

## **RAPPORT FINAL**

### **Stratégie d'innovation Argousier (*Hippophae rhamnoides* L.)**

#### **Potentiel de valorisation du fruit de l'argousier et ses dérivés**

**Présenté à :**

**André Nicole, Président**

**Association des Producteurs d'Argousier du Québec**

**Préparé par :**

**François Couture, Économiste agroalimentaire**

**Ronan Corcuff, M.Sc.**

**Paul Paquin, Ph. D.**

**14 DÉCEMBRE 2010**

# Table des matières

<b>1. Rappel du mandat</b>	<b>3</b>
<b>2. État des connaissances sur la composition et les effets santé du fruit de l'argousier (<i>Hippophae rhamnoides</i> L.)</b>	<b>3</b>
<b>2.1. FRUIT ENTIER</b>	<b>4</b>
2.1.1. Composition d'intérêt	4
2.1.2. Effets observés	5
<b>2.2. PULPE</b>	<b>5</b>
2.2.1 PULPE- HUILE	6
2.2.1.1 Composition d'intérêt	6
2.2.1.2 Effets observés	6
2.2.2 PULPE - JUS	7
2.2.2.1 Composition d'intérêt	7
2.2.2.2 Effets observés	8
2.2.3 PULPE - RÉSIDUS	8
2.2.3.1 Composition d'intérêt	8
2.2.3.2 Effets observés	9
<b>2.3. GRAINE</b>	<b>11</b>
2.3.1 GRAINE- HUILE	11
2.3.1.1 Composition d'intérêt	11
2.3.1.2 Effets observés	11
2.3.2 GRAINE-RÉSIDUS	12
2.3.2.1 Composition d'intérêt	12
2.3.2.2 Effets observés	13
<b>3. Synthèse des informations</b>	<b>14</b>
<b>4. Conclusions</b>	<b>17</b>
<b>5. Bilan des heures travaillées</b>	<b>18</b>
<b>6. Références</b>	<b>19</b>

## 1. Rappel du mandat

La mise sur pied d'une filière de l'argousier en territoire québécois fait l'objet d'un effort soutenu de la part de l'association des producteurs d'argousier du Québec et nécessite une meilleure organisation des informations les plus crédibles quant aux applications et débouchés potentiels de l'argousier et ses dérivés. À cet égard, l'association souhaite amorcer un travail permettant d'identifier les opportunités de développement et d'innovation possibles à partir de l'argousier produit au Québec. L'association par l'entremise de son président, Monsieur André Nicole, a donc demandé à l'Institut des Nutraceutiques et des Aliments Fonctionnels de l'Université Laval (INAF) d'accompagner cette dernière dans sa mission d'intéresser le plus grand nombre d'intervenants possibles à la production, la transformation et la mise en marché de l'argousier et ses dérivés.

Donc, le mandat confié à l'INAF consistait à réaliser les travaux suivants :

1. Une revue littéraire sur le potentiel d'application commerciale permettant de valoriser *Hippophae rhamnoides* L. et ses constituants utilisables dans les secteurs de l'alimentaire, des produits de santé naturels et du cosméceutique.
2. Évaluer le potentiel d'opportunité selon des applications ciblées, de même que les étapes à suivre pour le développement en filière et la valorisation de *Hippophae rhamnoides* L.

## 2. État des connaissances sur la composition et les effets santé du fruit de l'argousier (*Hippophae rhamnoides* L.)

L'argousier est un arbuste implanté très récemment en Amérique du Nord et Europe, bien qu'il soit connu depuis très longtemps des populations chinoises et russes, notamment pour les propriétés médicinales de ses fruits et ses feuilles. Les fruits de l'argousier sont en effet traditionnellement utilisés dans ces populations pour soigner divers maux liés à des inflammations, des infections, des ulcères, des cancers, des maladies de peau, etc. (Guliyev et al., 2004). Les qualités nutritionnelles, nutraceutiques, cosméceutiques et médicinales du fruit de l'argousier suscitent ainsi un intérêt grandissant en Occident depuis la dernière décennie. La composition d'ensemble du fruit est intéressante, mais le fruit de l'argousier étant constitué d'une graine et de pulpe, il est aussi possible de fractionner différentes parties (ex. jus, huiles, pigments) pour concentrer certaines teneurs en composés phytochimiques d'intérêt ou pour isoler des effets santé.

Cette synthèse des connaissances scientifiques récentes acquises sur le fruit de l'argousier a pour objectif de clarifier les compositions de différentes parties (fruit entier, pulpe, graine), afin de préciser dans lesquelles peuvent se retrouver certaines classes de composés d'intérêt nutraceutique ou cosméceutique, et d'étayer leur potentiel par les études disponibles sur les effets santé observés. Les données étant assez variables selon les sous-espèces, celles valables pour les sous-espèces implantées au Québec (subs. *rhamnoides* et *mongolica*), lorsque disponibles, seront mentionnées. Étant donné la très vaste information disponible sur l'argousier et la durée du mandat, la recherche présentée s'est concentrée sur les informations pertinentes et récentes et ne se veut point exhaustive.

## 2.1. FRUIT ENTIER

### 2.1.1. Composition d'intérêt

Le fruit de l'argousier se distingue en premier lieu par ses hautes teneurs en composés lipophiles comparativement aux autres fruits :

- **Huile** : 16.6 g d'huile/100g matière sèche (MS) soit 3.5 g/100g fruit frais avec pour composition globale en acides gras de 23.6% C16 :0; **26.0% C16 :1n-7**; 17.2% C18 :1n-9; **15.3% C18 :2n-6**; **8.8% C18 :3n-3** et 7.8% C18 :1n-7 (subs. *ramnoides*) (Yang et al., 2001) ;
- **Caroténoïdes** : 120-1425 mg de caroténoïdes/kg MS, avec présence d'une grande variété de molécules dont  $\beta$ -carotène, zéaxanthine, lycopène,  $\alpha$ -carotène, lutéine et  $\beta$ -cryptoxanthine (Andersson et al., 2009) ;
- **Vitamine E** : 56-140 mg de tocophérols & tocotriénols (tocols)/kg MS (Kallio et al., 2002) à 480 mg/kg MS dont 75% de  $\alpha$ -tocophérol/kg MS (Andersson et al., 2008), pour une activité de 380 mg de vitamine E/kg MS ;
- **Phytostérols** : 340-502 mg de phytostérols/kg MS ou 13-33 g/kg frais (Yang et al., 2001).

Ceci classe le fruit de l'argousier nettement à part des fruits les plus riches en lipides (framboises, 4.6 g/100g MS), en caroténoïdes (mangue, 1 000 mg/kg MS) ou en vitamine E (mûre, 99 mg/kg MS) (USDA-ARS, 2002). Ces composés se retrouveront majoritairement dans les portions huileuses du fruit, mais en différentes proportions selon les parties d'origine (cf. plus bas).

Le fruit contient également d'autres composés intéressants, plus hydrophiles, qui seront retrouvés principalement dans le jus ou les matrices solides :

- **Vitamine C** : 150-490 mg/100g fruit frais (Gutzeit et al., 2008; Ranjith et al. 2006), présence aussi de thiamine, riboflavine, nicotinamide, acide pantothénique, pyridoxine, biotine, acide folique et phylloquinone (Gutzeit et al., 2007) ;
- **Composés phénoliques** : total de 220 à 360 mg eq. catéchine/100g fruits (8.8 à 14.4 g eq catéchine/kg MS ; Zadernowski et al., 2005) dont :
  - **Proanthocyanidines** : 275 mg eq. catéchine/100g, ce qui est assez élevé (Hosseinian et al., 2007) ;
  - **Flavonols** : 49-129 mg /100 g fruits frais pour subs *ramnoides* et 27-81 mg/100g fruits frais pour subs *mongolica* (Yang et al., 2009).
  - **Acides phénoliques** : 88-110 mg/100 g fruits frais (3.5 à 4.4 g/kg MS), constitués aux 2/3 d'acide salicylique (Zadernowski et al., 2005) ;
- **Lignanes** : 13-80 mg/100 g fruits frais de lignanes (mêmes niveaux que framboise ou céréales) (Yang et al., 2006) ;
- **Minéraux** : Potassium et Manganèse sont généralement présents en quantité importante si l'on se fie aux doses quotidiennes recommandées (Gutzeit et al., 2008).

Il faut noter que les teneurs de ces composés sont souvent assez variables selon l'origine et les conditions de culture, la sous-espèce, la date de récolte.

### 2.1.2. Effets observés

Si l'on considère le fruit entier, quelques effets santé ont été étudiés sur l'huile dans son ensemble (huile de pulpe + huile de graine).

*Cosmétique* : La composition globale de l'huile du fruit est assez remarquable. Elle est d'une part d'un intérêt nutritionnel particulier car elle possède une teneur élevée en acide  $\alpha$ -linoléique (ALA), oméga-3 essentiel, tout en étant pas trop élevée en acide linoléique, oméga-6 bénéfique pour la santé, mais qui peut provoquer des inflammations si présent en trop grande concentration. Le ratio n-6/n-3 est inférieur à 2, ce qui est garant d'un très bon équilibre nutritionnel (Dubois et al., 2007). Par ailleurs, sa teneur élevée en acide palmitoléique (C16:1) est unique et en fait une huile de choix, en combinaison avec ses teneurs en vitamine E, caroténoïdes et phytostérols, pour ses qualités dermatologiques et soins cutanés ou des muqueuses (Menvielle-Bourg et al., 2009). Ainsi, l'ingestion de 5g d'huile (combinaison graine et pulpe) par jour pendant 4 mois a atténué les symptômes de dermatite chez des adultes (Yang et al., 1999, 2000). Cependant, l'acide palmitoléique est concentré uniquement dans l'huile de la pulpe et non dans celle de la graine, qui contient les acides gras polyinsaturés. Ainsi, les caractéristiques et utilisations éventuelles des deux huiles peuvent être bien différentes (voir plus bas).

*Cardiovasculaire* : Étant donné les hautes teneurs en n-6 et n-3, et le ratio n-6/n-3 inférieur à 2, ce type d'huile serait tout indiquée pour prévenir les risques cardiovasculaires. L'ingestion par des hommes normaux de 5g/j d'huile d'argousier n'a pas affecté leurs lipides sanguins ni le glucose sanguin, mais a cependant réduit l'agrégation des plaquettes induite artificiellement (Johansson et al., 2000). La majorité des études à caractère cardiovasculaire concerne l'huile de graine ou l'huile de pulpe séparément.

*Antioxydatif* : Bien que ce fruit soit riche en composés antioxydants tels que caroténoïdes, précurseurs de la vitamine E et composés phénoliques, la capacité antioxydante ORAC totale du fruit a été mesurée à 251 mg eq. Trolox/100 g, ce qui ne classe pas le fruit de l'argousier parmi les fruits les plus élevés (Hosseinian et al., 2007). Une autre étude a mesuré 23-24  $\mu$ mol eq TEAX/g d'extrait brut du fruit, et qui s'est avéré l'extrait le plus efficace pour l'inhibition de la peroxydation des lipides comparativement à des extraits aqueux, phénoliques ou lipophiles des mêmes fruits (Gao et al., 2000).

## 2.2. PULPE

La pulpe contient en moyenne sur une base fraîche de 75 à 80% d'eau, 9.5% de sucres (glucose, fructose, mannitol, sorbitol, xylitol, xylose), 4.6% de lipides, 1.8% de protéines, 1.0% de cendres et 2.4% de fibres (Arimboor et al., 2006).

En fait, la teneur en huile de la chair et de la peau est très variable, de 1.4 à 13.7% du fruit frais, et plus précisément 3-8% pour subs. *ramnoides* et 2-10% pour subs. *mongolica* (Yang et Kallio, 2002). Dans des fruits lyophilisées de la subs. *ramnoides*, elle représente 18.9% de la masse (Yang et Kallio, 2001).

## 2.2.1 PULPE- HUILE

### 2.2.1.1 Composition d'intérêt

- **Acides gras** : L'huile de la chair est de composition unique avec une très forte proportion d'**acide palmitoléique** (C16 :1, n-7) (16-54%), d'acide palmitique (C16 :0) (17-47%) et d'acide oléique (C18 :1, n-9) (2-35%) (Ranjith et al., 2006). Contrairement à celle de l'huile de graine, la composition de l'huile de pulpe est assez variable selon les sous-espèces et les périodes de récolte. Les concentrations moyennes les plus élevées d'acide palmitoléique ont été retrouvées dans les subs. *mongolica* (34% en moyenne) et *ramnoides* (24%) (Yang et Kallio, 2001).
- **Tocols** : La concentration en tocols, précurseurs de la vitamine E, est un peu plus faible que celle des graines, mais comme l'huile de pulpe est plus importante en terme de masse, la majorité des tocols du fruit provient de l'huile de pulpe (Yang et Kallio, 2002 ; Kallio, 2002). De plus 90% en est constitué de  **$\alpha$ -tocophérol**, la forme la plus efficacement convertie en vitamine E. Ces teneurs sont très dépendantes de la période de récolte (Yang et Kallio, 2002). Dans une autre étude, la teneur totale sur une base d'huile a été de 1 410 mg de tocols/kg huile, dont 70% sous forme de  $\alpha$ -tocophérol. L'huile de pulpe a démontré aussi une plus grande activité vitaminique E (et A) que l'huile de graine (Arimboor et al., 2006). Une autre étude confirme la teneur de 1 300 à 1 788 mg de tocols totaux/kg d'huile (Ranjith et al., 2006).
- **Phytostérols** : Teneur moyenne de 4 400 mg de phytostérols/kg d'huile, dont 73% constitué de  **$\beta$ -sitostérol**, le reste étant du stigmastérol (Arimboor et al., 2006). Selon une autre étude, l'huile de pulpe contient plusieurs phytostérols (total de 279 mg/kg), principalement de  $\beta$ -sitostérol (198 mg/kg) dans subs *ramnoides* (Yang et al., 2001), mais aussi de l' $\alpha$ -amyrine et d'autres triterpènes (86 mg/kg).
- **Caroténoïdes** : Teneur assez élevée, soit de 0.7 à 5.0 g/kg huile selon les études (Arimboor et al., 2006 ; Ranjith et al., 2006 ; Yang et Kallio, 2002). Les caroténoïdes du fruit, pigments lipophiles, se retrouvent naturellement dans l'huile.
- **Acide ursolique** : Il a été identifié dans une fraction d'acétate d'éthyle issue de l'extraction de la chair (Grey et al., 2010); la présence de ce triterpène bio-actif dans l'huile de pulpe est donc très probable.

### 2.2.1.2 Effets observés

*Cosmétique* : L'acide palmitoléique (C16 :1) a l'intérêt d'avoir une fluidité équivalente aux acides gras polyinsaturés (ex. C18 :2 et C18 :3), tout en maintenant une plus grande résistance à l'oxydation. Il est présent dans les membranes des muqueuses et de la peau (Dubois et al., 2007). Il active le métabolisme des muscles vasculaires et aurait par ailleurs une activité hypocholestérolémique et hypoglycémique (Yang et Kallio, 2001). Avec également sa haute teneur en équivalent vitamine E et en caroténoïdes, l'huile de pulpe peut trouver de nombreuses applications cosmétiques.

*Antidermatose* : L'ingestion de 5 g d'huile de pulpe par jour pendant 4 mois a procuré une protection contre les dermatites chroniques ; elle a augmenté un peu la teneur en C16:1 dans la composition glycérophospholipides du plasma sanguin, mais a eu peu d'effet sur la composition de la peau (Yang et al., 1999 ; 2000). L'effet de l'huile de pulpe serait plutôt associée à sa teneur en phytostérols aux propriétés antiinflammatoires (Yang et al., 1999).

*Antiulcérogénique* : Une fraction d'hexane du fruit (HRe-1) a démontré chez des rats alimentés avec 1 mL/kg et chez lesquels des ulcères gastriques étaient chimiquement induits, une réduction de moitié du nombre de lésions par animal et de la taille des lésions (Süleyman et al., 2001).

*Antioxydatif* : Ce même extrait a démontré des effets semblables à ceux de la vitamine E contre l'oxydation associée à la nicotine chez des rats alimentés avec 250 mg d'extrait/ kg corporel/jour pendant 3 semaines dans le sang (Süleyman et al., 2002), le foie (Taysi et al., 2010), le cœur (Gumustekin et al., 2010), mais pas dans le cerveau (Gumustekin et al., 2003).

*Anticancer* : La fraction d'acétate d'éthyle riche en acide ursolique a inhibé la prolifération in vitro de cellules modèles du cancer du sein et du cancer du colon à partir de 0.25% (v/v) et presque totalement à 2% (v/v) d'application (Grey et al., 2010). Cette fraction induit aussi l'apoptose des 2 souches cellulaires. Par ailleurs cette fraction est cytotoxique envers une cellule modèle du carcinome hépatocellulaire humain, mais les auteurs ont attribué cet effet surtout aux phénols de la fraction (Teng et al., 2006). L'acide ursolique est un triterpène qui a démontré plusieurs effets santé notamment antiinflammatoire et anticancérigène (Suh et al., 1998 ; Pathak et al., 2007).

## 2.2.2 PULPE - JUS

### 2.2.2.1 Composition d'intérêt

- **Acides organiques** : Le jus d'argousier se caractérise par une forte teneur en acides organiques (majoritairement malique et quinique), assez variable selon la provenance. Par exemple, on rapporte des concentrations de 53 g/L dont 37 pour **acide malique** et 15 pour **acide quinique** pour subs *rhamnoides* ; 32 g/L dont 15 pour acide malique et 17 pour acide quinique pour subs. *mongolica* (Yang, 2009).
- **Sucres** : La teneur en sucre du jus est assez faible et est aussi dépendante de la provenance de l'échantillon. Hormis les sucres courants, le jus de fruit de l'argousier contient quelques dérivés de sucres peu fréquents. Ainsi, pour un total de 17 g de sucres/L, il y avait 6 g/L **d'éthyle-β-D-glucopyranose** et 3 g/L de **methyl inositol** pour subs *rhamnoides*; alors que pour un total de 77 g/L, on retrouvait 1 g/L d'éthyle-β-D-glucopyranose et 2 g/L de methyl inositol pour subs. *mongolica* (Yang, 2009). Il n'y a pas d'information sur l'effet santé du éthyle-β-D-glucopyranose mais les inositols interviendraient dans la régulation de plusieurs processus physiologiques (Kallio et al., 2009).
- **Vitamine C** : La teneur en vitamine C est assez élevée soit 0.3-2.5 g/kg de jus (Beveridge et al., 1999 ; Eccleston et al., 2002; Rösch et al., 2003; Arimboor et al., 2006). La teneur est très variable selon la sous-espèce, par exemple on retrouve de moins grandes concentrations dans *rhamnoides* ou *mongolica* (0.02-2 g/L) que dans *sinensis* (4-13 g/L) (Kallio et al., 2002).

- Composés phénoliques : Parmi les composés phénoliques, le jus contient très peu d'acides phénoliques (3.6 mg/L), mais des flavan-3-ols (373 mg/L dont 351 mg/L de **proanthocyanidines**, 19 mg/L de catéchine et 2.8 mg/l d'épicatéchine) et des **flavonols** (357.2 mg/L) dont l'isorhamnétine-3-rutinoside à 181 mg/L (Rosch et al., 2003). D'autres auteurs ont retrouvé jusqu'à près de 1 200 mg de flavonoïdes/L de jus, essentiellement issus de l'isorhamnétine (500 mg/L) (Eccleston et al., 2002), et près de 10 000 mg eq de proanthocyanidines/L, ce qui est élevé comparativement à d'autres jus de petits fruits (Hosseinian et al., 2007).
- Minéraux : On retrouve de fortes concentrations en **potassium** (4 g/kg jus) et en **manganèse** (3.7 mg/kg) comparativement aux besoins nutritionnels. Les teneurs sont correctes en magnésium, fer, cuivre et chrome, alors qu'elles sont faibles pour le calcium (21 mg/kg) mais aussi en sodium (17 mg/kg) (Gutzeit et al., 2008).

Lorsque le jus n'est pas filtré et clarifié, on retrouve une portion huileuse qui procure notamment :

- **Vitamine E** : jusqu'à 13.3 mg/L de jus dont 10.5 de  $\alpha$ -tocophérol (Eccleston et al., 2002).
- **Caroténoïdes** : 7.3 mg/L (Eccleston et al., 2002).

#### 2.2.2.2 Effets observés

Il y a assez peu d'effets spécifiques au jus de fruit d'argousier rapportés dans la littérature.

*Capacité antioxydante*: La capacité antioxydante ORAC totale du jus a été mesurée de 379 mg eq. Trolox/100 g, ce qui est relativement élevé pour un jus de fruit (Hosseinian et al., 2007). La majeure partie de l'activité antioxydante du jus non clarifié provenait de l'activité de la vitamine C (82.1%) et des proanthocyanidines (21.2%) alors que les flavonols ont été peu efficaces (Rosch et al., 2003, subs *rhamnoides*).

*Protection cardiovasculaire* : Il n'a pas été observé d'effet sur l'agrégation induite des plaquettes, ni sur l'oxydation du LDL chez des hommes ayant ingéré 300 mL de jus par jour pendant 8 semaines, mais en revanche une augmentation bénéfique du taux de HDL au cours du temps (Eccleston et al., 2002).

#### 2.2.3 PULPE - RÉSIDUS

##### 2.2.3.1 Composition d'intérêt

Il y a curieusement peu d'études qui détaillent la composition du résidu de pulpe après pressage. Cependant, parmi les résidus de la pulpe sèche, on retrouve comme composés d'intérêt la majorité des composés phénoliques du fruit ainsi que des lignanes:

- **Flavonols** surtout composés de isorhamnétine, sous différentes formes libres ou glycosylées ; présence aussi de quercétine et de kaempférol (Zu et al., 2006);



- **Proanthocyanidines** : 1 230 mg eq. catéchine/100 g, ce qui est assez élevé (Hosseinian et al., 2007). Identification de (+)gallocatéchine et (-)-épigallocatechine, de cinq dimères et de 9 trimères (Rosch et al., 2004);
- **Lignanes** : 34-313 µg/100g pulpe sèche de sécoisolaricirésinol et 3-25 µg/100g de matairesinol (Yang et al., 2006).

Si la pulpe est issue de la déshydratation (par séchage ou lyophilisation), on y retrouvera aussi, en plus concentrés, les constituants énumérés dans le jus soit notamment:

- **Caroténoïdes, phytostérols, acide ursolique, tocophérols et vitamine C** (Cossuta et al., 2007).

### 2.2.3.2 Effets observés

Plusieurs études ont porté sur des extraits alcooliques (éthanol ou méthanol) du fruit, et on peut attribuer les effets observés pour la plupart aux composés phénoliques présents dans la pulpe du fruit.

*Activité antioxydative* : La capacité antioxydante ORAC du résidu de pulpe est de 231 mg eq. Trolox/100 g, ce qui n'est pas très élevé comparativement à d'autres petits fruits, et ce malgré la bonne teneur en composés phénoliques (Hosseinian et al., 2007). Cependant, un extrait éthanolique du fruit séché, concentré à 10 mg/mL, a démontré *in vitro* une activité antioxydante à différents niveaux (baisse du niveau de radicaux libres superoxyde et oxyde nitreux, stimulation du niveau antioxydant des lymphocytes et de leur prolifération) (Geetha et al., 2002). Une fraction de l'argousier riche en flavonoïdes (REC-1001) a démontré une activité antioxydante supérieure de 67% à celle de la vitamine E (Chawla et al., 2007). L'isorhamnétine, le flavonol le plus présent, même si il n'est pas le plus efficace, a démontré une activité antioxydante envers le LDL oxydé, et a protégé les cellules endothéliales de blessures oxydatives (Bao et Lou, 2006).

*Protection cardiovasculaire* : Les flavonols glycosylés, essentiellement isorhamnétine et quercétine, ont été absorbés et retrouvés dans le plasma quelques heures après consommation de fruits d'argousier (Lehtonen et al., 2010). Cependant, l'addition d'un extrait de flavonols à l'alimentation (78 mg/j pendant 4 semaines) a eu peu d'effet sur les paramètres sanguins relatifs aux risques de maladies cardiovasculaires chez des hommes en santé (Suomela et al., 2006). Le plasma possédait malgré tout davantage d'isorhamnétine rapidement absorbée, et **l'ajout d'huile de graine d'argousier a favorisé son absorption**. Chez des adultes en santé ayant consommé quotidiennement 28 g de purée de fruit pendant 3 mois, les niveaux des flavonols quercétine et isorhamnétine non glycosylés étaient plus élevés dans le sang, mais n'ont pas affecté les niveaux de cholestérol (HDL ou LDL) sériques (Larmo et al., 2009). Dans une étude préalable sur des humains en santé, la réduction d'un marqueur de l'inflammation sérique avait été observée (Larmo et al., 2008). Par ailleurs, des rats alimentés avec 700 mg de poudre de fruit séché/kg de masse corporelle ont eu différents indicateurs d'hypertension sanguine à la baisse (Koyama et al., 2009). Un extrait de flavones du fruit de l'argousier a limité la thrombose induite dans l'artère fémorale de souris (300 µg/kg administré par intraveineuse) et inhibé *in vitro* l'agrégation des plaquettes (3 µg/mL) (Cheng et al., 2003).

*Anticancer* : Une fraction éthanolique riche en composés phénoliques a inhibé la prolifération *in vitro* de cellules modèles du cancer du sein et du cancer du colon à 2% (v/v) d'application, mais moins efficacement que la fraction d'acétate d'éthyle (Grey et al., 2010). Par ailleurs, d'autres cellules modèles de ces deux types de cancer ont eu une croissance limitée par un extrait éthanolique du fruit de l'argousier (Olsson et al., 2004). Comparativement à des fractions du même type d'autres petits fruits, l'extrait d'argousier était assez pauvre en anthocyanes et phénols totaux, mais riche en caroténoïdes et vitamine C. Par ailleurs, les flavonols isolés du fruit ont démontré pour certains une inhibition des cellules leucémiques modèles, et pour d'autres une induction de l'apoptose de ces cellules (Hibasami et al., 2005). Il a aussi été montré que l'isorhamnétine peut avoir un effet cytotoxique sur des cellules du carcinome hépatocellulaire, mais à concentration élevée (600 mM) (Teng et al., 2006), et sur les cellules humaines du cancer du colon (Jamarillo et al., 2010). Un extrait éthanolique de la pulpe a réduit la carcinogénèse (papillomagenèse) dans des muqueuses de souris (préestomac et peau), en induisant différents mécanismes de défense (Padmavathi et al., 2005). Les lignanes du résidu de pulpe, présentes en moins grande concentration mais en plus grande quantité que dans le résidu de graines, pourraient contribuer à un effet anticancer. Par ailleurs, l'isorhamnétine a démontré une certaine activité anticancer *in vitro* (Ma et al., 2007). Au moins un brevet existe sur les effets anticancers d'une préparation de fruit et de feuilles d'argousier (Dao et al., 2005).

*Fonction immune* : Un extrait éthanolique de l'argousier riche en flavones a stimulé la production d'interleukine-6 et la sécrétion du TNF-alpha des cellules mononucléaires du sang humain, suggérant une stimulation du système immunitaire contre des infections microbiennes éventuelles (Mishra et al., 2008).

*Antimicrobien* : Un extrait de fruit lyophilisé à 10 mg/mL a contrôlé la croissance en milieu liquide de *Salmonella enterica* et de *Staphylococcus aureus*, mais pas de *Listeria monocytogenes* ni de *Lactobacillus rhamnosus*. L'extrait des phénols du fruit de l'argousier (1 mg/mL) a contrôlé seulement *S. aureus* et n'est pas dans les extraits de fruits les plus efficaces parmi ceux testés dans l'étude (Puupponen-Pimia et al., 2005).

*Radioprotection* : Des souris exposées à une irradiation gamma ont survécu à 82% après ingestion préalable de 30 mg/kg d'un extrait éthanolique du fruit (RH-3) vs 0% pour les individus témoins (Goel et al., 2002 ; Sharma et al., 2004). Cet extrait a protégé leurs mitochondries, limité l'oxydation associée à l'irradiation (Goel et al., 2005 ; Agrawala et Adhikari, 2009) et prévenu la mort cellulaire des cellules du thymus irradiées (Goel et al., 2004). Certains auteurs souhaiteraient valoriser cet effet (Arora et al., 2005; Jagetia, 2007).

*Neurologique*: L'ingestion de 4 mg d'extrait de fruit/ kg de masse corporelle pendant deux semaines aurait rétabli partiellement les activités motrices et les niveaux de tryptophane et de sérotonine dans le cerveau de rats soumis à un traitement mimant l'agitation schizophrénique (Batool et al., 2009).

## 2.3. GRAINE

Chaque fruit est composé d'une graine qui représente de 5.9% (Yang et Kallio, 2001) à 9.7% (Arimboor et al., 2006) de la masse totale du fruit frais. La teneur en huile des graines est en moyenne de 10% et peut aller à 15-16% (Yang et Kallio, 2002). Elle a été retrouvée de 11.3% pour la subs. *ramnoides* (Yang et Kallio, 2001). Le reste constitue un résidu solide après pressage/extraction de l'huile.

### 2.3.1 GRAINE- HUILE

#### 2.3.1.1 Composition d'intérêt

- **Acides gras** : L'huile des graines est riche en **acide  $\alpha$ -linoléique** (C18 :2, n-6) (30-40%) et en **acide linoléique** (ALA, C18 :3, n-3) (20-35%). On remarquera que les teneurs en ces deux acides gras sont plus élevées que dans le fruit entier. Les autres acides gras sont l'acide oléique (C18 :1, n-9), l'acide palmitique (C16 :0), et dans une moindre mesure l'acide stéarique (C18 :0) et l'acide vaccénique (C18 :1, n-7). Contrairement aux autres paramètres, il n'y a pas de grandes différences entre les différentes sous-espèces quant à la composition de l'huile de graine (Yang et Kallio, 2001 ; Yang et Kallio, 2002).
- **Tocols** : La teneur élevée (100-300 mg/kg graines) (Kallio et al, 2002) est constituée de plusieurs composantes, avec prédominance des formes  $\alpha$  et  $\gamma$  pour 30-50% chacun, mais aussi de  $\beta$ -tocotriénol (1-8%) (Yang et Kallio, 2002). Rapportée sur une base d'huile, la teneur moyenne est de 1 000 à 1 700 mg de tocols/kg d'huile (Arimboor et al., 2006 ; Purushothanam et al., 2008 ; Ting et al., 2011). L'huile de graine est plus riche en tocols que l'huile de la pulpe (Xu and Gao, 2009).
- **Phytostérols** : L'huile de graine contient de nombreux phytostérols (12 000 à 23 000 mg/kg d'huile), principalement de  **$\beta$ -sitostérol** (68%) et isofucostérol (15%) dans la subs. *ramnoides* (Yang et al., 2001). D'autres auteurs mentionnent des teneurs de près de 17 000 mg/kg d'huile, dont 81% constitué de  $\beta$ -sitostérol, le reste de campésterol et stigmastérol (Arimboor et al., 2006 ; Purushothanam et al., 2008).
- Il y a un peu de caroténoïdes (120-1 000 mg de  $\beta$ -carotène/kg huile) (Yang et Kallio, 2002; Purushothanam et al., 2008 ; Ting et al., 2011), qui se retrouvent essentiellement dans l'huile de pulpe (Xu and Gao, 2009).

#### 2.3.1.2 Effets observés

Selon la littérature chinoise et russe rapportée par de récents auteurs, l'huile de graine diminuerait les risques de maladies cardiovasculaire et cérébrovasculaire, régulerait la fonction immune, et atténuerait l'inflammation (Yang et Kallio, 2001). Par ailleurs les tocotriénols auraient des effets bénéfiques hypocholestérolémique, anticancer et dermoprotecteur (Kallio et al., 2002)

L'huile de graine est recommandée nutritionnellement comme source importante d'acides gras essentiels n-3 et n-6 (Dubois et al., 2007). Plus spécifiquement, la littérature récente relate les effets suivants :

*Protection cardiovasculaire* : Des lapins normaux ingérant 1 mL d'huile de graine pendant 18 jours ont eu une baisse significative de l'indice athérogénique et du ratio LDL/HDL, alors que les niveaux de HDL et de l'activité vasorelaxante de l'aorte étaient augmentés (Basu et al., 2007). Dans cette même étude, mais chez des lapins hypercholestérolémiques recevant 1 mL d'huile de graine pendant 30 jours, les niveaux de triglycérides et de LDL sanguins ont été abaissés, alors que le niveau de HDL a augmenté, indiquant un fort potentiel anti-athérogénique de l'huile.

*Activité antioxydante* : L'activité anti-radicalaire de l'huile de graine, mesurée dans deux modèles différents, a été importante et a été légèrement plus élevée que celles de l'huile de pulpe ou celle de l'huile globale, mais pas significativement (Xu and Gao, 2009). Mesurée dans différents systèmes in vitro, cette activité antioxydante de l'huile de graine s'est avérée souvent élevée comparativement à des molécules de référence bien que son pouvoir réducteur ne soit pas très fort (Ting et al., 2011). In vivo, l'huile de graine a présenté un effet hépato-protecteur chez des souris soumises à un traitement nocif (CCl<sub>4</sub>) et ingérant 0.26 mg d'huile/kg par jour pendant 8 semaines, notamment en contrôlant les niveaux oxydatifs (Hsu et al., 2009). Ces mêmes auteurs ont retrouvé des niveaux élevés d'enzymes de défense antioxydantes dans le foie des souris alimentées (Ting et al., 2011). Chez des rats placés en hypoxie, l'alimentation de 1.5 à 5.0 mL d'huile/kg masse corporelle 12 h avant la mise en hypoxie a protégé contre les lésions au cerveau et la production de radicaux libres en stabilisant les mécanismes de défenses antioxydantes (Purushothanam et al., 2008).

*Cicatrisation* : L'ingestion de 2.5 mL d'huile de graine/kg masse corporelle de rats blessés, ou l'application de 200 µL sur les blessures, a accéléré la cicatrisation sans provoquer d'effet secondaire indésirable (Upadhyay et al., 2009).

*Anti-Inflammatoire* : L'ingestion de 5 g d'huile de graine par jour a légèrement augmenté les teneurs en ALA et EPA, autre oméga-3 synthétisé dans le corps humain à partir de l'ALA, mais a eu peu d'effet sur la composition des phospholipides de la peau dans le cas de dermatites (Yang et al., 1999). La consommation de 2 g d'huile a protégé également des sujets humains contre les symptômes associés à la conjonctivite sèche lors des hivers nordiques (Larmo et al., 2010).

## 2.3.2 GRAINE-RÉSIDUS

### 2.3.2.1 Composition d'intérêt

- Il y a peu de documentation sur la composition spécifique de la matière solide des graines.
- Il faut toutefois mentionner la présence de **lignanes**, soit 93-355 µg de sécoisolaricirésinol/100g MS et 1-13 µg de matairesinol /100g MS (Yang et al., 2006), soit en un peu plus grande concentration que dans la pulpe.
- L'extraction par micro-ondes des **phénols totaux** de la graine a révélé une teneur élevée (23.5 mg équivalent acide gallique/g M.S.), constituée principalement de quercétine (91%), glycosylée ou libre (Sharma et al., 2008). Cela représentait une concentration 5 fois plus grande que celle de la pulpe (4.8 mg équivalent acide gallique/g M.S.). L'activité antioxydante observée avec cet extrait (cf. plus bas) a été expliquée par la présence de quercétine, mais aussi de **gallocatéchine** (proanthocyanines).

### 2.3.2.2 Effets observés

Les lignanes sont des phytoestrogènes reconnus pour avoir un effet sur la baisse d'incidence de cancer hormonaux (sein, prostate), de l'ostéoporose, d'inflammations et de maladies vasculaires et d'augmenter les fonctions cognitives et immunes (selon Yang et al., 2006). Il n'y a cependant pas d'études concernant l'effet des lignanes de l'argousier, surtout relativement à leur teneur, qui est 3 fois moindre que dans la canneberge, ou la fraise et beaucoup moins que les grandes sources de lignanes (lin, 400 000 µg/100g MS, thé et quelques légumes, 1 000-4 000 µg/100g MS) (Yang et al., 2006).

*Activité antioxydante et antibactérienne* : Un extrait méthanolique de graines sèches a démontré une activité antioxydante et antibactérienne envers différentes espèces de *Bacillus*, *Listeria monocytogenes* et *Yersinia enterocolitica*, comparativement à des extraits plus lipophiles (Negi et al., 2005). Un extrait aqueux de la graine a également présenté une activité antibactérienne envers *Y. enterocolitica* et *L. monocytogenes* (Chauhan et al., 2007). L'activité antioxydante d'un extrait de graines obtenu par micro-ondes était de 182 à 282 mg d'équivalent trolox/g M.S. selon la méthode antiradicalaire de mesure utilisée, et était dix fois plus forte que celle de l'extrait de la pulpe ou du fruit entier (Sharma et al., 2008).

*Contrôle glycémique*: Un extrait aqueux de graine a montré un effet hypoglycémique et hypolipidémique chez des souris normales et antihyperglycémique chez des rats diabétiques alimentés par 400 mg d'extrait/kg corporel pendant 4 semaines (Zhang et al., 2010). Les niveaux oxydatifs dans le sang de ces rats étaient également diminués.

*Protection cardiovasculaire* : Un extrait des flavones du résidus incorporés dans alimentation de rats hypertendus a baissé et contrôlé leur pression artérielle systolique au même niveau qu'un médicament témoin. Ceci a été expliqué comme probable conséquence de la régulation du métabolisme du glucose et de l'amélioration de la résistance à l'insuline. Réduit aussi l'activité de l'angiotensine II (Pang et al., 2008)

### 3. Synthèse des informations

Les caractéristiques d'intérêt nutraceutique des différentes parties du fruit de l'argousier peuvent être résumées dans les deux tableaux suivants:

Tableau 1 : Comparaison des compositions caractéristiques estimées et des effets connus des huiles de pulpe et de graine du fruit de l'argousier (en noir, effets démontrés sur l'humain, en gris effets possibles).

Composé	Huile de pulpe	Huile de graine
Acides gras	C16:1 (30%)	C18:2 (35%) et C18:3 (25%)
Tocols (vitamine E)	1 410 mg/kg huile	1 000 – 1 700 mg/kg huile
Phytostérols	4 400 mg/kg huile	17 000 mg/kg huile
Caroténoïdes (vitamine A)	700-5 000 mg/kg huile	200 – 1 000 mg/kg huile
Terpènes (Acide ursolique)	Présence très probable	?
Rendements approximatifs	50 g huile/kg fruit	10 g huile/kg fruit
Activités/intérêts biologiques	Cosmétique Dermatologique Anti-inflammatoire Antioxydante Cardiovasculaire	Nutritionnel Cardiovasculaire Antioxydante

Tableau 2 : Comparaison des compositions caractéristiques estimées et des effets connus des jus de pulpe et des résidus de pulpe et de graine du fruit de l'argousier (en noir, effets démontrés sur l'humain, en gris effets possibles).

Composé	Jus de pulpe	Résidu de pulpe (après pressage du jus)	Résidu de graine
Acides organiques	48 g/kg jus	?	-
Sucres	19 – 85 g/kg jus	?	-
Vitamine C	0.03 - 2.5 g/kg jus	?	-
Flavonols	400 mg/kg jus	1 600 mg/kg résidu	8 000 mg/kg résidu
Proanthocyanidines	385 mg/kg jus	12 300 mg/kg résidu	?
Lignanes	?	3 400 mg/kg résidu	3 700 mg/kg résidu
Rendement approximatif	700 g jus/kg fruit	200 g résidu/kg fruit	40 g résidu/kg fruit
Activités/intérêts biologiques	Antioxydante Cardiovasculaire	Cardiovasculaire Radioprotection Antioxydante Anticancer Antimicrobien Neurologique	Cardiovasculaire Antimicrobien Antioxydante Anticancer Contrôle glycémique

Il ne fait aucun doute que le fruit de l'argousier possède de nombreux effets bénéfiques pour la santé grâce à de nombreux composantes. Il y a un intérêt évident pour l'exploitation des effets santé du fruit de l'argousier étant donné sa composition. Plusieurs brevets font état d'utilisation d'extraits de fruits d'argousier, seuls mais plus souvent en combinaison avec d'autres extraits végétaux, pour élaborer des préparations qui visent à prévenir et lutter contre des cancers, des désordres cardiovasculaires ou neurologiques, ou des inflammations. Des extraits de fruits d'argousier interviennent comme **ingrédients médicinaux dans des produits de santé naturelle approuvés par Santé Canada**, dont les allégations sont, comme ingrédients principaux, de procurer un bon équilibre en acides gras bénéfiques et de maintenir la santé de la peau, et comme ingrédients mineurs, de faciliter la métabolisation des sucres et des gras, de contribuer à une bonne santé cardiovasculaire, ou de procurer une bonne source d'antioxydants.

Les différentes composantes d'intérêt peuvent se retrouver toutefois dans différentes parties du fruit ou sous différentes formes, et il serait difficile de mettre en place des procédés d'extraction et de valorisation spécifiques. De plus, les mécanismes d'action des différents constituants bioactifs sont souvent associés, additifs ou synergiques. Il faut également tenir compte des variations importantes dans les teneurs des différents constituants en fonction des variétés/sous-espèces, conditions agronomiques, date de récolte. Il sera donc important à cet égard de caractériser ses propres produits, afin de déterminer plus précisément leur potentiel.

Il y a également un réel défi technologique pour établir un procédé rentable et efficace afin d'obtenir les parties désirées. Plusieurs auteurs présentent ainsi des schémas d'obtention de différentes parties (Beveridge et al., 1999 ; Cenkowski et al., 2006; Chauhan et al., 2003; Utioh, 2009). Cependant l'utilisation telle quelle du fruit de l'argousier à des fins alimentaires apparaît limitée, et **pour favoriser le développement pérenne d'une filière, il est essentiel de trouver une valorisation à toutes les parties du fruit. Ainsi, il apparaît plus approprié de développer des ingrédients à valeur nutraceutique ou cosméceutique issus du fruit de l'argousier.** Au regard des composantes de chacune des parties du fruit et de leur potentiel 'santé', il ressort que :

- 1) Le jus de fruit d'argousier contient de nombreux éléments nutritifs et nutraceutiques, mais son utilisation telle quelle est limitée par son acidité, et par des problématiques caractéristiques de l'industrie des jus & boissons (ex. disponibilité annuelle). La **déshydratation du jus**, par lyophilisation par exemple, **permettrait d'obtenir une poudre** (poudre A du schéma ci-dessous) **contenant tous les ingrédients actifs présents dans le jus (vitamines, minéraux, composés phénoliques mais aussi certains constituants lipophiles comme des caroténoïdes, tocots et phytostérols)**, mais en plus grande concentration. Cette transformation offrirait un produit à haute valeur ajoutée au potentiel d'utilisation alimentaire beaucoup plus large (ex. industries de la boulangerie, des snacks, de la confiserie, des concentrés de jus et boissons, ...);
- 2) **L'huile de pulpe d'argousier est véritablement de composition unique dont les effets sont établis**, et doit être un des produits de valorisation dans le domaine des cosméceutiques ;
- 3) Le **résidu** obtenu après séparation du jus et de l'huile de pulpe, auquel pourrait s'ajouter la graine en poudre et son huile, doit être un co-produit à valoriser également sous forme de **poudre** (poudre B du schéma ci-dessous), **étant donné les concentrations élevées notamment de proanthocyanidines, flavonols et lignanes** que l'on pourrait y retrouver. Des extraits de certains constituants pourraient aussi être utilisés à des fins nutraceutiques et/ou médicinales (ex. huile de graine, pigments, flavonoïdes, ...).

Ainsi, en tenant compte de la problématique actuelle de l'APAQ, il serait possible d'envisager un procédé de fractionnement du fruit de l'argousier suivant :

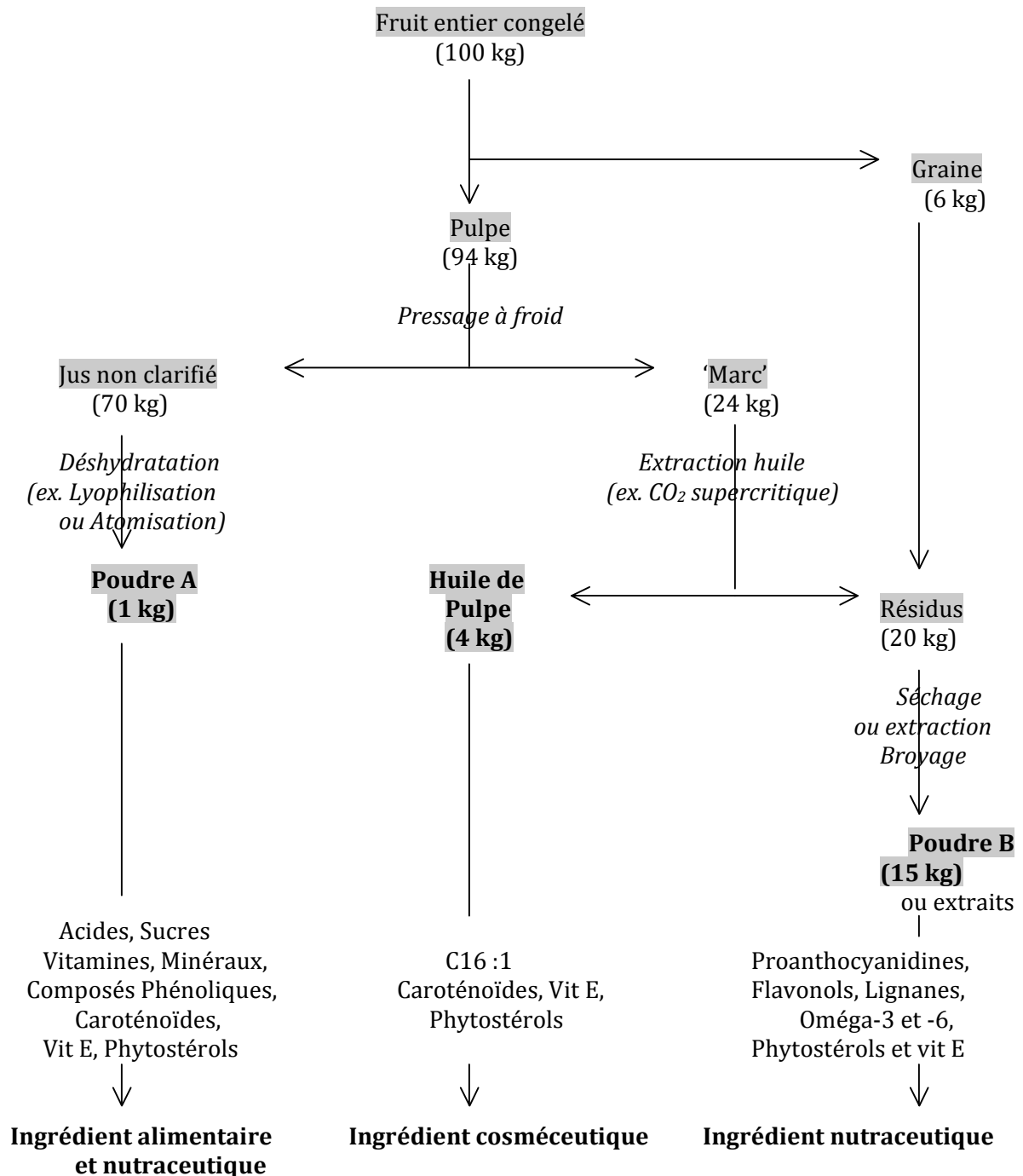


Figure : Proposition de fractionnement du fruit de l'argousier en différents produits utilisables dans les domaines alimentaires, produits de santé naturels (nutraceutiques) ou cosméceutiques (rendements théoriques approximatifs basés sur la composition moyenne du fruit et ne tenant pas compte des pertes ou ajouts dans les procédés).



## 4. Conclusions

Ce rapport visait essentiellement à définir les orientations à suivre pour atteindre une exploitation optimale du potentiel nutraceutique et cosméceutique du fruit de l'argousier. Suite à cette étude, l'APAQ pourrait considérer les recommandations suivantes:

- 1- **Caractériser le fruit d'argousier produit au Québec**, fruit qui servira de matière première, pour en déterminer la composition moyenne ainsi que les rendements potentiels des différentes fractions. Pour cela, des analyses phytochimiques seront nécessaires en tenant compte des pratiques en vigueur dans l'industrie (ex. étendue des dates de récolte, régions géographiques, cultivars).
- 2- **Valider la composition des ingrédients à valeur ajoutée produits** à partir du fruit de l'argousier du Québec, suite à des essais de transformation à l'échelle pilote et éventuellement adaptation des procédés aux caractéristiques du produit.
- 3- **Déterminer la faisabilité technico-économique du procédé suggéré**, soit déterminer si les coûts de production des différentes fractions permettront une rentabilité vs les prix offerts pour les trois ingrédients par différents clients-partenaires ; du choix des technologies utilisées peut dépendre la qualité et valeur nutraceutique du produit (ex. lyophilisation vs atomisation).
- 4- **Déterminer les applications commerciales d'intérêt auprès de partenaires industriels ciblés (alimentaires, produits de santé naturels (nutraceutiques) et cosméceutiques)**, et réalisation d'une étude d'opportunité de marché auprès d'acheteurs potentiels permettant d'évaluer les prix et la qualité (spécifications produits), de même que les volumes d'affaires recherchés.

## 5. Bilan des heures travaillées

Tableau 3 : Bilan des heures travaillées

	Heures prévues	Heures travaillées	Solde
<b>TOTAL :</b>	<b>60</b>	<b>69</b>	

## 6. Références

- Agrawala, PK and Adhikari, JS. 2009. Modulation of radiation-induced cytotoxicity in U 87 cells by RH-3 (a preparation of *Hippophae rhamnoides*). **Indian J. Med. Res.** **130**: 542-549
- Andersson, SC; Olsson, ME; Johansson, E and Rumpunen, K. 2009. Carotenoids in sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) berries during ripening and use of pheophytin *a* as a maturity marker. **J. Agric. Food Chem.** **57**: 250-258.
- Andersson, SC; Rumpunen, K; Johansson, E and Olsson, ME. 2008. Tocopherols and tocotrienols in sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) berries during ripening. **J. Agric. Food Chem.** **56**: 6701-6706.
- Arimboor, R; Venugopalan, VV; Sarinkumar, K; Arumughan, C and Sawhney, RC. 2006. Integrated processing of fresh Indian sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) berries and chemical evaluation of products. **J. Sci. Food Agric.** **86**: 2345-2353.
- Arora, R; Gupta, D; Chawla, R; Sagar, R; Sharma, A; Kumar, R; Prasad, J; Singh S; Samanta N and Sharma RK. 2005. Radioprotection by plant products : Present status and future prospects. **Phytother. Res.** **19**: 1-22.
- Bao, MH and Lou, YJ. 2006. Isorhamnetin prevent endothelial cell injuries from oxidized LDL via activation of p38MAPK. **Eur. J. Pharmacol.** **547**: 22-30.
- Basu, M; Prasad, R; Jayamurthy, P; Pal, K; Arumughan, C and Sawhney, RC. 2007. Anti-atherogenic effects of seabuckthorn (*Hippophaea rhamnoides*) seed oil. **Phytomedicine.** **14** : 770-777.
- Batool, F; Shah, AH; Ahmed, SD and Haleem, DJ. 2009. Oral supplementation of Sea Buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L. spp. *Turkestanica*) fruit extract modifies haloperidol induced behavioral deficits and increases brain serotonin metabolism. **J. Food Drug Anal.** **17** :257-263, 316.
- Beveridge, T; Li, TSC; Oomah, BD and Smith, A. 1999. Sea buckthorn products: Manufacture and composition. **J. Agric. Food Chem.** **47**: 3480-3488.
- Cenkowski, S; Yakimishen, R; Przybylski, R and Muir, WE. 2006. Quality of extracted sea buckthorn seed and pulp oil. **Can. Biosyst. Eng.** **48** : C9-C16.
- Chauhan, AS; Negi, PS and Ramteke, RS. 2007. Antioxidant and antibacterial activities of aqueous extract of seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides*) seeds. **Fitoterapia.** **78** : 590-592.
- Chauhan, AS; Rekha, MN; Ramteke, RSP and Eipeson, WE. 2003. Seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* Lin.) berries: Harnessing its potential for processing. **J. Food Sci. Technol. Mys.** **40**: 349-356.
- Chawla, R; Arora, R; Singh, S; Sagar, RK; Sharma, RK; Kumar, R; Sharma, A; Gupta, ML; Singh, S; Prasad, J; Khan, HA; Swaroop, A; Sinha, AK; Gupta, AK; Tripathi, RP and Ahuja, PS. 2007. Radioprotective and antioxidant activity of fractionated extracts of berries of *Hippophae rhamnoides*. **J. Med. Food.** **10**: 101-109.
- Cheng, JY; Kondo, K; Suzuki, Y; Ikeda, Y; Meng, XS and 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.
- Cossuta, D; Simandi, B; Hohmann, J; Doleschall, F and Keve, T. 2007. Supercritical carbon dioxide extraction of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) pomace. **J. Sci. Food Agric.** **87**: 2472-2481.
- Dao, J; Dao, TCS and Tong, D. 2005. *Hippophae rhamnoides* compositions for cancer therapy. United States Patent Application Publication. US 2005/0214394 A1
- Dubois, V; Breton, S; Linder, M; Fanni, J and Parmentier M. 2007. Fatty acid profiles of 80 vegetable oils with regard to their nutritional potential. **Eur. J. Lipid Sci. Technol.** **109**: 710-732.
- Eccleston, C; Baoru, Y; Tahvonen, R; Kallio, H; Rimbach, GH and Minihane, AM. 2002. Effects of an antioxidant-rich juice (sea buckthorn) on risk factors for coronary heart disease in humans. **J. Nutr. Biochem.** **13**: 346-354.
- Gao, XQ; Ohlander, M; Jeppsson, N; Bjork, L and Trajkovski, V. 2000. Changes in antioxidant effects and their relationship to phytonutrients in fruits of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) during maturation. **J. Agric. Food Chem.** **48**: 1485-1490.

- Geetha, S; Sai Ram M; Singh V; Ilavazhagan G and Sawhney RC. 2002. Anti-oxidant and immunomodulatory properties of seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides*) – and in vitro study. **J. Ethnopharmacol.** **79** : 373-378.
- Goel, HC; Gupta, D; Gupta, S; Garg, AP and Bala, M. 2005. Protection of mitochondrial system by *Hippophae rhamnoides* L. against radiation-induced oxidative damage in mice. **J. Pharm. Pharmacol.** **57**: 135-143.
- Goel, HC; Indraghanti, P; Samanta, N and Rana, SVS. 2004. Induction of apoptosis in thymocytes by *Hippophae rhamnoides*: Implications in radioprotection. **J. Environm. Pathol. Toxicol. Oncol.** **23**: 123-137.
- Goel, HC; Prasad, J; Singh, S; Sagar, RK; Kumar, IP and Sinha, AK. 2002. Radioprotection by a herbal preparation of *Hippophae rhamnoides*, RH-3, against whole body lethal irradiation in mice. **Phytomedicine.** **9**: 15-25
- Grey, C; Widen, C; Adlercreutz, P; Rumpunen, K and Duan, RD. 2010. Antiproliferative effects of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) extracts on human colon and liver cancer cell lines. **Food Chem.** **120** : 1004-1010.
- Guliyev, VB; Gul, M and Yildirim, A. 2004. *Hippophae rhamnoides* L. : chromatographic methods to determine chemical composition, use in traditional medicine and pharmacological effects. **J. Chrom. B.** **812**: 291-307.
- Gumustekin, K; Altinkaynak, K; Timur, H; Taysi, S; Oztasan, N; Polat, MF; Akcay, F; Suleyman, H; Dane, S and Gul, M. 2003. Vitamin E but not *Hippophae rhamnoides* L. prevented nicotine-induced oxidative stress in rat brain. **Hum. Exp. Toxicol.** **22**: 425-431.
- Gumustekin, K; Taysi, S; Alp, HH; Aktas, O; Oztasan, N; Akcay, F; Suleyman, H; Akar, S; Dane, S and Gul, M. 2010. Vitamin E and *Hippophae rhamnoides* L. extract reduce nicotine-induced oxidative stress in rat heart. **Cell Biochem. Func.** **28**: 329-333.
- Gutzeit, D.; Baleanu, G; Winterhalter, P and Jerz G. 2008. Vitamin C content in sea buckthorn berries (*Hippophae rhamnoides* L. spp. *rhamnoides*). and related products : a kinetic study on storage stability and the determination of processing effects. **J. Food Sci.** **73**: C615-C620.
- Gutzeit, D; Klaubert, B; Rychlik, M; Winterhalter, P and Jerz G. 2007. Effects of processing and of storage on the stability of pantothenic acid in sea buckthorn products (*Hippophae rhamnoides* L. spp. *rhamnoides*) assessed by stable isotope dilution assay. **J. Agric. Food Chem.** **55**: 3978-3984.
- Gutzeit, D; Winterhalter, P and Jerz G. 2008. Nutritional assessment of processing effects on major and trace element content in sea buckthorn juice (*Hippophae rhamnoides* L. spp. *rhamnoides*). **J. Food Sci.** **73**: H97-H102.
- Hibasami, H; Mitani, A; Katsuzaki, H; Imai, K; Yoshioka, K and 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.
- Hosseinian, FS; Li, W; Hydamaka, AW; Tsopmo, A; Lowry, L; Friel, J and Beta, T. 2007. Proanthocyanidin profile and ORAC values of manitoba berries, chokecherries, and seabuckthorn. **J. Agric. Food Chem.** **55**: 6970-6976.
- Hsu, YW; Tsai, CF; Chen, WK and Lu, FJ. 2009. Protective effects of seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) seed oil against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in mice. **Food Chem. Toxicol.** **47**: 2281-2288.
- Jagetia, GC. 2007. Radioprotective potential of plants and herbs against the effects of ionizing radiation. **J. Clin. Biochem. Nutr.** **40**: 74-81.
- Jaramillo, S; Lopez, S; Varela, LM; Rodriguez-Arcos, R; Jimenez, A; Abia, R; Guillen, R and Muriana, FG. 2010. The flavonol isorhamnetin exhibits cytotoxic effects on human colon cancer cells. **J. Agric. Food Chem.** **58**: 10869-10875.
- Johansson, AK; Korte, H; Yang, BR; Stanley, JC and Kallio, HP. 2000. Sea buckthorn berry oil inhibits platelet aggregation. **J. Nutr. Biochem.** **11**: 491-495.
- Kallio, H; Yang, BR; Peippo, P; Tahvonen, R; and Pan, RL. 2002. Triacylglycerols, glycerophospholipids, tocopherols, and tocotrienols in berries and seeds of two subspecies (ssp *sinensis* and *mongolica*) of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*). **J. Agric. Food Chem.** **50**: 3004-3009.

- Kallio, H; Yang, BR; and Peippo, P. 2002. Effects of different origins and harvesting time on vitamin C, tocopherols, and tocotrienols in sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) berries. **J. Agric. Food Chem.** **50**: 6136-6142.
- Kallio, H; Lassila, M; Jarvenpaa, E; Haraldsson, GG; Jonsdottir, S and Yang, BR. 2009. Inositols and methylinositols in sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) berries, **J. Chromatogr. B.** **877**: 1426-1432.
- Koyama, T; Taka, A and Togashi H. 2009. Effects of a herbal medicine, *Hippophae rhamnoides*, on cardiovascular functions and coronary microvessels in the spontaneously hypertensive stroke-prone rat. **Clin. Hemorheology Microcirculation.** **41** :17-26.
- Larmo, P; Alin, J; Salminen, E; Kallio, H and Tahvonen, R. 2008. Effects of sea buckthorn berries on infections and inflammation: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. **Eur. J. Clin. Nutr.** **62**: 1123-1130.
- Larmo, PS; Yang, BR; Hurme, SAM; Alin, JA; Kallio, HP; Salminen, EK and Tahvonen, RL. Effect of a low dose of sea buckthorn berries on circulating concentrations of cholesterol, triacylglycerols, and flavonols in healthy adults. **Eur. J. Nutr.** **48**: 277-282.
- Larmo, PS; Jarvinen, RL; Setala, NL; Yang, BR; Viitanen, MH; Engblom, JRK; Tahvonen, RL and Kallio, HP. 2010. Oral sea buckthorn oil attenuates tear film osmolarity and symptoms in individuals with dry eye. **J. Nutr.** **140**: 1462-1468.
- Lehtonen, HM; Lehtinen, O; Suomela, JP; Viitanen, M and Kallio, H. 2010. Flavonol glycosides of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* ssp *sinensis*) and lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea*) are bioavailable in humans and monoglucuronidated for excretion. **J. Agric. Food Chem.** **58**: 620-627.
- Ma, G; Yang, CL; Qu, Y; Wei, HY; Zhang, TT and Zhang, NJ. 2007. The flavonoid component isorhamnetin *in vitro* inhibits proliferation and induces apoptosis in Eca-109 cells. **Chem. Biol. Interactions.** **167**: 153-160.
- Menvielle-Bourg, F and Joanny, F. 2009. Supercritical CO<sub>2</sub> extracted sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) pulp and seed oil and its benefits on skin and mucous membranes. **Phytotherapie.** **7** : 3-7.
- Mishra, KP; Chanda, S; Karan, D; Ganju, L and Sawhney, RC. 2008. Effect of seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides*) flavone on immune system : An *in-vitro* approach. **Phytother. Res.** **22** : 1490-1495.
- Negi, PS; Chauhan AS; Sadia, GA; Rohinishree, YS and Ramteke, RS. 2005. Antioxidant and antibacterial activities of various seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides*) seed extracts. **Food Chem.** **92** : 119-124.
- Olsson, ME; Gustavsson, KE; Andersson, S; Nilsson, A and Duan, RD. 2004. Inhibition of cancer cell proliferation *in vitro* by fruit and berry extracts and correlations with antioxidant levels. **J. Agric. Food Chem.** **52**: 7264-7271.
- Padmavathi, B; Upreti, M; Singh, V; rao, AR, Singh, RP and Rath, PC. 2005. Chemoprevention by *Hippophae rhamnoides* : Effects on tumorigenesis, phase II and antioxidant enzymes, and IRF-1 transcription factor. **Nutr. Cancer.** **51** : 59-67.
- Pathak, AK; Bhutani, M; Nair, AS; Ahn, KS; Chakraborty, A and Kadara, H. 2007. Ursolic acid inhibits STAT3 activation pathway leading to suppression of proliferation and chemosensitization of human multiple myeloma cells. **Mol. Cancer Res.** **5** : 943-955.
- Pang, X; Zhao, J; Zhang, W; Zhuang, X; Wnag, J; Xu, R; Xu Z and 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.
- Purushothaman, G, Suryakumar, G; Shukla, D; Malhotra DS; Kasiganesan, H; Kumar, R; Sawhney KC and Chami A. 2008. Modulatory effects of seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) on hypobaric hypoxia induced cerebral vascular injury. **Brain Res. Bul.** **77**: 246-252.
- Puupponen-Pimia, R; Nohynek, L; Hartmann-Schmidlin, S; Kahkonen, M; Heinonen, M; Maatta-Riihinen, K and Oksman-Caldentey, KM. 2005. Berry phenolics selectively inhibit the growth of intestinal pathogens. **J. Appl. Microbiol.** **98**: 991-1000.
- Ranjith, A; Kumar, KS; Venugopalan, VV; Arumughan, C; Sawhney, RC and Singh, V. 2006. Fatty acids, tocols, and carotenoids in pulp oil of three sea buckthorn species (*Hippophae rhamnoides*, *H-salicifolia*, and *H-tibetana*) grown in the Indian Himalayas. **J. Amer. Oil Chem. Soc.** **83**: 359-364.

- Rosch, D; Bergmann, M; Knorr, D and Kroh, LW. 2003. Structure-antioxidant efficiency relationships of phenolic compounds and their contribution to the antioxidant activity of sea buckthorn juice. **J. Agric. Food Chem.** **51**: 4233-4239.
- Rosch, D; Krumbein, A and Kroh, LW. 2004. Antioxidant gallo catechins, dimeric and trimeric proanthocyanidins from sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) pomace. **Eur. Food Res. Technol.** **29**: 605-613.
- Sharma, UK; Sharma, K; Sharma, N; Sharma, A; Singh, HP and Sinha, AK. 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.
- Suh, N; Honda, T; Finlay, HJ; Barchowsky, A; Williams, C; Benoit, NE; Xie, QW; Nathan, C; Gribble, GW and Sporn, MB. 1998. Novel triterpenoids suppress inducible nitric oxide synthase (iNOS) and inducible cyclooxygenase (COX-2) in mouse macrophages. **Cancer Res.** **58**: 717-23.
- Süleyman, H; Demirezer, LO; Büyükokuroglu, ME; Akcay, MF, Gepdiremen, A; Banoglu, ZN and Göçer, F. 2001. Antiulcerogenic effect of *Hippophae rhamnoides* L. **Phytother. Res.** **15**: 625-627.
- Süleyman, H; Gumustekin, K; Taysi, S; Keles, S; Oztasan, N; Aktas, O; Altinkaynak, K; Timur, H; Akcay, F; Akar, S; Dane, S and Gul, M. 2002. Beneficial effects of *Hippophae rhamnoides* L. on nicotine induced oxidative stress in rat blood compared with vitamin E. **Biol. Pharmacol. Bull.** **25**: 1133-1136.
- Suomela, JP; Ahotupa, M; Yang, B; Vasankari, T and Kallio, H. 2006. Absorption of flavonols derived from sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) and their effect on emerging risk factors for cardiovascular disease in humans. **J. Agric. Food Chem.** **54**: 7364-7369.
- Taysi, S; Gumustekin, K; Demircan, B; Aktas, O; Oztasan, N; Akcay, F; Suleyman, H; Akar, S; Dane, S and Gul, M. 2010. *Hippophae rhamnoides* attenuates nicotine-induced oxidative stress in rat liver. **Pharmacol. Biol.** **48**: 488-493.
- Teng, BS; Lu, YH; Wang, ZT; Tao, XY and Wei, DZ. 2006. *In vitro* anti-tumor activity of isorhamnetin isolated from *Hippophae rhamnoides* L. against BEL-7402 cells. **Pharmacol. Res.** **54**: 186-194.
- Ting, HC; Hsu, YW; Tsai, CF; Lu, FJ; Chou, MC and Chen, WK. 2011. The *in vitro* and *in vivo* antioxidant properties of seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) seed oil. **Food Chem.** **125**: 625-659.
- Upadhyay, NK; kumar, R; Mandotra, SK; Meena, RN; Siddiqui, MS; Sawhney, RC and 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.
- USDA-ARS. 2002. USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 22. In : USDA, Food and Nutrition Information Center.  
[http://fnic.nal.usda.gov/nal\\_display/index.php?info\\_center=4&tax\\_level=1&tax\\_subject=279](http://fnic.nal.usda.gov/nal_display/index.php?info_center=4&tax_level=1&tax_subject=279).
- Utioh, A. 2009. Current and emerging processing technologies for seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) and its products. In. McKenzie, DB (Ed). Proceedings of the 3rd international seabuckthorn association conference, Quebec, Canada, August 12-16, 2007. pp 83-91.
- Xu, X and Gao, YX. 2009. Radical scavenging activity of sea buckthorn oils from different parts of sea buckthorn berry. **Food Sci. Biotechnol.** **18**: 312-316.
- Yang, B; Halttunen, T; Raimo, O; Price, K and Kallio, H. 2009. Flavonol glycosides in wild and cultivated berries of three major subspecies of *Hippophae rhamnoides* and changes during harvesting period. **Food Chem.** **115**: 657-664.
- Yang, BR. 2009. Sugars, acids, ethyl beta-D-glucopyranose and a methyl inositol in sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) berries. **Food Chem.** **112**: 89-97.
- Yang, BR; Kalimo, KO; Mattila, LM; Kallio, SE; Katajisto, JK; Peltola, OJ and Kallio, HP. 1999. Effects of dietary supplementation with sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) seed and pulp oils on atopic dermatitis. **J. Nutr. Biochem.** **10**: 622-630.
- Yang, BR; Kalimo, KO; Tahvonon, RJ; Mattila, LM; Katajisto, JK and Kallio, HP. 2000. Effects of dietary supplementation with sea buckthorn (*Hippophae 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, BR and Kallio, HP. 2001. Fatty acid composition of lipids in sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) berries of different origins. **J. Agric. Food Chem.** 49: 1939-1947.
- Yang, BR; Karlsson, RM; Oksman, pH and Kallio, HP. 2001. Phytosterols in sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) berries : Identification and effects of different origins and harvesting times. **J. Agric. Food Chem.** 49: 5620-5629.
- Yang, BR; Linko, AM; Adlercreutz, H and Kallio, H. 2006. Secoisolariciresinol and matairesinol of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) berries of different subspecies and harvesting times. **J. Agric. Food Chem.** 54: 8065-8070.
- Yang, BR and Kallio, H. 2002. Composition and physiological effects of sea buckthorn (*Hippophae*) lipids. **Trends Food Sci. Technol.** 13: 160-167.
- Zadernowski, R; Naczek, M; Czaplicki, S; Rubinskiene, M and Szlakiewicz, M. 2005. Composition of phenolic acids in sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) berries. **J. Amer. Oil Chem. Soc.** 82 :175-179.
- Zhang, W; Zhao, JJ; Wang, JS; Pang, XF; Zhuang, XY; Zhu, XL and Qu, WJ. 2010. Hypoglycemic effect of aqueous extract of seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) seed residues in streptozotocin-induced diabetic rats. **Phytother. Res.** 24: 228-232.
- Zu, YG; Li, CY; Fu, YJ and Zhao, CJ. 2006. Simultaneous determination of catechin, rutin, quercetin kaempferol and isorhamnetin in the extract of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) leaves by RP-HPLC with DAD. **J. Pharm. Biomed. Anal.** 41: 714-719.