

Mikrobiální kvalita vybraných druhů jedlého hmyzu

Bc. Jiřina Suchánková

Diplomová práce
2016



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav analýzy a chemie potravin

akademický rok: 2015/2016

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Jiřina Suchánková**
Osobní číslo: **T14764**
Studijní program: **N2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie potravin**
Forma studia: **kombinovaná**

Téma práce: **Mikrobiální kvalita vybraných druhů jedlého hmyzu**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Entomofagie - obecná charakteristika, historie, současnost.
2. Charakteristika vybraných druhů jedlého hmyzu.
3. Hmyz z výživového hlediska.
4. Mikrobiologie jedlého hmyzu.

II. Praktická část

1. Mikrobiologický rozbor vybraných druhů jedlého hmyzu.
2. Zpracování výsledků a vyhodnocení.



Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

[1] CAPINERA, L.J. Encyclopedia of Entomology. 2nd edition, Springer science + Bussines Media BV, 2008, 4346 s. ISBN 978-1-4020-6242-1.

[2] KLUNDER, H.C., WOLKERS-ROOIJACKERS, J., KORPELA, J.M., NOUT, M.J.R. Microbiological aspects of processing and storage of edible insects, Food Control 26, 2012, s. 628-631. DOI: 10.1016/j.foodcont.2012.02.013.

[3] DURST, B.P., JOHNSON, D.V., LESLIE, N. R., SHONO, K. Forest insects as food: humans bite back, Bangkok, Thailand 2010, 231 s. ISBN 978-92-5-106488-7.

[4] YEN, Alan L. Edible insects: Traditional knowledge or western phobia?, Entomological Research 39, 2009, s. 289-298. DOI: 10.1111/j.1748-5967.2009.00239.x.

Vedoucí diplomové práce: **Ing. Jiří Mlček, Ph.D.**
Ústav analýzy a chemie potravin

Datum zadání diplomové práce: **20. ledna 2016**

Termín odevzdání diplomové práce: **29. dubna 2016**

Ve Zlíně dne 20. ledna 2016



doc. Ing. František Buňka, Ph.D.
děkan



Ing. Jiří Mlček, Ph.D.
ředitel ústavu

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby ¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 ²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 2 a 3 mohu užit své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně24.11.2016

.....Suchánková.....

¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevydělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

²⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacímu zařízení (školní dílo).

³⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpirá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlédne k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

V posledních letech roste zájem o entomofagii nejen v rozvinutých zemích po celém světě, ale i v Evropě včetně České republiky. Mnoho druhů hmyzu je vhodných pro lidskou spotřebu, ale v České republice momentálně pro tuto skupinu potravin není vytvořena legislativa. Řada výzkumů se zabývala nutričním složením jedlého hmyzu, avšak mikrobiologické zastoupení je doposud málo prozkoumáno.

Cílem diplomové práce bylo určení mikrobiální kvality u vzorků bource morušového (*Bombyx mori*), cvrčka stepního (*Gryllus assimilis*), potemníka moučného (*Tenebrio molitor*), potemníka brazilského (*Zophobas atratus*), saranče stěhovavého (*Locusta migratoria*) a zavíječe voskového (*Galleria mellonella*). U jedlého hmyzu byly stanovené celkové mikroorganismy, koliformní bakterie, mléčné bakterie, kvasinky a plísně, anaerobní bakterie a sporulující bakterie.

Bylo také zkoumáno, jakým způsobem technologická úprava a vývojová fáze hmyzu ovlivňuje mikroflóru jedlého hmyzu.

Výsledky této práce prokázaly, že pro bezpečnou konzumaci jedlého hmyzu je potřeba tepelného záhřevu, který minimalizuje mikrobiologická rizika.

Klíčová slova: Jedlý hmyz, entomofagie, mikrobiologie, nutriční složení, patogenita a nebezpečnost mikroorganismů, izolace

ABSTRACT

In recent years, there is growing interest in entomology not only in developed countries around the world, but also in Europe, including the Czech Republic. Many species of insects are suitable for human consumption, but in the Czech Republic for this kind of food group is not created legislativ at the moment. Many studies dealt nutritional composition of edible insects, but microbiological representation is still little explored.

The aim of the thesis was to determine the microbial quality at samples of silkworm (*Bombyx mori*), field cricket (*Gryllus assimilis*), mealworm (*Tenebrio molitor*), superworm (*Zophobas atratus*), migratory locust (*Locusta migratoria*) and wax moth (*Galleria mellonella*). For edible insects were set total microorganisms, coliform bacteria, lactic acid bacteria, yeasts and fungi, bacteria and anaerobic spore-forming bacteria.

It was also examined how the technology modification and developmental stages of insects affects the flora edible insects.

The results of this work showed that for safe consumption of edible insects is needed temperature history that minimizes microbiological risks.

Keywords: Edible insects, Entomophagy, microbiology, nutritional composition, pathogenicity and microbial hazards, isolation

Děkuji Ing. Jiřímu Mlčkovi, Ph.D., vedoucímu mé diplomové práce, za odborné vedení, cenné rady a připomínky, které mi pomohly vypracovat tuto diplomovou práci. Mé velké poděkování patří také Mgr. Magdě Doležalové, Ph.D., za pomoc a odborné vedení při práci v laboratoři a jejímu vstřícnému přístupu při psaní této diplomové práce.

Velké poděkování náleží mé rodině a přátelům, za podporu, trpělivost a motivaci po dobu mého studia.

Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské/diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

ÚVOD	12
I TEORETICKÁ ČÁST	13
1 ENTOMOFAGIE	14
1.1 OBECNÁ CHARAKTERISTIKA	14
1.2 HISTORIE ENTOMOFAGIE	14
1.2.1 Entomofagie a náboženství	15
1.3 SOUČASNOST.....	15
2 CHARAKTERISTIKA VYBRANÝCH DRUHŮ JEDLÉHO HMYZU	17
2.1 CHARAKTERISTIKA ŘÁDU MOTÝLŮ (<i>LEPIDOPTERA</i>).....	18
2.1.1 Bourcovití.....	18
2.1.1.1 Bourec morušový (<i>Bombyx mori</i>).....	19
2.1.2 Zavíječovití	20
2.1.2.1 Zavíječ voskový (<i>Galleria mellonella</i>)	21
2.2 CHARAKTERISTIKA ŘÁDU ROVNOKŘÍDLÝCH (<i>ORTHOPTERA</i>)	21
2.2.1 Cvrčkovití.....	22
2.2.1.1 Cvrček stepní (<i>Gryllus assimilis</i>).....	22
2.2.2 Sarančovití.....	23
2.2.2.1 Saranče stěhovavé (<i>Locusta migratoria</i>).....	23
2.3 CHARAKTERISTIKA ŘÁDU BROUCI (<i>COLEOPTERA</i>)	24
2.3.1 Potemníkovití	24
2.3.1.1 Potemník moučný (<i>Tenebrio molitor</i>)	25
2.3.1.2 Potemník brazilský (<i>Zophobas atratus</i>)	26
3 HMYZ Z VÝŽIVOVÉHO HLEDISKA	28
3.1 SLOŽENÍ HMYZU	28
3.1.1 Bílkoviny	28
3.1.2 Tuk	30
3.1.3 Minerální látky a vitamíny	30
3.2 HMYZ JAKO POTRAVINA	32
3.2.1 Chuť a příprava hmyzu	33
3.3 RIZIKA SPOJENÁ S KONZUMACÍ HMYZU	34
3.3.1 Mikrobiologická rizika.....	34
3.3.2 Toxické látky.....	34
3.3.3 Alergeny	35
4 MIKROBIOLOGIE JEDLÉHO HMYZU	36
4.1 BAKTERIE.....	36
4.2 PLÍSNĚ.....	38
4.3 LEGISLATIVA.....	38
II PRAKTICKÁ ČÁST	40
5 CÍL PRÁCE	41
6 MATERIÁL A METODY	42

6.1	CHEMIKÁLIE A ROZTOKY	42
6.2	PŘÍSTROJE A POMŮCKY	42
6.3	KULTIVAČNÍ MÉDIA	43
6.3.1	Složení jednotlivých živných půd a jejich příprava	43
6.4	CHARAKTERISTIKA VZORKŮ	44
6.4.1	Vzorky dlouhodobě zamraženého hmyzu	44
6.4.2	Vzorky tepelně upraveného hmyzu	45
6.4.3	Vzorky živého hmyzu	45
6.5	MIKROBIOLOGICKÝ ROZBOR	45
6.5.1	Stanovení celkového počtu mikroorganismů	46
6.5.2	Stanovení koliformních bakterií	46
6.5.3	Stanovení mléčných bakterií	47
6.5.4	Stanovení kvasinek a plísní	47
6.5.5	Stanovení aerobních a anaerobních sporulujících bakterií	47
6.5.6	Stanovení anaerobních bakterií	47
6.5.7	Izolace a charakteristika bakteriálních izolátů	47
6.5.8	Vyjádření výsledků	48
7	VÝSLEDKY	50
7.1	MIKROBIOLOGICKÝ ROZBOR ZAMRAŽENÉHO HMYZU	50
7.2	MIKROBIOLOGICKÝ ROZBOR ŽIVÉHO HMYZU	53
7.3	MIKROBIOLOGICKÝ ROZBOR TEPELNĚ UPRAVENÉHO HMYZU	55
8	DISKUZE	57
8.1	MIKROFLÓRA JEDLÉHO HMYZU	57
8.1.1	Koliformní bakterie	57
8.1.1.1	Stanovení koliformních bakterií ve vzorcích jedlého hmyzu	57
8.1.1.2	Izolované druhy koliformních bakterií z jedlého hmyzu	58
8.1.2	Celkový počet mikroorganismů	58
8.1.2.1	Stanovení celkového počtu mikroorganismů	58
8.1.2.2	Izolované kmeny z PCA	59
8.1.3	Mléčné bakterie	59
8.1.3.1	Stanovení mléčných bakterií ve vzorcích jedlého hmyzu	60
8.1.3.2	Izolace bakterií z živné půdy De Man Rogosa Sharpe	60
8.1.4	Kvasinky a plísně	61
8.1.4.1	Stanovení kvasinek a plísní ve vzorcích jedlého hmyzu	61
8.1.4.2	Izolované druhy kvasinek a plísní z jedlého hmyzu	61
8.1.5	Aerobní a anaerobní sporulující bakterie	62
8.1.5.1	Stanovení aerobních a anaerobních sporulujících bakterií	63
8.1.5.2	Izolované druhy aerobních a anaerobních sporulujících bakterií	63
8.1.6	Mikrobiologické limity	63
8.2	MIKROBIÁLNÍ KVALITA ŽIVÝCH, ZMRAŽENÝCH A TEPELNĚ OPRACOVANÝCH VZORKŮ HMYZU	64
8.2.1	Koliformní bakterie	64
8.2.2	Celkové mikroorganismy	64
8.2.3	Mléčné bakterie	65
8.2.4	Kvasinky a plísně	65
8.2.5	Anaerobní bakterie	65
8.2.6	Sporulující bakterie	66

8.3	POROVNÁNÍ MIKROBIÁLNÍ KVALITY MEZI STEJNÝMI DRUHY HMYZU A JEJICH RŮZNÉHO VÝVOJOVÉHO STÁDIA	66
	ZÁVĚR	68
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	70
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	78
	SEZNAM OBRÁZKŮ	79
	SEZNAM TABULEK.....	80
	SEZNAM PŘÍLOH.....	81

ÚVOD

Hmyz tvořil podstatnou roli ve výživě člověka již v dávné historii. V současnosti je konzumace hmyzu tzv. entomofagie nejvíce spojována se zeměmi, kde jsou špatné zemědělské podmínky a lidé zde trpí hladem. Entomofagie je velmi rozšířená především v mnoha regionech v Africe, Asii, Americe a Austrálii. Naproti tomu v západních zemích je konzumace hmyzu málo rozšířená, neboť mnoho lidí má k takovému jídlu odpor nebo má z konzumace hmyzu strach. Kvůli rostoucí populaci hrozí, že současné zdroje živočišných bílkovin nebudou stačit k lidské výživě. Několik studií naznačuje, že entomofagie může být dobrou alternativou, neboť jedlý hmyz je dobrým zdrojem živin a jeho výživové hodnoty jsou srovnatelné s ostatními živočišnými zdroji s vysokým obsahem bílkovin. Hmyz je kromě bílkovin bohatý na sacharidy, tuky a obsahuje také některé minerální látky a vitamíny. Navíc chov hmyzu nemá tak velký dopad na životní prostředí, jako tradiční chov hospodářských zvířat.

Nutriční složení jedlého hmyzu je k dnešnímu dni prozkoumané více, než bezpečnost a trvanlivost jedlého hmyzu a jeho pokrmů. Jen několik studií prezentovalo mikrobiální hodnoty, které byly stanovené v jedlém hmyzu. Často jsou tyto hodnoty tvořeny průměry několika druhů hmyzu a jsou tedy velmi obecné. Navíc v těchto studiích byly použity pouze tradiční kultivační metody pro charakterizaci mikroflóry. Některé mikroorganismy, včetně potravinářských patogenů, jsou nekultivovatelné, protože kultivační podmínky nejsou vhodné nebo mikroorganismy vstoupily do fáze životaschopnosti, ale nedosahují kultivačního stavu. Na mikrobiální bezpečnost jedlého hmyzu se podílí prostředí, ve kterém je hmyz chován, zpracování a podmínky skladování jedlého hmyzu.

Cílem této práce bylo stanovení vybraných skupin mikroorganismů ve vzorcích jedlého hmyzu a následné porovnání mikrobiální kvality mezi stejnými druhy hmyzu, které se nacházely v různém vývojovém stádiu. Práce se dále zaměřuje na mikrobiální kvalitu jedlého hmyzu, který se nachází v různé úpravě a zkoumá, která úprava je z mikrobiologického hlediska nejefektivnější.

TEORETICKÁ ČÁST

1 ENTOMOFAGIE

1.1 Obecná charakteristika

Pojem entomofagie lze vyložit několika způsoby. V širším slova smyslu lze pro entomofagii uplatnit jakéhokoliv živočicha, který pro svou existenci potřebuje přijímat hmyz jako potravinu [1]. S takovým případem se lze setkat u různých taxonomických skupin obojživelníků, ptáků nebo hmyzu. Entomofagie se netýká pouze konzumace hmyzu, ale vztahuje se i na konzumaci některých bezobratlých živočichů, jako jsou štíři nebo pavouci. V současnosti se tento pojem nejčastěji objevuje se souvislostí moderních trendů v gastronomii, kdy je hmyz využíván jako potravina pro lidskou populaci [2].

1.2 Historie entomofagie

Již v dobách, kdy se lidé poprvé zrodili na planetě Zemi, mohl být hmyz jejich hlavním zdrojem příjmu živin, neboť tyto lidé neměli nástroje pro lov velkých zvířat a nedisponovali ani technikou, která by jim umožnila provozovat zemědělství. Tuto domněnku potvrzuje nález a následná analýza zkamenělých lidských exkrementů, které byly objeveny v jeskyních v Mexiku a USA. U analyzovaných exkrementů nalezených v jeskyních Ozark hory, která se nachází mezi Arkansasem a Missouri, byly objeveny části mravenců, vší, klíšťat, roztočů a larev brouků. V severním Španělsku, na stěně jeskyně Artamila, byla objevena malba, která zobrazuje sbírku divokých včelích hnízd. Vědci tvrdí, že tato malba vznikla v letech 9000 až 30 000 let před naším letopočtem a je to další domněnka, že lidé v této době jedli včelí kukly a larvy společně s medem. V Čínské provincii Shanxi byly nalezeny kokony divokého bource morušového (*Theophila religiosae*). Každý kokon bource morušového měl velkou díru, což naznačuje, že lidé jedli jeho kukly. Stáří tohoto kokonu je odhadováno na období mezi lety 2 000 až 2 500 před naším letopočtem. Lidé už od dávné historie jedli různé druhy hmyzu po celém světě a to se vyvinulo až do tradiční entomofagie [3].

První písemný odkaz na entomofagii je zaznamenán v Aristotelově díle *Historia animalium*, kde se považuje konzumace cikád za pochoutku. V tomto díle je také uvedeno, že dospělé samičky nejlépe chutnají po páření, protože jsou plné vajíček [4].

Ve druhém století před naším letopočtem Diodorus Sicilský nazýval lid z Etiopie Acridofagy neboli "jedlíci kobylek a cikád".

Ve Starém Římě, autor a přírodovědec Plinius starší, se ve svém díle *Historia Naturalis* zmiňuje o jídle zvaném casus, které bylo velmi vyhledáváno Římany na jejich hostinách. Ukázalo se, že casus je larva tesaříka obrovského (*Cerambyx cerdo*), který žije na dubech [5].

1.2.1 Entomofagie a náboženství

Postupy přípravy jídla jsou ovlivněny kulturou, která je z historického měřítka ovlivněná náboženskou vírou. Konzumace hmyzu je citována v náboženské literatuře, která je zaměřena na křesťanskou, islámskou a židovskou víru [4]. V tradicích Islámu existuje několik odkazů na konzumaci hmyzu, včetně včel, kobylek, vší a termitů [6].

Entomofagie je také zmiňovaná v židovské literatuře, kde konzumace košer kobylek byla známá již ve starověku. V důsledku nedostatku informací o okřídleném hmyzu, který se vyskytoval v rojích, konzumace hmyzu postupně klesala. Tradice konzumace hmyzu je zachována pouze u některých židů z Jemenu a objevuje se v několika místech severní Afriky [7].

1.3 Současnost

Současná entomofagie může být rozdělena do dvou kategorií. V první kategorii je hmyz konzumován pro potřebné živiny převážně v oblastech, kde se vyskytují podvyživení lidé nebo v době hladomoru. Roje kobylek a sarančat jsou zcela běžné na Středním východě nebo v Africe. Tyto roje při stěhování zničí jedlé rostliny, které si zde domorodci vypěstovali. Při těchto okolnostech lidé odchyťávají kobyly, které jim poté slouží jako potrava. Někdy zde místní vláda aplikuje postřiky insekticidů proti kobylykám. V takovém případě již kobyly nejsou vhodné pro konzumaci a to vede ke konfliktům mezi vládou a lidmi.

V druhé kategorii je hmyz využíván k okoření gastronomie. Ve velkých městech je hmyz podáván jako jídlo v restauracích nebo je hmyz přímo prodáván jako zpracovaná potravina. Hmyzí pokrmy mohou být v restauracích dražší než steak. V Mexiku je populární konzumace mravenců (*Liometopum apiculatum*), v Číně se mezi delikatesy řadí vosy (*Vespa soror*) nebo kukly martináče čínského (*Antheraea pernyi*) [3]. V jihovýchodní Asii patří Thajsko k nejznámější zemi, kde je hmyz po tepelné úpravě prodáván přímo na ulici a tato strava je součástí jídelníčků místních obyvatel [9].

Nejnovější průzkum ukázal, že hmyz je součástí jídelníčku nejméně dvou miliard lidí na celé planetě [4]. Na celém světě lidé konzumují alespoň 1 400 druhů hmyzu jako potravi-

nu. V dnešní moderní době entomofagie klesla v mnoha společnostech, neboť představa jíst hmyz byla považována jako staromódní a samotný hmyz je považován za nezdravé a nečisté jídlo. Přesto mezi různými kulturami, které jsou rozprostřené po celém světě, je hmyz i nadále zásadní a přednostní jídlo, které je hlavním zdrojem tuků, bílkovin, vitamínů a minerálů. Další výhodou entomofagie je nenáročný sběr hmyzu a jeho nižší pořizovací cena oproti červenému nebo bílému masu [8].

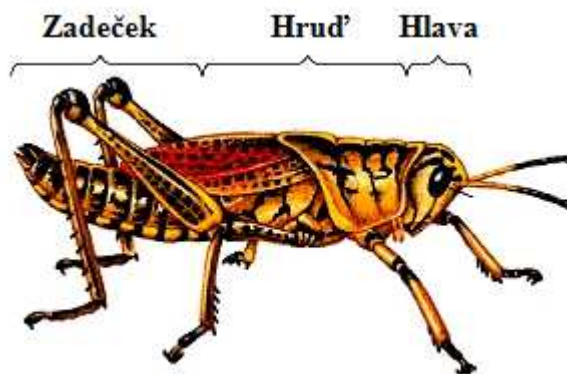
V některých částech demokratické republiky Kongo tvoří příjem živočišných bílkovin až 64 % z konzumace hmyzu [10].

Hmyz má vysokou nutriční hodnotu a během posledních dvou desetiletí je jeho potenciál stále více uznáván [11].

2 CHARAKTERISTIKA VYBRANÝCH DRUHŮ JEDLÉHO HMYZU

První charakteristiku hmyzu a jeho systematické zařazení má na svědomí řecký filosof Aristoteles, který založil nový vědní obor – zoologii. V tomto vědním oboru se také poprvé objevil název entomologie, který je složen z řeckých slov „*entomon*“ (hmyz) a „*logos*“ (věda). Aristoteles se pokusil o obecnou charakteristiku šedesáti druhů hmyzu, který byl systematicky uspořádán. Jako hmyz Aristoteles považoval všechno, co mělo na hřbetní nebo břišní straně zářezy [12].

Všechny živé bytosti jsou biology rozdělené do pěti skupin, které jsou označovány jako říše a tyto říše se dále dělí na podříše a kmene. Hmyz je řazen do říše živočichů a kmene členovců. Členovci tvoří největší kmen v celé živočišné říši a do dnešní doby nejsou objeveny všechny jeho druhy. Hlavní charakteristikou členovců je jejich pevná ochranná vnější kostra, která je vytvořena z chitinu. Svaly těchto živočichů jsou upnuté na vnější kostře, která se během vývoje a stárnutí svléká. Svlečání kostry umožňuje následný růst nebo slouží k dalšímu vývojovému stádiu živočicha. Členovci mají párové článkovité nohy, které jsou napojené na články těla. Články těla hmyzu tvoří oddělená hlava, hrud' a zadeček.



Obr. 1. Stavba těla členovce [13].

Hmyz se vyznačuje tvrdou kutikulou a článkovanými nohami. Od ostatních členovců se odlišují přítomností šesti nohou a obvykle na svém těle mají křídla. Hlava hmyzu je složena z tykadel, očí a ústního ústrojí a hrud' má tři články (předohrud', středohrud', zadohrud'), na kterých jsou nohy a křídla. Zadeček je složen z jedenácti článků, které jsou ukončené přívěsy, tzv. štěty. Podle vývoje je hmyz rozdělen do tří skupin. První skupinu tvoří primitivní bezkřídlý hmyz, který se svléká po celý svůj život a to dokonce i v dospělosti. Druhou skupinu tvoří okřídlený hmyz, u kterého vývoj přichází postupně a to proměnou nedokonalou. Poslední skupina hmyzu se vyvíjí proměnou dokonalou, kdy se larva po zakuklení mění v jiného dospělého tvora [14].

Pro podrobnější popis byly voleny ty řády hmyzu, které byly předmětem praktické části diplomové práce.

2.1 Charakteristika řádu motýlů (*Lepidoptera*)

Řád motýlů je druhově nejbohatší skupinou a je tvořen až z 150 000 druhů motýlů [15]. Pro zástupce řádu *Lepidoptera* je charakteristická přítomnost dvou párů blanitých křídel, která jsou pokryta drobnými šupinkami. Tyto šupinky způsobují typické zbarvení motýlích křídel, které vzniká buď světlo – rozkladnou strukturou, pigmentací šupinek nebo kombinací obou možností. Všichni motýli jsou aktivní pouze přes den, zatímco můry jsou řazeny mezi noční živočichy [16].

Vývoj motýlů prochází proměnou dokonalou a životní cyklus je složen ze stádia vajíčka, housenky, kukly a dospělce (imága). Vajíčka motýlů jsou různých tvarů a velikostí a kromě zárodku obsahují také velké množství zásobních látek. Vajíčka jsou různě zbarvená a u většiny motýlů dochází ke ztmavnutí vajíčka před líhnutím housenky. Množství nakladených vajíček je u každého druhu různý a samička klade vajíčka buď jednotlivě, nebo v malém seskupení na živnou rostlinu. Po vylíhnutí jsou housenky dlouhé jen několik milimetrů a jsou buď lysé, nebo mají na povrchu jemný porost chloupků či trnů, které housenku chrání proti jejím přirozeným nepřítelům. Housenky během vývoje intenzivně přijímají potravu a několikrát se svlékají. Vývoj housenky končí v době, kdy přestane přijímat potravu a hledá si vhodné místo k zakuklení. Kuklení motýlů je závěrečný, ale nejkritičtější proces vývoje. V kukle probíhá přeměna housenky v motýla a tato přeměna může trvat několik dní, měsíců nebo dokonce let. Během líhnutí praská kukla ve švech podél tykadel, hlavy a na hřbetě. Po prasknutí kukly se motýl rychle souká ven, aby mohl co nejrychleji rozvinout svá křídla. Po vylíhnutí jsou motýli ihned pohlavně aktivní a mohou se začít rozmnožovat [17].

2.1.1 Bourcovití

Tato čeleď obsahuje 100 druhů a vyskytuje se v dobře zarostlé oblasti jihovýchodní Asie v místech, kde jsou hojně zastoupeny živné rostliny. Jsou to chlupatí a zavalití motýli s tuhými křídly, kteří jsou zbarveni šedou, hnědou nebo krémovou barvou. Dospělci kladou vajíčka na hostitelské rostliny. Housenky jsou hladké a na některých člancích zadečku mají panožky. Vyvinuté housenky se následně kuklí v hedvábném kokonu [14].

2.1.1.1 Bourec morušový (*Bombyx mori*)

Zařazení do systému [18]:

Říše: živočichové (*Animalia*), kmen: členovci (*Arthropoda*), podkmen: šestinozí (*Hexapoda*), třída: hmyz (*Insecta*), podtřída: křídlatí (*Pterygota*), nadřád: novokřídlí (*Neoptera*), Řád: motýli (*Lepidoptera*), čeleď: bourcovití (*Bombycidae*), rod: bourec (*Bombyx*), druh: bourec morušový (*Bombyx mori*)

Bourec morušový pochází z Asie a pro výrobu hedvábí je na farmách po celém světě chován už několik tisíc let [14]. Z jednoho kokonu bource morušového lze získat až 600 metrů hedvábného vlákna a pro získání 2,5 kilogramů zámotků bource morušového je potřeba 1 200 housenek k zakuklení [17]. V dnešní době se bourec morušový ve volné přírodě nevyskytuje a jeho existence je tak závislá na člověku. Housenky požírají listy moruší, které jsou jejich výhradní potravou. Dospělý motýl má chlupaté zavalité tělo a na předních křídlech má hákovité špičky. Charakteristické jsou také jeho nápadné žilky na křídlech [14]. Dospělec bource morušového neumí létat a rozpětí jeho křídel je asi 5 centimetrů. Samici od samce lze rozeznat podle velikosti, kdy je samice až třikrát větší. Tato výrazně větší velikost je způsobena přítomností vajíček v těle samice [19].



Obr. 2. Dospělec bource morušového [20].



Obr. 3. Housenka bource morušového [21].



Obr. 4. Kukla bource morušového [22].

2.1.2 Zavíječovití

Čeleď zavíječovití obsahuje asi 24 000 různých druhů. Zástupci jsou hnědě zbarvení drobní motýli velcí 1 – 4,5 centimetrů [14]. Dospělí jedinci mají štíhlé tělo a na hlavě mají nitkovitá tykadla, která jsou u samců někdy hřebenitá nebo obrvená [23]. Zadní křídla zavíječů jsou vždy zaokrouhlená a široká, kdežto přední křídla bývají úzká nebo široká. Některým rodům může vyčnívat na přídi hlavy tzv. „čenic“, který je vytvořen rovně držnými makadly. Dospělé samičky kladou vajíčka na živné rostliny, jiný materiál nebo rovnou na kořist. Housenky jsou většinou štíhlé a válcové, ale mohou se také vyskytovat ve formě zavalité. Potrava pro housenky je rozmanitá, některé se živí listy a kořeny rostlin, jiné jsou mrchožravé nebo pojídají drobný hmyz. Jsou případy, kdy se housenky živí rohovinou savčích a ptačích výtrusů nebo srstí lenochodů [14]. Housenky jsou velmi pohyblivé a na svém těle mají mírný porost chlupů. Některé druhy pro svůj vývoj potřebují přítomnost vody, neboť se vyvíjí pod její hladinou nebo na vodních rostlinách, které rostou v nejbližším okolí. [24].

2.1.2.1 Zavíječ voskový (*Galleria mellonella*)

Zařazení do systému:

Říše: živočichové (*Animalia*), kmen: členovci (*Arthropoda*), podkmen: šestinozí (*Hexapoda*), třída: hmyz (*Insecta*), podtřída: křídlatí (*Pterygota*), nadřád: novokřídlí (*Neoptera*), řád: motýli (*Lepidoptera*), čeleď: zavíječovití (*Pyralidae*), rod: zavíječ (*Galleria*), druh: zavíječ voskový (*Galleria mellonella*)

Dospělý jedinec motýla má rozpětí křídel asi 2,8 centimetrů. Jeho vývoj je vázán na prostředí, ve kterém se vyskytuje. Jeho přirozeným prostředím jsou včelí úly, kde se ve včelích plástech postupně vyvíjí. Proto je tento drobný hmyz hlavním nepřítelem včelařů [25]. Díky svému výjimečnému enzymatickému systému dovede zavíječ trávit včelí vosk, který vykusuje při tvoření chodbiček v úlu [26].



Obr. 5. Housenky zavíječe voskového [27].

2.2 Charakteristika řádu rovnokřídých (*Orthoptera*)

Mezi rovnokřídle patří vzhledově nápaditý hmyz s kousacím ústním ústrojím a skákavými zadními nohama [28]. V současnosti je tato skupina rozložena na dva podřády a to: saranče (*Cealifera*) a kobylky (*Ensifera*). Pro všechny druhy tohoto řádu je typické protáhlé větší tělo s předním párem křídel přeměněným v krytky, které kryjí druhý pár vějířovitě složených blanitých křídel. Charakteristickou vlastností většiny těchto druhů je jejich schopnost vydávat pronikavé zvuky pomocí vzájemným třením zadních stehen o krytky nebo třením samotných krytek. Rovnokřídli řád je početnou skupinou a obsahuje přibližně 26 000 druhů, které byly doposud popsány. Většina těchto druhů vyhledává teplejší pásma a největší druhová rozmanitost se nachází v tropických a subtropických oblastech.

Tato skupina hmyzu se vyvíjí proměnou nedokonalou a životní cyklus je složen z vajíčka, nymfy a dospělce. Nymfy se od dospělců liší kromě své barvy a velikosti také absencí pohlavních orgánů a křídel [29].

2.2.1 Cvrčkovití

V dnešní době jsou cvrčci zařazeni do řádu kobylek, který byl donedávna zařazen do řádu rovnokřídlých [15]. Pro tuto skupinu živočichů je charakteristická kulatá hlava, ze které vyrůstají dlouhá nitkovitá tykadla, a hnědě nebo černě zbarvené tělo. Pokud má určitý druh z této skupiny křídla, pak jsou naplocho složená na hřbetě. Doposud bylo objeveno asi 4 000 druhů této čeledi. Samečci vydávají specifické zvuky pomocí hřebene a lákají tak samičku k páření [14]. Cvrčkovití mají na konci zadečku tykadlovité štěty, které jim slouží jako smyslový orgán. Ke kladení vajíček používají samičky kladélko a vajíčka kladou v hromádkách nebo jednotlivě na rostlinnou tkáň či přímo do země [16].

2.2.1.1 Cvrček stepní (*Gryllus assimilis*)

Zařazení do systému:

Říše: živočichové (*Animalia*), kmen: členovci (*Arthropoda*), podkmen: šestinozí (*Hexapoda*), třída: hmyz (*Insecta*), podtřída: křídlatí (*Pterygota*), řád: rovnokřídlí (*Orthoptera*), čeleď: cvrčkovití (*Gryllidae*), rod: cvrček (*Gryllus*), druh: cvrček stepní – banánový (*Gryllus assimilis*)

Cvrček stepní je poměrně velký zástupce čeledi cvrčkovitých a jeho velikost v dospělosti může být až 3,5 centimetrů. Vyznačuje se tmavým zbarvením, noční aktivitou a nedokonalou přeměnou [30]. Druhy cvrčka stepního se vyskytují v tropických pásmech a v České republice jsou chovány především jako krmivo pro terarijní živočichy. Pokud by cvrček z chovu utekl, tak by s příchodem podzimu nebo zimy zahynul společně s nakladenými vajíčky, neboť by nepřežil podmínky zimy ve střední Evropě [29].



Obr. 6. Samice cvrčka stepního [31].

2.2.2 Sarančovití

Tato čeleď zahrnuje až 10 000 druhů, které jsou rozšířeny po celém světě. Největší zástupci se vyskytují v tropických oblastech, kde mají nejlepší vegetační podmínky. Sarančata vegetují v nízkém travnatém prostředí, ale některé druhy dobře létajících sarančat okupují koruny stromů a keřů. K ochraně sarančat před predátory napomáhá jejich nápadné výstražné zbarvení zadních křídel a nachází-li se v přímém ohrožení, tak mohou vylučovat jedovaté substance. Dospělé samičky kladou vajíčka do tlejícího dřeva, půdy nebo do štěrbin v kůře. Vylíhlé nymfy některých druhů jsou společenské a mohou v menších hejnech cestovat několik kilometrů [14]. Tykadla sarančat jsou vždy krátká a kladélka samiček nejsou nápadná. Třetí pár nohou mají sarančata stavěna ke skákání a slouží tak k rychlému útěku před nepřítelem. Sluchové orgány mají sarančata umístěna po stranách prvního zadečkového článku [15].

2.2.2.1 Saranče stěhovavé (*Locusta migratoria*)

Zařazení do systému:

Říše: živočichové (*Animalia*), kmen: členovci (*Arthropoda*), podkmen: šestinozí (*Hexapoda*), třída: hmyz (*Insecta*), podtřída: křídlatí (*Pterygota*), řád: rovnokřídlí (*Orthoptera*), čeleď: sarančovití (*Acrididae*), rod: saranče (*Locusta*), druh: saranče stěhovavá (*Locusta migratoria*)

Velikost dospělého sarančata se pohybuje v rozmezí 33 – 54 milimetrů, kdy samičky jsou vždy větší, jak samci. Saranče stěhovavá se vyznačují proměnlivě zbarveným tělem, které může být hnědé, šedé, žlutohnědé nebo zelené, a nazelenalými zadními křídly. Tento druh sarančat vyhledává vlhký a teplý vzduch a během přemísťování tvoří obrovské roje, které ve velkém množství požírají vegetační pokryv. Nejvíce je tento druh rozšířen v Asii a

v Africe. V současnosti byl také zavlečen na Nový Zéland a do Austrálie. Tento druh sarančat se zvukově nedorozumívá [24].



Obr. 7. *Saranče stěhovavá* [32].

2.3 Charakteristika řádu brouci (*Coleoptera*)

Latinský název *Coleoptera* znamená „pouzdrová křídla“ a tento název odpovídá anatomii křídel. Přední křídla brouků jsou zpevněná a odborně jsou označovány jako krovky neboli *elitra*. Krovky jsou kožovité nebo tvrdé. Složené krovky uprostřed zad tvoří podélnou čárku, která chrání druhý zadní pár blanitých křídel, jež hmyz používá k letu. Při letu jsou krovky brouka drženy kolmo k tělu a jsou použity jako nosná plocha, která poskytuje větší vznosnou sílu. I když většina druhů z tohoto řádu umí létat, tak se většinou pohybují po zemi a let je používán pouze na přenesení se k nízké vegetaci nebo k překonání krátké vzdálenosti [16]. Díky pevným krovkám a kompaktnímu silnému tělu se brouci vyskytují v rozmanitém prostředí. Mohou se zahrabávat do hlíny nebo přežívají pod hladinou, kdy mají pod krovkami uchovány zásoby vzduchu. Většina brouků je býložravá, ale existují i druhy, které se řadí mezi mrchožrouty a dravce [14]. Poslední potravní skupinou tvoří saprofágové, kteří požírají odumřelé organické látky rostlin a živočichů [28]. Brouci mají různé velikosti, kdy nejmenší měří čtvrt milimetrů a největší mohou dosahovat i přes dvacet centimetrů. Společným znakem brouků je přítomnost kousacího ústního ústrojí a tykadla, která jsou velmi rozmanitá [12]. Tento řád se vyznačuje dokonalou proměnou a larvy často konzumují jiný druh potravy než dospělec [15].

2.3.1 Potemníkovití

Brouci této čeledi jsou tmavohnědí nebo černí, ale některé druhy mohou mít barevné kresby na bílých krovkách. Těla mohou mít matná a hrubě strukturovaná nebo hladká a lesklá. Stavba těla je tvarově rozmanitá, některé druhy jsou válcovité, jiné jsou široce oválné. Jako

obranou reakci proti nepřítelům mohou dospělci vylučovat nepříjemně páchnoucí látky ze žlázek na zadečku. Někteří potěmníci jsou škůdci a ničí zásoby sušených potravin nebo moučných výrobků [14]. Potěmníci se vyznačují shora krytým vkloubením tykadel pod okrajem hlavy a vzadu uzavřenými předními kyčelními jamkami. V současnosti bylo objeveno a popsáno 20 000 druhů, které se velikostně pohybují od 1,3 – 80 milimetrů [15]. Vajíčka samice naklade velmi brzy po páření do míst, kde se larvy později vyvíjejí. Mnoho druhů pokrývá vajíčka lepivým sekretem, takže vajíčka dobře splývají s okolím [28].

2.3.1.1 Potěmník moučný (*Tenebrio molitor*)

Zařazení do systému:

Říše: živočichové (*Animalia*), kmen: členovci (*Arthropoda*), podkmen: šestinozí (*Hexapoda*), třída: hmyz (*Insecta*), podtřída: křídlatí (*Pterygota*), řád: brouci (*Coleoptera*), čeleď: potěmníkovití (*Tenebrionidae*), rod: potěmník (*Tenebrio*), druh: potěmník moučný (*Tenebrio molitor*)

Ve volné přírodě potěmník moučný vegetuje v ptačích hnízdech nebo ve starých ztrouchnivělých stromech. Velikost larev je 25 milimetrů, zatímco stádium dospělé se pohybuje v rozmezí 12 – 15 milimetrů [33]. Larvy potěmníka moučného, které jsou také často označovány jako mouční červi, mají válcovitě protáhlé tělo s tvrdým povrchem a krátkýma nohama [14]. V domácnostech se potěmník moučný vyskytuje především v mouce, kde se larva vyvíjí více než rok. Chovatelé ptactva tyto larvy pěstují, protože tyto tuční mouční červi jsou vyhledávanou ptačí potravou [12].



Obr. 8. Dospělec potěmníka moučného [34].



Obr. 9. Larva potemníka moučného [35].

2.3.1.2 Potemník brazilský (*Zophobas atratus*)

Zařazení do systému:

Říše: živočichové (*Animalia*), kmen: členovci (*Arthropoda*), podkmen: šestinozí (*Hexapoda*), třída: hmyz (*Insecta*), podtřída: křídlatí (*Pterygota*), řád: brouci (*Coleoptera*), čeleď: potemníkovití (*Tenebrionidae*), rod: potemník (*Zophobas*), druh: potemník brazilský (*Zophobas atratus*)

Tento druh převážně vegetuje v Jižní a Střední Americe. Velikost dospělce se pohybuje mezi 18 – 22 milimetry. Larvy jsou větší než u potemníka moučného a jejich velikost je 4 – 6 cm. Pro dospělce je typické matné černé tělo, které je až jeden centimetr široké. Tento druh se vyvíjí proměnou dokonalou, kdy samička klade bílá a úzká vajíčka. Po vylíhnutí jsou larvy žluté, jen hlavu a poslední články těla mají zbarvené tmavě hnědým odstínem. Po zakuklení je kukla obilně žlutá [36].



Obr. 10. Larva potemníka brazilského [37].



Obr. 11. Dospělec potemníka brazilského (autor Mgr. František Neuschl) [38].

3 HMYZ Z VÝŽIVOVÉHO HLEDISKA

Výživové hodnoty jedlého hmyzu jsou velmi variabilní. Každý jednotlivý druh jedlého hmyzu se liší svým složením. Nutriční hodnoty jsou rozdílné také u stejných druhů jedlého hmyzu, neboť prochází vývojovou přeměnou. Největší rozdíly jsou poté u druhů, které se vyvíjí proměnou dokonalou – jako jsou například včely, mravenci a brouci. Na nutriční hodnotu jedlého hmyzu má také dopad strava, kterou hmyz konzumuje a technologické zpracování, jako je například smažení, pečení nebo sušení [4].

3.1 Složení hmyzu

Hmyz je dobrým zdrojem živin a jeho výživové hodnoty jsou srovnatelné s ostatními živočišnými zdroji s vysokým obsahem bílkovin. Obecně platí, že hmyz může dodávat až 20 – 70 % surového proteinu, 30- 60 % aminokyselin, 10 – 50 % tuků. Jedlý hmyz je také dobrým zdrojem vitamínů a minerálních látek, které jsou důležité pro lidské zdraví. Hmyz je bohatý na draslík, měď, fosfor, železo, sodík, zinek, mangan a z vitamínů obsahuje zejména vitamín B₁ (thiamin), B₂ (riboflavin) a B₃ (niacin) [39].

3.1.1 Bílkoviny

Hmyz obsahuje velké množství bílkovin a jejich zastoupení se mění podle druhu hmyzu a jeho vývojové fáze [40].

Obecně se obsah bílkovin v hmyzu pohybuje v rozmezí 40 – 75 g na 100 g sušiny. Toto zastoupení je srovnatelné s obsahem bílkovin přítomných v masě. Kvalita bílkovin a jejich nutriční hodnota se určuje podle aminokyselin, které danou bílkovinu tvoří a dále podle stravitelnosti bílkovin [41]. Obsah bílkovin ovlivňuje také strava, kterou se hmyz živí. Při výzkumu sarančat v Nigerii, která byla krmena otrubami, bylo zjištěno, že obsah bílkovin byl až dvakrát vyšší než u sarančat, která byla krmena kukuřicí. [42].

Obecně platí, že živočišné bílkoviny mají vyšší nutriční hodnotu než rostlinné bílkoviny, neboť obsahují větší množství esenciálních aminokyselin [2].

Tab. 1. Srovnání průměrného obsahu bílkovin u hmyzu, ryb a savců [4].

Druh potraviny	Vývojové stádium	Obsah bílkovin (g/100 g živé váhy)
Saranče stěhovavá (<i>Locusta migratoria</i>)	Larva	14 - 18
Saranče stěhovavá (<i>Locusta migratoria</i>)	Dospělec	13 - 23
Bourec morušový (<i>Bombyx mori</i>)	Housenka	10 - 17
Potemník moučný (<i>Tenebrio molitor</i>)	Larva	14 - 25
Cvrček	Dospělec	8 - 25
Termiti	Dospělec	13 - 28
Hovězí dobytek	Syrové hovězí maso	19 - 26
Korýši	Humr	17 - 19

Aminokyseliny

Bílkoviny jsou vysokomolekulární látky, které jsou složeny z aminokyselin. Bílkoviny jsou složeny z více jak 20 druhů aminokyselin [8]. Aminokyseliny jsou klasifikovány jako postradatelné nebo nepostradatelné, tzv. esenciální. Esenciální aminokyseliny si lidský organizmus nedokáže sám syntetizovat a člověk tyto aminokyseliny musí přijímat v potravě. Mezi esenciální aminokyseliny patří: valin, leucin, izoleucin, methionin, threonin, fenylalanin, tryptofan a lysin. Pro dětský organizmus, který se ještě vyvíjí, jsou důležité ještě aminokyseliny histidin a arginin [40].

Poměr mezi esenciálními a neesenciálními aminokyselinami je důležitým faktorem. Aby potravina byla klasifikována jako vysoce kvalitní, tak nejméně 40 % z celkového obsahu aminokyselin musí být tvořeno právě z esenciálních aminokyselin. Ze studie 78 druhů jedlého hmyzu bylo zjištěno, že obsah esenciálních aminokyselin se pohyboval v rozmezí 46

– 96 %, zatímco stravitelnost bílkovin se pohybovala mezi 76 – 98 % [43]. Množství a zastoupení jednotlivých aminokyselin se v jedlém hmyzu liší. Nejnovější výzkumy prokázaly, že mnoho druhů jedlého hmyzu může být svým složením a zastoupením aminokyselin optimální stravou pro lidi a to včetně malých dětí [44].

3.1.2 Tuk

Lipidy mají nezbytné strukturní a biologické funkce a napomáhají při přepravě nutričně významných vitamínů, které jsou rozpustné v tucích [45].

Jedlý hmyz je bohatým zdrojem lipidů a jejich obsah se obvykle pohybuje v rozmezí 10 – 50 %. Obsah tuku obsažený v hmyzu závisí na mnoha faktorech, jako je druh, vývojová fáze, pohlaví, lokalita a strava, kterou hmyz konzumuje. Obsah tuků je vyšší u larev a kulek, zatímco u dospělců je jeho množství nižší. Samičky hmyzu obsahují více tuku než samci. Obsah esenciálních mastných kyselin je ve srovnání s ostatními živočišnými tuky u hmyzu vyšší [47].

Mnoho druhů jedlého hmyzu obsahuje mastné kyseliny s dlouhým řetězcem, zejména nenasycené omega-3 mastné kyseliny, které poskytují nezbytné prvky při vytváření mozkové tkáně [46]. Obsah nenasycených omega-3 mastných kyselin v moučném červu je srovnatelný s obsahem těchto kyselin u ryb [44].

Strava a enzymatická aktivita hmyzu ovlivňuje přítomnost různých druhů mastných kyselin [47]. Některé druhy jedlého hmyzu obsahují více esenciálních mastných kyselin, jako je kyselina linolová nebo linolenová, než maso [41]. Tyto esenciální mastné kyseliny mají velký nutriční význam především pro zdravý vývoj dětí a kojenců [48]. Obsah a složení mastných kyselin v jedlém hmyzu je ovlivněn stravou, kterou hmyz konzumuje. V průběhu zpracování potravinářských výrobků z hmyzu dochází k rychlé oxidaci z důvodu přítomnosti nenasycených mastných kyselin a tudíž i k jejich rychlému žluknutí [4].

3.1.3 Minerální látky a vitamíny

Příjem vitamínů a minerálních látek je nezbytný pro vývoj a zdraví člověka. Jedlý hmyz je z výživového hlediska velmi bohatý na minerální látky, jako jsou: sodík, draslík, zinek, mangan, vápník a fosfor [43]. Hmyz je obzvláště cenným zdrojem železa a většina druhů jedlého hmyzu má stejný nebo vyšší obsah železa než hovězí maso [4]. Obsah železa v hovězím mase se pohybuje kolem 6 mg na 100 g hmotnostní sušiny. Obsah železa

u sarančete stěhovavého (*Locusta migratoria*) se pohybuje v rozmezí 8 – 20 mg na 100 g sušiny. Tento obsah je závislý na potravě, kterou saranče konzumuje [49].

Mnoho druhů jedlého hmyzu je bohatých na vitamíny a to hlavně na vitamíny B₁, B₂, B₆, D, E, K, C a karoteny. Obsah vitamínu A je ovlivněn způsobem přípravy, kdy vysoké teploty tento vitamín ničí [47]. Včelí kukly jsou například mimořádně bohaté na vitamíny A a D, zatímco housenky jsou dobrým zdrojem vitamínů B₁, B₂ a B₆ [8]. Vitamín B₁₂ se vyskytuje pouze v potravinách živočišného původu a v jedlém hmyzu je dobře zastoupen u larev potměníka moučného (*Tenebrio molitor*), kde je jeho obsah 0,47 µg na 100 g sušiny. Dospělci cvrčka domácího (*Acheta domesticus*) obsahují 5,4 µg/100 g sušiny vitamínu B₁₂, kdežto jeho nymfy mají tohoto vitamínu až 8,7 µg na 100 g sušiny. Mnoho druhů jedlého hmyzu má velmi nízké hodnoty vitamínu B₁₂, což je důvod k dalším výzkumům pro identifikaci jedlého hmyzu, který je bohatý na tento vitamín [49].

Tab. 2. Nutriční obsah hmyzu ve srovnání s potravinami bohaté na bílkoviny [50].

Druh potraviny	Bílkoviny (g/kg)	Tuk (g/kg)	Energetický příjem (kcal/kg)	Thiamin (mg/kg)	Riboflavin (mg/kg)
Bourec morušový larvy	93	14	674	3,3	9,4
Cvrček domácí dospělec	205	68	142	0,4	34,1
Moucha domácí dospělec	197	19	918	11,3	77,2
Potměník moučný larvy	187	134	2056	2,4	8,1
Potměník peruánský larvy	197	177	2423	0,6	7,5
Zavíječ voskový larvy	141	249	2747	2,3	7,3
Hovězí maso	256	187	2776	0,5	1,8
Sušené mléko	265	268	4982	2,6	14,8

3.2 Hmyz jako potravina

Použití hmyzu jako potraviny pro člověka má potenciál na podstatné snížení podvýživy po celém světě. Poslední průzkumy Organizace spojených národů ukazují, že přibližně 805 milionů lidí trpí podvýživou [51].



Obr. 12. Tepelně upravený hmyz [44].

V roce 2050 se očekává, že nárůst lidské populace překoná hranici devíti miliard lidí. To je o 2 miliardy lidí více, jak v dnešní přelidněné planetě. Z těchto údajů vyplývá, že celosvětová produkce potravin se bude muset rozšířit zhruba o 60 procent. Na produkci potravin budou mít vliv také klimatické změny [39]. Tato situace by se mohla vyřešit chovem jedlého hmyzu a jeho zařazením do jídelníčku [51].

Velká výhoda chovu jedlého hmyzu a jeho následná distribuce je v jeho reprodukci, která je mnohem rychlejší než u hovězího dobytka. Samička cvrčka je schopna snést až 1 500 vajíček během 3 – 4 týdnů. Dospělá kráva je schopna porodit čtyři potomky do doby, než půjde na porážku. Z těchto údajů vyplývá, že efektivita chovu cvrčků je o 20 procent výnosnější než chov hovězího dobytka [3].

Po celém světě se konzumuje více jak tisíc druhů hmyzu, který se vyskytuje v různém vývojovém stádiu. V Americe je registrováno 679 druhů jedlého hmyzu, v Africe 524, v Asii

349, v Austrálii 152 a v Evropě je zaznamenáno 41 druhů [52]. Nejvíce registrovaných druhů má Mexiko, Thajsko, Indie, Kongo, Čína a Zambie [53].

3.2.1 Chut' a příprava hmyzu

V dnešní době už hmyz není konzumován pouze pro jeho nutriční obsah, ale také kvůli jeho chutnosti [39].

Hmyz se konzumuje v různém vývojovém stádiu. Vodní hmyz, jako jsou vážky nebo draví potápníci, se konzumuje ve stádiu nymf. Bourec morušový je konzumován jako larva nebo kukla. Mravenci mohou být konzumovány jako dospělci, ale připravují se i jejich vajíčka a kukly. Jedlý hmyz je upravován různými způsoby a může se pražit, smažit, vařit nebo dokonce dusit v banánovém listu. Při přípravě hmyzu se používá nejrůznější koření a bylinky, jako jsou česnek, chilli, bazalka a citrónová tráva, které zlepšují chuť a navíc napomáhají odstranit nepříjemnou vůni hmyzu. Ke konzumaci se připravuje zdravý a živý hmyz, ze kterého jsou před vařením obvykle odstraněny křídla, střeva a vnější kostra. V dnešní době se hmyz také prodává v konzervách. Konzervy s hmyzem se snadno připravují a mohou být skladovány po dobu několika měsíců nebo let [8].

Tab. 3. Chut' různých druhů hmyzu [54].

Druh hmyzu	Chut'
Cvrčci	Jemná, překrývaná ostatními chutěmi
Larvy dřevokazných brouků	Vepřová kůže
Larvy vodního hmyzu	Ryba
Kněžice	Jablka
Mouční červi	Celozrnný chléb
Mravenci	Sladká, téměř oříškova
Saranče	Jemná, překrývaná ostatními chutěmi
Termiti	Oříšky
Vosy	Borovicová semena

Tab. 4. Tradiční úprava některých druhů jedlého hmyzu v Thajsku [52].

Druh hmyzu	Příprava hmyzu
Bambusové housenky	Smažení s chilli pastou
Bourec morušový – housenky nebo kukly	Smažení, dušení
Cikády	Pečení, smažení, namáčení (ve směsi s chilli pastou)
Kobylky	Dušení, pečení, smažení
Krtonožka	Smažení, použití kari koření
Mrchožraví vodní brouci	Lehce obalení v kari koření a usmažení
Termiti	Pečení se solí, smažení
Velcí vodní brouci	Pražení, tepelná úprava s chilli pastou

3.3 Rizika spojená s konzumací hmyzu

Hmyz, stejně jako obratlovci, může obsahovat látky, které mohou po konzumaci představovat zdravotní riziko. Tyto zdravotní rizika jsou větší u hmyzu, který pochází z volné přírody než u hmyzu, který se chová v normalizovaném prostředí [4].

3.3.1 Mikrobiologická rizika

Hmyz získaný z volné přírody, ale i zemědělsky chovaný hmyz, obsahuje rozmanité množství mikroorganismů. Obě tyto skupiny hmyzu mohou být napadené patogenními mikroorganismy. Mikroorganismy jsou obsaženy ve střevní flóře, ale mohou se také vyskytovat na kutikule nebo na vnější kostře hmyzu [55].

Na mikrobiální bezpečnost jedlého hmyzu se podílí prostředí, ve kterém je hmyz chován, zpracování a podmínky skladování jedlého hmyzu [4].

3.3.2 Toxické látky

Toxické látky se do jedlého hmyzu mohou dostat dvěma způsoby. Toxické látky mohou být produkovány některými druhy jedlého hmyzu v určitém vývojovém stádiu nebo se tyto látky dostanou do těla potravou, kterou hmyz konzumuje. Hmyz produkuje toxické látky, které slouží k ochraně proti případným nepřítelům. Obranné sekrety, které mohou být reaktivní, dráždivé nebo toxické, jsou po chemické stránce: kyseliny, aldehydy, alkoholy, ketony, fenoly, estery, uhlovodíky a steroidy [56]. Například konzumace housenek *Cirina*

forda, které jsou pokryté chloupky, může být velmi nebezpečná. Tyto chloupky obsahují toxické látky a pro bezpečnou konzumaci takového hmyzu se musí tyto chloupky spálit [8].

Toxicita hmyzu je velkým problémem např. v Africe. Při invazi sarančat se pole s rostlinami stříkají různými pesticidy a toxické látky tak přecházejí do hmyzu, který konzumuje potravu na tomto poli [3].

3.3.3 Alergeny

Hmyzí tělo obsahuje významnou složku, kterou je chitin. Chitin je obsažen ve vnější kostře hmyzu a tvoří 5 – 15 % hmyzího těla. Lidskému tělu chitin prospívá jako vláknina, ale hrozí zde nebezpečí alergické reakce. Proto by jedlý hmyz neměli konzumovat lidé, kteří jsou alergičtí na korýše, neboť hmyz je jejich vzdálený příbuzný a může mít podobné alergen [4].

4 MIKROBIOLOGIE JEDLÉHO HMYZU

Jedlý hmyz, jako každý živý tvor, obsahuje různé mikroorganismy. Tyto mikroorganismy jsou přítomny na povrchu nebo uvnitř těla hmyzu a mohou ovlivnit bezpečnost pokrmu, který je z nich připraven [4].

Mikroflóra přítomná ve střevě hmyzu je nezbytná pro metabolismus a přežití hmyzu. Tato mikroflóra je obvykle odrazem životního stylu hmyzu, který je ve volné přírodě nebo v chovných podmínkách. Jedlý hmyz se zpracovává i s obsahem střev, a proto by se měl hmyz před samotným zpracováním nechat vyhladovět. Mikroflóra na povrchu těla hmyzu může obsahovat mikroorganismy, které jsou patogenní pro člověka [57].

4.1 Bakterie

Existuje jen velmi málo konkrétních vědeckých studií na mikrobiologickou bezpečnost jedlého hmyzu, který byl pěstován v kontrolovaných podmínkách. Z dostupných studií je hlášen vysoký počet bakterií a to mezi $10^5 - 10^7$ CFU/g [4].

Jedlý hmyz obsahuje především bakterie rodů: *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Bacillus*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Escherichia*, *Micrococcus*, *Lactobacillus* a *Acinetobacter* [57].

Např. čerství cvrčci domácí mají vyšší počáteční kontaminaci než tepelně opracovaní cvrčci. Vaření a následně smažení cvrčci měli zcela neaktivní sporulující bakterie i čeled' *Enterobacteriaceae* a nebyli tedy už zdraví škodliví. Cvrčci, kteří byli pouze vaření nebo jen smažení, neměli zcela inaktivovány sporulující bakterie. Ve smaženém vzorku cvrčka bylo stanoveno množství sporulujících bakterií až 3,0 log CFU/g. Tyto hodnoty nepřekročily nebezpečnou úroveň (>5 log CFU/g), ale při nevhodném skladování se mohou tyto bakterie pomnožit a potravinu bude pro spotřebitele nebezpečná [58].

Při mikrobiologickém rozboru larev moučného červa (*Tenebrio monitor*) a cvrčka domácího (*Acheta domesticus*), kdy byl tento hmyz vystaven na několik minut teplotě varu, bylo zjištěno, že čeled' *Enterobacteriaceae* byla zničena. Nicméně spory bakterií tento proces přežily a při dosažení optimálních podmínek mohou opět vyklíčit a způsobit kažení potravin. Tyto sporulující bakterie byly nalezeny ve střevech hmyzu a na vnější kostře. Samotné pražení nedokáže eliminovat všechny enterobakterie, proto se doporučuje několik minut před pražením hmyz ponořit do vroucí vody [59].

Při mikrobiologickém rozboru tří druhů rodu nosorožků (*Oryctus*), které se běžně konzumují v Africe, byly nalezeny v *Oryctus monocerus* patogenní bakterie, jako jsou: *Staphylo-*

coccus aureus, *Pseudomonas aeruginosa* a *Bacillus cereus*. Tato kontaminace mohla být způsobená nevhodným zpracováním a manipulací během maloobchodu. Vzhledem k tomu, že by konzumace tohoto hmyzu mohla představovat riziko pro spotřebitele, byl doporučen efektivnější tepelný ohřev, který dokonale zničí patogenní mikroorganismy [4].

Belgická studie provedla mikrobiologický rozbor pro zjištění počtu bakterií čeledi *Enterobacteriaceae*, aerobních a anaerobních bakterií u larev moučného červa (*T. molitor*), sarančat stěhovavých (*Locusta migratoria*) a larev potemníka brazilského (*Zophobas atratus*). Byly naměřeny vysoké hodnoty, kdy množství těchto bakterií bylo u zmíněného hmyzu až 10^7 CFU/g. Jiná belgická studie zkoumala zamražené vzorky larev moučných červů a sarančat. U těchto zamražených vzorků bylo naměřeno $10^7 - 10^9$ CFU/g aerobních bakterií a 10^4 CFU/g aerobních spor [57].

V Nizozemsku byl proveden výzkum mikrobiologické kvality u 55 výrobků z hmyzu (sarančata, menší mouční červi, larvy potemníka moučného), které kromě sublimačního sušení neprošly žádným ošetřením. V této studii bylo zjištěno, že 59 % z testovaných hmyzích výrobků překročilo hygienické limity v množství aerobních bakterií v surovinách používaných v masných polotovarech (10^6 CFU/g), zatímco koncentrace bakterií čeledi *Enterobacteriaceae* u 65 % vzorků překročila hygienické limity pro suroviny používaných v masných polotovarech (10^3 CFU/g). V 93 % vzorků byla koncentrace spor tvořena bakterií *Bacillus cereus* menší než 100 CFU/g. Studie také zkoumala přítomnost bakterií *Clostridium perfringens*, *Salmonella* a *Vibrio* a bylo zjištěno, že žádná z těchto bakterií se ve vzorcích hmyzu nevyskytovala [57].

Campylobacter lze snadno izolovat z hmyzu, který byl v kontaktu s infikovanou drůbeží. Z experimentů bylo však zjištěno, že *Campylobacter* může v těle hmyzu přežít pouze krátkou dobu [57].

Jiná studie analyzovala čtyři obchodní druhy hmyzu (*Zoophobas morio*, *Tenebrio molitor*, *Galleria mellonella* a *Acheta domesticus*), kdy tento hmyz nebyl určen k lidské spotřebě a pocházel z uzavřeného cyklu hmyzího hospodářství. Celkový počet mikroorganismů u těchto vzorků byl $10^5 - 10^6$ CFU/g a tvořily ho především grampozitivní bakterie, ale i koliformní bakterie. Grampozitivní populace byla většinou *Micrococcus* spp., *Lactobacillus* spp. (10^5 CFU/g) a *Staphylococcus* spp. (přibližně 10^3 CFU/g). *Salmonella* spp. a *Listeria monocytogenes* nebyly v testovaných vzorcích detekovány [4].

4.2 Plísně

Hmyz může být nosičem plísní a kvasinek, které jsou potenciálním rizikem pro lidi a zvířata. Hmyz je citlivý na entomopatogenní plísně produkující specifické toxiny, které způsobují jeho úmrtnost. Na koncentraci kvasinek a plísní se podílí hlavně prostředí, ve kterém je hmyz chován. Množství kvasinek a plísní také ovlivňuje manipulace, zpracování a následné skladování jedlého hmyzu.

U vzorků sarančete stěhovavého (*L. moratoria*) a potměníka moučného (*T. molitor*) byly stanoveny kvasinky i plísně, které se ve značném množství vyskytovaly v čerstvém, lyofilizovaném i zamraženém vzorku hmyzu. U laboratorně sušených vzorků těchto dvou druhů hmyzu byly izolovány plísně *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. [57].

Příklady rodů plísní izolovaných z hmyzu jsou *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Chaetomium*, *Mucor*, *Mucorales*, *Alternaria*, *Drechslera* a *Phoma* [60].

Přítomnost plísní v potravinách je nebezpečná z důvodu tvorby mykotoxinů. Mykotoxiny jsou sekundární metabolity, které jsou produkovány plísněmi [61].

Mykotoxiny přítomné v hmyzu mohou pocházet z patogenních plísní rodu *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. a *Fusarium* spp, které se nachází v substrátu, na kterém je hmyz chován, nebo jsou produkovány ve střevě hmyzu. Mykotoxiny mohou mít vliv na životaschopnost hmyzu. Přítomnost mykotoxinů byla zkoumána u mouchy domácí, kde bylo analyzováno 69 mykotoxinů. Z těchto mykotoxinů byl detekován beauvericin (6,9 µg/kg sušiny), enniatin A (12,5 µg/kg sušiny) a enniatin A1 (7,3 µg/kg sušiny) [57].

Vzhledem k tomu, že je v živém hmyzu mikroflóra velice rozmanitá, není vhodné konzumovat tento hmyz bez tepelné úpravy. Riziko představují patogenní bakterie, jako je *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* nebo *Bacillus cereus* a plísně *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. a *Fusarium* spp. Před zpracováním by měl být hmyz dokonale vyprázdněný, aby se snížila mikrobiální koncentrace. Po tepelné úpravě a při správném skladování je hmyz vhodný k přímé konzumaci.

4.3 Legislativa

Pro jedlý hmyz v České republice dodnes neexistuje legislativa, která by určovala podmínky chovu a prodeje hmyzu jako potraviny pro člověka. Jelikož v České republice roste zájem o jedlý hmyz, začala v roce 2008 Mendlova univerzita v Brně společně s paní doktorkou Borkovcovou jednat s Ministerstvem zdravotnictví o problematice konzumace jedlého

hmyzu v České republice. Přestože v České republice není platná legislativa, tak Ministerstvo zdravotnictví nemá v úmyslu bránit konzumaci hmyzu. Pro konzumaci jedlého hmyzu v České republice byla s pracovníky krajských hygienických stanic uzavřena dohoda, která uvádí, že konzumace jedlého hmyzu bude mít stejné podmínky jako konzumace tatarského bifteku v restauracích. Jedlý hmyz bude tedy konzumován na vlastní nebezpečí [62].

PRAKTICKÁ ČÁST

5 CÍL PRÁCE

Cílem této diplomové práce bylo:

- stanovit vybrané skupiny mikroorganismů ve vzorcích jedlého hmyzu;
- porovnat mikrobiální kvalitu u různých druhů jedlého hmyzu (*Gryllus*, *Locusta*, *Tenebrio*);
- porovnat mikrobiální kvalitu u stejného druhu hmyzu, ale v různých vývojových stádiích (*Bombyx mori*, *Locusta migratoria*);
- porovnat mikrobiální kvalitu živých, zamražených a tepelně opracovaných vzorků jedlého hmyzu.

6 MATERIÁL A METODY

6.1 Chemikálie a roztoky

- Imerzní olej (PENTA, Ing. Petr Švarc, Česká republika)
- Parafin (PENTA, Ing. Petr Švarc, Česká republika)
- Krystalová violet (Hi Media Laboratories Pvt. Ltd., Indie)
- Lugolův roztok (Hi Media Laboratories Pvt. Ltd., Indie)
- Karbolfuchsin (Hi Media Laboratories Pvt. Ltd., Indie)
- 3% KOH (Lach-Ner, Neratovice, ČR)
- Ethanol (Lach-Ner, Česká republika)

6.2 Přístroje a pomůcky

- Laboratorní mikroskop (Wedgwood AV Ltd., Velká Británie)
- Předvážky (Kern, Německo)
- Lednička (Electrolux, Německo)
- Autokláv (VARIOKLAV, Německo)
- Homogenizátor Stomacher (Seward, Velká Británie)
- Očkovací box (Clean Air, Nizozemí)
- Termostat (Memmert, Německo)
- Mikrovlnná trouba (Electrolux EMM 2005, Švédsko)
- Mikropipety (BIOHIT OY, Finsko)
- Třepačka Heidolph Promax 1020 (Německo)
- Biologický inkubátor s řízenou atmosférou CO₂ – Inkubátor Heracell 150i (ThermoScientific, USA)
- Anaerostat (Merck, Německo)
- Běžné laboratorní sklo a mikrobiologické pomůcky
- Fotoaparát SONY Cyber-shot, Japonsko

6.3 Kultivační média

- Plate Count Agar – PCA (Hi Media Laboratories Pvt. Ltd., Indie)
- Violet Red Bile Agar – VRBA (Hi Media Laboratories Pvt. Ltd., Indie)
- De Man Rogosa Sharpe Agar - MRS Agar; (Oxoid Ltd., Velká Británie)
- Chloramfenicol Yeast Glucose Agar – CHYGA (Oxoid Ltd., Velká Británie)
- Anaerobic Agar – AA (Hi Media Laboratories Pvt. Ltd., Indie)

6.3.1 Složení jednotlivých živných půd a jejich příprava

PCA (Plate Count Agar)

Půda PCA byla použita ke stanovení celkového počtu mezofilních mikroorganismů. Podle návodu bylo rozpuštěno 20,5 g dehydratované půdy v 1000 ml destilované vody. Takto připravená živná půda byla promíchána a dána do autoklávu, kde proběhla její sterilizace při 121 °C po dobu 20 minut.

VRBA (Violet Red Bile Agar)

Půda VRBA byla použita ke stanovení koliformních bakterií. Podle návodu bylo rozpuštěno 38,5 g dehydratované půdy v 1000 ml destilované vody. Takto připravená živná půda byla promíchána a dána do autoklávu, kde proběhla její sterilizace při 121 °C po dobu 20 minut.

MRS Agar (De Man Rogosa Sharpe Agar)

Půda MRS Agar byla použita ke stanovení mléčných bakterií – především na *Lactobacillus*. Podle návodu bylo rozpuštěno 55,15 g dehydratované půdy a 15 g agaru v 1000 ml destilované vody. Takto připravená živná půda byla promíchána a dána do autoklávu, kde proběhla její sterilizace při 121 °C po dobu 20 minut.

CHYGA (Chloramfenicol Yeast Glucose Agar)

Půda CHYGA byla použita ke stanovení kvasinek a plísní. Podle návodu bylo rozpuštěno 40 g dehydratované půdy v 1000 ml destilované vody. Takto připravená živná půda byla promíchána a dána do autoklávu, kde proběhla její sterilizace při 121 °C po dobu 20 minut.

AA (Anaerobic Agar)

Půda AA byla použita ke stanovení anaerobních bakterií. Podle návodu bylo rozpuštěno 58 g dehydratované půdy v 1000 ml destilované vody. Takto připravená živná půda byla promíchána a dána do autoklávu, kde proběhla její sterilizace při 121 °C po dobu 20 minut.

Příprava roztoku PPS:

Na 1000 ml roztoku bylo potřeba:

- 1 g peptonu (Hi Media Laboratories Pvt. Ltd., Indie);
- 8,5 g NaCl (PENTA, Ing. Petr Švarc, Česká republika).

Navážené složky byly rozpuštěné v 1000 ml destilované vody a roztok byl sterilizován v autoklávu při 121 °C po dobu 20 minut

Sterilní živné půdy byly po ochlazení rozlity do sterilních Petriho misek a po ztuhnutí byly uchovány v lednici dnem vzhůru.

6.4 Charakteristika vzorků

Veškeré vzorky jedlého hmyzu byly získány v rámci spolupráce s Mendlovou univerzitou v Brně.

6.4.1 Vzorky dlouhodobě zamraženého hmyzu

Charakteristika vzorků dlouhodobě zamraženého hmyzu je uvedena v Tab. 5.

Tab. 5. Přehled zamražených vzorků hmyzu

Druh hmyzu	Latinský název hmyzu	Stádium hmyzu	Datum zmražení
Bourec morušový	<i>Bombyx mori</i>	Housenky	20. 6. 2012
Bourec morušový	<i>Bombyx mori</i>	Kukly	20. 6. 2012
Cvrček stepní	<i>Gryllus assimilis</i>	Nymfy	13. 9. 2012
Potemník moučný	<i>Tenebrio molitor</i>	Larvy	13. 9. 2012
Potemník brazilský	<i>Zophobas morio</i>	Larvy	13. 9. 2012
Saranče stěhovavá	<i>Locusta migratoria</i>	Nymfy	13. 9. 2012
Saranče stěhovavá	<i>Locusta migratoria</i>	Dospělci	13. 9. 2012
Zavíječ voskový	<i>Galleria mellonella</i>	Housenky	20. 6. 2012

6.4.2 Vzorke tepelně upraveného hmyzu

Druh hmyzu, způsob tepelné úpravy a obecná charakteristika použitých vzorků je uvedena v Tab. 6.

Tab. 6. Přehled vzorků hmyzu po tepelné úpravě

Druh hmyzu	Latinský název hmyzu	Tepelná úprava	Stádium hmyzu
Cvrček stepní	<i>Gryllus assimilis</i>	Smažení na oleji	Nymfy
Cvrček stepní	<i>Gryllus assimilis</i>	Sušení	Nymfy
Moučný červ v chlebu	<i>Tenebrio molitor</i>	Pečení	Larvy
Potemník brazilský	<i>Zophobas morio</i>	Sušení	Larvy
Saranče stěhovavá	<i>Locusta migratoria</i>	Sušení s kořením	Nymfy

6.4.3 Vzorke živého hmyzu

Živý hmyz byl vložen do mikrotenového sáčku a tyto sáčky s hmyzem byly umístěny do mrazicího boxu, aby došlo k usmrcení hmyzu. Sáčky s hmyzem byly v mrazicím boxu ponechány 1 hodinu. Přehled stanovovaných živých vzorků je uveden v Tab. 7.

Tab. 7. Přehled živých vzorků hmyzu

Druh hmyzu	Latinský název hmyzu	Stádium hmyzu
Cvrček stepní	<i>Gryllus assimilis</i>	Nymfy
Potemník moučný	<i>Tenebrio molitor</i>	Larvy
Potemník brazilský	<i>Zophobas morio</i>	Larvy
Saranče stěhovavá	<i>Locusta migratoria</i>	Nymfy

6.5 Mikrobiologický rozbor

Byla provedena navážka jednotlivých vzorků, která se lišila podle velikosti a váhy jednotlivých kusů hmyzu.

Navážený vzorek zamraženého hmyzu byl umístěn do sterilní popsané nádoby, do které bylo přidáno 100 ml roztoku PPS. Vzorke byly v uzavřené nádobě dány na třepačku (Heidolph Promax 1020, Německo), kde byly po dobu 30 minut třepány. Tato suspenze byla poté označena jako ředění 10^0 . Do sterilních a popsaných zkumavek bylo odpipetováno 4,5

ml roztoku PPS. Do první zkumavky s roztokem PPS bylo přidáno 0,5 ml z ředění 10^0 a zkumavka byla protřepána. Vytvořilo se desítkové ředění, kdy bylo odebráno vždy 0,5 ml z předchozího ředění, a rozsah ředění byl proveden do ředění 10^{-3} . Z každého ředění bylo provedeno očkování roztěrem, kdy bylo odpipetováno 0,1 ml inokula na příslušnou půdu.

Čerstvě usmrcený hmyz byl asepticky navážen a nastříhán do homogenizačního sáčku, kam bylo přidáno 50 ml roztoku PPS a byla provedena homogenizace (Stomacher, Seward, Velká Británie) po dobu dvou minut. Bylo provedeno desítkové ředění, kde homogenizovaný sáček představoval ředění 10^0 a rozsah ředění byl proveden do ředění 10^{-5} . Z každého ředění bylo provedeno očkování roztěrem, kdy bylo odpipetováno 0,1 ml inokula na příslušnou půdu.

Živí cvrčci byli na několik sekund ponořeni do vroucí vody a poté byli přendáni na pánev s rozpáleným olejem, kde byli restováni. Takto tepelně upravený vzorek byl spolu s ostatními vzorky nastříhán do homogenizačního sáčku, kam bylo přilito 50 ml roztoku PPS a byla provedena homogenizace (Stomacher, Seward, Velká Británie). Každý vzorek byl homogenizován po dobu dvou minut. Následně bylo provedeno desítkové ředění, kde homogenizovaný sáček představoval ředění 10^0 a rozsah ředění byl proveden do 10^{-2} . Z každého ředění bylo provedeno očkování přelivem, kdy množství očkovaného inokula bylo 1 ml.

6.5.1 Stanovení celkového počtu mikroorganismů

Pomocí živné půdy PCA (Plate Count Agar) byl stanoven celkový počet mezofilních mikroorganismů, které byly přítomné ve vzorku jedlého hmyzu. Misky byly kultivovány aerobně dnem vzhůru v termostatech při teplotě $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu 48 hodin. Toto stanovení bylo provedeno u všech zkoumaných vzorků.

6.5.2 Stanovení koliformních bakterií

Koliformní bakterie byly stanoveny ve všech vzorcích jedlého hmyzu za pomoci živné půdy VRBA (Violet Red Bile Agar), která díky svému složení zabraňuje nárůstu jiných skupin mikroorganismů, než je čeleď *Enterobacteriaceae*. Naočkované misky byly kultivovány dnem vzhůru aerobně v termostatech při teplotě $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu 24 hodin.

6.5.3 Stanovení mléčných bakterií

Mléčné bakterie byly stanoveny u zamražených a živých vzorků jedlého hmyzu pomocí živné půdy MRS agar (De Man Rogosa Sharpe Agar). Naočkované misky se kultivovaly dnem vzhůru v termostatu s 10 % CO₂ při teplotě 37 °C po dobu 48 hodin.

6.5.4 Stanovení kvasinek a plísní

Pro zjištění přítomnosti kvasinek a plísní byla použita živná půda CHYGA (Chloramfenicol Yeast Glucose Agar). Tato živná půda obsahuje chloramfenikol, který působí jako inhibiční látka proti bakteriím. Kvasinky a plísně byly stanoveny ve vzorcích zamraženého a živého hmyzu. Naočkované misky byly kultivované dnem vzhůru při teplotě 25 °C po dobu 5 dní.

6.5.5 Stanovení aerobních a anaerobních sporulujících bakterií

Aerobní a anaerobní sporulující bakterie byly stanoveny u všech živých a tepelně upravených vzorků jedlého hmyzu. U zamraženého hmyzu byla tato skupina mikroorganismů stanovena pouze u čtyř vzorků. Do zkumavky bylo odpipetováno 5 ml z ředění 10⁰ a zkumavka byla vložena do vodní lázně, kde byla ponechána po dobu 5 minut při teplotě 80 °C. Ze zkumavky bylo odpipetováno 0,1 ml inokula, které bylo naočkováno se živnou půdou PCA (Plate Count Agar) a AA (Anaerobic agar). Naočkované misky s živnou půdou PCA byly kultivovány aerobně dnem vzhůru v termostatech při teplotě 30 °C po dobu 48 hodin a naočkované misky s živnou půdou AA byly kultivovány anaerobně v anaerostatu při teplotě 30 °C po dobu 48 hodin.

6.5.6 Stanovení anaerobních bakterií

Anaerobní bakterie byly stanoveny ve všech vzorcích jedlého hmyzu za pomoci živné půdy AA (Anaerobic agar). Naočkované misky s živnou půdou AA byly kultivovány anaerobně v anaerostatu při teplotě 30 °C po dobu 48 hodin.

6.5.7 Izolace a charakteristika bakteriálních izolátů

Z různých živných médií byly izolovány morfologicky rozlišné kolonie, které byly následně dále testovány.

KOH test

Na podložní sklo byl kápnut 3 % roztok KOH. Vyžíhanou a vychlazenou kličkou byla nabrána kolonie zkoumaného kmene a ta byla rozetřena v kapce KOH. Poté byla klička pomalu zvedána asi do výšky 1 cm. Pokud se za kličkou táhne vlákno, tak je kultura grampozitivní. Pokud se vlákno za kličkou netáhne, tak je kultura gramnegativní.

Gramovo barvení

Byl proveden nátěr testované kultury a připraven fixovaný preparát na podložním sklíčku. Na vychlazené sklíčko byl nalit roztok krystalové violeti, který působil 60 vteřin. Poté byl roztok slit a sklíčko bylo přelité Lugolovým roztokem. Po dalších 60 vteřinách byl slit a sklíčko bylo následně oplachováno destilovanou vodou 20 – 25 vteřin. Poté bylo podložní sklíčko odbarveno kyselým etanolem a bylo opláchnuto destilovanou vodou. Následovalo dobarvení karbolfuchsinem na dobu 30 – 60 vteřin. Sklíčko bylo opláchnuto destilovanou vodou. Na osušené podložní sklíčko byl nanesen imerzní olej a sklíčko bylo mikroskopováno pod imerzním objektivem.

Gramnegativní bakterie jsou pod mikroskopem červeně zbarvené a grampozitivní bakterie jsou zbarvené do modra až fialova.

6.5.8 Vyjádření výsledků

Po uplynutí kultivační doby byly na živných půdách spočítány kolonie, které na miskách vyrostly. Počty stanovovaných skupin mikroorganismů ve zkoumaném vzorku hmyzu byly vypočítány podle následujících vzorců:

$$N = \frac{\frac{\sum c}{n} \times V_2}{V_1 \times d \times m} \quad (1)$$

$$N = \frac{\frac{\sum c}{n} \times V_2}{V_1 \times d \times K_s} \quad (2)$$

Kde:

N – počet mikroorganismů [CFU.ml⁻¹; CFU.g⁻¹]

$\sum c$ – počet narostlých kolonií (příslušné skupiny mikroorganismů) použitých pro výpočet

d – ředící faktor odpovídající ředění pro výpočet

V₁ – objem inokula (pipetovaného vzorku (suspenze)) očkovaného na každou plotnu [ml]

V_2 – objem roztoku PPS použitého k homogenizaci vzorku [ml]

n – počet misek použitých pro výpočet

m – navážka vzorku [g]

K_s – počet kusů hmyzu použitého k mikrobiologickému rozboru

$$N < \frac{1 \times V_2}{V_1 \times d \times m} \quad (3)$$

$$N < \frac{1 \times V_2}{V_1 \times d \times ks} \quad (4)$$

Kde:

N – počet mikroorganismů [$\text{CFU} \cdot \text{ml}^{-1}$; $\text{CFU} \cdot \text{g}^{-1}$]

d – ředící faktor odpovídající nejnižšímu použitému ředění pro výpočet

$V - V_1$ – objem inokula (pipetovaného vzorku (suspenze)) očkovaného na každou plotnu [ml]

m – navážka vzorku [g]

V_2 – objem roztoku PPS použitého k homogenizaci vzorku [ml]

K_s – počet kusů hmyzu použitého k mikrobiologickému rozboru

7 VÝSLEDKY

7.1 Mikrobiologický rozbor zamraženého hmyzu

V první fázi diplomové práce byl proveden mikrobiologický rozbor 8 zamražených vzorků jedlého hmyzu. Byly stanovovány koliformní bakterie, celkové počty mikroorganismů, anaerobní bakterie, mléčné bakterie, kvasinky a plísňe a sporulující mikroorganismy.

Kolonie, které narostly na příslušných miskách, byly spočítány a následně dosazeny do vzorců (1) a (3). Z výpočtů bylo zjištěno množství příslušných mikroorganismů v jednom gramu vzorku jedlého hmyzu (Tab. 8.).

Výsledky na navážku

Tab. 8. Přehled výsledků u zamražených vzorků hmyzu na 1 gram.

Vzo- rek	Navážka [g]	Koliform- ní bakterie [CFU/g]	Celkové bakterie [CFU/g]	Anaerobní bakterie [CFU/g]	Mléčné bakterie [CFU/g]	Kvasinky a plísňe [CFU/g]	Sporu- láty [CFU/g]	
							Anaerobní	Aerobní
1.	1,4	$2,6 \cdot 10^5$	$4,7 \cdot 10^6$	$2,1 \cdot 10^5$	$5,0 \cdot 10^5$	$5,1 \cdot 10^5$	X	X
2.	5,9	$6,7 \cdot 10^4$	$4,4 \cdot 10^6$	$3,4 \cdot 10^6$	$3,1 \cdot 10^6$	$4,3 \cdot 10^4$	X	X
3.	2,0	$4,2 \cdot 10^6$	$3,4 \cdot 10^7$	$1,0 \cdot 10^7$	$2,4 \cdot 10^5$	$3,3 \cdot 10^4$	$< 1 \cdot 10^2$	$< 1 \cdot 10^2$
4.	4,6	$< 2,2 \cdot 10^2$	$7,8 \cdot 10^5$	$1,4 \cdot 10^6$	$4,8 \cdot 10^5$	$< 2,2 \cdot 10^2$	X	X
5.	1,1	$< 9,1 \cdot 10^2$	$3,6 \cdot 10^4$	$1,9 \cdot 10^4$	$1,8 \cdot 10^3$	$< 9,1 \cdot 10^2$	$< 9,1 \cdot 10^2$	$< 9,1 \cdot 10^2$
6.	1,4	$2,4 \cdot 10^5$	$1,5 \cdot 10^6$	$2,1 \cdot 10^5$	$7,1 \cdot 10^4$	$5,7 \cdot 10^4$	X	X
7.	1,0	$6,0 \cdot 10^4$	$1,9 \cdot 10^6$	$3,5 \cdot 10^5$	$1,5 \cdot 10^4$	$1,5 \cdot 10^4$	$2,8 \cdot 10^4$	X

Pokračování Tab. 8.								
8.	2,4	$1,9 \cdot 10^5$	$1,5 \cdot 10^5$	$4,2 \cdot 10^9$	$4,2 \cdot 10^4$	$< 4,2 \cdot 10^2$	$3,3 \cdot 10^3$	$< 4,2 \cdot 10^2$

Vz. č. 1 Cvrček stepní – nymfy, **vz. č. 2** Bourec morušový – housenky, **vz. č. 3** Potemník moučný – larvy, **vz. č. 4** Bourec morušový – kukly, **vz. č. 5** Saranče stěhovavá – nymfy, **vz. č. 6** Zavíječ voskový – housenky, **vz. č. 7** Saranče stěhovavá – dospělci, **vz. č. 8** Potemník brazilský – larvy

Příklady vzorových výpočtů na 1g

Zamražený vzorek č. 1 (cvrčci stepní – nymfy)

$$N = \frac{\frac{\sum c}{n} \times V_2}{V_1 \times d \times m} = \frac{\frac{370}{1} \times 100}{0,1 * 10^0 * 1,4} = 2,6 \cdot 10^5 \text{ CFU/g}$$

Zamražený vzorek č. 4 (bourec morušový – kukly)

$$N < \frac{1 \times V_2}{d \times V_1 \times m} = \frac{1 \times 100}{10^0 \times 0,1 \times 4,6}$$

$$N < 2,2 \cdot 10^2 \text{ CFU/g}$$

Množství mikroorganismů v jednom kuse jedlého zamraženého hmyzu bylo vypočítáno podle vzorce (2) a (4) a vypočítané hodnoty jsou uvedeny v Tab. 9.

Tab. 9. Přehled výsledků u zamražených vzorků hmyzu na 1 kus.

Vzo- rek	Počet kusů	Koliform- ní bakterie [CFU/ks]	Celkové bakterie [CFU/ks]	Anaerobní bakterie [CFU/ks]	Mléčné bakterie [CFU/ks]	Kvasinky a plísně [CFU/ks]	Sporulá- ty [CFU/ks]	
							Anaerobní	Aerobní
1.	12	$3,1 \cdot 10^4$	$6,6 \cdot 10^6$	$2,5 \cdot 10^4$	$5,8 \cdot 10^4$	$6,0 \cdot 10^4$	X	X
2.	3	$1,3 \cdot 10^5$	$8,7 \cdot 10^6$	$6,7 \cdot 10^6$	$6,0 \cdot 10^6$	$8,5 \cdot 10^4$	X	X

Pokračování Tab. 9.								
3.	32	$2,6 \cdot 10^5$	$2,1 \cdot 10^6$	$6,25 \cdot 10^5$	$1,5 \cdot 10^4$	$2,1 \cdot 10^3$	<31	<31
4.	3	$<3,3 \cdot 10^2$	$1,2 \cdot 10^6$	$2,2 \cdot 10^6$	$7,3 \cdot 10^5$	$<3,3 \cdot 10^2$	X	X
5.	1	$<1 \cdot 10^3$	$3,9 \cdot 10^4$	$2,1 \cdot 10^4$	$2,0 \cdot 10^3$	$<1 \cdot 10^3$	$<1 \cdot 10^3$	$<1 \cdot 10^3$
6.	18	$1,8 \cdot 10^4$	$1,2 \cdot 10^5$	$1,7 \cdot 10^4$	$5,6 \cdot 10^3$	$4,4 \cdot 10^3$	X	X
7.	1	$6,0 \cdot 10^4$	$1,9 \cdot 10^6$	$3,5 \cdot 10^5$	$1,5 \cdot 10^4$	$1,5 \cdot 10^4$	$2,8 \cdot 10^4$	X
8.	3	$1,5 \cdot 10^5$	$1,2 \cdot 10^5$	$3,3 \cdot 10^7$	$3,3 \cdot 10^4$	$<3,3 \cdot 10^2$	$2,7 \cdot 10^3$	$<3,3 \cdot 10^2$

Příklady vzorových výpočtů na 1 ks

Zamražený vzorek č. 1 (cvrčci stepní – nymfy)

$$N = \frac{\frac{\sum c}{n} \times V_2}{V_1 \times d \times Ks} = \frac{\frac{370}{1} \times 100}{0,1 \times 10^0 \times 12} = 3,1 * 10^4 \text{ CFU/Ks}$$

Při porovnání všech naměřených výsledků zamraženého hmyzu vyplývá, že největší celkovou koncentraci mikroorganismů v 1 g hmyzu obsahoval vzorek č. 3 (potemník moučný – larvy). Naopak při srovnání celkového množství mikroorganismů na jeden kus dopadl nejhůře vzorek č. 2. (bourec morušový – housenky). Rozdílnost výsledků je dána pravděpodobně v množství kusů moučných červů při stanovení, kdy jich k rozboru bylo použito 32 a u bource morušového byly použity pouze 3 kusy. Ostatní nejvyšší hodnoty byly stejné u kusů i navážky. Nejvíce koliformních bakterií obsahoval vzorek č. 3 (moučný červ – larvy).

Anaerobní bakterie obsahoval nejvíce vzorek č. 8 (potemník brazilský – larvy), naopak anaerobní spory obsahoval nejvíce vzorek č. 7 (saranče – dospělec) a aerobní spory byly zjištěny nejvíce u vzorku č. 5 (saranče – nymfy).

Největší množství mléčných bakterií bylo zjištěno u vzorku č. 2 (bourec morušový - housenky) a nejvíce kvasinek a plísní obsahoval vzorek č. 1 (cvrček – nymfa).

7.2 Mikrobiologický rozbor živého hmyzu

V druhé fázi diplomové práce byla provedena mikrobiologická analýza čtyř různých vzorků živého hmyzu. Byly stanovovány koliformní bakterie, celkové mikroorganismy, anaerobní bakterie, mléčné bakterie, kvasinky a plísňe a sporulující bakterie.

Kolonie, které během kultivace narostly na příslušných miskách, byly spočítány a následně dosazeny do vzorců (1), (2), (3) a (4). Množství stanovených skupin mikroorganismů bylo vypočítané na jeden gram (Tab. 10) a jeden kus (Tab. 11) živého hmyzu.

Tab. 10. Přehled výsledků u vzorků živého hmyzu na jeden gram.

Vzorek	Navážka [g]	Koliformní bakterie [CFU/g]	Celkové bakterie [CFU/g]	Anaerobní bakterie [CFU/g]	Mléčné bakterie [CFU/g]	Kvasinky a plísňe [CFU/g]	Sporuláty [CFU/g]	
							Anaerobní	Aerobní
1.	2,3	$1,5 \cdot 10^5$	$2,8 \cdot 10^5$	$3,7 \cdot 10^5$	$1,5 \cdot 10^4$	$< 2,2 \cdot 10^2$	$< 2,2 \cdot 10^2$	$< 2,2 \cdot 10^2$
2.	2,4	$3,5 \cdot 10^4$	$3,3 \cdot 10^6$	$3,1 \cdot 10^7$	$5,8 \cdot 10^6$	$4,4 \cdot 10^5$	$< 2,1 \cdot 10^2$	$< 2,1 \cdot 10^2$
3.	3,6	$3,8 \cdot 10^7$	$2,2 \cdot 10^8$	$6,8 \cdot 10^8$	$3,6 \cdot 10^8$	$2,6 \cdot 10^3$	$2,8 \cdot 10^2$	$< 1,4 \cdot 10^2$
4.	1,8	$1,9 \cdot 10^8$	$2,2 \cdot 10^8$	$3,1 \cdot 10^8$	$7,2 \cdot 10^7$	$8,9 \cdot 10^3$	$< 2,8 \cdot 10^2$	$< 2,8 \cdot 10^2$

Vz. č. 1 Saranče stěhovavá – nymfy, vz. č. 2 Cvrček stepní – nymfy, vz. č. 3 Potemník brazilský – larvy, vz. č. 4 Potemník moučný – larvy

Příklad vzorového výpočtu vzorku č. 1 (živé saranče stěhovavé – nymfy)

$$N = \frac{\frac{\sum c}{n} \times V_2}{V_1 \times d \times m} = \frac{\frac{7}{1} \times 50}{0,1 * 10^{-2} * 2,3} = 1,5 \cdot 10^5 \text{ CFU/g}$$

$$N < \frac{1 \times V_2}{V_1 \times d \times m} = \frac{1 \times 50}{0,1 \times 10^0 \times 2,3}$$

$$N < 2,2 \cdot 10^2 \text{ CFU/g}$$

Tab. 11. Přehled výsledků u živých vzorků hmyzu na 1 kus.

Vzorek	Počet kusů	Koliiformní bakterie [CFU/ks]	Celkové bakterie [CFU/ks]	Anaerobní bakterie [CFU/ks]	Mléčné bakterie [CFU/ks]	Kvasinky a plísně [CFU/ks]	Sporuláty [CFU/ks]	
							Anaerobní	Aerobní
1.	2	$1,75 \cdot 10^5$	$3,25 \cdot 10^5$	$4,25 \cdot 10^4$	$1,75 \cdot 10^4$	$< 2,5 \cdot 10^2$	$< 2,5 \cdot 10^2$	$< 2,5 \cdot 10^2$
2.	5	$1,7 \cdot 10^4$	$1,6 \cdot 10^6$	$1,5 \cdot 10^7$	$2,8 \cdot 10^6$	$2,1 \cdot 10^5$	$< 1 \cdot 10^2$	$< 1 \cdot 10^2$
3.	4	$3,5 \cdot 10^7$	$2,0 \cdot 10^8$	$6,1 \cdot 10^8$	$3,25 \cdot 10^8$	$2,4 \cdot 10^3$	$2,5 \cdot 10^2$	$< 1,3 \cdot 10^2$
4.	23	$1,5 \cdot 10^7$	$1,7 \cdot 10^7$	$2,4 \cdot 10^7$	$5,65 \cdot 10^6$	$7,0 \cdot 10^2$	< 22	< 22

Vz. č. 1 Saranče stěhovavá – nymfy, **vz. č. 2** Cvrček stepní – nymfy, **vz. č. 3** Potemník brazilský – larvy, **vz. č. 4** Potemník moučný – larvy

Jako vzorek s nejvyšším celkovým množstvím mikroorganismů byl stanoven vzorek č. 3 (potemník brazilský – larvy). Jeho hodnoty celkových mikroorganismů byly nejvyšší u kusu i u výpočtů na jeden gram vzorku. Hodnoty koliiformních bakterií se lišily, u výsledku na kus vyšlo nejvyšší zastoupení u vzorku č. 3 (potemník brazilský – larvy) a množství koliiformních bakterií, které se vztahovaly na jeden gram, byly nejvyšší u vzorku č. 4 (moučný červ – larvy). Mléčné a anaerobní bakterie byly u obou výpočtů stejné a nejvyšší množství těchto bakterií bylo stanoveno u vzorku č. 3 (potemník brazilský). Množství spo-

rulujících bakterií je ve všech vzorcích živého hmyzu minimální. Plísně a kvasinky byly zaznamenány v nejvyšším množství u vzorku č. 2 (cvrček – nymfy).

7.3 Mikrobiologický rozbor tepelně upraveného hmyzu

V poslední fázi diplomové práce byl proveden mikrobiologický rozbor tepelně upraveného jedlého hmyzu. V tomto rozboru bylo analyzováno pět vzorků jedlého hmyzu a stanovovali se koliformní bakterie, celkové mikroorganismy, anaerobní a sporulující bakterie.

Kolonie, které narostly na příslušných miskách, byly spočítány a následně dosazeny do vzorců (1) a (3). Vypočítaná množství stanovených mikroorganismů na 1 gram vzorku jedlého hmyzu jsou uvedena v Tabulce 12. Množství mikroorganismů v jednom kuse tepelně upraveného vzorku hmyzu (Tab. 13) bylo počítáno pomocí vzorce (2) a (4).

Tab. 12. Přehled výsledků tepelně upravených vzorků hmyzu na jeden gram.

Vzorek	Navážka [g]	Koliformní bakterie [CFU/g]	Celkové bakterie [CFU/g]	Anaerobní bakterie [CFU/g]	Sporuláty [CFU/g]	
					Anaerobní	Aerobní
1.	2	<25	<25	<25	<25	<25
2.	0,8	<63	<63	$6,25 \cdot 10^2$	<63	<63
3.	0,8	<63	<63	$7,5 \cdot 10^3$	<63	<63
4.	1,8	<28	<28	$1,0 \cdot 10^3$	$8,3 \cdot 10^1$	<28
5.	4	<15	$2,5 \cdot 10^2$	$2,9 \cdot 10^3$	<15	<15

vz. č. 1 Cvrček stepní – nymfy (smažen na oleji), vz. č. 2 Sušené saranče stěhovavá v koření, vz. č. 3 Sušený cvrček stepní, vz. č. 4 Sušený potěmník brazilský, vz. č. 5 Potěmník moučný (larvy) zapečený v chlebu

Příklady výpočtů:

Vzorek č. 2 Sušené saranče v koření

$$N = \frac{\frac{\sum c}{n} \times V_2}{V_1 \times d \times m} = \frac{\frac{10}{1} \times 50}{1 * 10^0 * 0,8} = 6,25 \cdot 10^2 \text{ CFU/g}$$

Vzorek č. 1 Cvrček stepní – nymfy (smažen na oleji)

$$N < \frac{1 \times V_2}{V_1 \times d \times m} = \frac{1 \times 50}{1 \times 10^0 \times 2}$$

$$N < 25 \text{ CFU/g}$$

Tab. 13. Přehled výsledků tepelně upravených vzorků hmyzu na jeden kus.

Vzorek	Počet kusů	Koliformní bakterie [CFU/ks]	Celkové bakterie [CFU/ks]	Anaerobní bakterie [CFU/ks]	Sporuláty [CFU/ks]	
					Anaerobní	Aerobní
1.	6	<10	<10	<10	<10	<10
2.	2	<25	<25	$2,5 \cdot 10^2$	<25	<25
3.	6	<10	<10	$1 \cdot 10^3$	<10	<10
4.	4	<15	<15	$4,6 \cdot 10^2$	35	<15

vz. č. 1 Cvrček stepní – nymfy (smažen na oleji), **vz. č. 2** Sušené saranče stěhovavá v koření, **vz. č. 3** Sušený cvrček stepní, **vz. č. 4** Sušený potemník brazilský, **vz. č. 5** Potemník moučný (larvy) zapečený v chlebu

Vzorek č. 5 (moučný červ zapečený v chlebu) se na počet kusů nepřepočítával, jelikož počet moučných červů v navážce byl příliš vysoký a tudíž nebyl znám.

Z výsledku tepelně opracovaného jedlého hmyzu vyplývá, že tepelný záhřev napomáhá k výraznému snížení počtu mikroorganismů. Celkové mikroorganismy měly nejvyšší zastoupení u vzorku č. 5 (moučný červ zapečený v chlebu). Je zarážející, že nejvyšší hodnoty vyšly právě u vzorku moučného červa zapečeného v chlebu, kdy je během technologického postupu dosažena vysoká teplota. Výsledek je pravděpodobně ovlivněn kontaminací a nes-terilním zacházením při transportu vzorku.

8 DISKUZE

8.1 Mikroflóra jedlého hmyzu

8.1.1 Koliformní bakterie

Koliformní bakterie jsou zařazeny do čeledi *Enterobacteriaceae* a jsou definované jako gramnegativní, nesporulující, fakultativně anaerobní bakterie ve tvaru tyčinek. Mezi koliformní bakterie patří: *Escherichia coli*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella* [63]. *Escherichia coli* je bakterie, která se vyskytuje v tlustém střevě člověka nebo zvířete, aniž by se negativně projevovала na zdraví. Některé kmeny *E. coli* obsahují enterotoxiny, které způsobují průjmky, hnisavá onemocnění ran a onemocnění močových cest. *Klebsiella pneumoniae* může příležitostně způsobit infekci močových cest a pneumonii. *Enterobacter aerogenes* je nebezpečný, pokud má člověk oslabenou imunitu. V takovém případě je původcem meningitidy a také může způsobovat infekci močových cest [64].

8.1.1.1 Stanovení koliformních bakterií ve vzorcích jedlého hmyzu

Odborná literatura neuvádí množství pouze koliformních bakterií v jedlém hmyzu, ale zabývá se celou čeledí *Enterobacteriaceae*. Klunder a kol. [59] stanovili počty bakterií čeledi *Enterobacteriaceae* v živých vzorcích larev potměníka moučného v množství 6,8 log CFU/g a v cvrčku domácím 4,2 log CFU/g. Stoops a kol. [65] zase uvádí počty bakterií čeledi *Enterobacteriaceae* v potměníku moučném od 6,8 do 7,6 log CFU/g a pro saranče stěhovavé stanovili hodnotu čeledi *Enterobacteriaceae* v rozmezí 7,1 – 7,6 log CFU/g. Amadi a kol. [66] stanovili počty bakterií čeledi *Enterobacteriaceae* v živém dospělém vzorku *Rhynchophorus phoenicis* v množství 6,6 log CFU/g. Vandeweyer a kol. [67] uvádí množství čeledi *Enterobacteriaceae* v živých vzorcích potměníka moučného 4,8 – 6,5 log CFU/g a v živých vzorcích cvrčka domácího byla hodnota těchto bakterií stanovena v rozmezí od 7,5 do 8,0 log CFU/g. Koliformní bakterie v této práci byly zastoupeny u vzorku živého potměníka moučného v počtu 8,3 log CFU/g, u vzorku živého cvrčka stepního v počtu 4,5 log CFU/g a živé saranče stěhovavé obsahovalo 5,2 log CFU/g koliformních bakterií. Z literatury i z této práce je patrné, že počty koliformních bakterií jsou u jedlého hmyzu značně kolísavé. Nejvíce množství koliformních bakterií u živého hmyzu ovlivní prostředí, ve kterém je hmyz chován.

Klunder a kol.[59] stanovili počty bakterií *Enterobacteriaceae* ve vařených vzorcích potměníka moučného a cvrčka domácího v množství < 1 log CFU/g. Naměřené hodnoty koli-

formních bakterií této práce pro pečeného potemníka moučného byly stanoveny v množství menším jak 1,1 log CFU/g a smažený cvrček stepní obsahoval těchto bakterií méně jak 1,4 log CFU/g. Z výsledků této práce vyplývá, že tepelný záhřev efektivně ničí koliformní bakterie a tato skutečnost je ve shodě s literaturou.

8.1.1.2 Izolované druhy koliformních bakterií z jedlého hmyzu

Z živné půdy Violet Red Bile Agar byly všechny izolované kmeny identifikované KOH testem jako gramnegativní bakterie. Přehled všech izolovaných kmenů a jejich morfologie je uveden v Příloze PI. Dillon a Charnley [68] izolovali z vnitřností sarančete pustinného (*Schistocerca gregaria*) bakterie *Klebsiella* spp. a *Escherichia coli*. Stoops a kol. [65] prokázali v nymfách sarančete stěhovavého přítomnost bakterií rodů *Klebsiella* spp. a *Enterobacter*. *Klebsiella* spp. byla také izolována z opracovaných larev *Rhynchophorus phoenicis* [66]. Banjo a kol.[69] izolovali z živých larev nosorožíka (*Oryctes monoceros*) bakterie *Escherichia coli* a *Klebsiella aerogenes*.

8.1.2 Celkový počet mikroorganismů

8.1.2.1 Stanovení celkového počtu mikroorganismů

Klunder a kol. [59] v živých larvách potemníka moučného stanovili 7,7 log CFU/g celkových mikroorganismů a v živých nymfách cvrčka domácího bylo množství celkového počtu mikroorganismů 7,2 log CFU/g. Vandeweyer a kol. [67] uvádí celkovou koncentraci mikroorganismů u cvrčka domácího hodnotou 8,2 – 8,4 log CFU/g a u larev potemníka moučného bylo množství celkového počtu mikroorganismů 8,0 – 8,5 log CFU/g. Stoops a kol. [65] uvádí množství celkových mikroorganismů v živém sarančeti stěhovavém v množství 7,8 – 8,6 log CFU/g a živé larvy potemníka moučného ve stejné literatuře obsahovaly 7,7 – 8,3 log CFU/g CPM. Stanovené celkové mikroorganismy v této práci u živých larev potemníka moučného (8,34 log CFU/g) se shodují s výsledky literatury, ale stanovené živé nymfy cvrčka stepního a živé nymfy sarančete stěhovavého měly v této práci celkovou koncentraci mikroorganismů menší, než literatura. Tato rozdílnost je způsobena v množství mléčných a koliformních bakterií, kterou měly literární zdroje také vyšší. Podobně tomu bylo i s množstvím kvasinek a plísní.

8.1.2.2 Izolované kmeny z PCA

Z živné půdy Plate Count Agar bylo v této práci izolováno 13 kmenů, které na živné půdě tvořily žluté lesklé kolonie. Tři bakterie byly identifikovány KOH testem jako gramnegativní a 10 jako grampozitivní bakterie. Podle Gramova barvení bylo zjištěno, že z grampozitivních bakterií byla jedna bakterie ve tvaru tyčinek a druhá tvořila koky. Podle složení mikroflóry jedlého hmyzu z literatury je možné, že izolované grampozitivní kokovité bakterie patřily mezi rod *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus* nebo *Streptococcus*. Grampozitivní bakterie ve tvaru tyčinek mohla být z rodu *Bacillus* nebo *Lactobacillus*. Ostatní izolované kmeny a jejich morfologie jsou uvedeny v Příloze PI.

Stoops a kol. [65] se zabývali bakteriálním zastoupením ve vzorku potměníka moučného a sarančete stěhovavého. Oba druhy zkoumaného hmyzu obsahovaly rozmanité bakteriální zastoupení. V larvách potměníka moučného byly izolované bakterie z kmene *Proteobacteria*, *Firmicutes* a *Actinobacteria* a nymfy sarančete stěhovavého obsahovaly kmeny *Proteobacteria*, *Firmicutes*. Tyto kmeny se mohou vyskytovat ve střevech mnoha druhů hmyzu [70]. Dále bylo zjištěno, že larvy potměníka moučného obsahují rody *Haemophilus*, *Staphylococcus* a *Clostridium*, které mohou obsahovat patogenní druhy. Stejně tak Banjo a kol.[69] prokázali, že hmyz může obsahovat různé druhy patogenních bakterií a plísní, jako jsou: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus* a *Aspergillus niger*. Stoops a kol. [65] izolovali z nymf sarančete stepního rod *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Yersinia* a *Rahnella*.

8.1.3 Mléčné bakterie

Pravé bakterie mléčného kvašení jsou grampozitivní, nesporulující, nepohyblivé tyčinky a koky. Za fakultativně anaerobních podmínek jsou schopny fermentovat sacharidy za vzniku kyseliny mléčné. Mezi hlavní zástupce této skupiny patří: *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc* a *Lactobacillus*. Mléčné bakterie produkují enzymy, které přeměňují složky potravy na jednodušší látky, které napomáhají k výživě všech lidských buněk. Rod *Lactobacillus* umožňuje produkci vitamínů, napomáhá při vstřebávání látek – zejména železa a vápníku, a napomáhá ke zvýšení imunitní schopnosti člověka. Mléčné bakterie mají pozitivní vliv hlavně ve střevní mikroflóře, kde zlepšují peristaltiku střev a zároveň zabraňují množení škodlivých bakterií. [71].

8.1.3.1 Stanovení mléčných bakterií ve vzorcích jedlého hmyzu

Vandeweyer a kol. [67] se zabývali stanovením množství mléčných bakterií v živých vzorcích larev potemníka moučného (*Tenebrio monitor*) a nymf cvrčka domácího (*Acheta domestica*), kdy oba vzorky byly chovány v průmyslovém měřítku k lidské spotřebě. Uvedené množství mléčných bakterií v larvách potemníka moučného bylo v rozmezí od 7,4 do 8,2 log CFU/g. Vzorek cvrčka domácího v tomto článku obsahoval od 7,3 do 7,9 log CFU/g mléčných bakterií. Stoops a kol. [65] uvádí množství mléčných bakterií v živých vzorcích pátého vývojového stádia nymf sarančete stěhovavého (*Locusta migratoria*) v rozmezí 7,6 – 8,5 log CFU/g a u potemníka moučného (*Tenebrio monitor*) bylo množství těchto bakterií stanoveno v rozmezí od 7,0 – 7,6 log CFU/g. Hodnoty mléčných bakterií potemníka moučného a cvrčka domácího jsou ve shodě s výsledky této práce, kde stanovované živé larvy potemníka moučného obsahovaly 7,9 log CFU/g mléčných bakterií a živé nymfy cvrčka stepního obsahovaly 6,8 log CFU/g mléčných bakterií. Nepatrně rozdílné hodnoty mléčných bakterií u vzorku cvrčka jsou patrně způsobené stanovením jiného druhu tohoto jedlého hmyzu. Množství mléčných bakterií se výrazně liší u vzorků saranče stěhovavého, kdy v této práci bylo ve vzorku stanoveno pouze 4,2 log CFU/g těchto bakterií. Tato odchylka je pravděpodobně způsobena stářím nymf. Bohužel není známo, v jakém vývojovém stádiu nymf se stanovované saranče v této práci nacházelo, ale podle hodnot mléčných bakterií u zamražených vzorků sarančete stěhovavého je patrné, že starší vývojové stádium obsahuje více mléčných bakterií. Ze zjištěných výsledků tedy vyplývá, že vývojové stadium nymf, které bylo použito pro tuto práci, bylo mladší než páté (poslední) vývojové stádium tohoto druhu jedlého hmyzu.

8.1.3.2 Izolace bakterií z živné půdy De Man Rogosa Sharpe

Z živné půdy De Man Rogosa Sharpe Agar byly všechny izolované kmeny zařazeny ke grampozitivním bakteriím. Největší skupinu tvořilo dvanáct kmenů, jejichž kolonie byly lesklé bílé barvy a měly pravidelný tvar. Přehled dalších izolovaných kmenů z této živné půdy je uvedeno v Příloze PI. Mezi nejčastější mléčné bakterie jedlého hmyzu podle literatury patří rod *Streptococcus*, *Lactobacillus*, ale může to být také rod *Micrococcus*. Braide a Nwaoguikpe [72] izolovali a identifikovali z opracovaných larvev *Rhynchophorus phoenicis* bakterie *Lactobacillus plantarum*. *Lactobacillus plantarum* jsou bakterie, které způsobují kažení potravin. Přítomnost této bakterie naznačuje, že je potravina při špatné manipulaci a zpracování náchylná k znehodnocení [73]. Stoops a kol. [65] identifikovali v nymfách sarančete stěhovavého rod *Lactococcus*.

8.1.4 Kvasinky a plísňe

Množství kvasinek a plísni ovlivňuje manipulace, zpracování a následné skladování jedlého hmyzu. Konzumace jedlého hmyzu, který má vyšší množství kvasinek a plísni může být pro konzumenta nebezpečná, jelikož plísňe produkují sekundární metabolity tzv. mykotoxiny, které mají pro člověka mnoho nežádoucích účinků. Mezi nejvíce toxické mykotoxiny patří: aflatoxin, patulin, ochratoxin A, zearaleon, luteoskyrin, sporidesminy, cyklochlorotin, citreoviridin, rubratoxiny, penitrem A [74]. Aflatoxiny jsou heterocyklické sloučeniny, které jsou produkovány plísněmi *Aspergillus parasiticus* a *Aspergillus flavus*. Aflatoxiny mají toxický účinek hlavně na ledviny a játra, jsou imunotoxické, karcinogenní, hepatotoxické a mutagenní. Ochratoxin A je produkován plísní *Penicillium viridicatum* a *Aspergillus ochraceus* a má stejné vlastnosti jako aflatoxin. Plísňe rodu *Aspergillus clavatus*, *Aspergillus giganteus*, *Penicillium claviforme* a *Penicillium expansum* produkují patulin, který je mutagenní, karcinogenní a teratogenní. Dále způsobuje krvácení střev a jeho toxicitou dochází ke vzniku vředů v trávicím traktu [75,76,77].

8.1.4.1 Stanovení kvasinek a plísni ve vzorcích jedlého hmyzu

Vandeweyer a kol.[67] uvádí množství kvasinek a plísni v živých vzorcích larev potměšáka moučného (*Tenebrio molitor*) v rozmezí od 4,8 do 5,6 log CFU/g, zatímco živý cvrček domácí (*Acheta domestica*) obsahoval od 6,0 do 6,1 log CFU/g kvasinek a plísni. Stoops a kol. [65] stanovili množství kvasinek a plísni v živém potměšáku moučném v rozmezí 5,2 – 5,7 log CFU/g a v živém sarančeti stěhovavém (*Locusta migratoria*) bylo toto množství v rozmezí 5,0 – 5,4 log CFU/g. Živý cvrček stepní stanovovaný v této práci obsahoval 5,64 log CFU kvasinek a plísni a přiblížil se tak k výsledkům v literatuře. Ostatní stejné druhy živého hmyzu měly množství kvasinek a plísni menší. Tato rozdílnost je pravděpodobně způsobena rozdílným chovem jedlého hmyzu.

8.1.4.2 Izolované druhy kvasinek a plísni z jedlého hmyzu

Literatura uvádí, že v hmyzu byly stanoveny plísňe rodu *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Chaetomium*, *Mucor*, *Mucorales*, *Alternaria*, *Drechslera* a *Phoma* [60]. Braide a Nwaoguikpe [72] izolovali a identifikovali z opracovaných larev *Rhynchophorus phoenicis* plísňe *Cladosporium* sp., *Aspergillus flavus*, *Penicillium verrucosum*, *Fusarium poae* a kvasinku *Saccharomyces cerevisiae*. Plísňe rodu *Cladosporium* a druhu *Fusarium poae* se vyznačují rychlým tempem růstu a způsobují kažení potravin během skladování. *Fusarium*

poae se navíc podílí na produkci silných mykotoxinů [78]. *Penicillium verrucosum* produkuje toxický sekundární metabolit citrinin a dále produkuje také ochratoxin A [72].

8.1.5 Aerobní a anaerobní sporulující bakterie

Sporulující bakterie jsou grampozitivní tyčinky, příp. koky. Tyto bakterie tvoří v nepříznivých podmínkách rezistentní spory, které dělají bakterie odolnější. Sporulující bakterie jsou nebezpečné kvůli jejich schopnosti produkovat toxiny a antibiotické látky, na které lidský organizmus není zvyklý. Z potravinářského hlediska jsou nejvíce nebezpečné druhy *Bacillus cereus* a *Clostridium botulinum* [79].

Rod *Bacillus* je taxonomicky zařazen do domény *Bacteria*, kmene *Firmicutes*, třídy *Bacilli* a řádu *Bacillales*. Nejznámější *Bacillus cereus* patří do skupiny sporulujících grampozitivních fakultativně anaerobních tyčinek a je vysoce termorezistentní. Produkuje dva typy toxinů. Enterotoxiny způsobují průjemové onemocnění a jejich inkubační doba se pohybuje v rozmezí 8 – 16 hodin. Nákaza emetickým toxinem vyvolává křeče v břiše a zvracení. Inkubační doba emetického toxinu je 0,5 – 6 hodin [80,81,82].

Rod *Clostridium* je taxonomicky zařazen do domény *Bacteria*, kmene *Firmicutes*, třídy *Clostridia* a řádu *Clostridiales*. *Clostridium* ssp. je charakterizován jako sporulující grampozitivní, tyčinková, anaerobní bakterie. Tvoří kulaté či oválné endospory a některé druhy obsahují peritrichární bičíky, takže jsou pohyblivé. Jejich enzymová výbava je schopna kvasit sacharidy a rozkládat proteiny [83]. Nejnebezpečnější zástupce rodu *Clostridium* je *Clostridium botulinum*. Tato bakterie produkuje nejsilnější bakteriální toxiny. Nejznámější jsou otravy botulotoxinem, známým jako „klobásový jed“. Tento toxin způsobuje jednak počáteční žaludeční nevolnosti, jako jsou zvracení, bolesti břicha, ale dále tzv. svalovou paralýzu. Nejdříve jsou zasaženy hlavové nervy, kdy dochází k omezení pohybu okohybných svalů a očních víček a přechází k paralýze končetin a jiných svalů. Otrava botulismem může nastat ze tří možností. Toxin byl obsažen v potravě, která byla konzumovaná a nastává tzv. alimentární botulismus nebo je toxin vyprodukovaný v ráně a nastává traumatický botulismus. Poslední možností je kojenecký botulismus, který nastává při požití spor a produkcí endotoxinu v dětském střevě. Otravy botulotoxinem mohou být smrtelné [84,85,86].

8.1.5.1 Stanovení aerobních a anaerobních sporulujících bakterií

Klunder a kol. [59] stanovili v živém potměníku moučném množství bakteriálních spor 2,1 log CFU/g a v živém cvrčku domácím byla hodnota sporulátů 3,6 log CFU/g. Stanovené hodnoty sporulátů u potměníka moučného jsou s výsledky této práce podobné. U vzorku cvrčka jsou hodnoty rozdílné. Cvrček stepní stanovovaný v této práci měl množství bakteriálních spor menší, a to 2,3 log CFU/g. Hanboonso a Durst [58] uvádí, že množství sporulujících bakterií v jedlém hmyzu je nebezpečné, pokud je jejich hodnota vyšší než 5 log CFU/g. Žádný vzorek jedlého hmyzu, který byl stanovován v této práci, neměl tak vysokou hodnotu sporulujících bakterií. Nicméně při nesprávném skladování mohou mít tyto sporuláty vhodné podmínky k pomnožení a mohou tak ohrozit spotřebitele.

8.1.5.2 Izolované druhy aerobních a anaerobních sporulujících bakterií

Banjo a kol. [69] identifikovali v larvách *Oryctes monoceros* přítomnost bakterie *Bacillus cereus*. Stoops a kol. [65] prokázali přítomnost rodu *Clostridium* v larvách potměníka moučného.

8.1.6 Mikrobiologické limity

Mikrobiologická kritéria pro potraviny jsou dána Nařízením Komise (ES) č. 2073/2005, které bylo několikrát novelizováno, avšak mikrobiologická kritéria pro jedlý hmyz v tomto nařízení nejsou k dnešnímu dni ustanovena.

Bohužel pro jedlý hmyz nejsou momentálně legislativně vytvořeny mikrobiologické limity. Pro dodržení mikrobiologických limitů se v praxi využívá ČSN 56 9609 Pravidla správné hygienické a výrobní praxe - Mikrobiologická kritéria pro potraviny. Principy stanovení a aplikace. Jelikož má hmyz stejný alergen jako koryši a je jejich vzdálený příbuzný, lze využít mikrobiální limity koryšů, jejichž hodnoty z ČSN 56 9609 jsou uvedeny v Tab. 14.

Tab. 14. Mikrobiologické limity pro zmrazené měkkýše a koryše dle ČSN 56 9609 [87].

Zmrazení měkkýši a koryši				
	n	c	m	M
Celkový počet mikroorganismů	5	3	$5 \cdot 10^5$	$5 \cdot 10^5$
<i>Escherichia coli</i>	5	2	0_d	$5 \cdot 10^5$
<i>Salmonella</i> Spp.	5	0	0/25	-

Celkový počet mikroorganismů u zamražených vzorků hmyzu splňují dle tohoto srovnání pouze dva druhy jedlého hmyzu, jejichž hodnota byla menší než $5 \cdot 10^5$ CFU/g. Jednalo se o vzorek sarančete stěhovavého, který se nacházel ve stádiu nymf ($3,6 \cdot 10^4$ CFU/g) a vzorek potemníka brazilského ve stádiu larev ($1,5 \cdot 10^5$ CFU/g). Bourec morušový – kukly s hodnotou $7,8 \cdot 10^5$ CFU/g tuto normu mírně překročil. Ostatní zamražené vzorky jedlého hmyzu tuto normu překročily.

8.2 Mikrobiální kvalita živých, zmražených a tepelně opracovaných vzorků hmyzu

Z výsledků bylo zjištěno, že na mikroflóru jedlého hmyzu má velký vliv teplota. U tepelně upraveného hmyzu došlo k výraznému snížení všech stanovovaných skupin mikroorganismů. Jako nejlepší způsob tepelné úpravy podle zjištěných výsledků vychází smažení v oleji. Tento technologický zákrok byl ještě podporován spařením cvrčka ve vařící vodě.

8.2.1 Koliformní bakterie

Koliformní bakterie jsou citlivé na teplotu. Tato skutečnost se z naměřených výsledků této práce potvrdila. Z pozorování vyplývá, že množství koliformních bakterií mají živé vzorky vyšší, jak jejich zamražené druhy. Tato skutečnost byla zjištěna u vzorku sarančete stěhovavého (nymfy), potemníka brazilského (larvy) a potemníka moučného (larvy). Vzorek cvrčka stepního (nymfy) se lišil. U zamraženého vzorku cvrčka bylo množství koliformních bakterií až o jeden řád vyšší, než u živého vzorku cvrčka. Odchylné výsledky u cvrčka stepního mohou být způsobené stanovením, kdy během práce došlo ke kontaminaci vzorku nebo nedošlo k vyhladovění a vyprázdnění cvrčků před zamražením. Tepelný záhřev efektivně ničí koliformní bakterie, jak je patrné u vzorku cvrčka, který byl smažen na oleji a u sušených vzorků sarančat, cvrčků a potemníka brazilského.

8.2.2 Celkové mikroorganismy

Ze stanovených výsledků je patrné, že živé vzorky jedlého hmyzu mají celkový počet mikroorganismů vyšší, než zamražené a tepelně upravené vzorky. Tato skutečnost je způsobená především vysokým množstvím koliformních a mléčných bakterií, na které je živý hmyz bohatý. Pouze vzorek cvrčka stepního, který se nacházel ve stádiu nymf, má podobné množství celkových mikroorganismů u zamraženého i živého stádia. Zamražený vzorek cvrčka stepního měl nejvyšší množství kvasinek a plísní a i množství koliformních bakterií

měl vyšší, než živý vzorek. Tyto vyšší hodnoty způsobily, že celková koncentrace mikroorganismů byla u tohoto vzorku vyšší.

8.2.3 Mléčné bakterie

Z naměřených výsledků bylo zjištěno, že živé vzorky nymf cvrčka stepního, larev potemníka brazilského, nymf sarančete stěhovavého a larev potemníka moučného obsahovaly mnohem více mléčných bakterií, než zamražené vzorky stejných druhů jedlého hmyzu. Pokles koncentrace mléčných bakterií u zamražených vzorků je způsoben především nízkou teplotou. Mléčné bakterie patří mezi mezofilní mikroorganismy, tzn., že optimální teplota růstu je okolo 37 °C [88]. Při této teplotě je také hmyz chován. Jelikož mléčné bakterie mají pozitivní vliv ve výživě člověka, není jejich přítomnost v potravě nežádoucí.

8.2.4 Kvasinky a plísňe

Z výsledků této práce vyplývá, že zamražené vzorky jedlého hmyzu obsahují vyšší množství kvasinek a plísňe, než živé vzorky stejného druhu. Tato skutečnost byla prokázána u vzorků cvrčka stepního (nymfy), sarančete stěhovavého (nymfy) a potemníka moučného (larvy). Pouze zamražený vzorek potemníka brazilského (larvy), měl množství kvasinek a plísňe o necelý jeden řád nižší, než živý vzorek tohoto hmyzu. Plísňe jsou velice odolné vůči okolnímu prostředí a některé plísňe jsou schopné růstu i při mrazírenských teplotách, které se pohybují v rozmezí -15 až -18 °C [89]. Hmyz je na plísňe citlivý, a pokud byl hmyz před zamražením chován v prostředí, kde byla podestýlka nebo potrava kontaminována plísňí, tak zamražením se koncentrace plísňe nesníží.

8.2.5 Anaerobní bakterie

Ze zjištěných výsledků bylo zjištěno, že živé vzorky obsahují více anaerobních bakterií, než zamražené a tepelně upravené vzorky stejného druhu jedlého hmyzu. Tato skutečnost byla prokázána u sarančete stěhovavého (nymfy), cvrčka stěhovavého a potemníka moučného. Pouze u zamraženého potemníka brazilského byla koncentrace anaerobních bakterií vyšší, než u živého vzorku. Tato odchylka je pravděpodobně způsobená špatným výpočtem, kdy bylo do vzorce dosazeno vyšší množství narostlých kolonií. Narostlé kolonie na živné půdě Anaerobic Agar byly u zamraženého vzorku potemníka brazilského slité a jejich počet se špatně počítal. Jelikož jsou mléčné a koliformní bakterie fakultativně anaerobní, je pravděpodobné, že tvoří hlavní skupinu mikroorganismů anaerobních bakterií

[63,88]. Tuto domněnku potvrzují výsledky mléčných a koliformních bakterií, kde živé vzorky jedlého hmyzu byly na tyto bakterie bohatší než jejich zamražené druhy.

8.2.6 Sporulující bakterie

Množství sporulujících aerobních a anaerobních bakterií se u živých a zamražených vzorků příliš neliší. Tyto bakterie dokážou vytvořit tzv. latentní stádium, při kterém se bakterie nemnoží, ale jsou schopné přežít extrémní podmínky [90]. Z výsledků tedy vyplývá, že zamražením se sporulující bakterie nezničí a tato diplomová práce odpovídá teorii. Jedinou možností, jak účinně zničit sporulující bakterie je tepelný záhřev. Tato skutečnost se potvrdila u tepelně upravených vzorků jedlého hmyzu. Jediný tepelně opracovaný jedlý hmyz, který obsahoval malé množství anaerobních spor, byl sušený potměník brazilský. Tato hodnota je ale minimální, takže při konzumaci tohoto hmyzu zdravotní nebezpečí nehrozí. Potměník brazilský obsahoval nejvyšší hodnotu anaerobních spor u živých i tepelně upravených vzorků jedlého hmyzu. U zamražených vzorků jedlého hmyzu byla nejvyšší přítomnost anaerobních spor u dospělců sarančat stěhovavých.

Z výsledku měření živého hmyzu vyplývá, že jedlý hmyz ve stádiu larev obsahuje více koliformních bakterií. Tato skutečnost je způsobena chovem, kdy tělo hmyzu přichází do kontaktu s podestýlkou, na které jsou zbytky potravy a výtrusů.

8.3 Porovnání mikrobiální kvality mezi stejnými druhy hmyzu a jejich různého vývojového stádia

Různá vývojová stadia stejného druhu zamraženého hmyzu se ve svém mikrobiologickém složení od sebe liší. Bourec morušový, který byl stanovován ve stádiu housenek, měl vyšší počet koliformních, mléčných a anaerobních bakterií, než stádium kukel. Také celkové množství mikroorganismů a kvasinek a plísní byl u housenek vyšší. Tyto výsledky poukazují na způsob života vývojového stádia. Jelikož housenky jsou mezní fází vývoje bource morušového, a jejich jedinou úlohou je přijímat co největší množství potravin, mají dostatek živin pro nejrozličnější mikroflóru. Vývojové stádium kukly je považováno za klidové období, kdy živočich spotřebovává všechny své zásobní látky ke své proměně. Kukla bource morušového je navíc chráněna kokonem, který je tvořen ze surového hedvábí. Pro mikroorganismy tedy v kuklách nejsou tak vhodné podmínky k vegetaci, jako v housenkách. Mikrobiologická kvalita různého vývojového stádia saranče stepního se od sebe liší. Saranče stěhovavé se na rozdíl od bource morušového vyvíjí proměnou nedokonalou a

vývojová fáze dospělec byla na všechny stanovované skupiny mikroorganismů bohatší, než jeho vývojové stadium nymfy. Ze zjištěných výsledků lze říct, že starší vývojové stadium je náchylnější na mikrobiologickou kontaminaci. Je to dáno pravděpodobně vitalitou, kdy je mladší jedinec odolnější a také stavbou těla, kdy nymfy nemají vyvinuté pohlavní orgány a křídla.

ZÁVĚR

Tato diplomová práce zkoumá mikrobiální kvalitu jedlého hmyzu. Pro sledování vybraných skupin mikroorganismů byly zvoleny běžně chované druhy hmyzu, a to bource morušového (*Bombyx mori*), cvrčka stepního (*Gryllus assimilis*), potemníka moučného (*Tenebrio molitor*), potemníka brazilského (*Zophobas atratus*), saranče stěhovavého (*Locusta migratoria*) a zavíječe voskového (*Galleria mellonella*). Vzorky jedlého hmyzu byly dodány v rámci spolupráce s Mendlovou univerzitou v Brně v zamražené, živé a tepelně upravené podobě. Zamražené vzorky bource morušového (*Bombyx mori*) a saranče stěhovavého (*Locusta migratoria*) byly ve dvou různých vývojových stádiích. Bourec morušový byl dodán ve vývojovém stádiu housenek a kukel a saranče stěhovavé se nacházelo ve stádiu nymf a dospělců.

Z výsledků diplomové práce vyplývá, že mikrobiální složení jedlého hmyzu je rozmanité. Při studiu různých vývojových stádií jedlého hmyzu byly prokázány rozdílnosti v počtech vybraných skupin mikroorganismů. U sarančete stěhovavého (*Locusta migratoria*) byla prokázána vyšší mikrobiologická odolnost u mladšího vývojového stádia nymf než u dospělců. Kukly bource morušového (*Bombyx mori*) nemají tak příznivé podmínky pro mikroorganismy, jako mladší vývojové stádium housenek.

Ze zamražených vzorků měl nejvyšší počet celkových mikroorganismů ($3,4 \cdot 10^7$ CFU/g) vzorek potemníka moučného (*Tenebrio monitor*). Tento zmražený vzorek obsahoval také nejvyšší množství koliformních bakterií, a to $4,2 \cdot 10^6$ CFU/g. V zamražených vzorcích měl bourec morušový – housenky (*Bombyx mori*) nejvyšší množství mléčných bakterií, a to $3,1 \cdot 10^6$ CFU/g. Nejvíce kvasinek a plísní v zamraženém vzorku obsahoval cvrček stepní (*Gryllus assimilis*) v počtu $5,1 \cdot 10^5$ CFU/g a nejvyšší množství sporulujících bakterií obsahoval zamražený vzorek dospělé sarančete stěhovavého (*Locusta migratoria*), kde bylo stanoveno $2,8 \cdot 10^4$ CFU/g sporulujících bakterií.

Z výsledku analýzy živého hmyzu bylo zjištěno, že nejvyšší množství všech mikroorganismů obsahoval potemník moučný (*Tenebrio monitor*) a potemník brazilský (*Zophobas atratus*), kdy v obou vzorcích bylo stanoveno $2,2 \cdot 10^8$ CFU/g těchto bakterií. Potemník moučný obsahoval rovněž nejvíce koliformních bakterií, a to $1,9 \cdot 10^8$ CFU/g. U živého potemníka brazilského bylo také prokázáno nejvyšší množství mléčných bakterií ($3,6 \cdot 10^8$ CFU/g) a sporulujících bakterií ($2,8 \cdot 10^2$ CFU/g). Nejvyšší hodnota kvasinek a plísní byla stanovena u cvrčka stepního (*Gryllus assimilis*) v počtu $4,4 \cdot 10^5$ CFU/g.

Tepelně opracované vzorky měly mikrobiální kontaminaci minimální a pouze zapečený potěmník moučný (*Tenebrio monitor*) v chlebu měl nepatrně vyšší množství celkových mikroorganismů, a to $2,5 \cdot 10^2$ CFU/g.

Na mikroflóru jedlého hmyzu má velký vliv především teplota kulinářské úpravy. Mrazicí teploty způsobují pokles mléčných bakterií v jedlém hmyzu a takto upravený jedlý hmyz je na tuto skupinu mikroorganismů chudší než živý hmyz. Dále bylo prokázáno, že kvasinky a plísňe dokážou vegetovat při mrazírenských teplotách a zamražené vzorky sarančete stěhovavého (*Locusta migratoria*), cvrčka stepního (*Gryllus assimilis*), a potěmníka moučného (*Tenebrio molitor*) obsahovaly více kvasinek a plísni, než jejich živé druhy. Tepelně neopracovaný jedlý hmyz není nejvhodnější ke konzumaci vzhledem k vysokému počtu mikroorganismů, a to zejména výskytu koliformních bakterií. Koliformní bakterie byly nalezeny u vzorků housenek bource morušového (*Bombyx mori*), nymf cvrčka stepního (*Gryllus assimilis*), larev potěmníka moučného (*Tenebrio molitor*), larev potěmníka brazilského (*Zophobas atratus*), dospělců a nymf sarančete stěhovavého (*Locusta migratoria*) a housenek zavíječe voskového (*Galleria mellonella*). Tepelná úprava je u jedlého hmyzu z hlediska počtu mikroorganismů velmi vhodná. U tepelně opracovaného hmyzu byl obsah všech mikrobiálních skupin snížen na minimum a konzumace takto upraveného hmyzu nepředstavuje riziko pro spotřebitele.

Jelikož je jedlý hmyz díky svému nutričnímu složení a zájmů veřejnosti vnímán jako perspektivní potravina, je zřejmé, že se této skupině potravin bude věnovat pozornost z hlediska výzkumu.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] MAREČEK, František (ed.). *Zahradnický slovník naučný*. Vyd. 1. Praha: Ústav zemědělských a potravinářských informací, 1997, 559 s. ISBN 80-85120-62-3.
- [2] YEN, Alan L. Edible insects: Traditional knowledge or western phobia? *Entomological Research* 39(5), 2009, s. 289-298 DOI: 10.1111/j.1748-5967.2009.00239.x.
- [3] CAPINERA, John L (ed.). *Encyclopedia of entomology*. 2nd edition, Springer Science + Business Media BV, 2008, 4346 s. ISBN 978-1-4020-6242-1.
- [4] HUIS, Arnold van. *Edible insects: future prospects for food and feed security*. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2013. FAO forestry paper, 171. ISBN 9251075956.
- [5] BORKOVCOVÁ, Marie. *Kuchyně hmyzem zpestřená*. 1. vyd. Brno: Lynx, 2009. ISBN 978-808-6787-37-4.
- [6] EL-MALLAKH, O.S., EL-MALLAKH, R.S. Insects of the Qur'an (Koran). *American Entomologist*, 1994, s. 82–84.
- [7] AMAR, Z. The Eating of locusts in Jewish tradition after the Talmudic period. *The Torah u-Madda Journal*, vol.11, 2003, s. 186–202.
- [8] DURST, B. P., JOHNSON, D. V., LESLIE, N. R., SHONO, K. *Forest insects as food: humans bite back*. Bangkok, Thailand 2010, 231 s. ISBN 978-92-5-106488-7.
- [9] RAMOS-ELORDUY, Julieta. Threatened edible insects in Hidalgo, Mexico and some measures to preserve them. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 2006. DOI:10.1186/1746-4269-2-51.
- [10] DEFOLIART, G., R. Insects as food: why the western attitude is important. *Annual Review of Entomology*, 1999. vol. 44, s. 21-50.
- [11] HARDOUIN, J. Mini-livestock breeding with indigenous species in the tropics. *Livestock Research for Rural Development*, 2003, s. 15-25.
- [12] DMITRIJEV, Jurij. *Hmyz známý i neznámý pronásledovaný a chráněný*. Lidové nakladatelství 1987, 189 s.

- [13] in: ASKIITIANS [online]. [cit. 2015-11-27]. Dostupné z: <http://www.askiitians.com/biology/animal-kingdom/phylum-annelida-and-arthropoda.html>
- [14] MCGAVIN, George. *Hmyz: pavoukovci a jiní suchozemští členovci*. 1. vyd. V Praze: Knižní klub, 2005, 255 s. ISBN 80-242-1340-0.
- [15] KOVAŘÍK, František. *Hmyz: chov, morfologie*. Vyd. 1. Jihlava: Madagaskar, 2000, 295 s. ISBN 80-86068-24-2.
- [16] IMES, Rick. *Svět hmyzu: praktický průvodce entomologií*. Čes. vyd. 1. Praha: Svojtka a Vašut, 1997, 160 s. ISBN 80-7180-253-0.
- [17] LULÁK, Milan, Jan KRNÁČ. *Začínáme s entomologií a chovem motýlů*. Vyd. 1. Karviná-Hranice: Alfa consulting, 1999, 352 s. ISBN 80-2383-972-1.
- [18] In: BIOLIB Mezinárodní encyklopedie rostlin, hub a živočichů. [online]. [cit. 2015-10-19]. Dostupné z: <http://www.biolib.cz/>
- [19] SKUHRAVÝ, Václav. *Metody chovu hmyzu*. 1. Vyd. Praha: Academia 1968
- [20] In: Atlas Of Living Australia [online]. [cit. 2015-11-29]. Dostupné z: http://www1.ala.org.au/gallery2/main.php?g2_view=slideshow.Slideshow&g2_itemId=10537
- [21] In: Encyclopedia of Life [online]. [cit. 2015-11-29]. Dostupné z: <http://eol.org/pages/391618/overview>
- [22] In: Purdue Agriculture [online]. [cit. 2015-11-29]. Dostupné z: https://www.agriculture.purdue.edu/agcomm/newscolumns/archives/OSL/2013/January/Silkworm_%20pupa.jpg
- [23] ŠEFROVÁ, Hana. *Škodliví činitelé cukrové řepy – živočišní škůdci*, Listy cukrovarnické a řepářské, č. 9-10, září – říjen 2014
- [24] ŠEFROVÁ, Hana. *Rostlinolékařská entomologie*. Brno:Konvoj, 2006. 257s
- [25] SALÁŠKOVÁ V., HYRŠL P. Stále stejný zavíječ voskový *Galleria mellonella*? Zoologické dny České Budějovice 2008, *Sborník abstraktů z konference 14. – 15. února 2008*, ISBN 978-80-87189-00-9
- [26] KODRÍK, D. Je zavíječ voskový pouze nepříjemným škůdcem včel? *Moderní včelař*. 2007, č. 5, s. 28. ISSN 1214-5793.
- [27] Housenky zavíječe voskového *Galleria mellonella* [online]. [cit. 2015-11-29]. Dostupné z: <http://www.galleriamellonella.com>

- [28] HŮRKA, Karel, Alena ČEPICKÁ. *Rozmnožování a vývoj hmyzu*. 1.vyd. Praha, 1980, 224s.
- [29] KOČÁREK, Petr. *Rovnokřídlí (Insecta: Orthoptera) České republiky*. 1.vyd. Praha: Academia, 2013, 283 s. ISBN 978-80-200-2173-1.
- [30] OBENBERGER, Jan. *Entomologie*. 1.vyd. Praha: Přírodovědecká nakladatelství, 1952, 869 s.
- [31] Samice cvrčka stepního. Jak na hmyz [online]. [cit. 2015-11-29]. Dostupné z: <http://www.jaknahmyz.cz/cvrcek>
- [32] Saranče stěhovavá. Wikimedia Commons [online]. [cit. 2015-11-29]. Dostupné z: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Locusta_migratoria_0s1.JPG
- [33] HŮRKA, Karel. *Brouci České a Slovenské republiky*. Zlín: Kabourek, 2005, 390 s. ISBN 80-86447-11-1
- [34] Dospělec potemníka moučného. Biopix [online]. [cit. 2015-11-29]. Dostupné z: http://www.biopix.com/tenebrio-molitor_photo-52209.aspx
- [35] Larva potemníka moučného. Epic Mealworms [online]. [cit. 2015-11-29]. Dostupné z: <http://epicmealworms.weebly.com/life-cycle.html>
- [36] TAIT, Noel. *Hmyz a pavúky*, Slovart, 2010, 64 s. ISBN 978-80-8085-950-3
- [37] Larva potemníka brazilského. Entomoa [online]. [cit. 2015-11-29]. Dostupné z: http://www.entomos.ch/fr_em/zophobas-zophobas-morio.html
- [38] Dospělec potemníka brazilského. Nahuby [online]. [cit. 2015-11-29]. Dostupné z: http://www.nahuby.sk/obrazok_detail.php?obrazok_id=180418
- [39] HANBOONSONG, Yupa, Tasanee JAMJANYA. *Six-legged livestock: edible insect farming, collection and marketing in Thailand*. Bangkok, Thailand: Food and Agriculture Organization of the United Nations, Regional Office for Asia and the Pacific, 2013, ISBN 978-925-1075-784.
- [40] BELLUCO, Simone, Carmen LOSASSO, Michela MAGGIOLETTI, Cristiana C. ALONZI, Maurizio G. PAOLETTI a Antonia RICCI. Edible Insects in a Food Safety and Nutritional Perspective: A Critical Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* [online]. 2013, 12(3), 296-313 [cit. 2015-11-31]. DOI: 10.1111/1541-4337.12014. ISSN 15414337. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/1541-4337.12014>

- [41] VERKERK, M., TRAMPER, J., TRIJP, J., MARTENS, D. Insect cells for human food, *Biotechnology Advances* 25, 2007, s. 198–202
- [42] ADEMOLU, O., IDOWU, B., OLATUNDE, O. Nutritional value assessment of variegated grasshopper, *Zonocerus variegatus* (L.) (Acridoidea: Pygomorphidae), During post-embryonic development. *African Entomology*, 18(2), 2010, s 360–364.
- [43] SMITH, R., BARNES, E. Determining the contribution that insects can make to addressing the protein deficit in Europe, Minerva Health & Care Communications Ltd, 2015, 53 s.
- [44] JANSSON, A., BERGGREN, A. *Insects as Food – Something for the Future? A report from Future Agriculture*, Swedish University of Agricultural Sciences, 2015, 36 s.
- [45] OMOTOSO, T. Nutritional quality, functional properties and antinutrients compositions of the larva of *Cirina forda* (Westwood) (Lepidoptera: Saturniidae), *Journal of Zhejiang University SCIENCE B*, 2006, s. 51–55.
- [46] YANG, F., SIRIAMORNUN, S., LI, D. Polyunsaturated fatty acid content of edible insects in Thailand, *Journal Food Lipids*. 2006, s. 277-285.
- [47] MLCEK, Jiri, OTAKAR ROP, MARIE BORKOVCOVA a MARTINA BEDNAROVA. A Comprehensive Look at the Possibilities of Edible Insects as Food in Europe – a Review. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*. 2014-01-1, 64(3), DOI: 10.2478/v10222-012-0099-8. ISSN 2083-6007.
- [48] MICHAELSEN, F., HOPPE, C., ROOS, N., KAESTEL, P., STOUGAARD, M., LAURITZEN, L., MOLGAARD, C. Choice of foods and ingredients for moderately malnourished children 6 months to 5 years of age, *Food and Nutrition Bulletin*, 30, 2009, s. 343 – 404.
- [49] ANANKWARE, J., FENING, O., OSEKRE, E., OBENG-OFORI, D. Insects as food and feed: A review, *International Journal of Agricultural Research and Review*, 2015, s. 143-151.
- [50] MORALES-RAMOS, J., ROJAS, G., SHAPIRO-ILAN, D. *Mass production of beneficial organisms: invertebrates and entomopathogens*. Boston: Elsevier, Academic Press, 2014, 742 s. ISBN 0123914531.

- [51] NADEAU, Luc, Isaac NADEAU, Frank FRANKLIN a Florence DUNKEL. The Potential for Entomophagy to Address Undernutrition. *Ecology of Food and Nutrition* [online]. 2015, 54(3), s. 200-208 [cit. 2016-01-5]. DOI: 10.1080/03670244.2014.930032. ISSN 0367-0244. Dostupné z: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/03670244.2014.930032>
- [52] SIRIAMORNUN, S., THAMMAPAT, P. Insect as a delicacy and nutritious food in Thailand, Food Science and Technology to improve Nutrition and Promote National Development International, *Union of Food Science & Technology*, 2008, s. 1 – 12.
- [53] CERRITOS, R. Insects as food: an ecological, social and economical approach. *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources* [online]. 2009, 4(027), - [cit. 2016-02-21]. DOI: 10.1079/PAVSNNR20094027. ISSN 17498848. Dostupné z: <http://www.cabi.org/cabreviews/review/20093181587>
- [54] RAMOS-ELORDUY, J. *Hmyz na talíři - Labužníkův průvodce po světě jedlého hmyzu*, Volvox, 1998, 127 s.
- [55] VEGA, Fernando E a Harry K KAYA. *Insect pathology*. 2nd ed. Boston: Academic Press, 2012, 490 s. ISBN 978-0-12-384984-7.
- [56] VAN DER SPIEGEL, M., NOORDAM, M. Y., VAN DER FELS-KLERX. Safety of Novel Protein Sources (Insects, Microalgae, Seaweed, Duckweed, and Rapeseed) and Legislative Aspects for Their Application in Food and Feed Production. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 12, 2013, s. 662 – 678.
- [57] EFSA SCIENTIFIC COMMITTEE, Risk profile related to production and consumption of insects as food and feed, *European Food Safety Authority Journal*, 2015, 60 s. DOI:10.2903/j.efsa.2015.4257.
- [58] HANBOONSOG, Y., DURST, P. *Edible insects in Lao PDR: building on tradition to enhance food security*, FAO 2014, 55 s., ISBN 978-92-5-108307-9.
- [59] KLUNDER, H.C., J. WOLKERS-ROOIJACKERS, J.M. KORPELA a M.J.R. NOUT. Microbiological aspects of processing and storage of edible insects. *Food Control*. 2012, 26(2), 628-631. DOI: 10.1016/j.foodcont.2012.02.013. ISSN 09567135.

- [60] VAN DER SPIEGEL, M., NOORDAM, M., VAN DER FELS-KLERX, J. Safety of Novel Protein Sources (Insects, Microalgae, Seaweed, Duckweed, and Rapeseed) and Legislative Aspects for Their Application in Food and Feed Production. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* vol. 12, 2013, s. 662-678, DOI: 10.1111/1541-4337.12032.
- [61] VELÍŠEK, J. *Chemie potravin 3*, 2. vyd. Tábor: OSSIS, 2002. 368 s.
- [62] BEDNÁŘOVÁ, M., BORKOVCOVÁ, M., ZORNÍKOVÁ, G., ZEMAN, L. Insect as food in Czech Republic, *Mendelnet* 2010, s. 674 – 682.
- [63] ŘÍHOVÁ AMBROŽOVÁ, Jana. *Mikrobiologie v technologii vod*. Vyd. 1. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2004, 244 s. ISBN 80-7080-534-X.
- [64] ROZSYPAL, Stanislav. *Nový přehled biologie*. 1. vyd. Praha: Scientia, 2003, 797 s. ISBN 80-7183-268-5.
- [65] STOOPS, J., CRAUWELS, S., WAUD, M., CLAES, J. Microbial community assessment of mealworm larvae (*Tenebrio molitor*) and grasshoppers (*Locusta migratoria migratorioides*) sold for human consumption, *Food Microbiology*, 2016, s. 122 – 127.
- [66] AMADI, E., KIIN-KABARI, D., KPORMON, L. Microbial flora and nutritional composition of adult Palm - Wine Beetle (*Rhychophorus phoenicus*), *International Journal of Current Microbiology and applied Sciences*, 2014, s. 189 – 192.
- [67] VANDEWEYER, D., LIEVENS, B., VAN-CAMPENHOUT, L. *Microbial quality of edible insects reared on industrial scale in Belgium and the Netherlands*, Conference on Food Microbiology edition:20 location:Brussels, 2015.
- [68] DILLON, Rod a Keith CHARNLEY. Mutualism between the desert locust *Schistocerca gregaria* and its gut microbiota. *Research in Microbiology* [online]. 2002, 153(8), 503-509 [cit. 2016-03-15]. DOI: 10.1016/S0923-2508(02)01361-X. ISSN 09232508. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S092325080201361X>
- [69] BANJO, A., LAWAL, O., ADEYEMI, A. The Microbial Fauna Associated with the Larvae of *Oryctes Monocerus*, *Journal of Applied Sciences Research*, 2006, s. 837 – 843.
- [70] COLMAN, R., TOOLSON, C., TAKACS-VESBACH, D. Do diet and taxonomy

- influence insect gut bacterial communities? *Molecular Ecology*, 2012, s. 5124-5137.
- [71] GORNER, F., VALÍK, L. *Aplikovaná mikrobiologie poživatin*. 1. vyd. Bratislava: Malé Centrum, 2004, 528 s. ISBN: 80-967064-9-7.
- [72] W. BRAIDE, W., NWAOGUIKPE, R. Assessment of microbiological quality and nutritional values of a processed edible weevil caterpillar (*Rhynchophorus phoenicis*) in Port Harcourt, southern Nigeria, *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 2011, s. 410 – 418.
- [73] HARRIGAN, F., MCCANCE, E. Laboratory methods in food and dairy microbiology, *Academic Press Inc*: London, 1990, s. 286 – 303.
- [74] POLSTER, M. *Toxigenní plísně a mykotoxiny v potravinách*. 1.vyd. Brno: ÚDVSZP, 1971, 84s.
- [75] HRUBÝ, Stanislav a Bohumil TUREK. *Mikrobiologická problematika ve výživě*. Vyd. 1. Brno: Institut pro další vzdělávání pracovníků ve zdravotnictví, 1996, 145 s. ISBN 80-7013-232-9.
- [76] MORAVCOVÁ, H., NEDĚLNÍK, J. *Mykotoxiny v objemných krmivech*. Krmivářství č.4/2007, s. 16-18.
- [77] SWEENEY, M. J., DOBSON, A. D. W. Rewiev, Mycotoxin production by *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* species, *Int. J. Food Microbiol.* 43, 1998, s. 141-158.
- [78] PRESCOTT, I., HARLE, D., KLEIN, A. Microbiology (5th edn). New York, U.S.A: McGraw – Hill compenies, Chapeter 41. *Microbiology of Food*, 2002, s. 964 – 976.
- [79] ČÍŽEK, Alois. *Praktika z veterinární bakteriologie a mykologie*. VULVEL, Brno 2009, 135 s.
- [80] TODAR, Kenneth. *Todar's Online Textbook of Bacteriology: Bacillus cereus Food Poisoning* [online]. [citace 23. 11. 2013]. Dostupný z WWW: <http://textbookofbacteriology.net/B.cereus.html>
- [81] MONTVILLE, T.J., MATTHEWS, K.R. *Food microbiology: an introduction*. Washington: ASM Press, 2005, 380 s.

- [82] ARNESEN, L.P.S., FAGERLUND, A., GRANUM, P.E. From soil to gut: *Bacillus cereus* and its food poisoning toxins. *FEMS Microbiology revue*, 2008, 32: s. 579 – 606.
- [83] SUEN, J.C., CH.L.HATHEWAY, A.G. STEIGERWALT a D.J. BRENNER. *Clostridium argentine* sp.nov.: a genetically homogeneous group composed of all strains of *Clostridium botulinum* type G and some nontoxigenic strains previously identified as *Clostridium subterminale* or *Clostridium hastiforme*, *International Journal of Systematic Bacteriology*. 1988, s. 375 –381.
- [84] HORKÝ, Karel. *Lékařské repetitorium*. 1. vyd. Praha: Galén, 2003, 788 s. ISBN 80-7262-241-2.
- [85] TODAR, K. *Todar's Online Textbook of Bacteriology: Pathogenic Clostridia, including Botulism and Tetanus* [online]. [citace 26. 11. 2013]. Dostupný z <http://textbookofbacteriology.net/clostridia.html>
- [86] BEDNÁŘ, Marek. *Lékařská mikrobiologie: bakteriologie, virologie, parazitologie*. Vyd. 1. Praha: Marvil, 1996. ISBN 80-238-0297-6.
- [87] ČSN 56 9609 *Pravidla správné hygienické a výrobní praxe – Mikrobiologická pravidla pro potraviny. Princip stanovení a aplikace*.
- [88] SALMINEN, Seppo, Atte von WRIGHT a Arthur OUWEHAND. *Lactic acid bacteria: microbiology and functional aspects*. 3rd ed., rev. and expanded. New York: Marcel Dekker, 2004, 139 s. ISBN 0824753321.
- [89] ŠILHÁNKOVÁ, Ludmila. *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology*. 3. opr. a dopl. vyd. Praha: Academia, 2002, 363 s. ISBN 80-200-1024-6.
- [90] GÖPFERTO VÁ, Dana. *Mikrobiologie, imunologie, epidemiologie, hygiena: pro střední a vyšší odborné zdravotnické školy*. 3. dopl. vyd. Praha: Triton, 2002. ISBN 80-7254-223-0.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

tzv	Takzvaný
g	Gram
mg	Miligram
kg	Kilogram
μg	Mikrogram
Kcal	Kilokalorie
ml	Mililitr
CFU	Colony Forming Units (jednotky tvořící kolonie)
PPS	Peptone Physiological Salt
Log	Logaritmus
ČSN	Česká státní norma
PCA	Plate Count Agar
VRBA	Violet Red Bile Agar
MRS Agar	De Man Rogosa Sharpe Agar
CHYGA	Chloramfenicol Yeast Glucose Aga
AA	Anaerobic Agar

SEZNAM OBRÁZKŮ

<i>Obr. 1. Stavba těla členovce [13].</i>	17
<i>Obr. 2. Dospělec bource morušového [20].</i>	19
<i>Obr. 3. Housenka bource morušového [21].</i>	20
<i>Obr. 4. Kukla bource morušového [22].</i>	20
<i>Obr. 5. Housenky zavíječe voskového [27].</i>	21
<i>Obr. 6. Samice cvrčka stepního [31].</i>	23
<i>Obr. 7. Saranče stěhovavá [32].</i>	24
<i>Obr. 8. Dospělec potemníka moučného [34].</i>	25
<i>Obr. 9. Larva potemníka moučného [35].</i>	26
<i>Obr. 10. Larva potemníka brazilského [37].</i>	26
<i>Obr. 11. Dospělec potemníka brazilského (autor Mgr. František Neuschl) [38].</i>	27
<i>Obr. 12. Tepelně upravený hmyz [44].</i>	32

SEZNAM TABULEK

<i>Tab. 1. Srovnání průměrného obsahu bílkovin u hmyzu, ryb a savců [4].</i>	29
<i>Tab. 2. Nutriční obsah hmyzu ve srovnání s potravinami bohaté na bílkoviny [50].</i>	31
<i>Tab. 3. Chuť různých druhů hmyzu [54].</i>	33
<i>Tab. 4. Tradiční úprava některých druhů jedlého hmyzu v Thajsku [52].</i>	34
<i>Tab. 5. Přehled zamražených vzorků hmyzu</i>	44
<i>Tab. 6. Přehled vzorků hmyzu po tepelné úpravě</i>	45
<i>Tab. 7. Přehled živých vzorků hmyzu</i>	45
<i>Tab. 8. Přehled výsledků u zamražených vzorků hmyzu na 1 gram.</i>	50
<i>Tab. 9. Přehled výsledků u zamražených vzorků hmyzu na 1 kus.</i>	51
<i>Tab. 10. Přehled výsledků u vzorků živého hmyzu na jeden gram.</i>	53
<i>Tab. 11. Přehled výsledků u živých vzorků hmyzu na 1 kus.</i>	54
<i>Tab. 12. Přehled výsledků tepelně upravených vzorků hmyzu na jeden gram.</i>	55
<i>Tab. 13. Přehled výsledků tepelně upravených vzorků hmyzu na jeden kus.</i>	56
<i>Tab. 14. Mikrobiologické limity pro zmrazené měkkýše a koryše dle ČSN 56 9609 [87].</i>	63

SEZNAM PŘÍLOH

PŘÍLOHA P I: PŘEHLED IZOLOVANÝCH BAKTERIÍ ZAMRAŽENÝCH VZORKŮ	81
---	----

PŘÍLOHA P I: PŘEHLED IZOLOVANÝCH BAKTERIÍ ZAMRAŽENÝCH VZORKŮ

Vzorek	Živná půda	morfologie	KOH test	Gramovo barvení
Cvrček – nymfy	PCA	Žlutá, nepravidelná, matná, 3 cm	G ⁺	-
Cvrček – nymfy	PCA	Žlutá, kulatá, lesklá, 2-3 mm	G ⁺	-
Cvrček – nymfy	PCA	Bílá, nepravidelná, matná, průměr: 3-4 cm	G ⁺	-
Cvrček – nymfy	PCA	Bílá, lesklá, 1 cm	G ⁻	-
Cvrček – nymfy	PCA	Žlutá, lesklá, 5 mm	G ⁻	-
Cvrček – nymfy	PCA	Naoranžovělá, lesk, 2 mm	G ⁺	-
Cvrček – nymfy	PCA	Bílá, lesklá, kulovitá, 1 mm	G ⁺	-
Cvrček – nymfy	PCA	Žlutá, kulatá, lesklá, 2 -3 mm	G ⁺	-
Cvrček – nymfy	PCA	Žlutá, 1 mm, vrásčitá	G ⁻	-
Cvrček – nymfy	PCA	Rozlézavá lesklá	G ⁻	-
Cvrček – nymfy	PCA	Slizovitá, vypouklá	G ⁻	G ⁻ tyčinky
Cvrček – nymfy	VRBA	Fialová, lesklá s precipitací. 1-2 mm	G ⁻	-
Cvrček – nymfy	VRBA	Růžová, lesklá, 3 mm	G ⁻	-
Cvrček – nymfy	VRBA	Tmavě fialová, světlý okraj, 1 mm	G ⁻	-
Cvrček – nymfy	VRBA	Fialová, lesklá, 1 mm	G ⁻	-
Cvrček – nymfy	VRBA	Světle fialová, lesklá, nepravidelná, 5-8 mm	G ⁻	-
Cvrček – nymfy	VRBA	Fialová, lesklá, 1-2 mm	G ⁻	-

Vzorek	Živná půda	morfologie	KOH test	Gramovo barvení
Bourec - housenky	VRBA	Fialová, lesklá, pravidelná, 3-4 mm	G ⁻	-
Cvrček – nymfy	MRS	Bílá, velká, matná	G ⁺	-
Cvrček – nymfy	MRS	Bílá, matná, 5 mm	G ⁺	-
Cvrček – nymfy	MRS	Bílá, matná, 4-5 mm	G ⁺	-
Cvrček – nymfy	MRS	Bílá, matná, 3 mm	G ⁺	-
Cvrček – nymfy	MRS	Bíla, precipitace, 5 mm	G ⁺	-
Bourec - housenky	PCA	Bílá, slizovitá, lesklá, 4 mm	G ⁻	-
Bourec - housenky	PCA	Bílá, matná, nepravidelné okraje, 5 mm	G ⁺	-
Bourec - housenky	PCA	Žlutá, matná, nepravidelná	G ⁺	-
Bourec - housenky	PCA	Bíla, matná, 1 mm	G ⁺	G ⁺ tyčinky
Bourec - housenky	PCA	Žlutá, matná, nepravidelná, zvýšené okraje 3 mm	G ⁺	-
Bourec - housenky	PCA	Bílá, lesklá, 1 mm	G ⁺	-
Bourec - housenky	PCA	Žlutá, lesklá, 4 mm	G ⁺	G ⁺ koky
Bourec - housenky	PCA	Bílá, matná, vrásčitý povrch, 7-9 mm	G ⁻	-

Vzorek	Živná půda	morfologie	KOH test	Gramovo barvení
Bourec - housenky	VRBA	Fialová se světlým okrajem, lesklá, 1 mm	G ⁻	-
Bourec - housenky	VRBA	Fialová, lesklá, pravidelná, 1 mm	G ⁻	-
Bourec - housenky	VRBA	Fialová, lesklá, pravidelná, 3-4 mm	G ⁻	-
Bourec - housenky	VRBA	Fialová se světlým okrajem, lesklá	G ⁻	-
Bourec - housenky	VRBA	Fialová se světlým okrajem, lesklá	G ⁻	-
Bourec - housenky	MRS	Bílá, lesklá, precipitace, 2-3 mm	G ⁺	-
Bourec - housenky	MRS	Bílá, lesklá, pravidelná, 5-8 mm	G ⁺	-
Bourec - housenky	MRS	Bílá lesklá, pravidelná, 1-2 mm	G ⁺	-
Bourec - housenky	MRS	Bílá, nepravidelná, matná, 3,5 cm	G ⁺	-
Bourec - housenky	MRS	Žlutý matný okraj, střed má světlý žlutý nárůst	G ⁺	-
Bourec - housenky	MRS	Bílá, matná, nepravidelná, 2-3 mm	G ⁺	-
Bourec - housenky	MRS	Bílá, lesklá, precipitace, 1-2 mm	G ⁺	-
Moučný červ lar.	PCA	Bílá, lesklá, pravidelná, 1mm	G ⁻	-

Vzorek	Živná půda	morfologie	KOH test	Gramovo barvení
Moučný červ - larvy	PCA	Bílá – průhledná, 2-3 mm	G ⁻	-
Moučný červ - larvy	PCA	Průhledná, rozlézavá	G ⁻	-
Moučný červ - larvy	PCA	průhledná, nepravidelná, 3 mm	G ⁻	-
Moučný červ - larvy	PCA	Bílá, lesklá. 1 mm, pravidelná	G ⁺	-
Moučný červ - larvy	VRBA	Růžová, lesklá, 3 mm	G ⁻	-
Moučný červ - larvy	VRBA	Fialová, pravidelná, 1 mm	G ⁻	-
Moučný červ - larvy	VRBA	Fialovo – růžová, lesklá, 1-2 mm	G ⁻	-
Moučný červ - larvy	VRBA	Fialová, rozlezlá přes celou mis- ku, matná	G ⁻	-
Moučný červ - larvy	VRBA	Fialová, lesklá, pravidelná, 1-2 mm – odbarvuje živnou půdu do fialova	G ⁻	-
Moučný červ - larvy	VRBA	Růžová, lesklá, 1-2 mm, odbar- vuje žp. do fialova	G ⁻	-
Moučný červ - larvy	VRBA	Růžová, pravidelná, lesklá, 4 mm	G ⁻	-
Moučný červ - larvy	VRBA	Růžová, lesklá, velká a rozlézavá	G ⁻	-
Moučný červ - larvy	VRBA	Průhledná, rozlezlá po misce	G ⁻	-

Vzorek	Živná půda	morfologie	KOH test	Gramovo barvení
Moučný červ - larvy	VRBA	Světle růžová, lesklá, pravidelná, 2 mm	G ⁻	-
Moučný červ - larvy	MRS	Bílá, lesklá, 1-2 mm	G ⁺	-
Moučný červ - larvy	MRS	Bílá, lesklá, 1 mm	G ⁺	-
Moučný červ - larvy	MRS	Nažloutlá, matná, 1 mm	G ⁺	-
Moučný červ - larvy	MRS	Bílá, lesklá, 2 mm	G ⁺	-
Bourec morušový - kukly	PCA	Žlutá, nepravidelná, matná, 4-5 mm	G ⁺	-
Bourec morušový - kukly	PCA	Žlutá, lesklá, 1 cm	G ⁺	-
Saranče – nymfy	PCA	Bílá, matná, nepravidelná, tvar vločky, velká	G ⁺	-
Saranče – nymfy	PCA	Bílá matná, nepravidelná, 1-2 mm	G ⁺	-
Saranče – nymfy	PCA	Žlutá, matná, nepravidelná, 2-3 mm	G ⁺	-
Saranče – nymfy	PCA	Nažloutlá, lesklá, pravidelná, 1mm	G ⁺	-
Saranče – nymfy	PCA	Žlutá, lesklá, pravidelná, 1-2 mm	G ⁺	G ⁺ tyčinky
Saranče – nymfy	PCA	Oranžová, matná, 1-2 mm	G ⁺	-
Saranče – nymfy	PCA	Oranžová, matná, 1-2 mm	G ⁺	-
Saranče – nymfy	PCA	Bílá, vločkovitá, matná, 1,5 cm	G ⁺	-

Vzorek	Živná půda	morfologie	KOH test	Gramovo barvení
Saranče – nymfy	MRS	Bílá, lesklá, pravidelná, 1,5 mm	G ⁺	-
Saranče – nymfy	MRS	Bílá, lesklá, pravidelná, 2 mm	G ⁺	-
Saranče – nymfy	MRS	Bílá, lesklá, pravidelná	G ⁺	-
Zavíječ - housenky	PCA	Bílá, matná, 1 cm	G ⁺	-
Zavíječ - housenky	PCA	Nažloutlá, lesklá, průhledná, 6-7 mm	G ⁻	-
Zavíječ - housenky	PCA	Žlutá, lesklá, 1-2 mm	G ⁺	-
Zavíječ - housenky	PCA	Bílá, lesklá, 1 mm	G ⁺	-
Zavíječ - housenky	PCA	Bílá, lesklá, 2 mm	G ⁺	-
Zavíječ - housenky	PCA	Bílá, lesklá, 4-5 mm	G ⁻	-
Zavíječ - housenky	PCA	Bílá, lesklá, 2-3 mm	G ⁺	-
Zavíječ - housenky	PCA	Bílá, nepravidelné okraje, 3 mm	G ⁺	-
Zavíječ - housenky	PCA	Bílá, matná, nepravidelná, 1 cm	G ⁺	-
Zavíječ - housenky	PCA	Žlutá, matná, nepravidelná, 1 cm	G ⁺	-
Zavíječ - housenky	PCA	Žlutá, lesklá, 1 cm	G ⁺	-

Vzorek	Živná půda	morfologie	KOH test	Gramovo barvení
Zavíječ - housenky	VRBA	Růžová – oranžová, lesklá, 2-3 mm	G ⁻	-
Zavíječ - housenky	VRBA	Růžová, lesklá, 2-3 mm	G ⁻	-
Zavíječ - housenky	VRBA	Oranžová – hnědá, lesklá 1-2 mm	G ⁻	-
Zavíječ - housenky	VRBA	Oranžová, světlý okraj, lesklá	G ⁻	-
Zavíječ - housenky	VRBA	Oranžová – hnědá, nepravidelná, lesklá	G ⁻	-
Zavíječ - housenky	VRBA	fialová – růžová, lesklá, 2-3 mm	G ⁻	-
Saranče - dospělci	PCA	Bílá, lesklá, pravidelná, 1-2 mm	G ⁻	G ⁻ tyčinky
Saranče - dospělci	PCA	Nažloutlá, lesklá, nepravidelná, 1 cm	G ⁻	-
Saranče - dospělci	PCA	Žluto – oranžová, lesklá, pravidelná, 1 mm	G ⁺	-
Saranče - dospělci	PCA	Bílá, matná, pravidelná, 2 mm	G ⁺	G ⁺ tyčinky
Saranče - dospělci	PCA	Žlutá, lesklá, 1 mm	G ⁺	-
Saranče - dospělci	PCA	Bílá – průhledná, matná, 1,5 cm	G ⁻	-
Saranče - dospělci	PCA	Bílá, matná, vločkovitá	G ⁻	-

Vzorek	Živná půda	morfologie	KOH test	Gramovo barvení
Saranče - dospělci	PCA	Bílá, lesklá, pravidelná, 1 mm	G ⁻	-
Saranče - dospělci	VRBA	Okraje fialové, střed nažloutlý, lesklá, pravidelná, 2-3 mm	G ⁻	-
Saranče - dospělci	VRBA	Fialová, lesklá, pravidelná 2 mm	G ⁻	-
Saranče - dospělci	VRBA	Fialovo – šedá, lesklá, pravidelná, 1-2 mm	G ⁻	-
Saranče - dospělci	VRBA	Oranžová, lesklá, pravidelná, 1-2 mm	G ⁻	-
Saranče - dospělci	MRS	Bílá, lesklá, pravidelná, drobná	G ⁺	-
Saranče - dospělci	MRS	Bílá, lesklá, pravidelná, drobná	G ⁺	-
Potemník brazilský	PCA	Bílá, lesklá, pravidelná, 1 mm	G ⁻	-
Potemník brazilský	PCA	Bílá – průhledná, rozlézavá, 3,5 cm	G ⁻	-
Potemník brazilský	PCA	Bílá, lesklá, pravidelná, 2 mm	G ⁻	-
Potemník brazilský	PCA	Bílá, matná, rozlézava, nepravidelná, 4 cm	G ⁻	-
Potemník brazilský	VRBA	Fialová, rozlézavá, matná, nepravidelná	G ⁻	-
Potemník brazilský	VRBA	Fialová, lesklá, 1-2 mm	G ⁻	-

Vzorek	Živná půda	morfologie	KOH test	Gramovo barvení
Potemník brazil- ský	VRBA	Tmavě fialová, lesklá, pravidel- ná, 1 mm, odbarvuje živnou pů- du do fialova	G ⁻	-
Potemník brazil- ský	VRBA	Sytě fialová, matná, nepravidel- ná, 1-2 mm, odbarvuje živnou půdu do fialova	G ⁻	-
Potemník brazil- ský	MRS	Bílá, lesklá, pravidelná, drobná	G ⁺	-
Potemník brazil- ský	MRS	Bílá, lesklá, pravidelná, drobná	G ⁺	-