

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2021

Patrik Plachý

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Stanovení složek semen rostliny šalvěje hispánské moderními analytickými
metodami

Bakalářská práce

2021

Patrik Plachý

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2020/2021

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Patrik Plachý**
Osobní číslo: **C18101**
Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Hodnocení a analýza potravin**
Téma práce: **Stanovení složek semen rostliny šalvěže hispánské moderními analytickými metodami**
Zadávací katedra: **Katedra analytické chemie**

Zásady pro vypracování

Vypracujte literární rešerši:

1. V první části bakalářské práce charakterizujte vlastnosti a chemické složení semen rostliny šalvěže hispánské, známé také jako chia semena. Věnujte se také jejich účinkům na lidský organismus.
2. V druhé části popište přípravu vzorku, analytické metody a postupy, použitelné pro stanovení látek vyskytujících se v chia semenech. Zaměřte se na moderní analytické metody.
3. Získané poznatky kriticky zhodnoťte.

Rozsah pracovní zprávy:
Rozsah grafických prací:
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucího práce.

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Tomáš Hájek, Ph.D.**
Katedra analytické chemie

Datum zadání bakalářské práce: **5. února 2021**
Termín odevzdání bakalářské práce: **2. července 2021**

L.S.

prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

prof. Ing. Karel Ventura, CSc.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 20. února 2021

Prohlašuji:

Práci s názvem Stanovení složek semen rostliny šalvěje hispánské moderními analytickými metodami jsem vypracoval samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využil, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byl jsem seznámen s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 9. 7. 2021

Patrik Plachý

Poděkování

Na tomto místě bych rád poděkoval svému vedoucímu práce Ing. Tomášovi Hájkovi, Ph.D. za poskytnutí cenných rad, trpělivost a vynaložený čas v průběhu vypracování této bakalářské práce.

ANOTACE

Tato bakalářská práce se zabývá chemickým složením semen šalvěže hispánské (*Salvia hispanica* L.). V první části je provedena stručná charakteristika rostliny. Následně je rozebráno chemické složení semen a jsou zde popsány také jejich vlastnosti a účinky na lidský organismus. V poslední části bakalářské práce jsou uvedeny metody stanovení jednotlivých složek chia semen.

KLÍČOVÁ SLOVA

šalvěj hispánská, chia semena, moderní analytické metody

TITLE

Determination of compounds occurring in the seeds of *Salvia hispanica* by modern analytical methods

ANNOTATION

This bachelor thesis deals with the chemical composition of *Salvia hispanica* seeds. The first part contains short plant characteristics. In the next part there is described the composition of seeds. Their properties and effects on human organism are also described here. The last part is summarising methods for the determination of compounds occurring in chia seeds.

KEYWORDS

Salvia hispanica L., chia seeds, modern analytical methods

OBSAH

ÚVOD	13
1 ŠALVĚJ HISPÁNSKÁ	14
1.1 Historie	14
1.2 Pěstování	15
1.3 Sklizeň a skladování semen	15
2 CHIA SEMENA	17
2.1 Popis	17
2.2 Chemické složení	17
2.2.1 LIPIDY	18
2.2.1.1 Kyselina α -linolenová	18
2.2.1.2 Kyselina α -linolová	19
2.2.2 SACHARIDY	20
2.2.3 VLÁKNINA	20
2.2.4 BÍLKOVINY	21
2.2.4.1 Aminokyseliny	22
2.2.5 VITAMÍNY	23
2.2.5.1 Niacin	24
2.2.5.2 Kyselina listová	24
2.2.5.3 Vitamín C (Kyselina L-askorbová)	24
2.2.6 MINERÁLNÍ LÁTKY	25
2.2.6.1 Fosfor	26
2.2.6.2 Vápník	26
2.2.6.3 Draslík	26
2.2.7 POLYFENOLY	26
2.3 Vlastnosti chia semen	27
2.3.1 Hydrofilní vlastnosti	27

2.3.2	Antioxidační vlastnosti	28
2.4	Shrnutí účinků na lidský organismus	28
2.5	Využití chia semen	29
3	STANOVENÍ SLOŽEK V CHIA SEMENU	30
3.1	Příprava vzorku	30
3.2	Analytické metody a postupy pro stanovení složek chia semen	30
3.2.1	Stanovení obsahu lipidů	30
3.2.1.1	Stanovení celkového obsahu lipidů	30
3.2.1.2	Stanovení obsahu jednotlivých mastných kyselin	32
3.2.2	Stanovení obsahu sacharidů	32
3.2.3	Stanovení obsahu vlákniny	33
3.2.4	Stanovení obsahu bílkovin	34
3.2.4.1	Stanovení celkového obsahu bílkovin	34
3.2.4.2	Stanovení obsahu jednotlivých frakcí bílkovin	35
3.2.4.3	Stanovení obsahu jednotlivých aminokyselin	35
3.2.5	Stanovení obsahu vitamínů	36
3.2.5.1	Stanovení obsahu vitamínu C	36
3.2.5.2	Stanovení obsahu vitamínu E	37
3.2.5.3	Stanovení obsahu vitamínu A	37
3.2.5.4	Stanovení obsahu vitamínů skupiny B	38
3.2.6	Stanovení obsahu minerálních látek	38
3.2.7	Stanovení obsahu polyfenolů	39
3.2.7.1	Stanovení celkového obsahu polyfenolů	39
3.2.7.2	Stanovení celkového obsahu flavonoidů	39
3.2.7.3	Stanovení obsahu jednotlivých fenolových sloučenin	40
4	ZÁVĚR	42
5	POUŽITÁ LITERATURA	43

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Šalvěj hispánská ^[3]	14
Obrázek 2: Chia semena ^[17]	17
Obrázek 3: Kyselina α -linolenová	19
Obrázek 4: Kyselina α -linolová	19
Obrázek 5: Kyselina nikotinová	24
Obrázek 6: Kyselina listová	24
Obrázek 7: Kyselina L-askorbová	25
Obrázek 8: Kyselina kávová	27
Obrázek 9: Kyselina rozmarýnová	27
Obrázek 10: Myricetin	27
Obrázek 11: Genistein	27
Obrázek 12: Laboratorní mlýnek A11 Basic ^[56]	30
Obrázek 13: Soxhletův nástavec s extrakční patronou ^[58]	31

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Obsah jednotlivých složek v chia semenu ^[20]	18
Tabulka 2: Obsah jednotlivých aminokyselin v chia semenu ^[40,41]	22
Tabulka 3: Obsah jednotlivých vitamínů v chia semenu ^[42]	23
Tabulka 4: Obsah jednotlivých minerálů v chia semenu ^[44]	25

SEZNAM ZKRATEK

AAS	atomová absorpční spektrometrie
ABTS	2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonová kyselina)
ALA	kyselina α -linolenová
BHT	butylhydroxytoluen
BSA.....	hovězí sérový albumin
CE	kapilární elektroforéza
DAD.....	detektor s diodovým polem
DHA.....	kyselina dokosaheptaenová
DPPH.....	2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl
EDTA.....	kyselina ethylendiamintetraoctová
EPA.....	kyselina eikosapentaenová
ESI-MS	hmotnostní spektrometrie s elektrosprejovou ionizací
FID.....	plamenový ionizační detektor
HDB.....	hexadimethrin bromid
HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie
ICP-OES ..	optická emisní spektrometrie
IDF.....	nerozpustná vláknina
LA	kyselina α -linolová
LDL.....	lipoprotein s nízkou hustotou
MK.....	mastné kyseliny
MS.....	hmotnostní detektor
MUFA	mononenasyčené mastné kyseliny
PAD	pulsní amperometrická detekce
PUFA	polynenasyčené mastné kyseliny
PVDF	polyvinylidenfluorid
RID.....	detektor indexu lomu
SDF	rozpustná vláknina
SFA	nasyčené mastné kyseliny
TDF	celková vláknina
TEAC	antioxidační aktivita vztažená ke standardnímu roztoku Troloxu
UFA	nenasyčené mastné kyseliny
USDA	Ministerstvo zemědělství Spojených států amerických

UV..... ultrafialové záření

VIS..... viditelné záření

ÚVOD

Semena šalvěže hispánské, známá jako chia semena, jsou v současné době velmi vyhledávanou potravinou po celém světě. V minulých staletích byla jejich konzumace pouze výsadou střední a jižní Ameriky. Velký zlom znamenalo prohlášení Evropského parlamentu z roku 1997, kdy chia semena byla označena za potravinu nového typu a začala se hojně využívat nejen samostatně, ale i jako obohacující složka některých potravin, převážně cereálních. Ze všech složek chia semen má největší uplatnění v potravinářském průmyslu sliz, který se přidává do pekařských výrobků z důvodu udržování vláčnosti. Používá se i jako zahušťovadlo.

Chia semena jako potraviny s vysokým obsahem ω -3 a ω -6 mastných kyselin, vlákniny, bílkovin a antioxidantů mají vysokou nutriční hodnotu. Pro lidský organismus slouží jako prevence před zánětlivými, srdečními a nervovými onemocněními. Pomáhají také regulovat hladinu cukru v krvi díky obsahu vlákniny. Přispívají k dobrému stavu pokožky, vlasů, nehtů a působí proti bolesti kloubů. Vzhledem ke svým hydrofilním vlastnostem jsou snadno stravitelná. Jejich konzumace je doporučena pro osoby s dietním stravovacím režimem.

1 ŠALVĚJ HISPÁNSKÁ

Šalvěj hispánská (*Salvia hispanica* L.) (Obr. 1) je jednoletá bylina. Patří do čeledi hluchavkovitých. Dorůstá do výšky zhruba 1 m. Pěstuje se především pro semena zvaná chia a má bílé nebo fialové květy. Její listy jsou obráceně řapíkaté a vroubkované o délce 4–8 cm a šířce 3–5 cm ^[1,2].



Obrázek 1: Šalvěj hispánská ^[3]

1.1 Historie

Šalvěj hispánská pochází z jižního Mexika a severní Guatemaly ^[1]. První zmínky se datují do doby před rokem 3500 př. n. l., kdy její semena poprvé sloužila jako potrava pro člověka. V letech 1500–900 př. n. l. byla chia semena ve středu Mexika přijata jako hlavní tržní plodina. Později se konzumace chia semen rozšířila po celé střední Americe, kde patřila společně s kukuřicí, fazolemi a amarantem mezi základní potraviny zdejšího obyvatelstva po celé předkolumbovské období. Kromě jídla měla také náboženský význam. Využívala se jako desátek nebo obětní dar ^[4]. Po španělské kolonizaci (v letech 1550–1810) bylo však pěstování šalvěje hispánské zakázáno. K obnově jejího pěstování došlo v letech 1810–1990 a chia semena se začala opět hojně konzumovat. V posledních letech se využívají po celém světě a jsou považována za moderní potraviny ^[5].

Svůj druhový název dostala šalvěj hispánská od švédského přírodopisce Carla von Linného, který si ji spletl s původní rostlinou ze Španělska. Ve Španělsku byla však představena až v 16. století, kdy se v Mexiku usadili španělští kolonizátoři jako Hernán Cortés [6].

1.2 Pěstování

V současnosti se šalvěj hispánská pěstuje především v Austrálii, Bolívii, Kolumbii, Guatemale, Mexiku, Peru a Argentině. Roste přirozeně v subtropickém a tropickém podnebí [2,7]. Náleží mezi krátkodenní rostliny s kritickou délkou dne 12–13 hodin. Období jejího růstu a plodnosti tedy závisí na zeměpisné šířce. Na severní polokouli začíná kvést v říjnu a na jižní polokouli v dubnu. Pro svůj správný vývoj potřebuje dostatečnou teplotu, nejlépe okolo 16–26 °C, protože rostlina není rezistentní vůči mrazu [7]. V Evropě je kultivována nejčastěji ve sklenících. V přírodě se vyskytuje hlavně v horských oblastech [2]. Optimální nadmořská výška se pohybuje v rozmezí od 400 do 2 500 m n. m., naproti tomu území pod 200 m n. m. nejsou pro růst příznivé [7]. V těchto nadmořských výškách by z důvodu příliš vysoké teploty blížící se hranici maximálních fyziologických prahů plodin mohlo docházet ke zvýšení tepelného stresu rostliny a také k úbytku vody v důsledku odpařování [8].

Šalvěj hispánská vyžaduje mírné zavlažování a nejvíce se jí daří v písčitohlinitých a jílovitohlinitých půdách [2,9]. Odolává různým škůdcům a chorobám a je vhodná pro ekologickou produkci [9].

1.3 Sklizeň a skladování semen

Sklizeň semen šalvěje hispánské se provádí buď ručně nebo mechanicky pomocí sklízecí mlátičky. Sklizeň probíhá cca 120–180 dní po výsadbě, kdy jsou semena již zralá [10]. Semena se nejlépe sklízí z mírně vysušených květů na vrcholu stonku. Ideální doba je ihned potom, co fialové květy ztratí svoje okvětní listy [11]. Výnosy semen se pohybují od 600 do 1 200 kg na jeden hektar. Pokud jsou při pěstování rostliny použita hnojiva a zavlažovací systém, tak je možné sklídit z jednoho hektaru až 2 500 kg semen [12].

Po sklizni se semena čistí a jsou roztríděna podle jejich stavu. Poškozená semena bývají oddělena a nepoužita, maximálně mohou sloužit jako krmivo pro zvířata. Nepoškozená semena jsou uvedena na trh [13].

Po čištění následuje obvykle skladování. Je nezbytné zvolit vhodnou metodu, což zahrnuje použití vhodného prostředí a vhodného obalu. Během této doby se sice kvalita semen nezlepší, ale správné skladování je důležité pro zachování původního stavu. Když jsou semena uchována

při přiměřené teplotě a relativní vlhkosti vzduchu, snižuje se jejich respirační aktivita a tím si v zásadě ponechávají své vlastnosti. Bylo zjištěno, že semena je dobré skladovat při nižších teplotách ve skleněném nebo plastovém obalu ^[14]. Při vyšších teplotách mohou vznikat nežádoucí fyzikálně-chemické reakce, jako jsou barevné změny a oxidace. Tyto změny způsobují nižší kvalitu a také nižší nutriční hodnotu semen ^[15].

2 CHIA SEMENA

2.1 Popis

Chia semena mají oválný tvar. Jsou 1–2 mm dlouhá a 0,8–1,4 mm široká (Obr. 2) ^[5,16].



Obrázek 2: Chia semena ^[17]

Zbarvení bývá nejčastěji černé a bílé. Je to závislé na barvě květů. Na rostlině s bílými květy se tvoří bílá semena a na rostlině s fialovými květy se tvoří černá semena ^[17]. Černá a bílá semena se v určitých ohledech od sebe odlišují, např. mírou zastoupení bílkovin a mastných kyselin ^[18]. Černě zbarvená semena jsou o něco bohatší na bílkoviny. Bíle zbarvená semena pro změnu obsahují lehce vyšší procento omega-3 mastných kyselin. Tyto odchylky jsou ovšem zanedbatelné a liší se v závislosti na oblasti, kde je rostlina pěstována ^[19]. Dále se od sebe liší i v jiných ukazatelích, mezi něž patří průměrný obsah vlhkosti. U černých chia semen je průměrný obsah vlhkosti přibližně 7,2 % a u bílých 6,6 % ^[18]. Bílá chia semena jsou mohutnější, větší a širší než černá chia semena ^[1,18].

2.2 Chemické složení

Chia semena jsou bohatým zdrojem lipidů, sacharidů, vlákniny, bílkovin. V menší míře obsahují vitamíny a některé minerály a také polyfenoly a antioxidanty, např. kyselinu kávovou, kyselinu chlorogenovou, kyselinu rozmarýnovou, myricetin, kvercetin atd. ^[1,5].

Nejvíce jsou v chia semenech přítomny lipidy a sacharidy (Tab. 1). Lipidy tvoří zhruba jednu třetinu ze všech složek přítomných v chia semenu. Obsah sacharidů se pohybuje mezi 26–41 % ^[20]. Zastoupení jednotlivých komponent závisí na genetických faktorech a velký vliv mají také podmínky, za kterých jsou rostliny pěstovány ^[5].

Tabulka 1: Obsah jednotlivých složek v chia semenu ^[20]

složka	obsah (g/100 g)
lipidy	30–33
sacharidy	26–41
vláknina	18–30
bílkoviny	15–25
popel, vitamíny, minerály	4–5

2.2.1 LIPIDY

Lipidy jsou látky, které člověk využívá jako zdroj energie, dále ke tvorbě stavebních složek buněčných membrán a řízení fyziologických funkcí ^[21,22]. V lidské stravě představují jednu z primárních živin důležitou pro správnou funkci a rozvoj organismu. Jejich hlavní složkou jsou esterově vázané mastné kyseliny. Mastné kyseliny patří mezi karboxylové kyseliny. Dělí se podle počtu dvojných vazeb v molekule na nasycené (bez dvojných vazeb, SFA) a nenasycené (alespoň jedna dvojná vazba, UFA). Nenasycené se dále dělí na mononenasycené (s jednou dvojnou vazbou, MUFA) a polynenasycené (s více dvojnými vazbami, PUFA) ^[23].

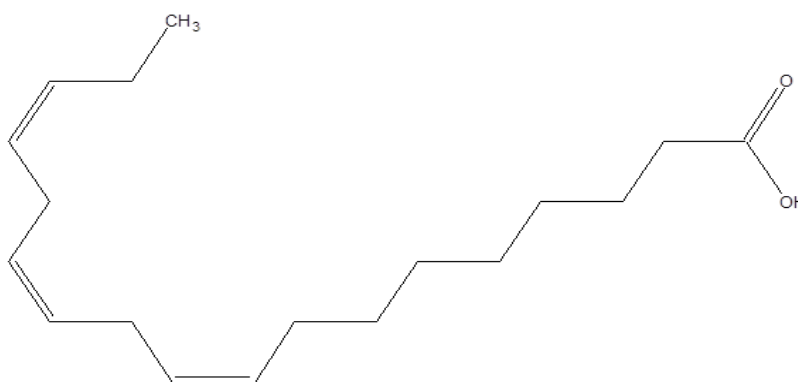
Chia semena obsahují malé množství nasycených (SFA, 7 %) a mononenasycených (MUFA, 13 %) mastných kyselin. Mezi přítomné nasycené mastné kyseliny náleží kyselina palmitová a kyselina stearová, mononenasycené mastné kyseliny jsou z velké části tvořeny kyselinou olejovou a kyselinou askepovou (cis-vakcenovou). V chia semenech se tedy vyskytují převážně polynenasycené mastné kyseliny (PUFA, 80 %) ^[24]. Největší část z celkového obsahu polynenasycených mastných kyselin představuje ω -3 kyselina α -linolenová (ALA), a to přibližně 55–60 %. V menší míře je přítomna ω -6 kyselina α -linolová (LA) o koncentraci 18–20 % ^[25]. Poměr mezi ω -3 a ω -6 mastnými kyselinami je tak přibližně roven hodnotě 3, což je daleko větší hodnota než u většiny rostlinných olejů, jako je řepkový olej (0,45), sójový olej (0,15) a olivový olej (0,13) ^[26]. Tyto kyseliny mají významnou úlohu při udržování správné hladiny lipidů v krevním séru. Organismus si je nedokáže sám syntetizovat, jsou tedy esenciální ^[22].

2.2.1.1 Kyselina α -linolenová

Kyselina α -linolenová (Obr. 3) je esenciální mastná kyselina a organismus jí získává pouze ze stravy ^[27]. Je přítomna v řepkovém oleji, vlašských ořeších, lněných a dýňových semenech ^[28]. Pokud se dostane do lidského organismu, tak přechází na kyselinu eikosapentaenovou (EPA)

a kyselinu dokosahexaenovou (DHA) [27–29]. Tato konverze probíhá nejčastěji v játrech a erythrocytech [29], avšak není příliš účinná, proto se EPA a DHA také řadí mezi esenciální mastné kyseliny [28]. Největším zdrojem těchto kyselin jsou ryby [27,28]. Tyto kyseliny mají vliv na vývoj mozku, působí protizánětlivě a chrání tělo před srdečními a cévními nemocemi [27]. Význam samotné ω -3 kyseliny α -linolenové je uveden v následujících bodech:

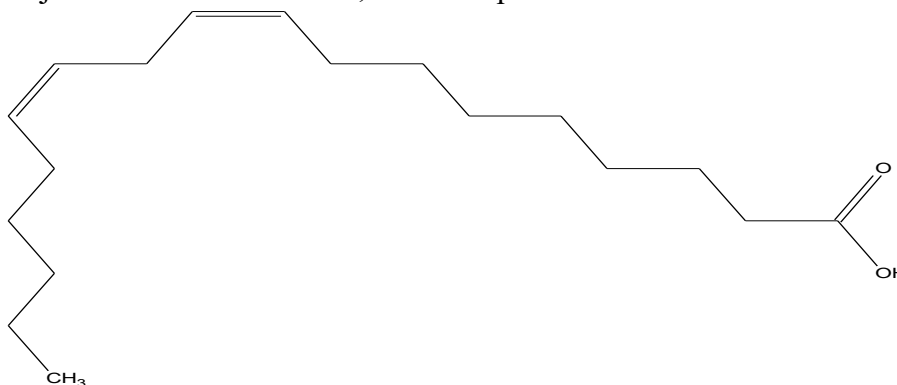
- zajišťuje snížení hladin glyceridů a cholesterolu
- chrání srdce a játra
- má antidiabetický účinek
- chrání tělo před rakovinou, artritidou a autoimunitními chorobami [1,22]



Obrázek 3: Kyselina α -linolenová

2.2.1.2 Kyselina α -linolová

Kyselina α -linolová (Obr. 4) je nejvíce konzumovanou polyneenasycenou mastnou kyselinou. Je obsažena především v rostlinných olejích, ořechách, masu a vejci. Bývá přeměněna na kyselinu γ -linolenovou a kyselinu arachidonovou. Kyselinu arachidonovou je možno převést na tzv. eikosanoidy, které jsou nezbytné pro činnost buněk a tkání. V nadměrném množství ovšem způsobují chronická onemocnění, mezi něž patří rakovina či zánět [30].



Obrázek 4: Kyselina α -linolová

2.2.2 SACHARIDY

Sacharidy jsou z chemického hlediska polyhydroxyaldehydy a polyhydroxyketony, které se skládají z nejméně tří navzájem vázaných alifatických atomů uhlíku. Podle toho, kolik obsahují cukerných jednotek, se dělí na monosacharidy (1 cukerná jednotka), oligosacharidy (2–10 cukerných jednotek) a polysacharidy (více než 10 cukerných jednotek), jinak nazývané také jako glykany. Jsou to velmi reaktivní sloučeniny. Při skladování a zpracování potravin reagují s aminosloučeninami, čímž vznikají důležité aromatické látky a látky dodávající potravině charakteristickou barvu [23].

U chia semen tvoří kolem 48 % z celkového obsahu sacharidů sliz [31]. Je to tetrapolysacharid s vysokou molekulovou hmotností [32]. Skládá se z monosacharidů D-xylózy a D-mannózy (16 %), D-arabinózy (2 %), D-glukózy (6 %), glukuronové (3 %) a galakturonové kyseliny (12 %) [31]. Příjem tohoto slizu působí pozitivně na lidské zdraví. Snižuje riziko cukrovky, ischemické choroby srdeční a několika druhů rakoviny [32]. Další sacharidy přítomné v chia semenech jsou monosacharidy galaktóza a fruktóza. Disacharidy jsou zastoupeny sacharózou, laktózou a maltózou a celkový obsah polysacharidů představuje vláknina a škrob [33].

Sacharidy jsou součástí všech rostlinných i živočišných buněk, kde tvoří hlavní stavební materiál a působí také jako ochrana buňky vůči nepříznivými vnějším vlivům. Společně s lipidy a bílkovinami jsou primárním zdrojem energie a patří mezi základní živiny [23].

2.2.3 VLÁKNINA

Vláknina je skupina sloučenin zahrnujících oligosacharidy a polysacharidy, jako je celulóza, hemicelulóza, lignin, pektin, gumy a slizy [22,34]. Sama o sobě je těžko stravitelná. Dělí se na rozpustnou a nerozpustnou vlákninu. Oba tyto druhy jsou přítomny ve všech potravinách, jen se u každé potraviny liší jejich zastoupení [35].

Chia semena obsahují více vlákniny než většina druhů ovoce a zeleniny (např. kiwi, kukuřice, mrkev, špenát, jablko, hruška). Podíl nerozpustné vlákniny (IDF) se pohybuje v rozmezí 23–46 %, rozpustná vláknina (SDF) zaujímá přibližně 2,5–7,1 % [18]. Nerozpustná vláknina je složena převážně z ligninu. Lignin je v chia semenech důležitý pro přítomné nenasycené mastné kyseliny, neboť je chrání před oxidací. Má také schopnost vázat žlučové kyseliny, čímž přispívá hypocholesterolemickému účinku (snížení hladiny cholesterolu v krvi) vlákniny z chia semen na lidský organismus. Dále mezi nerozpustnou vlákninu patří celulóza a hemicelulóza [6]. Rozpustnou vlákninu tvoří sliz, který absorbuje vodu. Díky němu jsou chia semena schopna přijmout až 27násobný obsah vody, než je jejich vlastní hmotnost [36].

Vláknina patří mezi významnou složku stravy. Podle mnohých zdravotních institucí je výhodné konzumovat vlákninu v množství 25–30 g denně [21]. Má pozitivní účinky na lidské zdraví, např. reguluje hladinu cholesterolu, cukru a inzulinu v krvi. Také je důležitá pro správnou funkci střev. Vysokým denním příjmem vlákniny (cca 50 g) je možno předejít srdečním onemocněním, cukrovce typu 2 a různým druhům rakoviny [22]. Je dokázáno, že takto vysoký příjem zdatně prodlužuje život a snižuje náklady na zdravotní péči [37]. Vláknina je také vhodná při hubnutí, protože dokáže navodit pocit sytosti [22]. Díky svým hydratačním vlastnostem se využívá jako stabilizátor pěny, suspenzační činidlo nebo jako emulgátor v potravinářství a lékárnictví [34].

2.2.4 BÍLKOVINY

Bílkoviny jsou látky, které jsou tvořeny z více než 100 aminokyselin navzájem spojených nejčastěji peptidovou (-CO-NH-), ale také disulfidovou (-S-S-), esterovou nebo amidovou vazbou. Jsou přítomny ve všech živých organismech. Podle toho, jakou mají v organismu úlohu, se bílkoviny rozdělují na zásobní, transportní, katalytické, strukturní, senzorké, obranné a regulační. V lidské výživě jsou zastoupeny především bílkoviny ze živočišných (60 %) a rostlinných zdrojů (40 %) [23].

Chia semena obsahují více bílkovin než jiná semena (např. kukuřice, rýže, quinoa, pšenice) [1]. Celkový obsah bílkovin je tvořen převážně globuliny (52 %), a to hlavně 11S a 7S frakcemi. Dále jsou v chia semenech přítomny albuminy (17 %), gluteliny (14 %), prolaminy (12 %) [38]. Tyto všechny bílkoviny se řadí mezi zásobní. Jejich úkolem je poskytovat dusík pro biosyntézu metabolicky aktivních rostlin. Některé z nich se také podílejí na produkci a skladování rostlinných lipidů [39].

Chia semena neobsahují bílkovinný lepek a jsou díky tomu vhodná pro pacienty trpící celiakií. Jejich konzumace je také doporučena pro osoby, které chtějí zhubnout [1].

Bílkoviny jsou nepostradatelnou součástí lidské výživy. Doporučená denní dávka bílkovin se pohybuje okolo 1,0–1,2 g na 1 kg tělesné hmotnosti. Organismus využívá bílkoviny jako materiál ke stavbě a také k obnově tkání. Slouží i jako zdroj energie. Energetická hodnota bílkovin činí 17 kJ.g⁻¹, což je přibližně stejné jako u sacharidů. Podle výživových doporučení by měl člověk přijmout za den základní živiny, tj. bílkoviny, lipidy a sacharidy v poměru 1:2:4. Nedostatečný příjem bílkovin způsobuje zpomalení tělesného i duševního vývoje, sníženou obranyschopnost organismu a špatné hojení ran [23].

2.2.4.1 Aminokyseliny

Aminokyseliny se vyskytují v potravinách jako základní stavební jednotky bílkovin. Mají velký vliv na senzoryckou jakost potravin, především na jejich chuť. Reakcemi aminokyselin vznikají různé vonné a barevné látky. Podle toho, jak je lidské tělo schopno syntetizovat určitou aminokyselinu, se dělí na esenciální (tělo si je nedokáže syntetizovat a musí se přijímat ze stravy), neesenciální (tělo si je dokáže samo syntetizovat) a poloesenciální (syntéza u dětí není dostatečná) [23].

V chia semenech jsou přítomny všechny esenciální aminokyseliny důležité pro výživu člověka [16,39]. Nejvíce přítomnou esenciální aminokyselinou leucin (Tabulka 2). Z neesenciálních aminokyselin je nejvíce přítomna kyselina glutamová a z poloesenciálních arginin. Tato data byla získána z údajů Ministerstva zemědělství Spojených států amerických (USDA) [40] a podle Soni Nitrayové a kol. (2014) [41].

Tabulka 2: Obsah jednotlivých aminokyselin v chia semenu [40,41]

aminokyselina	obsah (g/100 g)	
	USDA	Nitrayova a kol.
esenciální aminokyseliny		
isoleucin	0,80	0,74
leucin	1,37	1,42
lysin	0,97	0,93
methionin	0,59	0,67
fenylalanin	1,02	1,60
threonin	0,71	0,54
tryptofan	0,44	nezjištěno
valin	0,95	0,79
neesenciální aminokyseliny		
cystein	0,41	0,42
tyrosin	0,56	0,61
alanin	1,04	0,94
kyselina asparagová	1,69	1,28
kyselina glutamová	3,50	2,87
glycin	0,94	0,91
prolin	0,78	1,28
serin	1,05	0,94
poloesenciální aminokyseliny		
arginin	2,14	2,00
histidin	0,53	0,61

Chia semena poskytují optimální množství esenciálních aminokyselin pro dospělé, avšak neposkytují dostatek threoninu, lysinu a leucinu pro děti v předškolním věku [22].

2.2.5 VITAMÍNY

Vitamíny jsou organické nízkomolekulární látky. Pro člověka i jiné heterotrofní organismy jsou esenciální, protože si je nedokážou syntetizovat a musí je přijímat potravou. Dělí se podle rozpustnosti v tucích a ve vodě na hydrofilní a lipofilní vitamíny. Mezi vitamíny rozpustné v tucích se řadí vitamíny A, D, E a K. Vitamíny rozpustné ve vodě jsou vitamíny skupiny B a vitamín C [23].

Chia semena obsahují především vitamíny skupiny B, a to niacin, riboflavin, thiamin a kyselinu listovou. V porovnání se semeny kukuřice a rýže mají větší množství niacinu. Zastoupení thiaminu a riboflavinu je víceméně totožné [21]. Z ostatních skupin vitamínů se v chia semenech vyskytují i vitamíny skupiny C, A a E [42]. Obsah jednotlivých vitamínů je uveden v následující Tabulce 3.

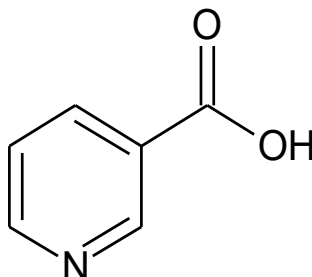
Tabulka 3: Obsah jednotlivých vitamínů v chia semenu [42]

vitamín	obsah (mg/100 g)
niacin	883
kyselina listová	49
vitamín C	1,6
thiamin	0,62
vitamín E	0,5
riboflavin	0,17
vitamín A	0,049

Ačkoli vitamíny nejsou zdrojem energie ani stavebním materiálem, v lidském těle mají několik nezastupitelných funkcí. Nejčastěji se podílejí na katalýze biochemických procesů. Umožňují zejména přeměnu látek a regulaci lidského metabolismu. Doporučená konzumace se pohybuje okolo 200 µg za den. Nedostačující příjem nějakého vitamínu vede k hypovitaminóze (částečný nedostatek) nebo k avitaminóze (úplný nedostatek), což se projeví narušením biochemických procesů a dochází tak k různým onemocněním. Poruchy biochemických procesů způsobuje také nadměrná konzumace vitamínů neboli hypervitaminóza. Týká se to zejména vitamínů rozpustných v tucích [23].

2.2.5.1 Niacin

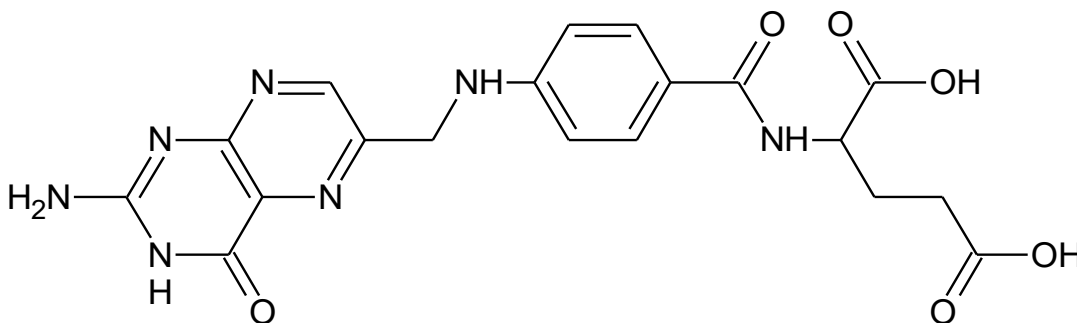
Niacin (Obr. 5) je společným názvem pro nikotinamid a kyselinu nikotinovou. Vyskytuje se především v mase, játrech, mléku a ořechách. V lidském těle se účastní metabolismu cukrů, tuků a bílkovin. Absolutní nedostatek niacinu způsobuje nemoc zvanou pelagra, jejímiž příznaky jsou kožní ekzémy, střevní potíže a mentální poruchy neboli demence [23,43].



Obrázek 5: Kyselina nikotinová

2.2.5.2 Kyselina listová

Kyselina listová (Obr. 6) je vitamín, který se vyskytuje v játrech, ořechách, mléčných výrobcích, mrkvi, sýrech, luštěninách a čerstvém ovoci. Je nezbytná pro správné fungování žaludku, střev, mozku a jater. Dále je zodpovědná za produkci nukleových kyselin, bílkovin a erytrocytů. Chrání tělo před rakovinou plic, tlustého střeva a konečníku. Nedostatečný příjem kyseliny listové vede k nervovým poruchám [43].

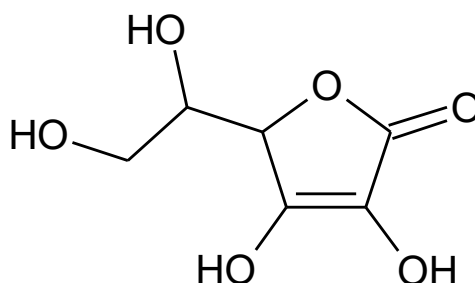


Obrázek 6: Kyselina listová

2.2.5.3 Vitamín C (Kyselina L-askorbová)

Kyselina L-askorbová (Obr. 7) jako jediná ze všech prostorových uspořádání kyseliny askorbové vykazuje aktivitu vitamínu C. Je obsažena především v rostlinných potravinách. V živočišných potravinách se ve významnější míře vyskytuje pouze v játrech. Má výrazný oxidačně-redukční potenciál. U rostlin se tento potenciál uplatňuje především při fotosyntéze,

kdy kyselina askorbová reguluje množství aktivních forem kyslíku. V živočišných organismech se účastní řady hydroxylačných reakcí. Nedostatek kyseliny askorbové způsobuje onemocnění skorbut, které se nejčastěji projevuje povrchovým krvácením, vypadáváním zubů, sníženou imunitou a anémií [23].



Obrázek 7: Kyselina L-askorbová

2.2.6 MINERÁLNÍ LÁTKY

Minerální látky přítomné v potravinách jsou prvky, které zůstanou ve vzorku potravin po kompletní oxidaci organické části na oxid uhličitý a vodu. Nejčastěji se dělí podle kvantitativního zastoupení na majoritní (stovky až deseti tisíce $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), minoritní (desítky až stovky $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) a stopové prvky neboli mikroelementy (desítky $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ a méně) [23].

Míra zastoupení jednotlivých minerálních látek v chia semenech je popsána v Tabulce 4. Mezi majoritní minerální látky patří fosfor (919 $\text{mg}/100\text{ g}$), draslík, vápník, hořčík a síra. Stopové prvky jsou zastoupeny železem, zinkem, manganem, mědí, sodíkem a selenem.

Tabulka 4: Obsah jednotlivých minerálů v chia semenu [44]

Minerální látka	obsah ($\text{mg}/100\text{ g}$)
fosfor	919
draslík	726
vápník	456
hořčík	449
síra	304
železo	9,18
zinek	6,47
mangan	3,79
měď	1,86
sodík	0,26
selen	0,04

2.2.6.1 Fosfor

Fosfor se v lidském těle vyskytuje především v kostech a zubech. Má několik funkcí, a to především funkci stavební, katalytickou, regulační a aktivační. Uplatňuje se zejména při přenosu energie. Je také důležitý k aktivaci některých enzymů [23].

2.2.6.2 Vápník

Vápník se také vyskytuje převážně v kostech a zubech. V lidském organismu je zastoupen nejvíce ze všech minerálů. Má stavební funkci, ale podílí se také na činnosti svalů a nervů. V iontové formě je potřebný pro srážení krve [23].

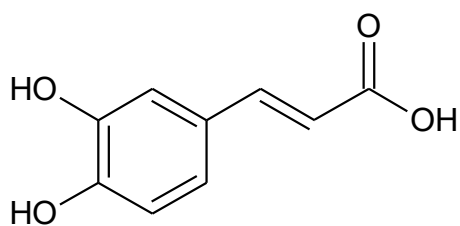
2.2.6.3 Draslík

Draslík se vyskytuje v lidském těle převážně uvnitř buněk. Jeho úkolem je udržovat osmotický tlak tekutin v mimobuněčném i vnitrobuněčném prostoru a rovnováhu kyselin a zásad. Podílí se také na aktivaci některých enzymů, např. enzymů dýchacího řetězce. Má vliv na činnost svalů, zvláště myokardu [23].

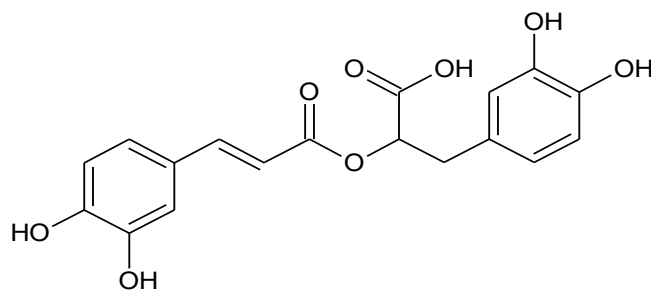
2.2.7 POLYFENOLY

Polyfenoly jsou chemické látky, které obsahují jednu nebo více fenolických jednotek. Patří mezi běžné složky rostlin [45]. Rozdělují se do několika skupin, z nichž nejběžnějšími představiteli jsou fenolové kyseliny, flavonoidy a taniny [46]. Nejčastějšími zdroji polyfenolů jsou ovoce, káva, čaj a červené víno. Vyskytují se také v zelenině, obilovinách a luštěninách [45].

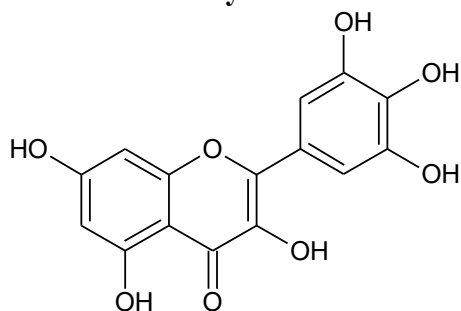
Celkový obsah polyfenolů v chia semenech představují fenolové kyseliny, flavonoidy a izoflavony. Mezi přítomné fenolové kyseliny patří kyselina kávová (Obr. 8), rozmarýnová (Obr. 9), chlorogenová, gallová, protokatechová a ferulová. Flavonoidy reprezentuje myricetin (Obr. 10), kvercetin, kaempferol a mezi izoflavony se řadí např. genistein (Obr. 11) nebo daidzin. Všechny tyto sloučeniny jsou pro potraviny důležité, protože zabraňují její oxidaci [47].



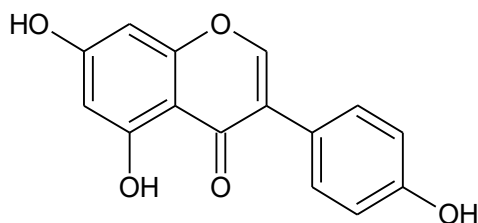
Obrázek 8: Kyselina kávová



Obrázek 9: Kyselina rozmarýnová



Obrázek 10: Myricetin



Obrázek 11: Genistein

Polyfenoly mají pozitivní účinek na lidský organismus. Jsou silnými antioxidanty. Podle epidemiologických studií příjem stravy bohaté na rostlinné polyfenoly chrání tělo před rakovinou, cukrovkou a před srdečními, cévními a neurodegenerativními onemocněními [45,46].

2.3 Vlastnosti chia semen

2.3.1 Hydrofilní vlastnosti

Když jsou zralá chia semena ponořena do vody, tak mají rosolovitý vzhled, který je způsoben slizem vyskytujícím se uvnitř epidermálních buněk. Sliz při styku s vodou zvětšuje svůj objem, čímž rozruší primární buněčnou vrstvu a obklopí semeno [16].

Mezi hlavní strukturní jednotky tohoto slizu patří sacharidy xylóza a glukóza, které jsou zastoupeny v poměru 2:1. Obsahuje také malé množství bílkovinného materiálu. Vzhledem ke svým hydratačním schopnostem má široké využití v potravinářském průmyslu [48]. Využívá se především jako zahušťovadlo nebo jako chelátor. Slouží také k náhradě tuků zejména v pekařských výrobcích, kterým dodává vláčnost [49].

Pro získání slizu se používá extrakce. Chia semena jsou nejdříve přidána do nádoby s destilovanou vodou. Musí se přidat takové množství, aby hmotnostní poměr mezi semeny vodou byl 1:40. Poté je roztok míchán na laboratorní třepače po dobu 2 hodin při 150 ot/min a teplotě 25 °C. Vzniklý sliz je od chia semen oddělen filtrací pomocí vakuové pumpy a síta. Nakonec se ještě provádí centrifugace trvající 20 minut. Výsledná forma slizu se suší při teplotě 50 °C na sušícím podnose po dobu 10 hodin a skladuje se pro pozdější použití [49].

2.3.2 Antioxidační vlastnosti

Podle několika studií byl u chia semen prokázán vysoký antioxidační potenciál [2]. Sargi a kol. [50] prováděli pokus se semeny chia a s lněnými semeny, kdy ke vzorku semen ve zkumavkách byl přidán pracovní roztok volných radikálů ABTS nebo DPPH. Zkumavky byly umístěny na laboratorní třepačku a roztoky byly intenzivně míchány po dobu 1 hodiny při teplotě 25 °C. Poté se provedla centrifugace trvající 2 minuty. Vzniklé roztoky (supernatanty) byly přeneseny do kyvet a změřila se absorbance při maximálních vlnových délkách pro dané roztoky. Antioxidační aktivita byla vypočítána pomocí metody TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity), tzn. že výsledky byly vztaženy ke standardnímu roztoku Troloxu (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-karboxylová kyselina). Podle hodnot antioxidačních aktivit se zjistilo, že chia semena mají menší schopnost vychytávat radikály ABTS než lněná semena, ale mají větší schopnost vychytávat radikály DPPH [50].

Volné radikály v lidském těle způsobují oxidační stres, který vede k různým onemocněním (např. cukrovka, trombóza), proto konzumace látek s vysokým antioxidačním potenciálem má pozitivní účinek na lidské zdraví [51]. Některé potraviny se obohacují přísadami s vysokým antioxidačním potenciálem, neboť tyto látky inhibují oxidaci lipidů a tím zabraňují znehodnocení potravin. Kromě chia semen k takovému účelu slouží především extrakty z různých bylin a rostlin (např. extrakt z rozmarýnu) [2].

2.4 Shrnutí účinků na lidský organismus

Chia semena jako bohatý zdroj ω -3 a ω -6 nenasycených mastných kyselin, vlákniny, bílkovin, antioxidantů a vitamínů mají vysokou nutriční hodnotu. Jejich konzumací je možno zabránit různým zánětlivým a srdečním onemocněním, cukrovce a poruchám centrálního nervového systému [52]. Díky své schopnosti nasávat vodu se podílejí na uvolnění energie ze sacharidů do krevního oběhu. Celkově napomáhají k lepšímu trávení. Přispívají také k dobrému stavu pokožky, nehtů a vlasů a pomáhají při bolestech kloubů [53].

Z jednotlivých komponent chia semen má velký význam olej. Podle výzkumu, prováděného s pacienty trpící svěděním důsledkem suché kůže, bylo zjištěno, že olej z chia semen způsobuje zlepšení hydratace pokožky. Také se používá pro výrobu kapslí omega-3, které se využívají jako doplněk stravy [51].

2.5 Využití chia semen

Chia semena se po schválení Evropského parlamentu jako nové potraviny dne 15. května 1997 začala hojně využívat k obohacení potravin. V současné době se přidávají nejčastěji do těstovin, sušenek, cereálních tyčinek, pečiva a jogurtů ^[51]. Používají se také jako přísada do ovocných nápojů a salátů nebo i jako zahušťovadlo do polévek a omáček ^[2].

3 STANOVENÍ SLOŽEK V CHIA SEMENU

3.1 Příprava vzorku

Příprava vzorku je analytická metoda, při které se z určitého celku odebere část materiálu neboli vzorek a ten se poté připraví k analýze. Uvedený vzorek musí být reprezentativní, tzn. že má stejné složení a vlastnosti jako původní celek ^[54].

Chia semena můžou být v laboratoři před analýzou homogenizována mletím prostřednictvím nožového laboratorního mlýnku A11 Basic (Obr. 12). Tento proces trvá přibližně 60 sekund a aby mletí bylo účinnější, tak se využívá zmrazení vzorku pomocí kapalného dusíku, do kterého je ponořena mlecí nádoba. U takto získané chia mouky je možné provést charakterizaci velikosti částic pomocí sít s různými velikostmi ok ^[55].



Obrázek 12: Laboratorní mlýnek A11 Basic ^[56]

3.2 Analytické metody a postupy pro stanovení složek chia semen

3.2.1 Stanovení obsahu lipidů

Lipidy jsou jednou z hlavních složek potravin. Stanovením jejich obsahu se zjišťují nutriční, texturní nebo sensorické vlastnosti potravin. Vyskytují se převážně ve formě triacylglycerolů, které jsou tvořeny glycerolem a třemi mastnými kyselinami. Délka řetězce a stupeň nasycení mastných kyselin významně ovlivňují jejich trávení a vstřebatelnost. Nejlépe se vstřebávají nenasycené mastné kyseliny s krátkým až středně dlouhým řetězcem ^[57].

3.2.1.1 Stanovení celkového obsahu lipidů

Při stanovení celkového obsahu lipidů se musí lipidy ze vzorku vyextrahovat. Jednou z možností je provést Soxhletovu extrakci, kde se vzorek přidá do extrakční patrony umístěné v Soxhletově extraktoru (Obr. 13) ^[55].



Obrázek 13: Soxhletův nástavec s extrakční patronou [58]

Pro extrakci se využívá vhodné organické rozpouštědlo (např. petrolether) v hmotnostním poměru 1:10 vzorku a rozpouštědla. Tento proces trvá přibližně 6 hodin. Po celou dobu je nutné udržovat teplotu odpovídající bodu varu daného rozpouštědla. Po ukončení extrakce je zbytek rozpouštědla vypuštěn a destilační baňka s lipidovým extraktem (olejem) je umístěna do předem vytemperované sušárny (100 °C) na 15 minut, poté se zváží a zjistí se hmotnost celkových lipidů ve vzorku [55].

Další možnou metodou je superkritická extrakce oxidem uhličitým [59]. Při této metodě se využívá jako rozpouštědlo oxid uhličitý v superkritickém stavu (při teplotě nad 31 °C a tlaku vyšším než 74 bar), kdy se chová jako kapalina a má tedy schopnost rozpouštět látky [60]. Proces extrakce probíhá v několika krocích. V prvním kroku se vzorek chia semen umístí do extrakční komory. Poté se převede oxid uhličitý v tlakové nádobě do superkritického stavu. Provede se samotná extrakce, a to buď statickým nebo dynamickým způsobem. Při statické extrakci vstoupí oxid uhličitý do extrakční komory na určenou dobu (cca 10 minut) a systém je ponechán v klidu. Při dynamické extrakci oxid uhličitý proudí přes extrakční komoru. Nakonec je oxid uhličitý s extrahovaným olejem převeden do separační kolony, kde dochází k oddělení extrahovaného oleje, jehož množství se zjišťuje [59].

Procentuální obsah lipidů ve vzorku se po zvážení vypočítá podle následujícího vztahu [36]:

$$\% \text{ lipidů} = \frac{m_{\text{extrahovaného oleje}}}{m_{\text{původního vzorku}}} \cdot 100 \quad (1)$$

3.2.1.2 Stanovení obsahu jednotlivých mastných kyselin

Pro stanovení obsahu jednotlivých mastných kyselin v chia semenech se využívá olej získaný metodami uvedenými v předchozí podkapitole.

Před vlastním stanovením se provádí methylace mastných kyselin převedením na methyl estery, kdy se ke vzorku oleje přidá hexan a roztok hydroxidu draselného (2 M v methanolu). Takto připravený roztok je převeden do centrifugační zkumavky a centrifugován při 5 000 ot/min po dobu 5 minut. Poté se zjišťuje obsah jednotlivých mastných kyselin ve vzorku [61].

Takto připravené metylestery mastných kyselin se separují pomocí plynové chromatografie v kapilární koloně [61,62] s náplní kyanopropyl-methylpolysiloxanu, který slouží jako stacionární fáze. Na detekci esterů MK lze použít plamenově-ionizační detektor (FID) [62] nebo hmotnostní detektor (MS) [63]. Teplota nástřiku musí být poměrně vysoká, pohybuje se okolo 250 °C. Na separaci se používá gradientová eluce, kdy dochází ke zvyšování teploty na koloně. Počáteční teplota kolony bývá 130 °C s postupným zvyšováním až na konečnou teplotu 230 °C [61]. Mobilní fází bývá nejčastěji helium [63] nebo také dusík či vodík [62].

3.2.2 Stanovení obsahu sacharidů

Sacharidy se v potravinách stanovují kvůli posouzení energetické hodnoty potraviny, neboť sacharidy jsou hlavním poskytovatelem energie. Jejich stanovení bývá složitější, proto se musí pro analýzu zvolit účinné metody [64].

Mezi tyto metody použitelné obecně pro potraviny patří kapilární elektroforéza (CE) díky svým výhodným vlastnostem, jako je vysoká rozlišovací schopnost a nízká spotřeba rozpouštědla [65]. CE je založena na separaci látek na základě pohybu nabitých částic v elektrickém poli [66]. Jelikož většina sacharidů nemá náboj, musí se před analýzou derivatizovat, což je však časově náročné. Z tohoto důvodu byly vyvinuty metody pro analýzu nederivatizovaných sacharidů, kdy se využívá nepřímá UV detekce. Tato detekce probíhá v křemenné kapiláře naplněné elektrolytem při teplotě 25 °C. Provádí se to při 350 nm s referenční vlnovou délkou 275 nm. Vzorek potraviny se ve formě roztoku vpravuje do kapiláry po dobu 6 s při tlaku 50 mbar. Kapilára se musí před analýzou propláchnout 1 M hydroxidem sodným a poté vodou (zhruba 10 minut). Mezi jednotlivými pokusy je kapilára proplachována roztokem elektrolytu. Jako elektrolyt bývá často použita směs následujících roztoků: roztoku kyseliny sorbové (0,02 M), hexadimethrin bromidu (HDB) a hydroxidu sodného (0,04 M) o pH 12,2 [65].

Stanovení sacharidů se může provádět i pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC). Nejběžnější metodou byla dříve HPLC s refraktometrickým detektorem, který zaznamenává index lomu (RID). Byly však zjištěny nedostatky, mezi které patří zejména nízká citlivost a selektivita. Tato metoda byla nahrazena jiným typem vysokoúčinné kapalinové chromatografie, a to HPLC s pulsní amperometrickou detekcí (PAD), která je velmi citlivá, není ale vhodná pro běžné analýzy [65,67]. Důvodem je to, že elektroda, na jejímž stavu závisí výkon detektoru, bývá znečištěna zbytky vzorku. Pro stanovení sacharidů v potravinách je proto nejvhodnější kapilární elektroforéza [67].

Obsah sacharidů přímo v chia semenech se nejčastěji určuje nepřímou po stanovení celkového množství bílkovin, lipidů, vody a popela podle vztahu (2) [36]:

$$\% \text{ sacharidů} = 100 - (\% \text{ bílkovin} + \% \text{ lipidů} + \% \text{ vody} + \% \text{ popela}) \quad (2)$$

3.2.3 Stanovení obsahu vlákniny

Obsah vlákniny v potravinách je důležitým ukazatelem nutriční a technologické jakosti potravin [68]. Jak bylo řečeno v kapitole 2.2.3, vláknina má pozitivní vliv na lidský organismus a slouží jako prevence před různými onemocněními.

Celková vláknina (TDF) v chia semenech se stanovuje enzymaticko-gravimetrickou metodou. U této metody jsou ze vzorku odstraněny bílkoviny a škrob s využitím enzymů termostabilní α -amylasy, proteasy a amyloglukosidas [69]. Postupuje se tak, že se do Erlenmeyerovy baňky se vzorkem nalije cca 50 ml fosfátového pufru (pH = 6) a uvedená směs se umístí do vodní lázně vytemperované na 100 °C, přidá se termostabilní α -amylasa a směs je míchána po dobu 15 minut při 60 ot/min. Poté se směs ochladí, zalkalizuje pomocí hydroxidu sodného a umístí se znovu do vodní lázně o teplotě 60 °C, přidá se proteáza a provede se míchání při 60 ot/min po dobu 30 minut. Stejný postup se uplatní i s enzymem amyloglukosidasou. Po tomto enzymatickém štěpení se ke vzorku přidává ethanol (v poměru 1:4, vzorek:ethanol) [70]. Přidává se tam z důvodu, aby se vysrážela rozpustná vláknina [69]. Výsledná sraženina se zfiltruje, promyje ethanolem a acetonem, vysuší se při 105 °C do konstantní hmotnosti a nakonec se zváží. Obsah celkové vlákniny se pak vypočítá podle následujícího vztahu [69,70]:

$$\% \text{ TDF} = \frac{m_{\text{zbytku}} - m_{\text{bílkovin}} - m_{\text{popela}}}{m_{\text{vzorku}}} \cdot 100 \quad (3)$$

Nerozpustná vláknina (IDF) se stanovuje obdobným způsobem, který se liší jen v tom, že se ke vzorku nepřidává ethanol. Obsah rozpustné vlákniny (SDF) se poté zjistí z rozdílu obsahu celkové vlákniny (TDF) a nerozpustné vlákniny (IDF), jak je uvedeno ve vztahu (4) ^[70,71]:

$$\% \text{ SDF} = \% \text{ TDF} - \% \text{ IDF} \quad (4)$$

3.2.4 Stanovení obsahu bílkovin

Bílkoviny mají velký vliv na výživovou hodnotu potravin. Při analýze se stanovuje celkový obsah bílkovin, obsah neplnohodnotných či cizorodých bílkovin a hodnotí se také jejich stravitelnost. Zjišťuje se i zastoupení jednotlivých aminokyselin (volných i vázaných) ^[72].

3.2.4.1 Stanovení celkového obsahu bílkovin

Stanovení obsahu bílkovin v chia semenech probíhá ve třech krocích, mezi které patří digesce, destilace a titrace. V prvním kroku se vzorky chia semen umístí do digesčních zkumavek. Ke vzorku se přidá 15 ml kyseliny sírové, 0,5 g síranu měďnatého a 5 g síranu draselného a provádí se digesce po dobu 1,5 hodiny. Vzorky jsou poté ochlazeny a zředěny destilovanou vodou a roztokem hydroxidu sodného (40 %, w/w). Následuje destilace, při které se vzniklý destilát jímá do baňky naplněné roztokem kyseliny borité (4 %, w/w) se směsným indikátorem (bromkresolová zeleň + methylčerveň + thymolová modř). K destilátu je v posledním kroku přidáno několik kapek směsného indikátoru a provádí se titrace odměrným roztokem kyseliny chlorovodíkové (0,02 M) do barevné změny indikátoru. To samé se provede i se slepým pokusem. Na základě zjištěných hodnot se vypočítá obsah dusíku ve vzorku podle následujícího vztahu (5) ^[73]:

$$\% \text{ N} = \frac{(V - B) \cdot c \cdot M \cdot f}{S} \cdot 100 \quad (5)$$

kde V je spotřebovaný objem titračního činidla při titraci vzorku, B spotřebovaný objem titračního činidla při slepé titraci, c koncentrace kyseliny chlorovodíkové, M molekulová hmotnost dusíku, f zředovací faktor a S hmotnost vzorku.

Obsah bílkovin se vypočítá podle vztahu (6):

$$\% \text{ bílkovin} = \% \text{ N} \cdot 6,25 \quad (6)$$

kde 6,25 je přepočítávací faktor ^[73].

3.2.4.2 Stanovení obsahu jednotlivých frakcí bílkovin

Ke stanovení jednotlivých frakcí bílkovin chia semen se používá jako vzorek chia mouka zbavená tuku [74,75,76].

Ze vzorku jsou nejdříve izolovány jednotlivé frakce. Chia mouka je zředěna deionizovanou vodou (v poměru 1:10, chia mouka:voda) a suspenze je míchána 1–4 hodiny při teplotě 4 °C a následně centrifugována 20–60 minut. Výsledný supernatant je albuminová frakce. Supernatant se oddělí a sediment je použit pro další extrakci. U extrakce globulinové frakce je sediment resuspendován v 0,05 M pufru Tris-HCl obsahujícím 0,5 M roztok hydroxidu sodného (smícháno v poměru 1:10, sediment:pufr). Po míchání a centrifugaci (probíhající při stejných podmínkách jako první i následující extrakce) je znovu odebrán supernatant a sediment je zředěn roztokem isopropanolu (70 %, w/w). Centrifugací se v tomto případě získá prolaminová frakce. V poslední fázi je sediment získaný v předchozím kroku zředěn 0,1 M roztokem dekahydrátu tetraboritanu sodného a po centrifugaci je supernatantem glutelinová frakce [74,75,76]. Koncentrace jednotlivých frakcí pak jsou zjištěny pomocí Bradfordovy metody za použití hovězího sérového albuminu (BSA) jako standardu [75,76].

3.2.4.3 Stanovení obsahu jednotlivých aminokyselin

Jak již bylo řečeno v kapitole 2.2.4.1, aminokyseliny mají velký vliv na senzorickou jakost potravin, zvláště na jejich chuť.

Před analýzou jednotlivých aminokyselin je vzorek chia semen podroben alkalické hydrolyze (např. s hydroxidem barnatým), která probíhá 20 hodin při teplotě 110 °C. Poté je hydrolyzovaný vzorek okyselen přidavkem silné kyseliny (6 M kyselina chlorovodíková) a také doplněn roztokem síranu sodného. Takto připravený roztok vzorku se nanáší přímo na kolonu analyzátoru aminokyselin. Separace aminokyselin se provádí pomocí iontově-výměnné chromatografie v koloně naplněné ionexem a s využitím pokolonové derivatizace ninhydrinem. Všechny aminokyseliny jsou detekovány fotometricky při vlnové délce 570 nm s výjimkou prolinu, pro který se využije vlnová délka 440 nm [77]. Uvedený ionex představuje stacionární fázi. Jedná se o látku pevné nebo rosolovité konzistence, která je schopna vyměňovat ionty fixované v ionexu za ionty přítomné v okolním roztoku [66]. Okolní roztok je mobilní fáze, která slouží k izolaci jednotlivých aminokyselin a takový účel plní pufr o různé hodnotě pH [77].

Identifikace aminokyselin se může provádět také pomocí HPLC. Při této metodě je vzorek upraven tak, že se nejdříve hydrolyzuje s 6 M kyselinou chlorovodíkovou po dobu 24 hodin při

teplotě 110 °C a poté je kyselina chlorovodíková odstraněna pomocí vakuové rotační odparky a vzorek je suspendován pomocí boritanového pufru [78,79]. Nakonec se provádí derivatizace aminokyselin při teplotě 50 °C za použití diethylethoxymethylenmalonátu. Aminokyseliny se separují pomocí HPLC na koloně s reverzní fází C18 [78] a detekce se provádí pomocí UV/VIS detektoru. Jako mobilní fáze se používá citranový pufr v rozmezí pH 3,1–5,6 [79].

3.2.5 Stanovení obsahu vitamínů

Jak již bylo dříve uvedeno, příjem vitamínů z potravy je pro organismus nezbytný, protože tělo si je samo nedokáže vytvořit. Jsou důležité především pro správnou funkci biochemických procesů a přispívají tak k eliminaci zdravotních problémů.

3.2.5.1 Stanovení obsahu vitamínu C

Vitamín C neboli kyselina L-askorbová je silný antioxidant. V lidském organismu se uplatňuje především při vychytávání volných radikálů, redukci oxidovaných forem vitamínu E a slouží i k zabránění tvorby karcinogenních nitrosaminů. Podílí se také na hydroxylačních reakcích a na metabolismu cholesterolu. Dále zajišťuje transport iontů (Na^+ , Cl^- , Ca^{2+}) [23].

Vitamín C je před analýzou extrahován ze vzorku chia semen pomocí roztoku, který je tvořen zředěnou kyselinou metafosforečnou (3 %, w/w), zředěnou kyselinou octovou (8 %, w/w), 0,15 M kyselinou sírovou a roztokem EDTA (0,001 M). Extrakce probíhá přibližně 5 minut. Vzniklý extrakt je centrifugován po dobu 15 minut a následně zfiltrován. Filtrát je převeden do odměrné baňky, kde je doplněn ultračistou vodou po rysku. Takto získaný roztok je analyzován metodou HPLC s detekcí pomocí UV/VIS detektoru s diodovým polem (DAD). Stanovení vitamínu C probíhá na chromatografické koloně vyplněné C18 stacionární fází a detekce při vlnové délce 245 nm. Jako mobilní fáze se využívá ultračistá voda s 1 M dihydrogenfosforečnanem sodným, 1 M roztokem EDTA a kyselinou fosforečnou [80].

Stanovení vitamínu C lze také provést spektrofotometricky. Chia semena a kyselina metafosforečná (3 %, w/w) jsou nejdříve homogenizována v mixéru. Poté se část vzorku chia semen odebere, převede se do odměrné baňky naplněné kyselinou metafosforečnou a tento roztok se zfiltruje. K filtrovanému vzorku jsou přidány 2 ml acetátového pufru (pH = 4), 3 ml roztoku 2,6-dichlorfenolindofenolu a 15 ml xylenu. Směs se intenzivně třepe po dobu 10–15 sekund, čímž dochází k oddělení vodné a organické fáze. Vodná fáze je odstraněna a organická fáze je použita pro analýzu. Absorbance je v tomto případě stanovena pomocí UV

spektrofotometrie při 520 nm s použitím xylenu jako slepého pokusu. Koncentrace vitamínu C se zjistí z kalibrační křivky standardu [79].

3.2.5.2 Stanovení obsahu vitamínu E

Vitamín E tvoří společnou skupinu pro tokoferoly a tokotrienoly, které se vyskytují v podobě čtyř izomerů (α , β , γ , δ). V lidském těle má velký význam pro své antioxidační účinky. Reguluje hladinu LDL-cholesterolu a přispívá také k ochraně lipidů v buněčných membránách, neboť zabraňuje jejich oxidaci [81].

Při stanovení vitamínu E a jeho složek (α -, β -, γ -, δ -tokoferolů a tokotrienolů) se k připravenému vzorku chia semen přidá ultračistá voda (zahřátá na teplotu 80 °C), isopropylalkohol, hexan s 0,05 % roztokem butylhydroxytoluenu (BHT), bezvodý síran sodný a nakonec extrakční roztok tvořený dvěma rozpouštědly, a to hexanem a ethylacetátem (v poměru 85:15, hexan:ethylacetát). Extrakt se zfiltruje a poté je na vakuové rotační odparce zahuštěn. Po zahuštění je extrakt převeden do odměrné baňky a doplněn po rysku extrakční směsí rozpouštědel. Pro analýzu je odebrán alikvotní podíl extraktu, který je odpařen pod proudem plynného dusíku a následně smíchán s hexanem. Stanovení se provádí pomocí HPLC s chromatografickou silikagelovou kolonou a s fluorescenční detekcí při vlnové délce 290 nm pro excitaci a emisní vlnové délce 320 nm. Jako mobilní fáze se používá směs hexanu, isopropanolu a kyseliny octové. Celkový obsah vitamínu E je zjištěn metodou standardního přídatku [80].

3.2.5.3 Stanovení obsahu vitamínu A

Vitamín A patří mezi terpenoidy. Je nezbytný pro správnou funkci zraku a správný růst a vývoj kostí. Podporuje také normální funkci sliznic a reprodukčních orgánů [23].

Vitamín A se v chia semenech nejčastěji stanovuje společně s vitamínem E. V tomto případě se odebraná část homogenizovaného vzorku smísí v centrifugační zkumavce s ethanolovým roztokem pyrogallolu (2 %, w/w) a hydroxidu draselného (10 %, w/w). Tato směs je intenzivně třepána a následně inkubována ve tmě po dobu 18 hodin. Po inkubaci se přidá deionizovaná voda a petrolether. Dojde k oddělení organické a vodné fáze. Organická fáze je převedena do jiné zkumavky, kde je extrahována hexanem. Tento krok se opakuje dvakrát. Následně se extrahované organické fáze spojí a jsou odpařeny pod proudem dusíku. Před analýzou se odparek rozpustí v methanolu. Stanovení se provádí pomocí HPLC v koloně s C18 stacionární fází a DAD UV/VIS detektoru, kde jsou nastaveny vlnové délky 325 nm pro vitamín A

a 285 nm pro vitamín E. Mobilní fáze je tvořena 100 % methanolem. Koncentrace vitamínů se vypočítá pomocí kalibrační křivky s externími standardy ^[79].

3.2.5.4 Stanovení obsahu vitamínů skupiny B

Vitamíny skupiny B patří spolu s vitamínem C mezi vitamíny rozpustné ve vodě. V lidském organismu jsou přeměněny na koenzymy, které napomáhají enzymatickým reakcím. Jsou důležité pro správnou funkci mozku a jsou také zdrojem energie ^[82].

Stanovení vitamínů skupiny B v potravinách se obecně provádí pomocí metody HPLC. Před analýzou je ke vzorku potravin přidán methanol a tato směs je umístěna do ultrazvukové lázně na 25 minut a následně se provádí centrifugace trvající také 25 minut. V prvním kroku je supernatant převeden ze zkumavky do kádinky a kádinka je umístěna do ultrazvukové vodní lázně na 120 minut kvůli odpaření methanolu. K odpařenému zbytku je přidán roztok hydroxidu sodného. V druhém kroku je sediment ve zkumavce smíchán s vodou a směs je třepána po dobu 10 minut v ultrazvukové lázni. Poté se přidá roztok kyseliny fosforečné (0,05 M) a směs je centrifugována po dobu 25 minut. Vzniklý supernatant je převeden do kádinky se zbytkem získaným v předchozím kroku a kádinka se ještě umístí na 10 minut do ultrazvukové lázně. Roztok se převede do odměrné baňky, kde je doplněn vodou po rysku a tím je získán zásobní roztok. K přípravě pracovních roztoků se odpipetuje 2,5 ml zásobního roztoku, přidá se 0,25 ml roztoku methylyparabenu a vše je doplněno vodou po rysku v 5 ml odměrné baňce. Takto připravený roztok je analyzován metodou HPLC pomocí kolony s náplní C18 a DAD UV/VIS detektoru. Mobilní fáze se skládá z roztoku kyseliny hexan-1-sulfonové, směsi sodík-acetonitril a 0,1 % roztoku triethylaminu (+ přídavku kyseliny o-fosforečné kvůli úpravě pH). Každý vitamín je detekován při jiné vlnové délce (v rozmezí 250–360 nm) ^[83].

3.2.6 Stanovení obsahu minerálních látek

Obsah minerálních látek se v potravinách stanovuje zejména kvůli posouzení hygienické jakosti, kdy se kromě nezbytných (esenciálních) prvků sleduje i množství toxických prvků. Celkový obsah minerálních látek v potravine vyjadřuje množství popela ^[72].

Před stanovením obsahu jednotlivých minerálních látek se proto musí vzorky chia semen zpopelnit. Provádí se to tak, že vzorky umístěné v porcelánových kelímcích se vloží do elektrické muflové pece, kde probíhá jejich spalování při teplotě 550 °C po dobu 12 hodin ^[73].

Získaný popel je rozpuštěn ve 100 ml 1 M roztoku kyseliny dusičné. Roztok se zfiltruje a převede se do plastové nádoby. Jednotlivé minerální látky se poté stanovují pomocí atomové

absorpční spektrometrie (AAS) ^[73]. Tato metoda se používá ke zjištění množství jednotlivých prvků ve vzorku na základě naměřených hodnot absorpce, což je veličina, která udává množství pohlceného světla daným prvkem ^[84].

Minerální látky se také stanovují pomocí optické emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-OES). Před vlastním měřením je získaný popel přímo v porcelánovém kelímku smíchán s 1 ml roztoku kyseliny dusičné, 1 ml koncentrované kyseliny chlorovodíkové a 2 ml deionizované vody a tato směs se zahřívá na topné desce kvůli usnadnění rozkladu vzorku. Vzorek je převeden do odměrné baňky a doplněn po rysku deionizovanou vodou. Proveďte se stanovení minerálních látek za použití optického emisního spektrometru ^[85].

3.2.7 Stanovení obsahu polyfenolů

Polyfenoly jsou sekundární metabolity rostlin a jsou přítomny v mnoha potravinách a nápojích. Jsou zodpovědné za organoleptické vlastnosti potravin, zejména za jejich chuť a vzhled. Bylo prokázáno, že mají i řadu fyziologických funkcí ^[86].

3.2.7.1 Stanovení celkového obsahu polyfenolů

Při stanovení celkového obsahu polyfenolů v chia semenech se nejprve provede extrakce, při které se jako extrakční činidlo použije vodný roztok methanolu (70 %, w/w). Extrakce probíhá za míchání během 24 hodin při laboratorní teplotě. Směs je následně centrifugována po dobu 10 minut a výsledný supernatant je skladován při nízkých teplotách pro pozdější analýzu ^[46].

Samotné stanovení je realizováno podle Folin-Ciocalteuovy metody. Tato metoda je založena na redukci Folin-Ciocalteuova činidla, kdy vzniká modré zbarvení schopné absorbovat záření o vlnové délce 760 nm ^[45]. K měření se používá mikrotitrační destička s jamkami. Do jamek se přidává 237 µl vody, 3 µl extraktu, 15 µl zředěného Folin-Ciocalteuova činidla a 45 µl roztoku ethanolaminu. Mikrotitrační destička je inkubována 2 hodiny při laboratorní teplotě. Po inkubaci se měří absorpce ve spektrofotometru při vlnové délce 760 nm. Získané hodnoty jsou porovnány s předem připravenou kalibrační křivkou kyseliny gallové sloužící jako standard. Celkový obsah polyfenolů je vyjádřen jako ekvivalent kyseliny gallové v mg na 1 g vzorku ^[46].

3.2.7.2 Stanovení celkového obsahu flavonoidů

Flavonoidy slouží jako ochrana potravin před škodlivým UV zářením a zabraňují tedy jejímu znehodnocení. Jejich konzumace přispívá k eliminaci různých zdravotních problémů ^[87].

Obsah flavonoidů v chia semenech se stanovuje pomocí kolorimetrie. Jako vzorek pro analýzu se používá stejný extrakt jako v případě stanovení celkového obsahu polyfenolů. Ve zkumavce se 250 µl extraktu smíchá s 1 250 µl destilované vody a poté se přidá 75 µl roztoku dusitanu sodného (5 %, w/w). Za 5 minut se přidá 150 µl roztoku chloridu hlinitého (10 %, w/w) a za dalších 5 minut 500 µl 1 M roztoku hydroxidu sodného. Takto připravený roztok je doplněn 770 µl destilované vody a ihned je promícháván. Poté je pomocí spektrofotometru měřena absorbance při 510 nm. Jako standard se zde používá kvercetin. Výsledná hodnota je vyjádřena jako ekvivalent kvercetinu v g na 1 kg sušiny vzorku [88].

3.2.7.3 Stanovení obsahu jednotlivých fenolových sloučenin

Stanovení jednotlivých fenolových sloučenin (fenolových kyselin, flavonoidů, izoflavonů) se provádí pomocí HPLC s detekcí pomocí DAD UV/VIS detektoru a hmotnostní spektrometrií s elektrosprejovou ionizací (ESI-MS). K analýze se využívá kapalinový chromatograf s kvartérní pumpou, odplynovacím zařízením, automatickým dávkovačem a termostatem kolony, který je připojen k detektoru s fotodiodovým polem. Separace probíhá na chromatografické koloně vyplněné reverzní stacionární fází C18. Jako mobilní fáze zde slouží kyselina mravenčí (mobilní fáze A) a acetonitril (mobilní fáze B). Vzorek chia semen se před analýzou extrahuje methanolem pomocí ultrazvukové extrakce. Postupuje se tak, že se chia semena napřed melou v laboratorním mlýnku a poté je homogenizovaný vzorek extrahován vodným roztokem methanolu (80 %, w/w). Směs se promíchá vortexováním po dobu 10 sekund a ihned je umístěna do ultrazvukové vodní lázně, kde se provádí extrakce po dobu 60 minut za laboratorní teploty při ultrazvukové frekvenci 48 kHz a výkonu ultrazvuku 55 W. Vzorek je následně centrifugován při 4 000 ot/min po dobu 30 minut. Odebraný supernatant je odpařen do sucha za sníženého tlaku při teplotě 40 °C. Suchý zbytek je rozpuštěn ve 2 ml vodného roztoku methanolu (80 %, w/w) a tento roztok je přefiltrován přes PVDF membránový filtr a až do analýzy skladován při teplotě -18 °C. Samotná analýza probíhá cca 100 minut s využitím gradientové eluce. Látky jsou detekovány jak pomocí DAD UV/VIS detektoru, tak hmotnostním detektorem s elektrosprejovým ionizačním zdrojem a s trojitým kvadrupólovým analyzátozem [89].

Další možností je provést klasickou HPLC s detekcí pomocí DAD UV/VIS detektoru. Jednotlivé polyfenolické sloučeniny jsou separovány v kapilární koloně s náplní C18. Mobilní fáze je opět binární a skládá se z 2 % kyseliny octové (mobilní fáze A) a směsi 2 % kyseliny octové, acetonitrilu (30 %, w/w) a vody (mobilní fáze B). Analýza je u této metody podstatně

kratší (15–18 minut) a probíhá při průtokové rychlosti mobilní fáze 0,4 ml/min. Absorbance je měřena při vlnových délkách 280, 325 a 260 nm ^[46].

4 ZÁVĚR

V této bakalářské práci bylo popsáno složení chia semen a metody stanovení pro tyto látky. V první části jsou charakterizována chia semena z hlediska složení a vlastností. Chia semena jsou malá, oválná semena černé nebo bílé barvy obsahující velké množství esenciálních mastných kyselin, vlákniny a bílkovin. Tyto složky jsou pro lidský organismus nepostradatelné a mají řadu pozitivních účinků. Z esenciálních mastných kyselin se v chia semenech vyskytuje převážně ω -3 kyselina α -linolenová a ω -6 kyselina α -linolová. Jejich hlavní funkcí je udržovat normální hladinu lipidů v krevním séru. Podílejí se také na snížení hladiny cholesterolu v krvi a jsou důležité pro správnou činnost srdce a jater. Chia semena obsahují více vlákniny než většina druhů ovoce a zeleniny (např. kiwi, jablko, hruška, špenát, kukuřice) a obsahují také více bílkovin ve srovnání se semeny rýže, kukuřice, pšenice a quinoa. Vláknina je zodpovědná za regulaci cukru a inzulínu v krvi. Bílkoviny jsou nezbytné pro správný vývoj organismu. V chia semenech se dále vyskytují vitamíny, minerální látky a polyfenoly. Mezi přítomné vitamíny patří vitamíny skupiny B (zejména niacin), vitamín C, vitamín E a vitamín A. Minerální látky jsou zastoupeny převážně fosforem, draslíkem, vápníkem, hořčíkem a sírou. Celkový obsah polyfenolů v chia semenech tvoří fenolové kyseliny (kyselina kávová, kyselina chlorogenová), flavonoidy (myricetin, kvercetin) a izoflavony (genistein, daidzin). Díky jejich přítomnosti mají chia semena antioxidační potenciál, který se uplatňuje při vychytávání volných radikálů způsobujících oxidační stres.

V druhé části jsou popsány analytické metody pro stanovení jednotlivých složek chia semen. Většinou se provádějí spektrometrické a chromatografické metody. Z chromatografických metod se využívá zejména vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC), která se uplatňuje především při stanovení vitamínů a také při stanovení fenolových sloučenin nebo aminokyselin. Plynová chromatografie se větší míře uplatňuje pouze při stanovení mastných kyselin. Spektrometrické metody se používají pro stanovení minerálů a polyfenolů.

5 POUŽITÁ LITERATURA

[1] KNEZ HRNČIČ M., IVANOVSKI M., CÖR D., KNEZ Ž., Chia Seeds (*Salvia Hispanica* L.): An Overview—Phytochemical Profile, Isolation Methods, and Application. *Molecules*. 2020, **25**, 1–20. DOI: 10.3390/molecules25010011.

[2] KULCZYŃSKI B., KOBUS-CISOWSKA J., TACZANOWSKI M., KMIECIK D., GRAMZA-MICHAŁOWSKA A., The Chemical Composition and Nutritional Value of Chia Seeds—Current State of Knowledge. *Nutrients*. 2019, **11**(6), 1–16. DOI: 10.3390/nu11061242.

[3] Chia. *Herbář peruánských bylin a rostlin* [online]. [cit. 2021-04-02]. Dostupné z: <https://www.herbarperuanskychbylin.cz/>.

[4] GRIMES S. J., PHILLIPS T. D., HAHN V., CAPEZZONE F., GRAEFF-HÖNNINGER S., Growth, Yield Performance and Quality Parameters of Three Early Flowering Chia (*Salvia Hispanica* L.) Genotypes Cultivated in Southwestern Germany. *Agriculture*. 2018, **8**(10), 1–21. DOI: 10.3390/agriculture8100154.

[5] IKUMI P., MBURU M., NJOROGE D., Chia (*Salvia hispanica* L.) – A Potential Crop for Food and Nutrition Security in Africa. *Journal of Food Research*. 2019, **8**(6), 104–118. ISSN: 1927-0887. DOI: 10.5539/jfr.v8n6p104.

[6] VALDIVIA LÓPEZ M. Á., TECANTE A., Chia (*Salvia hispanica*): A Review of Native Mexican Seed and its Nutritional and Functional Properties. *Advances in Food and Nutrition Research*. San Diego: Elsevier Inc., 2015, s. 53–75. ISBN: 978-0-12-802227-6. DOI: 10.1016/bs.afnr.2015.06.002.

[7] BAGINSKY C., ARENAS J., ESCOBAR H., GARRIDO M., VALERO N., TELLO D., PIZZARO L., VALENZUELA A., MORALES L., SILVA H., Growth and yield of chia (*Salvia hispanica* L.) in the Mediterranean and desert climates of Chile. *Chilean Journal of Agricultural Research*. 2016, **76**(3), 255–264. ISSN: 0718-5839. DOI: 10.4067/S0718-58392016000300001.

[8] OROZCO DE ROSAS G., DURÁN PUGA N., GONZÁLEZ EGUIARTE D. R., ZARAZÚA VILLASENOR P., RAMIREZ OJEDA G., MENA MUNGUÍA S., Projections of climate change and productive potential for *Salvia hispanica* L. in agricultural areas of Mexico. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*. 2014, **5**(10), 1831–1842. ISSN 2007-0934. DOI: 10.29312/remexca.v0i10.1020.

- [9] Chia Seeds. *IIAASD* [online]. [cit. 2021-03-02]. Dostupné z: <https://www.iaasd.com/chai/>.
- [10] COATES W., AYERZA R., Commercial production of chia in Northwestern Argentina. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 1998, **75**(10), 1417–1420. DOI: 10.1007/s11746-998-0192-7.
- [11] BERTOLI A., Chia Plants: How To Grow and Harvest Chia Seeds. *Insteading* [online]. Last Updated 2020-08-24 [cit. 2021-04-16]. Dostupné z: <https://insteading.com/blog chia-plant/>.
- [12] VASTOLA A. (ed.), *The Sustainability of Agro-Food and Natural Resource Systems in the Mediterranean Basin*. Cham: Springer International Publishing, 2015. ISBN: 978-3-319-16356-7. DOI: 10.1007/978-3-319-16357-4.
- [13] VILLANUEVA-BERMEJO D., CALVO M. V., CASTRO-GÓMEZ P., FORNARI T., FONTECHA J., Production of omega 3-rich oils from underutilized chia seeds. Comparison between supercritical fluid and pressurized liquid extraction methods. *Food Research International*. 2019, **115**, 400–407. DOI: 10.1016/j.foodres.2018.10.085.
- [14] DE MATTOS SORANA C. K. P., CARDOSO F. B., QUIEROZ REGO C. H., DA SILVA CÂNDIDO A. C., ALVES C. Z., Chia Seeds Storage in Different Environmental Conditions and Packages. *American Journal of Plant Sciences*. 2018, **9**, 74–82. ISSN: 2158-2742. DOI: 10.4236/ajps.2018.91007.
- [15] KATUNZI-KILEWELA A., RWEYEMAMU L., KIBAZOHI O., KAALE L., Effects of Drying, Packaging Conditions and Storage Time on Proximate Composition of Chia Seeds (*Salvia hispanica*). *Tanzania Journal of Science*. 2021, **47**, 258–267. ISSN 0856-1761.
- [16] GRANCIERI M., MARTINO H. S. D., GONZALEZ DE MEJIA E., Chia Seed (*Salvia hispanica* L.) as a Source of Proteins and Bioactive Peptides with Health Benefits: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2019, **18**(2), 480–499. DOI: 10.1111/1541-4337.12423.
- [17] Choosing Quality Chia Seeds. *Vitamin.sg* [online]. 2015-02-27 [cit. 2021-04-08]. Dostupné z: <http://www.vitamin.sg/blog/choosing-quality-chia-seeds/>.
- [18] SURI S., PASSI S. J., GOYAT J., Chia seed (*Salvia hispanica* L.) – A new age functional food. *International Journal of Advanced Technology in Engineering and Science*. 2016, **4**(3), 286–299. ISSN 2348-7550.

- [19] Black Chia vs White Chia. *Beyond the Equator* [online]. 2019-02-19 [cit. 2021-04-08]. Dostupné z: <https://beyondtheequator.com/blogs/blog/black-chia-vs-white-chia>.
- [20] MOHD ALI N., YEAP S. K., HO W. Y., BEH B. K., TAN S. W., TAN S. G., The Promising Future of Chia, *Salvia hispanica* L. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 2012, **2012**, 1–9. DOI: 10.1155/2012/171956.
- [21] MARCINEK K., KREJPCIO Z., Chia seeds (*Salvia hispanica*): health promoting properties and therapeutic applications – a review. *Roczniki Państwowego Zakładu Higieny*. 2017, **68**(2), 123–129.
- [22] MELO D., MACHADO T. B., OLIVEIRA M. B. P. P., Chia seeds: an ancient grain trending in modern human diets. *Food & Function*. 2019, **10**(6), 3068–3089. DOI: 10.1039/c9fo00239a.
- [23] VELÍŠEK J., HAJŠLOVÁ J., *Chemie potravin 1*. Rozš. a přeprac. 3. vyd. Tábor: OSSIS, 2009. ISBN 978-80-86659-15-2.
- [24] GRAVÉ G., MOULOINGUI Z., POUJAUD F., CERNY M., PAUTHE C., KOUMBA I. S., DIAKARIDJA N., MERAH O., Accumulation during fruit development of components of interest in seed of Chia (*Salvia hispanica* L.) cultivar Oruro© released in France. *OCL*. 2019, **26**, 1–7. DOI: 10.1051/ocl/2019037.
- [25] CARILLO W., CARDENAS M., CARPIO C., MORALES D., ÁLVAREZ M., SILVA M., Content of nutrients component and fatty acids in chia seeds (*Salvia hispanica* L.) cultivated in Ecuador. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2018, **11**(2), 387–390. DOI: 10.22159/ajpcr.2018.v11i2.17096.
- [26] SHEN Y., ZHENG L., JIN J., LI X., FU J., WANG M., GUAN Y., SONG X., Phytochemical and Biological Characteristics of Mexican Chia Seed Oil. *Molecules*. 2018, **23**(12), 1–16. DOI: 10.3390/molecules23123219.
- [27] KIM K. B., NAM Y. A., KIM H. S., HAYES A. W., LEE B. M., α -Linolenic acid: Nutraceutical, pharmacological and toxicological evaluation. *Food and Chemical Toxicology*. 2014, **70**, 163–178. DOI: 10.1016/j.fct.2014.05.009.
- [28] GAMMONE M. A., RICCIONI G., PARRINELLO G., D’ORAZIO N., Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids: Benefits and Endpoints in Sport. *Nutrients*. 2019, **11**, 1–16. DOI: 10.3390/nu11010046.

- [29] GAZEM R. A. A., CHANDRASHEKARIAH S. A., Pharmacological properties of *Salvia Hispanica* (chia) seeds: A review. *Journal of Critical Reviews*. 2016, **3**(3), 63–67. ISSN 2394-5125.
- [30] WHELAN J., FRITSCHKE K., Linoleic Acid. *Advances in Nutrition*. 2013, **4**(3), 311–312. DOI: 10.3945/an.113.003772.
- [31] ORONA-TAMAYO D., VALVERDE M. E., PAREDES-LÓPEZ O., Chia—The New Golden Seed for the 21 st Century: Nutritional Properties and Technological Uses. *Sustainable Protein Sources*. Amsterdam: Elsevier, 2017, s. 265–281. ISBN: 978-0-12-802778-3. DOI: 10.1016/B978-0-12-802778-3.00017-2.
- [32] JULIO L. M., IXTAINA V. Y., TOMÁS M. C., Development and Characterization of Functional O/W Emulsions with Chia Seed (*Salvia hispanica* L.) by-Products. *Proceedings*. 2020, **53**, 1–6. DOI: 10.3390/proceedings2020053020.
- [33] Carbohydrates in Chia seeds. *FitAudit* [online]. [cit. 2021-06-10]. Dostupné z: <https://fitaudit.com/food/123567/carbohydrate>.
- [34] DE FALCO B., AMATO M., LANZOTTI V., Chia seeds products: an overview. *Phytochemistry Reviews*. 2017, **16**(4), 745–760. DOI: 10.1007/s11101-017-9511-7.
- [35] Vlákna. *Česká veganská společnost* [online]. [cit. 2021-04-18]. Dostupné z: <https://veganskaspolecnost.cz/vyziva/vlakhna/>.
- [36] ÖZBEK T., ŞAHIN-YEŞİLÇUBUK N., DEMIREL B., Quality and Nutritional Value of Functional Strawberry Marmalade Enriched with Chia Seed (*Salvia hispanica* L.). *Journal of Food Quality*. 2019, **2019**, 1–8. DOI: 10.1155/2019/2391931.
- [37] O’KEEFE S. J., The association between dietary fibre deficiency and high-income lifestyle-associated diseases: Burkitt’s hypothesis revisited. *The Lancet Gastroenterology & Hepatology*. 2019, **4**(12), 984–996. DOI: 10.1016/S2468-1253(19)30257-2.
- [38] PELÁEZ P., ORONA-TAMAYO D., MONTES-HERNÁNDEZ S., VALVERDE M. E., PAREDES-LÓPEZ O., CIBRIÁN-JARAMILO A., Comparative transcriptome analysis of cultivated and wild seeds of *Salvia hispanica* (chia). *Scientific Reports*. 2019, **9**, 1–11. DOI: 10.1038/s41598-019-45895-5.
- [39] GRANCIERI M., MARTINO H. S. D., GONZALEZ DE MEJIA E., Chia (*Salvia hispanica* L.) Seed Total Protein and Protein Fractions Digests Reduce Biomarkers

of Inflammation and Atherosclerosis in Macrophages In Vitro. *Molecular Nutrition & Food Research*. 2019, **63**(19), 1–15. DOI: 10.1002/mnfr.201900021.

[40] Seeds, chia seeds, dried. *FoodData Central - USDA* [online]. 2019-01-04 [cit. 2021-06-10]. Dostupné z: <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/170554/nutrients>.

[41] NITRAYOVÁ S., BRESTENSKÝ M., HEGER J., PATRÁŠ P., RAFAY J., SIROTKIN A., Amino acids and fatty acids profile of chia (*Salvia hispanica* L.) and flax (*Linum usitatissimum* L.) seed. *Potravinarstvo*. 2014, **8**, 72–76. ISSN: 1337-0960. DOI: 10.5219/332.

[42] RANA M., Characterization of CHIA Seed Flour and Wellbeing Endorsing Possessions. *International Journal of Food Science, Nutrition and Dietetics*. 2019, **8**(5), 419–426. ISSN 2326-3350. DOI: 10.19070/2326-3350-1900075.

[43] JORDÁN V., HEMZALOVÁ M., *Antioxidanty: zázračné zbraně*. Brno: JOTA, 2001. ISBN 80-7217-156-9.

[44] JIN F., NIEMAN D. C., SHA W., XIE G., QIU Y., JIA W., Supplementation of milled chia seeds increases plasma ALA and EPA in postmenopausal women. *Plant Foods for Human Nutrition*. 2012, **67**(2), 105–110. DOI: 10.1007/s11130-012-0286-0.

[45] SAPHIER O., SILBERSTEIN T., KAMER H., BEN-ABU Y., TAVOR D., Chia seeds are richer in polyphenols compared to flax seeds. *Integrative Food, Nutrition and Metabolism*. 2017, **4**(3), 1–4. ISSN: 2056-8339. DOI: 10.15761/IFNM.1000182.

[46] MARTÍNEZ-CRUZ O., PAREDES-LÓPEZ O., Phytochemical profile and nutraceutical potential of chia seeds (*Salvia hispanica* L.) by ultra high performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*. 2014, **1346**, 43–48. DOI: 10.1016/j.chroma.2014.04.007.

[47] GÓMEZ FAVELA M. A., GUTIÉRREZ-DORADO R., CUEVAS-RODRIGUÉZ E. O., CANIZALEZ-ROMÁN V. A., DEL ROSARIO LEÓN-SICAIROS C., MILÁN-CARILLO J., REYES-MORENO C., Improvement of Chia Seeds with Antioxidant Activity, GABA, Essential Amino Acids, and Dietary Fiber by Controlled Germination Bioprocess. *Plant Foods for Human Nutrition*. 2017, **72**(4), 345–352. DOI: 10.1007/s11130-017-0631-4.

[48] CAPITANI M. I., NOLASCO S. M., TOMÁS M. C., Stability of oil-in-water (O/W) emulsions with chia (*Salvia hispanica* L.) mucilage. *Food Hydrocolloids*. 2016, **61**, 537–546. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2016.06.008.

- [49] FERNANDES S. S., SALAS-MELLADO M. D. L. M., Addition of chia seed mucilage for reduction of fat content in bread and cakes. *Food Chemistry*. 2017, **227**, 237–244. DOI: 10.1016/j.foodchem.2017.01.075.
- [50] SARGI S. C., SILVA B. C., SANTOS H. M. C., MONTANHER P. F, BOEING J. S., SANTOS JÚNIOR O. O., SOUZA N. E., VISENTAINER J. V., Antioxidant capacity and chemical composition in seeds rich in omega-3: chia, flax, and perilla. *Food Science and Technology*. 2013, **33**(3), 541–548. ISSN: 0101-2061. DOI: 10.1590/S0101-20612013005000057.
- [51] ULLAH R., NADEEM M., KHALIQUE A., IMRAN M., MEHMOOD S., JAVID A., HUSSAIN J., Nutritional and therapeutic perspectives of Chia (*Salvia hispanica* L.): a review. *Journal of Food Science and Technology*. 2016, **53**(4), 1750–1758. DOI: 10.1007/s13197-015-1967-0.
- [52] BRÜTSCH L., STRINGER F. J., KUSTER S., WINDHAB E. J., FISCHER P., Chia seed mucilage – a vegan thickener: isolation, tailoring viscoelasticity and rehydration. *Food & Function*. 2019, **10**(8), 4854–4860. DOI: 10.1039/C8FO00173A.
- [53] Využití semen chia a vliv na lidské zdraví. *Internetový portál bezpečnosti potravin* [online]. 2013-11-14. [cit. 2021-05-24]. Dostupné z: <https://www.bezpecnostpotravin.cz/vyuziti-semen-chia-a-vliv-na-lidske-zdravi.aspx>.
- [54] DULSKI T. R., Sample preparation. *Encyclopedia Britannica* [online]. 2016-11-21. [cit. 2021-05-18]. Dostupné z: <https://www.britannica.com/science/sample-preparation>.
- [55] ROSAS-MENDOZA M. E., CORIA-HERNÁNDEZ J., MELÉNDEZ-PÉREZ R., ARJONA-ROMÁN J. L., Characteristics of Chia (*Salvia hispanica* L.) Seed Oil Extracted by Ultrasound Assistance. *Journal of The Mexican Chemical Society*. 2017, **61**(4), 326–335. ISSN: 1870-249X. DOI: 10.29356/jmcs.v61i4.463.
- [56] IKA[®] A11 basic analytical mill. *Sigma-Aldrich* [online]. [cit. 2021-05-18]. Dostupné z: <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/substance/ikaal1basicanalyticalmill1234598765?lang=en®ion=CZ>.
- [57] GALLIER S., SINGH H., The physical and chemical structure of lipids in relation to digestion and absorption. *Lipid technology*. 2012, **24**(12), 271–273. DOI: 10.1002/lite.201200240.

- [58] Patrona extrakční s kulatým dnem, Whatman. *VERKON* [online]. [cit. 2021-06-13]. Dostupné z: <https://www.verkon.cz/patrona-extrakcni-s-kulatym-dnem-whatman/>.
- [59] URIBE J. A. R., PEREZ J. I. N., KAUIL H.C., RUBIO G. R., ALCO CER C. G., Extraction of oil from chia seeds with supercritical CO₂. *The Journal of Supercritical Fluids*. 2011, **56**(2), 174–178. DOI: 10.1016/j.supflu.2010.12.007.
- [60] Extrakce superkritickým oxidem uhličitým CO₂. *MyNatureProduct* [online]. [cit. 2021-06-19]. Dostupné z: <http://mynatureproduct.com/extrakce-superkritickym-oxidem-uhlicitym-co2.html>.
- [61] DUNDAR A. N., AYDIN E., YILDIZ E., PARLAK O., Effects of chia seed on chemical properties and quality characteristics of regular and low-fat crackers. *Food Science and Technology*. 2020, 1–9. ISSN: 0101-2061. DOI: 10.1590/fst.26120.
- [62] GHENA M. M., AMANY M. B., Chia (*Salvia hispanica* L.) seed oil a new source of omega-3. *Plant Archives*. 2020, **20**, 2678–2683. ISSN: 0972-5210.
- [63] ORTEGA A. M. M., CAMPOS M. R. S., Effect of Chia Seed Oil (*Salvia hispanica* L.) on Cell Viability in Breast Cancer Cell MCF-7. *Proceedings*. 2020, **53**, 1–6. DOI: 10.3390/proceedings2020053018.
- [64] NANTEL G., Carbohydrates in human nutrition. *Food nutrition and agriculture*. 1999, 6–10. ISSN 1014-806X.
- [65] JIANG T. F., CHONG L., YUE M. E., WANG Y. H., LV Z. H., Separation and Determination of Carbohydrates in Food Samples by Capillary Electrophoresis Using Dynamically Coating the Capillary with Indirect UV Detection. *Food Analytical Methods*. 2015, **8**(10), 2588–2594. DOI: 10.1007/s12161-015-0157-z.
- [66] DAVIDEK J., HRDLIČKA J., KARVÁNEK M., POKORNÝ J., SEIFERT J., VELÍŠEK J., *Laboratorní příručka analýzy potravin*. Praha: SNTL - Nakladatelství technické literatury, 1977.
- [67] SOGA T., SERWE M., Determination of carbohydrates in food samples by capillary electrophoresis with indirect UV detection. *Food Chemistry*. 2000, **69**(3), 339–344. DOI: 10.1016/S0308-8146(00)00044-3.
- [68] DELLO STAFFOLO M., BEVILACQUA A. E., RODRÍGUEZ M. S., ALBERTENGO L., Dietary Fiber and Availability of Nutrients: A Case Study on Yoghurt as a Food Model.

The Complex World of Polysaccharides. Rijeka: InTech, 2012, s. 455–490. ISBN: 978-953-51-0819-1. DOI: 10.5772/54031.

[69] ROMANKIEWICZ D., HASOON W. H., CACAK-PIETRZAK G., SOBCZYK M., WIRKOWSKA-WOJDYŁA M., CEGLIŃSKA A., DZIKI D., The Effect of Chia Seeds (*Salvia hispanica* L.) Addition on Quality and Nutritional Value of Wheat Bread. *Journal of Food Quality*. 2017, **2017**, 1–7. DOI: 10.1155/2017/7352631.

[70] ALCÂNTARA BRANDÃO N., BORGES DE LIMA DUTRA M., ANDRADE GASPARI A. L., SEGURA CAMPOS M. R., Chia (*Salvia hispanica* L.) cookies: physicochemical/microbiological attributes, nutrimental value and sensory analysis. *Journal of Food Measurement and Characterization*. 2019, **13**(2), 1100–1110. DOI: 10.1007/s11694-018-00025-z.

[71] ALFREDO V. O., GABRIEL R. R., LUIS C. G., DAVID B. A., Physicochemical properties of a fibrous fraction from chia (*Salvia hispanica* L.). *LWT - Food Science and Technology*. 2009, **42**, 168–173. DOI: 10.1016/j.lwt.2008.05.012.

[72] KOPLÍK R., Základy analýzy potravin. *VŠCHT Praha* [online]. [cit. 2021-06-24]. Dostupné z: <https://web.vscht.cz/~koplkr/>.

[73] MIHAFU F. D., KIAGE B. N., OKOTH J. K., NYERERE A. K., Nutritional Composition and Qualitative Phytochemical Analysis of Chia Seeds (*Salvia hispanica* L.) Grown in East Africa. *Current Nutrition & Food Science*. 2020, **16**(6), 988–995. DOI: 10.2174/1573401315666191125105433.

[74] SANDOVAL-OLIVEROS M. R., PAREDEZ-LÓPEZ O., Isolation and Characterization of Proteins from Chia Seeds (*Salvia hispanica* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2013, **61**, 193–201. DOI: 10.1021/jf3034978.

[75] GRANCIERI M., MARTINO H. S. D., GONZALEZ DE MEJIA E., Digested total protein and protein fractions from chia seed (*Salvia hispanica* L.) had high scavenging capacity and inhibited 5-LOX, COX-1-2, and iNOS enzymes. *Food Chemistry*. 2019, **289**, 204–214. DOI: 10.1016/j.foodchem.2019.03.036.

[76] ORONA-TAMAYO D., VALVERDE M. E., NIETO-RENDÓN B., PAREDES-LÓPEZ O., Inhibitory activity of chia (*Salvia hispanica* L.) protein fractions against angiotensin I-converting enzyme and antioxidant capacity. *LWT – Food Science and Technology*. 2015, **64**, 236–242. DOI: 10.1016/j.lwt.2015.05.033.

- [77] ZIEMICHÓD A., WÓJCIK M., RÓŻYŁO R., *Ocimum tenuiflorum seeds and Salvia hispanica seeds: mineral and amino acid composition, physical properties, and use in gluten-free bread. CyTA – Journal of Food.* 2019, **17**, 804–813. ISSN: 1947–6337. DOI: 10.1080/19476337.2019.1658645.
- [78] SEGURA CAMPOS M. R., PERALTA GONZÁLEZ F., CHEL GUERRERO L. BETANGUR ANCONA D., Angiotensin I-Converting Enzyme Inhibitory Peptides of Chia (*Salvia hispanica*) Produced by Enzymatic Hydrolysis. *International Journal of Food Science.* 2013, **2013**, 1–8. DOI: 10.1155/2013/158482.
- [79] MELO-RUIZ V., SCHETTINO-BERMÚDEZ B., RODRÍGUEZ-DIEGO J., DÍAZ-GARCÍA R., CALVO-CARRILLO C., GAZGA-URIESTE C., Chia Seeds (*Salvia hispanica L*) Wild Plant Rich in Nutrients. *Journal of Life Sciences.* 2016, **10(5)**, 221–227. DOI: 10.17265/1934-7391/2016.05.001.
- [80] DA SILVA B. P., ANUNCIACÃO P. C., MATYELKA J. C. D. S., DELLA LUCIA C. M., MARTINO H. S. D., PINHEIRO-SANT'ANA H. M., Chemical composition of Brazilian chia seeds grown in different places. *Food Chemistry.* 2017, **221**, 1709–1716. DOI: 10.1016/j.foodchem.2016.10.115.
- [81] DA SILVA C. S., MONTEIRO C. R. A., DA SILVA G. H. F., SARNI R. O. S., SOUZA F. I. S., FEDER D., MESSIAS M. C. F., CARVALHO P. O., ALBERICI R. M., CUNHA I. B. S., EBERLIN R. M., ROSA P. C. P., FONSECA F. L. A., Assessing the Metabolic Impact of Ground Chia Seed in Overweight and Obese Prepubescent Children: Results of a Double-Blind Randomized Clinical Trial. *Journal of Medicinal Food.* 2020, **23(3)**, 224–232. DOI: 10.1089/jmf.2019.0055.
- [82] KENNEDY D. O., B Vitamins and the Brain: Mechanisms, Dose and Efficacy—A Review. *Nutrients.* 2016, **8(2)**, 1–29. DOI: 10.3390/nu8020068.
- [83] ANTAKLI S., SARKEES N., SARRAF T., Determination of water-soluble vitamins B1, B2, B3, B6, B9, B12 and C on C18 column with particle size 3 µm in some manufactured food products by HPLC with UV-DAD/FLD detection. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences.* 2015, **7(6)**, 219–224. ISSN: 0975-1491.
- [84] IBRAHIM A. M., ANWAR A. Y., SANI M. A., YA'U S. A., TASI'U A. M., SANI M. Y., ABDULMUMIN Y., MURTALA M., MUSA H., SADIYA A. B., ABDULLAHI N., MAIMUNA D. M., SALISU A. A., TASI'U M., Assessment of Antioxidant Activity and

Mineral Elements Composition of Fenugreek Seed Extract. *Dutse Journal of Pure and Applied Sciences*. 2020, **6**(2), 75–84. ISSN: 2476-8316.

[85] BARRETO A. D., GUTIERREZ É. M. R., SILVA M. R., SILVA F. O., SILVA N. O. C., LACERDA I. C. A., LABANCA R. A., ARAÚJO R. L. B., Characterization and Bioaccessibility of Minerals in Seeds of *Salvia hispanica* L. *Americal Journal of Plant Sciences*. 2016, **7**(15), 2323–2337. ISSN: 2158-2742. DOI: 10.4236/ajps.2016.715204.

[86] SHOJI T., Polyphenols as Natural Food Pigments: Changes During Food Processing. *American Journal of Food Technology*. 2007, **2**(7), 570–581. ISSN: 1557-4571. DOI: 10.3923/ajft.2007.570.581.

[87] HUVAERE K., SKIBSTED L. H., Flavonoids protecting food and beverages against light. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2015, **95**, 20–35. DOI: 10.1002/jsfa.6796.

[88] SCAPIN G., SCHMIDT M. M., PRESTES R. C., ROSA C. S., Phenolics compounds, flavonoids and antioxidant activity of chia seed extracts (*Salvia hispanica*) obtained by different extraction conditions. *International Food Research Journal*. 2016, **23**(6), 2341–2346.

[89] OLIVEIRA-ALVÉS S. C., VEDRAMINI-COSTA D. B., BETIM CARAZIN C. B., MARÓSTICA JUNIOR M. R., BORGES FERREIRA J. P., SILVA A. B, PRADO M. A., BRONZE M. R., Characterization of phenolic compounds in chia (*Salvia hispanica* L.) seeds, fiber flour and oil. *Food Chemistry*. 2017, **232**, 295–305. DOI: 10.1016/j.foodchem.2017.04.002.