

# Chemické složení miličky habešské

Bc. Jitka Hájková

---

Diplomová práce  
2017



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav technologie potravin

akademický rok: 2016/2017

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Jitka Hájková**  
Osobní číslo: **T15900**  
Studijní program: **N2901 Chemie a technologie potravin**  
Studijní obor: **Technologie potravin**  
Forma studia: **kombinovaná**

Téma práce: **Chemické složení miličky habešské**

Zásady pro vypracování:

### I. Teoretická část

1. Popsat chemické složení miličky habešské a její využití jako potraviny.
2. Principy metod použitých v experimentální části.

### II. Praktická část

1. Stanovení vybraných nutričních parametrů miličky habešské.
2. Statistické zhodnocení výsledků, diskuze, závěr.

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

[1] ABEBE, Yewelsew. et al. Phytate, zinc, iron and calcium content of selected raw and prepared foods consumed in rural Sidama, Southern Ethiopia, and implications for bioavailability. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2007, 20(3,4), 161-168.

[2] ABEBE, Workineh a Felicidad RONDA. Rheological and textural properties of [Eragrostis tef (Zucc.) Trotter] grain flour gels. *Journal of Cereal Science*. 2014, 60(1), 122-130.

[3] ADEBOWALE, Abdul-Razaq A. et al. Fractionation and characterization of teff proteins. *Journal of Cereal Science*. 2011, 54(3), 380-386.

[4] ARENDT, Elke K. a Emanuele ZANNINI. *Teff. Cereal Grains for the Food and Beverage Industries*. Elsevier, 2013. ISBN 9780857094131.

[5] HAGER, A.S. et al. Nutritional properties and ultra-structure of commercial gluten free flours from different botanical sources compared to wheat flours. *Journal of Cereal Science*. 2012, 56(2), 239-247.

Vedoucí diplomové práce:

**Ing. Daniela Sumczynski, Ph.D.**

Ústav analýzy a chemie potravin

Datum zadání diplomové práce:

**3. února 2017**

Termín odevzdání diplomové práce:

**28. dubna 2017**

Ve Zlíně dne 3. února 2017



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



doc. Ing. František Buňka, Ph.D.  
*ředitel ústavu*

Příjmení a jméno: Be. Jitka Hlaváčková

Obor: Chemie a Technologie Polymérů

## PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

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

Ve Zlíně 28. 9. 2017

Hlaváčková

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

## ABSTRAKT

Teoretická část práce se věnuje základnímu chemickému složení miličky habešské (*Eragrostis tef* L.) a jejím možnostem technologického využití. V rámci experimentální části bylo provedeno stanovení obsahu vlhkosti, popele, lipidů, bílkovin, škrobu, hrubé vlákniny a stanovení stravitelnosti. Dále byl stanoven celkový obsah flavonoidů, polyfenolů, antioxidační aktivita metodou s ABTS a s DPPH a stanovení vybraných polyfenolických látek metodou HPLC. U hnědých zrn se volně nacházejí ve vyšší koncentraci *trans-p*-kumarová, ferulová a protokatechinová kyselina, ve vázané formě ve vyšší koncentraci převládá kyselina ferulová, katechin a kvercetin.

Klíčová slova: milička habešská, *Eragrostis tef*, hrubá vláknina, stravitelnost, flavonoidy, polyfenoly, HPLC.

## ABSTRACT

The theoretical part deals with the basic chemical composition of Teff (*Eragrostis tef* L.) and its potentials of technological applications. The aim of experimental part was executed by determination of moisture content, ash, lipid, protein, starch, crude fiber and determination of the digestibility. The total content of flavonoids, polyphenols, antioxidant activity using the ABTS and DPPH and determination of selected polyphenols by HPLC was also determined. In brown grains are freely located in the higher concentration of *trans-p*-coumaric, ferulic acid proto-catechins, in bonded form in higher concentration prevails ferulic acid, catechin and quercetin.

Keywords: *Eragrostis tef*, crude fiber, digestibility, flavonoids, polyphenols, HPLC.

Ráda bych tímto poděkovala vedoucí mé diplomové práce Ing. Bc. Daniele Sumczynski, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady, připomínky a trpělivost během vypracovávání.

Dále bych chtěla poděkovat Ing. Lence Fojtíkové a Ing. Evě Kotáskové za pomoc při analytickém stanovení.

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

# OBSAH

<b>ÚVOD</b> .....	<b>11</b>
<b>TEORETICKÁ ČÁST</b> .....	<b>12</b>
<b>1 MILIČKA HABEŠSKÁ</b> .....	<b>13</b>
1.1 PŮVOD A ROZŠÍŘENÍ .....	13
1.2 POPIS A STAVBA ROSTLINY .....	14
1.3 PĚSTOVÁNÍ A VÝNOS .....	17
1.4 UŽITÍ V POTRAVINÁŘSKÉM PRŮMYSLU.....	18
1.4.1 Injera .....	18
<b>2 CHEMICKÉ SLOŽENÍ</b> .....	<b>20</b>
2.1 SACHARIDY .....	20
2.2 BÍLKOVINY .....	22
2.3 LIPIDY .....	23
2.4 MINERÁLNÍ LÁTKY .....	24
2.5 VITAMÍNY .....	25
2.6 FYTÁTY .....	25
2.7 POLYFENOLY.....	26
<b>3 PRINCIPY METOD POUŽITÝCH V EXPERIMENTÁLNÍ ČÁSTI</b> .....	<b>28</b>
3.1 STANOVENÍ VLHKOSTI REFERENČNÍ METODOU .....	28
3.2 STANOVENÍ POPELE .....	28
3.3 STANOVENÍ OBSAHU DUSÍKU DLE KJELDAHLA S NÁSLEDNÝM PŘEPOČTEM NA OBSAH HRUBÝCH BÍLKOVIN .....	30
3.4 STANOVENÍ ŠKROBU DLE EWERSE.....	31
3.5 STANOVENÍ HRUBÉ VLÁKNINY .....	32
3.6 STANOVENÍ STRAVITELNOSTI KOMBINOVANOU HYDROLÝZOU PEPSINEM A PANKREATINEM .....	33
3.7 STANOVENÍ FLAVONOIDŮ .....	33
3.8 STANOVENÍ POLYFENOLŮ POMOCÍ FOLIN-CIOCALTEUOVA ČINIDLA SPEKTROFOTOMETRICKY .....	34
3.9 STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY .....	34
3.9.1 Metoda ABTS .....	35
3.9.2 Metoda DPPH .....	35
3.10 STANOVENÍ VYBRANÝCH POLYFENOLICKÝCH LÁTEK METODOU HPLC .....	35
<b>PRAKTICKÁ ČÁST</b> .....	<b>37</b>
<b>4 CÍL PRÁCE</b> .....	<b>38</b>
<b>5 MATERIÁL A PŘÍSTROJE</b> .....	<b>39</b>



5.1	POUŽITÉ PŘÍSTROJE A POMŮCKY.....	39
5.2	POUŽITÉ CHEMIKÁLIE.....	40
5.3	ANALYZOVANÉ VZORKY .....	41
5.4	STANOVENÍ VLHKOSTI.....	41
5.5	STANOVENÍ POPELE .....	42
5.6	STANOVENÍ OBSAHU LIPIDŮ .....	42
5.7	STANOVENÍ OBSAHU DUSÍKATÝCH LÁTEK DLE KJELDAHLA S PŘEPOČTEM NA OBSAH HRUBÝCH BÍLKOVIN.....	43
5.8	STANOVENÍ OBSAHU ŠKROBU DLE EWERSE.....	44
5.9	STANOVENÍ HRUBÉ VLÁKNINY .....	45
5.10	STANOVENÍ STRAVITELNOSTI KOMBINOVANOU HYDROLÝZOU PEPSINEM A PANKREATINEM.....	46
5.11	VYPRACOVÁNÍ EXTRAKČNÍHO POSTUPU PRO ZISK FRAKČÍ VOLNÝCH A VÁZANÝCH POLYFENOLŮ.....	47
5.11.1	Extrakce volných polyfenolů .....	47
5.11.2	Extrakce vázaných polyfenolů .....	48
5.12	STANOVENÍ CELKOVÝCH FLAVONOIDŮ .....	48
5.12.1	Kalibrační křivka pro stanovení celkového obsahu flavonoidů.....	48
5.13	STANOVENÍ CELKOVÝCH POLYFENOLŮ FOLIN-CIOCALTEUOVOU METODOU .....	49
5.13.1	Kalibrační křivka pro stanovení celkového obsahu polyfenolů.....	49
5.14	STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY METODOU ABTS.....	49
5.14.1	Vytvoření radikálu ABTS .....	49
5.14.2	Vytvoření reakční směsi.....	49
5.14.3	Měření antioxidační aktivity metodou ABTS .....	50
5.14.4	Kalibrační křivka pro stanovení antioxidační aktivity metodou ABTS.....	50
5.15	STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY METODOU DPPH.....	50
5.15.1	Příprava roztoku DPPH.....	50
5.15.2	Měření antioxidační aktivity metodou DPPH.....	50
5.15.3	Kalibrační křivka pro stanovení antioxidační aktivity metodou DPPH.....	51
5.16	STANOVENÍ VYBRANÝCH POLYFENOLICKÝCH LÁTEK METODOU HPLC .....	51
5.17	STATISTICKÉ ZHODNOCENÍ VÝSLEDKŮ .....	52
<b>6</b>	<b>VÝSLEDKY A DISKUZE.....</b>	<b>53</b>
6.1	STANOVENÍ ZÁKLADNÍCH NUTRIČNÍCH CHARAKTERISTIK .....	53
6.1.1	Stanovení vlhkosti, popele, lipidů, bílkovin, škrobu a hrubé vlákniny.....	53
6.1.2	Výsledky stanovení stravitelnosti kombinovanou hydrolýzou pepsinem a pankreatinem.....	55
6.2	VÝSLEDKY ANALÝZY POLYFENOLICKÝCH FRAKČÍ .....	56
6.2.1	Výsledky stanovení celkových flavonoidů .....	56
6.2.2	Výsledky stanovení celkových polyfenolů .....	58
6.2.3	Výsledky stanovení antioxidační aktivity metodou s ABTS .....	59
6.2.4	Výsledky stanovení antioxidační aktivity metodou s DPPH .....	60
6.2.5	Korelace antioxidačních aktivit s polyfenoly a flavonoidy.....	61
6.2.6	Stanovení vybraných polyfenolických látek metodou HPLC .....	63
6.2.6.1	Stanovení vybraných fenolických látek ve frakci s volnými polyfenoly.....	63

6.2.7 Stanovení vybraných fenolických látek ve frakci s vázanými polyfenoly .....	65
<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....</b>	<b>69</b>
<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....</b>	<b>79</b>
<b>SEZNAM OBRÁZKŮ.....</b>	<b>80</b>
<b>SEZNAM TABULEK .....</b>	<b>81</b>
<b>SEZNAM PŘÍLOH.....</b>	<b>83</b>

## ÚVOD

Milička habešská (*Eragrostis tef*) je tropická samosprašná obilovina, kterou je možno pěstovat v širokém geografickém rozsahu, a to i v náročnějších environmentálních podmínkách, kde pěstování ostatních obilovin selhává.

Milička je hlavní potravinová plodina zejména v Africe, konkrétně Etiopii a Eritrei. Je zpracována do různých potravin a nápojů (chleba, kaše, palačinky, sušenky, koláče, smažené pokrmy, polévky, pudinky atd.). Milička je také pěstována v Bolívii, USA, Austrálii a Holandsku.

Zrno je extrémně malé, přesto se jedná o obilovinu s kvalitním nutričním složením, je především bohatým zdrojem vlákniny. Díky tomu, že neobsahuje lepek, se stává populární přísadou v mnoha zemích pro výrobu bezlepkových potravin a bezlepkových pekárenských výrobků. V České republice se jedná o jednu z nejnovějších netradičních obilovin, o jejímž významu se z hlediska nutričního a technologického příliš neví. Z tohoto důvodu byla tato obilovina analyzována. Byly stanoveny vybrané nutriční parametry (obsah vlhkosti, popele, lipidů, bílkovin, hrubé vlákniny), stravitelnost, celkový obsah flavonoidů a polyfenolů. Dále byla stanovena antioxidační aktivita metodou s ABTS a DPPH a bylo provedeno stanovení vybraných polyfenolických látek metodou HPLC.

## **I. TEORETICKÁ ČÁST**

## 1 MILIČKA HABEŠSKÁ

Milička habešská je řazena do kmene *Eragrosteae*, podskupiny *Eragrostoidae*, do čeledi *Poaceae* (lipnicovité) [1,2]. Milička je allotetraploid s množstvím deseti základních chromozomů ( $2n=4x=40$ ). Latinský název miličky habešské je *Eragrostis tef*. Nejbližším příbuzným miličky habešské je *Eragrostis pilosa* [3]. Milička habešská se pěstuje v úzkém geografickém pásmu, zatímco *Eragrostis pilosa* je rozšířena po tropických a subtropických částech světa [4]. V Etiopii je milička známá pod lidovým názvem teff, které je odvozeno z amharického jazyka ze slova „lost“, související s malou velikostí zrna [2].

### 1.1 Původ a rozšíření

Milička habešská je původně tropická obilovina, která je považována za nejstarší původní obilovinu domestikovanou v Africe. Je to endemit Etiopské vysočiny, jehož počátky pěstování se datují již do prehistorických dob, ale přesné detaily nejsou známy [5]. V oblasti Afrického rohu se milička pěstuje nejméně 2000 let. Má klíčové místo v novodobé etiopské i eritrejské kultuře [6]. *Eragrostis tef* je jediný druh v rodu *Eragrostis* pěstovaný přímo pro lidskou spotřebu [7]. Konzumována jsou někdy ale i zrna krmných druhů, a to zejména v období nízké úrody v rámci nepříznivých klimatických podmínek na africkém kontinentě. Jedná se o druhy *Eragrostis cilianensis*, *Eragrostis ciliaris*, *Eragrostis curvula*, *Eragrostis cylindriflora*, *Eragrostis gangetica*, *Eragrostis pilosa*, *Eragrostis tremola*, *Eragrostis turgida* [8].

V rodu *Eragrostis* pochází 43 % druhů z Afriky, 18 % z Jižní Ameriky, 12 % z Asie, 10 % z Austrálie, 9 % ze Střední Ameriky, 6 % ze Severní Ameriky a 2 % z Evropy [1,9].

Milička je pěstována hlavně v Etiopii, v menší míře také v Eritrei, na severu Keni. Je také komerčně pěstována v Jižní Africe, USA, Kanadě, Austrálii, Evropě (Nizozemsku) a Jemenu. V Jižní Africe, Maroku, Austrálii, Indii a Pákistánu se pěstuje jako krmná tráva [8].

Dle barvy obalových vrstev se rozlišují dva základní druhy – milička bílá (netch) a červená/hnědá (gey), a poté je možné je také mísit (sergegna). Milička bílá zraje pomaleji a je vhodná i pro pěstování v chladnějších sezónách. Je náročnější na půdní podmínky a roste jen v některých částech Etiopie, což se odráží na její vyšší výkupní ceně. Milička červená/hnědá zraje rychleji a v Etiopii je primárně pěstována hlavně jako krmivo. Její barva je ovlivněna vyšším podílem polyfenolů a tríslovin [10,11].

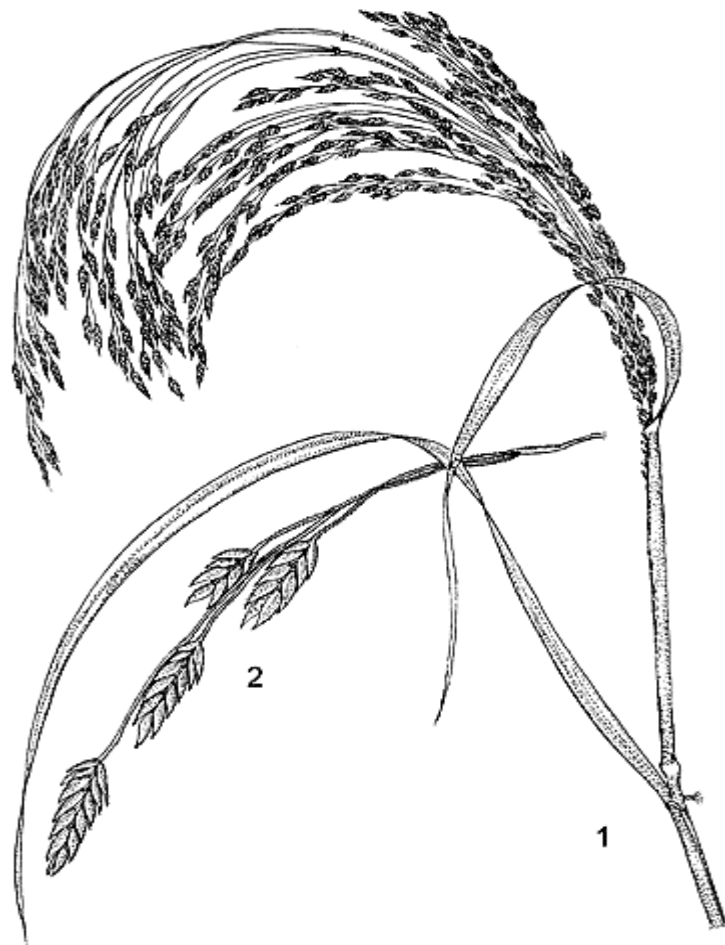


Obr. č.: 1 Zrno miličky bílé a hnědé [12].

## 1.2 Popis a stavba rostliny

Milička je jednoletá tráva rostoucí v trsech do výšky 25 – 135 cm v závislosti na půdních a environmentálních podmínkách. Zrno miličky je velmi malé, délka je v rozmezí 1,0 – 1,7 mm a šířka 0,6 – 1,0 mm. Jedno zrno pšenice váží obvykle stejně jako 150 zrn miličky haběšské. Barva zrna miličky je velmi rozmanitá a může být od světle bílé až po světle a tmavě hnědou s červenými a fialovými odstíny [13].

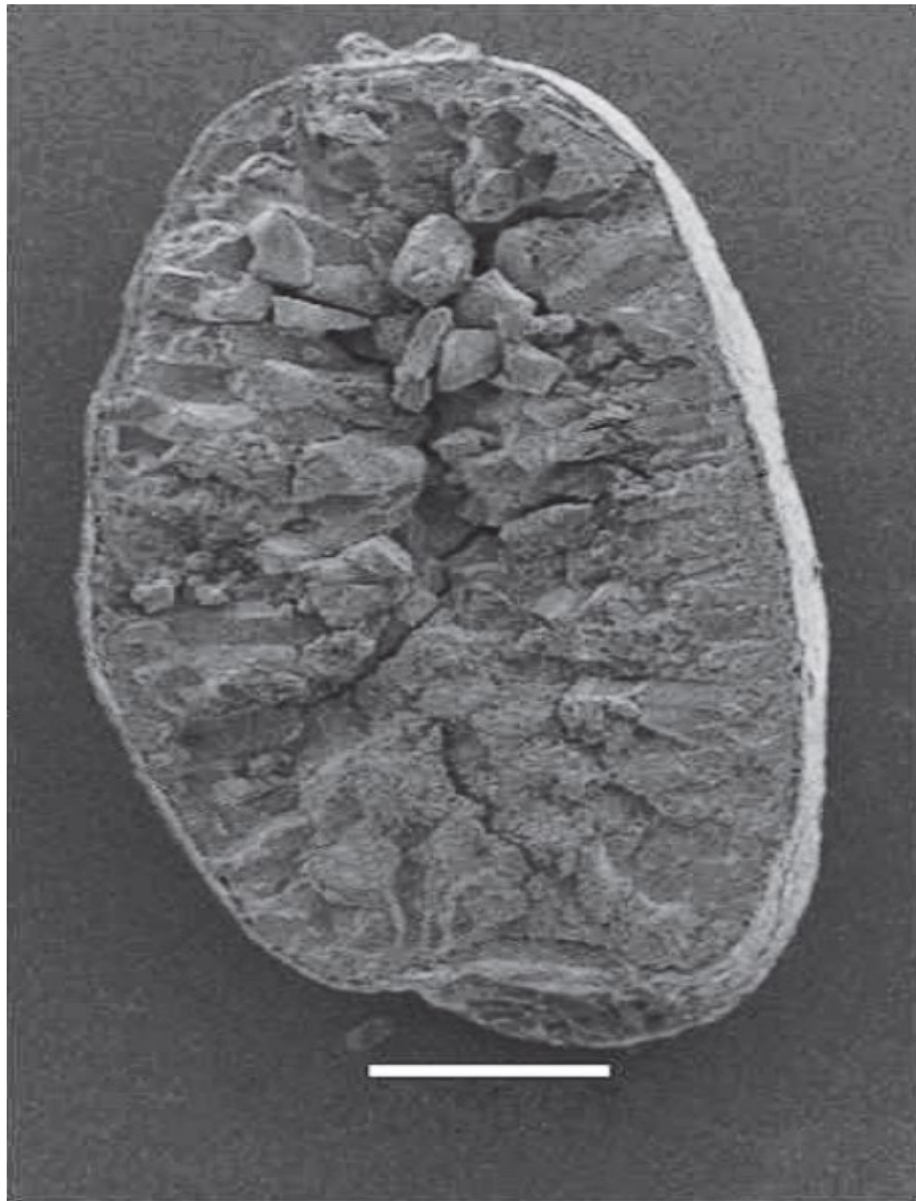
Obilka má oválný tvar, shora dolů jí prochází rýha. Na jednom konci se nachází zárodek, na opačném konci několik vlásků. Obilku tvoří tři hlavní části, a to obalové vrstvy, endosperm a zárodek. Jednotlivé zastoupení částí se liší v závislosti na botanickém druhu, odrůdě, podmínkách pěstování atd. Průměrně platí, že z celkové hmotnosti zrna připadá 83 – 89 % na endosperm, 1,5 – 2,3 % na embryo a 8,0 – 14,5 % na obalové vrstvy.



Obr. č.:2 Rostlina miličky habešské (1 – horní část květu, 2 – část květenství s klásky) [14].

Endosperm tvoří vnitřní část zrna. Jsou zde uloženy zásobní látky – škrob, který tvoří asi dvě třetiny endospermu a bílkoviny. Látky v endospermu slouží jako zásobárna pro vznik nové rostliny a také mají podstatný technologický význam. Mezi endospermem a obalovými vrstvami se nachází aleuronové buňky, které tvoří přibližně 6,5 % hmotnosti zrna. Aleuronovou vrstvu tvoří vrstva buněk ve tvaru krychlí, pro které je typický vysoký podíl bílkovin, nikoli zásobních. Dále se zde nachází tuky, vitamíny a minerální látky. Zárodek je část zrna umožňující vznik nové rostliny. Z vnější části ho kryje oplodí a osemení a štítkem přiléhá k endospermu. Štítek obsahuje až 33 % nezásobních bílkovin. Obsahuje tuky, vitamíny rozpustné v tucích a vitamíny skupiny B. Obalové vrstvy se člení na oplodí, osemení a hyalínovou membránu. Jsou tvořeny vlákninou (celulózou a hemicelulózami), minerálními látkami jako je vápník, železo, hořčík, křemík, fosfor. Jejich funkce je chránit obilku před vnějšími

vlivy, zejména pak mechanickým a mikrobiologickým poškozením. Vnitřní obalové vrstvy regulují vlhkost endospermu [15].



Obr. č.: 3 Mikroskopické znázornění podélného řezu zrna [10].

Kořenový systém miličky je mělký, vláknitý a rozmanitý [12]. Stébla miličky jsou tenká, vzpřímená a lysá. Pochvy listu jsou hladké, lysé a výrazně kratší než internodia. Květenství je typu lata, dlouhé 10 – 40 cm. Je oboupohlavní, obsahuje tedy jak pestíky, tak i tyčinky. Kvítka na každém klásku jsou tvořena třemi prašníky, dvěma bliznami a dvěma lůžky, které podporují otevření květu [16].



### 1.3 Pěstování a výnos

V Etiopii je milička pěstována jako hlavní plodina pro lidskou výživu i krmení dobytka. Představuje také záložní zdroj v případě krize či nedostatku obilovin jako je kukuřice, čirok nebo pšenice. Milička je pěstována jednak z důvodu vysoké výkupní ceny, rychlého růstu, který potlačuje vznik většiny plevelů a také díky brzké sklizni [17]. Zaujímá zde největší podíl osevní plochy. Je pěstována na 2,1 mil. ha a pokrývá 28 % z celkové plochy pěstovaných obilovin [18]. Její produktivita se v posledních deseti letech zvýšila o 30 %. V Etiopii je spolu s kukuřicí, čirokem a pšenicí nejpěstovanější obilovinou [19]. V posledních letech se milička habešská stává předmětem genového výzkumu v Etiopii i mimo její území. Cílem je zlepšení její produktivity a odstranění problémů spojené s jejím pěstováním [20].

*Tabulka č.: 1* Obdělávaná půda, celková produkce, výnos zrna obilovin pěstovaných v Etiopii (průměry dvou let z období 2009/2010) [21].

Plodina	Obdělávaná půda		Celková produkce obilovin		Výnos (t.ha <sup>-1</sup> )
	milion ha	%	milion t	%	
Milička	2,59	28,14	3,18	20,47	1,228
Kukuřice	1,77	19,22	3,90	25,09	2,199
Pšenice	1,68	18,23	3,08	19,80	1,827
Čirok	1,62	17,53	2,97	19,13	1,421
Ječmen	1,13	12,30	1,75	11,27	1,550
Proso	0,37	4,00	0,52	3,37	1,421
Oves	0,02	0,26	0,03	0,21	1,375
Rýže	0,05	0,52	0,10	0,66	2,160
Celkem	9,23	100,00	15,53	100,00	–

Milička je spolehlivou obilovinou i v případě nepředvídatelného podnebí, zejména sucha. Je odolná, i co se týče pěstování v horských oblastech a pěstování miličky je již postupně zaváděno i do vyšších poloh, jakožto budoucí přínos pro hospodářství venkova [16]. Bílá milička je pěstována v nadmořské výšce 1 800 – 2 400 m, zatímco milička hnědá může být pěstována i v nadmořské výšce nad 2 400 m. Optimální teplota pro růst se pohybuje v rozmezí 25 – 28 °C [22].

Velmi rané typy miličky se sklízí již po 45 – 60 dnech, rané typy po 60 – 120 dnech a pozdní typy do 160 dnů. Limitujícími faktory ovlivňujícími výnos jsou málo úrodné půdy, především nedostatek živin jako je dusík a fosfor. Dále také nedostatečné zpracování a obdělávání půdy s možným výskytem plevelů [23]. Zrno je velmi snadno ukládáno a přežije i několik let v běžných skladech bez poškození hmyzem. Hlavním problémem při sklizni je malá velikost zrna [24]. Sláma po vymlácení zrna se nazývá ch'ed a je významným zdrojem krmiva pro zvířata, především v období sucha [11].

#### 1.4 Užití v potravinářském průmyslu

Komerční pěstování miličky se rozšířilo například i do Spojených států amerických, neboť vzrostla poptávka od Etiopanů, Eritrejců a Somálců, žijících mimo africký kontinent. V Evropě a Spojených státech došlo k obeznámení s etiopskou kuchyní prostřednictvím vznikajících etiopských restaurací. Díky dobré rovnováze aminokyselin, vysokému obsahu železa, vápníku a zinku je milička vhodnou dietetickou surovinou. Absence lepku zaručuje její vhodnost pro pacienty trpící onemocněním celiakie. Výhodou je také pomalé uvolňování sacharidových složek, což je vhodné pro pacienty trpící onemocněním diabetes.

Milička má také dobré předpoklady pro její zabudování do produktů, které slouží jako zahusťovač polévek a omáček, čímž nahrazuje pšeničný škrob. Kvůli její mírné sladkosti je vhodné použít ji na přípravu kaší, palačinek, vdolků, sušenek, koláčů a pudinků [24,25]. Zrno miličky se rozemele na mouku pro výrobu tradičních afrických pokrmů, jako je injera, sladký nekvašený chléb (kitta), kaše a alkoholické nápoje. Zrna jsou očištěna a následně sušena, buď tradičním způsobem na kladivovém mlýnku nebo na mlýnku poháněném elektrickou energií. Zrno se sype do centrálního otvoru a spadá mezi dva mlýnské kameny, kde dochází k pomletí. Získaným produktem je tedy mouka rozemletá z celého zrna, správné označení by spíše znělo jako šrot z miličky [10].

##### 1.4.1 Injera

V Etiopii je injera základní potravinou. Injera může být vyrobena z miličky bílé, červené i hnědé, což se odráží i ve výsledném obsahu kalorií, bílkovin, sacharidů, fosforu a dalších složek. Jedná se o plochý fermentovaný chléb, pro jehož výrobu je typické použít právě mouku z miličky, z důvodu její vyšší nutriční hodnoty ve srovnání s ostatními obilovinami

jako je pšenice, ječmen, čirok, kukuřice nebo rýže. Injera se připravuje smícháním základních složek, kterými je mouka a voda v poměru 1:1. Na fermentaci se podílejí bakterie mléčného kvašení, rody *Leuconostoc*, *Streptococcus*, *Pediococcus* a *Lactobacillus*. Dále kvasinky rodu *Saccharomyces*, *Torulopsis* a *Candida* a plísně rodu *Pullaria*, *Aspergillus*, *Penicillium*. Dochází k přirozené fermentaci, která trvá asi 24 – 72 hodin v závislosti na okolní teplotě, nebo může být zahájena přidáním startovacích kultur z předchozí dávky fermentace, tzv. irsho. Těsto se vaří několik minut ve vroucí vodě, čímž je zajištěna správná struktura a konzistence. Poté se chléb peče a přes noc suší při teplotě 40 °C. Injera je obvykle konzumována s masem, zeleninou a luštěninami [10,26,27].



Obr. č.: 4 Injera [28].

## 2 CHEMICKÉ SLOŽENÍ

Milička habešská je zpracovávána a následně konzumována jako celé zrno, včetně obalových vrstev. Z tohoto důvodu má i vyšší nutriční kvalitu oproti ostatním hlavním obilovinám, tedy pšenici, ječmeni a kukuřici [29].

Škrob miličky je zvolna stravitelný a tudíž má nízký glykemický index. Zrno miličky má příznivé složení aminokyselin, je dobrým zdrojem nenasycených mastných kyselin a neobsahuje lepek. Je tedy možné jeho užití k výrobě bezlepkového pečiva pro pacienty trpící celiakií. Představuje také bohatý zdroj minerálních látek, zejména železa a vápníku. Vysoký obsah vlákniny a relativně dobrý obsah fotochemikálií činí miličku dobrým kandidátem pro funkční potraviny podporující zdraví a prevenci onemocnění, jako je diabetes, chudokrevnost a osteroporóza [30].

Chemické složení mouky miličky hnědé a bílé je v následující tabulce č. 2 srovnáno s dalšími obilovinami kultivovanými v Etiopii, jako je pšenice a rýže.

Tabulka č.: 2 Chemické složení mouky z miličky, pšenice a rýže [25].

	Vlhkost (%)	Bílkoviny (%)	Popel (%)	Lipidy (%)	Sacharidy (%)	Škrob (%)	Amylóza (% ze škrobu)
Milička hnědá	10,5	8,9	2,71	2,84	85,6	75,5	21,6
Milička bílá	10,3	10,5	3,52	2,63	83,4	74,0	21,8
Pšenice	12,1	12,7	0,69	1,47	85,1	78,8	23,2
Rýže	12,2	7,8	0,67	1,35	90,5	87,7	21,7

### 2.1 Sacharidy

Obsah sacharidů v zrně se může významně lišit v závislosti na lokálních půdách, klimatických podmínkách a agronomických technologiích. Obsah volných cukrů v obilce je asi 1 – 4 %, v době klíčení se jejich obsah zvyšuje. Do mouky se jich dostává velmi málo, maximálně 3 %. Monosacharidy (arabinóza, xylóza, glukóza, fruktóza, galaktóza) a disacharidy

(sacharóza, maltóza) jsou přítomny především v klíčku, kde sehrávají významnou biologickou funkci. Sacharóza a maltóza jsou zastoupeny ve velmi nízkých koncentracích. Trisacharid rafinóza je přítomen v klíčku. Ve 100 g mouky miličky habešské je počet stravitelných sacharidů 59 g, což odpovídá 67 % sušiny [15,31].

Polysacharidy patří spolu s bílkovinami k nejdůležitějším komponentům ovlivňující technologické vlastnosti výrobků. Jejich funkce je zásobní a stavební [15,32,33]. Mezi neškrobové polysacharidy vyskytující se v zrně patří celulóza, hemicelulózy, pentózy,  $\beta$ -glukany. Celulóza je základem vlákniny, která je důležitou součástí potravy a má příznivý účinek na zdraví. Další polysacharidy tvořící vlákninu jsou hemicelulózy, pektin, chitin, rostlinné gumy a slizy. Vlákna je také tvořena oligosacharidy, rezistentními škroby, modifikovanou celulózą, ligninem a doprovodnými látkami [15,32,34,35].

Vlákninu lze dělit na nerozpustnou a rozpustnou, i když je to poněkud zavádějící terminologie. Nerozpustnou vlákninu tvoří převážně celulóza, některé typy hemicelulóz a lignin [35].

*Tabulka č.: 3 Obsah vlákniny ve 100 g vzorku mouky vybraných obilovin [31].*

	Amarant	Pohanka	Žito	Milička	Quinoa	Pšenice
Nerozpustná vláknina [g.100 g <sup>-1</sup> ]	7,91	5,81	7,81	6,52	9,13	1,28
Rozpustná vláknina [g.100 g <sup>-1</sup> ]	5,66	6,12	4,42	4,23	5,37	0,91
Celkový obsah vlákniny	13,57	11,94	12,23	10,74	14,5	2,19

Nejdůležitějším polysacharidem je škrob, který tvoří až 73 % hmotnosti suchého zrna. Škrobová zrna miličky jsou tvořena nesourodou směsí polygonálních jednoduchých drobných granulí o rozměrech 2 – 6  $\mu\text{m}$ , ovšem v porovnání s amarantem, quinoou a rýží jsou granule větší. Granule škrobu jsou tvořeny rozvětvenými frakcemi amylopektinu a lineárními frakcemi amylozy. Teplota mazovatění škrobu miličky se pohybuje v rozmezí 68 – 80 °C a příliš se neliší od ostatních obilovin. Škrob je schopen gelovatět a díky tomu je přidáván do mnoha potravinářských produktů, kde ovlivňuje jejich viskozitu a texturu [10,36,37]. V následující tabulce č. 4 je uveden obsah škrobu miličky a ostatních obilovin.

Tabulka č.: 4 Obsah celkového škrobu a amylozy ve vybraných obilovinách [37].

	Celkový škrob [g.100 g <sup>-1</sup> ]	Amylóza [% ze škrobu]
Milička	57,77	19,72
Pšenice	68,06	21,10
Rýže	77,52	21,38
Oves	69,38	20,42
Quinoa	48,88	4,62
Pohanka	61,35	15,95
Čirok	73,20	18,18
Kukuřice	71,52	22,91

## 2.2 Bílkoviny

Technologickou kvalitu zrna ovlivňují mimo škrobu také obsah a vlastnosti bílkovin. Dle Osbornova dělení, které je založeno na rozpustnosti, lze bílkoviny rozdělit na čtyři základní frakce:

- albuminy rozpustné ve vodě,
- globuliny rozpustné v solných roztocích,
- prolaminy rozpustné v 70 – 90 % alkoholu,
- gluteliny rozpustné ve zředěných roztocích kyselin a zásad [15].

V miličce habešské se obsah bílkovin pohybuje v rozmezí 8,7 – 11,0 % [36]. Hlavními zásobními bílkovinami jsou gluteliny (44,55 %) a albuminy (36,60 %). Tyto typy bílkovin jsou všeobecně uznávány jako vysoce stravitelné [10]. Prolaminy jsou zastoupeny v množství 11,8 % a globuliny v množství 6,7 % [8]. Prolaminy miličky ve srovnání s prolaminou čiroku jsou více hydrofilní, méně polymerizované a mají nižší tepelnou stabilitu [38].

Molekuly proteinů jsou tvořeny různě dlouhými řetězci aminokyselin, které jsou vzájemně spojeny peptidovou vazbou [39]. Složení aminokyselin v miličce je dobře vyvážené. Lyzin, hlavní limitující aminokyselina v obilovinách, je zde zastoupen v relativně vysoké koncentraci. Nejvíce zastoupenými aminokyselinami jsou kyselina glutamová, alanin, prolin, kyselina asparagová, leucin a valin [10]. V porovnání s ostatními obilovinami je v miličce vyšší obsah izoleucinu, leucinu, valinu, tyrozinu, treoninu, metioninu, fenylalaninu, argininu, alaninu a histidinu [30].

Tabulka č.: 5 Složení aminokyselin miličky v porovnání s ostatními obilovinami [10].

AMK [g v 16,8 g N]	Milička	Pšenice	Rýže	Čirok	Ječmen
Alanin	10,1	3,5	5,5	1,5	4,5
Arginin	5,1	3,5	8,5	0,6	4,7
Asparagin a kyselina asparagová	6,4	5,1	9,0	–	4,6
Cystein	2,5	2,4	1,8	0,3	2,2
Glutamin a kyselina glutamová	21,8	29,5	17,0	–	18,8
Glycin	3,1	4,0	4,5	0,5	3,3
Histidin	3,2	2,1	2,3	0,3	2,1
Izoleucin	4,1	3,7	4,5	0,6	3,6
Leucin	8,5	7,0	8,2	2,1	6,7
Lyzin	3,7	2,0	3,7	0,3	3,4
Metionin	4,1	1,5	2,7	0,3	1,7
Fenylalanin	5,7	4,9	5,5	0,9	5,1
Prolin	8,2	10,1	5,0	1,3	9,6
Serin	4,1	5,0	5,0	0,8	3,5
Treonin	4,3	2,7	3,7	0,5	3,3
Tryptofan	1,3	1,1	1,2	0,2	1,5
Tyrozín	3,8	2,3	5,2	0,7	3,1
Valin	5,46	4,1	6,0	0,8	5,0

### 2.3 Lipidy

Obsah lipidů v obilí je velmi nízký, přesto jsou významným zdrojem esenciálních mastných kyselin a ovlivňují kvalitu potravin. Jejich přítomnost v mouce způsobuje její žluknutí spojené s nepříjemným zápachem. Zrno miličky ve 100 g obsahuje průměrně 2,38 % lipidů, z čehož nasycené mastné kyseliny tvoří 0,45 %, monoenoové kyseliny 0,59 % a polyenoové 1,07 %. Z ostatních obilovin je nejvíce lipidů zastoupeno v ovsu (6,9 %), kukuřici (4,9 %), prosu (4,2 %) a čiroku (3,4 %) [10,37].

Tabulka č.: 6 Složení mastných kyselin v zrně miličky v porovnání s ostatními obilovinami, uvedeno v % [30].

	Milička	Kukuřice	Čirok	Pšenice	Rýže
Obsah lipidů [%]	2,5	4,9	3,9	2,0	2,2
Polyenové mastné kyseliny	1,1	1,8	1,4	0,5	0,8
Linolová (LA)	0,9	1,7	1,3	0,5	0,78
$\alpha$ -linolenová kyselina (ALA)	0,14	0,05	0,07	0,03	0,03
Poměr LA:ALA	7:1	34:1	20:1	17:1	26:1

## 2.4 Minerální látky

Popel je anorganický zbytek získaný spálením obilky, je ukazatelem obsahu minerálních látek. Nejvíce je jich zastoupeno v obalových vrstvách, nejméně v endospermu [39]. Množství popele miličky habešské se v průměru pohybuje v rozmezí 2 až 3 %. Je bohatá především na železo, vápník, draslík a fosfor [36]. Zejména je bohatá na železo. Obsah minerálních látek oproti pšenici, ječmenu a čiroku je tedy až trojnásobný. Zrno miličky je celé rozemleto na mouku, přičemž většina minerálních látek přechází do zpracovaných potravin. Vysoká dostupnost železa má za následek nízkou frekvenci výskytu anémie u obyvatelstva Etiopie [13].

Tabulka č.: 7 Obsah popela v % a obsah minerálních látek v mouce v  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  [37].

	Milička	Pšenice	Rýže	Oves	Quinoa	Pohanka	Čirok	Kukuřice
Popel	2,2	0,9	0,5	0,8	2,4	1,7	1,0	0,4
Ca	1543,0	1797,7	50,7	224,3	497,3	148,2	97,6	33,2
Mg	1689,7	244,0	338,0	392,7	2299,0	1736,0	849,7	315,7
Na	59,8	38,1	15,1	16,7	37,0	10,8	4,9	4,8
K	3827,7	1520,3	973,7	1743,7	5537,7	4022,7	2581,0	487,0
Fe	85,3	13,4	6,0	16,4	53,5	28,5	26,7	9,1
Cu	9,3	1,51	2,2	2,7	7,7	5,1	1,8	0,9
Mn	34,5	8,3	7,3	27,7	13,5	11,8	11,3	1,5
Zn	41,5	7,6	17,8	11,3	32,8	18,8	10,0	6,6
Cl <sup>-</sup>	481,0	825,6	350,6	670,0	433,8	144,0	402,8	484,2
P	3617,0	908,7	954,7	1476,0	4415,7	2787,0	1631,0	813,7



V tabulce číslo 8 je zobrazeno zastoupení hlavních minerálních látek v zrna miličky bílé, červené a smíšené a jejich množství v tradičně připravovaných afrických pokrmech.

Tabulka č.: 8 Obsah zinku, železa, vápníku, fytátu v mg.100 g<sup>-1</sup> [40].

	Zinek [mg.100 g <sup>-1</sup> ]	Železo [mg.100 g <sup>-1</sup> ]	Vápník [mg.100 g <sup>-1</sup> ]	Fytáty [mg.100 g <sup>-1</sup> ]
Milička hnědá (celé zrno)	4,02	> 150,00	155,0	675
Milička smíšená (celé zrno)	3,86	> 150,00	147,0	528
Milička bílá (celé zrno)	2,86	37,70	124,0	842
Nekvašené těsto	57,00	1,38	6,8	65
Injera: těsto fermentované z bílé miličky	71,60	1,11	6,8	36
Injera: těsto fermentované ze smíšené miličky	67,80	0,93	7,0	35
Injera: těsto fermentované z červené miličky	56,50	1,75	70,9	76

## 2.5 Vitamíny

Obiloviny jsou zdrojem především vitaminů skupiny B. Naopak díky nízkému obsahu lipidů je zde nízký obsah vitaminů rozpustných v tucích (D, E, K) [15]. Ve 100 g vzorku miličky je obsaženo 0,39 mg tiaminu, 0,27 mg riboflavinu, 3,36 mg niacinu a 0,48 mg pyridoxinu. Obsah tiaminu ve srovnání s ostatními obilovinami je nižší [10].

## 2.6 Fytáty

Fosfor se v semenech obilovin a luštěnin nachází ve formě fytátů. Obsah fytátů v miličce je srovnatelný s hodnotami celozrnných obilovin. Vysoké hodnoty mohou mít za následek zhoršení mechanismu vstřebávání železa a zinku, kdy dochází k vytvoření nerozpustných komplexů v gastrointestinálním traktu. K jejich degradaci může dojít pomocí endogenních fytáz, které je možno aplikovat běžnými potravinářskými technikami, jako je namáčení, kvašení, klíčení a vaření. Na druhou stranu byl prokázán i jejich vliv při tvorbě ledvinových

kamenů, kdy slouží jako inhibitory krystalizace vápenatých solí v biologických tekutinách. Snižují také hladinu glukózy a mají protirakovinné vlastnosti [30].

Některé potraviny také mohou obsahovat vysoké množství kyseliny fytové a tříslovin, jež narušují biologickou dostupnost zinku a železa. Inhibiční účinek kyseliny fytové na absorpci zinku a železa se projevuje tvorbou nerozpustných komplexů ve střevech. Ačkoli je milička bohatá na zinek a železo, přítomné inhibitory jako kyselina fytová a taniny snižují její biologickou hodnotu. Množství taninů v miličce je 16 mg ve 100 g sušiny vzorku. Fermentací je možné snížit množství fytátů ve výsledné potravíně [41]. Množství fytátů v miličce a u ostatních obilovin je znázorněno v následující tabulce.

Tabulka č.: 9 Množství fytátů ve vybraných obilovinách [37].

	Množství fytátů [g.100 g <sup>-1</sup> ]
Milička	1,52
Rýže	0,21
Oves	0,27
Quinoa	1,34
Pohanka	0,64
Čirok	0,49
Kukuřice	0,09
Pšenice	0,16

## 2.7 Polyfenoly

Polyfenoly jsou sekundární metabolity rostlin. Jedná se o heterogenní skupinu molekul (benzenová jádra s jednou nebo více hydroxylových skupin), které se podílejí na obraně proti patogenům, ultrafialovému záření a ochraňují buňky před oxidačním poškozením.

Nejvíce polyfenolů je zastoupeno v červeném čiroku, a to 1607 mg GAE ve 100 g. Milička obsahuje 140 mg GAE ve 100 g. V miličce je hlavní fenolovou sloučeninou kyselina ferulová (285,9 mg.g<sup>-1</sup>). Dále je zde zastoupena také kyselina syringová (14,9 μg.g<sup>-1</sup>), gentisová (15,0 μg.g<sup>-1</sup>), vanilová (54,8 μg.g<sup>-1</sup>), kumarová (36,9 μg.g<sup>-1</sup>) a skořicová (46,0 μg.g<sup>-1</sup>) [10, 30, 37].

Ve studii [42] byl měřen celkový obsah fenolických látek ve vzorcích mouky několika obilovin. Výsledky jsou zaznamenány v tabulce č. 10.

*Tabulka č.: 10* Obsah fenolických látek ve vybraných vzorcích obilovin [42].

	Milička	Pšenice	Kukuřice	Tapioka
Množství fenolických látek [mg GAE.100 g <sup>-1</sup> ]	123,6	37,0	65,8	45,6

### 3 PRINCIPY METOD POUŽITÝCH V EXPERIMENTÁLNÍ ČÁSTI

#### 3.1 Stanovení vlhkosti referenční metodou

Princip metody stanovení vlhkosti referenční metodou spočívá v sušení předem zváženého rozemletého vzorku miličky habešské dle normy ČSN EN ISO 712 (461014). Norma definuje vlhkost jako úbytek hmotnosti výrobku, ke kterému dojde za podmínek definovaných v této normě. Vzorek je sušen při  $130 \pm 3$  °C po dobu jedné hodiny. Výsledek je následně prezentován v % [43].



Obr. č.: 5 Sušárna Venticell [44]

#### 3.2 Stanovení popele

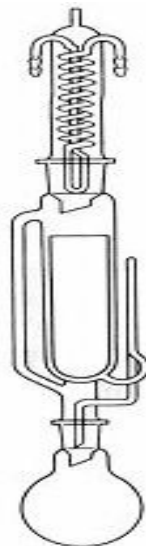
Stanovení popele je prováděno dle normy ČSN ISO 2171 (461019). Mezi spálené minerální látky a vyžíhané organické hmoty patří draselné, hořečnaté, sodné a vápenaté soli fosforečnanů, hydrogenfosforečnanů, dihydrogenfosforečnanů, chloridů, křemičitanů, síranů a dalších. Popel je definován jako nespalitelný zbytek získaný po spalování vzorku v souladu s danou metodou. Principem metody je spálení předem zváženého množství rozemletého vzorku při teplotě 550 °C v muflové peci po dobu alespoň 4 hodin. Výsledek je následně prezentován v % [45].



Obr. č.: 6 Muflová pec [46]

### 3.3 Stanovení obsahu lipidů

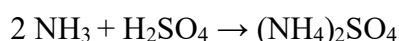
Stanovení obsahu tuku se provádí extrakcí rozemletého a vysušeného vzorku. Jako lipofilní rozpouštědlo se využívá n-hexan nebo dietyléter. Tuk se stanovuje gravimetricky po extrakci v Soxhletově extraktoru s použitím Twisselmannova nástavce nebo v zařízeních k tomu uzpůsobených.



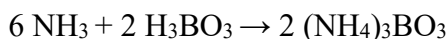
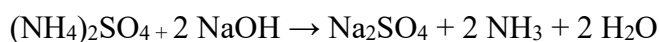
Obr. č.: 7 Soxhletův extraktor [47]

### 3.3 Stanovení obsahu dusíku dle Kjeldahla s následným přepočtem na obsah hrubých bílkovin

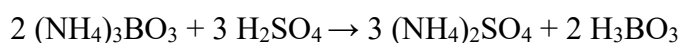
Stanovení obsahu dusíku se řídí normou ČSN EN ISO 20483 (46 1401). Výpočet obsahu bílkovin vychází ze stanovení veškerých dusíkatých látek Kjeldahlovou metodou s využitím např. Parnas-Wagnerovy aparatury a následným přepočtem na hrubou bílkovinu dle faktoru pro příslušnou potravinu. Princip metody spočívá v mineralizaci vzorku mokrou cestou kyselinou sírovou s přidavkem směsného katalyzátoru (např.  $\text{Na}_2\text{SO}_4 + \text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , poměru 10:1) a peroxidu vodíku. Varem (400 °C, 1 h) s koncentrovanou kyselinou sírovou dojde k mineralizaci organické dusíkaté látky. Dusík přítomen ve formě aminových a jiných funkčních skupin se převede na amoniak.



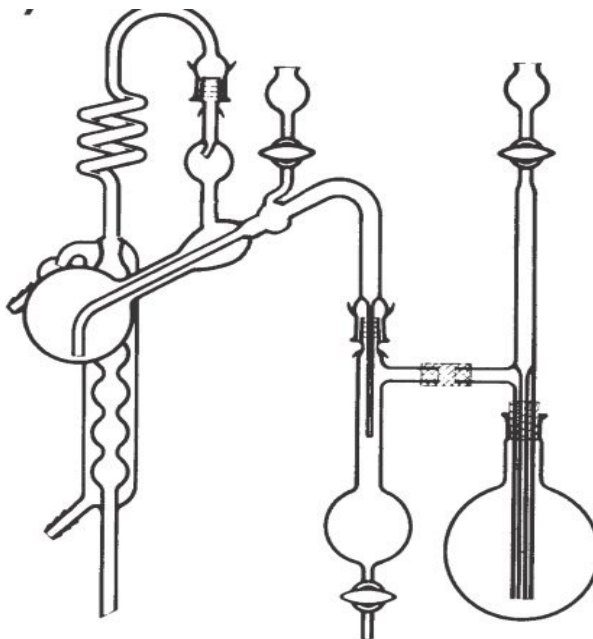
Alkalizací mineralizovaného vzorku přidáním 30% NaOH dojde k uvolnění amoniaku, který se kvantitativně predestiluje s vodní parou do předlohy s kyselinou trihydrogenboritou.



Vzniklý boritan amonný se titruje zředěnou kyselinou sírovou na indikátor Tashiro.



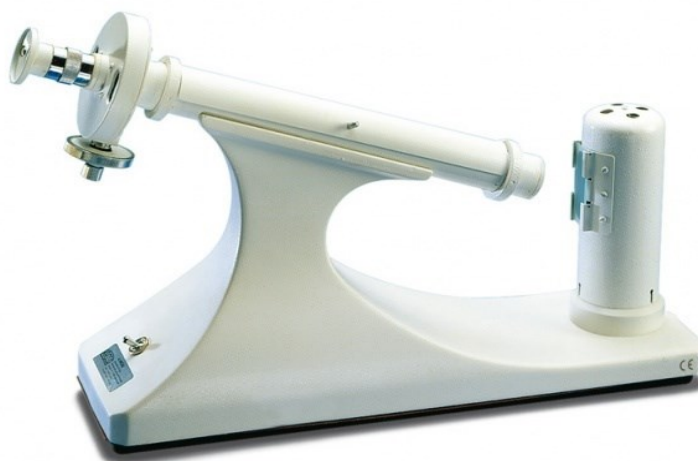
Z množství spotřebované kyseliny sírové se vypočte obsah dusíku a ten se přepočítá na obsah hrubé bílkoviny vynásobením příslušným přepočítávacím faktorem (u miličky je tento faktor 6,25). Výsledek je prezentován v % [48,49].



Obr. č.: 8 Parnas-Wagnerova aparatura [50].

### 3.4 Stanovení škrobu dle Ewarse

Principem metody pro stanovení obsahu škrobu po jeho kyselé hydrolyze a následném přesrážení vzorku Carezzovými roztoky je využití fyzikální vlastnosti, kterou je specifická otáčivost. Úhel otočení roviny polarizovaného světla je závislý na povaze analyzované látky, rozpouštědla, také na teplotě a vlnové délce. Škrob je díky přidavku zředěné kyseliny chlorovodíkové a působením tepla převeden na rozpustnou formu. Po vyčeření Carrezovým činidlem I a II je výsledný roztok podroben měření úhlu stáčení roviny polarizovaného světla v polarimetrické trubici polarimetru. Výsledný obsah škrobu se vypočítá vynásobením stupňů odečtených na stupnici Soleil-Ventzkeho příslušným přepočítávacím faktorem a výsledek je uveden v % [51,52].



Obr. č.: 9 Polarimetr [53].

### 3.5 Stanovení hrubé vlákniny

Principem stanovení je kombinace kyselé a zásadité hydrolýzy, které je vzorek podroben a následné spálení zbytku vzorku. V podmínkách laboratoří na FT UTB ve Zlíně je využívána modifikovaná metoda dle Hennenberga a Stohmanna. Navážení vzorku se provádí do filtračního sáčku F57 (Ankom Technology, USA), které jsou poté umístěny do zařízení Ankom Fibre<sup>220</sup> (Ankom Technology, USA), kde po přidavku  $H_2SO_4$  probíhá hydrolýza při  $100\text{ }^\circ\text{C}$ , následně je vzorek podroben alkalické hydrolýze v prostředí NaOH. Po opětovném promytí destilovanou vodou jsou sáčky vyjmuty, vysušeny v sušárně, zváženy a následně spáleny v muflové peci. Výsledek obsahu hrubé vlákniny je uváděn v % [54].





Obr. č.: 10 Zařízení Ankom [55].

### 3.6 Stanovení stravitelnosti kombinovanou hydrolýzou pepsinem a pankreatinem

Pro stanovení stravitelnosti vybraných vzorků byla využita metoda kombinované hydrolýzy pepsinem a pankreatinem, modifikace metody dle [56] metodou *in vitro* s použitím inkubátoru Daisy (Ankom Technology, USA) a speciálních sáčků F57 (Ankom Technology, USA). Stravitelnost organické hmoty OMD (Organic Matter Digestibility) a stravitelnost sušiny DMD (Dry Matter Digestibility) byla stanovena působením enzymu pepsinu (z vepřové žaludeční sliznice, 0,7 FIP-U/g, Merk KGaA, Německo) a pankreatinu (z vepřové slinivky, proteázová aktivita 350 FIP-U/g, lipázová aktivita 6000 FIP-U/g, amylázová aktivita 7500 FIP-U/g Merk KGaA, Německo) u syrového a vařeného zrna. Principem této metody byla simulace podmínek trávicích enzymů působících v lidském gastrointestinálním traktu.

### 3.7 Stanovení flavonoidů

Principem je tvorba barevného komplexu flavonoidů s  $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  v zásaditém prostředí. Stanovení bylo prováděno na spektrofotometru Lambda 25, absorbance byla měřena při vlnové délce 506 nm oproti blanku. Z naměřených hodnot absorbancí byl pomocí lineární regrese vypočítán celkový obsah flavonoidů ve vzorku, vyjádřený jako ekvivalentní množství mg rutinu v 1 kg vzorku [57].



Obr. č.: 11 Spektrofotometr Lambda 25 [58].

### 3.8 Stanovení polyfenolů pomocí Folin-Ciocalteuova činidla spektrofotometricky

Polyfenoly obsažené v extraktu reagují s Folin-Ciocalteuovým činidlem za vzniku modrého zbarvení. Tento vzniklý modrý komplex může být fotometrován pomocí spektrofotometrie ve VIS oblasti spektra. Modře zbarvený komplex absorbuje při vlnové délce 765 nm. Folin-Ciocalteuovo činidlo je tvořeno kyselinou fosfowolframovou a fosfomolybdenovou, které po oxidaci polyfenoly redukují na směs modrých oxidů wolframu a molybdenu. Výsledek byl vyjádřen jako ekvivalenty kyseliny gallové, která byla použita jako standard [59,60,61].

### 3.9 Stanovení antioxidační aktivity

Antioxidační aktivitu lze definovat jako schopnost sloučeniny, či směsi látek inhibovat oxidační degradaci různých sloučenin, například zabránit peroxidaci lipidů apod. [62].

Pro měření antioxidační aktivity lze uplatnit metody chemické a fyzikálně-chemické. Chemické metody jsou založeny na použití činidel, které poskytují s volnými radikály barevné produkty, jejichž vzniku zabráňují antioxidanty přítomné ve vzorku. Fyzikálně-chemické metody se zabývají změnou fyzikálních vlastností, které doprovází procesy chemických reakcí a změny obsahu jednotlivých látek [63]. K přírodním látkám s antioxidačním účinkem lze řadit vitamin C, E a karotenoidy. Vysokou antioxidační aktivitu vykazují také polyfenolické sloučeniny, kam řadíme např. flavonoidy, katechiny nebo fenolické kyseliny [64].

### 3.9.1 Metoda ABTS

Metoda ABTS je jedna z nejvíce používaných metod. Princip stanovení je založen na neutralizaci radikál-kationtu vzniklého jedno elektronovou oxidací syntetického chromoforu ABTS (2,2'-azinobis(3-etylbenzotiazolin-6-sulfonátu). Metoda je také označována jako TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity), neboť výsledná antiradikálová aktivita je srovnána s antiradikálovou aktivitou syntetické látky troloxu (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-karboxylové kyseliny). Při zhášení je radikál ABTS• redukován, dochází ke změně barvy roztoku. Reakce je monitorována spektrofotometricky, měří se změna absorbance. Reakční směs byla spektrofotometricky proměřena oproti blanku při vlnové délce 734 nm. Inaktivace vyjádřená v % byla pomocí rovnice lineární regrese vyjádřená z kalibrační křivky a přepočtena na ekvivalentní množství mmol troloxu na 1 kg vzorku [64,65,66].

### 3.9.2 Metoda DPPH

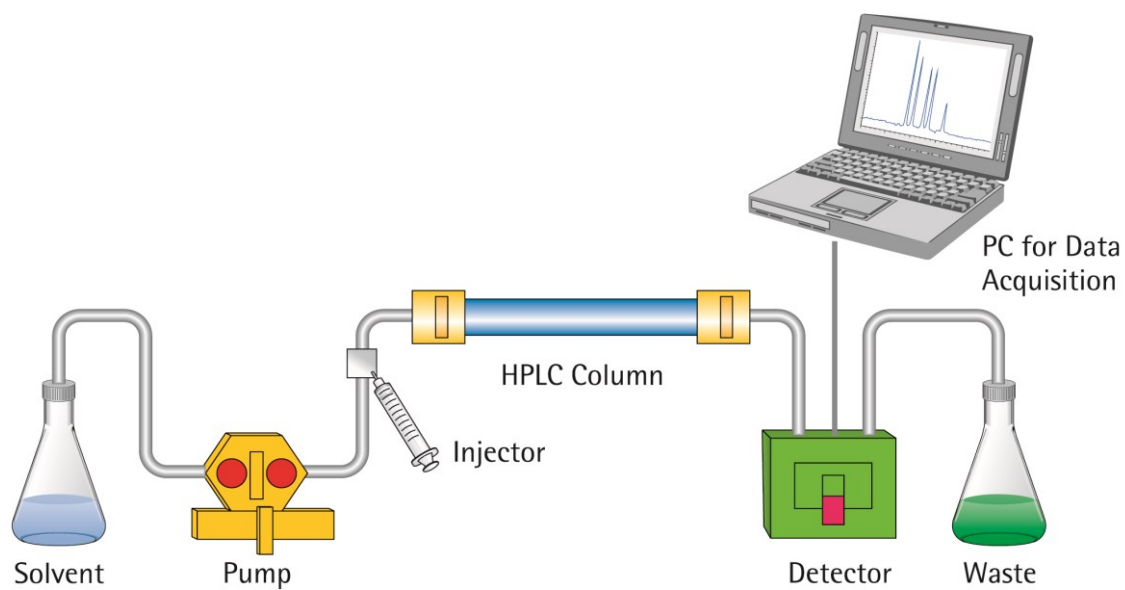
Metoda DPPH je založena na principu schopnosti stabilního volného radikálu 2,2-difenyl-1-pikrylhydrazylu reagovat s donory vodíku. DPPH• se vyznačuje silnou absorpcí v UV-VIS spektru. Při této metodě dochází po reakci s antioxidantem (AH) nebo radikálem (R•) k odbarvení roztoku dle reakce:



Vzorek byl následně proměřen spektrofotometricky při vlnové délce 515 nm. Inaktivace byla pomocí rovnice lineární regrese přepočtena na ekvivalentní množství mmol troloxu na 1 kg vzorku [65].

## 3.10 Stanovení vybraných polyfenolických látek metodou HPLC

Stanovení vybraných polyfenolických látek ve vzorcích bylo provedeno metodou HPLC. Jedná se o rychlou a vysokoúčinnou kapalinovou chromatografii. K dělení látek je využívána chromatografická kolona a kapalná mobilní fáze. O separaci složek rozhoduje interakce vzorku se stacionární fází a použitá mobilní fáze. V průběhu separace složek se vzorek rozděluje mezi mobilní a stacionární fází. Čas strávený v jedné či druhé fázi je závislý na afinitě vzorku ke každé z nich. Separace probíhá všemi možnými mechanizmy – adsorpce, rozdělování na základě odlišné rozpustnosti, iontová výměna, molekulově síťový efekt nebo specifické interakce v afinitní chromatografii [67].



Obr. č.: 12 Vysokoúčinná kapalinová chromatografie [68].

Stanovení bylo provedeno pomocí HPLC (High Performance Liquid Chromatography – vysokoúčinná kapalinová chromatografie) s využitím modifikované metody. Odezva signálu pro jednotlivé polyfenoly byla vyhodnocována při vlnové délce 275 nm [69].

## **II. PRAKTICKÁ ČÁST**

## 4 CÍL PRÁCE

Cílem teoretické části diplomové práce bylo zpracovat literární rešerši o miličce habešské, jejím chemickém složení, původu a rozšíření, anatomické a morfologické stavbě a jejím použití v potravinářské technologii. V teoretické části byly také popsány principy jednotlivých stanovení.

V experimentální části bylo cílem stanovit:

a) vybrané nutriční parametry a stravitelnost miličky habešské:

- vlhkost – modifikací ČSN EN ISO 712 (461014) [43],
- obsah popele – modifikací ČSN ISO 2171 (461019) [45],
- obsah lipidů – modifikací dle Soxhleta,
- obsah dusíkatých látek dle Kjeldahla s následným přepočtem na obsah hrubé bílkoviny – modifikace ČSN EN ISO 20483 (46 1401) [48],
- obsahu škrobu dle Ewerse – modifikace ČSN EN ISO 10520 (566120) [52],
- obsah hrubé vlákniny – manuál pro Ankom<sup>220</sup> Fiber Analyser (manuály Ankom Technology, MA, USA) [54], stanovení stravitelnosti kombinovanou hydrolýzou pepsinem a pankreatinem u syrového zrna a u zrna vařeného v horké vodě – modifikace metody [56],

b) aplikovat extrakční postup pro izolaci volných a vázaných polyfenolů [70] a v těchto frakcích stanovit:

- celkový obsah flavonoidů – modifikace [57],
- celkový obsah polyfenolů Folin-Ciocalteuovou metodou – modifikace [71],
- antioxidační aktivitu metodou s ABTS – modifikace [72],
- antioxidační aktivitu metodou s DPPH – modifikace [73],
- stanovit vybrané polyfenolické látky metodou HPLC – modifikace [69],
- provést vzájemné korelace mezi hodnotami antioxidačních aktivit s flavonoidy a polyfenoly.
- Výsledky statisticky zpracovat.

## 5 MATERIÁL A PŘÍSTROJE

### 5.1 Použité přístroje a pomůcky

- Analytické váhy (Schoeller AFA-2102C, ČR)
- Laboratorní sušárna Venticell (BMT a.s., MMM-Group)
- Elektrický mlýnek a vločkovač Waldner Biotech Combi-Star (Waldner Biotech, Rakousko)
- Muflová pec (Veb Elektro Bad, Německo)
- Exsikátor
- Extrakční Twisselmannův nástavec
- Topné hnízdo LTHS 250 (Brněnská Drutěva)
- Mineralizační aparatura Digesdahl<sup>12</sup>
- Ultrazvuková lázeň PS 04000A (Notus-Powersonic s.r.o., Slovenská republika)
- Parnas-Wagnerova aparatura
- Vodní lázeň GFL
- Polarimetr POL 1
- Filtrační sáčky F57 (Ankom Technology, USA)
- Zařízení Ankom fibre<sup>220</sup> (Ankom Technology, USA)
- Pulzní svářečka pro zatavení sáčků
- Inkubační láhve (Adam, AFA – 210 LC, Schoeller instruments, ČR)
- Temperanční vodní lázeň Memmert (Německo)
- pH metr typ 211, Hanna instrument
- Inkubátor Daisy (Ankom Technology, USA)
- Odstředivka EBA 20 (Hettich Zentrifugen, Německo)
- Nylový syring filtr (o velikosti pórů 0,45 μm)
- UV/VIS spektrofotometr Lambda 25 (Perkin Elmer, USA)
- HLPC (Thermo Scientific Dionex Ultimate 3000, MA, USA)
- LC Chromeleon<sup>TM</sup> 7.2 vyhodnocovací software (Thermo Scientific, MA, USA)
- Kolona Kinetex C18 (150 x 4,6 mm; 2,6 μm) (Phenomenex, distributor Chromservis, Praha, ČR)
- Mikropipety s nastavitelným objemem
- Běžné laboratorní sklo a pomůcky

## 5.2 Použité chemikálie

- n-hexan (Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod, ČR)
- 96% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod, ČR)
- 36% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod, ČR)
- směsný katalyzátor (Na<sub>2</sub> SO<sub>4</sub> + CuSO<sub>4</sub>·5 H<sub>2</sub>O v poměru 10:1)
- 30 hmot. % NaOH (Mach Chemikálie, s.r.o., Ostrava – Hrušov)
- 2 hmot. % H<sub>3</sub>BO<sub>4</sub> (Ing. Petr Švec, Penta, ČR)
- indikátor Tashiro
- 0,025 mol·dm<sup>-3</sup> H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>
- 1,124 hmot. % HCl
- Carrezovo činidlo I (30% ZnSO<sub>4</sub>), Carrezovo činidlo II (15% K<sub>4</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>)
- redestilovaná voda (Aquaosmotic, Tišnov, ČR)
- aceton (Dr. Kulich Pharma, s.r.o., Hradec Králové)
- 0,1275 mol·dm<sup>-3</sup> H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>
- 0,313 mol·dm<sup>-3</sup> NaOH
- 0,1 mol·dm<sup>-3</sup> HCl
- pepsin (z vepřové žaludeční sliznice, 0,7 FIP-U/g, Merk KGaA, Německo)
- pankreatin (z vepřové slinivky, proteázová aktivita 350 FIP-U/g, lipázová aktivita 6000 FIP-U/g, amylázová aktivita 7500 FIP-U/g Merk KGaA, Německo)
- KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (Sigma Aldrich, Praha, ČR)
- Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·12 H<sub>2</sub>O (Sigma Aldrich, Praha, ČR)
- 20% etanol (Lachema, ČR)
- 0,5 mol·dm<sup>-3</sup> NaNO<sub>2</sub> (Ing. Petr Lukeš, Uherský brod, Česká republika)
- 0,3 mol·dm<sup>-3</sup> AlCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O (Lachema, ČR)
- 1 mol·dm<sup>-3</sup> NaOH
- metanol (Ing. Petr Švec, Penta, ČR)
- Folin-Ciocalteuovo činidlo (Sigma Aldrich, Německo)
- 20% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (Lachema, ČR)
- standard kyseliny gallové (Acros Organics, Belgie)
- K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> (Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod, ČR)
- ABTS (2,2'-azinobis(3-etyl-2,3-dihydrobenzotiazol-6-sulfonová kyselina), (Sigma Aldrich, Německo)



- $0,2 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3} \text{ CH}_3\text{COOH}$  (Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod, ČR)
- $0,2 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3} \text{ CH}_3\text{COONa}$  (Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod, ČR)
- standard troloxu (Sigma Aldrich, Německo)
- DPPH (2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl) (Sigma Aldrich, Německo)
- kyselina gallová, katechin, kyselina vanilová, kávová a protokatechinová (Sigma Aldrich, Praha, ČR)
- rutin trihydrát (Carl Roth, Karlsruhe, Německo)
- kyselina ferulová a skořicová, resveratrol, quercetin (Merck, Darmstadt, Německo)  
kyselina syringová, *trans-p*-kumarová a *m*-kumarová (Tokio Chemical Industry, Tokio, Japonsko)

### 5.3 Analyzované vzorky

Analyzované vzorky miličky habešské (*Eragrostis tef* L.) byly původem z Bolívie a z USA (Idaho). Vzorky miličky původem z Bolívie byly dodány ve formě mouky (šrot, rozemleté zrna) a světlého a hnědého zrna firmou, která se specializuje a připravuje na vývoj nových pekárenských směsí. Vzorky původem z USA byly dodány ve formě bílého a hnědého zrna přímo od pěstitele. Celkem bylo analyzováno pět vzorků a vzorky byly dodány v množství 3 – 3,5 kg. Vzorky ve formě zrna byly v laboratorních podmínkách rozemlety na mlýnku Waldner Biotech Combi-Star. Vzorky byly poté přesypány do tmavých PET (polyetylen-tereftalátových) lahví, uzavřeny a uchráněny před světlem. Vzorky byly skladovány v laboratoři při laboratorní teplotě 23 °C. Před vlastní analýzou nebyly vzorky skladovány déle než 4 týdny. Po tuto dobu byla monitorována vlhkost vzorků, v jejímž obsahu nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly ( $p \geq 0,05$ ) [43].

### 5.4 Stanovení vlhkosti

Ke stanovení vlhkosti byla použita modifikace normy ČSN EN ISO 712 (461014). Hliníkové misky byly předsušeny v sušárně při  $130 \pm 3 \text{ °C}$  po dobu 1 hodiny. Poté byly vyjmuty a umístěny do exsikátoru. Po vychladnutí byly misky zváženy na analytických vahách s přesností na 0,1 mg a do každé byl navážen 1 g vzorku s přesností na 0,1 mg. Vzorek byl rovnoměrně rozprostřen a umístěn do sušárny o teplotě  $130 \pm 3 \text{ °C}$  po dobu 1 hodiny. Po vychladnutí v exsikátoru byly misky zváženy na analytických vahách s přesností na 0,1 mg. Výsledkem je průměr z pěti stanovení.

Výpočet obsahu vlhkosti v %:

$$S = \frac{m_2 - m_3}{m_2 - m_1} * 100 \quad (1)$$

$m_1$  – hmotnost vysušené prázdné misky [g]

$m_2$  – hmotnost misky se vzorkem před sušením [g]

$m_3$  – hmotnost misky se vzorkem po sušení [g].

## 5.5 Stanovení popele

Ke stanovení popele byla použita modifikace normy ČSN ISO 2171 (461019). Porcelánové kelímky se nejprve vyžihaly při 550 °C po dobu 1 hodiny. Po vychladnutí v exsikátoru se zvážily na analytických vahách s přesností na 0,1 mg. Do každého kelímku byl navážen 1 g vzorku a kelímky byly vloženy do muflové pece, kde se spalovaly při teplotě 550 °C po dobu 5,5 hodiny. Po dokonalém spálení byly kelímky vyjmuty z pece pomocí laboratorních kleští a vloženy do exsikátoru. Po vychladnutí byly kelímky opět zváženy na analytických vahách s přesností na 0,1 mg. Výsledkem je průměr z pěti stanovení.

Výpočet obsahu popele v %:

$$X = \frac{m_a - m_b}{m_c - m_b} * 100 \quad (2)$$

$m_a$  – hmotnost porcelánového kelímku s popelem [g]

$m_b$  – hmotnost prázdného kelímku [g]

$m_c$  – hmotnost kelímku s navážkou vzorku [g].

## 5.6 Stanovení obsahu lipidů

Do extrakční patrony bylo naváženo 5 g vzorku s přesností na 0,1 mg. Patrona byla poté utěsněna vatou a vložena do střední části extrakčního Twisselmannova přístroje. Na spodní zábrus se nasadila předem zvážená (s přesností na 0,1 mg) extrakční baňka se skleněnými kuličkami. Do baňky bylo přidáno 100 ml extrakčního činidla n-hexanu. Baňka byla poté umístěna na topné hnízdo a napojena na extraktor s chladičem. Následovně byl vzorek extrahován po dobu 5 hodin. Po uplynutí této doby byla extrakce přerušena. Oddestilovala se převážná část extrakčního činidla a zbytek se nechal volně odpařit v digestoři. Baňka s vyextrahovaným tukem byla poté přemístěna do sušárny a vysušena při teplotě 105 °C po dobu

30 minut. Poté byla baňka vyjmuta a nechala se vychladnout v exsikátoru. Po ochlazení byla zvážena. Stanovení bylo provedeno u každého vzorku třikrát.

Výpočet obsahu lipidů v %:

$$P_t = \frac{m_b - m_a}{m_n} * 100 \quad (3)$$

$m_a$  – hmotnost prázdné baňky s kuličkami [g]

$m_b$  – hmotnost vysušené baňky s tukem [g]

$m_n$  – hmotnost navážky vzorku [g].

## 5.7 Stanovení obsahu dusíkatých látek dle Kjeldahla s přepočtem na obsah hrubých bílkovin

V první fázi stanovení byla provedena mineralizace vzorku mokrou cestou na mineralizační aparatuře. Do mineralizační zkumavky bylo naváženo 0,25 g vzorku s přesností na 0,1 mg. Poté bylo ke vzorku v digestoři přidáno 10 ml koncentrované 96%  $H_2SO_4$ , 0,5 ml 30%  $H_2O_2$  a jedna malá lžička směsného katalyzátoru ( $Na_2SO_4 + CuSO_4 \cdot 5 H_2O$  v poměru 10:1). Zkumavka se poté vložila na topnou desku mineralizátoru Bloc Digest 12 s přídatným zařízením umožňujícím odsávání par a vznikajících zplodin a byl zapnut vyhřívací blok, pračka plynů a digestoř. Teplota ohřevu byla nastavena na 400 °C. Po vyhřátí topného zařízení probíhala mineralizace po dobu 1 hodiny. Po uplynutí doby byl vypnut vyhřívací blok a zkumavky byly přemístěny do stojanu. Po vychladnutí byly získané mineralizáty kvantitativně převedeny do odměrných baněk o objemu 25 ml.

Pro stanovení obsahu dusíku a bílkovin byla použita Parnas-Wagnerova aparatura. Do destilačního přístroje bylo nejprve napipetováno 10 ml zředěného mineralizátu a poté 20 ml 30 hmot. % NaOH. Amoniak byl po přidavku NaOH predestilován pomocí destilace s vodní parou a jímán do předlohy s 50 ml 2 hmot. % roztoku  $H_3BO_4$ . Po ukončení destilace byly do předlohy přidány 3 – 4 kapky indikátoru Tashiro a následně byl destilát titrován 0,025 mol.dm<sup>-3</sup>  $H_2SO_4$  do stálého červenofialového zbarvení. Z množství spotřebované kyseliny sírové byl vypočten obsah dusíku. Stanovení bylo provedeno u každého vzorku čtyřikrát.

Výpočet obsahu hrubé bílkoviny v mg:

$$m_B = b * 10^{-3} * c_{H_2SO_4} * M_N * f_t * f_z * f_{př} \quad (4)$$

b – spotřeba odměrného roztoku  $\text{H}_2\text{SO}_4$  při titraci [ml]

c – přesná koncentrace odměrného roztoku  $\text{H}_2\text{SO}_4$  [ $\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ ]

$M_N$  – molární hmotnost dusíku ( $M_N = 14,01$ ) [ $\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$ ]

$f_t$  – titrační faktor (2)

$f_z$  – poměrový zředovací faktor (2,5)

$f_{\text{př}}$  – přepočítávací faktor podle druhu potraviny (6,25)

Výpočet obsahu hrubé bílkoviny v %:

$$S_B = \frac{m_B}{m_n} * 100 \quad (5)$$

$m_B$  – obsah hrubé bílkoviny [g]

$m_n$  – hmotnost navážky vzorku [g].

## 5.8 Stanovení obsahu škrobu dle Ewerse

Stanovení obsahu škrobu bylo provedeno modifikací metody dle Ewerse (a ČSN EN ISO 10520; 566-120). Do 100 ml odměrné baňky bylo na předvážkách naváženo 5 g rozemletého vzorku s přesností na 0,001 g. Ke vzorku se přidalo 25 ml zředěné HCl (1,124 hmot. %). Poté byla baňka vložena do vroucí vodní lázně tak, aby byl ve vodě ponořen celý její obsah a byla zahřívána 15 minut. Během prvních 3 minut se baňka promíchávala neustále ve vodní lázni. Po 15 minutách byla baňka vyjmuta z lázně a bylo přidáno 20 ml HCl (1,124 hmot. %) a baňka byla ochlazena na laboratorní teplotu. Obsah baňky byl následně vyčechen 3 ml Carrezova činidla I. Po důkladném promíchání byly přidány 3 ml Carrezova činidla II a baňka se opět důkladně promíchala. Po 5 minutovém působení byla odměrná baňka doplněna destilovanou vodou po rysku a roztok byl zfiltrován. První podíly filtrátu byly vráceny zpět na filtr. Polarimetrická trubice o délce 1 dm byla nejdříve vypláchnuta získaným čirým filtrátem a až poté naplněna po okraj. Na polarimetru byl měřen úhel otočení při teplotě 20 °C. Optická otáčivost každého vzorku byla měřena třikrát.

Obsah škrobu v %:

$$S_s = \frac{\alpha * 10^4}{[\alpha]_{\lambda}^t * l * n} \quad (6)$$

$$\alpha = [\alpha]_{\lambda}^t * l * c \quad (7)$$

$[\alpha]_{\lambda}^t$  – specifická otáčivost při teplotě  $t$  a vlnové délce  $\lambda$  [°]

$l$  – tloušťka vrstvy (délka polarimetrické trubice) [dm]

$n$  – navážka [g].

$c$  – koncentrace stanovované látky [g.ml<sup>-1</sup>].

## 5.9 Stanovení hrubé vlákniny

Filtrační sáček F57 byl proprán v acetonu a po dokonalém odvětrání byl zvážen s přesností na 0,1 mg. Do sáčku bylo naváženo 0,5 g vzorku s přesností na 0,1 mg. Filtrační sáčky se vzorky a filtrační sáček pro stanovení korekce byly poté zataveny. Poté byly sáčky umístěny do analyzátoru Ankom fibre. Do přístroje byla přidána 0,1275 mol.dm<sup>-3</sup> H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a probíhala hydrolyza vzorků při teplotě 100 °C po dobu 45 minut. Po uplynutí této doby bylo vypnuto vyhřívání a míchání a kyselina byla vypuštěna. Sáčky v přístroji byly opakovaně promývány horkou destilovanou vodou (85 – 90 °C). Následně byl celý postup opakován s přidavkem 0,313 mol.dm<sup>-3</sup> NaOH při 100 °C po dobu 45 minut. Sáčky byly opět promyty horkou destilovanou vodou a před vyjmutím jedenkrát studenou destilovanou vodou. Po vyjmutí byly sáčky pomocí filtračního papíru osušeny a ponořeny do acetonu. Po odvětrání v digestoři byly umístěny do sušárny vyhřáté na teplotu 105 °C a sušeny po dobu 4 hodin. Po vychladnutí v exsikátoru se vysušené filtrační sáčky se vzorky zvažily s přesností na 0,1 mg a následně vložily do předem vyžíhaného a zváženého porcelánového kelímku. Poté byly spáleny v muflové peci při teplotě 550 °C po dobu 5,5 hodiny. Po vychladnutí v exsikátoru byly vzorky opět zváženy s přesností na 0,1 mg. Každé stanovení bylo provedeno třikrát.

Výpočet obsahu hrubé vlákniny v %:

$$CF = \frac{(m_3 - m_1 * c_1) - (m_4 - m_1 * c_2)}{m_2} \quad (8)$$

$m_1$  – hmotnost prázdného sáčku [g]

$m_2$  – hmotnost navážky vzorku [g]

$m_3$  – hmotnost vysušeného sáčku [g]

$m_4$  – hmotnost popela po spálení vysušeného sáčku s rezidui vzorku po hydrolyze [g]

$c_1$  – korekce hmotnosti sáčku po hydrolyze [g]

$c_2$  – korekce sáčku po spálení [g].

Výpočet korekce v g:

$$c_1 = \frac{m_s}{m_1} \quad (9)$$

$$c_2 = \frac{m_p}{m_1} \quad (10)$$

$m_s$  – hmotnost vysušeného sáčku po hydrolyze [g]

$m_p$  – hmotnost popela prázdného sáčku [g].

## 5.10 Stanovení stravitelnosti kombinovanou hydrolyzou pepsinem a pankreatinem

Pro stanovení stravitelnosti u vařených zrn byly vzorky nejprve tepelně upraveny varem ve vodě. Bylo naváženo 50 g vzorku a poté probíhalo vaření ve 150 ml vody při teplotě 100 °C po dobu 15 minut. Po tepelné úpravě byly vzorky uchovány v plastových sáčcích a následně bylo provedeno stanovení stravitelnosti.

Filtrační sáček F57 byl poprán v acetonu a po dokonalém odvětrání byl zvážen s přesností na 0,1 mg. Do sáčku bylo po jeho odvětrání v digestoři naváženo 0,25 g vzorku s přesností na 0,1 mg. Sáčky poté byly zataveny a umístěny do inkubačních lahví. Do každé inkubační lahve bylo nalito 1,7 l roztoku HCl o koncentraci 0,1 mol.dm<sup>-3</sup>, předem vytemperováno na 40 °C, ve kterém byly rozpuštěny 3 g pepsinu. Láhve byly poté umístěny do inkubátoru Daisy a inkubovány po dobu 4 hodin. Sáčky byly poté promyty destilovanou vodou a přebytečná voda byla odstraněna pomocí filtračního papíru. Jako inkubačního roztoku bylo dále použito 1,7 l fosfátového pufru s pH 7,45 opět vytemperovaného na 40 °C. Fosfátový pufr byl připraven smícháním KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (9,078 g.dm<sup>-3</sup>) a Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·12 H<sub>2</sub>O (23,889 g.dm<sup>-3</sup>). Do inkubačního pufru byly přidány 3 g pankreatinu, sáčky a vše bylo umístěno do inkubačních lahví a vloženo do inkubátoru Daisy po dobu 24 hodin. Po ukončení inkubace byla láhev vložena do sušárny vyhřáté na 80 °C. Poté byly sáčky propláchnuty destilovanou vodou za účelem odstranění zmazovatěného škrobu. Sáčky byly vysušeny v laboratorní sušárně při teplotě 130 °C po dobu 24 hodin. Po vyjmutí byly umístěny do exsikátoru a po vychlazení byly sáčky zváženy. Následně byly sáčky spáleny v muflové peci při teplotě 550 °C po dobu 5,5 hodiny. Po ochlazení v exsikátoru byly sáčky opět zváženy s přesností na 0,1 mg. Stravitelnost byla vyjádřena jako stravitelnost organické hmoty OMD (Organic Matter Digestibility) a jako stravitelnost sušiny vzorku DMD (Dry Matter Digestibility) vyjádřené v %. Stanovení bylo provedeno u každého vzorku třikrát.

Výpočet stravitelnosti v %:

$$DMD = 100 - \frac{100 * DMR}{m_2 * DM} \quad (11)$$

$$DMR = m_3 - m_1 * c_1 \quad (12)$$

$$DM = \frac{S * m_s}{100} \quad (13)$$

$$OMD = 100 - \frac{100 * (DMR - AR)}{m_2 * DM * OM} \quad (14)$$

$$AR = m_4 - m_1 * c_2 \quad (15)$$

$$OM = \frac{S - P_o}{100} \quad (16)$$

DMD – hodnota stravitelnosti sušiny vzorku [%]

OMD – hodnota stravitelnosti organické hmoty vzorku [%]

DMR – hmotnost vzorku bez sáčku po inkubaci a vysušení [g]

DM – obsah sušiny ve vzorku [g]

S – obsah sušiny ve vzorku [%]

AR – hmotnost popela vzorku bez sáčku [g]

OM – obsah organické hmoty v sušině vzorku [g]

P<sub>o</sub> – obsah popela ve vzorku [%]

m<sub>1</sub> – hmotnost sáčku [g]

m<sub>2</sub> – hmotnost vzorku [g]

m<sub>3</sub> – hmotnost vysušeného sáčku se vzorkem po inkubaci [g]

m<sub>4</sub> – hmotnost popela vysušeného sáčku se vzorkem po inkubaci [g]

m<sub>s</sub> – hmotnost vzorku na stanovení sušiny [g].

## 5.11 Vypracování extrakčního postupu pro získání frakcí volných a vázaných polyfenolů

### 5.11.1 Extrakce volných polyfenolů

Vzorek byl navážen přímo do odstředivkových zkumavek v množství 2 g s přesností na 0,1 mg. K vzorku bylo přidáno 8 ml 80% metanolu a 1 kapka etylacetátu. Zkumavka byla poté

promíchána na vortexu a obalena hliníkovou fólií. Poté byl její obsah 1 hodinu extrahován v ultrazvuku. Po uplynutí doby byl vzorek odstředěn na odstředivce (4321g, 25 minut). Supernatant byl slit a použit jako frakce volných polyfenolů [70].

### 5.11.2 Extrakce vázaných polyfenolů

Zbytek obsažený v centrifugační zkumavce byl přemístěn do lékovky. Poté byl promyt destilovanou vodou, která byla odsáta pomocí Pasteurovy pipety. K promytému vzorku bylo přidáno 25 ml  $0,1 \text{ mol.dm}^{-3}$  NaOH. Následně byl vzorek po dobu 1 hodiny ponechán na třepačce a po uplynutí doby přemístěn a ponechán 1 hodinu v ultrazvuku. Posléze byl vzorek šokově zchlazen ledem a odstředěn na odstředivce (4321g, 25 minut). Pomocí  $6 \text{ mol.dm}^{-3}$  HCl bylo upraveno pH extraktu na 3,5 až 4,5 a vzorek byl opět odstředěn. Supernatant byl slit a použit jako frakce vázaných polyfenolů [70].

Extrakty volných a vázaných polyfenolů byly poté dále využity pro stanovení celkových flavonoidů, polyfenolů, antioxidační aktivity a byly podrobeny analýze na HPLC s cílem stanovit vybrané polyfenolické látky.

## 5.12 Stanovení celkových flavonoidů

Do kádinky bylo napipetováno 8,5 ml 20% etanolu, poté 0,85 ml extraktu vzorku a 0,375 ml  $0,5 \text{ mol.dm}^{-3}$   $\text{NaNO}_2$ . Po uplynutí 5 minut bylo přidáno 0,375 ml  $0,3 \text{ mol.dm}^{-3}$   $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ . Po dalších 5 minutách bylo přidáno 2,5 ml  $1 \text{ mol.dm}^{-3}$  NaOH. Následně byl vzorek přefiltrován přes nylonový filtr o velikosti pórů  $0,45 \mu\text{m}$  a nechal se 10 minut stát. Po uplynutí této doby bylo provedeno měření absorpance při vlnové délce 506 nm oproti blanku. Ze získaných hodnot absorpance byl pomocí rovnice lineární regrese vypočítán celkový obsah flavonoidů ve vzorku, vyjádřený jako ekvivalentní množství mg rutinu v 1 kg vzorku ( $\text{mg RE.kg}^{-1}$ ) [57].

### 5.12.1 Kalibrační křivka pro stanovení celkového obsahu flavonoidů

Jako standard pro vytvoření kalibrační křivky byl použit rutin. Zásobní roztok byl vytvořen rozpuštěním rutinu v metanolu na koncentraci  $10 \mu\text{g.ml}^{-1}$ . Pomocí ředění byla vytvořena kalibrační řada o koncentracích 0,1; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1; 1,2; 1,4  $\mu\text{g.ml}^{-1}$ . Uvedené koncentrace byly následně podrobeny reakcím stejně jako vzorek, absorpance byly proměřeny na spektrofotometru Lambda 25 při vlnové délce 506 nm. Následně byla sestavena kalibrační křivka závislosti absorpance na koncentraci rutinu.



### 5.13 Stanovení celkových polyfenolů Folin-Ciocalteuovou metodou

Do odměrné baňky o objemu 10 ml bylo napipetováno 5 ml destilované vody, 200  $\mu\text{l}$  extraktu vzorku a 0,5 ml Folin-Ciocalteuova činidla. Následně bylo přidáno 1,5 ml 20%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  a odměrná baňka byla doplněna destilovanou vodou po rysku. Vzorek byl důkladně promíchán a po uplynutí doby 30 minut byla změřena absorbance při vlnové délce 765 nm na spektrofotometru Lambda 25 oproti blanku. Ze získaných hodnot byl pomocí rovnice lineární regrese vypočítán celkový obsah polyfenolů ve vzorku, vyjádřený jako ekvivalentní množství mg kyseliny gallové v 1 kg vzorku ( $\text{mg GAE.kg}^{-1}$ ) [71].

#### 5.13.1 Kalibrační křivka pro stanovení celkového obsahu polyfenolů.

Jako standard pro vytvoření kalibrační křivky byla použita kyselina gallová. Zásobní roztok byl vytvořen rozpuštěním kyseliny gallové v metanolu na koncentraci  $4000 \text{ mg.l}^{-1}$ . Pomocí ředění byla vytvořena kalibrační řada o koncentracích 50; 100; 200; 400; 600; 800  $\text{mg.l}^{-1}$ . Uvedené koncentrace byly podrobeny stejnému reakčnímu mechanismu jako vzorek, absorbance byly měřeny na spektrofotometru Lambda 25 při vlnové délce 765 nm. Následně byla sestavena kalibrační křivka závislosti absorbance na koncentraci kyseliny gallové.

### 5.14 Stanovení antioxidační aktivity metodou ABTS

#### 5.14.1 Vytvoření radikálu ABTS

Radikál kationtu ABTS byl připraven reakcí ABTS s  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ . Do 10 ml odměrné baňky bylo naváženo 0,018 g ABTS a odměrná baňka byla po rysku doplněna destilovanou vodou. K 10 ml roztoku ABTS bylo přidáno 0,2 ml roztoku  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$  o koncentraci  $0,06 \text{ mol.dm}^{-3}$ . Roztok byl připraven rozpuštěním 0,162 g  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$  v 10 ml destilované vodě. Reakční směs byla ponechána po dobu 16 hodin bez přístupu světla při laboratorní teplotě, za účelem vytvoření radikálu ABTS.

#### 5.14.2 Vytvoření reakční směsi

Nejdříve byl smícháním 63,5 ml  $0,2 \text{ mol.dm}^{-3}$   $\text{CH}_3\text{COONa}$  a 136,5 ml  $0,2 \text{ mol.dm}^{-3}$   $\text{CH}_3\text{COOH}$  vytvořen octanový pufr o pH 4,3. Octanový pufr byl dále smíchán s již vytvořeným radikálem ABTS v poměru 39:1, tedy 97,5 ml pufru a 2,5 ml roztoku ABTS. Reakční směs byla poté spektrofotometricky proměřena při vlnové délce 734 nm. Jako blank byl použit octanový pufr. Hodnota absorbance reakční směsi byla získána proměřením reakční

směsi oproti blanku. Získaná hodnota byla použita pro vyhodnocení inaktivace u jednotlivých vzorků [72].

### 5.14.3 Měření antioxidační aktivity metodou ABTS

Do kádinky byla napipetována již vytvořená reakční směs o objemu 12 ml a následně bylo přidáno 150  $\mu$ l extraktu vzorku. Směs byla uložena do temna a reagovala po dobu 30 minut. Po uplynutí této doby byla změřena absorbance na spektrofotometru Lambda 25 při vlnové délce 734 nm. Inaktivace byla vypočtena v % a pomocí rovnice lineární regrese vyjádřena z kalibrační křivky na ekvivalentní množství mmol troloxu na 1 kg vzorku.

### 5.14.4 Kalibrační křivka pro stanovení antioxidační aktivity metodou ABTS

Jako standard pro vytvoření kalibrační křivky byl použit trolox. Byla vytvořena kalibrační řada o koncentracích 0,04; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0; 1,2; 1,6 mmol.l<sup>-1</sup>. Jednotlivé koncentrace v množství 150  $\mu$ l byly přidávány ke 12 ml reakční směsi a po uplynutí doby 30 minut proměřeny na spektrofotometru Lambda 25 při vlnové délce 734 nm. Následně byla sestavena kalibrační křivka z naměřených hodnot úbytku absorbance jako závislost inaktivace na koncentraci troloxu. Poté byla z rovnice lineární regrese vypočtena celková antioxidační aktivita vzorku vyjádřena jako ekvivalentní množství mmol troloxu na 1 kg vzorku [72].

## 5.15 Stanovení antioxidační aktivity metodou DPPH

### 5.15.1 Příprava roztoku DPPH

Pro přípravu zásobního roztoku bylo naváženo 24 mg DPPH. Navážené množství bylo rozpuštěno ve 100 ml metanolu. Ze zásobního roztoku byl poté připraven roztok pracovní směsí 10 ml zásobního roztoku a 45 ml metanolu. Pracovní roztok byl poté spektrofotometricky poměřen při vlnové délce 515 nm. Jako blank byl použit metanol.

### 5.15.2 Měření antioxidační aktivity metodou DPPH

Při měření antioxidační aktivity bylo do zkumavky pipetováno 8,55 ml pracovního roztoku DPPH a 450  $\mu$ l extraktu vzorku. Vzorek byl poté uschován do temna a po 1 hodině byla spektrofotometricky proměřena absorbance při vlnové délce 515 nm. Inaktivace byla pomocí rovnice lineární regrese přepočtena na ekvivalentní množství mmol troloxu na 1 kg vzorku [73].

### 5.15.3 Kalibrační křivka pro stanovení antioxidační aktivity metodou DPPH

Jako standard pro vytvoření kalibrační křivky byl použit trolox. Pomocí ředění byla vytvořena kalibrační řada o koncentracích 0,16; 0,32; 0,48; 0,64; 0,80 mmol.l<sup>-1</sup>. Jednotlivé koncentrace v množství 450 µl byly přidávány k 8,55 ml pracovního roztoku a po uplynutí 1 hodiny byly spektrofotometricky proměřeny při vlnové délce 515 nm. Následně byla ze získaných hodnot úbytků absorbance vypočtena hodnota inaktivace v %, sestavena kalibrační křivka jako závislost inaktivace na koncentraci troloxu. Z rovnice lineární regrese byla vypočtena celková antioxidační aktivita vzorku jako ekvivalentní množství mmol troloxu na 1 kg vzorku.

## 5.16 Stanovení vybraných polyfenolických látek metodou HPLC

Stanovení bylo provedeno s využitím modifikované metody dle [69] na zařízení Thermo Scientific Dionex Ultimate 3000 (MA, USA) s detektorem diodového pole (DAD). Získaná data byla zpracována na PC s operačním systémem LC Chromeleon™ 7.2 (Thermo Scientific, MA, USA). Analytická separace fenolických látek byla provedena s použitím kolony Kinetex C18 (150 x 4,6 mm; 2,6 µm) (Phenomenex, distributor Chromservis, Praha, ČR). Objem nástřiku na kolonu byl 20 µl. Mobilní fáze A byla složena z redestilované vody a kyseliny octové v poměru 99:1 a mobilní fáze B byla složena z redestilované vody, ACN a kyseliny octové v poměru 67:32:1. Gradient rozpouštědla byl naprogramován následujícím způsobem: 10% B v 0 min, v 0 – 10 min zvyšující se na 20 %, v 10 – 16 min na 20 – 40 %, v 16 – 20 min na 40 – 50 % B, v 25 – 26 min na 50 – 70 %, v 26 – 30 min na 70 %, v 30 – 40 min na 70 – 10 % a ve 40 – 45 min na 10 % B. Průtok mobilní fáze byl 1 ml/min a teplota termostatu byla nastavena na 30 °C. Vzorky byly detekovány při 275 nm. Příslušné standardy byly rozpuštěny v metanolu a poté proměřeny na HPLC za stejných podmínek jako vzorky. Kalibrace vyjadřuje závislost plochy píků (mAU min) na koncentraci jednotlivých polyfenolů (µg.ml<sup>-1</sup>).

### 5.17 Statistické zhodnocení výsledků

Pro statistické zhodnocení naměřených výsledků byl použit Dean-Dixonův test (Q-test) pro vyloučení odlehlého výsledku. Dále byl využit parametrický test srovnávající střední hodnoty dvou nezávislých souborů (Studentův t-test). Pro vlastní vyhodnocení byl použit program Excel 2010 a StatK25 [74]. Hladina významnosti byla 0,05.

## 6 VÝSLEDKY A DISKUZE

### 6.1 Stanovení základních nutričních charakteristik

#### 6.1.1 Stanovení vlhkosti, popele, lipidů, bílkovin, škrobu a hrubé vlákniny

Jednotlivé parametry uvedené v tabulce č. 11 byly stanoveny dle pracovních postupů uvedených v kapitolách 5.4 až 5.9. Všechny vzorky byly analyzovány 3-5x, jak je uvedeno v příslušných metodikách. Z výsledků byl vypočten průměr a směrodatná odchylka ( $\pm$  SD) a výsledky byly podrobeny statistickému zpracování.

Tabulka č.:11 Výsledky stanovení vlhkosti, popele, lipidů, bílkovin, škrobu a hrubé vlákniny

Vzorek	Vlhkost [%]	Popel [%]	Lipidy [%]	Hrubá bílkovina [%]	Škrob [%]	Hrubá vláknina [%]
Milička Bolívie mouka	9,1 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>	1,7 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	2,6 $\pm$ 0,1 <sup>a,b</sup>	13,5 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	61,8 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	1,7 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>
Milička hnědá Bolívie zrno	9,5 $\pm$ 0,1 <sup>b</sup>	2,3 $\pm$ 0,1 <sup>b</sup>	2,7 $\pm$ 0,1 <sup>a,c</sup>	15,5 $\pm$ 0,1 <sup>b</sup>	61,6 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>	3,0 $\pm$ 0,1 <sup>b</sup>
Milička bílá Bolívie zrno	11,7 $\pm$ 0,1 <sup>c</sup>	2,0 $\pm$ 0,1 <sup>c</sup>	2,5 $\pm$ 0,1 <sup>b</sup>	14,1 $\pm$ 0,1 <sup>c</sup>	64,7 $\pm$ 0,3 <sup>b</sup>	2,7 $\pm$ 0,2 <sup>c</sup>
Milička hnědá USA zrno	8,8 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	2,2 $\pm$ 0,1 <sup>b</sup>	2,8 $\pm$ 0,1 <sup>c</sup>	17,2 $\pm$ 0,1 <sup>d</sup>	62,2 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>	2,7 $\pm$ 0,5 <sup>c</sup>
Milička bílá USA zrno	8,9 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	2,3 $\pm$ 0,1 <sup>b</sup>	2,8 $\pm$ 0,1 <sup>c</sup>	14,5 $\pm$ 0,1 <sup>c</sup>	63,8 $\pm$ 0,1 <sup>d</sup>	2,3 $\pm$ 0,1 <sup>d</sup>

Hodnoty ve sloupcích, které mají stejné písmenné indexy mezi sebou nevykazují statisticky významný rozdíl ( $p \geq 0,05$ ), hodnoty ve sloupci, které mají odlišné písmenné indexy se mezi sebou statisticky liší ( $p < 0,05$ ). Výsledky jsou prezentovány v % na čerstvou hmotu.

Výsledky stanovení obsahu vlhkosti se u vzorků miličky pohybovaly v rozmezí 8,8 až 11,7 %. Nejvyšší obsah vlhkosti byl zjištěn u zrna miličky hnědé původem z USA, a to 11,7 % ( $p < 0,05$ ). Všechny uvedené hodnoty jsou v souladu s vyhláškou č. 333/1997 Sb. v platném znění, [75] pro mlýnské obilné výrobky, která říká, že vlhkost může být nejvýše 15 %.

Obsah popele se u vzorků miličky pohyboval v rozmezí 1,7 až 2,3 %. Nejnižší množství popele bylo stanoveno u miličky z Bolívie ve formě mouky, a to 1,7 % ( $p < 0,05$ ). Nejvyšší množství popele bylo zjištěno u vzorků miličky hnědé z Bolívie ve formě zrna, miličky hnědé z USA ve formě zrna a miličky bílé z USA ve formě zrna ( $p \geq 0,05$ ). Vzorky ve formě zrna byly namleté v laboratorních podmínkách a vykazují vyšší obsah popele. Je možno také předpokládat, že obsahují více obalových vrstev oproti miličce z Bolívie, která již byla dodána ve formě mouky, z důvodu jejího mletí a částečné ztráty obalových vrstev. Zdroj [31,36,76] uvádí obsah popele v rozmezí 1,8 až 3,0 %.

Naměřené hodnoty obsahu lipidů se u vzorků miličky pohybovaly v rozmezí 2,5 až 2,8 %. Nejnižší množství bylo zjištěno u miličky z Bolívie ve formě mouky a miličky bílé z Bolívie ve formě zrna ( $p \geq 0,05$ ). Nejvyšší obsah byl zjištěn u vzorků miličky hnědé z USA ve formě zrna, miličky bílé z USA ve formě zrna a miličky hnědé z Bolívie ve formě zrna ( $p \geq 0,05$ ). Zdroje [10,30,37] uvádí průměrný obsah lipidů v miličce 2,44%. Naměřené hodnoty uvedené v tabulce jsou o něco vyšší, než uvádí literatura, což může být zapříčiněno použitým rozpouštědlem. Jako extrakční rozpouštědlo byl v tomto případě totiž použit n-hexan, ve kterém jsou rozpustné monoacylglyceroly, diacylglyceroly, triacylglyceroly i fosfolipidy.

Obsah bílkovin se u vzorků miličky pohyboval v rozmezí 13,5 až 17,2 %. Nejnižší množství bylo zaznamenáno u vzorku miličky z Bolívie ve formě mouky, a to 13,5 % ( $p < 0,05$ ). Nejvyšší množství bylo naopak zjištěno u vzorku miličky hnědé z USA ve formě zrna, a to 17,2 % ( $p < 0,05$ ). Zdroj [25] uvádí, že průměrné množství obsahu bílkovin se pohybuje v rozmezí 8,9 až 10,5 %. Naměřené hodnoty jsou ve srovnání s dostupnou literaturou podstatně vyšší, navíc zdroje uvádí stanovení obsahu bílkovin u vzorků miliček pocházejících z afrického kontinentu. U vzorku mouky z Bolívie může být nižší obsah bílkovin způsoben např. jejich ztrátou průmyslovým mletím zrna. Vyšší obsah bílkovin mohl být pravděpodobně způsoben kvalitou půdy, na které byly miličky pěstovány, neboť množství bílkovin v zrnu je podstatně ovlivněno množstvím dusíku v půdě, který má vliv na syntézu dusíkatých látek v obilovinách. Také je to ovlivněno klimatickými podmínkami, agrotechnickými podmínkami a odrůdou miličky.

Obsah škrobu se u vzorků miličky pohyboval v rozmezí 61,6 až 64,7 %. Nejnižší množství škrobu bylo naměřeno u vzorků miličky z Bolívie ve formě mouky, miličky hnědé z Bolívie ve formě zrna a miličky hnědé původem z USA ve formě zrna ( $p \geq 0,05$ ). Nejvyšších hodnot dosáhl vzorek miličky bílé z USA ve formě zrna ( $p < 0,05$ ). Dle zdroje [37] je obsah škrobu 57,8 %. Naměřené hodnoty obsahu škrobu jsou v souladu s odbornou literaturou.

Obsah hrubé vlákniny se pohyboval v rozmezí 1,7 až 3,0 %. Nejméně hrubé vlákniny bylo zjištěno u vzorku miličky z Bolívie ve formě mouky, a to 1,7 % ( $p < 0,05$ ). Nejvíce hrubé vlákniny bylo naopak zjištěno u vzorku miličky hnědé z Bolívie ve formě zrna, a to 3,0 % ( $p < 0,05$ ). Ve zdroji [77] je obsah hrubé vlákniny 3,0 %. Nižší obsah u vzorku mouky může být opět dán ztrátou obalových vrstev při mletí zrn. Vzorky namleté v laboratorních podmínkách obsahují vyšší množství vlákniny. Lze je označit za celozrnný šrot a oproti průmyslově namleté mouce mohou obsahovat pravděpodobně i větší množství obalových vrstev ve vzorku.

### 6.1.2 Výsledky stanovení stravitelnosti kombinovanou hydrolyzou pepsinem a pankreatinem

Stanovení stravitelnosti bylo provedeno dle pracovní metodiky uvedené v kapitole 5.10. U vzorků miličky byla stanovena stravitelnost organické hmoty – OMD a stravitelnost sušiny – DMD u syrového a vařeného zrna. Stanovení bylo u každého vzorku provedeno třikrát. Z výsledků byl vypočten průměr a směrodatná odchylka ( $\pm$  SD). Výsledky jsou zaznamenány v tabulce č. 12.

Tabulka č.:12 Výsledky stanovení stravitelnosti OMD a DMD

Vzorek	OMD syrového zrna [%]	OMD vařeného zrna [%]	DMD syrového zrna [%]	DMD vařeného zrna [%]
Milička Bolívie mouka	82,7 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>	92,7 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	79,3 $\pm$ 0,8 <sup>a</sup>	88,6 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>
Milička hnědá Bolívie zrno	63,4 $\pm$ 0,4 <sup>b</sup>	84,0 $\pm$ 0,4 <sup>b</sup>	60,7 $\pm$ 0,4 <sup>b</sup>	80,3 $\pm$ 0,5 <sup>b</sup>
Milička bílá Bolívie zrno	60,8 $\pm$ 0,3 <sup>c</sup>	80,8 $\pm$ 0,7 <sup>c</sup>	58,5 $\pm$ 0,4 <sup>c</sup>	79,5 $\pm$ 0,3 <sup>c</sup>
Milička hnědá USA zrno	65,4 $\pm$ 0,2 <sup>d</sup>	83,7 $\pm$ 0,6 <sup>b</sup>	61,7 $\pm$ 0,3 <sup>d</sup>	80,2 $\pm$ 0,5 <sup>b</sup>
Milička bílá USA zrno	61,2 $\pm$ 0,2 <sup>c</sup>	79,1 $\pm$ 0,5 <sup>c</sup>	59,2 $\pm$ 0,4 <sup>c</sup>	77,9 $\pm$ 0,3 <sup>d</sup>

Hodnoty ve sloupcích, které mají stejné písmenné indexy mezi sebou nevykazují statisticky významný rozdíl ( $p \geq 0,05$ ), hodnoty ve sloupci, které mají odlišné písmenné indexy se mezi sebou statisticky liší ( $p < 0,05$ ).

Vyšší stravitelnost byla naměřena u vzorků miličky vařeného zrna. Stravitelnost OMD u vzorku syrového zrna se pohybuje v rozmezí 60,8 až 82,7 %, u vzorku vařeného zrna se OMD stravitelnost pohybuje v rozmezí 79,1 až 92,7 %. Nejvyšší hodnoty stravitelnosti OMD byly zjištěny u miličky z Bolívie ve formě mouky 92,7 % ( $p < 0,05$ ). Rozdíl hodnot stravitelností mezi vařeným zrnem a syrovým byl 10 %. Nejvyšší stravitelnost u vzorku mouky může být dána i tím, že při mletí zrna došlo k jisté ztrátě obalových vrstev obsahujících nestravitelnou vlákninu, což koresponduje se získanými výsledky z měření obsahu hrubé vlákniny. Naměřené hodnoty u DMD stravitelností se u vzorků syrového zrna pohybovaly v rozmezí 58,5 až 79,3 %, u vzorků vařeného zrna v rozmezí 77,9 až 88,6 %. Nejvyšší hodnoty stravitelnosti DMD byly opět zjištěny u vzorku miličky z Bolívie ve formě mouky ( $p < 0,05$ ). Vařená zrna jsou více stravitelná, např. z důvodu mazovatění škrobu nebo denaturace bílkovin. Mazovatění škrobu je nevratný děj. Po dosažení počáteční teploty mazovatění škrobu (60 °C) granule zvětšují svůj objem a uvolněná amylóza proniká do roztoku. Nabobtnalé granule ztrácí soudržnost a praskají v důsledku rozpadu vodíkových vazeb mezi amylozou a amylopektinem [15]. Ve studii [78] je uvedeno, že u vařených zrn čiroku a kukuřice, byl po rozpadu struktury škrobu pepsinu umožněn lepší přístup k bílkovinám. Studie [79] uvádí, že v důsledku nižší stravitelnosti proteinů obsažených v otrubových vrstvách u syrového zrna hnědé rýže byla stravitelnost nižší než u bílé syrové rýže. Po uvaření se protein v otrubových vrstvách stává více stravitelný, neboť dochází k porušení buněčných stěn v aleuronových vrstvách a tedy k podpoření enzymatické činnosti trávení.

## 6.2 Výsledky analýzy polyfenolických frakcí

### 6.2.1 Výsledky stanovení celkových flavonoidů

Stanovení koncentrace celkových flavonoidů bylo provedeno dle pracovní metodiky uvedené v kapitole 5.12. Dle pracovní metodiky uvedené v kapitole 5.11, byly získány extrakty volných a vázaných polyfenolů. U každého vzorku byla absorbance proměřena šestkrát na spektrofotometru Lambda 25 při vlnové délce 506 nm oproti blanku. Celkový obsah flavonoidů ve vzorku byl vyjádřen jako ekvivalentní množství mg rutinu na 1 kg vzorku. Výsledky jsou zaznamenány v tabulce č. 13. Kalibrační křivka s rovnicí lineární regrese je v Příloze I.



Tabulka č.:13 Výsledky stanovení koncentrace flavonoidů

Vzorek	Koncentrace flavonoidů [mg RE.kg <sup>-1</sup> ]		
	Volné	Vázané	Celkem
Milička Bolívie mouka	840 ± 2 <sup>a</sup>	171 ± 1 <sup>a</sup>	1011 ± 3 <sup>a</sup>
Milička hnědá Bolívie zrno	910 ± 2 <sup>b</sup>	151 ± 1 <sup>a</sup>	1061 ± 3 <sup>a</sup>
Milička bílá Bolívie zrno	540 ± 1 <sup>c</sup>	103 ± 1 <sup>b</sup>	643 ± 2 <sup>b</sup>
Milička hnědá USA zrno	1021 ± 2 <sup>d</sup>	142 ± 1 <sup>a</sup>	1163 ± 3 <sup>c</sup>
Milička bílá USA zrno	533 ± 1 <sup>c</sup>	140 ± 1 <sup>a</sup>	673 ± 2 <sup>b</sup>

Hodnoty ve sloupcích, které mají stejné písmenné indexy, mezi sebou nevykazují statisticky významný rozdíl ( $p \geq 0,05$ ), hodnoty ve sloupci, které mají odlišné písmenné indexy, se mezi sebou statisticky liší ( $p < 0,05$ ). Výsledky jsou prezentovány v mg RE.kg<sup>-1</sup> na čerstvou hmotu.

Nejvyšší celková koncentrace flavonoidů byla naměřena u zrna miličky hnědé z USA, a to 1163 mg RE.kg<sup>-1</sup> ( $p < 0,05$ ). Naopak nejnižší koncentrace byla naměřena u bílých zrn miličky z USA a Bolívie.

Nejvyšší koncentrace volných flavonoidů byla zjištěna u zrna miličky hnědé z USA, a to 1021 mg RE.kg<sup>-1</sup> ( $p < 0,05$ ), u bílých zrn miličky z Bolívie a USA byly naopak zjištěny nejnižší koncentrace volných flavonoidů. Nejnižší koncentrace vázaných flavonoidů byly zjištěny u zrna miličky bílé původem z Bolívie, a to 103 mg RE.kg<sup>-1</sup> ( $p < 0,05$ ).

Vzhledem k tomu, že údaje o obsahu volných a vázaných flavonoidů v miličce nejsou doposud více publikovány, lze porovnat alespoň zrna miličky s jinými obilovinami. Ve studii [80] byl spektrofotometricky měřen celkový obsah flavonoidů pomocí kolorimetrické metody u třech druhů barevných rýží. Obsah flavonoidů se pohyboval v rozmezí od 886 do 2863 mg RE.kg<sup>-1</sup>. Průměrný obsah flavonoidů ve vzorku bílé rýže byl 1316, u červené 1472 a u černé 2406 mg RE.kg<sup>-1</sup>. Tyto zjištěné hodnoty jsou ve srovnání se vzorky miličky vyšší. Dle studie [81] byl průměrný obsah flavonoidů v chlebové mouce 760 mg RE.kg<sup>-1</sup>, což je srovnatelné s obsahem flavonoidů u bílých zrn miličky.

### 6.2.2 Výsledky stanovení celkových polyfenolů

Stanovení koncentrace celkových polyfenolů, v extraktech připravených dle postupu uvedeného v kapitole 5.11, bylo provedeno dle pracovní metodiky uvedené v kapitole 5.13. U každého vzorku byla absorbance proměřena šestkrát na spektrofotometru Lambda 25 při vlnové délce 765 nm oproti blanku. Celkový obsah polyfenolů ve vzorku byl vyjádřen jako ekvivalentní množství kyseliny gallové v mg na 1 kg vzorku. Výsledky jsou zaznamenány v tabulce č. 14 a kalibrační křivka je uvedena v Příloze I.

Tabulka č.:14 Výsledky stanovení celkových polyfenolů

Vzorek	Koncentrace polyfenolů [mg GAE.kg <sup>-1</sup> ]		
	Volné	Vázané	Celkem
Milička Bolívie mouka	1232 ± 2 <sup>a</sup>	552 ± 1 <sup>a</sup>	1784 ± 3 <sup>a</sup>
Milička hnědá Bolívie zrno	1383 ± 2 <sup>b</sup>	463 ± 1 <sup>b</sup>	1846 ± 3 <sup>b</sup>
Milička bílá Bolívie zrno	1009 ± 1 <sup>c</sup>	393 ± 1 <sup>c</sup>	1402 ± 2 <sup>c</sup>
Milička hnědá USA zrno	1418 ± 1 <sup>d</sup>	753 ± 1 <sup>d</sup>	2171 ± 2 <sup>d</sup>
Milička bílá USA zrno	913 ± 1 <sup>e</sup>	511 ± 1 <sup>e</sup>	1425 ± 2 <sup>c</sup>

Hodnoty ve sloupcích, které mají stejné písmenné indexy mezi sebou nevykazují statisticky významný rozdíl ( $p \geq 0,05$ ), hodnoty ve sloupci, které mají odlišné písmenné indexy se mezi sebou statisticky liší ( $p < 0,05$ ). Výsledky jsou prezentovány v mg GAE.kg<sup>-1</sup> na čerstvou hmotu.

Nejvyšší celková koncentrace polyfenolů byla naměřena u vzorku hnědého zrna miličky původem z USA, a to 2171 mg GAE.kg<sup>-1</sup> ( $p < 0,05$ ), nejnižší celková koncentrace byla naopak naměřena u vzorků miličky bílého zrna z USA a Bolívie ( $p \geq 0,05$ ). Dle výsledků uvedených v tabulce č. 14 lze zkonstatovat, že vyšší koncentrace polyfenolů byla zjištěna u vzorků hnědých zrn miličky.

Nejvyšší koncentrace volných polyfenolů byla zjištěna u vzorku miličky hnědé z USA ve formě zrna, a to 1418 mg GAE.kg<sup>-1</sup> ( $p < 0,05$ ), nejvyšší koncentrace vázaných polyfenolů

byla naměřena u vzorku miličky hnědé z USA ve formě zrna v množství  $753 \text{ mg GAE.kg}^{-1}$  ( $p < 0,05$ ).

Ve studii [37] je uveden průměrný obsah polyfenolů v miličce  $1757 \text{ mg GAE.kg}^{-1}$ . Vyšší obsah polyfenolů, v porovnání s miličkou, byl v této studii změřen ve vzorku pohanky, a to  $4655 \text{ mg GAE.kg}^{-1}$ . Další obiloviny dosahovaly nižších hodnot než milička. Nejnižší obsah polyfenolů byl zjištěn u vzorku pšenice ( $130 \text{ mg GAE.kg}^{-1}$ ). Ve studii [82] autora se uvádí obsah polyfenolů u bílé rýže  $860 \text{ mg GAE.kg}^{-1}$ , u červené  $1398 \text{ mg GAE.kg}^{-1}$  a černé  $2222 \text{ mg GAE.kg}^{-1}$ . Kalibrační křivka je uvedena v příloze I.

### 6.2.3 Výsledky stanovení antioxidační aktivity metodou s ABTS

Stanovení antioxidační aktivity metodou ABTS bylo provedeno dle metodiky uvedené v kapitole 5.14. U každého vzorku extraktu byla absorbance proměřena šestkrát na spektrofotometru Lambda 25 při vlnové délce  $734 \text{ nm}$  oproti blanku. % inaktivace byla pomocí rovnice lineární regrese přepočtena na ekvivalentní množství  $\text{mmol troloxu}$  na  $1 \text{ kg}$  vzorku. Kalibrační křivka je uvedena v Příloze II.

Tabulka č.:15 Výsledky stanovení antioxidační aktivity metodou s ABTS

Vzorek	Stanovení antioxidační aktivity metodou ABTS [ $\text{mmol TE.kg}^{-1}$ ]		
	Volné	Vázané	Celkem
Milička Bolívie mouka	$2,77 \pm 0,07^a$	$1,32 \pm 0,02^a$	$4,09 \pm 0,09^a$
Milička hnědá Bolívie zrno	$3,76 \pm 0,05^b$	$0,85 \pm 0,02^b$	$4,61 \pm 0,07^b$
Milička bílá Bolívie zrno	$2,32 \pm 0,06^c$	$0,71 \pm 0,01^c$	$3,03 \pm 0,07^c$
Milička hnědá USA zrno	$4,39 \pm 0,07^d$	$1,64 \pm 0,02^d$	$6,03 \pm 0,09^d$
Milička bílá USA zrno	$1,68 \pm 0,06^e$	$1,17 \pm 0,02^e$	$2,85 \pm 0,08^e$

Hodnoty ve sloupcích, které mají stejné písmenné indexy mezi sebou nevykazují statisticky významný rozdíl ( $p \geq 0,05$ ), hodnoty ve sloupci, které mají odlišné písmenné indexy se mezi sebou statisticky liší ( $p < 0,05$ ). Výsledky jsou prezentovány v  $\text{mmol TE.kg}^{-1}$  na čerstvou hmotu.

Nejvyšší antioxidační aktivita byla zjištěna u vzorku miličky hnědé z USA ve formě zrna, a to  $6,03 \text{ mmol TE.kg}^{-1}$  ( $p < 0,05$ ). Dle výsledků uvedených v tabulce č. 15 lze konstatovat, že vyšší hodnoty byly zjištěny u zrn tmavého typu oproti bílé miličce. Ve volné frakci byla nejvyšší antioxidační aktivita zjištěna také u miličky hnědé z USA ve formě zrna ( $4,39 \text{ mmol TE.kg}^{-1}$ ) ( $p < 0,05$ ) a stejně tak tomu bylo i ve frakci vázané ( $1,64 \text{ mmol TE.kg}^{-1}$ ) ( $p < 0,05$ ). Kalibrační křivka je uvedena v příloze II.

#### 6.2.4 Výsledky stanovení antioxidační aktivity metodou s DPPH

Stanovení antioxidační aktivity metodou s DPPH bylo provedeno dle metodiky vypracované v kapitole 5.15. U každého vzorku extraktu byla absorbance proměřena šestkrát na spektrofotometru Lambda 25 při vlnové délce 515 nm oproti blanku. % inaktivace byla pomocí rovnice lineární regrese přepočtena na ekvivalentní množství mmol troloxu na 1 kg vzorku. Kalibrační křivka je uvedena v Příloze II.

Tabulka č.:16 Výsledky stanovení antioxidační aktivity metodou s DPPH

Vzorek	Stanovení antioxidační aktivity metodou DPPH [ $\text{mmol TE. kg}^{-1}$ ]		
	Volné	Vázané	Celkem
Milička Bolívie mouka	$2,44 \pm 0,06^a$	$0,94 \pm 0,02^a$	$3,38 \pm 0,08^a$
Milička hnědá Bolívie zrno	$3,66 \pm 0,07^b$	$0,64 \pm 0,01^b$	$4,30 \pm 0,08^b$
Milička bílá Bolívie zrno	$1,53 \pm 0,04^c$	$0,54 \pm 0,01^c$	$2,07 \pm 0,06^c$
Milička hnědá USA zrno	$3,96 \pm 0,05^d$	$1,05 \pm 0,02^a$	$5,01 \pm 0,05^d$
Milička bílá USA zrno	$1,38 \pm 0,05^e$	$0,73 \pm 0,01^e$	$2,11 \pm 0,07^c$

Hodnoty ve sloupcích, které mají stejné písmenné indexy mezi sebou nevykazují statisticky významný rozdíl ( $p \geq 0,05$ ), hodnoty ve sloupci, které mají odlišné písmenné indexy se mezi sebou statisticky liší ( $p < 0,05$ ). Výsledky jsou prezentovány v  $\text{mmol TE.kg}^{-1}$  na čerstvou hmotu.

Metodou DPPH byla nejvyšší antioxidační aktivita zjištěna u vzorku miličky hnědé z USA ve formě zrna, a to  $5,01 \text{ mmol TE.kg}^{-1}$  ( $p < 0,05$ ). Stejně tak tomu bylo i u stanovení metodou s ABTS (tabulka č. 15). Nejnižší hodnoty antioxidační aktivity byly zjištěny u vzorků miličky bílého typu. U vzorku miličky bílé z Bolívie ve formě zrna byla zjištěna antioxidační aktivita  $2,07 \text{ mmol TE.kg}^{-1}$ , u vzorku miličky bílé z USA ve formě zrna byla antioxidační aktivita  $2,11 \text{ mmol TE.kg}^{-1}$  ( $p \geq 0,05$ ). Kalibrační křivka je uvedena v příloze II.

### 6.2.5 Korelace antioxidačních aktivit s polyfenoly a flavonoidy

Korelace vyjadřuje obecně vzájemný lineární vztah mezi veličinami. Čím více se korelační koeficient přibližuje číslu 1, tím více jsou dané veličiny na sobě závislé. V následující tabulce bude vyjádřena korelace dvou veličin, a to antioxidační aktivity, zjištěné metodami s ABTS a DPPH, se zjištěnou koncentrací volných, vázaných a celkových flavonoidů a polyfenolů.

Tabulka č.:17. Vzájemné korelace mezi hodnotami antioxidačních aktivit a obsahem flavonoidů a polyfenolů

<i>r</i>	volné flavonoidy	vázané flavonoidy	celkové flavonoidy	volné polyfenoly	vázané polyfenoly	celkové polyfenoly
volné ABTS	<b>0,9386</b>	0,2701	0,9068	<b>0,9648</b>	0,6283	0,9386
vázané ABTS	0,5740	<b>0,5218</b>	0,5917	0,4067	<b>0,9579</b>	0,6889
celkové ABTS	0,9571	0,3779	<b>0,9354</b>	0,4174	0,8055	<b>0,9901</b>
volné DPPH	<b>0,9635</b>	0,4174	0,9455	<b>0,9785</b>	0,6188	0,9442
vázané DPPH	0,6751	<b>0,6114</b>	0,6956	0,5219	<b>0,9300</b>	0,7586
celkové DPPH	0,9839	0,4778	<b>0,9708</b>	0,9727	0,7125	<b>0,9797</b>

V tabulce č. 17 jsou znázorněny korelace mezi hodnotami antioxidačních aktivit stanovené metodami s ABTS a DPPH a obsahem flavonoidů a polyfenolů. Při korelaci antioxidační aktivity stanovené metodou ABTS u volných frakcí a koncentrací volných flavonoidů, byla zjištěna hodnota korelačního koeficientu  $r = 0,9386$ . Z výsledku korelačního koeficientu lze usuzovat, že dané dvě veličiny jsou na sobě závislé. Oproti tomu při korelaci mezi koncentrací vázaných flavonoidů s antioxidační aktivitou vázaných frakcí stanovené metodou ABTS byl korelační koeficient  $r = 0,5218$ . Vázané flavonoidy tedy nepřispívají významně k antioxidační aktivitě vzorku. U korelace koncentrace volných flavonoidů s antioxidační aktivitou volných frakcí stanovené metodou DPPH byl korelační koeficient  $r = 0,9635$ . Oproti tomu u korelace koncentrace vázaných flavonoidů s antioxidační aktivitou vázaných frakcí stanovené metodou DPPH byl korelační koeficient  $r = 0,6114$ . Z výsledků korelačního koeficientu lze usuzovat, že tyto dvě dané veličiny jsou na sobě středně závislé, což značí, že vázané flavonoidy se podílejí na antioxidační aktivitě daleko méně, než flavonoidy ve volných frakcích. Flavonoidy jsou tedy významnými přispěvateli k antioxidační aktivitě vzorku. Korelace koncentrací flavonoidů a hodnot antioxidačních aktivit stanovených metodami DPPH a ABTS jsou komparativní. Korelace koncentrací flavonoidů a hodnot antioxidačních aktivit stanovených metodami DPPH a ABTS jsou komparativní.

U korelace koncentrace volných polyfenolů s antioxidační aktivitou volné frakce stanovená metodou ABTS byl vypočten korelační koeficient  $r = 0,9648$ . Dané veličiny jsou na sobě lineárně závislé. Dále lze vydedukovat, že polyfenoly přítomné ve volné frakci se podílejí významně na antioxidační aktivitě vzorku. Korelační koeficient u korelace koncentrace vázaných polyfenolů s antioxidační aktivitou vázané frakce stanovenými stanovenou metodou ABTS se rovnal  $r = 0,9579$ . Z výsledků korelačního koeficientu lze usuzovat, že tyto dvě dané veličiny jsou na sobě signifikantně závislé, což znamená, že přítomné vázané polyfenoly se taktéž významně podílejí na antioxidační aktivitě vzorku. Polyfenolické látky miličky se dle získaných výsledků významně podílejí na hodnotě antioxidační aktivity. Korelační koeficient koncentrace volných polyfenolů s antioxidační aktivitou volné frakce stanovené metodou DPPH byl  $r = 0,9785$ . Dané veličiny jsou na sobě lineárně závislé, což se potvrdilo i v případě metody ABTS. U vázaných polyfenolů s antioxidační aktivitou vázané frakce metodou DPPH byl zjištěn korelační koeficient  $r = 0,9330$ . Metoda DPPH potvrdila výsledek metody s použitím ABTS, že polyfenoly se významně podílejí na antioxidační aktivitě miličky. Grafy korelací jsou uvedeny v příloze III.

### 6.2.6 Stanovení vybraných polyfenolických látek metodou HPLC

Stanovení vybraných polyfenolických látek bylo provedeno dle pracovní metodiky uvedené v kapitole 5.16.

#### 6.2.6.1 Stanovení vybraných fenolických látek ve frakci s volnými polyfenoly

Tabulka č.:18 Výsledky stanovení vybraných fenolických látek ve frakci volných polyfenolů

[mg.kg <sup>-1</sup> ]	Milička mouka Bolívie	Milička hnědá Bolívie	Milička hnědá USA	Milička bílá Bolívie	Milička bílá USA
Kyselina. gallová	17,3 ± 0,8 <sup>a</sup>	22,8 ± 0,9 <sup>b</sup>	23,9 ± 0,9 <sup>b</sup>	4,4 ± 0,2 <sup>c</sup>	24,2 ± 0,8 <sup>b</sup>
Katechin	1,9 ± 0,1 <sup>a</sup>	1,2 ± 0,1 <sup>b</sup>	1,6 ± 0,1 <sup>c</sup>	0,9 ± 0,2 <sup>d</sup>	2,5 ± 0,1 <sup>e</sup>
Kyselina vanilová	1,9 ± 0,1 <sup>a</sup>	0,8 ± 0,1 <sup>b</sup>	1,3 ± 0,1 <sup>c</sup>	-	2,9 ± 0,1 <sup>d</sup>
Kyselina kávová	-	-	-	-	-
Kyselina syringová	3,6 ± 0,2 <sup>a</sup>	4,2 ± 0,2 <sup>b</sup>	3,1 ± 0,2 <sup>c</sup>	2,1 ± 0,2 <sup>d</sup>	2,4 ± 0,1 <sup>e</sup>
<i>trans-p</i> -kumarová kys.	95,4 ± 1,2 <sup>a</sup>	221,0 ± 5,6 <sup>b</sup>	182,0 ± 3,4 <sup>c</sup>	4,2 ± 0,2 <sup>d</sup>	13,7 ± 0,5 <sup>e</sup>
Kyselina <i>m</i> -kumarová	8,4 ± 0,2 <sup>a</sup>	4,2 ± 0,5 <sup>b</sup>	18,2 ± 0,7 <sup>c</sup>	3,5 ± 0,1 <sup>d</sup>	7,1 ± 0,2 <sup>e</sup>
Kyselina ferulová	92,9 ± 1,4 <sup>a</sup>	139,1 ± 2,0 <sup>b</sup>	160,2 ± 3,5 <sup>c</sup>	31,2 ± 1,1 <sup>d</sup>	39,0 ± 1,3 <sup>e</sup>
Rutin	37,2 ± 1,1 <sup>a</sup>	8,0 ± 0,8 <sup>b</sup>	25,1 ± 1,0 <sup>c</sup>	208,8 ± 3,7 <sup>d</sup>	173,2 ± 2,8 <sup>e</sup>
Kys. protokatechinová	109,9 ± 2,5 <sup>a</sup>	187,8 ± 3,7 <sup>b</sup>	199,9 ± 3,9 <sup>c</sup>	48,9 ± 1,9 <sup>d</sup>	15,1 ± 0,6 <sup>e</sup>
Resveratrol	4,1 ± 0,2 <sup>a</sup>	3,8 ± 0,1 <sup>b</sup>	6,0 ± 0,2 <sup>d</sup>	1,4 ± 0,1 <sup>d</sup>	1,1 ± 0,4 <sup>e</sup>
Kyselina skořicová		-	-	1,4 ± 0,2 <sup>a</sup>	1,1 ± 0,2 <sup>b</sup>
Kvercetin	4,4 ± 0,1 <sup>a</sup>	1,3 ± 0,1 <sup>b</sup>	3,3 ± 0,1 <sup>c</sup>	-	3,0 ± 0,1 <sup>c</sup>
Celkem	77,0 ± 7,9 <sup>a</sup>	604,2±14,1 <sup>b</sup>	624,6±14,1 <sup>c</sup>	306,8 ± 7,7 <sup>d</sup>	285,3±7,2 <sup>e</sup>

Hodnoty v řádcích, které mají stejné písmenné indexy, mezi sebou nevykazují statisticky významný rozdíl ( $p \geq 0,05$ ), hodnoty ve sloupci, které mají odlišné písmenné indexy, se mezi sebou statisticky liší ( $p < 0,05$ ). Výsledky jsou prezentovány v mg.kg<sup>-1</sup> na čerstvou hmotu.

Z výsledků uvedených v tabulce č. 18 je patrné, že u hnědých zrn se volně nacházejí ve vyšší koncentraci *trans-p*-kumarová, ferulová a protokatechinová kyselina. Nejvyšší koncentrace

*trans-p*-kumarové kyseliny byla zjištěna u vzorku miličky hnědé z Bolívie ve formě zrna, a to  $221,0 \text{ mg.kg}^{-1}$  ( $p < 0,05$ ). U vzorku miličky hnědé z USA ve formě zrna byla naměřena nejvyšší koncentrace kyseliny ferulové, a to  $160,2 \text{ mg.kg}^{-1}$  ( $p < 0,05$ ). Kyselina protokatechinová byla v nejvyšší koncentraci opět zjištěna u vzorku miličky hnědé z USA ve formě zrna, a to  $199,9 \text{ mg.kg}^{-1}$  ( $p < 0,05$ ).

U bílých zrn se volně nacházejí ve vyšší koncentraci kyselina ferulová, protokatechinová a rutin. U vzorku miličky bílé z Bolívie ve formě zrna byla naměřena koncentrace rutinu  $208,8 \text{ mg.kg}^{-1}$  ( $p < 0,05$ ).

Ve studii [83] byla ve volné frakci v prosu, které se řadí do stejné čeledi jako milička, zjištěna v nejvyšší koncentraci kyselina protokatechinová ( $450 \text{ mg.kg}^{-1}$ ). Hlavní podíl fenolických látek ve volné frakci v znu prosa tvoří hydroxybenzoové kyseliny (70 %). Patří mezi ně především protokatechinová, kumarová a gallová kyselina [84]. Studie [85,86] naopak uvádí, že ferulová kyselina tvoří nejhlavnější podíl ve volné frakci u vzorku prosa. Ve studii [87] byla kávová kyselina detekována pouze ve vázané frakci. Kyselina syringová byla u vzorku bérů vlašského detekována pouze ve volné frakci [88], u vzorku prosa pak v koncentraci  $4,8 \text{ mg.kg}^{-1}$  [89].



### 6.2.7 Stanovení vybraných fenolických látek ve frakci s vázanými polyfenoly

Výsledky stanovení obsahu jednotlivých polyfenolů ve vázaných formách u miličky habešské jsou uvedeny v tabulce 19.

Tabulka č.:19 Výsledky stanovení vybraných fenolických látek ve frakci vázaných polyfenolů.

[mg.kg <sup>-1</sup> ]	Milička mouka Bolívie	Milička hnědá Bolívie	Milička hnědá USA	Milička bílá Bolívie	Milička bílá USA
Kyselina gallová	11,8 ± 0,3 <sup>a</sup>	14,6 ± 0,3 <sup>b</sup>	11,1 ± 0,3 <sup>c</sup>	3,9 ± 0,1 <sup>d</sup>	7,8 ± 0,2 <sup>e</sup>
Katechin	45,1 ± 1,4 <sup>a</sup>	22,8 ± 1,0 <sup>b</sup>	31,9 ± 1,2 <sup>c</sup>	9,8 ± 0,9 <sup>d</sup>	38,2 ± 1,4 <sup>e</sup>
Kyselina vanilová	12,1 ± 0,5 <sup>a</sup>	7,4 ± 0,3 <sup>b</sup>	13,3 ± 0,5 <sup>c</sup>	6,6 ± 0,2 <sup>d</sup>	12,9 ± 0,4 <sup>e</sup>
Kyselina kávová	1,3 ± 0,1 <sup>a</sup>	2,2 ± 0,1 <sup>b</sup>	3,0 ± 0,2 <sup>c</sup>	0,9 ± 0,1 <sup>d</sup>	3,8 ± 0,2 <sup>e</sup>
Kyselina syringová	1,1 ± 0,1 <sup>a</sup>	-	0,9 ± 0,1 <sup>a</sup>	1,0 ± 0,1 <sup>a</sup>	1,2 ± 0,1 <sup>a</sup>
<i>trans-p</i> -kumarová kys.	-	-	-	-	-
Kyselina <i>m</i> -kumarová	7,2 ± 0,2 <sup>a</sup>	4,2 ± 0,1 <sup>b</sup>	6,4 ± 0,2 <sup>c</sup>	2,3 ± 0,1 <sup>d</sup>	7,0 ± 0,2 <sup>a</sup>
Kyselina ferulová	188,8 ± 4,3 <sup>a</sup>	187,7 ± 5,1 <sup>a</sup>	289,8 ± 3,6 <sup>b</sup>	113,9 ± 2,3 <sup>c</sup>	106,3 ± 2,4 <sup>d</sup>
Rutin	9,2 ± 0,3 <sup>a</sup>	1,3 ± 0,1 <sup>b</sup>	5,1 ± 0,2 <sup>c</sup>	24,0 ± 0,5 <sup>d</sup>	47,9 ± 0,8 <sup>e</sup>
Kys. protokatechinová	5,0 ± 0,1 <sup>a</sup>	4,0 ± 0,1 <sup>b</sup>	5,9 ± 0,2 <sup>c</sup>	11,8 ± 0,3 <sup>d</sup>	6,1 ± 0,2 <sup>e</sup>
Resveratrol	-	-	-	-	-
Kyselina skořicová	1,9 ± 0,2 <sup>a</sup>	2,4 ± 0,2 <sup>a</sup>	4,1 ± 0,2 <sup>b</sup>	-	3,6 ± 0,1 <sup>c</sup>
Kvercetin	26,9 ± 0,9 <sup>a</sup>	28,3 ± 0,9 <sup>a</sup>	51,8 ± 1,2 <sup>b</sup>	13,7 ± 0,4 <sup>c</sup>	52,9 ± 1,3 <sup>b</sup>
Celkem	310,4 ± 8,4 <sup>a</sup>	274,9 ± 8,2 <sup>b</sup>	423,3 ± 7,9 <sup>c</sup>	187,9 ± 7,9 <sup>d</sup>	287,9 ± 7,3 <sup>e</sup>

Hodnoty v řádcích, které mají stejné písmenné indexy mezi sebou nevykazují statisticky významný rozdíl ( $p \geq 0,05$ ), hodnoty ve sloupci, které mají odlišné písmenné indexy se mezi sebou statisticky liší ( $p < 0,05$ ). Výsledky jsou prezentovány v mg.kg<sup>-1</sup> na čerstvou hmotu.

U hnědých zrn ve vázané formě ve vyšší koncentraci převládá kyselina ferulová, katechin a kvercetin. Nejvyšší koncentrace kyseliny ferulové byla naměřena u vzorku miličky hnědé z USA ve formě zrna, a to 289,8 mg.kg<sup>-1</sup> ( $p < 0,05$ ). U toho vzorku byla zjištěna i nejvyšší koncentrace kvercetinu, a to 51,8 mg.kg<sup>-1</sup> ( $p < 0,05$ ). Katechin byl v nejvyšší koncentraci zjištěn u vzorku miličky z Bolívie ve formě mouky (45,1 mg.kg<sup>-1</sup>) ( $p < 0,05$ ).

U bílých zrn se ve vázané formě ve vyšší koncentraci nachází kyselina ferulová, rutin a kvercetin. Kyselina ferulová byla v nejvyšší koncentraci detekována u vzorku miličky bílé

z Bolívie ve formě zrna, a to  $113,9 \text{ mg.kg}^{-1}$  ( $p < 0,05$ ). U vzorku miličky bílé z USA ve formě zrna byla zjištěna nejvyšší koncentrace rutinu ( $47,9 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) ( $p < 0,05$ ).

U vzorku prosa byla v nejvyšší koncentraci ve vázané frakci zjištěna kyselina ferulová ( $146,8 - 241,8 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) [89]. Také ve studii [83] byla u vzorku prosa ve vázané formě zjištěna nejvyšší koncentrace kyseliny ferulové, a to  $186,0 \text{ mg.kg}^{-1}$ . Kyselina ferulová byla nejvíce se vyskytující fenolickou látkou ve vázané frakci u bílého i červeného typu prosa. Studie také říká, že katechin je nejvíce se vyskytujícím flavonoidem a představuje až 84 % rozpustné frakce v prosu [87]. Ve vázané formě byla také u vzorku prosa zjištěna kávová, skořicová, kumarová kyselina. Ve stopovém množství se zde nachází syringová a protokatechinová kyselina [84].

## ZÁVĚR

Milička habešská je tradiční africká obilovina pěstována především na území Etiopie a Eritrei, kde představuje jednu z hlavních složek výživy obyvatelstva. Jedná se o bezlepkovou obilovinu, která je díky svému nutričnímu složení uplatňována v potravinářství, především v oblasti pekárenství, kde je využívána jako náhrada za jiné běžnější obiloviny. Díky rostoucí poptávce se pěstuje na území Bolívie, USA, Austrálie a nově také Evropy.

V teoretické části diplomové práce byla na základě rešerže charakterizována milička habešská nejen z pohledu chemického složení, ale také z pohledu jejího technologického využití. V prvních kapitolách je popsán její původ a rozšíření, popis a stavba rostliny, pěstování a výnos a její využití v potravinářském průmyslu. Dále bylo popsáno chemické složení miličky habešské a srovnání s ostatními obilovinami. V další kapitole byly charakterizovány principy metod použitých v experimentální části.

V experimentální části byly provedeny základní analýzy jako: stanovení vlhkosti, obsahu popele, lipidů, stanovení dusíkatých látek dle Kjeldahla s následným přepočtem na obsah hrubých bílkovin, stanovení obsahu škrobu dle Ewerse, stanovení hrubé vlákniny a stravitelnost.

Vlhkost se pohybovala v rozmezí 8,8 až 11,7 %, obsah popele v rozmezí 1,7 až 2,3 % a obsah lipidů v rozmezí 2,5 až 2,8 %. Obsah bílkovin se pohyboval v rozmezí 13,5 až 17,2 %. Jako zajímavým údajem oproti literatuře se jeví obsah bílkovin, který byl vyšší, než udává literatura. Obsah škrobu byl naměřen v rozmezí 61,6 až 64,7 %. Obsah hrubé vlákniny se pohyboval v rozmezí 1,7 až 3 %. V další části byla stanovena stravitelnost kombinovanou hydrolyzou pepsinem a pankreatinem u syrových zrn a zrn tepelně ošetřených varem. Stanovena byla stravitelnost organické hmoty (OMD) a stravitelnost sušiny (DMD). Stravitelnost vařených zrn miličky byla asi o 10 % vyšší, v porovnání se zrny syrovými. Nejvyšší hodnoty stravitelnosti byly zjištěny u miličky z Bolívie ve formě mouky, a to 92,7 %, která prošla úpravou varem. Obecně lze zkonstatovat, že nejnižší hodnoty stravitelnosti byly naměřeny u vzorků ve formě zrna s vyšším podílem vlákniny.

Dále byly popsány extrakční postupy pro získání volných a vázaných frakcí polyfenolů miličky, které byly použity pro stanovení celkových flavonoidů a polyfenolů, antioxidační aktivity a byl proveden chromatografický profil vybraných polyfenolů pomocí techniky HPLC.

Nejvyšší celková koncentrace flavonoidů byla naměřena u zrna miličky hnědé z USA, a to 1163 mg RE.kg<sup>-1</sup>, nejvyšší celková koncentrace polyfenolů byla naměřena u miličky hnědé z USA ve formě zrna, a to 2171 mg GAE.kg<sup>-1</sup>. Nejvyšší antioxidační aktivita naměřená metodami s ABTS a DPPH byla zjištěna u vzorku miličky hnědé z USA ve formě zrna, a to 6,03 mmol TE.kg<sup>-1</sup> a 5,01 mmol TE.kg<sup>-1</sup>. Vyšší koncentrace flavonoidů, polyfenolů a vyšší hodnoty antioxidačních aktivit byly naměřeny v zrnech miličky s hnědými obalovými vrstvami.

Na základě provedených korelací a hodnotě korelačního koeficientu  $r$  lze zkonstatovat, že volné flavonoidy významně přispívají k antioxidační aktivitě ( $r = 0,9386$ ), zatímco vázané flavonoidy k antioxidační aktivitě významně nepřispívají ( $r = 0,5218$ ). Tento výsledek byl potvrzen i metodou DPPH. U korelace antioxidačních aktivit metodou ABTS s polyfenoly se korelační koeficient  $r$  u volných polyfenolů rovnal 0,9648 a u vázaných polyfenolů 0,9579, což značí, že jak volné, tak i vázané polyfenoly významně přispívají k antioxidační aktivitě. Stejného výsledku bylo docíleno i u metody DPPH.

V poslední části byly stanoveny vybrané polyfenolické látky metodou HPLC. U hnědých zrn se volně nacházejí ve vyšší koncentraci *trans-p*-kumarová, ferulová a protokatechinová kyselina. Nejvyšší koncentrace *trans-p*-kumarové kyseliny byla zjištěna u vzorku miličky hnědé z Bolívie ve formě zrna, a to 221,0 mg.kg<sup>-1</sup>. U bílých zrn se volně nacházejí ve vyšší koncentraci rutin, kyselina ferulová a protokatechinová. U vzorku miličky bílé z Bolívie ve formě zrna byla naměřena koncentrace rutinu 208,8 mg.kg<sup>-1</sup>. U hnědých zrn ve vázané formě ve vyšší koncentraci převládá kyselina ferulová, katechin a kvercetin. Nejvyšší koncentrace kyseliny ferulové byla naměřena u vzorku miličky hnědé z USA ve formě zrna, a to 289,8 mg.kg<sup>-1</sup>. U bílých zrn se ve vázané formě ve vyšší koncentraci nachází kyselina ferulová, rutin a kvercetin. Vázaná kyselina ferulová byla v nejvyšší koncentraci detekována u vzorku miličky bílé z Bolívie ve formě zrna, a to 113,9 mg.kg<sup>-1</sup>.

## SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] CONSTANZA, S. H., DEWET, J. M. J., HARLAN, J. R. Literature review and numerical taxonomy of *Eragrostis tef* (T'ef), *Economic Botany* [online]. 1979, 33(4), 413-432 [cit. 2017-2-1]. Dostupné z: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF02858337>
- [2] STALLKNECHT, G.F., GILBERTSON, K. M., ECKHOFF. Tef: Food crop for humans and animals, *New crops* [online]. 1993, 231-234 [cit. 2017-2-1]. Dostupné z: <https://hort.purdue.edu/newcrop/proceedings1993/V2-231.html>
- [3] YU, J. K. et al. A genetic linkage map for tef [*Eragrostis tef* (Zucc.) Trotter], *Theoretical and Applied Genetics* [online]. 2006, 113(6), 1093-1102 [cit. 2017-2-1]. Dostupné z: <https://link.springer.com/article/10.1007/s001220051274>
- [4] INGRAM, A. L., DOYLE, J. J. The origin and evolution of *Eragrostis tef* (Poaceae) and related polyploids: evidence from nuclear waxy and plastid rps16, *American Journal of Botany* [online]. 2003, 90(1), 116-122 [cit. 2017-2-1]. Dostupné z: <http://www.amjbot.org/content/90/1/116.full>
- [5] TATHAM, A. S. et al. Characterisation of the Major Prolamins of Tef (*Eragrostis tef*) and Finger Millet (*Eleusine coracana*), *Journal of Cereal Science* [online]. 1996, 24(1), 65-71 [cit. 2017-2-1]. Dostupné z: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.570.407&rep=rep1&type=pdf>
- [6] D'ANDREA, A. C. T'ef (*Eragrostis tef*) in Ancient Agricultural System of Highland Ethiopia, *Economic Botany* [online]. 2008, 62(4), 547-566 [cit. 2017-2-1]. Dostupné z: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12231-008-9053-4>
- [7] ASSEFFA, K. et al. Breeding tef: conventional and molecular approaches, *Plant Breeding* [online]. 2010, 130, 1-9 [cit. 2017-2-1]. Dostupné z: <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20123127902>
- [8] BRINK, M., BELAY, G. *Cereals and Pulses* (Plant Resources of Tropical Africa 1). Wageningen: Prota Foundation, 2006. ISBN 9057821702. Dostupné také z: <https://books.google.cz/>
- [9] KETEMA, Seyfu. *Tef – Eragrostis Tef (Zucc) Trotter*. Rome: IPRGI, 1997. Dostupné z: <https://books.google.cz/>

- [10] ARENDT, Elke K a Emanuele ZANNINI. *Teff. Cereal Grains for the Food and Beverage Industries*. Philadelphia: Woodhead Publishing, 2013. ISBN 978-0-85709-413-9.
- [11] REFERA, Alemayehu. *TEF: Post-harvest Operations*. Addis Ababa, Ethiopia: Institute of Agricultural Research Organization (IARO), 2001. Dostupné z: [http://teff-international.com/info-sheets/Post\\_Harvest\\_Compendium\\_-\\_TEF.pdf](http://teff-international.com/info-sheets/Post_Harvest_Compendium_-_TEF.pdf)
- [12] VESELÁ, Iva. Teff neboli milička, 22. 4. 2013. [cit. 2017-1-4]. Dostupné z: <http://www.bio-life.cz/clanky/zdrave-potraviny/teff-neboli-milicka.html>
- [13] SMALL, Ernest. *Top 100 food plants: The World's Most Important Culinary Crops*. Ottawa: NRC Research Press, 2009. ISBN 9780660198583
- [14] *Eragrostis tef* (Zucc.) Trotter [cit. 2017-1-4]. Dostupné z: [http://database.prota.org/PROTAhtml/Eragrostis%20tef\\_En.htm](http://database.prota.org/PROTAhtml/Eragrostis%20tef_En.htm)
- [15] BUREŠOVÁ, Iva a Eva LORENCOVÁ. *Výroba potravin rostlinného původu*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2013. ISBN 978-80-7454-332-6.
- [16] MENGISTU, Dejene K. a Lemlem S. MEKONNEN. *Integrated Agronomic Crop Managements to Improve Tef Productivity Under Terminal Drought, Water Stress*. 2012. Dostupné z: <https://www.intechopen.com/books/water-stress/integrated-agronomic-crop-managements-to-improve-tef-productivity-under-terminal-drought>
- [17] LUPTON, F. G. H. *Lost Crops of Africa: Volume I. Grains By the Board on Science and Technology for International Development*. Washington D.C.: National Academy Press, 2008. ISBN 978-0-309-04990-3.
- [18] CSA (Central Statistics Authority). *Agricultural Sample Survey 2004/2005, Report on Area Production for major Crops*, vol. 1. Addis Ababa, Ethiopia, 2005.
- [19] CSA (Central Statistics Authority). *Agricultural Sample Survey 2010/2011, Area and Production Crops*, vol. 1. Addis Ababa, Ethiopia, 2011.
- [20] GIRMA, Dejene et al. The origins and progress of genomics research on Tef (*Eragrostis tef*), *Plant Biotechnology Journal* [online]. 2014, 12(5), 534-540 [cit. 2017-1-5]. Dostupné z: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/pbi.12199/full>

- [21] ASEFFA, K., S. CHANYALEW a Z. TADELE. *Achievements and prospects of tef improvement: Proceedings of the Second International Workshop, November 7-9, 2011, Debre Zeit, Ethiopia*. Bern: Universitat Bern, 2013. ISBN 9783033038189.
- [22] *Eragrostis tef (Zucc.) Trotter* [online, cit. 2017-1-4]. Dostupné z: <http://www.fao.org/ag/agp/AGPC/doc/Gbase/data/pf000247.htm>
- [23] TESFAHUNEGN, Gebryesus Brhane. Response of Yield and Yield Components of *Tef [Eragrostis tef (Zucc.) Trotter]* to Tillage, Nutrient, and Weed Management Practices in Dura Area, Northern Ethiopia, *International Scholarly Research Notices* [online]. 2014, 2014 (1), 1-9 [cit. 2017-2-1]. Dostupné z: <https://www.hindawi.com/journals/isrn/2014/439718/>
- [24] LACEY, T., LIEWEKKYN. C. *Eragrostis Teff as a specialised niche crop*, Government of Western Australia, Department of Agriculture Farmnote, 42, 2005. [2017-1-2] Dostupné z: [http://www.doc-developpement-durable.org/file/Culture-plantes-alimentaires/FICHES\\_PLANTES/teff/Eragrostis%20Teff%20as%20a%20specialised%20niche%20crop.pdf](http://www.doc-developpement-durable.org/file/Culture-plantes-alimentaires/FICHES_PLANTES/teff/Eragrostis%20Teff%20as%20a%20specialised%20niche%20crop.pdf)
- [25] ABEBE, W., RONDA, F. Rheological and textural properties of tef [*Eragrostis tef (Zucc.) Trotter*] grain flour gels, *Journal of Cereal Science* [online]. 2014, 60(1), 122-130 [cit. 2017-2-1]. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0733521014000484>
- [26] GIRMA, T., BULTOSA, G., BUSSA, N. Effect of grain tef [*Eragrostis tef (Zucc.) Trotter*] flour substitution with flaxseed on quality and functionality of *injera*, *International Journal of Food Science and Technology* [online]. 2013, 49(3), 350-356 [cit. 2017-2-1]. Dostupné z: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2621.2012.03194.x/full>
- [27] BOKA, B., WOLDEGIORGIS, A. Z., HAKI, G. Antioxidant Properties of Ethiopian Traditional Bread (Injera) as Affected by Processing Techniques and Tef Grain (*Eragrostis tef (Zucc.)*) Varieties, *Canadian Chemical Transactions* [online]. 2013, 1(1), 7-24 [cit. 2017-2-1]. Dostupné z: <http://canchemtrans.com/uploads/journals/CCT-2013-0012.pdf>

- [28] KLOMAN, H. Teff Talk [online, cit. 2017-1-4]. Dostupné z: <https://ethiopian-food.wordpress.com/2013/06/01/teff-talk/>
- [29] BELTON, Peter S a John R.N. TAYLOR. *Pseudocereals and less common cereals: grain properties and utilization potential*. New York: Springer, 2002. ISBN: 3540429395
- [30] BAYE, Kaleab. *Teff: nutrient composition and health benefits*. Centre for Food Science and Nutrition, College of Natural Sciences. Addis Ababa University. 2014. [cit. 2017-1-5] Dostupné z: [https://www.researchgate.net/publication/266316373\\_Teff\\_Nutrient\\_Composition\\_and\\_Health\\_Benefits](https://www.researchgate.net/publication/266316373_Teff_Nutrient_Composition_and_Health_Benefits)
- [31] COLLAR, C., ANGIOLONI, A. Pseudocereals and teff in complex breadmaking matrices: Impact on lipid dynamics, *Journal of Cereal Science* [online]. 2014, 59(2), 145-154 [cit. 2017-1-2]. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0733521014000083>
- [32] KUČEROVÁ, Jindřiška. *Technologie cereálií*. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 2008. ISBN 978-80-7157-811-9.
- [33] PŘÍHODA, J., P. SKŘIVAN a M. HRUŠKOV. *Cereální chemie a technologie I*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2003. ISBN 80-7080-530-7.
- [34] HIGDON, J. et al. Fiber. [online, cit. 2017-1-4]. Dostupné z: <http://lpi.oregonstate.edu/mic/other-nutrients/fiber>
- [35] BERÁNKOVÁ, J. Potřebná, ale stále deficitní vláknina, *Potravinářská Revue* [online]. 2010, 7, 30-31 [online-1-6]. Dostupné z: [http://www.bezpecnostpotravin.cz/UserFiles/File/Berankova/RE7\\_www.pdf](http://www.bezpecnostpotravin.cz/UserFiles/File/Berankova/RE7_www.pdf)
- [36] BULTOSA, G., HALL, A. N., TAYLOR, J. R. N. Physico-chemical Characterization of Grain Tef [*Eragrostis tef* (Zucc.) Trotter] Starch, *Starch* [online]. 2002, 54(10), 461-468 [cit. 2017-2-6]. Dostupné z: [http://online-library.wiley.com.proxy.k.utb.cz/doi/10.1002/1521-379X\(200210\)54:10%3C461::AID-STAR461%3E3.0.CO;2-U/abstract](http://online-library.wiley.com.proxy.k.utb.cz/doi/10.1002/1521-379X(200210)54:10%3C461::AID-STAR461%3E3.0.CO;2-U/abstract)
- [37] HAGER, A. S. et al. Nutritional properties and ultra-structure of commercial gluten free flours from different botanical sources compared to wheat flours, *Journal of Cereal Science* [online]. 2012, 56(2), 239-247 [cit. 2017-2-6]. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0733521012001221>



- [38] ADEBOWALE, A-R. A. et al. Fractionation and characterization of teff proteins, *Journal of Cereal Science* [online]. 2011, 54(3), 380-386 [cit. 2017-2-6]. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0733521011001317>
- [39] KOPÁČOVÁ, Olga. *Trendy ve zpracování cereálií s přihlédnutím zejména k celozrnným výrobkům*. Praha: Ústav zemědělských a potravinářských informací, 2007. ISBN 978-80-7271-184-0.
- [40] ABEBE, Y. et al. Phytate, zinc, iron and calcium content of selected raw and prepared foods consumed in rural Sidama, Southern Ethiopia, and implications for bioavailability, *Journal of Food Composition and Analysis* [online]. 2007, 20(3,4), 161-168 [cit. 2017-1-14]. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0889157506001621>
- [41] UMETA, M., WEST, C. E., FUFU, H. Content of zinc, iron, calcium and their absorption inhibitors in foods commonly consumed in Ethiopia, *Journal of Food Composition and Analysis* [online]. 2005, 18(8), 803-817 [cit. 2017-1-14]. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S088915750400153X>
- [42] FORSIDO, S. F., RUPASINGHE, H. P. V, ASTATKIE, T. Antioxidant capacity, total phenolics and nutritional content in selected ethiopian staple food ingredients, *Food Sciences and nutrition* [online]. 2013, 64(8), 915 – 920 [cit. 2017-1-14]. Dostupné z: <http://web.a.ebscohost.com.proxy.k.utb.cz/ehost/pdfviewer/pdfviewer?sid=fa411d8f-a5c0-40ee-a1b6-5565ee7578f5%40sessionmgr4010&vid=0&hid=4101>
- [43] ČSN EN ISO 712 (461014): Obiloviny a výrobky z obilovin – Stanovení vlhkosti – Referenční metoda. Praha: Český normalizační institut, 2003.
- [44] Sušárna Venticell [cit. 2017-2-1]. Dostupné z: <http://www.bmt.cz>.
- [45] ČSN ISO 2171 (461019): Obiloviny, luštěniny a výrobky z nich - Stanovení obsahu popela spalováním. Praha: Český normalizační institut, 2008.
- [46] Laboratorní muflová pec – typ MF5 [cit. 2017-2-1]. Dostupné z: <http://www.elsklo.cz/cs/katalog-peci/laboratorni-muflova-pec.html>.
- [47] Soxhletův extraktor [cit. 2017-2-1]. Dostupné z: <https://www.indiamart.com/prodetail/soxhlet-extraction-1751605133.html>.

- [48] ČSN EN ISO 20483 (46 1401): Obiloviny a luštěniny – Stanovení obsahu dusíku a výpočet obsahu dusíkatých látek – Kjeldahlova metoda. Praha: Český normalizační institut, 2014.
- [49] ZACHARIÁŠOVÁ, M., *Stanovení celkového dusíku a výpočet obsahu bílkovin (metoda: Kjeldahlova)*. [cit. 2014-12-7]. Dostupné z: [https://web.vscht.cz/~kohoutkj/n%C3%A1vody%202015/LAPP\\_STANOVENI%20DUSIKU.pdf](https://web.vscht.cz/~kohoutkj/n%C3%A1vody%202015/LAPP_STANOVENI%20DUSIKU.pdf).
- [50] Parnas-Wagnerova aparatura [cit. 2014-12-7]. Dostupné z: <http://www.thermo-fisher.cz/produkty/pristroj-parnas-wagner-makrodestilacni-kompletni>.
- [51] DAVÍDEK, J. *Laboratorní příručka analýzy potravin*, 1. vyd. Praha: SNTL, 1977. ISBN 04-814-81.
- [52] ČSN EN ISO 10 520 (56 6120): Přírodní škrob - Stanovení obsahu škrobu - Ewersova polarimetrická metoda, Praha: Český normalizační institut, 1999.
- [53] Polarimetr [cit. 2014-12-7]. Dostupné z: <https://www.helago-cz.cz/eshop-polarimetr-230-v-50-60-hz-139545.html>.
- [54] ČSN ISO 5498 (461018), *Zemědělské a potravinářské výrobky – Stanovení obsahu hrubé vlákniny*, Praha: Český normalizační institut, 1993.
- [55] Zařízení Ankom [cit. 2014-12-7]. Dostupné z: <http://www.laboratorne-pristroje.sk/stanovenie-vlkniny/455-ankom200fiber-analyzer.html>.
- [56] MIŠURCOÁ, Ladislava. *Nové nutriční aspekty a využití mořských sladkovodních řas ve výživě člověka*. Zlín, 2008. Dizertační práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická, Ústav potravinářského inženýrství.
- [57] DEWANTO, V., WU, X., ADOM, K., LIU, R H. Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2002, 50(10), 3010-3014 [cit. 2016-10-7]. Dostupné z: <http://ucanr.edu/datastoreFiles/608-135.pdf>
- [58] Spektrofotometr Lambda 25 [cit. 2016-12-5]. Dostupné z: <http://old-www.upol.cz/struktura-up/univerzitetni-zarizeni/vedeckotechnicky-park/katalog/?ctl=device&ctlid=80&idLng=cz>
- [59] STRATIL, P., KUBÁŇ, V., FOJTOVÁ, J. Comparison of the phenolic content and total antioxidant activity in wines as determined by spectrophotometric methods,

- Czech Journal of Food Sciences* [online]. 2008, 26(4), 242-253 [cit. 2016-12-5]. Dostupné z: <http://www.agriculturejournals.cz/publicFiles/01961.pdf>
- [60] BLAINSKI, A., LOPES, G., MELLO, J. Application and Analysis of the Folin Ciocalteu Method for the Determination of the Total Phenolic Content from *Limonium Brasiliense L.* *Molecules* [online]. 2013, 18(6), 6852-6865 [cit. 2016-12-8]. Dostupné z: <https://pdfs.semanticscholar.org/6c2d/df3fe19aa176650c690974476b8922bb1b20.pdf>
- [61] MEDINA, M.B. Simple and Rapid Method for the Analysis of Phenolic Compounds in Beverages and Grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2011, 59(5), 1565–1571 [cit. 2016-12-10]. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf103711c>
- [62] ŠULC, M. et al. Výběr a zhodnocení vhodných metod pro stanovení antioxidační aktivity fialových a červených odrůd brambor, *Chemické listy* [online]. 2007, 101, 584–591 [cit. 2016-12-10]. Dostupné z: [http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2007\\_07\\_584-591.pdf](http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2007_07_584-591.pdf)
- [63] FIDLER, M., KOLÁŘOVÁ, L. Analýza antioxidantů v chmelu a pivu, *Chemické listy* [online]. 2009, 103, 232–235 [cit. 2016-12-10]. Dostupné z: [http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2009\\_03\\_232-235.pdf](http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2009_03_232-235.pdf)
- [64] PAULOVÁ, H., BOCHOŘÁKOVÁ, H., TÁBORSKÁ, E. Metody stanovení antioxidační aktivity přírodních látek *IN VITRO*, *Chemické listy* [online]. 2004, 98, 174–179 [cit. 2016-12-10]. Dostupné z: [http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2004\\_04\\_03.pdf](http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2004_04_03.pdf)
- [65] DOBEŠ, J. et al. Stanovení antioxidační aktivity přírodních antioxidantů pomocí automatického robota a spektrofotometru, *MendelNet*. 2012, 1166–1173 [2017-1-2]. Dostupné z: [https://mnet.mendelu.cz/mendelnet2012/articles/39\\_dobes\\_669.pdf](https://mnet.mendelu.cz/mendelnet2012/articles/39_dobes_669.pdf)
- [66] ARNAO, M. B. Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: a practical case, *Trends in Food Science* [online]. 2000, 11(11), 419–421 [cit. 2016-12-10]. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924224401000279>
- [67] KLOUDA, Pavel. *Moderní analytické metody.2.*, upr. a dopl. vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 2003. ISBN 978-80-86369-07-5.

- [68] HPLC analýza [cit. 2016-12-5]. Dostupné z: <http://www.laboratory-journal.com/applications/analytics/hplc-analysis>
- [69] DENG, G.F., LIN, X., XU, X.R., GAO, L.L., XIE, J.F., LI, H.L. Antioxidant Capacities and Total Phenolic Contents of 56 Vegetables, *Journal of Functional Foods* [online]. 2013, 1(5), 260-266 [cit. 2016-11-4]. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1756464612001612>
- [70] SOMPONG, R., SIEBENHANDL-EHN, S., LINSBERGER-MARTIN, G., BERHOFER, E. Physicochemical and antioxidative properties of red and black rice varieties from Thailand, China and Sri Lanka, *Food Chemistry* [online]. 2011, 1(124), 132-140 [cit. 2016-10-7]. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814610006989>
- [71] SINGLETON, V.L., ORTHOFER, R., LAMUELA-RAVENTOS, R.M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidant by means of Folin-Ciocalteu reagent, *Methods Enzymol* [online]. 1999, 299, 152-178 [cit. 2016-10-7]. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0076687999990171>
- [72] RE, R., PELLEGRINI, N., PROTEGGENTE, A., PANNALA, A., YANG, M., RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, *Free Radical Biology & Medicine* [online]. 1999, 9-10(26), 1231-1237 [cit. 2016-10-7]. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0891584998003153>
- [73] FERRI, M., GIANOTTI, A., TASSONI, A. Optimisation of assay conditions for the determination of antioxidant capacity and polyphenols in cereal food components, *Journal of Food Composition and Analysis* [online]. 2013, 30(2), 94-101 [cit. 2016-10-7]. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0889157513000355>
- [74] BUŇKA, F., KŘÍŽ, O., HRABĚ, J. Program pro statistické vyhodnocování dat Stadyd, verze 2.0 beta
- [75] ČESKO. Vyhláška č. 333/1997 Sb ze dne 12.12.1997, kterou se provádí § 18 písm. a), d), h), i), j) a k) zákona č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích, pro mlýnské obilné výrobky, těstoviny, pekařské výrobky a cukrářské výrobky a těsta In: Sbíрка zákonů České republiky. 1997.

- [76] HEIRU, M., Effect of Grain Teff, Sorghum and Soybean Blending Ratio and Processing Condition on Weaning Food Quality, *Journal of Food Processing & Technology* [online]. 2017, 8(3), 1-5 [cit-2017-3-15].
- [77] GEBREMARIAM, M. M., ZARNKOW, M., BECKER, T. Teff (*Eragrostis tef*) as a raw material for malting, brewing and manufacturing of gluten-free foods and beverages: a review, *Journal of Food Science and Technology* [online]. 2014, 51(11), 2881-2895 [cit-2016-10-15]. Dostupné z: <https://link.springer.com/article/10.1007/s13197-012-0745-5>
- [78] DUODU, K.G. et al. Effect of Grain Structure and Cooking on Sorghum and Maize *in vitro* Protein Digestibility, *Journal of Cereal Science* [online]. 2002, 35(2), 161-174 [cit-2016-10-15]. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0733521001904114>
- [79] BRADBURY, J.H., COLLINS, J.G., PYLIOTIS, N. A. Digestibility of proteins of histological components of cooked and raw rice, *British Journal of Nutrition* [online]. 1984, 52(3), 507-513 [cit-2016-10-15]. Dostupné z: <https://www.cambridge.org/core/services/aop-cambridge-core/content/view/S0007114584001203>
- [80] SHEN, Y. et al. Total phenolics, flavonoids, antioxidant capacity in rice grain and their relations to grain color, size and weight, *Journal of Cereal Science* [online]. 2009, 49(1), 106-111 [cit-2016-10-15]. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0733521008001331>
- [81] ŽILIC, S. et al. Antioxidant activity of small grain cereals caused by phenolics and lipid soluble antioxidants, *Journal of Cereal Science* [online]. 2011, 54(3), 417-424 [cit-2016-10-15]. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0733521011001469>
- [82] SHEN, S. et al. The effect of anaerobic treatment on polyphenols, antioxidant properties, tocopherols and free amino acids in white, red, and black germinated rice (*Oryza sativa* L.), *Journal of Functional Foods* [online]. 2015, 19(A), 641-648 [cit. 2016-12-12]. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1756464615004892>

- [83] DYKES, L., ROONEY, L.W. Sorghum and millet phenols and antioxidants, *Journal of Cereal Science* [online]. 2006, 44(3), 236-251 [cit. 2016-12-12]. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0733521006000877>
- [84] UDEH, H. O., DUODU, K.G., JIDEANI, A. I. O. Finger Millet Bioactive Compounds, Bioaccessibility, and Potential Health Effects-a Review, *Czech Journal of Food Sciences* [online]. 2017, 35(1), 7-17 [cit. 2017-4-8]. Dostupné z: <http://www.agriculturejournals.cz/publicFiles/208446.pdf>
- [85] SHARMA, S. et al. Evaluation of health potential of nutritionally enriched Kodo millet (*Eleusine coracana*) grown in Himachal Pradesh, India, *Food Chemistry*. 2017, 214, 162-168 [cit. 2017-4-8]. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814616311086>
- [86] GOUDAR, G., SATHISHA, G. J. Effect of Processing on Ferulic Acid Content in Foxtail Millet (*Setaria Italica*) Grain Cultivars Evaluated by HPTLC, *Oriental Journal of Chemistry* [online]. 2016, 32(4), 2251-2258 [cit. 2016-12-14]. Dostupné z: <http://www.orientjchem.org/vol32no4/effect-of-processing-on-ferulic-acid-content-in-foxtail-millet-setaria-italica-grain-cultivars-evaluated-by-hptlc/>
- [87] GABAZA, M. et al. Effect of Fermentation and Cooking on Soluble and Bound Phenolic Profiles of Finger Millet Sour Porridge, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2016, 64(40), 7615-7621 [cit. 2017-4-8]. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acs.jafc.6b03090>
- [88] ZHANG, L. Z., LIU, R. H. Phenolic and carotenoid profiles and antiproliferative activity of foxtail millet, *Food Chemistry* [online]. 2015, 174, 495-501 [cit.2017-1-2]. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814614014654>
- [89] ZHANG, L. Z., LIU, R., NIU, W. Phytochemical and Antiproliferative Activity of Proso Millet, *PLOS One* [online]. 2014, 9(8), 495-501 [cit.2017-1-2]. Dostupné z: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0104058>

**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

ABTS	2,2'-azinobis(3-etyl-2,3-dihydrobenzotiazol-6-sulfonová kyselina)
DMD	Dry Matter Digestibility (stravitelnost sušiny)
DPPH	2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl
GAE	Gallic Acid Equivalents (ekvivalent kyseliny gallové)
HPLC	High Performance Liquid Chromatography (vysokoúčinná kapalinová chromatografie)
OMD	Organic Matter Digestibility (stravitelnost organické hmoty)
RE	Rutin Equivalents (ekvivalent rutinu)
SD	Standard Deviation (směrodatná odchylka)
TAA	Total Antioxidant Activity (celková antioxidační aktivita)
TEAC	Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (antioxidační aktivita ekvivalentní troloxu)
UV-VIS	Ultraviolet-visible spectroscopy (ultrafialovo-viditelná spektroskopie)

**SEZNAM OBRÁZKŮ**

<i>Obr. č.: 1</i> Zrno miličky bílé a hnědé .....	14
<i>Obr. č.: 2</i> Rostlina miličky habešské (1 – horní část květu, 2 – část květenství s klásky) ..	15
<i>Obr. č.: 3</i> Mikroskopické znázornění podélného řezu zrna .....	16
<i>Obr. č.: 4</i> Injera .....	19
<i>Obr. č.: 5</i> Sušárna Venticell .....	28
<i>Obr. č.: 6</i> Muflová pec .....	29
<i>Obr. č.: 7</i> Soxhletův extraktor .....	29
<i>Obr. č.: 8</i> Parnas-Wagnerova aparatura .....	31
<i>Obr. č.: 9</i> Polarimetr .....	32
<i>Obr. č.: 10</i> Zařízení Ankom .....	33
<i>Obr. č.: 11</i> Spektrofotometr Lambda 25 .....	34
<i>Obr. č.: 12</i> Vysokoúčinná kapalinová chromatografie .....	36



**SEZNAM TABULEK**

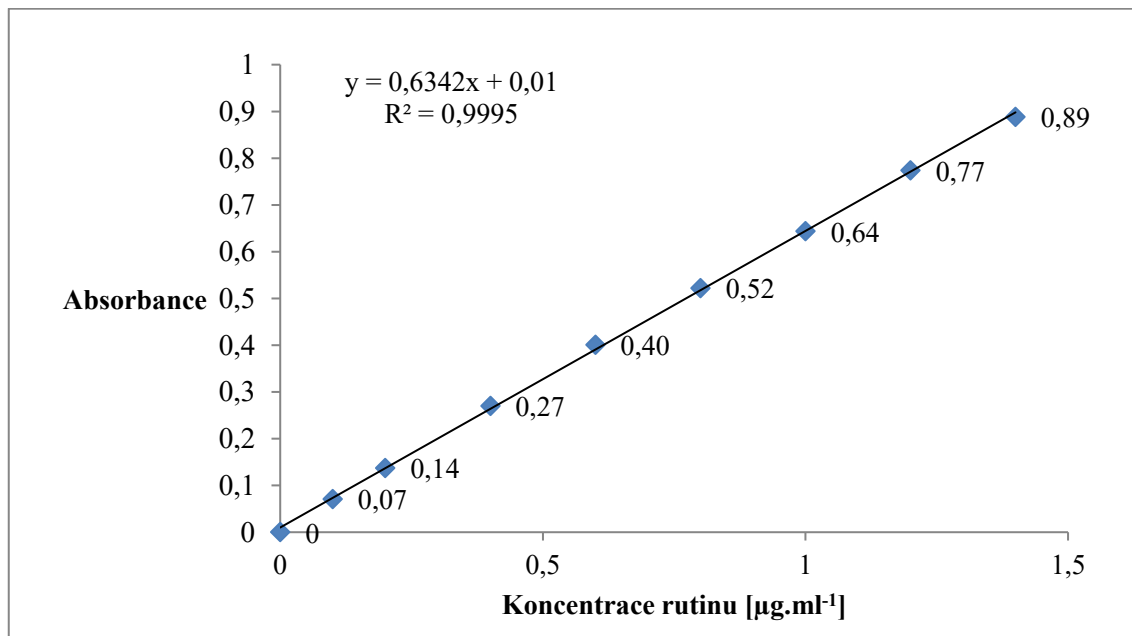
<i>Tabulka č.: 1</i>	Obdělávaná půda, celková produkce, výnos zrna obilovin pěstovaných v Etiopii (průměry dvou let z období 2009/2010) .....	17
<i>Tabulka č.: 2</i>	Chemické složení mouky z miličky, pšenice a rýže .....	20
<i>Tabulka č.: 3</i>	Obsah vlákniny ve 100 g vzorku mouky vybraných obilovin .....	21
<i>Tabulka č.: 4</i>	Obsah celkového škrobu a amylozy ve vybraných obilovinách .....	22
<i>Tabulka č.: 5</i>	Složení aminokyselin miličky v porovnání s ostatními obilovinami .....	23
<i>Tabulka č.: 6</i>	Složení mastných kyselin v zrnu miličky v porovnání s ostatními obilovinami, uvedeno v % .....	24
<i>Tabulka č.: 7</i>	Obsah popela v % a obsah minerálních látek v mouce v mg.kg <sup>-1</sup> .....	24
<i>Tabulka č.: 8</i>	Obsah zinku, železa, vápníku, fytátu v mg.100 g <sup>-1</sup> .....	25
<i>Tabulka č.: 9</i>	Množství fytátů ve vybraných obilovinách .....	26
<i>Tabulka č.: 10</i>	Obsah fenolických látek ve vybraných vzorcích obilovin .....	27
<i>Tabulka č.:11</i>	Výsledky stanovení vlhkosti, popele, lipidů, bílkovin, škrobu a hrubé vlákniny u vzorků miličky .....	53
<i>Tabulka č.:12</i>	Výsledky stanovení stravitelnosti OMD a DMD u vzorků miličky syrového a vařeného zrna kombinovanou hydrolýzou pepsinem a pankreatinem .....	55
<i>Tabulka č.:13</i>	Výsledky stanovení koncentrace flavonoidů u vzorků miličky .....	57
<i>Tabulka č.:14</i>	Výsledky stanovení koncentrace polyfenolů u vzorků miličky .....	58
<i>Tabulka č.:15</i>	Výsledky stanovení antioxidační aktivity metodou ABTS u vzorků miličky .....	59
<i>Tabulka č.:16</i>	Výsledky stanovení antioxidační aktivity metodou DPPH u vzorků miličky .....	60
<i>Tabulka č.: 17</i>	Vzájemné korelace mezi hodnotami antioxidačních aktivit a obsahem flavonoidů a polyfenolů .....	61
<i>Tabulka č.:18</i>	Výsledky stanovení vybraných fenolických látek ve frakci s volnými polyfenoly .....	63

---

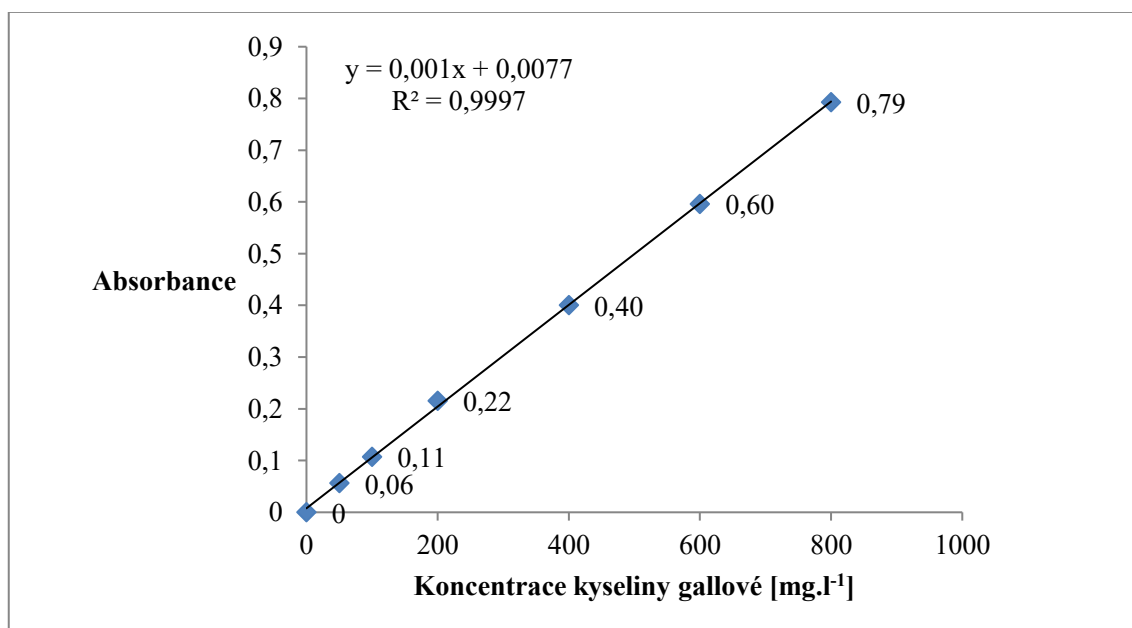
*Tabulka č.:19* Výsledky stanovení vybraných fenolických látek ve frakci s vázanými poly-  
fenoly ..... 65

**SEZNAM PŘÍLOH**

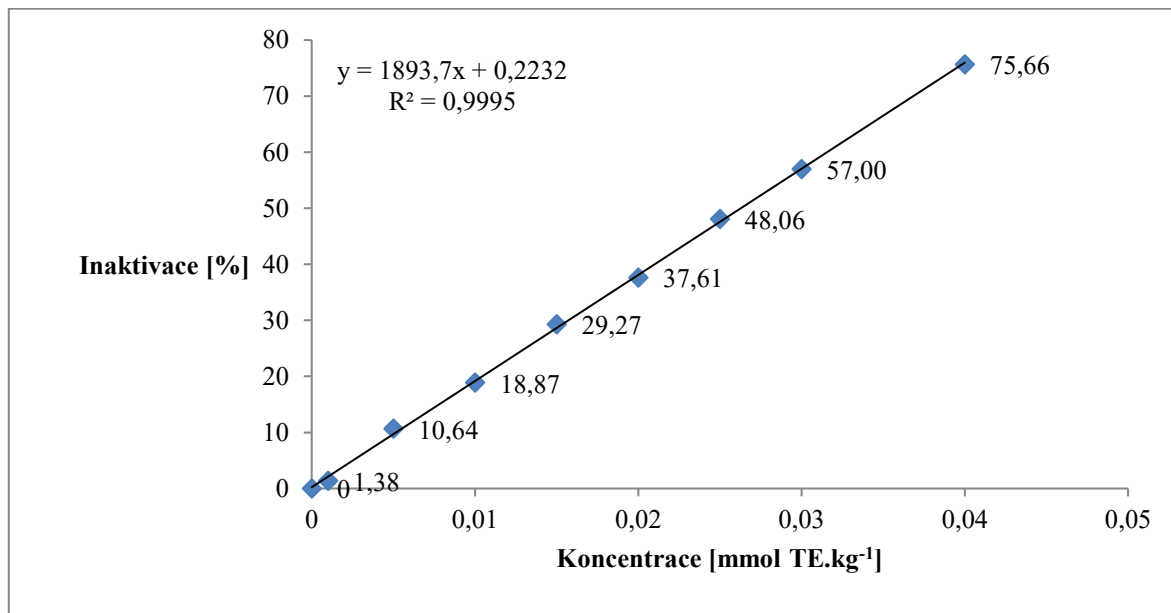
- PŘÍLOHA I: Kalibrační křivky pro stanovení flavonoidů a polyfenolů
- PŘÍLOHA II: Kalibrační křivky pro stanovení antioxidační aktivity metodou ABTS a DPPH
- PŘÍLOHA III: Korelace antioxidačních aktivit s flavonoidy a polyfenoly

**PŘÍLOHA P I: KALIBRAČNÍ KŘIVKY PRO STANOVENÍ FLAVONOIDŮ A POLYFENOLŮ**

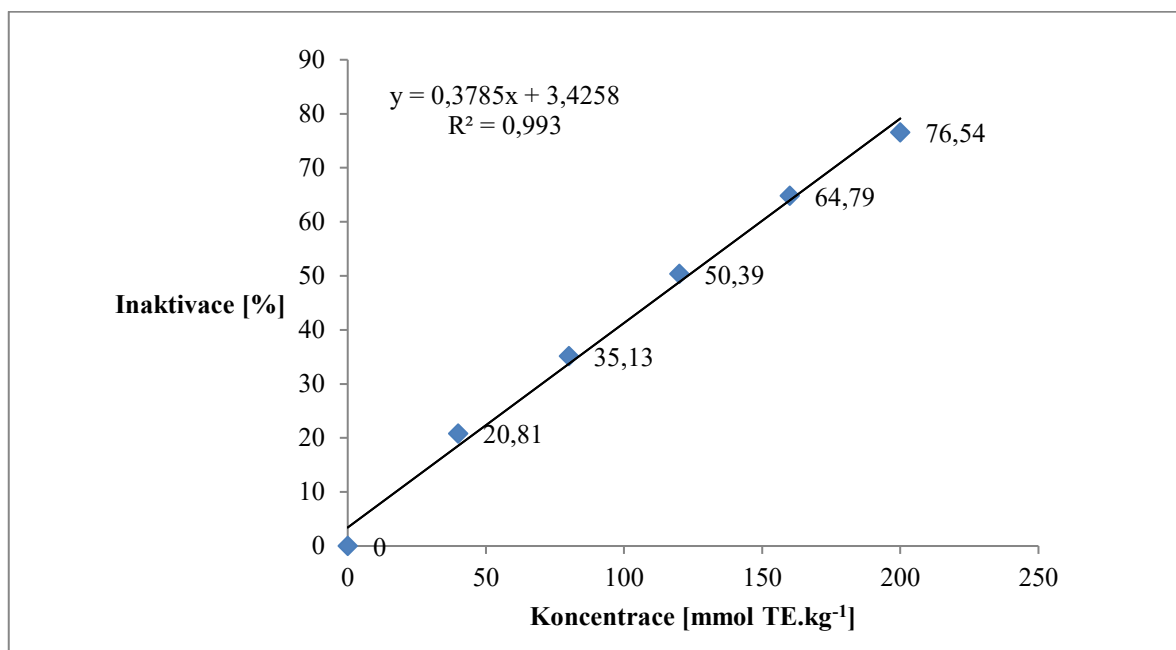
Kalibrační křivka vyjadřující závislost absorbance na koncentraci rutinu



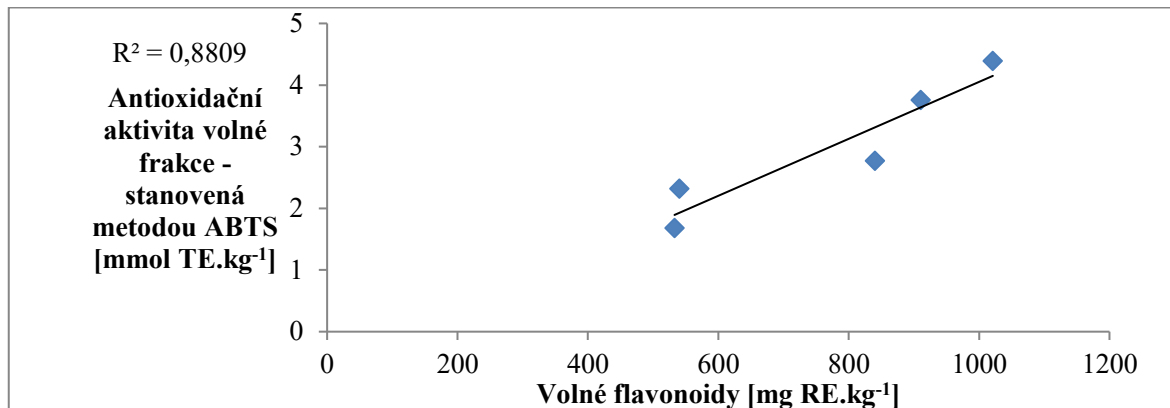
Kalibrační křivka vyjadřující závislost absorbance na koncentraci kyseliny gallové

**PŘÍLOHA P II: KALIBRAČNÍ KŘIVKY PRO STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY METODOU ABTS A DPPH**

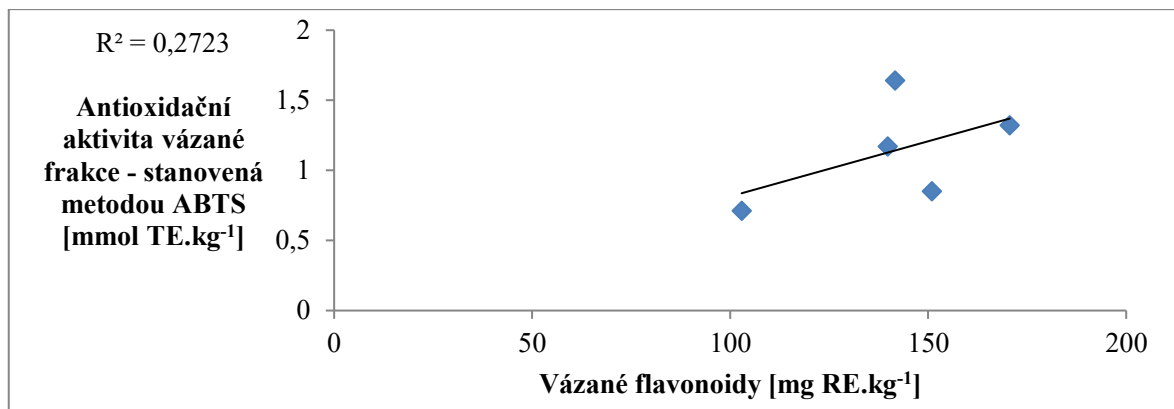
Kalibrační křivka vyjadřující závislost inaktivace na koncentraci troloxu



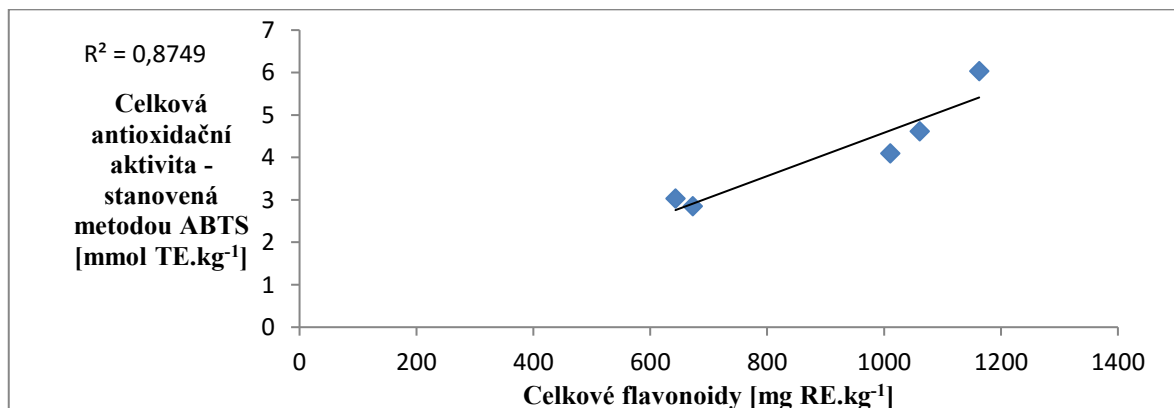
Kalibrační křivka vyjadřující závislost inaktivace (%) na koncentraci troloxu

**PŘÍLOHA P III: KORELACE ANTIOXIDAČNÍCH AKTIVIT S FLAVONOIDY A POLYFENOLY**

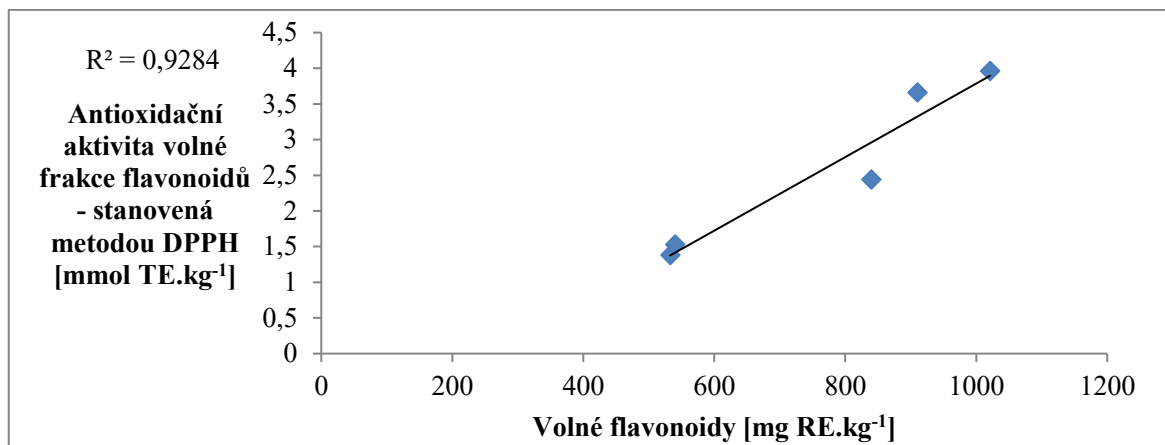
Korelace koncentrace volných flavonoidů s antioxidační aktivitou volné frakce stanovené metodou ABTS



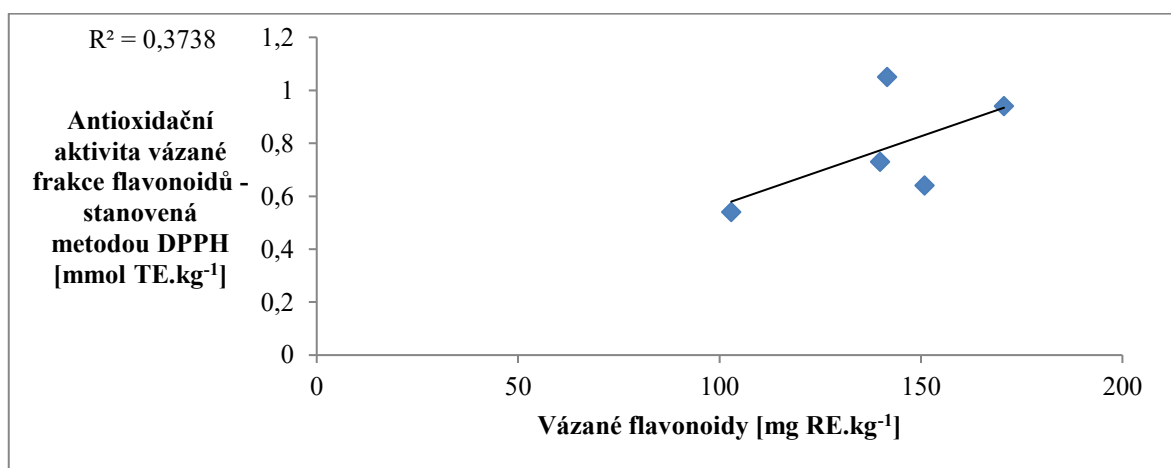
Korelace koncentrace vázaných flavonoidů s antioxidační aktivitou vázaných frakcí stanovené metodou ABTS



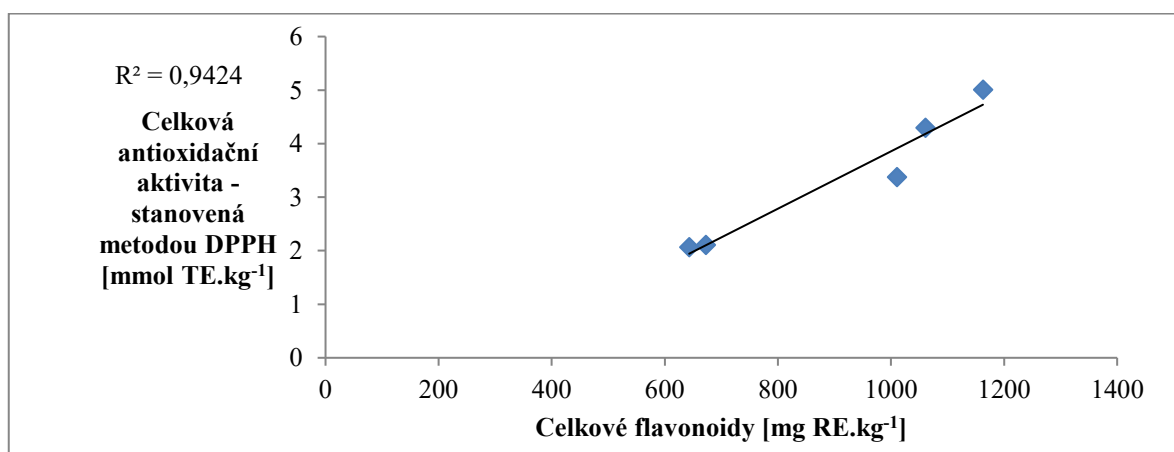
Korelace koncentrace celkových flavonoidů s celkovou antioxidační aktivitou stanovenou metodou ABTS



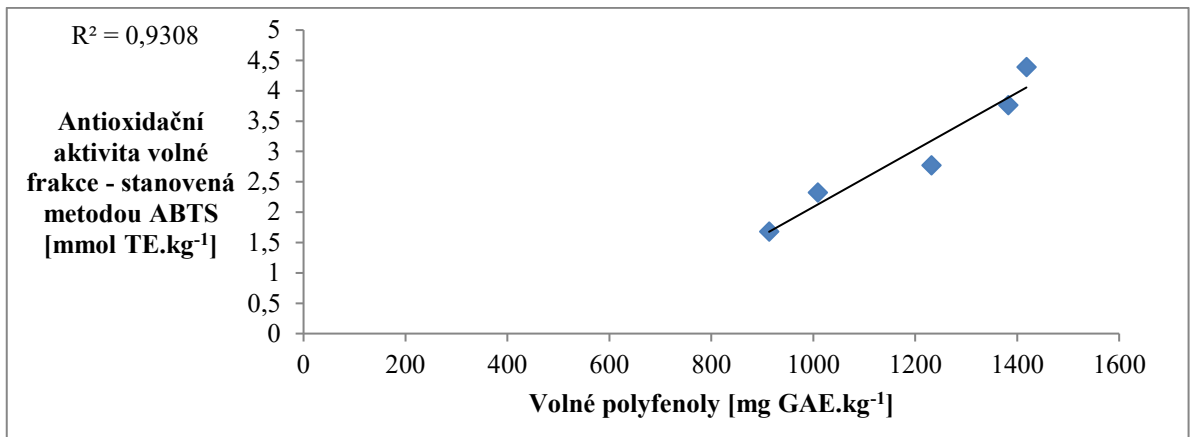
Korelace koncentrace volných flavonoidů s antioxidační aktivitou volných frakcí stanovené metodou DPPH



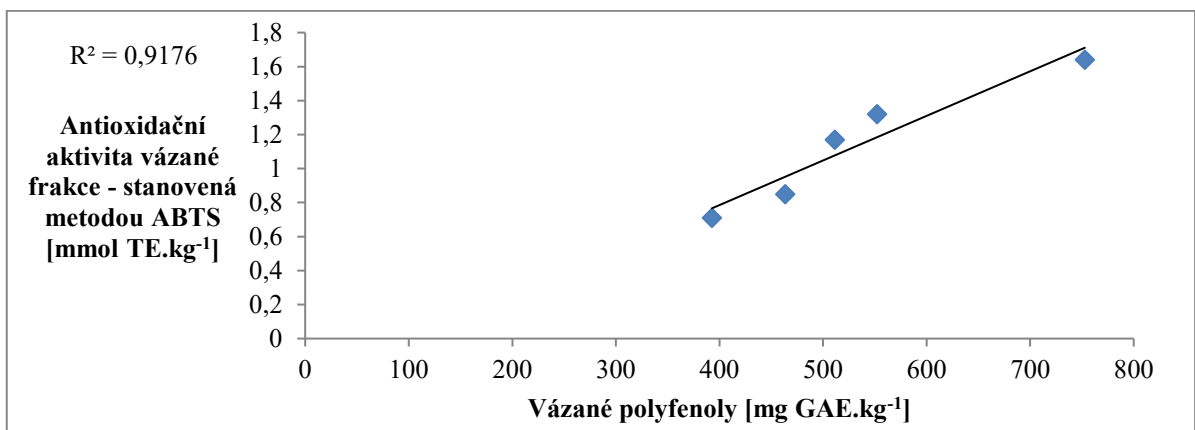
Korelace koncentrace vázaných flavonoidů s antioxidační aktivitou vázaných frakcí stanovené metodou DPPH



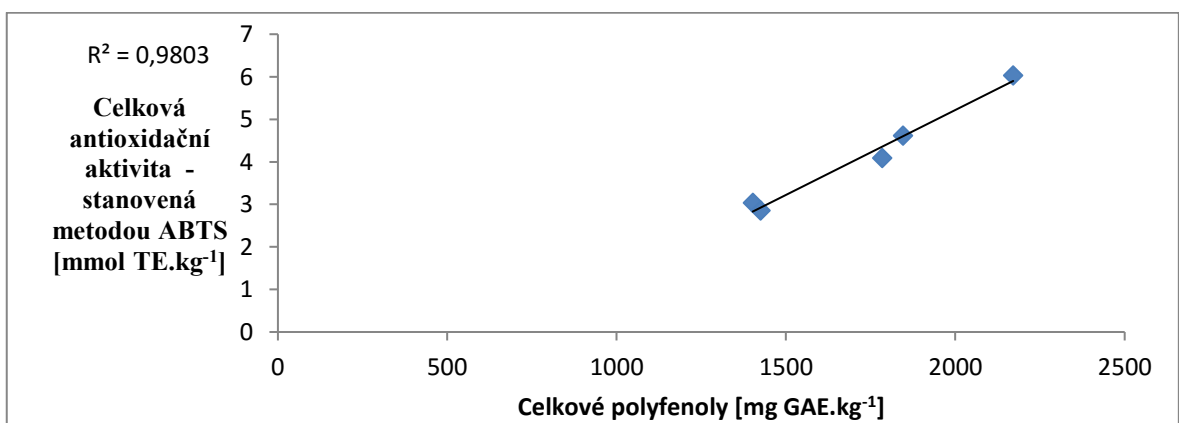
Korelace koncentrace celkových flavonoidů s celkovou antioxidační aktivitou stanovenou metodou DPPH



Korelace koncentrace volných polyfenolů s antioxidační aktivitou volné frakce stanovená metodou ABTS

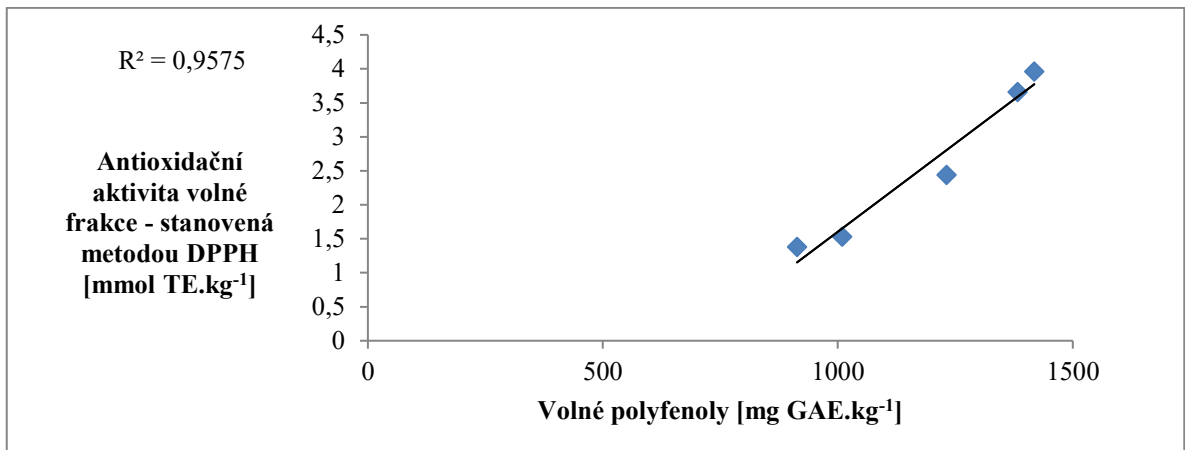


Korelace koncentrace vázaných polyfenolů s antioxidační aktivitou vázané frakce stanovenými stanovenou metodou ABTS

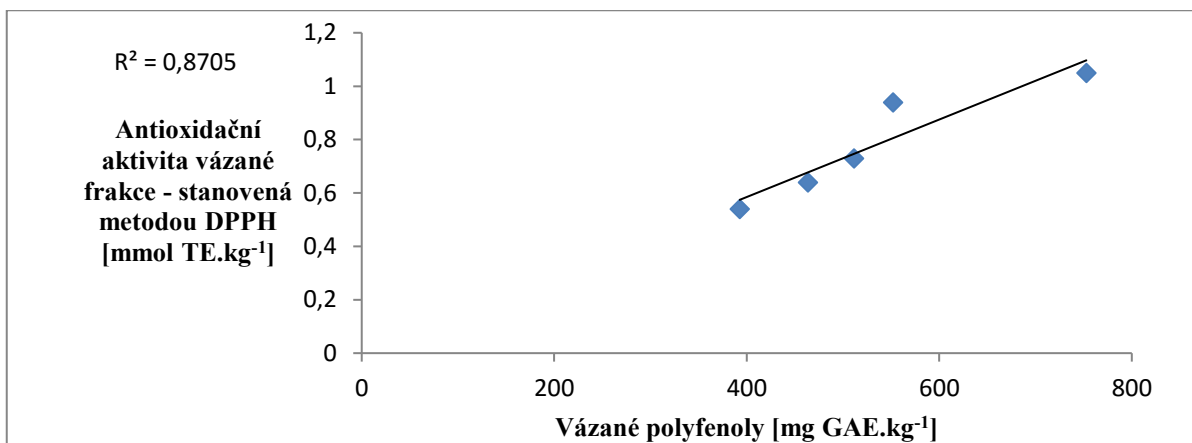


Korelace koncentrace celkových polyfenolů s celkovou antioxidační aktivitou stanovenou metodou ABTS

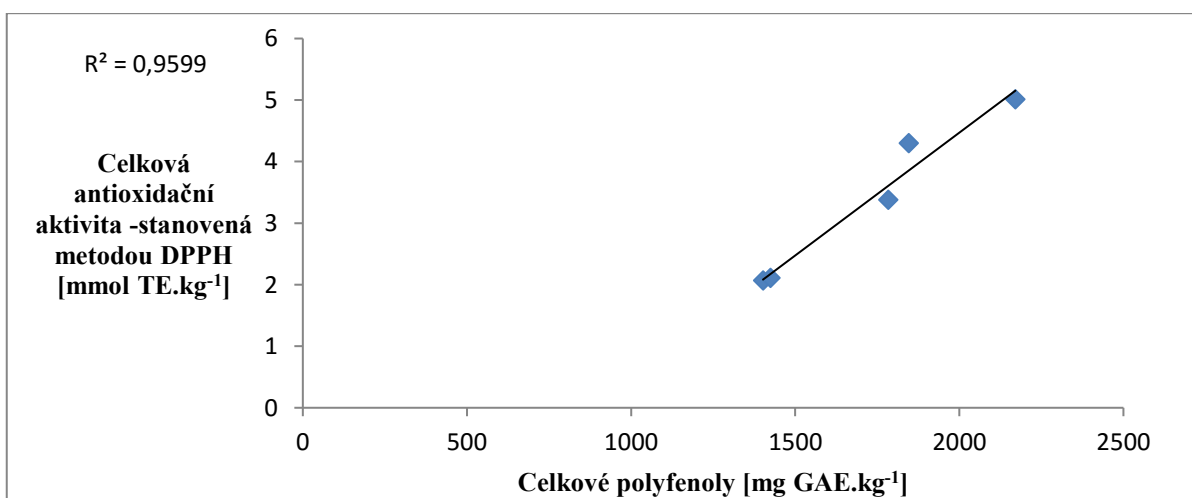




Korelace koncentrace volných polyfenolů s antioxidační aktivitou volné frakce volnými frakcemi stanovené metodou DPPH



Korelace koncentrace vázaných polyfenolů s antioxidační aktivitou vázané frakce stanovenou metodou DPPH



Korelace koncentrace celkových polyfenolů s celkovou antioxidační aktivitou stanovenou metodou DPPH