


Korelace degradačních změn u materiálu z potemníka moučného s výstupními signály z elektronického nosu

Adéla Karteczková

Bakalářská práce
2021

 Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická
Ústav technologie potravin

Akademický rok: 2020/2021

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE (projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Adéla Karteczková**
Osobní číslo: **T18109**
Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Chemie a technologie potravin**
Forma studia: **Prezenční**
Téma práce: **Korelace degradačních změn u materiálu z potměníka moučného s výstupními signály z elektronického nosu**

Zásady pro vypracování

1. Prostudujte a popište současnou literaturu zabývající se monitorování degradačních změn u potravin pomocí spektrofotometrie a elektronického nosu.
2. Prostudujte degradační změny u materiálů z potměníka moučného.
3. Proveďte analýzy na degradační změny pomocí spektrofotometrie a elektronického nosu.
4. Získané výsledky zpracujte a statisticky vyhodnoťte.
5. Vyvodte závěry ohledně použitých metod vzhledem k jejich možnostem uplatnění při praktickém využití v chovech jedlého hmyzu.

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

Seznam doporučené literatury:

- [1] van Huis, A., van Itterbeeck, J., Klunder, H., Mertens, E., Halloran, A., Muir, G., Vantomme, P. 2013. Edible insects: Future prospects for food and feed security. FAO UN, Forestry Department. Rome. p. 201
- [2] Davídek J. a kol.: Laboratorní příručka analýzy potravin. SNTL, Praha 1977
- [3] Velišek, J. 2002. Chemie potravin. OSSIS. Tábor. 303 s. ISBN 80-86659-01-1
- [4] Adámek, M.; Adámková, A.; Mlček, J.; Bořkocová, M.; Bednářová, M. Acceptability and sensory evaluation of energy bars and protein bars enriched with edible insect. Potr. S. J. F. Sci. 2018, 12, 431-437

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. et Ing. Anna Adámková, Ph.D.**
Ústav analýzy a chemie potravin

Datum zadání bakalářské práce: **31. prosince 2020**

Termín odevzdání bakalářské práce: **21. května 2021**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

Ing. Robert Gál, Ph.D.
ředitel ústavu

Ve Zlíně dne 8. února 2021

PROHLÁŠENÍ AUTORA BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že:

- bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a dostupná k nahlédnutí;
- na moji 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;
- podle § 60 odst. 1 autorského zákona má Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- podle § 60 odst. 2 a 3 autorského zákona mohu užit své dílo – 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);
- pokud bylo k vypracování bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem 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.

Prohlašuji,

- že jsem na bakalářské práci pracoval samostatně a použitou literaturu jsem citoval. V případě publikace výsledků budu uveden jako spoluautor.
- že odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně, dne:

Jméno a příjmení studenta:

.....
podpis studenta

ABSTRAKT

Monitorování degradačních změn u materiálů z jedlého hmyzu není, na rozdíl od ostatních komodit živočišného původu, dosud dostatečně známo. Z tohoto důvodu bylo hlavním cílem bakalářské práce zaznamenat degradační změny u materiálu z jedlého hmyzu pomocí zavedené spektrofotometrické metody a experimentálního elektronického nosu. Jako základní materiál byl použit homogenizát z larev potměníka moučného (*Tenebrio molitor*), který byl analyzován v čerstvém stavu (ihned po usmrcení hmyzu) a po 3 dnech skladování při pokojové teplotě. Byla potvrzena hypotéza, že výsledky degradačních změn stanovených analytickou metodou jsou ve shodě s výsledky z experimentálního elektronického nosu. Také byl potvrzen předpoklad, že materiál z potměníka moučného degraduje obdobně jako ostatní živočišné komodity, a to rozkladem bílkovin až na amoniak. Přínosem práce je možnost sledování degradačních změn pomocí jednoduchého experimentálního elektronického nosu. Tento poznatek může být využíván pro různé komerční účely (např. pro řízení chovu).

Klíčová slova: potměník moučný, spektrofotometr, elektronický nos, amoniak, *Tenebrio molitor*, degradace

ABSTRACT

The aim of this bachelor thesis was to register changes between individual types of materials from *Tenebrio molitor* by analytic method (spectrophotometric method) and compare results from this method with results from electronic nose method. First group of samples were analyzed in fresh state. Second group of samples were analyzed after three days of storage in room temperature. Hypothesis, that results established by spectrophotometric method are in agreement with results established by electronic nose method. Also the assumption, that materials from *Tenebrio molitor* are degrading the same as materials from other animals, were proven right.

Keywords: spectrophotometry, electronic nose, *Tenebrio molitor*, ammonia, degradation

Tímto bych chtěla poděkovat především vedoucí mé bakalářské práce Ing. et. Ing. Anně Adámkové PhD. za odborné vedení bakalářské práce, cenné rady, a především za podporu po celou dobu mého studia. Dále bych chtěla poděkovat panu Ing. Martinu Adámkovi PhD. za pomoc při měření elektronickým nosem a odborné rady. V neposlední řadě bych chtěla poděkovat své rodině za velkou podporu po celou dobu mého studia.

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

OBSAH

ÚVOD	9
I TEORETICKÁ ČÁST	10
1 LIDSKÉ VNÍMÁNÍ PACHŮ	11
1.1 LIDSKÝ NOS	11
2 CHEMICKÉ SLOŽENÍ A SKTRUKTURA MASA	12
2.1 CHEMICKÉ SLOŽENÍ MASA	12
2.2 STRUKTURA KOSTERNÍHO SVALU	13
2.3 POSTMORTÁLNÍ ZMĚNY SVALOVINY A ZMĚNY PŘI SKLADOVÁNÍ	14
2.3.1 Prae rigor	15
2.3.2 Rigor mortis	15
2.3.3 Zrání masa	16
2.3.4 Hluboká autolýza	16
2.4 KAŽENÍ MASA	16
2.4.1 Povrchové osliznutí	17
2.4.2 Povrchová hniloba	17
2.4.3 Hlubková hniloba	17
2.5 ZVLÁŠTNÍ FORMY KAŽENÍ MASA	17
2.5.1 Ložisková hniloba	17
2.5.2 Kažení masa od kosti	18
2.5.3 Zapaření masa	18
3 JEDLÝ HMYZ	19
3.1 POTEMNÍK MOUČNÝ	19
3.1.1 Obecná charakteristika	19
3.1.2 Nutriční hodnoty	20
4 MONITOROVÁNÍ DEGRADAČNÍCH ZMĚN U POTRAVIN ŽIVOČIŠNÉHO PŮVODU	22
4.1 UV/VIS SPEKTROFOTOMETRIE	22
4.1.1 UV/VIS spektrofotometr	22
4.1.2 Princip UV/VIS spektrofotometrie	23
4.2 ELEKTRONICKÝ NOS	24
4.2.1 Vybrané typy senzorů	25
II PRAKTICKÁ ČÁST	27
5 HYPOTÉZA A CÍL PRÁCE	28
6 MATERIÁL A METODIKA	29
6.1 MATERIÁL	29
6.2 METODIKA	29
6.2.1 Spektrofotometrická metoda	29

6.2.2	Metoda porovnání vzorků pomocí elektronického nosu.....	31
7	VÝSLEDKY PRÁCE	32
7.1	SPEKTRFOTOMETRICKÁ METODA	32
7.2	METODA ELEKTRONICKÉHO NOSU.....	33
7.3	DISKUZE	36
	ZÁVĚR	38
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	39
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	43
	SEZNAM OBRÁZKŮ	44
	SEZNAM TABULEK	45

ÚVOD

V dnešní době je čas důležitou proměnnou ve všech průmyslových odvětvích. Čím rychleji a lépe je výrobek vyroben, tím rychleji se může dostat ke spotřebiteli. Z tohoto důvodu jsou neustále vyvíjeny rychlé a přesné metody, které nejsou, co se proveditelnosti týče, obtížné a zvládné je provést i nespécializovaný personál, nebo jsou prováděny automaticky. Jedna z těchto metod je metoda analýzy elektronickým nosem. Elektronický nos je zařízení, které na základě přítomných senzorů v tomto přístroji detekuje těkavé látky ve zkoumaném produktu (výrobek, materiál), které jsou následně vyhodnoceny. Takto prováděna metoda, například u sensorických analýz, je velmi citlivá a objektivní na rozdíl od lidského čichu. Lidé dokáží rozlišit až 5000 různých pachů, ovšem jejich čichové receptory nejsou tak citlivé, jako u těchto senzorů, dokáží proto rozlišit pach látky až při vyšších koncentracích. Vnímání pachů u člověka je navíc velice subjektivní. V tomto mají analýzy prováděny elektronickým nosem velkou výhodu.

Vyhodnocení signálů z elektronického nosu je vždy potřeba srovnat s určitým standardem, pachem látky, který se zaznamená do systému a poté se už jen na základě daného signálu vyhodnotí. Proto je důležité u nově prováděných analýz provést kontrolní metodu, která by měla být srovnatelná se signály při měření elektronickým nosem. Jelikož je většina analytických metod náročná na provedení a jsou příliš zdlouhavé, je snaha zavádět místo nich právě tyto rychlé a jednoduché metody, jako je metoda elektronickým nosem.

Jedlý hmyz, konkrétně potěmník moučný (*Tenebrio molitor*), je využíván například jako krmivo pro akvakultury. Podobně jako u ostatních živočišných komodit, můžeme předpokládat za dané časové období kažení materiálu z něj. Předpokládá se stejná degradace bílkovin jako u běžných živočišných komodit. To znamená, že se bílkoviny přeměňují postupně až na amoniak, který je těkavý a značně zapáchá. Tyto pachy je možno detekovat pomocí elektronického nosu. Kontrola krmného materiálu je žádoucí, protože zkažené krmivo živočišného původu nelze využívat pro další krmné účely. Metoda měření pomocí elektronického nosu je proti standardním analytickým metodám v některých ohledech výhodnější, protože standardní analytické metody jsou technologicky a finančně náročnější. Důležitou roli hraje také časové hledisko, kdy měření pomocí elektronického nosu je několikanásobně rychlejší než obdobná analýza pomocí standardních analytických metod.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 LIDSKÉ VNÍMÁNÍ PACHŮ

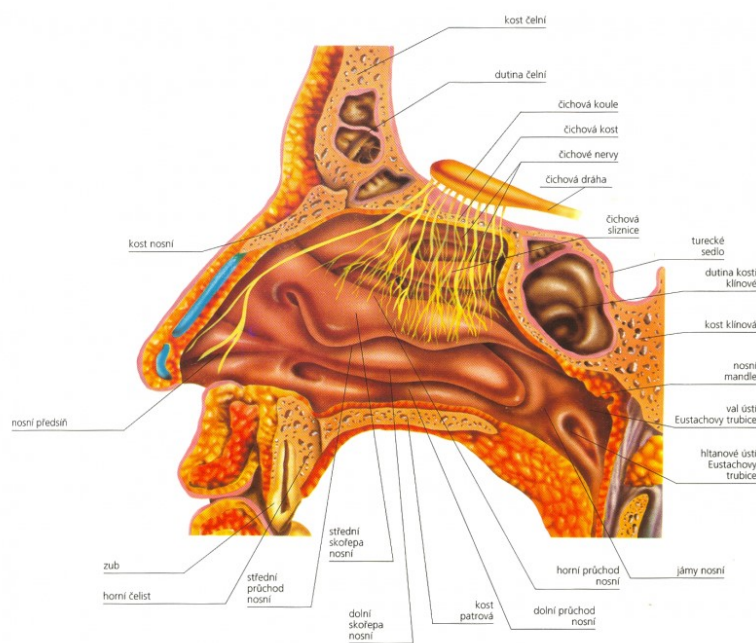
Lidé vnímají pachy pomocí čichu. Lidský čich je jeden z pěti lidských smyslů. V životě hraje velmi důležitou roli, jelikož podle pachu je možno například rozpoznat, zda je jídlo zkažené. To nás může ochránit před otravou jídlem. Nebo nás čich může upozornit na nebezpečí v podobě kouře, kdy nám může zachránit život. Čich funguje na principu zachytávání molekul čichovým receptorem (nosem) a dané signály jsou následně vyhodnoceny v mozku [19].

1.1 Lidský nos

Nos je smyslovým orgánem, díky kterému je člověk schopen rozpoznat pachy. Neslouží ale jen k rozpoznávání pachů, ale také slouží při dýchání k ohřívání, čištění a zvlhčování vzduchu, který vstupuje do průdušnic.

Jedná se o velice subjektivní smysl, jelikož nějaká vůně může někomu krásně vonět a někomu jinému naopak nelibě vonět. A pravděpodobně i právě díky této subjektivitě vnímání pachů je to nejméně prostudovaný smysl.

Člověk je schopen rozlišit kolem 5000 vůní a pachů. Lidský čich není zdaleka tak dobře vyvinutý jako u ostatních živočichů. Jelikož povrch čichové sliznice u člověka je zhruba 4 cm² a například u psa dosahuje velikost povrchu čichové sliznice až 150 cm², má člověk méně čichových receptorů, díky kterým není schopen detekovat pachy tak dobře, jako zmíněný pes [20].



Obrázek 1 Nosní dutina pohled ze strany [21]

2 CHEMICKÉ SLOŽENÍ A SKTRUKTURA MASA

Maso je významným zdrojem bílkovin, tuků, některých minerálních látek a také vitamínů. Proteiny masa jsou dobře stravitelné a obsahují širokou škálu aminokyselin, které jsou potřebné pro organismus k výstavbě tkání. Libové maso obsahuje průměrně 21-22 % bílkovin s tím, že obsah tzv. čistých svalových bílkovin může kolísat v závislosti na anatomickém uložení masa. Obsah tuku také kolísá, například u vepřového masa je to od 2 % (vepřová kýta, která je libová), až po vepřový bok, který obsahuje v průměru 29 % tuku [22].

2.1 Chemické složení masa

Obecně je sval složen ze čtyř majoritních složek a to z 75 % vody, 20 % bílkovin, 3 % tuku a 2 % rozpustných nebílkovinných sloučenin. Tyto rozpustné nebílkovinné složky jsou složeny z 45 % nebílkovinných dusíkatých látek, 34 % sacharidů a jejich metabolitů, 18 % neorganických sloučenin a 3 % minerálů a vitamínů.

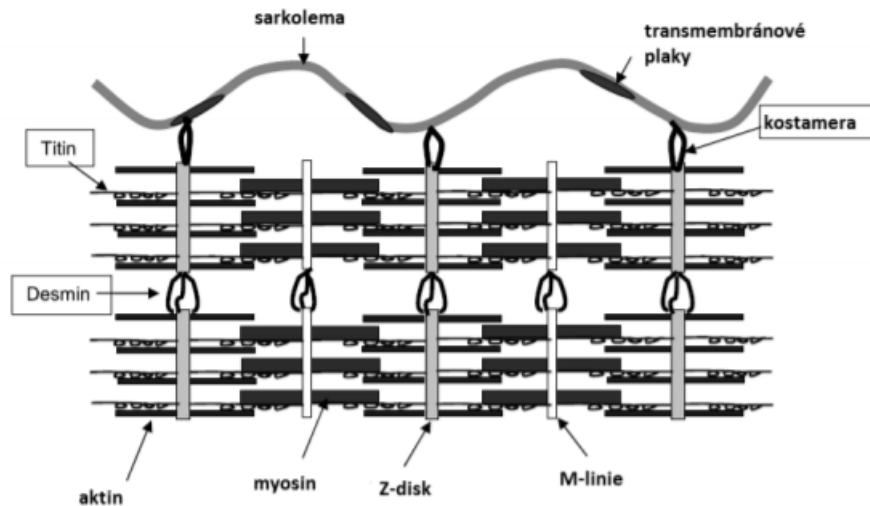
Vysoký obsah vody a její přítomnost je důležitá k průběhům reakcí, a také ovlivňuje senzorické vlastnosti masa. Obsah vody v mase může kolísat z několika důvodů, jako jsou anatomický původ, druh plemene nebo jeho stáří, přičemž rozsah obsahu vody se pohybuje od 46 % do 78 %, což je poměrně široká mez. Libové maso obsahuje 72 – 75 % vody. Voda se v mase vyskytuje ve třech různých formách, a to jako vázaná, kdy je vázaná prostřednictvím vodíkových iontů uvnitř globulárních proteinů, poté ve formě povrchové vody makromolekul a poslední, která je obsažená v největším množství, je voda volná. Ta je držena v mase pomocí kapilárních sil uvnitř myofibril v prostoru mezi tlustými a tenkými filamenty. Během rigor mortis nebo při tepelném opracování, kdy jsou filamenty smršťovány se tímto uvolňuje [22].

Další majoritní složkou jsou bílkoviny. Ty lze rozdělit na tři skupiny a to:

- myofibrilární;
- sarkoplazmatické;
- stromatické.

Nejvíce jsou v mase obsaženy myofibrilární proteiny v rozmezí 50 – 53 %, poté sarkoplazmatické v rozmezí 30 – 34 % a zbývajících 10 – 15 % připadá na proteiny pojivové tkáně (stromatické). Mezi myofibrilární proteiny zahrnujeme aktin a myosin,

které tvoří tlustá a tenká filamenta a aktin-myosinový komplex, dále regulační proteiny, například komplex tropomyosin – troponin nebo bílkoviny, které napomáhají tvorbě struktury myofibril, jako jsou titin a nebulin [22].

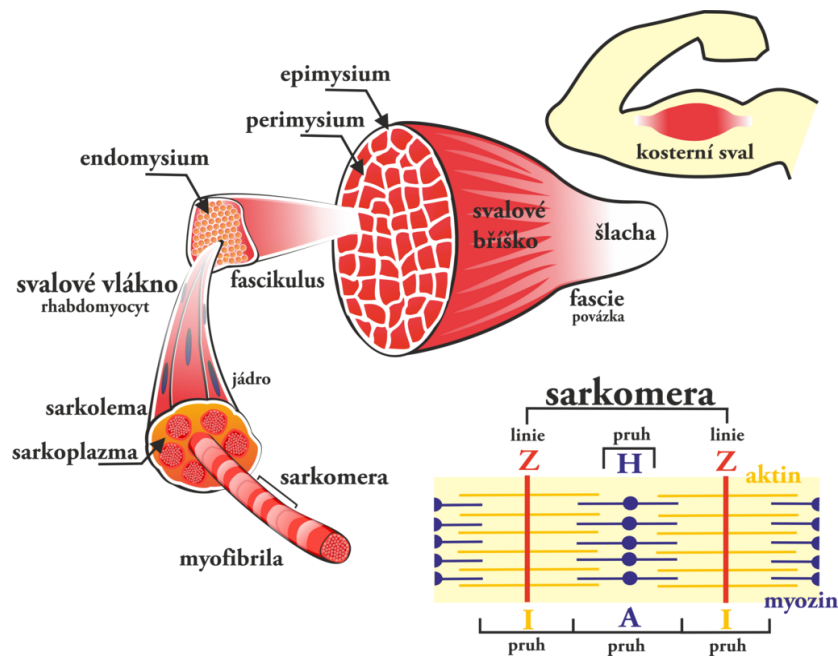


Obrázek 2 Schéma sarkolemy a její hlavních bílkovinných složek [22]

Sarkoplazmatické bílkoviny tvoří okolo sto rozdílných globulárních proteinů o nízké molekulové hmotnosti. Je to většina enzymů glykolytické dráhy nebo myoglobin. Stromatické proteiny tvoří intramuskulární pojivovou tkáň. Její morfologie, složení, množství se liší od jednotlivých svalů nebo druhu zvířete, jednotlivými plemeny atd [22].

2.2 Struktura kosterního svalu

Základní stavební jednotkou svalu je svalové vlákno, které je tvořeno velkými buňkami (tzv. soubuní), které vznikly během embryonálního vývoje, kdy došlo ke splynutí mnoha menších buněk, které jsou nazývány myoblasty. Svalová vlákna obsahují spoustu buněčných jader, která se nacházejí pod sarkolemou (plazmatická membrána). Sarkoplazma, což je označení cytoplazmy svalových buněk, je vyplněná myofibrilami. Ty jsou vysoce organizované a jejich struktura je tvořena stále se opakujícími jednotkami – sarkomerami. Na tvorbě sarkomer se podílí více jak 65 bílkovin, které zajišťují kontrakce na molekulární úrovni. Struktura sarkomery má za důsledek příčně pruhovaný vzhled svalové buňky. 70 – 90 % objemu svalu je právě tvořeno svalovými vlákny [22].



Obrázek 3 Stavba kosterního svalu [23]

2.3 Postmortální změny svaloviny a změny při skladování

Změny, ke kterým dochází po poražení jatečných zvířat, jsou velmi důležité pro spotřebitele, jelikož z velké části ovlivňují barvu, aroma, křehkost, texturu, šťavnatost a chuť masa. Dochází tak k mnoha procesům, které jsou dohromady nazývány jako zrání masa a v jejich průběhu se ze svaloviny stává maso [24].

Dochází k různým biochemickým a fyziologickým procesům, které se spustí ihned po poražení jatečného zvířete a jsou katalyzovány přirozeně se vyskytujícími nativními enzymy. Při postmortálních změnách dochází k degradačním změnám a přeměnám základních složek, a to především sacharidů a proteinů. Díky těmto změnám maso nabývá požadovaných vlastností, jak již bylo zmíněno. Procesy, při nichž maso dozrává probíhají společně s proteolýzou (kažení, hnití) masa. Proteolýza je způsobena mikroorganismy a exogenními enzymy a její intenzita se s časem zvyšuje, na rozdíl od autolýzy (zrání masa), jejíž intenzita se s časem snižuje, díky úbytku nativních enzymů [22,24].

Autolýza masa probíhá u jednotlivých druhů mas různě dlouho. Například u drůbežího masa je to 1-2 dny, na rozdíl od hovězího, kdy je nutno nechat maso stárnout alespoň 2 týdny, aby bylo dosaženo požadované křehkosti masa [22,24].

Postmortální změny probíhají ve čtyřech fázích [24,26]:

- a) prae rigor,

- b) rigor mortis,
- c) zrání masa,
- d) hluboká autolýza.

2.3.1 Prae rigor

Tato fáze a její počátek se odvíjí od toho, kdy je přerušen krevní oběh a tím pádem i přerušení přísunu kyslíku do tkání a přechodu od aerobních procesů ve svalovině k anaerobním procesům. V tomto období má maso vysokou vaznost a není tuhé, tudíž se hodí ke zpracování na mělněné masné výrobky. Hodnota pH je v rozmezí od 6,9-7,2 a je tedy neutrální. Maso v této fázi se také označuje jako tzv. „teplé maso“ a to z důvodu toho, že během této fáze má maso 35 – 42 °C, také dosud nenastalo ztuhnutí [24,26].

Časový úsek této fáze je velice krátký. Procesy, které ve fázi teplého masa probíhají, směřují k nástupu rigor mortis [24,26].

2.3.2 Rigor mortis

Poklesne-li ATP pod určitou koncentraci, dochází ke ztrátě jeho dosavadní funkce „vápníkové pumpy“. To má za důsledek uvolnění vápenatých iontů ze sarkoplasmatického retikula do prostoru myofibril a tím se vyvolá posmrtná ztuhlost svaloviny. Aktin a myosin se v důsledku nízké koncentrace ATP nejsou schopny udržet v disociovaném stavu a jejich filamenta se spojují za vzniku aktinmyosinového komplexu, svalovina se zpevňuje, ztrácí svojí tažnost a stává se tuhou [22,24,26].

Při rigor mortis má maso nízké pH (nižší než 5,9). Je to způsobeno přeměnou glykogenu na kyselinu mléčnou, CO₂ z glykolýzy a přeměnou ATP na kyselinu fosforečnou. Nízké pH také napomáhá ke zvýšení údržnosti masa (potlačení hnilobné mikroflóry). Pokles pH také závisí na různých faktorech, jako jsou teplota, zásoba glykogenu, a i druh zvířete [24,26].

V důsledku poklesu pH se zhoršuje nejdůležitější vlastnost masa a to jeho vaznost. Je to zapříčiněno tím, že při snížení pH se svalovina přiblíží izoelektrickému bodu bílkovin (pH 5,5), čímž dojde k přiblížení filament k sobě a ke snížení schopnosti vázat vodu [24,26].

Ve stádiu rigor mortis je maso naprosto nevhodné pro kulinární úpravu i masnou výrobu, z důvodu špatné vaznosti vody a ztuhlosti [24,26].

2.3.3 Zrání masa

Zrání masa je třetí fází postmortální změny. V této fázi se uvolňuje ztuhlost svalu, kdy se uvolňuje aktinmyosinový komplex zpět na aktin a myosin a díky této disociaci dochází k postupnému odbourávání kyseliny mléčné a postupně se zvyšuje pH. Uvolnění rigor mortis je také hlavně zapříčiněno proteolýzou myofibrilárních bílkovin, kdy působí vlastní proteázy svalové tkáně. Vzniká větší množství aminokyselin a peptidů. Odbourávají a přeměňují se bílkoviny a nukleotidy, vznikají tak extraktivní látky, které zapříčiňují chutnost a aroma. Maso se tak stává křehkým, zlepšuje se jeho vaznost a výrazně se zlepšují organoleptické vlastnosti (chuť a aroma) [24,26].

Doba zrání masa je různá. Závisí na druhu masa a na teplotě, při které se uchovává. U hovězího masa je optimální doba zrání při teplotě 0 °C asi 12 dní, při 8 – 10 °C 5 až 6 dní a při 16 – 18 °C 3 dny. U drůbeže rigor mortis odeznívá zhruba po 4 – 5 hodinách [22,24,26].

Zrání masa probíhá v chladárnách, jelikož při vyšších teplotách je větší možnost mikrobiálního nakažení masa. Zrání je proto poměrně dlouhé, drahé a ekonomicky náročné. Běžně je využíváno teplot v rozmezí 3 – 5 °C [22,24,26].

2.3.4 Hluboká autolýza

Po zrání masa plynule nastupuje stádium hluboké autolýzy. Pokračuje degradace bílkovin na konečné produkty, což jsou především aminy, amoniak a sirovodík. Dochází také k hydrolýze tuků. Všechny tyto jevy souvisí se vznikem nepříjemných sensorických vlastností. Chuť i konzistence masa jsou tedy spotřebitelsky nepříjemné. Hlubokou autolýzu doprovází i mikrobiální proteolýza, maso je tedy jako potravina zcela nepoužitelné [25,26].

2.4 Kažení masa

Mezi základní formy kažení masa se řadí [26]:

- a) povrchové osliznutí,
- b) povrchová hniloba,
- c) hloubková hniloba.

2.4.1 Povrchové oslizení

Povrchové oslizení se projevuje šedohnědým povlakem na povrchu masa. Je to způsobeno masivním pomnožením endogenních mikroorganismů, které tvoří určité enzymy. Enzymy rozkládají složky masa na celou řadu degradačních povrchů a tvoří se tak povlak a hnilobný zápach. Ten je zapříčiněn především amoniakem, který vzniká proteolýzou bílkovin na konečné produkty. Dále aminy, sirovodík a jiné. Pokud je povrchové oslizení včas zachyceno, je možno maso ošetřit opláchnutím lehce kyselou vodou a následné omytí pitnou vodou [26].

2.4.2 Povrchová hniloba

Pokud se při povrchovém oslizení maso včas neošetří, nastává fáze povrchové hniloby, kdy mikroorganismy pronikají do hloubky masa a způsobují rozklad bílkovin. Pokud se odstraní postižená část masa v počátku hniloby a tepelně se opracuje, je možné tu část masa zachránit [26].

2.4.3 Hlubková hniloba

Maso je po celém řezu prostoupeno hnilobou, musí být zkonfiskováno a představuje velkou ekonomickou ztrátu [26].

2.5 Zvláštní formy kažení masa

Mezi zvláštní formy kažení masa řadíme [25]:

- a) ložisková hniloba,
- b) kažení masa od kosti,
- c) zapaření masa.

2.5.1 Ložisková hniloba

Při ložiskové hnilobě dochází ke kontaminaci masa řezy nebo vpichy, kdy nebyly nože dostatečně dezinfikovány, a tudíž byly do masa řezem nebo vpichem zaneseny mikroorganismy. Poté při vhodných podmínkách pro dané mikroorganismy, se tyto přemnoží a způsobí ložiskovou hnilobu masa. Tomuto je možno předcházet důkladnou hygienickou praxí ve výrobě a na bourárně [25,26].

2.5.2 Kažení masa od kosti

Tato forma kažení je poměrně vzácná. Vychází z poranění, nebo onemocnění zvířete v předporážkovém období. Tímto se zvýší prostupnost mikroorganismů z trávicího traktu do tkáně a svalovina tak přestane být sterilní. Pokud je zvíře v dostatečném intervalu před porážkou uzdraveno, obnoví se sterilita svaloviny. Výjimkou je ale přítomnost mikroorganismů v okostici, kdy se vytváří hnilobné ložisko ohrožující okolní svalovinu. Často se tato forma kažení vyskytuje u nucených porážek [25,26].

2.5.3 Zapaření masa

Hlavní příčinou zapařování masa je pomalé chlazení při nedostatečné teplotě horkého masa. Vyskytuje se již před chlazením masa, nebo v jeho průběhu. Teplota masa urychlí autolytické procesy a pokud se do svaloviny dostanou anaerobní mikroorganismy, vyvolají kažení. Toto kažení se projevuje zvláštním nakyslým a ostrým hnilobným zápachem. Zapaření je možno předejít rychlým a účinným zchlazením masa po porážce [25,26].

3 JEDLÝ HMYZ

Hmyz konzumovali lidé už od pradávna, kdy se živili ve značné míře i hmyzem jako všežravci. Využívání hmyzu jako potravin se označuje pojmem entomofagie (z řeckých slov éntomon, "hmyz", a phagein, "jíst"). Nicméně je konzumace jedlého hmyzu ve spoustě zemí západního světa stále tabu, na rozdíl od Asie nebo Afriky, kde se hmyz běžně konzumuje [8]. Názor na entomofagii se ale postupně mění, jelikož se ukazuje, že potraviny z jedlého hmyzu mají zajímavé nutriční hodnoty. Mohou mít příznivý vliv na zdraví z důvodu vysokého obsahu vitamínu B₁₂, železa, zinku, vlákniny, esenciálních aminokyselin, omega-3 a omega-6 mastných kyselin, bílkovin a antioxidantů [9]. Další důvod, proč se začíná popularizovat konzumace jedlého hmyzu, je jeho ekonomický a ekologický chov. V průběhu chovu produkuje hmyz mnohem méně skleníkových plynů, než ostatní hospodářská zvířata a jelikož jsou to studenokrevní živočichové, tak velmi dobře konvertují krmivo na proteiny. Například oproti dobytku, potřebuje cvrček stepní dvanáctkrát méně krmiva k produkci stejného množství proteinu [8].

Díky těmto a mnoha dalším výhodám se naskytá otázka využití jedlého hmyzu, jako potravin, která by mohla vyřešit problém s hladomorem v rozvojových zemích. Avšak konzumace hmyzu s sebou nese i některá rizika, a to alergie na chitin, ze kterého je tvořena vnější schránka hmyzu nebo akumulace nebezpečných chemických látek z životního prostředí ve svých tkáních, včetně těžkých kovů a dioxinů [10].

3.1 Potemník moučný

3.1.1 Obecná charakteristika

Tenebrio molitor, česky potemník moučný, je druh potemníka, který se řadí do čeledi *Tenebrionidae*. Je to hmyz s dokonalou proměnou a prodělává čtyři vývojová stádia a to vajíčko, larva, kukla a dospělec. V larválním stádiu se mu přezdívá moučný červ [11]. Živí se moukou a jinými obilnými produkty, a proto jejich larvy můžeme často nalézt v mouce, nebo jiných obilných produktech.

Moučný červ je v dnešní době rozsáhle využíván, jako krmivo pro zvířata chovaná v zajetí. Využívají se například jako krmivo pro ptáky, ryby, nebo drůbež [13].

3.1.2 Nutriční hodnoty

Potemník moučný je nejvíce prostudovaný druh hmyzu, co se týče nutričních analýz [14]. V sušině obsahují larvy potemníka moučného kolem 53 % bílkovin, 28 % tuku, 6 % vlákniny a 5 % popelovin. Procentuální zastoupení se ale mohou lišit, například podle studie Ravzanaadii et. al [15] naměřili Randallovou metodou zastoupení 46,44 % bílkovin v sušině. Nicméně podle další studie Ao et. al [16] prováděny pomocí Kjeldahlovy metody, byl obsah bílkovin v sušině 58,0 %. Podobné rozdíly byly zaznamenány i při stanovení tuků, kdy podle studie Ravzanaadii et. Al [15] byl stanoven obsah tuků v sušině 32,70 % a podle studie Ao et. al [16], byl obsah tuků v sušině 31,60 %.

3.1.2.1 Bílkoviny

V sušině se bílkoviny obecně u jedlého hmyzu vyskytují v obsahu od 15 do 81 % [27]. Obsah dusíkatých látek v sušině u larvy potemníka je uváděn v rozmezí od 45,1 do 50,9 %. Rozdíly v obsahu dusíkatých látek mohou být způsobeny jiným druhem krmiva, jak bylo potvrzeno u několika analýz [28,29].

Obsah bílkovin u potemníka moučného je srovnatelný s ostatními živočišnými komoditami. Například maso hospodářských zvířat obsahuje cca 20 % dusíkatých látek v čerstvé hmotnosti. Ovšem důležitým ukazatelem kvality bílkovin je nejen jejich obsah u dané komodity, ale také jejich stravitelnost. Uváděná stravitelnost bílkovin u hmyzu se pohybuje v rozmezí od 86 do 89 %. Pro srovnání, stravitelnost bílkovin u hovězího masa je uváděna jako 98 % [5,30].

Jedlý hmyz obsahuje zajímavé zastoupení aminokyselin. Obsah esenciálních aminokyselin tvoří 46–96 % z celkového obsahu aminokyselin. V různých částech světa si domorodci často kompenzují nedostatek esenciálních kyselin právě konzumací jedlého hmyzu [8,27].

3.1.2.2 Tuky

Tuky, stejně jako bílkoviny u jedlého hmyzu se vyznačují vysokou variabilitou. Obsah tuku závisí na mnoha faktorech. A to na stádiu vývoje larvy, krmivu, pohlaví a prostředí. Obecně je obsah tuku vyšší u larev, než u dospělých jedinců. Obsah tuků u potemníka moučného uváděn v literatuře se pohybuje v rozmezí od 18,9 do 38,3 % v sušině [31].

Obsah polyenových mastných kyselin se u jedlého hmyzu pohybuje kolem 70 % z celkového obsahu tuků. Polyenové mastné kyseliny jsou klíčové pro správný vývoj mozku a nervové soustavy u dětí i novorozenců. Deficit n-3 a n-6 mastných kyselin by tak

mohl docela dobře pokrýt právě hmyzí tuk, který by byl snáze dostupný v rozvojových zemích, kde je tento deficit značný [8,31].

3.1.2.3 Sacharidy

Obsah sacharidů se pohybuje v rozmezí 1-10 % v sušině. Většina sacharidů obsažených v jedlém hmyzu tvoří chitin, který je základním stavebním polysacharidem jejich schránky (a také schránky koryšů). Chitin je považován za nestravitelný a přezdívá se mu „živočišná vláknina [29]“.

3.1.2.4 Minerální látky a vitamíny

Z hlediska obsahu minerálních látek je jedlý hmyz také zajímavou komoditou. Může obsahovat celou řadu minerálních látek, jako jsou draslík, sodík, vápník, železo, zinek, hořčík, mangan a fosfor [8].

Vitamíny obsažené v jedlém hmyzu jsou vitamíny rozpustné v tucích a to A, D, E, K poté vitamín C a vitamíny skupiny B [27].

4 MONITOROVÁNÍ DEGRADAČNÍCH ZMĚN U POTRAVIN ŽIVOČIŠNÉHO PŮVODU

Degradační změny u potravin živočišného původu mohou být změny fyziologické, chemické, enzymatické a mikrobiologické. Mikrobiologické změny jsou z hlediska potencionálního ohrožení zdraví konzumenta, snížení nutriční a sensorické hodnoty potraviny, nejzávažnějšími, ke kterým během zpracování a skladování dochází [1,2].

Znehodnocení potravin způsobují buď přítomné mikroorganismy, nebo jejich enzymy. Jejich působením dochází k degradaci živin, jako jsou bílkoviny, tuky a sacharidy. To má za následek změnu barvy, textury, nebo chuti daného produktu [1].

Mikroorganismy podílející se na degradaci živin se podle nároků na kyslík dělí na aerobní, anaerobní, mikroaerofilní a fakultativně anaerobní. Aerobní vyžadují vzdušný kyslík z důvodu rozvinutí pouze aerobního metabolismu, anaerobní ho nevyžadují z důvodu rozvinutí pouze anaerobního metabolismu. Mikroaerofilní mají pouze anaerobní metabolismus, nicméně nízké koncentrace kyslíku urychlují jejich rozmnožování. Fakultativně anaerobní mají jak anaerobní, tak aerobní metabolismus, to znamená, že mohou růst v přítomnosti, ale i v nepřítomnosti vzdušného kyslíku [3].

Degradace bílkovin a její konečné produkty (amoniak, aminy, nebo sirovodík) způsobují typický hnilobný zápach [4,5]. Právě tyto produkty degradace bílkovin se dají dále monitorovat pomocí různých analytických metod. Například pomocí spektrofotometrie nebo elektronického nosu.

4.1 UV/VIS spektrofotometrie

Spektrofotometrie je objektivní fyzikálně-chemická metoda, která se řadí mezi molekulovou absorpční spektrometrii. Při UV/VIS spektrofotometrii dochází k absorpci vlnových délek v rozmezí od 200 do 800 nm [6].

4.1.1 UV/VIS spektrofotometr

Spektrofotometr je přístroj, který umožňuje měření absorbance daného vzorku. Měří intenzitu monochromatického záření po průchodu měřeným vzorkem a dává ji do poměru k intenzitě světla po průchodu slepým vzorkem, tzv. blankem. Ten obsahuje všechny látky kromě zkoumaného analytu [6].

Zdrojem spojitého záření jsou ve spektrofotometrech pro viditelné spektrum halogenové, nebo wolframové žárovky. Pro ultrafialové spektrum se využívají vodíkové nebo deuteriové výbojky, které mají mnohem větší intenzitu.

K disperzi záření se využívají mřížky, které jsou spojeny se vstupní a výstupní štěrbinou. U kvalitních přístrojů se spektrální šířka štěrbin pohybuje kolem 0,01 nm, za to u jednodušších přístrojů kolem 10 nm. Obecně platí, že spektrální šířka štěrbin má být alespoň pětkrát menší, než je pološířka absorpčního pásu, který je měřen.

Absorbujícím prostředím ve spektrofotometru jsou kyvety. Kyveta nesmí být zhotovena z materiálu, který by sám absorboval záření v měřeném vlnovém rozsahu. Proto se pro měření v ultrafialové oblasti využívá kyvet křemíkových a pro oblast viditelného spektra zase kyvet skleněných. Tloušťka kyvet se pohybuje v rozmezí 0,1 až 10 cm, ale nejčastěji se pro běžné měření využívá 1 cm kyvet.

Mimo tyto základní prvky spektrofotometru, je zařízení vybaveno pomocnou optikou pro vedení zářivého toku [6,7].

4.1.2 Princip UV/VIS spektrofotometrie

UV/VIS spektrofotometrie pracuje na principu, kdy přístroj-spektrofotometr, umožňuje změřit záření, které látka pohlcuje. Pohlcením elektromagnetického záření molekulou dojde ke změně elektronového stavu molekuly. Daným měřením jsou získána absorpční spektra, která jsou vyjádřena jako závislost absorbance daného vzorku na vlnové délce. Dále se mohou využívat i jiná spektra v závislosti na vlnové délce, a to transmitance nebo extinkční koeficient. Nejčastěji se však využívá měření absorbance [6]. Závislost absorbance na koncentraci látky a tloušťce kyvety popisuje matematicko-fyzikální rovnice, která vyplývá z Lambert-Beerova zákona. Absorbance je přímo úměrná koncentraci absorbující látky a tloušťce absorbující vrstvy (kyvety). Lambert-Beerův zákon je omezen pouze na zředěné roztoky do koncentrací 10^{-2} mol dm^{-3} . Pokud je koncentrace roztoků vyšší než tato, poté už je extinkční koeficient roztoku závislý na indexu lomu a poté už nemůže vystupovat jako koeficient [7].

Rovnice Lambert-Beerova zákona:

$$A = \varepsilon * c * l$$

kde A je absorbance, ε je molární absorpční (extinkční) koeficient, c je látková koncentrace a l je tloušťka kyvety.

4.2 Elektronický nos

Elektronický nos je zařízení, které bylo vyvinuto, aby napodobilo nos lidský. Na rozdíl od lidského nosu, který má miliony receptorových buněk, má elektronický nos jen několik jednotek nebo desítek senzorů, které jsou mnohem citlivější pro detekci menších koncentrací látek. K vyhodnocení pachů je ale potřeba databáze, která by obsahovala vzorky k porovnání. Elektronickým nosem se zhodnotí právě zkoumaný vzorek a digitálně se zaznamená [17].

Senzory elektronického nosu (detekční systém) jsou nejčastěji složeny z vodivých částí, které jsou uloženy v mřížce z polymeru. Po interakci těchto částí s těkavými látkami, polymerní mřížka expanduje a zvyšuje tak elektrický odpor. Změna odporu vytvoří charakteristický signál. Pokud je daný signál obsažen v databázi vzorků, je v reálném čase vyhodnocen pomocí výpočetního systému [18].

V potravinářství se elektronický nos využívá ke kontrole kvality potravin, což je velmi důležité z hlediska bezpečnosti potravin, nebo také ke sledování různých parametrů při skladování. Například dokáže rozpoznat těkavé látky (amoniak), které se uvolňují při kažení masa a tím pádem rozeznat jeho kvalitu a případnou bezpečnost pro konzumaci [17]. Využívají se také k detekci kontaminace potravinářských výrobků [18].



Obrázek 4 Příklad elektronického nosu [32]

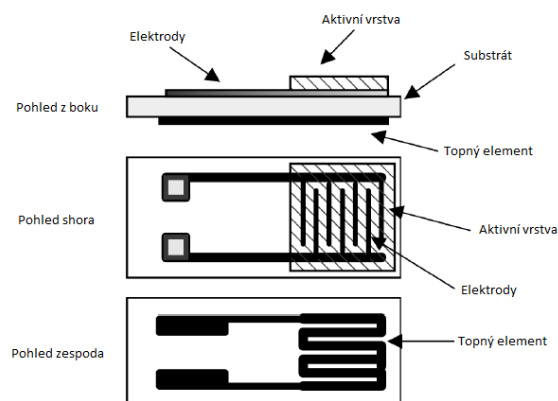
Další uplatnění elektronického nosu může být například bezpečnostní. Může být využit při hledání drog, bomb, nebo nelegálně pašovaných zvířat. Mohl by tak nahradit speciálně pro tento účel cvičené psy, jejichž trénink je časově i finančně náročný [17].

Další důležité využití elektronického nosu je ve zdravotnictví. Analýzou tělesných pachů jako je dech nebo tělesná tekutina může pomoci při identifikaci různých onemocnění. Nejdůležitější výzkum v tomto oboru patří elektronickému nosu, který by byl schopen identifikovat rakovinu plic v raném stádiu [17].

4.2.1 Vybrané typy senzorů

Typů senzorů využívaných k měření pomocí elektronického nosu je celá řada. Jejich citlivost se udává v jednotkách ppm. Například senzor MQ-3, který se využívá k měření emisí alkoholu (citlivost 25-500 ppm) nebo senzor MQ-8 využíván k detekci vodíku (citlivost 100-1000 ppm). Dále senzor MQ-135, který je citlivý na amoniakální plyn, toluen, vodík a kouř. Jeho citlivost je 10-1000 ppm [33].

Tyto senzory se nazývají vodivostní senzory (chemorezistory). Senzory pracují na principu změny elektrické vodivosti, na chemicky citlivé odporové vrstvy, díky působení přítomného plynu. Molekuly plynu jsou pomocí chemisorpce vázány na povrch aktivní vrstvy, kdy dochází k přenosu elektronů a tím změně vodivosti na aktivní vrstvě. Výsledný odpor je tudíž závislý na přítomnosti plynu a jeho koncentraci. Tyto senzory jsou hojně využívány z důvodu jednoduché konstrukce, dlouhé životnosti, vysoké citlivosti, jednoduchosti provozu a jejich malé velikosti. Senzory mohou detekovat i nechtěné plyny, které jsou přítomny v prostředí. To je možno do jisté míry vyřešit aplikací některých filtrů, které nechtěné plyny dokáží zachytit [34].



Obrázek 5 Schéma vodivostního senzoru [36]



Obrázek 6 Vodivostní senzor [35]

II. PRAKTICKÁ ČÁST

5 HYPOTÉZA A CÍL PRÁCE

Hypotéza: Výsledky degradačních změn u materiálu z potemníka moučného stanoveny analytickou metodou jsou ve shodě s výsledky z experimentálního elektronického nosu.

Hlavním cílem této práce je zaznamenat změny mezi jednotlivými typy materiálů z potemníka moučného (*Tenebrio molitor*), analytickou metodou, a to spektrofotometricky a jejich následné porovnání s výsledky z elektronického nosu.

6 MATERIÁL A METODIKA

6.1 Materiál

Byly použity larvy potemníka moučného (*Tenebrio molitor*), které byly chovány na Ústavu chemie a analýzy potravin na technologické fakultě Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně.

Chov potemníka moučného není náročný. Larvy byly chovány v plastové nádobě při pokojové teplotě a velikosti úměrné počtu jedinců. Jednou z podmínek chovu je dobré větrání, kdy má nádoba nejlépe otevřené hrdlo a se substrátem sahajícím maximálně čtyři centimetry pod okraj tak, aby larvy nemohly uniknout. Množství substrátu bylo zvoleno tak, aby odpovídalo zhruba čtyřnásobku velikosti larvy. Chovným substrátem byly pšeničné otruby.

Vzorky byly rozděleny do dvou skupin:

- Larvy potemníka moučného, které byly právě usmrceny (S1)
- Larvy potemníka moučného, které byly usmrceny a skladovány po dobu tří dnů při pokojové teplotě (S2)

6.2 Metodika

6.2.1 Spektrofotometrická metoda

Metoda pro analýzu degradačních produktů z materiálů potemníka moučného spektrofotometrickou metodou předpokládala, že se degradační změny u těchto larev budou projevovat obdobně jako u ostatních živočišných komodit, a to uvolňováním amoniaku. Spektrofotometrická metoda byla prováděna za přídavku Nesslerova činidla (roztok $K_2[HgI_4]$ v KOH) ke vzorku, kdy vznikl žluto-oranžový amido-jodrtuťnatý komplex ($[Hg(NH_2)I]$), který byl následně stanovován při vlnové délce 400 nm pomocí spektrofotometru Lambda 25.

6.2.1.1 Kalibrační křivka

Jako první byla naměřena kalibrační křivka. Kalibrační roztoky byly připraveny v koncentracích 5 ng/ml, 10 ng/ml, 20 ng/ml, 50 ng/ml a 70 ng/ml. Byly připraveny ze standardu tak, že se navážilo 0,31404 g NH_4Cl , tato navážka byla převedena do 100 ml odměrné baňky, doplněnou po rysku destilovanou vodou. Z této poté byl pipetován 1 ml do další 100 ml odměrné baňky, doplněnou po rysku destilovanou vodou. Koncentrace NH_3 v 1 ml standardu poté činí 0,01 mg. Takto připravený standardní roztok byl poté pipetován postupně v objemech 0,05 ml, 0,1 ml, 0,2 ml, 0,5 ml a 0,7 ml do 5 ml odměrné baňky. K těmto bylo poté přidáno 0,5 ml Nesslerového činidla a doplněno destilační vodou po rysku. Takto vzniklé roztoky kalibrační řady byly poté měřeny na spektrofotometru při vlnové délce 400 nm.

Z těchto naměřených hodnot byla sestavena kalibrační přímka, kdy v grafu na ose y byla koncentrace a na ose x byla absorbance. Body se proložily přímkou a pomocí funkce lineární regrese byla zjištěna rovnice přímky.

6.2.1.2 Měření vzorků

Vzorek každé skupiny byl navážen do kádinky na předvážkách na přibližnou hmotnost 10 g, poté byla zjištěna jeho přesná hmotnost na analytických vahách s odchylkou $\pm 0,001$ g. Po zvážení byl vzorek homogenizován s přidavkem 80 ml destilované vody v nitrobulletu. Po homogenizaci byla nádoba nitrobulletu vypláchnuta dalšími 60 ml destilované vody. Do takto homogenizovaného vzorku v kádince byl přidán 20 % roztok kyseliny trichloroctové v objemu 60 ml. Tato byla přidána z důvodu vysrážení interferujících látek (bílkovin). Takto připravený roztok se nechal stát po dobu 10 minut a poté byl filtrován.

Roztoky ke stanovení byly připraveny tak, že se vždy odpipetovalo 2 ml filtrátu do 50 ml odměrné baňky, bylo přidáno 10 ml destilované vody a promícháno. Poté bylo přidáno 5 ml Nesslerového činidla, opět promícháno a doplněno destilovanou vodou po rysku. Poté byly tyto roztoky měřeny na spektrofotometru při vlnové délce 400 nm. Následně byly vypočítány koncentrace u každého vzorku metodou kalibrační křivky z rovnice kalibrační přímky.

6.2.2 Metoda porovnání vzorků pomocí elektronického nosu

Porovnání vzorků bylo u této metody prováděno pomocí experimentálního elektronického nosu, jehož sensorická část využívá následující čidla:

- MQ-3 - alkohol (25 – 500 ppm)
- MQ-8 - hydrogen detection (100 – 1000 ppm)
- MQ-135 - amoniak, toluen a vodík (10~1000 ppm)
- SGP30 - těkavé organické látky (TVOC) a CO₂ equivalent (signály jsou počítány ze základních signálů pro etanol a H₂)

U měření se předpokládalo využití zejména čidla MQ-135, které má z použitých čidel největší citlivost na amoniak.

Každý vzorek o hmotnosti 10 g byl vložen do skleněné měřicí komory určené k analýze, kde bylo prováděno samotné měření a analýza vzorku. Měření probíhalo po dobu přibližně 10 minut (krátkodobé měření), a nebo probíhala analýza dlouhodobě po dobu několika hodin. Signály vzniklé na senzoru byly zaznamenány pomocí mikrokontroleru a převáděny pomocí A/D převodníku na interní digitální signál d [-] v rozsahu hodnot 0 až 1023. Protože účelem bylo pouze porovnání jednotlivých vzorků a srovnání se standardní analytickou metodou ve formě trendu, nebyl proveden další výpočet na konkrétní koncentrace jednotlivých plynů. Dále byl signál odeslán do počítače, kde byla data vyhodnocena v programu MS Excel dle dalších požadavků na zpracování.



Obrázek 5 Experimentální elektronický nos

7 VÝSLEDKY PRÁCE

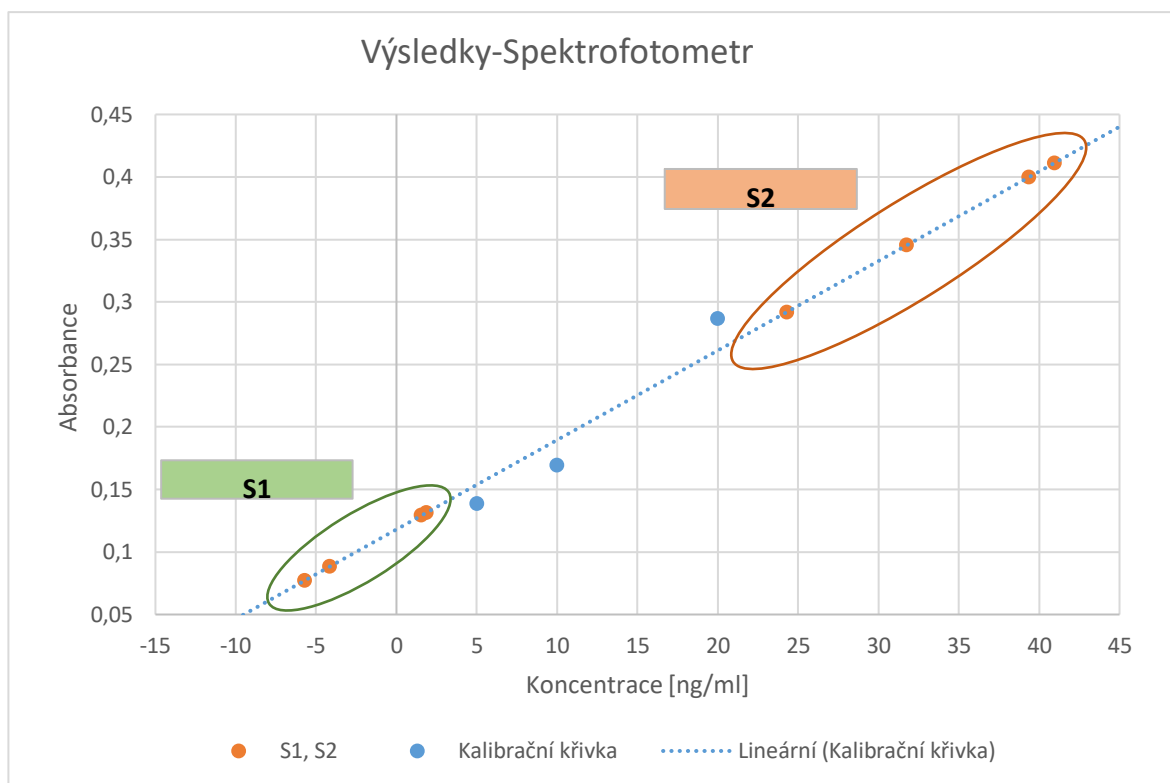
7.1 Spektrofotometrická metoda

Při spektrofotometrické metodě byly hodnoty absorbance přepočteny na obsah amoniaku ve vzorku z rovnice kalibrační přímky. Hodnoty byly zpracovány do tabulky a poté byly vyneseny do grafu, kde můžeme vidět rozdíl mezi jednotlivými skupinami vzorků.

Výsledná koncentrace amoniaku uváděna v ng/ml byla u skupiny S1 ve dvou měřeních velmi nízká a nebylo možno je z kalibrační křivky vypočítat. Oproti tomu, skupina S2, vykazovala už vyšší koncentrace amoniaku. Po provedeném měření se koncentrace amoniaku ve vzorcích pohybovala v rozmezí od 24 do 40 ng/ml. Skupina vzorků S2, kdy byly larvy usmrceny a skladovány po dobu tří dnů tedy vykazovala znaky degradace živočišných materiálu. Potvrdila se nám tedy hypotéza, že materiál z potemníka moučného bude degradovat obdobně jako ostatní živočišné materiály a to tak, že jeho bílkoviny budou degradovat až na amoniak. Tato metoda byla poměrně drahá a nebezpečná z důvodu nutnosti využití Nesslerova činidla, které je toxické z důvodu přítomnosti rtuti.

Tabulka 1 Hodnoty absorbancí a koncentrací při spektrofotometrické metodě

Popis vzorku	Absorbance	Výsledná koncentrace [ng/ml]
Larvy právě usmrceny (S1)	0,0771	-5,714046215
	0,0882	-4,163290396
	0,1291	1,550755819
	0,1313	1,858112828
Larvy usmrceny a skladovány 3 dny (S2)	0,3997	39,35566794
	0,411	40,93436531
	0,2919	24,29517449
	0,3453	31,75556735



Obrázek 6 Graf závislosti absorbance a koncentraci amoniaku ve vzorcích

7.2 Metoda elektronického nosu

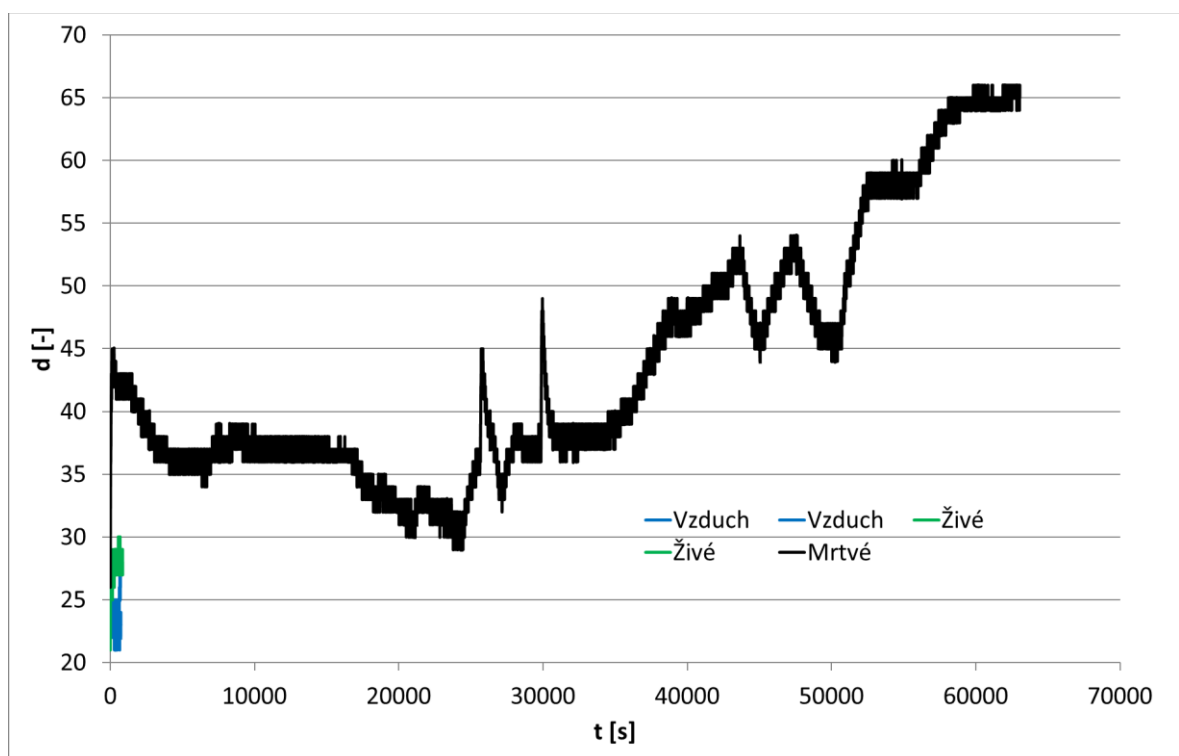
Elektronickým nosem byly analyzovány vzorky v měřící skleněné nádobě pomocí senzoru MQ-135, který je nejcitlivější na amoniak. Vzorky byly analyzovány ve dvou časových intervalech – krátkodobé měření po dobu přibližně deseti minut a dlouhodobé měření po dobu dvaceti hodin, po kterou byly výstupní signály ze senzorů zaznamenávány. U vzorků, které byly zaznamenávány po dobu přibližně deseti minut, byla vybrána oblast signálu v ustáleném stavu a ta byla použita pro další srovnávání. Oblast, ve které byl ustálený stav hledán, byla přibližně mezi dvoustým a třístým vzorkem. Z těchto dat byl vypočítán průměr, který byl následně zpracován pomocí PCA analýzy. Z grafů je možno vidět rozdíl mezi skupinami. Výsledky opět potvrzují hypotézu, že mezi vzorky je značný rozdíl a mohou být od sebe rozlišeny na základě pokročilého stupně degradability vzorku. Metoda prováděná experimentálním elektronickým nosem je neinvazivní a bezkontaktní (senzor je umístěn v prostoru nad vzorkem), ale je pouze orientační, protože konkrétní množství amoniaku ve vzorku se nedá exaktně vyčíslit. Nicméně na tomto matematickém

vyhodnocení se stále pracuje. Metoda měření elektronickým nosem byla rychlejší a lépe proveditelná než předchozí analytická metoda.

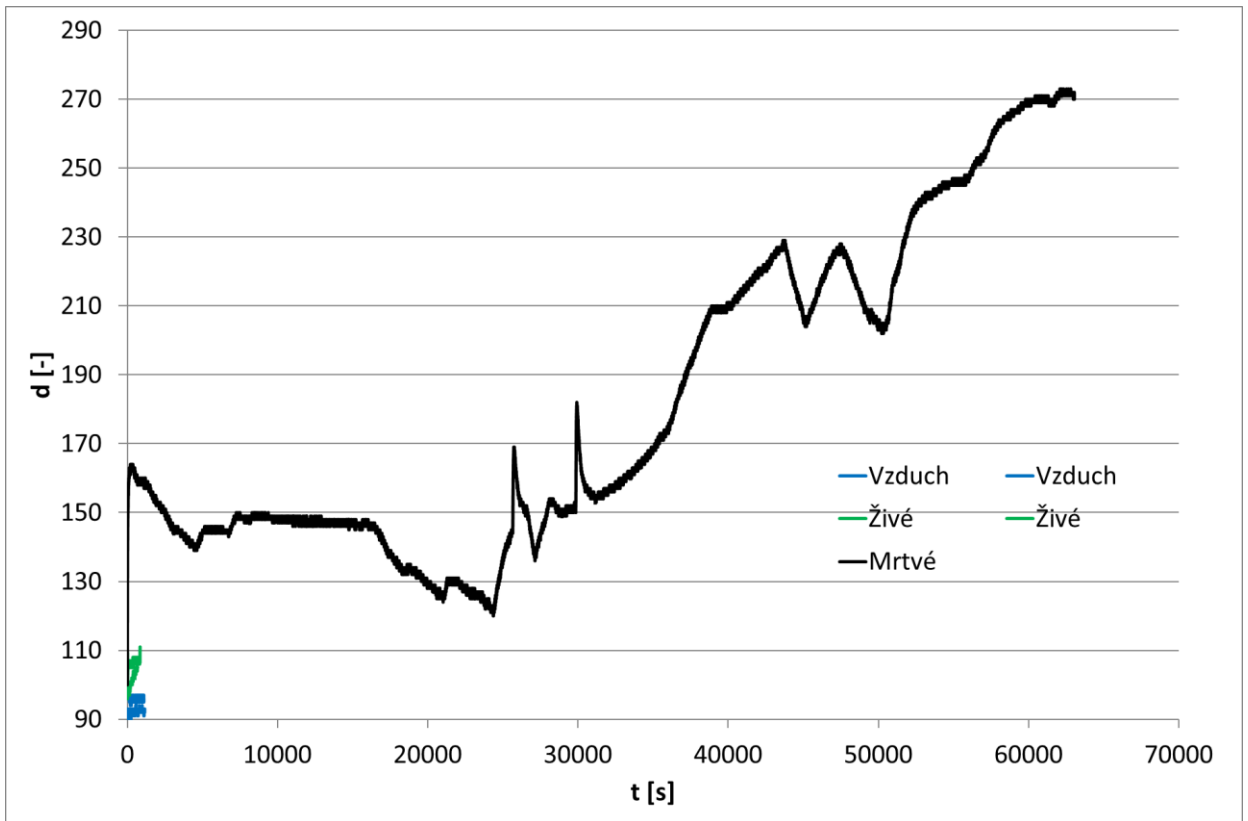
U dlouhodobého měření byl vzorek právě usmrčeného jedlého hmyzu uzavřen do měřicí nádoby a byl monitorován dlouhodobý průběh degradačních procesů hmyzu. Obrázek ukazuje, že senzor MQ-135 (amoniak) reaguje na postupnou degradaci hmyzu, ale reakce senzoru MQ-3 (etanol) je několikanásobně větší.

Na grafech dlouhodobé analýzy degradačních procesů hmyzu pro senzor MQ-135 (amoniak) i pro senzor MQ-3 (etanol) je zřejmé, že se po určité době zvyšuje hladina amoniaku v měřeném vzorku. Zároveň se zvyšuje také hladina etanolu. To může být zapříčiněno měřením v uzavřené nádobě, kdy se postupně tvoří anaerobní prostředí.

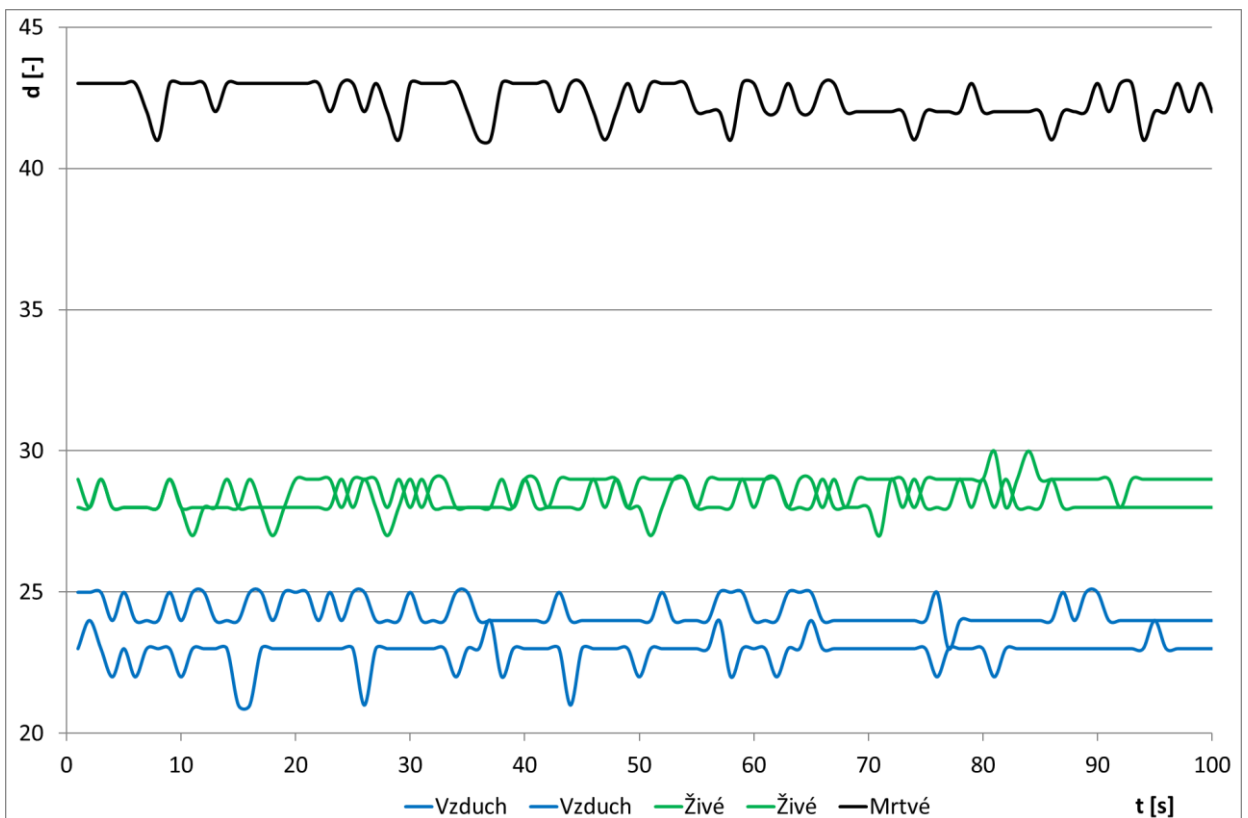
Grafy znázorňující ustálený stav mezi dvoustým a třístým vzorkem pro senzor MQ-135 (amoniak) i pro senzor MQ-3 (etanol) vykazují jednoznačné rozdíly mezi zkoumanými vzorky.



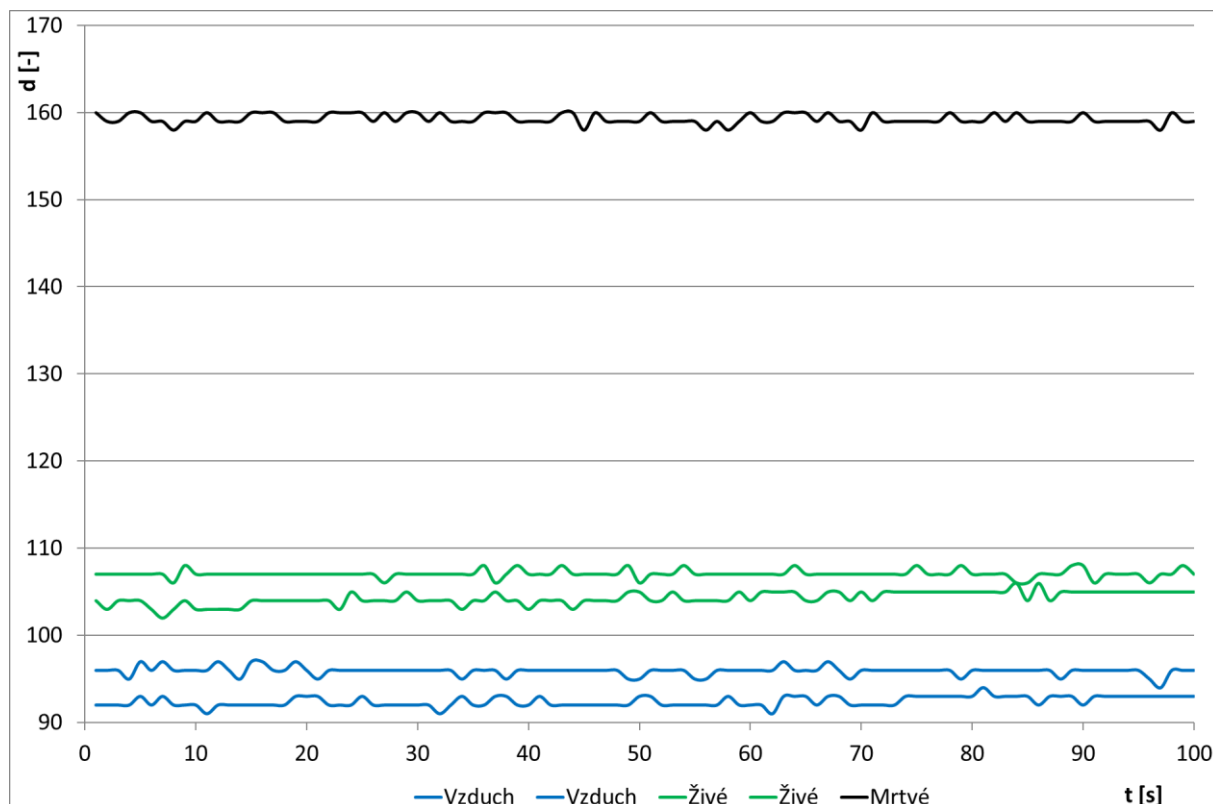
Obrázek 7 Graf dlouhodobé analýzy degradačních procesů hmyzu senzorem MQ-135 (amoniak)



Obrázek 9 Graf dlouhodobé analýzy degračních procesů hmyzu senzorem MQ-3 (etanol)



Obrázek 8 Graf ustáleného stavu mezi dvoustým a třístým vzorkem měřený senzorem MQ-135 (amoniak)



Obrázek 10 Graf ustáleného stavu mezi dvoustým a třístým vzorkem měřený senzorem MQ-3 (etanol)

7.3 Diskuze

Analýzy elektronickým nosem jsou prováděny především z důvodu jejich rychlosti a nenáročnosti provedení. Například studie Henderson et al. (2010), která se zabývala detekcí hmyzu čeledi kněžicovitých (*Pentatomidae*) a jejich vliv na poškození bavlny pomocí elektronického nosu. Měření bylo prováděno komerčním elektronickým nosem Cyranose 320, který sestává celem z 32 senzorů. Čtyři tyto senzory v průběhu měření zaznamenaly přítomnost těkavých látek, které byly produkovány hmyzem a tyto hodnoty naměřené elektronickým nosem predikovaly s 95% správností narušení a poškození bavlněných tobolek a se 100% správností přítomnosti hmyzu uvnitř bavlněných tobolek. Také byla zjištěna výrazná korelace mezi počtem hmyzu přítomného uvnitř tobolek a signálem z elektronického nosu [38].

Dále byly prováděny studie, které se zabývaly sensorickým zhodnocením výrobků z hmyzí mouky elektronickým nosem. Ve studii Adámek et al. (2018) byly elektronickým nosem sensoricky hodnoceny proteinové tyčinky s přídavkem hmyzí mouky. Pokud je sensorická analýza pachů ve výrobku prováděna elektronickým nosem, je prováděna objektivně, což

může přinést jak výhody, tak nevýhody. Například nelze určit, zda výrobek lidem voní příjemně nebo ne. Na druhou stranu lze objektivně a dobře určit rozdíl mezi jednotlivými výrobky využitím elektronického nosu [39].

Z naměřených výsledků lze vzhledem k charakteristice grafů říci, že je pozorovatelná vazba mezi analytickou metodou a metodou prováděnou elektronickýmnosem. Výsledky těchto pozorování vykazují podobný trend a to, že po určité době se u zkoumaných vzorků zvyšuje hladina amoniaku. Analytická metoda prováděna spektrofotometricky s použitím Nesslerova činidla se v praxi příliš nepoužívá, jelikož je toto činidlo toxické z důvodu přítomnosti rtuti. Pro stanovení rozdílů mezi zkoumanými vzorky byla ale metoda dostačující. Ke stanovení amoniaku analytickou metodou se využívají i jiné, například Conwayova metoda.

Pomocí Conwayovy analytické metody byl amoniak měřen pro ostatní živočišné komodity. Šánek (2009) ve své práci stanovoval hodnoty amoniaku v kuřecím, vepřovém, hovězím a krůtím masu po různé době skladování.

Druh masa	0 hod	24 hod	48 hod	72 hod
Kuřecí maso	27,20 ± 0,000	40,80 ± 0,000	99,73 ± 3,206	122,40 ± 0,000
Vepřové maso	-	29,47 ± 3,206	38,53 ± 3,206	40,80 ± 0,000
Hovězí maso	36,27 ± 3,206	45,33 ± 3,206	52,13 ± 3,206	70,27 ± 3,206
Krůtí maso	47,60 ± 5,552	72,53 ± 3,206	90,67 ± 3,206	133,73 ± 3,206

Obrázek 11 Tabulka hodnot amoniaku v koncentraci mg/kg

Z tabulky lze říci, že nejvyšších hodnot po 72 hodinách skladování dosáhlo krůtí a kuřecí maso, nejméně pak maso vepřové. Z naměřených hodnot lze konstatovat, že materiál z potměníka moučného podléhá degradaci poměrně pomaleji než ostatní živočišné komodity, jelikož u něj byly po 72 hodinách skladování naměřeny hodnoty v ng. Z měření vyplývá, že naměřené hodnoty u analyzovaného hmyzu jsou řádově nižší hodnoty než u zmiňovaných ostatních komodit. Ovšem je to pouze odhad, jelikož byly použity odlišné metody [37].

ZÁVĚR

Bakalářská práce se zabývala měřením degradačních změn u materiálu z larev potemníka moučného a jejich porovnáním s výstupními signály z elektronického nosu. Hlavním cílem této práce bylo zaznamenat změny mezi jednotlivými skupinami vzorků (čerstvě usmrcené a po 3 dnech skladování) analytickou metodou a jejich následné porovnání s výsledky z experimentálního elektronického nosu.

Pro stanovení byly určeny dvě skupiny vzorků. První skupina byly larvy, které byly právě usmrceny a ihned analyzovány. Druhá skupina byly larvy, které byly usmrceny a skladovány při pokojové teplotě po dobu tří dnů.

Hypotéza, že výsledky degradačních změn u materiálu z potemníka moučného stanoveny analytickou metodou jsou ve shodě s výsledky z experimentálního elektronického nosu, byla potvrzena. Rozdíly mezi jednotlivými skupinami vzorků bylo možné rozeznat. Analytickou metodou se nám také potvrdil předpoklad, že degradační změny u materiálu potemníka moučného se projevují obdobně jako u ostatních živočišných materiálů, jako je postupná degradace bílkovin až na amoniak. Pomocí této metody byly naměřeny hodnoty u skupiny vzorků, které byly uskladněny po dobu tří dnů při pokojové teplotě, v rozmezí 24 až 40 nanogramů amoniaku na mililitr vzorku. U čerstvého vzorku byly hodnoty koncentrace tak nízké, že je nebylo možné z kalibrační křivky vypočítat.

Metoda měření amoniaku pomocí elektronického nosu je v porovnání s analytickou metodou použitou v této práci rychlejší, levnější, neinvazivní a netoxická. Nevýhodou je získání pouze orientačního neexaktního výsledku. Benefitem e-nosu je dále možnost použití přímo na výrobní lince za účelem kontroly kvality larev, které by byly určeny pro další zpracování. Z důvodů nízkých finančních nákladů a časové náročnosti se tato metoda jeví jako mnohem vhodnější k průmyslovému, nebo zemědělskému využití kontroly kvality materiálů z potemníka moučného.

Larvy potemníka moučného jsou rychlým a kvalitním zdrojem bílkovin, které jsou v poslední době často vyhledávány, právě pro svou nutriční hodnotu. Také je možné larvy chovat pro následné krmení akvakultur, které dále člověk může konzumovat. Ovšem firmy nechtějí krmit zkaženým „masem“ a proto je nutné kontrolovat čerstvost i těchto larev. Je žádoucí, aby kontrola čerstvosti probíhala co nejrychleji a nejméně složitým procesem. V neposlední řadě se cena kontroly kvality promítne do ekonomického hlediska výrobku.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] *Přehled změn probíhající v potravinářských surovinách a potravinách během zpracování a skladování* [online]. In: . s. 40 [cit. 2021-02-10]. Dostupné z: <https://ukp.vscht.cz/files/uzel/0007649/0025~~Principy%20%C3%BAchovy%20potravin%20-%201.%20%C4%8D%C3%A1st.pdf?redirected>
- [2] CHMELAŘ, Vít. *Zařízení pro monitorování degradačních procesů u materiálů živočišného původu* [online]. Brno, 2019 [cit. 2021-02-13]. Dostupné z: https://www.vutbr.cz/www_base/zav_prace_soubor_verejne.php?file_id=191506. Diplomová práce. VÚT v Brně.
- [3] ŠILHÁNKOVÁ, Ludmila. *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology*. Vyd. 3. [i.e. 4.], opr. a dopl., v nakl. Academia 1. vyd. [i.e. 2. vyd.]. Praha: Academia, 2008. ISBN 978-80-200-1703-1.
- [4] HOLÍK, Radek. *Sledování postmortálních změn jakosti u masa* [online]. Zlín, 2008 [cit. 2021-02-10]. Dostupné z: <https://adoc.tips/download/sledovani-postmortalnich-zmn-jakosti-u-masa-radek-holik.html>. Bakalářská. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně.
- [5] VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin*. Tábor: OSSIS, 1999. ISBN 80-902-3912-9.
- [6] NĚMCOVÁ, Irena, Petr RYCHLOVSKÝ a Ludmila ČERMÁKOVÁ. *Spektrometrické analytické metody*. 2. vyd. Praha: Karolinum, 2004. ISBN 80-246-0776-X.
- [7] KLOUDA, Pavel. *Moderní analytické metody*. 2., upr. a dopl. vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 2003. ISBN 80-863-6907-2.
- [8] VAN HUIS, Arnold, Joost VAN ITTERBEECK, Harmke KLUNDER, Esther MERTENS, Afton HALLORAN, Giulia MUIR a Paul VANTOMME. *EDIBLE INSECTS future prospects fo food and feed security* [online]. 1. 2013 [cit. 2021-03-04]. ISBN 978-92-5-107595-1. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/239687589_EDIBLE_INSECTS_future_prospects_fo_food_and_feed_security#fullTextFileContent
- [9] NOWAKOWSKI, Abby C., Abbey C. MILLER, M. Elizabeth MILLER, Hang XIAO a Xian WU. Potential health benefits of edible insects. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* [online]. , 1-10 [cit. 2021-03-04]. ISSN 1040-8398. Dostupné z: doi:10.1080/10408398.2020.1867053
- [10] Risk profile related to production and consumption of insects as food and feed. *EFSA Journal* [online]. 2015, 13(10) [cit. 2021-03-04]. ISSN 18314732. Dostupné z: doi:10.2903/j.efsa.2015.4257
- [11] MARIOD, Abdalbasit Adam, Mohamed Elwathig SAEED MIRGHANI a Ismail HUSSEIN. Tenebrio molitor Mealworm. *Unconventional Oilseeds and Oil*

- Sources [online]. Elsevier, 2017, 2017, , 331-336 [cit. 2021-03-04]. ISBN 9780128094358. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-809435-8.00050-0
- [12] HONG, Jinsu, Taehee HAN a Yoo Yong KIM. Mealworm (*Tenebrio molitor* Larvae) as an Alternative Protein Source for Monogastric Animal: A Review. *Animals*. 2020, 10(11). ISSN 2076-2615. Dostupné z: doi:10.3390/ani10112068
- [13] BORDIEAN, Anna, Michał KRZYŻANIAK, Mariusz J. STOLARSKI, Stanisław CZACHOROWSKI a Dumitru PENI. Will Yellow Mealworm Become a Source of Safe Proteins for Europe? *Agriculture*. 2020, 10(6). ISSN 2077-0472. Dostupné z: doi:10.3390/agriculture10060233
- [14] MLCEK, Jiri, Anna ADAMKOVA, Martin ADAMEK, Marie BORKOVCOVA, Martina BEDNAROVA a Ivana KNIZKOVA. Fat from Tenebrionidae Bugs - Sterols Content, Fatty Acid Profiles, and Cardiovascular Risk Indexes. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*. 2019, 69(3), 247-254. ISSN 1230-0322. Dostupné z: doi:10.31883/pjfn/109666
- [15] RAVZANAADII, Nergui, Seong-Hyun KIM, Won-Ho CHOI, Seong-Jin HONG a Nam-Jung KIM. Nutritional Value of Mealworm, *Tenebrio molitor* as Food Source. *International Journal of Industrial Entomology*. 2012, 25(1), 93-98. ISSN 1598-3579. Dostupné z: doi:10.7852/ijie.2012.25.1.093
- [16] AO, X., J.S. YOO, Z.L. WU a I.H. KIM. Can dried mealworm (*Tenebrio molitor*) larvae replace fish meal in weaned pigs? *Livestock Science*. 2020, 239. ISSN 18711413. Dostupné z: doi:10.1016/j.livsci.2020.104103
- [17] JANOŠÍKOVÁ, P. Program pro analýzu pachů pro jednoduchý elektronický nos. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií, Ústav mikroelektroniky, 2019. 43 s., 1 s. příloh. Bakalářská práce. Vedoucí práce: Ing. Martin Adámek, Ph.D.
- [18] Víte co je to elektronický nos? *Enviweb* [online]. 2015 [cit. 2021-03-05]. Dostupné z: <http://www.enviweb.cz/103634>
- [19] MARTINEC NOVÁKOVÁ, Lenka. Čich: znovuobjevený smysl. In: HORÁČEK, Jiří, et. al. *Možek a jeho člověk, mysl a její nemoc*. Praha: Galén, 2016. s. 85-94. ISBN: 978-80-7492-283-1
- [20] Wikipedie. Čich. [online]. [cit. 2021-03-15]. Dostupné z: <https://cs.wikipedia.org/wiki/%C4%8Cich>
- [21] *Nosní dutina pohled ze strany* [online]. [cit. 2021-03-15]. Dostupné z: <https://latinsky.estranky.cz/img/original/46/nosni-dutina--pohled-ze-strany-.png.jpg>
- [22] KAMENÍK, Josef, Bohumíra JANŠTOVÁ a Alena SALÁKOVÁ. *Technologie a hygiena potravin živočišného původu*. 1. Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2014. ISBN 978-80-7305-723-7.

- [23] *Stavba kosterního svalstva* [online]. [cit. 2021-03-15]. Dostupné z: [https://www.wikiskripta.eu/w/Stavba kostern%C3%ADho svalstva](https://www.wikiskripta.eu/w/Stavba_kostern%C3%ADho_svalstva)
- [24] ŠÁNEK, Lubomír. *Stanovení základních nutričních charakteristik masa a sledování změn během skladování*. Zlín, 2009. Diplomová práce. UTB.
- [25] INGR, Ivo. *Atypické zrání a kažení masa*. In: *Český svaz zpracovatelů masa* [online]. 2003 [cit. 2021-03-25]. Dostupné z: <http://www.cszm.cz/clanek.asp?typ=1&id=895>
- [26] *Postmortální změny masa* [online]. In: . [cit. 2021-04-04]. Dostupné z: https://web2.mendelu.cz/af_291_projekty2/vseo/print.php?page=4815&typ=html
- [27] XIAOMING, Chen, Feng YING, Zhang HONG a Chen ZHIYONG. *Review of the nutritive value of edible insects: Edible insects and other invertebrates in Australia: future prospects*. 1. Řím: FAO, 2008. ISBN 978-92-5106-488-7.
- [28] VAN BROEKHOVEN, Sarah, Dennis G.A.B. OONINCX, Arnold VAN HUIS a Joop J.A. VAN LOON. Growth performance and feed conversion efficiency of three edible mealworm species (Coleoptera: Tenebrionidae) on diets composed of organic by-products. *Journal of Insect Physiology* [online]. 2015, 73, 1-10 [cit. 2021-5-8]. ISSN 00221910. Dostupné z: doi:10.1016/j.jinsphys.2014.12.005
- [29] BEDNÁŘOVÁ, Marie. *Možnosti využití hmyzu jako potravin v podmínkách České republiky*. Brno, 2013. Dizertační práce. Mendelova Univerzita v Brně.
- [30] FINKE, Mark D. Complete nutrient composition of commercially raised invertebrates used as food for insectivores. *Zoo Biology* [online]. 2002, 21(3), 269-285 [cit. 2021-5-8]. ISSN 0733-3188. Dostupné z: doi:10.1002/zoo.10031
- [31] BEDNÁŘOVÁ, Martina, Marie BORKOVCOVÁ, Jiří MLČEK, Otakar ROP a Ladislav ZEMAN. Edible insects - species suitable for entomophagy under condition of Czech Republic. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis* [online]. 2013, 61(3), 587-593 [cit. 2021-5-8]. ISSN 12118516. Dostupné z: doi:10.11118/actaun201361030587
- [32] Food Sniffer. *Fine Dining Lovers* [online]. [cit. 2021-4-20]. Dostupné z: <https://www.finedininglovers.com/article/sniff-out-spoiled-food-electronic-food-sniffer>
- [33] ADAMEK, Martin, Anna ADAMKOVA, Jiri MLCEK, et al. Sensor Systems for Detecting Dough Properties Fortified with Grape Pomace and Mealworm Powders. *Sensors* [online]. 2020, 20(12) [cit. 2021-5-8]. ISSN 1424-8220. Dostupné z: doi:10.3390/s20123569
- [34] ARSHAK, K, et al. *A Review of Gas Sensors Employed in Electronic Nose Applications*. Sensor Review, 2004. (vol. 24), s. 181-198. ISSN: 0260-2288
- [35] B. M. Embedded solutions. *MQ6 LPG Sensor Module*. [online] [cit. 12. 12. 2019]. Dostupné z: <https://bm-es.com/product/mq6-sensor-module/>

- [36] JELÍNEK, Ivan. *Hmotnostní spektrometrie ve spojení se separačními metodami*. [online výukový materiál] Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Přírodovědecká fakulta UK. [cit. 28. 11. 2019]. Dostupné z: <http://old.vscht.cz/anl/paci/PAC/prezentace/jelinek.pdf>
- [37] ŠÁNEK, Lubomír, 2009. *Stanovení základních nutričních charakteristik masa a sledování změn během skladování*. Zlín. Diplomová práce. UTB.
- [38] HENDERSON, Will G. et al., 2010. Detecting stink bugs/damage in cotton utilizing a portable electronic nose. *Computers and Electronics in Agriculture* [online]. **70**(1), 157-162 [cit. 2021-5-16]. ISSN 01681699. Dostupné z: doi:10.1016/j.compag.2009.09.019
- [39] ADÁMEK, Martin et al., 2018. Acceptability and sensory evaluation of energy bars and protein bars enriched with edible insect. *Potravinářstvo* [online]. **12**(1), 431-437 [cit. 2021-5-16]. ISSN 1337-0960. Dostupné z: doi:10.5219/925

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

ATP Adenosintrifosfát

UV Ultraviolet (ultrafialové)

VIS Viditelné spektrum

nm nanometr

cm centimetr

dm decimetr

ppm parts per million

ng nanogram

ml mililitr

g gram

kg kilogram

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Nosní dutina pohled ze strany [21].....	11
Obrázek 2 Schéma sarkolemy a její hlavní bílkovinné složky [22].....	13
Obrázek 3 Stavba kosterního svalu [23].....	14
Obrázek 4 Příklad elektronického nosu [32]	24
Obrázek 5 Experimentální elektronický nos.....	31
Obrázek 6 Graf závislosti absorpance a koncentraci amoniaku ve vzorcích.....	33
Obrázek 7 Graf dlouhodobé analýzy degradačních procesů hmyzu senzorem MQ-135 (amoniak).....	34
Obrázek 8 Graf dlouhodobé analýzy degradačních procesů hmyzu senzorem MQ-3 (etanol)	35
Obrázek 9 Graf ustáleného stavu mezi dvoustým a třístým vzorkem měřený senzorem MQ-135 (amoniak)	35
Obrázek 10 Graf ustáleného stavu mezi dvoustým a třístým vzorkem měřený senzorem MQ-3 (etanol)	36
Obrázek 11 Tabulka hodnot amoniaku v koncentraci mg/kg	37

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Hodnoty absorbancí a koncentrací při spektrofotometrické metodě	32
---	----

