z: <http://www.bmj.com/lookup/doi/10.1136/bmj.k2340>
  31. TOMASIK, Piotr. Chemical and functional properties of food saccharides. Boca Raton: CRC Press, c2004. ISBN 08-493-1486-0.
  32. GOLDSTEIN, Myrna Chandler a Mark A. GOLDSTEIN. Vitamins and minerals: fact versus fiction. Santa Barbara, California: Greenwood, an imprint of ABC-CLIO, [2018]. ISBN 978-144-0852-091.
  33. MA, Xiaofei, Miaomiao LV, Debbie P. ANDERSON a Peter R. CHANG. Natural polysaccharide composites based on modified cellulose spheres and plasticized chitosan matrix: role of quality and quantity in chronic disease. Food Hydrocolloids [online]. 2017, **66**(2), 276-285 [cit. 2019-01-24]. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2016.11.038. ISSN 0268005X. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0268005X16308864>
  34. RINAUDO, Marguerite, Miaomiao LV, Debbie P. ANDERSON a Peter R. CHANG. Chitin and chitosan: Properties and applications. Progress in Polymer Science [online]. 2006, **31**(7), 603-632 [cit. 2019-01-19]. DOI: 10.1016/j.progpolymsci.2006.06.001. ISSN 00796700. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0079670006000530>
  35. VAVŘÍKOVÁ, Eva a Jarmila VINŠOVÁ. Chitosan a jeho farmaceutické aplikace. Chemické listy. 2009, (103), 56-65.

36. KOIDE, S.S. Chitin-chitosan: Properties, benefits and risks. *Nutrition Research* [online]. 1998, **18**(6), 1091-1101 [cit. 2019-01-19]. DOI: 10.1016/S0271-5317(98)00091-8. ISSN 02715317. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0271531798000918>
37. YOUNES, Islem a Marguerite RINAUDO. Chitin and Chitosan Preparation from Marine Sources. Structure, Properties and Applications. *Marine Drugs* [online]. 2015, **13**(3), 1133-1174 [cit. 2019-04-06]. DOI: 10.3390/md13031133. ISSN 1660-3397. Dostupné z: <http://www.mdpi.com/1660-3397/13/3/1133>
38. FINKE, Mark D. Complete nutrient composition of commercially raised invertebrates used as food for insectivores. *Zoo Biology* [online]. 2002, **21**(3), 269-285 [cit. 2019-05-05]. DOI: 10.1002/zoo.10031. ISSN 0733-3188. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/zoo.10031>
39. EMBERKOVICS, Éva, Erika CZINNER, Klára SZENTMIHÁLYI, Andrea BALÁZS a Éva SZŐKE. Comparative evaluation of Helichrysi flos herbal extracts as dietary sources of plant polyphenols, and macro- and microelements: Properties, benefits and risks. *Food Chemistry* [online]. 2002, **78**(1), 119-127 [cit. 2018-11-25]. DOI: 10.1016/S0308-8146(02)00204-2. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814602002042>
40. BARTHOLOMEW, Anita a Nancy MONSON. *Making sense of vitamins and minerals: choosing the foods and nutrients you need to stay healthy* [online]. Boston, MA: Harvard Medical School, [2015] [cit. 2018-12-03]. ISBN 978-1-61401-104-0.
41. BARKER, Dayna, Marianne P. FITZPATRICK a Ellen S. DIERENFIELD. Nutrient composition of selected whole invertebrates. *ZOO Biology* [online]. 1998, 17(2), 123-134 [cit. 2019-05-04]. Dostupné z: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/%28SICI%291098-2361%281998%2917%3A2%3C123%3A%3AAID-ZOO7%3E3.0.CO%3B2-B>
42. VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin*. Vyd. 2. upr. Tábor: OSSIS, 2002. ISBN 80-866-5901-1.
43. DURST, Patrick B., Dennis V. JOHNSON, Robin N. LESLIE a Kenichi SHONO. *Edible forest insects*. Bangkok, Thailand: FAO, 2010. ISBN 978-92-5-106488-7.
44. KLOUDA, Pavel. *Moderní analytické metody*. 2., upr. a dopl. vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 2003. ISBN 80-863-6907-2.
45. FIFIELD, F. W. a D. KEALEY. *Principles and practice of analytical chemistry*. 4th ed. New York: Pavel Klouda, 1995. ISBN 07-514-0226-5.
46. SOMMER, Lumír a D. KEALEY. *Základy analytické chemie*. 4th ed. Brno: VUTIUM, 2000. ISBN 80-214-1742-0.
47. SKOOG, Douglas A. a D. KEALEY. *Principles of instrumental analysis*. 4th ed. Fort Worth: Harcourt Brace College Publishers, 1992. ISBN 00-307-5398-8.
48. SMOLKOVÁ, Eva, FELTL, Ladislav a PACÁKOVÁ, Věra. *Plynová chromatografie II.: Instrumentální část*. 1. Praha: Univerzita Karlova, 1983, 109 s.
49. HAMES, B. D. Gel electrophoresis of proteins: a practical approach [online]. 3rd ed. New York: Oxford University Press, 1998 [cit. 2019-04-06]. ISBN 01-996-3640-0.
50. BRAUN, Ralf J., Norbert KINKL, Monika BEER a Marius UEFFING. Two-dimensional electrophoresis of membrane proteins. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* [online]. Elsevier, 2007, 1972, **389**(4), 1033-1045 [cit. 2019-04-06].

- Methods in Enzymology. DOI: 10.1007/s00216-007-1514-6. ISBN 9780121818890. ISSN 1618-2642. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s00216-007-1514-6>
51. MÁROVÁ, Ivana a Stanislav OBRUČA. Vybrané instrumentální úlohy z aplikované biochemie. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2013. ISBN 978-80-214-4788-2.
  52. WEBER, K, J.R PRINGLE a M OSBORN. [1] Measurement of molecular weights by electrophoresis on SDS-acrylamide gel. *Enzyme Structure, Part C* [online]. Elsevier, 1972, 1972, , 3-27 [cit. 2019-04-06]. Methods in Enzymology. DOI: 10.1016/S0076-6879(72)26003-7. ISBN 9780121818890. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0076687972260037>
  53. ROUESSAC, Francis a Annick ROUESSAC. Chemical analysis: modern instrumentation methods and techniques. 2nd ed. Chichester: John Wiley, 2007. ISBN 978-0-470-85903-2.
  54. HOLZBECHER, Závíš a Jaroslav CHURÁČEK. Analytická chemie. 1. vyd. Praha: SNTL/ALFA, 1987
  55. HE, Man, Bin HU, Beibei CHEN a Zucheng JIANG. Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry for Rare Earth Elements Analysis. *Physical Sciences Reviews* [online]. 2017, 2(1) [cit. 2019-04-06]. DOI: 10.1515/psr-2016-0059. ISSN 2365-659X. Dostupné z: <http://www.degruyter.com/view/j/psr.2017.2.issue-1/psr-2016-0059/psr-2016-0059.xml>
  56. Inorganic trace analytics: trace element analysis and speciation [online]. Berlin: De Gruyter, [2018] [cit. 2019-04-06]. ISBN 978-3-11-039245-6.
  57. RURY, Maura. He Importance of Method Development for Trace-Element Analysis by Inductively Coupled Plasma–Optical Emission Spectroscopy. *Spectroscopy* [online]. 2016, 31(5), 16-32 [cit. 2019-04-06]. Dostupné z: <http://www.spectroscopyonline.com/importance-method-development-trace-element-analysis-inductively-coupled-plasma-optical-emission-spe?pageID=1>
  58. RUMPOLD, Birgit A., Oliver K. SCHLÜTER, Beibei CHEN, Zucheng JIANG a Éva SZÓKE. Nutritional composition and safety aspects of edible insects: Properties, benefits and risks. *Physical Sciences Reviews* [online]. Elsevier, 2013, 1972, 57(5), 802-823 [cit. 2019-05-08]. Methods in Enzymology. DOI: 10.1002/mnfr.201200735. ISBN 9780121818890. ISSN 16134125. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/mnfr.201200735>
  59. PAUL, Aman, Michel FREDERICH, Rudy Caparros MEGIDO, et al. Insect fatty acids: A comparison of lipids from three Orthopterans and Tenebrio molitor L. larvae. *Journal of Asia-Pacific Entomology* [online]. Elsevier, 2017, 1972, 20(2), 337-340 [cit. 2019-05-09]. Methods in Enzymology. DOI: 10.1016/j.aspen.2017.02.001. ISBN 9780121818890. ISSN 12268615. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1226861516305052>
  60. RUMPOLD, Birgit A., Oliver K. SCHLÜTER, Rudy Caparros MEGIDO, et al. Potential and challenges of insects as an innovative source for food and feed production: A comparison of lipids from three Orthopterans and Tenebrio molitor L. larvae. *Journal of Asia-Pacific Entomology* [online]. Elsevier, 2013, 1972, 17(2), 1-11 [cit. 2019-05-09]. Methods in Enzymology. DOI: 10.1016/j.ifset.2012.11.005. ISBN 9780121818890. ISSN 14668564. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1466856412001452>

61. DOSSEY, A.T., J.T. TATUM, W.L. MCGILL, et al. Modern Insect-Based Food Industry: Current Status, Insect Processing Technology, and Recommendations Moving Forward. *Insects as Sustainable Food Ingredients* [online]. Elsevier, 2016, 2016, **17**(2), 113-152 [cit. 2019-05-09]. Methods in Enzymology. DOI: 10.1016/B978-0-12-802856-8.00005-3. ISBN 9780128028568. ISSN 14668564. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128028568000053>
62. ČOPÍKOVÁ, Jana. *Chemie a analytika sacharidů*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 1997. ISBN 80-708-0306-1.
63. CARRASCO-PANCORBO, Alegría, Natalia NAVAS-IGLESIAS a Luis CUADROS-RODRÍGUEZ. From lipid analysis towards lipidomics, a new challenge for the analytical chemistry of the 21st century. Part I: Modern lipid analysis. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*[online]. 2009, **28**(3), 263-278 [cit. 2019-01-04]. DOI: 10.1016/j.trac.2008.12.005. ISSN 01659936. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0165993608002811>
64. FOLCH, J, M LEES a G H SLOANE STANLEY. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *The Journal of biological chemistry* [online]. 5705, **226**(1), 497 [cit. 2019-01-28]. ISSN 0021-9258. Dostupné z: <http://www.jbc.org/content/226/1/497.long>
65. MICHAŁOWSKI, Tadeusz, Agustin G. ASUERO a Sławomir WYBRANIEC. The Titration in the Kjeldahl Method of Nitrogen Determination: Base or Acid as Titrant?. *Journal of Chemical Education* [online]. 2012, **90**(2), 191-197 [cit. 2019-01-28]. DOI: 10.1021/ed200863p. ISSN 0021-9584. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/10.1021/ed200863p>
66. HÁLKOVÁ, Jana, Marie RUMÍŠKOVÁ a Jana RIEGLOVÁ. *Analýza potravin*. 2. vyd. Újezd u Brna: I. Straka, 2001. ISBN 80-864-9402-0.
67. HORIBA SCIENTIFIC, . ULTIMA 2: The Ultimate in ICP-OES. In: *Florida Atlantic University: Water Lab* [online]. Florida: Florida Atlantic University, 2018 [cit. 2019-04-03]. Dostupné z: <http://www.geosciences.fau.edu/water-lab/ICP.pdf>
68. KATANO, Hajime, Masahiro TAKAKUWA, Hajime HAYAKAWA a Hisashi KIMOTO. Determination of Chitin Based on the Colorimetric Assay of Glucosamine in Acidic Hydrolysate: Base or Acid as Titrant?. *Analytical Sciences* [online]. 2016, **32**(6), 701-703 [cit. 2019-04-24]. DOI: 10.2116/analsci.32.701. ISSN 0910-6340. Dostupné z: [https://www.jstage.jst.go.jp/article/analsci/32/6/32\\_701/article](https://www.jstage.jst.go.jp/article/analsci/32/6/32_701/article)
69. OSIMANI, Andrea, Vesna MILANOVIĆ, Federica CARDINALI, et al. Bread enriched with cricket powder ( *Acheta domesticus* ): A technological, microbiological and nutritional evaluation. *Analytical Sciences* [online]. 2018, **48**(6), 150-163 [cit. 2019-01-28]. DOI: 10.1016/j.ifset.2018.06.007. ISSN 14668564. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1466856417313760>
70. JOHNSSON, Lars, Vesna MILANOVIĆ, Federica CARDINALI, et al. Selenium uptake by plants as a function of soil type, organic matter content and pH: A technological, microbiological and nutritional evaluation. *Plant and Soil* [online]. 1991, **133**(1), 57-64 [cit. 2019-05-08]. DOI: 10.1007/BF00011899. ISSN 0032-079X. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/BF00011899>
71. QUAGLIANI, Diane a Patricia FELT-GUNDERSON. Closing America's Fiber Intake Gap. *American Journal of Lifestyle Medicine* [online]. 2016, **11**(1), 80-85 [cit. 2019-

05-07]. DOI: 10.1177/1559827615588079. ISSN 1559-8276. Dostupné z:  
<http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1559827615588079>

## 8 ZOZNAM POUŽITÝCH SKRATIEK A SYMBOLOV

EÚ	Európska únia
EK	Európska komisia
FAO	Organizácia pre výživu a poľnohospodárstvo
EFSA	Európsky úrad pre bezpečnosť potravín
SAFA	Nasýtené mastné kyseliny
MUFA	Mononenasýtené mastné kyseliny
PUFA	Polynenasýtené mastné kyseliny
EPA	Kyselina eikosapentaenová
DHA	Kyselina dokosahexaenová
ČR	Česká republika
SR	Slovenská republika
USA	Spojené štáty americké
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
RNA	Ribonukleová kyselina
CNS	Centrálne nervové sústava
EAA	Esenciálna aminokyselina
WHO	World Health Organization (Svetová zdravotnícka organizácia)
SDS-PAGE	Vertikálna elektroforéza s použitím polyakrylamidového gélu

## 9 PRÍLOHY

### Príloha 1 – Dotazník pre senzorickú analýzu



#### Dotazník pre senzorické hodnotenie doplnkov stravy

Vážení hodnotitelia,  
prosím o vyplnenie anonymného dotazníku týkajúceho sa doplnkov stravy nasledovaný krátkym zhodnotením doplnkov stravy.

Dátum:

Čas:

Zdravotný stav:

fajčiar/nefajčiar

muž/žena

#### 1. Aký je Váš vek?

- 18 – 20
- 21 – 25
- 26 – 30
- 31 – 35
- 36 – 40
- 41 – 45
- 46 a viac

#### 2. Aké faktory zohľadňujete pri výbere potravín? (označte jednu a viac možností)

- Cena potraviny
- Nutričné zloženie potraviny
- Zloženie potraviny
- Vzhľad a tvar obalu
- Značka
- Iné označenie kvality, napr. Klasa, Regionálna potravina
- Kladná osobná skúsenosť
- Zem pôvodu potraviny
- Bio kvalita

#### 3. Ako často konzumujete mlieko a mliečne výrobky (jogurty, kefiry, podmáslie)?

- 1 – 2 x týždenne
- 3 – 4 x týždenne
- 5 – 7 x týždenne
- 1x za 2 – 3 týždne
- Vôbec

#### 4. Ako často konzumujete rôzne druhy syrov a tvaroh?

- 1 – 2 x týždenne
- 3 – 4 x týždenne
- 5 – 7 x týždenne
- 1x za 2 – 3 týždne
- Vôbec

**5. Ako často konzumujete hovädzie, bravčové, kuracie mäso?**

- 1 – 2 x týždenne
- 3 – 4 x týždenne
- 5 – 7 x týždenne
- 1x za 2 – 3 týždne
- Vôbec

**6. Konzumujete alternatívne zdroje bielkovín? Ak áno, ktoré?**

- Konopný proteín
- Pohánkový proteín
- Brusnicový proteín
- Koncentrát z hrachu (alebo z inej strukoviny)
- Koncentrát z hnedej ryže
- Sójový proteín
- Spirulina
- Chia semienka
- Quinoa
- Iné

**7. Užívate doplnky stravy?**

- Áno
- Nie

**8. Ak áno, užívate niektoré z nasledovných? (označte jednu a viac možností)**

- Potravinové doplnky (vitamíny, minerály, vláknina)
- Potravinové doplnky pre športovcov (proteíny)
- Popíjanie nápojov (Nutridrink, Resource)

**9. Z akého dôvodu nakupujete potravinové doplnky?**

- Naberanie svalovej hmoty
- Zníženie telesnej hmotnosti
- Výživa kĺbov
- Zvýšenie športového výkonu
- Udržiavanie zdravotného stavu
- Iné

**10. Akú formu doplnkov stravy užívate?**

- Proteínové tyčinky
- Iónové nápoje
- Kĺbna výživa
- Stimulanty
- Vitamíny a minerály
- Spaľovače tukov
- Proteíny
- Keratín
- Sacharidy
- Rybí olej



**11. Ako často užívate doplnky stravy?**

- Každý deň
- 1 – 2x za týždeň
- Raz za 2 dni
- Nepravidelne
- 1x za 2-3 týždne

**12. Kde najčastejšie nakupujete doplnky stravy?**

- Internetový obchod
- Kamenná predajňa
- Fitness centrum

**13. Na čo sa pri kúpe potravinových doplnkov zameriavate?**

(usporiadajte číslami 1 – 5, kde (1 – najviac sa zameriavam, 5 – najmenej sa zameriavam)

Cena	Značka	Zloženie	Reklama	Vzhľad produktu

**14. Vyberte jednu z možností, ktorú uprednostňujete pri kúpe doplnku stravy a napíšte z akého dôvodu sa tak rozhodujete.**

Cena	Kvalita	Dôvod

**15. Ste ochotní priplatiť si za doplnok stravy s vyššou nutričnou hodnotou?**

- Určite áno
- Určite nie
- Len v prípade potreby (napr. odporúčanie od lekára, výživového poradcu, v prípade zdravotných komplikácií)

**16. Podľa akých informácií vyberáte doplnky stravy?**

- Podľa vlastnej skúsenosti
- Podľa skúsenosti iných ľudí (recenzie, známi)
- Podľa doporučení médií
- Podľa noviniek na trhu

**17. Aké je Vaše stanovisko pred ochutnávaním? (Proteínové doplnky)**

- Proteínové tyčinky mám veľmi rád/a
- Proteínové tyčinky mám rád/a
- Proteínové tyčinky nemám príliš rád/a
- Proteínové tyčinky nemám vôbec rád/a
- Žiadnu som zatiaľ nemal/a

**18. Aký máte vzťah k doplnkom stravy s vyšším obsahom proteínov?**

- Proteínové doplnky stravy užívam často
- Proteínové doplnky stravy skôr neužívam
- Proteínové doplnky stravy vôbec neužívam

**19. Senzorické hodnotenie vzoriek pomocou stupnice (ako v škole):**

1. Výborná
2. Veľmi dobrá
3. Dobrá
4. Uspokojivá
5. Nevyhovujúca

Kód vzorky	Vzhľad a farba	Chuť	Vôňa	Konzistencia	Celkové hodnotenie
A01					
A02					
A03					
B01					
B02					
B03					
C01					
C02					
C03					

**1) Konzistencia (textúra)**

(hodnoťte stlačením medzi prstami, potom v ústach pri odhryznutí a žutí)

1. Príliš mäkká
2. Mäkká
3. Stredná
4. Tvrdá
5. Príliš tvrdá (tuhá)

Kód vzorky	Konzistencia	Označte najlepšiu vzorku	Označte najhoršiu vzorku
A01			
A02			

Kód vzorky	Konzistencia	Označte najlepšiu vzorku	Označte najhoršiu vzorku
A03			
B01			
B02			
B03			
C01			
C02			
C03			

## 2) Chuť

Príjemnosť chuti: 1: Neprijateľná (neprijemná, netypická, výrazne negatívna príchuť)  
2: Nevyhovujúca (nevýrazná, prázdna, neutrálna)  
3: Menej dobrá  
4: Dobrá (mierne odchýlky od stupňa „Vynikajúci“, menej výrazná)  
5: Veľmi dobrá  
6: Výborná  
7: Vynikajúca (výrazná, príjemná, harmonická, charakteristická – dá sa dobre identifikovať,

Kód vzorky	Príjemnosť chuti	Popis chuti
A01		
A02		
A03		
B01		
B02		
B03		
C01		
C02		
C03		

### 3) Poradový test

(Zorad'te vzorky podľa vlastných preferencií a prípadne uveďte poznámku k produktu)

Poradie 1-9, kde 1 je najlepšia a 9 najhoršia

Kód vzorky	Poradie	Poznámka
A01		
A02		
A03		
B01		
B02		
B03		
C01		
C02		
C03		

**Ďakujem.**