

Pasji trn (*Hippophae rhamnoides* L.) kemijski sastav i moguća primjena

Šaško, Dolores

Undergraduate thesis / Završni rad

2021

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:564405>

Rights / Prava: [Attribution-NoDerivatives 4.0 International](#)/[Imenovanje-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-16**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)



Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Preddiplomski studij – Nutricionizam

Dolores Šaško

7622/N

PASJI TRN (*Hippophae rhamnoides* L.)-kemijski sastav i moguća primjena

ZAVRŠNI RAD

Naziv znanstveno-istraživačkog projekta: Bioaktivne molekule ljekovitog bilja kao prirodni antioksidansi, mikrobiocidi i konzervansi (KK.01.1.1.04.0093), koji je sufinanciran sredstvima Europske unije iz Europskog fonda za regionalni razvoj- Program: Ulaganje u znanost i inovacije; Operativni program Konkurentnost i kohezija 2014. -2020.

Mentor: prof.dr.sc. Verica Dragović-Uzelac

Zagreb, 2021.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu

Prehrambeno-biotehnološki fakultet

Preddiplomski sveučilišni studij Nutricionizam

Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo

Laboratorij za procese sušenja i praćenje stabilnosti biološki aktivnih spojeva

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Nutricionizam

PASJI TRN (*Hippophae rhamnoides* L.)-kemijski sastav i moguća primjena

Dolores Šaško, 0058213116

Sažetak: Pasji trn (*Hippophae rhamnoides* L.) je listopadna grmolika biljna vrsta iz obitelji Elaeagnaceae, prirodno rasprostranjena u Europi i Aziji. Izvrstan je izvor brojnih biološki aktivnih molekula- flavonoida, fenolnih kiselina, karotenoida, fitosterola, vitamina C, E i A, raznih minerala, polinezasićenih masnih kiselina, zbog čega posjeduje antioksidativno, anitimikrobno, protuupalno, citoprotektivno, antitumorsko, kardioprotektivno, neuroprotektivno, imunomodulatorno, hepatoprotektivno, antihipertenzivno i antidijabetičko djelovanje. Uz medicinsku uporabu, dijelovi pasjeg trna, uglavnom plodovi, mogu se preraditi u prehrambene proizvode poput soka, alkoholnih pića, marmelade, čaja, ulja, ili se koristiti kao aditiv u proizvodnji kruha, mesnih i mliječnih proizvoda, dječje hrane. U Hrvatskoj je vrlo rijetko prisutan u uzgoju ili subsponatno proširen, uglavnom se nalazi na području Međimurja i Podravine, uz rijeke Muru i Dravu te predstavlja vrijedan i jedinstven primjerak vegetacije koja izumire, zbog čega joj treba dati odgovarajući prirodnoznanstveni značaj i zaštitu radi daljnjeg očuvanja.

Ključne riječi: biološki aktivni spojevi, *Hippophae rhamnoides* L., kemijski sastav, ljekovita biljka, pasji trn

Rad sadrži: 30 stranica, 11 slika, 7 tablica, 39 literaturnih navoda

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom obliku pohranjen: u knjižnici Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: prof.dr.sc. Verica Dragović-Uzelac

Datum obrane: 8. srpanj, 2021.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Bachelor thesis

University of Zagreb

Faculty of Food Technology and Biotechnology

University undergraduate study Nutrition Science

Department of Food Engineering

Laboratory For Drying Technologies And Monitoring Of Biologically Active Compounds

Scientific area: Biotechnical Sciences

Scientific field: Nutrition

Chemical composition and possible use of SEA BUCKTHORN (*Hippophae rhamnoides* L.)

Dolores Šaško, 0058213116

Abstract: Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) is a deciduous shrubby plant from the family Elaeagnaceae, native in Europe and Asia. It is an excellent source of numerous biologically active molecules - flavonoids, phenolic acids, carotenoids, phytosterols, vitamins C, E and A, various minerals, polyunsaturated fatty acids, which is why it has antioxidant, antimicrobial, antiinflammatory, cytoprotective, antitumor, cardioprotective, neuroprotective, immunomodulatory, hepatoprotective, antihypertensive and antidiabetic effect. Beside medical use, sea buckthorn parts, mainly fruits, can be processed into products such as juice, alcoholic beverages, jams, tea, oil or used as an additive in the production of bread, meat and dairy products, baby food. In Croatia it is very rarely present in cultivation or it is subsontaneously expanded, mainly found in the area of Međimurje and Podravina, along the rivers Mura and Drava. Because of that, it represents valuable and unique specimen of endangered vegetation, which is why it should be given appropriate natural significance and protection for further preservation.

Keywords: bioactive compounds, chemical composition, herb, *Hippophae rhamnoides* L., sea buckthorn

Thesis contains: 30 pages, 11 figures, 7 tables, 39 references

Original in: Croatian

Thesis is in printed and electronic form deposited: in the library of the Faculty of

Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb, Kačićeva 23, 10 000

Zagreb

Mentor: PhD. Verica Dragović-Uzelac, Full Professor

Defence date: 8th July, 2021.



Ovaj rad je izrađen u Laboratoriju za procese sušenja i praćenje stabilnosti biološki aktivnih spojeva Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu u okviru projekta „Bioaktivne molekule ljekovitog bilja kao prirodni antioksidansi, mikrobiocidi i konzervansi“ (KK.01.1.1.04.0093), koji je sufinanciran sredstvima Europske unije iz Europskog fonda za regionalni razvoj- Program: Ulaganje u znanost i inovacije; Operativni program Konkurentnost i kohezija 2014.-2020.



SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	2
2.1. Botaničke i morfološke karakteristike pasjeg trna	2
2.1.2. Pasji trn u Hrvatskoj	3
2.2. Kemijski sastav	4
2.2.1. Suha tvar i šećeri	6
2.2.2. Aminokiseline	7
2.2.3. Organske kiseline, vitamini i minerali	7
2.3. Bioaktivni spojevi pasjeg trna	9
2.3.1. Fenolni spojevi pasjeg trna	9
2.3.2. Karotenoidi pasjeg trna	13
2.3.3. Fitosteroli pasjeg trna	14
2.4. Prerada i proizvodi na bazi pasjeg trna	15
2.4.1. Primjena pasjeg trna u prehrambenoj industriji	15
2.4.2. Primjena pasjeg trna u farmaceutskoj i kozmetičkoj industriji	20
2.4.3. Toksičnost pasjeg trna	25
3. ZAKLJUČAK	26
Popis literature	27

1. UVOD

Pasji trn (*Hippophae rhamnoides* L.) je listopadna grmolika biljna vrsta iz obitelji Elaeagnaceae, koja je prirodno rasprostranjena u Europi i Aziji. Samoniklo raste u planinskim regijama i dobro podnosi različite okolišne uvjete, s naglaskom na otpor prema višoj slanosti tla, što je čini pionirskom biljkom. Zbog bogatog sadržaja različitih biološki aktivnih molekula, biljka je u Tibetu, Mongoliji i Kini kategorizirana kao ljekovita biljka više od tisućljeća. Od 1950-ih u Kini i bivšem Sovjetskom Savezu, mnogi ljekoviti pripravci od pasjeg trna, i samoniklog i kultiviranog, korišteni su klinički u liječenju različitih oštećenja organizma- opekline, rana, oralnih upala, čira na želucu, rana nastalih kao posljedica zračenja itd. Uz medicinsku uporabu, plodovi (bobice) pasjeg trna mogu se preraditi u prehrambene proizvode poput soka i marmelade ili se koristiti kao aditivi u proizvodnji (Cossuta i sur., 2007).

Različiti dijelovi biljke, a naročito plodovi, sadrže brojne biološki aktivne molekule među kojima se ističu flavonoidi, fenolne kiseline, karotenoidi i fitosteroli te vitamine (od kojih su najzastupljeniji C, E i A), minerale, esencijalne aminokiseline i polinezasićene masne kiseline. Specifičan kemijski sastav uz prisustvo spomenutih bioaktivnih molekula u visokoj koncentraciji rezultiraju značajnom biološkom aktivnosti. Ove bioaktivne molekule pokazuju antioksidativno, anitimikrobno, protuupalno, citoprotektivno, antitumorsko, kardioprotektivno, neuroprotektivno, imunomodulatorno, hepatoprotektivno, antihipertenzivno i antidijabetičko djelovanje, zbog čega pasji trn ima pozitivno djelovanje po zdravlje čovjeka.

U okviru projekta „Bioaktivne molekule ljekovitog bilja kao prirodni antioksidansi, mikrobiocidi i konzervansi“ provode se različita istraživanja o utjecaju konvencionalnih i naprednih tehnika izolacije na bioaktivne molekule ljekovitog bilja te se ispituje potencijal biljaka za proizvodnju funkcionalnih proizvoda.

Stoga je cilj ovog rada dati prikaz kemijskog sastava biljke pasji trn, s naglaskom na različite klase bioaktivnih molekula, kao i pregled proizvoda koji se mogu dobiti njegovom preradom.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. Botaničke i morfološke karakteristike pasjeg trna

Ova biljna vrsta, iz obitelji Elaeagnacea, porijeklom je s područja Euroazije te je pripitomljena u zemljama poput Indije, Kine, Pakistana, Nepala, Rusije, Finske, Rumunjske, Mjanmara, na nadmorskoj visini 2500-4300 m (Yogendra Kumar i sur., 2011). U literaturi se, osim tipične podvrste (ssp. *ramnoides*), koja se razvija na prirodnim dinama Atlanskoga oceana, navode još dvije podvrste ssp. *carpatica* Rousi i ssp. *Fluviatilis* Soest, koje se razvijaju na riječnim sprudovima, no prema autorima, radi se samo o jednoj jedinstvenoj vrsti: *Hippophae ramnoides* L. (Franjić i sur., 2016).

Tablica 1. Sistematika pasjeg trna (*Hippophae ramnoides* L.) (Anonymous 1, 2020)

Taksonomska kategorija	Naziv
Carstvo	Plantae
Divizija	Tracheophyta
Razred	Magnoliopsida
Red	Rhamnales
Porodica	Elaeagnaceae
Rod	<i>Hippophae</i>
Vrsta	<i>Hippophae ramnoides</i>

Pasji ili vučji trn (prikazuje slika 2.) je listopadni grm ili niže stablo visine do 6 m, snažno razvijena korijenja. Na stabljici ima razgranate, gole i crvenosmeđe grane čiji se postrani ogranci razvijaju u trnove. Jednogodišnje grane prekrivene su srebrnastosivim dlakama.

Linearnosuličasti listovi su srebrnastosivi i prekriveni zvjezdastim dlakama, dugački 5 – 7 cm, a dolaze izmjenično na oko 5 mm dugoj peteljci. Dvodomna je vrsta. Oprašuje se kukcima.

Cvjetovi su sitni, razvijaju se na prošlogodišnjim ograncima, a cvjetanje ovisi o klimatskim uvjetima te može biti prije ili istodobno s listanjem, od ožujka do travnja. Ocvjeće je neugledno u obliku dvolapne čaške, ima četiri prašnika te jedan tučak, s nadraslom, jednogradnom plodnicom i jednim sjemenim zametkom. Plod je narančastocrvena sočna bobica, dužine 7 – 8 mm, a čvrsti endokarp obavlja samo jednu sjemenku. Opisane dijelove biljke pasji trn prikazuje slika 1. Plod je ljekovit i hranjiv, bogat vitaminom C, a osim u narodnoj medicini, korišten je i za ishranu životinja, posebno konja, odakle i naziv- *grč. hippophae (konjski sjaj)*.

Razmnožava se vegetativno – ukorjenjivanjem izbojaka donesenih riječnim bujicama i generativno – sjemenkama koje raznose ptice. U hortikulturi se koristi kao ukrasni grm, a zbog snažnog i brzog zakorjenjivanja i kao pionirska vrsta za učvršćivanje golih terena (Horvat, 2017).



Slika 1. Dijelovi biljke (Anonymous 3, 2020)



Slika 2. Pasji trn (Anonymous 2, 2020)

2.1.2. Pasji trn u Hrvatskoj

Pasji trn je glacijalni relikat koji se pred povlačenjem ledenoga pokrova širio prema sjeveru i višim planinskim položajima. U Hrvatskoj se nalazi na području Međimurja i Podravine, uz rijeke Muru i Dravu. Vrlo je rijedak u uzgoju ili subspontano proširen te se još navodi i za područje Samobora, Skradina, a u uzgoju se nalazi i u Botaničkom vrtu Prirodoslovno-matematičkoga fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Nespešu, Starom Brestju (Sesvete), uz brzu cestu Sv. Helena – Bjelovar i u Park-šumi Adica u Vukovaru. Dugo se u Hrvatskoj vodio kao regionalno izumrla svojta- do onda kada je u okviru istraživanja vegetacije u Ludbreškoj Podravini, provedenog u lipnju 2015. godine, zabilježeno novo stanište *H. rhamnoides*, na lokaciji u blizini akumulacije Dubrava, sjeverno od naselja Veliki i Mali Bukovec. Radi se o zajednici različite starosti i veličine, pretežno muških jedinki, zbog čega širenje vrste nije moguće.

Prema tome, ova zajednica predstavlja vrijedan i jedinstven primjerak vegetacije koja izumire na hrvatskom prostoru zbog čega joj treba dati odgovarajući prirodoslovni značaj i zaštitu radi daljnjeg očuvanja (Franjić i sur., 2016).

2.2. Kemijski sastav

Prva biokemijska analiza plodova pasjeg trna provedena je davne 1929. godine (Zakynthinos i Varzakas, 2015), a veći broj kasnije provedenih istraživanja plodova, sjemena i listova pasjeg trna potvrdila su njegovu ljekovitu i hranjivu vrijednost. Udio pojedinih kemijskih sastavnica pojedinih dijelova pasjeg trna prikazuje tablica 3. Svi dijelovi ove biljke smatraju se dobrim izvorom velikog broja bioaktivnih spojeva, uključujući karotenoide, tokoferole, sterole, flavonoide, lipide, vitamine, tanine, minerale, koji doprinose njegovoj širokoj upotrebi kao prirodnog antioksidansa (Yogendra Kumar i sur., 2011). Sastav se razlikuje ovisno o podrijetlu biljke, klimi i korištenom postupku ekstrakcije, a opći pregled sastava kemijskih spojeva pasjeg trna prikazan je u tablici 2.

Tablica 2. Pregled sastava kemijskih spojeva pasjeg trna (Zakynthinos i Varzakas, 2015)

GRUPE SPOJEVA	SPOJEVI PASJEG TRNA
VITAMINI	C, A, E, esteri zeaksantina, β -karoten, α -tokoferol, folat
MINERALI	Ca, Mg, K, Se, Na, Fe, Zn, P, Co, Cr, Cu, Mn, Ni, Sr, Va, Mb, Al, Li, Cd, As
TEŠKI METALI	Cd, Pb, Hg
TRITERPENOIDI	oleanolna kiselina, 3- <i>O-trans-p</i> -kumeroil-oleanolna kiselina, 3- <i>O</i> -kafenoil-oleanolna kiselina, 2- <i>O-trans-p</i> -kumaroil-maslininska kiselina, 2- <i>O</i> -kafenoil-maslininska kiselina, ursolna kiselina, 19-hidroksi-metil-ursolna kiselina
FENOLI	elaginska kiselina, ferulinska kiselina
FLAVONOIDI	kvercetin, kemferol, izoramnetin, katehin, rutin, miricetin
TANINI	hippophaenin A, hippophaenin B
ESENCIJALNE MASNE KISELINE	palmitoleinska kiselina, oleinska kiselina, palmitinska kiselina, linolna kiselina, α -linolenska kiselina
LIPOPOLISAHARIDI	oktakozanolna kiselina
MONOSAHARIDI	ksiloza
HLAPIVI ESTERI	etil dodekanoat, etil oktanoat, etil dekanat
GLUKOZIDI	1-O-heksadekan olenska kiselina
STEROLI	β -sitosterol, stigmastanol, kampesterol, stigmastadienol

ALDEHIDI	1-dekanol, cirsium aldehyd, 5-hidroksi-metil-2-furankarboksaldehid
POLIALKOHOLI	manitol, sorbitol, ksilitol
GLIKOSFINGOLIPIDI	Hippophae cerebrozid
SLOBODNE AMINOKISELINE	asparaginska kiselina, prolin, treonin, serin, lizin, valin, alanin, fenilalanin, glutamin, izoleucin, glicin, histidin, tirozin, arginin, cistein, metionin

Tablica 3. Udio pojedinih komponenti pojedinih dijelova pasjeg trna (Rajchal, 2009)

GLAVNE KOMPONENTE	SADRŽAJ
PLOD	
Boja	Žuti, narančasti do narančasto- crven
Oblik	Okrugao, ovalni, jajolik
Masa	10-16 g/100 bobica
Stopa ekstrakcije soka	64-75 %
Vitamin C u soku	1161,1-1302,5 mg/100 g
Vitamin A u soku	0,75 mg/100 g
Karotenoidi u soku	7,2-7,4 mg/100 g
Topljive tvari u soku	15,92-17,66
Karotenoidi u ulju	1570 mg/100 g
Ukupni flavoni u soku	365-885 mg/100 g
Ukupni flavoni u svježem plodu	354 mg/100 g
Proteini	34,6 %
Ukupni šećeri	6,29 %
Organske kiseline	4,35 %
Natrij	41,28 mg/ kg
Kalij	1499,96 mg/kg
Kalcij	383 mg/kg
Željezo	11,68 mg/kg
Magnezij	47,7 mg/kg
Cink	0,94 mg/kg
Fosfor	0,02 %
SJEMENKE	
Sjemenke	6,54 %
Ulje	10,37-19,51%
Vitamin E	101,5-277,6 mg/100 g
Vitamin C	149 mg/100 g

Proteini	21,66 %
Ukupni šećeri	5,84 %
Karotenoidi	3,3 mg/100 g
Organske kiseline	0,94 %
Zasićene masne kiseline	12-20 %
Nezasićene masne kiseline	88,3-89,1 %
Linolenska masna kiselina	32,3 %
Linoleinska masna kiselina	40,8 %
Oleinska masna kiselina	15 %
PULPA	
Ulje	8,44 %
Karotenoidi	764 mg/100 g
Vitamin E	255-435 mg/100 g
Vitamin C	780 mg/100 g
Ukupni šećeri	7,17 %
Organske kiseline	4,4 %
LISTOVI	
Ukupni flavoni	876 mg/100 g
Proteini	17,43-24,13 %

2.2.1. Suha tvar i šećeri

Glavna komponenta suhe tvari bobica pasjeg trna su ugljikohidrati, pri čemu su ukupni zastupljeni od 400-600 g/kg suhe mase. Zastupljeni polisaharidi su većinom neškrobni, a tu se ubrajaju celuloza, hemiceluloza, pektin te hidrokoloidi i lignin, kao glavni predstavnici prehrambenih vlakana. Škrob je zastupljen samo u sjemenkama i to u udjelu 49 g/kg suhe tvari. Šećeri su važne komponente soka bobica pasjeg trna te u singeriji s organskim kiselinama utječu na senzorska svojstva i prihvatljivost od strane potrošača. Zastupljeni su u rasponu od 27 do 58 g/kg suhe tvari odnosno 9-25 g/L svježeg soka (Ciesarova i sur., 2020). Koncentracija ukupnih šećera u pasjem trnu varira ovisno o podrijetlu i mjestu ubiranja plodova, što prikazuje tablica 4. Pasji trn kineskog podrijetla sadrži veće koncentracije ukupnih šećera u usporedbi s onim s ruskog i finskog područja. Neovisno o području uzgoja, najzastupljeniji šećer je glukoza, potom fruktoza. Ostale zastupljene šećere komponente podrazumijevaju šećerne alkohole- manitol, sorbitol i ksilitol (Zeb, 2004). Ostatak sastava suhe tvari čine proteini, s udjelom

sirovih: 46-129 g/kg, pepeo: 4500 mg/kg, ulje tj. lipidi: 365-443 g/kg te karotenoidi s prosječnim udjelom 0.5-1.0 g/kg suhe tvari bobica (Ciesarova i sur., 2020).

Tablica 4. Sadržaj šećera u bobicama/soku pasjeg trna ovisno o podrijetlu (Zeb, 2004)

ŠEĆER	RASPON	PROSJEK	VARIJETET
GLUKOZA (% ukupne)	49,5-62,1	54,2	kineski
FRUKTOZA (% ukupne)	37,3-50,4	45,4	kineski
MANITOL (mg/g)	17	17	finski
SORBITOL (mg/g)	13-640	314	finski
KSILOZA (% ukupne)	0,1-0,7	0,42	kineski
KSILITOL (mg/g)	15-91	39,2	finski
KSILOZA (mg/g)	13-100	45,5	finski

2.2.2. Aminokiseline

Utvrđeno je da je 38 % ukupnih proteina pronađeno u sjemenkama, dok one predstavljaju 7,2 % bobice, zbog čega se onda sjemenke smatraju jedinstvenim proteinskim izvorom. Bogatiji udjelom proteina su drugi dijelovi biljke: listovi, kora, grane, zbog čega je biljka korištena i u ishrani životinja, iako listovi pasjeg trna mogu biti korišteni kao nekonvencionalni izvor proteina i u ljudskoj prehrani. Sok pulpe bogat je različitim slobodnim aminokiselinama, od čega je najdominantnija asparaginska kiselina (4266 mg/kg), zatim ju slijede prolin, treonin, serin, lizin, valin, alanin, fenilalanin, glutamin, izoleucin, glicin, histidin, tirozin, arginin te cistein (33 mg/kg) i metionin (23 mg/kg) kao zastupljene u najnižim koncentracijama. Posljednjih godina smatra se da je najzastupljenija aminokiselina asparagin, a ne aspartat. Iako je sadržaj aminokiselina, a posebno esencijalnih, vrlo visok kod pasjeg trna, visoka koncentracija asparagina problematična je zbog stvaranja nepoželjnog akrilamida tijekom termičkog procesiranja (Ciesarova i sur., 2020).

2.2.3. Organske kiseline, vitamini i minerali

Sadržaj organskih kiselina u bobicama pasjeg trna iznosi od 0,96 do 4,22 g/100 g (za kultivare `Moskwiczka` i `Luczistaja`). Od organskih kiselina najzastupljenija je jabučna kiselina (od 63,11 % do 85,42 %), a u padajućem nizu dalje slijede: kininska kiselina (od 6,77 % do 32,04 %), izokitrična kiselina (do 15,79 %), limunska kiselina (od 0,32 % do 4,44 %), oksalna kiselina (od 0,32 % do 2,08 %). Kao izuzetak se ističu kultivari: `Moskwiczka`, u kojoj nije određena izolimunska kiselina, `Józef`, koji je sadržavao više limunske kiseline od izolimunske, i `Aromatnaja`, u kojoj je određeno više izolimunske kiseline nego kininske kiseline. Uz

navedene, još su identificirane i maleinska i šikiminska kiselina, ali u količinama manjim od 0,01 g/100 g. Sorte uzgajane u Kanadi, Finskoj i Poljskoj pokazale su sadržaj organskih kiselina od 0,96 % do 5,40 %, a glavne kiseline bile su jabučna i kininska (Tkacz i sur., 2019).

Bobice pasjeg trna su izuzetno bogat izvor vitamina A, vitamina C i vitamina E. Sadržaj askorbinske kiseline u soku je visok i iznosi 300 do 1600 mg na 100 g soka (prosječno 600 mg/100 g soka) (Rajchal, 2009). Enzim oksidaza askorbinske kiseline koja katalizira oksidaciju L-askorbinske kiseline u L-dehidroaskorbinsku kiselinu nije prisutna u bobicama zbog čega se vitamin C dobro čuva u sušenim bobicama i njezinim proizvodima (Ciesarova i sur., 2020). Usporedbom s nekim drugim biljnim izvorima, sadržaj vitamina A tri puta je veći od sadržaja istog vitamina u mrkvi i dvadeset puta veći od sadržaja u naranči, dok je sadržaj vitamina C šesnaest puta veći od sadržaja indijskog ogrozda i trideset puta veći od sadržaja u naranči (Rajchal, 2009). Ahmad i sur. (2005) odredili su prosječne koncentracije vitamina C u pasjem trnu- 196,25 mg/100 g, te veliku varijabilnost u koncentraciji vitamina C među jedinkama, populacijama i podvrstama biljke. Slično je i s vitaminom E koji se u najvećem udjelu nalazi u ulju pasjeg trna (smatra se da mu je koncentracija i do šest puta veća nego u ulju kukuruza), a varira ovisno o tome iz kojeg djela biljke potječe: ulje dobiveno iz sjemena (64,4-92,7 mg/100 g sjemena), ulje soka (216 mg/100 g bobica) ili ulje pulpe (481 mg/100 g bobica). Uobičajeno ulje pulpe sadrži više vitamina E. Razlike u sadržaju određenih vitamina (A, B₁, B₂, C i K) između pasjeg trna i biljnih vrsta poput naranče, rajčice, mrkve i gloga prikazuje tablica 5. (Rajchal, 2009).

Osim vitamina, bobice i sok pasjeg trna sadrže i značajnu količinu različitih minerala. Najzastupljeniji je kalij. Najveće varijacije u koncentraciji mineralnih tvari u soku bobica pasjeg trna određene su za molibden i željezo. Uspoređujući pasji trn kineskog i finskog podrijetla, zaključeno je da bobice ubrane na području Finske imaju manje željeza, kalcija i olova, ali više kadmija u odnosu na bobice s područja Kine. Također je utvrđeno da zrelost ploda utječe na razinu N, Ca, K, Na, Mg, Cu, Fe, Zn i Mn. Tragovi Al, As, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Li, Pb, Rb i Zn su nađeni u likerima proizvedenima iz biljke (Zeb, 2004).

Tablica 5. Usporedba sadržaja pojedinih vitamina između pasjeg trna i određenih biljnih vrsta (Rajchal, 2009)

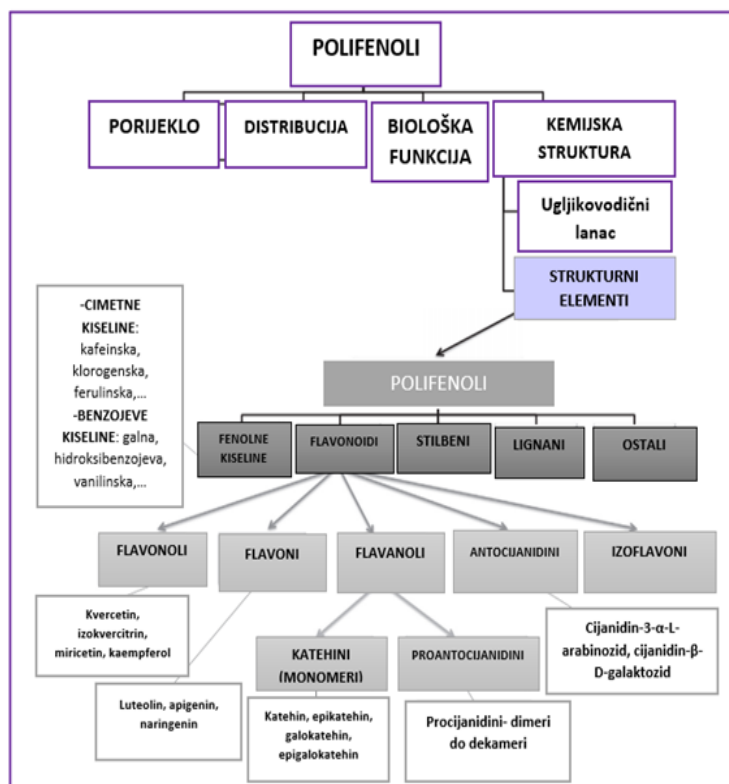
VRSTA	VITAMIN A	VITAMIN B1	VITAMIN B2	VITAMIN C	VITAMIN K
Pasji trn	11,00	0,04	0,56	300-1600	100-200
Cilicrosa roxburghii	4,83	0,05	0,03	1000-3000	-
Kiwii (plod)	-	-	-	100-470	-
Glog	0,82	0,02	0,05	100-150	-
Naranča	0,55	0,08	0,03	50,0	-
Rajčica	0,31	0,03	0,02	11,8	-
Mrkva	4,00	0,02	0,05	8,0	-

2.3. Bioaktivni spojevi pasjeg trna

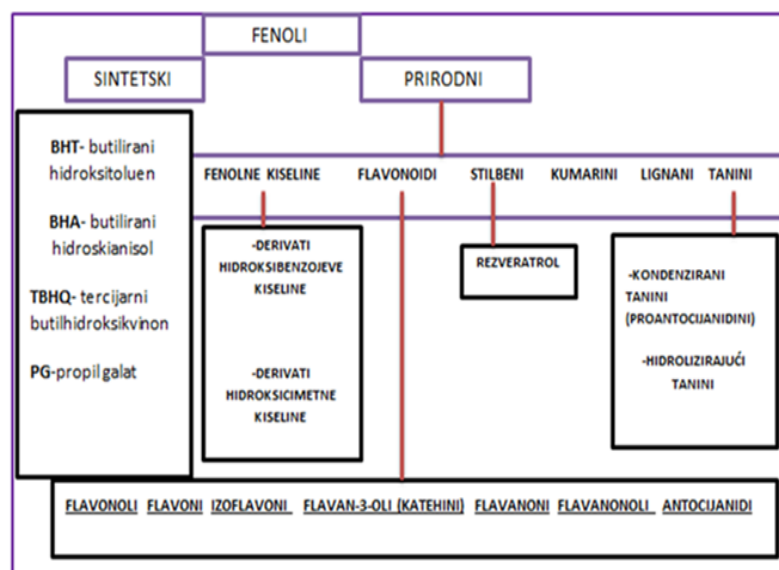
Bioaktivni spojevi su fitokemikalije koje pokazuju blagotvorne učinke na zdravlje i fiziologiju organizma zbog antioksidativne aktivnosti, inhibicije ili indukcije različitih enzima odnosno indukcije ili inhibicije ekspresije gena (modulacija metaboličkih procesa). Uključuju heterogenu klasu spojeva s različitim kemijskim strukturama, a koja je usko povezana s mjestom djelovanja i učinkovitosti u gašenju slobodnih radikala, prevenciji oksidativnog stresa i različitih oboljenja (Galanakis, 2017). Osim lipofilnih bioaktivnih komponenti, poput karotenoida i fitosterola, pasji trn također obiluje raznim hidrofilnim biokativnim spojevima, u koje se ubrajaju, osim askorbinske kiseline, polifenolni spojevi (Teleszko i sur., 2015).

2.3.1. Fenolni spojevi pasjeg trna

Strukturno vrlo heterogena skupina sekundarnih biljnih metabolita koja se može klasificirati prema porijeklu (prikazuje slika 4.), rasprostranjenosti, biološkoj funkciji i kemijskoj strukturi. Najčešća je klasifikacija polifenola prema kemijskoj strukturi aglikona u 16 skupina, a osim te kemijske klasifikacije, postoji još i klasifikacija na temelju broja fenolnih prstena koji su sadržani i na temelju strukturnih elementa koji vežu prstene međusobno (prikazuje slika 3.). Pritom, autori znaju imati različita tumačenja polifenolnih klasa, što rezultira manjim razlikama u klasifikaciji, no najčešća je: fenolne kiseline, flavonoidi, stilbeni, lignani i „ostali“ (Belščak-Cvitanović i sur., 2018).



Slika 3. Klasifikacija polifenola temeljena na broju fenolnih prstena i njihovih strukturnih elemenata (Belščak-Cvitanović i sur., 2018)

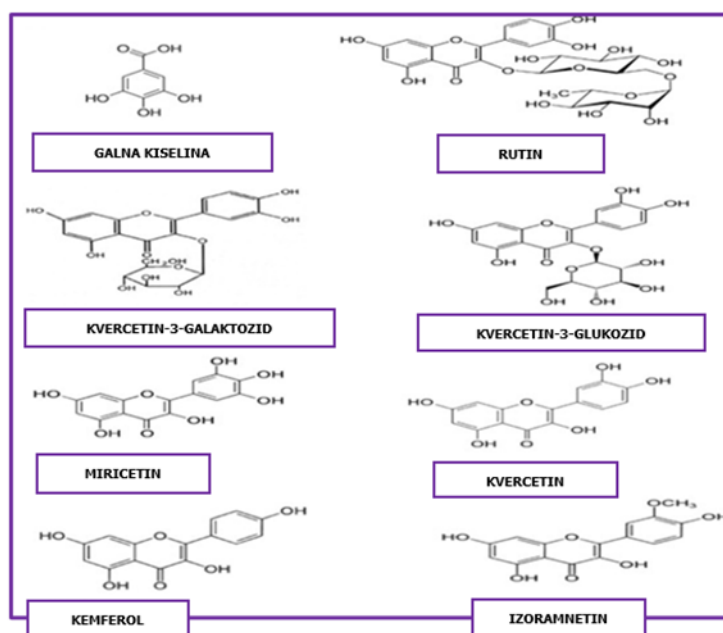


Slika 4. Podjela fenolnih spojeva temeljena na porijeklu (Shahidi i Ambigaipalan, 2015)

Iako (poli)fenolni sadržaj u bobicama i listovima varira ovisno o vrsti, geografskim i agroklimatološkim i okolišnim uvjetima, kao i fiziološkim odnosno uvjetima zrelosti, fenolni spojevi sadržani u pasjem trnu većim dijelom pripadaju skupini flavonoida i fenolnih kiselina. Ukupni udio fenola u bobicama kreće se od 29,8 do 38,8 mg GAE/g, što je više od ukupnog sadržaja fenola u dudu (4,44 mg GAE/g), šipku (3,90 mg GAE/g), malinama (3,00 mg GAE/g), borovnicama (8,40 mg GAE/g) i kupinama (7,40 mg GAE/g). Dosad je otkriveno i izolirano oko 100 polifenolnih komponenti u Hippophae vrstama (Ji i sur., 2020).

Gotovo svi dijelovi pasjeg trna (plodovi, listovi i kora) bogat su izvor fenolnih spojeva. Utvrđeno je da listovi sadrže najveću koncentraciju fenola, potom plodovi, pulpa pa bobice, a sadržaj fenolnih spojeva razlikovao se i u ovisnosti o primjenjenom ekstrakcijskom otapalu (Yogendra Kumar i sur., 2013). Ukupni udio flavonoida u listovima iznosi 2,24 %, u pulpi 0,95 %, perikarpu 0,51 % i sjemenkama 0,31 %. Neki od flavonoida iz pasjeg trna su: astragalin, kvercetin i njegovi derivati poput metil etera, glukozida, galaktoglukozida, rutinozida; izoramnetin i njegovi derivati, kempferol i njegovi derivati, miricetin, katehin, epikatehin, epigalokatehin, galokatehin, epikatehin galat. Sadržaj fenolnih kiselina najveći je u sjemenkama pasjeg trna, a od oblika u kojem se nalaze najzastupljeniji je oblik topljivih estera, kojeg slijede slobodne fenolne kiseline. Najzastupljenije fenolne kiseline pasjeg trna su galna kiselina, siringinska, protokatehinska,

salicilna, vanilinska, gentizična, kafeinska, ferulinska, klorogenska. Galna kiselina prisutna je kao najdominantnija i u bobicama i u listovima. U pasjem trnu pronađeni su i tanini, a neki od njih su striktinin, hiporamnin, izostriktinin, pedunkulagin, hippophaenin A, hippophaenin B (Ji i sur., 2020). Kao najzastupljeniji fenolni spojevi u listovima pasjeg trna (prikazuje slika 5.) izdvajaju se: galna kiselina, rutin, kvercetin-3-O-galaktozidaza, kvercetin-3-glukozid, miricetin, kvercetin, kempferol i izoramnetin (Yogendra Kumar i sur., 2013), dok se kao nazastupljeniji fenolni spojevi u bobicama ističu flavonoli (212,89 do 407,48 mg/100 g), i to derivati izoramnetina (najzastupljeniji je izoramnetin-3-ramnozilglukozid) i kvercetina (najzastupljeniji je kvercetin-3-glukozid-7-ramnozil) te kempferol (Teleszko i sur., 2015).



Slika 5. Fenolni spojevi lista pasjeg trna (Yogendra Kumar i sur., 2013)

Prema Sharma i sur. (2008), prinos fenolnih spojeva tijekom iscrpljivanja ovisi o primjenjenoj metodi. Jedina metoda kojom se mogu izdvojiti kvercetin i izoramnetin u malo vode je ekstrakcija potpomognuta mikrovalovima bez otapala izvedena pod visokim tlakom (PSFME) (Michel i sur., 2011), dok MHG (eng. *microwave hydrodiffusion and gravity*-mikrovalna hidrodifuzija i gravitacija) kao metoda omogućuje da se u razdoblju od 15 minuta iscrpe flavonoli. Pritom je prinos izoramnetin-3-O-rutinozida 30% manji, a prinos izoramnetin-3-O-glukozida 40% manji u usporedbi sa standardnom ekstrakcijom, no metodom se iscrpljuje veći sadržaj redukcijskih spojeva, što pojačava antioksidativno djelovanje ovih ekstrakata (Perino-Issartier i sur., 2010).

Ukupni sadržaj fenola u ekstraktima daje uvid u stupanj antioksidativne aktivnosti, što potvrđuje istraživanje Yogendre Kumara i sur. (2013) u kojem se zaključuje da postoji linearna veza između antioksidativnog kapaciteta i ukupnog sadržaja fenola. Poznato je da bobice i listovi pasjeg trna imaju visok sadržaj polifenola, ali ukupna količina polifenola uvelike varira, ovisno o raznim čimbenicima, uključujući i sortu (Criste i sur., 2020). Biološka aktivnost fenola ovisi o njihovoj strukturi, reakcijama s drugim spojevima, topljivosti, apsorpciji i metabolizmu (Ji i sur., 2020). Ispitivanjem aktivnosti ekstrakata različitih frakcija fenolnih spojeva pasjeg trna, dobivenih primjenom različitih otapala, utvrđeno je da etilacetatni ekstrakti imaju visoku učinkovitost gašenja aktivnosti superoksidnog aniona te dušikovog oksida (Yogendra Kumar i sur., 2013). Primjenom DPPH i ABTS metoda uspoređena je antioksidativna aktivnost etanolnog ekstrakta dobivenih iz različitih dijelova pasjeg trna. Veću antioksidativnu aktivnost pokazali su ekstrakti sjemena i listova, čemu pridonosi visoka koncentracija katehina, galokatehina i procijanidina, a manju ekstrakti pulpe i ploda (Yogendra Kumar i sur., 2011). Prema Criste i sur. (2020), antioksidativni potencijal sorti pasjeg trna, određen DPPH metodom, iznosi 36,61- 42,25 μM Trolox ekvivalenta (TE)/g bobica, pri čemu je najviše antioksidativno djelovanje zabilježeno za sortu SF6, te 123,5- 138,7 μM TE/g za ekstrakte listova. Ekstrakti listova pokazali su veći antioksidativni kapacitet, što korelira sa sadržajem polifenola, a ekstrakt s najvećim antioksidativnim potencijalom je Golden Abundant s aktivnošću gašenja slobodnih radikala 138.7 μM Trolox ekvivalenta (TE)/g, zatim sorte Colosal, SF6 i Carmen sa 133,1, 129,6 i 123,5 μM Trolox ekvivalenta (TE)/g. Primjenom ABTS testa je pak utvrđeno da antioksidativni kapacitet za ekstrakte listova iznosi 130,6- 165,2 μM Trolox ekvivalenta (TE)/g, pri čemu je najveće djelovanje ponovno primijećeno za sortu Golden Abundant. Prema tome, ekstrakti listova vučjeg trna imaju najvišu antioksidativnu vrijednost, dok najmanju imaju ekstrakti bobica, odnosno vrijednosti slijede trend koncentracije ukupnih fenola.

In vivo studijom provedenom na štakorima, dokazano je da frakcije listova pasjeg trna (PRF) bogate fenolima imaju izražen antioksidativni učinak te da djeluju na modulaciju oksidativnog stresa. Ekstrakti koji su sadržavali 319,33 mg GAE/g PRF te koncentracije galne kiseline, izoramnetina, kvercetina, miricetina i kempferola u rasponu od 1,935–196,89 mg/g PRF pokazali su hepatoprotektivni učinak (Ji i sur., 2020). Osim uloge moduliranja oksidativnog stresa, fenolni spojevi pasjeg trna imaju ulogu modulacije hiperglikemije, odnosno dijabetesa, kao i kardiovaskularnih bolesti (inhibicija oksidativnog oštećenja LDL-a). Glikozidi kempferola, izoramnetina i kvercetina izolirani iz plodova pasjeg trna imaju sposobnost inhibicije enzima

epitela tankog crijeva, alfa-glukozidaze, koji ima ulogu u probavi ugljikohidrata, te koji se koristi u praćenju postprandijalne hiperglikemije (Kim i sur., 2011).

Uz navedeno, spojevima pasjeg trna pripisuju se i antimikrobna svojstva. Ekstrakti svježih listova, kao i frakcija bogata polifenolima pokazali su izrazito antibakterijsko djelovanje i protiv gram pozitivnih i protiv gram negativnih bakterija: *S. typhi*, *E.coli*, *S. dysenteriae*, *S. pneumoniae* i *S. aureus*, pri čemu je ekstrakt bogat polifenolima djelotvoran protiv svih testiranih bakterijskih vrsta i učinkovit čak i pri nižoj koncentraciji (Yogendra Kumar i sur., 2013).

2.3.2. Karotenoidi pasjeg trna

Tetraterpeni, konjugirani polialkeni s ulogom pigmenata te snažnim antikancerogenim i antioksidativnim svojstvima, topljivi u mastima, prisutni u biljnim vrstama zelene, žute, crvene i narančaste boje. Dije se u 2 grupe: karotene i ksantofile; glavni predstavnici karotena su β -karoten, inače provitamin vitamina A, α -karoten te likopen, dok su glavni predstavnici ksantofila zeaksantin i lutein (Shankaranarayanan i sur., 2018).

Plodovi pasjeg trna sadrže visoku koncentraciju karotenoida - 11,00 mg/100 g, a uglavnom se nalaze u mekanim dijelovima ploda, dajući im karakterističnu narančasto-žutu boju. U bobicama 15-55 % svih karotenoida čini β -karoten, dok su u nižim koncentracijama prisutni α -, γ - i dihidroksi- β - karoten, likopen, zeaksantin i kantaksantin. Sadržaj karotenoida u plodu varira unutar iste populacije i vrste čak i do deset puta. Koncentracija β -karotena u pasjem trnu varira od 0,2-17 mg/100 g, a sadržaj ukupnih karotenoida od 1-120 mg/100 g (Teleszko i sur., 2015). U tablici 6 prikazane su koncentracije ukupnih i pojedinačnih karotenoida za različite sorte. Sorta 'Carmen' imala je najvišu koncentraciju ukupnih karotenoida, 35,78 mg/100 g, te veću količinu luteina i zeaksantina u usporedbi s ostalim sortama. Dokazano je da razlike u koncentraciji karotenoida variraju ovisno o genetici, podrijetlu, uvjetima uzgoja, stupnju zrelosti pri berbi i uvjetima skladištenja (Criste i sur., 2020). Prema Rafalskoj i sur. (2017), glavni spoj u bobicama je zeaksantin di-palmitat, dok su lutein, β -karoten, violaksantin i neoksantin pronađeni u većoj koncentraciji u listovima. Također, bobice su smatrane jedinim izvorom esterificiranih karotenoida.

Prinosi karotenoida ovise značajno i o primjenjenoj metodi i uvjetima iscrpljivanja. Ekstrakcija superkritičnim ugljikovim dioksidom, u usporedbi s konvencionalnim tehnikama iscrpljivanja pomoću organskih otapala, se više primijenjuje zbog raznih prednosti (Pavlović i sur., 2016), ali ekstrakcijom superkritičnim CO₂ iz pulpe pasjeg trna dobivene su manje količine karotenoida u

usporedbi s ekstraktom dobivenim iscrpljivanjem pomoću otapala (148,4 mg/100 g ulja, ekstrakcija 6 sati). Prosječna koncentracija karotenoida u ulju pasjeg trna određena je u udjelu 527,4 mg/100 g (Kumar i sur., 2011). Zahvaljujući visokom udjelu karotenoida, kao i tokoferola, ulje pasjeg trna koristi se za liječenje opekline i ozeblina, dekubitusa i raznih oštećenja kože (Zielinska i Nowak, 2017).

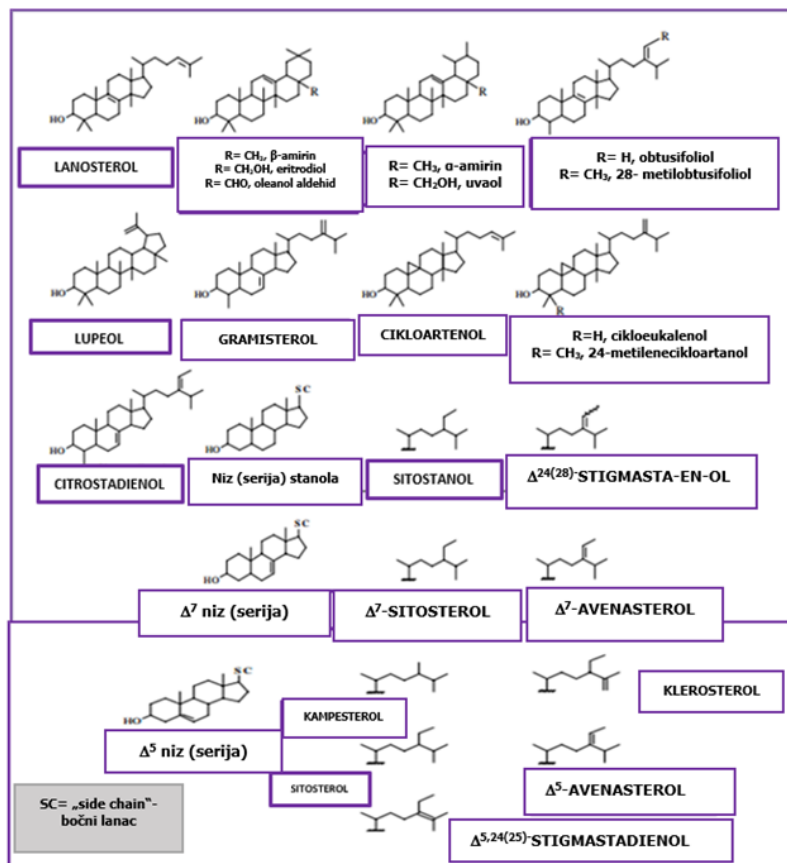
Tablica 6. Sadržaj karotenoida u bobicama pasjeg trna različitih sorti (Criste i sur., 2020)

<u>SORTA</u>	<u>GOLDEN ABUNDANT</u>	<u>SF6</u>	<u>CARMEN</u>	<u>COLOSAL</u>
<u>KAROTENOID</u>				
LUTEIN	1,74 ± 0,04	1,02 ± 0,16	4,74 ± 0,05	0,45 ± 0,07
ZEAKSANTIN	16,69 ± 0,64	7,62 ± 0,41	27,78 ± 0,55	4,05 ± 0,332
β-KRIPTOKSANTIN	1,05 ± 0,15	0,72 ± 0,19	1,16 ± 0,22	0,16 ± 0,05
CIS- β-KAROTEN	0,36 ± 0,08	0,21 ± 0,16	0,23 ± 0,02	0,80 ± 0,20
B-KAROTEN	1,94 ± 0,42	0,94 ± 0,36	1,87 ± 0,33	0,17 ± 0,13
UKUPNI KAROTENOIDI	21,78	10,51	35,78	5,63

2.3.3. Fitosteroli pasjeg trna

Fitosteroli su važne komponente biljnih ulja, a posebno se ističe njihov pozitivni utjecaj na zdravlje, poput prevencije hiperkolesterolemije tj. kardiovaskularnih bolesti te karcinoma (Li i sur., 2007). Ukupan sadržaj fitosterola određen u lipidnoj frakciji pulpe pasjeg trna iznosi od 6168,24 (kultivar `Moskwiczanka`) do 13378,22 µg/100 ml (kultivar `Aromatnaja`). U ulju pasjeg trna određeno je 14 biljnih sterola koji se svrstavaju u tri podgrupe: 4-desmetil steroli (derivati kolestanola, uključujući β-sitosterol, stigmasterol, kampesterol, Δ⁵-avenasterol), 4α-monometil steroli (npr. citrostadienol) i 4,4-dimetil steroli (npr. 24-metilencikloartanol). Dominantan spoj je β-sitosterol (26,64–42,57 % od ukupnih fitosterola u kultivarima `Luczistaja` i `Aromatnaja`). U plodovima kultivara `Moskwiczanka` i `Avgustinke` u visokoj koncentraciji određen je i 24-metilencikloartanol, i to u rasponu od 1454,21- 4048,89 µg/100 ml lipidne frakcije. Pasji trn je i izvor skvalena, a istraživanjem je utvrđeno da lipidne frakcije bobica sadrže između 885,71 i 2714,37 µg/100 ml (kultivari Luczistaja i Botaniczeskaja). Tvari kao što su eritriol, friedelan-3-ol, citrostadienol, cikloartenol također su prisutni i to u rasponu koncentracija 300 do 800 µg. U tragovima je pronađen stigmasterol, i to kod 2 sorte- `Avgustinka` i `Moskwiczanka`, sa sadržajem 68,22, odnosno 24,08 mg/100 ml (Teleszko i sur., 2015). Na slici 6. prikazane su strukturne formule najzastupljenijih fitosterola iz ulja pasjeg trna.

U ulju pasjeg trna kvantitativno najvažniji fitosterol je β -sitosterol. Važno je istaknuti da razlika koncentracije fitosterola ovisi i o metodi iscrpljivanja. Najveća količina ukupnih fitosterola dobiva se ekstrakcijom superkritičnim fluidom (1640 mg/ 100 g ulja), zatim ekstrakcijom heksanom (1326 mg/ 100 g ulja) pa hladno prešanom ekstrakcijom (879 mg/100 g ulja). Također, koncentracije ukupnih fitosterola i ukupnog β -sitosterola su među najvišim zabilježenim koncentracijama za sjemenska ulja (Li i sur., 2007), a mogu biti 4-20 puta više nego u sojinom ulju (Teleszko i sur., 2015).



Slika 6. Strukturne formule fitosterola iz ulja pasjeg trna (Li i sur., 2007)

2.4.Prerada i proizvodi na bazi pasjeg trna

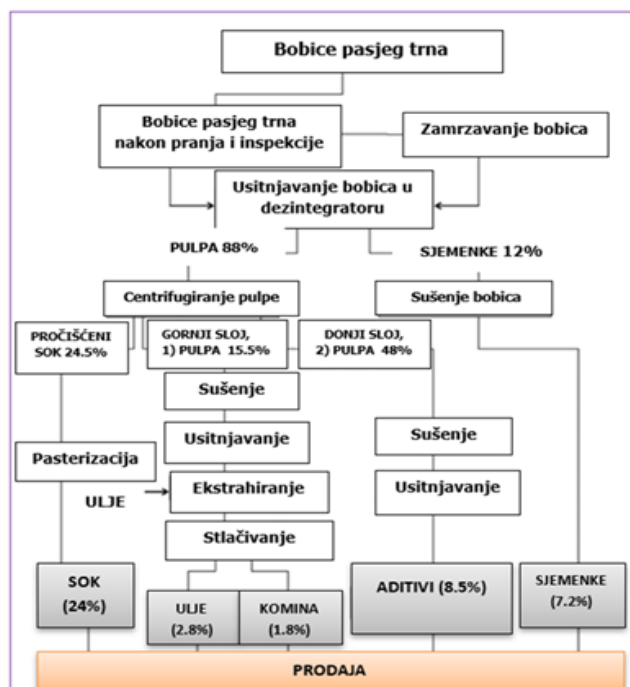
2.4.1. Primjena pasjeg trna u prehrambenoj industriji

Pasji trn se zbog specifičnog sastava i svojstava koji su rezultat istog, još od 8. stoljeća uspješno primjenjuje u narodnoj medicini, kada je na području Tibeta uvršten u medicinsku knjigu, koja je poslije postala dijelom farmakopeje. Međutim, tek posljednjih desetljeća biljka

privlači pažnju i počinje se više istraživati. Danas je najveći i najuspješniji proizvođač i prerađivač pasjeg trna i njegovih proizvoda Kina, a uzgoj i prerada proširili su se i na brojna druga područja poput Južne Azije, Nepala, Butana, Indije i Pakistana (Rajchal, 2009).

Zbog, već navedenog, visokog sadržaja bioaktivnih komponenti prisutnih u raznim dijelovima pasjeg trna, sve više se koristi u proizvodnji funkcionalne hrane. Tehnologija koja je razvijena za preradu pasjeg trna omogućuje dobivanje ulja, voćnog praha i bistrog soka iz pulpe te uporabu sjemenki. Prednost primjene naprednih tehnika je u primjeni nižih temperaturnih režima pri preradi čime se utječe na veću stabilnost bioaktivnih molekula tijekom prerade (Ivanova i sur., 2019).

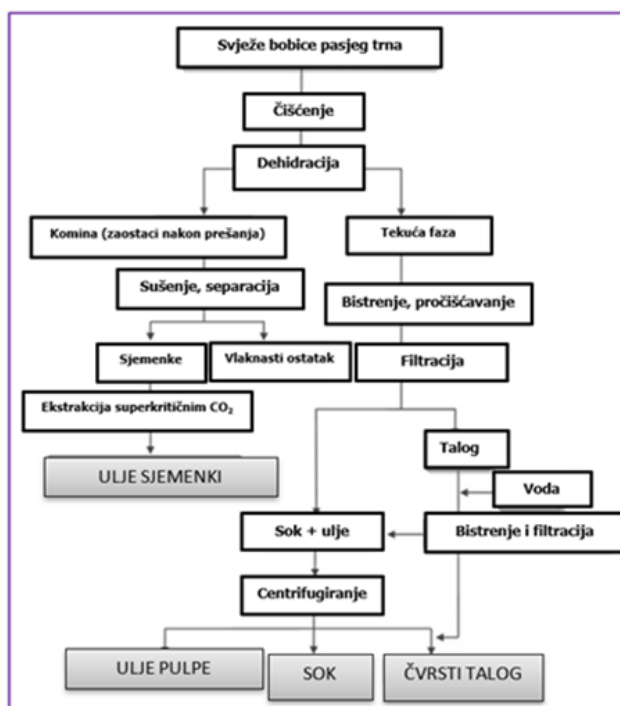
Slike 7. i 8. prikazuju shemu prerade bobica pasjeg trna. Prerada započinje odvajanjem plodova nakon berbe, uklanjanjem nečistoća i neprihvatljivih, natrulih i oštećenih plodova. Dio bobica se zamrzava, a dio se odmah prerađuje. U dezintegratoru se usitnjava plod pasjeg trna, dok sjemenke ostaju netaknute. Centrifugiranjem mesnatog dijela ploda nastaju gornji sloj-celuloza, srednji sloj-sok i donji sloj-pulpa. Pročišćeni sok se pasterizira i kao takav može ići na tržište, no češće se prvo miješa s drugim sastojcima kako bi se uravnotežio okus i kemijski sastav (Ivanova i sur., 2019).



Slika 7. Shema prerade bobica pasjeg trna (Ivanova i sur., 2019)

Piłat i Zadenowski su razvili proizvodne koncepte za 4 vrste pića, koji, osim iscijeđenog soka bobica *H. rhamnoides*, mogu sadržavati i sokove od jabuke, banane, mrkve i bundeve. Sadržaj karotenoida u tim nektarima kretao se od 1,01 do 3,75 mg /100 ml - većina ih je bila prisutna u nektaru mrkva-jabuka-pasji trn, dok je najmanji udio bio u nektaru banana-pasji trn. Nektar bundeva-pasji trn karakterizirao je najveći sadržaj vitamina C (15,45 mg/100 ml) i najveći udio masti (0,70 g/100 ml). Kao najpoželjniji nektar među potrošačima pokazao se onaj koji je uključivao bananu i pasji trn (Rafalska i sur., 2017).

Pulpa gornjeg i donjeg sloja visoke je vlažnosti i mikrobiološki je nestabilan medij, stoga se prvo suši, i to na temperaturi 55 - 60 °C i vlažnosti 140,5 %. Nakon sušenja, pulpa se usitnjava s ciljem destrukcije staničnih struktura, što dovodi do povećanja dodirne površine, čime je ekstrakcija ulja pulpe otapalom-biljnim uljem, brža. U postupku dobivanja ulja primjenjuje se difuzijska metoda koja se sastoji od zagrijavanja u biljnom dezodoriranom ulju, dok iscrpljivanje s organskim otapalima (n-heksanom, eterom ili metilenkloridom) zahtijeva velike troškove i skupu opremu (ekstraktor, filtri, vakuumski destilator, isparivač), odvajanje otapala od smjese nakon provedenog procesa, dulje vrijeme, odnosno dovodi do zagađenja okoliša i uništenja nekih bioaktivnih komponenti uslijed uklanjanja otapala na visokoj temperaturi (Ivanova i sur., 2019).



Slika 8. Shema prerade bobica pasjeg trna (Zielińska i Nowak, 2017)

Uljem bogati dijelovi pasjeg trna su sjemenke, pulpa i kožica, pri čemu sjemenke sadrže najviše ulja 100-160 g/kg, dok ga pulpa i kožica sadrže između 20 i 105 g/kg svježe mase bobica. Kada su u osušenom obliku, udio ulja se povećava te se kreće od 160 do prosječno 350 g/kg, a moguće čak i do 440 g/kg. Ulje pulpe sadrži oko 48 % zasićenih masnih kiselina (palmitinske) i oko 52 % nezasićenih, pri čemu je najzastupljenija omega 7 masna kiselina- palmitooleinska (16:1,n-7) s 29 %, oleinska s 18 %, linolna s 4 % i linoleinska s 2 %. Protivno tome, sjemensko ulje pasjeg trna sadrži malo omega 7 masne kiseline, ali je zato bogato ostalim nezasićenim masnim kiselinama: 37-44 % linolne, 27-31 % linoleinske i 17-20 % oleinske. Pritom, omjer omega 3 i omega 6 masnih kiselina blizu je 1:1. Sadržaj zasićenih masnih kiselina u ovom ulju je 10-13 %, pri čemu je zastupljenija palmitinska, a zatim ju slijedi stearinska (Ciesarova i sur., 2020). Ulje se uglavnom dobiva mehaničkim prešanjem i ekstrakcijom pomoću otapala. Ulje sjemenki je žuta ili svijetlo narančasta viskozna tekućina (prikazuje slika 9.), dok ulje pulpe ima pastoznu konzistenciju i tamnocrvene je boje (prikazuje slika 10.). Ispitivanjem mikrobnog statusa ulja, koje je dobiveno ekstrakcijom superkritičnim CO₂, dokazano je da se ulje može koristiti interno, a ne samo eksterno, odnosno da ne postoji opasnost od kontaminacije mikroorganizmima i njihovim sporama te time narušavanja zdravlja potrošača (Cossuta D. i sur., 2007.).



Slika 9. Ulje sjemenka pasjeg trna
(Anonymous 4, 2021)



Slika 10. Ulje pulpe pasjeg trna
(Anonymous 5, 2021)

Osim u obliku sirupa i prahova, odnosno soka, pasji trn se može konzumirati i u obliku čaja, koji se priprema od plodova, ali i listova. Unatoč kiselkastom i egzotičnom okusu, bobice pasjeg trna

mogu se koristiti za proizvodnju džemova i želea, a iz voćnog ekstrakta može se pripremiti pekmez. Trpak okus pekmeza može se neutralizirati miješanjem soka ili pulpe, u različitom omjeru, iste biljke, ali i drugih plodova puno blažeg okusa (Rajchal, 2009). Senzorska analiza pokazuje da su džemovi od pasjeg trna s dodatkom ogrozda i malina imali bolja senzorska svojstva. Kao džem s najvećim zdravstvenim potencijalom okarakteriziran je džem od pasjeg trna i jagode, zbog najvišeg sadržaja vitamina C i fenola. Najveća količina karotenoida pronađena je u džemu od pasjeg trna i maline. Osim džemova proizvedenih na tradicionalan način, zaslađenih šećerom, proizvedeni su i džemovi sa smanjenom energetsom vrijednošću na otprilike 70 %. Zbog većeg sadržaja voća i manje količine šećera, džemovi zaslađeni sladilima umjesto saharozom, imaju veću nutritivnu vrijednost, zdraviji su odnosno prihvatljiviji od strane potrošača (Rafalska i sur., 2017).

Za proizvodnju vina potrebno je dodati šećer i vodu budući da sok sadrži manje količine šećera i veći udio kiselina (Rajchal, 2009). Alkoholna pića proizvedena na bazi pasjeg trna veliku popularnost su stekla u Češkoj, stoga se tamo uvelike proizvode. Vino i likeri su okarakterizirani zlatnom bojom i ugodnom aromom. Od pasjeg trna se također može proizvoditi i pivo (Rafalska i sur., 2017).

Plodovi pasjeg trna mogu se koristiti i kao dodatak mliječnim proizvodima poput kefira, jogurta ili sira. Dodatak plodova pasjeg trna značajno povećava antioksidativna svojstva fermentiranih mliječnih napitaka, kao i njihovu kiselost. Kefir s dodatkom plodova pasjeg trna sadržavao je veći broj mezofilnih streptokoka i nižu koncentraciju laktobacila, dok utjecaj pulpe na mikrofloru jogurta nije zabilježen. Bobice *H. rhamnoides* također su korištene i u proizvodnji feta sira, gdje su imale funkciju biorazgradive baze na kojoj korisne probiotičke bakterije mogu rasti. Osim toga, dodatak bobica također je doveo do smanjenja broja patogenih mikroorganizama i poboljšao organoleptička svojstva sira (Rafalska i sur., 2017).

Zbog visokog sadržaja spojeva antioksidativnog i antimikrobnog karaktera, bobice biljke pronalaze primjenu i u pekarskoj industriji. Poznato je da dodatak, već i 1%, brašna od bobica pasjeg trna u pšenični kruh, produžuje rok trajanja za 24–72 h, obogaćuje proizvod biokativnim molekulama s pozitivnim učincima na zdravlje te poboljšava organoleptička svojstva proizvoda. Učinci su još značajniji kad se taj postotak u kruhu povećava (Ghendov-Mosanu i sur., 2020).

Komina, zostaci nastali nakon ekstrakcije ulja difuzijskom metodom, je visoke biološke vrijednosti, sadrži lipide, koji uključuju esencijalne masne kiseline, proteine, vitamine i minerale. Zato se koristi kao funkcionalno-tehnološki dodatak (stabilizator, punilo, emulgator, antioksidans) u proizvodnji raznih proizvoda te kao izvor dijetalnih vlakana u emulzijama (Ivanova i sur., 2019). U Finskoj se pasji trn koristi kao nutritivni sastojak dječje hrane. Ostaci soka dobar su funkcionalni dodatak proizvodima poput mehanički i ručno otkoštenog mesa, jer inhibiraju razgradnju masnih kiselina te ga obogaćuju polifenolima. Studije su pokazale da 2 % dodatka bobica u prahu ne utječe na značajniju promjenu senzorskih svojstava ovih proizvoda (Rafalska i sur., 2017).

Pasji trn se, osim u prehrani ljudi, koristi i u prehrani životinja, posebno njegovi listovi i komina. Sadrži potrebnu količinu sirovih proteina i masti te potiče rast i produktivnost stočnih životinja i peradi, posebno onih koji se uzgajaju u suhim i hladnim područjima. Kod koza je nakon uvrštavanja pasjeg trna u prehranu došlo do povećane proizvodnje mlijeka, kod kokoši proizvodnje jaja, odnosno nakon primjene ekstrakata pasjeg trna došlo je do poboljšanja staničnog imuniteta (Rafalska i sur., 2017). U novije vrijeme pasji trn se koristi i kao dodatak u prehrani za različite vrste riba. Učinak uvrštavanja pasjeg trna u prehranu riba pokazao se kao blagotvoran na primjeru mladih jesetri različitog genetskog podrijetla. Nakon suplementacije riblje hrane s 1% pasjeg trna po kg hrane i dijelom vitamina E (500 mg/kg hrane), sve su skupine riba pokazale značajan porast konačne tjelesne mase i ukupne duljine (Vilas-Franquesa i sur., 2020).

2.4.2. Primjena pasjeg trna u farmaceutskoj i kozmetičkoj industriji

Bioaktivni spojevi pasjeg trna imaju dokazana antimikrobna, antivirusna, antioksidativna i antidijabetička svojstva te stoga imaju veliki potencijal u prevenciji i ublažavanju brojnih bolesti: kardiovaskularnih, očnih, hepatičkih, a dokazano je i neuroprotektivno djelovanje te sprječavanje kancerogeneze. Pregled najznačajnijih bioaktivnih komponenata i terapijskog djelovanja pasjeg trna prikazuje tablica 7. (Rafalska i sur., 2017).

Dosad je razvijeno i dostupno desetak vrsta formulacija na bazi pasjeg trna koje se mogu koristiti za unapređenje zdravlja (tekući oblici, prašci, paste, tablete, aerosol). Ti pripravci koriste se za liječenje opekline, čira na želucu, ljuskica, upale sluznice u ustima, upale rektalne sluznice, cervikalnih erozija, oštećenja nastalih zračenjem i čireva na koži (Rajchal, 2009). Prema Rafalska i sur. (2017), u liječenju dijabetesa, pasji trn djeluje kao inhibitor enzima α -glukozidaze, koji cijepa glikozidne veze u oligosaharidima, čime se sprječava postprandijalna

hiperglikemija tj. flavonoidi iz sjemena i plodova biljke dovode do hipoglikemije, kao i hipolipidemije. Zbog dokazanog antimikrobnog djelovanja, ekstrakti pasjeg trna koriste se protiv bolesti uzrokovanih bakterijama, odnosno kao zamjene sintetskim antibioticima, na koje je sve više mikroorganizama rezistentno.

Tablica 7. Najznačajnije bioaktivne komponente pasjeg trna i njihovo terapijsko djelovanje (Rafalska i sur., 2017)

KOMPONENTA	TERAPEUTSKO DJELOVANJE KOMPONENTE
Tokoferoli	Antioksidativna aktivnost- inhibicija lipidne peroksidacije; svojevrsni analgetik
Karotenoidi	Antioksidativna aktivnost, sudjelovanje u sintezi kolagena i proliferaciji epitelnih stanica
Vitamin K	Prevenција hemoragije, liječenje rana, pozitivni učinak protiv ulceracije
Vitamini B kompleksa	Antioksidativna aktivnost, održavanje integriteta staničnih membrana, stimulacija regeneracije stanica, regeneracija živčanog tkiva
Fitosteroli	Poboljšanje mikrocirkulacije kože, antitumorska i antiaterosklerotička aktivnost-smanjenje razine kolesterola, regulacija upalnih procesa, prevencija formiranja čireva
Polifenoli	Antioksidativna aktivnost, citoprotektivna aktivnost, kardioprotektivna aktivnost, liječenje rana
Polinezasićene masne kiseline (PUFA)	Imunomodulatorno djelovanje, antitumorsko, neuroprotektivno
Organske kiseline	Smanjenje rizika od srčanog i moždanog udara te artritisa, antitumorsko djelovanje
Kumarini i triterpeni	Pospješivanje apetita, spavanja i memorije
Cink	Stimulacija cirkulacije, kofaktor enzima, povećava bioiskoristivost vitamina A

Osim toga, poznata je i upotreba vučjeg trna kod poremećene homeostaze kardiovaskularnog sustava, pri čemu njegovi flavonoidi mogu inhibirati agregaciju trombocita inhibicijom aktivnosti tirozin kinaze, enzima koji je povezan sa sintezom arahidonske kiseline iz fosfolipida, dok se antihipertenzivni učinak postiže blokiranjem receptora za angiotenzin 2. Štoviše, provedena istraživanja dokazala su da upotrebom suplemenata na bazi pasjeg trna kod oboljelih od

kardiovaskularnih bolesti dolazi do smanjenja ukupnog kolesterola, triacilglicerola i LDL-kolesterola te povećanja razine HDL kolesterola.

Hepatoprotektivni učinak pasjeg trna dokazan je nakon poboljšanja stanja jetre prethodno oštećene ugljikovim tetrakloridom pa se danas koristi u liječenju ciroze jetre. Također, određeni spojevi pasjeg trna mogu inducirati enzime faze II : glutathion S-transferazu i DT-diaforazu te antioksidativne enzime- superoksid dismutazu, katalazu, glutathion peroksidazu i glutathion reduktazu, kao i aktivnost vezanja DNA i antionkogenog transkripcijskog faktora: IRF-1, koji inducira apoptozu, čime se ostvaruje antikancerogeni učinak. U prilog tome, potvrđeno je i da izoramnetin i O-metilirani flavonol imaju citotoksično djelovanje na stanice karcinoma, što im je omogućeno kroz mehanizam penetracije kroz staničnu membranu i ulaskom u stanicu (Rafalska i sur., 2017).

Pozitivan zdravstveni učinak vučjeg trna na gastrointestinalni trakt također se ističe, a dokazan je na štakorima primjenom ekstrakta heksana koji je djelovao umirujuće na ozljede želuca (ulcer). Ulja sjemenki i plodova također su se pokazala kao učinkovit protiv čira na želucu, što je utvrđeno, osim na štakorima, i kod konja. Osim toga, utvrđeno je da prisutnost i probava polifenola iz soka pasjeg trna pospješuju širenje korisne crijevne mikrobiote (Ren i sur., 2020). Otprije je poznato, i dokazano, da prehrana u kojoj su zastupljeni antioksidansi smanjuje rizik od Alzheimerove bolesti, zato je istražen utjecaj pasjeg trna, bogatog antioksidativnim spojevima, na razinu β -amiloida, a posljedično i na patogenezu bolesti. Utvrđeno je njegovo neuroprotektivno djelovanje, koje se očituje uklanjanjem unutarstaničnih β -amiloidnih depozita te inhibicijom toksičnosti, koja, kad bi se izazvala, dovela bi do stanične smrti. Pasji trn u prahu bio je najučinkovitiji na smanjenje β -amiloida u živčanim stanicama u koncentraciji 1,5 $\mu\text{g/mL}$ (Dong i sur., 2020).

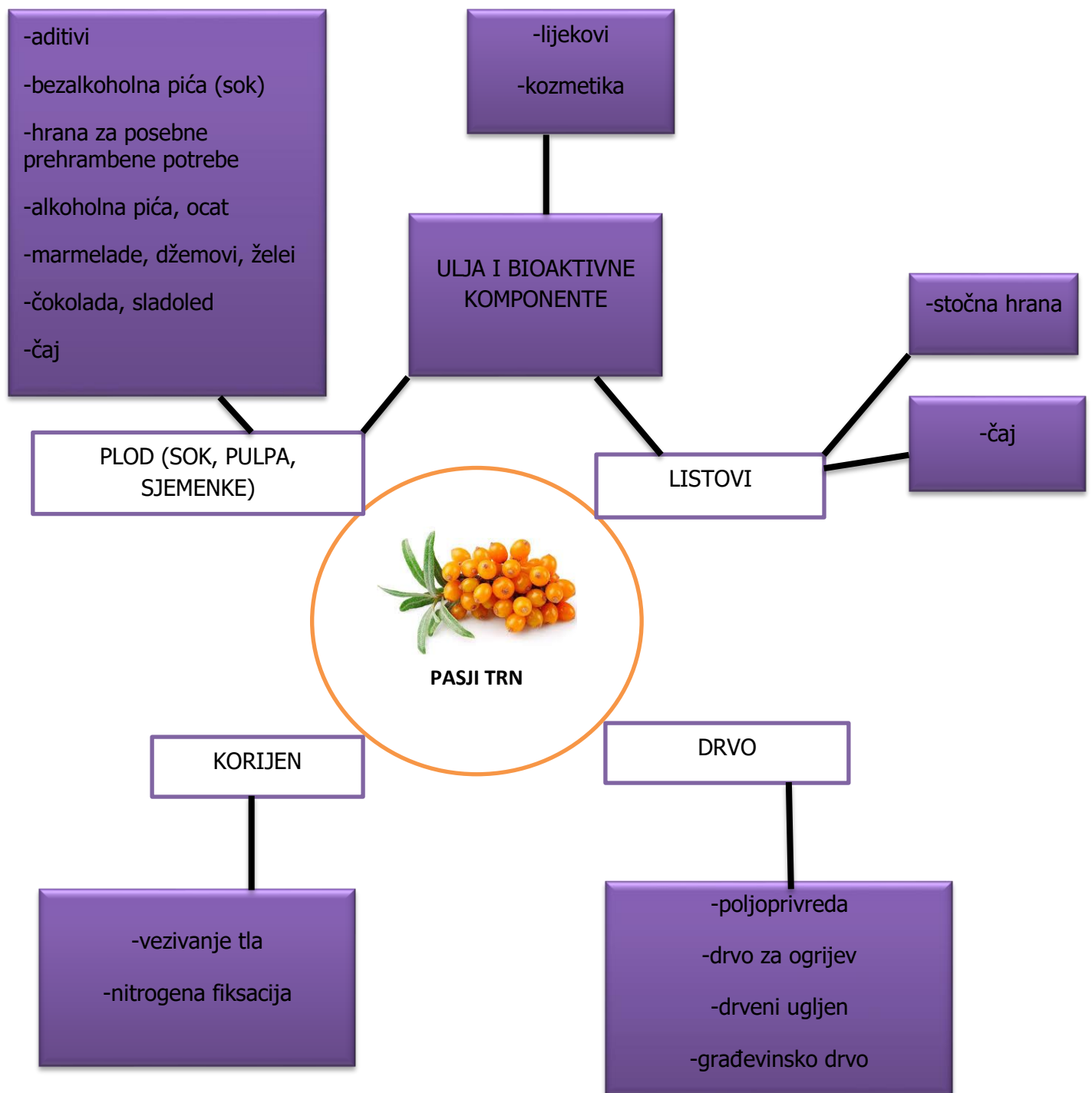
Utvrđeno je i protuupalno djelovanje pasjeg trna, što se pripisuje flavonoidu izoramnetinu, ali i urosolnoj i oleanolnoj kiselini te kasuarininu, stoga se njegovi pripravci mogu koristiti za prevenciju ili liječenje upale parodontnog tkiva, orofaringealni mukozitis, upalne bolesti kože, sepse inducirane endotoksinom, simptome alergija i sl. Smatra se da su protuupalni mehanizmi uglavnom povezani sa smanjenjem razine proupalnih čimbenika i inhibicijom signalnih putova nuklearnog faktora (NF)- κB (Ren i sur., 2020).

Pasji trn djeluje preventivno i na zdravlje očiju i oštrinu vida zbog bogatog sadržaja karotenoida kojima se pripisuju antioksidativna, antimutagena i antitumorska svojstva. Zeaksantin se nalazi u mrežnici i leći oka, odgovoran je za pojavu žute boje te uz lutein može zaštititi oči od

degeneracija uzrokovanih starenjem, kao i katarakte. Zeaksantin i lutein se prikupljaju u žutoj makuli te djeluju antioksidacijski tj. sprečavaju fotooksidativno oštećenje žute pjege jer filtriraju plavu svjetlost s visokom razinom energije. Uz to, ulje pasjeg trna, zbog visokog sadržaja karotenoida i njihovog svojstva apsorpcije UV zraka te sposobnosti pretvaranja u retinol, se koristi u kozmetici u proizvodnji krema za sunčanje (ulje apsorbira UV-B zračenje s valnom duljinom u rasponu od 290-320 nm, koje inače može uzrokovati opekline).

Ulja plodova i sjemena pasjeg trna, zbog visokog sadržaja vitamina topljivih u mastima (vitamin A i E) i hranjivih sastojaka (esencijalne masne kiseline, fitosteroli), koriste se još u kozmetičkoj industriji i zato jer njeguju i obnavljaju kožu i sluznicu. Pokazali su se učinkovitima u tretiranju dermatoloških bolesti poput atopijskog ekcema, kloazme, kserodema i ponavljajućeg dermatitisa, kao i pri tretmanu akni te promjena boje kože uzrokovane Hashimotovim tireoiditisom i vitiligom. Zbog regenerativnog, omekšavajućeg i anti-age djelovanja (inhibicija procesa starenja kože), kozmetički pripravci na bazi pasjeg trna poželjni su za revitalizaciju i svakodnevnu njegu kože- izravnavanje bora i uklanjanja suhoće kože. Spojevi iz pasjeg trna također odgađaju gubitak kose (alopecija) odnosno poboljšavaju rast kose. Djelotvornost ulja pasjeg trna dokazana je i pri tretmanu rana i opekline, što se pripisuje djelovanju palmitinske kiseline, omega- 3 i -6 masnih kiselina, karotenoidima, tokoferolima, a rezultat je indukcije mitogene aktivnosti, povećane biosinteze kolagena, poticanja stvaranja novih krvnih žila, uključenja u proliferaciju keratinocita i fibroblasta te stvaranja granulacijskog tkiva na ozljeđenom području (Rafalska i sur., 2017).

Pozitivni zdravstveni učinci još se pripisuju topljivim polisaharidima plodova pasjeg trna koji zajedno s vodenim ekstraktom listova pokazuju djelotvornost kod stanja kroničnog umora i zaštitni učinak protiv cerebralne i plućne vaskularne ozljede uzrokovane hipoksijom, a također je utvrđena i stimulacija proizvodnje eritrocita na visokim nadmorskim visinama (Ren i sur., 2020). Smatra se da bi korištenje formulacije na bazi pasjeg trna kao dodatka prehrani moglo biti korisno za stanovnike područja velikih nadmorskih visina iz raznih skupina, a posebno gerijatrijske, pedijatrijske te populacije s raznim gastrointestinalnim tegobama s naglaskom na malapsorpciju, pothranjenih i sl., zbog visoke koncentracije vitamina, minerala, karotenoida, fitosterola, masnih kiselina, čime bi se neutralizirali slobodni radikali i održavala stabilnost imunosnog sustava. Također se smatra da bi se uspjele nadmiriti nutritivne potrebe za vitaminom C koje na nadmorskoj visini postaju veće (Ali i sur., 2012).



Slika 11. Pregled različite upotrebe pasjeg trna (Rajchal, 2009)

2.4.3. Toksičnost pasjeg trna

S ciljem procjene sigurnosti, učinkovitosti i tolerancije dugotrajne oralne primjene biljnog dodatka prehrani na bazi pasjeg trna, a s obzirom na općenitu problematiku stavljanja prehrambenih i zdravstvenih tvrdnji na takve proizvode bez prethodne potvrde tj. provedenih testova na životinjama i pretkliničkih istraživanja, provedena su toksikološka ispitivanja na životinjama, kao i procjena bioraspoloživosti vitamina A i C na ljudima, u usporedbi sa sličnim komercijalno dostupnim proizvodom. Rezultati snažno ukazuju da je biljni dodatak prehrani na bazi pasjeg trna siguran i da se dobro podnosi pri svim oralno primjenjenim dozama jer nisu primijećene štetne promjene na životinjama (u obzir su uzeti histopatološki parametri, morfološke i mikroskopske promjene vitalnih organa, ponašanje i navike životinja, hematološki parametri, toksičnost prema eritrocitima ili interferiranje s njihovom sintezom, tjelesna masa i masa organa životinja). Zamijećen je jedino privremeni porast razine hemoglobina i bijelih krvnih stanica, što se tumači povećanom apsorpcijom željeza u prisutnosti vitamina C, odnosno utjecajem tog preparata na imunološki sustav.

U oralnim studijama akutne toksičnosti utvrđena je netoksičnost suplementa, kao i onda kada se ispitivala ponovljena doza, dok je *in vivo* studijom utvrđeno da nakon jedne oralno primijenjene doze dolazi do pojačanog antioksidativnog djelovanja, što je rezultat povećane bioraspoloživosti vitamina A i C (Ali i sur., 2012).

Testom akutne toksičnosti na štakorima određen je LD50 oralne primjene vodenog ekstrakta listova i plodova pasjeg trna, koji iznosi više od 10 g/kg, dok je netoksičnost primijećena primjenom maksimalne doze tijekom 30 dana. Ispitivanjem oralne toksičnosti ulja plodova i sjemenki nije utvrđen štetan učinak na tijelo i organe, kao ni promjene biokemijskih parametara u krvi. Testom akutne dermalne toksičnosti ulja sjemenki nije utvrđena kožna iritacija, kao što ni ispitivanjem subkronične toksičnosti kod kunića nisu primijećene značajne promjene. Za ulje pulpe utvrđeno je nepostojanje genotoksičnih i teratogenih efekata kako kod životinja tako i na stanicama. Kod štakorica kojima se tijekom 90 dana apliciralo 250 i 500 mg/kg vodenog ekstrakta plodova, utvrđena je promjena razine glukoze u krvi, što se objašnjava visokim sadržajem šećera u bobicama pasjeg trna, no pri 100 mg/kg/dan nije zamijećen štetan učinak, stoga ta doza predstavlja NOAEL (engl. no observed adverse effect level- doza kod koje nije zamijećen štetan učinak) za vodeni ekstrakt plodova pasjeg trna (Ren i sur., 2020). Time je sugeriran dugoročni nutritivni i zdravstveni potencijal dodataka prehrani na bazi pasjeg trna (Ali i sur., 2012).

3. ZAKLJUČAK

Pasji trn (*Hippophae rhamnoides* L.) izvstan je izvor brojnih bioaktivnih molekula poput flavonoida- kvercetina, kaempferola, izoramnetina i njihovih derivata, miricetina, katehina, fenolnih kiselina- galne, siringinske, vanilinske, ferulinske, klorogenske, raznih tanina, karotenoida α -, β -, γ - karotena, likopena, zeaksantina, kantaksantina te fitosterola β -sitosterola, stigmasterola i citrostadienola. U visokoj koncentraciji također posjeduje i vitamin A, C i E, gotovo sve esencijalne aminokiseline, minerale od kojih se ističe kalij, polinezasićene masne kiseline, zbog čega mu se pripisuje antioksidativno, anitimikrobno, protuupalno, citoprotektivno, antitumorsko, kardioprotektivno, neuroprotektivno, imunomodulatorno, hepatoprotektivno, antihipertenzivno i antidijabetičko djelovanje. Zbog svega navedenog, ova iznimno vrijedna biljna sirovina ima značajno mjesto u prehrambenoj, farmaceutskoj i kozmetičkoj industriji. U segmentu prehrambene industrije pasji trn se najvećim dijelom koristi u proizvodnji bezalkoholnih i alkoholnih pića, čaja, ulja za internu upotrebu, džemova, pekmeza i želea, mliječnih proizvoda, kruha, dječje hrane, dok se u farmaceutskoj industriji koristi za proizvodnju različitih pripravaka koji su namijenjeni kao zamjena za sintetske antibiotike, za smanjenje razine ukupnog kolesterola i triglicerida u krvi, liječenje ciroze jetre, njegu kože i kose, tretman raznih dermatoloških bolesti, rana, opekline i čireva.

U Republici Hrvatskoj, prema Pravilniku (NN 160/2013), pasji trn se nalazi na popisu dopuštenih biljnih vrsta koje se mogu dodavati hrani i koristiti u proizvodnji hrane, i pritom nisu navedena nikakva dodatna ograničenja i upozorenja vezana uz primjenu, no usprkos tome se vrlo rijetko uzgaja i prerađuje te se na tržištu nalazi vrlo malo njegovih proizvoda, uglavnom ulja, pri čemu su uvezena. Samonikle jedinke su rijetke i pretežno muške čime se biljka ne širi. Zato je potrebno ovoj zahvalnoj biljnoj vrsti pridati odgovarajući značaj i pružiti zaštitu s ciljem očuvanja postojećih primjeraka te poticati kultiviranje čime bi se omogućila prerada i proizvodnja nutraceutika za nacionalno, a i strano tržište te time iskorištavao njen potencijal zdravstveno i financijski.

Popis literature

- Ahmad S. D., Sabir S. M., Lodhi N. A. (2005) Morphological and biochemical comparison of *Hippophae rhamnoides*, *Elaeagnus umbellata* and *Crataegus oxyacantha* intra- and interspecifically. *South African Journal of Botany* **71**(2): 231–237.
- Ali R., Ali R., Jaimini A., Nishad D. K., Mittal G., Chaurasia O. P., Kumar R., Bhatnagar A., Singh S.B. (2012). Acute and sub acute toxicity and efficacy studies of *Hippophae rhamnoides* based herbal antioxidant supplement. *Indian Journal of Pharmacology* **44**: 504-8.
- Anonymous 1 <<https://arctos.database.museum/name/Hippophae%20rhamnoides>> Pristupljeno 29.10.2020.
- Anonymous 2 <<https://fineartamerica.com/featured/hippophae-rhamnoides-common-sea-buckthorn-bildagentur-online.html>> Pristupljeno 29.10.2020.
- Anonymous3 <https://www.google.com/search?q=hippophae+rhamnoides&sxsrf=ALeKk00rSP1j1cbfdG07GLiO3jdgNveoQ:1603978499921&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=2ahUKEwit69vF9dnsAhVdAxAIHdBSCLEQ_AUoAXoECAQQAw&biw=1366&bih=625#imgrc=PpqN3H5jqA5kKM>. Pristupljeno 29.10.2020.
- Anonymous 4 <<https://www.indiamart.com/proddetail/sea-buckthorn-seed-essential-oil-8139528088.html>>. Pristupljeno: 18.04.2021.
- Anonymous 5 <<https://www.exportersindia.com/biosash-business-pvt-ltd-company5473531/sea-buckthorn-oil-3594342.htm>>. Pristupljeno: 18.04.2021.
- Belščak-Cvitanović A., Durgo K., Huđek A., Bačun-Družina V., Komes D. (2018) Overview of polyphenols and their properties. U: Polyphenols: Properties, Recovery, and Applications, ur. Galanakis C. M., Woodhead Publishing, str. 3-44.
- Ciesarová Z., Murkovic M., Cejpek K., Kreps F., Tobolková B., Koplík R., Belajová E., Kukurová K., Daško L., Panovská Z., Revenco D., Burčová Z. (2020) Why is sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) so exceptional? A review. *Food Research International* **133**: 109170.
- Cossuta D., Simándi B., Hohmann J., Doleschall F., Keve T. (2007) Supercritical carbon dioxide extraction of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) pomace. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **87**: 2472-2481.
- Criste A., Urcan A. C., Bunea A., Pripon Furtuna F. R., Olah N. K., Madden R. H., Corcionivoschi N. (2020) Phytochemical Composition and Biological Activity of Berries

and Leaves from Four Romanian Sea Buckthorn (*Hippophae Rhamnoides* L.) Varieties. *Molecules* **25(5)**: 1170.

- Dong K., Fernando W. M. A. D. B., Durham R., Stockmann R., Jayatunga D. P. W., Jayasena V. (2020) A role of sea buckthorn on Alzheimer's disease. *International Journal of Food Science and Technology* **55(9)**: 3073-3081.
- Franjić J., Horvat G., Krstonošić D. (2016). Novo nalazište i sintaksonomske značajke pasjega trna (*Hippophaë rhamnoides* L., Elaeagnaceae) u Hrvatskoj. *Šumarski list* **140**: 111-115.
- Galanakis C. M. (2017) Nutraceutical and Functional Food Components Effects of Innovative Processing Techniques , 1. izd., Academic Press. str.1-14.
- Ghendov-Mosan A., Cristea E., Patras A., Sturza R., Padureanu S., Deseatnicova O., Turculet N., Boestean O., Niculaua M. (2020) Potential Application of *Hippophae Rhamnoides* in Wheat Bread Production. *Molecules* **25(6)**: 1272.
- Horvat G. (2017) Pasji trn (*Hippophaë rhamnoides* L., Elaeagnaceae) u Podravini, *Podravski zbornik* **43**: 207-209.
- Ivanova S. A., Sergeeva I. Y., Starovoytova K. V., Tereshchuk L. V. (2019) Obtaining Functional Products from Sea Buckthorn Berries. *Advances in Social Science, Education and Humanities Research* **298**: 407-411.
- Ji M., Gong X., Li X., Wang C., Li M. (2020) Advanced Research on the Antioxidant Activity and Mechanism of Polyphenols from Hippophae Species—A Review. *Molecules* **25(4)**:917.
- Kim J. S., Kwon Y. S., Sa Y. J., Kim M. J. (2011) Isolation and identification of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) phenolics with antioxidant activity and α -glucosidase inhibitory effect. *Journal of Agricultural and Food chemistry* **59(1)**: 138-44.
- Kumar R., Kumar G. P. , Chaurasia O. P., Singh S. B. (2011) Phytochemical and Pharmacological Profile of Seabuckthorn Oil: A Review. *Research Journal of Medicinal Plant* **5(5)**: 491-499.
- Li S. C.T., Beveridge H. J. T., Drover C. G.J . (2007) Phytosterol content of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) seed oil: Extraction and identification. *Food Chemistry* **101**: 1633-1639.

- Michel T., Destandau E., Elfakir C. (2011) Evaluation of a simple and promising method for extraction of antioxidants from sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) berries: Pressurised solvent-free microwave assisted extraction. *Food chemistry* **126**: 1380-1386.
- Pavlović N., Valek Lendić K., Miškulin M., Moslavac T., Jokić S. (2016) SUPERCRITICAL CO₂ EXTRACTION OF SEA BUCKTHORN. *Hrana u zdravlju i bolesti* **5(2)**:55-61.
- Périno-Issartier S., Huma Z., Abert-Vian M., Chemat F. (2011) Solvent Free Microwave-Assisted Extraction of Antioxidants from Sea Buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) Food By-Products. *Food and Bioprocess Technology* **4**: 1020–1028.
- Pravilnik o tvarima koje se mogu dodavati hrani i koristiti u proizvodnji hrane te tvarima čije je korištenje u hrani zabranjeno ili ograničeno (2013) *Narodne novine* **160** (NN 160/2013).
- Rafalska A., Abramowicz K., Krauze M. (2017) Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) as a plant for universal application. *World Scientific News* **72**: 123-140.
- Rajchal R. (2009) Seabuckthorn (*Hippophae salicifolia*) Management Guide. Nepal: The Rufford Small Grants Foundation, str. 10-11.
- Ren R., Li N., Su C., Wang Y., Zhao X., Yang L., Li Y., Zhang B., Chen J., Ma X. (2020) The bioactive components as well as the nutritional and health effects of sea buckthorn. *RSC Advances* **10**: 44654-44671.
- Shahidi F., Ambigaipalan P. (2015) Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects – A review. *Journal of Functional Foods* **18**: 820-897.
- Shankaranarayanan J., Arunkanth K., Dinesh K. C. (2018) Beta Carotene -Therapeutic Potential and Strategies to Enhance Its Bioavailability. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* **7(4)**: 555716.
- 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). *Journal of Agricultural and Food chemistry* **56**: 374–379.
- Teleszko M., Wojdyło A., Rudzinska M., Oszmianski J., Golis T. (2015) Analysis of Lipophilic and Hydrophilic Bioactive Compounds Content in Sea Buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) Berries. *Journal of Agricultural and Food chemistry* **63(16)**: 4120-9.

- Tkacz K., Wojdyło A., Turkiewicz I. P., Bobak Ł., Nowicka P (2019) Anti-Oxidant and Anti-Enzymatic Activities of Sea Buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) Fruits Modulated by Chemical Components. *Antioxidants* **8(12)**: 618.
- Vilas-Franquesa A., Saldo J., Juan B. (2020) Potential of sea buckthorn-based ingredients for the food and feed industry – a review. *Food Production, Processing and Nutrition* **2**: 17.
- Yogendra Kumar M. S. , Dutta R., Prasad D., Misra K. (2011) Subcritical water extraction of antioxidant compounds from Seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides*) leaves for the comparative evaluation of antioxidant activity. *Food Chemistry* **127**: 1309–1316.
- Yogendra Kumar M. S., Tirpude R. J., Maheshwari D. T., Bansal A., Misra K. (2013) Antioxidant and antimicrobial properties of phenolic rich fraction of Seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) leaves in vitro. *Food Chemistry* **141**: 3443–3450.
- Zakynthinos G., Varzakas T. (2015) Hippophae rhamnoides: safety and nutrition. *Current Research in Nutrition and Food Science* **3(2)**.
- Zeb A. (2004) Chemical and Nutritional Constituents of Sea Buckthorn Juice. *Pakistan Journal of Nutrition* **3 (2)**: 99-106.
- Zielińska A., Nowak I. (2017) Abundance of active ingredients in sea-buckthorn oil. *Lipids in Health and Disease* **16**: 95.

Izjava o izvornosti

Izjavljujem da je ovaj završni rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

A handwritten signature in black ink, reading "Gajko Dolonen", written over a horizontal line.

ime i prezime studenta