



*Publikace vznikla za finanční podpory:*

*Národní agentury pro zemědělský výzkum – projekt QK23020101 s názvem  
„Komplexní laboratorní strategie pro identifikaci druhů hmyzu určeného  
k lidské spotřebě a produkci zpracované živočišné bílkoviny,  
autentikace potravin na jeho bázi“*

**(certifikovaná metodika)**

## **Identifikace jedlého hmyzu pomocí hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF**

**Autorský kolektiv:**

Štěpánka Kučková, Michal Skotar, David Straka, Alena Meledina, Tatjana Smirnova,  
Kateřina Šebelová, Lenka Kouřimská, Martin Kulma, Jana Hajšlová

**Podíl autorů na tvorbě certifikované metodiky:**

doc. Ing. Mgr. Štěpánka Kučková, Ph.D.<sup>1</sup> (40 %)

Ing. Alena Meledina<sup>1</sup> (15 %)

Ing. David Straka<sup>1</sup> (10 %)

Ing. Tatjana Smirnova<sup>1</sup> (10 %)

Bc. Michal Skotar<sup>1</sup> (5 %)

Ing. Kateřina Šebelová<sup>2</sup> (5 %)

prof. Ing. Lenka Kouřimská, Ph.D.<sup>3</sup> (5 %)

Ing. Martin Kulma, Ph.D.<sup>4</sup> (5 %)

prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc.<sup>2</sup> (5 %)

<sup>1</sup> Ústav biochemie a mikrobiologie, Fakulta potravinářské a biochemické technologie, VŠCHT v Praze Technická 3, 166 28 Praha 6

<sup>2</sup> Ústav analýzy potravin a výživy, Fakulta potravinářské a biochemické technologie, VŠCHT v Praze Technická 3, 166 28 Praha 6

<sup>3</sup> Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky, Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů, Česká zemědělská univerzita v Praze, Kamýcká 129, 165 00 Praha – Suchdol

<sup>4</sup> Katedra zoologie a rybářství, Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů, Česká zemědělská univerzita v Praze, Kamýcká 129, 165 00 Praha – Suchdol

**Oponenti:**

Ing. Soňa Baršová – Státní zemědělská a potravinářská inspekce, Inspektorát v Praze

Ing. Martin Svoboda, Ph.D. – Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, Praha

**Financování:**

Tato certifikovaná metodika je výsledkem projektu Národní agentury pro zemědělský výzkum (NAZV) č. QK23020101.

### **Určení pro využití v praxi:**

Metodika je určena laboratořím, které se zabývají analýzou vybraných druhů hmyzu a výrobků z něj. Cílovou skupinu představují především laboratoře zaměřené na prokazování falšování potravin nebo krmiv určených pro zvířata s obsahem hmyzu. Tato metodika umožňuje identifikaci 10 různých druhů jedlého hmyzu, hmyzu schváleného jako krmivo a druhů, které by v budoucnu mohly být přidány mezi schválené jedlé druhy pomocí hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF. Hlavním cílovým uživatelem v České republice je Státní zemědělská a potravinářská inspekce (SZPI), která provádí kontroly potravin. Dalším cílovým uživatelem ze státního sektoru je Státní veterinární správa (SVS), která se kontrolou přítomnosti deklarovaného druhu hmyzu ve výrobcích také zabývá. Využití metodiky je však také ve výuce a budoucí praxi studijních oborů na přírodovědných, veterinárních, zemědělských a chemických univerzitách. Výsledky, které lze aplikací metodiky v praxi získat, jsou prospěšné zejména spotřebitelům, které může ochránit před ohrožením jejich zdravotního stavu (např. kvůli alergickým reakcím při požití různých druhů hmyzu) a výrobcům, pro které je správná identifikace důležitá k zajištění kvality, bezpečnosti a souladu s platnou legislativou (např. v rámci Evropské unie).

### **Certifikace:**

Metodice bylo uděleno osvědčení MZe ČR č. 23/2025

O uplatnění metodiky je uzavřena smlouva č. SML/192/25/003 podle ustanovení § 1746 odst. 2 zákona č. 89/2012 Sb., občanského zákoníku.

### **Prohlášení:**

Předkladatel metodiky prohlašuje, že zpracovaná metodika nezasahuje do práv jiných osob z průmyslového nebo jiného duševního vlastnictví.

### **Poděkování:**

Autoři děkují recenzentům metodiky za podnětné a cenné připomínky.

### **Vydal:**

© Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2025

**ISBN: 978-80-7592-302-8**

## **Anotace**

Předkládaná metodika se zabývá identifikací celkem deseti druhů hmyzu, ze kterých jsou čtyři schváleny pro použití jako lidská potravina: *Acheta domesticus* (cvrček domácí), larvy *Alphitobius diaperinus* (potemníka stájového), *Locusta migratoria* (saranče stěhovavá) a larvy *Tenebrio molitor* (potemníka moučného). Čtyři další analyzované druhy hmyzu, které dosud nejsou schváleny jako nová potravina, bylo zahrnuto do metodiky, protože slouží jako krmivo pro zájmové chovy (např. pro teraristiku, chov plazů) či jsou povoleny jako krmivo pro hospodářská zvířata. Patří mezi ně *Blaptica dubia* (šváb argentinský), *Gryllus assimilis* (cvrček banánový), *Hermetia illucens* (moucha bráněnka) a *Zophobas morio* (potemník brazilský). Další dva analyzované druhy dosud nebyly schváleny ani jako krmivo pro hospodářská zvířata. Jedná se o saranči pustinnou (*Schistocerca gregaria*) a švába turkistánského (*Shelfordella tartara*). Identifikace je prováděna s využitím hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption-Ionization – Time of Flight) na základě nalezených charakteristických hodnot  $m/z$  pro každý hmyzí druh a rod. Ověření specifity těchto charakteristických hodnot  $m/z$  bylo provedeno analýzou složení šesti laboratorně připravených vzorků s jedním slepým (neznámým) hodnocením a 42 komerčně dostupných produktů. Předložený protokol má potenciál být rychlým a přesným nástrojem pro autentifikaci jedlých druhů a rodů hmyzu přidávaných do potravin.

## **Annotation**

The presented methodology deals with the identification of a total of ten insect species, four of which are approved for use as a human food: larvae of *Alphitobius diaperinus* (lesser mealworm), *Acheta domesticus* (house cricket), *Locusta migratoria* (migratory locust), and larvae of *Tenebrio molitor* (yellow mealworm). Four additional insect species, which have not yet been approved as novel food, were included in the method due to their common use as feed in hobby breeding (e.g., terrarium animals, reptiles) or their permitted use as feed for livestock. These species include *Blaptica dubia* (Argentine cockroach), *Gryllus assimilis* (banana cricket), *Hermetia illucens* (black soldier fly), and *Zophobas morio* (giant mealworm). Two other analysed species have not yet been approved either as food or as feed for livestock: the desert locust (*Schistocerca gregaria*) and the Turkestan cockroach (*Shelfordella tartara*). Species identification is performed using MALDI-TOF mass spectrometry (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization – Time of Flight) based on characteristic  $m/z$  values specific to each insect species and genus. The specificity of these  $m/z$  markers was verified by analysing six laboratory-prepared samples, including one blind (unknown) sample, and 42 commercially available insect-based products.

The proposed protocol demonstrates strong potential as a rapid and reliable tool for the authentication of edible insect species and genera used in food products.

## OBSAH

1	Cíl certifikované metodiky .....	8
2	Současný stav problematiky .....	8
2.1	Detekce potravinových podvodů a kontrola kvality.....	8
2.2	Proteomika .....	9
3	Vlastní popis metodiky.....	10
3.1	Princip metody .....	10
3.2	Potřebný materiál a chemikálie .....	10
3.3	Přístrojové vybavení a software .....	11
3.4	Pracovní postup .....	12
3.4.1	Sběr referenčních vzorků hmyzu a komerčních výrobků.....	12
3.4.2	Příprava referenčních a komerčních vzorků.....	12
3.4.3	Enzymové štěpení referenčních vzorků .....	12
3.4.4	Enzymové štěpení vzorků komerčních výrobků.....	13
3.4.5	Příprava na proteomickou analýzu.....	13
3.4.6	Analýza vzorků pomocí MALDI-TOF MS.....	14
3.4.7	Analýza dat .....	14
3.4.8	Předzpracování peptidových spekter.....	14
3.4.9	Vytvoření referenční databáze.....	15
3.4.10	Identifikace hmyzu v komerčních výrobcích .....	15
3.4.11	Kritické body.....	15
3.4.12	Reprodukovatelnost metody .....	16
3.5	Vlastní výzkum a vývoj certifikované metodiky .....	17
3.5.1	Průzkum terénu a výběr vzorků.....	17
3.5.2	Získání vzorků.....	17
3.5.3	Příprava a analýza vzorků MALDI-TOF MS.....	17
3.5.4	Identifikace hmyzích rodů a druhů .....	17
3.5.5	Testování neznámých vzorků.....	18
3.5.6	Analýza komerčních produktů.....	19
3.6	Závěrečné shrnutí .....	20

4	Srovnání novosti metodiky.....	20
5	Popis uplatnění metodiky .....	23
6	Ekonomické aspekty .....	23
7	Seznam literatury.....	24
8	Seznam publikací, které předcházely metodice a byly publikovány .....	28
9	Jména oponentů a názvy jejich organizací .....	28
10	Příloha .....	29

## 1 Cíl certifikované metodiky

Cílem metodiky je identifikace a ověření přítomnosti jedlého hmyzu (*Alphitobius diaperinus* (potemníka stájového), *Acheta domestica* (cvrčka domácího), *Locusta migratoria* (sarančete stěhovavé) a larvy *Tenebrio molitor* (potemníka moučného)) v potravinách nebo k autentizaci hmyzu schváleného jako krmivo (*Gryllus assimilis* (cvrčka banánového) a *Hermetia illucens* (mouchy bráněnky)) metodou hmotnostní spektrometrie s laserovou desorpční/ionizací v přítomnosti matrice v kombinaci s analyzátozem doby letu (MALDI-TOF MS) pro účely kontroly bezpečnosti a kvality potravin.

## 2 Současný stav problematiky

K dnešnímu dni (25. 1. 2025) byly v rámci Evropské unie schváleny čtyři druhy hmyzu pro užití k lidské konzumaci: larvy *Alphitobius diaperinus* (potemník stájový) [1], *Acheta domestica* (cvrček domácí) [2, 3], *Locusta migratoria* (saranče stěhovavá) [4] a larvy *Tenebrio molitor* (potemník moučný) [5, 6, 7]. Co se týče použití v krmivech pro zvířata, je povoleno osm druhů hmyzu, mezi které patří *Acheta domestica* (cvrček domácí), *Alphitobius diaperinus* (potemník stájový), *Bombyx mori* (bourec morušový) *Gryllus assimilis* (cvrček banánový), *Grylloides sigillatus* (cvrček krátkokřídlý), *Hermetia illucens* (moucha bráněnka), *Musca domestica* (moucha domácí) a *Tenebrio molitor* (potemník moučný) [8, 9, 10, 11].

Všechny uvedené druhy hmyzu podléhají legislativnímu rámci pro nové potraviny (Novel Food) [12], což vyžaduje detailní posouzení a schválení bezpečnosti před jejich uvedením na trh. Vzhledem k vysokým nákladům, regulačním překážkám a podobným organoleptickým vlastnostem různých druhů hmyzu jsou tyto výrobky obsahující hmyz náchylné k podvodným praktikám, zejména v oblasti částečné nebo úplné substituce. V případě substituce jsou také významnou hrozbou rizika spojená s alergickými reakcemi, protože neschválené druhy hmyzu nebyly dostatečně vyhodnoceny z hlediska bezpečnosti pro lidskou spotřebu [9, 13].

### 2.1 Detekce potravinových podvodů a kontrola kvality

Vzhledem k možnosti podvodů v potravinářském průmyslu se významně zvýšil požadavek na vývoj, spolehlivý monitoring a implementaci adekvátních analytických metod v souladu s aktuální legislativou EU, která se tak snaží chránit spotřebitele před podvodem i zdravotními

riziky. Kontrola kvality potravin hraje klíčovou roli v zajištění jejich bezpečnosti, což pozitivně ovlivňuje důvěru spotřebitelů [9].

Pro ověření autentičnosti a ochranu spotřebitelů před podvodem ve formě úplné nebo částečné náhrady produktu je obvykle nezbytné použít složitější analytické metody. Mezi ně patří zejména analýza DNA [11, 14] nebo proteomické a metabolické metody založené na hmotnostní spektrometrii [15, 16]. Dále spektrální metody, jako jsou infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací a zeslabeným úplným odrazem (ATR-FTIR) [17] nebo fluorescenční spektroskopie [18], spojené s chemometrickými nástroji, které představují silné metody pro ověření autentičnosti hmyzích mouček.

V současnosti jsou pro detekci hmyzu v potravinách a krmivech validovány především metody založené na polymerázové řetězové reakci (PCR) v kombinaci s mikroskopií [16, 19]. Mikroskopická analýza však umožňuje pouze detekci fragmentů hmyzu, nikoliv přesnou identifikaci jednotlivých druhů [19, 20]. Kvantitativní polymerázová řetězová reakce (qPCR) je metoda založená na amplifikaci DNA, která nabízí vysokou přesnost a relativně nízké náklady [11, 16]. Bylo prokázáno, že přesnost qPCR není ovlivněna přítomností komplexních směsí – jednotlivé druhy hmyzu lze identifikovat i v koncentracích nižších než 0,01 % (hmotnost/objem) v krmivech pro akvakulturu 0,1 % (hmotnost/objem) a ve zpracovaných potravinách [9]. Pro různé druhy hmyzu byly vyvinuty specifické protokoly pro jejich detekci, jako například pro *Acheta domesticus* (cvrčka domácího) [19], *Tenebrio molitor* (potemníka moučného) [20] a *Hermetia illucens* (mouchu bráněnkou) [21]. Nicméně existují pouze omezené pokusy o simultánní detekci více druhů, jak ukazuje práce Köppela *et al.* [22]. Největším omezením metody PCR je nedostatek komplexních molekulárních databází obsahujících informace o jednotlivých druzích hmyzu, což je problém podobný tomu, který se vyskytuje i v proteomice, zvláště v případě použití metody kapalinové chromatografie s tandemovou hmotnostní spektrometrií (LC-MS/MS) [16].

## 2.2 Proteomika

Proteomika se ukazuje jako perspektivní metodologie pro detekci podvodů v potravinářství [13, 16]. Dosud nebylo publikováno mnoho studií, které využívají proteomiku pro analýzu hmyzích proteinů, ale je patrný jejich nárůst se zvyšujícím se zájmem o konzumaci jedlého hmyzu. Ulrich *et al.* [23] prokázali, že různé druhy hmyzu mohou být spolehlivě identifikovány pomocí hmotnostní spektrometrie (MS) s matricí asistovanou laserovou desorpční ionizací a analyzátozem doby letu (MALDI-TOF) s využitím komerčního softwaru Biotyper. Další

studie, například Leni *et al.* [24] a Varunjikar *et al.* [16], úspěšně použily proteomické protokoly k diferenciaci jedlých druhů hmyzu za použití kapalinové chromatografie spojené s tandemovou hmotnostní spektrometrií (LC-MS/MS). Nicméně, ve studii Francis *et al.* [25] se zaměřili na detekci stopových množství jedlého hmyzu v potravinách, přičemž úspěšně identifikovali *Tenebrio molitor* (potemníka moučného) a *Gryllus assimilis* (cvrčka banánového), ale selhali v identifikaci *Hermetia illucens* (mouchy bráněnky). He *et al.* [26] demonstrovali potenciál proteomické analýzy pro objevování proteinů v kutikule, zatímco Si *et al.* [27] úspěšně určili proteiny obsažené v larvách a hmyzích svlečkách pomocí LC-MS/MS. Dále autoři Beyramysoltan *et al.* [28] popsali protokol pro identifikaci různých vývojových stádií hmyzu pomocí přímé analýzy v reálném čase s hmotnostní spektrometrií s vysokým rozlišením (DART-HRMS).

Hmotnostní spektrometrie se ukazuje jako klíčová technika pro analýzu jedlého hmyzu, která umožňuje efektivní identifikaci druhu hmyzu, analýzu nutričních vlastností, identifikaci alergenů a kontrolu kvality. Studie zahraničních autorů jako Leni *et al.* [24], Ulrich *et al.* [23] a Varunjikar *et al.* [16] ukazují na rostoucí význam MS v této oblasti. I přes pokroky v proteomické analýze je stále nutné řešit výzvy týkající se databází, standardizace metod a validace výsledků pro širší komerční využití hmyzu jako potraviny.

### **3 Vlastní popis metodiky**

#### **3.1 Princip metody**

Hmotnostní spektrometrie (MS) typu MALDI-TOF je klíčovou technikou v proteomické analýze, která umožňuje identifikaci proteinových složek v různých materiálech pomocí tzv. fingerprintu hmotnostních spekter. Metoda je založena na porovnání charakteristických  $m/z$  hodnot, které byly zjištěny z hmotnostních spekter referenčních vzorků 10 druhů hmyzu, se sety  $m/z$  hodnot získaných analýzou komerčních produktů (např. částí hmyzích těl, mletého hmyzu, výrobků obsahující hmyz).

#### **3.2 Potřebný materiál a chemikálie**

- Acetonitril (ACN)
- Destilovaná voda
- Hydrogenuhličitan amonný

- Kyselina 2,5-dihydroxybenzoová (DHB) (8 mg DHB v 500 µl směsi 50% ACN a 0,1% TFA)
- Kyselina trifluoroctová (TFA)
- MALDI destička z broušené oceli\*
- Mikrokumavky 200 µl a 1,5 ml
- Peptide Calibration Standard II (PepMix II)
- Pierce™ Trypsin Protease, MS-Grade
- Pipetové špičky
- Špičky s reverzní fází Zip-Tip C18
- Ultračistá voda

\* v závislosti na použitém přístroji

### 3.3 Přístrojové vybavení a software

- Analytické váhy
- Centrifuga
- Hlubokomrazicí mrazák -80 °C
- Lyofilizátor (Gregor 500).
- Pipety od 1 do 1000 µl
- Spektrometr MALDI-TOF s lineárním průletovým detektorem (Bruker-Daltonics Autoflex Speed, nebo podobný)
- Software pro akvizici spekter (např. FlexControl (Bruker-Daltonics, Německo))
- Software pro píkování hmotnostních spekter (např. mMass)
- PostgreSQL (např. verze 2023.3.4, DatabaseSpy ® 2024)
- pgAdmin 4 (např. verze 6.21, PostgreSQL Community Association of Canada)
- Sonikátor
- Termomixér
- Vortex
- Výrobník destilované vody

## **3.4 Pracovní postup**

### **3.4.1 Sběr referenčních vzorků hmyzu a komerčních výrobků**

Sběr jedlého hmyzu a komerčních produktů, které jej obsahují, by měl být prováděn v souladu s předpisy a doporučeními pro zajištění bezpečnosti potravin. To zahrnuje identifikaci druhu a potvrzení, že hmyz je určen pro konzumaci podle platných právních předpisů.

Vzorky hmyzu byly dodány od různých chovatelů. Hmyz byl usmrcen vařením po dobu 5 minut v hmotnostním poměru 1:10 s vodou.

### **3.4.2 Příprava referenčních a komerčních vzorků**

Usmrcený hmyz (referenční vzorky) je před samotnou lyofilizací navážen do misek určených pro lyofilizátor a hluboce zmrazen minimálně po dobu 1 hodiny při teplotě  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Následně jsou vzorky v miskách umístěny do lyofilizátoru (Gregor 500). Doba lyofilizace se liší v závislosti na druhu a způsobu usmrcení hmyzu a pohybuje se v rozmezí 48 až 120 hodin.

Správná a pečlivá homogenizace jak referenčních, tak komerčních vzorků je důležitým předpokladem pro zajištění kvalitních výsledných proteomických dat.

### **3.4.3 Enzymové štěpení referenčních vzorků**

Z každého referenčního vzorku (surového vzorku homogenizovaného hmyzu) jsou připraveny tři navážky (tzv. technická opakování) o hmotnosti  $5,0 \pm 0,2\text{ mg}$  do 1,5ml zkumavky typu Eppendorf. Ke každé navážce je přidáno 50  $\mu\text{l}$  50mM roztoku hydrogenuhličitanu amonného. Vzorky jsou promíchány pomocí vortexu (vortexovány), následně centrifugovány při 1680 RCF po dobu 1 minuty a ponechány přes noc v lednici.

Do každé zkumavky je přidáno 25  $\mu\text{l}$  2% roztoku trypsinu, připraveného ze zásobního roztoku trypsinu o koncentraci 1  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$  a 50mM roztoku hydrogenuhličitanu amonného v poměru 2:98 v/v. Následně je celý objem promíchán (vortexován) a centrifugován při 1680 RCF po dobu jedné minuty.

Štěpení probíhá v termomixéru po dobu 6 hodin při  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  a rychlosti míchání 450 rpm. Po uplynutí doby štěpení jsou vzorky centrifugovány při 420 RCF po dobu 1 minuty. Štěpení je zastaveno přidáním 3,75  $\mu\text{l}$  10% roztoku TFA do každé zkumavky, přičemž obsah je znovu promíchán vortexem a následně centrifugován při 2420 RCF po dobu 3 minut.

Supernatanty jsou přeneseny do čistých zkumavek (o objemu 200  $\mu\text{l}$ ) a uchovány při  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

### 3.4.4 Enzymové štěpení vzorků komerčních výrobků

Oproti výše uvedenému postupu (3.4.3) jsou u zpracování komerčních vzorků provedeny následující změny:

- z každého komerčního výrobku je připravena pouze jedna navážka o hmotnosti  $10,0 \pm 0,2$  mg
- objem 50mM roztoku hydrogenuhličitanu amonného přidaného ke vzorku činí 100  $\mu$ l
- ukončení štěpení probíhá pomocí 6,25  $\mu$ l 10% roztoku TFA

### 3.4.5 Příprava na proteomickou analýzu

Následující postup přečištění vzorků pomocí ZipTip C18<sup>®</sup>, které využívají chromatografii s reverzní fází, zahrnuje práci jen se supernatantem získaným po enzymovém štěpení referenčních vzorků i komerčních výrobků. Tento proces slouží k odstranění nežádoucích interferentů a k významnému zlepšení odezvy při hmotnostně-spektrometrických měřeních.

*Použitá činidla:*

1. Vlhčící činidlo (W): 100% acetonitril
2. Ekvilibrační činidlo (EQ): 0,2% roztok TFA
3. Eluční činidlo (EL): 100% acetonitril a 0,2% roztok TFA (1:1, v/v)

Roztoky obsahující TFA se sonikují po dobu 10 minut.

*Postup přečištění:*

Přečištění vzorků probíhá v pěti postupných krocích:

1. Vlhčení špiček – propláchnutí špiček ZipTip C18<sup>®</sup> vlhčícím činidlem – 10x.
2. Ekvilibrace – provedení ekvilibrace špiček ekvilibračním činidlem – 10x.
3. Aplikace vzorku – nasátí vzorku do špiček, čímž dochází k zachycení peptidů na reverzní fázi – 10x.
4. Odstranění nečistot – opětovná ekvilibrace k eliminaci nežádoucích interferentů – 10x.
5. Eluce – peptidy jsou eluovány pomocí 10  $\mu$ l elučního činidla do nové PCR zkušavky a jsou zkoncentrovány opakovaným proplachem – 10x.

### 3.4.6 Analýza vzorků pomocí MALDI-TOF MS

Alikvot 2  $\mu\text{l}$  eluovaného vzorku po purifikaci pomocí ZipTip C18<sup>®</sup> je smíchán s 10  $\mu\text{l}$  DHB (matrice nezbytná pro správnou ionizaci při užití techniky MALDI-TOF MS). Výsledná směs je nanášena na tři pozice ocelové MALDI destičky a ponechána zaschnout. Kalibrační roztok je připraven smícháním 1  $\mu\text{l}$  kalibračního standardu Peptide Calibration Standard II (Bruker Daltonics) s 5  $\mu\text{l}$  roztoku matrice (DHB roztok). Analýza metodou MALDI-TOF MS je provedena pomocí přístroje Autoflex Speed (Bruker Daltonics), který je vybaven laserem SmartBeam<sup>TM</sup> II (355 nm) a softwarem flexControl (verze 3.4 Build 135, Bruker Daltonics). Pro měření je použit reflektorový pozitivní mód s hmotnostním rozsahem: 900–4500  $m/z$ . Metoda je měřena s následujícími parametry: IS1 19000 V; IS2 16550 V, čočky 8600 V; celkový počet výstřelů 10000 po 2000 výstřelech laseru v každém jednom kroku. Pro kalibraci metody je použit výše uvedený Peptide Calibration Standard II (Bruker Daltonics); ppm chyba byla 1–7. Standard pokrývá celý rozsah měření od 900 do 4 500 Da.

### 3.4.7 Analýza dat

Data z MALDI-TOF MS jsou zpracována pomocí softwaru pro analýzu proteomických dat, jako je např. mMass (verze 5.5.0, Copyright<sup>©</sup> 2005-2013 Martin Strohal, Free Software Foundation). Dalšími použitými programy jsou Microsoft Excel a pgAdmin 4 (verze 6.21, PostgreSQL Community Association of Canada) běžícím v databázovém softwaru PostgreSQL (verze 2023.3.4, DatabaseSpy<sup>®</sup> 2024).

### 3.4.8 Předzpracování peptidových spekter

Soubory „fid“ v adresářích exportovaných výsledků z MALDI-TOF MS jsou otevřeny v softwaru mMass. Nejprve se aplikuje korekce základní linie (*baseline*) a následně vyhlazování (*smoothing*) spektra. Při korekci základní linie (*baseline*) je parametr přesnosti (*precision*) nastaven na 100 a relativní posun (*relative offset*) na 0. Vyhlazování je realizováno metodou Savitzky-Golay s šířkou okna (*window size*) 0,3  $m/z$  a třemi cykly.

Po těchto úpravách je provedeno automatické píkování (*picking*) spektra. Výška píkování (*picking height*) je nastavena na 62, u spekter s nízkým poměrem signál-šum ( $S/N$ ) na 81. Pro zajištění správné detekce je nezbytné manuální ověření účinnosti píkování, aby byl ve spektrech označen výhradně monoizotopický pík.

Získané hodnoty  $m/z$  pro každé spektrum jsou následně zkopírovány do souboru Excel, kde probíhá další analýza dat prostřednictvím softwaru PostgreSQL a pgAdmin 4.

### 3.4.9 Vytvoření referenční databáze

Pro určení druhu hmyzu v komerčních výrobcích je nezbytné mít k dispozici robustní referenční databázi charakteristických hodnot  $m/z$  pro každý hmyzí rod a druh. Srovnání hodnot  $m/z$  získaných z komerčních produktů s databází umožní identifikaci přítomných hmyzích druhů.

Po změření referenčních vzorků hmyzu pomocí MALDI-TOF MS jsou všechna data nejdříve zpracována v programu mMass (verze 5.5.0, Copyright© 2005-2013 Martin Strohal, Free Software Foundation), ve kterém je provedeno označení všech nalezených signálů (hodnot  $m/z$ ) v naměřených hmotnostních spektrech, které splňují poměr signál/šum 3,5 (kapitola 3.4.8). Seznamy nalezených hodnot  $m/z$  jsou převedeny do programu Microsoft Excel, kde jsou upraveny pro datovou analýzu s využitím pgAdmin 4 (verze 6.21, PostgreSQL Community Association of Canada) v databázovém softwaru PostgreSQL (verze 2023.3.4, DatabaseSpy® 2024). Podrobné návody na získání charakteristických hodnot  $m/z$  jsou dostupné na vyžádání u autorů metodiky. Získané sety charakteristických hodnot pro každý studovaný hmyzí rod (Příloha, tabulka I) a druh (Příloha, tabulky I až V) jsou vloženy do Microsoft Excel, čímž je s vložením příkazů vytvořena flexibilní databáze sloužící k identifikaci hmyzu v komerčních produktech (i ta je na vyžádání dostupná u autorů metodiky).

### 3.4.10 Identifikace hmyzu v komerčních výrobcích

Po naměření hmotnostních spekter z komerčních produktů a získání hodnot  $m/z$  jsou tyto hodnoty vloženy do databáze určené pro identifikaci hmyzu, kde nejdříve dochází k určení hmyzího rodu. Identifikace je provedena nalezením nejvyššího počtu shod  $m/z$  hodnot z komerčního produktu s hodnotami pro konkrétní hmyz. V dalším kroku je na listu příslušného rodu opět vložen set  $m/z$  hodnot pocházející z výrobku a stejným způsobem dojde k identifikaci hmyzího druhu.

### 3.4.11 Kritické body

Kritické body při použití metody MALDI-TOF MS pro ověřování správné deklarace složení výrobků z hmyzu jsou následující:

- Přesné dodržení podmínek enzymatického štěpení (čas a teplota) je zásadní;
- analyzovaný vzorek může ucpávat reverzní fázi C18, v tomto případě je nutné vzorek znovu odstředit;
- správně provedená kalibrace dle návodu k použití Peptide Calibration Standard II;
- píkování se provádí vždy pro všechna spektra daného vzorku (ať už komerčního nebo referenčního) současně;
- po naměření je třeba spektra zkontrolovat; pokud bude naměřeno spektrum s vysokým šumem nebo nízkým počtem signálů (píků), je potřeba vzorek připravit znovu.

### 3.4.12 Reprodukovatelnost metody

MALDI-TOF MS je celosvětově uznávaná a vysoce spolehlivá metoda, která se hojně využívá především pro analýzu potravin a kontrolu jejich kvality. Maier *et al.* [29] uvedli, že reprodukovatelnost této metody je velmi vysoká, což je důsledkem její robustnosti, která byla prokázána při různých podmínkách. Dále potvrdili, že při dodržení standardizovaných podmínek pro přípravu vzorků a měření je možné získávat mezi jednotlivými laboratořemi konzistentní a srovnatelná spektra. Šebela [30] ve své review shrnuje, že metoda MALDI-TOF vyniká svojí citlivostí, přesností, dobrou reprodukovatelností a vysokou propustností vzorků. Časté používání MALDI-TOF MS v kontextu potravinářského průmyslu potvrzené řadou odborných článků (např. Gutiérrez *et al.* [31], Zhao *et al.* [32]) ukazuje, že jde o velmi robustní techniku. Tato technika je velmi přesná při detekci složek potravin. Jde tak o vhodný nástroj pro kontrolu kvality a bezpečnosti potravin.

- Opakování analýz: Pro validaci metodiky je nezbytné provést několik opakovaných měření na různých vzorcích tohoto hmyzu, aby se potvrdila konzistence a spolehlivost výsledků.
- Porovnání s morfologickými nebo genetickými metodami: K potvrzení správnosti výsledků proteomické analýzy je vhodné provést porovnání s morfologickými nebo genetickými metodami, jako je analýza DNA.

## **3.5 Vlastní výzkum a vývoj certifikované metodiky**

### **3.5.1 Průzkum terénu a výběr vzorků**

V roce 2023 byli vybráni dodavatelé jedlého hmyzu splňující legislativní a hygienické požadavky platné v České republice. Do experimentu bylo během následujících dvou let zahrnuto 11 společností a chovatelů dodávajících vzorky hmyzu a dvě společnosti prodávající výrobky obsahující hmyz.

### **3.5.2 Získání vzorků**

V rámci této metodiky bylo analyzováno celkem 83 vzorků deseti následujících druhů hmyzu: *Acheta domestica* (cvrček domácí), *Alphitobius diaperinus* (potemník stájový), *Blaptica dubia* (šváb argentinský), *Gryllus assimillus* (cvrček banánový), *Hermetia illucens* (moucha bráněnka), *Locusta migratoria* (saranče stěhovavá), *Schistocerca gregaria* (saranče pustinná), *Shelfordella tartara* (šváb turkistánský), *Tenebrio molitor* (potemník moučný) a *Zophobas morio* (potemník brazilský). Vzorky hmyzu byly poskytnuty různými společnostmi a soukromými chovateli: PAPEK s.r.o. (Česká republika), Martin Kulma – ČZU, BIO-VHV s.r.o. – Bžany, paní Frkalová – Lubojaty, Eurocrickets – Vilnius – Litva, pan Radek Polouček – Říčany, pan Šprůčka – Olomouc, pan Hrala – Černíči – Čechtice, pan Richard Šourek – Blatná, pan Jedlinský – Březová nad Svitavou a pan Bartoš – Habrovany.

Výrobky z tržní sítě v počtu 26 ks, které obsahovaly hmyz, byly dodány od firem Grig a Sens. Ostatní výrobky, bez obsahu jedlého hmyzu v počtu 16 kusů pocházely od následujících společností: Doritos, Emco, FreeYu, Green Apotheke, Havlík, Maxsport, Mc Lloyds, Nutrend, Probio a TopNatur.

### **3.5.3 Příprava a analýza vzorků MALDI-TOF MS**

Viz výše (str. č. 5–7).

### **3.5.4 Identifikace hmyzích rodů a druhů**

Viz výše (str. č. 8).

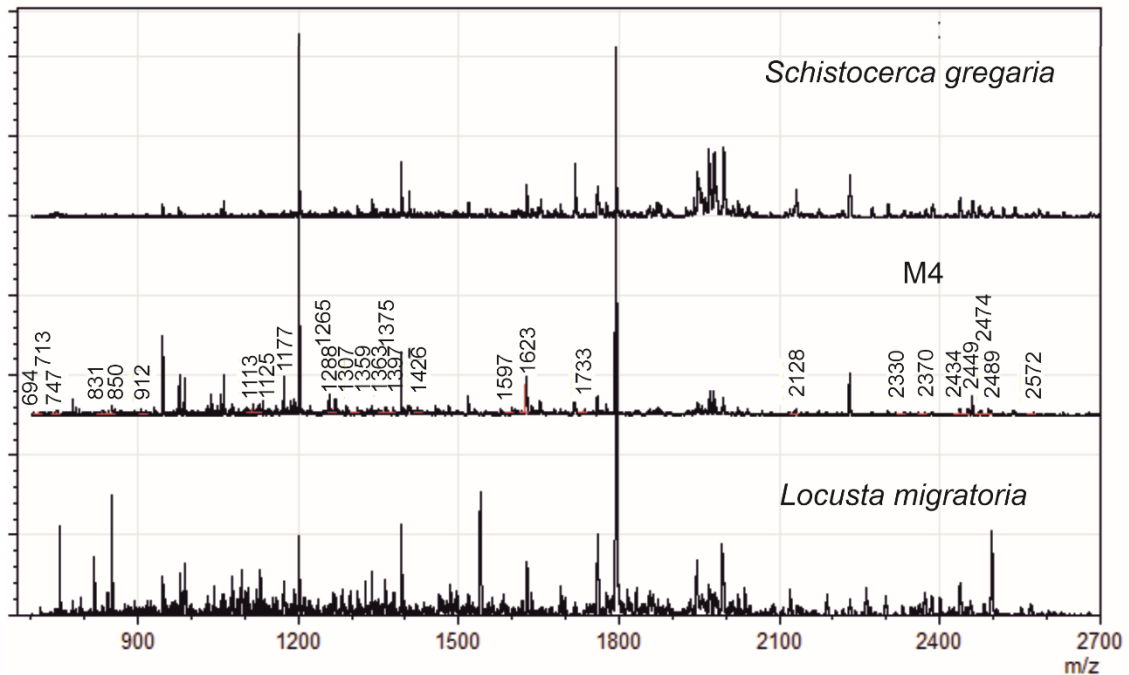
### 3.5.5 Testování neznámých vzorků

Prostřednictvím šesti neznámých vzorků zahrnujících směsi referenčních jednodruhových hmyzích mouček byla testována finální databáze umožňující identifikaci hmyzích rodů a druhů.

Směsi hmyzích mouček byly připraveny jako slepý pokus a pomocí MALDI-TOF MS se podařilo většinu směsí správně určit (tabulka 1). Pouze u vzorků M5 a M6 nebyly směsi zcela správně určeny. U vzorku M5 byla nesprávně identifikována *Schistocerca gregaria* (saranče pustinná) místo *Locusta migratoria* (saranče stěhovavá) a u vzorku M6 nebyly nalezeny peptidové markery pro *Acheta domesticus* (cvrčka domácího), protože byly zastíněny silnějšími signály pocházejícími ze švába argentinského. Hmotnostní spektrum směsi M4 s vyznačením charakteristických hodnot  $m/z$  pro oba druhy sarančat (*Locusta migratoria* (saranče stěhovavá) a *Schistocerca gregaria* (saranče pustinná)) je uvedeno na obrázku 1.

**Tabulka č. 1.** Analýza modelových směsí hmyzích mouček pomocí hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF

Číslo vzorku	Směs hmyzích mouček (poměr)	Úspěšnost identifikace
M1	Potemníci brazilský:moučný:stájový (1:1:1)	ano
M2	Potemník moučný: saranče pustinná (1:1)	ano
M3	Cvrček domácí:banánový (1:1)	ano
M4	Saranče stěhovavá: pustinná (1:1)	ano
M5	Cvrček banánový:saranče stěhovavá (1:1)	Správně saranče stěhovavá, identifikováno ale saranče pustinné
M6	Šváb argentinský:cvrček domácí (1:1)	Nebyl identifikován cvrček domácí



**Obrázek 1.** MALDI-TOF hmotnostní spektrum vzorku M4 s vyznačením charakteristických hodnot  $m/z$  identifikujících oba druhy sarančat – *Locusta migratoria* (saranče stěhovavá) a *Schistocerca gregaria* (saranče pustinná)

### 3.5.6 Analýza komerčních produktů

K ověření aplikovatelnosti charakteristických peptidových markerů bylo zakoupeno 42 komerčních vícesložkových výrobků (viz Příloha, tabulka VI). Při jejich analýze pomocí hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF byla identifikace hmyzích druhů spolehlivá pouze u jednosložkových výrobků. Tato metoda tak umožnila detekci specifických markerů pro jednotlivé druhy hmyzu, ale její úspěšnost byla limitována u směsí s dalšími proteinovými materiály, kde došlo k interferencím mezi jednotlivými markery. Ze 42 vzorků (kde 26 obsahovalo hmyz a 16 bylo bez přídavku hmyzu) se 31 podařilo správně určit, 4 byly chybně vyhodnoceny, 5 se nepodařilo naměřit (nebylo získáno hmotnostní spektrum) a 2 vzorky nebylo možné správně vyhodnotit (byl nalezen příliš nízký počet charakteristických hodnot pro spolehlivé určení hmyzího druhu). 26 vzorků s obsahem hmyzu bylo rozděleno do šesti kategorií potravin (chipsy, granola, krekry a sušenky, proteinové tyčinky, samotný hmyz a těstoviny). Úspěšnost jejich identifikace je uvedena v tabulce 2. Nejúspěšněji byl hmyz identifikován v případě potravin, které obsahovaly pouze proteiny pocházející z hmyzu (kategorie „Samotný hmyz“), tedy bez přídavku např. rostlinných proteinů ve formě pšeničné,

cizrnové či hrachové mouky. Výsledky byly nezávislé na obsahu hmyzí složky, která se ve výrobcích pohybovala od 5 do 100 %.

**Tabulka č. 2.** Kategorie potravin a jejich úspěšnost při analýze pomocí MALDI-TOF MS

Číslo kategorie	Kategorie	Ano	Ne	Nenaměřeno
I	Chipsy	1	2	1
II	Granola	2		
III	Krekry a sušenky	2	1	
IV	Proteinové tyčinky	1	1	1
V	Samotný hmyz	13		
VI	Těstoviny	1		

### 3.6 Závěrečné shrnutí

Na základě uvedených výsledků je možné doporučit použití MALDI-TOF MS pro spolehlivou analýzu a identifikaci hmyzu v jednodruhových výrobcích, kde nejsou přítomny interferující rostlinné proteiny. Tato metoda se ukázala jako velmi účinná pro identifikaci čistých hmyzích složek, a to i při nízkém obsahu hmyzu v produktu (od 5 do 100 %) v komerčních produktech. Pro vícesložkové produkty, které obsahují směs hmyzu a dalších proteinových složek, je úspěšnost metody omezená kvůli možným interferencím, a proto je doporučeno v těchto případech hledat alternativní analytické metody nebo použít MALDI-TOF MS v kombinaci s jinými technikami (např. polymerázovou řetězovou reakcí (PCR), kapalinovou chromatografií s tandemovou hmotnostní spektrometrií (LC-MS/MS) či imunochemickými metodami) pro zvýšení přesnosti výsledků.

## 4 Srovnání novosti metodiky

V posledních letech bylo vyvinuto několik metod využívajících hmotnostní spektrometrii MALDI-TOF pro identifikaci hmyzích druhů a alergenů obsažených v hmyzu (tabulka 3). Popularita této metody spočívá zejména v její schopnosti rychle generovat spektra, přičemž příprava vzorku je v porovnání s jinými rychlá a jednoduchá. Jedním z nejčastějších podvodů

v potravinářství je substituce dražší komodity levnější. Tento trend reflektují i vědecké studie, které byly publikovány v 21. století a jsou zaměřeny právě na tuto problematiku [15, 33].

Většina publikací zabývající se proteomickou identifikací hmyzích druhů analyzovala jen jejich menší počet [16, 33, 34], oproti zde analyzovaným 10 druhům, a identifikace hmyzu v potravinách byla velmi omezená (tabulka 3). Předkládaná metodika je v porovnání s jinými metodami novátorská jak do I) způsobu přípravy vzorků, kdy se neprovádí extrakce proteinů před jejich štěpením trypsinem, tak do II) způsobu identifikace hmyzích druhů. Přímé štěpení vzorků, tj. enzymové štěpení proteinů bez jejich předchozí extrakce pomocí extrakčních činidel, umožňuje urychlení analýzy a nižší spotřebu rozpouštědel, která jsou často ekologicky závadná.

I) Příprava vzorků je klíčovým krokem v proteomické analýze, protože přímo ovlivňuje analyzované proteiny. Prvním krokem je získání hmyzích vzorků, které lze zakoupit od komerčního dodavatele [23, 24, 34–36] nebo získat z udržované kolonie [23, 27, 33]. Vzorky musí být homogenizovány, což je již splněno v případě hmyzích mouček; pokud nejsou, vzorky se melou buď pomocí mlýnku [23, 24, 34], nebo se homogenizují manuálně v kapalném dusíku [24, 26, 36]. Po homogenizaci jsou proteiny připraveny k extrakci. K tomu je k dispozici několik činidel, které jsou uvedeny v tabulce 3. Před enzymovým štěpením jsou proteiny často redukovány za účelem přerušování disulfidových vazeb pomocí dithiothreitolu (DTT), někdy pak také alkylovány jodoacetamidem (IAA) [23, 26–28]. Samotné štěpení se obvykle provádí pomocí trypsinu [13, 16, 23, 24, 26, 28]. Rozštěpené peptidy jsou následně čištěny pomocí chromatografických technik, jako jsou extrakce na pevné fázi (SPE) [24], komerční 2D Clean-up Kit před gelovou elektroforézou [23] nebo kapalinová chromatografie s reverzní fází (RP-LC) [13]. Pro analýzu pomocí MALDI-TOF MS je pouze nutné vzorky smíchat s matricí, jako je  $\alpha$ -kyano-4-hydroxyskořicová kyselina (CHCA) nebo 2,5-dihydroxybezoová kyselina (DHB) [34, 35].

**Tabulka č. 3.** Porovnání proteomických metod použitých k analýze hmyzu

Analytická metoda	Analyzované druhy	Protokol extrakce	Cíl analýzy	Reference
DART-HRMS	Čeledi Calliphoridae, Phoridae, Sarcophagidae	70% ethanol	Diferenciace vývojových stádií	[28]
LC-MS	<i>Hermetia illucens</i> , <i>Lucilia sericata</i>	6M močovina, 2M thiomočovina, DTT, pufr Tris-HCl, trypsin	Identifikace hmyzích druhů	[37]

Analytická metoda	Analyzované druhy	Protokol extrakce	Cíl analýzy	Reference
LC-MS/MS	<i>Acheta domesticus</i> , <i>Alphitobius diaperinus</i> , <i>Tenebrio molitor</i> , <i>Hermetia illucens</i>	1) dodecyl síran sodný (SDS), Tris-HCl (pH 7,6), DTT 2) 2M močovina v Tris-HCl (pH 9,2) Oboje alkylace IAA a štěpení trypsinem	Identifikace hmyzích druhů	[16]
LC-MS/MS	<i>Helicoverpa armigera</i>	8M močovina + pufr s inhibičními proteázami, DTT, IAA, zředění tetraethylammonium bromidem, trypsin	Identifikace metamorfních proteinů	[27]
LC-MS/MS	<i>Hermetia illucens</i> , <i>Alphitobius diaperinus</i>	6M močovina, 1M thiomčovina v Tris-HCl (pH 8), trypsin	Identifikace hmyzích druhů	[24]
LC-MS/MS	<i>Gryllus assimilis</i> , <i>Alphitobius diaperinus</i> , <i>Tenebrio molitor</i> , <i>Hermetia illucens</i>	8M močovina, DTT, CHAPS, zředění a trypsin	Identifikace hmyzích druhů	[23]
LC-MS/MS	<i>Acheta domesticus</i> , <i>Alphitobius diaperinus</i> , <i>Tenebrio molitor</i> , <i>Hermetia illucens</i> , <i>Zophobas morio</i>	SDS, DTT v Tris-HCl (pH 7,6), zředění s 8M močovinou v Tris-HCl (pH 8,5), IAA, trypsin	Identifikace hmyzích druhů, detekce alergenů	[13]
MALDI-TOF MS	<i>Acheta domesticus</i> , <i>Alphitobius diaperinus</i> , <i>Tenebrio molitor</i> , <i>Locusta migratoria</i>	Roztok 5% kyseliny mravenčí	Identifikace hmyzích druhů	[34]
MALDI-TOF MS	Různé druhy vši	50% (v/v) acetonitril a 70% (v/v) kyselina mravenčí	Identifikace hmyzích druhů	[36]
SDS-PAGE	<i>Tenebrio molitor</i> , <i>Zophobas morio</i> , <i>Acheta domesticus</i> , <i>Alphitobius diaperinus</i> , <i>Blattica dubia</i>	SDS pufr s DTT, EDTA, Tris-HCl (pH 8)	Charakterizace proteinů	[35]
SDS-PAGE LC-MS/MS	<i>Anopheles gambiae</i>	SDS pufr s DTT, IAA, trypsin	Identifikace kutikulárních proteinů	[26]
SDS-PAGE imunoblotting	<i>Gryllus bimaculatus</i>	Fosfátový pufr s NaCl a inhibičním činidlem pro proteasy	Identifikace nových alergenů	[34]

II) V současných studiích, které se zabývají identifikací hmyzích druhů pomocí MALDI-TOF se využívají extrahované proteiny k tvorbě databáze v komerčním softwaru Biotyper [23, 38]. Vzorky jsou pak určovány porovnáním s touto databází. Značnou nevýhodou tohoto postupu je, že jednak vyžaduje zakoupení drahého softwarového zařízení a zejména není možné jej aplikovat na vzorky, které obsahují jiné, i neproteinové příměsi, které poskytují signály v hmotnostním spektru. Pro analýzu potravin s obsahem hmyzu je tento postup zcela nevhodný. V předkládané metodice je identifikace hmyzích druhů založena na jednoduchém principu tzv. fingerprintu jejich hmotnostních spekter, kdy jsou nejprve nalezeny charakteristické hodnoty  $m/z$  pro hmyzí rody a druhy. Tyto charakteristické hodnoty jsou zjištěny s využitím speciálního softwaru popsáno v interním laboratorním materiálu Kirg a Kučková (2022) [39]. Charakteristické hodnoty jsou pak hledány ve spektrech analyzovaných vzorků komerčních produktů a na základě největšího počtu shod je určen přítomný rod či druh hmyzu. K vyhledávání je možné použít excelovou aplikaci, kterou lze získat na vyžádání od autorů metodiky. Vyhledáváním pouze charakteristických hodnot  $m/z$  se omezuje vliv interferujících proteinových materiálů, které jsou obsaženy v potravině a které také poskytují signály v hmotnostním spektru. Tím je překonána nevýhoda omezeného praktického využití v analýze potravin u postupů pracujících s celými referenčními spektry jedlého hmyzu. Databázi charakteristických hodnot  $m/z$  je možné v budoucnu velmi snadno rozšířit o další hmyzí druhy.

## 5 Popis uplatnění metodiky

Výše uvedená metodika byla vyvinuta v rámci projektu MZe NAZV Země QK23020101 s názvem „Komplexní laboratorní strategie pro identifikaci druhů hmyzu určeného k lidské spotřebě a produkci zpracované živočišné bílkoviny, autentikace potravin na jeho bázi“ s cílem ji poskytnout kontrolním orgánům České republiky – Státní zemědělské a potravinářské inspekci, která představuje hlavního smluvního uživatele metodiky, a Státní veterinární správě. Vzhledem k tomu, že Státní veterinární správa disponuje přístroji MALDI-TOF MS, bude moci certifikovanou metodiku užívat při běžných kontrolních činnostech.

## 6 Ekonomické aspekty

Ekonomické aspekty výše zmíněné metodiky byly vypracovány s ohledem na fakt, že Státní veterinární správa disponuje přístrojem MALDI-TOF MS. Tudíž není zapotřebí zajišťovat

službu v jiné laboratoři, a proto níže zmíněné náklady na analýzu vzorku nezohledňují nákup přístroje.

Výhodou metody MALDI-TOF MS je rychlá příprava vzorků s minimálním využitím dalších chemikálií a spotřebního laboratorního materiálu. Vezmeme-li v úvahu chemikálie, spotřebu laboratorního materiálu a přístrojové vybavení, cena přípravy jednoho vzorku činí přibližně 150 Kč. Co se týče samotné analýzy, největší nákladové položky představuje personální zajištění, servis přístroje a amortizace, případně nákup kalibračních standardů a přečišťovacích špiček s reverzní fází C18 (Zip Tip). Náklady na analýzu jednoho vzorku tak činí 120 Kč. Součástí nákladů je také obvyklá 25% rezie. Celková cena za vyšetření vzorku činí tedy 270 Kč (340 Kč včetně DPH po zaokrouhlení, bez zahrnutí nákladů na personální zajištění)\*. Tento odhad vychází z běžných cen laboratorních materiálů a hrubé amortizace přístrojů. Skutečné náklady se mohou lišit v závislosti na konkrétních cenách a přesném postupu analýzy.

Výše zmíněná metoda by měla přispět k efektivnějšímu monitorování přítomnosti deklarovaného hmyzu v potravinách a krmivech a tím snížit podíl falšovaných produktů na trhu. Redukce množství potravin, které nesprávně deklarují obsah specifických druhů nebo rodů hmyzu, představuje významný přínos, zejména v oblasti veřejného zdraví, neboť umožní lepší ochranu spotřebitelů, kteří nemohou konzumovat produkty obsahující určité druhy hmyzu z důvodu alergií na specifické bílkoviny. Tento ekonomický přínos metodiky je obtížně kvantifikovatelný.

\*celková cena se může lišit dle vývoje ekonomické situace

## 7 Seznam literatury

[1] Commission Implementing Regulation (EU) 2023/58 of 5 January 2023 authorising the placing on the market of frozen, paste, dried and powder forms of *Alphitobius diaperinus* larvae (lesser mealworm) as a novel food and amending Implementing Regulation (EU) 2017/2470. *Official Journal of the European Union*, OJ L 5, 10–15. [https://data.europa.eu/eli/reg\\_impl/2023/58/oj](https://data.europa.eu/eli/reg_impl/2023/58/oj)

[2] Commission Implementing Regulation (EU) 2022/188 of 10 February 2022 authorising the placing on the market of frozen, dried and powder forms of *Acheta domestica* as a novel food under Regulation (EU) 2015/2283 of the European Parliament and of the Council, and amending Commission Implementing Regulation (EU) 2017/2470. *Official Journal of the European Union*, OJ L 30, 108–113, Brussels. [http://data.europa.eu/eli/reg\\_impl/2022/188/oj](http://data.europa.eu/eli/reg_impl/2022/188/oj)

[3] Commission Implementing Regulation (EU) 2023/5 of 3 January 2023 authorising the placing on the market of *Acheta domestica* (house cricket) partially defatted powder as a novel food and amending Implementing Regulation (EU) 2017/2470. *Official Journal of the European Union*, OJ L 2, 9–14. [https://data.europa.eu/eli/reg\\_impl/2023/5/oj](https://data.europa.eu/eli/reg_impl/2023/5/oj)

- [4] Commission Implementing Regulation (EU) 2021/1975 of 12 November 2021 authorising the placing on the market of frozen, dried and powder forms of *Locusta migratoria* as a novel food under Regulation (EU) 2015/2283 of the European Parliament and of the Council and amending Commission Implementing Regulation (EU) 2017/2470. *Official Journal of the European Union*, OJ L 402, 10–16, Brussels. [http://data.europa.eu/eli/reg\\_impl/2021/1975/oj](http://data.europa.eu/eli/reg_impl/2021/1975/oj)
- [5] Commission Implementing Regulation (EU) 2021/882 of 1 June 2021 authorising the placing on the market of dried *Tenebrio molitor* larva as a novel food under Regulation (EU) 2015/2283 of the European Parliament and of the Council, and amending Commission Implementing Regulation (EU) 2017/2470. *Official Journal of the European Union*, OJ L 194, 16–20. [http://data.europa.eu/eli/reg\\_impl/2021/882/oj](http://data.europa.eu/eli/reg_impl/2021/882/oj)
- [6] Commission Implementing Regulation (EU) 2022/169 of 8 February 2022 authorising the placing on the market of frozen, dried and powder forms of yellow mealworm (*Tenebrio molitor* larva) as a novel food under Regulation (EU) 2015/2283 of the European Parliament and of the Council, and amending Commission Implementing Regulation (EU) 2017/2470. *Official Journal of the European Union*, OJ L 28, 10–16, Brussels. [http://data.europa.eu/eli/reg\\_impl/2022/169/oj](http://data.europa.eu/eli/reg_impl/2022/169/oj)
- [7] Commission Implementing Regulation (EU) 2025/89 of 20 January 2025 authorising the placing on the market of UV-treated powder of whole *Tenebrio molitor* larvae (yellow mealworm) as a novel food and amending Implementing Regulation (EU) 2017/2470. *Official Journal of the European Union*, OJ L 2025/89. [http://data.europa.eu/eli/reg\\_impl/2025/89/oj](http://data.europa.eu/eli/reg_impl/2025/89/oj)
- [8] Commission Regulation (EU) 2017/893 of 24 May 2017 amending Annexes I and IV to Regulation (EC) No 999/2001 of the European Parliament and of the Council and Annexes X, XIV and XV to Commission Regulation (EU) No 142/2011 as regards the provisions on processed animal protein. *Official Journal of the European Union*, OJ L 138, 92–116. <http://data.europa.eu/eli/reg/2017/893/oj>
- [9] Belghit, I., Lock, E. J., Fumière, O., Lecrenier, M. C., Renard, P., Dieu, M., Berntssen, M. H. G., Palmblad, M., & Rasinger, J. D. (2019). Species-specific discrimination of insect meals for aquafeeds by direct comparison of tandem mass spectra. *Animals (Basel)*, 9(5), 264. <https://doi.org/10.3390/ani9050222>
- [10] Commission Regulation (EU) 2021/1925 of 5 November 2021 amending certain Annexes to Regulation (EU) No 142/2011 as regards the requirements for placing on the market of certain insect products and the adaptation of a containment method. *Official Journal of the European Union*, OJ L 393, 4–8. <http://data.europa.eu/eli/reg/2021/1925/oj>
- [11] Garino, C., Zagon, J., & Nestic, K. (2021). Novel real-time PCR protocol for the detection of house cricket (*Acheta domesticus*) in feed. *Animal Feed Science and Technology*, 280, 115057. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2021.115057>
- [12] Regulation (EU) 2015/2283 of the European Parliament And of the Council of 25 November 2015 on novel foods, amending Regulation (EU) No 1169/2011 of the European Parliament and of the Council and repealing Regulation (EC) No 258/97 of the European Parliament and of the Council and Commission Regulation (EC) No 1852/2001. *Official Journal of the European Union*, 327/1 (2015). <https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2015/2283/oj/eng>
- [13] Bose, U., Broadbent, J. A., Juhász, A., Karnaneedi, S., Johnston, E. B., Stockwell, S., Byrne, K., Limviphuvadh, V., Maurer-Stroh, S., Lopata, A. L., et al. (2022). Comparison of

protein extraction protocols and allergen mapping from black soldier fly *Hermetia illucens*. *J Proteomics*, 269, 104724. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2022.104724>

[14] Daniso, E., Tulli, F., Cardinaletti, G., Cerri, R., & Tibaldi, E. (2020). Molecular approach for insect detection in feed and food: The case of *Gryllobates sigillatus*. *European Food Research and Technology*, 246(12), 2373–2381. <https://doi.org/10.1007/s11483-020-01853-7>

[15] Tata, A., Massaro, A., Marzoli, F., Miano, B., Bragolusi, M., Piro, R., & Belluco, S. (2022). Authentication of edible insects' powders by the combination of DART-HRMS signatures: The first application of ambient mass spectrometry to screening of novel food. *Foods*, 11(15), 2264. <https://doi.org/10.3390/foods11152264>

[16] Varunjikar, M. S., Belghit, I., Gjerde, J., Palmblad, M., Oveland, E., & Rasinger, J. D. (2022). Shotgun proteomics approaches for authentication, biological analyses, and allergen detection in feed and food-grade insect species. *Food Control*, 137, 108888. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.108888>

[17] Mellado-Carretero, J., García-Gutiérrez, N., Ferrando, M., Güell, C., García-Gonzalo, D., & De Lamo-Castellví, S. (2020). Rapid discrimination and classification of edible insect powders using ATR-FTIR spectroscopy combined with multivariate analysis. *Journal of Insects as Food and Feed*, 6(2), 141–148. <https://doi.org/10.3920/JIFF2019.0032>

[18] Rossi, G., Durek, J., Ojha, S., & Schlüter, O. K. (2021). Fluorescence-based characterisation of selected edible insect species: Excitation emission matrix (EEM) and parallel factor (PARAFAC) analysis. *Current Research in Food Science*, 4, 862–872. <https://doi.org/10.1016/j.crf.2021.11.004>

[19] Veys, P., & Baeten, V. (2018). Protocol for the isolation of processed animal proteins from insects in feed and their identification by microscopy. *Food Control*, 92, 496–504. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.05.028>

[20] Debode, F., Marien, A., Gérard, A., Francis, F., Fumière, O., & Berben, G. (2017). Development of real-time PCR tests for the detection of *Tenebrio molitor* in food and feed. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 34(8), 1421–142. <https://doi.org/10.1080/19440049.2017.1320811>

[21] Marien, A., Debode, F., Aerts, C., Ancion, C., Francis, F., & Berben, G. (2018). Detection of *Hermetia illucens* by real-time PCR. *Journal of Insects as Food and Feed*, 4(2), 115–122. <https://doi.org/10.3920/JIFF2017.0069>

[22] Köppel, R., Schum, R., Habermacher, M., Sester, C., Piller, L. E., Meissner, S., & Pietsch, K. (2019). Multiplex real-time PCR for the detection of insect DNA and determination of contents of *Tenebrio molitor*, *Locusta migratoria*, and *Acheta domesticus* in food. *European Food Research and Technology*, 245(3), 559–567. <https://doi.org/10.1007/s00217-018-03225-5>

[23] Ulrich, S., Kühn, U., Biermaier, B., Piacenza, N., Schwaiger, K., Gottschalk, C., & Gareis, M. (2017). Direct identification of edible insects by MALDI-TOF mass spectrometry. *Food Control*, 76, 96–101. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.01.010>

[24] Leni, G., Prandi, B., Varani, M., Faccini, A., Caligiani, A., & Sforza, S. (2020). Peptide fingerprinting of *Hermetia illucens* and *Alphitobius diaperinus*: Identification of insect species-specific marker peptides for authentication in food and feed. *Food Chemistry*, 320, 126681. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126681>

- [25] Francis, F., Mazzucchelli, G., Baiwir, D., Debode, F., Berben, G., & Caparros Megido, R. (2020). Proteomics-based approach for edible insect fingerprinting in novel food: Differential efficiency according to selected model species. *Food Control*, *112*, 107135. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107135>
- [26] He, N., Botelo, J. M., McNall, R. J., Belozarov, V., Dunn, W. A., Mize, T., Orlando, R., Willis, J. H. (2007). Proteomic analysis of cast cuticles from *Anopheles gambiae* by tandem mass spectrometry. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, *37*(2), 135–146. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2006.10.011>
- [27] Si, W., Wang, Q., Li, Y., & Dong, D. (2020). Label-free quantitative proteomic analysis of insect larval and metamorphic molts. *BMC Developmental Biology*, *20*(1), 24. <https://doi.org/10.1186/s12861-020-00227-z>
- [28] Beyramysoltan, S., Giffen, J. E., Rosati, J. Y., & Musah, R. A. (2018). Direct analysis in real time-mass spectrometry and Kohonen artificial neural networks for species identification of larva, pupa, and adult life stages of carrion insects. *Analytical Chemistry*, *90*(15), 9206–9217. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.8b01704>
- [29] Maier, T., Klepel, S., Renner, U., & Kostrzewa, M. (2006). Fast and reliable MALDI-TOF MS-based microorganism identification. *Nature Methods*, *3*(4). <https://doi.org/10.1038/nmeth870>
- [30] Šebela, M. (2022). Biomolecular profiling by MALDI-TOF mass spectrometry in food and beverage analyses. *International Journal of Molecular Sciences*, *23*(21), 13631. <https://doi.org/10.3390/ijms232113631>
- [31] Gutiérrez, C., Gómez-Flechoso, M. Á., Belda, I., Ruiz, J., Kayali, N., Polo, L., & Santos, A. (2017). Wine yeasts identification by MALDI-TOF MS: Optimization of the preanalytical steps and development of an extensible open-source platform for processing and analysis of an in-house MS database. *International Journal of Food Microbiology*, *254*, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.05.003>
- [32] Zhao, X., Lu, J., Long, S., Soko, W. C., Qin, Q., Qiao, L., & Bi, H. (2021). MALDI-TOF MS and magnetic beads for rapid seafood allergen tests. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *69*(43), 12909–12918. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c04723>
- [33] Fuso, A., Leni, G., Prandi, B., Lolli, V., & Caligiani, A. (2024). Novel foods/feeds and novel frauds: The case of edible insects. *Trends in Food Science & Technology*, *147*, 104457. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2024.104457>
- [34] Srinroch, C., Srisomsap, C., Chokchaichamnankit, D., Punyarit, P., & Phiriyangkul, P. (2015). Identification of novel allergen in edible insect, *Gryllus bimaculatus*, and its cross-reactivity with *Macrobrachium* spp. allergens. *Food Chemistry*, *184*, 160–166. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.03.094>
- [35] Yi, L., Lakemond, C., Sagis, L., Eisner-Schadler, V., van Huis, A., van Boekel, M. (2013) Extraction and characterization of protein fractions from five insect species. *Food Chemistry*, *141*(4), 3341–3348. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.05.115>
- [36] Ouarti, B., Laroche, M., Righi, S., Meguini, M. N., Benakhla, A., Raoult, D., & Parola, P. (2020). Development of MALDI-TOF mass spectrometry for the identification of lice isolated from farm animals. *Parasite*, *27*, 28.
- [37] Rabani, V., Cheatsazan, H., & Davani, S. (2019). Proteomics and lipidomics of black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) and blow fly (Diptera: Calliphoridae) larvae. *Journal of Insect Science*, *19*(1), 2. <https://doi.org/10.1093/jisesa/iez050>

[38] Benyahia, H., Ouarti, B., Diarra, A. Z., Boucheikhchoukh, M., Meguini, M. N., Behidji, M., Benakhla, A., Parola, P., & Almeras, L. (2021). Identification of lice stored in alcohol using MALDI-TOF MS. *Journal of Medical Entomology*, 58(3), 1126–1133. <https://doi.org/10.1093/jme/tjaa266>

[39] Kirg, R., & Kučková, Š. (2022). Návod na instalaci a nalezení unikátních hodnot  $m/z$  pro metody MALDI-TOF a LC-MS/MS. *Interní laboratorní materiál* (pp. 1–15). VŠCHT.

## 8 Seznam publikací, které předcházely metodice a byly publikovány

Kuckova, S., & Kaderabkova, L. (2024). Determination of nut varieties and their detection in festive cookies by MALDI-TOF mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 38, e9925. <https://doi.org/10.1002/rcm.9925>

Kuckova, S., Smirnova, T. A., Benetkova, A., Straka, D., Meledina, A., & Cejnar, P. (2024). Comparison of different experimental conditions for blood proteomic distinguishing using MALDI-TOF MS. *Analytical and Bioanalytical Chemistry Research*, 11, 435–446. <https://doi.org/10.22036/abc.2024.449516.2078>

Kirg, R., & Kučková, Š. (2022). Návod na instalaci a nalezení unikátních hodnot  $m/z$  pro metody MALDI-TOF a LC-MS/MS. *Interní laboratorní materiál*. VŠCHT v Praze.

Meledina, A., Straka, D., Soucek, F., Smirnova, T. A., & Kuckova, S. (2024). Rapid determination of animal origin and type of fish meat processing using proteomic species-specific markers. *Food Technology and Biotechnology*. <https://doi.org/10.2139/ssrn.4424843>

## 9 Jména oponentů a názvy jejich organizací

Ing. Soňa Baršová – Státní zemědělská a potravinářská inspekce, Inspektorát v Praze

Ing. Martin Svoboda, Ph.D. – Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, Praha

## 10 Příloha

**Tabulka I.** Určení rodu (**bráněnka** – *Hermetia illucens* (moucha bráněnka), **cvrček** – *Acheta domesticus* (cvrček domácí), *Gryllus assimillus* (cvrček banánový), **potemník** – *Alphitobius diaperinus* (potemník stájový), *Tenebrio molitor* (potemník moučný) a *Zophobas morio* (potemník brazilský), **saranče** – *Locusta migratoria* (saranče stěhovavá) a *Schistocerca gregaria* (saranče pustinná), **šváb** – *Blaptica dubia* (šváb argentinský) a *Shelfordella tartara* (šváb turkistánský)) pomocí zaokrouhlených hodnot *m/z* z referenčních vzorků hmyzu

Určení hmyzího rodu										
Bráněnka	Cvrček		Potemník		Saranče		Šváb			
1026	788	2085	749	1859	694	1962	684	1523	2283	3023
1042	897	2106	751	1873	713	1967	735	1574	2298	3027
1044	927	2139	889	1908	747	2021	830	1577	2327	3037
1128	959	2157	950	2004	815	2067	850	1590	2339	3044
1254	1033	2160	996	2009	821	2090	859	1607	2350	3059
1298	1147	2232	1056	2037	850	2118	865	1630	2364	3088
1325	1167	2513	1075	2087	856	2128	891	1636	2369	3094
1403	1174	2556	1093	2114	879	2129	907	1644	2407	3098
1466	1193		1134	2126	891	2171	926	1650	2418	3110
1658	1228		1151	2164	912	2227	943	1666	2425	3122
1663	1233		1180	2173	1008	2230	1011	1673	2456	3131
1665	1239		1204	2190	1051	2330	1034	1702	2461	3135
1765	1278		1223	2222	1073	2370	1036	1744	2482	3193
1772	1287		1277	2235	1108	2434	1048	1766	2523	3205
1901	1341		1285	2344	1113	2435	1082	1778	2530	3212
1930	1383		1290	2345	1125	2449	1090	1798	2547	3226
1964	1401		1313	2429	1152	2452	1138	1807	2576	3265
1979	1450		1346	2502	1157	2474	1153	1815	2591	3340
2018	1460		1370	2540	1177	2489	1186	1904	2609	3350
2053	1463		1399	2566	1213	2572	1192	1919	2662	3364
2184	1468		1434	2581	1265	2583	1200	1922	2677	3412
2292	1495		1455	2641	1288	2793	1271	1935	2681	3477
2388	1526		1458	2706	1329	3285	1282	1948	2684	3481
2432	1533		1472	2832	1336	3348	1296	1950	2695	3482
2438	1538		1497	2858	1359	3656	1306	1958	2708	3787
2635	1540		1507	2883	1363	3971	1310	1961	2739	3890
2646	1554		1525	3102	1426		1312	2023	2742	4003
2648	1568		1535	3276	1483		1316	2043	2748	4540
2745	1577		1549	3309	1550		1358	2047	2754	
2938	1596		1552	3372	1559		1361	2050	2767	
3300	1613		1560		1585		1372	2074	2769	
3338	1647		1566		1597		1391	2076	2802	
3620	1668		1583		1623		1393	2096	2805	
3705	1729		1609		1733		1396	2108	2815	
4192	1785		1640		1758		1413	2112	2825	
4193	1871		1671		1810		1420	2133	2840	
	1899		1685		1830		1424	2138	2861	

## Pokračování tabulky I:

Určení rodu (**bráněnka** – *Hermetia illucens* (moucha bráněnka), **cvrček** – *Acheta domesticus* (cvrček domácí), *Gryllus assimillus* (cvrček banánový), **potemník** – *Alphitobius diaperinus* (potemník stájový), *Tenebrio molitor* (potemník moučný) a *Zophobas morio* (potemník brazilský), **saranče** – *Locusta migratoria* (saranče stěhovavá) a *Schistocerca gregaria* (saranče pustinná), **šváb** – *Blaptica dubia* (šváb argentinský) a *Shelfordella tartara* (šváb turkistánský)) pomocí zaokrouhlených hodnot  $m/z$  z referenčních vzorků hmyzu

Určení hmyzího rodu										
Bráněnka	Cvrček		Potemník		Saranče		Šváb			
	1969		1701		1843		1429	2141	2874	
	1981		1718		1854		1441	2151	2899	
	2000		1736		1884		1445	2193	2915	
	2022		1748		1928		1481	2218	2931	
	2034		1821		1945		1510	2246	2950	
	2049		1826		1952		1511	2263	2953	

**Tabulka II.** Určení druhu cvrčků – *Acheta domesticus* (cvrčka domácího) a *Gryllus assimillus* (cvrčka banánového)

<b>Druhy cvrčků</b>					
<b><i>Gryllus assimillus</i> (cvrček banánový)</b>			<b><i>Acheta domesticus</i> (cvrček domácí)</b>		
850	2085	3090	697	1294	2139
1041	2104	3101	745	1300	2160
1067	2109	3168	763	1315	2201
1092	2113	3287	774	1319	2217
1107	2129	3514	782	1331	2240
1147	2137	3517	788	1335	2253
1150	2143	4084	805	1340	2326
1184	2157		816	1343	2332
1219	2166		837	1345	2370
1253	2179		842	1383	2396
1287	2199		848	1436	2444
1298	2207		892	1473	2493
1307	2232		897	1476	2513
1321	2291		927	1482	2557
1326	2303		945	1491	2712
1330	2322		949	1505	2759
1354	2328		959	1538	2809
1404	2343		969	1546	2828
1458	2365		971	1577	3229
1507	2388		976	1596	3357
1525	2416		985	1606	
1592	2421		1019	1613	
1621	2425		1029	1622	
1627	2435		1032	1628	
1666	2456		1039	1639	
1697	2469		1042	1647	
1710	2503		1055	1668	
1723	2511		1059	1728	
1762	2532		1082	1767	
1800	2536		1090	1775	
1808	2541		1094	1792	
1816	2550		1104	1812	
1844	2570		1109	1856	
1853	2613		1126	1867	
1861	2674		1132	1871	
1888	2683		1144	1890	
1899	2727		1166	1900	
1903	2764		1172	1925	
1923	2775		1178	1939	
1966	2786		1193	1943	
1981	2798		1221	1976	
1988	2825		1228	1982	
2008	2857		1232	1990	
2020	2888		1239	2001	
2030	2907		1267	2010	
2034	3066		1278	2023	
2056	3085		1280	2065	

**Tabulka III.** Určení druhu potměnků – *Alphitobius diaperinus* (potměnka stájového), *Tenebrio molitor* (potměnka moučného) a *Zophobas morio* (potměnka brazilského)

<b>Druhy potměnků</b>							
<b><i>Zophobas morio</i> (potměník brazilský)</b>			<b><i>Tenebrio molitor</i> (potměník moučný)</b>			<b><i>Alphitobius diaperinus</i> (potměník stájový)</b>	
712	1593	2609	683	1466	2011	820	2389
751	1609	2612	707	1471	2028	872	2598
869	1617	2614	720	1481	2036	904	2601
886	1631	2693	749	1490	2040	1000	2626
937	1659	2747	757	1501	2113	1021	2669
948	1668	2911	773	1505	2126	1118	2671
950	1678	3371	805	1508	2143	1133	2689
964	1689		841	1518	2163	1266	2719
1028	1702		893	1525	2189	1269	2741
1033	1706		905	1535	2222	1270	2788
1054	1721		944	1549	2235	1284	2790
1077	1736		972	1552	2253	1303	2791
1109	1743		986	1566	2343	1361	2836
1119	1760		996	1600	2345	1369	2838
1130	1775		1039	1602	2377	1388	2865
1147	1785		1055	1628	2399	1397	2897
1175	1806		1064	1633	2407	1409	3106
1181	1810		1070	1639	2428	1416	3119
1188	1872		1101	1648	2493	1426	3201
1224	1890		1104	1675	2502	1441	3203
1239	1940		1112	1685	2515	1482	3283
1258	1943		1132	1698	2532	1521	3284
1290	1956		1134	1702	2540	1542	3293
1311	1959		1150	1715	2566	1571	3373
1335	1969		1172	1718	2581	1595	
1350	1977		1184	1735	2641	1616	
1372	2053		1204	1745	2705	1619	
1381	2088		1219	1774	2778	1626	
1387	2129		1238	1780	2798	1636	
1403	2141		1261	1812	2831	1681	
1414	2146		1264	1827	2858	1704	
1436	2150		1272	1837	2866	1730	
1468	2175		1277	1850	2883	1769	
1494	2177		1290	1852	2984	1773	
1507	2217		1300	1859	3054	1883	
1509	2240		1303	1862	3075	1982	
1517	2355		1317	1880	3102	1997	
1530	2373		1346	1895	3166	1999	
1539	2383		1354	1907	3276	2068	
1545	2386		1370	1912	3309	2098	
1554	2443		1406	1942	4187	2134	
1556	2459		1411	1976		2165	
1560	2597		1455	1987		2211	
1582	2608		1458	2003		2340	

**Tabulka IV.** Určení druhu sarančat – *Locusta migratoria* (saranče stěhovavá) a *Schistocerca gregaria* (saranče pustinná)

<b>Druhy sarančat</b>						
<b><i>Locusta migratoria</i> (saranče stěhovavá)</b>				<b><i>Schistocerca gregaria</i> (saranče pustinná)</b>		
716	1353	1981	3145	688	1576	2203
722	1359	1989	3167	761	1578	2215
726	1367	1992	3193	767	1603	2229
728	1400	2007	3262	797	1611	2271
734	1410	2034	3279	801	1646	2299
745	1446	2065	3288	843	1651	2320
765	1450	2067	3329	867	1653	2371
788	1452	2104	3378	876	1675	2384
795	1456	2137	3406	909	1677	2411
804	1460	2140	3451	927	1716	2435
821	1467	2148	3592	931	1733	2447
833	1473	2185	3641	953	1756	2451
842	1483	2187	3916	973	1764	2457
856	1490	2258	3926	976	1773	2459
862	1513	2295	3971	978	1791	2471
878	1559	2317	4188	990	1823	2475
892	1567	2348	4546	1032	1829	2490
895	1571	2370	4680	1046	1841	2494
900	1575	2392		1057	1854	2515
908	1580	2398		1070	1868	2516
946	1585	2415		1087	1874	2536
959	1597	2452		1104	1887	2539
986	1633	2458		1126	1921	2569
1008	1637	2473		1132	1924	2572
1047	1648	2481		1152	1937	2581
1056	1696	2544		1258	1939	2583
1073	1702	2552		1288	1945	2680
1086	1709	2565		1315	1951	2683
1093	1718	2567		1329	1965	2801
1096	1730	2610		1331	1972	2804
1103	1740	2616		1359	1974	2871
1104	1750	2634		1364	1979	3007
1135	1797	2644		1376	1989	3084
1175	1813	2676		1397	1994	3151
1178	1830	2690		1405	2010	3387
1190	1843	2793		1413	2018	3410
1213	1851	2967		1419	2021	3472
1221	1867	3005		1426	2037	3605
1247	1878	3021		1436	2040	3673
1259	1884	3032		1461	2052	3679
1262	1889	3054		1489	2090	4474
1268	1928	3067		1547	2124	
1276	1947	3105		1549	2129	
1321	1962	3117		1558	2170	

**Tabulka V.** Určení druhu švábů – *Blaptica dubia* (švába argentinského) a *Shelfordella tartara* (švába turkistánského)

Druhy švábů								
<i>Blaptica dubia</i> (šváb argentinský)						<i>Shelfordella tartara</i> (šváb turkistánský)		
684	1109	1445	1807	2217	2742	722	1617	2345
731	1121	1450	1809	2243	2754	792	1626	2354
735	1129	1462	1815	2246	2767	850	1630	2356
742	1138	1474	1818	2265	2769	893	1648	2364
744	1143	1481	1827	2283	2795	908	1657	2369
753	1153	1487	1829	2298	2803	945	1689	2400
757	1159	1490	1845	2312	2805	963	1743	2428
763	1168	1498	1855	2316	2825	1030	1774	2460
775	1173	1510	1862	2319	2828	1040	1785	2467
809	1183	1515	1868	2327	2861	1043	1793	2472
830	1185	1522	1873	2343	2874	1049	1798	2476
856	1192	1532	1885	2350	2883	1133	1816	2481
859	1198	1540	1889	2352	2899	1160	1830	2505
865	1209	1559	1895	2367	2901	1165	1839	2584
887	1216	1563	1902	2377	2914	1170	1847	2588
891	1219	1568	1904	2384	2931	1186	1890	2662
905	1240	1573	1919	2398	2950	1200	1906	2677
921	1242	1574	1922	2407	2994	1230	1925	2686
923	1257	1577	1935	2418	3037	1244	1939	2707
926	1263	1578	1938	2425	3044	1266	1951	2747
937	1271	1586	1942	2426	3059	1278	1954	2801
943	1272	1590	1948	2434	3082	1296	1957	2802
944	1282	1596	1961	2456	3088	1312	1963	2815
947	1293	1601	1971	2458	3094	1336	1967	2840
948	1303	1614	1975	2470	3096	1343	1970	2859
959	1306	1621	1982	2478	3097	1357	1977	2915
966	1310	1632	1989	2507	3110	1376	1983	2923
972	1316	1636	1993	2522	3122	1390	2023	2952
985	1332	1644	2030	2530	3131	1405	2037	3023
993	1341	1650	2047	2547	3133	1407	2068	3027
1001	1350	1666	2050	2567	3135	1412	2074	3047
1011	1359	1673	2055	2570	3205	1420	2108	3070
1016	1361	1678	2066	2576	3226	1443	2112	3212
1018	1370	1686	2076	2581	3246	1475	2124	3265
1023	1372	1698	2081	2585	3350	1516	2125	3303
1028	1389	1702	2086	2591	3364	1527	2126	3340
1034	1393	1714	2096	2609	3412	1538	2141	3481
1036	1396	1723	2110	2664	3429	1552	2186	3972
1048	1400	1724	2133	2681	3477	1562	2217	3973
1058	1406	1731	2138	2684	3482	1569	2230	4447
1071	1411	1759	2143	2695	3786	1581	2262	4540
1082	1414	1764	2151	2705	3787	1603	2315	
1090	1424	1778	2195	2710	3890	1606	2331	
1104	1441	1790	2196	2739	4003	1612	2338	

**Tabulka VI.** Přehled analyzovaných komerčních produktů s uvedením jejich výrobců a složení

Označení vzorku	Značka	Označení výrobku	Deklarovaný druh hmyzu	Deklar. % hmyzu	Složení výrobku	Výživové údaje
N 61/24	Grig	Cricket sticks cheese	<i>Acheta domestica</i> (cvrček domácí)	5	Pšeničná mouka, cvrččí prášek ( <i>Acheta domestica</i> ) 5 %, řepkový olej, voda, tavený sýr min. 10 % (voda, máslo, sýry, sušená syrovátka a mléko, stabilizátory: modifikovaný kukuřičný škrob a E407, sůl, aroma), sůl min. 3,8 %, kypřidlo dinatrium-difosfát	Tuky 20,5 g (z toho nasycené 3,9 g), sacharidy 58,9 g (z toho cukry 1,3), bílkoviny 13,2 g, sůl 3,7 g
N 62/24	Grig	Cricket chips wasabi	<i>Acheta domestica</i> (cvrček domácí)	7	Hrachová mouka 59 %, čočková mouka 12,8 %, cvrččí prášek 7 % ( <i>Acheta domestica</i> ), wasabi koření 5,6 %, směs koření [sušená zelenina (mrkev, cibule, rajčatový prášek, pastinák, celer), škrob, kvasnicový extrakt, koření (zázvor), antioxidant: mák, dýňová mouka, bramborový škrob, jedlá sůl, řepkový olej	Tuky 11 g (z toho nasycené 1,8 g), sacharidy 45 g (z toho cukry 8,2), vláknina 11 g, bílkoviny 20 g, sůl 2,7 g
N 63/24	Grig	Cricket chips garlic	<i>Acheta domestica</i> (cvrček domácí)	7	Hrachová mouka 61 %, čočková mouka 10 %, koření česnek 8,4 % [sušená zelenina 81 % (česnek 75 %, cibule), kvasničný extrakt, koření, extrakty koření], cvrččí prášek 7 % ( <i>Acheta domestica</i> ), mák, dýňová mouka, bramborový škrob, jedlá sůl, řepkový olej	Tuky 11 g (z toho nasycené 1,6 g), sacharidy 51 g (z toho cukry 9,8), vláknina 12 g, bílkoviny 23 g, sůl 2,6 g
N 64/24	Grig	Cricket sticks chilli	<i>Acheta domestica</i> (cvrček domácí)	5	Pšeničná mouka, cvrččí prášek ( <i>Acheta domestica</i> ) 5 %, Diamant Diavolo ((pšeničná mouka, jedlá sůl s jódem, sušená paprika, čili prášek, řepkový olej, pšeničná sladová bobtnavá mouka, pšeničný lepek, směs bylinek (bazalka, oregano, tymián), pšeničná bobtnavá mouka, cukr, ječný sladový extrakt, pšeničná sladová mouka, koření (sůl, pepř, kmín v min. mn.), látka zlepšující mouku E300)), droždí, řepkový olej, voda, kypřící prášek (dinatrium difosfát), restovaná cibule	Tuky 13,4 g (z toho nasycené 1,4 g), sacharidy 41,9 g (z toho cukry 0,6), bílkoviny 9,7 g, sůl 1,4 g
N 65/24	Grig	Cricket triangles tomato and basil	<i>Acheta domestica</i> (cvrček domácí)	7	Bezlepková cizrnová mouka, rýžová mouka, cvrččí prášek ( <i>Acheta domestica</i> ) 7 %, bramborový škrob, řepkový olej, ochucující složka [dextróza, jedlá sůl, rajčatový prášek, kvasničný extrakt, česnek, paprika, bazalka, koření, extrakty koření, aroma], jedlá sůl	Tuky 10,2 g (z toho nasycené 1,3 g), Sacharidy 60,8 g (z toho cukry 1,8 g), vláknina 6,5 g, bílkoviny 17 g, sůl 1,7 g

N 66/24	Grig	Cricket chips chilli	<i>Acheta domesticus</i> (cvrček domácí)	7	Hrachová mouka 44 %, čočková mouka 26 %, koření chilli 12 % [sušená zelenina (cibule, mrkev, rajčatový prášek, pastinák, celer), koření (chilli, paprika sladká, zázvor), škrob, kvasničný extrakt, extrakty koření, protispěková látka: E551], cvrččí prášek 7 % ( <i>Acheta domesticus</i> ), dýňová mouka, bramborový škrob, jedlá sůl, řepkový olej	Tuky 10 g (z toho nasycené 1,6 g), sacharidy 47 g (z toho cukry 8,5 g), vláknina 13 g, bílkoviny 23 g, sůl 2,8 g
N 67/24	Grig	Cricket chips natural	<i>Acheta domesticus</i> (cvrček domácí)	7	Hrachová mouka 60 %, čočková mouka 10,8 %, cvrččí prášek 7 % ( <i>Acheta domesticus</i> ), mák, směs koření [sušená zelenina (mrkev, cibule, rajčatový prášek, pastinák, celer), škrob, kvasničný extrakt, koření (zázvor)], jedlá sůl, bramborový škrob, řepkový olej	Tuky 12 g (z toho nasycené 1,9 g), sacharidy 48 g (z toho cukry 7,2 g), vláknina 13 g, bílkoviny 23 g, sůl 2,7 g
N 69/24	Grig	Cvrččí granola s lískovými oříšky	<i>Acheta domesticus</i> (cvrček domácí)	7	Ovesné vločky, agáve sirup, kokosový olej, cvrččí prášek ( <i>Acheta domesticus</i> ) 7 %, lískové ořechy, vlašské ořechy, mléčná čokoláda, kakao	Tuky 27,8 g (z toho nasycené 14,5 g), sacharidy 49,5 g (z toho cukry 18,9 g), vláknina 8,46 g, bílkoviny 13,1 g, sůl 0,02 g
N 70/24	Grig	Cvrččí prášek	<i>Acheta domesticus</i> (cvrček domácí)	100	Cvrččí prášek ( <i>Acheta domesticus</i> ) 100 %	Tuky 21,9 g (z toho nasycené 8,47 g), sacharidy 9,5 g (z toho cukry 3,6 g), vláknina 5,51 g, bílkoviny 56 g, sůl 3,4 g
N 72/24	Sens	Serious cricket protein bar peanut butter and cinnamon	<i>Acheta domesticus</i> (cvrček domácí)	20	Arašídové máslo (21 %) arašidy (100 %), cvrččí mouka ( <i>Acheta domesticus</i> ) (20 %), datle, protein z fazolí Fava, čekanková vláknina, dýňový protein, kakaové máslo, zvlhčující látka: rostlinný glycerol, skořice (1,7 %), emulgátor: slunečnicový lecitin	Tuky 20 g (z toho nasycené 6,7 g), sacharidy 16 g (z toho cukry 12 g), vláknina 13 g, bílkoviny 33 g, sůl 0,2 g
N 74/24	Sens	Serious cricket protein bar peanut bitter cocoa and sesame	<i>Acheta domesticus</i> (cvrček domácí)	20	Cvrččí mouka ( <i>Acheta domesticus</i> ) (20 %), tahini (17 %) (100 % sezamová semínka), datle, kakaová hmota (13 %), čekanková vláknina, protein z fazolí Fava, sezamový protein (7 %), zvlhčující látka: rostlinný glycerol, kakaový prášek (3 %), emulgátor: slunečnicový lecitin	Tuky 23 g (z toho nasycené 8,4 g), sacharidy 15 g (z toho cukry 9,4 g), vláknina 13 g, bílkoviny 33 g, sůl 0,2 g

N 75/24	Grig	Grigbar cocoa and orange flavor	<i>Acheta domestica</i> (cvrček domácí)	10	Kukuřičná vláknina, datlová pasta, protein z Fava fazolí 16 %, mandle, datlový sirup, kakaový prášek pražený 11,6 %, cvrččí prášek ( <i>Acheta domestica</i> ) 10 %, slunečnicový protein 1,2 %, citronový koncentrát, pomerančový esenciální olej 0,2 %.	Tuky 12 g (z toho nasycené 2,4 g), sacharidy 27 g (z toho cukry 20 g), vláknina 18 g, bílkoviny 28 g, sůl 0,06 g
N 76/24	Grig	Křupaví cvrčci křen	<i>Acheta domestica</i> (cvrček domácí)	93	Sušení cvrčci domácí ( <i>Acheta domestica</i> ) 93 %, řepkový olej 2 %, směs koření 5 % [sůl, sušená syrovátka, křen, cukr, kvasničný extrakt, kouřové aroma, cibule, paprika, aroma E635]	Tuky 21,8 g (z toho nasycené 9,01 g), sacharidy 8,43 g (z toho cukry 1,9 g), vláknina 4,23 g, bílkoviny 60,4 g, sůl 2,15 g
N 77/24	Grig	Křupaví cvrčci chilli and lime	<i>Acheta domestica</i> (cvrček domácí)	90	Sušení cvrčci domácí ( <i>Acheta domestica</i> ) 90 %, směs koření 51 % [dextróza, sůl, cukr, syrovátka, zvýrazňovač chuti E621 a E623, feferonka jalapeno 4 %, bramborová vláknina, feferonky paprika, regulátor kyselosti W330, extrakt z cibule, přírodní aroma limetky 0,05 %]	Tuky 20 g (z toho nasycené 8,5 g), sacharidy 11 g (z toho cukry 4,3 g), vláknina 4,8 g, bílkoviny 60 g, sůl 2,8 g
N 78/24	Grig	Červíci slaný karamel	<i>Tenebrio molitor</i> (potemník moučný)	97	Sušené larvy potměníka moučného ( <i>Tenebrio molitor</i> ) 97 %, ochucující směs 2 % [cukr, jedlá sůl, aroma, koření, barvivo: amoniakový karamel]	Tuky 20,4 g (z toho nasycené 4 g), sacharidy 15,4 g (z toho cukry 11,2 g), vláknina 5 g, bílkoviny 52 g, sůl 1,8 g
N 79/24	Grig	Křupaví cvrčci sour cream and onion	<i>Acheta domestica</i> (cvrček domácí)	90	Sušení cvrčci domácí 90 % ( <i>Acheta domestica</i> ), ochucující směs 10 % [jedlá sůl, sušená zelenina (cibule, petrželová nať), látky zvýrazňující chuť a vůni: glutaman sodný, dextróza, cukr, sušená syrovátka (obsahuje laktózu), kyselina citronová, extrakty koření, aroma]	Tuky 20,8 g (z toho nasycené 8,51 g), sacharidy 10,8 g (z toho cukry 3,67 g), vláknina 5,49 g, bílkoviny 56,2 g, sůl 3,29 g
N 80/24	Grig	Červíci česnekoví	<i>Tenebrio molitor</i> (potemník moučný)	97	Sušené larvy potměníka moučného ( <i>Tenebrio molitor</i> ) 97 %, sůl 1 %, česnek 1 %	Tuky 29 g (z toho nasycené 8,51 g), sacharidy 7 g (z toho cukry 0 g), vláknina 7,8 g, bílkoviny 52 g, sůl 3,1 g
N 82/24	Grig	Kobylky chilli	<i>Locusta migratoria</i>	86	Sušené saranče stěhovavá 86 % ( <i>Locusta migratoria</i> ), slunečnicový olej 4 %, chilli, sůl	Tuky 28 g (z toho nasycené 7,4 g), sacharidy 0,4 g (z toho cukry 0 g), vláknina

			(saranče stěhovavá)			10 g, bílkoviny 52 g, sůl 3,2 g
N 83/24	Grig	Červíci chilli	<i>Tenebrio molitor</i> (potemník moučný)	97	Sušené larvy potemníka moučného ( <i>Tenebrio Molitor</i> ) 97 %, chilli mleté 1 %, ochucující směs 1 % [jedlá sůl, chilli, paprika sladká, rozmarýn, pepř černý, oregano, cukr, sušená zelenina (rajčatový prášek, cibule, česnek), kvasničný extrakt, aroma]	Tuky 22,4 g (z toho nasycené 4,9 g), sacharidy 11,1 g (z toho cukry 1,8 g), vláknina 8 g, bílkoviny 52 g, sůl 2,9 g
N 84/24	Grig	Červíci solení	<i>Tenebrio molitor</i> (potemník moučný)	99	Sušené larvy potemníka moučného ( <i>Tenebrio molitor</i> ) 99 %, jedlá sůl 1 %	Tuky 29 g (z toho nasycené 6,7 g), sacharidy 7 g (z toho cukry 0 g), vláknina 7,8 g, bílkoviny 52 g, sůl 3,1 g
N 86/24	Grig	Křupaví cvrčci bacon and mustard	<i>Acheta domesticus</i> (cvrček domácí)	90	Sušení cvrčci domácí 90 % ( <i>Acheta domesticus</i> ), ochucující směs 10 % [jedlá sůl, maltodextrin, cukr, zvýrazňovač chuti: E621 a E635, regulátor kyselosti E262 a E270, koření, cibule, laktóza, ocet, hořčičná semínka 0,3 %, rostlinné oleje (řepkový, palmový a kokosový), paprikový extrakt, aroma, aroma uzeného kouře (0,09 %)]	Tuky 20 g (z toho nasycené 8,25 g), sacharidy 12 g (z toho cukry 4,1 g), vláknina 5,21 g, bílkoviny 55,9 g, sůl 3,09 g
N 87/24	Grig	Červíci parmezán	<i>Tenebrio molitor</i> (potemník moučný)	97	Sušené larvy potemníka moučného ( <i>Tenebrio molitor</i> ) 97 %, ochucující směs 2 % [glukózový sirup, zvýrazňovač chuti: glutamát sodný, jedlá sůl, aroma, kvasničný extrakt, barvivo (červená řepa), extrakty koření], jedlá sůl 1 %	Tuky 22 g (z toho nasycené 4,2 g), sacharidy 14 g (z toho cukry 0 g), vláknina 7,8 g, bílkoviny 50 g, sůl 4,5 g
N 88/24	Grig	Křupaví cvrčci jalapenos	<i>Acheta domesticus</i> (cvrček domácí)	93	Sušení cvrčci domácí ( <i>Acheta domesticus</i> ) 93 %, řepkový olej 2 %, směs koření 5 % [sušená syrovátka, sůl, cukr, látka zvýrazňující chuť a vůni (E621), sušený sýr, maltodextrin, cibule, regulátor kyselosti (E270, E330), jalapeño, kvasničný extrakt]	Tuky 22 g (z toho nasycené 9,21 g), sacharidy 8,5 g (z toho cukry 1,82 g), vláknina 4,2 g, bílkoviny 60,5 g, sůl 2,03 g
N 89/24	Grig	Kobylky solené	<i>Locusta migratoria</i> (saranče stěhovavá)	90	Sušené saranče stěhovavá 90 % ( <i>Locusta migratoria</i> ), slunečnicový olej, sůl	Tuky 29 g (z toho nasycené 7,7 g), sacharidy 0,5 g (z toho cukry 0,09 g), vláknina 10,3 g, bílkoviny 54 g, sůl 3,2 g

N 90/24	Havlík	Trvanlivé tyčinky graham	x	x	Pšeničná mouka, rostlinný olej palmový, 6 % tavený sýr (voda, sýry, syrovátka, máslo, sušené mléko, škrob, tavící soli E339, E341, E450, E452, stabilizátor E415, E407), grahamová mouka 4 %, sůl, hydroxid sodný E524	Tuky 13 g (z toho nasycené 6,12 g), sacharidy 63,6 g (z toho cukry 2,93 g), bílkoviny 11,5 g, sůl 2,12 g
N 92/24	Havlík	Trvanlivé tyčinky pikant	x	x	Pšeničná mouka, rostlinný olej palmový, tavený sýr (min. 6 %, složení – voda, sýry, syrovátka, máslo, sušené mléko, škrob, tavící soli E339, E341, E450, E452, stabilizátor E407), sůl, směs koření (1,9 %) regulátor kyselosti (hydroxid sodný E524)	Tuky 13,1 g (z toho nasycené 6,14 g), sacharidy 58 g (z toho cukry 2,81 g), bílkoviny 9,34 g, sůl 2,78 g
N 93/24	McLloyds	Baked amaranth chips tomato and basil	x	x	Kukuřice, bramborový škrob, slunečnicový olej, bramborové vločky, amarantová mouka 5 %, ochucující složka s příchutí kečupu 4 % (cukr, rajčata jedlá sůl, citronová šťáva v prášku [citronová šťáva, maltodextrin], cibule, kvasnicový extrakt, koření [česnek, paprika, hřebíček, skořice], paprikový extrakt), sůl, mrkvový džus, bazalka 0,1 %	Tuky 9,2 g (z toho nasycené 0,8 g), sacharidy 77,2 g (z toho cukry 2,5 g), vláknina 5 g, bílkoviny 4,6 g, sůl 1,32 g
N 94/24	Doritos	hot corn	x	x	Kukuřice, řepkový olej, antioxidanty (extrakty z rozmarýnu, kyselina askorbová, extrakt bohatý na tokoferol, kyselina citronová), sušená syrovátka z mléka, jedlá sůl, sušená cibule, sušený česnek, látky zvýrazňující chuť a vůni (glutaman sodný a ribonukleotidy sodné), paprika, chlorid draselný, aroma, kmín, barvivo (paprikový extrakt), chilli, syrovátkový permeát z mléka, regulátor kyselosti (kyselina jablečná)	Tuky 25 g (z toho nasycené 1,9 g), sacharidy 58 g (z toho cukry 4,4 g, vláknina 5,9 g, bílkoviny 6,2 g, sůl 1,3 g
N 95/24	Čát čapát	Legume chips original	x	x	Hrachová mouka, černá cizrnová mouka, čočková mouka, cibule, mák, chia semínka, kukuřičná mouka, petržel, řepkový olej, mořská sůl, fenykl, sušené mango, kmín, černý pepř, skořice, zázvor, adžvajen, muškátový květ, zelený kardamom, badyán, asafoetida, cukr, citrón	Tuky 19 g (z toho nasycené 1,3 g), sacharidy 53 g (z toho cukry 7,9 g), vláknina 18,4 g, bílkoviny 17,5 g, sůl 2,8 g
N 96/24	Green Apotheke	Complete high protein pasta	x	x	Čočková mouka (55 %), kukuřičná mouka (38 %), hrachový protein (7 %)	Tuky 2,4 g (z toho nasycené 0,6 g), sacharidy 53,9 g (z toho cukry 1 g), bílkoviny 21 g, sůl 0,26 g

N 97/24	Green Apotheke	Vřetena z červené čočky	x	x	Mouka z červené čočky	Tuky 1,8 g (z toho nasycené 0,4 g), sacharidy 48,9 g (z toho cukry 1,4 g), bílkoviny 22,3 g, sůl 0,08 g
N 98/24	Maxsport	Crème de cassis royal protein tyčinka	x	x	Bílkovinná směs 28,4 %, (sójový bílkovinný izolát, koncentrát syrovátkových a mléčných bílkovin), bílá poleva 18 % [cukr, rostlinný tuk (palmojadrový, palmový, máslovníkový v různém poměru), sušená syrovátka, sušené odtučněné mléko, emulgátor: slunečnicové lecitiny, přírodní vanilkové aroma], glukózo-fruktózový sirup, řepkový olej, oligofruktóza (vláknina), zvlhčující látka: glycerol, rýžové vločky (rýžová mouka, cukr, sušená mrkev), rozinky (rozinky, slunečnicový olej), zahušťovadlo: polydextróza, sušené odtučněné mléko, stabilizátor: guma guar, emulgátor: sójové lecitiny, aroma, kyselina: kyselina citronová	Tuky 16 g (z toho nasycené 7 g), sacharidy 37 g (z toho cukry 20 g), vláknina 7,1 g, bílkoviny 25 g, sůl 0,28 g
N 99/24	Nutrend	Excelent protein bar - marzipan with almonds and milk chocolate	x	x	Proteinová směs (sójový proteinový izolát, syrovátkový proteinový koncentrát, sójové vločky), glukózo-fruktózový sirup, mléčná čokoláda 14 % (cukr, kakaové máslo, kakaová hmota, sušené plnotučné mléko, emulgátory sójový lecitin a E 476, vanilkový extrakt), tekutý invertní cukr, rostlinný tuk (palmojadrový, palmový, bambucký), krém s příchutí vanilky (cukr, palmový a bambucký olej, sušená syrovátka, sušené odstředěné mléko, emulgátor slunečnicový lecitin, aroma, barvivo E160c), mandle 3 %, kokos (kokos, antioxidant oxid siřičitý), rýžový extrudát (rýže, inulin), emulgátor řepkový lecitin, L-glutamin, aroma, zahušťovadlo guarová guma, antioxidant směs přírodních tokoferolů, nikotinamid, riboflavin	Tuky 18,5 g (z toho nasycené 11 g), sacharidy 42 g (z toho cukry 30,5 g), vláknina 2,2 g, bílkoviny 25 g, sůl 0,5 g, L-glutamin 0,6 g, BCAA 3,8 g, niacin 8 mg, riboflavin 1,8 mg
N 100/24	Emco	Super ovoce jahoda	x	x	Sušená jablka, rozinky (rozinky 99,5 %, slunečnicový olej), mrazem sušené jahody 8,5 %	Tuky 0,3 g (z toho nasycené 0 g), sacharidy 73 g (z toho cukry 69 g), vláknina 7 g, bílkoviny 2 g, sůl 0,05 g

N 101/24	17	Chocolate flavour protein bar	x	x	Bílkovinná směs 28,2 %, (sójový bílkovinný izolát, koncentrát syrovátkových a mléčných bílkovin), kakaová poleva 18 % [cukr, rostlinný tuk (palmojádrový, palmový, máslovníkový v různém poměru), kakaový prášek se sníženým obsahem tuku 16 %, emulgátor: slunečnicové lecitiny, přírodní vanilkové aroma], glukózo-fruktózový sirup, řepkový olej, oligofruktóza (vláknina), zvlhčující látka: glycerol, sójové vločky, rozinky (rozinky, slunečnicový olej), rýžové vločky (rýžová mouka, cukr, sušená mrkev), kakaový prášek se sníženým obsahem tuku 2,2 %, emulgátor: sójové lecitiny, přírodní čokoládové aroma, aroma	Tuky 18 g (z toho nasycené 8,3 g), sacharidy 35 g (z toho cukry 18 g), vláknina 7,1 g, bílkoviny 26 g, sůl 0,17 g
N 103/24	TopNatur	Low carb kokos tyčinka	x	x	Čekanková vláknina, kokos 45,8 %, zvlhčující látka: glycerol, emulgátor: slunečnicový lecitin, antioxidant: přírodní tokoferol	Tuky 30 g (z toho nasycené 26 g), sacharidy 16 g (z toho cukry 7,6 g), vláknina 41 g, bílkoviny 3,2 g, sůl 0,03 g
N 104/24		Cvrččí proteinové tagliatelle	<i>Acheta domestica</i> (cvrček domácí)	10	Pšeničná mouka 62 %, pasterovaná vejce, cvrččí mouka ( <i>Acheta domestica</i> ) 10 %, konzervant: kyselina mléčná	Tuky 4,3 g (z toho nasycené 1,68 g), sacharidy 68,6 g (z toho cukry 6,89 g), vláknina 1,57 g, bílkoviny 31,04 g, sůl 0,10 g
N 105/24	Probio	Fermentovaná granola čokoládová s kokosem	x	x	Ovesné vločky, cukr třtinový, tuk kokosový, mouka z pšenice špaldy celozrnná, čokokapky 6,4 % (kakaová hmota, cukr, kakaové máslo, vanilkový prášek), kokos 6,4 %, len hnědý, slunečnicová semínka, kakao, skořice, jedlá mořská sůl	Tuky 23 g (z toho nasycené 16 g), sacharidy 54 g (z toho cukry 18 g), vláknina 9,7 g, bílkoviny 8,9 g, sůl 0,24 g
N 106/24	Free YU	Lentil multigrain snack wasabi	x	x	Čočková mouka 48 %, kukuřičná mouka, řepkový olej, rýžová mouka, sušená zelenina (křen, špenát, česnek, cibule o různém poměru), škrob, sůl, dextróza, cukr, maltodextrin, aroma, regulátor kyselosti, kyselina mléčná, wasabi	Tuky 18 g (z toho nasycené 1,3 g), sacharidy 58 g (z toho cukry 4,4 g), vláknina 4 g, bílkoviny 14 g, sůl 2,6 g

**Štěpánka Kučková, Michal Skotar, David Straka, Alena Meledina, Tat'jana Smirnova,  
Kateřina Šebelová, Lenka Kouřimská, Martin Kulma, Jana Hajšlová**

## **CERTIFIKOVANÁ METODIKA**

**Identifikace jedlého hmyzu pomocí hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF**

---

**Vydala:** Vysoká škola chemicko-technologická v Praze  
Technická 5, 166 28 Praha 6

**Oponenti:** Ing. Soňa Bařšová, Ing. Martin Svoboda, Ph.D.  
**Rok vydání:** 2025  
**Počet stran:** 42

*Elektronická verze publikace ve formátu PDF.*