

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra etologie a zájmových chovů**



**Fakulta agrobiologie,  
potravinových a přírodních zdrojů**

**Vliv složení krmiva na rychlost produkce, obsah tuku  
a složení mastných kyselin cvrčka domácího (*Acheta  
domesticus*)**

**Diplomová práce**

**Bc. Pavel Pucholt**

**Zájmové chovy zvířat**

**doc. Klára Urbanová, Ph.D.**

© 2023 ČZU v Praze

## Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Vliv složení krmiva na rychlost produkce, obsah tuku a složení mastných kyselin cvrčka domácího (*Acheta domestica*)" jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autor uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne \_\_\_\_\_

## **Poděkování**

Rád bych touto cestou poděkoval mé vedoucí doc. Kláře Urbanové, Ph.D. za odborné vedení práce, obrovskou trpělivost a cenné rady, které mi pomohly k vypracování této práce. Taktéž chci poděkovat své rodině za podporu.

# Vliv složení krmiva na rychlost produkce, obsah tuku a složení mastných kyselin cvrčka domácího (*Acheta domestica*)

## Souhrn

Diplomová práce byla zpracována na téma Vliv složení krmiva na rychlost produkce, obsah tuku a složení mastných kyselin cvrčka domácího (*Acheta domestica*). Úvodní část nastínila celosvětový problém spojený s nárůstem populace a s tím související omezené potravinové zdroje. Zařazení jedlého hmyzu do jídelníčku může být jedním z řešení problému.

Cílem práce bylo zjistit, zda má krmivo podávané cvrčkům vliv na rychlost produkce, množství tuku a zda ovlivní obsah mastných kyselin. K testování byly vybrány dva druhy krmiva, první s vysokým obsahem bílkovin a druhé s vyšším obsahem sacharidů. Dvě testované skupiny byly krmeny až do dospělosti, třetí skupina dospělců, z jiného chovu, byla testována pro porovnání dat.

Obsah tuku ve vzorcích byl stanoven pomocí Soxhletova extraktoru. Mastné kyseliny byly, po transesterifikaci na příslušné methyl estery, analyzovány pomocí plynového chromatografu s hmotnostní detekcí. Těkavé látky, produkované jednotlivými skupinami cvrčků, byly extrahovány metodou mikroextrakce tuhou fází (SPME) a následně analyzovány pomocí plynového chromatografu s hmotnostní detekcí.

Bylo prokázáno, že obsah bílkovin v krmivu má vliv na rychlost vývoje cvrčků a jejich vyšší hmotnost při sklizni. Krmivo s vyšším obsahem sacharidů ovlivnilo množství tuku, které bylo zřetelně vyšší. V testovaných vzorcích byly nalezeny stejné mastné kyseliny, avšak v jiném poměru.

Vzorky byly testovány na obsah těkavých látek. Výskyt těkavých látek může ovlivnit vůni a chuť pokrmu z jedlého hmyzu. Bylo detekováno celkem 36 těkavých látek, z toho 13 těkavých látek bylo nalezeno u všech skupin.

**Klíčová slova:** Chov cvrčků, výživa cvrčků, nutriční hodnoty, mastné kyseliny, těkavé látky, plynová chromatografie, jedlý hmyz

# Effect of feed composition on production rate, fat content and fatty acid composition of the house cricket (*Acheta domesticus*)

## Summary

The thesis was written on the topic Effect of feed composition on production rate, fat content and fatty acid composition of the house cricket (*Acheta domesticus*). In the introduction is described the global problem associated with population growth and the associated limited food resources. Adding edible insects to the diet can be one of the solutions to the problem.

The purpose of the work was to find out whether the feed given to crickets affects the rate of production, the amount of fat and whether it affects the content of fatty acids. Two types of feed were selected for testing, the first type with high protein content and the second type with higher carbohydrate content. Two test groups were fed until adulthood, a third group of adults, from another farm, was tested for data comparison.

The fat content of the samples was determined using a Soxhlet extractor. The fatty acids were after transesterification to the corresponding methyl esters, analyzed using a gas chromatograph with mass detection. Volatile compounds by individual groups of crickets were extracted by solid phase microextraction (SPME) and subsequently analyzed by gas chromatography with mass detection.

It has been proven that the protein content of the feed affects the development rate of crickets and its higher weight at harvest. Feed with a higher carbohydrate content affected the amount of fat, which was clearly higher. The same fatty acids were found in the tested samples, but in a different ratio.

The samples were tested for volatile compounds. The occurrence of volatile compounds can affect the smell and taste of edible insect food. The total of 36 volatile substances were detected, of which 13 volatile substances were found in all groups.

**Keywords:** cricket breeding, cricket nutrition, nutritional values, fatty acids, volatile compounds, gas chromatography, edible insect

# Obsah

<b>1</b>	<b>Úvod.....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Vědecká hypotéza a cíle práce.....</b>	<b>2</b>
<b>3</b>	<b>Přehled literatury.....</b>	<b>3</b>
<b>3.1</b>	<b>Hmyz jako potravina budoucnosti .....</b>	<b>3</b>
3.1.1	Vliv na životní prostředí.....	3
3.1.2	Rychlost produkce .....	4
3.1.3	Rizika spojená s konzumací hmyzu.....	4
3.1.4	Legislativa .....	5
3.1.5	Cvrček domácí.....	6
<b>3.2</b>	<b>Krmivo.....</b>	<b>6</b>
<b>3.3</b>	<b>Makroživiny.....</b>	<b>7</b>
3.3.1	Nutriční hodnota hmyzu .....	8
3.3.2	Tuky.....	9
3.3.3	Mastné kyseliny .....	10
3.3.4	Nasyčené mastné kyseliny .....	11
3.3.5	Nenasycené mastné kyseliny.....	12
3.3.6	Mastné kyseliny u hmyzu .....	13
<b>3.4</b>	<b>Přehled metod .....</b>	<b>14</b>
3.4.1	Transesterifikace.....	14
3.4.2	Chromatografie.....	14
3.4.2.1	Plynová chromatografie.....	15
3.4.2.2	Hmotnostní spektroskopie .....	15
3.4.3	SPME .....	16
3.4.3.1	Těkavé látky u hmyzu .....	18
<b>4</b>	<b>Metodika.....</b>	<b>21</b>
<b>4.1</b>	<b>Představení vzorků (cvrčci).....</b>	<b>21</b>
<b>4.2</b>	<b>Chovné zařízení.....</b>	<b>21</b>
4.2.1	Domácí laboratoř (HomeLab) .....	21
4.2.2	Chovné boxy .....	22
4.2.3	Topná fólie .....	24
4.2.4	Napáječky.....	25
4.2.5	Krmné směsi .....	26
4.2.5.1	Br1.....	26
4.2.5.2	Pšeničné otruby .....	26
<b>4.3</b>	<b>Přístroje.....</b>	<b>27</b>

4.3.1	Horkovzdušný sterilizátor .....	27
4.3.2	Automatický extrakční přístroj SER158 .....	28
4.3.3	Laboratorní vybavení .....	29
4.3.4	Software.....	30
4.3.5	Chemikálie.....	30
<b>4.4</b>	<b>Výzkum mastných kyselin .....</b>	<b>30</b>
4.4.1	Transesterifikace.....	31
4.4.2	GC-MS pro mastné kyseliny .....	31
4.4.3	Analýza dat.....	32
<b>4.5</b>	<b>Extrakce SPME.....</b>	<b>32</b>
4.5.1	GC-MS analýza pro SPME.....	33
4.5.2	Analýza dat.....	33
<b>5</b>	<b>Výsledky .....</b>	<b>34</b>
5.1	Rychlost produkce cvrčků .....	34
5.2	Spotřeba krmiva .....	34
5.3	Obsah tuků.....	35
5.4	Zastoupení mastných kyselin ve sledovaných vzorcích .....	35
5.5	SPME.....	41
<b>6</b>	<b>Diskuze .....</b>	<b>44</b>
6.1	Tuk.....	44
6.2	Mastné kyseliny .....	45
6.3	Těkavé látky .....	45
<b>7</b>	<b>Závěr .....</b>	<b>47</b>
<b>8</b>	<b>Literatura.....</b>	<b>48</b>
<b>9</b>	<b>Seznam použitých zkratk a symbolů.....</b>	<b>53</b>
<b>10</b>	<b>Seznam obrázků, tabulek a grafů .....</b>	<b>I</b>
10.1	Seznam obrázků .....	I
10.2	Seznam tabulek.....	I
10.3	Seznam grafů .....	II





# 1 Úvod

Tématem diplomové práce je vliv složení krmiva na rychlost produkce, obsah tuku a složení mastných kyselin cvrčka domácího (*Acheta domestica*).

Světovým problémem je stále rostoucí populace a omezené potravinové zdroje. Hmyz je součástí lidské potravy již od nepaměti, proto jeho využití, jako alternativního zdroje potravy, je v dnešní době velmi diskutované téma. Je jasné, že tradičně vyráběné živočišné produkty nebudou brzy pro celosvětovou populaci stačit. Proto by právě jedlý hmyz mohl sloužit jako ekvivalentní doplněk anebo dokonce náhrada nedostatkových potravin.

Dalším velice důležitým bodem řešeným v dnešní době je welfare živočichů. Je totiž složité v dnešních velkochovech zajistit při péči o hospodářská zvířata moderní způsoby, které jsou podle welfare nutné dodržovat. Jedním z těchto způsobů je respektování svobody zvířat od nepohodlí, zajištění svobody umožnit přirozené chování, zamezit stresu, strachu, úzkosti. To vše lze u jedlého hmyzu poměrně snadno a v plné míře splnit. Při chovu hmyzu je možné využít přirozeného chování. Cvrčci ve volné přírodě mohou žít v početných koloniích, proto není chov více jedinců stresující. Ve volné přírodě se přirozeně stahují ke zdroji tepla, což je v umělém chovu taktéž zajištěno. U hospodářských zvířat je nutné zajistit obohacení výběhů či kotců o různé hračky, aby nedocházelo ke stereotypnímu chování. Při chovu cvrčků je nutné zajistit jen základní potřeby, jako je teplo, světlo, potrava, voda a dostatečný prostor.

Hlavní výhodou využití hmyzu ke konzumaci jsou jeho nutriční hodnoty. Významnou složkou lidské potravy jsou mastné kyseliny, které lidské tělo potřebuje pro správný vývoj a funkci.

Podle FAO (2017) budou do roku 2025 trpět dvě třetiny světa nedostatkem vody. U chovu hospodářských zvířat je spotřeba vody vysoká. Při porovnání spotřeby vody skotem se cvrčkem je zjištěno, že u cvrčka je potřeba vody 2000x menší (damesens 2018). Dále je důležité zmínit užitnou plochu, konverzi živin, rychlost produkce při porovnání chovů.

Nové výzkumy zmiňují i takové faktory, jako jsou těkavé látky obsažené v jedlém hmyzu. Ty zásadně mohou ovlivnit vůni a chuť produktu vyrobeného z jedlého hmyzu.

Také zvolení vhodného krmiva může mít vliv na rychlost produkce a obsah mastných kyselin u hmyzu. Na trhu je mnoho produktů, které se dají k výkrmu hmyzu použít. I tímto se tato práce zabývá.

Jedlý hmyz již nyní začíná sloužit jako alternativní zdroj potravy. Jeho chov je považován za udržitelnější způsob produkce než u tradičního chovu dobytka. Je jasné, že hmyz spotřebovává méně přírodních zdrojů, jako je voda, půda a způsobuje méně emisí znečišťujících životní prostředí.

## 2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Cvrček domácí, *Acheta domestica*, je slibným zdrojem potravy díky svým nutričním hodnotám a jeho využití jako potraviny, může přispět ke zlepšení potravinové bezpečnosti a snížení podvýživy obyvatelstva, zejména v rozvojových zemích. Růst a nutriční hodnotu cvrčků mohou ovlivnit různé diety. Cílem práce je zhodnotit vliv různých diet na růstové parametry cvrčka domácího, obsah tuku a zastoupení mastných kyselin. Dalším cílem je analýza těkavých látek, produkovaných jednotlivými skupinami.

Hypotézy:

- I) Skupina cvrčků krmena krmnou směsí pro brojlerová kuřata, má do doby dospělosti vyšší nárůst hmotnosti, než skupina cvrčků krmena otrubami.
- II) Skupina cvrčků krmena krmnou směsí pro brojlerová kuřata, obsahuje odlišné zastoupení tuku a mastných kyselin, než skupina cvrčků krmena otrubami.
- III) Skupina cvrčků krmena krmnou směsí pro brojlerová kuřata, produkuje odlišné těkavé látky, než skupina cvrčků krmena otrubami.

## 3 Přehled literatury

### 3.1 Hmyz jako potravina budoucnosti

Je pravděpodobné, že jedlý hmyz bude hrát důležitou roli v budoucí výživě lidí. Hmyz je totiž zdrojem bílkovin a dalších živin, které jsou pro lidskou výživu nezbytné, a navíc vyniká vysokou účinností při přeměně potravy na hmotnost, což z něj dělá velmi efektivní zdroj potravy.

V mnoha kulturách je konzumace hmyzu běžná a tradiční součást stravy. V poslední době se také začíná objevovat zájem o jedlý hmyz v západních zemích, přičemž se jedná například o cvrčka domácího, anebo potemníka moučného.

Nicméně přechod k větší konzumaci hmyzu v západních zemích může být pomalý a vyžaduje změnu návyků v oblasti stravování. Kromě toho je třeba překonat i předsudky a bariéry spojené s konzumací neobvyklých druhů potravy.

Celkově lze ale říci, že jedlý hmyz má potenciál stát se důležitou součástí budoucí potravinové strategie, zejména v souvislosti s rostoucí globální populací a potřebou snižovat dopad potravinářské produkce na životní prostředí.

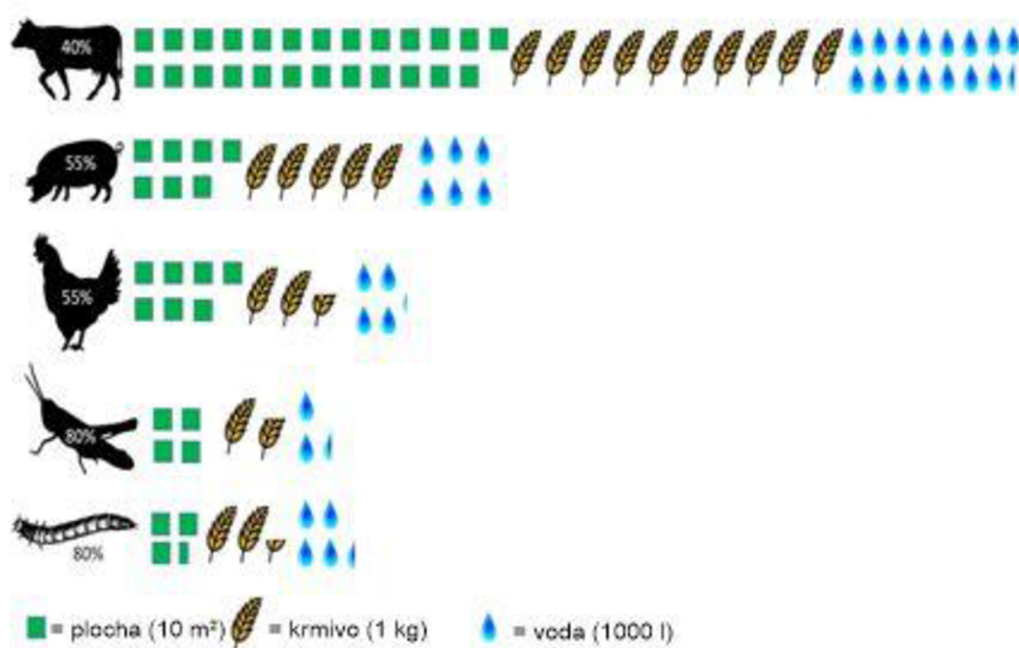
#### 3.1.1 Vliv na životní prostředí

Hospodářská zvířata, která se běžně chovají pro lidskou konzumaci, produkují velké množství skleníkových plynů, jako je metan a oxid dusnatý. Tyto plyny mají vysoký vliv na klima a globální oteplování. Chov hospodářských zvířat je odpovědný za 14 % celosvětových emisí skleníkových plynů. Na druhé straně u jedlého hmyzu je produkce skleníkových plynů mnohem nižší. Hmyz nevytváří metan a další skleníkové plyny díky jiným způsobům trávení a výměně plynů. Kromě toho je emise amoniaku, což je další skleníkový plyn, u hmyzu mnohem nižší než u hospodářských zvířat. Například v porovnání s prasaty může být emise amoniaku u cvrčka až 12x nižší a u sarančete dokonce až 50x nižší (Liceaga 2022). Tato fakta potvrzují, že konzumace jedlého hmyzu je méně škodlivá pro životní prostředí než konzumace tradičních zdrojů masa.

Chov hospodářských zvířat vyžaduje velkou spotřebu vody. Zvláště rozvojové země se v dnešní době s nedostatkem vody často potýkají. FAO (2017) uvádí, že do roku 2025 dokonce dvě třetiny světa budou trpět nedostatkem vody. Na 1 kg hovězího masa je třeba 43 000 l vody, oproti tomu při chovu cvrčků nebo potemníka moučného je na 1 kg hmyzích proteinů spotřeba pouze 40 litrů vody (Abbasi et al. 2016).

Hmyz lze chovat a množit na mnohem menší ploše, než která je potřebná u běžně chovaných hospodářských zvířat. Například k chovu potemníka moučného stačí několik přepravek. I ve velkých chovech je úspora místa značná. Jedlý hmyz má tu výhodu, že může být chován vertikálně (van Huis et al. 2013).

Oonincx & de Boer (2012) uvádějí, že k produkci 1 kg bílkovin potřeboval potměnk moučný pouze 10 % půdy potřebné k produkci hovězího masa. Tyto údaje se mohou lišit u různých druhů hmyzu, ale jednoznačně poskytují důležité informace o tom, že plocha půdy potřebná k chovu hmyzu je podstatně menší než plocha potřebná pro konvenční chov hospodářských zvířat viz obr. 1.



**Obrázek 1: Množství půdy, krmiva a vody potřebné k vyprodukování 1 kg živé hmotnosti zvířete a procenta jedlé části (Zdroj: Dobermann 2017 et al. 2017)**

### 3.1.2 Rychlost produkce

Oproti běžně chovaným hospodářským zvířatům se hmyz množí mnohem rychleji a také rychleji dosahuje dospělosti. Každý jedinec může vyprodukovat stovky až tisíce potomků, kteří dospívají během několika týdnů (Abbasi et al. 2016).

### 3.1.3 Rizika spojená s konzumací hmyzu

Jako u každé potraviny, kterou člověk konzumuje, je u konzumace hmyzu nutné dodržovat určitá pravidla. Je nutné brát zřetel na několik faktorů, které mohou ovlivnit kvalitu potravin z hmyzu. Nejčastější jsou rizika mikrobiální, dále kontaminace chemickými látkami, alergické reakce.

Mikrobiální rizika znamenají, že hmyz může být nakažen různými mikroorganismy, jako jsou bakterie, plísně, anebo viry (Lange & Nakamura 2021). Tyto mikroorganismy mohou

přežít v trávicím traktu hmyzu nebo se mohou nacházet na povrchu těla. Riziko nákazy závisí na vhodném způsobu zpracování, ale také již na správném skladování.

Ke kontaminaci chemickými látkami může dojít v souvislosti se zemědělskou a průmyslovou výrobou. Mnoho pesticidů, těžkých kovů a jiných chemikálií je využíváno k hnojení polí, likvidaci škodlivého hmyzu a plísní napadajících kulturní plodiny. Při průmyslové výrobě bývá často znečištěna chemickými látkami voda, která se z provozů vrací zpět do přírody (Lange & Nakamura 2021)

Riziko kontaminace závisí na způsobu získávání hmyzu. Při volném sběru, což tvoří až 92 % (Yen 2015), je riziko poměrně vysoké. Tímto způsobem je těžké splnit faktory bezpečnosti. Zatím co u chovaného hmyzu, pokud jsou dodržovány hygienické standardy, jsou tato rizika eliminována.

Také alergické reakce mohou být rizikem spojeným s konzumací hmyzu. Dnes je již doloženo, že někteří lidé, kteří mají alergii na korýše, mohou stejným způsobem reagovat po konzumaci jedlého hmyzu. Při požití korýšů, alergickou reakci způsobí svalová bílkovina tropomyosin, která je v jejich těle obsažena (Ribeiro et al. 2017).

Faktory, způsobující alergické reakce, vyžadují další výzkum. Obsah alergenů v potravinách vyrobených z jedlého hmyzu je možné ovlivnit vhodným zpracováním, kterým je tepelné zpracování, fermentace, enzymatická a kyselá hydrolýza, vysokotlaké zpracování, ozařování, použití konzervačních látek, změny pH nebo jejich kombinace (Vědecký výbor EFSA 2015).

### **3.1.4 Legislativa**

Kromě obecných požadavků na hygienu potravin, je i produkce hmyzu a jeho následné uvedení na trh jako potraviny regulováno. Po zrušení nařízení EU o nových potravinách z roku 1997 došlo k revizi legislativy, a to roku 2015, kdy bylo potvrzeno, že hmyz je skutečně nová potravina. Podle tohoto nového zákona mohou být potraviny, které se v Evropě před rokem 1997 ve významné míře nekonzumovaly, uvedeny na trh, pokud bylo po kladném posouzení bezpečnosti uděleno zvláštní povolení. Tyto požadavky byly zavedeny v celé EU. Výrobci potravin na bázi hmyzu mohou tedy nyní získat povolení k výrobě i prodeji svých produktů z jedlého hmyzu po celé EU. Rozsah povolení se různí, některé země povolily produkci a prodej pouze určitých druhů jako potraviny a některé povolily dokonce všechny druhy, zatímco jiné země zcela zakázaly výrobu a marketing produktů na bázi hmyzu jako nových potravin (Peer et al. 2021).

### 3.1.5 Cvrček domácí

Říše *Animalia* – živočichové

Kmen *Arthropoda* – členovci

Třída *Insecta* – hmyz

Řád *Orthoptera* – rovnokřídílí

Čeleď *Gryllidae* – cvrčkovití

Rod *Acheta* – cvrček

Cvrček domácí má délku těla 16 – 20 mm. Barva těla je světle hnědá s tmavší kresbou. Tento druh vykazuje pohlavní dimorfismus, projevující se menší velikostí samečků oproti samičkám. Výrazné kladélko je pozorovatelné pouze u samic. Aktivní je převážně v noci (Bellmann 2008).

Samička klade do vlhkého substrátu 1200 – 1500 vajíček (Patton 1978). Po dvou týdnech se líhnou drobné nymfy. V průběhu růstu dochází 11× k svleku. Cvrček dospívá ve 2 měsících (Kořínek ©1999-2023).

Cvrček domácí (*Acheta domesticus*), je druh cvrčka, který se často chová jako potrava pro zvířata, nebo dokonce jako potrava pro lidi. Je původem z tropických oblastí Asie, ale rozšířil se po celém světě (Ugur et al. 2021). Jeho potrava je převážně rostlinného původu.

V chovu se cvrčci často krmí obilnými směsmi, zeleninou nebo ovocem. K chovu cvrčků se využívají různě veliké kontejnery. Jsou do nich umístěny obaly na vejce z nasávané kartonáže, které jsou pro tento účel vhodné. Díky tvaru obalu je navýšena užitná plocha kontejneru (Hanboonsong 2013).

## 3.2 Krmivo

Vhodné krmivo hraje rozhodující roli v rychlosti produkce hospodářských zvířat. Správně sestavená krmná dávka může pomoci zvýšit přírůstek masa, produkci mléka, anebo vajec. Nesprávná strava naopak může vést k pomalému růstu a k celkově nižší produktivitě.

Hospodářská zvířata jsou velice citlivá na poměr živin. Aby se udržela v dobré kondici a dosáhla optimální produkce, musí jejich krmná dávka obsahovat správné množství bílkovin, sacharidů, tuků, minerálních látek a vitaminů. Pokud dojde k nerovnováze v poměru látek, odrazí se to na zdravotním stavu zvířat, zvířata jsou oslabena a mají narušenou imunitu. Také tyto faktory mohou vést k úbytku hmotnosti a k snížení produkce (Celi et al. 2017).

Také výběr správné stravy pro hospodářská zvířata závisí na druhu zvířete, jeho věku, pohlaví, fázi růstu nebo reprodukce, které se snažíme dosáhnout. Kvalitní krmivo musí být

podáváno v optimálním množství, v souladu s potřebami jednotlivých zvířat. Proto by měla být krmná dávka pečlivě plánována a prospívání zvířat sledováno.

Stejně jako u hospodářských zvířat, hraje výběr správné stravy u jedlého hmyzu, důležitou roli. Kvalita krmiva může taktéž ovlivnit růst a vývoj hmyzu.

Existuje mnoho druhů jedlého hmyzu, který je chován pro lidskou spotřebu. Je to například saranče stěhovavá, potemník moučný, bourec morušový, cvrček domácí a další (Imathiu 2020). Většina těchto druhů je chována v umělých chovatelských zařízeních, kde jsou krmeny speciálně sestavenou krmnou dávkou. Správná dávka je důležitá pro produkci kvalitního jedlého hmyzu s vysokou nutriční hodnotou. Vzhledem k tomu, že se jedlý hmyz stává stále populárnější alternativou k tradičnímu masu, je právě vhodné krmivo důležité k zajištění vysoké kvality produktu.

Ve velkochovu jedlého hmyzu by měly být použity vědecké poznatky, aby se účinně zlepšil obsah živin a hlavně výnos. Studie, zabývající se růstem cvrčků domácích jsou zásadní pro vývoj vhodných diet a přizpůsobení dietních opatření za účelem snížení nákladů a maximalizace výnosu.

Komerčně vyrobené krmivo určené pro cvrčky, obsahující 21 % hrubého proteinu, je v dnešní době ve světě běžně k dispozici. Ale i krmiva, určená pro jiná hospodářská zvířata, lze ke krmení cvrčků využít. Především se jedná o krmivo pro drůbež a ryby, které obsahuje mezi 21-24 % hrubého proteinu. Krmivo s vyšším procentem proteinu se používá především v prvních 14 dnech života cvrčka. V dalším období, mezi 15 až 30 dny růstu, může být komerčně vyrobené krmivo kombinováno se zeleninou a ovocem. Například v Thajsku se v této fázi používá jako zeleného krmiva listy manioku, svlačec, vodní hyacint, listy papáje a traviny různých druhů. Dva až pět dní před sklizní cvrčků se krmná dávka obohatí o dýni, která zlepší vůni i chuť cvrčků (Hanboonsong & Durst 2020).

Zelený rostlinný materiál je z mnoha důvodů pro chov vhodný, zlepšuje chuť cvrčků, je finančně výhodnější, ale rychlost růstu cvrčků je pomalejší a prodlouží chovný cyklus, než tomu je u cvrčků krmených pouze komerční krmnou směsí (Hanboonsong & Durst 2020).

Je důležité udržet ve stravě cvrčků správný poměr bílkovin, sacharidů a tuků. Přebytek sacharidů nevyužitých pro energii se totiž uloží jako tuk. To vysvětluje vysoký obsah tuku u cvrčků krmených krmnou dávkou složenou ze směsi obsahující 22 % bílkovin a navíc doplněnou čerstvou dýňovou dužinou. To pravděpodobně způsobil přebytek sacharidů v dužině čerstvé dýně (Adebayo et al. 2013, Fagbemi 2019).

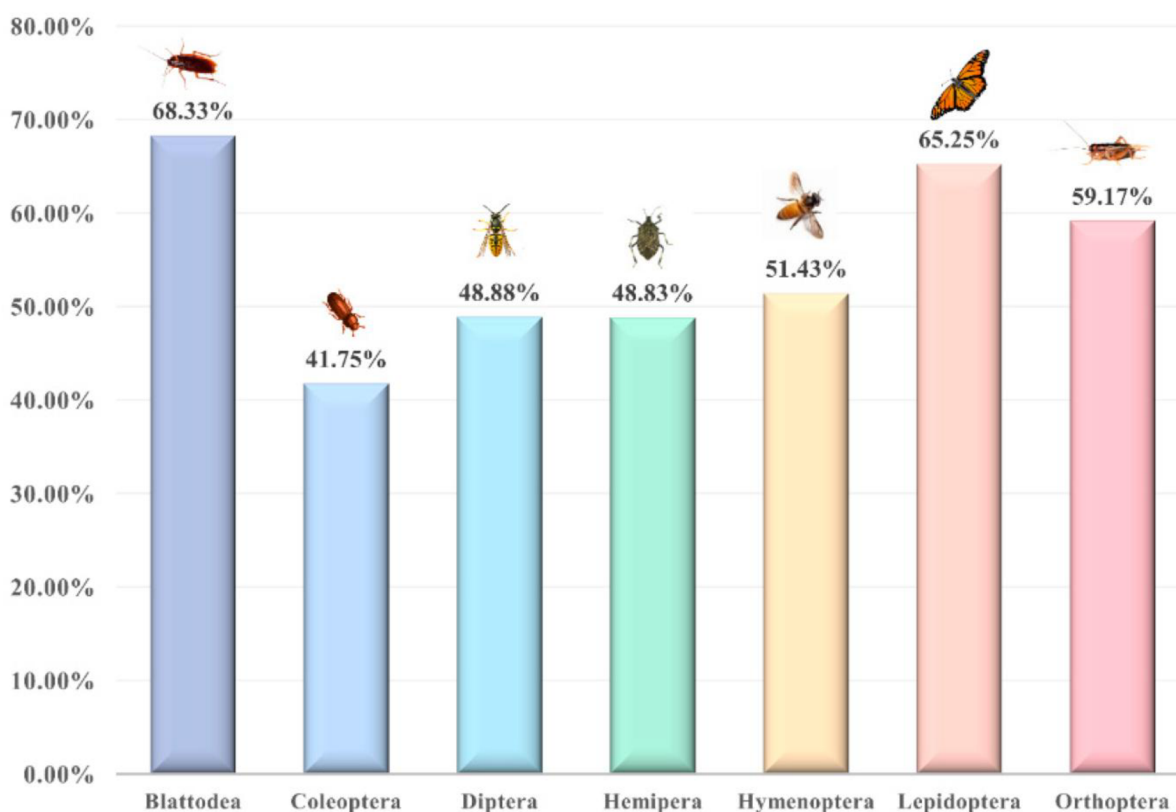
### **3.3 Makroživiny**

Živiny jsou látky, které jsou nezbytné pro správné fungování lidského těla. Tyto látky se dále dělí na makroživiny a mikroživiny. Mezi mikroživiny patří vitamíny a minerály, které

jsou nutné pro správný metabolismus. Makroživiny jsou na druhé straně potřebné v těle v relativně velkém množství, řádově desítky gramů, a poskytují tělu potřebnou energii pro životní procesy.

### 3.3.1 Nutriční hodnota hmyzu

Nutriční hodnoty hmyzu jsou extrémně vysoké. Všechny živiny, které hmyz obsahuje, jsou nezbytné pro lidský růst a vývoj. Potraviny z hmyzu jsou vlastně živočišného původu, obsahují vysoký podíl bílkovin (viz obr. č. 2) a tuku. Některé studie ukázaly, že konzumace červeného masa může zvýšit riziko mrtvice, cukrovky, rakoviny tlustého střeva a rakoviny plic (Kromhout et al. 2016). Ve srovnání s masem se hmyz zdá být výživnější a zdravější. Díky rozmanitosti druhů hmyzu, taktéž vývojovém stádiu, je i nutriční obsah různý, jak je patrné z tabulky č. 1. Z tohoto důvodu je hmyz považován za adekvátní náhražku masa. V případě podvýživy může být dokonce konzumace hmyzu dobrým zdrojem doplňkových živin (Payne et al. 2016).



Obrázek 2: Procentuální zastoupení bílkovin u různých řádů hmyzu (Zdroj: Zhou et al. 2022)



**Tabulka 1: Nutriční hodnota hmyzu (Zdroj: Rumpold & Schlüter 2013; Zhou et al. 2022)**

Latinský název	Český název	Protein	Tuk	Vláknina	Sacharidy
<i>Periplaneta americana</i>	šváb americký	65,6	28,2	3	0,78
<i>Oryctes rhinocerus</i>	nosorožík (larva)	57,81	0,73	1,4	24,51
<i>Rhynchophorus phoenicis</i>	nosatec (larva)	28,42	31,4	2,82	48,6
<i>Tenebrio molitor</i>	potemník moučný (dospělci)	60,2	20,8	16,3	0,01
<i>Tenebrio molitor</i>	potemník moučný (larva)	47,18	43,08	7,44	0,26
<i>Musca domestica</i>	moucha domácí (larva)	63,99	24,31		1,25
<i>Apis mellifera</i>	včela medonosná (larva)	42	19	1	35
<i>Bombyx mori</i>	bourec morušový (larva)	53,76	8,09	6,36	25,43
<i>Galleria mellonella</i>	zavíječ voskový	38,8	58,55	8,92	
<i>Acheta domesticus</i>	cvrček domácí (dospělci)	66,56	22,80	22,08	2,6
<i>Gryllus bimaculatus</i>	cvrček dvojskvrnný	58,32	11,88	9,53	
<i>Hermetia illucens</i>	mucha černá	34,9	27,93		
<i>Locusta migratoria</i>	saranče stěhovavá	48,7	38,1	8,8	
<i>Zophobas morio</i>	potemník brazilský	46,79	42,04	9,26	2,61

### 3.3.2 Tuky

Tuky jsou důležitou částí stravy člověka. S bílkovinami a sacharidy spadají pod makroživiny, které jsou významnou složkou našeho jídelníčku. Tuky vytváří důležitou zásobu energie pro naše tělo, zajišťují tepelnou izolaci a podporují vstřebávání vitaminů (A,D,E,K), které jsou rozpustné pouze v tucích. Mimo to také pomáhají s tvorbou žlučových kyselin, hormonů a dalších důležitých látek. Obsahují esenciální karboxylové kyseliny, které jsou nezbytné pro správnou funkci našeho těla, a získáváme je pouze z potravy (Babička 2016; Vacek 1999).

Lipidy, jejichž název pochází z řeckého slova „*lipos*“, což znamená tučný, jsou rozsáhlou skupinou organických sloučenin, které jsou charakterizovány svou rozmanitostí. Mají velký význam pro každý organismus. Většina lipidů je tvořena molekulami majícími vyšší poměr uhlíku, vodíku. V potravinářském kontextu zahrnuje skupina lipidů zejména tuky živočišného původu, rostlinné oleje, vosky, mastné kyseliny, některé vitaminy, lecitin a steroidy. Na rozdíl od bílkovin nebo sacharidů, které třídíme dle chemických vlastností, jejich rozdělení v rámci skupiny probíhá podle rozpustnosti. Lipidy jsou minimálně rozpustné ve vodě, naopak výborně rozpustné v organických nepolárních rozpouštědlech, jako chloroform, hexan, aceton (Davídek et al. 1983; Moigradean et al. 2013). Z

chemického hlediska jsou lipidy estery alkoholu a vyšších (mastných) karboxylových kyselin (Metcalf & Wang 1981). Jejich vlastností je hydrofobnost (McMurry 2012; Ledvina et al. 2005).

Lipidy jsou makroživiny s nejvyšší energetickou hodnotou. Obsahují nejvíce energie na gramovou jednotku, a to 9 kcal/g nebo 37 kJ/g. Jsou zdrojem esenciálních mastných kyselin. Uplatňují se jako metabolická paliva. Určité druhy lipidů jsou klíčové pro správné fungování buněčných membrán, některé z nich fungují jako obal orgánů nebo podkožní tuk. Lipidy také chrání listy rostlin před vysycháním. Jsou také zdrojem cholesterolu nebo fytoosterolu. Lipidy mají také schopnost rozpouštět určité chuťové a pachové látky, což umožňuje přenášet a zesilovat chuť a vůni potravin. To znamená, že tuky a oleje hrají důležitou roli při vytváření charakteristické struktury, chuti a vůně jídel. Díky těmto vlastnostem lipidů se potraviny stávají nejen chutnějšími, ale i atraktivnějšími pro konzumenty (Davídek et al. 1983; Moigradean et al. 2013).

### 3.3.3 Mastné kyseliny

Mastné kyseliny jsou organické sloučeniny patřící do skupiny karboxylových kyselin, které mají ve svém molekulárním řetězci funkční skupinu -COOH. Tyto kyseliny se vyskytují v tucích a olejích, a tvoří tak důležitou složku potravy.

Mastné kyseliny jsou rozdělovány do různých skupin podle délky jejich molekulárního řetězce, počtu a umístění dvojných vazeb v molekule a polohy mastných kyselin v lipidové molekule. Mastné kyseliny s dvojnými vazbami se dále třídí podle polohy první dvojně vazby od poslední methylové skupiny v řetězci. Například n-3 polyenové mastné kyseliny mají první dvojnou vazbu umístěnou na třetím uhlíku od konce řetězce. Tyto charakteristiky jsou zodpovědné za chemické a fyzikální rozdíly, které jsou pozorovány u různých typů tuků a olejů v potravinách (White 2009).

Většina mastných kyselin obsahuje sudý počet atomů uhlíku v řetězci a nejčastěji mají 12-20 atomů uhlíků. Pokud mají v řetězci dvojnou vazbu, nejčastěji se vyskytují v konfiguraci Z (cis). Mastné kyseliny v depotním tuku přežvýkavců mají konfiguraci trans (E), což je způsobeno přeměnou nenasycených mastných kyselin biohydrogenací mikroorganismy v batoru. Kyseliny trans se také mohou vyskytovat v potravinách vyráběných průmyslovou katalytickou hydrogenací nenasycených mastných kyselin. Při zahřátí tuků nad teplotu 240 °C, který obsahuje polyenové mastné kyseliny, mohou tyto kyseliny reagovat a vytvářet tak nové sloučeniny. V přírodě se nachází přibližně 100 různých druhů mastných kyselin, které jsou součástí triacylglycerolů. Tyto mastné kyseliny se mohou v triacylglycerolech vyskytovat buď jako tři stejné, dvě stejné a jedna jiná, nebo každá odlišná. Je důležité dodržovat správný poměr nasycených, mononenasycených a polynenasycených mastných kyselin ve stravě, který by měl být 1:2:1. Je také nutné omezit příjem trans-nenasycených mastných kyselin na méně než 5 g za den, protože tyto kyseliny

mohou mít negativní vliv na zdraví a zvyšovat riziko srdečních chorob (O'Brien 2009; Pánek et al. 2002; Velíšek & Hajšlová 2009).

Přijetí správného množství mastné kyseliny dokosaheptaenové z tuků je důležité pro správné fungování centrálního nervového systému. Pokud konzumujeme vyvážené množství polynenasycených mastných kyselin n-3 a n-6, může to vést ke snížení hladiny zánětu v organismu. Kyselina arachidonová, která se vytváří z kyseliny linolové, slouží jako prekurzor prostaglandinů, které jsou v těle zodpovědné za regulaci různých fyziologických procesů (Grofová 2010).

Mastné kyseliny jsou nezbytné pro syntézu membrán, stavbu různých strukturálních prvků v buňkách a tkáních, modifikaci proteinů a sacharidů a produkci signálních sloučenin v těle. Dále mají schopnost rozpouštět různé nepolární a špatně rozpustné složky v buňkách a mimo ně. To znamená, že mastné kyseliny jsou důležité pro celkové zdraví a správné fungování organismu (German & Dillard 2004).

### 3.3.4 Nasycené mastné kyseliny

Nasycené mastné kyseliny jsou pojmenovány podle toho, že jsou nasyceny maximálním množstvím vodíků. Patří do homologické řady  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{COOH}$  a mají obvykle rovný nerozvětvený řetězec se sudým počtem atomů uhlíku. Tyto mastné kyseliny jsou důležité pro uspořádání molekul triacylglycerolu v krystalové mřížce a zajišťují tak tukům jednotný tvar. To má vliv na jejich vlastnosti a funkce v organismu (McMurry et al. 2015; Vacek 1999).

Mastné kyseliny s nasycenými vazbami jsou méně reaktivní než mastné kyseliny s nenasycenými vazbami a mají vyšší teplotu tání. To je způsobeno tím, že nerozvětvené struktury řetězců nasycených mastných kyselin jsou hustě zabalené do krystalické mřížky, což zajišťuje tukům jednotný tvar. Prodlužování řetězce nasycených mastných kyselin vede k nárůstu jejich teploty tání. To znamená, že mastné kyseliny s delším řetězcem mají vyšší teplotu tání než kyseliny s kratším řetězcem (O'Brien 2009).

Tyto tuky jsou hojně přítomny ve všech rostlinných i živočišných tucích, včetně oleje z palmového jádra a kokosového ořechu, kakaového másla, vepřového sádla, másla a hovězího loje. Nejčastěji se vyskytují kyselina palmitová a stearová. Tyto tuky mají různé fyziologické účinky, ale převažují ty negativní. V potravě jsou nejčastěji přítomny nasycené mastné kyseliny s dlouhým řetězcem (asi 80-90 % tuku), které byly prokázány jako podporující obezitu. Pravidelná konzumace těchto tuků může zvýšit hladinu špatného cholesterolu (LDL), zvýšit riziko srdečních chorob, a dokonce vést k úmrtí (Tvrzická et al. 2009). Nicméně, nasycené mastné kyseliny jsou důležité jako prekurzory pro biosyntézu nenasycených mastných kyselin.

Nasycené mastné kyseliny jsou chemické sloučeniny s vysokým podílem vodíku v molekule a mají sudý počet atomů uhlíku. Obvykle tvoří nerozvětvené lineární řetězce o

délce 12 až 22 uhlíkových atomů (Belitz et al. 2009). Tyto mastné kyseliny jsou stabilní a mění se jen při vyšších teplotách. V přírodě se vyskytují jako složky mastných kyselin v rozmezí 10 až 40 %, přičemž jsou častěji živočišného původu (Davídek et al. 1983; Velíšek & Hajšlová 2009). Nasycené tuky mají tendenci tuhnout při pokojové teplotě. Nejtypičtějším příkladem nasycených živočišných tuků jsou sádlo a máslo (Grofová 2010).

Kromě živočišných tuků existují i oleje rostlinného původu, které obsahují velké množství nasycených mastných kyselin, jako například kokosový olej a palmový olej. Nejčastěji se v rostlinných tucích a olejích nachází kyselina palmitová (Rustan & Drevon 2005). Výzkumy a studie ukázaly, že strava bohatá na tuky obsahující vysoké procento SFA (zpravidla více než 15 %) může způsobovat zvýšení hladin celkového a LDL-cholesterolu v krvi u lidí (Rioux et al. 2005).

### 3.3.5 Nenasycené mastné kyseliny

Nenasycené mastné kyseliny jsou druhem karboxylových kyselin, které mají v lineárním uhlovodíkovém řetězci alespoň jednu dvojnou vazbu. Podle počtu dvojných vazeb se dělí na mononenasycené (MUFA) obsahující jednu dvojnou vazbu a polynenasycené (PUFA) s dvěma a více dvojnými vazbami, obvykle v poloze cis. Tyto dvojně vazby způsobují nestálost molekul triacylglycerolu a dávají uhlíkatému řetězci nepravidelný tvar. Čím více dvojných vazeb mastné kyseliny obsahují, tím mají nižší bod tání a hůř se skládají do krystalické mřížky. PUFA zahrnují n-3 a n-6 mastné kyseliny, které jsou esenciální a musí se přijímat stravou. N-6 mastné kyseliny zahrnují kyselinu linolovou a n-3 mastné kyseliny kyselinu  $\alpha$ -linolenovou (McMurry et al. 2015).

Kyselina dokosaheptaenová (DHA) a eikosapentaenová (EPA) jsou mastné kyseliny, které jsou obsaženy v rybách a některých rostlinách. I když nejsou esenciální, což znamená, že je nemusíme přijímat z potravy, jsou pro naše tělo velmi užitečné. DHA má pozitivní vliv na činnost mozku a zrak a EPA i DHA pomáhají udržovat srdce zdravé. Tyto tuky jsou tedy důležité pro naše celkové zdraví. Mohou být získány přímým konzumováním ryb nebo přeměnou kyseliny  $\alpha$ -linolenové, kterou můžeme najít v některých rostlinných olejích (Pražský 2013).

Kyselina olejová je nejčastější MUFA v rostlinách, zvířatech a mikroorganismech. Téměř všechny rostlinné tuky a oleje obsahují tuto kyselinu a může tvořit více než polovinu mastných kyselin v nich obsažených. Kyselina palmitoolejová je také běžná v živočišných a rostlinných tkáních a je hlavní složkou některých semenných olejů. Kyselina linolová je jednou z nejčastějších polynenasycených mastných kyselin v rostlinných tucích. Kyselina arachidonová je důležitou složkou fosfolipidové membrány v živočišných tkáních, ale v potravě je zřídka přítomna. Je považována za nejvýznamnější metabolit kyseliny linolové. Kyselina  $\alpha$ -linolenová se vyskytuje v řepkovém a sójovém oleji, stejně jako v některých druzích řas.

Avokádo, ořechy a olivový olej jsou nejčastějšími zdroji MUFA, které jsou prospěšné pro snižování hladiny LDL cholesterolu. Konzumace těchto potravin může snížit riziko vzniku srdečního onemocnění a mrtvice (Gunstone 1996; Rustan & Drevon 2005).

### 3.3.6 Mastné kyseliny u hmyzu

Množství i složení mastných kyselin se u hmyzu liší. Například kyselina olejová a linolová tvoří hlavní tukovou složku larev *Tenebrio molitor* a *Acheta domestica* (Paul et al. 2017). Přesto, že oba tyto druhy hmyzu byly krmeny podobnou stravou, která obsahovala pšeničnou mouku, pšeničné otruby a pivovarské kvasnice, vzorky vykazovaly odlišné složení mastných kyselin. Právě to dokazuje, že profil mastných kyselin se také liší u jednotlivých druhů, jak je uvedeno i v obr. č. 3. Téměř veškerý hmyz je schopen biosyntetizovat kyselinu palmitovou, stearovou a olejovou, tudíž není nutné tyto látky dodávat potravou.

I vývojová fáze hmyzu může, kromě stravy, jednotlivých druhů a podmínek prostředí, ovlivnit profil mastných kyselin. Hmyz může biosyntetizovat anebo akumulovat různé mastné kyseliny v různých fázích života v závislosti na potřebě mastných kyselin v těle. Například cvrček (*Teleogryllus commodus*) dokáže v dospělosti biosyntetizovat C<sub>20</sub> polynenasycené mastné kyseliny, které využívá pro vývoj prostaglandinů. Prostaglandiny hrají důležitou roli v reprodukčním cyklu (Stanley-Samuelson & Loher 1986).

Larvy *Tenebrio molitor* obsahují velké množství lipidů, které by mohly být komerčně využity v potravinách pro lidskou spotřebu. Výsledky prezentované ve studii Paul et al. (2020) ukazují, že tři druhy hmyzu z řádu rovnokřídlí, tj. *Acheta domestica*, *Conocephalus discolors* a *Pseudochorthipus paralelus* obsahují menší množství lipidů (10 až 16 %) než larvy *Tenebrio molitor*, které obsahují až 32 %. Avšak lipidy rovnokřídlých obsahují zase mnohem vyšší hladiny kyseliny linolové a kyseliny  $\alpha$ -linolenové.

Tyto dvě mastné kyseliny jsou klíčové pro udržení zdraví člověka.

Constituents in (% fatty acids)	Black soldier fly larvae <sup>a</sup>	Housefly maggot meal	Mealworm	House cricket
<b>Saturated fatty acids (%)</b>				
Lauric, 12:0	21.4 [49.3] (42.6)	–	0.5	–
Myristic, 14:0	2.9 [6.8] (6.9)	5.5	4.0	0.7
Palmitic, 16:0	16.1 [10.5] (11.1)	31.1	21.1	23.4
Stearic, 18:0	5.7 [2.78] (1.3)	3.4	2.7	9.8
<b>Monosaturated fatty acids (%)</b>				
Palmitoleic, 16:1n – 7	[3.5]	13.4	4.0	1.3
Oleic, 18: 1n – 9	32.1 [11.8] (12.3)	24.8	37.7	23.8
<b>Polyunsaturated fatty acids (%)</b>				
Linoleic, 18:2n – 6	4.5 [3.7] (3.6)	19.8	27.4	38.0
Linolenic, 18:3n – 3	0.19 [0.08] (0.74)	2.0	1.2	1.2
Eicosapentaenoic, 20:5n – 3	0.03 [0] (1.66)	–	–	–
Docosahexaenoic, 22:6n – 3	0.006 [0] (0.59)	–	–	–

<sup>a</sup> Values using cow manure as substrate. Round parentheses are the values obtained on using 50% of cow manure and 50% of fish offal as substrate. Square parentheses are values obtained on swine manure as substrate.

**Obrázek 3: Složení mastných kyselin u různých druhů hmyzu (Zdroj: Makkar et al. 2014)**

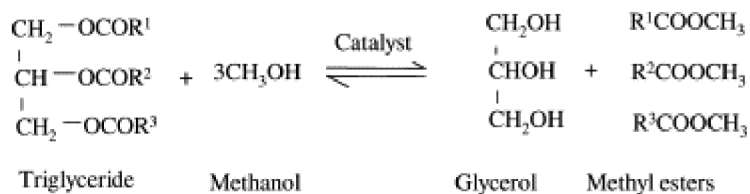
### 3.4 Přehled metod

#### 3.4.1 Transesterifikace

Transesterifikace je organická reakce a metoda, která se často používá k produkci fatty acid methyl esteru (FAME) z triacylglycerolu (TAG), viz obr. 4. Tato metoda je vhodná k chromatografické analýze. Proces je podobný hydrolýze, ale místo vody je použit alkohol (Meher et al. 2006). Je možné použít methanol, v tomto případě se proces nazývá methanolýza. Dochází k reakci, při které je ester přeměněn na jiný, prostřednictvím výměny alkoxykupiny.

Transesterifikace je rovnovážná reakce. Reakce probíhá zásadně smícháním reaktantů. Pro urychlení se v procesu transesterifikace obvykle používá katalyzátor. V organické chemii se typicky používá silně kyselý nebo bazický katalyzátor. Pokud je množství katalyzátoru malé, vzniká mýdlo. Výchozím produktem transesterifikace jsou alkylestery mastných kyselin a glycerol a meziprodukty diglyceridy a monoglyceridy.

Proces transesterifikace je ovlivněn několika aspekty, jako je přítomnost volných mastných kyselin, vlhkost, typ katalyzátoru, koncentrace katalyzátoru, molární poměr alkoholu k oleji, typ alkoholu, reakční doba, teplota, intenzita míchání, anebo použitím organických kosolventů (Meher et al. 2006).



Obrázek 4: Rovnice transesterifikace (Zdroj: Meher et al. 2006)

#### 3.4.2 Chromatografie

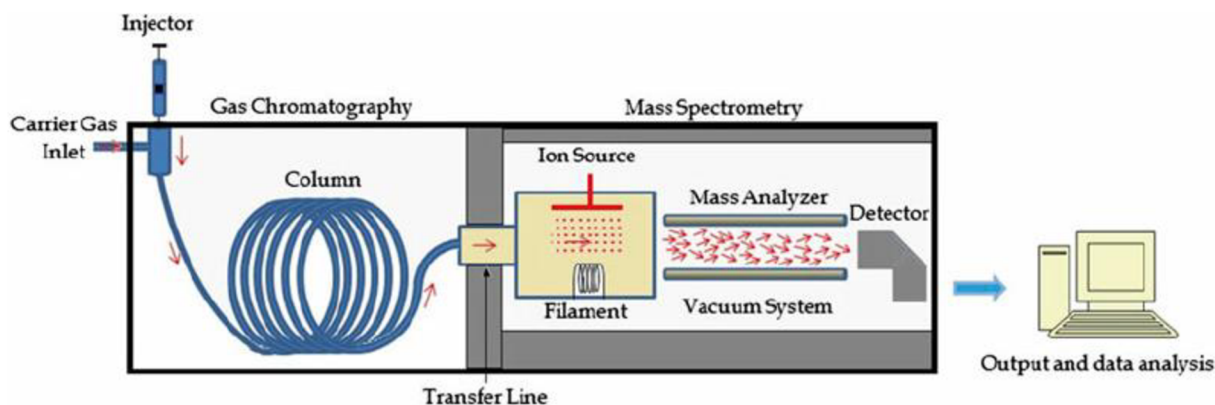
Termín chromatografie byl poprvé užit v roce 1906. Původ slova vznikl z řeckého chroma (barva) a graphien (psát). Původně tato technika nevyžadovala speciální výbavu, šlo pouze o sloupcovou a papírovou chromatografii. Jak název napovídá, tyto techniky byly nejčastěji využívány k separaci barevných složek ve směsi. Těchto postupů je stále využíváno. V dnešní době je ale větší důraz kladen na instrumentální techniky. Jde o plynovou chromatografii (GC), vysoce účinnou kapalinovou chromatografii (HPLC) a superkritickou fluidní chromatografii (SFC) (Štulík et al. 2004).

### 3.4.2.1 Plynová chromatografie

Plynová chromatografie (GC – gas chromatography), na obr. č. 5, je analytická metoda, která se používá k oddělení na individuální podíly, identifikaci látek obsažených ve směsích a kvantifikaci složek směsi plynu (Poole 2012).

Metoda GC se z chromatografických metod využívá nejčastěji. GC je metoda analýzy plyných a těkavých látek, a také kapalných látek s nízkou teplotou varu (do 400 °C). Jednou z předností této techniky je rychlost analýzy, která je v řádech minut, a také schopnost provést rutinní analýzu i s velmi malým množstvím vzorku. Plynová chromatografie také umožňuje izolaci čistých látek a může být využita jako preparativní technika (Poole 2012).

Metoda chromatografie využívá rozdílných vlastností jednotlivých složek vzorku pro oddělení látek. Jedná se o fyzikálně chemickou metodu separace, která spočívá v distribuci látek mezi mobilní a stacionární fází. V případě plyné chromatografie (GC) se jako mobilní fáze používá proud plynu. Stacionární fáze může být realizována dvěma způsoby. Buď jako kapalná fáze zakotvená na pevném nosiči (GLC), nebo jako pevná látka s povrchovou aktivitou (GSC). Tato metoda je velmi užitečná pro oddělování a analýzu složek v různých materiálech (Harris 2007).



**Obrázek 5: GC-MS (Zdroj: Emwas et al. 2015)**

### 3.4.2.2 Hmotnostní spektroskopie

Tato metoda sleduje četnost iontů v závislosti na poměru hmotnosti k náboji iontu ( $m/z$ ). Při této metodě je vzorek spotřebován, ale na analýzu je potřeba jen malé množství. Je to metoda destruktivní, na analýzu je potřeba pouze velmi malé množství vzorku (pg až  $\mu\text{g}$ ) (Vřešťál 2000). Hmotnostní spektrometr je složen z iontového zdroje, hmotnostního analyzátoru a detektoru. Uvnitř přístroje je vakuum. V této oblasti se nachází detektor (Gross 2011).

V iontovém zdroji vznikají kladně nabitě molekule ionty a jejich části. K ionizaci dochází několika způsoby, buď nárazem elektronů, působením elektrostatického pole či chemickou

ionizací. Techniky se dělí na měkké a tvrdé, v závislosti na množství dodané energie. Pokud je energetický přebytek dodaný molekule malý a fragmentace nízká, jedná se o měkké ionizační techniky. Pokud je dodaná energie dostatečná jedná se o techniku tvrdou (Křížek & Šíma 2015).

Analyzátozem procházejí ionty. Analyzátor se skládá z několika částí, z magnetického sektoru, elektrostatického sektoru, čočky, štěrbin.

Detektory se používají k detekci iontů, které jsou rozdělené podle  $m/z$  (Sýkora 2016).

### 3.4.3 SPME

SPME (Solid phase microextraction) je izolační metoda, která umožňuje vzorkování a extrakci složek vzorku současně. Tato metoda spočívá v sorpci složek vzorku na stacionární fázi, která je připojená na křemenné vlákno umístěné uvnitř kovové jehly. Vlákno je pokryto polymerem a jehla slouží k ochraně vlákna a propíchnutí septa v zátce vialky, ve které se nachází vzorek. Vzorkování se provádí tak, že jehla s vláknem se zasune do vzorku, poté se vlákno pomocí pístu vysune a po dosažení sorpční rovnováhy se opět zasune do jehly. Po dosažení rovnováhy se celá jehla vytáhne a následně se vloží do chromatografu. Tato metoda má výhodu v rychlosti stanovení výsledku, citlivosti a přesnosti (Filipiak & Bojko 2019).

Výběr vhodného vlákna je klíčový pro úspěšnou extrakci analytů, protože podobné se rozpouští v podobném. Pokud jsou nepolární vlákna použita pro extrakci nepolárních analytů, a naopak polární vlákna pro extrakci polárních analytů, zajišťuje se efektivní sorpční aktivita. Citlivost SPME metody je ovlivněna tloušťkou stacionární fáze vlákna. Silnější vrstva umožňuje vyextrahovat více analytu, zatímco tenká vrstva zajišťuje rychlejší difuzi a uvolnění výše vroucích látek během tepelné desorpce. I malé rozdíly v polaritě stacionární fáze vlákna mohou ovlivnit sorpční selektivitu, a proto je důležité vybírat vlákno pečlivě, aby byly dosaženy nejlepší výsledky při extrakci analytů (Silva et al. 2013).

Při volbě doby sorpce při SPME je důležité dosáhnout co největší extrakce analytu, čímž získáme nejvyšší citlivost a dobrou opakovatelnost. Optimální dobu sorpce lze stanovit experimentálně, proměřením výtěžnosti analytu v závislosti na době sorpce. V některých případech se však rovnováha mezi vzorkem a stacionární fází nedosáhne ani po několika hodinách, a proto je vhodné zvolit kratší extrakční dobu, kterou bychom měli dodržovat při všech analýzách pro zajištění konzistentních výsledků.

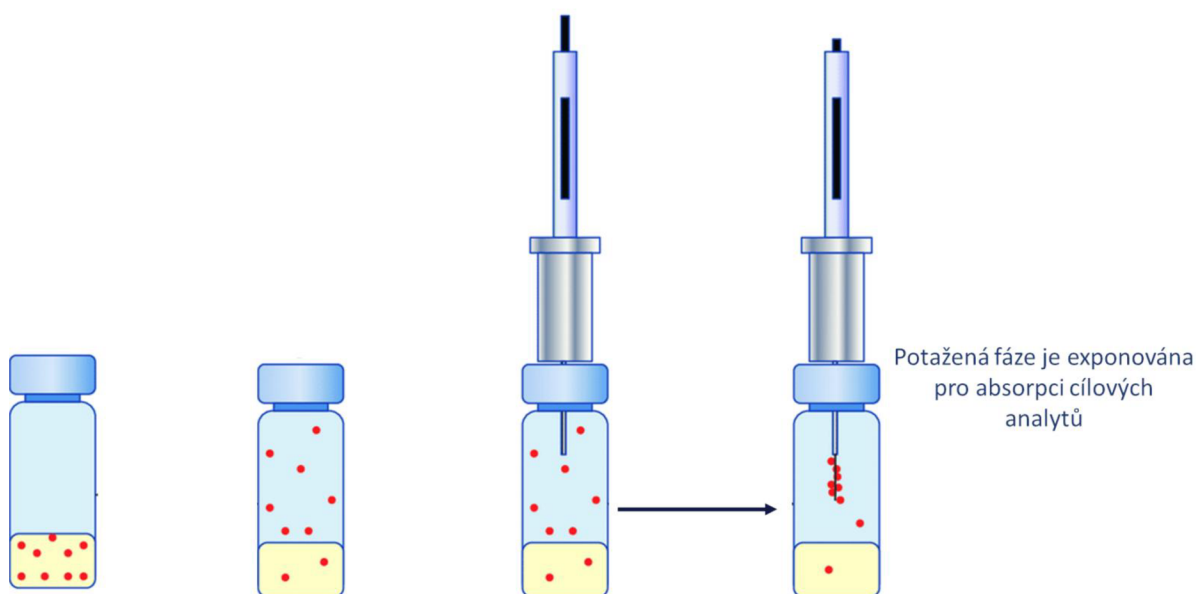
Zahřívání vzorku má vliv na rychlost dosažení rovnováhy a zkracuje dobu potřebnou k extrakci analytu. V některých případech je zahřívání nezbytné při analýze složitých matic, anebo analýze méně těkavých sloučenin. Při použití headspace analýzy se v headspace prostoru zvyšuje koncentrace analytu, což vede ke zrychlení a účinnější extrakci.



Metoda SPME nabízí dvě možnosti extrakce. Prvním způsobem je DI-SPME (Direct Immersing SPME). Dle tohoto způsobu se křemenné vlákno ponoří do vzorku. Druhý způsob, HS-SPME (Headspace SPME), využívá extrakci analytů z prostoru nad vzorkem v uzavřené nádobě, viz obr. č. 6. DI-SPME se nejčastěji používá pro kapalné a některé tuhé látky, zatímco HS-SPME se používá pro extrakci těkavých látek. Při použití HS-SPME se rovnováha mezi vláknem a analytem v plynném stavu ustálí rychleji než DI-SPME, protože molekuly analytu se v plynu pohybují rychleji. Vzorkování pomocí HS-SPME trvá obvykle pouze 5 až 15 minut.

Míchání vzorku pomáhá urychlit extrakci a zlepšit výtěžnost molekul s vyšší molekulovou hmotností. Je však důležité udržet konzistentní rychlost míchání, aby se dosáhlo opakovatelných výsledků. Objem vzorku se obvykle určuje na základě koeficientu rozdělení mezi vláknem a vzorkem ( $K_{fs}$ ). Tyto hodnoty jsou k dispozici v tabulkách pro různé analyty, mohou být také vypočítány nebo stanoveny experimentálně. Při volbě objemu vzorku je nutné také zohlednit ztráty analytů v průběhu času, například adsorpci na stěny nebo mikrobiální degradaci (FVHE 2011).

SPME má mnoho využití v různých oblastech. Je často používána v oblasti ochrany životního prostředí ke snímání různých látek, jako jsou například pesticidy, fenoly a jiné. Ve farmaceutickém průmyslu se často používá k izolaci terpenických sloučenin, siličných drog a účinných látek přítomných v syntetických i přírodních léčivech. Také se používá v kosmetice, v potravinářství pro analýzu vonných a chuťových látek, mastných kyselin a různých kontaminantů. SPME se také používá ve forenzní analýze a toxikologii (Pawliszyn et al. 1997).



Obrázek 6: SPME (Zdroj: labicom © 2023)

#### 3.4.3.1 Těkavé látky u hmyzu

Chuť jedlého hmyzu lze popsat jako máslovou, sladkou, bylinkovou nebo oříškovou. Ale stále je to málo, a nestačí to k motivaci spotřebitelů, kteří mají ke konzumaci hmyzu odpor. Aby k ochutnání jedlého hmyzu byl spotřebitel přesvědčen, je třeba vzít v úvahu i vzhled a zápach produktu, protože je zřejmé, že tyto neodlučitelné vlastnosti jsou pro spotřebitele hlavními určujícími faktory při rozhodování, zda produkt vyzkoušet či nikoli. Chuť se u jednotlivých druhů hmyzu liší a může být ovlivněna vývojovým stádiem, krmivem a způsobem přípravy. Způsob přípravy je právě základním faktorem ve vývoji konečné chuti, ke kterému dochází v důsledku chemických změn během zahřívání (Żońnierczyk & Szumny 2021). Z toho vyplývá, že způsoby tepelného zpracování podstatně ovlivňují chuť hmyzu. Bylo totiž zjištěno, že spařený jedlý hmyz je téměř bez chuti, zatímco pražením dojde organoleptickým změnám a tím se zvýší chutnost produktu (Jeon et al. 2016; Kouřimská & Adámková 2016). Těkavé látky obsažené ve cvrčcích a jiném hmyzu jsou uvedeny v tabulce č. 2.

Tabulka 2: Těkavé látky obsažené ve cvrčích a jiném hmyzu (Zdroj: Santaescolastica et al. 2022)

Název látky	Smyslová vlastnost	Druh hmyzu
<b>Aldehydes</b>		
Acetic acid	kyselé, ostré, štiplavé	<i>Acheta domesticus, Bombyx mori, Lethocerus indicu, Harmonia axyridis, Tenebrio molitor, Alphitobius diaperinus</i>
Butanoic acid	sýrový, octový, tučný, žluklý	<i>Acheta domesticus, Bombyx mori, Lethocerus indicus, Musca domestica, Tenebrio molitor, Blaptica dubia</i>
2-Methylbutanoic acid	zatuchlý	<i>Acheta domesticus, Lethocerus indicus, Gryllus assimilis, Tenebrio molitor</i>
3-Methylbutanoic acid (Isovaleric acid)	sýrové, kyselé, zpocené	<i>Acheta domesticus, Lethocerus indicus, Gryllus assimilis, Tenebrio molitor, Harmonia axyridis, Blaptica dubia</i>
Hexanoic acid	zpocené, sýrový	<i>Acheta domesticus, Lethocerus indicus, Gryllus assimilis, Tenebrio molitor</i>
Dodecanoic acid		<i>Acheta domesticus, Gryllus assimilis, Protaetia brevitarsis</i>
<b>Esters</b>		
Methyl hexanoate		<i>Acheta domesticus, Gryllus assimilis, Patanga succincta</i>
Methyl octadeca-9,12-dienoate		<i>Acheta domesticus, Gryllus assimilis, Patanga succincta</i>
2-Methyl-butanal	čokoládové, ořechové, mandlové, fermentované	<i>Acheta domesticus, Bombyx mori, Gryllus assimilis, Tenebrio molitor, Apis mellifera, Protaetia brevitarsis</i>
Pentanal		<i>Acheta domesticus, Gryllus assimilis, Tenebrio molitor</i>
Hexanal	jablková, tučná, čerstvá, ovocná	<i>Acheta domesticus, Bombyx mori, Gryllus assimilis, Tenebrio molitor, Alphitobius diaperinus, Blaptica dubia, Ruspolia differens</i>
Benzaldehyde	ovocná, sladká, hořké mandle, třešeň, slad	<i>Acheta domesticus, Bombyx mori, Tenebrio molitor, Zophobas morio, Gryllus assimilis, Allomyrina dichotoma, Protaetia brevitarsis</i>
Benzeneacetaldehyde (Phenylacetaldehyde)	bobule, ořech, štiplavý	<i>Acheta domesticus, Gryllus assimilis, Tenebrio molitor, Protaetia brevitarsis</i>
Octanal	citrusové, tučné, houbové, plesnivé	<i>Acheta domesticus, Lethocerus indicus, Ruspolia differens, Tenebrio molitor</i>
Nonanal	citrusové, mastné, aldehydové	<i>Acheta domesticus, Gryllus assimilis, Ruspolia differens, Apis mellifera, Allomyrina dichotoma</i>

Název látky	Smyslová vlastnost	Druh hmyzu
( <i>E,E</i> )-2,4-Nonadienal	masné, okurkové, melounové	<i>Acheta domesticus</i> , <i>Lethocerus indicus</i> , <i>Tenebrio molitor</i>
( <i>E,E</i> )-2,4-Decadienal	tučné, smažené	<i>Acheta domesticus</i> , <i>Lethocerus indicus</i> , <i>Tenebrio molitor</i>
Decanal	svěží, mátové, citrusové	<i>Acheta domesticus</i> , <i>Lethocerus indicus</i> , <i>Gryllus assimilis</i>
<b>Ketones</b>		
Acetoin (3-Hydroxy-2-butanone)	máslové	<i>Acheta domesticus</i> , <i>Bombyx mori</i> , <i>Allomyrina dichotoma</i> , <i>Alphitobius diaperinus</i> , <i>Blaptica dubia</i>
Diacetyl	máslové	<i>Acheta domesticus</i> , <i>Apis mellifera</i> , <i>Tenebrio molitor</i>
2,3-Pentanedione	máslové	<i>Acheta domesticus</i> , <i>Allomyrina dichotoma</i>
2-Heptanone	sýrové, ovocné, pikantní, sladké	<i>Acheta domesticus</i> , <i>Gryllus assimilis</i> , <i>Tenebrio molitor</i> , <i>Ruspolia differens</i> , <i>Apis mellifera</i>
5-Methyl-3-hepten-2-one	zelené	<i>Acheta domesticus</i> , <i>Tenebrio molitor</i> , <i>Zophobas morio</i> , <i>Gryllus assimilis</i>
( <i>E,E</i> )-3,5-Octadien-2-one	zelené, ovocné, travnaté	<i>Acheta domesticus</i> , <i>Gryllus assimilis</i> , <i>Bombyx mori</i> , <i>Patanga succincta</i>
1-Octen-3-one	houbová, kovová	<i>Acheta domesticus</i> , <i>Lethocerus indicus</i> , <i>Lethocerus indicus</i> , <i>Tenebrio molitor</i>
2-Nonanone	voňavé, ovocné, zelené, sýr, kokos	<i>Acheta domesticus</i> , <i>Tenebrio molitor</i> , <i>Zophobas morio</i> , <i>Ruspolia differens</i> , <i>Allomyrina dichotoma</i>
$\beta$ -Ionone	malinová, květinová	<i>Acheta domesticus</i> , <i>Lethocerus indicus</i> , <i>Tenebrio molitor</i>
<b>Alcohols</b>		
2-Methyl-1-propanol (Isobutanol)	éterické, sladké	<i>Acheta domesticus</i> , <i>Alphitobius diaperinus</i> , <i>Blaptica dubia</i> , <i>Tenebrio molitor</i>
3-Methyl-1-butanol	fermentované, whisky, sladové	<i>Acheta domesticus</i> , <i>Allomyrina dichotoma</i> , <i>Ruspolia differens</i>
1-Pentanol	fermentované, sladké, octové	<i>Acheta domesticus</i> , <i>Raw and microwave dried locust</i> , <i>Ruspolia differens</i> , <i>Blaptica dubia</i>
2-Ethyl-1-hexanol	citrusová, zelená, květinová	<i>Acheta domesticus</i> , <i>Bombyx mori</i> , <i>Harmonia axyridis</i> , <i>Tenebrio molitor</i>
3,5-Octadien-2-ol		<i>Acheta domesticus</i> , <i>Gryllus assimilis</i>
1-Octen-3-ol	zemité, rybí, tučné, plíšňové, houbové	<i>Acheta domesticus</i> , <i>Gryllus assimilis</i> , <i>Allomyrina dichotoma</i> , <i>Protactia brevitarsis</i>

## 4 Metodika

Dvě skupiny cvrčků domácích byly krmeny dvěma druhy krmiv, krmnou směsí pro brojlerů a otrubami. Následně byl sledován přírůstek jejich váhy, obsah tuku a zastoupení mastných kyselin. Obsah tuků byl stanoven pomocí Soxhletova extraktoru a mastné kyseliny byly, po transesterifikaci na příslušné methyl estery, analyzovány pomocí plynového chromatografu s hmotnostní detekcí (GC-MS). Dále pak byly analyzovány těkavé látky, produkované jednotlivými skupinami cvrčků. Tyto složky byly extrahovány metodou mikroextrakce tuhou fází (Solid phase microextraction - SPME) a následně analyzovány GC-MS.

### 4.1 Představení vzorků (cvrčci)

První a druhá skupina cvrčků byla zakoupena z internetového obchodu, který se dlouhodobě zabývá chovem a prodejem krmného hmyzu, určeného především pro terarijní zvířata.

Hmyz byl ve velikosti 0,3-0,5 cm, což byla nejmenší velikost prodávaného produktu. Požadavek na věk cvrčků byl nutný z toho důvodu, že obě skupiny byly sledovány až do posledního instaru, z čehož vyplývá, že bylo možné na skupiny působit delší dobu druhem příslušného krmení vybraného pro výzkum.

Třetí skupina byla zakoupena ve fázi dospělců. Tento vzorek byl důležitý k porovnání výsledků měření u 3 skupin, z čehož tato skupina byla krmena směsí neznámého složení u předešlého chovatele, jejíž složení nebylo k dispozici.

### 4.2 Chovné zařízení

K chovu cvrčků bylo nutné zařídit chovné prostory, vyhovující požadovaným parametrům. Důležitým hlediskem bylo udržení stálé teploty a vlhkosti, zajištění hygieny z hlediska eliminace roztočů a dalších nežádoucích patogenů.

#### 4.2.1 Domácí laboratoř (HomeLab)

Vhodné chovné prostory byly zajištěny textilním stanem o rozměrech 145x145x200, jehož vnitřní část je vybavena termofólií, která byla důležitá k dobré izolaci tepla. Také je snadno omyvatelná, tudíž se dalo zajistit sterilní prostředí. Celkově je stan neprodyšný, nepromokavý, z netoxických materiálů. Vstup je zajištěn zipy.

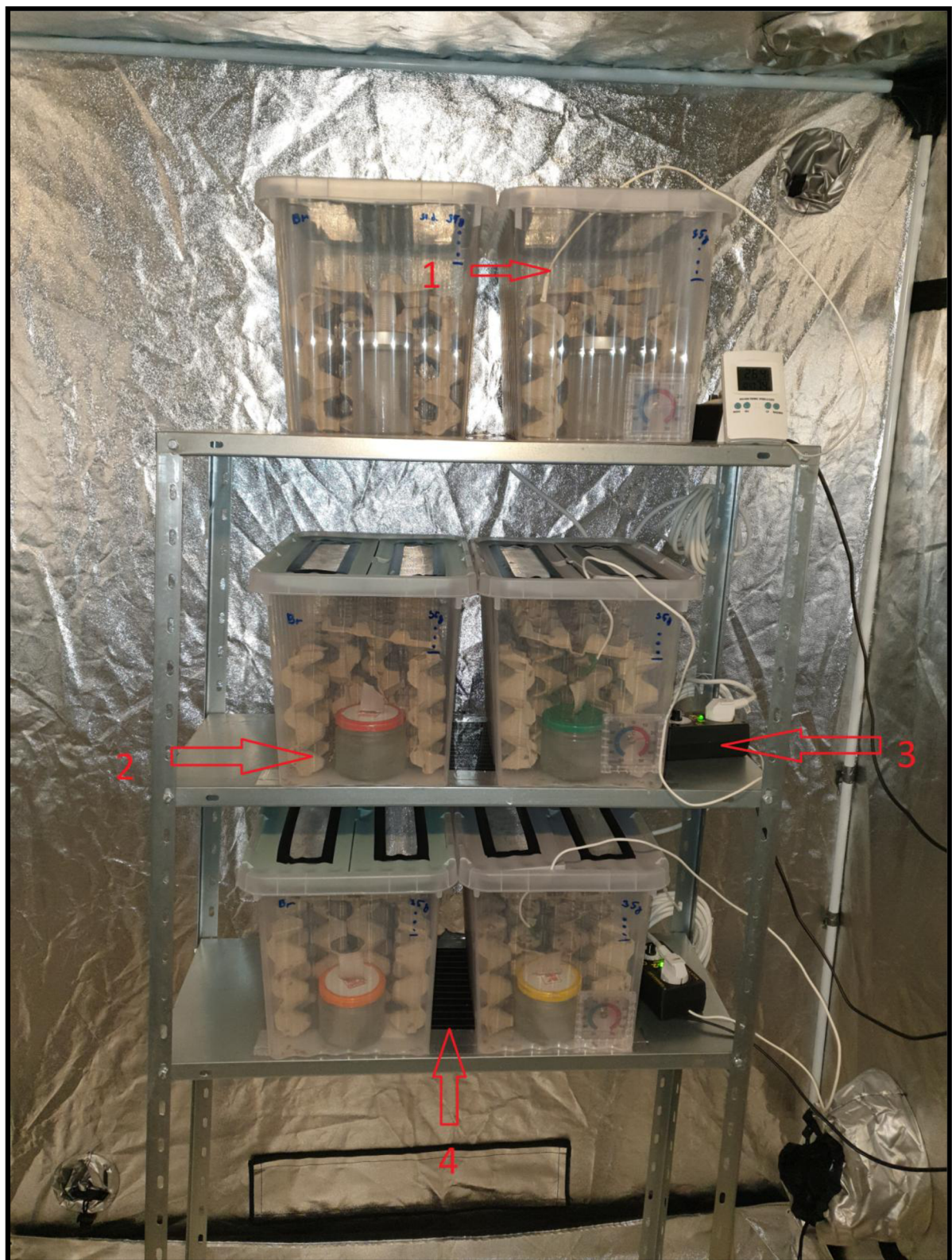
Osvětlení bylo zajištěno 8,5W LED žárovkou, která se automaticky spínala na dobu 12 hodin.

Do stanu byl umístěn tři policový nerezový stojan, na který byly rozmístěny boxy obou skupin cvrčků, celkový pohled na chovné zařízení je na obr. 7. Umístění tří boxů každé skupiny nad sebe, zajišťovalo shodné tepelné podmínky pro obě zkoumané skupiny.

#### **4.2.2 Chovné boxy**

Jako chovné nádoby byly zvoleny plastové boxy o rozměru 40x26x26 cm. Do plastového víka boxu byly vyříznuty dva otvory, které zajišťovaly ventilaci, cirkulaci vzduchu. Cirkulace vzduchu snižovala vlhkost v boxu, a tím zabraňovala vzniku plísní. Otvory ve víku byly zajištěny jemnou ocelovou sítí, přilepenou tavnou lepící pistolí, proti úniku cvrčků. Materiál sítě byl zvolen po zkušenostech s plastovou sítí, kterou cvrčci snadno prokousali.

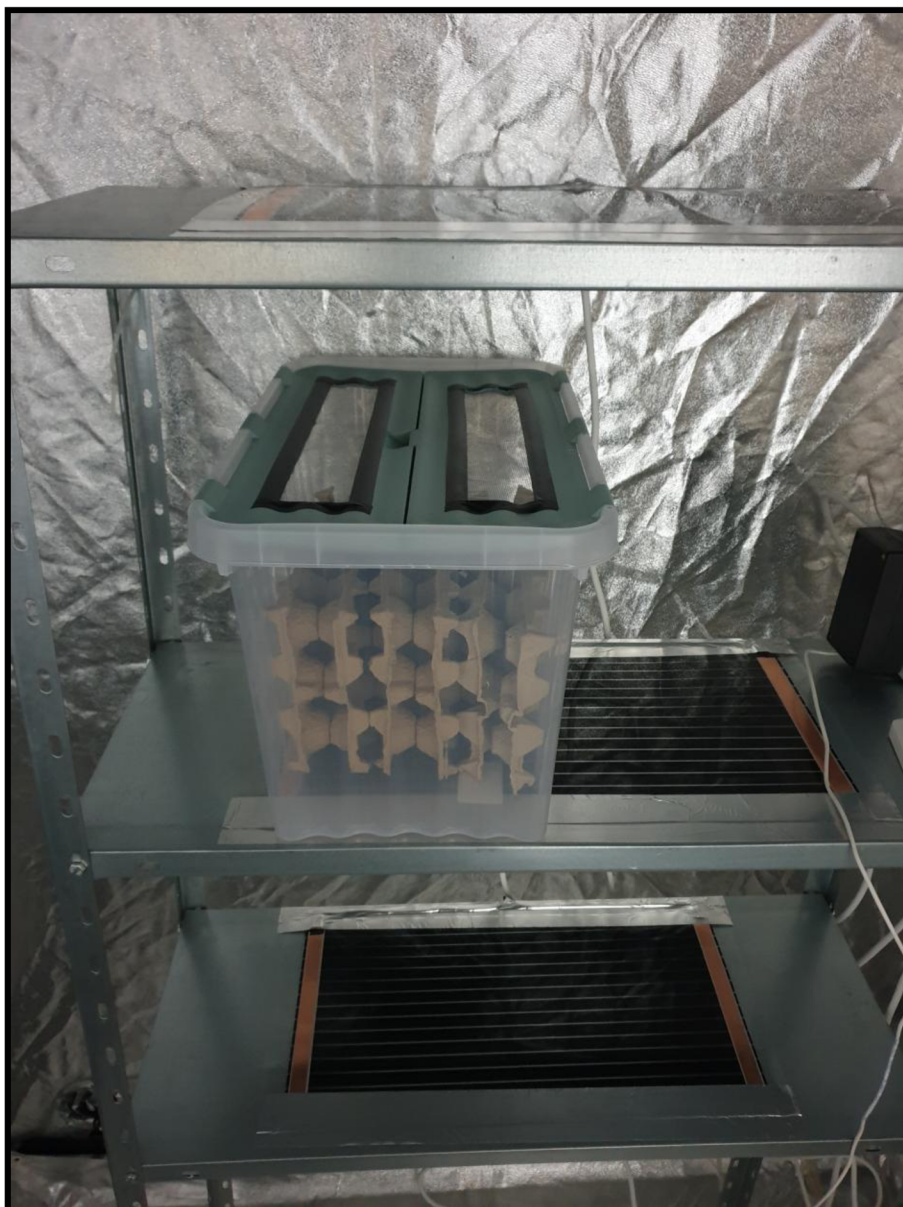
Každý box byl následně vybaven obaly na vejce z nasávané kartonáže. Obaly byly položeny vertikálně tak, aby trus mohl dopadnout na dno nádoby. Vlhký trus byl na dně boxu vysušen topnou fólií, což snižovalo celkovou vlhkost v boxu a také usnadňovalo úklid. Chovné boxy byly umístěny na nerezový policový stojan, který zajišťoval vodivostí materiálu stejnoměrný rozvod tepla. Do jednoho boxu v každé polici bylo zasunuto čidlo termostatu viz obr. 7 (1), díky jemuž bylo možné kontrolovat teplotu. Termostat viz obr. 7 (3).



Obrázek 7: Pohled na chovné zařízení (Foto: Autor)

### 4.2.3 Topná fólie

K výhřevu chovných boxů byla použita hliníková topná fólie, tato fólie je vidět na obr. č. 7 (4) a na obr. č. 8. Výhodou této fólie je to, že je prodávána v metráži a potřebný rozměr lze odstříhnout. Pomocí kleští se ke každému připravenému dílu upevní na měděnou destičku svorka s napájecím kabelem se zástrčkou. Ke stojanu byla fólie upevněna hliníkovou páskou, která taktéž zajišťovala dobrou vodivost tepla. Další dobrou vlastností fólie je její snadná údržba. Povrch fólie je hladký, snadno omyvatelný.



Obrázek 8: Topná fólie (Foto: Autor)



#### 4.2.4 Napáječky

Jako nejvhodnější bylo využít zavařovací sklenice s víkem viz obr. č. 7 (2) a obr. č. 9. Sklenici bylo nutno opískovat, aby se zdrsnil povrch, a to umožnilo snazší pohyb cvrčků po celém povrchu. Do víka napáječky byl vytvořen otvor, kterým byl následně vyveden knot, který se běžně používá k závlaze rostlin. Díky vzlínavosti vody se mohli cvrčci snadno napájet. Převařená voda byla podávána ad libitum. Pravidelně bylo nutné vodu měnit, doplňovat a napáječky sterilizovat horkou vodou. Stejným způsobem, za použití horké vody, byl v čistotě udržován knot napáječky, který byl znečištěn trusem.



Obrázek 9: Napáječka (Foto: Autor)

## 4.2.5 Krmné směsi

### 4.2.5.1 Br1

Krmná směs Br1 se běžně využívá pro výkrm brojlerových kuřat do stáří 3 týdnů. Směs svým složením, viz tabulka č. 4, 5, plně zajišťuje výživu této kategorie drůbeže. Pro vysoké množství bílkovin byla vybrána jako vhodná pro výživu cvrčků. Například v Thajsku se pro výkrm cvrčků využívá obdobná směs pro drůbež, s vysokým obsahem bílkovin až do 21 % (Hanboonsong et al. 2013).

Také je důležité, vzhledem k podávání jen suché směsi, zajistit dostatek vody.

**Tabulka 3: Složení krmné směsi (Zdroj: Skřivanová & Čermák 2017)**

Komponet	%
Sójový extrahovaný šrot	36
kukuřice	27,75
pšenice	29
Řepkový olej	3
Chlorid sodný	0,3
Dihydrogenfosforečnan vápenatý	1,3
Vápenec mletý	1,7
Aminovitan	0,5
L-Lys HCl	0,13
DL-methionin	0,29
L-threonin	0,03

**Tabulka 4: Analytické složení Br1 (Zdroj: Sehnoutek © 2023)**

Hrubý protein	22
Hrubá vláknina	3,6
Hrubé oleje a tuky	3
Hrubý popel	5

### 4.2.5.2 Pšeničné otruby

Pšenice spolu s kukuřicí a rýží tvoří asi 90 % světové produkce obilovin. Během procesu mletí pšenice zůstávají otruby. Kromě nich jsou dalším produktem mletí i jiné cenné části, jako jsou pšeničné klíčky a části endospermu. Hmotnostní poměr otrub k mleté pšenici je asi 25 %. Otruby se především používají jako krmivo (Prückler et al. 2014). Analytické složení viz tabulka č. 5.

**Tabulka 5: Analytické složení pšeničných otrub (Zdroj: Prückler et al. 2014)**

<b>Obsah</b>	<b>%</b>
Voda	12
Hrubý protein	13-18
Hrubý tuk	3,5
Sacharidy	56

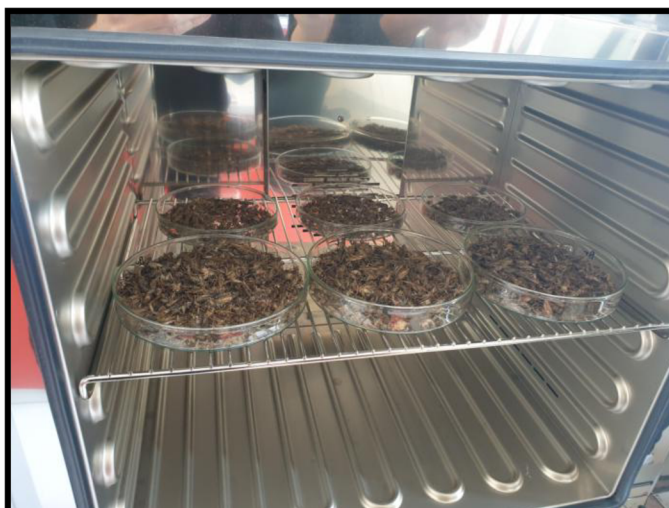
## **4.3 Pístroje**

### **4.3.1 Horkovzdušný sterilizátor**

Horkovzdušný sterilizátor bylo nutné použít pro sušení vzorku. Do označených Petriho misek byli vloženi zmražením usmrcení cvrčci. Misky byly následně umístěny do sterilizátoru, viz obr. č. 10.

Sterilizátor pracuje na principu přirozeného průchodu vzduchu (konvekce). Cirkulaci vzduchu zajišťuje ventilátor, umístěný na zadní stěně vnitřního prostoru. Ten vytváří větší průtok vzduchu a intenzivnější horizontální nucenou cirkulaci vzduchu, než by umožnila přirozená konvekce. U tohoto přístroje se ventilátorem přiváděný vzduch ohřívá v předeřívací komoře. Předeřívá vzduch vstupuje přes ventilační štěrby ve vnitřní boční stěně do vnitřního prostoru. Pomocí vzduchové klapky na zadní stěně přístroje je řízeno množství přiváděného a odváděného vzduchu (Mimmert 2019).

Pro dostatečné vysušení vzorku bylo nastaveno zahřívání na 60 °C.



**Obrázek 10: Sušení vzorků (Foto: Autor)**

### 4.3.2 Automatický extrakční přístroj SER158

Tento přístroj, viz obr. č. 11, pracuje na bázi kvantitativního a kvalitativního stanovení extrahovatelných látek podle metody Randall. Látky jsou analyzovány 5x rychleji než tradiční metodou Soxhlet. Proces extrakce z pevné látky na kapalinu odstraňuje rozpustné složky z pevných látek pomocí kapalného rozpouštědla v 5 krocích. Přístroj pracuje v souladu s mezinárodními standardy jako AOAC, ISO, EPA, APHA, UNI.

Bezpečné a výkonné vytápění v kombinaci s pokročilým softwarem a bezpečnostními procesy zaručují reprodukovatelné extrakční procesy.

SER 158 je navržen tak, aby pracoval bez dozoru 24 hodin denně, 7 dní v týdnu s technologiemi Load&Go, což minimalizuje nutné zásahy operátora.

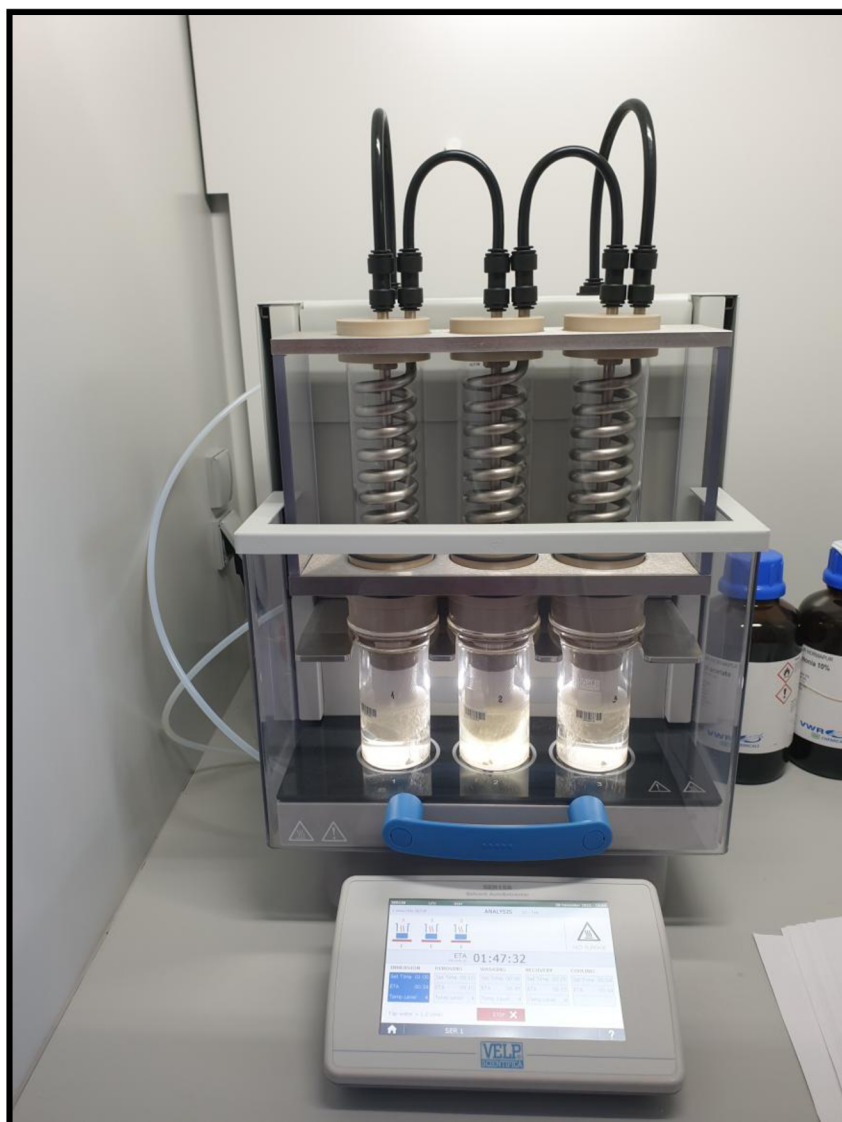
Bezpečná technologie SER 158 SolventXpress™ umožňuje chytré dávkování rozpouštědla pro přidání rozpouštědla, což zaručuje minimální expozici rozpouštědlům a zajišťuje bezpečnost obsluhy.

Kondenzované rozpouštědlo se na konci analýzy shromažďuje v chlazené sběrné nádrži v zadní části přístroje a výstup rozpouštědla je zcela automatický jediným kliknutím na ControlPad™.SER 158.

Přístroj je hermeticky uzavřen. Pokročilé senzory neustále sledují proces extrakce a zajišťují bezpečnou analýzu během všech kroků.

Technologie SafeEnd™ SER 158 zabraňuje spálení extrahované hmoty automatickým zvednutím šálek po fázi vyjmutí.

Titanové kondenzátory VELP zaručují obnovu více než 90 % rozpouštědla, které se shromažďuje v chlazené regenerační nádrži. Pro většinu aplikací extrakce tuku lze regenerované rozpouštědlo znovu použít, čímž se sníží provozní náklady. Snížení nákladů je také dosaženo minimální spotřebou chladicí vody (od 1 l/min) a zapínáním/vypínáním nezávislých topení (Velp © 2020-2023).



Obrázek 11: Automatický extrakční přístroj SER158 (Foto: Autor)

#### 4.3.3 Laboratorní vybavení

Analytická váha s přesností na 0,001 g

GC/MSD Systém Agilent 7890B/5977A

Injekční stříkačka

Pipety

Laboratorní nádobka (15 ml)

Laboratorní lžička

Odměrný válec

Vialka (2 ml)

#### 4.3.4 Software

MassHunter

IBM SPSS Statistics

Microsoft Word

Microsoft Excel

#### 4.3.5 Chemikálie

Toluen ( $C_7H_8$ ) (Sigma-Aldrich)

Methoxid sodný ( $CH_3NaO$ ) (Sigma-Aldrich)

Kyselina octová ( $CH_3COOH$ ) (Sigma-Aldrich)

n-Hexan ( $C_6H_{14}$ ) (Sigma-Aldrich)

Standardní směs mastné kyseliny - FAME Mix 37 (Sigma-Aldrich)

### 4.4 Výzkum mastných kyselin

Cvrčci byli usmrčeni zmražením. V nízkých teplotách cvrčci začínají hibernovat, po delší době dochází k usmrčení. Tento způsob usmrčení je humánní. Na přípravu sušeného vzorku byl využit sterilizátor. Příklad pracuje na principu cirkulujícího horkého vzduchu. V tomto případě byl vzorek zahřát na 60 °C. Vždy po 30 minutách došlo k vážení vzorku. Hmotnost u první skupiny, která byla krmena směsí Br, se ustálila po 9 hodinách. U druhého vzorku, který byl krmený pšeničnými otrubami, doba sušení trvala 7 hodin. Třetí vzorek, dospělí cvrčci zakoupení v teraristické prodejně, krmeni neznámou směsí, byli sušeni 8 hodin.

Usušené vzorky byly následně rozemlety v třecí misce na jemný prášek.

Do 9 propustných celulózových patron bylo od každého vzorku naváženo 7 g dehydratovaného materiálu. Patrony byly ukotveny pomocí držáku extrakčních nástavců v extrakční nádobce, která obsahovala 100 ml hexanu s dvěma varnými kamínky. Varný kamínek je vyroben z porézního materiálu a jeho vložení do hexanu zabraňuje tzv. utajenému varu, tj. přehřátí kapaliny nad bod varu a následnému explozivnímu varu. Následně takto připravené vzorky byly umístěny do automatického extrakčního přístroje. Pro zpracování vzorku byl zvolen program s referenčním číslem AOAC 2003.06. Celý program trval 154 minut. Po ukončení programu byly pohárky vyjmuty z přístroje. Zbýlý hexan do druhého dne vypřchal.

Výsledkem byl cvrččí tuk připravený k dalšímu laboratornímu zpracování.

#### 4.4.1 Transesterifikace

Dalším krokem k získání dat z tuku byla transesterifikace. Do 15 ml laboratorní nádoby bylo naváženo, za pomoci laboratorní lžičky, 100 mg tuku. Pipetou bylo do nádobek přidáno 0,5 ml toluenu na zředění. Přidány 4 ml methoxidu sodného. V tuto chvíli započala transterifikační reakce. Mastné kyseliny se oddělují od triacylglycerolů za vzniku glycerinu, mýdla a FAME (fatty acid methyl ester). Obsah lahvičky byl protřepán. Po uplynutí 15 minut, kdy byl vzorek ponechán v klidu, byla nádobka otevřena a bylo přidáno 5 ml 5% kyseliny octové pomocí odměrného válce. Tento krok je velice důležitý, protože dojde k zastavení transesterifikační reakce. Následně bylo přidáno 5 ml n-hexanu, do kterého následně byly vytřepány methylestery mastných kyselin. Po několika minutách se v nádobce se vytvořili 3 vrstvy, jak je patrné na obr. č. 12. Glycerol se usadil na dně nádoby. V další vrstvě zůstala zmýdelněná část vzorku. Poslední, horní vrstvu tvořilo FAME v n-hexanu. Z horní vrstvy bylo pomocí skleněné stříkačky odebráno 0,5 ml a umístěno do 2 ml vialky. Vialka byla uzavřena víčkem a vložena do autosampleru plynového chromatografu.



Obrázek 12: Transesterifikace (Foto: Autor)

#### 4.4.2 GC-MS pro mastné kyseliny

Následná analýza GC-MS byla provedena na systému Agilent 7890B s hmotnostním detektorem 5977A MSD (Agilent Technologies Santa Clara, CA, USA). Tento chromatograf byl vybavený kolonou HP-5 (5 %-fenyl-methyl-siloxan) o rozměrech 30 m délky, 0,25 mm vnitřního průměru a tloušťkou filmu 0,25  $\mu\text{m}$ . Jako nosný plyn bylo použito helium s průtokem 1 ml/min. Teplotní program pro mastné kyseliny byl 70 °C (2 min) až 280 °C při 10 °C/min, konečná teplota byla udržována po dobu 10 min. Tepelný program byl nastaven na 280 °C. Průběh chromatografie byl nastaven na 33 minut. Teplota MSD transfer line byla udržována na 230 °C s elektronovou energií hmotnostního detektoru - 70 eV. Data byla zpracována prostřednictvím softwaru MassHunter Workstation Software Qualitative Analysis Version B.07.00. Plocha píků byla získána z elektronické integrace. Identifikace FAME byla založena na porovnání hmotnostních spekter detekovaných látek s hmotnostními spektry knihovny NIST/EPA/NIH verze 2.2. Přesnost identifikace byla potvrzena srovnáním

naměřených Retenčních indexů s databází Národního institutu standardů a technologií (NIST, USA).

#### **4.4.3 Analýza dat**

Všechna data byla seříděna a uložena v aplikaci Microsoft Excel. Data byla analyzována pomocí programu Statistica a Microsoft Excel. Byly vypočteny průměrné hodnoty plošných vrcholů každé mastné kyseliny. Podle střední plochy vrcholů bylo vypočteno procentuální zastoupení každého z FAME ve vzorku. Byl použit dvouvýběrový t-test. Statistická významnost byla deklarována na  $p < 0,05$ . Lze předpokládat normalitu dat.

#### **4.5 Extrakce SPME**

Metoda mikroextrakce tuhou fází byla využita k analýze těkavých látek.

Do vialky bylo naváženo 0,5 g rozemletého suchého materiálu ze cvrčků. Uzavřená vialka byla následně zahřáta na elektrické plotýnce na 50 °C. Po 5 minutách bylo sterilní preparační jehlou proděravěno septum pro jednodušší vstup jehly s vláknem SPME. Dále bylo z jehly vysunuto vlákno pro absorpci cílových analytů. Celé zařízení bylo upevněno v laboratorním stojanu, viz obr. č. 13.

Od vysunutí vlákna po ukončení absorpce proces trval 15 minut. Jehla s vláknem byla umístěna do plynového chromatografu.





Obrázek 13: SPME (Foto: Autor)

#### 4.5.1 GC-MS analýza pro SPME

Vlákno je nutné každý den před použitím znovu upravit tzv. slepým měřením, které je prováděno celkem jednu hodinu při teplotě 250 °C. Analýza byla provedena na GC-MS na systému Agilent 7890B s hmotnostním detektorem 5977A MSD (Agilent Technologies Santa Clara, CA, USA). Tento chromatograf byl vybavený kolonou HP-5 (5 %-fenyl-methyl-siloxan) o rozměrech 30 m délky, 0,25 mm vnitřního průměru a tloušťkou filmu 0,25  $\mu\text{m}$ . Jako nosný plyn bylo použito helium s průtokem 1 ml/min. Teplotní program pro SPME byl 45 °C (5 min) do 200 °C při 5 °C/min a nakonec 10 °C/min do 250 °C. Průběh chromatografie byl nastaven na 32 minut. Teplota MSD transfer line byla udržována na 230 °C s elektronovou energií hmotnostního detektoru – 70 eV. Data byla zpracována prostřednictvím softwaru MassHunter Workstation Software Qualitative Analysis B.07.00. Plocha píků byla získána z elektronické integrace. Identifikace látek byla založena na porovnání hmotnostních spekter detekovaných látek s hmotnostními spektry knihovny NIST/EPA/NIH verze 2.2. Přesnost identifikace byla potvrzena srovnáním naměřených Retenčních indexů s databází Národního institutu standardů a technologií (NIST, USA).

#### 4.5.2 Analýza dat

Všechna data byla seříděna, uložena a analyzována v aplikaci Microsoft Excel. Byly vypočteny průměrné hodnoty plošných vrcholů každé těkavé látky. Podle střední plochy vrcholů bylo vypočteno procentuální zastoupení každé těkavé látky ve vzorku.

## 5 Výsledky

Posuzované vzorky, jak skupiny Br, tak skupiny O, byly chovány ve třech boxech (dále označovány Br1, Br2, Br3 a O1, O2, O3). Každý box byl vážen a posuzován na obsah tuku, mastných kyselin a těkavé látky, zvláště. Třetí testovaná skupina (T) byla zakoupena v dospělém stádiu. Sloužila pouze pro posouzení mastných kyselin a těkavých látek.

### 5.1 Rychlost produkce cvrčků

První testovaná skupina (Br), ve velikosti cvrčků do 0,5 cm, která byla krmena směsí pro brojlerová kuřata Br1, pohlavní dospělosti dosáhla po 47 dnech. Násada měla počáteční hmotnost 35 g. Finální hmotnost v jednotlivých boxech byla 113 g, 118 g a 104 g.

Druhá testovaná skupina (O), ve velikosti cvrčků do 0,5 cm, byla krmena pšeničnými otrubami. Pohlavní dospělosti bylo dosaženo po 53 dnech. Násada cvrčků měla počáteční hmotnost 35 g. Konečná hmotnost v jednotlivých boxech byla 45 g, 47 g a 50 g.

Dvouvýběrovým t-testem byl zjištěn statisticky významný rozdíl ( $p < 0,05$ ).

### 5.2 Spotřeba krmiva

Spotřeba krmiva narůstala v závislosti na zvyšující se hmotnosti vzorku. Cvrčci byli krmeni jednou za dva dny. Krmivo bylo podáváno v potřebném množství, pokud byly patrné zbytky krmiva, podalo se krmiva méně. Každý box byl krmen stejným množstvím.

U skupiny Br bylo každým boxem spotřebováno 635 g krmiva. Skupina O spotřebovala 435 g na box (viz tabulka č. 6).

Krmná směs pro brojlerová kuřata (Br) se pohybuje v cenové relaci 210 Kč za 10 kg směsi (21 Kč/kg) (viz tabulka č. 7). U skupiny Br 1-3 vyšlo po finanční stránce krmivo pro jeden box na 13,34 Kč za celé období růstu, které trvalo 47 dní, do dospělosti cvrčků.

Cena pšeničných otrub je přibližně 355 Kč za 25 kg (14,2 Kč/kg). U skupiny O 1-3 vyšlo po finanční stránce krmivo pro jeden box na 6,18 Kč za celé období růstu (viz tabulka č. 7), které trvalo 53 dní, do dospělosti cvrčků.

**Tabulka 6: Spotřeba krmiva**

	<b>Br</b>	<b>O</b>
<b>1 kg</b>	21 Kč	14.2 Kč
<b>zkrmené množství</b>	635 g	435 g
<b>cena krmení na box</b>	13.335 Kč	6.177 Kč

### 5.3 Obsah tuků

Po usušení a rozemletí vzorků, ze skupiny Br (1-3), O (1-3) a T, bylo odebráno z každé skupiny 7 g vzorku. Po extrakci n-hexanem byl získán tuk. Množství tuku jednotlivých skupin je uvedeno v tabulce č. 7. Pro statickou analýzu byl použit dvouvýběrový t-test. Byl zjištěn statisticky významný rozdíl ( $p < 0,05$ ). Skupina T měla jen jedno pozorování, a proto byla ze statistické analýzy vyřazena.

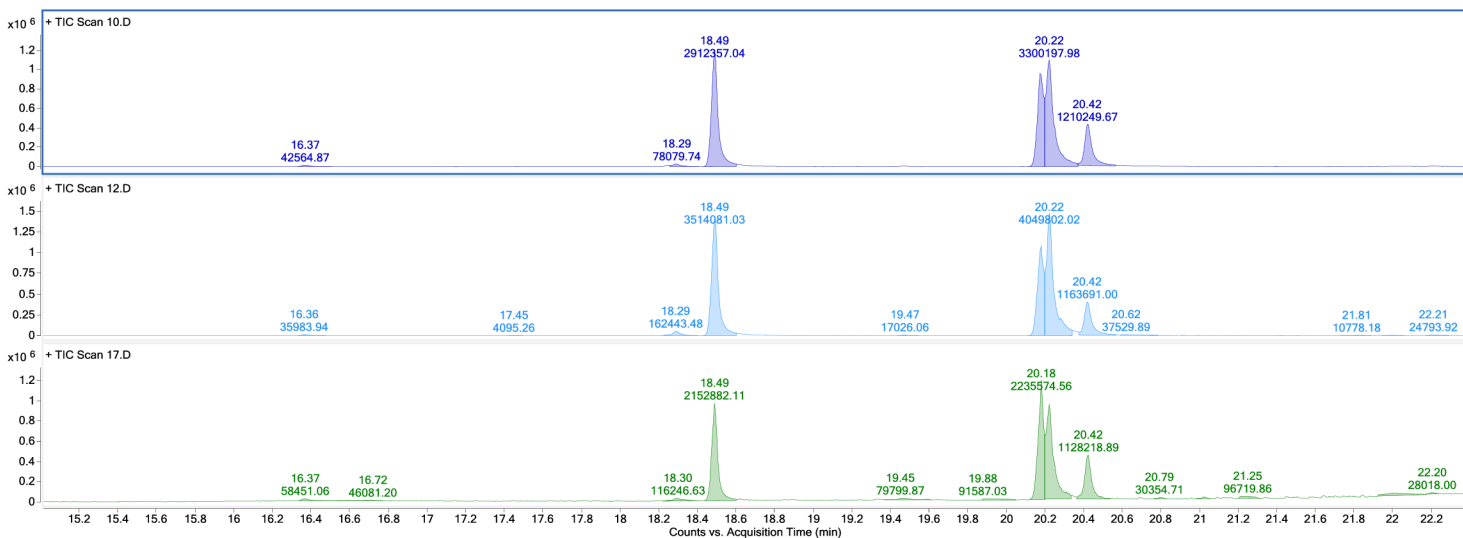
**Tabulka 7: Množství tuku u všech skupin**

Skupina	tuk v %
Br 1	11.93
Br 2	11.21
Br 3	11.89
O 1	14.57
O2	17.13
O3	18.13
T	10.33

### 5.4 Zastoupení mastných kyselin ve sledovaných vzorcích

Posuzovány byly skupina Br (1-3), O (1-3) a sk. T. Získaný vzorek tuku ze skupiny T byl rozdělen do 3 dílčích kontrolních vzorků.

Složení mastných kyselin ve všech 9 vzorcích tuků z cvrčků bylo stanoveno po transesterifikaci na odpovídajících methylesterech (FAME) pomocí GC-MS, výstup z GC-MS viz obr. č. 14. Všechny analyzované mastné kyseliny pocházejí z TAG. Celkově bylo ve všech vzorcích detekováno 8 různých typů mastných kyselin. Ve všech skupinách byly zjištěny kyselina myristová, kyselina palmitoolejová, kyselina palmitová, kyselina margarová, kyselina linolová, kyselina olejová, kyselina stearová, kyselina arachidová. Množství mastných kyselin bylo u jednotlivých skupin různé, viz tabulka č. 8, 9, 10. Porovnání průměrů mastných kyselin ze všech třech vzorků viz tabulka č. 11. Zastoupení nasycených, mononenasycených a polynenasycených kyselin v jednotlivých skupinách uvedeno v tabulce č. 12. V grafu č. 3, 4, 5 je zobrazeno zastoupení mastných kyselin pro každou sledovanou skupinu, graf č. 6 a 7 porovnává mastné kyseliny mezi skupinami.



Obrázek 14: Chromatogramy methyl esterů mastných kyselin ve vzorcích cvrčků, v pořadí Br, O, T

Tabulka 8: Procentuální zastoupení mastných kyselin u skupiny krmené směsí pro brojlerová kuřata (Br)

Název MK	Název FAME	1 (%)	2 (%)	3 (%)
Kyselina myristová	Methyl tetradecanoate	1,23	0,42	0,84
Kyselina palmitoolejová	9-Hexadecenoic acid, methyl ester	1,45	0,79	0,35
Kyselina palmitová	Hexadecanoic acid, methyl ester	51,92	28,51	51,90
Kyselina margarová	Heptadecanoic acid, methyl ester	0,68	0,18	0,12
Kyselina linolová	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester	11,91	21,21	15,34
Kyselina olejová	9-Octadecenoic acid, methyl ester	16,89	38,63	13,37
Kyselina stearová	Methyl stearate	15,93	10,06	18,06
Kyselina arachidová	Eicosanoic acid, methyl ester		0,20	0,02

Tabulka 9: Procentuální zastoupení mastných kyselin u skupiny krmené pšeničnými otrubami (O)

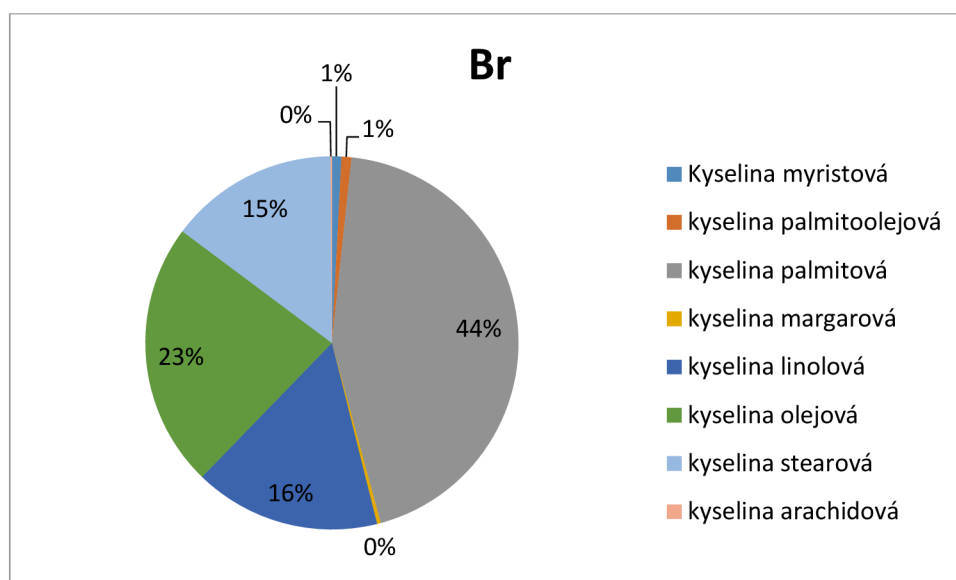
Název MK	Název FAME	1 (%)	2 (%)	3 (%)
Kyselina myristová	Methyl tetradecanoate	0,07	0,32	0,33
Kyselina palmitoolejová	9-Hexadecenoic acid, methyl ester		1,43	1,01
Kyselina palmitová	Hexadecanoic acid, methyl ester	29,24	30,92	31,37
Kyselina margarová	Heptadecanoic acid, methyl ester	1,84	0,15	0,40
Kyselina linolová	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester	12,34	21,10	17,14
Kyselina olejová	9-Octadecenoic acid, methyl ester	49,58	35,63	42,41
Kyselina stearová	Methyl stearate	6,92	10,24	7,14
Kyselina arachidová	Eicosanoic acid, methyl ester		0,22	0,19

Tabulka 10: Procentuální zastoupení mastných kyselin kontrolní skupiny T

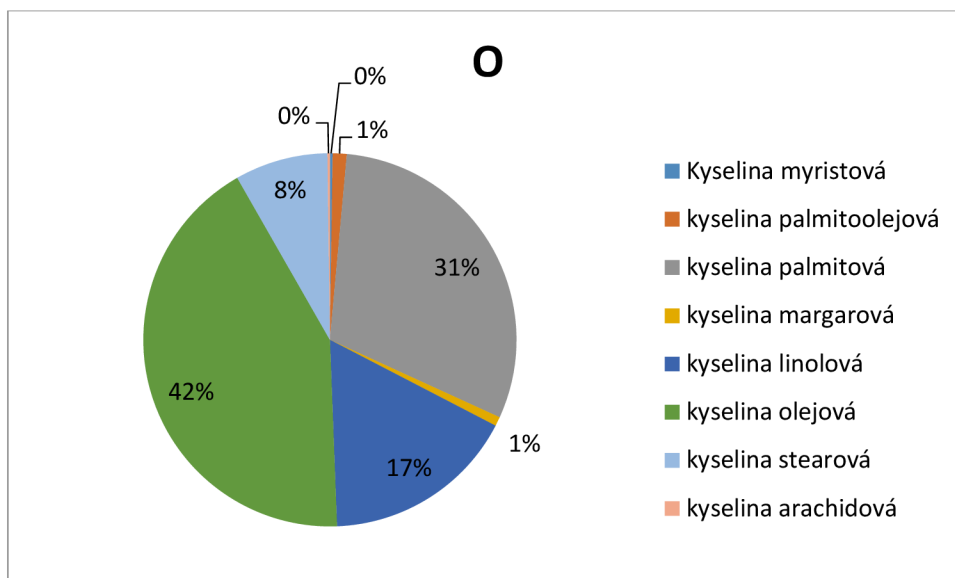
Název MK	Název FAME	1 (%)	2 (%)	3 (%)
Kyselina myristová	Methyl tetradecanoate	0,38	0,34	0,69
Kyselina palmitoolejová	9-Hexadecenoic acid, methyl ester	0,81	1,26	1,37
Kyselina palmitová	Hexadecanoic acid, methyl ester	23,17	36,22	25,45
Kyselina margarová	Heptadecanoic acid, methyl ester	0,26	1,27	0,94
Kyselina linolová	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester	26,95	24,58	26,43
Kyselina olejová	9-Octadecenoic acid, methyl ester	37,64	27,92	31,44
Kyselina stearová	Methyl stearate	10,59	8,36	13,34
Kyselina arachidová	Eicosanoic acid, methyl ester	0,19	0,04	0,33

Tabulka 11: Průměrné hodnoty mastných kyselin ze všech skupin

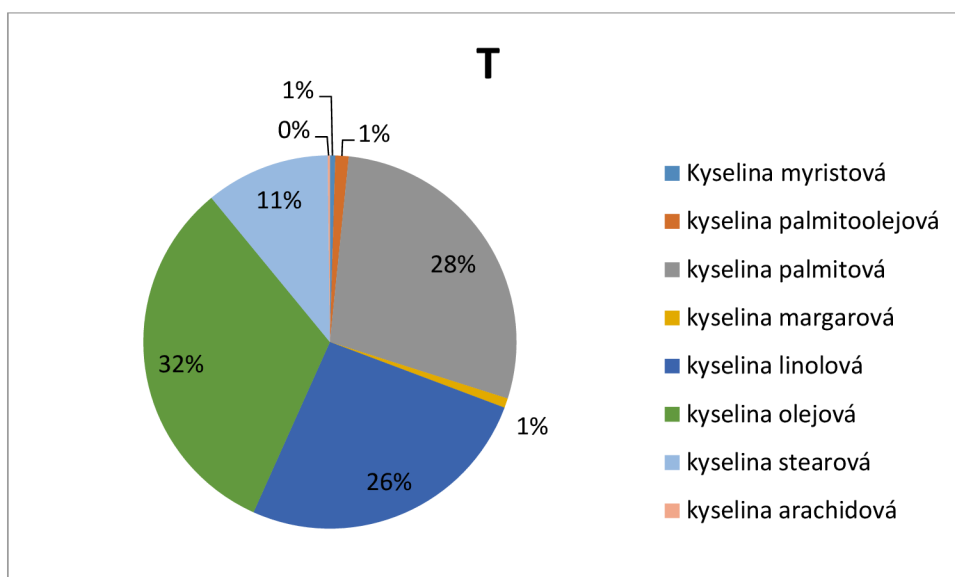
Název MK	Název FAME	Br ø (%)	O ø (%)	T ø (%)
Kyselina myristová	Methyl tetradecanoate	0,83	0,24	0,47
Kyselina palmitoolejová	9-Hexadecenoic acid, methyl ester	0,86	1,22	1,15
Kyselina palmitová	Hexadecanoic acid, methyl ester	44,11	30,51	28,28
Kyselina margarová	Heptadecanoic acid, methyl ester	0,33	0,80	0,83
Kyselina linolová	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester	16,15	16,86	25,98
Kyselina olejová	9-Octadecenoic acid, methyl ester	22,96	42,54	32,33
Kyselina stearová	Methyl stearate	14,68	8,10	10,76
Kyselina arachidová	Eicosanoic acid, methyl ester	0,11	0,21	0,19



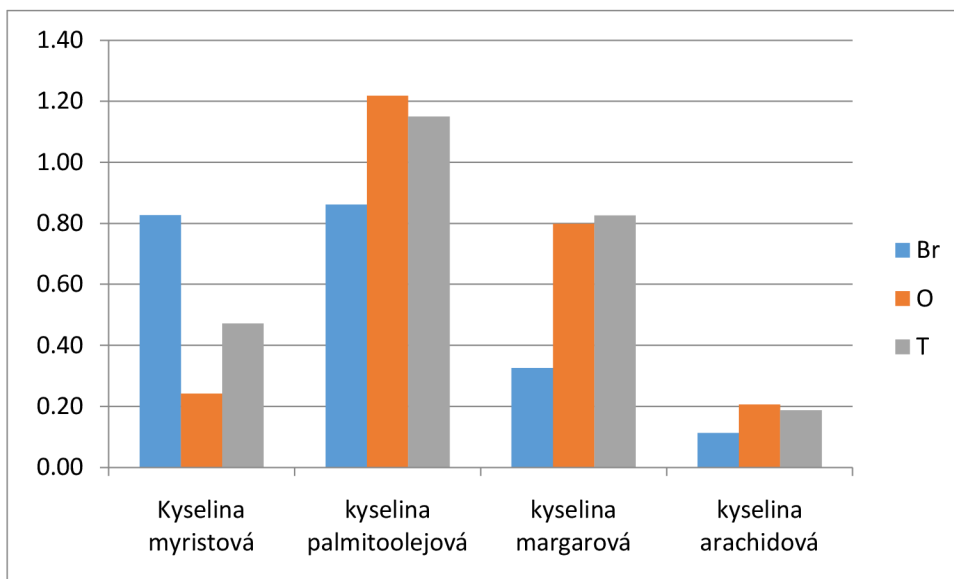
Graf 1: Zastoupení mastných kyselin u skupiny Br



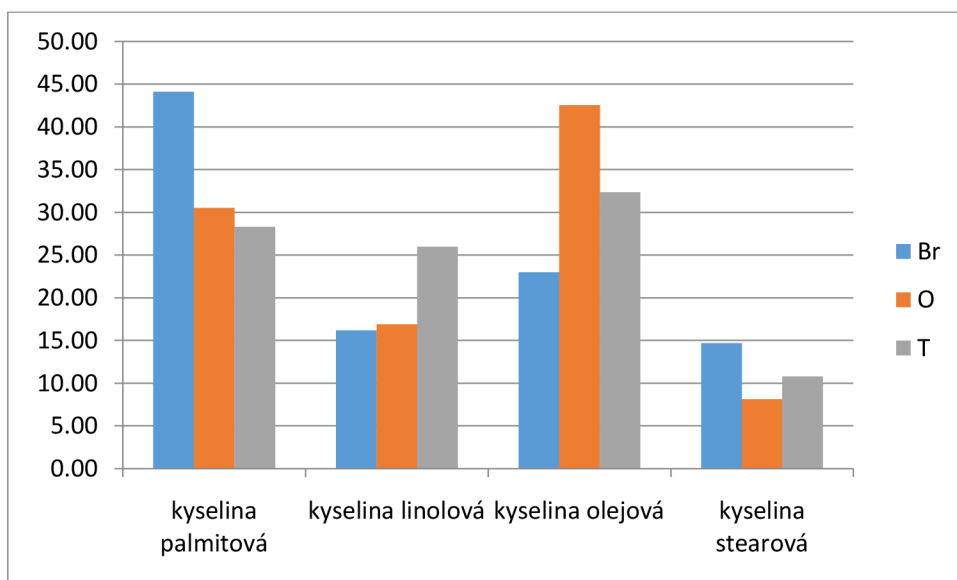
**Graf 2: Zastoupení mastných kyselin u skupiny O**



**Graf 3: Zastoupení mastných kyselin u skupiny T**



**Graf 4: Porovnání mastných kyselin mezi sledovanými skupinami**



**Graf 5: Porovnání mastných kyselin mezi sledovanými skupinami**

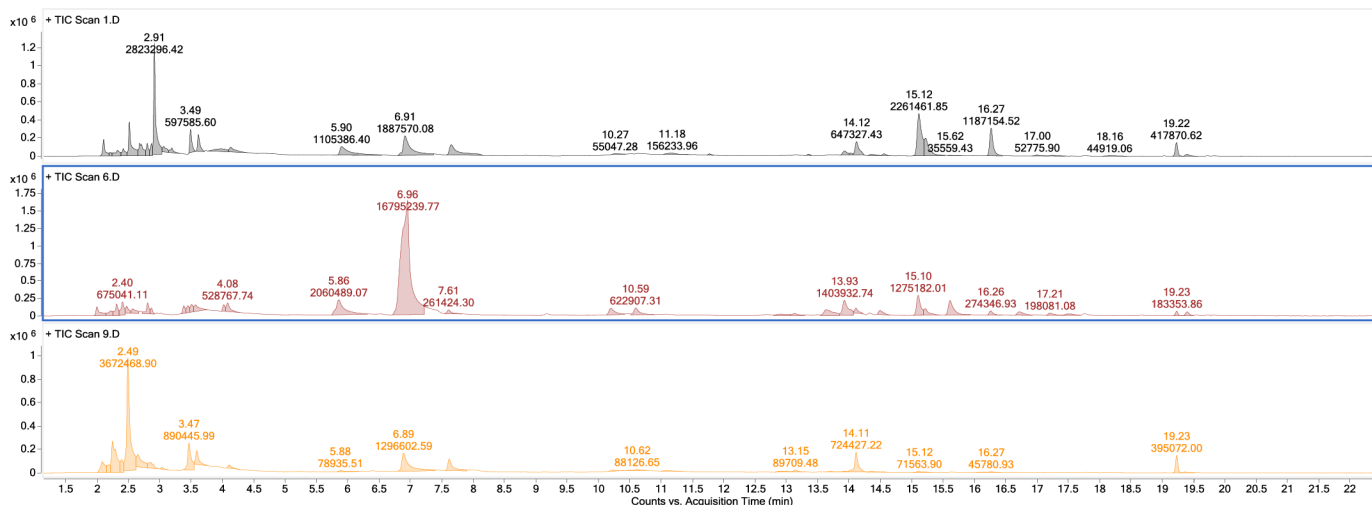


**Tabulka 12: Zastoupení mastných kyselin**

	Br (%)	O (%)	T (%)
Nasyčená mastné kyseliny	60,06	39,86	40,53
Mononenasyčené mastné kyseliny	23,83	43,76	33,48
Polynenasycené mastné kyseliny	16,15	16,86	25,98

## 5.5 SPME

Názvy sloučenin byly ponechány v angličtině, tak jak byly vygenerovány knihovnou. Anglické názvy umožňují lepší orientaci a možnost porovnání s výsledky literární rešerše. Výstup z GC-MS viz obr. č. 15. Ve vzorcích bylo nalezeno zastoupení celkem 36 těkavých látek viz tabulka č. 13. Látky, které byly nalezeny ve všech skupinách, byly hydrazinecarboxamide; dimethyl sulfide; 3-methyl- butanal; acetic acid; toluene; hexanal; 3-octanone; 2-pentyl- furan; o-cymene; 3-octen-2-one;  $\gamma$ -terpinene; 2-ethyl-3,5-dimethyl- pyrazine; nonanal. Celkem 13 těkavých látek. Identifikace látek byla založena na porovnání hmotnostních spekter detekovaných látek s hmotnostními spektry knihovny NIST/EPA/NIH verze 2.2. Přesnost identifikace byla potvrzena srovnáním naměřených Retenčních indexů s databází Národního institutu standardů a technologií (NIST, USA), viz tabulka č. 14.



**Obrázek 15: Chromatogramy těkavých látek ve vzorcích cvrčků, v pořadí Br, O, T**

Tabulka 13: Chemické složení těkavých látek ve sledovaných vzorcích cvrčka domácího

Název látky	Br ø (%)	O ø (%)	T ø (%)
Hydrazinecarboxamide	6,97	4,30	6,00
3-Amino-2-oxazolidinone		1,98	
Trimethylamine			14,09
Dimethyl sulfide	10,06	4,25	31,58
1,3-Butanediol	1,70		
O-(2-methylpropyl)-hydroxylamine	3,34		
N-methoxycarbonyloxy 1,1-dimethylethylamine		0,67	
n-Hexane	20,93	2,64	
sec-Butyl nitrite		0,62	
3-methyl- butanal	5,94	6,10	19,19
Acetic acid	2,35	1,11	1,91
Toluene	7,71	8,65	1,00
Hexanal	25,83	38,24	16,70
p-Xylene		0,06	0,42
3-Methyl- butanoic acid	1,39		2,41
2-Heptanone		1,69	
Hexanoic acid	1,00	0,07	
Heptanal		1,25	
2,6-Dimethyl- pyrazine	0,96	0,23	
α-Pinene	0,21	0,05	
1-ethyl-2-methyl- benzene		1,00	2,26
Sabinene	0,20	0,05	
3-Octanone	0,86	2,58	0,36
2-Pentyl- furan	2,07	3,30	0,36
Mesitylene		0,42	
Octanal	0,43	0,28	
Trimethyl- pyrazine			0,77
3-Carene	0,72		
o-Cymene	5,44	11,20	0,95
3-Octen-2-one	0,86	3,32	0,41
γ-Terpinene	1,29	1,60	0,65
3,5-Octadien-2-one		1,40	
2-Methyl- phenol			0,23
2-Ethyl-3,5-dimethyl- pyrazine	0,25	0,17	0,45
Nonanal	0,19	0,36	0,25
p-Menthone	0,42	0,69	

**Tabulka 14: Porovnání RI získaných z NIST databáze (RI lit.) a RI spočítané z retenčních časů alkanů (RI kalk.)**

Název látky	RI lit.	RI kalk.
Toluene	757	751
Hexanal	802	791
p-Xylene	860	868
3-Methyl- butanoic acid	873	889
2-Heptanone	964	959
Hexanoic acid	990	897
Heptanal	902	900
2,6-Dimethyl- pyrazine	915	913
$\alpha$ -Pinene	939	933
1-Ethyl-2-methyl- benzene	979	965
Sabinene	976	977
3-Octanone	985	987
2-Pentyl- furan	993	993
Mesitylene	1002	996
Octanal	1001	1005
Trimethyl- pyrazine	1005	1005
3-Carene	1013	1012
o-Cymene	1027	1028
3-Octen-2-one	1046	1043
$\gamma$ -Terpinene	1062	1063
3,5-Octadien-2-one	1100	1101
2-Methyl- phenol	1073	1077
2-Ethyl-3,5-dimethyl- Pyrazine	1081	1084
Nonanal	1102	1108
p-Menthone	1154	1160

## 6 Diskuze

První skupina cvrčků dosáhla pohlavní dospělosti po 47 dnech. Násada byla o hmotnosti 35 gramů na jeden box a při sklizni hmotnost tří boxů byla 335 g. Druhá skupina dosáhla pohlavní dospělosti až po 53 dnech. Násada byla taktéž 35 g do každého boxu, výnos ze tří boxů byl pouze 142 g. Třetí skupina (T) byla zakoupena v dospělém stádiu, pouze k porovnání hodnot s předešlými dvěma skupinami. Na nedostatečné hmotnosti druhé skupiny cvrčků, která byla krmena jen pšeničnými otrubami je patrné, jak složení krmiva může ovlivnit výnosnost i rychlost produkce. Nedostatek zdrojů potravy, nebo potravy chudé na bílkoviny může jednoznačně snížit velikost dospělých jedinců. Taktéž prodloužit vývoj a zvýšit úmrtnost, nebo způsobit poruchy reprodukce (Lyn et al. 2011). Naopak krmivo s vyšším obsahem bílkovin může kladně ovlivnit velikost cvrčků.

Bawa et al. (2020) uvádí, že náklady na krmení na kg přírůstků živé hmotnosti jsou nižší při použití krmiva s nízkým obsahem bílkovin. Avšak tato skupina měla nejnižší průměrnou hmotnost a spotřebovala výrazně větší množství krmiva. To může mít dopad na celkové náklady, protože krmivo s vysokým obsahem bílkovin je sice dražší, ale množství krmiva potřebného pro růst je menší a může vést k většímu výnosu. To znamená, že krmivo s vysokým obsahem bílkovin může být levnější než dieta s nízkým obsahem bílkovin.

Při přípravě vzorku, sušením v horkovzdušném sterilizátoru, došlo k procentuální ztrátě vody. U usušeného materiálu byla ztráta vody u Br 66,4 %, O 66,09 a T 65,9 %. Zhou et al. (2022), že v živém cvrčkoví domácím je obsah vody 69,2 %. Měření ztráty a prokázaná ztráta vlhkosti tuto studii potvrzuje.

### 6.1 Tuk

Při extrakci tuku ze skupin Br bylo ze skupiny Br 1 získáno 11.93 %; ze sk. Br 2 získáno 11.21 % a ze sk. Br 3 získáno 11.89 % tuku. Skupina O měla procentuální zastoupení tuku u O 1 - 14.57 %; O 2 - 17.13 % a O 3 - 18.13 %. Vzorek skupiny T obsahoval 10.33 % tuku. Z toho vyplývá, že průměrné množství tuku u Br bylo 11.68 %, u O 16.61 % a u T 10.33 %. V článku od Rumpold & Schlüter (2013), je uvedeno, že obsah tuku u cvrčků byl až 22.80 %. Je pravděpodobné, že jim bylo podáváno krmivo s vyšším obsahem sacharidů. Studie od Bawa et al. 2020 dokazuje, že sice bílkoviny v krmné dávce sníží obsah tuku, ale navýšení tuku lze docílit tím, že se ke krmné dávce přidá například dýně, která je bohatá na sacharidy.

Podávané otruby skupině O obsahují 56 % sacharidů. Proto výsledky testů ukázaly hodnoty obsahu tuku ve vzorku výrazně vyšší, než u skupiny Br, která byla krmena směsí pro brojlerová kuřata, bohatší na bílkoviny. Taktéž Pastell et al. (2021) uvádí, že cvrčci, kteří byli krmeni stravou s vysokým obsahem sacharidů, měli vyšší obsah tuku (25 – 33,7 g/100g) a nižší obsah bílkovin.

Výzkum provedený Bawa et al. (2020) ukázal, že tukové zásoby lze snížit zlepšením kvality bílkovin ve stravě. Tato zjištění poskytují odpověď na řešení globální podvýživy, ale i obezity a nemocí souvisejících se stravou. Znamená to, že cvrčci, kteří byli krmeni směsí s nízkým obsahem bílkovin a vysokým obsahem sacharidů mají vysokou zásobu tuku a mohou být využiti v boji s podvýživou. Naopak cvrčci, krmeni směsí s vysokým podílem bílkovin a nižším podílem sacharidů, obsahují méně tuku, a proto mohou být využiti při podpoře a léčbě diabetu 2. typu, obezity a kardiovaskulárních onemocnění.

## 6.2 Mastné kyseliny

Ve všech 9 vzorcích bylo detekováno 8 různých typů mastných kyselin. Jednalo se o kyselinu myristovou, kyselinu palmitoolejovou, kyselinu palmitovou, kyselinu margarovou, kyselinu linolovou, kyselinu olejovou, kyselinu stearovou a kyselinu arachidovou. Množství mastných kyselin bylo u jednotlivých skupin v různých hodnotách. Makkar et al. 2014 uvádí, že ve svém výzkumu byly ve vzorku testovaného na mastné kyseliny nalezeny kyselina myristová, kyselina palmitová, kyselina stearová, kyselina palmitoolejová, kyselina olejová, kyselina linolová a kyselina linolenová.

Výsledky, vyplývající z této práce, se ve většině detekovaných mastných kyselin shodují. Touto prací byla nalezena, v zanedbatelném množství, navíc kyselina margarová (pod 1 %) a kyselina arachidová (pod 0,3 %). Ve výsledcích studie Makkar et al. 2014 se objevuje navíc v množství 1.2 % kyselina linolenová, která prací prokázána nebyla.

Studii, kterou uskutečnili Pastell et al. (2021) bylo zjištěno, že jimi zjištěný profil mastných kyselin měl hodnoty 40 % nasycených mastných kyselin, 31 % mononenasycených mastných kyselin (MUFA) a 27 % polynenasycených mastných kyselin (PUFA).

Touto prací byly prokázány hodnoty pro skupinu Br 60,06 %; O 39,86 %; T 40,53 % – nasycené mastné kyseliny, Br 23,83 %; O 43,76 %; T 33,48 % – mononenasycené mastné kyseliny, Br 16,15 %; O 16,86 %; T 25,98 % – polynenasycených mastných kyselin. Výsledky předešlé studie (Pastell et al. 2021) nejvíce odpovídají skupině T, u které není známé složení krmné dávky. Opět je potvrzeno, že složení krmiva má významný vliv na složení a množství mastných kyselin.

## 6.3 Těkavé látky

Ve vzorcích bylo nalezeno zastoupení celkem 36 těkavých látek. Látky, které se opakovaly ve všech skupinách, byly hydrazinecarboxamide; dimethyl sulfide; butanal, 3-methyl-; acetic acid; toluene; hexanal; 2-pentyl- furan; o-cymene;  $\gamma$ -terpinene; pyrazine, 2-ethyl-3,5-dimethyl-; nonanal. Celkem se opakovalo 13 těkavých látek.

Obecně výskyt těkavých látek může ovlivnit vůni a chuť pokrmu z jedlého hmyzu. Látky, které se vyskytují ve vzorcích zkoumaných touto prací, mohou pokrm ovlivnit kladně i negativně.

Ve studii od Santaescolastica et al. (2022) uvádí, že například 1-octen-3-ol se vyznačuje pachem zemitým, rybím, tučným, plísňovým. Dále octanal – pach citrusový, tučný, houbový, plesnivý, pach kyseliny hexanové je označován jako zpocení, sýrový, aroma kyseliny octové je známo jako kyselé, ostré, štiplavé. Podle novější studie Santaescolastica et al. (2023) má dimethyl sulfid cibulový pach a pach vařeného zelí.

Ne všechny těkavé látky by ovlivnily chuť pokrmu negativně. Podle Santaescolastica et al. (2022) například hexanal má vůni jablkovou, čerstvou, ovocnou a nonanal vůni citrusovou. Podle Santaescolastica et al. (2023) 3-methylbutanal má vůni mandlovou, čokoládovou, 3-octen-2-one vůni růží a 3,5-Octadien-2-one bylinné aroma.

Způsob skladování má patrně vliv na obsah a druh těkavých látek. Je možné, že některé těkavé látky mohly být ve vzorcích přítomny proto, že převoz zmražených cvrčků vzhledem k logistickým možnostem, trval několik hodin.

Studie Khatun et al. (2021) uvádí, že vzorky sušené v sušárně při teplotě 65 °C obsahovaly nižší množství esterů, než vzorky lyofilizované. Estery jsou citlivé na teplo, tím dochází během tepelného zpracování k jejich degradaci. To vysvětluje, proč touto studií nebyly tyto látky prokázány.

Tepelnou degradací fenylalaninu, isoleucinu a leucinu, dochází ke vzniku fenylacetaldehydu, 2-methylbutanal, 3-methylbutanal (Khatun et al. 2021). 3-methylbutanal byl nalezen u skupiny Br a T.

Většina aldehydů je sekundárním produktem oxidace lipidů. Jsou spojeny mimo jiné s tukovým aroma. Aldehydy mají nízký práh detekce zápachu, takže i malé množství může kladně ovlivnit chuť potravin. K těmto aldehydům patří 2-butyl-2-octenal a hexanal, který byl i touto prací detekován u všech skupin a to ve vysokém množství (Br – 25,83 %; O – 38,24 %; T – 16,70 %), což ukazuje na oxidaci omega-6 mastných kyselin, jako je kyselina linolová nebo arachidonová (Khatun et al. 2021).

## 7 Závěr

Jedním z cílů práce bylo zjistit, zda má složení krmiva vliv na nárůst hmotnosti cvrčků do doby dospělosti. Výzkum byl proveden u dvou skupin cvrčků. První skupina byla krmena směsí pro brojlerová kuřata (Br1) a druhá pšeničnými otrubami. Práce prokázala, že krmná směs Br1, díky tomu, že obsahuje vysoké množství bílkovin, významně ovlivnila nárůst hmotnosti cvrčků. Mimo jiné, cvrčci krmeni směsí Br1 dosáhli pohlavní dospělosti dříve, tudíž rychlost produkce se zvýšila. Oproti tomu při krmení cvrčků pšeničnými otrubami, které mají nízké procento bílkovin, byl nárůst hmotnosti o polovinu nižší.

Tímto zjištěním byla první hypotéza potvrzena.

Další výzkum byl zaměřen na porovnání zastoupení tuku a mastných kyselin, tentokrát u tří různých skupin, v závislosti na krmivu. K předešlým dvěma skupinám byla k porovnání přidána skupina třetí, dospělců, ne z vlastního chovu. Výsledky práce prokázaly, že složení krmiva má vliv na množství tuku. Pšeničné otruby obsahují více sacharidů, což způsobilo zvýšení množství tuku u takto krmené skupiny cvrčků. Krmná směs Br1 obsahuje naopak více bílkovin, a tedy množství tuku je nižší než u předešlé skupiny. Třetí skupina vykazovala nejnižší hodnoty tuku.

U všech tří skupin byly nalezeny stejné mastné kyseliny, avšak v jiném poměru. Ve vzorcích se shodně vyskytovala kyselina myristová, palmitoolejová, palmitová, margarová, linolová, olejová, stearová, arachidová.

Hypotéza, že každá skupina má odlišné množství tuku byla potvrzena. Mastné kyseliny ve všech skupinách byly totožné, lišily se pouze procentuálním zastoupením.

Výzkum se také zabýval zastoupením těkavých látek u vysušených cvrčků v závislosti na složení krmiva. Bylo nalezeno 36 těkavých látek. Pouze ve 13 případech se látky shodovaly.

Třetí hypotéza byla tímto potvrzena. Prokázalo se, že z 36 těkavých látek bylo 23 odlišných.

Celkově lze tedy potvrdit, že složení krmiva má velký vliv na nárůst hmotnosti u cvrčků při vývoji do doby dospělosti. Také má vliv na obsah tuku, mastných kyselin a produkci odlišných těkavých látek.

## 8 Literatura

Abbasi T, Abbasi T, Abbasi SA. 2016. Reducing the global environmental impact of livestock production: the minilivestock option. *Journal of Cleaner Production* **112**:1754-1766.

Babička L. 2016. Nutričně významné látky v potravinách. Publikace České technologické platformy pro potraviny, Praha.

Belitz HD, Grosch W, Schieberle P. 2009. *Food Chemistry*. Springer-Verlag, Berlin.

Bellmann H. 2008. *Velká kniha o zvířatech*. Euromedia Group, Praha.

Brett White MD. 2009. Dietary Fatty Acids. *American Family Physician* **80**:345-350.

Celi P, Cowieson AJ, Fru-Nji F, Steinert RE, Klünter AM, Verlhac V. 2017. Gastrointestinal functionality in animal nutrition and health: New opportunities for sustainable animal production. *Animal Feed Science and Technology* **234**:88-100.

damesens. 2018. Hmyz je 100x udržitelnější. Available from [damesens.cz/blogs/news/hmyz-je-100x-udrzitelnejsi](https://damesens.cz/blogs/news/hmyz-je-100x-udrzitelnejsi) (accessed April 2021).

Davídek J, Janíček G, Pokorný J. 1983. *Chemie potravin*. Státní nakladatelství technické literatury, Praha.

Emwas AH, Talla ZAA, Yang Y, Kharbatia. 2015. Gas Chromatography-Mass Spectrometry of Biofluids and Extracts **1277**:91-112.

FAO. 2017. Water Scarcity – One of the greatest challenges of our time. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Available from [www.fao.org/zhc/detail-events/en/c/880881/](http://www.fao.org/zhc/detail-events/en/c/880881/) (accessed April 2021).

Filipiak W, Bojko B. 2019. SPME in clinical, pharmaceutical, and biotechnological research – How far are we from daily practice?. *Trends in Analytical Chemistry* **115**:203-213.

FVHE. 2011. SPME (Solid phase microextraction) Mikroextrakce tuhou fází. Available from [https://fvhe.vfu.cz/files/teorie\\_spme.pdf](https://fvhe.vfu.cz/files/teorie_spme.pdf) (accessed April 2023).

German JB, Dilliard CJ. 2004. Saturated fats: what dietary intake?. *The American journal of clinical nutrition* **80**:550-559.

Grofová Z. 2010. Mastné kyseliny. *Medicína pro praxi* **7**:388-390.

Gross JH. 2011. *Mass Spectrometry*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin.



- Hanboonsong Y, Durst P. 2020. Guidance on sustainable cricket farming – A practical manual. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Bangkok.
- Hanboonsong Y, Jamjanya T, Durst PB. 2013. Six-legged livestock: edible insect farming, collection and marketing in Thailand. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Bangkok.
- Harris DC. 2007. Quantitative Chemical Analysis. Michelson Laboratory, California.
- Imathiu S. 2020. Benefits and food safety concerns associated with consumption of edible insects. NFS Journal **18**:1-11.
- Jeon YH, Son YJ, Kim SH, Yun EY, Kang HJ, Hwang IK. 2016. Physicochemical properties and oxidative stabilities of mealworm (*Tenebrio monitor*) oils under different roasting conditions. Food Science and Biotechnology **25**:105-110.
- Kořínek M. ©1999-2021. *Acheta domestica* (cvrček domácí). Available from [www.biolib.cz/cz/taxon/id177/](http://www.biolib.cz/cz/taxon/id177/) (accessed April 2023).
- Kouřimská L, Adámková A. 2016. Nutritional and sensory quality of edible insects. NSF Journal **4**:22-26.
- Kromhout D, Spaaij CJK, de Goede J, Weggemans RM. 2016. The 2015 Dutch food-based dietary guidelines. European Journal of Clinical Nutrition **70**:869-878.
- Lange KW, Nakamura Y. 2021. Edible insects as future food: chances and challenges. Journal of Future Foods **1**:38-46.
- Ledvina M a kol. 2005. Biochemie pro studující medicíny. Karolinum, Praha.
- Liceaga AM. 2022. Chapter Four – Edible insects, a valuable protein source from ancient to modern times. Advances in Food and Nutrition Research **101**:129-152.
- Lyn JC, Naikhwah W, Aksenov V, Rollo CD. 2011. Influence of two methods of dietary restriction on life history features and aging of the cricket *Acheta domesticus*. AGE **33**:509-522.
- Makkar H, Tran G, Heuzé V, Ankers P. 2014. State-of-the-art on use of insects as animal feed. Animal Feed Science and Technology **197**:1-33.
- McMurry J. 2015. Organická chemie. VUTIUM, Brno.
- Meher LC, Sagar DV, Naik SN. 2006. Technical Aspects of Biodiesel Production by Transesterification—A review. Renewable and Sustainable Energy Reviews **10**:248-268.

memmert. 2019. Memmert – návod k obsluze. Available from <https://www.memmert.com/index.php?eID=dumpFile&t=f&f=4616&token=5f80086e72c34120a72d5ba7e51e6ea92d3476ea> (accessed April 2023).

Metcalffe LD, Wang CN. 1981. Rapid Preparation of Fatty Acid Methyl Esters Using Organic Base-Catalyzed Transesterification. *Journal of Chromatographic Science* **19**:530-535.

Moigradean D, Poiana MA, Alda LM, Gogoasa I. 2013. Quantitative identification of fatty acids from walnut and coconut oils using GC-MS method. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies* **19**:459-463.

O'Brien RD. 2009. *Fats and Oils: Formulating and Processing for Applications*. 3. vyd. CRC Press, Boca Raton.

Pánek J, Dostálová J, Pokorný J. 2002. *Základy výživy a výživová politika*. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Praha.

Pastell H, Mellberg S, Ritvanen T, Raatikainen M, Mykkänen S, Niemi J, Latomäki I, Wirtanen G. 2021. How Does Locally Produced Feed Affect the Chemical Composition of Reared House Crickets (*Acheta domesticus*)?. *ACS Food Science & Technology* **1**:625-635.

Patton RL. 1978. Growth and development parameters for *Acheta domesticus*. *Annals of the Entomological Society of America* **78**:40-42.

Paul A, Frederich M, Megido RC, Alabi T, Malik P, Uyttenbroeck R, Francis F, Blecker C, Haubruge E, Lognay G, Danthine S. 2017. Insect fatty acids: A comparison of lipids from free Orthopterans and *Tenebrio monitor* L. larvae. *Journal of Asia-Pacific Entomology* **20**:337-340.

Pawliszyn J, Pawliszyn B, Pawliszyn M. 1997. Solid Phase Microextraction (SPME). *The Chemical Educator* **2**:1-7.

Payne CLR, Scarborough P, Rayner M, Nonaka K. 2016. Are edible insects more or less 'healthy' than commonly consumed meats? A comparison using two nutrient profiling models developed to combat over- and undernutrition. *European Journal of Clinical Nutrition* **70**:285-291.

Peer MV, Frooninckx L, Coudron C, Berrens S, Álvarez C, Deruytter D, Verheyen G, Miert SV. 2021. Valorisation potential of using organic side stress as feed for *Tenebrio monitor*, *Acheta domesticus* and *Locusta moratoria*. *Insects* **12**:796.

Poole C. 2012. *Plynová chromatografie*. Elsevier Science, Amsterdam.

Prückler M, Ehn SS, Apprich S, Höltinger S, Haas C, Schmid E, Kneifel W. 2014. Wheat bran-based biorefinery 1: Composition of beat bran and strategie sof functionalization. *Food Science and Technology* **56**:211-221.

- Ribeiro JC, Cunha LM, Pinto BS, Fonseca J. 2017. Allergic risk of consuming edible insects: A systematic review. *Molecular Nutrition & Food Research* (e1700030) DOI: 10.1002/mnfr.201700030.
- Rioux V, Catheline D, Bouriel M, Legard P. 2005. Dietary myristic acid at physiologically relevant levels increases the tissue content of C20:5 n-3 and C20:3 n-6 in the rat. *Reproduction Nutrition Development* **45**:599-612.
- Rumpold S, Schlüter OK. 2013. Nutritional composition and safety aspects of edible insects. *Molecular Nutrition & Food Research* **57**:802-823.
- Rustan AC, Drevon CA. 2005. Fatty Acids: Structures and Properties. *Encyclopedia of life sciences* DOI: 10.1038/npg.els.0003894.
- Santaescolastica CP, Winne AD, Devaere J, Fraeye I. 2022. The flavon of edible insects: A comprehensive review on volatile compounds and their analytical assessment. *Trends in Food Science & Technology* **127**:352-367.
- Santaescolastica CP, Winne AD, Devaere J, Fraeye I. 2023. Comparing the aromatic profile of seven unheated edible insect species. *Food Research International* (e112389) DOI: 10.1016/j.foodres.2022.112389.
- Scientific Committee EFSA. 2015. Risk profile related to production and consumption of insects as food and feed. *EFSA Journal* **13**:4257.
- Sehnoutek a synové s.r.o. Br1 Kompletní krmivo pro výkrm kuřat – brojlerů do 3. týdne. sehnoutek. Available from <http://www.sehnoutek.cz/65-brojleri/25-br1-sypka-krmna-smes-25kg-/> (accessed April 2023).
- Silva EAS, Risticvic S, Pawliszyn J. Recent trends in SPME concerning sorbent materials, configurations and in vivo applications. *Trends in Analytical Chemistry* **43**:24-36.
- Skřivanová E, Čermák L. 2017. Hygienické aspekty pastevního chovu drůbeže (*Gallus Gallus f. domestica*). Výzkumný ústav živočišné výroby, Praha.
- Stanley-Samuelson DW, Loher W. 1986. Prostaglandins in insect reproduction. *Annals of the Entomological Society of America* **79**:841-853.
- Sýkora R. 2009. Využití plynové chromatografie pro stanovení reziduí léčiv, Brno.
- Tvrzická E, Staňková B, Vecka M, Žák A. 2009. Mastné kyseliny 1. Výskyt a biologický význam. *Časopis lékařů českých* **148**:16-28.
- Ugur AE, Bolat B, Oztop MH, Alpas H. 2021. Effects of High Hydrostatic Pressure (HHP) Processing and Temperature on Physicochemical Characterization of Insect Oils Extracted

from *Acheta domesticus* (House Cricket) and *Tenebrio molitor* (Yellow Mealworm). Waste Biomass Valorization **12**:4277-4286.

VACEK L. 1999. Organická chemie. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, Brno.

van Huis A. 2013. Potential of Insects as Food and Feed in Assuring Food Security. Annual Review of Entomology **58**:563-583. Oonincx & de Boer (2012)

Velíšek J, Hajšlová J. 2009. Chemie potravin 1. OSSIS, Tábor.

VELP Scientifica. 2020. Ser 158 Series Automatic Solvent Extractor. VELP Scientifica. Available from <https://www.velp.com/en-ww/ser-158-series-automatic-solvent-extractor.aspx> (accessed April 2023).

Vřešťál J. 2000. Hmotnostní spektrometrie. 2. dopl. Masarykova univerzita, Praha.

Yen AL. 2015. Insects as food and feed in the Asia Pacific region: current perspectives and future directions. Journal of Insects as Food and Feed **1**:33-55.

Zhou Y, Wang D, Zhou S, Duan H, Guo J, Yan W. 2022. Nutritional Composition, Health Benefits, and Application Value of Edible Insects: A Review. Foods **11**:3961.

Żołnierczyk AK, Szumny A. 2021. Sensory and Chemical Characteristic of Two Insect Species: *Tenebrio molitor* and *Zophobas morio* Larvae Affected by Roasting Processes. Molecules **26**:1-15.

## 9 Seznam použitých zkratk a symbolů

**SPME** – mikroextrakce tuhou fází

**FAO** – Organizace pro výživu a zemědělství

**MK** – mastné kyseliny

**TAG** – triacylglycerol

**LDL** – nízkodenzitní lipoprotein

**SFA** – nasycené mastné kyseliny

**MUFA** – mononenasycené mastné kyseliny

**PUFA** – polynenasycené mastné kyseliny

**DHA** – kyselina dokosahexaenová

**EPA** – kyselina eikosapentaenová

**FAME** – methylester mastných kyselin

**GC** – plynová chromatografie

**HPLC** – kapalinová chromatografie

**SFC** – superkritická fluidní chromatografie

**GLC** – gas-liquide chromatography

**GSC** – gas-solid chromatography

**GC-MS** – plynový chromatograf s hmotnostní detekcí



## 10 Seznam obrázků, tabulek a grafů

### 10.1 Seznam obrázků

Obrázek 1: Množství půdy, krmiva a vody potřebné k vyprodukování 1 kg živé hmotnosti zvířete a procenta jedlé části (Zdroj: Dobermann 2017 et al. 2017).....	4
Obrázek 2: Procentuální zastoupení bílkovin u různých řádů hmyzu (Zdroj: Zhou et al. 2022) 8	
Obrázek 3: Složení mastných kyselin u různých druhů hmyzu (Zdroj: Makkar et al. 2014) .....	13
Obrázek 4: Rovnice transesterifikace (Zdroj: Meher et al. 2006).....	14
Obrázek 5: GC-MS (Zdroj: Emwas et al. 2015).....	15
Obrázek 6: SPME (Zdroj: labicom © 2023).....	17
Obrázek 7: Pohled na chovné zařízení (Foto: Autor) .....	23
Obrázek 8: Topná fólie (Foto: Autor) .....	24
Obrázek 9: Napáječka (Foto: Autor) .....	25
Obrázek 10: Sušení vzorků (Foto: Autor) .....	27
Obrázek 11: Automatický extrakční přístroj SER158 (Foto: Autor) .....	29
Obrázek 12: Transesterifikace (Foto: Autor) .....	31
Obrázek 13: SPME (Foto: Autor).....	33
Obrázek 14: Chromatogramy methyl esterů mastných kyselin ve vzorcích cvrčků, v pořadí Br, O, T.....	36
Obrázek 15: Chromatogramy těkavých látek ve vzorcích cvrčků, v pořadí Br, O, T.....	41

### 10.2 Seznam tabulek

Tabulka 1: Nutriční hodnota hmyzu (Zdroj: Rumpold & Schlüter 2013; Zhou et al. 2022).....	9
Tabulka 2: Těkavé látky obsažené ve cvrčcích a jiném hmyzu (Zdroj: Santaescolastica et al. 2022) .....	19
Tabulka 3: Složení krmné směsi (Zdroj: Skřivanová & Čermák 2017) .....	26
Tabulka 4: Analytické složení Br1 (Zdroj: Sehnoutek © 2023).....	26
Tabulka 5: Analytické složení pšeničných otrub (Zdroj: Prückler et al. 2014).....	27
Tabulka 6: Spotřeba krmiva .....	34
Tabulka 7: Množství tuku u všech skupin .....	35
Tabulka 8: Procentuální zastoupení mastných kyselin u skupiny krmené směsí pro brojlerová kuřata (Br) .....	36
Tabulka 9: Procentuální zastoupení mastných kyselin u skupiny krmené pšeničnými otrubami (O) .....	37
Tabulka 10: Procentuální zastoupení mastných kyselin kontrolní skupiny T.....	37
Tabulka 11: Průměrné hodnoty mastných kyselin ze všech skupin .....	38
Tabulka 12: Zastoupení mastných kyselin .....	41
Tabulka 13: Chemické složení těkavých látek ve sledovaných vzorcích cvrčka domácího .....	42
Tabulka 14: Porovnání RI získaných z NIST databáze (RI lit.) a RI spočítané z retenčních časů alkanů (RI kalk.).....	43

### 10.3 Seznam grafů

Graf 2: Zastoupení mastných kyselin u skupiny Br .....	38
Graf 3: Zastoupení mastných kyselin u skupiny O .....	39
Graf 4: Zastoupení mastných kyselin u skupiny T .....	39
Graf 6: Porovnání mastných kyselin mezi sledovanými skupinami .....	40
Graf 5: Porovnání mastných kyselin mezi sledovanými skupinami .....	40