

КОМПОНЕНТНЫЙ СОСТАВ
РЕСУРСНЫХ ВИДОВ

ФИТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ФРАКЦИЙ
СЕМЯН *SALVIA HISPANICA* (LAMIACEAE)

© 2020 г. А. С. Панова¹, Д. С. Дергачёв², М. А. Суботьялов^{1,3, *}

¹Новосибирский государственный педагогический университет, г. Новосибирск, Россия

²ООО “Медицинские Системы”, г. Санкт-Петербург, Россия

³Новосибирский государственный университет, г. Новосибирск, Россия

*e-mail: subotyalov@yandex.ru

Поступила в редакцию 26.02.2020 г.

После доработки 10.05.2020 г.

Принята к публикации 10.06.2020 г.

Salvia hispanica (шалфей испанский, или чиа) – однолетнее травянистое растение, принадлежащее к сем. Яснотковые (Lamiaceae). Исследования по всему миру изучают преимущества использования семян чиа в медицинской, фармацевтической и пищевой промышленности. Цель настоящей работы – изучение компонентного состава различных фракций семян *S. hispanica* и профилей входящих в них основных классов биологически активных веществ. Объектами исследования являлись образцы, полученные в результате холодного отжима семян шалфея испанского (масло, отжим, шрот). Проведенное исследование показало, что масло *S. hispanica* и сопутствующие продукты содержат набор биологически значимых веществ, который включает белки, аминокислоты, липиды и полифенольные соединения. Масло и отжим состоят, в основном, из чистых или смешанных триглицеридов линоленовой и линолевой кислот. Белки, аминокислоты и глицерофосфолипиды локализованы преимущественно в отжиме и шроте. Представители класса полифенольных соединений распределены в исследованных образцах достаточно равномерно.

Ключевые слова: шалфей испанский, чиа, *Salvia hispanica*, линолевая кислота, линоленовая кислота, лейцин, изолейцин, кверцетин, кемпферол, компонентный состав, фитохимия

DOI: 10.31857/S0033994620030061

Шалфей испанский *Salvia hispanica* L., также известный как чиа, является однолетним травянистым растением, родом из Южной Мексики и Северной Гватемалы. Принадлежит к сем. Яснотковые (Lamiaceae), или Губоцветные (Labiatae), роду Шалфей (*Salvia*). Род *Salvia* состоит из приблизительно 900 видов, которые в течение тысячелетий широко распространялись в нескольких регионах мира, включая Южную Африку, Центральную Америку, Северную и Южную Америку и Юго-Восточную Азию. Чиа культивировалась месопотамскими культурами, была одним из важнейших компонентов рациона майя и ацтеков [1], но затем исчезла на столетия до середины XX в., когда она была вновь открыта. Сегодня *S. hispanica* культивируется не только в Мексике и Гватемале, но и в Австралии, Боливии, Колумбии, Перу, Аргентине, Америке и Европе. В настоящее время Мексика признана крупнейшим в мире производителем чиа [2].

Семена шалфея испанского характеризуются высоким содержанием пищевых волокон и белков, богатых многими экзогенными аминокисло-

тами. Кроме того, семена чиа характеризуются высоким содержанием полиненасыщенных жирных кислот, относящихся к группе ω -3 жирных кислот, в основном α -линоленовой кислоты. Эти семена также являются хорошим источником многих минералов и витаминов (А, В1, В2 и В3), а также биоактивных соединений с высокой антиоксидантной активностью, особенно полифенолов, токоферолов и флавоноидов, таких как хлорогеновая и кофейная кислоты, кверцетин, кемпферол и т.д. [3, 4].

В последние годы семена чиа стали одним из самых узнаваемых продуктов питания в мире благодаря своим питательным и лекарственным свойствам [2]. Пищевые и терапевтические свойства семян *S. hispanica* в настоящее время исследуются многими научными центрами.

Метаболизм глюкозы и липидный профиль

Многочисленные исследования показали, что чиа и его производные восстанавливают сниженную чувствительность клеток к инсулину, вызванную ожирением [5], способствуют снижению

уровня глюкозы в крови и дискретному снижению веса [6], а также увеличению выносливости у бегунов на длинные дистанции [7].

Исследование, проведенное на инсулинорезистентных (IR) крысах с дислипидемией, получавших рацион, богатый сахарозой (SRD), показывают, что сердца крыс, получавших SRD, проявляют липотоксичность, что свидетельствует о нарушении утилизации липидов миокарда; по сравнению с группой SRD, чиа нормализует артериальное давление, а также улучшает, либо полностью устраняет липотоксичность сердца [8–10]. Показано снижение гипертрофии адипоцитов, улучшение активности липогенных ферментов, липолиза и антилиполитического действия инсулина, нормализация фосфорилирования и окисления глюкозы в хранилище липидов скелетных мышц [11], изменение профиля фосфолипидов жирных кислот, уменьшение отложенного коллагена в левом желудочке [12].

Результаты исследования влияния шалфея испанского на массу тела, висцеральное ожирение и факторы риска, связанные с ожирением, у людей с избыточным весом и ожирением с диабетом II типа подтверждают полезную роль семян чиа в содействии снижению веса и уменьшению факторов риска, связанных с ожирением, при сохранении хорошего гликемического контроля. Чиа может быть полезным диетическим дополнением к традиционной терапии ожирения при диабете [13–15].

Показано, что включение чиа в рационы пациентов с ожирением, страдающих дислипидемией и/или неалкогольной жировой болезнью печени (НАЖБП), а также неалкогольным стеатогепатитом (НАСГ), может улучшить состояние их здоровья и предотвратить развитие цирроза и гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК) печени [16].

Противовоспалительное и антиоксидантное действие

Такие экстрактивные компоненты в *S. hispanica*, как фенольные кислоты (розмариновая кислота, кофейная кислота, даншенсу, хлорогеновая кислота, кверцетин, мирицетин и кемпферол) и липофильные соединения (каротиноиды, токоферолы, фосфолипиды и α -липовая кислота) связаны с антиоксидантными эффектами [5]. Потребление чиа взрослыми самками крыс, получавших рацион с высоким содержанием жиров, улучшало антиоксидантную активность за счет увеличения экспрессии супероксиддисмутазы и каталазы. Кроме того, потребление чиа снижало концентрацию маркеров воспаления IL-1 β , IL-6 и TNF- α и холестерина [17, 18]. Хотя антиоксидантная активность и количество фенольных соединений семян и масла чиа различны, исследования выявили сходные эффекты как семян, так и масла в

модуляции окислительного стресса. Благоприятный эффект, продемонстрированный для обеих фракций, может быть обусловлен взаимодействием между химическими компонентами в семени и синергетической активностью между липофильными соединениями в масле чиа [5, 19].

Результаты рандомизированного двойного слепого клинического исследования 30 детей с ожирением показывают, что семена чиа могут оказывать противовоспалительное действие [20].

Разные фракции семян шалфея испанского приводят к различным эффектам. Так гидролизованные экстракты чиа обладают большим антиоксидантным действием. Также показано, что масло чиа действует быстрее, чем семена чиа, однако при этом следует соблюдать методы экстракции, чтобы избежать потерь в отношении антиоксидантных соединений. Показано, что масло чиа, полученное из жареных семян, имеет более низкое содержание α -, β -, γ -, δ -токоферолов, β и γ -токотриенолов. Последние данные показали, что тепло действует отрицательно на физико-химические и биоактивные свойства масла чиа [5].

Кардиозащитные эффекты

ω -3-линоленовая кислота играет важную роль в образовании некоторых жизненно важных биохимических соединений, таких как лейкотриены и тромбоксаны, которые связаны с многочисленными физиологическими функциями в организме человека. Кроме того, ω -3 жирные кислоты обладают способностью блокировать дисфункции кальциевых и натриевых каналов, которые в противном случае могут привести к гипертонии, улучшать парасимпатический тонус и имеют антиаритмическое действие. Потребление муки чиа способно снизить артериальное давление у людей с гипертонической болезнью, причем, как у пациентов, ранее получавших лекарства, так и у тех, кто лекарства не принимал [22, 23]. Кроме того, употребление семян чиа во время беременности способствует развитию сетчатки и мозга плода [2, 21].

Результаты исследований, проведенных на самцах крыс линии Wistar, показали, что кормление семенами чиа повышало полезный уровень холестерина липопротеинов высокой плотности (ЛПВП). Кроме того, кормление семенами чиа приводило к снижению содержания ω -6 в плазме, что в результате приводило к снижению отношения ω -6 : ω -3 и оказывало последующее кардиозащитное действие [2].

Прочие эффекты *S. hispanica*

Считается, что полифенолы и ω -3 жирные кислоты имеют терапевтический потенциал при болезни Альцгеймера. Однако известно, что добавление чиа, богатого данными соединениями,

во время прогрессирования болезни Альцгеймера может усугубить течение данного заболевания [24]. Более поздние исследования показывают, что *S. hispanica* способствует улучшению памяти, а также проявляет антидепрессантную активность при хроническом введении [25].

Показано увеличение концентрации IgE вследствие применения чиа в форме семян или масла в качестве источника ω -3 жирных кислот. Также известно, что местное применение 4% масла чиа улучшает гидратацию кожных покровов [21]. Известно, что шалфей испанский ингибирует рост и метастазирование аденокарциномы молочной железы мыши [26]. Однако на модели Walker 256 добавление муки чиа не предотвращало эффекты опухолей [27].

Таким образом, *S. hispanica* обладает биологически активным потенциалом, и его ежедневное употребление может снизить риск развития хронического заболевания, главным образом из-за антиоксидантного, противовоспалительного, гипогликемического и гиполлипидемического эффектов семян. Потребление семян чиа может улучшить липидный профиль, толерантность к инсулину и глюкозе и снизить риск сердечно-сосудистых заболеваний.

Учитывая широкое распространение и применение шалфея испанского в научной и народной медицине, представляет интерес исследование компонентного состава различных производных данного растительного ресурса.

Цель работы – изучение компонентного состава различных фракций семян *S. hispanica* и профилей входящих в них основных классов биологически активных веществ.

МАТЕРИАЛ И АНАЛИТИЧЕСКОЕ ОБОРУДОВАНИЕ

Объекты исследования

Исследованы три образца, обозначенные номерами “1”, “2” и “3”. Первый образец – прозрачная маслянистая жидкость желтого цвета – масло, полученное в результате холодного отжима из семян шалфея испанского. Второй образец – отжим, состоящий из двух несмешивающихся жидких фаз. При этом верхний слой по внешнему виду похож на образец 1. Третий образец – аморфное вещество черного цвета – является осадком, выделенным из отжима, шрот.

Страна-производитель: Аргентина. Физико-химические исследования образцов выполнены на базе ФГБУН “Институт токсикологии ФМБА России” в 2016 г.

Средства измерений

- Ультразвуковой жидкостный хроматограф Acquity UPLC H-class с тандемным масс-спектрометром Xevo TQD (Waters, США).
- Масс-спектрометр MALDI-TOF/TOF Ultraflex (Bruker, Германия).
- Хроматограф газовый GCMS-QP2010 Plus (Япония).
- Весы лабораторные электронные Adventurer AR 2140 (Ohaus, США) с погрешностью взвешивания 0.0001 г.
- Колбы мерные вместимостью 50, 100 и 1000 мл.
- Пипетки автоматические Proline (Biohit, Финляндия).

Вспомогательные устройства

- Комбинированная мембранная установка серии УВОИ-“М-Ф” для получения деионизированной воды (Медиана-Фильтр, Россия).
- Аппарат для встряхивания образцов (Chirana, Чехия).
- Центрифуга лабораторная, мод. ОПН-8УХЛ4.2 (Россия).
- Пробирки Vacuette, 9 мл.

Реактивы и материалы

- Ацетонитрил для хроматографии, сорт 0, ос. ч., (Криохром, Россия).
- Вода деионизированная, аналитической степени чистоты (не более 5 мкСим/см).
- Кислота трифторуксусная (Fluka, Швейцария).
- Метиленхлорид, х. ч., ТУ 2631-019-444931179-98.
- Метанол (Sigma-Aldrich, США).
- Гексан, ТУ 6-09-06-657-84.
- Нингидрин, х. ч., (Chemapol, Чехия).
- Фосфорно-молибденовая кислота ГОСТ Р 51018-97.
- Стандартный образец БСА (Sigma-Aldrich, США).
- Натрия гидроксид, х. ч., (Sigma-Aldrich, США).
- Фенилизотиоцианат (Fluka, Швейцария).

МЕТОДЫ АНАЛИЗА, РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Определение интегральных характеристик

Определение суммарного содержания липидов

К навескам по 1 г образцов 1–3 прибавляли по 5 мл воды и хлористого метилена. Пробу встряхивали на аппарате в течение 20 мин, центрифугировали и отделяли органические слои. Экстракты хлористого метилена упаривали и остатки

Таблица 1. Суммарное содержание липидов в семенах *Salvia hispanica***Table 1.** The total lipid content in seeds of *Salvia hispanica*

№	Образец Sample	Содержание липидов, % Lipid content, %
1	1	97.5
2	2 (верх) 2 (top)	98.7
3	2 (низ) 2 (bottom)	66.5
4	3	2.3

Таблица 2. Определение общего белка в семенах *Salvia hispanica* по методу Лоури**Table 2.** Determination of total protein in seeds of *Salvia hispanica* by the Lowry assay

№	Образец Sample	Содержание белка, мг/г Protein content, mg/g
1	1	0.04
2	2 (верх) 2 (top)	0.105
3	2 (низ) 2 (bottom)	33.90
4	3	41.30

сушили в течение 3 ч при температуре 90 °С. Общее содержание липидов в образцах определяли с помощью гравиметрического анализа (табл. 1).

Определение общего белка

Для определения содержания белка в образцах 1 и 2 (верх) отбирали по 1 мл водных экстрактов, полученных аналогично методике определения суммарного содержания липидов, и проводили анализ по методу Лоури [28¹].

При анализе образцов 2 (низ) и 3 использовали другую процедуру подготовки проб в связи с их быстрым набуханием в воде. К навескам по 1 г прибавляли по 5 мл гексана, встряхивали на аппарате в течение 10 мин и центрифугировали. Удаляли количественно гексан и к остаткам прибавляли по 5 мл ацетонитрила и воды. Пробы встряхивали на аппарате в течение 1 ч, центрифугировали и отбирали по 100 мкл супернатантов для анализа по методу Лоури.

Количественный спектрофотометрический анализ производили методом внешнего стандарта, используя в качестве стандартного образца бычий сывороточный альбумин (табл. 2).

Согласно литературным данным, содержание белка в семенах *S. hispanica* достигает 25% [29].

¹ Государственная Фармакопея СССР. XI. Вып. 2. 1990. М. 385 с.

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что в процессе переработки белковые вещества локализируются преимущественно во 2-й и 3-й фракциях.

Определение свободных аминокислот методом ВЭЖХ-СФ

Качественные реакции с нингидрином показали, что аминокислоты присутствуют в нижнем слое образца 2 и в образце 3. Поэтому испытание проведено только для двух объектов исследования – отжима и шрота (табл. 3).

Подготовка проб: к навескам образцов (около 1.0 г) прибавляли по 5 мл гексана и встряхивали на аппарате в течение 15 мин. После центрифугирования гексановые экстракты, содержащие липофильные соединения, удалили, а к остаткам прибавили по 10 мл смеси ацетонитрила и 0.1 М раствора соляной кислоты в соотношении 50 : 50. Пробы встряхивали на аппарате в течение 1 ч и центрифугировали при 4000 об./мин в течение 10 мин. К аликватам супернатантов по 10 мкл прибавляли по 15 мкл 0.1 М гидроксида натрия, 15 мкл ацетонитрила и 2 мкл фенилизотиоцианата. Пробы выдерживали при комнатной температуре в темном месте в течение 20 мин и упаривали досуха в высоком вакууме. Сухие остатки растворяли в 100 мкл водно-ацетонитрильной смеси в соотношении 19 : 1 и вводили в хроматограф.

Условия хроматографирования:

Колонка: Hypersil Gold aQ, заполненная октадецилсиликагелем (150 × 2.1) мм, 5 мкм;

Подвижная фаза: смесь 0.05% раствора трифторуксусной кислоты и ацетонитрила;

Градиент: увеличение доли ацетонитрила от 0 до 55% за 20 мин;

Скорость потока: 0.2 мл/мин;

Температура колонки: 40 °С;

Длина волны УФ-детектора: 254 нм;

Объем пробы: 10 мкл.

Данные таблицы показывают, что суммарное содержание аминокислот в отжиме и шроте примерно одинаковое и составляет 1.5–2.0%. Тем не менее, по разнообразию перечень идентифицированных соединений в образце 3 оказался более полным.

Количественный анализ, выполненный методом внешнего стандарта, свидетельствует о высокой степени совпадения концентраций отдельных аминокислот в двух образцах. Наиболее наглядно это проявляется в случае главных компонентов – лейцина и изолейцина.

Таблица 3. Содержание аминокислот в отжиме и шроте семян *Salvia hispanica*
Table 3. Amino acid content in *Salvia hispanica* seed pulp and oil cake

№	Аминокислота Amino acid	Содержание, мг/г Content, mg/g	
		образец 2 (низ) sample 2 (bottom)	образец 3 sample 3
1	Серин + Аспарагин Serine + Asparagine	—	0.18
1	Аргинин + Треонин Arginine + Threonine	—	2.41
2	Тирозин Tyrosine	0.57	0.91
3	Валин Valine	1.37	0.90
4	Метионин Methionine	—	1.27
5	Цистеин Cysteine	0.23	0.52
6	Изолейцин Isoleucine	8.76	6.86
7	Лейцин Leucine	4.03	4.90
8	Фенилаланин Phenylalanine	0.52	0.37
9	Триптофан Tryptophan	0.26	0.32
	Итого: Total:	15.74	18.64

Исследование методом ГЖХ-МС

Изучение образцов 1 и 2

Подготовка проб для анализа: навески испытуемых образцов по 0.05 г выдерживали в герметично закрытых сосудах с 2 мл метанола, насыщенного хлористым водородом, при температуре 80 °С в течение 1 ч. К реакционным массам прибавляли по 2 мл воды и по 2 мл гексана. Полученный гексановый экстракт сушили безводным сульфатом натрия, упаривали в токе азота до объема 50 мкл и использовали для анализа.

При изучении образца 2 исследовали по отдельности верхний и нижний слой.

Условия хроматографирования:

Капиллярная колонка: Ultra-2 (25 м × 0.2 мм);

Температура инжектора и детектора: 280 °С;

Начальная температура колонки: 160 °С (3 мин);

Скорость нагрева колонки: 4 °С/мин;

Конечная температура колонки: 280 °С (10 мин);

Газ-носитель: гелий, 0.9 мл/мин;

Деление потока: 1 : 50;

Объем пробы: 1 мкл.

Хроматограммы образцов регистрировали по полному ионному току в диапазоне масс от 35 до 450.

Обработка экспериментальных данных и идентификация компонентов пробы произведены с помощью программного обеспечения GCMSsolution, библиотеки масс-спектров NIST08 и на основании анализа спектральной информации.

Результаты количественной оценки содержания жирных кислот или их производных объединены в табл. 4.

Полученные данные показывают, что в исследованных образцах присутствует один и тот же ограниченный набор из 6 жирных кислот с похожим распределением. Основным компонентом является α-линоленовая кислота (53–58%). Кроме того, обнаружены линолевая, пальмитиновая, олеиновая и стеариновая кислоты, а также изомер олеиновой кислоты. Перечень дан в порядке уменьшения относительного содержания компонентов.

Изучение образца 3

Подготовка пробы для анализа: к навеске 1 г образца 3 прибавляли 5 мл хлористого метилена и встряхивали на аппарате в течение 20 мин. Экстракт декантировали и упаривали досуха. Сухой остаток перерастворяли в 100 мкл хлористого метилена.

Таблица 4. Определение жирных кислот в масле и отжиме семян *Salvia hispanica***Table 4.** Fatty acid composition of *Salvia hispanica* seed oil and pulp

№	Время удерживания, мин Retention time, min	Компонент Compound	Содержание жирных кислот Fatty acid content, %		
			образец 1 sample 1	образец 2 (верх) sample 2 (top)	образец 2 (низ) sample 2 (bottom)
1	12.497	Гексадекановая кислота, метиловый эфир Hexadecanoic acid, methyl ester	9.82	9.97	9.09
2	16.023	9,12-октадекадиеновая кислота (Z,Z)-, метиловый эфир 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester	21.33	21.21	18.89
3	16.114	9,12,15-октадекатриеновая кислота, метиловый эфир, (Z,Z,Z)- 9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)-	53.22	55.34	58.24
4	16.210	9-октадеценная кислота (Z)-, метиловый эфир 9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester	9.29	8.09	8.50
5	16.329	Октадеценная кислота, метиловый эфир Octadecenoic acid, methyl ester	1.44	0.99	0.96
6	16.843	Октадекановая кислота, метиловый эфир Octadecanoic acid, methyl ester	4.91	4.41	4.32
		Итого: Total:	100.00	100.00	100.00

Условия хроматографирования:

Капиллярная колонка: Ultra-2 (25 м × 0.2 мм);

Температура инжектора и детектора: 280 °С;

Начальная температура колонки: 50 °С (3 мин);

Скорость нагрева колонки: 10 °С/мин;

Конечная температура колонки: 280 °С (20 мин);

Газ-носитель: гелий, 1 мл/мин;

Деление потока: 1 : 20;

Объем пробы: 1 мкл.

Регистрация хроматограммы и обработка данных производились аналогично таковым при изучении образцов 1 и 2 (табл. 5).

Подобно образцам 1 и 2 в экстракте образца 3 также обнаружены предельные и непредельные жирные кислоты с числом атомов углерода 16 и 18 и преобладанием α -линоленовой кислоты. Кроме того, в пробе идентифицированы стероидные соединения: ситостерол (19.5%) и стигмастерол (2.6%) и ряд их производных, а также γ -токоферол (2.8%).

Масс-спектрометрическое исследование испытуемых образцов

В предыдущем разделе идентифицированы жирные кислоты, являющиеся структурными

элементами липидов разных классов. Химическое строение их представителей в составе образцов 1–3 установлено с помощью метода МАЛДИ.

Подготовка проб: для испытаний готовили 0.4% растворы анализируемых веществ в ацетонитриле. При исследовании образца 2 состав каждой фракции изучали по отдельности.

Условия регистрации масс-спектров:

Матрица: диоксибензойная кислота;

Диапазон массовых чисел: 200–1500 Да;

Мощность лазера: 30%;

Число импульсов: 1500.

Идентификация соединений производилась по положительным ионам на основании результатов Milman et al. [30] и применения электронной базы LIPID MAPS [31]. При этом использованы данные высокого разрешения, полученные при внутренней калибровке прибора по массе с добавлением в анализируемые образцы смеси пептидов известного состава. В указанных условиях точность определения массы составляет 5–15 ppm (табл. 6, 7).

Таблица 5. Идентификация летучих компонентов в шроте семян *Salvia hispanica*
Table 5. Identification of volatile components in the meal of seeds of *Salvia hispanica*

№	Время удерживания, мин Retention time, min	Компонент Compound	%
1	20.493	n-гексадекановая кислота n-Hexadecanoic acid	5.37
2	22.197	9,12,15-октадекатриеновая кислота 9,12,15-Octadecatrienoic acid, (Z,Z,Z)-	56.75
3	22.393	Октадекановая кислота Octadecanoic acid	1.53
4	26.490	9,12-октадекадиеновая кислота, 2,3-дигидроксипропиловый эфир 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, 2,3-dihydroxypropyl ester	2.38
5	26.762	Октадекановая кислота, 2,3-дигидроксипропиловый эфир Octadecanoic acid, 2,3-dihydroxypropyl ester	0.32
6	30.834	Гамма-токоферол Gamma-Tocopherol	2.93
7	31.977	Str MW = 396	1.07
8	34.206	Эргоста-5-ен-3-ол, (3.бета)- Ergost-5-en-3-ol, (3.beta.)-	3.07
9	34.913	Стигмастерол Stigmasterol	2.72
10	36.375	Гамма-ситостерол Gamma-Sitosterol	20.36
11	36.644	Стигмаста-5,24(28)-диен-3-ол, (3.бета)- Stigmasta-5,24(28)-dien-3-ol, (3.beta.)-	1.45
12	38.033	4,22-стигмастадиен-3-он 4,22-Stigmastadiene-3-one	0.35
13	39.826	Стигмаст-4-ен-3-он Stigmast-4-en-3-one	1.23
14	40.023	9,19-циклоланостан-3-ол, 24-метилен-, (3.бета)- 9,19-Cyclolanostan-3-ol, 24-methylene-, (3.beta.)-	0.47
		Итого: Total:	100.00

Таблица 6. Идентификация жиров в масле и отжиге семян *Salvia hispanica*
Table 6. Identification of fats in *Salvia hispanica* seed oil and pulp

№	Масса иона Ion mass, m/z	Брутто-формула Molecular formula	Идентификация Identification
1	895.7	$[C_{57}H_{92}O_6 + Na]^+$	Триглицерид, эфир линоленовой кислоты (18:3) Triglyceride, linolenic acid ester (18:3)
2	897.7	$[C_{57}H_{94}O_6 + Na]^+$	Триглицерид, смешанный эфир линоленовой (два остатка) и линолевой кислот (18:2) Triglyceride, mixed ester of linolenic (two residues) and linoleic acids (18:2)
3	911.7	$[C_{57}H_{92}O_6 + K]^+$	Триглицерид, эфир линоленовой кислоты Triglyceride, linolenic acid ester
4	913.7	$[C_{57}H_{94}O_6 + K]^+$	Триглицерид, смешанный эфир линоленовой (два остатка) и линолевой кислот Triglyceride, mixed ester of linolenic (two residues) and linoleic acids
5	915.7	$[C_{57}H_{96}O_6 + K]^+$	Триглицерид, смешанный эфир линоленовой (один остаток) и линолевой кислот Triglyceride, mixed ester of linolenic (one residue) and linoleic acids
6	917.7	$[C_{57}H_{98}O_6 + K]^+$	Триглицерид, эфир линолевой кислоты Triglyceride, linoleic acid ester

Таблица 7. Идентификация глицерофосфолипидов в семенах *Salvia hispanica*
Table 7. Identification of glycerophospholipids in *Salvia hispanica* seeds

№	Масса иона Ion mass, <i>m/z</i>	Брутто-формула Molecular formula	Идентификация Identification
1	496.5	[C ₂₄ H ₅₀ NO ₇ P + H] ⁺	Лизофосфатидилхолин, производное пальмитиновой кислоты (ЛФХ 16:0) Lysophosphatidylcholine, palmitic acid derivative (LPC 16:0)
2	518.5	[C ₂₆ H ₄₈ NO ₇ P + H] ⁺	Лизофосфатидилхолин, производное линоленовой кислоты (ЛФХ 18:3) Lysophosphatidylcholine, linolenic acid derivative (LPC 18:3)
3	520.5	[C ₂₆ H ₅₀ NO ₇ P + H] ⁺	Лизофосфатидилхолин, производное линолевой кислоты (ЛФХ 18:2) Lysophosphatidylcholine, linoleic acid derivative (LPC 18:2)
4	522.5	[C ₂₆ H ₅₂ NO ₇ P + H] ⁺	Лизофосфатидилхолин, производное олеиновой кислоты (ЛФХ 18:1) Lysophosphatidylcholine, oleic acid derivative (LPC 18:1)
5	556.3	[C ₂₆ H ₄₈ NO ₇ P + K] ⁺	Лизофосфатидилхолин, производное линоленовой кислоты (ЛФХ 18:3) Lysophosphatidylcholine, linolenic acid derivative (LPC 18:3)
6	558.3	[C ₂₆ H ₅₀ NO ₇ P + K] ⁺	Лизофосфатидилхолин, производное линолевой кислоты (ЛФХ 18:2) Lysophosphatidylcholine, linoleic acid derivative (LPC 18:2)
7	756.5	[C ₄₂ H ₇₈ NO ₈ P + H] ⁺	Фосфатидилхолин, производное пальмитиновой и линоленовой кислот (ФХ 16:0/18:3) Phosphatidylcholine, palmitic and linolenic acids derivative (PC 16:0/18:3)
8	758.5	[C ₄₂ H ₈₀ NO ₈ P + H] ⁺	Фосфатидилхолин, производное пальмитиновой и линолевой кислот (ФХ 16:0/18:2) Phosphatidylcholine, palmitic and linoleic acids derivative (PC 16:0/18:2)
9	778.5	[C ₄₄ H ₇₆ NO ₈ P + H] ⁺	Фосфатидилхолин, производное линоленовой кислоты (ФХ 18:3/18:3) Phosphatidylcholine, linolenic acid derivative (PC 18:3/18:3)
10	780.5	[C ₄₄ H ₇₈ NO ₈ P + H] ⁺	Фосфатидилхолин, производное линолевой и линоленовой кислот (ФХ 18:2/18:3, ФХ 18:3/18:2) Phosphatidylcholine, linoleic and linolenic acids derivative (PC 18:2/18:3, PC 18:3/18:2)
11	782.5	[C ₄₄ H ₈₀ NO ₈ P + H] ⁺	Фосфатидилхолин, производное олеиновой и линоленовой кислот (ФХ 18:1/18:3, ФХ 18:3/18:1) и линолевой кислоты (ФХ 18:2/18:2) Phosphatidylcholine, oleic and linolenic (PC 18:1/18:3, PC 18:3/18:1) and linoleic acids derivative (PC 18:2/18:2)
12	816.5	[C ₄₄ H ₇₆ NO ₈ P + K] ⁺	Фосфатидилхолин, производное линоленовой кислоты (ФХ 18:3/18:3) Phosphatidylcholine, linolenic acid derivative (PC 18:3/18:3)
13	818.5	[C ₄₄ H ₇₈ NO ₈ P + K] ⁺	Фосфатидилхолин, производное линолевой и линоленовой кислот (ФХ 18:2/18:3, ФХ 18:3/18:2) Phosphatidylcholine, linoleic and linolenic acids derivative (PC 18:2/18:3, PC 18:3/18:2)
14	820.5	[C ₄₄ H ₈₀ NO ₈ P + K] ⁺	Фосфатидилхолин, производное олеиновой и линоленовой кислот (ФХ 18:1/18:3, ФХ 18:3/18:1) и линолевой кислоты (ФХ 18:2/18:2) Phosphatidylcholine, oleic and linolenic (PC 18:1/18:3, PC 18:3/18:1) and linoleic acids derivative (PC 18:2/18:2)

Экспериментальные данные позволяют отметить следующее:

1. Триглицериды детектируются в образце 1 и в обеих фракциях образца 2 в виде комплексов с ионами Na⁺ и K⁺. Во всех случаях идентифицирован один и тот же набор из 6 производных, состоящий из чистых или смешанных триглицеридов линоленовой и линолевой кислот. Постоянным источником ионов щелочных металлов могут

быть минорные примеси соответствующих солей в растворителях и в самом масле, а также стеклянная посуда.

2. Другие липиды в процессе переработки попадают исключительно в отжим (фосфатидилхолины) или шрот (лизо- и фосфатидилхолины), что, вероятно, объясняется их цвиттер-ионной природой. Всего в пробах идентифицировано 14 глицерофосфолипидов, представляющих все-

Таблица 8. Определение полифенольных соединений в семенах *Salvia hispanica*
Table 8. Determination of polyphenolic compounds in *Salvia hispanica* seeds

№	Соединение Compound	Брутто-формула Molecular formula	<i>m/z</i> [M-H] ⁻	Результаты идентификации Identified			
				обр. 1 sample 1	обр. 2 (верх) sample 2 (top)	обр. 2 (низ) sample 2 (bottom)	обр. 3 sample 3
1	Кемпферол Kaempferol	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	285	+			
2	Кверцетин Quercetin	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	301	+	+	+	
3	Мирицетин Myricetin	C ₁₅ H ₁₀ O ₈	317	+	+		
4	Хлорогеновая кислота Chlorogenic acid	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	353		+	+	+
5	Олеуропеин агликон Oleuropeinaglycon	C ₁₉ H ₂₂ O ₈	377		+	+	+

возможные комбинации четырех главных жирных кислот, обнаруженных при анализе методом ГЖХ-МС. Количественную оценку распределения жиров по классам можно сделать, используя данные таблицы 1. Они показывают, что основная масса на 97–98% состоит из триглицеридов, а совокупное содержание глицерофосфолипидов составляет около 2%.

Следует отметить хорошее совпадение результатов исследования, по составу жирнокислотных остатков в испытуемых образцах, полученных методами ГЖХ и масс-спектрометрии.

Определение полифенольных соединений

Все испытуемые образцы дают положительную качественную реакцию на фенолы с фосфорномолибденовой кислотой [32²]. Идентификация соединений этого класса произведена с помощью прямого масс-спектрометрического анализа метанольных экстрактов образцов в нижеуказанных условиях:

- температура ионного источника: 125 °С;
- температура десольватации: 550 °С;
- расход газа (азот): 500 л/час;
- напряжение на источнике: 1 kV.

Подготовка проб из образцов 1 и 2 (верх): к навескам по 1 г прибавляли по 1 мл гексана и 10 мл метанола, встряхивали на аппарате в течение 3 ч и центрифугировали. Метанольный экстракт отделяли и вспыскивали непосредственно в масс-детектор.

Подготовка проб из образцов 2 (низ) и 3: к навескам по 1 г прибавляли по 5 мл гексана, экстра-

гировали на аппарате в течение 15 мин и центрифугировали. Гексановые слои количественно отделяли и отбрасывали. К остаткам прибавляли по 10 мл метанола и пробы встряхивали на аппарате в течение 3 ч. Полученные супернатанты вводили в масс-детектор. Идентификация фенольных производных произведена по массам молекулярных ионов и с помощью литературных данных [29]. Результаты анализа приведены в табл. 8.

Для количественной оценки содержания отдельных производных фенола в испытуемых образцах необходимо располагать аналитическими стандартами.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование показало, что масло *Salvia hispanica* и сопутствующие продукты содержат набор биологически значимых веществ, который включает белки, аминокислоты, липиды и полифенольные соединения. Распределение указанных классов характеризуется следующими тенденциями:

1. Масло и отжим семян *S. hispanica* состоят, в основном, из чистых или смешанных триглицеридов линоленовой и линолевой кислот.

2. Ионогенные биологически активные компоненты (белки, аминокислоты и глицерофосфолипиды) локализованы преимущественно в отжиме и шроте.

3. Представители класса полифенольных соединений распределены в исследованных образцах достаточно равномерно.

Биологическая роль производных фенола, вероятно, связана с их антиоксидантной активностью, способствующей снижению уровня продуктов автоокисления липидов.

² Файгель Ф. 1962. Капельный анализ органических веществ. М. 837 с.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

См. REFERENCES

Phytochemical Research of Various Processed Fractions of *Salvia hispanica* (Lamiaceae) Seeds

A. S. Panova^a, D. S. Dergachev^b, M. A. Subotyalov^{a, c, *}

^aNovosibirsk State Pedagogical University, Novosibirsk, Russia

^bMedical Systems LLC, St. Petersburg, Russia

^cNovosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

*e-mail: subotyalov@yandex.ru

Abstract—*Salvia hispanica* (or chia) is an annual herbaceous plant in the family *Lamiaceae*. In recent years, there has been a drastic increase in the use of the seeds of *Salvia hispanica*, owing to their high nutritional and medicinal value. Research worldwide is focused on the benefits of chia seeds with regard to their use in the medical, pharmaceutical and food industries. The purpose of this work is to study the component composition of various fractions of *S. hispanica* seeds and profiles of their main classes of biologically active substances. The studied objects are the samples obtained in the course of cold pressing of the seeds of *S. hispanica* (oil, pulp and oil cake). The research showed that the oil of *S. hispanica* and its byproducts contain a range of biologically significant substances, including proteins, amino acids, lipids and polyphenolic compounds. Oil and pulp mostly contain pure or mixed triglycerides of linolenic and linoleic acids. Proteins, amino acids and glycerophospholipids are mainly found in pulp and oil cake. The distribution of the representative polyphenolic compounds in the studied samples is fairly uniform.

Keywords: Spanish sage, chia, *Salvia hispanica*, linoleic acid, linolenic acid, leucine, isoleucine, quercetin, kaempferol, component composition, phytochemistry

REFERENCES

1. Marcinek K., Krejpcio Z. 2017. Chia seeds (*Salvia hispanica*): health promoting properties and therapeutic applications – a review. – Rocz. Panstw. Zakl. Hig. 68(2): 123–129.
http://wydawnictwa.pzh.gov.pl/roczniki_pzh/chia-seeds-salvia-hispanica-health-promoting-properties-and-therapeutic-applications-a-review?lang=en
2. Knez Hrnčič M., Ivanovski M., Cör D., Knez Ž. 2019. Chia Seeds (*Salvia hispanica* L.): An Overview-Phytochemical Profile, Isolation Methods, and Application. – Molecules. 25(1): E11.
<https://doi.org/10.3390/molecules25010011>
3. Kulczyński B., Kobus-Cisowska J., Taczanowski M., Kmieciak D., Gramza-Michałowska A. 2019. The Chemical Composition and Nutritional Value of Chia Seeds – Current State of Knowledge. – Nutrients. 11(6): E1242.
<https://doi.org/10.3390/nu11061242>
4. Melo D., Machado T.B., Oliveira M.B.P.P. 2019. Chia seeds: an ancient grain trending in modern human diets. – Food Funct. 10(6): 3068–3089.
<https://doi.org/10.1039/C9FO00239A>
5. Enes B.N., Moreira L.P.D., Silva B.P., Grancieri M., Lúcio H.G., Venâncio V.P., Mertens-Talcott S.U., Rosa C.O.B., Martino H.S.D. 2020. Chia seed (*Salvia hispanica* L.) effects and their molecular mechanisms on unbalanced diet experimental studies: A systematic review. – J. Food Sci. 85(2): 226–239.
<https://doi.org/10.1111/1750-3841.15003>
6. Tavares Toscano L., Tavares Toscano L., Leite Tavares R., Oliveira da Silva C.S., Silva A.S. 2014. Chia induces clinically discrete weight loss and improves lipid profile only in altered previous values. – Nutr. Hosp. 31(3): 1176–1182.
<https://doi.org/10.3305/nh.2015.31.3.8242>
7. Parker J., Schellenberger A.N., Roe A.L., Oketch-Rabah H., Calderón A.I. 2018. Therapeutic Perspectives on Chia Seed and Its Oil: A Review. – Planta Med. 84(9–10): 606–612.
<https://doi.org/10.1055/a-0586-4711>
8. Chicco A.G., D'Alessandro M.E., Hein G.J., Oliva M.E., Lombardo Y.B. 2009. Dietary chia seed (*Salvia hispanica* L.) rich in alpha-linolenic acid improves adiposity and normalises hypertriglycerolaemia and insulin resistance in dyslipaemic rats. – Br. J. Nutr. 101(1): 41–50.
<https://doi.org/10.1017/S000711450899053X>
9. Creus A., Ferreira M.R., Oliva M.E., Lombardo Y.B. 2016. Mechanisms Involved in the Improvement of Lipotoxicity and Impaired Lipid Metabolism by Dietary α -Linolenic Acid Rich *Salvia hispanica* L (Salba) Seed in the Heart of Dys-

- lipemic Insulin-Resistant Rats. – J. Clin. Med. 5(2): E18.
<https://doi.org/10.3390/jcm5020018>
10. Creus A., Chicco A., Alvarez S.M., Giménez M.S., Bolzón de Lombardo Y. 2020. Dietary *Salvia hispanica* L. reduces cardiac oxidative stress of dyslipemic insulin-resistant rats. – Appl. Physiol. Nutr. Metab. <https://doi.org/10.1139/apnm-2019-0769>
 11. Oliva M.E., Ferreira M.R., Chicco A., Lombardo Y.B. 2013. Dietary Salba (*Salvia hispanica* L) seed rich in α -linolenic acid improves adipose tissue dysfunction and the altered skeletal muscle glucose and lipid metabolism in dyslipidemic insulin-resistant rats. – Prostaglandins, Leukot. Essent. Fatty Acids. 89(5): 279–89.
<https://doi.org/10.1016/j.plefa.2013.09.010>
 12. Creus A., Benmelej A., Villafañe N., Lombardo Y.B. 2017. Dietary Salba (*Salvia hispanica* L) improves the altered metabolic fate of glucose and reduces increased collagen deposition in the heart of insulin-resistant rats. – Prostaglandins, Leukot. Essent. Fatty Acids. 121: 30–39.
<https://doi.org/10.1016/j.plefa.2017.06.002>
 13. Vuksan V., Jenkins A.L., Brissette C., Choleva L., Jovanovski E., Gibbs A.L., Bazinet R.P., Au-Yeung F., Zurbau A., Ho H.V., Duvnjak L., Sievenpiper J.L., Josse R.G., Hanna A. 2017. Salba-chia (*Salvia hispanica* L.) in the treatment of overweight and obese patients with type 2 diabetes: A double-blind randomized controlled trial. – Nutr. Metab. Cardiovas. Dis. 27(2): 138–146.
<https://doi.org/10.1016/j.numecd.2016.11.124>
 14. Vuksan V., Whitham D., Sievenpiper J.L., Jenkins A.L., Rogovik A.L., Bazinet R.P., Vidgen E., Hanna A. 2007. Supplementation of conventional therapy with the novel grain Salba (*Salvia hispanica* L.) improves major and emerging cardiovascular risk factors in type 2 diabetes: results of a randomized controlled trial. – Diabetes Care. 30(11): 2804–2810.
<https://doi.org/10.2337/dc07-1144>
 15. Sosa Crespo I., Laviada Molina H., Chel Guerrero L., Ortiz Andrade R., Betancur Ancona D. 2018. Efecto inhibitorio de fracciones peptídicas derivadas de la hidrólisis de semillas de chía (*Salvia hispanica*) sobre las enzimas α -amilasa y α -glucosidasa [Inhibitory effect of peptide fractions derivatives from chia (*Salvia hispanica*) hydrolysis against α -amylase and α -glucosidase enzymes]. – Nutr. Hosp. 35(4): 928–935. (In Spanish)
<https://doi.org/10.20960/nh.1713>
 16. Fernández-Martínez E., Lira-Islas I.G., Cariño-Cortés R., Soria-Jasso L.E., Pérez-Hernández E., Pérez-Hernández N. 2019. Dietary chia seeds (*Salvia hispanica*) improve acute dyslipidemia and steatohepatitis in rats. – J. Food Biochem. 43(9): e12986.
<https://doi.org/10.1111/jfbc.12986>
 17. da Silva B.P., Toledo R.C.L., Mishima M.D.V., Moreira M.E.C., Vasconcelos C.M., Pereira C.E.R., Favarato L.S.C., Costa N.M.B., Martino H.S.D. 2019. Effects of chia (*Salvia hispanica* L.) on oxidative stress and inflammation in ovariectomized adult female Wistar rats. – Food Funct. 10(7): 4036–4045.
<https://doi.org/10.1039/C9FO00862D>
 18. Ferreira M.R., Alvarez S.M., Illesca P., Giménez M.S., Lombardo Y.B. 2018. Dietary Salba (*Salvia hispanica* L.) ameliorates the adipose tissue dysfunction of dyslipemic insulin-resistant rats through mechanisms involving oxidative stress, inflammatory cytokines and peroxisome proliferator-activated receptor γ . – Eur. J. Nutr. 57(1): 83–94.
<https://doi.org/10.1007/s00394-016-1299-5>
 19. Marineli R.D.S., Lenquist S.A., Moraes É.A., Maróstica M.R.Jr. 2015. Antioxidant potential of dietary chia seed and oil (*Salvia hispanica* L.) in diet-induced obese rats. – Food Res. Int. 76(3): 666–674.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.07.039>
 20. Silva C.S.D., Monteiro C.R.A., Silva G.H.F.D., 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 M.N., Rosa P.C.P., Fonseca F.L.A. 2020. Assessing the Metabolic Impact of Ground Chia Seed in Overweight and Obese Prepubescent Children: Results of a Double-Blind Randomized Clinical Trial. – J. Med. Food. 23(3): 224–232.
<https://doi.org/10.1089/jmf.2019.0055>
 21. Ullah R., Nadeem M., Khalique A., Imran M., Mehmood S., Javid A., Hussain J. 2016. Nutritional and therapeutic perspectives of Chia (*Salvia hispanica* L.): a review. – J. Food Sci. Technol. 53(4): 1750–1758.
<https://doi.org/10.1007/s13197-015-1967-0>
 22. Toscano L.T., da Silva C.S., Toscano L.T., de Almeida A.E., Santos A. da C., Silva A.S. 2014. Chia flour supplementation reduces blood pressure in hypertensive subjects. – Plant Food Hum. Nutr. 69(4): 392–398.
<https://doi.org/10.1007/s11130-014-0452-7>
 23. Teoh S.L., Lai N.M., Vanichkulpitak P., Vuksan V., Ho H., Chaiyakunapruk N. 2018. Clinical evidence on dietary supplementation with chia seed (*Salvia hispanica* L.): a systematic review and meta-analysis. – Nutr. Rev. 76(4): 219–242.
<https://doi.org/10.1093/nutrit/nux071>
 24. Bilgic Y., Demir E. A., Bilgic N., Dogan H., Tutuk O., Tumer C. 2018. Detrimental effects of chia (*Salvia hispanica* L.) seeds on learning and memory in aluminum chloride-induced experimental Alzheimer's disease. – Acta Neurobiol. Exp. 78(4): 322–331.
<https://doi.org/10.21307/ane-2018-031>
 25. Adel A., Ikram R., Wasi N. 2019. *Salvia hispanica* (White chia): A new window for its antidepressant and memory boosting activity. – Pak. J. Pharm. Sci. 32(3): 1005–1009. <http://www.pjps.pk/wp-content/uploads/pdfs/32/3/Paper-17.pdf>

26. *Espada C.E., Berra M.A., Martinez M.J., Eynard A.R., Pasqualini M.E.* 2007. Effect of Chia oil (*Salvia Hispanica*) rich in omega-3 fatty acids on the eicosanoid release, apoptosis and T-lymphocyte tumor infiltration in a murine mammary gland adenocarcinoma. – Prostaglandins, Leukot. Essent. Fatty Acids. 77(1): 21–28.
<https://doi.org/10.1016/j.plefa.2007.05.005>
27. *Carnier M., Silva F.P., Miranda D.A., Hachul A.C. L., Silva Rischitelli A.B., Pinto Neto N.I., Boldarine V.T., Seelaender M., Oller do Nascimento C.M., Oyama L.M.* 2018. Diet Supplemented with Chia Flour did not Modified the Inflammatory Process and Tumor Development in Wistar Rats Inoculated with Walker 256 Cells. – Nutrition and Cancer. 70(7): 1007–1016.
<https://doi.org/10.1080/01635581.2018.1502329>
28. [State Pharmacopoeia of the USSR. XI.] 1990. Moscow. 385 p. (In Russian)
29. *da Silva Marineli R., Moraes É.A., Lenquiste S.A., Godoy A.T., Eberlin M.N., Maróstica Jr. M. R.* 2014. Chemical characterization and antioxidant potential of Chilean chia seeds and oil (*Salvia hispanica* L.). – LWT-Food Science and Technology. 59(2): 1304–1310.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.04.014>
30. *Milman B.L., Utsal V.A., Lugovkina N.V., Kotryakhov I.A., Zhurkovich I.K.* 2015. Comparative determination of fatty acid composition of low-molecular components of blood plasma by three mass spectrometry techniques: the ‘old-new’ exercise in lipidomics. – J. Analytical Chemistry. 70(14): 1601–1613.
<https://doi.org/10.1134/S1061934815140099>
31. LIPID MAPS Structure Database (LMSD); http://www.lipidmaps.org/tools/ms/LMSD_search_mass_options.php
32. *Feigl F.* 1962. [Spot tests in organic analysis]. Transl. from English Moscow. 837 p. (In Russian)