

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky**



**Fakulta agrobiologie,  
potravinových a přírodních zdrojů**

**Oxidační stabilita tuku jedlého hmyzu**

**Diplomová práce**

**Bc. Petra Belfínová**

**Výživa a potraviny**

**prof. Ing. Lenka Kouřimská, Ph.D.**

**© 2023 ČZU v Praze**

## **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Oxidační stabilita tuku jedlého hmyzu" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucí diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 14 .4. 2023

---

## **Poděkování**

Ráda bych touto cestou poděkovala vedoucí této diplomové práce prof. Ing. Lence Kouřimské, Ph.D. za odborný dozor, cenné rady a trpělivost při zpracování této práce. Mé poděkování patří též konzultantce Ing. Petře Škvorové za pomoc a dohled při plnění výzkumné části této práce a za obohacující konzultace.

# Oxidační stabilita tuku jedlého hmyzu

## Souhrn

Hmyz jako potravina získává stále více pozornosti díky vysokému obsahu živin a jako udržitelný zdroj bílkovin ve srovnání s masem. Kromě bílkovin je hmyz bohatý na mononové a polyenové mastné kyseliny, které jsou však nestabilní a náchylné k oxidaci. Oxidace tuků pak vede k rozvoji nežádoucích příchutí a pachů a tím negativně ovlivňuje sensorické vlastnosti jedlého hmyzu.

Obsahem této práce bylo posoudit vliv homogenizace a teploty na kvalitu tuku jedlého hmyzu během jeho skladování. Byl sledován obsah primárních oxidačních produktů pomocí jodometrického titračního stanovení peroxidového čísla. Skladovací pokus byl proveden na třech druzích jedlého hmyzu, konkrétně na cvrčku banánovém (*Gryllus assimilis*), larvách potměníka moučného (*Tenebrio molitor*) a švábovi discoidalis (*Blaberus discoidalis*). Oxidační stabilita byla sledována po dobu tří měsíců ve čtyřech skladovacích teplotách (-18 °C, 8 °C, 20 °C a 40 °C) u lyofilizovaných vzorků skladovaných v buď celku, nebo homogenizovaných.

Byl prokázán statisticky významný vliv druhu hmyzu, teploty, způsobu i doby skladování na hodnotu peroxidového čísla. Nejpomalejší průběh oxidace byl pozorován u vzorků skladovaných v mrazáku při -18 °C, naopak nejvyšších hodnot peroxidového čísla dosahovaly vzorky skladované v lednici (8 °C), kde pravděpodobně došlo k velké tvorbě hydroperoxidů (primárních produktů oxidace) a zpomalení jejich přeměny na další sekundární oxidační produkty. Při 20 °C a nejvíce při 40 °C byl patrný pokles hodnot peroxidového čísla, který lze vysvětlit rychlejší přeměnou hydroperoxidů na další sloučeniny během skladování za vyšších teplot. Vliv na oxidaci lipidů měl i způsob skladování jedlého hmyzu. U vzorků skladovaných vcelku byly naměřené hodnoty peroxidového čísla vyšší než u homogenizovaných vzorků. To lze vysvětlit pomalejší přeměnou hydroperoxidů u celých vzorků jedlého hmyzu nebo rychlejší oxidací těchto vzorků, bylo by však vhodné toto tvrzení potvrdit stanovením sekundárních produktů pomocí *p*-anisidinového čísla.

Byla tedy potvrzena hypotéza, že jedlý hmyz je dle profilu mastných kyselin náchylný k oxidačnímu žluknutí. Stejně tak lze potvrdit, že rozsah těchto změn závisí primárně na druhu jedlého hmyzu a sekundárně na podmínkách následného skladování. Do budoucna by mohl být více prozkoumán vliv způsobu homogenizace (např. ve třecí misce a homogenizátoru) na oxidační žluknutí nebo korelace zbarvení tuku se stupněm oxidace lipidů jedlého hmyzu.

**Klíčová slova:** *Gryllus assimilis*, *Tenebrio molitor*, *Blaberus discoidalis*, peroxidové číslo, žluknutí



# Oxidative stability of edible insect fat

## Summary

Insects as food are gaining more and more attention due to their high nutrient content and as a sustainable source of protein in comparison to meat. In addition to protein, insects are rich in monounsaturated and polyunsaturated fatty acids, which are, however, unstable and prone to oxidation. Oxidation of fats then leads to the development of undesirable flavours and odours and thus negatively affects the sensory properties of edible insects.

The aim of this study was to assess the effect of homogenization and temperature on the quality of edible insect fat during its storage. The content of primary oxidation products was monitored using the iodometric titration of the peroxide value. The storage experiment was carried out on three species of edible insects, namely the Jamaican field cricket (*Gryllus assimilis*), the larvae of yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) and the discoid cockroach (*Blaberus discoidalis*). Oxidative stability was monitored for three months at four storage temperatures (-18 °C, 8 °C, 20 °C and 40 °C) for lyophilized samples stored either whole or homogenized.

A statistically significant influence of the species, temperature, method, and storage time on the peroxide value was demonstrated. The slowest oxidation process was observed in samples stored in a freezer at -18 °C, on the contrary, the highest peroxide values were reached by samples stored in a refrigerator (8 °C), where hydroperoxides (primary oxidation products) were probably formed and their conversion to other secondary oxidation products slowed down. At 20 °C and most at 40 °C, there was a decrease in the peroxide number values, which can be explained by faster conversion of hydroperoxides into other compounds during storage at higher temperatures. The method of storing edible insects also influenced lipid oxidation. The measured peroxide value for whole samples was higher than for homogenised samples. This can be explained by the faster oxidation or the slower degradation of hydroperoxides in whole samples, but it would be advisable to confirm this claim by determining the secondary products using the *p*-anisidine value.

The hypothesis that edible insects are prone to oxidative rancidity according to their fatty acid profile was confirmed. It can also be confirmed that the extent of these changes depends primarily on the type of edible insect and secondarily on the conditions of subsequent storage. In the future, the effect of the method of homogenization (e.g., in a grinding bowl and homogenizer) on oxidative rancidity or the correlation of fat color with the degree of lipid oxidation of edible insects could be more investigated.

**Keywords:** *Gryllus assimilis*, *Tenebrio molitor*, *Blaberus discoidalis*, peroxide value, rancidity

# Obsah

<b>1 Úvod</b> .....	<b>8</b>
<b>2 Vědecká hypotéza a cíle práce</b> .....	<b>9</b>
<b>2.1 Hypotéza</b> .....	<b>9</b>
<b>2.2 Cíle práce</b> .....	<b>9</b>
<b>3 Literární rešerše</b> .....	<b>10</b>
<b>3.1 Jedlý hmyz</b> .....	<b>10</b>
3.1.1 Nutriční složení .....	11
3.1.2 Kulinářské úpravy jedlého hmyzu .....	13
3.1.2.1 Technologie zpracování .....	14
<b>3.2 Žluknutí lipidů</b> .....	<b>17</b>
3.2.1 Hydrolytické žluknutí .....	17
3.2.2 Oxidační žluknutí.....	17
3.2.2.1 Mechanismy autooxidace .....	18
3.2.2.2 Faktory ovlivňující oxidaci lipidů.....	19
3.2.2.3 Oxidační stabilita .....	21
3.2.3 Metody měření žluknutí tuků.....	21
3.2.3.1 Smyslové hodnocení .....	21
3.2.3.2 Měření hydrolytického žluknutí.....	22
3.2.3.3 Měření oxidačního žluknutí .....	22
<b>4 Metodika</b> .....	<b>I</b>
<b>4.1 Materiál</b> .....	<b>I</b>
<b>4.2 Metody</b> .....	<b>II</b>
4.2.1 Skladování .....	II
4.2.2 Homogenizace .....	III
4.2.3 Stanovení peroxidového čísla .....	III
4.2.4 Statistické metody .....	III
<b>5 Výsledky</b> .....	<b>IV</b>
<b>5.1 Peroxidové číslo</b> .....	<b>IV</b>
5.1.1 Cvrček banánový ( <i>Gryllus assimilis</i> ).....	VIII
5.1.2 Potemník moučný ( <i>Tenebrio molitor</i> ) .....	XI
5.1.3 Šváb ( <i>Blaberus discoidalis</i> ).....	XIII
<b>6 Diskuze</b> .....	<b>XVI</b>
<b>7 Závěr</b> .....	<b>XVIII</b>

<b>8 Literatura .....</b>	<b>XIX</b>
<b>9 Samostatné přílohy .....</b>	<b>XXIX</b>

# 1 Úvod

Jedlý hmyz získává stále více pozornosti jako udržitelný zdroj živočišných bílkovin v budoucnosti. Entomofágie (konzumace hmyzu) je běžná převážně v tropických a subtropických oblastech, které se vyznačují vysokou úrovní biodiverzity. V evropských zemích však mají spotřebitelé obecně ke konzumaci hmyzu stále zdrženlivý postoj. Výhodami chovu jedlého hmyzu jsou vysoká účinnost konverze krmiva, nízké nároky na prostor a vodu a nižší produkce skleníkových plynů ve srovnání s konvenčními hospodářskými druhy hospodářských zvířat.

Z nutričního hlediska je jedlý hmyz dobrým zdrojem živin, který se vyznačuje vysokým obsahem esenciálních aminokyselin, vlákniny, vitamínu B<sub>12</sub>, železa, zinku a vlákniny (chitinu) a může přispívat k vyvážené střevní mikrobiotě. Po bílkovinách představuje tuk druhou největší část nutričního složení jedlého hmyzu a je bohatý na monoenoové a polyenoové mastné kyseliny. Složení mastných kyselin se mění v závislosti na druhu, vývojovém stádiu, pohlaví, složení krmiva a původu jedlého hmyzu.

Vysoký obsah tuku je sice pozitivní z nutričního hlediska, především obsah polyenových mastných kyselin. To je ovšem problematické z hlediska údržnosti a lipidy pak mohou být snadno oxidovány. Oxidace tuků je hlavním problémem, protože vede k rozvoji nežádoucích příchutí a pachů a tím negativně ovlivňuje sensorické vlastnosti jedlého hmyzu. Oxidační stabilita je ovlivněna například podmínkami skladování, zpracováním nebo tepelnou úpravou.

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

### **2.1 Hypotéza**

Dle profilu mastných kyselin a podílu polyenových mastných kyselin je jedlý hmyz náchylný k oxidačnímu žluknutí.

### **2.2 Cíle práce**

Cílem této diplomové práce bylo zpracování literární rešerše zaměřené na kvalitu tuku jedlého hmyzu. V praktické části byl posouzen vliv skladovací teploty a homogenizace vzorků jedlého hmyzu na kvalitu a oxidační stabilitu tuku.

### 3 Literární rešerše

Předpokládá se, že potravinová bezpečnost bude v nadcházejících desetiletích vystavena velkému tlaku kvůli rychlému celosvětovému růstu populace a rostoucí poptávce po živočišných bílkovinách. Odhaduje se, že do roku 2050 dosáhne světová populace asi 9,8 miliardy a poptávka po potravinách se zvýší o 60 % (Alexandros & Bruinsma 2012). Zvýšená živočišná výroba vyžaduje rozšíření zemědělských ploch, zvýšenou spotřebu vody a tepla a spotřebu krmiva. To však není možné kvůli zmenšování orné půdy a klesajícím zásobám pitné vody. Zvyšující se produkce masa je považována za jednu z příčin změny klimatu, která ohrožuje blaho budoucích generací. Odhaduje se, že hospodářská zvířata jsou zodpovědná za 20 % celosvětových emisí skleníkových plynů (Rumpold & Schlüter 2013a). Velké chovy hospodářských zvířat mohou vyvolat epidemie, jako jsou ptačí chřipka a prasečí chřipka. Hodně se také mluví o utrpení masově zabíjených zvířat. V této souvislosti má smysl hledat nové zdroje živin, včetně bílkovin (Orkus 2021).

Na trhu jsou alternativy masa, od tofu po seitan, ale výroba těchto náhražek masa vyžaduje vysokou míru zpracování. Produkce sójového proteinového izolátu, běžné složky v rostlinných alternativách masa, je méně šetrná k životnímu prostředí než výroba masa kvůli velkému množství vody a energie z fosilních paliv potřebných k extrakci proteinového izolátu ze sójového šrotu (Berardy et al. 2015).

Jedlý hmyz je považován za hlavní řešení problému, jak uspokojit rostoucí celosvětovou poptávku po živočišných bílkovinách, které jsou vyhledávané pro svou vysokou nutriční hodnotu (Bruinsma 2003). Jedná se o jedinečnou složku potravy s velkým potenciálem přispět ke globální potravinové bezpečnosti a představuje zajímavou potravinovou alternativu, zejména k masu. Pro zmírnění negativních dopadů změny klimatu bude pravděpodobně rovněž nezbytné využít hmyz při výrobě potravin (Imathiu 2020). Jedlý hmyz, považovaný za zdroj bílkovin pro lidi, produkuje mnohem méně skleníkových plynů a vyžaduje mnohem méně půdy než konvenční dobytek (např. kuřata, prasata a skot) (Oonincx & de Boer 2012). Hmyz má vysoký konverzní faktor, např. cvrčci potřebují šestkrát méně krmiva než skot, čtyřikrát méně než ovce a poloviční než prasata a brojeři na přírůstek stejného množství bílkovin (Van Huis et al. 2013).

#### 3.1 Jedlý hmyz

Použití celého hmyzu nebo jeho částí v jakékoli vývojové fázi, se zpracováním nebo bez něj, jako zdroje potravy je známé jako entomofágie (Pali-schöll et al. 2019). Hmyz je konzumován převážně v tropických a subtropických oblastech, které se vyznačují vysokou úrovní biodiverzity. Nejčastěji se entomofágie (konzumace hmyzu) vyskytuje v mnoha částech Afriky, Asie, Jižní Ameriky a Austrálie a v současnosti doplňuje svou stravu hmyzem přibližně 2,5 miliardy lidí na světě. Celosvětově je lidmi konzumováno více než 2000 druhů hmyzu a mezi nejčastěji konzumované druhy patří kobyly, sarančata, cvrčci, cikády, termity, mravenci, brouci, housenky, včely, vosy, vášky a mouchy (Van Huis 2016; Raheem et al. 2019).

V západním světě se však hmyz donedávna nikdy nepovažoval za potravu, protože je zde spojován s nákazami a zdravotními riziky. Bylo zjištěno, že hmyz je velmi výživný a také je dobrým zdrojem bílkovin, tuků, minerálních látek, vitaminů a energie (Ramos-Elorduy et al.

1997). Jedlý hmyz také představuje zajímavou alternativu potravin a krmiv (zejména masné výrobky a rybí moučka) díky vysoké účinnosti konverze krmiva a nízkým nárokům na prostor. Další výhodou chovu jedlého hmyzu je, že je všežravý (Rumpold & Schlüter 2013b).

Je však třeba vzít v úvahu i endogenní a exogenní rizikové faktory hmyzu. Stejně jako některé rostliny a živočichové, tak i některé druhy hmyzu nejsou jedlé nebo nejsou bezpečné ke konzumaci (Durst et al. 2010). Endogenní rizikové faktory zahrnují např. antinutriční látky a alergeny. Hmyz, stejně jako jiní členovci, může způsobovat alergické reakce. Kromě toxických, alergenních nebo antinutričních látek obsažených v hmyzu je třeba vzít v úvahu také vnější faktory. Zprávy o případech botulismu, parazitóz a otrav jídlem, např. v důsledku aflatoxinů způsobených entomofágií, poukazují na nutnost dbát na bezpečnost potravin a dekontaminaci týkající se jedlého hmyzu (Durst et al. 2010). Kromě toho některý hmyz sekvestruje toxiny prostřednictvím potravy anebo syntetizuje toxiny, např. kyanogenní nebo srdeční glykosidy, steroidy nebo pederin, jako chemický obranný mechanismus proti hmyzožravcům. Konzumace tohoto hmyzu může vést k nevolnosti, zvracení poruchám zraku nebo horším příznakům (Zagrobely et al. 2009). Bylo také hlášeno, že hmyz sklizený ve volné přírodě, který je obvykle bezpečný ke konzumaci, obsahuje pesticidy, pokud se vyskytoval v oblastech ošetřených pesticidy. Kontrolované krmení jedlého hmyzu netoxickými rostlinami však eliminuje riziko sekvestrace a příjmu pesticidů (Durst et al. 2010).

V roce 2015 Evropský úřad pro bezpečnost potravin (EFSA, European Food Safety Authority) poskytl vědecké stanovisko ke konzumaci hmyzu a navrhl seznam druhů hmyzu s vysokým potenciálem pro použití jako potravin pro lidi i zvířata (EFSA 2015). V Evropské Unii je od 1. 1. 2018 platné nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) 2015/2283 o nových potravinách, které definuje hmyz a výrobky z něj jako novou potravinu. Každý druh hmyzu musí projít schvalovacím procesem a hodnocením bezpečnosti podle tohoto nařízení před tím, než je uveden na trh (bezpecnostpotravin.cz).

### 3.1.1 Nutriční složení

Nutriční složení jedlého hmyzu je velmi variabilní v závislosti na druhu, vývojovém stádiu, pohlaví, složení krmiva a původu jedlého hmyzu. Obsah živin některých druhů jedlého hmyzu je uveden níže v Tabulce 1. Hlavní složku nutričních hodnot hmyzu představují proteiny. Zejména druhy z řádu *Orthoptera* (kobylinky, cvrčci, sarančata) jsou bohaté na bílkoviny a představují cenný alternativní zdroj bílkovin. Nutriční kvalita hmyzího proteinu je srovnatelná s kaseinem a sójou, ale liší se a může být zlepšena odstraněním chitinu, strukturního sacharidu obsahujícího dusík. Tato složka není v lidském střevním traktu hydrolyzována z důvodu nepřítomnosti příslušného enzymu, chitinázy, a proto je dusík v chitinu nedostupný. Chitin je strukturně podobný celulóze a jeho přítomnost v exoskeletu jedlého hmyzu zvyšuje obsah vlákniny, zejména u hmyzu s tvrdým exoskeletem (Bukkens 1997). Dušková a kol. (2011) však zjistili, že byly nalezeny chitinolytické enzymy produkované bakteriemi izolovanými z gastrointestinálního traktu zdravých lidí a bylo potvrzeno, že chitin může být u určitých jedinců tráven (Dušková et al. 2011).

**Tabulka 1** Přehled obsahu živin u cvrčka, sarančete a běžných potravin na 100 g (Urbánková 2019)

Skupina	Kalorie [kcal/100 g]	Bílkoviny [g/100 g]	Tuky [g/100 g]	Sacharidy [g/100 g]	Vápník [mg/100 g]	Fosfor [mg/100 g]	Železo [mg/100 g]	Thiamin [mg/100 g]	Niacin [mg/100 g]
Cvrček	112,9	12,8	5,7	2,6	88,2	163,4	14,4	0,26	2,31
Saranče	95,7	14,3	3,3	2,2	27,5	150,2	3,0	0,19	6,67
Vejce	150,0	12,0	10,0	2,0	50,0	7,0	1,4	0,06	-
Fazole	147,0	8,3	0,6	27,2	47,8	164,4	3,0	0,18	0,39
Hovězí	288,2	23,5	21,2	-	10,6	169,4	2,5	0,04	4,40

Většina jedlého hmyzu obsahuje požadované esenciální aminokyseliny (Rumpold & Schlüter 2013). U většiny druhů hmyzu je první limitující aminokyselinou tryptofan, leucin nebo lysin. Další limitující aminokyselinou je například fenylalanin u švába smrtihlava (*Blaberus craniifer*) a potemníka brazilského (*Zophobas morio*) (Kulma et al. 2020). V některých případech jsou tyto aminokyseliny dobře zastoupeny (Köhler et al. 2019). Například cvrčci obsahují doporučená množství většiny esenciálních aminokyselin pro dospělé (Raheem et al. 2019).

Tuk představuje druhou největší část nutričního složení jedlého hmyzu. Asi 80 % tuku tvoří triacylglyceroly, které slouží jako energetická rezerva pro období vysoké energetické náročnosti. Fosfolipidy jsou druhou nejvýznamnější skupinou. Byla studována jejich role ve struktuře buněčných membrán. Obsah fosfolipidů v celkovém tuku je obvykle méně než 20 %, ale mění se v závislosti na životním stádiu a druhu hmyzu. Nejhojnějším steroidem u hmyzu je cholesterol (Papastavropoulou et al. 2022). Byl studován obsah cholesterolu v tuku termity *Macrotermes bellicosus* a housenky *Imbrasia belina*, běžně konzumovaných v Nigérii. Průměrný obsah cholesterolu v lipidové frakci byl zjištěn 3,6 %. Kromě cholesterolu mohou být v jedlém hmyzu přítomny také kampesterol, stigmasterol,  $\beta$ -sitosterol a další steroly (Bednářová et al. 2013).

Průměrné množství nasycených mastných kyselin jedlého hmyzu je v rozmezí od 30 % do 42 %. Z nasycených mastných kyselin převažují palmitová (C16:0) a stearová kyselina (C18:0). Průměrné množství monoenoových mastných kyselin (MUFA) se pohybuje mezi 22 % a 49 % a průměrné množství polyenoových mastných kyselin (PUFA) je mezi 16 % a 40 %. Mezi hlavní MUFA jedlého hmyzu patří palmitoolejová kyselina (C16:1n7) a olejová kyselina (C18:1n9). Z PUFA jsou to linolová kyselina (C18:2n6),  $\alpha$ -linolenová kyselina (C18:3n3),  $\gamma$ -linolenová kyselina (C18:3n6), dihomo- $\gamma$ -linolenová kyselina (C20:3n6) a arachidonová kyselina (C20:4n6). Omega-3 nenasycené mastné kyseliny (dokosaheptaenová kyselina, C22:6n3, DHA a eikosapentaenová kyselina, C20:5n3, EPA) se u hmyzu vyskytují pouze ve stopovém množství nebo nebyly zjištěny vůbec (Rumpold & Schlüter 2013b).

Jedlý hmyz také přitahuje pozornost jako zdroj bioaktivních sloučenin s potenciálním přínosem pro zdraví (Giampieri et al. 2022). Přítomnost těchto bioaktivních sloučenin je spojena s absorpcí a metabolizací fenolových sloučenin z potravy rostlinného původu a



schopností hmyzu syntetizovat fenolové sloučeniny procesem sklerotizace (Nino et al. 2021). Jednou z takových sloučenin jedlého hmyzu je  $\beta$ -karoten, který byl zkoumán u některých druhů housenek motýlů (Kouřimská & Adámková 2016). Jako antioxidanty jedlého hmyzu mohou hrát roli také lipofilní sloučeniny, jako jsou tokoferoly (různé formy vitamínu E). Larvy jedlého hmyzu také mohou být zdrojem izomerů vitamínu D a fytosterolů (Sabolová et al. 2016).

Antioxidační vlastnosti jedlého hmyzu byly zkoumány pomocí široké řady *in vitro* metod a na buněčných modelech s pozitivními výsledky. Nejrozsáhleji byly studovány včely a jejich produkty (mateří kašička a propolis), které vykazovaly nejvyšší antioxidační aktivitu ve srovnání s jiným hmyzem (Oghenesuvwe & Paul 2019). Během studií na zvířatech byla suplementace stravy jedlým hmyzem schopna působit proti oxidačnímu stresu, byla obnovena rovnováha antioxidačních enzymů a snížena tvorba markerů oxidačního poškození. Je však nutné provést další intervenční studie k potvrzení antioxidační účinnosti konzumace jedlého hmyzu u lidí (D'Antonio et al. 2021).

Orkusz (2021) ve své studii uvádí porovnání nutričních hodnot masa a jedlého hmyzu. Energetická hodnota masa a hmyzu se lišila v závislosti na jejich druhu, typu svaloviny a stádiu vývoje hmyzu a pohybovala se od 83 do 199 kcal/100 g u masa a od 120 do 274 kcal/100 g u hmyzu. Nejméně kalorickým masem byly krůtí a kuřecí prsa a telecí kýta, nejkaloričtější pak skopová kýta a kachní maso. Larvy hmyzu měly obecně vyšší obsah kalorií než dospělý hmyz, což souvisí s množstvím tuku (Zielińska et al. 2018; Orkusz 2021).

Pokud jde o obsah bílkovin, maso mělo obecně nižší obsah bílkovin než jedlý hmyz. Obsah tuku se značně lišil jak v mase z různých živočišných druhů, tak i u hmyzu. U masa se pohyboval od 0,7 do 18,30 g/100 g, u hmyzu od 4,4 do 24,9 g/100 g. Maso poražených zvířat na rozdíl od jedlého hmyzu postrádalo vlákninu. Mezi nasycenými mastnými kyselinami v lipidech masa i hmyzu měla nejvyšší podíl palmitová kyselina (C 16:0) a následovala stearová kyselina (C 18:0). Převládající mononenovou mastnou kyselinou byla olejová kyselina (C 18:1). Významná byla především přítomnost linolové kyseliny (C 18:2 n-6), která patří mezi esenciální mastné kyseliny. Obsah linolové kyseliny byl mnohem vyšší u hmyzu druhů jako *Acheta domesticus* a *Tenebrio molitor* ve srovnání s masem (Orkusz 2021).

Obsah minerálních látek v mase i hmyzu je velmi různorodý. Hmyz, bez ohledu na druh a formu vývoje, se vyznačuje vyšším obsahem vápníku, zinku, mědi a manganu než maso. Výrazně se liší také obsah vitamínů u hmyzu i masa. Hmyz, bez ohledu na druh a formu vývoje, se vyznačoval vyšším obsahem tokoferolu, riboflavinu a vitamínu C než maso. Hmyz i maso byly dobrými zdroji niacinu, u hmyzu je však nižší obsah kobalaminu (Orkusz 2021).

### 3.1.2 Kulinářské úpravy jedlého hmyzu

V tropických zemích je hmyz součástí kulinářských tradic, především ve venkovských oblastech. Obvykle je hmyz upraven vařením, sušením, opékáním nebo smažením a poté se přidává do různých pokrmů. Navzdory vysoké nutriční kvalitě jedlého hmyzu se objevily obavy z nedostatečné hygienické kontroly a kvality v souvislosti s jeho prodejem. Pro konzervaci, transformaci, distribuci, a skladování jedlého hmyzu je zásadní zavést vhodné technologie, aby bylo možné zajistit bezpečné a zdravotně nezávadné produkty (Melgar-Lalanne et al. 2019).

Pro zlepšení zpracovatelských technologií byla vyvinuta řada výrobních a skladovacích strategií: sušení na slunci, mikrovlnné zpracování, lyofilizace, sušení v troubě, suchá

frakcionace, zmrazení, marinování a fermentace. Kromě toho bylo prozkoumáno několik metod balení v modifikované atmosféře, aby se zvýšila trvanlivost těchto produktů (Stoops et al. 2017).

Vařením se zlepšuje senzorická kvalita díky tvorbě aromatických sloučenin a změnám barvy a textury. Z nutričního hlediska vaření zvyšuje stravitelnost a biologickou aktivitu bílkovin v trávicím traktu; některé živiny však mohou být ztraceny rozpouštěním, únikem, inter a intrabiochemickými reakcemi nebo vznikem nových vedlejších produktů (Caparros Megido et al. 2018). Tepelná úprava může vyvolat proteolýzu, oxidaci lipidů a solubilizaci vitaminů a minerálních látek (Viesca González et al. 2012). Může také dojít k denaturaci bílkovin, destrukci nebo modifikaci aminokyselin a Maillardově reakci. Lipidy a mastné kyseliny mohou být autooxidovány, termooxidovány nebo fotooxidovány (Frankel 2012).

Existuje několik tradičních způsobů přípravy jedlého hmyzu, včetně vaření v páře, pečení, uzení, smažení, dušení a nakládání. Těmto technikám předchází blanširování, které má snížit počet mikroorganismů v potravinách a inaktivovat enzymy (Marshall et al. 2016). Je zřejmé, že každá technologie vytváří produkty s různými senzorickými kvalitami a nutričními atributy (Kouřimská & Adámková 2016; Tan et al. 2017).

### 3.1.2.1 Technologie zpracování

Výrobní procesy začínají posklizňovou úpravou hmyzu a končí výrobou potravin a oddělením vedlejších produktů (Raheem et al. 2019). Přestože počet existujících procesů v potravinářském průmyslu je obrovský a liší se v závislosti na použitém druhu a konečném produktu, který má být vyvinut, většinu z nich lze seskupit do relativně malého počtu operací se stejnými základními principy, které se v podstatě zaměřují na podobné účely (Melgar-Lalanne et al. 2019).

#### 3.1.2.1.1 Blanširování

Blanširování je proces, při kterém se potravina vloží na krátkou dobu do vroucí vody, vyndá se a poté se ponoří do ledové vody nebo se vloží pod tekoucí studenou vodu, aby se zastavil tepelný proces (Xiao et al. 2014). Používá se jako předběžná úprava většiny komerčně prodáváného jedlého hmyzu, aby se snížil počet mikrobuů a inaktivovaly se degradační enzymy zodpovědné za kažení potravin. Blanširování významně snižuje celkový počet mezofilních bakterií a kvasinek a plísní; není však účinné při odstraňování nebo dokonce snižování počtu spor mezofilních bakterií. Bylo rovněž zjištěno, že blanširování snižuje počty bakterií mléčného kvašení a celkový počet psychrotrofních bakterií (Vandeweyer et al. 2017).

Po blanširování bylo zaznamenáno mírné zvýšení vlhkosti, nebyly však zjištěny žádné významné rozdíly v chemickém složení mezi čerstvým a blanširovaným zkoumaným jedlým hmyzem (v sušině) (Azzollini et al. 2016). Změny v chemickém složení jsou pozorovatelné při delší době vaření, většinou v důsledku vyluhování rozpustných živin, které mohou ovlivňovat obsah bílkovin (Niamnuy et al. 2008). Během procesu varu procházejí některé bílkoviny strukturálními změnami, včetně denaturace a interakce s lipidy a sacharidy. V důsledku toho se může snížit počet hydrofilních míst sloužících k vazbě vody a změnit sorpční vlastnosti, což vyžaduje provedení specifitější analýzy bílkovin (Azzollini et al. 2016).

Ošetření blanšírováním by mělo být speciálně navrženo pro každý druh jedlého hmyzu, aby se zlepšily antimikrobiální účinky s minimální ztrátou kvality. Blanšírování by mělo minimalizovat mikrobiologická rizika spojená s konzumací jedlého hmyzu a mohlo by být doplněno technikami, které mohou snížit přítomnost bakteriálních spor (Megido et al. 2017).

#### 3.1.2.1.2 Sušení

Sušení je nejpoužívanější technologie pro prodloužení trvanlivosti potravin. Může snížit celkový obsah vody, a tím i její dostupnost pro rozkladné reakce, včetně enzymatických reakcí a reakcí iniciovaných mikroorganismy způsobujícími kažení. Růst mikroorganismů přímo závisí na aktivitě vody ( $a_w$ ). Převážná většina mikroorganismů přestává růst při  $a_w < 0,65$ . Při nízké hodnotě  $a_w$  vykazují mikroorganismy zpomalený růst, a když jsou podmínky vhodné, mohou opět začít růst (Grabowski & Klein 2017). Snížení volné vody významně zvyšuje koncentraci sušiny a je důležitým krokem pro extrakci potravinových složek (Lamidi et al. 2019).

Sušení na slunci, lyofilizace a sušení v sušárně jsou preferované technologie pro sušení celého jedlého hmyzu, zatímco lyofilizace, sušení v sušárně a nekonvenční sušící techniky se používají primárně pro hmyzí moučky a prášky. Sušení a mletí celého, dokonale rozeznatelného jedlého hmyzu na nerozeznatelný prášek je jednou z preferovaných technologií pro zvýšení lidské spotřeby hmyzu, převážně v západních zemích (Menozzi et al. 2017). Sušení také zvyšuje trvanlivost produktů během distribuce a skladování. Bylo zjištěno, že vaření sušeného hmyzu po dobu 30 minut je vhodným přístupem k eliminaci celkového počtu bakterií, *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus*, *Bacillus*, kvasinek a plísní (Grabowski & Klein 2016).

Nejtradičtější technologií sušení je sušení na slunci, které se používá hlavně v afrických domácnostech (Azzollini et al. 2016). Sušení na slunci zřejmě zabraňuje určité mikrobiální kontaminaci a dokonce snižuje nebo odstraňuje některé škodlivé sloučeniny, jako jsou neurotoxiny; zlepšuje také celkovou nutriční kvalitu produktu tím, že inaktivuje inhibitory proteáz (Niassy et al. 2016). Hlavním omezením sušení na slunci je však špatná hygienická kvalita procesu i konečného produktu. Hmyz je považován za dehydrovaný pouze na základě vzhledu. Obsah vlhkosti anebo aktivita vody se nestanovují, protože se jedná o domácí proces. Vzhledem k omezeným hygienickým postupům uplatňovaným během procesu může dojít ke kontaminaci sušeného hmyzu prostřednictvím kontaktu s půdou a vzduchem (Caparros Megido et al. 2018).

Uzení je tepelný proces. Je považován za jednu z nejtradičtějších technik používaných ke konzervaci všech druhů masa. Surový produkt je vystaven kouři, který vzniká pyrolýzou dřeva. U hmyzu se uzení provádí v suchém prostředí a současně se sušením probíhá proces zrání. Během tohoto procesu dochází kombinovaným působením enzymů a tepla ke změnám bílkovin a lipidů (Tiencheu et al. 2013).

Lyofilizace je nejrozšířenější technika úpravy vzorku před laboratorní analýzou nutričních charakteristik hmyzu. Vzhledem k použité nízké teplotě a výsledné sublimaci vody se mikrobiologická a oxidační degradace do značné míry zastaví, čímž se získá vysoce kvalitní konečný produkt s vynikající nutriční hodnotou a dlouhou skladovatelností, který je ideální pro výzkum. Mrazem sušený jedlý hmyz se v Evropě i běžně prodává, ale kvůli způsobu výroby je poměrně nákladný. U produktů s vysokým obsahem tuku by však mohlo dojít k podpoře oxidace lipidů, jak bylo pozorováno u *T. molitor*, s doprovodným snížením rozpustnosti

bílkovin (Megido et al. 2017; Kröncke et al. 2018). Vzhledem k tomu, že většina studií se zaměřuje na fyzikálně-chemickou charakteristiku jedlého hmyzu a uvádí jen málo nebo žádné podrobnosti o konkrétních použitých podmínkách lyofilizace, je obtížné porovnávat získané výsledky, a to i u stejných druhů (Megido et al. 2017).

Produkty sušené v sušárně jsou srovnatelné s lyofilizovanými produkty, ale mají nižší náklady na energii, sníženou oxidaci lipidů a vysokou rozpustnost bílkovin (Kröncke et al. 2018).

Mikrovlonné sušení snížilo aktivitu vody po 16 minutách ( $a_w < 0,30$ ), což vedlo k významnému poklesu počtu mikroorganismů. Vhodnost mikrovlonného sušení byla testována u larev *T. molitor* a byly získány konečné produkty s  $a_w$  pod 0,6. Čerstvé a blanširované larvy byly vysušeny s malými změnami v obsahu bílkovin, tuku a popela, které byly u larev pozorovány. Jediná významná ztráta oproti lyofilizaci spočívala ve vitamínu B<sub>12</sub> (Lenaerts et al. 2018). Je však třeba provést další studie o tom, jak zachovat senzorickou kvalitu hmyzu při použití mikrovlonného sušení (Vandeweyer et al. 2017).

Kröncke et al. (2018) porovnávali různé procesy sušení s cílem dosáhnout vlhkosti pod 7,0 % a aktivity vody pod 0,6 u larev *T. molitor*: lyofilizace, fluidní sušení, sušení v mikrovlonné troubě, sušení ve vakuové sušárně a konvenční sušení za tepla na rotujícím stojanu. Autoři dospěli k závěru, že všechny techniky sušení způsobily malé změny v obsahu bílkovin, tuku a vlákniny. Oxidace lipidů způsobená různými procesy sušení negativně ovlivňuje kvalitu lipidů a dokonce i množství (dostupnost) tuků přítomných v hmyzu (Qiu et al. 2019). V případě *Imbrasia epimethea* byl obsah monoenových mastných kyselin při sušení v sušárně mírně snížen (Lautenschläger et al. 2017).

Během uzení může docházet ke změnám jak v obsahu bílkovin, tak lipidů. U *Rhynchophorus phoenicis* bylo provedeno sušení uzením s hmyzem rozloženým na stojanu. Byl vystaven kouřovému teplu po dobu 6 hodin tradičním způsobem s použitím dřeva a sazí, protože bylo zjištěno, že tato metoda je nejlepší pro zachování stability obsahu lipidů v hmyzu (Tiencheu et al. 2013). U *T. molitor* došlo při sušení mrazem k vyšší oxid lipidové frakce ve srovnání s jinými technikami sušení, jako je sušení v regálech a mikrovlonné sušení (Kröncke et al. 2018). Sušení na slunci způsobilo zvýšení peroxidové hodnoty *Rhynchophorus phoenicis*, zejména pokud byly larvy předtím vařené, pravděpodobně v důsledku nízkého obsahu vody dosaženého při vysoké teplotě během tohoto procesu (Tiencheu et al. 2013).

Organické sloučeniny mohou být také modifikovány. Po sušení na slunci *Polyrhachis vicina* Roger (jedlého černého mravence), se objevily aldehydy, zvýšil se obsah volných mastných kyselin, snížil se obsah ketonů a uhlovodíky byly nalezeny v malých koncentracích (Li et al. 2009). Dehydratace ovlivňuje lipidovou složku jedlého hmyzu snížením hladiny nenasycených triglyceridů (Tiencheu et al. 2013).

### 3.1.2.1.3 Skladování

V mnoha částech světa se na místních trzích prodává hmyz "připravený k jídlu" po sušení na slunci, pražení nebo smažení ve velkém, aniž by se s ním vhodně hygienicky zacházelo. Pokud hmyz nebyl předtím tepelně upraven, např. vařením, může obsahovat vysokou mikrobiologickou zátěž a může dojít k jeho opětovné kontaminaci anebo křížové kontaminaci. Proto je nutné je správně zpracovávat, balit a skladovat, aby se minimalizovalo bakteriální zatížení. Podmínky skladování obecně závisí na druhu hmyzu a na tom, zda se výrobek prodává

jako celý hmyz připravený k jídlu nebo jako prášek po vysušení. Každý typ výrobku vykazuje specifický vzorec doby skladování, který se skládá ze součtu počátečních počtů surového výrobku a modifikací způsobených zpracováním i sekundární kontaminací (Grabowski & Klein 2017).

V případě čerstvého hmyzu se místo chlazení (5 až 7 °C) (Belluco et al. 2013) doporučuje jako způsob skladování pro zachování jeho mikrobiální kvality zmrazení (-20 °C). Pro sušený a práškový jedlý hmyz je chlazení nejlepší metodou, jak se vyhnout oxidační a mikrobiologické degradaci. Při kombinaci chlazení s vakuem nebo modifikovanou atmosférou se výrazně prodlužuje doba skladovatelnosti výrobků. Skladování ve vakuu a temnu může zlepšit trvanlivost celého jedlého hmyzu i při skladování při pokojové teplotě (Ssepuuya et al. 2016). Vakuové balení zlepšuje mikrobiologickou kvalitu produktu, zatímco tma zabraňuje oxidaci lipidů (Melgar-Lalanne et al. 2019).

## **3.2 Žluknutí lipidů**

Žluknutí je projev nežádoucích změn lipidových složek a vznik chuťově nepřijatelných produktů. Ty jsou způsobeny těkavými sloučeninami uvolňovanými během rozkladu mastných kyselin; mýdlovou nebo hořkou chuť způsobují volné mastné kyseliny a jejich oxidační produkty. Je nutné rozlišovat hydrolytické a oxidační žluknutí (Barnes & Galliard 1982).

### **3.2.1 Hydrolytické žluknutí**

Hydrolytické žluknutí je způsobeno přítomností volných mastných kyselin produkovaných hydrolytickým rozkladem lipidů (lipolýzou), kterými mohou být triglyceridy (tuky a oleje) nebo polární lipidy odvozené z biologických membrán. Lipolýza může probíhat pomalu chemickými reakcemi, ale enzymaticky katalyzovaná hydrolyza může být velmi rychlá a ničující. Enzymy, které katalyzují takovou hydrolyzu, jsou obecně známé jako „lipázy“. Volné mastné kyseliny se většinou nehromadí ve zdravém biologickém materiálu a jejich výskyt je známkou buněčného narušení, při kterém je umožněna interakce lipidových substrátů a enzymů. Toto narušení může být důsledkem přirozeného stárnutí, mikrobiální infekce nebo fyzického poškození během manipulace nebo zpracování. Častým problémem je přítomnost mýdlové chuti, která je výrazná, když převládají kyseliny se středně dlouhým řetězcem, jako je laurová kyselina a myristová kyselina (Barnes & Galliard 1982).

Enzymatickému žluknutí lze zabránit denaturací enzymů (například tepelným zpracováním) nebo vytvořením podmínek nevhodných pro aktivitu enzymů (jako je nízký obsah vody nebo nízká teplota). Dalším způsobem, jak zabránit enzymatické aktivitě, je udržovat enzym a jeho substrát oddělené v potravinářském produktu. Toto nastává pouze v neporušeném biologickém materiálu, ale je možné to napodobit i v potravinářském produktu (Barnes & Galliard 1982).

### **3.2.2 Oxidační žluknutí**

Existuje řada způsobů, jak mastné kyseliny reagují s kyslíkem. Neenzymatická neboli chemická oxidace mastných kyselin souvisí s počtem dvojných vazeb v uhlíkovém řetězci molekuly; linolenová kyselina (3 dvojně vazby) oxiduje mnohem rychleji než linolová kyselina

(2 dvojné vazby), která je zase méně stabilní než olejová kyselina (1 dvojná vazba). Během reakce kyslíku s nenasycenými mastnými kyselinami se tvoří hydroperoxydy. Ty jsou bez chuti a nestabilní a rychle se přeměňují na sekundární produkty, které jsou zodpovědné za žluklou příchuť, sníženou nutriční kvalitu a toxicitu jedlých tuků a olejů. Existuje široká škála produktů, včetně aldehydů, alkoholů, ketonů, kyselin, uhlovodíků a esterů, jež odpovídá za množství různých pachů a chutí, které lze odvodit z oxidace lipidů (Barnes & Galliard 1982).

Aldehydy, což jsou silné aromatické sloučeniny s velmi nízkými prahovými hodnotami chuti, jsou z velké části zodpovědné za žluklé aroma tuků a olejů. Jak jsou samotné aldehydy oxidovány, tvoří se produkty terciární oxidace včetně volných mastných kyselin s nízkou relativní molekulovou hmotností (Robards et al. 1988).

Za oxidaci lipidů jsou zodpovědné dva typy oxidace v závislosti na typech kyslíku (autooxidace a fotooxidace). Tripletový kyslík ( $^3\text{O}_2$ ) reaguje s lipidovými radikály a způsobuje autooxidaci, což je řetězová reakce volných radikálů. Fotooxidace lipidů probíhá za přítomnosti světla a vzdušného kyslíku, ve kterém vzniká singletový kyslík ( $^1\text{O}_2$ ), který snadno reaguje se sloučeninami s vysokou elektronovou hustotou, jako jsou volné vazby nenasycených mastných kyselin (Choe & Min 2006).

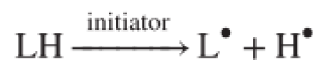
Chemická oxidace nenasycených mastných kyselin v potravinách může být katalyzována světlem a některými kovy, zejména železem a mědí, a metaloproteiny, například hemoglobinem, myoglobinem, katalázou a peroxidázou (Barnes & Galliard 1982). Oxidace lipidů je ovlivněna přístupem světla, teplotou, složením mastných kyselin a přítomností minoritních sloučenin, jako jsou kovy, pigmenty, fosfolipidy, volné mastné kyseliny, monoacylglyceroly, diacylglyceroly a antioxidanty (Choe & Min 2006).

Oxidativnímu žluknutí napomáhají předcházet přírodní antioxidanty přítomné v potravinách. Běžnými příklady jsou askorbová kyselina, tokoferoly a fenolové kyseliny. Surové rostlinné oleje obsahující své vlastní přírodní antioxidanty jsou často stabilnější než rafinovaná verze, ve které byly antioxidanty odstraněny. Mohou být doplněny syntetickými antioxidanty, i když se stále více projevuje zájem o použití extraktů přírodních antioxidantů z různých rostlinných materiálů. Kyslík lze z potravinářského produktu odstranit, aby se snížila pravděpodobnost oxidace, ale velmi nízké zbytkové hladiny kyslíku často postačují k vytvoření žluklého pachu. V některých případech je možné odstranit katalyzátory, například použitím chelatačních činidel, aby se minimalizovala kovem katalyzovaná oxidace v jedlých olejích (Barnes & Galliard 1982).

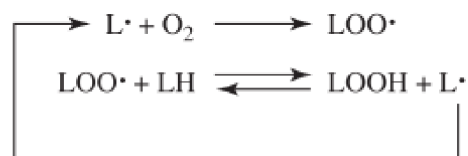
### 3.2.2.1 Mechanismy autooxidace

Autooxidace je nejběžnějším procesem vedoucím k oxidačnímu znehodnocení v potravinách a biologických systémech a je definována jako spontánní reakce vzdušného kyslíku s lipidy (Pokorný et al. 2001). K autooxidaci nenasycených mastných kyselin dochází prostřednictvím řetězové reakce zprostředkované volnými radikály, která probíhá ve třech krocích: iniciace, propagace a terminace (Shahidi & Zhong 2020). Na Obrázku 1 je uvedeno zjednodušené schéma.

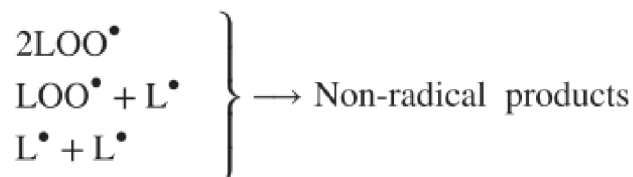
Initiation:



Propagation:



Termination:



**Obrázek 1.** Zjednodušené schéma oxidace lipidů (Shahidi & Zhong 2020)

Protože oxidace normálně probíhá v počáteční fázi velmi pomalu, čas k dosažení náhlého zvýšení rychlosti oxidace se nazývá indukční perioda (Velasco et al. 2004). Lipidové hydroperoxydy, které byly identifikovány jako primární produkty autooxidace, se postupně hromadí a vyvolávají tvorbu dalších radikálů, a tak se rychlost oxidace zvyšuje s rostoucí koncentrací hydroperoxidů. Pokud je k dispozici dostatek kyslíku, reakční rychlost prudce vzrůstá, až dosáhne svého maxima. Poté dochází k rozkladu hydroperoxidů. Rozkladem hydroperoxidů vznikají aldehydy, ketony, alkoholy, uhlovodíky, těkavé organické kyseliny a epoxidové sloučeniny, souhrnně známé jako sekundární oxidační produkty. Tyto sloučeniny spolu s volnými radikály jsou hlavními markery pro měření oxidativního poškození potravinových lipidů (Hrdinová 2008; Shahidi & Zhong 2020).

#### 3.2.2.2 Faktory ovlivňující oxidaci lipidů

- **Složení mastných kyselin:** Čím větší počet dvojných vazeb (nenasycenost mastných kyselin), tím rychlejší oxidace. Se zvyšujícím se stupněm nenasycenosti se zvyšuje jak rychlost tvorby, tak množství primárních oxidačních sloučenin.
- **Způsob zpracování**
- **Teplota a světlo:** S rostoucí teplotou se zvyšuje autooxidace lipidů a rozklad hydroperoxidů. Působením světla dochází hlavně k oxidaci singletového kyslíku.
- **Přístup kyslíku:** Záleží na koncentraci a typu kyslíku – singletový kyslík může přímo reagovat s lipidy, a proto je rychlost reakce vyšší než při přítomnosti  $^3\text{O}_2$ . Ten reaguje pouze s radikálovými formami lipidů. Účinnost oxidace se také zvyšuje s poměrem povrchu k objemu.
- **Přítomnost minoritních sloučenin:** Tyto látky mohou oxidaci urychlovat nebo zpomalovat (antioxidačním působením).
  - Volné mastné kyseliny a mono- a diacylglyceroly: Volné mastné kyseliny jsou náchylnější k autooxidaci než esterifikované MK a působí v jedlých

olejích jako prooxidanty. Díky jejich hydrofilní skupině v molekule se koncentrují na povrchu olejů, tím snižují jejich povrchové napětí a zvyšují rychlost difúze kyslíku do oleje. Mono- a diacylglyceroly by měly být z oleje odstraněny během procesu rafinace oleje, aby se zlepšila jeho oxidační stabilita.

- Kovy (např. Fe, Cu): Jejich obsah v tucích a olejích se snižuje rafinací. Při reakci s lipidy dochází ke vzniku alkylových radikálů, ale produkují reaktivní formy kyslíku.
- Fosfolipidy: Působí jako antioxidanty a prooxidanty v závislosti na jejich koncentraci a přítomnosti kovů. Sekvestrací kovů fosfolipidy snižují oxidaci a pokud tuk/olej neobsahuje žádné kovy, působí jako prooxidanty.
- Chlorofyly: V rostlinných olejích jsou chlorofyly běžně se vyskytující pigmenty, které se z olejů odstraňují při procesu bělení. Pod světlem působí jako fotosenzibilizátory a tím způsobují oxidaci, naopak ve tmě darují vodík volným radikálům a mají antioxidační účinek.
- Tepelně oxidované sloučeniny: Tyto látky vznikají při rafinaci a zpracování surových olejů (cyklické a necyklické dimery a trimery spojené vazbou C-C, hydroxydimery, dimery a trimery spojené vazbou C-O) a urychlují autooxidaci lipidů.
- Antioxidanty: V jedlých olejích se přirozeně vyskytují (tokoferoly, tokotrienoly, karotenoidy, fenolické sloučeniny a steroly). Někdy jsou záměrně přidávány do oleje pro zlepšení oxidační stability, protože prodlužují indukční periodu oxidace nebo zpomalují její rychlost. Tyto látky zachycují volné radikály, přechodné kovy, singletový kyslík a inaktivují senzibilizátory, dále mohou darovat atomy vodíku volným radikálům a přeměnit je na stabilnější neradikálové produkty.
  - Chelátory kovů mohou převádět ionty železa nebo mědi na nerozpustné komplexy nebo mohou stericky bránit tvorbě komplexů mezi kovy a lipidovými hydroperoxydy. Do této skupiny patří kyselina fosforečná, citronová kyselina, askorbová kyselina a ethylendiamintetraoctová kyselina (EDTA).
  - Tokoferoly jsou nejdůležitější antioxidanty v jedlých olejích (hlavně v rostlinných). Jejich efektivita závisí na izomerech a koncentraci (nejvyšší u  $\delta$ -tokoferolu následovaného  $\gamma$ -,  $\beta$ - a  $\alpha$ -tokoferolem).
  - Karotenoidy jsou skupina tetraterpenoidů skládajících se z izoprenoidních jednotek.
  - V jedlých tucích se vyskytují antioxidanty z různých skupin a mezi nimi dochází k vzájemným interakcím (Choe & Min 2006).



### 3.2.2.3 Oxidační stabilita

Oxidační stabilita lipidů je odolnost vůči oxidaci během skladování a zpracování. Jedná se o jeden z nejdůležitějších kvalitativních parametrů jedlých tuků a olejů. Může být vyjádřena jako doba potřebná k dosažení kritického bodu oxidace (změna senzorických vlastností nebo náhlé zrychlení oxidačního procesu). Oxidační stabilita je důležitým indikátorem určování kvality tuků, jejich skladovatelnosti a využitelnosti v technologických procesech. Během oxidace dochází k degradaci esenciálních mastných kyselin, vznikají nízkomolekulární aromatické a toxické sloučeniny a oxidované polymery, což má vliv na chuť, nutriční kvalitu a toxicitu jedlých olejů (Choe & Min 2006; Maszewska et al. 2018).

### 3.2.3 Metody měření žluknutí tuků

Pro měření rozsahu oxidace lipidů v potravinách je k dispozici řada analytických metod (Shahidi & Zhong 2015). V zásadě platí stejné metody bez ohledu na to, zda je vzorkem tuk, olej nebo potravina s vysokým obsahem tuku (Robards et al. 1988). Neexistuje však jednotná a standardní metoda pro detekci všech oxidačních změn ve všech potravinových systémech, proto je nutné zvolit správnou a adekvátní metodu pro konkrétní aplikaci (Shahidi & Zhong 2020).

#### 3.2.3.1 Smyslové hodnocení

Vzhledem k tomu, že žluknutí popisuje nepříjemné pachy a příchutě v potravinách vyplývající ze zhoršení tukové složky, konečným postupem hodnocení hydrolytické i oxidační žluknutí musí být posouzení chuti, protože měří to, co spotřebitel skutečně vnímá. Pro potravinářský průmysl je detekce oxidačních pachů podle chuti nebo vůně hlavní metodou rozhodování, kdy potravina obsahující lipidy již není vhodná ke konzumaci (Pokorny et al. 2001). Sensorické testy jsou časově náročné a nákladné. V důsledku toho byly vyvinuty objektivní metody, které lze statistickými technikami korelovat se sensorickými atributy potravin. Je však třeba zdůraznit, že smyslové hodnocení zůstává konečným měřítkem žluknutí, protože žádná kombinace chemických nebo fyzikálních testů není v současné době schopna posoudit složené sensorické vlastnosti potravin (Robards et al. 1988).

Byly vyvinuty terminologie a metodiky pro sensorické hodnocení specifických potravinářských produktů, jako jsou maso, arašidy a rostlinné oleje. V průmyslu jedlých olejů byla pro popis oxidace lipidů použita škála kvality příchuti AOCS (American Oil Chemists' Society) s klasifikací a intenzitami chutí. Popisnou analýzu, včetně detekce a popisu jak kvalitativních, tak kvantitativních sensorických aspektů produktu provádí vyškolený panel, protože citlivost na nežádoucí příchutě se u různých jedinců liší (Pokorny et al. 2001). Jako subjektivní metoda je však reprodukovatelnost sensorické analýzy obecně považována za horší než u chemických nebo instrumentálních metod. V poslední době bylo navrženo použití elektronického nosu k monitorování tvorby těkavých sloučenin spojených s pachutí z oxidace lipidů pro doplnění informací ze sensorických panelů (Shen et al. 2001).

### 3.2.3.2 Měření hydrolytického žluknutí

Stanovení volných mastných kyselin je nejjednodušší metodou sledování hydrolytického žluknutí. Množství volných mastných kyselin je stanovováno jako číslo kyselosti podle normy ČSN EN ISO 660. Číslo kyselosti je ukazatelem obsahu volných mastných kyselin v tuku. Vyjadřuje se jako hmotnost KOH (v mg), který je potřebný k neutralizaci kyselin obsažených v 1 g tuku (ČSN EN ISO 660; Robards et al. 1988).

### 3.2.3.3 Měření oxidačního žluknutí

Chemické a fyzikální testy na oxidační žluknutí jsou založeny na stanovení prekurzorů hydroperoxidů nebo konečných produktů autooxidace (Robards et al. 1988).

#### 3.2.3.3.1 Měření absorpce kyslíku nárůstem hmotnosti

Spotřeba kyslíku během počáteční fáze autooxidace má za následek zvýšení hmotnosti potravin obsahujících tuk/olej nebo lipidy, což je časná známka oxidace. Zahřívání oleje a periodické testování přírůstku hmotnosti je jednou z nejstarších metod hodnocení oxidační stability (Antolovich et al. 2002). Tato metoda, také nazývaná jako Schaalova metoda, vyžaduje pouze jednoduché vybavení a poskytuje přímou indikaci absorpce kyslíku prostřednictvím změny hmoty. Vzorky oleje o známé hmotnosti jsou skladovány v peci při nastavené teplotě bez cirkulace vzduchu. Aby se zabránilo vlivu změny hmotnosti těkavými látkami, vzorky mohou být předeřívány v inertní atmosféře. Vzorky jsou poté vyjímány z pece v různých časových intervalech, ochlazeny na okolní teplotu a znovu zváženy; pak se zaznamená přírůstek hmotnosti (Shahidi & Zhong 2020).

#### 3.2.3.3.2 Měření změny reaktantu

Oxidaci lipidů lze hodnotit kvantitativně měřením ztráty hmotnosti výchozích substrátů. V potravinách obsahujících tuky nebo oleje jsou hlavními reaktanty nenasycené mastné kyseliny, jejichž složení se během oxidace výrazně mění. Změny ve složení mastných kyselin poskytují nepřímé měřítko rozsahu oxidace lipidů. Při této metodě se v případě potřeby extrahují lipidy z potravy a následně se převedou na deriváty vhodné pro chromatografickou analýzu. Methylestery mastných kyselin jsou deriváty často používané pro stanovení složení mastných kyselin, obvykle plynovou chromatografií (GC) (Fruhirth et al. 2003). Měření změn ve složení mastných kyselin je užitečné pro identifikaci třídy lipidů a mastných kyselin, které se účastní oxidačních reakcí. Protože se však distribuce nenasycených mastných kyselin v různých potravinových systémech liší, například vysoce nenasycené mastné kyseliny jsou umístěny převážně ve fosfolipidech svalových potravin, může být nutné rozdělení lipidů na neutrální, glykolipidové, fosfolipidové a další třídy. Navíc je to necitlivý způsob hodnocení oxidačního poškození. Kromě toho je aplikace této metody omezená kvůli její neschopnosti sloužit jako indikátor oxidace více nenasycených lipidů (Shahidi & Zhong 2020).

### 3.2.3.3.3 Měření primárních produktů oxidace

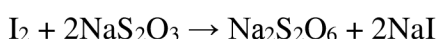
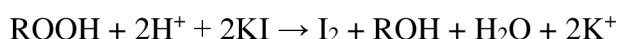
#### 3.2.3.3.3.1 Peroxidové číslo (PV, Peroxide Value)

Peroxidy a hydroperoxydy, i když jsou bez příchutě, jsou známkou hrozícího zhoršení chuti. Peroxidové číslo je cenným měřítkem raných fází žluknutí, tedy vzniku primárních oxidačních produktů. Vyjadřuje se jako miliekvivalenty aktivního kyslíku nebo milimoly aktivního kyslíku v kg vzorku. Hodnota v milimolech je poloviční k hodnotě vyjádřené v miliekvivalentech. Rychlost tvorby hydroperoxidů převažuje nad rychlostí jejich rozkladu během počáteční fáze oxidace a tato se v pozdějších fázích obrací. Proto je PV indikátorem počátečních fází oxidativní změny (ČSN EN ISO 3960; Shahidi & Zhong 2020).

Příprava vzorků obvykle zahrnuje rozpuštění oleje nebo tuku v roztoku octové kyseliny a chloroformu. Vzorky se obecně před extrakcí oleje nebo tuku polárním rozpouštědlem rozmělní na prášek, poté se rozpouštědlo odpaří a extrakt se použije pro analýzu. Stanovení peroxidového čísla je vysoce empirické a přesnost závisí na standardizaci experimentálních podmínek. Nejběžnější jsou metody založené na jodometrické titraci (Robards et al. 1988).

#### 3.2.3.3.3.2 Jodometrická titrace

Jodometrická titrační zkouška, která je založena na oxidaci jodidového iontu ( $I^-$ ) hydroperoxydy (ROOH), je základem současných standardních metod stanovení PV (Antolovich et al. 2002). Při této metodě se ke vzorkům oleje přidává nasycený roztok jodidu draselného, aby reagoval s hydroperoxydy. Uvolněný jód ( $I_2$ ) se poté titruje standardizovaným roztokem thiosíranu sodného a škrobu jako indikátoru koncového bodu. PV se získá výpočtem a uvede se jako miliekvivalenty kyslíku na kilogram vzorku ( $meq \times kg^{-1}$ ) (ČSN EN ISO 3960; Shahidi & Zhong 2020). Níže jsou uvedeny chemické reakce probíhající během jodometrického stanovení peroxidového čísla:



I když je jodometrická titrace nejběžnější metodou pro měření PV, má několik nevýhod. Postup je časově náročný a pracný. Metoda zahrnuje šest kroků: přesné zvážení vzorku, rozpuštění lipidu v rozpouštědle, okyselení octovou kyselinou, přidání jodidu draselného, inkubace po dobu přesně pěti minut a titrace thiosíranem sodným. Tato technika vyžaduje velké množství vzorku a vytváří značné množství odpadu. Kromě toho jsou hlavními omezeními nedostatečná citlivost, možné interference a potíže při stanovení konečného bodu titrace (Dobarganes & Velasco 2002; Eymard & Genot 2003). Chyby v jodometrických postupech jsou připisovány adici jódu na dvojnásobné vazby nenasycených mastných kyselin a uvolňování jódu oxidací jodidu vzduchem. Výsledek je také ovlivněn strukturou a reaktivitou peroxidů a reakční teplotou a dobou (Robards et al. 1988).

#### 3.2.3.3.2.1 Komplexy železitých iontů

Jiné chemické metody založené na oxidaci železnatého iontu ( $\text{Fe}^{2+}$ ) na železitý iont ( $\text{Fe}^{3+}$ ) v kyselém prostředí a tvorbě komplexů železa byly rovněž široce používány. Tyto metody spektrofotometricky měří schopnost lipidových hydroperoxidů oxidovat železnaté ionty na železité ionty, které jsou komplexovány buď thiokyanátem nebo xylenolovou oranží (Jiang et al. 1991; Wolff 1994; Eymard & Genot 2003). Thiokyanát železitý je červenofialový komplex, který vykazuje silnou absorpci při 500–510 nm. Metoda stanovení PV kolorimetrickou detekcí thiokyanatanu železitého je jednoduchá, reprodukovatelná a citlivější než standardní jodometrické stanovení a byla použita k měření oxidace lipidů v mléčných výrobcích, tucích, olejích a lipozomech (Dobarganes & Velasco 2002; Eymard & Genot 2003).

#### 3.2.3.3.2.2 Infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací (FTIR)

Hydroperoxydy mohou být kvantitativně stanoveny IR spektroskopií měřením jejich charakteristického O–H absorpčního pásma (Sedman et al. 1997). Absorpční pás při asi 2,93  $\mu\text{m}$  indikuje tvorbu hydroperoxidů, zatímco nahrazení atomu vodíku na dvojně vazbě nebo polymerace odpovídá za vymizení pásu při 3,20  $\mu\text{m}$ . Tvorba aldehydů, ketonů nebo kyselin dává vzniknout dalšímu pásu při 5,72  $\mu\text{m}$ . Dále lze prostřednictvím změn absorpčního pásma v rozmezí 10–11  $\mu\text{m}$  detekovat cis-, trans-izomerizaci a tvorbu konjugovaných dienu (Shahidi & Zhong 2020).

Pro stanovení PV jedlých olejů byla vyvinuta a úspěšně aplikována rychlá metoda FTIR spektroskopie založená na stechiometrické reakci trifenyfosfinu (TPP) s hydroperoxydy (Dong et al. 1997). Hydroperoxydy přítomné ve vzorcích oleje reagují stechiometricky s TPP za vzniku trifenyfosfinoxidu (TPPO), který má intenzivní absorpční pás při 542  $\text{cm}^{-1}$  ve středním IR spektru. Intenzita pásma se měří a převádí na PV (Shahidi & Zhong 2020).

FTIR spektroskopie je jednoduchá, rychlá a vysoce přesná metoda. Vykazuje vynikající korelaci s jodometrickou metodou a zabraňuje problémům s likvidací rozpouštědel a činidel spojených se standardní titrační metodou (Russin et al. 2003). Metoda FTIR poskytuje automatizovaný, účinný a levný způsob hodnocení oxidace v olejích podléhajících tepelnému namáhání (Innawong et al. 2004).

#### 3.2.3.3.3 Konjugované dieny a trieny

V roce 1933 bylo zjištěno, že tvorba konjugovaných dienu v tucích nebo olejích vede k absorpčnímu maximu při 230–235 nm v ultrafialové (UV) oblasti. V 60. letech se sledování dienové konjugace objevilo jako užitečná technika pro studium oxidace lipidů (Antolovich et al. 2002). Během tvorby hydroperoxidů z nenasycených mastných kyselin jsou typicky produkovány konjugované dieny v důsledku přeskupení dvojných vazeb. Výsledné konjugované dieny vykazují intenzivní absorpci při 234 nm; podobně konjugované trieny absorbují při 268 nm. Zvýšení absorpce UV záření teoreticky odráží tvorbu primárních oxidačních produktů v tucích a olejích. Byly nalezeny dobré korelace mezi konjugovanými dieny a PV (Shahidi et al. 1994; Wanasundara et al. 1995).

UV detekce konjugovaných dienu je jednoduchá, rychlá, nevyžaduje žádná chemická činidla a je potřeba pouze malá množství vzorků. Tato metoda má však menší specifitu a citlivost než měření PV. Kromě toho může být výsledek ovlivněn přítomností sloučenin absorbujících ve stejné oblasti, jako jsou například karotenoidy. Aby se předešlo těmto

interferencím, byla navržena alternativní spektroskopická metoda měření konjugovaných oxidačních produktů (Pokorny et al. 2001).

#### 3.2.3.3.4 Měření sekundárních produktů oxidace

Primární oxidační produkty (hydroperoxydy) jsou nestabilní a náchylné k rozkladu. Složitá směs těkavých, netěkavých a polymerních sekundárních oxidačních produktů vzniká rozkladnými reakcemi, které poskytují různé indexy oxidace lipidů. Produkty sekundární oxidace zahrnují mimo jiné aldehydy, ketony, alkoholy, uhlovodíky, těkavé organické kyseliny a epoxidové sloučeniny (Shahidi & Zhong 2020).

##### 3.2.3.3.4.1 Thiobarbiturové číslo

Test pomocí thiobarbiturové kyseliny (TBA) byl navržen před více než 40 lety a nyní je jednou z nejrozšířenějších metod k detekci oxidativního poškození potravin obsahujících tuk (Kishida et al. 1993). Během oxidace lipidů vzniká malonaldehyd (MA) jako výsledek degradace polyenových mastných kyselin. Je široce používán jako indikátor procesu oxidace lipidů, a to jak pro časný výskyt oxidace, tak pro citlivost analytické metody (Cesa 2004). MA reaguje s TBA za vzniku růžového komplexu MA-TBA, který je měřen spektrofotometricky při svém absorpčním maximu při 530–535 nm (Jardine et al. 2002; De las Heras et al. 2003). Rozsah oxidace se uvádí jako hodnota TBA a vyjadřuje se jako miligramy ekvivalentů MA na kilogram vzorku nebo jako mikromoly ekvivalentů MA na gram vzorku. Je však třeba poznamenat, že alkenal a alkadienaly také reagují s činidlem TBA a vytvářejí růžové zbarvení. Místo MA se tedy nyní používá termín reaktivní látky s thiobarbiturovou kyselinou (TBARS). Komplexní přehled metody TBARS poskytuje Ghani et al. (2017). Navzdory svým omezením poskytuje test TBA vynikající prostředek pro hodnocení oxidace lipidů v potravinách, zejména na srovnávací bázi. Jeho použití v olejích ve velkém je však méně obvyklé než tzv. *para*-anisidinové číslo (*p*-AnV) (De las Heras et al. 2003; Shahidi & Zhong 2020).

##### 3.2.3.3.4.2 *para*-anisidinové číslo (*p*-AnV)

Metoda *p*-AnV měří obsah aldehydů (především 2-alkenalů a 2,4-alkadienalů) vznikajících při rozkladu hydroperoxidů. Je založena na barevné reakci *p*-methoxyanilinu (anisidinu) a aldehydických sloučenin (Doleschall et al. 2002). Reakce *p*-anisidinu s aldehydy za kyselých podmínek poskytuje nažloutlé produkty, které absorbují světlo při 350 nm. Barva je kvantifikována a převedena na *p*-AnV. Hodnota *p*-AnV je definována jako absorbance roztoku vzniklého reakcí 1 g tuku v roztoku isooktanu (100 ml) s *p*-anisidinem (0,25 % v octové kyselině). Tento test je citlivější na nenasycené aldehydy než na nasycené aldehydy, protože barevné produkty z nenasycených aldehydů absorbují při této vlnové délce silněji (Pokorny et al. 2001). Dobře však koreluje s množstvím celkových těkavých látek (Doleschall et al. 2002). *p*-AnV je spolehlivým indikátorem oxidačního žluknutí tuků a olejů a tučných potravin (van der Merwe et al. 2003). Byla nalezena vysoce významná korelace mezi *p*-AnV a chuťovým skóre a PV (List et al. 1974). Nicméně někteří autoři uvedli, že *p*-AnV je srovnatelné pouze v rámci stejného typu oleje, protože počáteční AnV se u různých zdrojů oleje liší (Guillén & Cabo 2002). Například oleje s vysokým obsahem polyenových mastných kyselin mohou mít vyšší AnV, i když jsou čerstvé. Při provádění této metody je třeba postupovat opatrně kvůli toxicitě anisidinového činidla (ČSN EN ISO 6885; Doleschall et al. 2002).

#### 3.2.3.3.4.3 Hodnota Totox

Hodnota Totox je mírou celkové oxidace, včetně primárních a sekundárních oxidačních produktů. Jedná se o kombinaci PV a *p*-AnV (hodnota Totox = 2PV + *p*-AnV). Během oxidace lipidů je často pozorováno, že PV nejprve stoupá, poté klesá, jak se hydroperoxydy rozkládají. PV a *p*-AnV odrážejí úroveň oxidace v časných a pozdějších fázích oxidační reakce. Zatímco hodnota Totox měří jak hydroperoxydy, tak produkty jejich rozkladu a poskytuje lepší odhad progresivního oxidativního zhoršování tuků a olejů, nemá žádný vědecký základ, protože jde o kombinaci dvou ukazatelů s různými rozměry (Shahidi & Zhong 2020).

#### 3.2.3.3.4.4 Karbonyly

Karbonylové sloučeniny, včetně aldehydů a ketonů, jsou sekundárními oxidačními produkty vznikajícími při degradaci hydroperoxidů a předpokládá se, že jsou hlavními přispěvateli k nežádoucím příchutím spojeným se žluknutím mnoha potravinářských produktů. Analýza celkových karbonylových sloučenin, která je založena na absorpenci karbonylových derivátů, poskytuje další přístup k měření rozsahu oxidace lipidů v tucích a olejích. Při této metodě se celkový obsah karbonylu měří kolorimetrickou 2,4-dinitrofenylhydrazonovou procedurou. Karbonylové sloučeniny vzniklé během oxidace lipidů reagují s 2,4-dinitrofenylhydrazinem. Produkty hydrazinu jsou chromogeny v alkalických podmínkách a mohou být analyzovány spektrofotometricky při dané vlnové délce. Bylo popsáno mnoho variant této metody využívající alternativní rozpouštědlo, činidlo, vlnovou délku nebo zpracování (Shahidi & Zhong 2020).

Stanovení celkového obsahu karbonylů bylo použito v různých studiích oxidační stability. Bylo však kritizováno, protože podmínky stanovení způsobují degradaci hydroperoxidů na karbonylové deriváty, což dává falešné výsledky. Karbonyly produkované oxidací proteinů mohou také vést k vyšším hodnotám než jaké lze očekávat při samotné oxidaci lipidů (Guillén & Cabo 2002).

Kromě celkového obsahu karbonylu si pro hodnocení oxidace lipidů získala oblibu analýza jednotlivých karbonylových sloučenin. Hexanal, jeden z hlavních sekundárních produktů vznikajících při oxidaci linolové a dalších  $\omega$ -6 mastných kyselin, slouží jako spolehlivý indikátor oxidace lipidů v potravinách bohatých na  $\omega$ -6 mastné kyseliny. Navíc měření hexanalů nabízí výhodu analýzy jediného, dobře definovaného konečného produktu pro studie antioxidační účinnosti (Antolovich et al. 2002). Hexanal lze kvantifikovat chromatografií nebo jako intenzitu karbonylového pásu pomocí blízké infračervené (NIR) spektroskopie (Goodridge et al. 2003).

Jiné karbonylové sloučeniny včetně propanalu, pentanalů a dekadienu se také používají pro hodnocení oxidace lipidů v potravinách. Například propanal je doporučeným indikátorem oxidace lipidů v potravinách s vysokým obsahem  $\omega$ -3 mastných kyselin, jako je rybí tuk. Obecně je při hodnocení oxidativního poškození různých potravinových systémů nezbytné používat vhodné indikátory (Shahidi & Spurvey 1996).

#### 3.2.3.3.4.5 Index stability oleje (OSI, Oil Stability Index)

Při oxidaci lipidů vznikají při vysokých teplotách těkavé organické kyseliny, zejména mravenčí kyselina a octová kyselina, jako sekundární těkavé oxidační produkty, současně s hydroperoxydy (Schwarz et al. 2001; Kiritsakis et al. 2002). Kromě toho mohou být další

sekundární produkty včetně alkoholů a karbonylových sloučenin dále oxidovány na karboxylové kyseliny. Metoda OSI měří tvorbu těkavých kyselin sledováním změny elektrické vodivosti vody při jejím průchodu oxidovaným olejem. Hodnota OSI je definována jako bod maximální změny rychlosti oxidace, připisovaný zvýšení vodivosti tvorbou těkavých organických kyselin během oxidace lipidů (Miura et al. 2002). Tato metoda však vyžaduje poněkud vyšší úroveň oxidace (PV >100) k získání měřitelných výsledků než jiné metody, ve kterých jsou hydroperoxy nej důležitějšími vznikajícími a detekovanými produkty (de la Presa-Owens et al. 1995). Pro laboratorní stanovení stability oleje, zejména u některých olejů, které jsou za normálních podmínek stabilní, se proto oxidační proces urychluje vystavením vzorků oleje zvýšeným teplotám za přítomnosti nadbytečného množství vzduchu nebo kyslíku. Metoda OSI se liší od okolních skladovacích podmínek využívajících proudění vzduchu a vysokých teplot k urychlení oxidace (Tan et al. 2002; Cañizares-Macías et al. 2004).

I když je metoda OSI užitečná pro kontrolu kvality olejů, pro měření antioxidační aktivity se z určitých důvodů nedoporučuje. Použité vysoké teploty neumožňují spolehlivé předpovědi antioxidační účinnosti při nižších teplotách. Těkavé antioxidanty mohou být za testovacích podmínek odstraněny z oleje proudem vzduchu a také oleje jsou vážně znehodnoceny, když je dosaženo koncového bodu měření (Pokorný et al. 2001).

#### **3.2.3.3.4.6 Uhlovodíky a fluorescenční test**

Tvorba nasycených uhlovodíků, zejména uhlovodíků s krátkým řetězcem (C1–C5), jako je ethan, propan a pentan, může být měřena pro monitorování oxidace lipidů, když aldehydy buď chybí, nebo jsou nedetekovatelné. Obsah pentanu, stanovený pomocí GC technik, byl užitečným parametrem pro hodnocení žluknutí tuků a olejů a také lyofilizovaných potravin z masa. Mezi hladinami pentanu a úrovní žluklého zápachu existovaly významné korelace. Bylo pozorováno, že obsah sekundárních oxidačních produktů, jako je MA, klesá se zvýšenou oxidací lipidů, což lze vysvětlit další reakcí MA s proteiny. MA reaguje se sloučeninami obsahujícími primární aminokupiny (proteiny, aminokyseliny, DNA a fosfolipidy) za vzniku fluorescenčních produktů. Kromě MA reagují s aminosloučeninami také hydroperoxy a další aldehydy, přičemž vznikají různé fluorescenční produkty s různými excitačními a emisními maximy (Wold & Mielnik 2000).

#### **3.2.3.3.5 Měření volných radikálů**

Počáteční kroky oxidace lipidů zahrnují řetězové reakce volných radikálů jako důležitých meziproductů s krátkou životností. Úroveň oxidace tuků a olejů lze měřit přímo detekcí tvorby radikálů. Metody založené na detekci radikálů nebo na tendenci k tvorbě radikálů poskytují dobrou indikaci iniciace oxidace lipidů (Carlsen et al. 2001; Andersen & Skibsted 2002).

#### **3.2.3.3.6 Nukleární magnetická rezonance (NMR)**

K hodnocení oxidativní degradace tuků a olejů byla použita <sup>1</sup>H NMR spektroskopie s vysokým rozlišením, při které se stanovují atomy vodíku (proton, <sup>1</sup>H) s různými umístěními v molekulách triacylglycerolu. Princip NMR spočívá v tom, že atomy vodíku v silném magnetickém poli absorbují energii v radiofrekvenčním rozsahu v závislosti na jejich spinovém stavu, které se během oxidačního procesu mění. Tyto změny mohou být monitorovány NMR spektroskopií jako odraz úrovně oxidace potravinových lipidů. Lipidový vzorek se obvykle

rozpuští v deuterovaném chloroformu ( $\text{CDCl}_3$ ), aby se zabránilo narušení signálu testovaných vzorků, a zaznamená se jeho NMR spektrum s tetramethylsilanem jako vnitřním standardem (Guillén & Ruiz 2001).

NMR spektroskopie je rychlá, nedestruktivní a spolehlivá technika pro hodnocení oxidace lipidů. Současně je schopna stanovit primární i sekundární oxidační změny v olejích a poskytuje specifické informace o oxidačních oblastech v molekulách triacylglycerolu. NMR spektroskopie je tedy považována za vhodnější prostředek pro odhad oxidace lipidů než chemická stanovení (Shahidi & Zhong 2020).

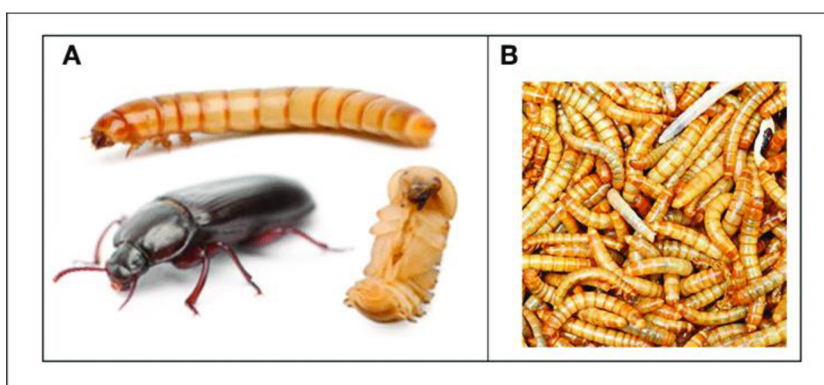


## 4 Metodika

V praktické části této práce bylo u tří vybraných druhů jedlého hmyzu stanoveno peroxidové číslo a pozorována oxidace lipidů během 3 měsíců. Peroxidové číslo bylo stanoveno jodometrickou titrací podle normy ČSN EN ISO 3960 s mírnou modifikací dle metodiky diplomové práce Škvorové (2020).

### 4.1 Materiál

Stanovení oxidačního žluknutí bylo provedeno na larvách potměníka moučného (*Tenebrio molitor*), také známého jako moučného červa (Obrázek 2), dále na cvrčkovi banánovém (*Gryllus assimilis*, Obrázek 3) a švábovi discoidalis (*Blaberus discoidalis*, Obrázek 4). Všechny tyto druhy jedlého hmyzu byly chovány v insektáriu České zemědělské univerzity v Praze. Vzorky byly usmrceny zmrazením při teplotě  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Stanovený obsah sušiny byl  $95,93 \pm 0,11\%$  u cvrčka,  $91,86 \pm 0,15\%$  u švába a  $95,74 \pm 0,29\%$  u červa.



**Obrázek 2** Potměník moučný (*Tenebrio molitor*) A – Vývojový cyklus: Larva, kukla a dospělec. B – larvy moučného červa (De Loof & Schoofs 2019).



**Obrázek 3** Cvrček banánový (*Gryllus assimilis*) (Schönitzer 2014).



**Obrázek 4** Dospělci (nahore) a nymfy (dole) švába discoidalis (*Blaberus discoidalis*) (Tuszyński 2009).

## 4.2 Metody

Během pokusu byly všechny vzorky jedlého hmyzu (*Gryllus assimilis*, *Tenebrio molitor* a *Blaberus discoidalis*) lyofilizovány (ScanVac, Dánsko) a polovina z nich byla následně homogenizována, čímž vznikly 2 skupiny vzorků. Z každé skupiny byly vzorky rozděleny do 4 podskupin pro skladování při teplotách  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $8\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$  a  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$  po dobu tří měsíců a byl proveden skladovací pokus s následným měřením peroxidového čísla. Analýza na stanovení hodnot peroxidového čísla byla provedena ihned po ošetření a další analýzy pak byly provedeny vždy po jednom měsíci skladování pro všechny čtyři skladovací teploty. Homogenizované vzorky i vzorky vcelku byly analyzovány vždy ve dvou opakováních. Během 2. měsíce skladování byl také porovnán vliv homogenizace před analýzou na oxidaci tuku jedlého hmyzu u celých vzorků.

### 4.2.1 Skladování

Vzorky skladované při teplotě  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  a  $8\text{ }^{\circ}\text{C}$  byly skladovány v mrazáku a lednici. Skupina vzorků skladovaná při  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$  byla volně ložena v laboratoři při pokojové teplotě. Pro skladování při  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$  byla využita sušárna Binder (Německo). Všechny vzorky byly skladovány v zatavených vakuovacích sáčcích.

#### 4.2.2 Homogenizace

Homogenizace vzorků byla provedena na homogenizátoru Grandprix 2008 (Retsch, Německo) a vzorky byly mělněny 6 s při 6000 otáčkách za minutu. V průběhu analýzy dle dat z prvního měsíce vyšlo najevo, že by bylo vhodné posoudit vliv homogenizace šetrným způsobem, proto byla po 2 měsících skladování homogenizace provedena jak v homogenizátoru, tak v třecí misce.

#### 4.2.3 Stanovení peroxidového čísla

Tuk ze vzorků byl extrahován v Erlenmeyerově baňce pomocí petroletheru. Po promíchání vzorku s rozpouštědlem byla baňka umístěna na 5 minut na ultrazvukovou třepačku (Tesla, Československo). Po extrakci byl vzorek přefiltrován přes filtrační papír s přídavkem síranu sodného bezvodého a odpařen na rotační vakuové odparce Laborota 4000 (120 otáček za minutu, 40 °C, 5 minut; Německo). Množství petroletheru a bezvodého síranu sodného bylo různé v závislosti na navážce vzorku, přesné hodnoty jsou uvedeny v Tabulce 2. Extrahovaný tuk byl použit ke stanovení peroxidového čísla jodometrickou titrací dle normy ČSN EN ISO 3960 s mírnou modifikací podle metodiky diplomové práce Škvorové (2020). Množství tuku bylo dáno množstvím vyextrahovaného tuku a k němu bylo přidáváno 10 ml chloroformu, 10 ml octové kyseliny a 1 ml nasyceného roztoku jodidu draselného (KI). Po ponechání vzorku 5 minut v temnu k němu bylo přidáno 30 ml destilované vody a několik kapek škrobového mazu. Šlo o titrační stanovení 0,02M roztokem thiosíranu sodného ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ) za pomoci poloautomatické byrety firmy Titrette<sup>®</sup> (Německo) a výsledné hodnoty byly vypočteny ze spotřeby  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ .

**Tabulka 2** Množství použitého petroletheru a bezvodého síranu sodného v závislosti na navážce vzorků jedlého hmyzu.

Navážka vzorku (g)	Petrolether (ml)	Síran sodný bezvodý (g)
5	50	1,25
3	30	0,75
2,5	25	0,625

#### 4.2.4 Statistické metody

Statistické vyhodnocení vzorků bylo provedeno pomocí programu Statistica 12 (StatSoft, Inc.). K určení statisticky významných rozdílů mezi vzorky byla použita vícefaktorová ANOVA s následným post-hoc Sheffeho testem na hladině významnosti 95 %. Pro porovnání výsledků oxidace v závislosti na způsobu homogenizace před analýzou byl použit Wilcoxonův párový test, protože data neměla dle Shapiro-Wilkova testu normální rozdělení.

## 5 Výsledky

### 5.1 Peroxidové číslo

Peroxidové číslo (PV) je v této práci vyjádřeno jako miliekvivalenty aktivního kyslíku na kilogram vyextrahovaného tuku ze vzorků jedlého hmyzu. U každého vzorku hmyzu byla provedena dvě paralelní měření a z nich byla vypočítána průměrná hodnota PV. Průměrné výsledky jednotlivých druhů vzorků jsou uvedeny v tabulkách 3-5. V tabulce 6 jsou uvedeny naměřené hodnoty PV u jednotlivých druhů hmyzu v závislosti na způsobu homogenizace před analýzou po 2 měsících skladování. Obrázky 5-8 znázorňují výstupy ze statistického programu a popisují vliv teploty, délky a způsobu skladování na hodnoty PV všech druhů. Na obrázku 9 je znázorněn rozdíl hodnot PV mezi vzorky homogenizovanými v třecí misce a homogenizátoru před analýzou.

**Tabulka 3** Peroxidové číslo (meq O<sub>2</sub>/kg tuku) cvrčků v závislosti na způsobu, teplotě a délce skladování v měsících (H – homogenizované vzorky, C – celé lyofilizované vzorky jedlého hmyzu)

Způsob skladování	Teplota skladování (°C)	PV (meq O <sub>2</sub> /kg tuku) během jednotlivých měsíců			
		0	1	2	3
H	-18	17,368	84,775	87,921	156,365
C	-18	17,368	76,298	109,457	134,633
H	8	17,368	188,362	415,364	925,018
C	8	17,368	233,650	390,865	543,517
H	20	17,368	74,277	183,285	123,986
C	20	17,368	449,138	490,753	382,081
H	40	17,368	454,162	174,955	75,581
C	40	17,368	132,176	160,184	90,572

**Tabulka 4** Peroxidové číslo (meq O<sub>2</sub>/kg tuku) moučných červů v závislosti na způsobu, teplotě a délce skladování v měsících (H – homogenizované vzorky, C – celé lyofilizované vzorky jedlého hmyzu)

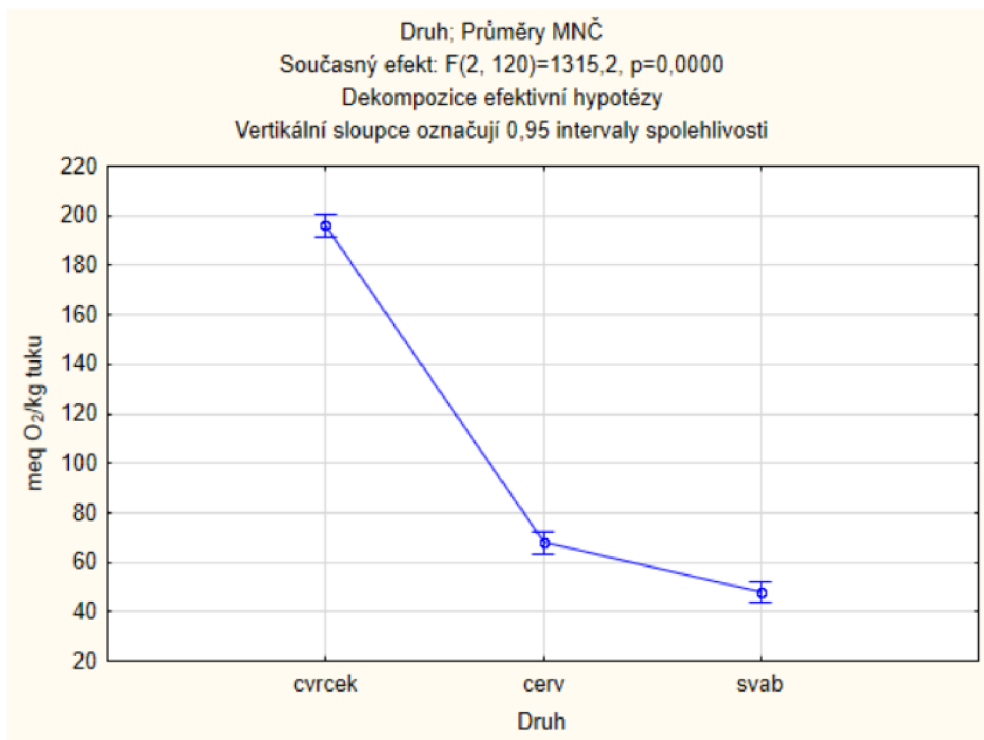
Způsob skladování	Teplota skladování (°C)	PV (meq O <sub>2</sub> /kg tuku) během jednotlivých měsíců			
		0	1	2	3
H	-18	17,341	18,639	13,021	71,695
C	-18	17,341	18,010	55,127	79,391
H	8	17,341	43,633	58,397	300,000
C	8	17,341	71,395	234,687	464,269
H	20	17,341	26,373	29,130	32,651
C	20	17,341	81,384	104,699	109,063
H	40	17,341	32,976	34,008	36,649
C	40	17,341	33,647	31,302	52,087

**Tabulka 5** Peroxidové číslo (meq O<sub>2</sub>/kg tuku) švábů v závislosti na způsobu, teplotě a délce skladování v měsících (H – homogenizované vzorky, C – celé lyofilizované vzorky jedlého hmyzu)

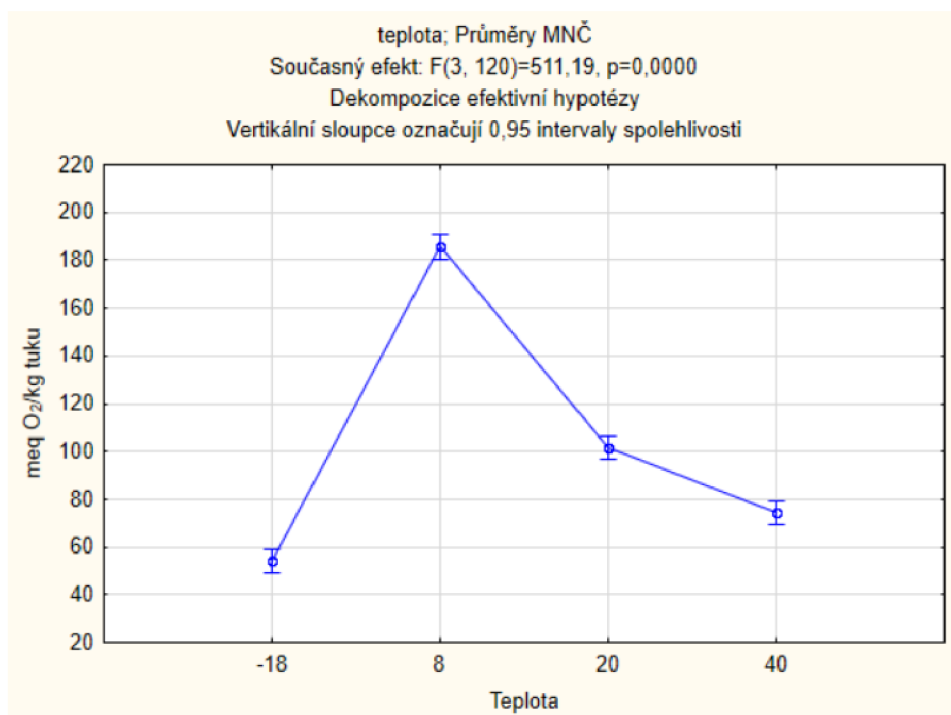
Způsob skladování	Teplota skladování (°C)	PV (meq O <sub>2</sub> /kg tuku) během jednotlivých měsíců			
		0	1	2	3
H	-18	18,280	41,521	45,210	46,102
C	-18	18,280	27,012	48,324	78,385
H	8	18,280	36,674	33,967	86,528
C	8	18,280	69,877	112,559	142,841
H	20	18,280	29,701	32,447	62,543
C	20	18,280	24,888	52,311	46,953
H	40	18,280	42,370	63,674	78,887
C	40	18,280	27,770	56,431	104,016

**Tabulka 6** Peroxidové číslo (meq O<sub>2</sub>/kg tuku) jednotlivých druhů jedlého hmyzu v závislosti na způsobu homogenizace před analýzou

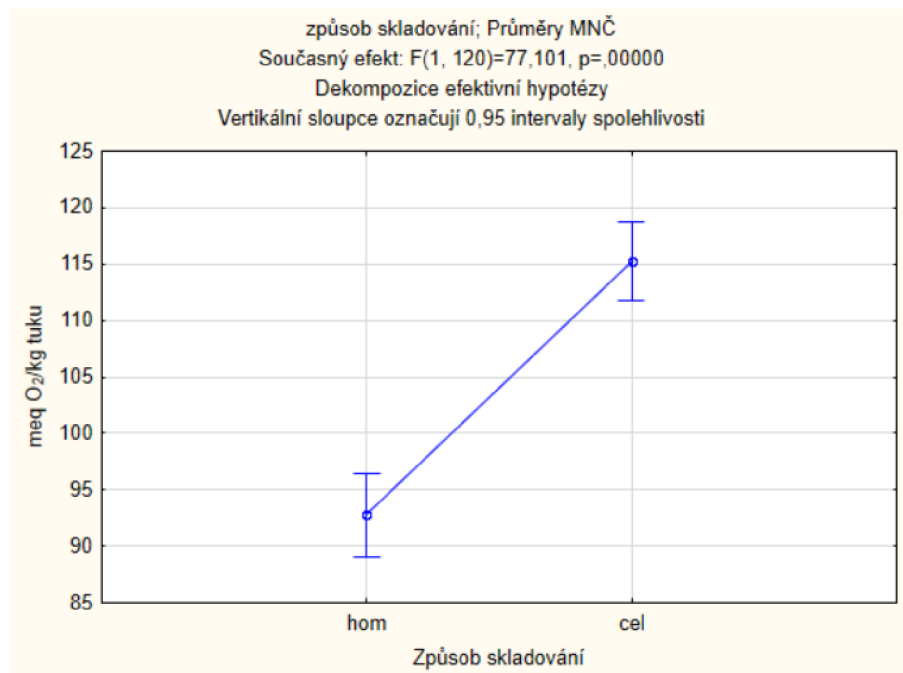
Způsob homogenizace	Teplota skladování (°C)	PV (meq O <sub>2</sub> /kg tuku) jednotlivých druhů		
		Cvrček	Moučný červ	Šváb
Homogenizátor	-18	123,715	42,903	50,267
Třecí miska	-18	95,199	67,352	46,382
Homogenizátor	8	313,902	225,856	109,756
Třecí miska	8	467,828	243,519	115,362
Homogenizátor	20	460,699	111,453	51,962
Třecí miska	20	520,806	97,944	52,660
Homogenizátor	40	174,955	30,121	59,957
Třecí miska	40	145,414	32,483	52,905



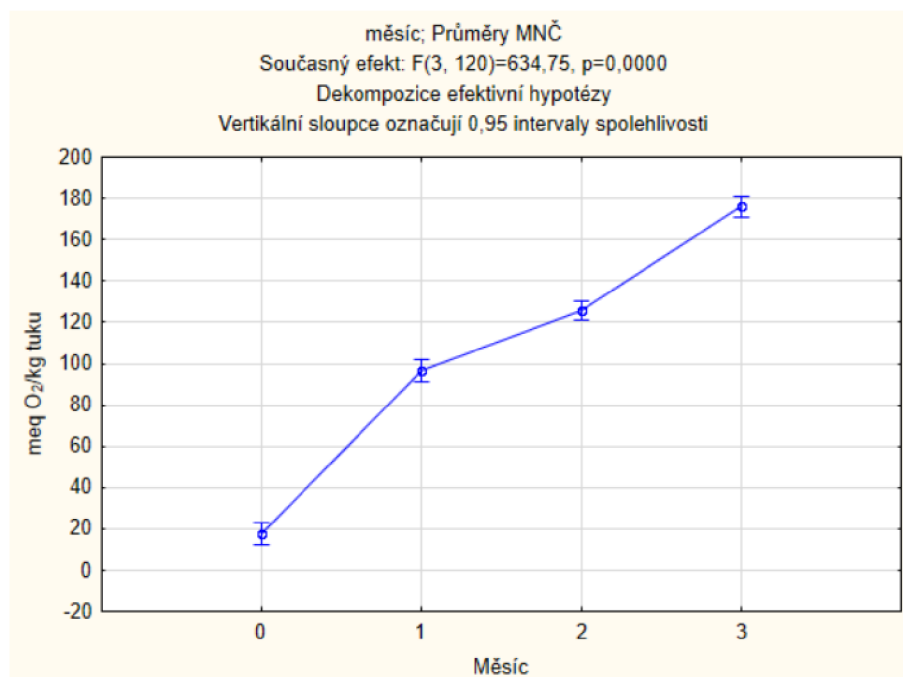
**Obrázek 5** Statistické hodnocení rozdílů PV mezi jednotlivými druhy vzorků



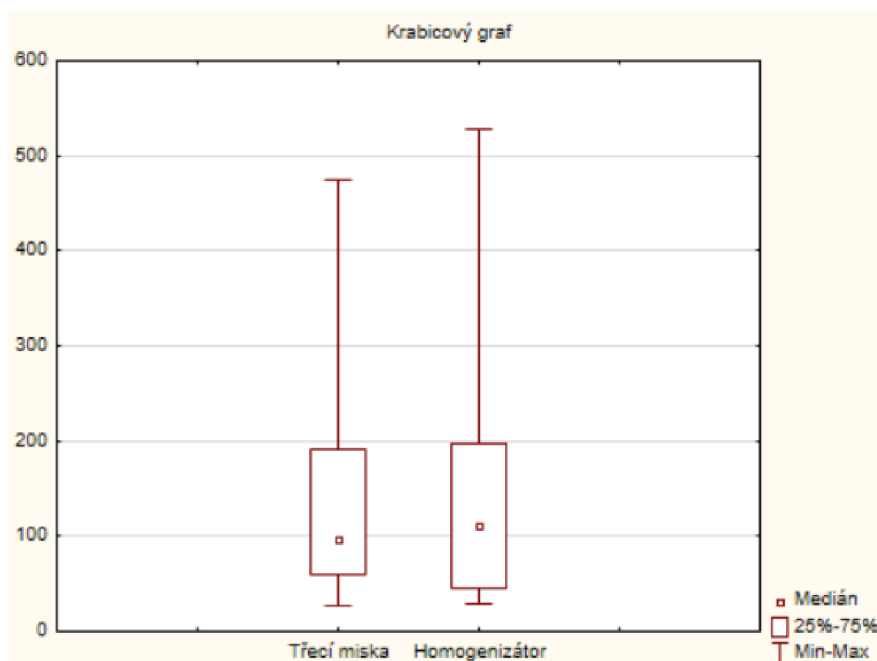
**Obrázek 6** Statistické hodnocení rozdílů PV všech druhů v závislosti na teplotě



**Obrázek 7** Statistické hodnocení rozdílů PV všech druhů v závislosti na způsobu skladování



**Obrázek 8** Statistické hodnocení rozdílů PV všech druhů v závislosti na době skladování



**Obrázek 9** Porovnání výsledků PV všech druhů (meq O<sub>2</sub>/kg tuku) v závislosti na způsobu homogenizace před analýzou

U všech vzorků docházelo k nárůstu PV s přibývajícími měsíci skladování i s rostoucí teplotou skladování. U některých vzorků je možné pozorovat i pokles hodnoty PV, což lze vysvětlit rychlejším rozkladem primárních produktů oxidace než jejich vzniku a vznikem sekundárních oxidačních produktů. Z obrázku 5 je patrné, že hodnoty PV mezi jednotlivými druhy jsou odlišné, a to z důvodu odlišného složení mastných kyselin a celkového množství tuku. Všechny hodnoty PV již na počátku skladovacího pokusu již nesplňují limit PV pro jedlé oleje (PV < 2 meq O<sub>2</sub>/kg) (EFSA 2010). V přílohách 19-22 jsou přiloženy fotografie ukazující zabarvení extrahovaného tuku moučného červa po 3 měsících skladování při různých teplotách.

Pro statistickou analýzu dat byla použita vícefaktorová ANOVA s hladinou pravděpodobnosti 95 %. K naměřeným hodnotám peroxidového čísla byly porovnávány vlivy druhu, délky skladování (měsíce) a teploty skladování (°C). Na základě analýza ANOVA s interakcemi byly zjištěny statisticky významné rozdíly v hodnotách peroxidového čísla v závislosti na druhu vzorku (p<0,001; obrázek 5), teplotě (p<0,001; obrázek 6), způsobu skladování (p<0,001; obrázek 7) a délce skladování (p<0,001; obrázek 8). Způsob homogenizace před analýzou neměl vliv na hodnoty PV (p = 0,732; obrázek 9).

Protože bylo zjištěno, že mezi vzorky jsou rozdíly v naměřených hodnotách peroxidového čísla v závislosti na druhu vzorku, bylo následně zjišťováno, zda se vliv teploty, délky a způsobu skladování projeví v rámci jednoho druhu daného jedlého hmyzu.

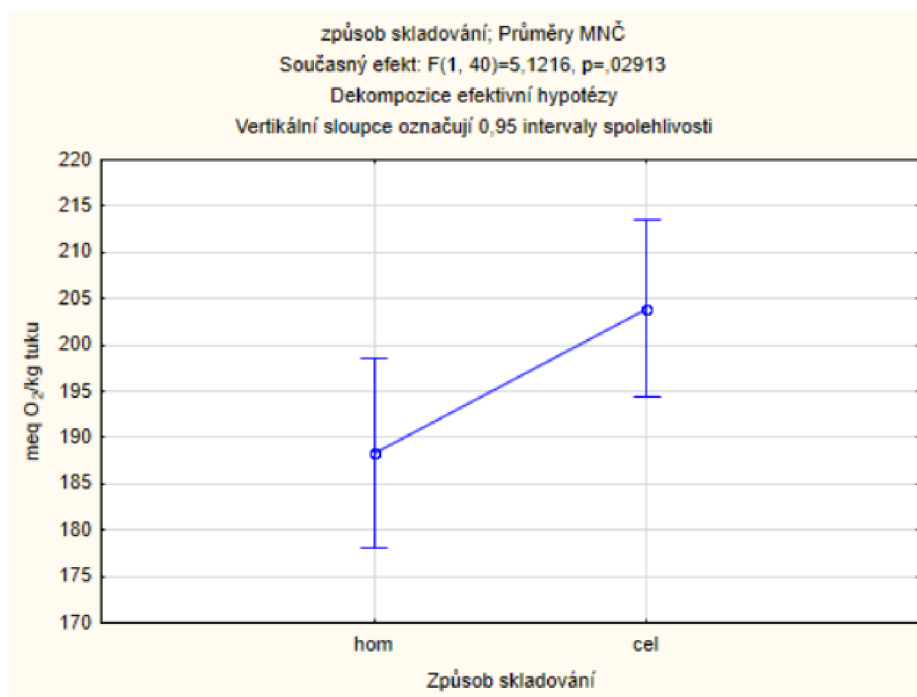
### 5.1.1 Cvrček banánový (*Gryllus assimilis*)

Byly zjištěny statisticky významné rozdíly hodnot PV v závislosti na způsobu skladování na základě vícefaktorové ANOVY (p = 0,029; obrázek 10). Vliv na oxidaci tuků jedlého hmyzu měla také doba skladování (p<0,001; obrázek 11), teplota (p<0,001; obrázek 12) i kombinace těchto faktorů (p<0,001; obrázek 13). V příloze 1-2 je graficky znázorněn průběh oxidace tuku homogenizovaných a celých vzorků cvrčka. V příloze 3-6 je porovnán průběh oxidace vzorků

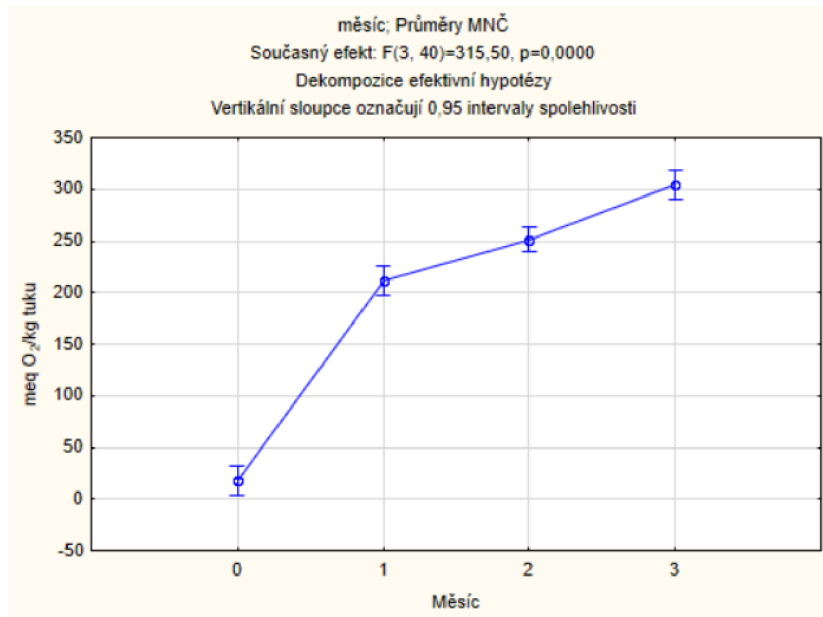


celých a homogenizovaných podle teploty skladování. Při porovnání PV u celých vzorků homogenizovaných před analýzou v třecí misce nebo homogenizátoru nebyl prokázán statisticky významný rozdíl ( $p = 0,674$ ).

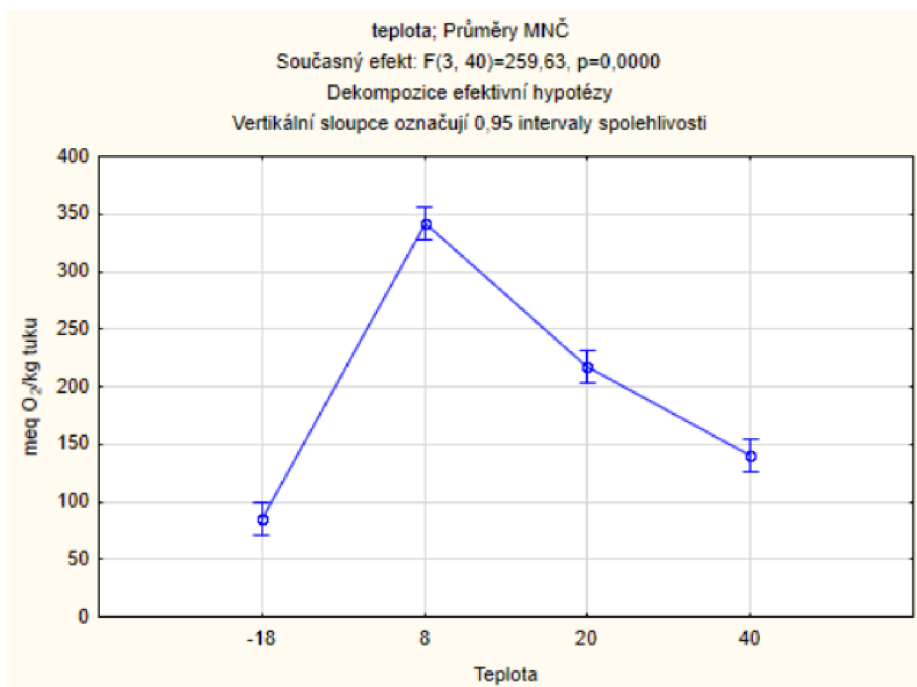
Z obrázku 13 je patrný nejpomalejší průběh oxidace a stálý nárůst hodnoty PV během skladování vzorků při teplotě  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ . U vzorků skladovaných v lednici ( $8\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) dochází pravděpodobně k pomalejší přeměně primárních oxidačních produktů (hydroperoxidů) na sekundární oxidační produkty a tím velkému nárůstu PV i po 3 měsících skladování. Vzorky skladované při pokojové teplotě ( $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) již vykazují rychlejší přeměnu primárních oxidačních produktů na sekundární oxidační produkty, s nejvyšší naměřenou hodnotou PV v 2. měsíci. Nejrychlejší průběh oxidace je pozorován u vzorků skladovaných při  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ , kde dochází k rychlejší přeměně primárních oxidačních produktů již po 1 měsíci skladování.



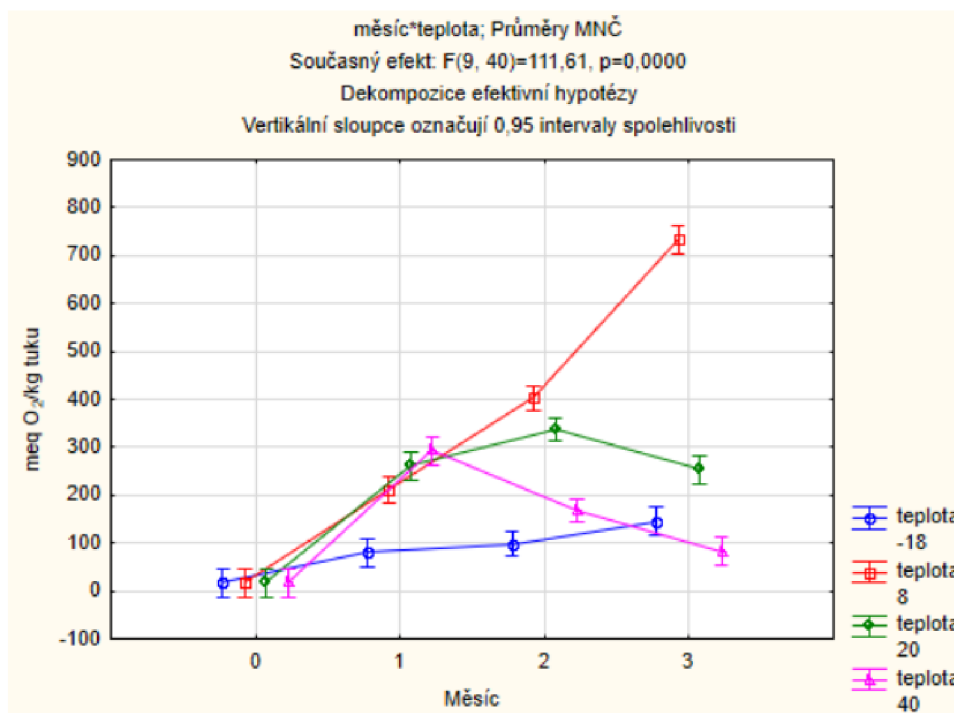
**Obrázek 10** Statistické hodnocení rozdílů PV cvrčka v závislosti na způsobu skladování (hom – homogenizované vzorky, cel – vzorky skladované vcelku)



**Obrázek 11** Statistické hodnocení rozdílů PV cvrčka v průběhu skladování



**Obrázek 12** Statistické hodnocení rozdílů PV cvrčka v závislosti na teplotě skladování

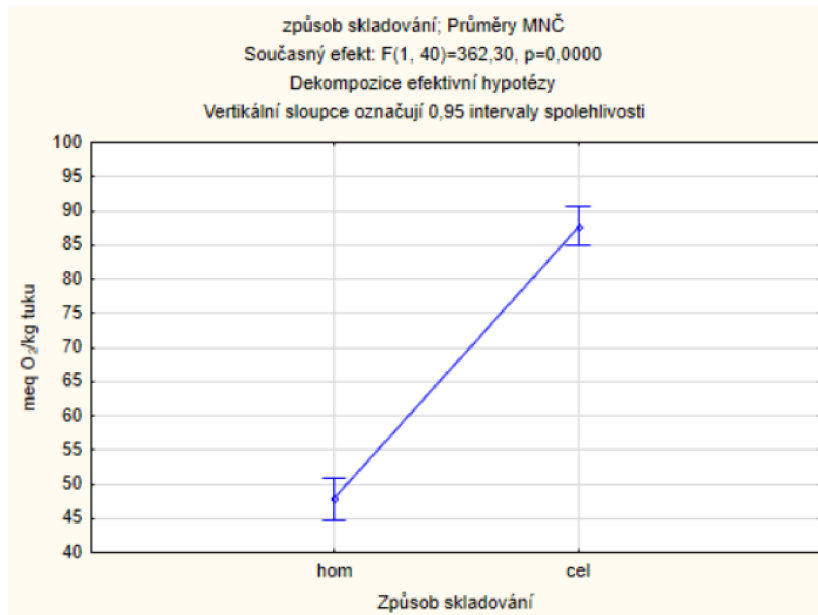


**Obrázek 13** Statistické hodnocení rozdílů PV během jednotlivých měsíců a jednotlivých teplot skladování

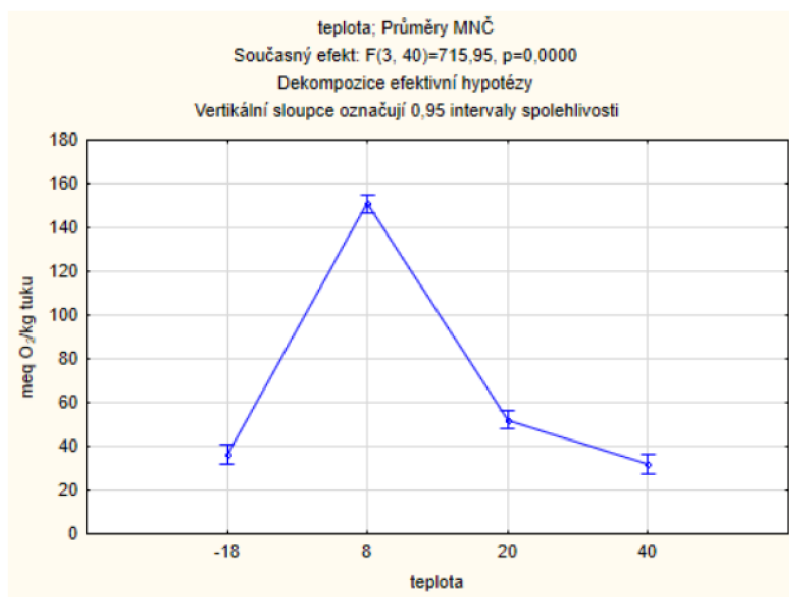
### 5.1.2 Potemník moučný (*Tenebrio molitor*)

Pro vzorky moučného červa existuje statisticky významný rozdíl hodnot PV v závislosti na způsobu skladování ( $p < 0,001$ ; obrázek 14), na teplotě ( $p < 0,001$ ; obrázek 15) i na délce skladování ( $p < 0,001$ ; obrázek 16). Statisticky významný rozdíl nebyl pouze mezi vzorky skladovanými při teplotách  $-18\text{ °C}$  a  $40\text{ °C}$  ( $p = 0,177$ ). Na obrázku 17 je popsán statisticky významný rozdíl hodnot PV během jednotlivých měsíců a jednotlivých teplot skladování ( $p < 0,001$ ). V příloze 7-8 je graficky znázorněn průběh oxidace tuku homogenizovaných a celých vzorků moučného červa. V příloze 9-12 je porovnán průběh oxidace vzorků celých a homogenizovaných podle teploty skladování. Při porovnání PV u celých vzorků homogenizovaných před analýzou v třecí misce nebo homogenizátoru nebyl prokázán statisticky významný rozdíl ( $p = 0,674$ ).

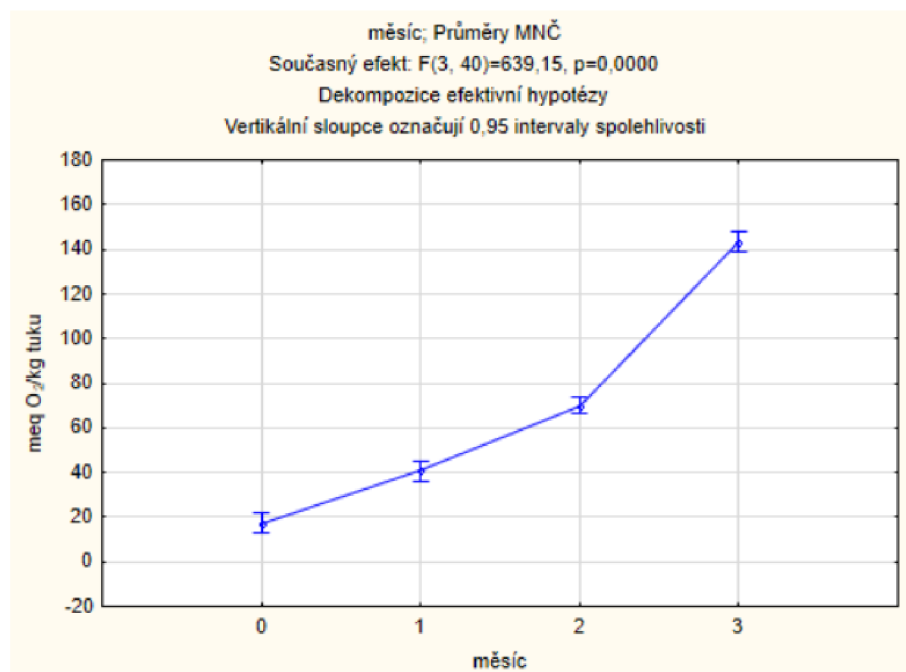
Z obrázku 17 je patrný průběh oxidace vzorků skladovaných při jednotlivých teplotách. Průběh oxidace moučného červa je srovnatelný s průběhem oxidace cvrčka. Liší se pouze mírně při teplotě  $40\text{ °C}$ , kde jsou naměřené hodnoty PV během jednotlivých měsíců s minimálním rozdílem. To lze vysvětlit velmi rychlejším rozkladem primárních produktů oxidace než jejich tvorbou již před měřením po 1 měsíci skladování.



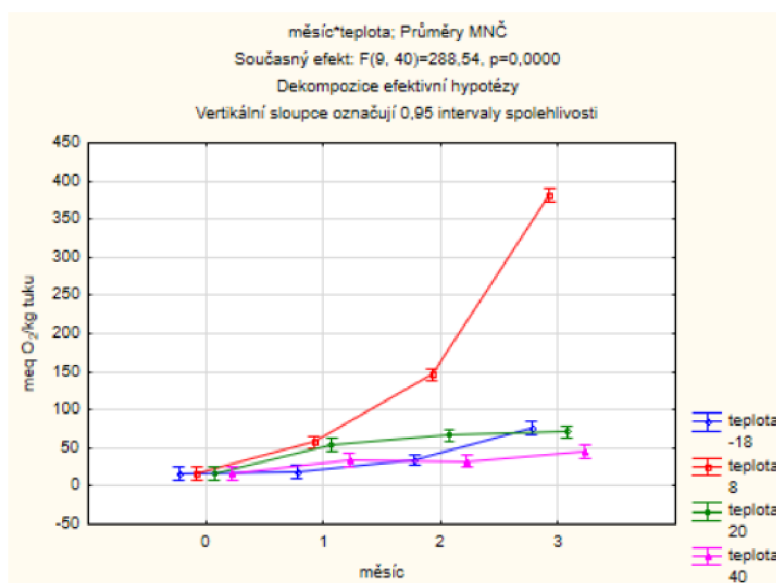
**Obrázek 14** Statistické hodnocení rozdílů PV moučného červa v závislosti na způsobu skladování (hom – homogenizované vzorky, cel – vzorky skladované vcelku)



**Obrázek 15** Statistické hodnocení rozdílů PV moučného červa v závislosti na teplotě skladování



**Obrázek 16** Statistické hodnocení rozdílů PV moučného červa v průběhu skladování



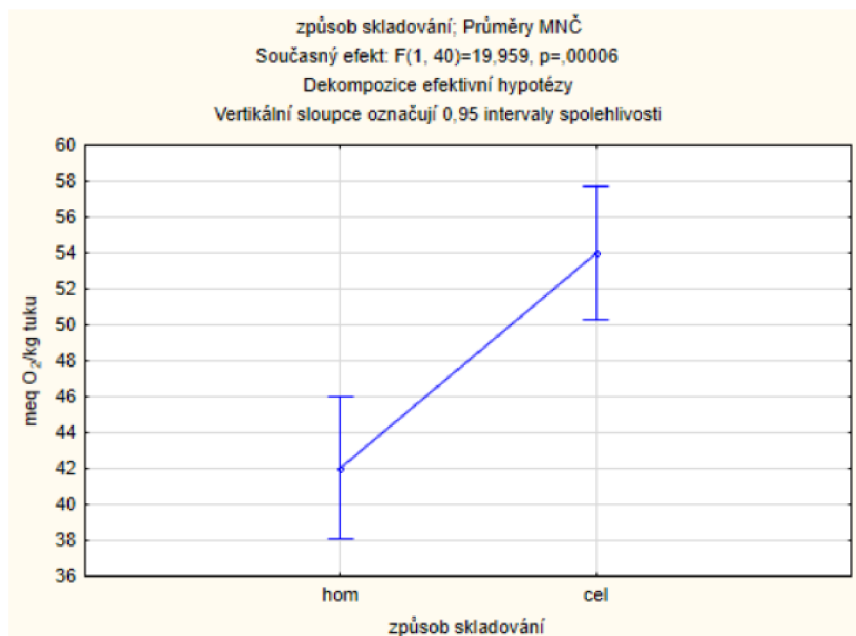
**Obrázek 17** Statistické hodnocení rozdílů PV během jednotlivých měsíců a jednotlivých teplot skladování

### 5.1.3 Šváb discoidalis (*Blaberus discoidalis*)

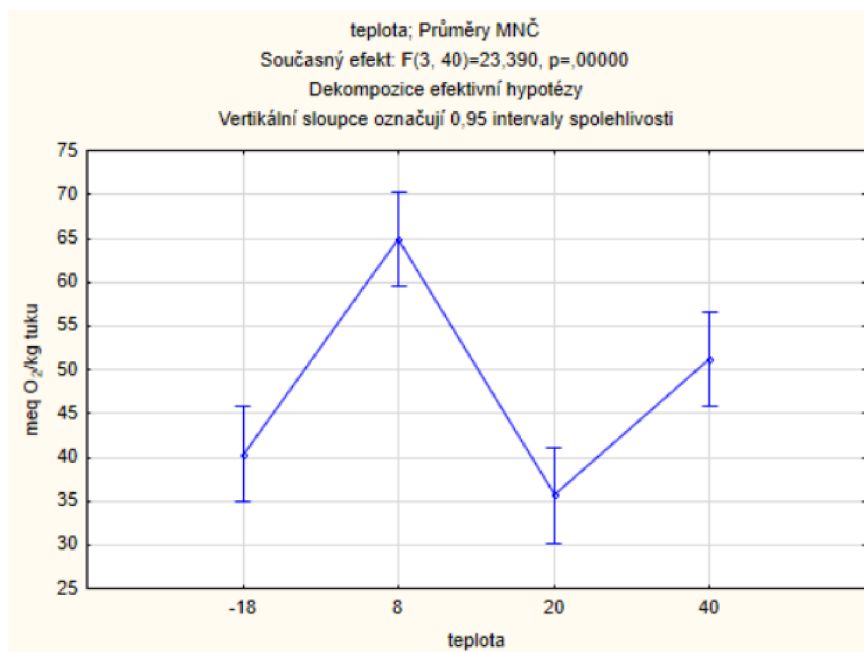
Pro vzorky švába existuje statisticky významný rozdíl hodnot PV v závislosti na způsobu skladování ( $p < 0,001$ ; obrázek 18), na teplotě ( $p < 0,001$ ; obrázek 19) i na délce skladování ( $p < 0,001$ ; obrázek 20). Statisticky významný rozdíl nebyl pouze mezi vzorky skladovanými při teplotách  $-18\text{ °C}$  a  $20\text{ °C}$  ( $p = 0,794$ ) a  $-18\text{ a } 40\text{ °C}$  ( $p = 0,058$ ). Na obrázku 21 je popsán statisticky významný rozdíl hodnot PV během jednotlivých měsíců a jednotlivých teplot skladování ( $p < 0,001$ ). V příloze 13-14 je graficky znázorněn průběh oxidace tuku homogenizovaných a celých vzorků švába. V příloze 15-18 je porovnán průběh oxidace vzorků celých a homogenizovaných podle teploty skladování. Při porovnání PV u celých vzorků

homogenizovaných před analýzou v třecí misce nebo homogenizátoru nebyl prokázán statisticky významný rozdíl ( $p = 0,575$ ).

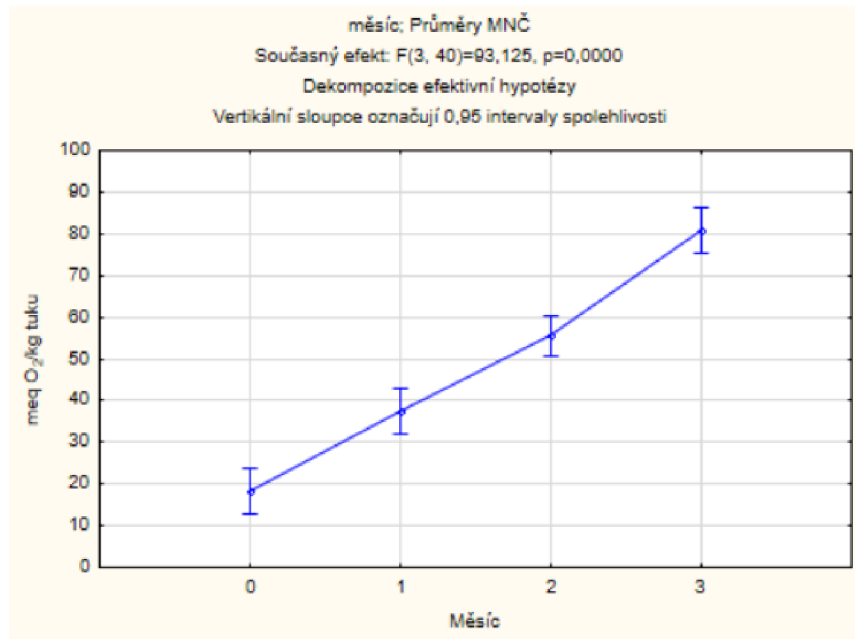
U švába, na rozdíl od cvrčka a moučného červa, nedochází k tak rychlé degradaci primárních produktů oxidace (rychlost tvorby hydroperoxidů převažuje nad rychlostí jejich rozkladu) a tím nedochází k poklesu hodnot PV ani při 40 °C. To je pravděpodobně způsobeno nižším obsahem tuku a také větším zastoupením nasycených mastných kyselin, které nejsou tak náchylné k oxidaci, jako nenasyčené masné kyseliny cvrčka a moučného červa. Nejvíce hydroperoxidů je opět při 8 °C.



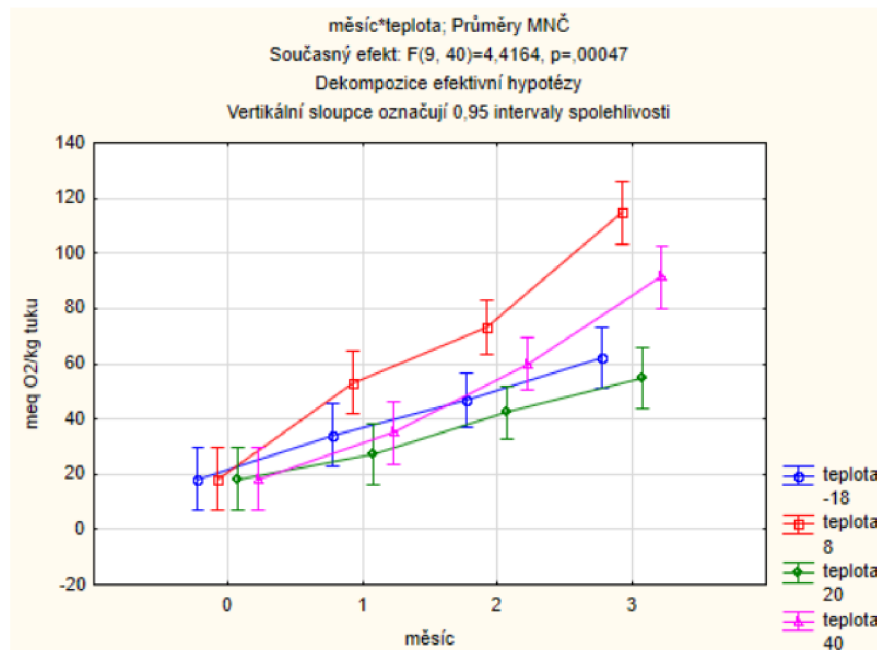
**Obrázek 18** Statistické hodnocení rozdílů PV švába v závislosti na způsobu skladování (hom – homogenizované vzorky, cel – vzorky skladované vcelku)



**Obrázek 19** Statistické hodnocení rozdílů PV švába v závislosti na teplotě skladování



**Obrázek 20** Statistické hodnocení rozdílů PV švába v průběhu skladování



**Obrázek 21** Statistické hodnocení rozdílů PV během jednotlivých měsíců a jednotlivých teplot skladování

## 6 Diskuze

Převládající mastné kyseliny cvrčka banánového (*Gryllus assimilis*) jsou linolová kyselina, olejová kyselina a palmitová kyselina (Finke 2002). Khatun et al. (2021) pozorovali vliv různých způsobů sušení na oxidaci lipidů cvrčka domácího (*Acheta domesticus*) a cvrčka banánového (*Gryllus assimilis*) pomocí měření peroxidového čísla. Nejnižší míra oxidace byla pozorována u cvrčků sušených v sušárně a blanširovaných, naopak nejvyšší u cvrčků sušených mrazem. Naměřené hodnoty PV však byly nižší než limit detekce (do 0,5 meq O<sub>2</sub>/kg tuku). Vyšší míra oxidace lyofilizovaných vzorků cvrčka byla prokázána měřením *p*-anisidinového čísla, díky kterému byla prokázána přítomnost sloučenin sekundární oxidace (Khatun et al. 2021). Naměřené hodnoty PV cvrčka v této diplomové práci ( $17,37 \pm 1,83$  až  $520,81 \pm 6,53$  meq O<sub>2</sub>/kg tuku) jsou mnohonásobně vyšší než hodnoty naměřené ve studii od Khatun et al. (2021), což by mohlo být způsobeno například odlišným obsahem vitamínu E, který může být ovlivněn složením krmiva.

Mouční červi mají vysoké množství nenasycených mastných kyselin, zejména linolové a olejové kyseliny a nasycené mastné palmitové kyseliny (Lenaerts et al. 2018; Kröncke et al. 2019). Kröncke et al. (2018) zkoumali vliv sušení různými způsoby na oxidaci tuku u larev *Tenebrio molitor*. Bylo zjištěno, že metody sušení změnily vlastnosti obsažených živin. Mikrovlnné sušení, sušení ve fluidní sušárně a sušení ve vakuu snížilo rozpustnost proteinů. Lyofilizovaní mouční červi vykazovali výrazně vyšší oxidaci než ostatní sušení mouční červi (Kröncke et al. 2018). Pro lyofilizované moučné červy byly naměřeny hodnoty PV  $125,13 \pm 5,61$  meq O<sub>2</sub>/kg tuku (Lenaerts et al. 2018), což je skoro 10krát více ve srovnání naměřenými hodnotami PV v této práci měřeným na počátku skladovacího pokusu ( $17,34 \pm 1,48$  meq O<sub>2</sub>/kg tuku). Vysoké peroxidové číslo oleje z moučných červů také potvrdili Son et al. (2019). Zjistili, že hodnota PV byla vyšší než u komerčně dostupných jedlých olejů, což naznačuje, že vysoká hodnota extrahovaného oleje může být rysem samotného moučného červa.

De Smet et al. (2019) zkoumali trvanlivost pasty vyrobené z moučných červů, která byla vyrobena důkladným mletím napařených potměnků moučných. Kromě jiných parametrů byl hodnocen vliv skladovací teploty a přítomnosti konzervačních látek na oxidační stabilitu vyrobené pasty. Během skladování při -21 °C po dobu tří měsíců došlo pouze k mírné oxidaci tuku malým nárůstem hodnot *p*-AnV (hodnoty PV byly pod limitem detekce) a stejné výsledky byly zjištěny i po 3 týdnech skladování při 4 °C (De Smet et al. 2019). Jeon et al. (2016) také prováděli skladovací pokus s následným měřením PV a pozorovali vliv pražení na oxidační stabilitu tuku potměníka moučného. Na počátku pokusu naměřili PV 19,01 meq O<sub>2</sub>/kg u nepraženého oleje, což je srovnatelné s naměřenými hodnotami prvního měření v této práci. Po 50 dnech skladování při 50 °C v inkubátoru byly naměřeny hodnoty PV 185,82 meq O<sub>2</sub>/kg. Na rozdíl od výsledků v této práci, kdy při teplotě skladování 40 °C docházelo k rozkladu hydroperoxidů již po 1 měsíci skladování, Jeon et al. (2016) ve svém pokusu pozorovali akumulaci těchto primárních oxidačních produktů. Bylo také zjištěno, že pražení jedlého hmyzu zlepšuje oxidační stabilitu tuku (Jeon et al. 2016). Podle indexu stability oleje byly vypočteny hodnoty předpovídající trvanlivost tuku z moučných červů. Při použití tohoto předpovědního modelu byla odhadovaná trvanlivost přibližně 10 měsíců při 20 °C (Noyens et al. 2021).



Pro druh švába *discoidalis* (*Blaberus discoidalis*) nebyly nalezeny žádné výzkumy, které by zkoumaly peroxidové číslo a oxidační stabilitu lipidů. Nejvíce zastoupené mastné kyseliny švába jsou olejová kyselina, palmitová kyselina a linolová kyselina (Kulma et al. 2016).

V dostupné literatuře nebyly nalezeny žádné studie zkoumající vliv homogenizace jedlého hmyzu na oxidaci lipidů v rámci skladovacího pokusu. Je však známo, že mletí podporuje oxidaci lipidů zvýšením přístupu kyslíku (Barden & Decker 2013; Larouche et al. 2019). Vzorky skladované v celku v tomto pokusu však vykazují převážně vyšší hodnoty PV oproti rozemletým vzorkům. Je tedy pravděpodobné, že u homogenizovaných vzorků docházelo k rychlejšímu rozkladu primárních produktů oxidace.

## 7 Závěr

- Na základě experimentu zaměřeného na posouzení vlivu zpracování, teploty a délce skladování na oxidaci tuků lze potvrdit hypotézu, že jedlý hmyz je dle profilu mastných kyselin náchylný k oxidačnímu žluknutí. Lze také konstatovat, že primárně závisí rozsah těchto změn na druhu jedlého hmyzu a sekundárně na podmínkách následného skladování.
- Způsob skladování vzorků, tedy jestli byly skladovány celé nebo homogenizované, měl vliv na naměřené hodnoty peroxidového čísla, přičemž z celých vzorků byly naměřené hodnoty u většiny případů vyšší. To lze vysvětlit buď vyšší mírou oxidačního žluknutí, nebo pomalejší přeměnou hydroperoxidů na sekundární produkty oxidace. Bylo by vhodné při skladovacím pokusu sledovat i vznik stabilních produktů sekundární oxidace pomocí *p*-anisidinového čísla.
- U vzorků skladovaných v mrazáku při teplotě -18 °C probíhala oxidace nejpomaleji, naopak nejvyšší nárůst PV byl pozorován u vzorků v lednici (8 °C), což je pravděpodobně způsobeno pomalejším rozkladem primárních produktů oxidace a jejich akumulací v jedlém hmyzu. Opačný jev je možné nejvíce pozorovat u vzorků skladovaných při 40 °C, kde dochází k poklesu naměřených hodnot PV.
- Způsob homogenizace těsně před analýzou neměl vliv na hodnoty PV. Do budoucna by mohl být pozorován vliv homogenizace (např. ve třecí misce a homogenizátoru) na oxidační žluknutí lipidů jedlého hmyzu během skladování.
- Teplota skladování ovlivnila také zabarvení extrahovaného tuku. Ačkoliv hodnocení barvy nebylo zahrnuté v rámci experimentu, byly po 3 měsících skladování jasně vidět rozdíly mezi vzorky skladovanými při různých teplotách. Experiment by mohl pokračovat senzorkým hodnocením vlivu oxidace na senzorké vlastnosti, jelikož nemusí přímo korelovat s chemicky určenou kvalitou tuku. Dále by bylo vhodné hodnotit zabarvení tuku, například pomocí spektrofotometru. Dá se stanovit hypotéza, že by mohla barva tuku korelovat se stupněm oxidace.

## 8 Literatura

- Alexandros N, Bruinsma J. 2012. World agriculture towards 2030/2050: the 2012 revision. ESA Working paper No. 12-03. Rome.
- Andersen ML, Skibsted LH. 2002. Detection of early events in lipid oxidation by electron spin resonance spectroscopy. *European Journal of Lipid Science and Technology* **104**:65–68.
- Antolovich M, Prenzler PD, Patsalides E, McDonald S, Robards K. 2002. Methods for testing antioxidant activity. *The Analyst* **127**:189–198.
- Azzollini D, Derossi A, Severini C. 2016. Understanding the drying kinetic and hygroscopic behaviour of larvae of yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) and the effects on their quality. *Journal of Insects as Food and Feed* **2**:233–243.
- Barden L, Decker EA. 2013. Lipid oxidation in low-moisture food: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **56**:2467–2482.
- Barnes PJ, Galliard T. 1982. Rancidity. *Nutrition & Food Science* **82**:16–18.
- Bednářová M, Borkovcová M, Mlček J, Rop O, Zeman L. 2013. Edible insects – species suitable for entomophagy under condition of Czech republic **61**:587–593.
- Belluco S, Losasso C, Maggioletti M, Alonzi CC, Paoletti MG, Ricci A. 2013. Edible insects in a food safety and nutritional perspective: A critical review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* **12**:296–313.
- Berardy A, Costello C, Seager TP. 2015. Life Cycle Assessment of Soy Protein Isolate Sustainable Intelligence View project Microgrid Design and Controls View project. Available from <http://dx.doi.org/10.6084/m9.figshare.1517821>.
- Bezpečnost potravin. Potraviny nového původu: Hmyz. Available from <https://www.bezpecnostpotravin.cz/kategorie/hmyz.aspx>.
- Bruinsma J. 2003. World agriculture: towards 2015/2030: An FAO Perspective. London, UK: Routledge
- Bukkens SGF. 1997. The nutritional value of edible insects. *Ecology of Food Nutrition* **36**:287–319.
- Cañizares-Macías MP, García-Mesa JA, Luque De Castro MD. 2004. Determination of the oxidative stability of olive oil, using focused-microwave energy to accelerate the oxidation process. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **378**:479–483.
- Caparros Megido R et al. 2018. Effect of household cooking techniques on the microbiological load and the nutritional quality of mealworms (*Tenebrio molitor* L. 1758). *Food Research International* **106**:503–508. Elsevier Ltd. Available from <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.01.002>.

- Carlsen CU, Andersen ML, Skibsted LH. 2001. Oxidative stability of processed pork. Assay based on ESR-detection of radicals. *European Food Research and Technology* **213**:170–173.
- Cesa S. 2004. Malondialdehyde Contents in Infant Milk Formulas. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **52**:2119–2122.
- ČSN EN ISO 3960. 2017. Živočišné a rostlinné tuky a oleje – Stanovení peroxidového čísla – jodometrické (vizuální) stanovení koncového bodu.
- ČSN EN ISO 660. 2021. Živočišné a rostlinné tuky a oleje – Stanovení čísla kyselosti.
- ČSN EN ISO 6885. 2016. Živočišné s rostlinné tuky a oleje – Stanovení anidisinového čísla.
- D'Antonio V, Serafini M, Battista N. 2021. Dietary Modulation of Oxidative Stress From Edible Insects: A Mini-Review. *Frontiers in Nutrition* **8**:1–7.
- de la Presa-Owens S, López-Sabater MC, Rivero-Urgell M. 1995. Shelf-Life Prediction of an Infant Formula Using an Accelerated Stability Test (Rancimat). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **43**:2879–2882.
- de las Heras A, Schoch A, Gibis M, Fischer A. 2003. Comparison of methods for determining malondialdehyde in dry sausage by HPLC and the classic TBA test. *European Food Research and Technology* **217**:180–184.
- De Loof A, Schoofs L. 2019. Intraluminal Farnesol and Farnesal in the Mealworm's Alimentary Canal: An Unusual Storage Site Uncovering Hidden Eukaryote Ca<sup>2+</sup>-Homeostasis-Dependent "Golgi-crine" Activities. *Frontiers in Endocrinology* **10**:1–17.
- De Smet J, Lenaerts S, Borremans A, Scholliers J, Van Der Borght M, Van Campenhout L. 2019. Stability assessment and laboratory scale fermentation of pastes produced on a pilot scale from mealworms (*Tenebrio molitor*). *Lwt* **102**:113–121. Elsevier. Available from <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.12.017>.
- Dobarganes MC, Velasco J. 2002. Analysis of lipid hydroperoxides. *European Journal of Lipid Science and Technology* **104**:420–428.
- Doleschall F, Kemény Z, Recseg K, Kovári K. 2002. A new analytical method to monitor lipid peroxidation during bleaching. *European Journal of Lipid Science and Technology* **104**:14–18.
- Dong J, Ma K, Van De Voort FR, Ismail AA. 1997. Stoichiometric Determination of Hydroperoxides in Oils by Fourier Transform Near-Infrared Spectroscopy. *JAOCS, Journal of the American Oil Chemists' Society* **80**:345–352.
- Durst PB, Johnson D V., Leslie RN, Shono K. 2010. Forest insects as food: humans bite back. Page Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Dušková J, Tishchenko G, Ponomareva E, Šimůnek J, Koppová I, Skálová T, Štěpánková A, Hašek J, Dohnálek J. 2011. Chitinolytic enzymes from bacterium inhabiting human

- gastrointestinal tract - critical parameters of protein isolation from anaerobic culture. *Acta Biochimica Polonica* **58**:261–263.
- EFSA. 2010. Scientific Opinion on Dietary Reference Values for fats, including saturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids, monounsaturated fatty acids, trans fatty acids, and cholesterol. *EFSA Journal* **8**.
- EFSA. 2015. Risk profile related to production and consumption of insects as food and feed. *EFSA Journal* **13**.
- Eymard S, Genot C. 2003. A modified xylenol orange method to evaluate formation of lipid hydroperoxides during storage and processing of small pelagic fish. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **105**:497–501.
- FAO, 2010. Fats and fatty acids in human nutrition: report of an expert consultation. FAO Food and Nutrition Paper, Rome.
- Finke MD. 2002. Complete Nutrient Composition of Commercially Raised Invertebrates Used as Food for Insectivores **285**:269–285.
- Frankel EN. 2012. Free radical oxidation. *Lipid Oxidation*:15–24.
- Fruhirth GO, Wenzl T, El-Roukhy R, Wagner FS, Hermetter A. 2003. Fluorescence screening of antioxidant capacity in pumpkin seed oils and other natural oils. *European Journal of Lipid Science and Technology* **105**:266–274.
- Ghani MA, Barril C, Bedgood DR, Prenzler PD. 2017. Measurement of antioxidant activity with the thiobarbituric acid reactive substances assay. *Food Chemistry* **230**:195–207. Elsevier Ltd. Available from <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.02.127>.
- Giampieri F, Alvarez-Suarez JM, Machi M, Cianciosi D, Navarro-Hortal MD, Battino M. 2022. Edible insects: A novel nutritious, functional, and safe food alternative. *Food Frontiers* **3**:358–365.
- Goodridge CF, Beaudry RM, Pestka JJ, Smith DM. 2003. Solid phase microextraction - Gas chromatography for quantifying headspace hexanal above freeze-dried chicken myofibrils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51**:4185–4190.
- Grabowski NT, Klein G. 2016. Microbiology of cooked and dried edible Mediterranean field crickets (*Gryllus bimaculatus*) and superworms (*Zophobas atratus*) submitted to four different heating treatments. *Food Science and Technology International* **23**:17–23.
- Grabowski NT, Klein G. 2017. Microbiology of processed edible insect products – Results of a preliminary survey. *International Journal of Food Microbiology* **243**:103–107. Elsevier B.V. Available from <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.11.005>.
- Guillén MD, Cabo N. 2002. Fourier transform infrared spectra data versus peroxide and anisidine values to determine oxidative stability of edible oils. *Food Chemistry* **77**:503–510.

- Guillén MD, Ruiz A. 2001. High resolution  $^1\text{H}$  nuclear magnetic resonance in the study of edible oils and fats. *Trends in Food Science and Technology* **12**:328–338.
- Hassel RL. 1976. Thermal analysis: An alternative method of measuring oil stability. *Journal of the American Oil Chemists Society* **53**:179–181.
- Hrdinová Z. 2008. Chemické změny v jedlých tukách [BSc. Thesis]. Univerzita Tomáše Bati, Zlín.
- Choe E, Min DB. 2006. Mechanisms and factors for edible oil oxidation. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* **5**:169–186.
- Imathiu S. 2020. Benefits and food safety concerns associated with consumption of edible insects. *NFS Journal* **18**:1–11. Elsevier. Available from <https://doi.org/10.1016/j.nfs.2019.11.002>.
- Innawong B, Mallikarjunan P, Irudayaraj J, Marcy JE. 2004. The determination of frying oil quality using Fourier transform infrared attenuated total reflectance. *Lwt* **37**:23–28.
- Jardine D, Antolovich M, Prenzler PD, Robards K. 2002. Liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) investigation of the thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) reaction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **50**:1720–1724.
- Jeon YH, Son YJ, Kim SH, Yun EY, Kang HJ, Hwang IK. 2016. Physicochemical properties and oxidative stabilities of mealworm (*Tenebrio molitor*) oils under different roasting conditions. *Food Science and Biotechnology* **25**:105–110.
- Jiang Z, Woollard ACS, Wolff SP. 1991. Lipid Hydroperoxide Measurement by Oxidation of  $\text{Fe}^{2+}$  in the Presence of Xylenol Orange . Comparison with the TBA Assay and an Iodometric Method. *LIPIDS* **26**:853–856.
- Khatun H, Claes J, Smets R, De Winne A, Akhtaruzzaman M, Van Der Borght M. 2021. Characterization of freeze-dried, oven-dried and blanched house crickets (*Acheta domesticus*) and Jamaican field crickets (*Gryllus assimilis*) by means of their physicochemical properties and volatile compounds. *European Food Research and Technology* **247**:1291–1305. Springer Berlin Heidelberg. Available from <https://doi.org/10.1007/s00217-021-03709-x>.
- Kiritsakis A, Kanavouras A, Kiritsakis K. 2002. Chemical analysis, quality control and packaging issues of olive oil. *European Journal of Lipid Science and Technology* **104**:628–638.
- Kishida E, Tokumaru S, Ishitani Y, Yamamoto M, Oribe M, Iguchi H, Kojo S. 1993. Comparison of the Formation of Malondialdehyde and Thiobarbituric Acid-Reactive Substances from Autoxidized Fatty Acids Based on Oxygen Consumption. *J. Agric. Food Chem.* **41**:1598–1600.
- Kouřimská L, Adámková A. 2016. Nutritional and sensory quality of edible insects. *NFS Journal* **4**:22–26.

- Köhler R, Kariuki L, Lambert C, Biesalski HK. 2019. Protein, amino acid and mineral composition of some edible insects from Thailand. *Journal of Asia-Pacific Entomology* **22**:372–378. Elsevier. Available from <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2019.02.002>.
- Kröncke N, Böschen V, Woyzichowski J, Demtröder S, Benning R. 2018. Comparison of suitable drying processes for mealworms (*Tenebrio molitor*). *Innovative Food Science and Emerging Technologies* **50**:20–25. Elsevier Ltd. Available from <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.10.009>.
- Kröncke N, Grebenteuch S, Keil C, Demtröder S, Kroh L, Thünemann AF, Benning R, Haase H. 2019. Effect of different drying methods on nutrient quality of the yellow mealworm (*Tenebrio molitor* L.). *Insects* **10**:1–13.
- Kulma M, Kouřimská L, Homolková D, Božik M, Plachý V, Vrabec V. 2020. Effect of developmental stage on the nutritional value of edible insects. A case study with *Blaberus craniifer* and *Zophobas morio*. *Journal of Food Composition and Analysis* **92**.
- Kulma M, Plachý V, Kouřimská L, Vrabec V, Bubová T, Adámková A, Hučko B. 2016. Nutritional value of three Blattodea species used as feed for animals. *Journal of animal and feed sciences* **25**:354–360
- Lamidi RO, Jiang L, Pathare PB, Wang YD, Roskilly AP. 2019. Recent advances in sustainable drying of agricultural produce: A review. *Page Applied Energy*.
- Larouche J, Deschamps M-H, Saucier L, Lebeuf Y, Doyen A, Vandenberg GW. 2019. Effects of Killing Methods on Lipid Oxidation, Colour and Microbial Load of Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) Larvae. *Animals* **9**:1–19.
- Lautenschläger T, Neinhuis C, Kikongo E, Henle T. 2017. Impact of different preparations on the nutritional value of the edible caterpillar *Imbrasia epimethea* from northern Angola. *European Food Research and Technology* **243**:769–778. Springer Berlin Heidelberg.
- Lenaerts S, Van Der Borght M, Callens A, Van Campenhout L. 2018. Suitability of microwave drying for mealworms (*Tenebrio molitor*) as alternative to freeze drying: Impact on nutritional quality and colour. *Food Chemistry* **254**:129–136. Elsevier. Available from <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.02.006>.
- Li D, Sihamala O, Bhulaidok S, Shen LR. 2009. Changes in the organic compounds following sun drying of edible black ant (*Polyrhachis vicina* Roger). *Acta Alimentaria* **38**:493–501.
- List GR, Evans CD, Kwolek WF, Warner K, Boundy BK, Cowan JC. 1974. Oxidation and quality of soybean oil: A preliminary study of the anisidine test. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **51**:17–21.
- Marshall DL, Dickson JS, Nguyen NH. 2016. Ensuring Food Safety in Insect Based Foods: Mitigating Microbiological and Other Foodborne Hazards. *Page Insects as Sustainable Food Ingredients: Production, Processing and Food Applications*. Elsevier Inc. Available from <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-802856-8/00008-9>.

- Maszewska M, Florowska A, Dłuzewska E, Wroniak M, Marciniak-Lukasiak K, Zbikowska A. 2018. Oxidative stability of selected edible oils. *Molecules* **23**:15–17.
- Megido RC, Desmedt S, Blecker C, Béra F, Haubruge É, Alabi T, Francis F. 2017. Microbiological load of edible insects found in Belgium. *Insects* **8**:1–8.
- Melgar-Lalanne G, Hernández-Álvarez AJ, Salinas-Castro A. 2019. Edible Insects Processing: Traditional and Innovative Technologies. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*.
- Menozzi D, Sogari G, Veneziani M, Simoni E, Mora C. 2017. Eating novel foods: An application of the Theory of Planned Behaviour to predict the consumption of an insect-based product. *Food Quality and Preference* **59**:27–34. Available from <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodqual.2017.02.001>.
- Miura K, Kikuzaki H, Nakatani N. 2002. Antioxidant activity of chemical components from sage (*Salvia officinalis* L.) and thyme (*Thymus vulgaris* L.) measured by the oil stability index method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **50**:1845–1851.
- Niamnuy C, Devahastin S, Soponronnarit S. 2008. Changes in protein compositions and their effects on physical changes of shrimp during boiling in salt solution. *Food Chemistry* **108**:165–175.
- Niassy S, Fiaboe KKM, Affognon HD, Akutse KS, Tanga MC, Ekesi S. 2016. African indigenous knowledge on edible insects to guide research and policy. *Journal of Insects as Food and Feed* **2**:161–170.
- Nino MC, Reddivari L, Osorio C, Kaplan I, Liceaga AM. 2021. Insects as a source of phenolic compounds and potential health benefits. *Journal of Insects as Food and Feed* **7**:1077–1087.
- Noyens I et al. 2021. Techno-functional analysis of insect proteins and insect-based products. *Interreg North-West Europe valusect*:1–16.
- Oghenesuvwe EE, Paul C. 2019. Edible Insects bio-actives as anti-oxidants: Current status and perspectives. *Journal of Complementary Medicine Research* **10**:1.
- Oonincx DGAB, de Boer IJM. 2012. Environmental Impact of the Production of Mealworms as a Protein Source for Humans - A Life Cycle Assessment. *PLoS ONE* **7**:1–5.
- Orkusz A. 2021. Edible insects versus meat—nutritional comparison: Knowledge of their composition is the key to good health. *Nutrients* **13**.
- Pali-schöll I, Binder R, Moens Y, Polesny F, Monsó S. 2019. Edible insects – defining knowledge gaps in biological and ethical considerations of entomophagy. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **59**:2760–2771. Taylor & Francis. Available from <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1468731>.
- Papastavropoulou K, Xiao J, Pro. 2022. Edible insects: Tendency or necessity (a review):1–17.



- Pokorny J, Yanishlieva N, Gordon M. 2001. Antioxidants in food: Practical applications. Woodhead Publishing in Food Science and Technology.
- Qiu X, Chen S, Lin H. 2019. Oxidative Stability of Dried Seafood Products during Processing and Storage: A Review. *Journal of Aquatic Food Product Technology* **28**:329–340. Taylor & Francis. Available from <https://doi.org/10.1080/10498850.2019.1581317>.
- Raheem D, Carrascosa C, Oluwole OB, Nieuwland M, Saraiva A, Millán R, Raposo A. 2019. Traditional consumption of and rearing edible insects in Africa, Asia and Europe. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **59**:2169–2188.
- Ramos-Elorduy J, González EA, Hernández AR, Pino JM. 2002. Use of *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) to recycle organic wastes and as feed for broiler chickens. *Journal of economic entomology* **95**:214–220.
- Ramos-Elorduy J, Pino JMM, Escamilla EP, Alvarado MP, Lagunez JO, Ladron O de G. 1997. Nutritional value of edible insects from the state of Oaxaca, Mexico. *Journal of Food Composition and Analysis* **10**:142–157.
- Robards K, Kerr AF, Patsalides E. 1988. Rancidity and its Measurement in Edible Oils and Snack Foods A Review. *Analyst* **113**:213–224.
- Rumpold BA, Schlüter OK. 2013. Nutritional composition and safety aspects of edible insects. *Molecular Nutrition and Food Research* **57**:802–823.
- Rumpold BA, Schlüter OK. 2013. Potential and challenges of insects as an innovative source for food and feed production. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* **17**:1–11. Elsevier Ltd. Available from <http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2012.11.005>.
- Russin TA, Van De Voort FR, Sedman J. 2003. Novel method for rapid monitoring of lipid oxidation by FTIR spectroscopy using disposable IR cards. *JAOCS, Journal of the American Oil Chemists' Society* **80**:635–641.
- Sabolová M, Adámková A, Kouřimská L, Chrpová D, Pánek J. 2016. Minor lipophilic compounds in edible insects. *Potravinářstvo* **10**:400–406.
- Schönitzer. 2014. *Gryllus assimilis* male 2 - Own work, CC BY-SA 3.0. Available from <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=32072472>
- Schwarz K et al. 2001. Investigation of plant extracts for the protection of processed foods against lipid oxidation. Comparison of antioxidant assays based on radical scavenging, lipid oxidation and analysis of the principal antioxidant compounds. *European Food Research and Technology* **212**:319–328.
- Sedman J, van de Voort FR, Ismail AA. 1997. Application of Fourier Transform Infrared Spectroscopy in Edible-Oil Analysis. *AOCS Press*:283–324.
- Shahidi F, Spurvey SA. 1996. Oxidative stability of fresh and heat-processed dark and light muscles of mackerel: (*Scomber scombrus*). *Journal of Food Lipids* **3**:13–25.

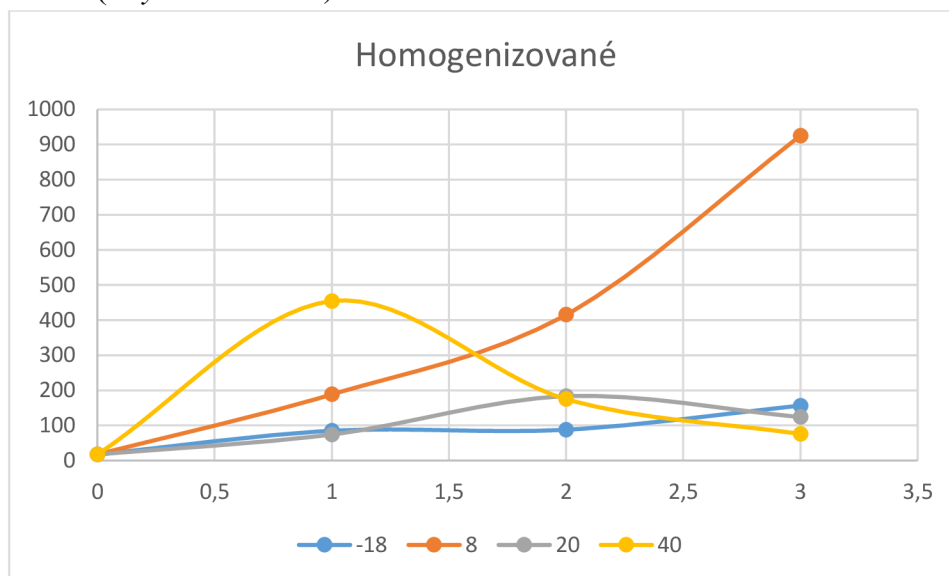
- Shahidi F, Wanasundara U, Brunet N. 1994. Oxidative stability of oil from blubber of harp seal (*Phoca groenlandica*) as assessed by NMR and standard procedures. *Food Research International* **27**:555–562.
- Shahidi F, Zhong Y. 2015. Measurement of antioxidant activity. *Journal of Functional Foods* **18**:757–781. Available from <http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2015.01.047>.
- Shahidi F, Zhong HJ. 2020. Methods for Measuring Lipid Oxidation. *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*:1–27.
- Shen N, Moizuddin S, Wilson L, Duvick S, White P, Pollak L. 2001. Relationship of electronic nose analyses and sensory evaluation of vegetable oils during storage. *JAOCs, Journal of the American Oil Chemists' Society* **78**:937–940.
- Son YJ, Lee JC, Hwang IK, Nho CW, Kim SH. 2019. Physicochemical properties of mealworm (*Tenebrio molitor*) powders manufactured by different industrial processes. *LWT - Food Science and Technology* **116**:1–7. Elsevier. Available from <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108514>.
- Ssepuyya G, Aringo RO, Mukisa IM, Nakimbugwe D. 2016. Effect of processing, packaging and storage-temperature based hurdles on the shelf stability of sautéed ready-to-eat *Ruspolia nitidula*. *Journal of Insects as Food and Feed* **2**:245–253.
- Stoops J, Vandeweyer D, Crauwels S, Verreth C, Boeckx H, Van Der Borgh M, Claes J, Lievens B, Van Campenhout L. 2017. Minced meat-like products from mealworm larvae (*Tenebrio molitor* and *Alphitobius diaperinus*): microbial dynamics during production and storage. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* **41**:1–9. Elsevier Ltd. Available from <http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2017.02.001>.
- Škvorová P. 2020. Změny stability potravin vůči žluknutí po ošetření mikrovlnným zářením. Česká zemědělská univerzita v Praze.
- Tan CP, Che Man YB. 2002. Recent developments in differential scanning calorimetry for assessing oxidative deterioration of vegetable oils. *Trends in Food Science and Technology* **13**:312–318.
- Tan CP, Man YBC, Selamat J, Yusoff A. 2002. Analytical, Nutritional and Clinical Methods Section Comparative studies of oxidative stability of edible oils by differential scanning calorimetry and oxidative stability index methods. *Food Chemistry* **76**:385–389. Available from [www.elsevier.com/locate/foodchem](http://www.elsevier.com/locate/foodchem).
- Tan HSG, Verbaan YT, Stieger M. 2017. How will better products improve the sensory-liking and willingness to buy insect-based foods? *Food Research International* **92**:95–105. Elsevier Ltd. Available from <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2016.12.021>.
- Tiencheu B, Womeni HM, Linder M, Mbiapo FT, Villeneuve P, Fanni J, Parmentier M. 2013. Changes of lipids in insect (*Rhynchophorus phoenicis*) during cooking and storage. *European Journal of Lipid Science and Technology* **115**:186–195.

- Tuszyński J. 2009. Washington DC Zoo – *Blaberus discoidalis* 1. CC-BY-SA-3.0 & GDFL, Available from [https://en.wikipedia.org/wiki/Blaberus\\_discoidalis#/media/File:Washington\\_DC\\_Zoo\\_-\\_Blaberus\\_discoidalis\\_1.jpg](https://en.wikipedia.org/wiki/Blaberus_discoidalis#/media/File:Washington_DC_Zoo_-_Blaberus_discoidalis_1.jpg)
- Urbánková M. 2019. Využití jedlého hmyzu v potravinářství. Mendelova univerzita v Brně.
- Van der Merwe GH, du Plessis L, Taylor JR. 2003. Changes in chemical quality indices during long-term storage of palm-olein oil under heated storage and transport-type conditions. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **84**:52–58.
- Van Huis A. 2016. Edible insects are the future? *Proceedings of the Nutrition Society* **75**:294–305.
- Van Huis A, Van Itterbeeck J, Klunder H, Martens E, Halloran A, Muir G, Vantomme P. 2013. *Edible Insects: Future Prospects for Food and Feed Security*. Page Food and Agriculture Organization of the United Nations. Wageningenur, Rome. Available from <https://library.wur.nl/WebQuery/wurpubs/fulltext/258042>.
- Vandeweyer D, Lenaerts S, Callens A, Van Campenhout L. 2017. Effect of blanching followed by refrigerated storage or industrial microwave drying on the microbial load of yellow mealworm larvae (*Tenebrio molitor*). *Food Control* **71**:311–314. Elsevier Ltd. Available from <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.07.011>.
- Velasco J, Andersen ML, Skibsted LH. 2004. Evaluation of oxidative stability of vegetable oils by monitoring the tendency to radical formation. A comparison of electron spin resonance spectroscopy with the Rancimat method and differential scanning calorimetry. *Food Chemistry* **85**:623–632.
- Viesca González FC, Barrera García D, Juárez Ortega JA. 2012. La Recolección, Venta y Consumo de Insectos en Toluca, México y sus alrededores. *Revista Rosa dos Ventos* **4**:208–221.
- Wanasundara UN, Shahidi F, Jablonski CR. 1995. Comparison of standard and NMR methodologies for assessment of oxidative stability of canola and soybean oils. *Food Chemistry* **52**:249–253.
- Wold JP, Mielnik M. 2000. Nondestructive assessment of lipid oxidation in minced poultry meat by autofluorescence spectroscopy. *Journal of Food Science* **65**:87–95.
- Wolff SP. 1994. Ferrous Ion Oxidation in Presence of Ferric Ion Indicator Xylenol Orange for Measurement of Hydroperoxides. *Methods in Enzymology* **233**:182–189.
- Xiao HW, Bai JW, Sun DW, Gao ZJ. 2014. The application of superheated steam impingement blanching (SSIB) in agricultural products processing - A review. *Journal of Food Engineering* **132**:39–47. Elsevier Ltd. Available from <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2014.01.032>.
- Zagrobelny M, Dreon AL, Gomiero T, Marcazzan GL, Glaring MA, Møller BL, Paoletti MG. 2009. Toxic moths: Source of a truly safe delicacy. *Journal of Ethnobiology* **29**:64–76.

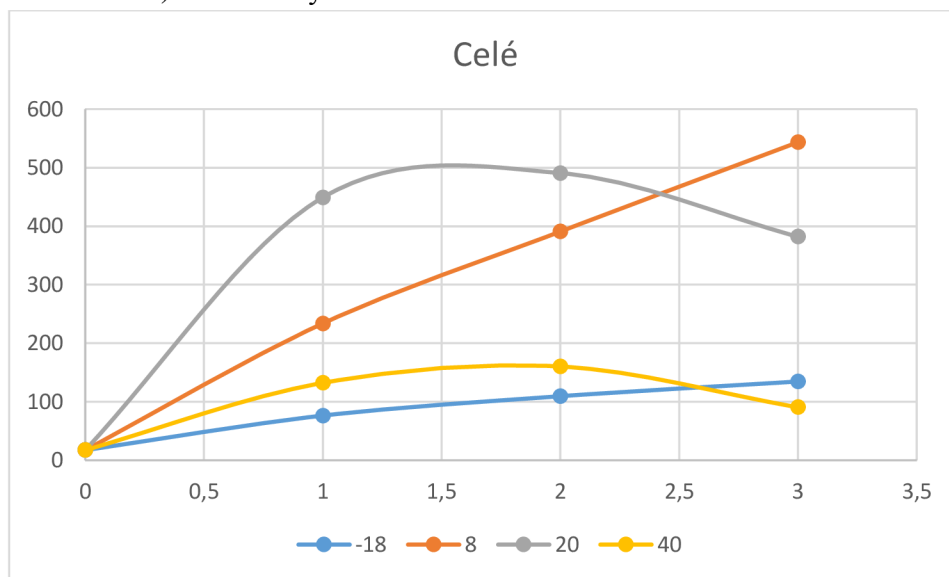
Zielińska E, Karaś M, Baraniak B. 2018. Comparison of functional properties of edible insects and protein preparations thereof. *Lwt* **91**:168–174.

## 9 Samostatné přílohy

**Příloha 1:** Grafické znázornění průběhu oxidace tuku homogenizovaných vzorků cvrčka banánového (*Gryllus assimilis*)

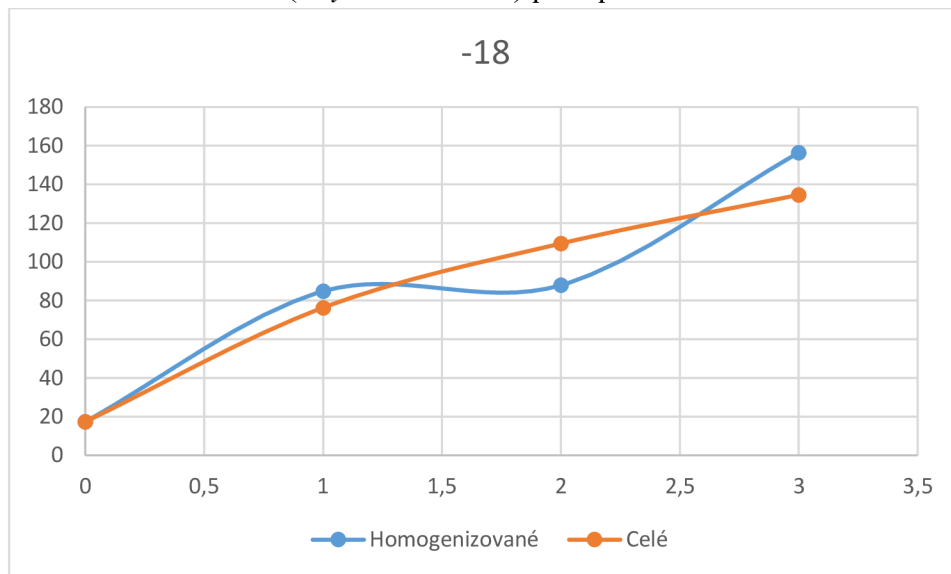


**Příloha 2:** Grafické znázornění průběhu oxidace tuku vzorků cvrčka banánového (*Gryllus assimilis*) skladovaných vcelku

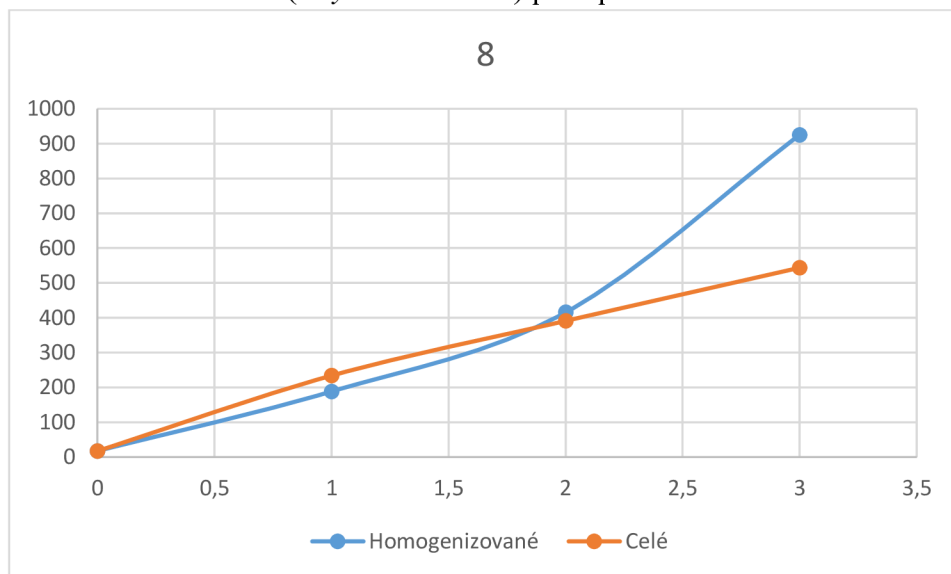




**Příloha 3:** Grafické znázornění průběhu oxidace tuku homogenizovaných a celých vzorků cvrčka banánového (*Gryllus assimilis*) při teplotě -18 °C



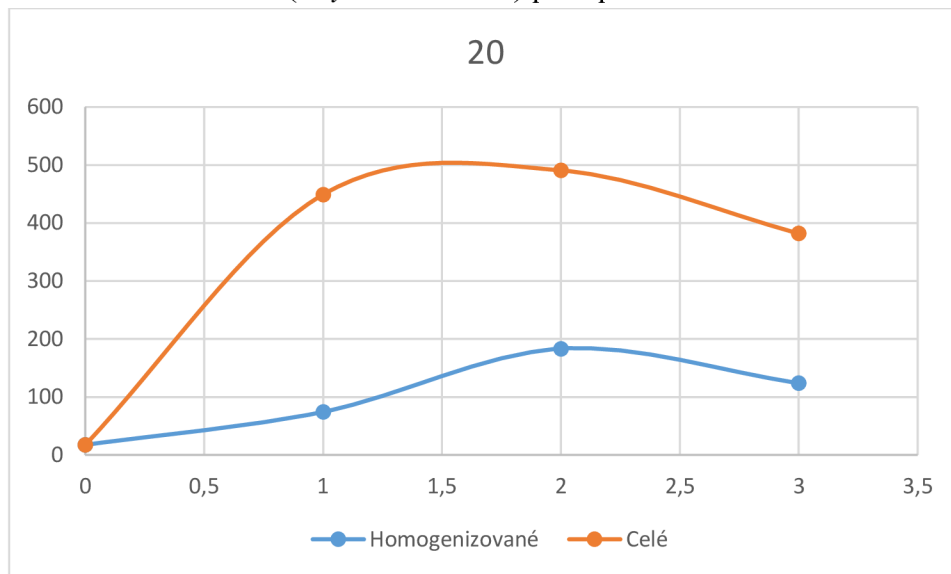
**Příloha 4:** Grafické znázornění průběhu oxidace tuku homogenizovaných a celých vzorků cvrčka banánového (*Gryllus assimilis*) při teplotě 8 °C



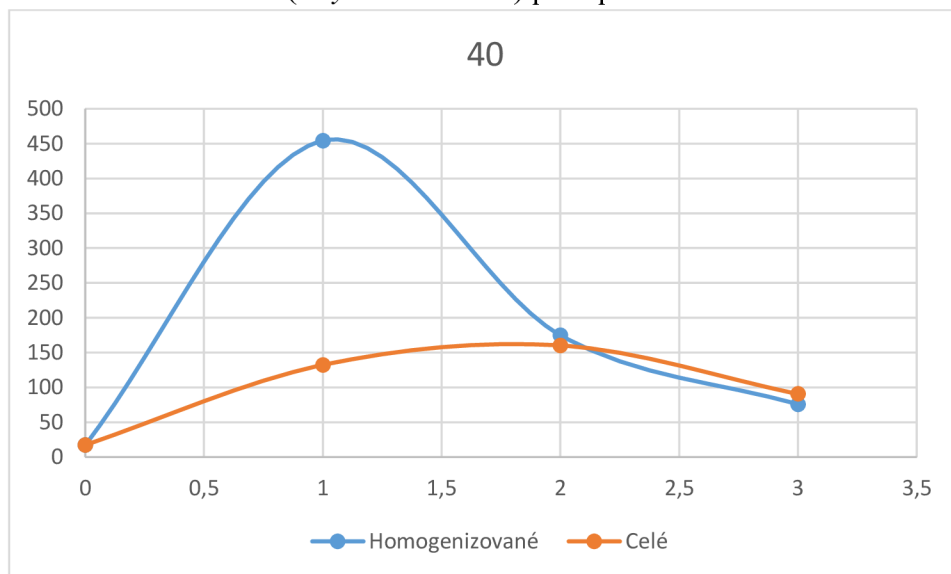




**Příloha 5:** Grafické znázornění průběhu oxidace tuku homogenizovaných a celých vzorků cvrčka banánového (*Gryllus assimilis*) při teplotě 20 °C

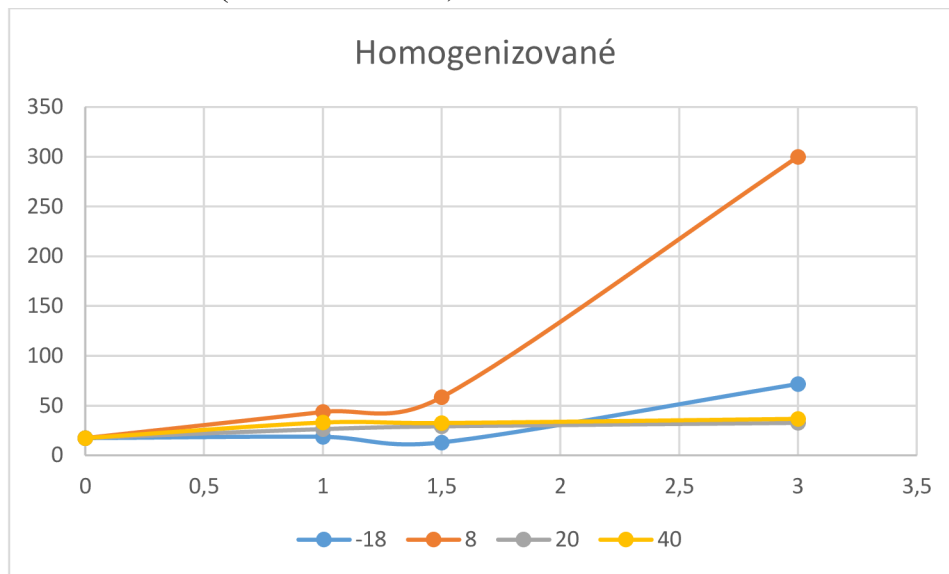


**Příloha 6:** Grafické znázornění průběhu oxidace tuku homogenizovaných a celých vzorků cvrčka banánového (*Gryllus assimilis*) při teplotě 40 °C

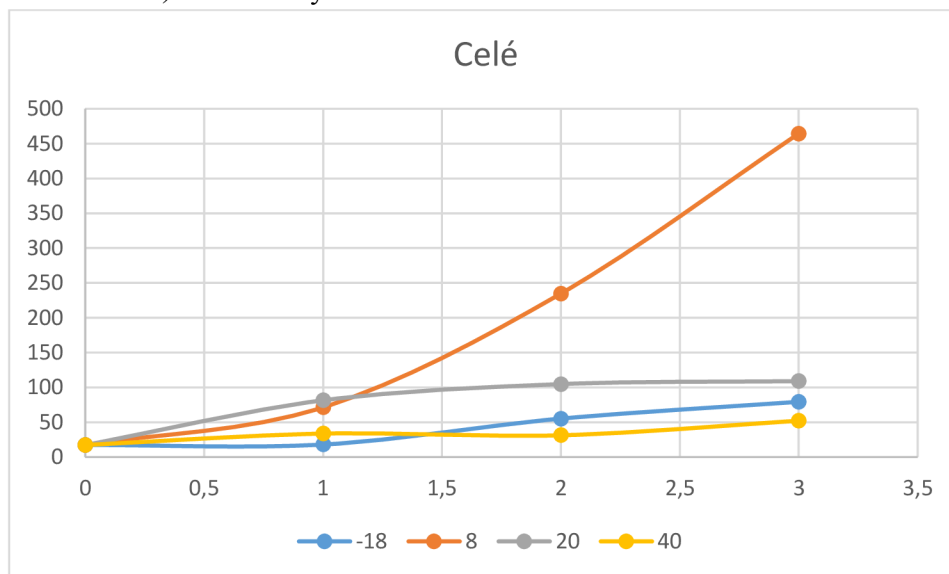




**Příloha 7:** Grafické znázornění průběhu oxidace tuku homogenizovaných vzorků potměníka moučného (*Tenebrio molitor*)

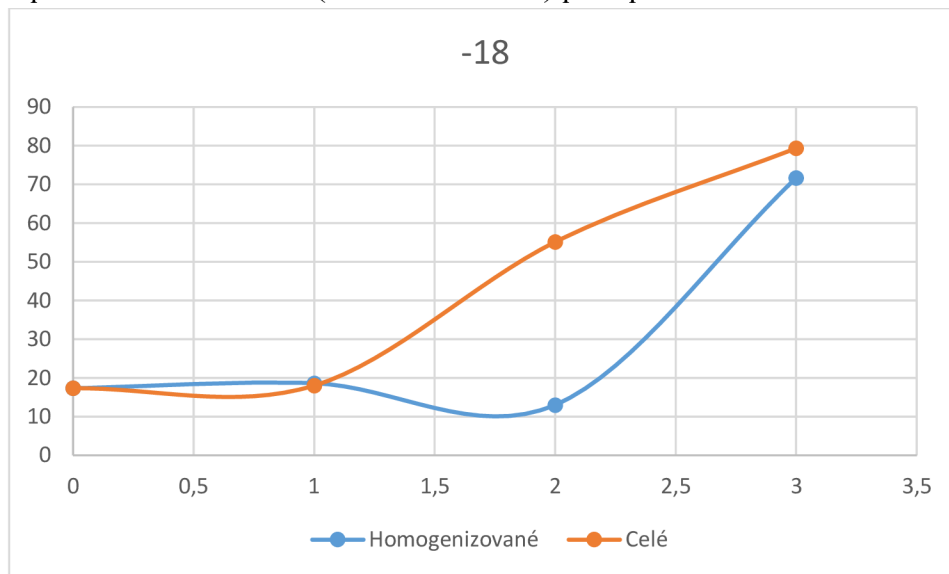


**Příloha 8:** Grafické znázornění průběhu oxidace tuku vzorků potměníka moučného (*Tenebrio molitor*) skladovaných vcelku

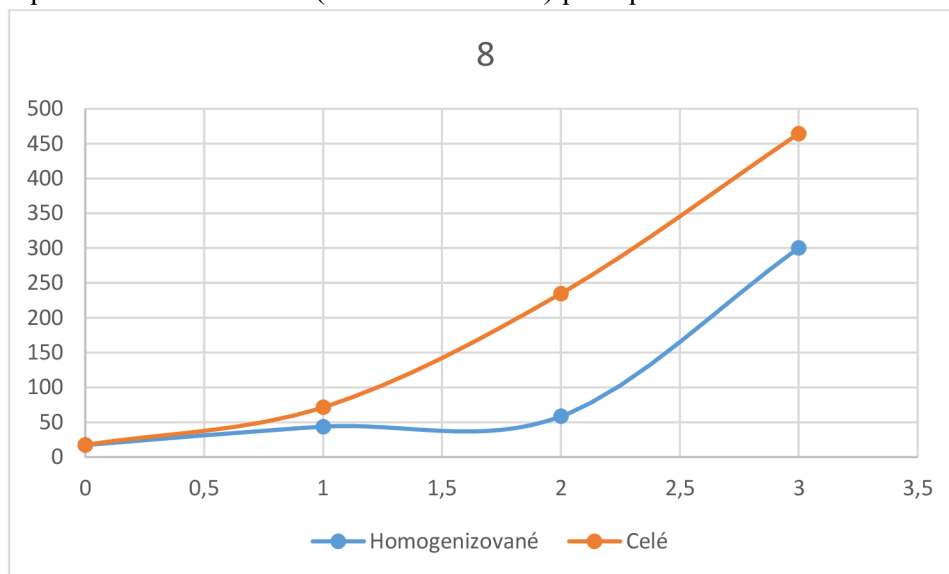




**Příloha 9:** Grafické znázornění průběhu oxidace tuku homogenizovaných a celých vzorků potměníka moučného (*Tenebrio molitor*) při teplotě -18 °C

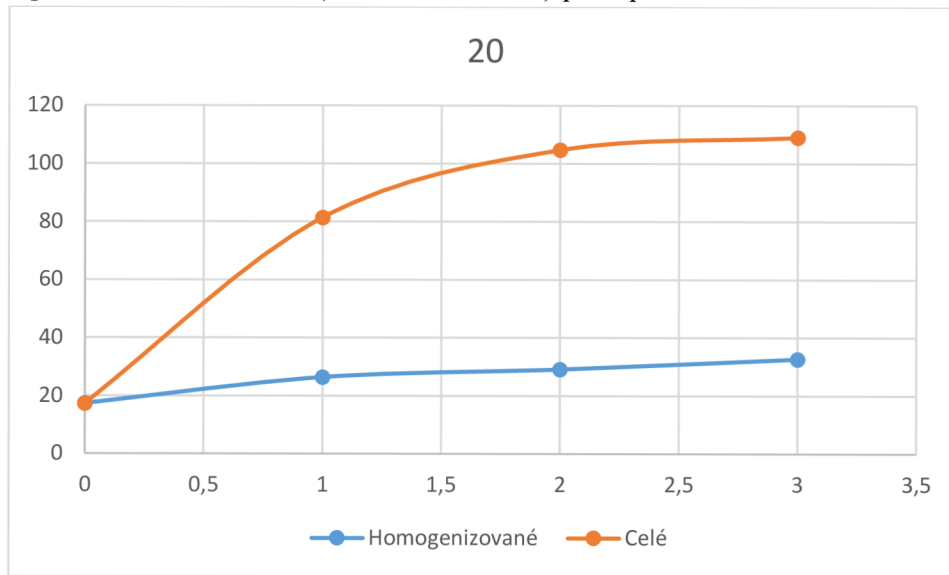


**Příloha 10:** Grafické znázornění průběhu oxidace tuku homogenizovaných a celých vzorků potměníka moučného (*Tenebrio molitor*) při teplotě 8 °C

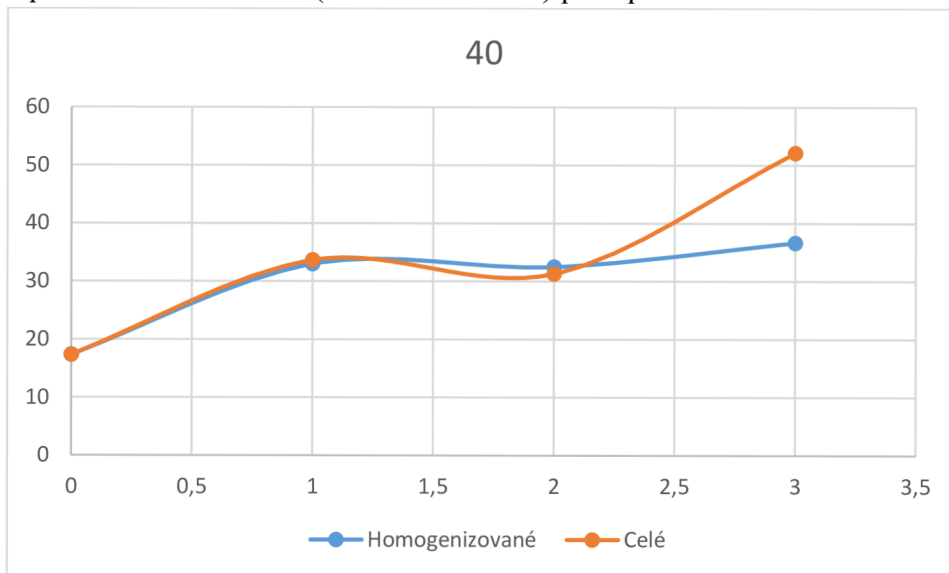




**Příloha 11:** Grafické znázornění průběhu oxidace tuku homogenizovaných a celých vzorků potměníka moučného (*Tenebrio molitor*) při teplotě 20 °C



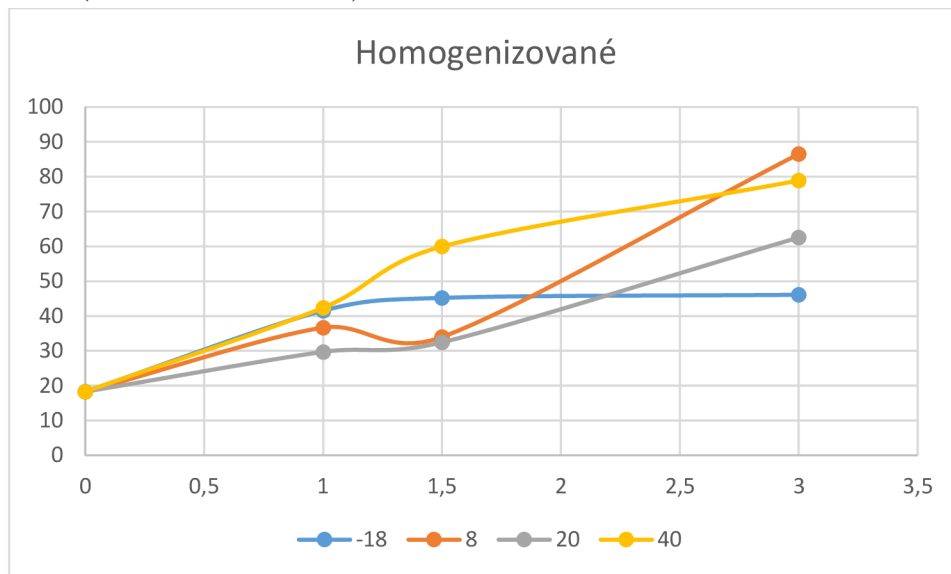
**Příloha 12:** Grafické znázornění průběhu oxidace tuku homogenizovaných a celých vzorků potměníka moučného (*Tenebrio molitor*) při teplotě 40 °C



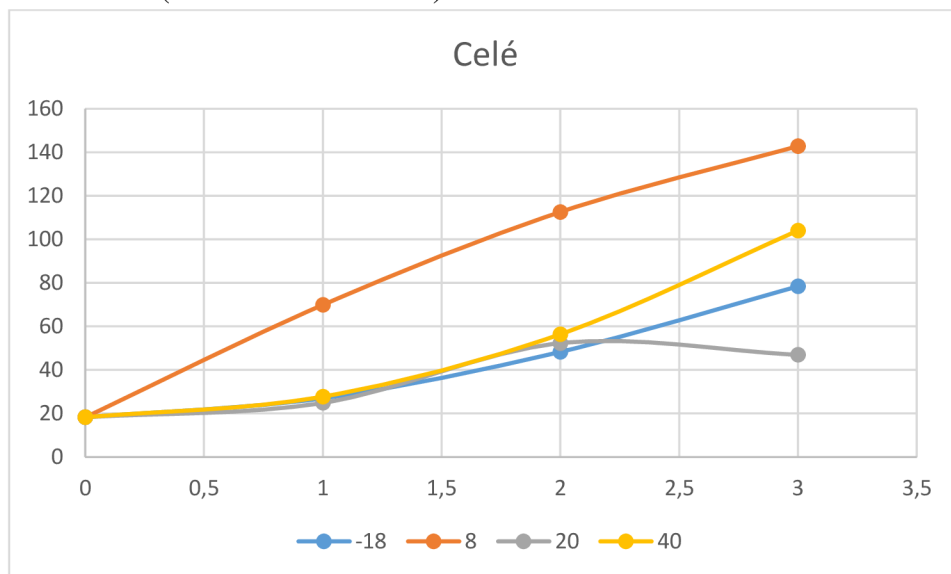




**Příloha 13:** Grafické znázornění průběhu oxidace tuku homogenizovaných vzorků švába discoidalis (*Blaberus discoidalis*)

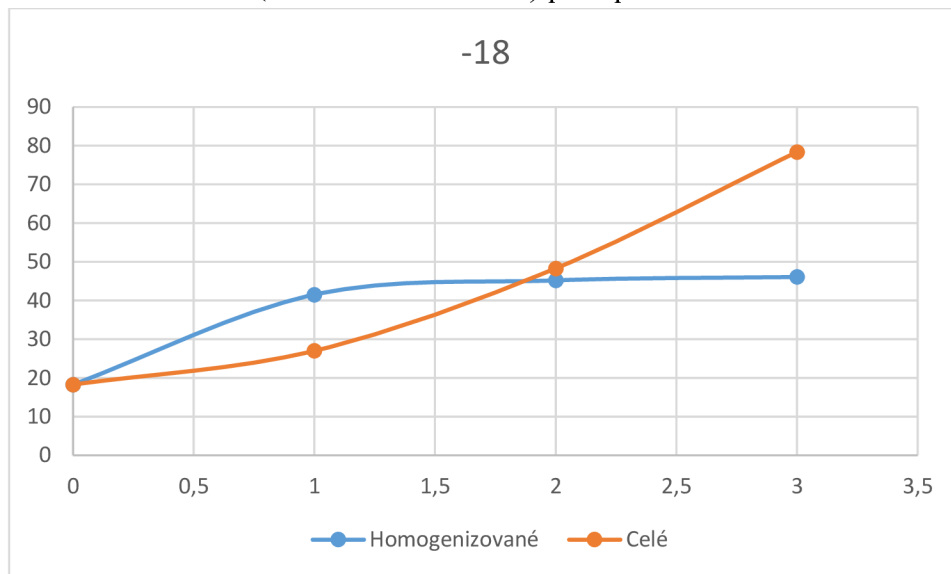


**Příloha 14:** Grafické znázornění průběhu oxidace tuku vzorků skladovaných v celku švába discoidalis (*Blaberus discoidalis*)

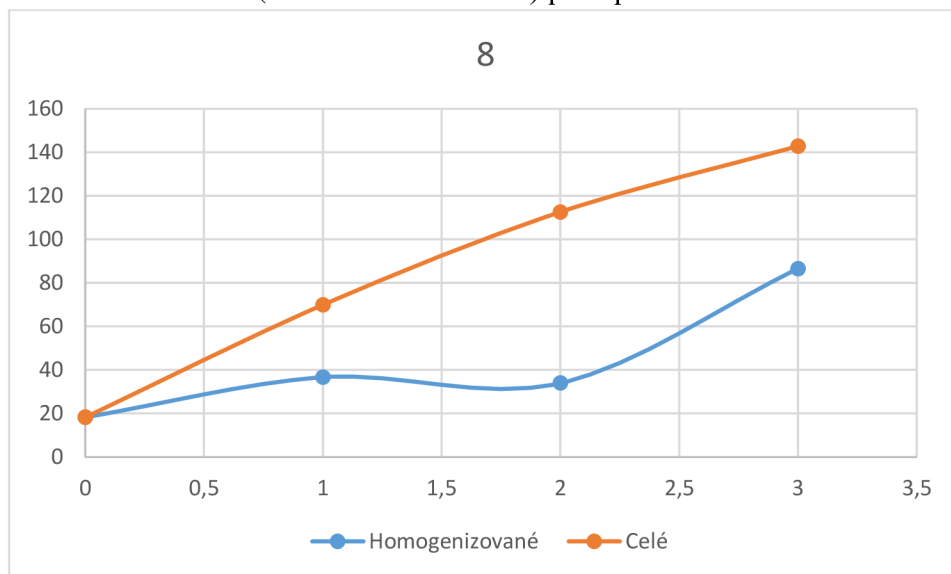




**Příloha 15:** Grafické znázornění průběhu oxidace tuku homogenizovaných a celých vzorků švába discoidalis (*Blaberus discoidalis*) při teplotě -18 °C

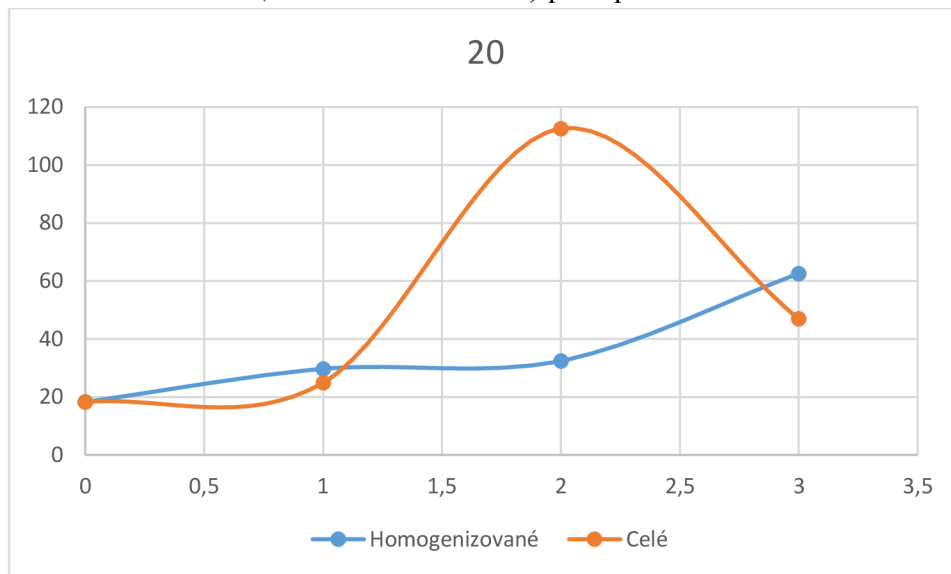


**Příloha 16:** Grafické znázornění průběhu oxidace tuku homogenizovaných a celých vzorků švába discoidalis (*Blaberus discoidalis*) při teplotě 8 °C

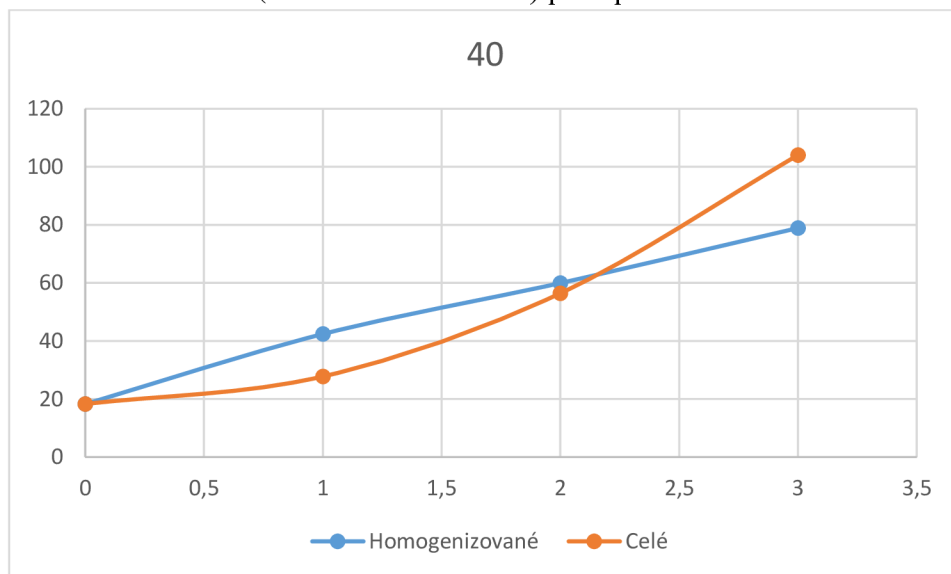




**Příloha 17:** Grafické znázornění průběhu oxidace tuku homogenizovaných a celých vzorků švába discoidalis (*Blaberus discoidalis*) při teplotě 20 °C

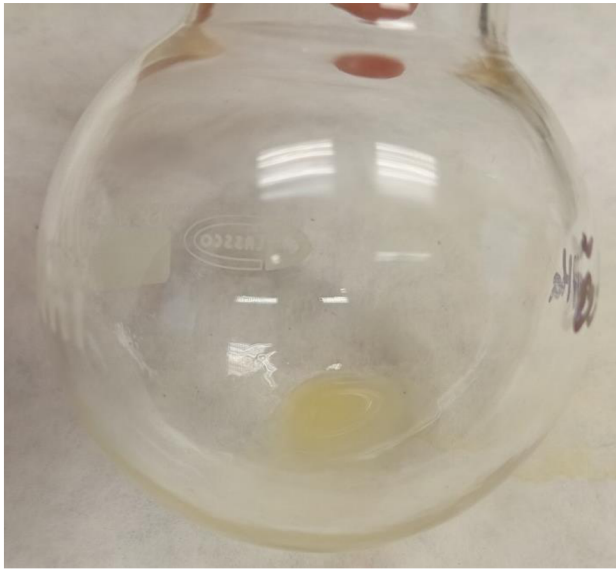


**Příloha 18:** Grafické znázornění průběhu oxidace tuku homogenizovaných a celých vzorků švába discoidalis (*Blaberus discoidalis*) při teplotě 40 °C

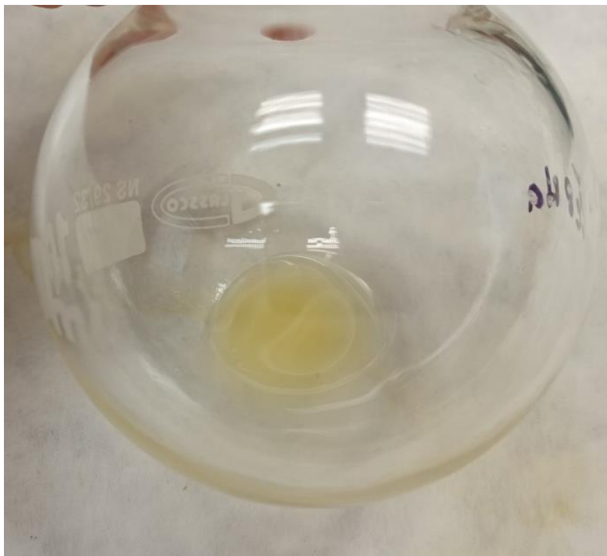




**Příloha 19:** Zbarvení extrahovaného tuku potměníka moučného (*Tenebrio molitor*) po 3 měsících skladování při teplotě -18 °C



**Příloha 20:** Zbarvení extrahovaného tuku potměníka moučného (*Tenebrio molitor*) po 3 měsících skladování při teplotě 8 °C







**Příloha 21:** Zbarvení extrahovaného tuku potemníka moučného (*Tenebrio molitor*) po 3 měsících skladování při teplotě 20 °C



**Příloha 22:** Zbarvení extrahovaného tuku potemníka moučného (*Tenebrio molitor*) po 3 měsících skladování při teplotě 40 °C

