

Insekter för humankonsumtion

NÄRINGSVÄRDET I INSEKTER TILLGÄNGLIGA PÅ DEN
EUROPEISKA MARKNADEN

AMANDA JOHANSSON, EDDIE VUONG, FRITJOF HAVEMEISTER,
JAKOB KARLSSON, JOHANNES NORDBERG, JULIA BENSON

BBTX01-19-04



CHALMERS

Abstract

Insects for human consumption

The nutritional quality of novel food entering European markets

The rising global demand for meat puts a significant tension on the ecosystem and more sustainable alternative protein sources, which can substitute meat, are warranted. Insects have been suggested to serve as an alternative source to meat that could lead to diminished greenhouse gas emission produced by livestock. Before utilizing insects for food purpose, it is important to know their nutrient content. However, information about the composition of nutrients including macronutrients, vitamins and minerals are lacking for many insects. In the present study, the aim was to increase the knowledge regarding nutritional components in a selection of diverse edible insects. The analyzed components were phytic acid, vitamin E (α - and γ -tocopherol), amino acids, iron, zinc, copper and manganese. These nutrients were analyzed by different techniques including: High-Performance Liquid Chromatography (HPLC), Liquid Chromatography Mass Spectrometry (LCMS) and Atomic Absorption Spectroscopy (AAS). The insects analyzed were termite, buffalo worm, grasshopper, giant water bug, flying termite and yellow mealworm, in a total of eleven different samples. In all samples, the content of phytic acid was below the detection limit of the method (0.1 ppm). The content of α - and γ -tocopherol varied between the different insect species, with the highest content of α -tocopherol (0.556 mg/100g) found in grasshoppers whereas none were found in giant water bugs. In total 18 amino acids were quantified in all the samples and the content of amino acids varied within and between insects. Variations in copper concentration were found in the samples (0.5 - 2.7 mg/100g) as well as in iron concentration (1.9 - 19.6 mg/100g). The samples showed less variation in zinc concentration (3.5 - 4.6 mg/100g) apart from grasshoppers which had significantly higher content (7.6 mg/100 g). For manganese, the concentration found in different species of termites was significantly higher than expected (78 - 268 mg/100g). With exception of termites, based on the identified nutritional components suggest that the insects presented in this study can indeed be recommended as food or be served as a complement to a daily diet. Since the nutritional values varied significantly between several species the obtained data cannot support a general conclusion about nutritional contents in other insect species.

Sammanfattning

En ökande population, nya konsumtionsvanor, och ett förändrande klimat skapar framtida utmaningar för livsmedelsproduktionen. Efterfrågan för proteinrik föda ökar snabbt och skapar både klimatmässiga och ekonomiska problem. Insekter har föreslagits som alternativ proteinkälla till kött, en lösning som skulle kunna leda till bland annat minskade utsläpp av växthusgaser. Det är viktigt att ha kunskap om näringsinnehållet i insekter om de ska användas till humankonsumtion. I dagsläget saknas vetenskap om insekters sammansättning av exempelvis; makronäringsämnen, vitaminer och mineraler. Syftet för studien var att öka kunskapen om näringsinnehållet i ett flertal ätbara insekter som är tillgängliga på den europeiska marknaden. De näringsämnen som undersöktes var fytinsyra, vitamin E (α - och γ -tokoferol), aminosyror, järn, zink, koppar och mangan. De analyserades med metoder såsom High-Performance Liquid Chromatography (HPLC), Liquid Chromatography Mass Spectrometry (LCMS) och Atomic Absorption Spectroscopy (AAS). De undersökta insekterna var termit, buffelmask, gräshoppa, vattenscorpion, flygande termit och gul mjölmask, bestående av totalt elva olika prover. Mängden fytinsyra var under detektionsnivå för samtliga prov (0,1 ppm). Mängden α - och γ -tokoferol varierade mellan de olika arterna. Den högsta koncentrationen av α -tokoferol hittades i gräshoppa (0,556 mg/100g) medan halten var under detektionsnivån för vattenscorpion. Totalt kvantifierades 18 aminosyror för varje prov, och aminosyrainnehållet varierade mellan arterna. Kopparkoncentrationen varierade mellan 0,5 – 2,7 mg/100g och järnkoncentrationen mellan 1,9 – 19,6 mg/100g. Provernas zinkkoncentration hade en mindre variation (3,5 – 4,6 mg/100g) med undantag för gräshoppa som avvek från övriga prover (7,6 mg/100g). För mangan var koncentrationerna i framförallt termiter mycket högre än förväntat (78 – 268 mg/100g). Med undantag för termiter kan de insekter som undersökts i studien, baserat på dess näringsinnehåll, anses lovande som föda eller komplement till kosten. Eftersom näringsvärdet varierade kraftigt mellan arterna kan ingen slutsats dras om näringsinnehållet i andra insekter.

Innehållsförteckning

Abstract	
Sammanfattning	
1. Introduktion	1
1.1 Syfte	1
1.2 Avgränsningar	1
1.3 Bakgrund	2
1.3.1 Global insektskonsumtion	2
1.3.2 Urval av insekter	2
1.3.3 Urval av näringsämnen	3
2. Material och metod	6
2.1 Analystekniker som använts i projektet	6
2.1.1 High-Performance Liquid Chromatography, HPLC	6
2.1.2 Detektionsmetoder för HPLC	6
2.1.3 Liquid Chromatography Mass Spectrometry, LCMS	8
2.1.4 Atomabsorptionsspektrometri, AAS	9
2.2 Analysmetoder	10
2.2.1 Fytinsyraanalys med HPLC och UV-detektion	11
2.2.2 Tokoferolanalys med HPLC och fluorescensdetektion	11
2.2.3 Aminosyraanalys med LCMS	13
2.2.4 Mineralanalys med AAS	13
3. Resultat	14
3.1 Fytinsyra	14
3.2 Vitamin E	14
3.2.1 α -tokoferol	14
3.2.2 γ -tokoferol	15
3.3 Aminosyror	15
3.4 Mineraler	16
3.4.1 Koppar	16
3.4.2 Zink	16
3.4.3 Järn	17
3.4.4 Mangan	18
4. Diskussion	19
4.1 Resultatanalys	19
4.1.1 Fytinsyra	19
4.1.2 Vitamin E	19
4.1.3 Aminosyror	19
4.1.4 Koppar	20
4.1.5 Zink	20
4.1.6 Järn	20
4.1.7 Mangan	20
4.2 Etik	21

5. Slutsats	23
Källförteckning	24
Bilaga A	
Bilaga B	
<i>Bidragsrapport</i>	
<i>Projektets arbetsgång</i>	

1. Introduktion

En växande befolkning i världen kräver en ökad matproduktion. En ökad produktion och konsumtion tär på de redan begränsade naturresurserna, både genom direkt förbrukning av dem, men även genom behovet av större markområden för själva produktionen (Van Huis et al., 2013). Den globala efterfrågan på kött beräknas öka med 75 procent till 2050, jämfört med 2005/2007 (Van Huis, Dicke, & van Loon, 2015). Köttindustrin har en stor påverkan på klimatet, eftersom dess utsläpp av olika växthusgaser sprids via luften, vattnet och jorden. Men det är framförallt boskapshållningens behov av ytor, vatten och energi som överbelastar jordens resurser (Djekic, 2015). För att kunna initiera en mer hållbar produktion behöver köttkonsumtionen minska. En hållbar livsmedelsproduktion behöver ta hänsyn till miljöpåverkan, vilket även en hållbar diet bör eftersträva. Samtidigt som en hållbar diet bör ha en låg påverkan på miljön, ska den även ha ett adekvat näringsinnehåll som bidrar till god hälsa och vara (Garnier, Klont, & Plastow, 2003).

I de flesta länder utgör fisk och boskap de främsta proteinkällorna i kosten. För att kunna livnära framtidens populationer behöver alternativa proteinkällor utvecklas, såsom exempelvis odlat kött, växtbaserat protein, svamp och insekter (Van Huis et al., 2013). En av de största fördelarna med att föda upp insekter jämfört med boskap är att insekter mer fodereffektiva. Från tio kilogram djurfoder erhålls ett kilo nötkött, tre kilo fläsk, fem kilo kyckling eller nio kilo gräshoppa. Det som inte konverterats till ätbar biomassa blir istället avfall i egenskap av gödsel. Det innebär att nio kilo avfall bildas vid ett kilo nötköttsproduktion, jämfört med ett kilo avfall hos produktion av nio kilo gräshoppa. Avfallet bidrar till kraftiga utsläpp av ammoniak och växthusgaser. Det avfall som producerats av insekter bidrar till mindre utsläpp av ammoniak och växthusgaser än boskapsavfall. Därtill kräver uppfödning av insekter mindre vattenåtgång och betydligt mindre yta per djur. Idag används upp till 70 procent av all lantbruksmark till boskapshållning, oftast till bekostnad av avskogning, vilket innebär att en utökning av köttindustrins areal är begränsad (Dicke, 2010). Insekter löper även mindre risk att sprida zoonotiska infektioner, det vill säga infektioner som sprids mellan djur (Van Huis et al., 2013).

I sökandet efter alternativa proteinkällor har en tidigare studie genomförts där flygande termiter skördades i Benin. Tillagnings- och lagringsmetoder utvärderades för att undersöka hur de påverkade sammansättningen av näringsämnen. Termiter från tre säsonger analyserades och samtliga prover visade sig innehålla mycket hög halt av mangan (Verspoor et al., 2019). Följande studie undersöker näringsinnehållet i flera termitprover samt ett antal insekter som finns kommersiellt tillgängliga i Europa. Studien är en fortsättning på arbetet från Benin.

1.1 Syfte

Studien genomfördes med syftet att öka kunskapen om näringsinnehållet i ett antal utvalda insekter genom att använda olika analysmetoder. Flera sorters insekter undersöktes och olika näringsämnen kvantifierades.

1.2 Avgränsningar

De näringsämnen som kvantifierades begränsades till fytinsyra, vitamin E, essentiella aminosyror samt mineralerna koppar, järn, zink och mangan. Endast en analysmetod per näringsämne användes. Insekterna som analyserades var gul mjölmask, buffelmask, gräshoppa, flygande termit och vattenscorpion, då de finns tillgängliga på den europeiska marknaden samt konsumeras i stora delar av världen. Vidare analyserades även andra termitarter från Benin. I undersökningen utvärderades inte insekternas smak eller konsistens.

1.3 Bakgrund

Följande avsnitt behandlar konsumtion av insekter i olika delar av världen samt information kring de insekter som berörs i studien. Näringsämnen som undersöks och deras betydelse för människan beskrivs också i texten.

1.3.1 Global insektskonsumtion

Insekter konsumeras i första hand i tropiska länder, men även i länder som ligger helt eller delvis i tempererade zonen, såsom Kina, Japan och Mexiko. I de tropiska länderna tenderar insekterna att vara större, både i storlek och antal, vilket underlättar skördandet. Till följd av klimatet i tropiska regioner går det dessutom att året runt hitta en stor variation av arter, vilket inte är möjligt i tempererade områden där insekter går i ide under vinterhalvåret (Van Huis et al., 2013). Det är okänt i vilken utsträckning insekter konsumeras, då det inte förs någon statistik på insektsskördar. Dock har det rapporterats om en habitatminskning bland vilda insektspopulationer i naturliga ekosystem, där stora skördar ägt rum (Van Huis et al., 2015).

Upp till 80 procent av världens befolkning konsumerar redan insekter i sin dagliga kost (Dicke, 2010). I Thailand säljs gräshoppor och larver på restauranger, i Australien erbjuds turister att äta insekter av olika slag, och i Mexiko sätts höga priser på rätter innehållande myrpuddor och fjärilslarver (Premalatha, Abbasi, Abbasi, & Abbasi, 2011). I västvärlden ses insekter som sjukdomsbärare och ohyra, och har således fått negativa associationer. Att äta insekter har ofta förknippats med en mer primitiv och obemedlad era. Attityden mot insektskonsumtion håller dock på att ändras i jakten på en mer hållbar proteinrik näringskälla (Van Huis et al., 2013).

Det finns idag ett antal europeiska företag som arbetar med forskningsprojekt kring att finna det bästa sättet att introducera insekter i västerländsk kost. Ätbara insekter är nuförtiden tillgängliga online, på diverse marknader och bland privatpersoner som anammat egna insektuppfödningar. De senaste åren har tillgängligheten ökat i takt med intresset för insektsbaserad kost. Störst hinder för en introduktion av ätbara insekter på den europeiska marknaden är de lagmässiga barriärerna. Anledningen till det är främst livsmedelssäkerhetsaspekter, då det ofta saknas riskbedömning i form av allergier och biologiska och kemiska faror. (Belluco, Halloran, & Ricci, 2017)

1.3.2 Urval av insekter

Det har tidigare noterats att insekter konsumeras i främst tropiska länder. En vanlig insektsart som vanligen äts söder om Sahara är termiter. Där klassas de både som en viktig födokälla men även som en delikatess. *Macrotermes bellicosus* är den art som äts i störst utsträckning. De fångasDet finns ett flertal metoder att fånga in termiterna på, men det vanligaste är att fylla ett fat med vatten som belyses med en lampat ljuset, falla i vattnet och därefter drunkna (Fombong & Kinyuru, 2018). Andra typer av insekter som också konsumeras är larver. Två olika arter av larver som är vanliga för humankonsumtion är gula mjölmaskar och buffelmaskar. Gula mjölmaskar utvecklas i nästa stadie till skalbaggar vilka är naturligt mörkbruna eller svarta. Arten lever naturligt i Nordamerika och är nattdjur. I dagsläget konsumeras de i första hand av tamdjur (Evans Arthur, 2014).

Buffelmaskar, eller mindre mjölmaskar, är nära besläktade med gula mjölmaskar och finns spridda världen över. I Nordamerika klassas de mindre mjölmaskarna i det vilda som ett pestedjur som skadar grödor. Det finns i dagsläget få områden i Nordamerika där mindre mjölmaskar konsumeras och liknande till gula mjölmaskar används de oftast som föda till husdjur (Shockley, Lesnik, Allen, & Muñoz, 2018). En insektsart som äts och är uppskattad i sydöstra Asien är vattenscorpion. Den konsumeras i sitt fullt utvecklade stadium till skillnad från mjölmaskar som äts som larver. När vattenscorpionen ska tillagas tas ofta vissa delar bort från den, vanligtvis dess främre vingar som består av ett hårt exoskelett. En annan vanlig insektsart som konsumeras globalt är gräshoppor. De står för cirka 14% av alla insekter som äts världen över. Deras utbredning är främst i Afrika söder om Sahara, specifikt i regionerna kring Nigeria. Gräshoppor är tillsammans med mjölmaskar de

insektsarter som undersöks mest för möjlig användning som mänsklig föda. Det beror på att de är noggrant undersökta och deras näringsvärden redan är kända. De anses också enkla att föda upp och skörda och kan därför massproduceras (Purslow, 2017).

Tidigare studier som genomförts för att kvantifiera mängden skillnader mellan olika insektsarter. Termiter består av cirka 42% aminosyror i förhållande till den totala kroppsvikten. Gula mjölmaskar och buffelmaskar som tillhör ordningen skalbaggar har liknande mängd av aminosyror som termiter, ungefär 42% av kroppsvikten. En insektsart som innehåller en stor mängd protein är vattenscorpioner. De tillhör ordningen halvvingar och består till 47% av aminosyror. Den insektsart som sticker ut mest av de undersökta insekterna är gräshoppor. De består ungefär av 67% aminosyror i förhållande till kroppsvikten vilket gör dem till den art som innehåller allra störst mängd aminosyror (Feng et al., 2018). Det finns dock stora skillnader inom ordning och arter beroende på var de lever i världen. Exempelvis kan gräshoppor variera mellan 56 - 77% aminosyror och ordningen skalbaggar varierar mellan 21 - 54% aminosyror. På grund av detta är det svårt att förutse protein- och näringsinnehållet i insekter utan att först undersöka en specifik art från ett specifikt område (Ramos-Elorduy et al., 1997).

1.3.3 Urval av näringsämnen

En dåligt varierad kost är ett av det största aktuella folkhälsoproblemet. Att undernäring och övervikt existerar sida vid sida är en svårlöst paradox i samhället, särskilt i utvecklingsländerna. En osund kosthållning bidrar till utbredning av sjukdomar, exempelvis typ 2 diabetes och hjärt- och kärlsjukdomar. På grund av den ökande populationen och därmed större spridning av kostrelaterade sjukdomar är det viktigare än någonsin att dessa problem löses (Eilender, 2016). Eftersom insekter undersöks som alternativa proteinkällor till kött redovisas mängden av olika näringsämnen i konventionellt kött i Tabell 1 samt rekommenderat dagligt intag för män, kvinnor och barn i Tabell 2.

Tabell 1: Koncentration av näringsämnen i olika typer av kött.

	Nötkött	Får	Fläsk	Kyckling
α-tokoferol (mg/100g)	0,13	0,09	0,05	0,15
Aminosyror (mg/g)	225	202	218	223
Koppar (mg/100g)	0,03	0,08	0,05	0,03
Zink (mg/100g)	4,1	3,3	2,1	1,2
Järn (mg/100g)	2,7	1,4	0,7	0,7
Mangan (mg/100g)	0,0093	0,0090	0,012	0,045

Kommentar: Värden för α -tokoferol, protein, koppar, zink och järn hämtat från (Toldrá, 2017). Mängden mangan för nöt och fläsk hämtat från (Jorhem, Sundström, Åstrand, & Haegglund, 1989). Mängden mangan för får hämtat från (Falandysz, Kotecka, & Kannan, 1994). Mängden mangan i kyckling hämtat från (Iwegbue, Nwajei, & Iyoha, 2008).

Tabell 2: RDI för män, kvinnor och barn

	Män	Kvinnor	Barn (6 - 9 år)
α-tokoferol (mg/dag)	10	8	6
Protein (g/kg dag)¹	1,1	1,1	1,1
Koppar (mg/dag)	0,9	0,9	0,5
Zink (mg/dag)	9	7	7
Järn (mg/dag)	9	15	9
Mangan (mg/dag)	3	3	1,5

¹ Enheten är gram protein per kilogram kroppsvikt och dag.

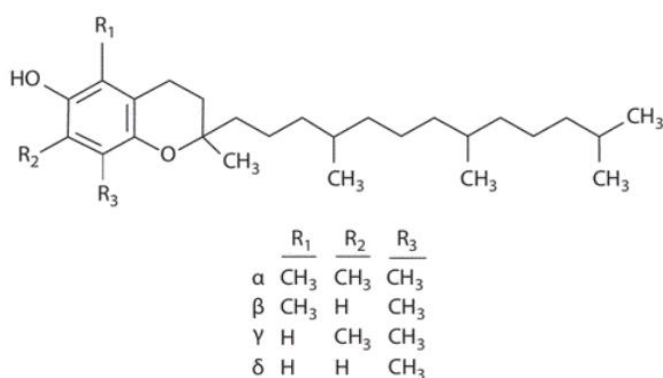
Kommentar: Värden för α -tokoferol, protein, koppar, zink och järn hämtat från (Tetens et al., 2012). Värden för mangan hämtat från (EFSA (European Food Safety Authority), 2017)

Näringsämnen delas oftast in i två olika kategorier; makro- och mikronäringsämnen. Protein tillhör kategorin makronäringsämnen tillsammans med kolhydrater och fetter. De tillhör den klassen på

grund av att de krävs i relativt stor mängd jämfört med andra näringsämnen. I kategorin mikronäringsämnen finns mineraler, vitaminer och vatten. Dessa typer av näringsämnen krävs inte i lika stor mängd som makronäringsämnen, med vatten som undantag. De ansvarar för att transportera näringsämnen till celler, reglera essentiella kroppsfunktioner samt agera som katalysator i reaktioner (Kilcast & Angus, 2011).

1.3.3.1 Vitamin E

Ett av de viktigaste mikronäringsämnena är vitamin E, även kallat tokoferol. Det finns olika typer av tokoferoler, där de vanligaste är α - och γ -tokoferol. Andra typer av tokoferoler är β och δ (Boskou, 2015). Vitamin E förekommer naturligt i olja och fetter. Högst koncentration hittas i växtoljor men det finns även lägre koncentrationer av tokoferoler i animaliska fetter. Det är viktigt för människan att ta upp vitamin E då det agerar som antioxidant, främst för omättade fetter. Tokoferolernas antioxidanta egenskaper kommer från deras förmåga att släcka fria radikaler genom att donera en elektron. Beroende på vilken position metyl-gruppen sitter på ringen avgörs dess antioxidativa styrka vilket kan ses i Figur 1.



Figur 1 - Tokoferolernas olika R-grupper på fenolringen (Damodaran & Parkin, 2017).

α -tokoferol har starkast antioxidativ förmåga följt av β , sedan γ och sist δ (Shahidi, 2015). På grund av tokoferolers antioxidativa förmåga bryts de snabbt ner i aeroba förhållande och nedbrytningen katalyseras av ljus. Genom att tokoferoler reducerar fria radikaler i kroppen skyddar den celler mot mycket reaktiva derivat och behåller deras membranintegritet. Vid brist på vitamin E framträder det som hemolytisk anemi, vilket innebär blodbrist på grund av förkortad livslängd för röda blodkroppar. Brist på vitamin E är dock ovanligt hos vuxna människor och för att det ska få allvarliga konsekvenser krävs det att tokoferol-förråden i kroppen är tömda under en längre period (Combs & McClung, 2017).

1.3.3.2 Aminosyror och proteiner

Ett av de viktigaste näringsämnena som människan behöver är protein. Dess byggstenar, aminosyror, behövs i många av kroppens metabola vägar, speciellt i reaktioner som rör tillväxt, graviditet och mjölkutsöndring. Aminosyror fungerar i grunden som kvävekälla och deras metabola efterfrågan motsvarar då kroppens totala kväveförluster. En individs proteinbehov kan beräknas genom att undersöka de metabola vägar som bevarar kroppens struktur och funktioner. Mängden aminosyror som en individ behöver beror på dess genotyp. Den optimala kvantiteten av aminosyror kan enbart uppnås då kraven av näringsämnen att driva cellens grundläggande funktioner är uppfyllda. Det är kostintaget av andra näringsämnen som ger komplexa svar i kvävemetabolismen, exempelvis upptaget av energirika ämnen och mikronäringsämnen (World Health Organization, 2007). Att få i sig en tillräcklig mängd protein är viktigt för cellers överlevnad och undernäring kan ge allvarliga konsekvenser. Vävnad som har hög proteinomsättning och hög grad av proliferation, det vill säga celler och vävnad som celledelar sig ofta, är extra känslig för proteinbrist. Det kan leda till störningar i

metabola processer och hämma utvecklingen av blodbildning och produktion av röda blodkroppar. Sjukdomar som kan uppstå är anemi, blodbrist, och svårigheter att bilda benmärg. Proteinbrist är en av de mest seriösa näringsbristerna och är vanligast hos barn och äldre. Personer med cancer eller kroniska sjukdomar ingår också i riskgruppen (Hastreiter et al., 2017).

Det är inte enbart mängden konsumerat protein som avgör en individs välmående, utan även vilka typer av aminosyror proteinet består av. Aminosyror kan delas in i två olika kategorier, de som kroppen kan producera och de som behöver tas upp genom kosten. De som behöver tas upp genom kosten är essentiella aminosyror. Av de 20 konventionella aminosyrorna är det enbart tre som kan anses vara helt icke-essentiella; alanin, asparbinsyra och glutaminsyra. Det beror på att de tre aminosyrorerna består av kolskelett som är vanliga intermediärer och finns i överskott i kroppen. De övriga 17 aminosyrorerna är alla essentiella eller villkorligt essentiella, och behövs alltid i viss mängd. Exempel på en villkorligt essentiell aminosyra är arginin som behövs vid snabbt tillväxt, och kan därför klassas som essentiell för spädbarn (Bender, 2012).

1.3.3.3 Mineraler

En grupp mikronäringsämnen som är vital för människans välmående är mineraler. De påverkar viktiga delar av kroppen, såsom tillväxt och underhåll av dess struktur. Människor kan inte producera mineraler utan kan enbart ta upp dem genom kost vilket medför vikten av en balanserad diet. Växter kan ta upp mineraler och är därför en bra källa, men mikronäringsämnen kan även tas upp indirekt genom att konsumera kött. Kroppen behöver många olika mineraler men i denna studie står järn, zink, koppar samt mangan i fokus. Järns viktigaste roll är att det ingår i hemoglobin. Hemoglobin finns i röda blodkroppar och har som uppgift att transportera syre i kroppen. Utan tillräckligt med järn i kroppen kan det leda till anemi. En annan grundläggande uppgift för järn är att delta i processen för att producera energi (Msagati, 2012).

En mineral som är lik järn är koppar. Koppar är också en viktig del av hemoglobin och påverkar även produktionen av energi (Msagati, 2012). Det beror på att koppar agerar som en kofaktor till cytokrom c i elektrontransportkedjan. Koppar har även en central roll i uppbyggandet av kollagen. Kopparbrist medför liknande symptom som järnbrist då de har kopplade roller i kroppen. Om det inte finns tillräckligt med koppar i kroppen kan inte röda blodkroppar bildas vilket kan leda till anemi. Kopparbrist leder även till minskad syreoxidation då koppar inte kan agera som kofaktor till enzym (Linder, 1991).

Zink är en mineral som finns överallt i kroppen. Det beräknas finnas cirka två gram zink i en vuxen människa där majoriteten av det är bundet i ben och muskler. Zink spelar en viktig roll i många enzymer som är inblandad i metabolismen av kolhydrater, fetter samt proteiner. Det stabiliserar även cellens struktur, påverkar genuttryck och har en central roll i immunsystemet. Alla dessa olika funktioner gör att zink är ett essentiellt näringsämne för människan. Eftersom zink har en central roll i immunsystemet kan zinkbrist leda till en ökad risk för allvarliga infektionssjukdomar, speciellt för barn och äldre. En studie i Bangladesh visar att barn som fick zink tillskott ökade snabbare i vikt samt växte fortare, vilket kan kopplas till att zink påverkar metabolismen av många makronäringsämnen (World Health Organization, 2003).

En annan mineral essentiell för människan är mangan. Mineralen spelar en vital roll som kofaktor till en del enzymer som oftast har en antioxidativ verkan och minskar på det sättet oxidativ stress. Mangan påverkar metabolismen för många makronäringsämnen och på det sättet styra tillväxt samt reproduktion. Brist på mineralen leder till dermatit, vilket är inflammation av huden och ger upphov till eksem. Det beror på att mangan verkar som kofaktor till ett enzym som är viktig för bildandet av glykoprotein vilket är en viktig del av huden. Vid sjukdomar som astma och diabetes typ 2 har det funnits korrelationer till lägre manganhalter i blodet. På grund av detta kan ett ökat intag av mangan vara förmånligt (Freeland-Graves, Mousa, & Sanjeevi, 2015). Det finns i dagsläget inga studier som tyder på att konsumera en stor mängd mangan har negativa effekter (Keen et al., 1999) utan

manganförgiftning sker istället vid överexponering av luftburen mangan (Erikson, Thompson, Aschner, & Aschner, 2007).

Fytinsyra är en molekyl som motverkar upptag av mineraler. Det är en organisk form av fosfor och förekommer naturligt i växter, exempelvis ris, vete och majs. I fysiologiskt pH förekommer molekylen oftast som jon, fytat, där dess struktur är ringformad med sex negativt laddade fosfatgrupper vilket har hög affinitet till positivt laddade mineraler. Den negativt laddade jonen kan ej brytas ned av människan eftersom den innehåller fosfatgrupper vilket leder till att mineraler bundna till fytat inte tas upp av kroppen och istället utsöndras. Utöver attraktion av mineraler bildar även fytat komplex med aminosyror, vitaminer och fettsyror. Dessa komplex kan hämma nedbrytande enzym vilket gör att katabolismen av näringsämnen kan rubbas (Bagchi & Nair, 2017).

2. Material och metod

I detta avsnitt presenteras de analysmetoder som användes för att kvantifiera näringsinnehållet i insekterna. Metoderna inkluderade användning av vätskekromatografi (*High-Performance Liquid Chromatography*, HPLC), vätskekromatografi med masspektrometri (*Liquid Chromatography Mass Spectrometry*, LCMS) och atomabsorptionspektrometri (*Atomic Absorption Spectroscopy*, AAS).

2.1 Analystekniker som använts i projektet

2.1.1 High-Performance Liquid Chromatography, HPLC

HPLC är en separationsmetod som möjliggör separation av blandningar i vätskefas bestående av olika kemiska substanser till individuella komponenter, med hänsyn till ämnens polaritet. För att driva separationen appliceras höga tryck i systemet (Gerber, 2004).

Vid HPLC-analys används en stationär och en mobil fas. Kompositionen av den mobila fasen är en vätska vars syfte är att transportera provet genom systemet. Den stationära fasen utgörs av ett visköst ämne med specifika egenskaper som är koncentrerad i en kolonn. Separation av det undersökta provet sker i kolonnen med avseende på ämnens polaritet vilket resulterar i att individuella komponenter kommer passera kolonnen vid olika tidpunkter. Det krävs att polariteten för den mobila och stationära fasen är olika för att genomföra separationen. Efter separation i den stationära fasen passerar de individuella komponenterna exempelvis genom en UV- eller fluorescens-detektor som genererar ett spektrum där varje topp motsvarar en individuell molekyl (Carlsson, 2001).

2.1.2 Detektionsmetoder för HPLC

De detektionsmetoder som användes i denna studie för HPLC-analys var ultraviolett detektion samt fluorescensdetektion. Ultraviolett detektion användes för kvantifiering av fytinsyra och fluorescensdetektion för tokoferoler.

2.1.2.1 Ultraviolett detektion

Ultraviolett detektion benämns ofta UV-detektion. UV/Vis-detektion innebär att våglängder för UV-strålning och synligt ljus används. Vis är en förkortning för engelskans *visible* (Perkampus, 1992).

Många organiska molekyler har förmågan att absorbera ljus, vanligtvis våglängder från 200 nm till 400 nm. Lambert-Beers lag, ekvation (1),

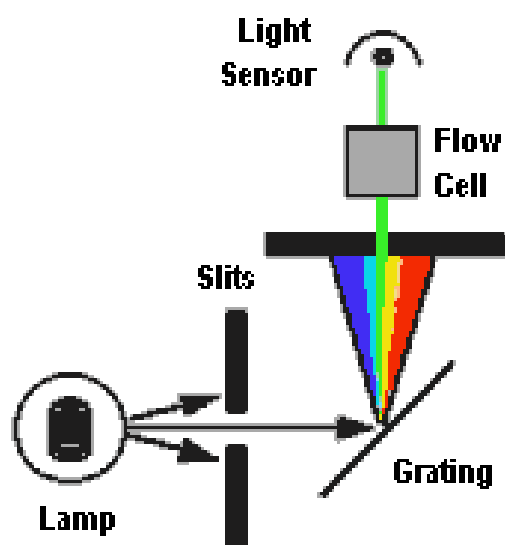
$$A = \epsilon lc \quad (1)$$

kan tillämpas för att relatera den absorberade ljusstrålningen till koncentrationen av ett visst ämne i provlösningen. A är absorbansen, ϵ är den molära absorptionskoefficienten i $\text{dm}^3 \text{mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$, l är flödescellens längd i cm och c är koncentrationen av det intressanta ämnet i mol dm^{-3} . Sambandet är användbar då monokromatiskt ljus skickas mot provlösningen, vilket innebär att ljus av en viss bestämd våglängd skickas. Den valda våglängden beror på den specifika analyten och dess absorptionspektrum, där våglängden med störst absorbans väljs. Ämnen absorberar strålning vid olika

våglängder och det är denna skillnad som möjliggör särskiljning och kvantifiering av olika ämnen med UV-detektion. Ofta krävs ingen vetskap om värdet på den molära absorptionskoefficienten eller längden på flödescellen vid användning av UV-detektion kopplat till HPLC, eftersom en kalibreringskurva används. Denna standardkurva relaterar absorbans till koncentration för några kända koncentrationer, vilket kan användas för att bestämma koncentrationen av det intressanta ämnet i provlösningen/provlösningarna (LCGC-Editors, 2018).

Detektorer baserade på UV-absorbans är den vanligaste typen av detektorer i samband med vätskekromatografi. Det finns tre huvudtyper, detektorer med fixerad våglängd, med variabel våglängd och diodmatrisbaserade detektorer. Fixerade detektorer kan endast utföra mätningar vid en våglängd, exempelvis 254 nm, och denna typ av UV-detektor var den första på marknaden. Varianten är billig och enkel men har begränsad användning då mätningen endast kan ske vid en enda våglängd. Variabla detektorer är mer flexibla eftersom möjligheten att välja våglängd finns. Detta innebär att en mätning kan ske vid analytens absorbansmaximum vilket gör resultaten känsligare, dessutom ökar antalet ämnen som kan undersökas. Diodmatris-detektorer har jämförbar funktion med variabla detektorer men är konfigurerade annorlunda (Swartz, 2010).

I Figur 2 visas en översiktlig bild av en variabel våglängds-detektor. Som figuren visar består den av en lampa (vanligtvis av deuterium), en springa, ett diffraktionsgitter, ytterligare en springa, flödescellen innehållandes prov från HPLC och en ljussensor. Mekanismen följer nedan (Dolan, 2016).



Figur 2 - Schematisk bild av en variabel våglängdsdetektor (LC-Resources-Inc, 2001).

Detektorn opererar genom att vitt ljus från lampan rikts mot den första springan, och det ljus som kommer igenom sprids med diffraktionsgittret. Vinkeln på gittret kan justeras för att skicka ljus av önskad våglängd genom den andra springan och vidare genom flödescellen. Eftersom provet som färdas genom flödescellen innehåller UV/Vis-absorberande molekyler kommer en del av ljuset absorberas. Mängden ljus som når ljussensorn kommer således vara reducerad jämfört med det ljus som lyser på flödescellen, och denna skillnad används för att mäta absorbansen (Dolan, 2016).

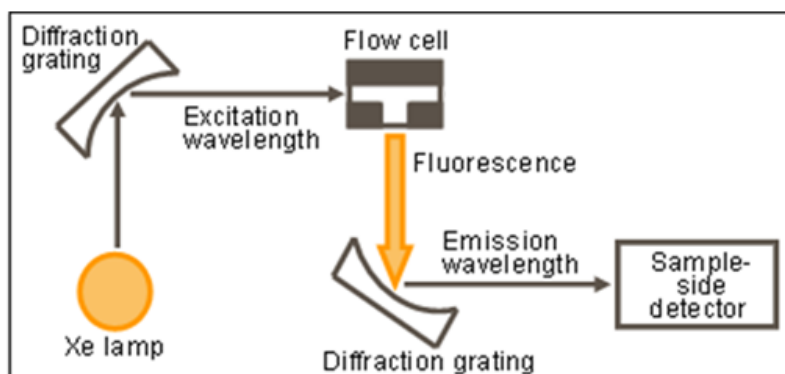
2.1.2.2 Fluorescensdetektion

En UV/Vis-detektor mäter absorbansen av ljusstrålning vid en viss våglängd. Det finns dock ämnen som absorberar ljus vid en våglängd, och sedan emitterar ljus vid en annan våglängd. Det emitterade ljuset benämns fluorescens och kan detekteras, vilket utnyttjas i fluorescensdetektion.

Det fluorescerande ämnet absorberar en foton från en ljuskälla, exempelvis en lampa, vilket leder till att en elektron exciteras. Under den korta tid elektronen befinner sig i ett exciterat tillstånd kommer molekylens hinna förändras och interagera med omgivningen vilket leder till en minskning i elektronens energi. När elektronen sedan återgår till sin normala energinivå sänds en foton ut från molekylerna med lägre energi, längre våglängd, än den absorberade. Ljuset från exempelvis lampan har en viss excitationstvåglängd och det fluorescerande ljuset har en viss emissionstvåglängd; skillnaden mellan dessa i energi eller våglängd kallas *Stokes skift*. Skillnaden gör det möjligt att detektera molekyler som emitterar en specifik våglängd (skild från excitationstvåglängden) med mycket stor känslighet (ThermoFischer-Scientific, 2019).

Fluorescensdetektion kan detektera små mängder molekyler i ett prov och är känsligare än UV-detektion. Det är däremot mycket vanligare att molekyler absorberar ljus i UV/Vis-området än att molekyler är fluorescerande, vilket innebär att metoden inte alltid är användbar. För de molekyler som är fluorescerande fungerar den dock väl eftersom ämnets specifika excitations- och emissionstvåglängder tillåter selektiv detektion (Dolan, 2016).

I Figur 3 visas en överskådlig bild av en fluorescensdetektor. Den består av en lampa (vanligtvis en xenon-lampa), ett diffraktionsgitter, flödescellen, ytterligare ett diffraktionsgitter och en detektor (Dolan, 2016).



Figur 3 - Schematisk bild av en fluorescensdetektor (Hitachi-High-Technologies).

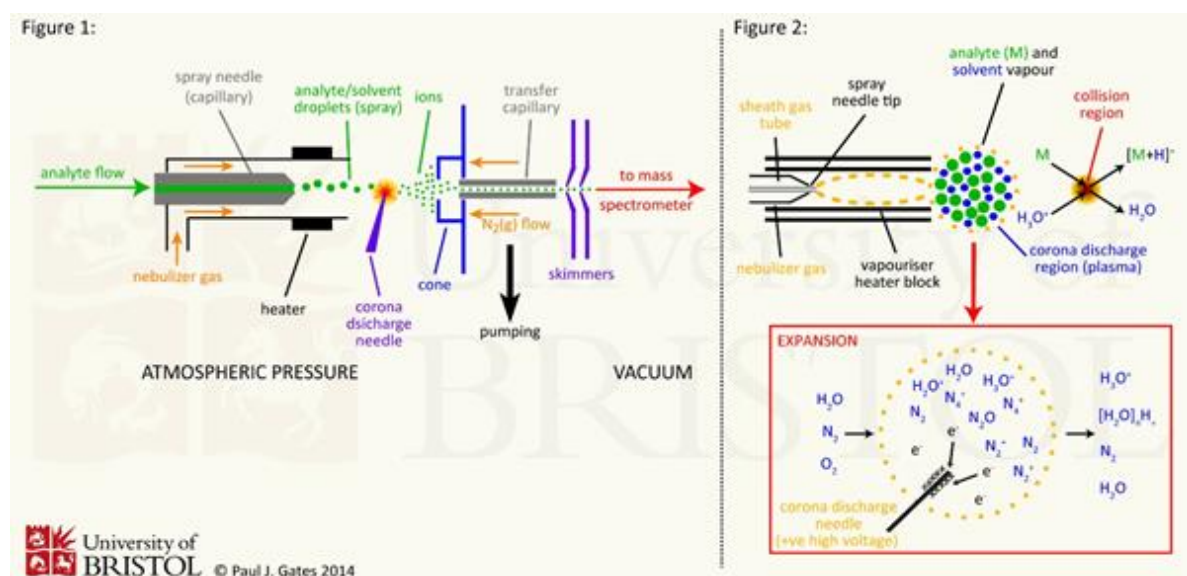
Ljus riktas mot det första diffraktionsgittret, även här genom en springa som inte syns i figuren, där vinkeln på gittret avgör vilken excitationstvåglängd som riktas mot provet. Provet färdas genom flödescellen och bestrålas således med ljus. Fluorescerande molekyler absorberar ljuset och emitterar sedan strålningen vid emissionstvåglängden. För att inte behöva särskilja den fluorescerande strålningen från excitationstrålningen placeras ofta detektorerna i en 90° vinkel från flödescellen. Eftersom fluorescensen utstrålas lika mycket i alla vinklar och excitationsljuset är linjärt genom flödescellen kommer det eliminera problem med polykromatiskt ljus till detektorerna. Även innan detektorerna sitter ett diffraktionsgitter med justerbar vinkel för att kunna välja vilken emissionstvåglängd som ska mätas (Dolan, 2016).

2.1.3 Liquid Chromatography Mass Spectrometry, LCMS

För att kunna separera, identifiera och kvantifiera prover kan LCMS (Liquid Chromatography Mass Spectrometry) användas. Typiska användningsområden är analys av protein, pesticider, föroreningar och läkemedelsmetaboliter (ThermoFischer, 2019). Vätskekromatografen (LC) består ofta av en HPLC-uppsättning där det ingående provet löses upp i en mobil fas, ofta bestående av en syra. Sedan tvingas den mobila fasen genom en stationär fas som består av en kolonn, vilket är ett smalt rör packat med den stationära fasen. Den stationära fasen består ofta av kolmolekyler av olika storlekar. En vanlig sådan kolonn är C18-kolonner som innehåller molekyler med 18 kolatomer. De andra atomerna i molekylerna kan variera och valet beror på egenskaperna av provet som ska separeras över kolonnen.

(Labcompare, 2019). För att driva lösningen genom kolonnen krävs det att ett högt tryck uppstår, vilket skapas genom att det hela tiden tillsätts ny vätska, processen kallas eluering.

Ifrån kolonnen förs eluenten vidare till masspektrometers jonkälla i vilken provets molekyler omvandlas till joner. En vanlig sådan uppsättning är Atmospheric Pressure Chemical Ionization (APCI). I APCI:n pumpas eluenten genom en kapillärnål och sprayas i slutet av nålen ut som en aerosol, samt förångas med hjälp av kvävgas vid temperaturer på 350–550°C. I nästa steg förs gasblandningen förbi en koronanål som består av en starkt laddad elektrod vilken skapar ett elektriskt fält. Fältet som elektroden skapar är ett par kilovolt och kommer leda till att en elektron avlägsnas från neutrala molekyler, och således joniseras molekylerna (Mckenna, 2015). Jonerna pumpas sedan genom en kon, en transfereringskapillär och ”skimmer cones” så att antalet joner som sedan ska ta sig in i en quadrupol minskas, detta kan ses i Figur 4. Quadrupolen är en uppsättning som bestämmer vilka joner som selekteras i masspektrometern (MS). Vilka joner som passerar beror på förhållandet mellan deras massor och laddning, ett så kallat m/z förhållande. Uppsättningen består av fyra metallstavar mellan vilka en spänning skapas som ger upphov till ett elektriskt fält. Det elektriska fältet styr vilka joner som får passera vidare till detektorn och vilka som kommer att krocka med metallstavarna. Således kan det elektriska fältet varieras och därmed joner med olika massor detekteras, varefter detektorn skickar en signal till en dator. I datorn kommer informationen från detektorn omvandlas till toppar i ett spektrum, som sedan kan jämföras med toppar ifrån standardlösningar och därmed kan innehållet i provet bestämmas (Gates, 2014).



Figur 4 - APCI uppsättning med spray kapillär, koronanål, kon, transfereringskapillär och ”skimmer cones” (Gates, 2014).

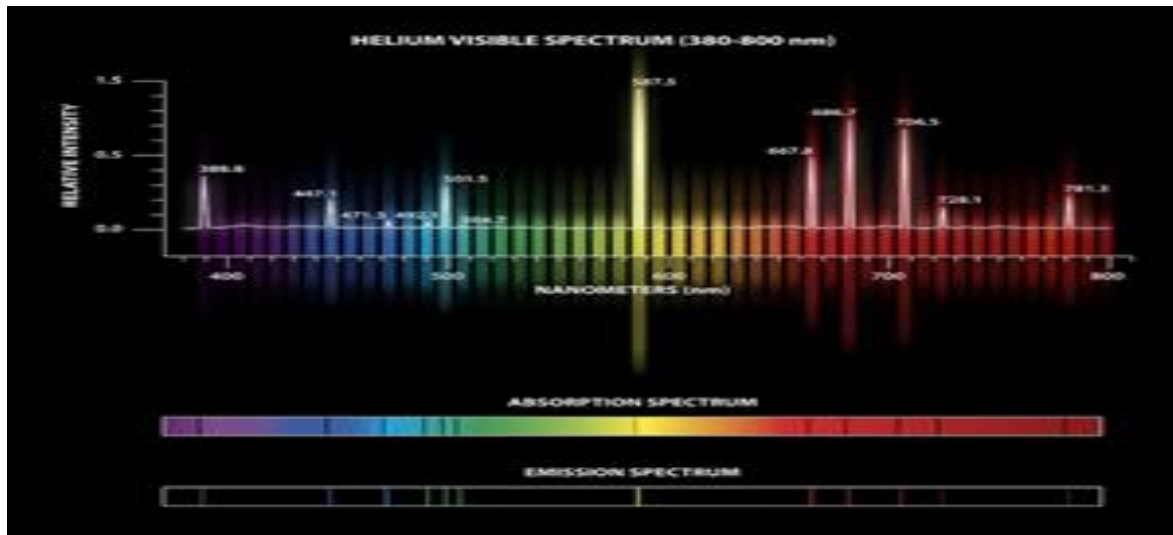
2.1.4 Atomabsorptionsspektrometri, AAS

För analys av mängden mineraler i insekter användes atomabsorptionsspektrometri (AAS). AAS är en metod som använder sig av ljus för att mäta mängden av ett specifikt atomslag i en lösning. Detta är möjligt då elektronerna i en atom förekommer med olika energinivåer som bara kan anta specifika, kvantiserade, värden. När energi tillförs, i form av ljus, kan den plockas upp av en elektron som då ökar sin energinivå till ett högre kvantiserat tillstånd. Energiskillnaden mellan två nivåer kan med hjälp av Planks konstant och ljusets hastighet skrivas enligt ekvation (2):

$$\Delta E = \frac{hc}{\lambda} \quad (2)$$

där ΔE är energiskillnaden mellan de kvantiserade nivåerna, h är planks konstant, c är ljusets hastighet och λ är våglängden på det absorberade ljuset (Atkins, Jones, & Laverman, 2013). Detta innebär att våglängden relaterar till energigapet mellan två nivåer, vilket kan användas för att studera atomen. Genom att bestråla atomen med ett antal olika våglängder och mäta vilka som absorberas kan man

mäta energiskillnaden, ΔE . Då absorptionen plottas för olika våglängder, som i figur 5, erhålls inte bara en topp utan flera. Detta beror på att elektroner inte bara rör sig mellan två specifika energinivåer utan elektroner kan ta upp olika mycket energi och således röra sig till olika kvantifierade energinivåer. Varje upptagen mängd energi ger utslag vid den motsvarande våglängden. När de exciterade elektronerna faller tillbaka ner till sitt grundtillstånd igen lämnar energin elektronen i form av en foton med samma våglängd som den absorberade. Då detta sker för alla exciterade elektroner ger det upphov till ett emissionsspektrum, vilket illustreras längst ner i Figur 5.



Figur 5 - Absorptions- och emissionsspektrum för helium i våglängdsintervallet 380 – 800 nm (Encyclopædia-Britannica, 2019).

I AAS utnyttjas det faktum att alla grundämnen har unika absorptionsspektrum. Analysmaskinen består av tre huvudkomponenter; en så kallad atomizer, en lampa och en spektrometer. När ett prov ska analyseras sugas det upp av maskinen och förs till atomizern. Den består ofta av en flamma och har till uppgift att evaporera lösningsmedlet och skapa ett moln av fria metallatomer som sedan träffas av en ljusstråle. Strålen alstras i en lampa som innehåller positiva ädelgasjoner. När en spänning på 300 – 400 V når anoden i lampan accelereras dessa mot katoden som består av analysmetallen av intresse. På grund av den höga energin lossnar metalljoner från katoden som också exciteras och emitterar ljus. Detta är det ljus som träffar analysprovet och fortsätter till en spektrometer där specifika våglängder kan sorteras ut. Eftersom ljuskällan består av metallen av intresse kommer hela ljuset absorberas om metallen även finns i analysprovet. Trots detta behövs spektrometern för att sortera bort annat ljus som kan tillkomma, inte minst genom flammen. Genom att sedan mäta hur mycket av de metallspecifika våglängderna som har absorberats av provet och relatera det till absorptionsvärden för kända koncentrationer, kan systemet avgöra hur mycket av den intressanta metallen som finns i provet (Sanz-Medel & Pereiro, 2014).

2.2 Analysmetoder

Insekter som användes var frystorkad gul mjölmask, buffelmask, gräshoppa, vattenscorpion, flygande termit samt 6 olika prov av termit från Benin. Med hjälp av en blender finfördelades insekterna till ett homogent pulver, helst utan spår av exoskelett. Viktigt är att det sker när insekterna fortfarande är frysta eftersom de vid finfördelning i rumstemperatur blir en tjock pasta på grund av fettnnehållet. Pulvren fördes över till märkta plasttuber för vidare användning. Olika förkortningar användes för att benämna insektsproven vilket kan ses i Tabell 3.

Tabell 3: Sammanställning av förkortningar för insektsproverna.

Insektsprov	Förkortning
Gul mjölmask	YM
Buffelmask	BW
Gräshoppa	GH
Vattenscorpion	GW
Flygande termit	FT
6 olika prov av termiter från Benin (ickekommersiella)	R2, R4, R5, R7, R8, R10

2.2.1 Fytinsyraanalys med HPLC och UV-detektion

En standardkurva skapades genom att en serie av standardlösningar med olika koncentrationer analyserades i HPLC-systemet. Standardlösningarna innehöll rent salt av IP₆ upplöst i 0,5 M HCl inom koncentrationsintervallet 0,1 mM till 0,8 mM. Standardlösningarna analyserades i HPLC vilket genererade ett spektrum med en topp för varje standardlösning. Arean för de individuella topparna motsvarade absorbansen för fytinsyra och dessa mätvärden sammanställdes till en standardkurva (Carlsson, 2001).

Insektsproverna blandades med 10 ml 0,5 M HCl i 3 timmar med en rotating mixer vid rumstemperatur. Därefter överfördes 1 ml av varje prov till enskilda eppendorfrör som centrifugerades i 5 minuter (12000g). Efter centrifugeringen erhöles en supernatant av vilken 50 µl från varje prov överfördes till vialer för HPLC-analys (Gerber, 2004).

Först utfördes en analys med ett blankprov som innehöll enbart 0,5 M HCl och därefter analyserades proverna i en bestämd ordning där blankprov kördes med jämna mellanrum. Ordningen för analys av prov programmerades in i en dator som var kopplad till HPLC-systemet. Därefter injicerade en autosampler 50 µl från varje vial för HPLC-analys där analystiden per injektion var 7 minuter. IP₆ separerades med en isokratisk eluering med flödes hastigheten 0,8 ml/min, där 80% av 1 M HCl och 20% av MilliQ vatten användes. IP₆ har en hög affinitet med järnnitrat och således innehöll kolonnen 0,1% Fe(NO₃)₃·9H₂O i en lösning med 2% HClO₄. Absorbans för IP₆ detekterades med en UV-detektor på 290 nm och med hjälp av standardkurvan för IP₆ konverterades absorbansen till koncentration med enheten µmol/ml. De nedbrutna varianterna IP₅, IP₄, IP₃, IP₂, och IP förekom också i spektrumet men då endast standardlösningar för IP₆ användes, kunde enbart förekomsten av IP₆ kvantifieras (Carlsson, 2001).

En analys på innehållet av fytinsyra i dinkelvete, enligt samma redogörelse, utfördes separat vilket säkerställde att metoden kunde kvantifiera fytinsyra.

2.2.2 Tokoferolanalys med HPLC och fluorescensdetektion

Två typer av vitamin E analyserades med HPLC och fluorescensdetektion: α-tokoferol och γ-tokoferol. Tillvägagångssättet var lika för båda försöken förutom att olika standardprover användes.

Gemensamt för båda försöken vägdes ungefär 0,5 g av varje insektsprov upp och överfördes till 15 ml-provrör. Till varje provrör tillsattes 2,5 ml metanol. Proven blandades i 1 minut med en vortex-mixer och inkuberades vid 80°C i 30 minuter. Proven blandades återigen i 1 minut med en vortex-mixer, sonikerades i 1 minut med en sonikator och blandades ytterligare 1 minut med vortex-mixern. 1 ml vätska från varje provrör överfördes till Eppendorfrör och centrifugerades i 5 minuter vid 1600g. Supernatanten flyttades till vialer för HPLC. Proven analyserades med HPLC där den mobila fasen bestod av 98 % metanol i MilliQ-vatten och flödes hastigheten var 0,4 ml/min, och med en Shimadzu RF-551 fluorescensdetektor vid excitationsvåglängd 295 nm och emissionsvåglängd 330 nm. Resultaten jämfördes med standardprover för respektive typ av tokoferol.

2.2.2.1 α -tokoferol

För α -tokoferol utfördes försök i triplikat. Två körningar i HPLC gjordes med en första uppsättning prover vid samma tillfälle med samma standardprover. Ytterligare ett försök gjordes med nya standarder och en andra uppsättning prover. Vikter som uppmättes för proverna presenteras i gram i Tabell 4. Standarderna som användes hade koncentrationer mellan 0,003125 ppm och 100 ppm α -tokoferol.

Tabell 4: Vikter för insektsprover vid analys av α -tokoferol.

Uppsättning 1		Uppsättning 2	
Insektsprov	Vikt (g)	Insektsprov	Vikt (g)
R2	0,381	R2	0,519
R4	0,533	R4	0,522
R5	0,516	R5	0,506
R7	0,524	R7	0,496
R8	0,516	R8	0,512
R10	0,528	R10	0,512
BW	0,493	BW	0,528
FT	0,516	FT	0,107
GH	0,531	GH	0,514
GW	0,512	GW	0,498
YM	0,543	YM	0,526

Endast 0,38 g av insektsprov R2 användes till uppsättning 1 (Tabell 4). Till provet tillsattes 2 ml metanol istället för 2,5 ml metanol. I uppsättning 2 användes 0,1 g av prov FT och 2,5 ml metanol tillsattes vilket togs hänsyn till i beräkningen av tokoferol-koncentrationen.

2.2.2.2 γ -tokoferol

För γ -tokoferol utfördes försök i duplikat. Två replikat gjordes med en uppsättning prover vid samma tillfälle med samma standardprover. Vikter som uppmättes för proverna presenteras i gram i Tabell 5. Standarderna som användes hade koncentrationer mellan 0,00625 ppm och 100 ppm γ -tokoferol.

Tabell 5: Vikter för insektsprover vid analys av γ -tokoferol.

Uppsättning 1	
Insektsprov	Vikt (g)
R2	0,381
R4	0,533
R5	0,516
R7	0,524
R8	0,516
R10	0,528
BW	0,493
FT	0,516
GH	0,531
GW	0,512
YM	0,543

Endast 0,38 g av R2 insektsprov användes till uppsättning 1 (Tabell 5), vilket även var fallet för α -tokoferol uppsättning 1 (samma prover användes för undersökning av båda tokoferolerna). Till detta prov tillsattes 2 ml metanol istället för 2,5 ml metanol för att uppnå liknande koncentration i alla prover.

2.2.3 Aminosyraanalys med LCMS

För att undersöka insekternas aminosyrasammansättning med hjälp av LCMS måste de brytas ned till enstaka aminosyror via hydrolys med saltsyra och vatten (Weiss, Manneberg, Juranville, Lahm, & Fountoulakis, 1998). Först vägdes cirka 0,5 g av varje insekt upp och fördes över till 15 ml-glastuber. För proverna FT och GH gjordes två uppsättningar. Sedan tillsattes det 4 ml milliQ-vatten och 4 ml 12M HCl till varje tub. Tuberna förslöts väl, skakades för att blanda ut provet i reagensen och placerades därefter i inkubatorn vid 110°C i 24 timmar för att proverna skulle hydrolyseras fullständigt. Proverna flyttades från glastuberna till 15 ml plasttuber. Glastuberna sköljdes med 2 ml milliQ-vatten som tillsattes till plasttuberna för att få en total volym på 10 ml.

Eppendorfrör på 1,5 ml fylldes med 1 ml av varje prov och centrifugerades i 3 minuter vid 15 000 rpm i en balanserad centrifug. Därefter spädades proven 1:20 i 1 ml vialer specifika för LCMS. För att uppnå spädningen blandades 50 µl av provet med 950 µl 0,2M ättiksyra. Behållarna förslöts och inverterades ett par gånger för att blanda ut proverna. Vid LCMS-körningen valdes injektionsvolymen 2 µl. För att få en standardkurva som kan jämföras med proverna kördes även periodiskt standardlösningar spädda 1:20, 1:40, 1:60, 1:80 och 1:100. Spädningarna erhöles genom att blanda AAS18 SIGMA-ALDRICH aminosyrastandard med 0,2M ättiksyra. Varje prov tog 40–50 minuter att analysera vilket genererade toppar i kromatografprogrammet, som kunde jämföras med standardkurvan för att få svar om vilka aminosyror provet innehöll.

För experimentet användes Agilent 1260–1290 Infinity LC system med två C18 HPLC kolonner med LC buffertarna 50% MeOH, 0,2% myrsyra, 0,01% ättiksyra och 3% MeOH, 0,2% Myrsyra, 0,01% ättiksyra. Dessutom användes en Agilent 6120 Single Quadrupole MS för massanalysen (Weiss et al., 1998; Özcan & Şenyuva, 2006).

2.2.4 Mineralanalys med AAS

Extraktion av mineraler genom tryckkokning i mikrovågsugn förbereddes genom att cirka 0,15 g av varje insekt vägdes upp och lades i separata teflonbehållare, den exakta vikten noterades. Till varje behållare sattes 3 ml milliQ-vatten, 0,75 ml HNO₃ och 0,15 ml HCl. För att det prov som mikrovågssensorn kopplas till kräver en större volym, fick behållaren med gräshoppa ytterligare 2 ml milliQ-vatten. Behållarna förslöts, sattes in i mikrovågsugnen och kokades i 180°C i 20 minuter. Efter extraheringen spädades proverna tills att koncentrationen halverades.

För analys av mineraler användes en Agilent 240FS atomabsorptionsspektrometer (AAS). Maskinen förbereddes genom att gasflödet startades samt att flaman och lampan tändes. Även datorprogrammet för analys startades och förbereddes för den analys som skulle utföras. Proverna analyserades med fokus på en mineral i taget. I samband med det mättes absorptionen för en standardlösning med 5 kända koncentrationer mellan 2,5 µg/ml och 0,156 µg/ml, för att korrelera absorption till koncentration. Några prover spädades ytterligare för att hamna i intervallet, speciellt gällde detta för termitproverna vid mangananalys. Mängden av en specifik mineral mättes minst två gånger för varje prov och en ny standardmätning gjordes varje gång gällde detta för termitproverna vid mangananalys. Mängden av en specifik mineral mättes minst två gånger för varje prov och en ny standardmätning gjordes varje gång.

3. Resultat

3.1 Fytinsyra

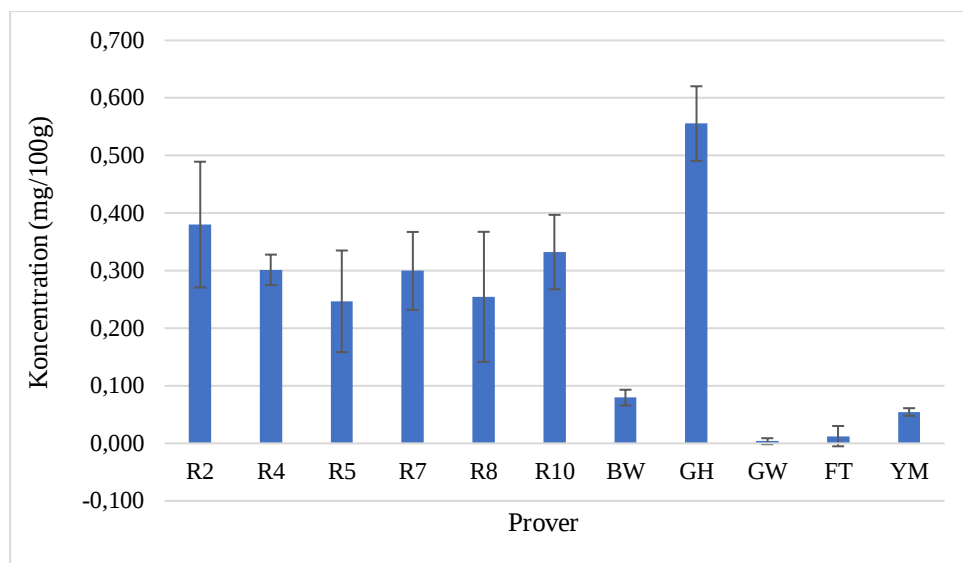
Mängden fytinsyra i alla insektsprover befanns vara under detektionsnivån 0,1 ppm. Kontrollproverna med dinkelvete innehöll 0,15 respektive 0,10 mg/100g fytinsyra.

3.2 Vitamin E

Resultaten för de olika tokoferolerna presenteras under respektive rubrik. Representativa kromatogram för proverna samt standardkurvor kan ses i Bilaga A, Figur 13 och 14.

3.2.1 α -tokoferol

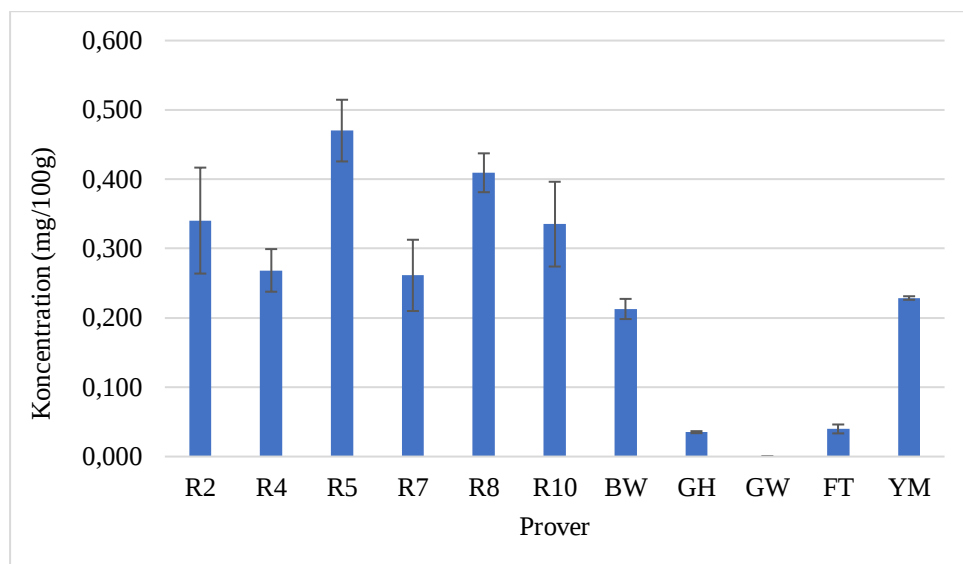
Alla R-prover innehåller nära 0,3 mg α -tokoferol/100 g insekt (Figur 6). Övriga insekter uppvisade lägre halter α -tokoferol med undantag för gräshoppor där en koncentration på cirka 0,55 mg/100 g insekt uppmättes.



Figur 6 - Staplarna visar medelvärdet av α -tokoferol i mg/100g från triplikaten av varje prov, R2, R4, R5, R7, R8, R10, BW, GH, GW, FT och YM. Spridningsmått visar plus/minus en standardavvikelse

3.2.2 γ -tokoferol

Mängderna för de undersökta insekterna varierar från under detektionsgränsen till cirka 0,5 mg/100 g insekt. R-proverna innehåller i denna undersökning mer γ -tokoferol än övriga insekter (Figur 7). Den enda insekten som uppvisar större mängder av α än γ är gräshoppor. Insekter som uppvisar större γ -innehåll än α -innehåll är R5, R8, buffelmask och gul mjölmask. Övriga har ungefärligen samma koncentration av α - och γ -tokoferol.



Figur 7 - Staplarna visar medelvärdet av γ -tokoferol i mg/100g från duplikaten av varje prov, R2, R4, R5, R7, R8, R10, BW, GH, GW, FT och YM. Spridningsmåttarna visar resultaten från de två enskilda analyserna.

3.3 Aminosyror

Mängden aminosyror i respektive prov presenteras i Tabell 4, där aminosyrainnehållet mättes i mg/g och % av totalvikten.

Tabell 6: Aminosyror i insekter beräknat i mg/g och % av totalvikten.

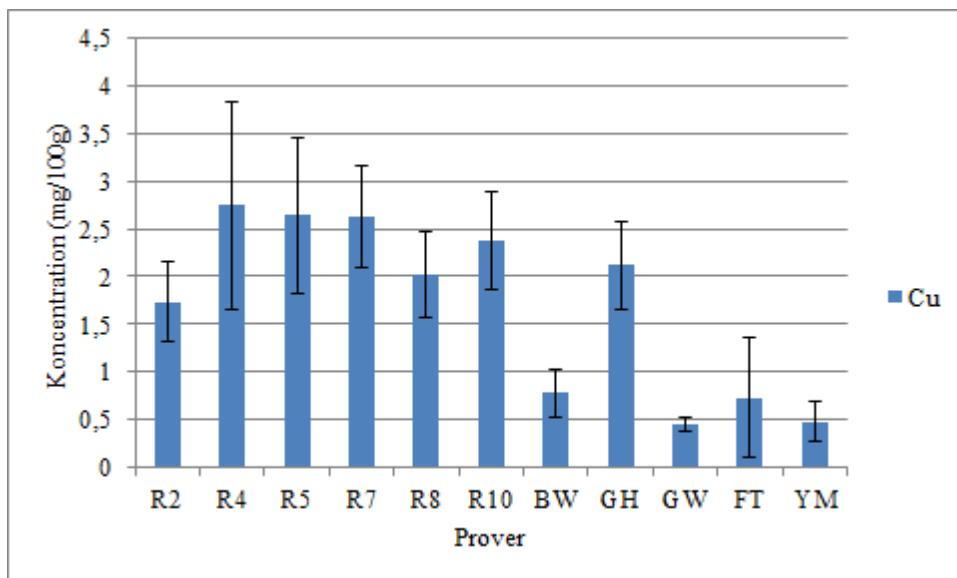
mg/g	GW	FT1	FT2	GH1	GH2	YM	BW	R8	R4	R7	R10	R2	R5	
LSN	16±1	22±3	23±2	30±3	27±4	30±4	34±5	24±4	22±3	21±4		19	20	19
ARG	9±3	12±1	15±0	23±3	16±4	20±2	27±2	12±2	14±1	14±1		14	14	14
TAU	86±15	38±8	38±6	51±41	60±51	74±25	60±52	25±20	34±11	3±3		23	24	25
HIS	8±1	8±0	9±1	10±0	10±1	14±1	16±2	9±1	8±1	8±1		8	8	8
GLY	13±2	13±0	13±1	18±1	19±1	19±0	22±0	12±2	11±1	10±1		9	11	11
CYS	5±3	8±6	8±6	7±5	14±12	8±6	9±7	8±6	6±4	7±6		2	2	2
SER	11±0	13±0	13±1	21±2	21±3	23±3	28±4	12±2	12±2	11±2		11	12	11
ALA	37±9	11±8	25±6	47±9	55±7	42±5	48±7	20±1	21±2	19±2		23	25	2
THR	12±0	14±0	14±0	18±0	18±1	19±1	22±1	13±1	12±1	12±1		12	13	12
GLU	35±1	36±2	38±1	55±3	53±6	57±6	66±7	35±5	33±5	32±4		32	33	30
ASP	27±2	32±3	33±2	44±6	40±7	43±7	49±8	32±5	29±5	28±5		25	26	25
PRO	16±2	17±1	16±1	27±3	28±4	34±4	38±4	15±2	16±2	13±2		15	14	13
VAL	33±15	31±14	31±14	50±24	52±27	55±29	62±32	32±17	31±17	29±15		17	15	15
MET	4±1	5±1	5±1	7±0	2±2	3±3	3±3	2±2	2±2	4±0		4	5	5
TYR	160±147	20±2	108±8	21±6	20±4	23±4	56±25	18±0	148±131	102±87		16	16	18
ILE	17±6	20±7	21±7	29±11	28±11	31±12	35±14	21±8	20±8	19±8		12	13	12
LEU	24±4	25±0	25±0	17±17	28±3	19±14	34±5	23±11	22±1	10±10		23	24	22
PHE	11±2	14±1	23±8	11±6	13±2	6±1	19±1	12±2	12±1	18±6		14	14	13
Vikt av prov (g)	0.098	0.097	0.103	0.099	0.105	0.097	0.087	0.089	0.103	0.110		0.099	0.105	0.094
Totalvikt (mg/g)	526	339	458	484	503	521	627	326	454	360		278	287	257
% Aminosyror	53	34	46	48	50	52	63	33	45	36		28	29	26

Aminosyrhalten är högre i GW, FT2, GH1, GH2, YM, GW, R4 jämfört med FT1, R2, R5, R7, R8 och R10. Spridningsmått beräknades på alla prover förutom R2, R5, R10 eftersom dubbel uppsättning av data saknades.

3.4 Mineraler

3.4.1 Koppar

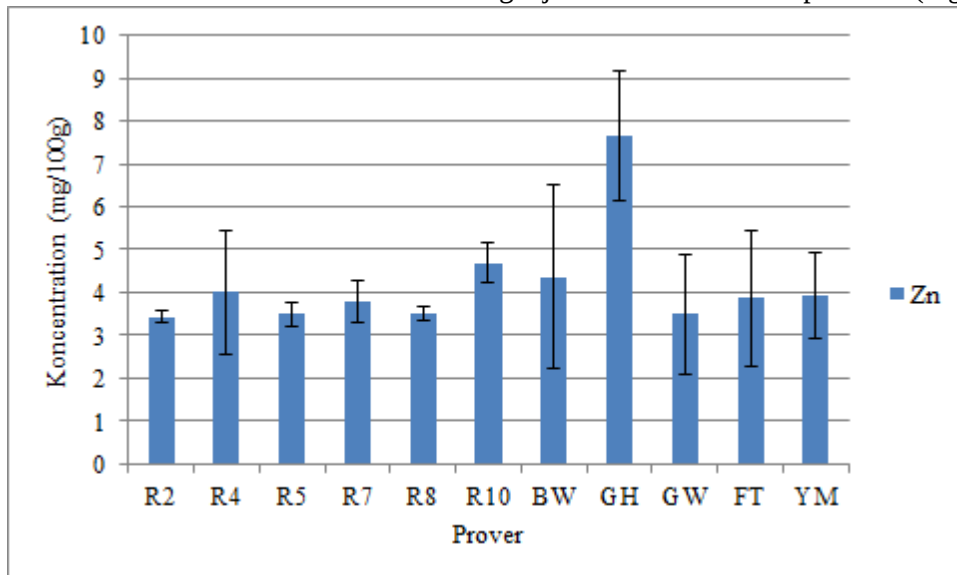
R-proverna består av termiter från olika säsonger och har höga halter av koppar. Även GH innehåller en hög halt koppar jämfört med de fyra andra kommersiella proverna BW, GW, FT och YM (Figur 8).



Figur 8 – Staplarna visar medelvärdet av kopparhalten i mg/100g från de fyra olika analyserna av varje prov, R2, R4, R5, R7, R8, R10, BW, GH, GW, FT och YM. Felstaplarna visar plus/minus en standardavvikelse.

3.4.2 Zink

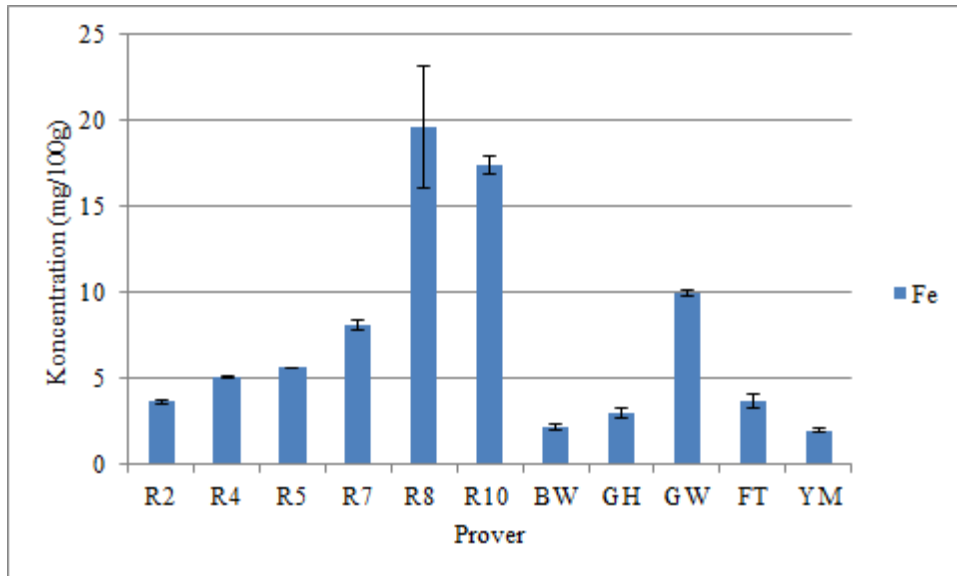
Zinkhalten i både de kommersiella och ickekommersiella proverna ligger relativt nära varandra. Det som avviker är zinkhalten i GH som är högre jämfört med de andra proverna (Figur 9).



Figur 9 – Staplarna visar medelvärdet av zinkhalten i mg/100g från triplikaten av varje prov, R2, R4, R5, R7, R8, R10, BW, GH, GW, FT och YM. Spridningsmåttarna visar plus/minus en standardavvikelse

3.4.3 Järn

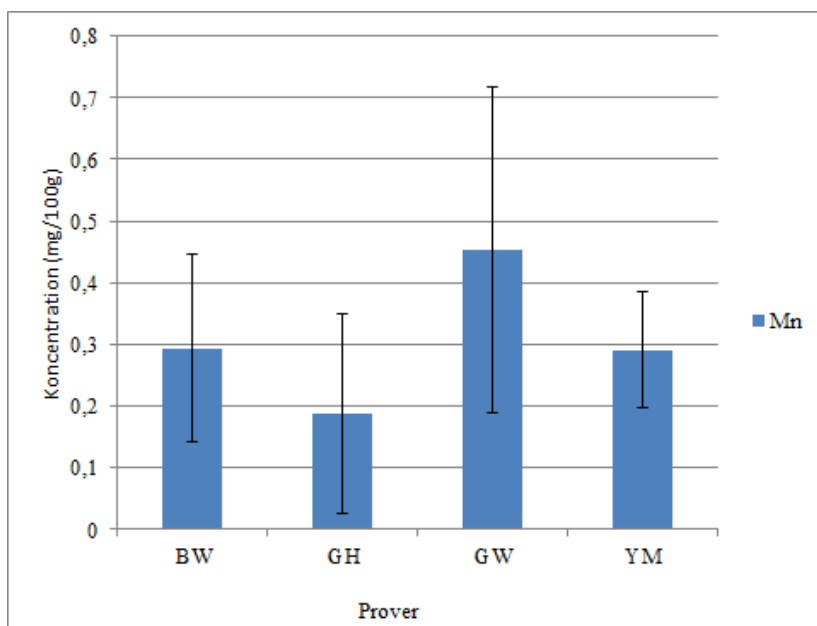
De två prover som utmärker sig mest är termitproverna R8 och R10 som båda ligger över 15 mg/100g (Figur 10).



Figur 10 - Staplarna visar medelvärdet av järnhalten i mg/100g från duplikaten av varje prov, R2, R4, R5, R7, R8, R10, BW, GH, GW, FT och YM. Felstaplarna visar resultaten från de två enskilda analyserna.

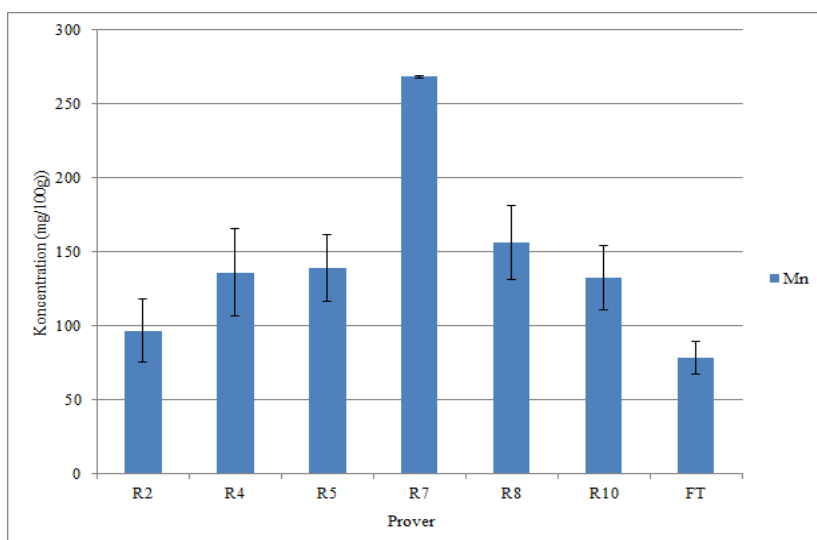
3.4.4 Mangan

I figuren presenteras manganhalterna i mg/100g för de kommersiella insekterna, förutom FT (Figur 11). För att kunna visa resultatet av manganinnehållet tydligare, delades det upp i två diagram baserat på högre och lägre halter mangan.



Figur 11 - Staplarna visar medelvärdet av manganhalten i mg/100g från duplikaten av proven BW, GH, GW och YM. Spridningsmåten visar resultaten från de två enskilda analyserna.

De kommersiella insekterna hade en lägre halt mangan jämfört med termitproverna och det framgår att R7 hade störst mängd mangan (Figur 12).



Figur 12 - Staplarna visar medelvärdet av manganhalten i mg/100g från duplikaten av proven R2, R4, R5, R7, R8, R10 och FT. Spridningsmåten visar resultaten från de enskilda analyserna.

4. Diskussion

4.1 Resultatanalys

4.1.1 Fytinsyra

I resultatet påvisades det att mängden fytinsyra inte kunde detekteras i några insektsprov. För att säkerställa att mätinstrumentet, HPLC, kunde detektera fytinsyra analyserades även dinkelvete där förekomsten av fytinsyra kvantifierades. Fytinsyra motverkar kroppens upptag av mineraler vilket gör fytinsyra oönskad i den dagliga kosten. Våra resultat indikerar att konsumtion av insekter sannolikt inte bidrar till en försämring av människans upptag av mineraler till följd av fytinsyra.

4.1.2 Vitamin E

De prover som innehåller minst α - och γ -tokoferol är proverna GW och FT. Enligt Figur 6 och Figur 7 innehåller GW ingen märkbar mängd vitamin E medan FT innehåller en liten mängd γ -tokoferol. Att inte FT innehöll en märkbar mängd α -tokoferol kan bero på att en av uppsättningarna använde lägre koncentration av FT. R-proverna innehöll mellan 0,2 - 0,4 mg/100g α -tokoferol samt 0,2 - 0,5 mg/100g γ -tokoferol. De proverna har betydligt mer vitamin E än FT vilket tyder på att termiter fångade i det vilda har högre koncentration vitamin E än kommersiella termiter. Det är dock värt att notera att termitproverna hade högst variation i tokoferolhalt samt att tokoferol är svårhanterligt då det är ljuskänsligt. Proverna BW och YM innehåller liknande mängd α - och γ -tokoferol, vilket kan bero på att de arterna är nära besläktade. Det mest avvikande provet är GH då det innehåller en hög mängd α -tokoferol (0,55 mg/100g) och en liten mängd γ -tokoferol (0,05 mg/100g).

Enligt Tabell 1 innehåller nötkött (0,13 mg/100g) och kyckling (0,15 mg/100g) högst koncentration α -tokoferol av konventionella proteinkällor. Jämfört med insektsproverna är det mindre α -tokoferol än i R-proverna och gräshoppa. Fläsk och får innehåller lägre mängd α -tokoferol (0,09 respektive 0,05 mg/100g) vilket gör att de innehåller ungefär samma mängd som BW och YM. Sammanfattningsvis utgjorde majoriteten av de undersökta insekterna en bra källa för α -tokoferol i förhållande till kött.

För att få i sig tillräcklig mängd med α -tokoferol rekommenderas män, kvinnor och barn konsumera 10, 8 respektive 6 mg/dag enligt Tabell 2. Eftersom majoriteten av insekterna innehåller högre halter av α -tokoferol än konventionellt kött krävs det ett betydligt mindre intag för att nå samma mängd. Fortsatt är GH den främsta källan för α -tokoferol och utgör det enklaste sättet att uppnå rekommenderat dagligt intag.

4.1.3 Aminosyror

Resultatet i Tabell 6 visar att termitproverna FT1, R8, R7, R10, R2 och R5 innehöll minst mängd aminosyror och därmed minst protein sett till totalvikten. Halterna varierade mellan 25–36% (250–360 mg/g) av totalvikten. Övriga termitprover FT2 och R4 hade högre aminosyrahalter, mellan 45–46% (450–460 mg/g) vilket kan bero på säsong eller föda. Proverna GW, GH1, GH2, YM, BW innehöll störst mängd aminosyror. Halterna var mellan 50–63% (500–630 mg/g) av totalvikten. Jämfört med aminosyrainnehållet i olika insektsgrupper är resultaten som visas i Tabell 6 rimliga. Det är även värt att notera att spridningsmått på vissa aminosyror var höga, speciellt för TAU, VAL och TYR vilket tyder på att totalvikten av aminosyrorna kan ha varit högre eller lägre.

I Tabell 1 visas aminosyrahalter i nötkött, får, fläsk och kyckling i mg/g. Halterna är mellan 200–225 mg/g vilket i jämförelse med insekterna som undersökts är lågt. Det visar på att insekter är en bättre proteinkälla än kött som konsumeras idag.

Rekommenderat dagligt intag av protein för män med kroppsvikt på 80 kg är 88 g, för kvinnor med kroppsvikt på 65 kg är 71,5 g och för barn med kroppsvikt på 30 kg är 33 g (Tabell 2). Eftersom majoriteten av insekterna innehöll högre halter aminosyror än konventionellt kött krävs det att mindre massa äts för att uppnå det dagliga intaget av protein. Bland proverna är BW den som utmärker sig mest och behövs konsumeras i minst mängd för att uppnå det dagliga intaget.

4.1.4 Koppar

Resultatet i Figur 8 visar att R-proverna innehöll relativt höga halter koppar (1,7 - 2,7 mg/100g). Även GH hade en högre kopparhalt än övriga prover (2,1 mg/100g). Att R-proverna hade en liknande kopparhalt är rimligt då de är av samma art och härstammar från samma område. Det är dock intressant att det kommersiella termitprovet FT inte var i närheten av de andra termitproverna gällande kopparinnehåll.

Jämfört med kopparhalten i olika typer av kött innehöll insektsproverna mycket mer koppar. Även den högsta kopparhalten i kött är lägre än den lägsta kopparhalten i insekterna (0,4 - 0,7 mg/100g). Tabell 1 visar de olika kopparhalterna i nötkött, får, fläsk och kyckling. Lägst kopparhalt har nötkött och kyckling (0,03 mg/100g), medan får innehåller mest koppar (0,08 mg/100g). Resultatet visar alltså att insektsproverna överlag innehöll avsevärt mycket mer koppar än konventionellt kött.

Det rekommenderade dagliga intaget av koppar för en vuxen människa är 0,9 mg/dag, vilket kan ses i Tabell 2. Från tabellen går det att konstatera att det behövs konsumeras en betydligt mindre mängd insekt än kött för att uppnå det rekommenderade dagliga intaget.

4.1.5 Zink

Enligt Figur 9 hade insektsproverna relativt liknande zinkhalt (3,5 – 4,5 mg/100g), förutom GH som även här avvek från de andra kommersiella insekterna, med en halt på 7,5 mg/100g. I Tabell 1 går det att se att den högsta zinkhalten hos boskap hittas i nötkreatur (4,1 mg/100g), vilket ligger i samma spann som de låga insektsproverna. Även om zinkhalten i GH var högre än både resterande insektsprover och konventionellt kött, är skillnaden inte markant.

Enligt Tabell 2 ska en vuxen människa dagligen inta mellan 7 – 9 mg/dag av zink. Resultatet visar att både insekter och konventionellt kött har förhållandevis likvärdigt zinkinnehåll. GH var den insekt som utmärkte sig bland proverna, då den var dubbelt så hög som de andra. Det betyder att det skulle krävas hälften så stor mängd GH jämfört med övriga prover samt kött, för att tillgodose zinkbehovet hos människan. Därav skulle GH vara att föredra som zinkkälla bland samtliga insektsprover och det konventionella köttet.

4.1.6 Järn

Halten järn i insekterna varierade mellan 1,95 och 19,6 mg/100g, vilket visas i Figur 10. Den generella trenden var att det fanns mer järn i R-proverna än i övriga. Undantaget var GW som hade högre halter än flera av R-proverna, vilket är särskilt värt att notera då GW hade relativt lågt innehåll av andra metaller och vitamin E. Det mest anmärkningsvärda är de höga järnvärdena för R8 och R10. Dessa värden var inte bara nästan fem gånger högre än för andra insekter och mer än dubbelt så höga som för andra R-prov, de var dessutom tio gånger högre än motsvarande värden för nötkött, får, fläsk och kyckling. Värdena för boskap visas i Tabell 1 och ligger mellan 0,7 och 2,7 mg/100g. Vad den stora skillnaden kan bero på är svårt att säga, men kan vara underlag för vidare forskning. Det är däremot värt att notera hur flera prov, BW, GH, FT, YM och R2, innehöll ungefär lika mycket järn som det boskapskött som finns på marknaden idag.

Som Tabell 2 visar är rekommenderat dagligt intag av järn för män 9 mg/dag och kvinnor 15 mg/dag. Den som får i sig tillräckligt med järn genom en kost med kött kommer även få det genom en kost med samma mängd insekter. För personer som har svårt att nå RDI av järn skulle insekter med ett högt järninnehåll, så som de i R-proverna eller GW, kunna vara ett bra substitut till kött. Detta skulle specifikt kunna gälla kvinnor, som är i större behov av järn än män.

4.1.7 Mangan

Resultatet för mangan delades upp i två diagram då termitproverna, både de ickekommersiella (R-proverna) och det kommersiella (FT), visade sig ha avsevärt mycket högre manganhalt än övriga insekter. Figur 11 visar manganhalten för BW, GH, GW och YM, som hade manganhalter mellan

0,19 – 0,45 mg/100g. De höga halterna i Figur 12 ligger mellan 75 – 160 mg/100g, samt R7 som innehöll så mycket som 270 mg/100g. Jämfört med kött (0,0090 – 0,0450 mg/100g) (Tabell 1) är manganhalten i termiter extremt hög. Även insektsproverna med lägst manganhalt hade något högre innehåll än kött. Vad den extremt höga manganhalten i termitproverna beror på är för närvarande okänt, men det finns olika teorier om det (Verspoor et al., 2019).

Det rekommenderade dagliga intaget av mangan för en vuxen människa är 3 mg/dag (Tabell 2), vilket är betydligt mer än det som hittas i 100 g kött. Det är även mer än i 100 g BW, GH, GW samt YM, även om insektsproverna innehöll mycket mer mangan än det konventionella köttet. Termitproverna utmärkte sig däremot mot resterande prover, då dess manganhalt markant översteg det rekommenderade dagliga intaget. Det högsta värdet (270 mg/100g i R7), var 90 gånger större än det rekommenderade intaget, och även de något lägre halterna hos termitproverna var mellan 25 – 53 gånger större.

I dagsläget har det inte visats några negativa effekter av att konsumera mycket mangan, men eftersom termitproverna innehåller oerhört mycket mer mangan jämfört med konventionellt kött, kanske inte informationen är tillförlitlig. Det behöver utvärderas om så pass höga halter kan vara skadliga för människan, om termiter ska introduceras till den vardagliga kosten.

4.2 Etik

Oavsett det som fastställts angående halt av mineraler, aminosyror och vitamin E i undersökningen, är det fortfarande okänt hur människor påverkas i det långa loppet av att äta insekter. Trots att det tillhör den dagliga kosten i flera delar av världen har inga undersökningar om hur insektskonsumtion påverkar människan gjorts, och kommer kräva tid att genomföra. Dessutom är närvaron av olika allergener i insekter outforskad, samt hur människor i västvärlden skulle reagera på större insektsintag.

Det behöver även forskas på vilka konsekvenser en massuppfödning av insekter kan få, både på naturen och människan. Som tidigare nämnts har insektspopulationer minskat i de områden där stora insektsskördar ägt rum, vilket kan ha olika effekter på dess omgivning. För att kunna påbörja en uppfödningssprocess skulle en mängd insekter behöva skördas från vilda populationer, vilket har okänd påverkan, även om själva djurhållningen skulle vara mer hållbar än köttindustrin.

Det finns också ekonomiska aspekter att ta hänsyn till. Även om en insektsfarm skulle vara mer ekonomisk än en farm med boskap, är processen för säkerhetskontroller och uppfyllandet av kvalitetskrav i Europa fortfarande ett kostsamt och tidskrävande moment. Det behöver avvägas huruvida det är gynnsamt att genomföra de åtgärder som krävs för en legalisering av insekthandel och uppfödning i Europa, gentemot hur kostsamt det skulle vara för miljön med en fortsatt utökning av köttindustrin.

En annan aspekt är huruvida det är etiskt rätt att massuppföda insekter, så som vi i dagsläget gör med boskapsdjur. Många anser att en stor del av djurhållningen som den ser ut idag inte är etiskt berättigad och att boskapen behandlas ovärdigt. Det finns ett antal kriterier som en köttproducerande industri bör sträva efter att uppfylla. Dessa kriterier är att förhindra hunger, törst, obehag, smärta, skador, sjukdomar, rädsla och ångest, samtidigt som djuret kan uttrycka sitt normala beteende. I dagens köttindustri hålls boskapen packade på begränsade ytor, vilket bidrar till att flera av ovanstående kriterier bryts. Huruvida en liknande packning av insekter påverkar individernas välbefinnande, saknas det underlag för. Det kan tas i beaktning att exempelvis gräshoppor lever i stora närgångna grupper i sitt naturliga tillstånd, och maskar tenderar att bilda kluster när de föds upp i fångenskap.

Det är föga känt om insekter upplever smärta eller obehag likt större organismer, även om viss forskning om detta bedrivits. Det som skiljer mellan större boskap och insekter är att så pass små djur har avsevärt mycket mindre nervceller samt kortare livscykel, vilket skulle kunna ses som en

förmildrande omständighet. Det debatteras hur mycket ett insektsliv är värt i förhållande till ett större djurs, och om det behövs djurskyddslagar och riktlinjer även för uppfödning av insekter. Då kan även frågan ställas om vem som faktiskt bestämmer vilket liv som är mer värt än någon annans.

5. Slutsats

Studien visar att de undersökta insekterna har högre proteininnehåll än konventionella proteinkällor. Även mineralinnehållet är generellt sett högre. För zink är värdet jämförbart mellan insekter och kött, medan det för koppar, järn och mangan är större i insekter. Speciellt mangan sticker ut med avsevärt högre halter än det rekommenderade dagliga intaget, vilket bör undersökas vidare då den mänskliga påverkan är okänd. Insekterna visar jämförbara eller högre halter α -tokoferol än kött, och en betydande koncentration av γ -tokoferol kunde uppmätas i flertalet undersökta insekter. Ingen mätbar mängd fytinsyra tycks finnas i den analyserade uppsättningen.

Sammanfattningsvis ger vår undersökning stöd åt att insekter utgör en lovande framtida protein- och näringskälla för human konsumtion. Det behöver dock tas i beaktning att näringsinnehållet varierar mellan olika arter och ordningar, därför kan inga generella slutsatser dras om andra insektsarter. Resultaten i studien visar bättre eller jämförbart näringsinnehåll med konventionella proteinkällor för de undersökta näringsämnena, men fortsatta studier behövs för att ytterligare utforska möjligheten med insekter som en framtida näringskälla.

Källförteckning

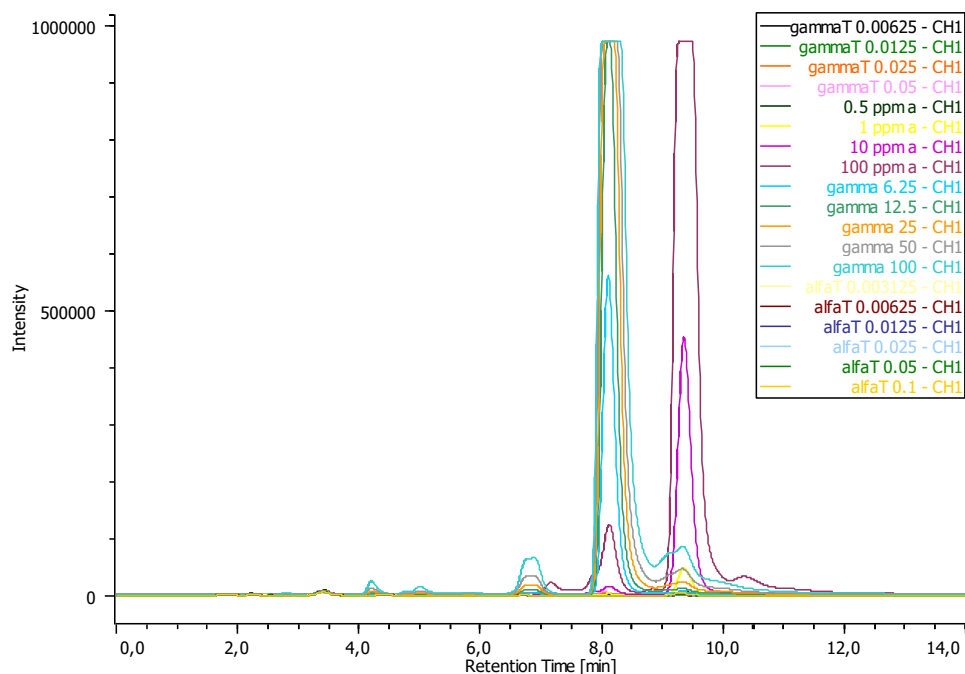
- Atkins, P. W., Jones, L., & Laverman, L. (2013). *Chemical principles : the quest for insight*: New York : W.H. Freeman and Company, 2013. 6th ed., International ed.
- Bagchi, D., & Nair, S. (2017). 24.4 Phytase: A Novel Nutraceutical to Digest Phytate. In *Developing New Functional Food and Nutraceutical Products*: Elsevier.
- Belluco, S., Halloran, A., & Ricci, A. (2017). New protein sources and food legislation: the case of edible insects and EU law. *Food Security*, 9(4), 803-814.
- Bender, D. A. (2012). *Amino Acid Metabolism*. Hoboken, UNITED KINGDOM: John Wiley & Sons, Incorporated.
- Boskou, D. (2015). 1.2.3.2 Nonphenolic Bioactive Compounds. In *Olive and Olive Oil Bioactive Constituents*: AOCS Press.
- Carlsson, N. G., et al. (2001). Rapid Analysis of Inositol Phosphates. *J. Agric. Food Chem*, 1695-1701. doi:10. 1021/jf000861r
- Combs, G. F., & McClung, J. P. (2017). Chapter 8 - Vitamin E. In G. F. Combs & J. P. McClung (Eds.), *The Vitamins (Fifth Edition)* (pp. 207-242): Academic Press.
- Damodaran, S., & Parkin, K. L. (2017). 8.7.3.1 Structure and General Properties. In *Fennema's Food Chemistry (5th Edition)*: CRC Press.
- Dicke, M. (2010). Why not eat insects? *TED-talk*. Retrieved from https://www.ted.com/talks/marcel_dicke_why_not_eat_insects/up-next.
- Djekic, I. J. P. F. S. (2015). Environmental impact of meat industry—current status and future perspectives. 5, 61-64.
- Dolan, J. W. (2016). How Does It Work? Part V: Fluorescence Detectors. *LCGC North America*, 34(9), 710-719. Retrieved from <http://www.chromatographyonline.com/how-does-it-work-part-v-fluorescence-detectors?pageID=1>.
- EFSA (European Food Safety Authority). (2017). *Dietary reference values for nutrients: Summary report*. Retrieved from <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/sp.efsa.2017.e15121>
- Eilender, E. (2016). *Public Health and Community Nutrition*. New York, UNITED STATES: Momentum Press.
- Encyclopædia-Britannica. (2019). Helium emission and absorption spectra. In *Encyclopædia Britannica*
- Erikson, K. M., Thompson, K., Aschner, J., & Aschner, M. (2007). Manganese neurotoxicity: A focus on the neonate. *Pharmacology and Therapeutics*, 113(2), 369-377. Retrieved from <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-33846436086&doi=10.1016%2fj.pharmthera.2006.09.002&partnerID=40&md5=2bf3a8d476182c2ee7315e575e68b91c>. doi:10.1016/j.pharmthera.2006.09.002
- Evans Arthur, V. (2014). *Beetles of Eastern North America*. Retrieved from <https://www.degruyter.com/view/product/452931> doi:10.1515/9781400851829
- Falandysz, J., Kotecka, W., & Kannan, K. (1994). Mercury, lead, cadmium, manganese, copper, iron and zinc concentrations in poultry, rabbit and sheep from the northern part of Poland. *Science of The Total Environment*, 141(1), 51-57. Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0048969794900175>. doi:[https://doi.org/10.1016/0048-9697\(94\)90017-5](https://doi.org/10.1016/0048-9697(94)90017-5)
- Feng, Y., Chen, X.-M., Zhao, M., He, Z., Sun, L., Wang, C.-Y., & Ding, W.-F. (2018). Edible insects in China: Utilization and prospects. *Insect Science*, 25(2), 184-198. Retrieved from <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/1744-7917.12449>. doi:10.1111/1744-7917.12449
- Fombong, F. T., & Kinyuru, J. N. (2018). Termites as Food in Africa. In M. A. Khan & W. Ahmad (Eds.), *Termites and Sustainable Management: Volume 1 - Biology, Social Behaviour and Economic Importance* (pp. 217-240). Cham: Springer International Publishing.
- Freeland-Graves, J. H., Mousa, T. Y., & Sanjeevi, N. (2015). Chapter 2 Nutritional Requirements for Manganese. In *Manganese in Health and Disease* (pp. 34-75): The Royal Society of Chemistry.

- Garnier, J.-P., Klont, R., & Plastow, G. J. M. s. (2003). The potential impact of current animal research on the meat industry and consumer attitudes towards meat. 63(1), 79-88. Retrieved from <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0309174002000591?via%3Dihub>.
- Gates, P. J. (2014). Atmospheric Pressure Chemical Ionisation (APCI). Retrieved from <http://www.chm.bris.ac.uk/ms/apci-ionisation.xhtml>
- Gerber, F., et al. (2004). Practical aspects of fast reversed-phase high-performance liquid chromatography using 3 µm particle packed columns and monolithic columns in pharmaceutical development and production working under current good manufacturing practice. *Journal of Chromatography A*.
- Hastreiter, A., Oliveira, D. C., Silva, G. B., Beltran, J. O., Tsujita, M., Borelli, P., . . . Santos, E. W. (2017). Hematological alterations in protein malnutrition. *Nutrition Reviews*, 75(11), 909-919. Retrieved from <https://dx.doi.org/10.1093/nutrit/nux041>. doi:10.1093/nutrit/nux041 %J Nutrition Reviews
- Hitachi-High-Technologies. 8. Principle and Feature of Various Detection Methods (2). Retrieved from <https://www.hitachi-hightech.com/global/products/science/tech/ana/lc/basic/course8.html>
- Iwegbue, C., Nwajei, G., & Iyoha, E. (2008). Heavy metal residues of chicken meat and gizzard and turkey meat consumed in southern Nigeria. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*, 11(4), 275-280.
- Jorhem, L., Sundström, B., Åstrand, C., & Haegglund, G. (1989). The levels of zinc, copper, manganese, selenium, chromium, nickel, cobalt, and aluminium in the meat, liver and kidney of swedish pigs and cattle. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, 188(1), 39-44. Retrieved from <https://doi.org/10.1007/BF01027620>. doi:10.1007/bf01027620
- Keen, C. L., Ensunsa, J. L., Watson, M. H., Baly, D. K., Donovan, S. M., Monaco, M. H., & Clegg, M. S. (1999). Nutritional aspects of manganese from experimental studies. *NeuroToxicology*, 20(2-3), 213-224. Retrieved from <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-0033063444&partnerID=40&md5=eb23e681411999ee5bb1ed5ab5b47823>.
- Kilcast, D., & Angus, F. (2011). 1.2.2.2 Vitamins and Minerals. In *Developing Children's Food Products*: Woodhead Publishing.
- Labcompare. (2019). C18 Column / C18 HPLC Columns. Retrieved from <https://www.labcompare.com/Laboratory-Analytical-Instruments/6171-C18-Column-C18-HPLC-Columns/>
- LC-Resources-Inc. (2001). Getting started in HPLC. Retrieved from <http://www.lcresources.com/resources/getstart/2e01.htm>
- LCGC-Editors. (2018). How It Works: UV Detection for HPLC. *LCGC North America*, 36(12), 894. Retrieved from <http://www.chromatographyonline.com/how-it-works-uv-detection-hplc-0>
- Linder, M. C. (1991). *Biochemistry of Copper*. [electronic resource]: Boston, MA : Springer US : Imprint: Springer, 1991.
- Mckenna, A. (2015). Atmospheric Pressure Chemical Ionization. Retrieved from <https://nationalmaglab.org/user-facilities/icr/techniques/apci>
- Msagati, T. A. M. (2012). 12.2.1 Sodium Chloride (Table Salt). In *Chemistry of Food Additives and Preservatives*: John Wiley & Sons.
- Perkampus, H. H. (1992). *UV-VIS Spectroscopy and Its Applications* (T. L. T. H.C. Grinter, Trans.). Berlin: Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Premalatha, M., Abbasi, T., Abbasi, T., & Abbasi, S. (2011). Energy-efficient food production to reduce global warming and ecodegradation: The use of edible insects. *Renewable and sustainable energy reviews*, 15(9), 4357-4360.
- Purslow, P. P. (2017). 17.2 The Role of Insects in the Diet of People in Tropical Countries. In *New Aspects of Meat Quality - From Genes to Ethics*: Elsevier.
- Ramos-Elorduy, J., Moreno, J. M. P., Prado, E. E., Perez, M. A., Otero, J. L., & de Guevara, O. L. (1997). Nutritional Value of Edible Insects from the State of Oaxaca, Mexico. *Journal of Food Composition and Analysis*, 10(2), 142-157. Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0889157597905305>. doi:<https://doi.org/10.1006/jfca.1997.0530>

- Sanz-Medel, A., & Pereiro, R. (2014). *Atomic Absorption Spectrometry : An Introduction, 2nd edition*. New York, UNITED STATES: Momentum Press.
- Shahidi, F. (2015). 6.3 Tocopherols and Tocotrienols as the Main Antioxidants for Lipids: Mechanisms of Antioxidant Action. In *Handbook of Antioxidants for Food Preservation*: Elsevier.
- Shockley, M., Lesnik, J., Allen, R. N., & Muñoz, A. F. (2018). Edible Insects and Their Uses in North America; Past, Present and Future. In A. Halloran, R. Flore, P. Vantomme, & N. Roos (Eds.), *Edible Insects in Sustainable Food Systems* (pp. 55-79). Cham: Springer International Publishing.
- Swartz, M. (2010). HPLC Detectors: A Brief Review. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 33(9-12), 1130-1150. doi:10.1080/10826076.2010.484356
- Tetens, I., Pedersen, A. N., Schwab, U., Fogelholm, M., Thorsdottir, I., Gunnarsdottir, I., . . . Wirfeldt, E. (2012). Nordiska näringsrekommendationer 2012 – rekommendationer om näring och fysisk aktivitet 5. Retrieved from <https://www.livsmedelsverket.se/globalassets/publikationsdatabas/broschytyrer/nordiska-naringsrekommendationer-2012-svenska.pdf>.
- ThermoFischer-Scientific. (2019). Fluorescence Fundamentals. Retrieved from <https://www.thermofisher.com/se/en/home/references/molecular-probes-the-handbook/introduction-to-fluorescence-techniques.html>
- Thermofischer. (2019). Liquid Chromatography Mass Spectrometry (LC-MS). Retrieved from https://www.thermofisher.com/se/en/home/industrial/mass-spectrometry/liquid-chromatography-mass-spectrometry-lc-ms.html?gclid=CjwKCAjwstfkBRBoEiwADTmnEF2uNov9zHo-RfDK8GaYyTz06avITr38uICPfeYri22h91qGGmxnVBoCRk8QAvD_BwE&ce=E.19CMD.D.L105.16198.01&cid=E.19CMD.DL105.16198.01&ef_id=CjwKCAjwstfkBRBoEiwADTmnEF2uNov9zHo-RfDK8GaYyTz06avITr38uICPfeYri22h91qGGmxnVBoCRk8QAvD_BwE:G:s&s_kwcid=A.L!3652!3!252207235083!e!!g!!lcms
- Toldrá, F. (2017). 20.3.3 Minerals. In *Lawrie's Meat Science (8th Edition)*: Elsevier.
- Van Huis, A., Dicke, M., & van Loon, J. J. (2015). Insects to feed the world. In: Wageningen Academic Publishers.
- 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*: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Weiss, M., Manneberg, M., Juranville, J.-F., Lahm, H.-W., & Fountoulakis, M. (1998). Effect of the hydrolysis method on the determination of the amino acid composition of proteins. *Journal of Chromatography A*, 795(2), 263-275. Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021967397009837>. doi:[https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(97\)00983-7](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(97)00983-7)
- Verspoor, R. L., Adeoti, R., Djouaka, R., Edwards, S., Fristedt, R., Langton, M., . . . Landberg, R. (2019). Mineral analysis reveals extreme manganese concentrations in wild harvested and commercially available termites. *Food Chemistry*.
- World Health Organization. (2003). *Vitamin and Mineral Requirements in Human Nutrition : Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation*. Albany, SWITZERLAND: World Health Organization.
- World Health Organization. (2007). *Protein and Amino Acid Requirements in Human Nutrition : Report of a Joint WHO/FAO/UNU Expert Consultation*. Albany, SWITZERLAND: World Health Organization.
- Özcan, S., & Şenyuva, H. Z. (2006). Improved and simplified liquid chromatography/atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry method for the analysis of underivatized free amino acids in various foods. *Journal of Chromatography A*, 1135(2), 179-185. Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021967306017882>. doi:<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.09.039>

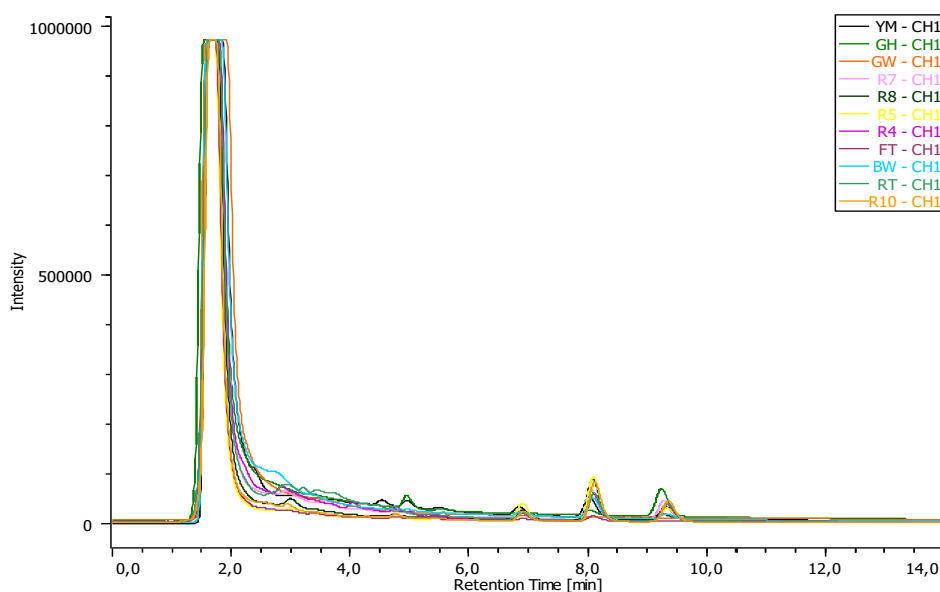
Bilaga A

Standardlösningar av α - och γ -tokoferol i olika koncentrationer analyserades i HPLC vilket genererade toppar vid 9 och 8 minuter som linjäriserades och omvandlades till koncentration $\mu\text{g/ml}$ vilket ses i Figur 13.



Figur 13 - Kromatogram över absorptionsspektrum för samtliga standardlösningar av α - och γ -tokoferol.

Sammanlagt utfördes analysen av α - och γ -tokoferol i en trippeluppsättning. Toppar för α - tokoferol detekterades efter 9 minuter och toppar för γ -tokoferol detekterades efter 8 minuter vilket ses i Figur 14.



Figur 14 - Kromatogram över absorptionsspektrum för samtliga prov vid undersökning av α - och γ -tokoferol.

Bilaga B

Bidragsrapport

Nedan visas vilka gruppmedlemmar som skrivit respektive avsnitt av slutrapporten.

Abstract - Eddie Vuong

Sammanfattning – Jakob Karlsson, Johannes Nordberg, Julia Benson

1. Introduktion – Julia Benson

1.1 Syfte – Julia Benson

1.2 Avgränsningar – Julia Benson

1.3 Bakgrund – Jakob Karlsson (metatext)

1.3.1 Global insektskonsumtion – Julia Benson

1.3.2 Urval av insekter – Jakob Karlsson

1.3.3 Urval av näringsämnen – Jakob Karlsson

2. Material och metod – Amanda Johansson (metatext)

2.1 Analystekniker som används i projektet

2.1.1 High-Performance Liquid Chromatography, HPLC – Eddie Vuong

2.1.2 Detektionsmetoder för HPLC – Amanda Johansson

2.1.3 Liquid Chromatography Mass Spectrometry, LCMS – Fritjof Havemeister

2.1.4 Atomabsorptionsspektrofotometri, AAS – Johannes Nordberg

2.2 Analysmetoder – Eddie Vuong (metatext)

2.2.1 Fytinsyraanalys med HPLC och UV-detektion – Eddie Vuong

2.2.2 Tokoferolanalys med HPLC och fluorescensdetektion – Amanda Johansson

2.2.3 Aminosyraanalys med LCMS – Fritjof Havemeister

2.2.4 Mineralanalys med AAS – Johannes Nordberg

3. Resultat

3.1 Fytinsyra – Jakob Karlsson

3.2 Vitamin E – Amanda Johansson (text), Jakob Karlsson (figur)

3.3 Aminosyror – Fritjof Havemeister

3.4 Mineraler – Julia Benson (text), Johannes Nordberg (figur)

4. Diskussion

4.1 Resultatanalys

4.1.1 Fytinsyra – Eddie Vuong

4.1.2 Vitamin E – Jakob Karlsson

4.1.3 Aminosyror – Fritjof Havemeister

4.1.4 Koppar – Julia Benson

4.1.5 Zink – Julia Benson

4.1.6 Järn – Johannes Nordberg

4.1.7 Mangan – Julia Benson

4.2 Etik – Julia Benson

5. Slutsats – Amanda Johansson

Bilaga A – Jakob Karlsson

Bilaga B – Eddie Vuong, Amanda Johansson

Bilaga C – Alla

Projektets arbetsgång

Planering av projektet har genomförts tillsammans under möten och handledningstillfällen. Kandidatgruppen har haft ett veckovis möte utan handledare där planering och utvärdering av projektet har gjorts. Planering av laborationerna har gjorts i samråd med laborativ handledare. Utöver det har det varit fyra möten mellan gruppen och huvudhandledare.

Arbetsfördelningen har varit jämnt uppdelad för alla laborationer och samtliga medlemmar har deltagit i de laborativa momenten. Analys av resultat har utförts enligt följande:

Fytinsyra – Alla

Vitamin E – Eddie Vuong, Amanda Johansson, Jakob Karlsson

Aminosyror – Fritjof Havemeister

Mineraler – Johannes Nordberg

Slutrapporten har bearbetats gemensamt ett flertal gånger. Gruppen anser att alla gruppmedlemmar har bidragit lika mycket under arbetets gång.