

Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta

Biochemie



Jan Blecha

Rakytník řešetlákový (*Hippophae Rhamnoides* L.) jako zdroj biochemicky aktivních
látek

Sea Buckthorn (*Hippophae Rhamnoides* L.) as a source of biochemically active
substances

Bakalářská práce

Vedoucí práce:
prof. RNDr. Jiří Hudeček, CSc.

Praha, 2012

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracoval samostatně pod vedením prof. RNDr. Jiřího Hudečka, CSc. a důsledně jsem uvedl veškeré použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, dne

Podpis:

Úvodem bych rád poděkoval vedoucímu práce prof. RNDr. Jiřímu Hudečkovi, CSc. za jeho odborné vedení a pomoc v průběhu vyhotovení práce, cenné rady a výjmečnou trpělivost.

V neposlední řadě také děkuji své rodině a blízkým za velkou podporu při studiu.

ABSTRAKT

Tato práce shrnuje dosavadní významné poznatky o chemickém složení plodů rakytníku řešetlákového (*Hippophae rhamnoides* L.). Bylo zjištěno, že zastoupení a množství jednotlivých chemických komponent je v bobulích různých vyšlechtěných kultivarů velice variabilní a také závislý na podmínkách, kde rostlina vyrůstala. Rakytníkové produkty jsou bohaté zejména na antioxidanty, jako je vitamín C (v množství až 2500 mg/100g čerstvých bobulí) a tokoferoly (481 mg/100 g plodů), flavonoidy (až 1100 mg/100 g čerstvých plodů) a karotenoidy (až 2139 mg/100g oleje). Mastné kyseliny v oleji jsou převážně nenasycené (až 89% všech mastných kyselin), v dominantních množstvích jsou v semenném oleji zastoupeny kyseliny linolenová a linolová a v dužinovém oleji kyseliny palmitoolejová a nenasycená palmitová.

Tato práce se zaměřuje hlavně na shrnutí informací o chemickém složení a vlastnostech rakytníkového oleje. Dále je také poukázáno na obsah a účinky významných flavonoidů vyskytujících se v rostlině. Mezi významné biologické účinky rakytníku patří antioxidační působení, stejně jako vliv na správnou funkci kardiovaskulárního systému, hepatoprotektivní vlastnosti a u některých substancí i prokázaný protinádorový účinek. Díky tomu má rostlina vysoký potenciál pro budoucí využití hlavně v lékařenském průmyslu a medicíně.

Klíčová slova: Rakytník řešetlákový, *Hippophae rhamnoides* L., extrakce, chemické složení, olejový profil, nutriční látky, vitaminy, flavonoidy

ABSTRACT

This work is primarily focused on summarizing of existing data in the literature about the chemical composition of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) fruits, in particular of its oil. It was found that the content of individual chemical components substantially varies in different cultivars and is also very dependent on the conditions in which the plant is grown. Various sea buckthorn products can be rich sources of antioxidants, such as the vitamin C (in amounts up to 2500 mg/100g of fresh fruit) and tocopherols (up to 481 mg/100g of fresh fruit), flavonoids (up to 1100 mg/100g of fresh fruit) and carotenoids (up to 2139 mg/100g of oil). The fatty acids of this plant are mostly unsaturated (up to 89% of all fatty acids), in dominant amounts linolenic and linoleic acid can be found in seed oil and palmitooleic and saturated palmitic acid in pulp oil.

Content and effects of significant flavonoids in the plant are also summarized. Among the most important biological effects of sea buckthorn, its antioxidant activity can be included as well as effects on the function of cardiovascular system, hepatoprotective and anticancer effects proven for some of the substances. Thanks to that the sea buckthorn has a high potential for use in pharmaceutical industry and medicine.

Keywords: Sea Buckthorn, *Hippophae rhamnoides* L., extraction, chemical composition, oil profile, nutraceutical compounds, vitamins, flavonoids

Obsah

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK.....	7
1. CÍL PRÁCE	8
2. ÚVOD	9
3. RAKYTNÍK ŘEŠETLÁKOVÝ	10
3.1. STRUKTURA PLODU	10
3.2. HISTORICKÉ VYUŽITÍ	10
3.3. SOUČASNÉ ROZŠÍŘENÍ.....	12
3.4. SKLIZEŇ.....	13
3.5. SKLADOVÁNÍ	14
4. ZPRACOVÁNÍ A PRODUKTY	16
4.1. EXTRAKCE ŠŤÁVY	16
4.2. EXTRAKCE OLEJE.....	19
4.3. EXTRAKCE TOKOFEROLŮ A KAROTENOIDŮ	22
4.4. EXTRAKCE FLAVONOIDŮ.....	22
4.5. EXTRAKCE PIGMENTU	23
5. CHEMICKÉ SLOŽENÍ PLODŮ	24
5.1. ALKALOIDY.....	24
5.2. CUKRY	24
5.3. KYSELINY	25
5.4. KYSELINA ASKORBOVÁ (VITAMIN C) A DALŠÍ VITAMINY	25
5.5. PROTEINY A AMINOKYSELINY	26
5.6. INOSITOLY.....	27
5.7. FLAVONOIDY („VITAMIN P“)	27
5.8. TOKOFEROLY (VITAMIN E) A TOKOTRIENOLY	30
5.9. FYTOSTEROLY	33
5.10. PIGMENT.....	36
5.11. KAROTENOIDY	36
5.12. LIPIDY.....	37

6. LÉČIVÉ ÚČINKY	42
6.1. VYUŽITÍ RAKYTNÍKU V TRADIČNÍ LÉČBĚ	42
6.2. HOJIVÝ ÚČINEK NA POPÁLENINY A PORANĚNÍ KŮŽE	43
6.3. ANTIBAKTERIÁLNÍ A ANTIOXIDAČNÍ ÚČINKY	44
6.4. VLIV EXTRAKTŮ NA SPRÁVNOU FUNKCI KARDIOVASKULÁRNÍHO SYSTÉMU	45
6.5. IMUNOMODULAČNÍ ÚČINKY.....	47
6.6. HEPATOPROTEKTIVNÍ ÚČINKY.....	48
6.7. OCHRANA KŮŽE A POTLAČENÍ SYMPTOMŮ DERMATITID	49
6.8. OCHRANA BUNĚK PŘED ZÁŘENÍM.....	50
6.9. PROTINÁDOROVÉ ÚČINKY.....	51
6.10. VLIV NA GASTROINTESTINÁLNÍ TRAKT	52
6.11. VLIV NA HLADINY LIPOPROTEINŮ A LIPIDŮ, CHOLESTEROLU A GLUKOSY	52
6.12. DALŠÍ ÚČINKY	53
7. ZÁVĚR.....	55
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	56

Seznam použitých zkratk

DPPH - 2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl

HPLC - vysokoúčinná kapalinová chromatografie

HSCCC - vysokorychlostní protiproudá kapalinová chromatografie

kys. - kyselina

MK - mastné kyseliny

SCFE- extrakce superkritickou tekutinou

st. - stopové množství

1. CÍL PRÁCE

Cílem této práce bylo shrnout dostupné informace o biochemickém složení plodů rakytníku řešetlákového (*Hippophae rhamnoides* L.) a biologických účincích těchto látek. Rešerše je zaměřena na technologické zpracování plodů a zejména pak na chemické látky obsažené v oleji a na vlastnosti tohoto oleje.

2. ÚVOD

Rakytník řešetlákový (latinsky *Hippophae rhamnoides* L.) je významná dvoudomá dřevina z čeledi hloštinovitých (*Elaeagnaceae*) (Guliyev a kol. 2004). Ve volné přírodě se nejhojněji vyskytuje na březích Evropy a na písčitých pláních střední Asie, kde tvoří rozsáhlé porosty vysoké obvykle kolem 3 metrů (Li 1996). Díky unikátnímu chemickému složení plodů se tento mrazuvzdorný keř dostává v posledních desetiletích do středu pozornosti zejména ve farmaceutickém průmyslu a moderní medicíně (Zeb 2004a). Pro své léčebné a blahodárné účinky byl však vyhledáván již v dávné minulosti, což dokazují například řecké spisy Theofrasta nebo tibetské lékopisy z 8. století našeho letopočtu (Ghandal 2009). V léčitelství našly uplatnění téměř všechny části rostliny. Po prvních výzkumech ve 40. letech 20. století, dokazujících vysoký obsah výživných, terapeutických a jinak hodnotných biologicky aktivních látek v plodech, listech i kůře rakytníku, začal jeho intenzivní výzkum, který neustává dodnes (Li 2002). Hlavními zeměmi zabývajícími se výzkumem rakytníku jsou především Rusko a Čína, na jejichž území se nacházejí rozsáhlé přirozené biotopy rakytníku, a proto také disponují největšími zásobami této rostliny. Zejména v plodech rakytníku bylo doposud nalezeno více než 200 biologicky aktivních látek (Kagliwal a kol. 2011). Již v minulosti si získal nenahraditelné místo především při klasické léčbě popálenin, různých řezných poranění, odřenin, ale také zažívacích problémů a kašle (Li 1996, Wang a kol. 2006). V současné době je rakytník studován například v souvislosti s protinádorovou léčbou (Guliyev a kol. 2004, Hibasami a kol. 2005), nemocemi kardiovaskulárního systému (Negi a kol. 2005, Pang a kol. 2008), hepatoprotektivními (Cheng 1992, Mansurova a kol. 1978) či imunomodulačními účinky (Mishra a kol. 2008, Geetha a kol. 2002). Netypický v rostlinné říši je rakytník i vysokým obsahem oleje v dužině plodů. Rakytníkový olej je významným zdrojem fytosterolů, esenciálních mastných kyselin a také kyseliny palmitoolejové, která se v běžných rostlinných olejích nevyskytuje (Yang a Kallio 2001a). Jeho další významnou charakteristikou je vysoký obsah kyseliny askorbové (Zeb 2004a) a flavonoidů (Zhao a Wu 1997), sekundárních rostlinných metabolitů, které jsou známé pro své antioxidační působení (Nijveldt 2001, Gupta a kol. 2006). Rakytník řešetlákový se tak řadí mezi důležité rostliny farmaceutického, potravinářského i kosmetického průmyslu.

3. RAKYTNÍK ŘEŠETLÁKOVÝ

Dnes jsou známy 4 druhy rakytníku patřící do čeledi hlošínovitých (*Elaeagnaceae*). Jsou to *Hippophae salicifolia*, *H. tibetana*, *H. nerocarpa* a *H. rhamnoides* L. (rakytník řešetlákový) (Yang a Kallio 2002a, Li a Schroeder 1996, Bawa a kol. 2002), který se dále dělí na 9 poddruhů, z nichž jsou k průmyslovým a komerčním účelům nejhojněji využívány tři (poddruh *sinensis*, *rhamnoides* a *mongolica*) (Yang a Kallio 2002a, Kallio kol. 2002). V práci Gilberta a Qina jsou popsány jako další druhy také *H. litangensis*, *H. goniocarpa* a *H. gyantsensis*.

Rakytník řešetlákový je dvoudomá opadavá dřevina keřovitého vzrůstu. Tato rostlina se ve volné přírodě nejhojněji vyskytuje na písčitých půdách Evropy a střední Asie (Kallio a kol. 2002), zejména na sibiřských pláních, kde tvoří rozsáhlé porosty a místy dosahuje výšky až 10 metrů (Brasovan a Codrea 2008). Obvykle však dorůstá výšky 2 až 4 metry (Li a Schroeder 1996). Kůru mívají keře rakytníku hrubou, šedě zabarvenou. Husté houževnaté větve jsou trnité s celokrajnými, úzkými, kopinatými listy, které jsou na lícové straně šedo zelené, na druhé straně pak stříbřité (Li a Schroeder 1996, Li 2002).

3.1. Struktura plodu

Plody rakytníku řešetlákového jsou 6-8 mm velké vejčité žlutooranžové bobule (Obr. 1), které dozrávají v srpnu až říjnu (Li a Schroeder 1996, Li 2002). Na povrchu mají relativně tvrdou slupku obalující kašovitou dužinu, která obsahuje semeno tvořící asi 5% hmotnosti. Mikroskopickým pozorováním bylo zjištěno, že stopka je rostlá se slupkou bobule, a ta tak bývá sklizní porušena (Beveridge a Harrison 2002a). Plody rakytníku řešetlákového váží průměrně 350 mg, v závislosti na poddruhu, zralosti a oblasti původu může však tento údaj kolísat mezi 270 a 480 mg (Li 2002).

3.2. Historické využití

Tento mrazuvzdorný keř byl dlouhá staletí využíván v přírodní medicíně na území střední Asie, v horských oblastech Hindúkuše a Himaláje, a to hlavně v Indii, Bhútánu, Pákistánu, Nepálu a Číně. Ne bezdůvodně je nazýván též „zázračná rostlina“ (Yang a Kallio 2002a). První zmínky o využívání rakytníku v léčitelství můžeme nalézt ve starořeckých spisech Theofrasta a v záznamech klasické tibetské medicíny

„rGyud Bzi“ (jeden ze čtyř dílů slavného lékařského kompendia) pocházejících z 8. století našeho letopočtu. Tato kniha se připisuje dynastii Tang (Ghangal a kol. 2009, Bawa a kol. 2002) a obsahuje 84 pravidel a návodů pro přípravu léčivých přípravků z rakytníku.

Téměř všechny části rostliny našly uplatnění v léčitelství. Zejména v plodech rakytníku bylo nalezeno již více než 200 biologicky aktivních látek, čímž si v minulosti získal nenahraditelné místo především při tradiční léčbě popálenin, různých řezných poranění, odřenin, ale také zažívacích problémů a kašle. Řada dnes již prokázaných léčebných účinků je přehledně shrnuta v pracích Guliyeva a kol. a Zeba (Guliyev a kol. 2004, Zeb 2004b). Jako doplněk stravy byl a také stále je vhodný pro léčbu a prevenci problémů trávicí soustavy, jako jsou žaludeční nebo duodenální vředy. Ve starověkém Řecku bývaly jeho listy a mladé větvičky podávány jako léčivý doplněk krmiva závodním koním, což se projevovalo například v kvalitě a lesklosti jejich osrstění. Z tohoto uplatnění je také odvozena část jeho latinského jména *Hippophae* („zářící kůň“) (Li a Schroeder 1996, Li 2003, Bawa a kol. 2002). Dle řecké mytologie byly listy rakytníku i oblíbenou potravou bájného okřídleného koně Pegase (Bawa a kol. 2002).

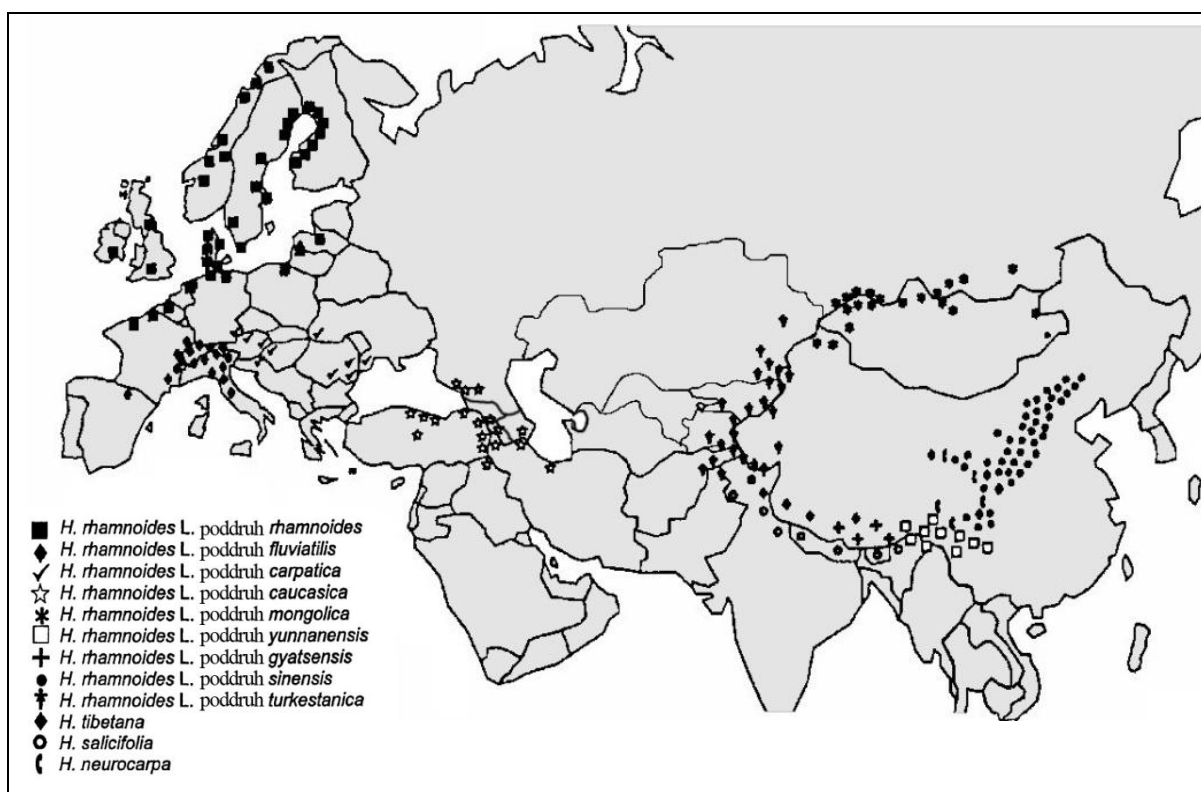
První továrna na zpracování a výrobu produktů z rakytníku řešetlákového byla postavena ve 40. letech minulého století v ruském Bisku. Pozdější produkty sloužily převážně jako doplňky stravy kosmonautů a jako krémy ochraňující pokožku před kosmickým zářením (Li 2002). Ruským kosmonautům byly též podávány nápoje z rakytníku pro podporu zdraví a odolnosti proti stresovým podmínkám (Batool a kol. 2011).



Obr. 1: Větev *Hippophae rhamnoides* L. se zralými plody (Terekhina 2004).

3.3. Současné rozšíření

Dodnes bylo vyšlechtěno několik rakytníkových kultivarů, které jsou pěstovány v mnoha zemích po celém světě, například v Kanadě, Spojených Státech Amerických, Mongolsku, Indii, Číně, Rusku, Velké Británii, Německu, Finsku, Švédsku, Norsku, Polsku či Francii, a to až do 5000 m n. m. (Kagliwal a kol. 2011, Li a Schroeder 1996, Brasovan a Codrea 2008). V nadmořských výškách nad 4000 m však keř obvykle přestává plodit (Kagliwal a kol. 2011, Li 2003). Zdaleka nejvíce je ovšem rakytník rozšířen v nadmořské výšce asi 500 m n. m. (Li 2003). Podrobnější rozšíření druhů a poddruhů ve státech Evropy a Asie je přehledně znázorněno na obrázku 2. Většina druhů rakytníku snáší kromě velké nadmořské výšky mnohdy i velmi drsné klimatické podmínky, různý obsah minerálů v půdě či množství srážek. Rostlina je odolná vůči extrémním teplotám od -43°C až do $+55^{\circ}\text{C}$ (Ghangal a kol. 2009), a proto je také považována za mrazu- i suchovzdornou (Li a Schroeder 1996).



Obr. 2: Znázornění rozšíření jednotlivých druhů a poddruhů rakytníku (*Hippophae*).

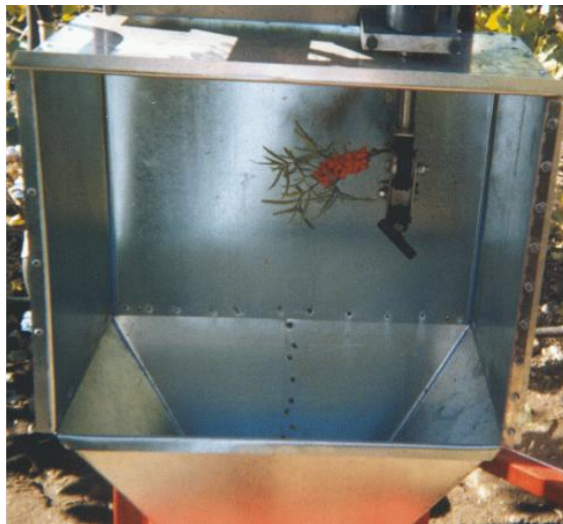
Upraveno dle Yang a Kallio 2002b.

Díky zvýšenému zájmu vědy a farmaceutických společností o tuto plodinu se v některých zemích, jako je například Kanada nebo Čína, stal rakytník v posledních letech dokonce komerčně pěstovanou plodinou. Kvůli jeho rychle rostoucímu odolnému a komplexnímu kořenovému systému, a také díky schopnosti vázat základní živiny a vzdušný dusík na své hlízky, může rakytník růst i na chudých či erodovaných písčitéch a zásaditých půdách (Ghangal a kol. 2009). Je tedy též hojně využíván jako rekultivační dřevina k znovuzalesnění a konzervaci erodovaných oblastí a uhelných výsypek (Yang a Kallio 2002a, Li a Schroeder 1996, Brasovan a Codrea 2008). Zejména v přímořských státech Evropy se mimo pěstování pro následné využití plodů vysazuje kvůli zpevňování písčiny valů a břehů, a to nejvíce u Baltského a Severního moře na severu Evropy a na pásu táhnoucím se při pobřeží od Černého moře po Alpy v jižní Evropě (Yang a Kallio 2002a). V původních oblastech se rakytník stále využívá ke zpevnění říčních břehů a příkrých svahů i jako živý plot k ochraně primitivních farem. Na území České republiky byl poprvé vysazen v roce 1835 ve Stromovce v Praze (Malina 2010) a dodnes se vysazuje spíše jako okrasná dřevina (Opletal a Volák 1999).

3.4. Sklizeň

Rakytníkové bobule postrádají mechanismus umožňující samovolné odpadnutí, a tak plody setrvávají dehydratované na větvích přes celou zimu. Sklizeň také komplikují dlouhé a pevné trny, které jsou až na některé kultivary pro rakytník typické, stejně jako vysoká nahloučenost plodů, které jsou k větví i k sobě navzájem těsně přimknuté (Obr. 1). Zejména v asijských oblastech a Kanadě je sběr nejčastěji ruční, což je i nejšetrnější přístup ke sklizeným plodům. Tento postup je však časově a v důsledku i finančně náročný, a proto jsou stále vyvíjena nová zařízení usnadňující mechanický sběr, založená většinou na třesení částí rostliny nebo nasávání plodů vakuem (Varlamov a Gabuniya 1990, Gaetke a Triquart 1992, Mann a kol. 2001). Spojení některých z uvedených metod s ošetřením rakytníku chemickými látkami, jako je například ethylen, může přinést v budoucnosti významné usnadnění sklizně, neboť bylo zjištěno, že nejvhodnější doba sběru plodů koreluje s hladinou ethylenu v semenech (Beveridge a kol. 1999). Přirozené i uměle vyvolané zvýšení hladiny ethylenu v plodech podporuje vznik odstřihávací vrstvy bobule (Li a Schroeder 1996). Tento jev by tak mohl přinést značný pokrok při sklizni, neboť snižuje sílu

potřebnou k odtržení plodu. Další informace však nejsou dostupné. Podobné účinky má také vodný roztok ethefonu ((2-chlorethyl)fosfonová kyselina), který sníží sílu potřebnou k odtržení plodu o 30% (Li a Schroeder 1996, Li 2002). Většina z inovativních mechanických metod však poškozuje sklizené plody, listy, kůru či dokonce celé větve i keř. Celkově je efektivita těchto nových metod malá a poškození rakytníku navíc vede k nižším výnosům další sezonu. Nejvíce se osvědčila metoda, kdy zařízení na několik vteřin zatřese stromem nebo větvemi obalenými zralými plody a ty pak spadají do připraveného sběrače pod keřem nebo větví (Obr. 3).



Obr. 3: Zařízení určené k odstranění plodů z odštipnutých větví třesením.
Převzato z Mann a kol. 2001.

Mann a kol. (2001) testovali takovéto zařízení a v několika experimentech určili září jako nejvhodnější období sklizně. Stanovili také parametry stroje, umožňující nejvyšší možnou efektivitu. Mimo jiné zjistili, že mrazy a obecně snížená teplota má na účinné sklizení třesem významný vliv. Tohoto faktu využívá v současné době nejefektivnější mechanická metoda sběru, kdy je přístrojem odštipnuta celá větev rakytníku obalená plody, která je okamžitě celá zmrazena. Takto zmražené větve je poté snazší zbavit plodů třesením. Zastřihování navíc přináší rakytníku možnost bujnějšího růstu, avšak další úrody se dočká až za 2 roky.

3.5. Skladování

Vzhledem k náchylnosti rakytníkových plodů k degradaci je nutné jejich okamžité zpracování či zamrazení. Pokud je nutný převoz bobulí, obvykle se ihned po

sklizni ochlazují na teplotu kolem 4 až 6°C, čímž se prodlouží nejen jejich životnost, ale je tím i částečně potlačeno rozmnožení mikroorganismů. Pro zpracování po více než 2 dnech je nutné plody rychle zmrazit při velmi nízké teplotě. Po rozmrazení jsou opět vhodné k dalšímu zpracování (Li 2002).

4. ZPRACOVÁNÍ A PRODUKTY

V současné době je k dostání široká škála produktů vyráběných z rakytníku řešetlákového. Pestrostí nabídka předčí i většinu ostatních komerčních plodin. Na světovém trhu jsou k dispozici rakytníkové oleje, džusy, čaje, rakytníkové potraviny i čerstvé či sušené plody a aditiva do cukrovinek. Na trhu lze objevit i celou řadu kosmetických výrobků, šampónů a mastí chránících a léčících pokožku a další léčebné a zdravotní produkty. I přesto, že je distribuce čerstvých rakytníkových bobulí kvůli poškození plodů sklizní pro trh velice obtížná, našly využití také jako doplňky nebo ozdoby podporující vzhled jídel (Beveridge 2003).

Omývání bobulí: Nepostradatelné omývání, zbavující plody ulpívajících nečistot, mikroorganismů a také nepříjemného pižmového zápachu, před následujícími extrakčními kroky s sebou přináší kvůli poškozené slupce riziko vstřebání roztoku do dužiny bobule (Li 2002). Chemické substance tak mohou být v bobuli v pozměněných koncentracích, případně by mohlo dojít i k nálezu látky, která se běžně v plodech nevyskytuje, ale dostala se do bobule právě při omývání. Proto se nejvhodněji volí omytí rychlým ostříkem vodou (Beveridge a kol. 1999).

4.1. Extrakce šťávy

Prvním krokem pro získání rakytníkové šťávy obsahující velké množství účinných látek bývá nejčastěji lisování. Lisů, které jsou pro toto využití vhodné, je mnoho druhů. Nabízí se využití pásového lisu, stojanového, tkaninového nebo i šroubového lisu. Všechna tato zařízení pracují dostatečně efektivně, avšak v případě využití stojanových a tkaninových lisů je množství získané šťávy menší, neboť je lisována větší vrstva bobulí, a tak některé plody nejsou zcela rozdrceny a nedojde k uvolnění šťávy v nich obsažené. Z tohoto důvodu je nejlepší použití pásového lisu, kde je mezi dva pásy umístěna slabší vrstva plodů a ta je pak lisována mezi dvěma otáčejícími se válci (Beveridge 2003).

Charakteristika šťávy: Džus získaný lisováním plodů je heterogenní suspenze oranžové barvy, kterou způsobuje nejspíše vysoký obsah karotenoidů. Pokud čerstvě izolovanou šťávu necháme stát 1 až 2 dny, rozdělí se samovolně na tři fáze. Svrchní plovoucí fáze obsahuje převážně oleje, které tvoří až 2,9% šťávy. Pod ní se nachází kapalná světlo rozptylující fáze a u dna nádoby lze pozorovat sediment

(Beveridge a kol. 1999, Li 2002). Takováto separace je však pro další zpracování i distribuci nevhodná.

Centrifugační metody: Pro separaci lze vhodněji využít diskové odstředivky podobné těm, které se používají pro odstředování syrového mléka, jelikož rakytníková šťáva se chová podobně. Pokud se nachází ve vylišovaném džusu fáze s vysokým obsahem oleje, vertikální disková vysokorychlostní centrifuga ji lehce a rychle oddělí od vodné fáze (Beveridge a kol. 1999). Centrifugací se tak snižuje podíl olejů v džusu až na 0,1%. Zatímco je odebírána krémovitá olejová složka s vysokým obsahem lipidů, která může být použita jako výchozí materiál pro extrakci oleje, hrubý sediment klesá ke dnu, odkud může být také lehce odstraněn. Výsledným produktem je čirá vodná, tuků i sedimentu zbavená složka, která může být po náležité pasterizaci a zabalení distribuována pro spotřebitelský trh. Zbylý pevný sediment je též bohatým zdrojem hodnotných látek. Následným zpracováním může tento „odpad“ poskytovat pigmenty a další biologicky hodnotné látky, například vitaminy, využitelné jako doplňky stravy.

Další vhodnou metodu pro izolaci šťávy z bobulí rakytníku představuje centrifugace dekantační odstředivkou, která našla hojné uplatnění při separaci džusů z jiného ovoce i zeleniny, jako například z drcených jablek (Beveridge a kol. 1992). Velkých třecích sil a vysokých zrychlení vznikajících v centrifugách může být také využito namísto lisování k účinnému rozdrčení plodů. Další technické inovace centrifug vedou k možnosti odebírat ze šťávy nerozpuštěné látky jako sediment a zároveň i olejovou složku, což značně ulehčuje práci. Ve výsledku se tak získává olejová, vodná a sedimentová složka z plodů pouze za využití jediného zařízení (Beveridge a kol. 1999).

Enzymová extrakce a úprava šťávy: Rozdrčené plody nebo vylišované šťávy se dají upravit pomocí četných komerčně dostupných enzymových přípravků. Tyto směsi obsahují několik hydrolytických enzymů včetně pektin-metyl-esterasy, polygalakturonasy a celulasy, které mohou rozštěpit buněčné stěny a střední lamely držící buňky pohromadě. Právě hydrolýzou středních lamel lze usnadnit uvolnění šťávy z buněk a snížit tak její viskozitu. Tímto způsobem se získá džus, který lze

dalšími kroky snadno zbavit nerozpuštěných látek, neboť ty tvoří zřetelné shluky (Beveridge a kol. 1999).

Sterilizace: Pokud chceme šťávu déle uchovávat, je nutné ji vhodným způsobem sterilizovat. Nejvíce preferovaná je takzvaná blesková pasterizace, kdy se džus zahřeje na krátký čas, řádově několik desítek vteřin, na teplotu 80-90°C. Pokud by se zvolil jiný způsob sterilizace, dojde u rakytníkového džusu ke ztrátě či změně organoleptických vlastností. Navíc rakytníková šťáva obsahuje vysoké koncentrace vitamínu C, který špatně odolává zvýšeným teplotám. Díky bleskové pasterizaci se tak může zachovat maximální množství nedegradovaného vitamínu C (Beveridge 2003).

Uchování a konzervace: Pokud je šťáva uchovávána při teplotách mezi 15 a 20°C za přístupu světla, začíná zhruba po šesti měsících hnědnout. Tento proces je pravděpodobně z velké části iniciován pravděpodobně enzymy a světlem. Proces hnědnutí se však může oddálit snížením skladovací teploty na 4°C. Taktéž uchování v neoxidativních podmínkách značně prodlouží dobu, po kterou je možné džus skladovat. Dosud není zcela jasné, zda je za hnědnutí džusu zodpovědná zbytková polyfenoloxidas nebo je hnědnutí neenzymového původu, jako je například Maillardova reakce nebo aktivita vitamínu C. Mimo snížení teploty a zamezení přístupu kyslíku ke šťávě byla také popsána chemická konzervace pomocí 0,5 g/l roztoku sorbátu draselného (Beveridge 2003).

Finalizace: Šťáva získaná z plodů rakytníku řešetlákového obsahuje obyčejně i po centrifugaci částice látek ve vodě nerozpustných, na kterých dochází k rozptylu světla, a tak se jeví jako zakalená. Čirý rakytníkový džus můžeme technologicky získat ultracentrifugací či ultrafiltrací, pomocí které odstraníme všechny zbývající částice. Ultrafiltrací můžeme získat permeát zbavený olejové složky a na filtru zachycený retentát, který lze využít jako vstupní materiál pro izolaci dužinového oleje. Směs zachycená na filtru bývá též bohatá na vitamín E a karotenoidy a bývá k izolaci těchto dvou látek využívána (Li 2002).

4.2. Extrakce oleje

Vysoký obsah oleje je jednou ze zvláštností rakytníkových bobulí. Jak již bylo zmíněno, šťáva získaná z dužiny bobulí obsahuje olejovou složku, která může být oddělena centrifugací nebo ultrafiltrací.

Obsah oleje: Mimo dužiny, která může obsahovat 1 až 14% (w/w) oleje, i semena rakytníku obsahují vysoké procento oleje, průměrně kolem 10% (w/w) (Yang a Kallio 2002b). Sušené bobule průměrně obsahují mezi 2-17% oleje (Šťastová a kol. 1996), u některých kultivarů však až 34%. V kultivaru *Indian Summer* bylo chloroform-methanolovou extrakcí sušených plodů stanoveno 11,0% (w/w) oleje v semenech, 19,7% (w/w) v dužině a 2,0% (w/w) v dužinové šťávě (Yakimishen a kol. 2005).

Izolace rozpouštědly a extrakce superkritickým CO₂: Pro izolaci olejů z rozdrčených bobulí se nejhojněji využívalo protiproudé extrakce organickým rozpouštědlem, nejčastěji hexanem (Johnson a Lusas 1983, Stahl a kol. 1980). Většina používaných organických rozpouštědel bývá toxická a vzhledem tomu, že zůstává i v extrahované složce, stává se i extrahovaný olej částečně toxickým. Hexan býval pro svou nižší toxicitu a snadnou oddělitelnost destilací pro tento účel vhodným rozpouštědlem. Stále však zůstával problém s odpadem, který obsahoval i zbytky škodlivého rozpouštědla. Navíc s sebou manipulace s těkavým a vysoce vznětlivým hexanem přinášela značná rizika, a tak se současné extrakční postupy soustřeďují spíše na méně škodlivou extrakci superkritickou tekutinou (SCFE), jako je oxid uhličitý při vysokém tlaku (kritický bod pro oxid uhličitý je 31,04°C a 7,381 MPa (Mikulčák a kol. 1985)).

Olej extrahovaný pomocí superkritického CO₂ vyhovuje všem nárokům spotřebitele a je využitelný jak v lékařství, tak i potravinářství (Beveridge a kol. 1999). Pro komerční účely se často rakytníkový olej, nejčastěji dužinový, po extrakci smíchává s dalšími triacylglyceroly nebo rostlinnými oleji, jako je sójový nebo olivový. Tento míchaný rakytníkový olej je běžně dostupný v zemích východní Evropy. Pokud zvažujeme zbytkové rozpouštědlo v oleji, je SCFE tou „nejčistší“ extrakcí, a tak i splňuje požadavky „zelené chemie“. Jako alternativa ke klasické extrakci rozpouštědly přitáhla extrakce rakytníkového oleje superkritickým CO₂ v současných letech velkou

pozornost. Oxid uhličitý je nehořlavý, inertní a relativně levný. Extrakce může probíhat za relativně nízkých teplot, takže nedojde ani k tepelné degradaci produktu (Šťastová a kol. 1996). Navíc CO₂ lze ihned po extrakci snadno, ekologicky a kompletně odstranit a recyklovat. Mezi nesporné výhody patří i to, že po superkritické extrakci pomocí CO₂ nezůstávají ve výsledném produktu žádné zbytky toxických rozpouštědel. Zejména kvůli tomu je tento typ extrakce v současné době v procesu zpracování rakytníkových plodů nejrozšířenější.

Provedení SCFE: Při procesu extrakce je nádoba, do které proudí superkritický CO₂, naplněna jemně rozdrceným materiálem tak, aby měl co možná největší povrch pro styk s rozpouštědlem. Ze zásobní láhve je CO₂ čerpán pod požadovaným tlakem do extrakční nádoby a po průchodu materiálem je postupně tlak CO₂ snižován na několika kolektorech. Některé látky jsou lépe rozpustné v CO₂ za vyššího tlaku a méně rozpustné za nižšího, což umožňuje na sérii několika kolektorů s ventily získávat různé komponenty. Prošlý CO₂ je poté recyklován a vrácen zpět do soustavy, kde po opětovném naplnění extrakční nádoby poslouží pro další extrakční cyklus (Šťastová a kol. 1996).

Experimentální data o SCFE: Superkritický CO₂ byl již v minulosti využit k extrakci esenciálních olejů například z vavřínu (Moyler 1993), chmele, zázvoru či muškátového květu (Caredda a kol. 2002), olejů ze semen vinné révy (Cao a Ito 2003a), karotenoidů z mrkve (Sun a Temelli 2006) a řady dalších látek z různých rostlinných zdrojů. Jedny z mála dostupných přímých údajů o extrakci olejů ze semen a dužiny plodů rakytníku jsou zaznamenány v práci Šťastové a kol. (1996). V této práci byl zjišťován vliv podmínek při SCFE-CO₂ na rozpustnost oleje a rychlost přenosu hmoty z materiálu do extrakčního činidla. Podle této práce byla v Rusku popsána extrakce oxidem uhličitým při teplotě 20°C a tlaku 5,7 MPa. Při tomto experimentu byla semena i zbytek bobule vysušeny, poté rozdrceny na jemný prášek v hmotnostním poměru 45:55 (dužina: semena) a využity jako výchozí materiál pro extrakci oleje pomocí protiproudé extrakce CO₂. Zaznamenaný výtěžek byl 4-8% (w/w) v závislosti na původu extrahovaného materiálu. V jiných záznamech lze nalézt výtěžek oleje 16,5% (w/w), z čehož kyselina palmitoolejová tvořila 29%. Takovýto výtěžek byl zaznamenán při extrakci superkritickým CO₂ při 40°C a 35MPa.

Šťastová a kol. měli k dispozici tři různé kultivary vypěstované na území České republiky. Z výsledků jejich práce lze vyvodit, že rozpustnost rakytníkového oleje v CO₂ při 27 MPa byla mezi 25°C a 60°C velmi málo závislá na teplotě a s rostoucí teplotou spíše klesala. Změřená rozpustnost rakytníkového oleje ze semen u všech tří kultivarů kolísala mezi hodnotami 5,8 a 7,4 mg oleje/g CO₂, u oleje z dužiny pak mezi hodnotami 7,2 až 8,6 mg/g CO₂. Vyšší rozpustnost dužinového oleje v superkritickém CO₂ byla pravděpodobně způsobena vyšším zastoupením kratších uhlíkatých molekul než u oleje semenného. S klesajícím tlakem extrahujícího CO₂ poté rozpustnost klesala téměř úměrně, i tak ale byly všechny naměřené hodnoty vyšší než u běžných rostlinných olejů. Se zvyšováním teploty z 25°C na 60°C se zvyšoval stupeň extrakce a také rychlost přenosu hmoty z materiálu do rozpouštědla, nikoliv však celkové extrahované množství. Stejného trendu vzestupu stupně extrakce a rychlosti přenosu hmoty bylo dosaženo i při zvýšení tlaku z 17,4 na 27 MPa. Nejvíce však množství extrahovaného oleje ovlivňovala zrnitost nadrceného materiálu. Čím byla drť jemnější, tím více oleje se podařilo extrahovat (Šťastová a kol. 1996). Bylo zjištěno, že na výtěžek extrakce má vliv mnoho faktorů, a tak Yin a kol. roku 2005 stanovil optimální podmínky pro extrakci semenného oleje (tlak 20–30MPa, extrakční teplota 35–40 °C, průtoková rychlost CO₂ 0,15–0,3 m³/h, extrakční čas 4–5 h). Při těchto parametrech se podařilo dosáhnout i více než 90% výtěžku. V průběhu extrakce byly rozlišeny 3 různé fáze. V první fázi dochází k rychlé extrakci, kdy množství vyextrahovaného materiálu lineárně roste s časem a při níž dojde k izolaci 75-80% oleje, poté následuje velmi krátké přechodné stádium a nakonec fáze pomalé extrakce, ve které se získá už jen malé množství oleje (Yin a kol. 2005). Podobný průběh extrakce pozorovala i Šťastová a kol. (1996).

Porovnání SCFE s jinými metodami: Yakimishen a kol. (2005) porovnávali efektivitu extrakce olejové složky ze semen kultivaru *Indian Summer* pomocí superkritického CO₂ a pomocí šroubového lisu. Ve stejné práci též porovnávali efektivitu extrakce olejů za využití superkritického CO₂ z dužinových vloček a vodného extraktu z rakytníkových bobulí stejného kultivaru. Po stanovení základního množství oleje ve výchozím materiálu pomocí extrakce směsí chloroformu a methanolu byl výtěžek extrakce oleje z dužinových vloček superkritickým CO₂ (45°C, 35 MPa) stanoven na 86,3 % (w/w). Naopak nízkého výtěžku 6% (w/w) bylo

dosaženo extrakční metodou využívající jako výchozí materiál vodný preparát. Ze semen byl výtěžek SCFE-CO₂ 65,1% (45°C, 35 MPa) a extrakce šroubovým lisem 41,2 % (w/w). Extrakce superkritickým CO₂ se tedy ukázala jako nejvýhodnější i z hlediska výtěžku, a to pro extrakci oleje jak ze semen, tak z dužiny bobulí rakytníku (Yakimishen a kol. 2005).

4.3. Extrakce tokoferolů a karotenoidů

Extrakce superkritickou tekutinou (SCFE) byla využita i pro izolaci tokoferolů a karotenoidů. Použitím SCFE-CO₂ (35°C, 400 bar, 60 min) bylo dosaženo vysokých výtěžků. Ze sušených rozdrcených rakytníkových semen bylo z celkového množství získáno 77,2 % tokoferolů a 75,5% karotenoidů. Při rozpuštění materiálu v 2-propanolu se při následné SCFE za optimálních podmínek podařilo dosáhnout výtěžku až 91,1% tokoferolů a 69,9% karotenoidů (Kagliwal a kol. 2011).

Superkritického CO₂ bylo též použito při extrakci oleje, tokoferolů a karotenoidů z celých bobulí. Bylo zjištěno, že největších výtěžků bylo dosaženo při teplotě 34,5°C, tlaku 27,6 MPa a průtokové rychlosti 17,0 l/hod. Po extrakci trvajícím 82 minut byly výnosy stanoveny na 208 g oleje, 289 mg tokoferolů a 620 mg karotenoidů na 1 kg přirozeně vysušených rakytníkových bobulí (Xu a kol. 2008). Jako výchozí materiál se pro izolaci zmíněných látek může využít i olejová fáze získaná při centrifugaci dužinové šťávy.

4.4. Extrakce flavonoidů

Vzhledem k polární povaze flavonoidů býval před využitím extrakce superkritickou tekutinou používán roztok vody a metanolu (1:1), přičemž často předcházela mezikrok zahrnující přečištění chloroformem, sloužící k odstranění složek rozpustných v tucích. K purifikaci je pak nejvhodnější využití chromatografických metod. Pro komerční izolaci flavonoidů se mimo SCFE-CO₂ osvědčila tříkroková metoda zahrnující extrakci alkoholem, dále vysrážení vodou a následné opětovné rozpuštění v alkoholech. Dle rešeršní práce Zhao a Wu (1997) je tato metoda jednou z nejúčinnějších a nejlevnějších (Zhao a Wu 1997).

4.5. Extrakce pigmentu

Nevyužitý odpadní materiál, který získáme jako sediment při centrifugaci, se stejně jako zbytek po lisování bobulí může využít pro izolaci žlutého pigmentu rakytníku řešetlákového, rakytníkové žlutě. Po úpravě koncentrace výchozího materiálu se tento pigment může extrahovat alkoholy o nízkých koncentracích. Z vyizolované směsi, která je poté vysušena rozprášením, se získá žlutý prášek obsahující rakytníkovou žlut'. Druhou osvědčenou metodou extrakce barviva z odpadních materiálů je extrakce superkritickou tekutinou. Při této metodě má velký vliv tlak, jelikož s rostoucím tlakem se zvyšuje i výnos extrakce. Výtěžek až 64% z celkového množství karotenoidů se podařilo získat při tlaku 60 MPa teplotě 80°C (Li 2002, Beveridge 2003).

5. CHEMICKÉ SLOŽENÍ PLODŮ

Z celkové hmotnosti bobule tvoří 60 až 85% šťávy, které lze získat lisováním. Centrifugační metody poskytují výtěžek menší, a to zhruba 67% (Li 2002, Beveridge a kol. 1999). Jak již bylo zmíněno, semena i dužina obsahují olejovou složku. Ta u semen tvoří až 20,2 % (w/w), běžně však mezi 10 a 15% (Beveridge 2003), a u vylisovaného džusu až 2,9% (w/w) (Beveridge a kol. 1999). Extrahované šťávy i oleje jsou bohaté na řadu chemických látek, které mají významné účinky na organismus.

5.1. Alkaloidy

Jak uvádí některé zdroje (Li a Schroeder 1996, Pukhal'skaya a kol. 1961), ruským vědcům se podařilo z kůry rakytníku získat extrakt potlačující tumorový růst některých zvířecích tkání. Po roce se jim podařilo izolovat alkaloid, který byl jako hydrochlorid vykrystalizován. Následně byla tato chemická složka popsána jako serotonin (5-hydroxytryptamin) a jelikož byla izolována z rakytníku (*Hippophae rhamnoides* L.), byla poté nazvána jako hippophain či hippophan. Objev je významný tím, že se tento indolový alkaloid podařilo z rostliny izolovat poprvé. Serotonin má významné farmakologické vlastnosti, neboť omezuje tumorový růst tkání v pokusných myších a potkanech a je též účinný jako antidepressivum.

5.2. Cukry

Z jednoduchých sacharidů se Kalliovi a kol. (2009) podařilo v plodech prokázat pouze přítomnost fruktosy a glukosy. Množství těchto látek se pohybuje v rozmezí 1,9 až 7,1 g/100 ml šťávy (Tiitinen a kol. 2005). U poddruhu *sinensis* tvoří glukosa průměrně 54,2 % a fruktosa 45,4 % všech jednoduchých sacharidů. Dle rešeršní práce Zeba (2004a) je spolu s glukosou a fruktosou přítomna i xylosa (0,42 %) a cukerné alkoholy manitol, sorbitol a xylitol. V bobulích evropského poddruhu *rhamnoides* byla navíc zjištěna i přítomnost ethyl-D-glukopyranosidu, který byl nalezen ve stopovém množství i v čínském rakytníku poddruhu *sinensis* (Kallio a kol. 2009). Pomocí refraktometrických metod byl určen obsah sacharosy na 13,5 % (w/w). Naměřené hodnoty ovšem kolísaly v rozmezí 10,8 až 15,6 % podle období sklizně plodů. Množství rozpustných cukrů bylo v rakytníkové šťávě stanoveno na 9,3 až 17,3 °Bx (Beveridge 2003).

5.3. Kyseliny

Hodnota pH 2,63 až 2,98 šťávy z rakytníkových plodů (Ercislia a kol. 2007), u kultivaru *Indian Summer* průměrně 3,13 (Beveridge a kol. 2002b), poukazuje na vyšší obsah organických kyselin. Celkové zastoupení kyselin se však v bobulích značně liší dle oblasti původu. V ruských rakytnících lze stanovit kyseliny v množství 2,4 až 3,2 g ve 100 ml šťávy, větší množství ve finských rostlinách a nejvíce pak v čínských (3,5 – 9,1 g/100 ml). Analýzou sedmi kultivarů byl stanoven obsah kyseliny jablečné a chinové na 3,1 až 5,1 g ve 100 ml šťávy (Tiitinen a kol. 2005). V německých kultivarech *Askola*, *Hergo* a *Leikora* je nejvíce zastoupená kyselina jablečná (*kyselina hydroxybutandiová*) v koncentraci až 46,6 mg/g, chinová (*1,3,4,5-tetrahydroxy-cyklohexanekarboxylová*) až 28,2 mg/g a kyselina citronová (*kyselina 2-hydroxypropan-1,2,3-trikarboxylová*) v množství 1,6 mg/g bobulí (Raffo a kol. 2004). V džusu z kultivaru *Indian Summer* zaznamenal Beveridge a kol. (2002b) významné hladiny kyseliny chinové mezi 22 a 27 mg/ml, která tak převyšovala dvojnásobně množství kyseliny jablečné.

5.4. Kyselina askorbová (vitamin C) a další vitaminy

Velký význam mají plody rakytníku zejména kvůli velmi vysokému obsahu kyseliny askorbové, vitaminu C. Koncentrace této kyseliny se v plodech rakytníku pohybuje mezi 28 a 310 mg/100 g v evropském poddruhu *rhamnoides*, 40 až 300 mg/100 g v ruských kultivarech poddruhu *mongolica*, 460 až 1330 mg ve 100 g bobulí poddruhu *fluviatilis* a 200 až 2500 mg ve stejném množství bobulí čínského poddruhu *sinensis* (Zeb 2004a). Množství 1540 mg ve 100 g rakytníkové šťávy zaznamenal Eccleston a kol. roku 2002. Jiné zdroje uvádějí obsah vitaminu C v rozmezí 28 až 2500 mg/100g džusu. V 1l šťávy z bobulí čínského planě rostoucího poddruhu *sinensis* bylo stanoveno 25 g kyseliny askorbové (Kallio a kol. 2009). Pro porovnání, u dvou běžně dostupných 100% pomerančových džusů a u čerstvého džusu z pomerančů stanovil Kabasakalis a kol. (2000) obsahy vitaminu C v rozmezí 38-53 mg/ 100 g. Pokud poukážeme na naměřenou průměrnou hodnotu u rakytníkové šťávy, 1038 mg/100 g (Beveridge 2003), je to zhruba dvacetinásobné množství. V roce 2002 byl v rakytníkové šťávě stanovován obsah antioxidantů, mezi které patří právě i kyselina askorbová. Ta svoji koncentrací 1540 mg/l výrazně dominovala a předčila i celkový obsah flavonoidů (Eccleston a kol. 2002). Bylo

zjištěno, že v bobulích v průběhu maturace plodu dochází k postupnému snižování hladiny kyseliny askorbové, v průběhu 19 dnů o 25%, a to z původní koncentrace 1,48 g/kg plodů na 1,10 g/kg (Jeppsson a Gao 2000).

Rakytník řešetlákový nedisponuje askorbát oxidasou, a tak není vitamin C v průběhu procesu zpracování tímto enzymem degradován a většina jej zůstává zachována. I tak má průběh zpracování, zejména teplota, na obsah vitaminu C velký vliv (Seglina a kol. 2006).

Další vitaminy: V bobulích, listech a kůře rakytníku bylo nalezeno mnoho dalších vitamínových složek. Jak bylo uvedeno výše, nejvyšší hladina byla naměřena pro kyselinu askorbovou. Dále se v rakytníku nachází velké množství bioflavonoidů (vitamin P), které budou níže popsány podrobněji. Jako další ze skupiny ve vodě rozpustných vitaminů byl v bobulích nalezen thiamin (vitamin B₁), riboflavin (vitamin B₂) a kyselina listová (vitamin B₉) (Mamleyeva a kol. 2008). Kyseliny listové, respektive folátu, bylo ve 100 g čerstvých bobulí nalezeno 39 µg (Strålsjö a kol. 2003). Dalším významným vitaminem identifikovaným zejména v rakytníkových olejích je fylochinon (vitamin K₁). Obsah tohoto v tucích rozpustného vitaminu se pohybuje v rozmezí 0,65 až 1,3 mg na 100 g čerstvých bobulí v závislosti na kultivaru (Shapiro a kol. 1986), avšak jeho obsah může být významně snížen (až o 54%) technologií zpracování a izolace džusu (Gutzeit a kol. 2007b). Některé zdroje (Dharmananda) uvádějí, že semenný olej je na vitamin K bohatší (120-230 mg/100g oleje) než olej dužinový, který obsahuje 54 až 59 mg vitaminu K ve 100 g.

5.5. Proteiny a aminokyseliny

Zakalenost a opalescentní vlastnosti rakytníkové šťávy jsou přičítány obsaženým proteinům, jejichž zastoupení je v rakytníkové šťávě v porovnání s ostatními ovocnými šťávami vysoké, asi 1%. Proteiny se v ovocných šťávách nejčastěji vyskytují jako součásti celulárních zbytků a membránových útvarů (Beveridge 2003).

V plodech rakytníku sklizených na území Číny byly také nalezeny volné aminokyseliny, jak je uvedeno v tabulce 1. Vysoké zastoupení má zejména kyselina asparagová, prolin a threonin (Beveridge a kol. 1999). Jiná stanovení však takto vysoké hladiny volných aminokyselin v džusu poddruhu *sinensis* nepřinesly (Zeb

2004a). Mezi nejvíce zastoupené patřil dle řešerše Zeba (2004a) prolin (12,28 mg/100g), threonin (6,24 mg/100g) a serin (5,31 mg/100g). V množství 2,5 – 4 mg/100g byla nalezena kyselá asparagová a glutamová, alanin, valin, fenylalanin a lysin. Ostatní proteinogenní aminokyseliny byly v množství nižším či výrazně nepřevyšujícím 1 mg.

Tab. 1: Obsah proteinogenních aminokyselin ve šťávě z bobulí rakytníku řešetlákového (Beveridge a kol. 1999)

Zastoupení aminokyselin ve šťávě z čínského Rakytníku řešetlákového			
<i>Aminokyselina</i>	<i>množství /mg/100g</i>	<i>Aminokyselina</i>	<i>množství /mg/100g</i>
<i>Kys. asparagová</i>	426,6	<i>Glutamin</i>	19,4
<i>Prolin</i>	45,2	<i>Isoleucin</i>	17,4
<i>Threonin</i>	36,8	<i>Glycin</i>	16,7
<i>Serin</i>	28,1	<i>Histidin</i>	13,7
<i>Lysin</i>	27,2	<i>Tyrosin</i>	13,4
<i>Valin</i>	21,8	<i>Arginin</i>	11,3
<i>Alanin</i>	21,2	<i>Cystein</i>	3,3
<i>Fenylalanin</i>	20	<i>Methionin</i>	2,3

5.6. Inositoly

Plody rakytníku řešetlákového, konkrétně poddruhu *sinensis*, obsahují ve vodě rozpustnou složku, která byla až do roku 2009 neznámého složení. Předpokládalo se, že se jedná o deriváty cyklických polyalkoholů, což se následující analýzou prokázalo jako pravdivé. Hmotnostní spektrometrií byla ve vodné složce rakytníkových bobulí jednoznačně identifikována struktura cyklického polyolu L-quebrachitolu (2-*O*-methyl-*chiro*-inositolu). Ve stopových množstvích byl též nalezen *chiro*-inositol a *myo*-inositol. Inositoly a jejich deriváty se v rostlinách akumulují při abiotických stresových podmínkách jako je mráz či sucho. Z tohoto důvodu se předpokládá, že mají nejspíše roli regulátorů osmózy a látek chránících rostlinu před mrazy (Kallio a kol. 2009).

5.7. Flavonoidy („vitamin P“)

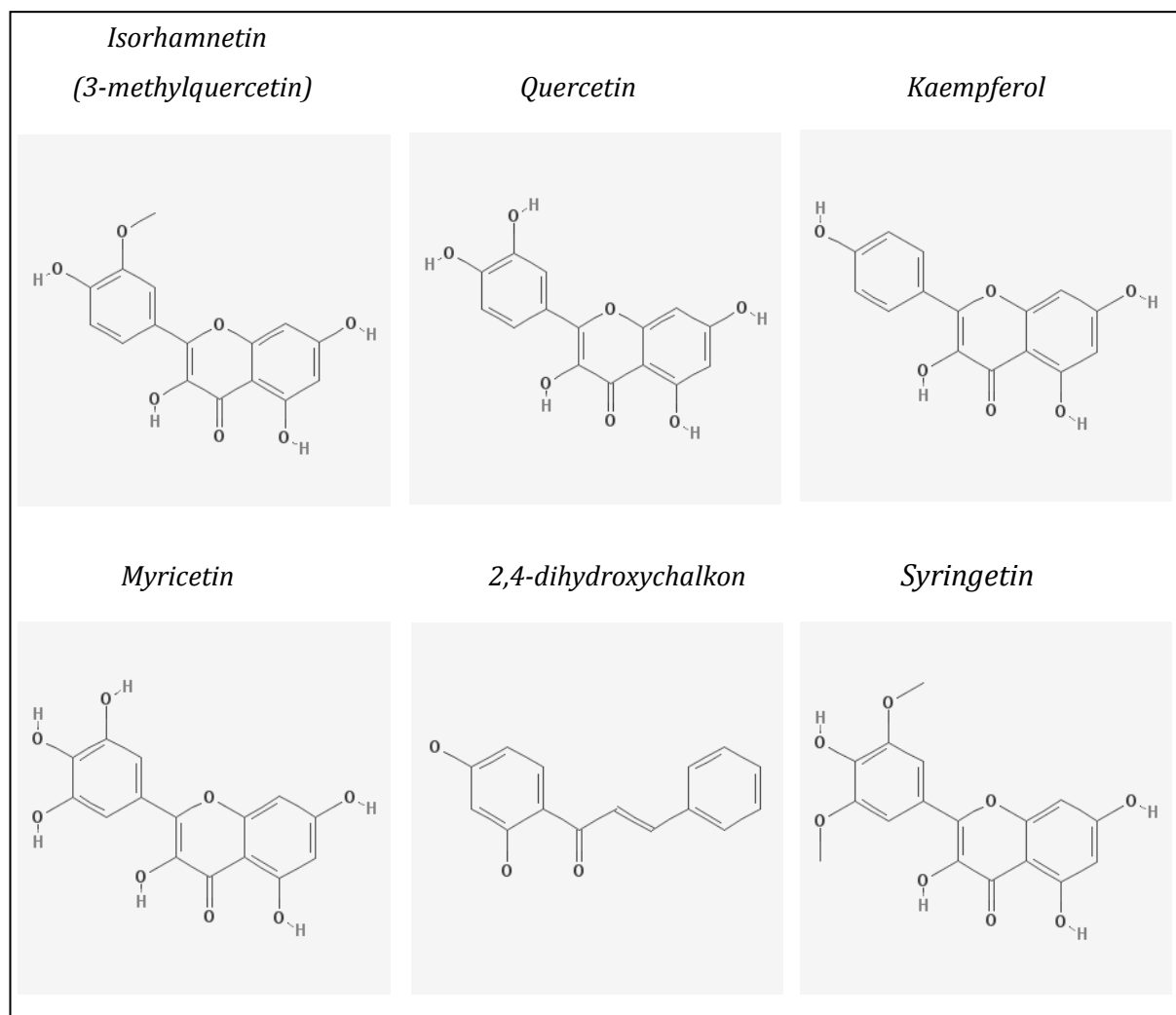
Flavonoidy jsou fenolické sloučeniny řazené mezi sekundární rostlinné metabolity. Byly nalezeny prakticky ve všech částech rakytníku, celkový obsah flavonoidů v sušených listech rakytníku kolísá mezi 310 a 2100 mg/100g (Li a

Schroeder 1996) a v čerstvých plodech 350 a 1100 mg/100g (Chen a kol. 1991). Nejvyšší naměřené koncentrace flavonoidů byly v sušených listech, a to 3888 mg/100g. Průměrná hodnota přitom je 867 mg/100g. U čerstvých bobulí byla naměřena průměrná hodnota 354 mg/100g, maximální naměřená hodnota pak byla 854 mg/100g. Některé studie též prokázaly, že s vyšší nadmořskou výškou výskytu rostliny roste i obsah flavonoidů (Zhao a Wu 1997). Tabulka 2 zobrazuje přehled flavonoidů doposud nalezených a identifikovaných v bobulích rakytníku řešetlákového.

Tab. 2: Shrnutí nalezených flavonoidů v plodech rakytníku řešetlákového.

Flavonoidy obsažené v různých druzích a poddruzích rakytníku řešetlákového	
▪ Isorhamnetin (Michel a kol. 2011, Sharma a kol. 2008, Chen a kol. 2007)	▪ Kaempferol (Zhao a Wu 1997, Sharma a kol. 2008, Chen a kol. 2007)
▪ Isorhamnetin-3- <i>O</i> -galaktosid (Zhao a Wu 1997)	▪ Kaempferol-3- <i>O</i> -soforosid-7- <i>O</i> -rhamnosid (Chen a kol. 2007)
▪ Isorhamnetin-3- <i>O</i> -galaktorhamnosid (Zhao a Wu 1997)	▪ Kaempferol-7- <i>O</i> -rhamnosid (Chen a kol. 2007)
▪ Isorhamnetin-3- <i>O</i> -gluko-(1-->6)glukosid (Zhao 1997)	▪ Myricetin (Zhao a Wu 1997, Sharma a kol. 2008)
▪ Isorhamnetin-3- <i>O</i> -gluko-7- <i>O</i> -rhamnosid (Chen a kol. 2007, Zhao a Wu 1997)	▪ Quercetin (Sharma a kol. 2008, Michel a kol. 2011, Chen a kol. 2007)
▪ Isorhamnetin-3- <i>O</i> -glukoglukosid (Zhao a Wu 1997)	▪ Quercetin 3- <i>O</i> -rutinosid, Rutin (Michel a kol. 2011, Sharma a kol. 2008, Chen a kol. 2007)
▪ Isorhamnetin-3- <i>O</i> -glukorhamnosid (Zhao a Wu 1997)	▪ Quercetin-3-methyl ether (Zhao a Wu 1997)
▪ Isorhamnetin-3- <i>O</i> -glukosid (Michel a kol. 2011, Chen a kol. 2007, Gutzeit a kol. 2007a)	▪ Quercetin-3- <i>O</i> -galaktosid (Sharma a kol. 2008)
▪ Isorhamnetin-3- <i>O</i> -rutinosid (Michel a kol. 2011, Chen a kol. 2007, Gutzeit a kol. 2007a)	▪ Quercetin-3- <i>O</i> -glukosid (Chen a kol. 2007, Zhao a Wu 1997, Michel a kol. 2011, Gutzeit a kol. 2007a)
▪ Isorhamnetin-3- <i>O</i> -soforosid-7- <i>O</i> -rhamnosid (Chen a kol. 2007)	▪ Quercetin-3- <i>O</i> -soforosid-7-rhamnosid (Chen a kol. 2007)
▪ Isorhamnetin-5- <i>O</i> -glukoarabinosid (Zhao a Wu 1997)	▪ Quercetin-7- <i>O</i> -rhamnosid (Zhao a Wu 1997)
▪ Isorhamnetin-7- <i>O</i> -rhamnosid (Zhao a Wu 1997)	▪ Syringetin 3- <i>O</i> -D-glukosid (Gutzeit a kol. 2007a)
▪ Isorhamnetin-rhamnosid (Michel a kol. 2011)	▪ 2,4-dihydroxy-chalkon-2- <i>O</i> -glukosid (Zhao a Wu 1997)

Na obrázku 4 jsou pak vyobrazeny vybrané vzorce některých flavonoidů.



Obr. 4: Chemické vzorce vybraných flavonoidů (převzato z PubChem Substance).

Pomocí spektrometrických metod bylo v rakytníku řešetlákovém identifikováno velké množství flavonoidů. Mezi ně patří zejména isorhamnetin, quercetin, myricetin a kaempferol a mnoho jejich glykosylovaných derivátů. Nejhojněji zastoupené jsou quercetin (87,3%) (Häkkinena a kol. 1999), isorhamnetin, který je metylovým derivátem quercetinu, a kaempferol. Glykosylované deriváty se v rakytníku tvoří nejčastěji 3-*O*-glykosidickou vazbou s glukosou, rhamnosou, arabinosou a galaktosou (Zhao a Wu 1997).

V bobulích kultivarů *Askola*, *Hergo* a *Leikora* byly zaznamenány koncentrace isorhamnetinu (350–660 mg/kg), quercetinu (30–100 mg/kg) a kaempferolu (2–5 mg/kg) (Raffo a kol. 2004). Quercetin byl v sušených bobulích stanoven v koncentraci

116 mg/100g a představoval tak v jiných sedmi porovnávaných kultivarech průměrně nejvíce zastoupený flavonoid (Gorbatsova a kol. 2007). V průběhu maturace plodů se hladiny jednotlivých flavonoidů mění. U třech studovaných kultivarů byl zaznamenán úbytek quercitinu z původní koncentrace 28 mg/kg bobulí na 12 mg/kg, zatímco obsah kaempferolu se za stejné období zvýšil z 12 mg/kg na 16 mg/kg (Jeppsson a Gao 2000).

Flavonoly mohou v rakytníku tvořit až 87% všech fenolických sloučenin. Použitím vysokorychlostní protiproudé kapalinové chromatografie (HSCCC) se z rakytníkové šťávy podařilo izolovat některé flavonoidy. Ze 4,1 g surového ethylacetátového extraktu byl získán s výtěžkem 95 mg isorhamnetin-3-*O*- β -D-glukosid, 10 mg isorhamnetin-3-*O*- β -rutinosid, 5 mg quercetin-3-*O*- β -D-glukosid. Ve výtěžku 2 mg byl nově získán flavonoid syringetin-3-*O*- β -D-glukosid (Gutzeit a kol. 2007a). Při stanovování antioxidačních látek v rakytníkové šťávě z bobulí byly flavonoidy stanoveny v množství 1182 mg/l. Z toho 355 mg tvořil isorhamnetin-rutinosid, 142 mg isorhamnetin-glukosid a po 35 mg quercetin-glykosid a -rutinosid (Eccleston a kol. 2002).

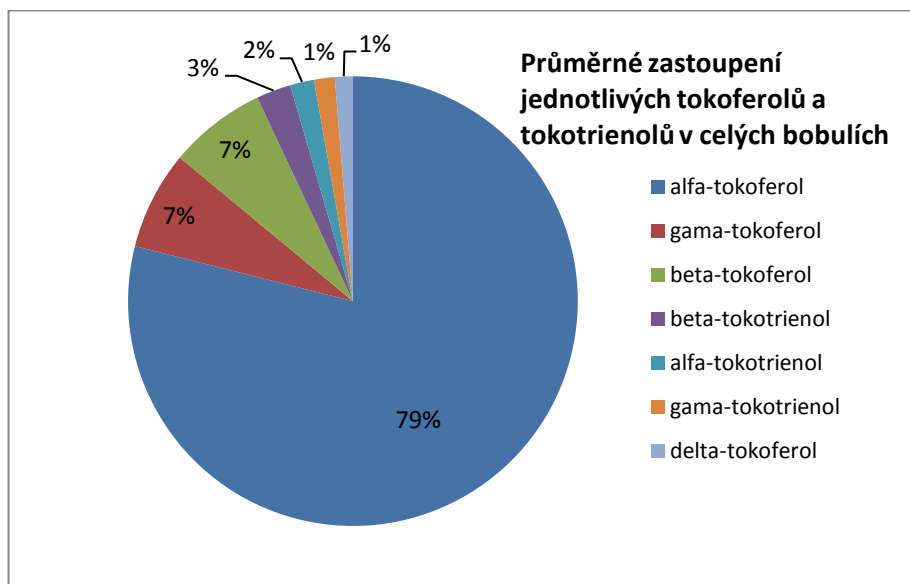
5.8. Tokoferoly (vitamin E) a tokotrienoly

V rakytníku, zejména v olejích, bylo též zaznamenáno významné množství tokoferolů (přírodních derivátů 6-hydroxy chromanu, pro názornost je na obrázku 7 uvedena chemická struktura α -tokoferolu), vitamínu E. Množství tokoferolů je jedním ze zásadních kritérií při stanovování kvalit olejů z rakytníkových semen, dužiny i celých plodů (Kallio a kol. 2002). V jednom kilogramu bobulí je zhruba 7 g tokoferolů (Yang a Kallio 2002a), přičemž se obsah může lišit dle výchozího materiálu oleje. V oleji ze semen bylo stanoveno 64,4 až 92,7 mg/100 g semen, v oleji z rakytníkové šťávy 216 mg/100 g bobulí a v oleji z dužiny plodu po odstranění šťávy a semena 481 mg/100 g plodů (Li 2002). U rakytníkových bobulí bylo v jiné práci naměřeno zastoupení tokoferolů a tokotrienolů v rozmezí 56 až 140 mg/kg. U semen obsah těchto látek kolísal mezi hodnotami 84 a 314 mg/kg, v samotném semenném oleji pak byla naměřena koncentrace 872-2910 mg/kg. Porovnáním poddruhů *sinensis* a *mongolica* bylo zjištěno, že *mongolica* má v semenech více než dvojnásobně vyšší zastoupení tokoferolů a tokotrienolů (průměrně 287 oproti 122 mg/kg) (Kallio a kol. 2002). Semenný olej obsahuje dle výzkumu Cenkovského a kol. (2006) průměrně

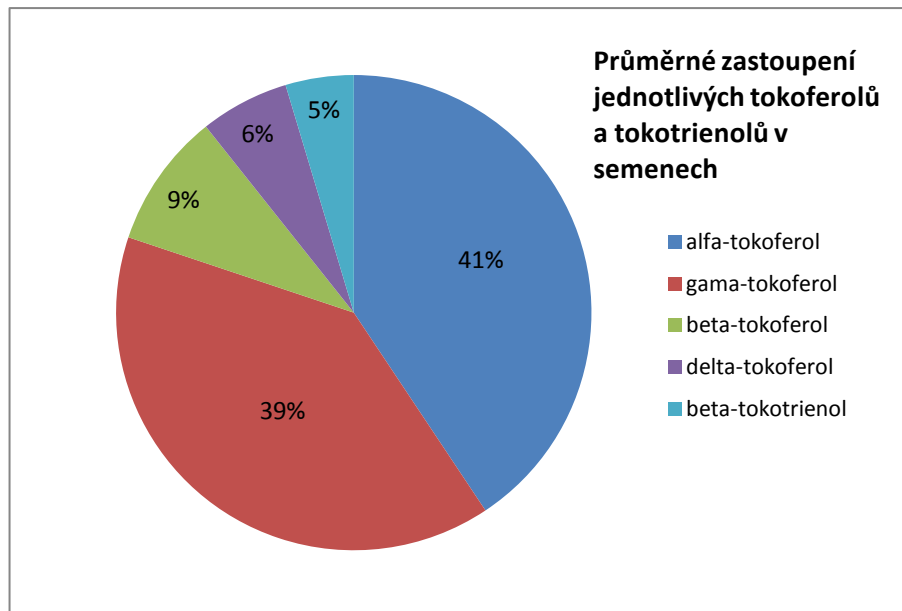
273 mg, olej získaný z vylisované šťávy pak 261 mg tokoferolů a tokotrienolů ve 100 gramech oleje. I průměrné hodnoty 64,4 mg fytosterolů ve 100g oleje, uváděné v jiných zdrojích (Beveridge 2003), dělají spolu s karotenoidy a esenciálními mastnými kyselinami z rakytníkového oleje nutričně velmi významný doplněk.

Několikaletá analýza plodů čtyř různých kultivarů rakytníku řeštlákového prokazuje, že množství i zastoupení jednotlivých tokoferolů a tokotrienolů je velice variabilní. Nejvýrazněji se hladiny těchto látek mění dle kultivaru, fáze zrání plodu i roku, kdy byl plod vypěstován. Méně významně se na změně koncentrace těchto látek podílí i denní teplota. U všech analyzovaných kultivarů v počáteční fázi převažuje α -tokoferol, zatímco v konečné fázi maturace plodu dochází k výraznému zvýšení koncentrace δ -tokoferolu (Andersson a kol. 2008).

Pomocí HPLC analýzy bylo zjištěno že α , β , γ a δ tokoferoly tvoří 95-98% všech tokoferolů, které lze v semenech nalézt. Samotný α -tokoferol však může zaujímat až 90%. Jak ukazuje tabulka 3 a obrázek 6, v semenech je společně s izomerem γ – právě α -tokoferol hlavním tokoferolem, přičemž každý z obou jmenovaných tvořil při jejich stanovení průměrně 30-50% (Yang a Kallio 2002b). Rozdílné zastoupení jednotlivých tokoferolů v semenech a celých plodech ukazují obrázky 5 a 6.



Obr. 5: Průměrné zastoupení jednotlivých tokoferolů a tokotrienolů v plodech rakytníku řeštlákového poddruhů *sinensis* a *mongolica*. Vytvořeno dle Kallio a kol. 2002.



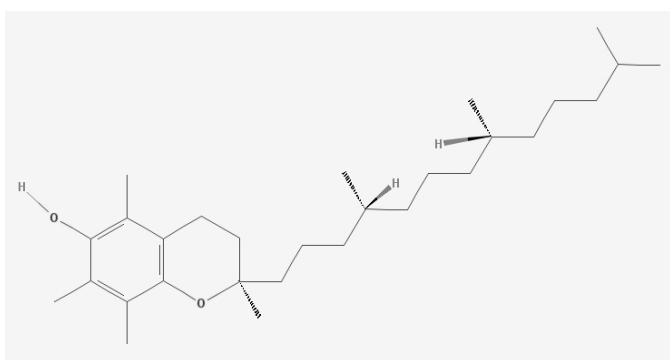
Obr. 6: Průměrné zastoupení jednotlivých tokoferolů a tokotrienolů v semenech rakytníku řešetlákového poddruhů *sinensis* a *mongolica*. Vytvořeno dle Kallio a kol. 2002.

V celých bobulích poddruhu *sinensis* byly naměřeny vyšší celkové koncentrace tokoferolů a tokotrienolů včetně zastoupení β -tokoferolu, než byly naměřeny u poddruhu *mongolica* (celkově 2310 oproti 1300 mg/kg a β -tokoferol 1294 oproti 444 mg/kg) (Kallio a kol. 2002). V dužinovém oleji stejně jako v oleji z celých plodů se jako dominantní ukázal být α -tokoferol představující 85%. β -tokoferol a γ -tokoferol pak představují další významné tokoferoly v dužinovém oleji (Cenkowski a kol. 2006), jak ukazuje i tabulka 3.

Tab. 3: Zjištěná variace zastoupení jednotlivých tokoferolů a tokotrienolů v plodech a semenech rakytníku řešetlákového (Kallio a kol. 2002).

Zastoupení jednotlivých tokoferolů a tokotrienolů v celých bobulích a semenech rakytníku řešetlákového poddruhu <i>sinensis</i> a <i>mongolica</i>		
	<i>celé bobule</i>	<i>semena</i>
α -tokoferol/ %	75,7 - 89,2	17,2 - 66,1
γ -tokoferol/ %	4,0 - 10,8	25,3 - 55,8
β -tokoferol/ %	2,4 - 12,2	5,0 - 13,8
β -tokotrienol/ %	0,4 - 4,8	1,9 - 7,6
δ -tokoferol/ %	0,3 - 2,4	1,7 - 10,7
α -tokotrienol/ %	0,4 - 3,2	-
γ -tokotrienol/ %	0,6 - 2,5	-

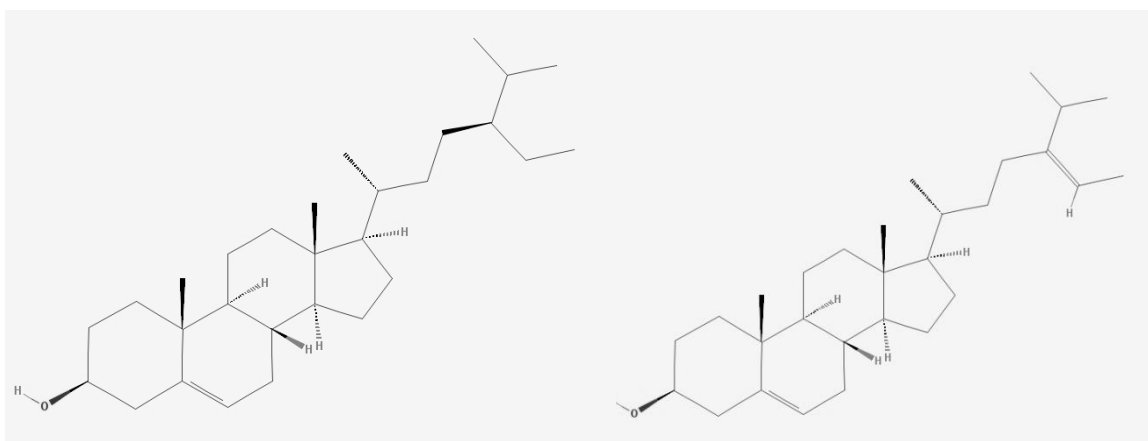
U oleje z kultivaru *Indian Summer* bylo zastoupení jednotlivých tokoferolů následovné: až 49% α -tokoferol, 42% γ -tokoferol 5% β -tokoferol a zbylá asi 3% δ -tokoferol (Beveridge 2003). Z extrakčních metod má největší výtěžky extrakce petroletherem následována SCFE-CO₂ a extrakcí chloroform-methanолоvou směsí (Cenkowski a kol. 2006). Ve šťávě z plodů rakytníku byly nalezeny tokoferoly společně s tokotrienoly v koncentraci 13,3 mg/l. Největší podíl měl α -tokoferol (10,5 mg), následovaný γ -tokoferolem (1,5 mg). V minimálních koncentracích (0,3-0,5 mg/l) pak byly ve šťávě obsaženy β -tokoferol a α -, β -, γ -trienol (Eccleston a kol. 2002). Tabulka 3 ukazuje zastoupení jednotlivých tokoferolů a tokotrienolů, získané při chromatografické analýze rakytníkových olejů z bobulí poddruhu *sinensis* a *mongolica*. Veškerá naměřená data korespondují s výše uvedenými trendy.



Obr. 7: Chemický vzorec α -tokoferolu (převrato z PubChem Substance).

5.9. Fytosteroly

Fytosteroly jsou steroly a stanoly rostlinného původu strukturou připomínající cholesterol (Li 2002), jak dokazují i uvedené vzorce fytosterolů nejvíce obsažených v rakytníkových olejích (β -sitosterol obr. 8 a Δ^5 -avenasterol obr. 9).



Obr. 8: β -sitosterol

(převzato z PubChem Substance)

Obr. 9: Δ^5 -avenasterol

(převzato z PubChem Substance)

V rakytníku jsou fytosteroly zastoupeny množstvím až 20 g na kilogram sušených bobulí (Yang a Kallio 2002a). V semenech čerstvých plodů tvoří steroly 0,1-0,2 % hmotnosti a téměř desetkrát méně jsou zastoupeny v měkkých částech bobule (Yang a Kallio 2002b). V semenech bylo stanoveno 1200-1800 mg fytosterolů na 1 kg semen, v čerstvé dužině a slupce 240 až 400 mg/kg a v celých bobulích pak 340 až 520 mg/kg plodů (Li 2002). Pokud jsou porovnány poddruhy *sinensis* a *ramnoides*, není patrná žádná podstatná variace v zastoupení sterolů. Jejich obsah se liší jen dle způsobu izolace oleje (Cenkowski a kol. 2006) a podle toho, zda olej pochází ze semen nebo dužiny (Yang a Kallio 2002b), což je přehledně uvedeno v tabulce 4.

Tab. 4: Vliv extrakční metody na obsah tokoferolů v rakytníkových olejích (Cenkowski a kol. 2006).

	Zastoupení sterolů v rakytníkovém oleji v závislosti na extrakční metodě			
	semenný olej		dužinový olej	
	chloroform-methanol	SCFE-CO ₂ (6 hod)	chloroform-methanol	SCFE-CO ₂ (6 hod)
Campersterol /(mg/100g)	17,2	22,5	9,7	10,9
Stigmasterol /(mg/100g)	-	-	-	10,8
β - Sitosterol /(mg/100g)	598,9	748,1	522,06	525,7

Fytosteroly tvoří velkou část nezmýdelnitelné frakce (Li 2002), která u rakytníkového oleje tvoří necelá 2%. I tak jejich obsah mnohonásobně předčí (čtyřikrát až dvacetkrát) množství fytosterolů například v sójovém oleji. Největší výtěžek poskytuje SCFE-CO₂, a to 1640 mg fytosterolů na 100 g semenného oleje. Z 1 kg semen poddruhu *sinensis* bylo však extrakcí rozpouštědly získáno 1441 ± 52 mg fytosterolů. Vzhledem k tomu, že při tomto stanovení nebyl určen hmotnostní podíl oleje v semenech, lze dle průměrného obsahu oleje v semenech (14,2%) (Beveridge a kol. 1999) odhadnout množství 1015 mg fytosterolů na 100 g oleje (Li a kol. 2007). Z výše uvedených údajů lze soudit, že použitá extrakční metoda má na výtěžek sterolů významný vliv.

Tab. 5: Jednotlivé fytoosteroly v čínském rakytníku řešetlákovém (Beveridge 2003).

Fytoosteroly v čínském rakytníku řešetlákovém poddruhu <i>sinensis</i>		
	Dužinový olej (Šroubový lis)	Semenný olej (SCFE-CO ₂)
Celkově steroly / (mg/100g)	770,6	1217,1
Sitosterol /%	84,9	74,8
5-Avenasterol /%	5,1	19,7
Campersterol /%	3,2	1,9
7-Avenasterol /%	2,5	1,1
7-Sitosterol /%	2,7	0,7
Cholesterol /%	0,3	0,1
Stigmasterol /%	1,3	-

Nejhojněji zastoupeným fytosterolem, jak ukazují tabulky 4, 5 a 6 je sitosterol (β -sitosterol). V některých pracích je uváděno zastoupení sitosterolu až 97%. Celkové množství fytoosterolů naměřené v rakytníkovém semenném oleji je vzhledem k jiným semenným olejům prozatím nejvyšší zjištěné (Li a kol. 2007).

Tab. 6: Fytoosteroly identifikované v semenném oleji z rakytníku řešetlákového plynovou chromatografií (Li a kol. 2007)

Fytoosteroly identifikované v oleji ze semen rakytníku řešetlákového plynovou chromatografií				
	lisování za studena (mg/100g)	%	SCFE-CO ₂ (mg/100g)	%
Celkově	879,4	100	1640,4	100
Sitosterol (+ st. Lanosterol)	462,3	52,6	787,4	48,0
Δ^5-Avenasterol (+ st. Obtusifoliol)	97,3	11,1	218,5	13,3
β-Amyrin + sitostanol	69,5	7,9	122,5	7,5
24-Methylenecycloartanol	37,7	4,3	105,8	6,4
Cycloartenol + cycloeucalenol (+ st. Δ^7-Sitosterol)	41,1	4,7	102,3	6,2
Stigmastadienol + α-amyrin + $\Delta^{5,24(25)}$-stigmastadienol	56,7	6,4	81,4	5,0
Erythrodiol + citrostadienol	29,9	3,4	67,5	4,1
$\Delta^{24,28}$-stigmasta-en-ol	7,2	0,8	19,6	1,2
Δ^7-Avenasterol	9,2	1,0	17,7	1,1
28-Methylobtusifoliol	12	1,4	16,6	1,0
Oleanol aldehyd	5,7	0,6	14,9	0,9
Clerosterol	8,4	1,0	14,3	0,9
Uvaol	7,3	0,8	13,6	0,8
Gramisterol + lupeol	6,8	0,8	11,5	0,7

st. – stopové množství

Sitosterol v oleji ze semen tvoří 60-70% a v dužinovém oleji až 80%. Jako druhý nejvýznamnější je uváděn Δ^5 -avenasterol (isofukosterol). Isofukosterol tvoří až 20% v semenech a 5% všech fytosterolů v dužině. Podíl dále jmenovaných fytosterolů se pohybuje mezi 1-5% v obou olejích - campesterol, stigmastanol (β -sitostanol), citrostadienol (24-ethylidenelofenol), cycloartenol, obtusifoliol, 24-methylen-cycloartanol (Yang a kol. 2001b). Tabulka 6 navíc uvádí fytosteroly, které byly po různých typech extrakce identifikovány pomocí plynové chromatografie. Některé řádky tabulky uvádějí více sterolů, neboť ty měly stejný retenční čas, a tak nebylo jejich množství určeno samostatně. Označeny jsou i steroly které byly zaznamenány ve stopovém množství (st.) (Li a kol. 2007).

5.10. Pigment

Rakytníková žlut' je žlutý prášek rozpustný ve vodě, alkoholech, acetonu a uhlovodíkových rozpouštědlech. Obsahuje mimo karotenoidů i značné množství tokoferolů a flavonoidů. Absorpční maxima tohoto pigmentu se nachází při vlnových délkách 213, 315 a 445 nm. Ve vodném roztoku se absorpční maximum objevuje pouze při 450 nm. Pigment je stabilní v kyselém prostředí, avšak v bazickém prostředí pomalu degraduje, stejně jako při zvýšení teploty na 80°C a více (Beveridge 2003).

Rakytníková žlut' byla podrobena testům na toxicitu. Při pokusech na myších nebyl zjištěn u rakytníkové žluti žádný akutní toxický efekt (Beveridge a kol. 1999).

5.11. Karotenoidy

Z 600 známých karotenů jich bylo v plodech rakytníku řešetlákového identifikováno 39 (Gutierrez 2007). Údaje o obsahu karotenoidů se velmi liší (50 až 2139 mg/100 g). V práci Beveridgeho (2003) je uvedeno, že množství karotenoidů ve 100 g oleje z plodů poddruhu *sinensis* může být až 2139 mg. Průměrná hodnota odpovídá 1167 mg ve 100 g oleje. U kultivaru *Indian Summer* však byly naměřeny koncentrace karotenoidů i více než dvojnásobné (Beveridge 2003). Karotenoidy dávají zejména měkkým částem bobulí jejich typickou oranžovožlutou barvu, a proto jich olej získaný ze semen obsahuje mnohonásobně menší množství než olej z dužiny a zbytku plodu. Zastoupení těchto látek se liší nejen dle výchozího materiálu, ze kterého byl olej získán, ale i dle způsobu zpracování a období sběru. Bylo zjištěno, že

nejvíce z karotenoidů, asi 30 %, jsou zastoupeny γ -karoten a lykopen. Dále dle poddruhu zaujímá asi 15-50 % β -karoten. Byly zaznamenány i další karotenoidy jako jsou α -karoten, δ -karoten, γ -karoten, β -zeaxaroten, dihydroxy- β -karoten, zeaxanthin, sintexanthin, lutein, kryptokaroten, zeaxanthin dipalmitát, α -cryptoxanthin dipalmitát a canthaxanthin (Beveridge 2003). Stanovená množství jednotlivých karotenoidů jsou v bobulích různá a to dokonce i u stejného poddruhu. Hladiny β -karotenu se pohybují v rozmezí 0,2-17 mg/100g a celkové hladiny karotenoidů v rozmezí 1-120 mg ve 100g čerstvých bobulí (Yang a Kallio 2002b). Obvykle se uvádí 100-500 mg/100g karotenů v oleji z dužiny a 20-100 mg/100g v oleji semenném. Nejvíce karotenoidů bylo extrahováno petroletherem z dužinového oleje, a to asi 530 mg/ 100g. Obsah karotenů v oleji je významně ovlivněn použitou izolační metodou. Nejméně bylo získáno 3hodinovou extrakcí superkritickým CO₂ ze semenného oleje. V rakytníkové šťávě byla při stanovování antioxidantních látek určena celková koncentrace karotenoidů na 7,3 mg/l, z čehož β -karoten tvořil 3,3 mg/l (Eccleston a kol. 2002). SCFE-CO₂ přinesla při tlaku 60 MPa a teplotě 85°C výtěžek až 67% ze všech karotenoidů. Se zvyšujícím se tlakem přitom stoupaly i výtěžky (Zeb 2004a).

5.12. Lipidy

V kontrastu s ostatními bobulovitými plody, které většinou obsahují lipidy pouze v semenech, u rakytníku řešetlákového jsou všechny části bobulí (semena, dužina i slupka) bohaté na lipidy. Celé čerstvé bobule měly u poddruhu *mongolica* a *sinensis* průměrnou koncentraci olejů mezi 20-105 g/kg, z toho čerstvá dužinová část bobule obsahovala 10-40g/kg. V kilogramu semen tvoří olej průměrně 60-140 g, přičemž porovnání poddruhů prozrazuje, že poddruh *mongolica* je na semenný olej bohatší než poddruh *sinensis* a to asi o 30 g/kg (Kallio a kol. 2002). Přes 70 % všech lipidů se vyskytuje ve volné formě, zbytek jsou pak lipidy vázané. Mezi různými částmi plodu jsou patrné odlišnosti. Přes 97% v dužině, 92% v semenech a 91% všech lipidů ve slupce je neutrálních a nepolárních (Zadernowski a kol. 1997). Podíl olejové složky se výrazně liší dle poddruhu. Například poddruh *caucasica* rostoucí v Gruzii a *turkestanica* rostoucí v Uzbekistánu má v sušené dužině olejový podíl 30-35%, naproti tomu u poddruhu *sinensis* planě rostoucího v Číně byl změřen obsah

oleje pouhých 4-12% (Cakir 2004). Jiní autoři uvádějí obsah olejů v dužině 29-48% (Li 2002).

Těkavé aroma: Pomocí plynové chromatografie a hmotnostní spektrometrie bylo v rakytníkovém oleji identifikováno více než 60 těkavých látek odpovídajících množství 36 mg/kg (Hirvi a Honkanen 1984). Destilací sušených plodů rakytníku poddruhu *ramnoides* vodní párou byla získána olejová těkavá fáze oranžové barvy tvořící 0,1% (w/w). Bylo v ní identifikováno přes třicet různých sloučenin, z nichž největší zastoupení měli alifatické estery a vyšší alkoholy. Přes 63% tvořily alifatické estery, převážně ethylestery, 15% alifatické alkoholy a 14% alifatické uhlovodíky. Obsahem až 39% dominoval v těkavé složce bobulí ethyl dodekanoát, 10% ethyl oktanoát a podílem kolem 5% dekanol a ethyl dekanoát. Dle Hirviho a Honkanena (1984) tato těkavá složka oleje z plodů poddruhu *ramnoides* byla charakterizována zejména estery ethylu, 3-methylbutylu a *cis*-3-hexen-1-ylu. Nejdůležitější složkou byl ethyl hexanoát, 3-methylbutyl-3-methylbutanoát, 3-methylbutanová kyselina, 3-methylbutyl hexanoát, 3-methylbutyl benzoát a 3-methylbutyl oktanoát. Koncentrace terpenů a aromatických sloučenin byla neočekávaně nízká (Hirvi a Honkanen 1984). Při stanovování složení stejné složky u extraktu z bobulí poddruhu *sinensis* byly v aromatu identifikovány mimo jiné ve vysokém zastoupení aldehydy a ketony (Cakir 2004).

Triacylglyceroly: Triacylglyceroly (~80%) a glycerofosfolipidy dohromady tvoří asi 85-95% celé lipofilní frakce z plodů a obsahují tak většinu mastných kyselin. V jednotlivých částech plodu je zastoupení jednotlivých mastných kyselin (MK) podobné v triacylglycerolech i glycerofosfolipidech (Kallio a kol. 2002). Zastoupení mastných kyselin v triacylglycerolech se však mění dle geografického původu rostliny, času sběru plodů (Yang a Kallio 2002a, Zadernowski a kol. 1997) a poddruhu (Kallio a kol. 2002, Yang a Kallio 2001a). Metoda izolace oleje nemá na zastoupení MK větší vliv (Cenkowski a kol. 2006).

Po necelém měsíci od počátku vývoje plodu tvoří lipidy 4% hmotnosti sušených bobulí. V těchto lipidech převažují polynenasycené kyseliny, mezi nimiž dominuje linolová a linolenová. Podíl lipidů se po čtyřech měsících, kdy už je plod zralý, zvýší na 17%. V tomto stádiu však převažují mononenasycené kyseliny a

mezi nimi kyselina palmitoolejová a olejová, přičemž dojde k výraznému poklesu hladin linolové a linolenové kyseliny. V průběhu dozrávání (změna barvy ze zelené na oranžovou) dochází tedy k významnému vzrůstu hladiny C₁₆ mastných kyselin a naopak poklesu obsahu C₁₈ kyselin. Další přezrávání a zmrzáání plodů nepřináší žádné zvýšení ani významnější pokles množství lipidů (Zadernowski a kol. 1997). Nejvyšší obsah triacylglycerolů i glycerofosfolipidů je v bobulích rakytníku poddruhu *sinensis* koncem října, kdy je i nejvhodnější čas sběru bobulí. Zastoupení jednotlivých mastných kyselin je uvedeno v tabulce 7 (uvedená data byla získána extrakcí superkritickým CO₂). Z tabulky lze též vyčíst, že nejvíce zastoupeny jsou kyseliny nenasycené.

Olej extrahovaný superkritickým CO₂ ze semen a dužiny se liší barvou i složením. Barva semenného oleje je žlutá až světle oranžová a je charakterizován jako viskózní kapalina. Olej z dužiny je tmavě červený, pastovité konzistence, který taje zhruba při 50°C (Šťastová a kol. 1996).

Uvádí se, že **semenný olej** má vyšší obsah nenasycených esenciálních mastných kyselin než dužinový olej. Dle chromatografické analýzy obsahuje 11,4% nasycených a 88,6% nenasycených MK (Yin a kol. 2005). Až z 42% je tvořen linolovou (18:2 (n-6)) a z 39% α-linolenovou (18:3 (n-3)) kyselinou. Třetí nejhojněji zastoupená je kyselina olejová (18:1 (n-9)), v méně významných množstvích jsou pak přítomny kyseliny palmitová (16:0), stearová (18:0) a vakcenová (18:1 (n-7)). Složení triacylglycerolů se v semenech u různých poddruhů nijak významně neliší (Yang a Kallio 2002b).

Tab. 7: Zastoupení jednotlivých MK v triacylglycerolech oleje rakytníku řešetlákového

Obsah mastných kyselin v triacylglycerolech v rakytníkových olejích (<i>Hippophae rhamnoides</i> L.)							
mastná kyselina	poddruh <i>rhamnoides</i> (Yang a Kallio 2001a)		poddruh <i>sinensis</i> (Yang a Kallio 2001a)		poddruh <i>mongolica</i> (Kallio a kol. 2002)		
	semenný olej / % (w/w)	dužinový olej / % (w/w)	semenný olej / % (w/w)	dužinový olej / % (w/w)	semenný olej / % (mol)	dužinový olej / % (mol)	
16:0 <i>palmitová</i>	7,4	27,8	8,7	26,7	8,6	33,9	
16:1 (n-7) <i>palmitoolejová</i>	-	32,8	-	27,2	-	32,8	
18:0 <i>stearová</i>	3,0	0,8	2,5	1,3	3,3	1,2	
18:1 (n-9) <i>olejová</i>	17,1	17,3	19,4	17,1	17,9	4,6	
18:1 (n-7) <i>vakcenová</i>	2,8	9,1	2,2	8,1	2,1	6,4	
18:2 (n-6) <i>linolová</i>	39,1	9,0	40,9	12,7	38,6	15,5	
18:3 (n-3) <i>a-linoleová</i>	30,6	3,2	26,6	7,1	29,1	5,6	

názvosloví: počet uhlíků v řetězci:počet dvojných vazeb (poloha první dvojně vazby od methylového uhlíku, methyl = 1)

Dužinový olej má oproti semennému rozdílné složení. Je charakterizován vyšším obsahem nasycených a mononenasycených kyselin. Velkou část všech mastných kyselin dužinového oleje (asi 38%) tvoří nasycená kyselina palmitová (16:0). Druhou velmi významnou kyselinou (43%) je v rostlinných plodech netypická kyselina palmitoolejová (16:1 (n-7)). Jak semenný, tak i dužinový olej má přibližně stejně vysoký obsah kyseliny olejové (18:1 (n-9)) (Yang a Kallio 2001a). Bylo zjištěno, že složení dužinových triacylglycerolů je u jiných poddruhů různé (Yang a Kallio 2002b). Z tabulky 7 také vyplývá, že dužinový olej je více bohatý na C₁₆ kyseliny a semenný olej na C₁₈ kyseliny.

Fyzikálně chemické vlastnosti oleje: Semenný olej rakytníku je žluté až oranžové barvy a absorbuje silně i v UV oblasti záření. Významný absorpční pík má olej při 232 nm a menší poté při 270 nm a 303 nm. Méně významný pík se objevuje i při 410 nm. Za tuto absorpční schopnost jsou zodpovědné zejména karotenoidy, fytosteroly a flavonoidy. Vysoké dienové číslo (3,16), p-anisidinové číslo (34,19) a peroxidové číslo (20,68 mekv/kg) předpovídá nízkou stabilitu oleje vůči oxidaci, která je důsledkem vysokého zastoupení nenasycených komponent. Číslo zmydlení bylo stanoveno na 190, což se nijak výrazně neodchyluje od hodnot naměřených u běžných rostlinných olejů (65 Eleman World, S.L.). Dynamická viskozita rakytníkového oleje byla stanovena na 44 mPa/s. Čerstvý semenný olej má teplotu

krystalizace znatelně nižší (-59°C) než běžné semenné oleje, jako je řepkový (-43°C) nebo slunečnicový olej (-45°C). Oxidace oleje vede k posunu teploty krystalizace až k -65°C. Bod tání byl pozorován pro oxidovaný semenný olej při -34,2°C (Beveridge 2003).

O fyzikálně chemických vlastnostech komerčně dostupného rakytníkového oleje neexistují dle zjišťování žádné relevantní zdroje. Výrobce a producent rakytníkového oleje *Mountain Rose Herbs* však tyto údaje zveřejňuje. Během výroby údajně nebyla použita žádná aditiva, konzervanty ani jiné cizorodé látky, a tak v oleji, který byl získaný z celých plodů rakytníku řešetlákového lisováním za studena, nebyly dle měření výrobce zjištěny žádné pesticidy ani těžké kovy. Jeho číslo zmýdelnění bylo stanoveno na 191,2, iodové číslo na 86 a peroxidové číslo menší než 2,6. Dále bylo určeno jeho pH (3,43), napovídající o kyselosti oleje, a specifická hustota 0,915 (Mountain Rose Herbs).

Následující tabulka 8 shrnuje koncentrace jednotlivých komponent v olejích rakytníku řešetlákového z různých výchozích materiálů.

Tab. 8: Hlavní složky olejů rakytníku řešetlákového získaných ze semen, dužinové šťávy a zbytku bobule po odstranění šťávy (hodnoty udány jako mg/100 g) (Dharmananda)

Chemická látka	Semenný olej	Dužinový olej (ze šťávy)	Olej ze zbytku bobule (po odstranění šťávy)
Vitamin E	207	171	300-600
Vitamin K	110-230	54-59	-
Karotenoidy	30-250	300-870	1280-1860
Kyseliny celkem	11	38	-
Flavonoidy celkem	-	-	550
Steroly celkem	1094	721	-
Olejový profil			
Nenasycené mastné kyseliny	87%	67%	70%
Nasycené mastné kyseliny	13%	33%	30%

6. LÉČIVÉ ÚČINKY

V rakytníku řešetlákovém bylo nalezeno více než 200 biologicky aktivních látek. Byly izolovány téměř ze všech částí rostliny, avšak nejvíce jich bylo zastoupeno v plodech a listech. Jak je uvedeno výše, významné jsou hladiny zejména karotenoidů, tokoferolů, fytosterolů, flavonoidů, lipidů a askorbové kyseliny. V zájmu vědeckého zkoumání nejsou tyto sloučeniny jen z chemického hlediska, ale zejména kvůli biologickým a terapeutickým hodnotám. Výzkumu se věnují převážně země ve východních oblastech. Se zvyšující se znalostí vlastností a chemického složení rakytníkových extraktů se v Japonsku, Evropě a Severní Americe stávají rakytníkové preparáty stále více populární a nacházejí uplatnění jako významné nutriční doplňky. Současným trendem je přimíchávání rakytníkových extraktů do chleba, džusů, džemů, jogurtů a jiných běžných potravin. Jediným omezujícím faktorem pro použití olejů z rakytníku je vysoký podíl polynenasycených mastných kyselin a dalších látek citlivých k oxidaci, jako jsou karotenoidy a tokoferoly (Yang a Kallio 2002a).

Bylo prokázáno, že po orální aplikaci dávek oleje z rakytníku extrahovaného superkritickým CO₂ nejeví pokusní potkani symptomy akutní ani sub-akutní toxicity, podobně jako po aplikaci na jemně podrážděnou pokožku. Dle dalších toxikologických studií nebyla u rakytníkového oleje prokázána žádná toxicita, a tak se stává pro léčbu a prevenci velmi zajímavým nástrojem (Yang a Kallio 2002b, Upadhyay a kol. 2009).

6.1. Využití rakytníku v tradiční léčbě

V tradiční tibetské a čínské medicíně a v oblastech Ruska se rakytníkový olej a další extrakty používaly jako přírodní léčivo a přírodní kosmetický doplněk několik desetiletí. V Mongolsku se i v současné době používá extrakt z listů a mladých větviček k léčbě zánětů střev a trávicího traktu zvířat i lidí, léčbě průjmu a dalších poškození zažívacího traktu a pokožky. V Tádžikistánu našly hojné uplatnění zase květy, které jsou v těchto oblastech stále používány pro zjemnění pokožky. Pro prokázané hemostatické a protizánětlivé účinky jsou plody rakytníku předkládány zejména v indické a tibetské medicíně při poruchách metabolismu, zažívacích problémech stejně jako při plicních a kardiovaskulárních zdravotních komplikacích. Jak uvádějí starověké spisy, rakytník řešetlákový je mírný lék s charakteristickými schopnostmi snižovat horečku, působí protizánětlivě a detoxikačně. Též odstraňuje absces i sputum z dýchacích cest, léčí kašel a nachlazení, usnadňuje dýchání, má

protirakovinné účinky zejména pro žaludek a zažívací trakt obecně a často je i hojně aplikován v případech gynekologických problémů. Oleje z bobulí se používají jako součást mastí při ekzémech, systémovém *lupu erythematodes*, chronických dermatitidách nebo těžko léčitelných poraněních kůže jako jsou popáleniny a omrzliny (Guliyev a kol. 2004). Kořeny rakytníku bývaly zejména ve východní části Turecka používány na léčbu vředů (Süleyman a kol. 2001).

Rakytiníkové flavonoidy i oleje mají velký potenciál pro využití i v moderním lékařství (Li a Schroeder 1996).

6.2. Hojivý účinek na popáleniny a poranění kůže

Popáleniny jsou velice rozšířeným poraněním, oslabujícím přirozenou funkci pokožky jako mechanické bariéry. Jelikož syntetické medikamenty mají v porovnání s přírodními léčivy vyšší toxicitu a historické zdroje zmiňovaly použití rakytníkových preparátů jako prostředků pro léčbu popálenin již v minulosti, bylo v mnoha experimentech toto možné využití více prostudováno. Olej, který byl shledán netoxickým a bez vedlejších nežádoucích efektů, byl poté aplikován na modelové popáleniny u potkanů, kde se prokázal jednoznačný hojivý účinek, prokazatelně efektivnější než u léčby stříbrným sulfadiazinem (Upadhyay a kol. 2009). Při klinickém testování skupiny 151 pacientů docházelo mimo zmírnění bolestivosti poranění též ke zdatelně rychlejší obnově epitelizace popálené kůže, zmírnění otoku poranění a zmírnění zánětu (Wang a kol. 2006). Za protizánětlivé, antimikrobiální a regenerační vlastnosti oleje jsou dle zjišťování zodpovědné fytosteroly a alkoholy s dlouhými řetězci. Intenzivnější a časnější epitelizace, rychlejší zrání kolagenových vláken a bohatší prokrvení poškozené tkáně bylo ověřeno i u pokusných krys s povrchovým poraněním kůže, kterým byl na ránu aplikován polyakrylový inertní gel (Carbopol®) obohacený o extrakt z rakytníku. Účinek autoři studie připsali vysokému obsahu vitaminů (zejména vitamin E, C, A) a stopových prvků (síra, selen, zinek, měď aj.) (Ianev a kol. 1995).

Řezná poranění: Roku 2006 byla provedena studie (Gupta a kol. 2006) prokazující na řezných ranách hojivý účinek flavonoidů. Pokusné skupině potkanů byla způsobena malá řezná poranění na pokožce zad, na které byl následně aplikován 0,1% (w/w) roztok flavonoidů v propylenglykolu. V průběhu několika dnů pak byla

tato a kontrolní, stejně poraněná skupina potkanů podrobena vyhodnocení. U testovaných potkanů se prokázala rychlejší epitelizace poškozené tkáně (průměrně po 16,3 dne) oproti kontrolní skupině (28,4 dne). Vše bylo poté ověřeno ještě histopatologicky. Navíc pozorování zvýšené hladiny redukovaného glutathionu (o 55%), vitamínu C (o 70%) a katalasové aktivity (o 20%) v poškozené tkáni prokázalo antioxidační účinky těchto flavonoidů (Gupta a kol. 2006).

6.3. Antibakteriální a antioxidační účinky

U olejů z rakytníku byly prokázány též antioxidační a antibakteriální účinky přiřítané zejména flavonoidům a vitamínu C (Chauhan a kol. 2007, Nemžanu a kol. 2009). Při extrakci olejů různými rozpouštědly (chloroform, ethylacetát, aceton a methanol) se nejvyšší antibakteriální a antioxidační účinnost prokázala u methanolového extraktu. Antibakteriální účinek byl ověřován u bakterií rodu *Bacillus* (*cereus*, *coagulans*, *subtilis*), *Listeria monocytogenes* a *Yersinia enterocolitica* a u všech bylo dosaženo pozitivních výsledků inhibice jejich růstu, u některých již při minimálních koncentracích 200 ppm (Negi a kol. 2005). Za inhibici růstu gram-negativních bakterií je zodpovědná fenolová složka rakytníku (Guliyev a kol. 2004). *In vitro* testy ethanolového extraktu z bobulí na sedmi různých kmenech *Helicobacter pylori* prokázaly jednoznačný inhibiční efekt růstu bakterií již při minimální koncentraci 60 µg/ml (Li a kol. 2005).

Na **antioxidační účinky** produktů z rakytníku však není jednoznačný názor. Některé laboratorní testy, i s využitím zvířecích modelů, prokazují antioxidační aktivitu (Chauhan a kol. 2007, Geetha a kol. 2002, Geetha a kol. 2003, Sharma a kol. 2008, Kasparaviciene a kol. 2004) a ochranu lipidů před oxidací reaktivními formami kyslíku, stejně jako ochrannou funkci oleje pro krysí cytochrom P450 (Mansurova a kol. 1978), avšak některé *in vitro* testy tento antioxidační účinek nepotvrdily (Benherlal a Arumughan 2008). Antioxidační účinky vzhledem k inhibici peroxidové oxidace lipidů byly však u rakytníkového oleje zjištěny vyšší než pro vitamin E (Song a Ying 1995). Využitím stabilních volných radikálů DPPH (2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl) a spektrofotometrické metody měření byla zjištěna míra antioxidační aktivity vodného a ethanolového extraktu z plodů rakytníku. Vodný extrakt měl vzhledem k ethanolovému extraktu antioxidační aktivitu znatelně vyšší. Etanolový

extrakt z plodů rakytníku měl mezi všemi měřenými ethanolovými extrakty z českých léčivých rostlin aktivitu nejmenší (0,9 mg/g). Tato aktivita byla stanovena jako obsah (mg) kyseliny askorbové na 1 g sušených plodů. U vodného extraktu z plodů rakytníku řešetlákového dosahovala tato koncentrace 24,6 mg/g což je ve srovnání s jahodovými (121,6 mg/g) i ostružinovými listy (114,8 mg/g) znatelně méně. Antioxidační aktivita vodného extraktu z rakytníkových plodů (24,6 mg/g) je dle českého výzkumu nízká, srovnatelná však s antioxidační aktivitou extraktu z jeřabin (25,0 mg/g) (Buřičová a Réblová 2008). U různých rakytníkových extraktů však byla antioxidační aktivita s využitím DPPH stanovena v rozmezí 6,97 až 282,75 mg/g, přičemž největší aktivity dosahovaly extrakty z listů, poté z celých plodů a nejméně extrakty z dužiny (Sharma a kol. 2008). Přesto se u lidských dobrovolníků, kterým byla strava doplňována o flavonoly z rakytníku, nepodařilo prokázat statisticky významné zvýšení plasmatického antioxidačního potenciálu ani vliv flavonolů na hladinu krevního oxidovaného nízkodenzitního lipoproteinu. Bylo však zjištěno, že biodostupnost flavonoidů, které se obvykle velmi rychle vstřebaly, může být zvýšena malou dávkou rakytníkového oleje (Suomela a kol. 2006). Jiné testy na dobrovolnících, kterým byly podávány denní dávky rakytníkové šťávy obsahující zejména vitamin C, α -tokoferol, β -karoten a flavonoidy po dobu 8 měsíců, prokázaly nevýznamné zvýšení hladin triacylglycerolů a vysokodenzitního lipoproteinu a mírné snížení náchylnosti nízkodenzitního proteinu k oxidaci (Eccleston a kol. 2002).

6.4. Vliv extraktů na správnou funkci kardiovaskulárního systému

Podávání rakytníkové šťávy nevedlo u zdravých mužů po osmítýdenním testu ke zvýšené agregaci destiček ani intracelulárních adhezních molekul (Eccleston a kol. 2002). Avšak po podávání oleje z celých bobulí i dužinové části dobrovolníkům byl zaznamenán znatelný pokles agregace destiček indukované adenosin-5'-difosfátem, stejně jako snížení celkové maximální agregace. Lze tedy usuzovat, že olejový výtažek z rakytníku řešetlákového působí efektivně i proti agregaci destiček. Vše musí být ale důkladněji prozkoumáno (Mann a kol. 2001, Johansson a kol. 2000).

Podávání dávky 300 μ g/kg flavonoidového extraktu z rakytníku řešetlákového vedlo ke snížené agregaci krevních destiček v *in vitro* testech. Extrakt tak prodlužoval čas trombotické okluze a vznik trombózy v myších modelech po fotochemickém

podráždění. Míra účinku flavonoidů byla srovnatelná s účinkem mnohonásobně vyššího množství aspirinu (Cheng a kol. 2003).

Jedna studie (Zhao a kol. 2008) prokazuje, že rakytníkové flavonoidy spolu s bobulovým olejem, tradiční čínský přípravek zvaný *Xindi*, má příznivý vliv na akutní krevní stázi, která po podání uvedeného přípravku vykazuje tendenci návratu k normálu. Zhao a kol. (2008) tvrdí, že některé výrazné změny metabolitů, jako je kyselina cholová, fenylalanin a kyselina kynurenová, způsobené přípravkem, mohou být klíčové v mechanismu tohoto efektu.

Tablety z flavonoidů rakytníku vyrobené farmaceutickou společností *Tongliao* sídlící v Mongolsku byly též klinicky testovány jako možnost přírodní léčby *anginy pectoris*. Při léčbě 303 pacientů v 7 různých nemocnicích Pekingu bylo dosaženo neuvěřitelné efektivity, téměř 91% (Zhao a Wu 1997).

Vliv extraktů na hypertenzi a ischemickou chorobu srdeční: Eccleston a kol. (2002) pozoroval, že rakytníková šťáva, bohatá na antioxidanty, ochraňuje kardiovaskulární systém před hypertenzí, ischemickou chorobou srdeční a příznivě stimuluje funkci srdce. Klinické testy flavonových extraktů z plodů i listů potvrdily zmíněné antihypertenzní účinky, které obecně souvisí se schopností flavonoidů inhibovat agregaci krevních destiček *in vitro* i *in vivo* (Cheng a kol. 2003), odstraňovat reaktivní formy kyslíku (Negi a kol. 2005, Geetha a kol. 2002) a zvýšit hladinu oxidu dusnatého a naopak snížit hladiny endotelinů (Liao a kol. 2005). Jiní vědci však tvrdí, že jedinečné hypotenzní a orgány ochraňující vlastnosti jsou důsledkem snižování koncentrace vnitrobuněčných volných iontů Ca^{2+} v buňkách hladké žilní svaloviny (Zhu a kol. 2000, Suomela a kol. 2006). Tato schopnost byla u celkových flavonoidů i jednotlivých flavonoidů (quercitinu a isorhamnetinu) prokázána (Zhu a kol. 2005). Zhang a kol. roku 2001 zjišťoval, zda flavonový extrakt z rakytníku má inhibiční vliv na sympatickou nervovou aktivitu u hypertenzních pacientů. Po tomto experimentu, kterého se účastnilo 88 pacientů s hypertenzí, nebyla prokázána inhibice sympatické aktivity nervů v souvislosti s léčbou hypertenze, ale tento účinek se projevil po izometrickém cvičení (Zhang a kol. 2001). Zajímavý výsledek přinesla práce vycházející z ověřeného předpokladu, že flavonový extrakt ze semen rakytníku snižuje v krvi myši hladinu glukózy a lipidů a v diabetických myších má antiglykemický efekt. V návaznosti na tento fakt bylo zjištěno, že směs flavonů

izolovaná ze semen úspěšně zvyšuje citlivost insulinových receptorů a inhibuje signalizační kaskádu angiotensinu v myších modelech krmených stravou bohatou na sacharosu. Právě blokace angiotensinové signalizační kaskády a zvýšení citlivosti insulinových receptorů může být mechanismem potlačujícím hypertenzi. Toto zjištění tedy nabízí možnost využití flavonů z rakytníku při léčbě a prevenci insulinové resistance a s ní spojených kardiovaskulárních onemocnění, jako je právě hypertenze (Pang a kol. 2008).

Vliv na funkci srdce: Jak ukázaly četné experimenty, flavonoidy získané z rakytníku mohou odstraňovat reaktivní formy kyslíku a to dokonce efektivněji než vitamin E. Bylo též zjištěno, že soubor flavonoidů extrahovaný z rakytníku svým antioxidačním působením zpomaluje postup aterosklerózy, jejíž příčinou je krom jiného také oxidační poškození lipoproteinů volnými radikály (Schwenke 1998). Vliv rakytníkových flavonoidů na kardiovaskulární systém byl v předchozích 30 letech intenzivně studován sovětskými a čínskými vědci. Výsledkem těchto rozsáhlých studií bylo zjištění, že rakytníkové flavonoidy mohou příznivě ovlivnit stahy srdečního svalu, pomáhají udržovat dostatečný přísun krve pro srdeční svalovinu a mají příznivý vliv i na srdeční arytmií. Dle Zhao a Wu (1997) byl popsán i mechanismus působení flavonoidů na srdeční činnost. Pro správný průběh kontrakce svalových buněk srdečního svalu je důležitý dostatečný přísun Ca^{2+} iontů a právě směs flavonoidů získaná z rakytníku účinně podporuje průchod těchto iontů z extracelulárního prostoru do cytosolu buněk srdeční svaloviny, stejně jako uvolnění vápníku z vnitrobuněčných zásob.

Při sledování elektrofyziologických účinků flavonů z rakytníku na buněčné linie srdečních svalů potkanů a papilárních svalových buněk morčat bylo zaznamenáno zkrácení depolarizace buněk spojené s diastolou srdeční komory, stejně jako oslabení kontraktilní síly v papilárních buňkách. Navíc arytmie vyvolaná ve svalových buňkách byla flavony potlačena (Guliyev a kol. 2004).

6.5. Imunomodulační účinky

Několik *in vitro* testů alkoholických extraktů z listů a plodů rakytníků řešetlákového ukázalo jejich imunomodulační aktivitu (Mishra a kol. 2008, Geetha a kol. 2002). Ethanolový extrakt z bobulí rakytníku příznivě stimuluje funkci membrán

makrofágů a cirkulaci fagocytů v krvi. Má tedy i imunomodulační účinky. Stejný extrakt o vysoké koncentraci však inhiboval proliferaci leukocytů (Dorhoi a kol. 2006). Účinek potvrzující podporu imunitní funkce byl prokázán i u pacientů podstupujících chemoterapii. Rakytníkový olej tak může být vhodný jako doplňkový suplement pro zmírnění hematologického poškození chemoterapií. U myší, kterým byla strava doplňována o rakytníkový olej, docházelo po chemoterapii vysokými dávkami fluorouracilu k rychlejší obnově krvetvorby (Chen a kol. 2003). Malé dávky semenného oleje vykazovaly v předběžných studiích zvýšení nespecifické imunity a též částečné protinádorové účinky (Yu a kol. 1993). V testu na myších pomohlo podání dávky ethanolového extraktu z rakytníku udržet po ozáření jedinců ^{60}Co -gama zářením vyšší počet životaschopných makrofágů v porovnání s těmi, které ethanolový extrakt před ozářením neobdržely. Zvýšené hladiny makrofágů oproti kontrolní skupině byly pozorovány i v pokusné skupině myší, které byl rakytníkový extrakt podán, ale nepodstoupila ozáření. Ve skupině ošetřené extraktem byl navíc zjištěn vyšší poměr CD4+/CD8+ lymfocytů (2,1) oproti neozářené kontrolní (1,9) a ozářené skupině bez extraktu (1,5) (Prakash a kol. 2005). Tyto nálezy jednoznačně potvrzují imunomodulační účinek extraktů z rakytníku řešetlákového.

Kromě lipidů obsažených v oleji se imunomodulační účinek přičítá i ve vodě rozpustným sloučeninám jako jsou flavonoidů a vitamin C (Yang a Kallio 2002b).

Studie Zhong a kol. (2001) prokázala, že extrakty z rakytníku řešetlákového podporují u myších fagocytů jejich fagocytózu, zvyšují obsah lysozymu, stejně jako zastoupení T-lymfocytů v periferní lymfatické tkáni a stimulují produkci interferonů v bílých krvinkách. Z toho se usuzuje, že produkty z rakytníku mohou u zvířat podporovat specifickou i nespecifickou imunitní odpověď (Zhao a Wu 1997). Flavony rakytníku řešetlákového v testech *in vitro* významně modulovaly hladiny a stejně tak i produkci některých signálních molekul spojených se záněty a imunitním systémem. Ovlivněny byly zejména hladiny cytokinů, tumor nekrotizujícího faktoru α a interleukinu 6 v lidských krevních buňkách (Mishra a kol. 2008).

6.6. Hepatoprotektivní účinky

Pravděpodobně díky vysokému zastoupení antioxidantů má extrakt z listů rakytníku i hepatoprotektivní funkci. Tyto účinky byly u rakytníkových olejů v případech klinických onemocnění a poškození jater úspěšně ověřeny. Semenný

rakytníkový olej byl testován na myších pro případ poškození jater vyvolaného CCl₄, ethanolem a acetaminofenem. Dávka 4,75 g/kg semenného oleje snižuje zvýšenou hladinu alanintransaminasy vyvolanou CCl₄ nebo acetaminofenem (Cheng 1992). Bylo zjištěno (Geetha a kol. 2008), že olej také účinně inhibuje tvorbu malondialdehydu v játrech jako důsledek zvýšené peroxidace lipidů, snižuje hladiny sérové glutamát-pyruvát-transaminázy a navíc brání vyčerpání glutathionu v acetaminofenem poškozených játrech myší (Cheng 1992). Hepatoprotektivní mechanismus semenného oleje by mohl být spojený s inhibicí peroxidace lipidů. Podobných výsledků a závěru dosáhl i Geetha a kol. (2008) při ověřování hepatoprotektivní funkce extraktu z listů rakytníku na pokusných potkanech, kterým bylo vyvoláno poškození jater pomocí CCl₄. V důsledku poškození došlo ke zvýšení hladin oxaloacetát transferasy, glutamát-pyruvát-transferasy, alkalické fosfatasy a bilirubinu, stejně jako k poklesu koncentrace celkových proteinů a glutathionu v krvi. Listový extrakt však pomohl potlačit tyto změny. Další *in vivo* experimenty tyto účinky potvrdily (Cheng a kol. 1994). Opět bylo též poukázáno na fakt, že hepatoprotektivní schopnost extraktu je důsledkem jeho značné antioxidační aktivity (Geetha a kol. 2008, Geetha a kol. 2003).

Ve studiích *in vitro* za použití tkání a sér z potkanů s lézí jater vyvolanou poškozením CCl₄ rakytník řešetlákový zvýšil podíl tkáňových a sérových bílkovin, snižoval oxidaci lipidů volnými radikály a chránil enzymy cytochromy P450 před poškozením (Mansurova a kol. 1978). Výsledky všech těchto studií naznačují, že rakytníkový olej by mohl být brzy využit k léčbě a prevenci onemocnění jater (Guliyev a kol. 2004).

6.7. Ochrana kůže a potlačení symptomů dermatitid

Kvůli vysokému obsahu palmitoolejové kyseliny a polynenasyceným mastným kyselinám je rakytníkový olej též důležitým zdrojem lipidů pro farmakologické a kosmetické využití (Zadernowski a kol. 1997). Palmitoolejová kyselina, která je běžnou složkou podkožního tuku, umožňuje využití v rakytníkových produktech určených ke změkčování kůže, vyhlazování vrásek a zlepšení zdraví pokožky. V přiměřeném množství může pokožku vyživovat, čehož se využívá ke zmírnění symptomů při atopických dermatitidách. Zlepšení se však projevilo pouze u skupiny užívající dužinový olej (Guliyev a kol. 2004). U skupiny požívající dužinový olej jako

doplňek potravy došlo po krátkém čase ke zlepšení projevů dermatitidy, které u skupiny suplementované semenným olejem nebylo významné. Po měsíční suplementaci pacientů rakytníkovým olejem z dužiny se tak prokázala souvislost mezi zvýšeným zastoupením α -linolenové mastné kyseliny a zlepšením příznaků atopické dermatitidy (Yang a kol. 1999).

U jiné testované skupiny pacientů s atopickou dermatidou vedlo doplňování stravy o denní dávku 5 g semenného rakytníkového oleje k mírné změně podílu MK v kožních glycerofosfolipidech. Byl zaznamenán úbytek palmitoolejové a nárůst dokosapentaenové kyseliny (22:5 (n-3)), zatímco podíl ostatních mastných kyselin zůstal stejný. Z těchto výsledků bylo usouzeno, že složení MK v kožních glycerofosfolipidech je efektivně vyrovnáváno v průběhu krátkodobých stravovacích změn, avšak mechanismus ovlivňování inkorporace MK do lipidů v plasmě a kůži stejně jako přímý vliv rakytníkového oleje není objasněný (Yang a kol. 2000).

6.8. Ochrana buněk před zářením

Karotenoidy a jiné chromofory obsažené v semenném rakytníkovém oleji silně absorbují v UV oblasti záření (290-320 nm) (Beveridge a kol. 1999), a tak může ošetření pokožky olejem z rakytníku pokožku ochraňovat před škodlivým slunečním zářením. Navíc fytosteroly mohou být v pokožce zaměněny za cholesterol, čímž zmírňují podráždění pokožky a vylepšují ochranou funkci kůže (Guliyev a kol. 2004). Tokoferoly a tokotrienoly, které jsou považovány za silné antioxidanty, se mohou též na ochraně pokožky podílet (Kagliwal a kol. 2011).

Ústně podaný rakytníkový ethanolový extrakt z celých bobulí dokázal efektivně ochránit organismus myši před poškozením smrtelným ionizujícím zářením. Navíc tento extrakt prokazatelně inhiboval Fentonovu reakci a zářením zprostředkovanou generaci hydroxylových radikálů (*in vitro*), superoxidových aniontů a lipidovou peroxidaci v játrech. Navíc ochraňoval epitel střev a také DNA před vznikem zlomů. Ochrana vláken DNA se přičítá přímému vlivu alkoholového extraktu na organizaci chromatinu, a tím omezení vlivu volných radikálů na poškození DNA (Goel a kol. 2002, Guliyev a kol. 2004).

Alkoholový extrakt z bobulí rakytníku, který obsahoval převážně flavonoidy, prokazatelně ochraňoval buňky kostní dřeně před poškozením zářením a zároveň pomáhal těmto buňkám k rychlejší obnově (Agrawala a Goel 2002).

6.9. Protinádorové účinky

Většina experimentů v oblasti prevence a léčby karcinogeneze byla prováděna na zvířecích modelech. Dle některých výsledků lze usuzovat, že plody rakytníku mohou potlačit karcinogenezi zejména v žaludku a pokožce (Padmavathi a kol. 2005). Protinádorový efekt šťávy a oleje z rakytníku, stejně jako inhibice tumorového růstu indikovaného aminopyrinem a nitritem byla již prokázána u potkanů, jak shrnuje práce Guliyeva (2004). *In vitro* pokusy odhalily, že rakytníkový olej má cytotoxické vlastnosti pro linii buněk lidské leukemie (Yang a Kallio 2002b). Klinické pozorování navíc odhalilo, že semenný rakytníkový olej podávaný orálně pomohl potlačit některé maligní nádory (Kallio a kol. 2002).

Bioflavonoidy se v posledních letech též ukázaly jako nová vhodná chemoterapeutika, a tak u nich probíhá intenzivní výzkum z hlediska protinádorové prevence a léčby. Jejich využití je však omezené nízkou selektivitou a účinností (Paliwal a kol. 2005). Quercetin, který je jedním z hlavních rakytníkových flavonoidů, má však nepochybný účinek na mechanismus vzniku nádoru. Prokazatelně *in vitro* zvýšil citlivost kolorektálního karcinomu k 5-fluorouracilu, což byl významný objev, neboť tento karcinom je obvykle při chemoterapii vůči 5-fluorouracilu resistantní (Xavier a kol. 2011). Též pomohl v kombinaci s ultrazvukem k redukci počtu a potlačení růstu rakovinových buněk karcinomu prostaty a pokožky (Paliwal a kol. 2005). Také soubor flavonoidů (kaempferol, quercetin a myricetin) snížil riziko vzniku karcinomu pankreatu o 23% (Nöthlings a kol. 2007). Sun a kol. (2003) prokázali inhibiční efekt flavonoidů ze semen rakytníku na buňky jaterního karcinomu, a to zejména indukováním jejich apoptosy (Sun a kol. 2003). Některé další studie *in vitro* tento účinek u quercetinu, kaempferolu a myricetinu potvrdily i na lidské leukemické buněčné linii a navíc prokázaly, že pentamethylquercetin, syringetin a isorhamnetin izolovaný z plodů rakytníku potlačuje až třikrát efektivněji růst karcinomatických buněk, a to jiným mechanismem než indukci řízené buněčné smrti (Hibasami a kol. 2005). U isorhamnetinu se poprvé podařilo prokázat i jeho vliv na inhibici lidských hepatocelulárních karcinomatických buněk (Teng a kol. 2006). Flavonoidy ze semen rakytníku pomáhají rovněž regulovat expresi genů spojených s apoptosou v buňkách lidského karcinomu prsu (Zhang a kol. 2005).

Extrakty z rakytníku řešetlákového obsahující flavonoidy mají tedy farmakologicky významný účinek na buňky rakovinového bujení, a to nejčastěji mechanismem regulace signalizačních kaskád vedoucích k apoptóze, bylo však i prokázáno, že mají antiproliferační účinky (Boivin a kol. 2007).

6.10. Vliv na gastrointestinální trakt

V mnoha experimentech byly na pokusných myších též prokázány léčivé a preventivní účinky proti žaludečním a duodenální vředům. V testech *in vivo* se podařilo prokázat, že olej získaný SCFE-CO₂ ze semen i dužiny plodů rakytníku řešetlákového inhibuje tvorbu vředů v trávicím traktu pokusných potkanů (Xing a kol. 2002). V testech na zvířatech bylo zjištěno, že flavonoidy získané z kůry rakytníku mají léčivý účinek na již vzniklé žaludeční vředy v krysách (Xu a kol. 2007). Některé experimenty prokázaly vyšší účinnost oleje z měkkých částí bobule a hlavní hojivý účinek v případě vředů a poranění sliznice gastrického systému přiřadily sterolům jako je β -sitosterol, misoprostol a daukosterol (Jones a kol. 1997). Při tvorbě gastroduodenálního poškození hrají spolu se stresem významnou roli i volné reaktivní kyslíkové radikály, které však β -karoten, vitamin E i vitamin C obsažený v hexanovém extraktu z bobulí (po odpaření hexanu) dokáže účinně odstraňovat, což opět zvyšuje potenciál preparátů z rakytníku řešetlákového pro použití v léčbě gastrointestinálních poranění (Süleyman a kol. 2001).

Zvířecí i klinické studie prokázaly léčebný účinek olejů na podrážděné či poškozené sliznice trávicího traktu (Jones a kol. 1997). Dužinový olej může navíc potlačit vznik vředů snížením sekrece žaludečních kyselin a pepsinu a zvýšením sekrece žaludečního hlenu (Xing a kol. 2003).

6.11. Vliv na hladiny lipoproteinů a lipidů, cholesterolu a glukosy

Asi 20% zvýšení koncentrace vysokodenzitního lipoprotein-cholesterol komplexu a triacylglycerolů v krevní plasmě zdravých dobrovolníků přinášelo podávání dávek rakytníkové šťávy. Navíc došlo v těchto dobrovolnících ke snížení citlivosti nízkodenzitních lipoproteinů k oxidaci (Eccleston a kol. 2002). Rakytníkové preparáty tedy mohou účinně odstraňovat cholesterol (Guliyev a kol. 2004). Rakytníkové steroly též efektivně snižují hladinu cholesterolu v krvi, čímž působí preventivně proti kardiovaskulárním onemocněním (Jones a kol. 1997).

Na zvířecích modelech byl prokázán účinek rakytníkových flavonoidů jako efektivního prostředku ke snížení hladiny lipidů v krvi a játrech a zmírnění hyperlipémie, která je způsobená nadměrnou produkcí tuku. S přihlédnutím k těmto faktům lze flavonoidy z rakytníku považovat za preventivní přípravek ischemické srdeční choroby i aterosklerózy (Zhao a Wu 1997).

Při testech na myších byl zjištěn vliv flavonoidů z rakytníku řešetlákového na metabolismus glukózy. Ačkoliv mechanismus nebyl objasněn, u myší došlo po šestnácti dnech ke snížení hladiny krevních lipidů a glukosy. Autoři studie se tak domnívají, že flavonoidy ze semen i zbytku bobulí mají vliv na glukoneogenezi (Cao a kol. 2003b). Snížení hladiny glukosy v důsledku podávání oleje z rakytníku však u lidí nebylo prokázáno (Johansson a kol. 2000).

6.12. Další účinky

Účinky extraktů v případě vystavení organismu chladu: Předběžné testy na lidech citlivých na chlad ukázaly, že denní perorální podávání 500 mg alkoholového extraktu z rakytníku řešetlákového po dobu tří měsíců vede ke snížení citlivosti kardiovaskulárního systému k poškození nízkou teplotou (Dubey a kol. 2003). Studie na zvířatech ukázaly, že extrakt z rakytníku umožňuje v průběhu hypotermie vyvolané u krys posun anaerobního metabolismu k aerobnímu ovlivněním klíčových metabolických enzymů (Saggu a Kumar 2007). Současně olejové extrakty zpomalováním oxidačních procesů pomáhají stabilizovat membrány u zvířecích buněk. Po osmitýdenním podávání byla prokazatelně snížena hladina malondialdehydu v membránách erytrocytů stejně jako v játrech pokusných myší a tím byly tkáně zvířat více chráněny proti poškození mrazem (Yang a Kallio 2002b).

Modulace fyzické aktivity: Během testu, kdy byly pokusní potkani vystaveny stresovým podmínkám, jako jsou elektrošoky, hluk a světlo, byla u potkanů, kterým byl podán 70% ethanolový nebo vodný extrakt ze sušených listů rakytníku, zaznamenána zvýšená fyzická aktivita. Původní záměr testu prokázat vliv extraktů na schopnost krys učit se unikat stresovým faktorům a s tím spjatou kongitivní funkcí mozku se prokázat nepodařilo (Saggu a Kumar 2008).

Vliv na podráždění očí: Malé dávky rakytníkového oleje získaného z dužiny plodů mohou při orální aplikaci mimo jiné i potlačit syndrom suchých očí a snížit jejich pálení či zarudnutí (Larmo a kol. 2010).

Většina **bolest potlačujících** účinků je přičítána nezmýdelnitelné složce rakytníkového oleje (Zadernowski a kol. 1997).

Protizánětlivý účinek: U flavonoidového extraktu z listů rakytníku byl na myších prokázán významný účinek na snížení zvýšené hladiny NO a jeho radikálů, která byla vyvolána lipopolysacharidem. Tento efekt ale žádným způsobem neovlivnil životaschopnost makrofágů. Navíc byla v makrofázích pozorována i inhibice aktivace inducibilní NO synthasy. Tato pozorování naznačují, že extrakt z rakytníkových listů má významný protizánětlivý účinek a má potenciál pro léčbu zánětlivých onemocnění (Ganju a kol. 2005).

Antivirové účinky: Extrakt z listů rakytníku vykazuje podobné účinky jako komerčně dostupné antivirotikum Ribavirin®. Extrakt pomáhal *in vitro* udržovat životaschopnost krevních makrofágů nakažených virem způsobující horečku Dengue společně se snížením hladiny tumor nekrotizujícího faktoru- α a interferonu- γ (Jain a kol. 2008).

7. ZÁVĚR

Rakytník řešetlákový se stal v posledních několika letech rostlinou významnou zejména pro potravinářský a lékárenský průmysl. I když většina preparátů má zatím jen vysoký potenciál pro využití v moderní medicíně, některé již své uplanění v tomto oboru našly. Z nejvýznamnějších účinků lze zmínit antioxidační, antibakteriální a protinádorové. Extrakty z rakytníku řešetlákového mají též pozitivní vliv na funkci srdce a celý kardiovaskulární systém, ochraňují jaterní buňky před chemickým poškozením a mají příznivý efekt na pokožku, ať již při ochraně proti UV záření, nebo při léčbě symptomů atopických dermatitid.

Rakytník obsahuje celou řadu velmi důležitých chemických sloučenin. Koncentrace kyseliny askorbové ve šťávě izolované z bobulí mnohonásobně převyšuje koncentrace tohoto vitamínu v pomarančové šťávě. Zejména v listech rakytníku řešetlákového byly zjištěny vysoké hladiny flavonoidů, jako je quercetin, isorhamnetin a kaempferol a jejich glykosilovaných derivátů. Olejová složka obsažená v semenech i zbytku rakytníkových bobulí je bohatým zdrojem esenciálních mastných kyselin. Neméně podstatnou složkou olejové frakce jsou fytosteroly, které mohou díky podobné struktuře v organismu nahrazovat cholesterol. Z fytosterolů může být zmíněn zejména β -sitosterol a Δ^5 -avenasterol. Z tokoferolů jsou nejdůležitější a také v největším množství zastoupené izomery α a γ . Typickou oranžovožlutou barvu udělují plodům a produktům z rakytníku řešetlákového zejména karotenoidy, které jsou díky konjugovanému systému dvojných vazeb významnými antioxidanty a látkami absorbujícími škodlivé UV záření. Bylo zjištěno, že obsažené množství jednotlivých komponent je velice variabilní a je závislé na geografickém původu rostliny, stejně jako na poddruhu. Kvůli vyššímu obsahu důležitých biologicky aktivních látek bylo dodnes vyšlechtěno již mnoho kultivarů.

Dle řady odborníků je další prověřování stávajících a objevování nových sloučenin obsažených v rakytníkových plodech či listech velmi důležité a nezbytné pro komplexní využití léčebného potenciálu této rostliny. Velkým projektem může být průmyslové využití listů pro extrakci flavonoidů, neboť listy jsou levné, prozatím mnohem lépe dostupné než plody a jsou součástí i samčích rostlin, které plody neplodí.

Seznam použité literatury

- Agrawala, P. K., Goel, H. C. (2002): Protective effect of RH-3 with special reference to radiation induced micronuclei in mouse bone marrow, *Indian J Exp Biol*, 40, 525-530 (citováno dle autorského abstraktu)
- Andersson, S. C., Rumpunen, K., Johansson, E., Olsson, M. E. (2008): Tocopherols and tocotrienols in sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) berries during ripening, *J Agric Food Chem*, 56, 6701-6706
- Batool, F., Kamal, A., Sattar, M., Shah, A. H., Ahmed, S. D., Saify, Z. S., Haleem, D. J. (2011): Evaluation of antidepressant-like effects of aqueous extract of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L. ssp. *turkestanica*) fruit in experimental models of depression, *Pak J Bot*, 43, 1595-1599
- Bawa, A. S., Khanum, F., Singh, B. (2002): Seabuckthorn a wonder plant, *Nat Prod Radiance*, 1, 8-15
- Benherlal, P. S., Arumughan, C. (2008): Studies on modulation of DNA integrity in Fenton's system by phytochemicals, *Mutat Res*, 648, 1-8 (citováno dle autorského abstraktu)
- Beveridge, T. H. J. (2003): Vybrané kapitoly v knize *Sea Buckthorn (Hippophae rhamnoides L.) : Production and Utilization* (Beveridge, T. H. J., Li, T. S. C.), NRC Research Press, Ottawa
- Beveridge, T., Harrison, J. E. (2002a): Fruit structure of *Hippophae rhamnoides* cv. *Indian Summer* (sea buckthorn), *Can J Bot*, 80, 399-409
- Beveridge, T., Harrison, J. E., Drover, J. (2002b): Processing effects on the composition of sea buckthorn juice from *Hippophae rhamnoides* L. cv. *Indian Summer*, *J Agric Food Chem*, 50, 113-116
- Beveridge, T., Harrison, J. E., Gayton, R. R. (1992): Decanter centrifugation of apple mash: effect of centrifuge parameters, apple variety and apple storage, *Food Res Int*, 25, 125-130 (citováno dle autorského abstraktu)
- Beveridge, T., Li, T. S. C., Oomah, D. B., Smith, A. (1999): Sea buckthorn products: Manufacture and composition, *J Agric Food Chem*, 47, 3480-3488
- Boivin, D., Blanchette, M., Barrette, S., Moghrabi, A., Béliveau, R. (2007): Inhibition of cancer cell proliferation and suppression of TNF-induced activation of NF κ B by edible berry juice, *Anticancer Res*, 27, 937-948
- Brasovan, A., Codrea, V. (2008): Data on coal dumps retrieving in Petrosani Basin using sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*), *Analele Univ Oradea, Fasc Biol*, 15, 17-21
- Buřičová, L., Réblová, Z. (2008): Czech medicinal plants as possible sources of antioxidants, *Czech J Food Sci*, 26, 132-138
- Cakir A. (2004): Essential oil and fatty acid composition of the fruits of *Hippophae rhamnoides* L. (Sea Buckthorn) and *Myrtus communis* L. from Turkey, *Biochem Systemat Ecol*, 32, 809-816
- Cao, Q., Qu, W., Deng, Y., Zhang, Z., Niu, W., Pan, Y. (2003b): Effect of flavonoids from the seed and fruit residue of *Hippophae rhamnoides* L. on glycometabolism in mice, *Zhong Yao Cai*, 26, 735-737 (citováno dle autorského abstraktu)

- Cao, X., Ito, Y. (2003a): Supercritical fluid extraction of grape seed oil and subsequent separation of free fatty acids by high-speed counter-current chromatography, *J Chromatogr A*, 1021, 117–124
- Caredda, A., Marongiu, B., Porcedda, S., Soro, C. (2002): Supercritical carbon dioxide extraction and characterization of *Laurus nobilis* essential oil, *J Agric Food Chem*, 50, 1492–1496
- Cenkowski, S., Yakimishen, R., Przybylski, R., Muir, W. E. (2006): Quality of extracted sea buckthorn seed and pulp oil, *Can Biosystems Eng*, 48, 9-16
- Dharmananda, S.: Sea buckthorn, Institute for Traditional Medicine (Portland, Oregon, USA) [ONLINE], dostupné na: <http://www.itmonline.org/arts/seabuckthorn.htm>, staženo 29.4.2012
- Dorhoi, A., Dobrean, V., Zăhan, M., Virag, P. (2006): Modulatory effects of several herbal extracts on avian peripheral blood cell immune responses, *Phytother Res*, 20, 352–358
- Dubey, G. P., Agrawal, A., Dixit, S. P. (2003): Role of Seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides*) in the maintenance of cardiovascular homeostasis following cold stress, *J Nat Rem*, 3, 36-40
- Eccleston, C., Baoru, Y., Tahvonen, R., Kallio, H., Rimbach, G. H., Minihane, A. M. (2002): Effects of an antioxidant-rich juice (sea buckthorn) on risk factors for coronary heart disease in humans, *J Nutr Biochem*, 13, 346–354
- Ercisli, S., Orhana, E., Ozdemira, O., Sengulb, M. (2007): The genotypic effects on the chemical composition and antioxidant activity of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) berries grown in Turkey, *Scientia Horticult*, 115, 27-33
- Gaetke, R., Triquart, E. (1992): Pruning machine for mechanized harvest of sea buckthorn, *Gartenbau-Mag*, 1, 57-58 (citováno dle autorského abstraktu)
- Ganju, L., Padwad, Y., Singh, R., Karan, D., Chanda, S., Chopra, M. K., Bhatnagar, P., Kayshyap, R., Sawhney, R. C. (2005): Anti-inflammatory activity of Seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides*) leaves, *Int Immunopharmacol*, 5, 1675-1684
- Geetha, S., Jayamurthy, P., Pal, K., Pandey, S., Kumar, R., Sawhney, R. C. (2008): Hepatoprotective effects of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) against carbon tetrachloride induced liver injury in rats, *J Sci Food Agricult*, 88, 1592–1597
- Geetha, S., Rama, S. M., Singh, V., Ilavazhagana, G., Sawhney, R. C. (2002): Anti-oxidant and immunomodulatory properties of seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides*) — an in vitro study, *J Ethnopharmacol*, 79, 373-378
- Geetha, S., Ram, S. M., Mongia, S. S., Singh, Ilavazhagan, V. G., Sawhney, R. C. (2003): Evaluation of antioxidant activity of leaf extract of Seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) on chromium (VI) induced oxidative stress in albino rats, *J Ethnopharmacol*, 87, 247-251
- Ghangal, R., Raghuvanshi, S., Sharma, P. C. (2009): Isolation of good quality RNA from a medicinal plant seabuckthorn, rich in secondary metabolites, *Plant Physiol Biochem*, 47, 1113-1115
- Gilbert, M. G., Qin, H.: *Elaeagnaceae, Hippophaë*, v časopise *Flora of China*, vol. 13, kapitola 18 [ONLINE], dostupné na: http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora_id=2&taxon_id=115515, staženo 20. 4. 2012

- Goel, H. C., Prasad, J., Singh, S., Sagar, K., Kumar, I. P., Sinha, A. K. (2002): Radioprotection by a herbal preparation of *Hippophae rhamnoides*, RH-3, against whole body lethal irradiation in mice, *Phytomedicine*, 9, 15-25
- Gorbatsova, J., Lõugas, T., Vokk, R., Kaljurand, M. (2007): Comparison of the contents of various antioxidants of sea buckthorn berries using CE, *Electrophoresis*, 28, 4136-4142
- Guliyev, V. B., Gul, M., Yildirim, A. (2004): *Hippophae rhamnoides* L.: chromatographic methods to determine chemical composition, use in traditional medicine and pharmacological effects, *J Chromatography B*, 812, 291-307
- Gupta, A., Kumar, R., Pal, K., Singh, V., Banerjee, P. K., Sawhney, R. C. (2006): Influence of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) flavone on dermal wound healing in rats, *Mol Cell Biochem*, 290, 193-198
- Gutierrez, L. F. (2007): Extraction et caractéristiques des huiles de l'argousier (*Hippophaë rhamnoides* L.). Une étude des effets de la méthode de déshydratation des fruits sur le rendement d'extraction et la qualité des huiles, disertační práce, Univerzita Laval [ONLINE], dostupné na: <http://archimede.bibl.ulaval.ca/archimede/fichiers/24426/24426.html>, staženo 14.4.2012
- Gutzeit, D., Wray, V., Winterhalter, P., Jerz, G. (2007a): Preparative isolation and purification of flavonoids and protocatechuic acid from Sea Buckthorn juice concentrate (*Hippophaë rhamnoides* L. ssp. *rhamnoides*) by high-speed counter-current chromatography, *Chromatographia*, 65, 1-7
- Gutzeit, D., Baleanu, G., Winterhalter, P., Jerz, G. (2007b): Determination of processing effects and of storage stability on vitamin K1 (Phylloquinone) in Sea Buckthorn Berries (*Hippophaë rhamnoides* L. ssp. *rhamnoides*) and related products, *J Food Sci*, 72, 491-497
- Häkkinena, S., Heinonenc, M., Kärenlampid, S., Mykkänenena, H., Ruuskanene, J., Törrönenena, R. (1999): Screening of selected flavonoids and phenolicacids in 19 berries, *Food Res Int*, 32, 345-353
- Hibasami, H., Mitani, A., Katsuzaki, H., Imai, K., Yoshioka, K., Komiya, T. (2005): Isolation of five types of flavonol from seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides*) and induction of apoptosis by some of the flavonols in human promyelotic leukemia HL-60 cells, *Int J Mol Med*, 15, 805-809
- Hirvi, T., Honkanen, E. (1984): The aroma of the fruit of sea Buckthorn, *Hippophae rhamnoides*, L., *Z Lebensm-Unters Forsch A*, 179, 387-388 (citováno dle autorského abstraktu)
- Chauhan, A. S., Negi, P. S., Ramteke, R. S. (2007): Antioxidant and antibacterial activities of aqueous extract of Seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides*) seeds, *Fitoterapia*, 78, 590-592
- Chen, C., Zhang, H., Xiao, W., Yong, Z. P., Bai, N. (2007): High-performance liquid chromatographic fingerprint analysis for different origins of sea buckthorn berries, *J Chromatogr A*, 1154, 250-259
- Chen, T., Ni, M. K., Li, R., Ji, F. (1991): Investigation of the biological properties of Central Asian sea buckthorn growing in the province of Kansu (China), *Chem Nat Comp*, 27, 119-121
- Chen, Y., Zhong, X., Liu, T., Ge, Z. (2003): The study on the effects of the oil from *Hippophae rhamnoides* in hematopoiesis, *Zhong Yao Cai*, 26, 572-575 (citováno dle autorského abstraktu)

- Cheng, J., Kondo, K., Suzuki, Y., Ikeda, Y., Meng, X., Umemura, K. (2003): Inhibitory effects of total flavones of *Hippophae Rhamnoides* L. on thrombosis in mouse femoral artery and in vitro platelet aggregation, *Life Sci*, 72, 2263–2271
- Cheng, T. J. (1992): Protective action of seed oil of *Hippophae rhamnoides* L. (HR) against experimental liver injury in mice, *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi*, 26, 227-229 (citováno dle autorského abstraktu)
- Cheng, T. J., Pu, J. K., Wu, L. W., Ma, Z. R., Cao, Z., Li, T. J. (1994): An preliminary study on hepato-protective action of seed oil of *Hippophae rhamnoides* L. (HR) and mechanism of the action, *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, 19, 367-370 (citováno dle autorského abstraktu)
- Ianev, E., Radev, S., Balutsov, M., Klouchek, E., Popov, A. (1995): The effect of an extract of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) on the healing of experimental skin wounds in rats, *Khirurgiia (Sofia)*, 48, 30-33 (citováno dle autorského abstraktu)
- Jain, M., Ganju, L., Katiyal, A., Padwad, Y., Mishra, K. P., Chanda, S., Karan, D., Yogendra, K. M., Sawhney, R. C. (2008): Effect of *Hippophae rhamnoides* leaf extract against Dengue virus infection in human blood-derived macrophages, *Phytomedicine*, 15, 793-799
- Jeppsson, N., Gao, X. (2000): Changes in the contents of kaempferol, quercetin and L-ascorbic acid in sea buckthorn berries during maturation, *Agricult Food Sci Finland*, 9, 17-22
- Johansson, A. K., Korte, H., Yang, B., Stanley, J. C., Kallio, H. P. (2000): Sea buckthorn berry oil inhibits platelet aggregation, *J Nutr Biochem*, 11, 491– 495
- Johnson, L. A., Lusas, E. W. (1983): Comparison of alternative solvents for oils extraction, *J Am Oil Chem Soc*, 60, 229-242
- Jones, P. J., MacDougall, D. E., Ntanios, F., Vanstone, C. A. (1997): Dietary phytosterols as cholesterol-lowering agents in humus, *Can J Physiol Pharmacol*, 75, 217-227 (citováno dle autorského abstraktu)
- Kabasakalis, V., Siopidou, D., Moshatou, E. (2000): Ascorbic acid content of commercial fruit juices and its rate of loss upon storage, *Food Chem*, 70, 325-328
- Kagliwal, L. D., Patil, S. C., Pol, A. S., Singhal, R. S., Patravale, V. B. (2011): Separation of bioactives from seabuckthorn seeds by supercritical carbon dioxide extraction methodology through solubility parameter approach, *Separ Purif Technol*, 80, 533–540
- Kallio, H., Lassila, M., Järvenpää, E., Haraldsson, G. G., Jonsdottir, S., Yang, B. (2009): Inositols and methylinositols in sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides*) berries, *J Chromatogr B*, 877, 1426–1432
- Kallio, H., Yang, B., Peippo, P., Tahvonen, R., Pan, R. (2002): Triacylglycerols, glycerophospholipids, tocopherols, and tocotrienols in berries and seeds of two subspecies (ssp. *sinensis* and *mongolica*) of Sea Buckthorn (*Hippophaë rhamnoides*), *J Agric Food Chem*, 50, 3004-3009
- Kasparaviciene, G., Briedis, V., Ivanauskas, L. (2004): Influence of sea buckthorn oil production technology on its antioxidant activity, *Medicina (Kaunas)*, 40, 753-757 (citováno dle autorského abstraktu)
- Larmo, P. S., Järvinen, J. L., Setälä, N. L., Yang, B., Viitanen, M. H., Engblom, J. R. K., Tahvonen, R. L., Kallio, H. P. (2010): Oral sea buckthorn oil attenuates tear film osmolarity and symptoms in individuals with dry eye, *J Nutr*, 140, 1462–1468

- Li, T. S. C (2002): Product Development of Sea Buckthorn, *Trends New Crops New Uses*, 2002, 393-398
- Li, T. S. C (2003): Kapitola 1 – Introduction, v knize *Sea Buckthorn (Hippophae rhamnoides L.) : Production and Utilization* (Beveridge, T. H. J., Li, T. S. C), NRC Research Press, Ottawa, str. 1-5
- Li, T. S. C, Beveridge, T. H. J. Drover, J. C. G. (2007): Phytosterol content of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) seed oil: Extraction and identification, *Food Chem*, 101, 1633–1639
- Li, T. S. C., Schroeder, W. R. (1996): Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.): A multipurpose plant, *Hort Technol*, 6, 370-380
- Li, Y., Xu, C., Zhang, Q., Liu, J. Y., Tan, R. X. (2005): In vitro anti-*Helicobacter pylori* action of 30 Chinese herbal medicines used to treat ulcer disease, *J Ethnopharmacol*, 98, 329-333
- Liao, X., Zhang, M., Wang, W. (2005): Effect of the total flavones of *Hippophae Rhamnoides* L. on nitric oxide and endothelin in hypertensives, *West China Med J*, 20, 2005-02 (citováno dle autorského abstraktu), [ONLINE], dostupné na http://en.cnki.com.cn/Journal_en/E-E000-HXYX-2005-02.htm, staženo 10. 4. 2012
- Malina, J. (2010): Výživové parametry netradičních odrůd rakytníku řešetlákového (*Hippophae rhamnoides*), diplomová práce, Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
- Mamleyeva, I. P., Dudikova, G. N., Orlyuk, T. M. (2008): Chapter III. - Obtaining the natural food aditives from fruit-berry raw material, v knize *Research Progress in Biotechnology* (editor Zaikov, E. G.), Nova Science Publishers, str. 15 - 26 [ONLINE] dostupné na: <http://books.google.cz/books?id=NBO4TGm0dtgC&pg=PR9&dq=Research+Progress+in+Biotechnology&hl=cs&sa=X&ei=TH-2T-zMGImAOrX1K4K&ved=0CDsQ6AEwAA#v=onepage&q=Research%20Progress%20in%20Biotechnology&f=false>, staženo 29.4.2012
- Mann, D. D., Petkau, D. S., Crowe, T. G., Schroeder, W. R. (2001): Removal of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) berries by shaking, *Can Biosystems Eng*, 43, 23-28
- Mansurova, I. D., Linchevskaia, A. A., Molchagina, R. P., Bobodzhanova, M. B. (1978): Oleum hippophaë, a stabilizer of biological membranes, *Farmakol Toksikol*, 41, 105-109 (citováno dle autorského abstraktu)
- Michel, T., Destandau, E., Elfakir, C. (2011): On-line hyphenation of centrifugal partition chromatography and high pressure liquid chromatography for the fractionation of flavonoids from *Hippophaë rhamnoides* L. berries, *J Chromatogr A*, 1218, 6173-6178
- Mikulčák, J., Klimeš, B., Široký, J., Šůla, V., Zemánek, F. (1985): Chemické tabulky pro střední průmyslové školy chemické a s chemickým zaměřením, Státní pedagogické nakladatelství, Praha
- Mishra, K. P., Chanda, S., Karan, D., Ganju, L., Sawhney, R. C. (2008): Effect of Seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides*) flavone on immune system: an *in-vitro* approach, *Phytother Res*, 22, 1490-1495
- Mountain Rose Herbs (Eugene, Oregon, USA) [ONLINE], dostupné na: http://www.mountainroseherbs.com/learn/oilprofile/sea_buckthorn.php, staženo 29.4.2012

- Moyler, D. A. (1993): Extraction of essential oils with carbon dioxide, *Flavour Fragrance J*, 8, 235–247 (citováno dle autorského abstraktu)
- Negi, P. S., Chauhan, A. S., Sadia, G. A., Rohinishree, Y. S., Ramteke, R. S. (2005): Antioxidant and antibacterial activities of various seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) seed extracts, *Food Chem*, 92, 119–124
- Nemțanu, M. R., Minea, R., Mazilu, E., Setnic, S., Mitru, E., Balotescu, C., Bucur, M., Oproiu, C., Mihăescu, G., Dițu, L. M. (2009): Effects of ionizing radiation on the antioxidant and antimicrobial activities of sea buckthorn oil, *Acta Hort (ISHS)*, 826, 255-260 (dle abstraktu)
- Nijveldt, R. J., van Nood, E., van Hoorn, D. E. C., Boelens, P. G., van Norren, K., van Leeuwen, P. A. M. (2001): Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications, *Am J Clin Nutr*, 74, 418–425
- Nöthlings, U., Murphy, S. P., Wilkens, L. R., Henderson, B. E., Kolonel, L. N. (2007): Flavonols and pancreatic cancer risk, *Am J Epidemiol*, 166, 924-931
- Opletal, L., Volák, J. (1999): *Rostliny pro zdraví*, Aventinum, Praha
- Padmavathi, B., Upreti, M., Singh, V., Rao, A. R., Singh, R. P., Pramod, C., Rath, P. C. (2005): Chemoprevention by *Hippophae rhamnoides*: Effects on tumorigenesis, phase II and antioxidant enzymes, and IRF-1 transcription factor, *Nutr Cancer*, 51, 59-67
- Paliwal, S., Sundaram, J., Mitragotri, S. (2005): Induction of cancer-specific cytotoxicity towards human prostate and skin cells using quercetin and ultrasound, *Br J Cancer*, 92, 499–502
- Pang, X., Zhao, J., Zhang, W., Zhuang, X., Wang, J., Xu, R., Xu, Z., Qu, W. (2008): Antihypertensive effect of total flavones extracted from seed residues of *Hippophae rhamnoides* L. in sucrose-fed rats, *J Ethnopharmacol*, 117, 325–331
- Prakash, H., Bala, M., Ali, A., Goel, H. C. (2005): Modification of gamma radiation induced response of peritoneal macrophages and splenocytes by *Hippophae rhamnoides* (RH-3) in mice, *J Pharm Pharmacol*, 57, 1065 – 1072 (citováno dle autorského abstraktu)
- PubChem Substance, [ONLINE] dostupné na: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pcsubstance>, staženo 27.4.2012
- Pukhal'skaya, E. Ch., Petrova, M. F., Men'shikov, G. P. (1961): A 5-hydroxytryptamine from *Hippophae rhamnoides* as an antitumor preparation in experiments on animals, *Bull Exp Biol Med*, 50, 1076-1080
- Raffo, A., Paoletti, F., Antonelli, M. (2004): Changes in sugar, organic acid, flavonol and carotenoid composition during ripening of berries of three seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) cultivars, *Eur Food Res Technol*, 219, 360-368
- Saggu, S., Kumar, R. (2007): Possible mechanism of adaptogenic activity of seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides*) during exposure to cold, hypoxia and restraint (C-H-R) stress induced hypothermia and post stress recovery in rats, *Food Chem Toxicol*, 45, 2426-2433
- Saggu, S., Kumar, R. (2008): Effect of seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides*) leaf aqueous and ethanol extracts on avoidance learning during stressful endurance performance of rats: a dose dependent study, *Phytother Res*, 22, 1183-1187

- Seglina, D., Karklina, D., Ruisa, S., Krasnova, I. (2006): The effect of processing on the composition of sea buckthorn juice, *J Fruit Ornam Plant Res*, 14, 257-264
- Shapiro, D. K., Prilishch, N. P., Vasilevskaya, T. I., Starkova, N. Yu. (1986): Study of vitamin K1 (phylloquinone) and betaine in the fruit of sea buckthorn grown in Byelorussia, *Biologiya, khimiya, introduktsiya i selektsiya oblepikhi*, Gorkij, GSCHI, str. 120-122 (citováno dle autorského abstraktu)
- Sharma, U. K., Sharma, K., Sharma, N., Sharma, A., Singh, H. P., Sinha, A. K. (2008): Microwave-assisted efficient extraction of different parts of *Hippophae rhamnoides* for the comparative evaluation of antioxidant activity and quantification of its phenolic constituents by reverse-phase high-performance liquid chromatography (RP-HPLC), *J Agric Food Chem*, 56, 374-379
- Schwenke, D. C. (1998): Antioxidants and atherogenesis, *J Nutr Biochem*, 9, 424-445
- Song, Z., Ying, G. (1995): Effect of sea buckthorn oil and vitamin E on lipid peroxidation of rat after cold exposure, *Acta Nutrimenta Sinica*, 1995-01, (citováno dle autorského abstraktu) [ONLINE], dostupné na http://en.cnki.com.cn/Journal_en/E-E055-YYXX-1995-01.htm, staženo 28. 4. 2012
- Stahl, E., Schuetz, E., Mangold, H. K. (1980): Extraction of seed oils with liquid and supercritical carbon dioxide, *J Agric Food Chem*, 28, 1153-1157
- Strålsjö, L., Åhlin, H., Witthöft, C. M., Jastrebova, J. (2003): Folate determination in Swedish berries by radioprotein-binding assay (RPBA) and high performance liquid chromatography (HPLC), *Eur Food Res Technol*, 216, 264-269
- Süleyman, H., Demirezer, L. Ö, Büyükokuroglu, M. E., Akcay, M. F., Gepdiremen, A., Banoglu, Z. N., Göçer, F. (2001): Antiulcerogenic Effect of *Hippophae rhamnoides* L., *Phytother Res*, 15, 625-627
- Sun, B., Zhang, P., Qu, W., Zhang, X., Zhang, X., Yang H. (2003): Study on effect of flavonoids from oil-removed seeds of *Hippophae rhamnoides* on inducing apoptosis of human hepatoma cell, *Zhong Yao Cai*, 26, 875-877
- Sun, M., Temelli, F. (2006): Supercritical carbon dioxide extraction of carotenoids from carrot using canola oil as a continuous co-solvent, *J Supercrit Fluids*, 37, 397-408 (citováno dle autorského abstraktu)
- Suomela, J. P., Ahotupa, M., Yang, B., Vasankari, T., Kallio, H. (2006): Absorption of flavonols derived from sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) and their effect on emerging risk factors for cardiovascular disease in humans, *J Agric Food Chem*, 54, 7364-7369
- Šťastová, J., Jež, J., Bártlová, H., Sovová, M. (1996): Rate of the vegetable oil extraction with supercritical CO₂-III. extraction from sea buckthorn, *Chem Eng Sci*, 51, 4347-4352
- Teng, B. S., Lu, Y. H., Wang, Z. T., Tao, X. Y., Wei, D. Z. (2006): In vitro anti-tumor activity of isorhamnetin isolated from *Hippophae rhamnoides* L. against BEL-7402 cells, *Pharmacol Res*, 54, 186-194
- Terekhina, N. V. (2004): Interactive Agricultural Ecological Atlas of Russia and Neighboring Countries, Economic plants and crops [ONLINE], dostupné na: [http://www.agroatlas.ru/en/content/cultural/Hippophae_rhamnoides K/](http://www.agroatlas.ru/en/content/cultural/Hippophae_rhamnoides_K/), staženo 12. 02. 2012

- Tiitinen, K. M., Hakala, M. A., Kallio, H. P. (2005): Quality components of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) varieties, *J Agric Food Chem*, 53, 1692-1699
- Upadhyay, N. K., Kumar, R., Mandotra, S. K., Meena, R. N., Siddiqui, M. S., Sawhney, R. C., Gupta, A. (2009): Safety and healing efficacy of Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) seed oil on burn wounds in rats, *Food Chem Toxicol*, 47, 1146-1153
- Varlamov, G. P., Gabuniya, V. G. (1990): Picking sea buckthorn fruit by suction air stream, *Traktory Sel'skokhoz Mashiny*, 1, 29-30 (dle abstraktu)
- Wang, Z. Y., Luo, X. L., He, C. P. (2006): Management of burn wounds with *Hippophae rhamnoides* oil, *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao (J South Med Univ)*, 26, 124-125 (citováno dle autorského abstraktu)
- Xavier, C. P. R., Lima, C. F., Rohde, M., Pereira-Wilson, C. (2011): Quercetin enhances 5-fluorouracil-induced apoptosis in MSI colorectal cancer cells through p53 modulation, *Cancer Chemother Pharmacol*, 68, 1449-1457
- Xing, J., Hou, J., Dong, Y., Wang, B. (2003): Effects on gastric secretion and anti-gastric ulcer action of Sea Buckthorn pulp oil in rats, *Zhongguo Yao Fang*, 2003-08 (citováno dle autorského abstraktu) [ONLINE], dostupné na <http://en.cnki.com.cn/Journal en/E-E079-ZGYA-2003-08.htm>, staženo 29. 4. 2012
- Xing, J., Yang, B., Dong, Y., Wang, B., Wang, J., Kallio, H. P. (2002): Effects of sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) seed and pulp oils on experimental models of gastric ulcer in rats, *Fitoterapia*, 73, 644-650
- Xu, X., Gao, Y., Liu, G., Wang, Q., Zhao, J. (2008): Optimization of supercritical carbon dioxide extraction of sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) oil using response surface methodology, *LWT - Food Sci Technol*, 41, 1223-1231
- Xu, X., Xie, B., Pan, S., Liu, L., Wang, Y., Chen, C. (2007): Effects of sea buckthorn procyanidins on healing of acetic acid-induced lesions in the rat stomach, *Asia Pac J Clin Nutr*, 16, 234-238 (citováno dle autorského abstraktu)
- Yakimishen, R., Cenkowski, S., Muir, W. E. (2005): Oil recoveries from sea buckthorn seeds and pulp, *App Eng Agricult*, 21, 1047-1055 (citováno dle autorského abstraktu)
- Yang, B., Kalimo, K. O., Mattila, L. M., Kallio, S. E., Katajisto, J. K., Peltola, O. J., Kallio H. P. (1999): Effects of dietary supplementation with sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides*) seed and pulp oils on atopic dermatitis, *J Nutr Biochem*, 10, 622-630
- Yang, B., Kalimo, K. O., Tahvonen, R. L., Mattila, L. M., Kajisto, J. K., Kallio, H. P. (2000): Effect of dietary supplementation with sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides*) seed and pulp oils on the fatty acid composition of skin glycerophospholipids of patients with atopic dermatitis, *J Nutr Biochem*, 11, 338-340
- Yang, B., Kallio, H. (2002a): Effects of harvesting time on triacylglycerols and glycerophospholipids of Sea Buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) berries of different origins, *J Food Compos Anal*, 15, 143-157
- Yang, B., Kallio, H. (2002b): Composition and physiological effects of sea buckthorn (*Hippophaë*) lipids, *Trends Food Sci Technol*, 13, 160-167
- Yang, B., Kallio, H. P. (2001a): Fatty acid composition of lipids in Sea Buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) berries of different origins, *J Agric Food Chem*, 49, 1939-1947

- Yang, B., Karlsson, R. M., Oksman, P. H., Kallio, H. P. (2001b): Phytosterols in Sea Buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) Berries: Identification and Effects of Different Origins and Harvesting Times, *J Agric Food Chem*, 49, 5620–5629 (citováno dle autorského abstraktu)
- Yin, J. Z., Wang, A. Q., Wei, W., Lui, Y., Shi, W. H. (2005): Analysis of the operation conditions for supercritical fluid extraction of seed oil, *Separ Purif Technol*, 43, 163–167
- Yu, L., Sui, Z., Fan, H. (1993): Effects of *Hippophae Rhamnoides* L. juice on immunologic and antitumor functions, *Acta Nutrimenta Sinica*, 1993-03 (citováno dle autorského abstraktu) [ONLINE], dostupné na http://en.cnki.com.cn/Journal_en/E-E055-YYXX-1993-03.htm, staženo 24. 4. 2012
- Zadernowski, R., Nowak-Polakowska, H., Lossow, B., Nesterowicz, J. (1997): Sea-Buckthorn lipids, *J Food Lipids*, 4, 165-172
- Zeb, A. (2004a): Chemical and nutritional constituents of sea buckthorn juice, *Pak J Nutr*, 3, 99-106
- Zeb, A. (2004b): Important therapeutic uses of sea buckthorn (*Hippophae*): A review, *J Biol Sci*, 4, 687-693
- Zhang, P., Mao, Y. C., Sun, B., Qian, M., Qu, W. J. (2005): Changes in apoptosis-related genes expression profile in human breast carcinoma cell line Bcap-37 induced by flavonoids from seed residues of *Hippophae Rhamnoides* L., *Ai Zheng*, 24, 454-460 (citováno dle autorského abstraktu)
- Zhang, X., Zhang, M., Gao, Z., Wang, J., Wang Z. (2001): Effect of total flavones of *Hippophae rhamnoides* L. on sympathetic activity in hypertension, *Hua Xi Yi Ke Da Xue Xue Bao*, 32, 547-50 (citováno dle autorského abstraktu)
- Zhao, X., Zhang, Y., Meng, X., Yin, P., Deng, C., Chen, J., Wang, Z., Xu, G. (2008): Effect of a traditional Chinese medicine preparation Xindi soft capsule on rat model of acute blood stasis: a urinary metabonomics study based on liquid chromatography-mass spectrometry, *J Chromatogr B*, 873, 151-158
- Zhao, Y., Wu, F. (1997): Seabuckthorn flavonoids and their medical value, *Hippophae*, 10, 39-41
- Zhu, F., Zhang, M., Wang, J. (2000): Inhibitory effect of total flavones of hippophae rhamnoides L on angiotensin converting enzyme from rabbit, *Chin J Clin Pharmacy*, 2000-02 [ONLINE], dostupné na: <http://www.oriprobe.com/journals/zglcyxzz.html>, staženo 10. 4. 2012
- Zhu, F., Bo, H., Hu, C. Y., Jiang, Q. Y., Lu, Z. G., Lu, M., Wang, M. H., Gong, M., Qiao, Q. P., Chen, W. (2005): Effects of total flavonoids of *Hippophae Rhamnoides* L. on intracellular free calcium in cultured vascular smooth muscle cells of spontaneously hypertensive rats and Wistar-Kyoto rats, *Chin J Integr Med*, 11, 287-292
- 65 Eleman World, S. L. (Murcia, Španělsko) [ONLINE], dostupné na: http://commodities-eleman65.com/pdf/SPECIFICATIONS_OIL.pdf, staženo 29. 4. 2012

Svoluji k zapůjčení této práce pro studijní účely a prosím, aby byla řádně vedena evidence vypůjčovateli.

Jméno a příjmení s adresou	Číslo OP	Datum vypůjčení	Poznámka
-------------------------------	----------	-----------------	----------