

河西走廊 5 种沙棘果主要活性成分及对 ROS 清除作用比较分析

范惠玲*,白生文,张芬琴,王 进

河西学院农业与生物技术学院,张掖 734000

摘要:为了探明河西走廊沙棘果中的主要化学成分及对活性氧自由基的清除效应,本试验以 5 个沙棘品种,包括中国沙棘、西藏沙棘、肋果沙棘、中亚沙棘和蒙古沙棘为材料,对其鲜果中所含的总酚类、黄酮类和维生素 C 的含量分别进行了测定,并就沙棘果甲醇提取液对 3 种活性氧的抑制率进行了分析。结果表明:(1)5 个沙棘品种中,肋果沙棘果中总黄酮含量最高,达 5.25 g 芦丁/kg 鲜重,西藏沙棘果次之;总酚类含量介于 8.25~13.26 g 没食子酸/kg 鲜重之间,Vc 含量介于 1.84~3.46 g/kg 鲜重之间,其中肋果沙棘和西藏沙棘的总酚类和 Vc 含量均较高。(2)肋果沙棘和西藏沙棘果甲醇提取液对 $\text{NO}\cdot$ 、 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 和 $\cdot\text{OH}$ 的清除作用均较高。(3)总黄酮类与 3 种 ROS 的清除率间的相关性最大。总之,肋果沙棘和西藏沙棘果不仅具有高含量的活性物质,其甲醇提取液对氧自由基的清除活性也较强。

关键词:沙棘;黄酮类;多酚类;维生素 C;自由基清除

中图分类号:R151.2

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2016.1.019

Main Active Components and ROS Scavenging Effects of Five *Hippophae rhamnoides* L. Cultivars from Hexi Corridor

FAN Hui-ling*, BAI Sheng-wen, ZHANG Fen-qin, WANG Jin

College of Agriculture and Biotechnology, Hexi University, Zhangye 734099, China

Abstract: The aim of this work was to determine the total contents of phenols, flavonoids and Vc in the fruits of 5 selected *Hippophae rhamnoides* L. cultivars from Hexi corridor and to evaluate the scavenging activity of *H. rhamnoides* fruits methanol extracts on reactive oxygen species (ROS), namely hydroxyl radical ($\cdot\text{OH}$), nitric oxide ($\text{NO}\cdot$), superoxide anion ($\text{O}_2^{\cdot-}$). Altogether, 5 cultivars of this fruit species presented total phenolic contents ranging from 8.25-13.26 g of gallic acid/kg fresh weight, Vc contents ranging from 1.84-3.46 g/kg fresh weight, flavonoids contents ranging from 3.68-5.25 g rutin/kg fresh weight, and high contents of phenols, flavonoids and Vc were obtained from *H. neurocarpa* S. W. and *H. thibetana* Schlecht fruits. The crude methanol extracts from *H. neurocarpa* and *H. thibetana* fruits showed high inhibitory effects on reactive ROS. There were high correlations between the flavonoids contents and the ROS scavenging effects. The obtained results would contribute to the popularization of *H. rhamnoides* as a promising source for the food industry.

Key words: *Hippophae rhamnoides* L.; flavonoids; phenolics; Vc; radical scavenging

沙棘 (*Hippophae rhamnoides* Linn.) 又名酸刺、黑刺,属于胡颓子科沙棘属植物,它不仅作为水果食用,且具有一定的药用价值^[1]。在身体发挥正常功能的过程中,人的免疫系统可以产生活性氧,从环境中也可以获得活性氧^[2]。然而,过量的活性氧(由于当今的生活方式、压力、营养等的影响所致)与细胞代谢损伤、加速老化,甚至心血管疾病等的产生有

关,而饮食中的抗氧化剂可防止或限制氧化损伤^[3]。沙棘具有很强的抗氧化特性,能抑制铬诱导的自由基、细胞凋亡及 DNA 断裂^[4];沙棘果中富含类黄酮、多酚和 Vc 等活性物质^[5],其对烧伤、辐射损伤、口腔溃疡、胃溃疡等都有显著的疗效,对心脏病及肿瘤也有良好的预防保健作用^[6]。

至今,关于沙棘清除氧自由基的研究文献报道较多,如梁楷等人研究了沙棘鲜果乙醇提取液清除常见自由基的能力^[7];马宁安和强伟等人先后分析了沙棘果粉对 DPPH、超氧阴离子自由基($\text{O}_2^{\cdot-}$)、羟自由基($\cdot\text{OH}$)、 H_2O_2 和 NO_2 的清除作用^[8,9];

Otakar 等人研究了欧洲 6 个沙棘品种对 $\cdot\text{OH}$ 、 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 和 $\text{NO}\cdot$ 自由基的抑制率^[10]。而对河西走廊不同沙棘品种生物活性成分及其功能的比较研究鲜有报道。鉴于此,本工作以来源于我省河西走廊中部祁连山自然保护区的 5 个沙棘品种为研究材料,分别测定了沙棘浆果中总酚类、黄酮类和 Vc 的含量。另外,通过测定沙棘果甲醇提取液对 $\text{NO}\cdot$ 、 $\cdot\text{OH}$ 和 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 三种活性(reactive oxygen species, ROS)氧的抑制率分析了其对自由基的清除能力,以期为进一步深入研究河西走廊沙棘果的应用价值提供依据。

1 材料与方法

1.1 样品采集和预处理

采用 5 个沙棘品种进行分析:中国沙棘(*H. rhamnoides* Linn. subsp. *sinensis* Rousi),蒙古沙棘(*H. rhamnoides* Linn. Subsp. *mongolica*),中亚沙棘(*H. rhamnoides* Linn. subsp. *Turkestanica* Rousi),肋果沙棘(*H. neurocarpa* S. W.)和西藏沙棘(*H. thibetana* Schlecht),经过实验室王小林教授鉴定。供试品种采集于甘肃省河西走廊中部祁连山自然保护区(38°50'N,99°38'E),该地区海拔高度 2361 m,年均降水量 458.2 mm,年潜在蒸发量约 1000 mm,年平均气温 3.6 °C,无霜期 93 d,土壤类型为森林灰褐土。2013 年 9 月份从每个沙棘品种的 3 个单株上随机收集 100 颗完全成熟的沙棘果。

在 Kim 等人^[11]的方法基础上,根据 Barros 等人^[13]的方法修改,然后抽提。采用程序如下:称取 10 g 鲜样品,加入 100 mL 甲醇,在 JMS50 研磨机中均匀处理 30 s。所得悬浮液置于 120 mL 锥形瓶内,锥形瓶放于 25 °C 水浴中静置 24 h。抽提结束后,将瓶内混合液经过 13 mm 尼龙膜注射过滤器进行过滤,所得甲醇抽提液保存在 4 °C 备用。

1.2 总酚类、黄酮类和 Vc 含量的测定

采用 Folin-Ciocalteu 比色法测定总酚类含量^[12]。取出 0.5 mL 沙棘果甲醇抽提液于 50 mL 锥形瓶内,用蒸馏水稀释。然后,加入 2.5 mL 福林酚试剂和 7.5 mL 20% 碳酸钠溶液,室温下反应 1 h。在 UV-1750 紫外分光光度计上于 765 nm 波长处测定吸光度值,以盲样为参考值。以没食子酸为标样,制作标准曲线,结果以每 Kg 鲜重的没食子酸质量(g)表示。

根据 Singleton 等人的方法测定总黄酮含量^[13]。在 10 mL Eppendorf 管中,依次加入 0.3 mL 沙棘果

甲醇抽提液,3.4 mL 乙醇,0.15 mL 0.5 mol/L NaNO_2 ,0.15 mL 0.3 mol/L $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$,然后混匀。反应 5 min 后,再加入 1 mL 1 mol/L NaOH,混匀,在 UV-1750 紫外分光光度计上于 510 nm 处测量混合液的吸光度值。以芦丁为标样,制作标准曲线,结果以每 Kg 鲜重的芦丁质量(g)表示。

采用 2,6-二氯靛酚法测定 Vc 含量^[14]。称取 10.0 g 沙棘果,加等量的 2% 草酸溶液,倒入研钵中研碎。取约 5.0 g 浆状物(使其含有 Vc 1~5 mg),置于小烧杯中,用 2% 草酸溶液将其移入 100 mL 容量瓶中,并稀释至刻度,摇匀。过滤,并弃去最初的数毫升滤液。若样液具有颜色,用白陶土去色,然后迅速吸取 5~10 mL 滤液,置于 50 mL 三角瓶中,用标定过的 2,6-二氯靛酚染料溶液滴定,直至溶液呈粉红色并在 15 s 中不褪色为止,记录用量(V)。同时吸取 10 mL 2% 草酸于烧杯中,作空白滴定,记录用量(V_0)。

$$\text{Vc}(\text{mg}/100 \text{ g 沙棘}) = (V - V_0) \times T \times 100 / W$$

式中 V 为滴定样品时所耗去染料溶液的量(mL), V_0 为滴定空白时所耗去染料溶液的量(mL),T 为 1 mL 染料溶液相当于 Vc 标准溶液的量(mg),W 为滴定时所取的滤液中含沙棘样品的质量(g)。

1.3 ROS 清除活性测定

用 50 mmol/L, pH = 7.0 的磷酸缓冲液制备 10% 的沙棘果抽提液,用来测定其对活性氧的清除活性。

根据 Ghiselli 等人的方法测定 $\cdot\text{OH}$ 的清除活性^[15]:将 1 mL 沙棘果抽提液与 0.8 mL 反应缓冲液混合(20 mmol/L, pH = 7.4 的磷酸缓冲液;1.75 $\mu\text{mol/L}$ 脱氧核糖;0.1 $\mu\text{mol/L}$ 铁铵硫酸盐;0.1 $\mu\text{mol/L}$ 乙二胺四乙酸)。然后,再加入 0.1 mL 0.01 mol/L H_2O_2 。反应液于 37 °C 温育 10 min,之后加入 0.5 mL 1% 硫代巴比土酸和 1 mL 2.8% 三氯乙酸。混合液煮沸 10 min 后立即冷却。用 UV-1750 紫外分光光度计于 532 nm 处测定混合液的吸光度值。

根据 Green 等人的方法测定 $\text{NO}\cdot$ 的清除活性^[16]:1 mL 沙棘果抽提液与 1 mL 反应液(20 mmol/L, pH = 7.4 的磷酸缓冲液中含有 10 mmol/L 的硝普酸钠)混合。之后于 37 °C 温育 1 h,0.5 mL 反应液中加入 0.5 mL 格里斯试剂,于 540 nm 处测定吸光度值。

根据细胞色素 c 降低的方法测定 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 的清除活性^[17]:1 mL 沙棘果抽提液与 1 mL 反应溶液(含

0.07 U/mL 黄嘌呤氧化酶, 100 $\mu\text{mol/L}$ 黄嘌呤, 50 $\mu\text{mol/L}$ 细胞色素 c) 混合。20 $^{\circ}\text{C}$ 温育 3 min, 于 550 nm 处测定吸光值。

ROS 清除活性根据下式计算: 抑制率 (%) = $[A_0 - (A_1/A_0)] \times 100$, 式中: A_0 是对照的吸光值; A_1 是含样品的混合液的吸光值。

1.4 数据统计分析

每个参数重复测定 3 次。采用 Excel 2007 和 SPSS18.0 软件进行方差分析, Tukey 多重比较法检验差异显著性, 以平均值 \pm 标准偏差反应各指标的大小。

2 结果与分析

2.1 不同沙棘品种果实中总酚类、黄酮类及 Vc 含量的比较

从表 1 知, 沙棘果总黄酮含量因种的不同而有

表 1 不同沙棘果中总酚类、黄酮类和 Vc 含量的差异

Table 1 Total phenolic contents (TPC), total flavonoid content (TFC), Vc content in 5 sea buckthorn fruits

沙棘品种 Sea buckthorn cultivars	总黄酮含量 (g 芦丁/ kg 沙棘果鲜重) TFC (g rutin/ kg fresh weight)	总酚类含量 (g 没食子酸/ kg 沙棘果鲜重) TPC (g gallic acid/ kg fresh weight)	Vc 含量 (g/ kg 沙棘果鲜重) Vc content (g/ kg fresh weight)
中国沙棘 <i>H. rhamnoides</i> L. ssp. <i>sinensis</i> Rous	3.68 \pm 0.35 a	8.61 \pm 1.01a	2.37 \pm 0.67 b
中亚沙棘 <i>H. rhamnoides</i> subsp. <i>turkestanica</i>	3.93 \pm 0.86 a	8.54 \pm 1.44 a	2.21 \pm 0.18 b
蒙古沙棘 <i>H. rhamnoides</i> L. Sobs. <i>mongo</i>	4.00 \pm 0.57 a	8.25 \pm 1.05a	1.84 \pm 0.54 a
肋果沙棘 <i>H. neurocarpa</i> S. W.	5.25 \pm 0.47 b	13.09 \pm 1.27b	3.08 \pm 0.71 c
西藏沙棘 <i>H. thibetana</i> Schlecht	5.01 \pm 0.29 b	13.26 \pm 1.71b	3.46 \pm 0.53 c

注: 每一列的不同小写字母表示 $P < 0.05$ 水平的显著差异性, 以下同。

Note: Lowercase letters indicated significant difference at the 0.05 level, same as below.

2.2 不同沙棘品种果实中甲醇提取液对 3 种氧自由基抑制率的比较

由表 2 可知, 肋果沙棘和西藏沙棘果甲醇提取液对 $\text{NO}\cdot$ 、超氧阴离子自由基和羟基自由基的抑制率较高, 表现出了较强的 ROS 清除活性, 而中国

较大差异。肋果沙棘果中总黄酮含量最高 (5.25 g 芦丁/ kg 沙棘果鲜重), 西藏沙棘果中总黄酮含量与肋果沙棘果中的接近, 蒙古沙棘果中其含量为 4.00 g 芦丁/ kg 沙棘果鲜重, 而中国沙棘和中亚沙棘果中总黄酮含量较低, 且与肋果沙棘和西藏沙棘果中的总黄酮含量达到 5% 的差异显著水平。就总酚类的含量而言, 当比较所有的品种时, 其含量在 8.25 g 没食子酸/ kg 沙棘果鲜重 (中国沙棘) 到 13.26 g 没食子酸/ kg 沙棘果鲜重 (西藏沙棘) 之间变化, 肋果沙棘和西藏沙棘果中总酚类的含量与其它 3 个沙棘果中的达到了 5% 的差异显著性。Vc 含量在 1.84 g/ kg 沙棘果鲜重到 3.56 g/ kg 沙棘果鲜重之间变化, 肋果沙棘和西藏沙棘果中 Vc 含量均较高, 分别为 3.08 g/ kg 沙棘果鲜重和 3.56 g/ kg 沙棘果鲜重, 与其它三个种或亚种的 Vc 含量间差异达到 5% 显著水平。

表 2 不同沙棘果甲醇提取液对 3 种氧自由基的抑制率

Table 2 Inhibition rate of 3 sea buckthorn methanol extract on ROS

沙棘品种 Sea buckthorn cultivars	$\text{NO}\cdot$ 自由基 $\text{NO}\cdot$ (%)	羟基自由基 $\cdot\text{OH}$ (%)	超氧阴离子自由基 $\text{O}_2^{\cdot-}$ (%)
中国沙棘 <i>H. rhamnoides</i> L. ssp. <i>sinensis</i> Rous	40.43 \pm 1.25 a	29.84 \pm 1.17 b	41.68 \pm 2.31 b
中亚沙棘 <i>H. rhamnoides</i> subsp. <i>turkestanica</i>	41.50 \pm 1.27 b	31.71 \pm 1.51 b	40.15 \pm 2.08 a
蒙古沙棘 <i>H. rhamnoides</i> L. Sobs. <i>mongo</i>	40.64 \pm 1.28 a	28.19 \pm 1.18 a	41.79 \pm 1.20 b
肋果沙棘 <i>H. neurocarpa</i> S. W.	47.62 \pm 1.07 c	37.73 \pm 1.18 c	49.24 \pm 2.61 c
西藏沙棘 <i>H. thibetana</i> Schlecht	48.83 \pm 1.81 c	36.46 \pm 1.24 c	49.93 \pm 2.27 c

沙棘、中亚沙棘和蒙古沙棘品种则表现出明显较低的抑制百分率, 说明它们对 3 种氧自由基的清除效应较前两者弱; 肋果沙棘和西藏沙棘果甲醇提取液对 3 种氧自由基的清除效应与其它三个品种之间达到了显著差异水平 ($P < 0.05$)。

2.3 TPC、TFC 和 Vc 与 3 种氧自由基清除率间的相关性

由表 3 可知,超氧阴离子自由基清除率与总酚类含量(TPC)、总黄酮含量(TFC)以及 Vc 含量三者间的相关系数由大到小依次为超氧阴离子自由基清除率-TFC > 超氧阴离子自由基清除率-Vc > 超氧阴离子自由基清除率-TPC,说明沙棘果甲醇提取液中总黄酮类对超氧阴离子自由基的清除作用最大,

表 3 不同化学参数间的皮尔森相关系数

Table 3 Pearson correlation coefficients between investigated chemical parameters

化学参数 Parameters	超氧阴离子清除率 Scavenging rate of O ₂ ⁻	羟基自由基清除率 Scavenging rate of ·OH	NO·自由基清除率 Scavenging rate of NO·
TPC	0.8132 **	0.7397 **	0.8497 **
TFC	0.9004 **	0.8356 **	0.9161 **
Vc	0.8821 **	0.8094 **	0.7685 *

注: ** 为 0.01 显著性水平, * 为 0.05 显著性水平。

Note: ** Indicated 0.01 significance level, * indicated 0.05 significance level.

3 讨论与结论

沙棘果中酚类化合物是一种品种物质,它变化很大。一般来讲,沙棘含有很高的总酚类^[18]。Ve-lioglu 等人^[19]发现,沙棘果中总酚类化合物含量达 11.12 g 没食子酸/kg 鲜重。本研究所测的沙棘品种均含有较高的 TPC 值,总酚含量从 8.25 到 13.26g 没食子酸/kg 鲜重变化。相比较而言,在苹果中,TPC 值从 1.46 到 3.29 g 没食子酸/kg 鲜重;在梨中,TPC 值从 3.48 到 4.95 g 没食子酸/kg 鲜重^[20];在黑醋栗中,该值平均在 5.33 g 没食子酸/kg 鲜重^[21]。黄酮类化合物是沙棘果的重要活性成分之一,其具有对人类健康有益的生物学活性。前人研究结果表明,当食用沙棘时,黄酮含量与胆固醇、高血压、高血糖发病率的预防有关^[22]。本研究结果中,通过较高的相关系数,证明了在清除活性氧自由基时总黄酮类所发挥的显著作用(TFC-超氧阴离子自由基清除率,0.9004;TFC-羟基自由基,0.8356;TFC-NO·,0.9161)。而至于具体发挥清除作用的是那几种黄酮类化合物,本试验中未做深入研究。而根据高景明等人的报道^[23],就清除活性而言,最有效的黄酮苷类是异鼠李素、槲皮素和杨梅素。

沙棘果中,Vc 是主要的遗传物质,且在特定品种中存在广泛变异。在土耳其基因型中,发现 Vc 含量介于 0.19 到 1.21 g/kg 鲜重之间^[24]。Sabir 等人^[25]报道,沙棘 Vc 值在 2.5 到 3.33 g/kg 鲜重之间

其次是 Vc。就对羟基自由基清除率而言,羟基自由基清除率与 TPC 间的相关系数最小,而与 TFC 间的相关系数最大,这表明沙棘果甲醇提取液中总黄酮类对羟基自由基的清除作用也最大,其次是 Vc。TPC 和 TFC 与 NO·自由基清除率间的相关性明显高于 Vc 的,这表明前两者对 NO·自由基的清除作用明显大于 Vc。

变化。在德国的 Hergo 和 Leicora 品种中,Raffo 等人^[26]测定出 Vc 含量介于 1.88 到 3.7 g/kg 鲜重之间,甚至在成熟阶段含量保持不变。Stobdan 等人^[27]观察到生长在巴基斯坦大山区域的沙棘果中 Vc 平均值为 2.75 g/kg 鲜重。在本研究中,5 个沙棘品种的 Vc 含量介于 1.84 ~ 3.56 g/kg 鲜重之间,这些结果均表明,沙棘品种不同,其维生素 C 含量具有很大差异。强伟等人的报道中指出青藏高原的沙棘鲜果中 Vc 几乎比低海拔地区高出 2 倍^[9];本试验结果也发现,西藏沙棘和肋果沙棘(均引自高海拔地区)中 Vc 含量较高,这可能与品种的起源地有关,这些结果又表明沙棘果 Vc 含量与其生长地区的海拔高度有关系。

NO·自由基有许多生理功能,包括血管舒张或中枢神经系统的突触可塑性。另一方面,NO·属于 ROS,其与好几种疾病的发病机理有牵连^[28]。现已知这些 ROS 可引起老化、癌症和许多其它对人类身体的负面效应。杨等人^[29]的研究发现,沙棘果可作为一种 NO·自由基的显著抑制剂。沙棘果提取液是较强的 NO·自由基和超氧阴离子自由基清除剂,但对羟基自由基的清除效率较差^[30],这一点在我们的测定中也得到了证实。在我们所检测的品种中,沙棘果甲醇提取液对 NO·的抑制率为 40.43% ~ 48.83%,而在苹果中,10% 甲醇提取液对 NO·的清除效应介于 12.78% ~ 21.36%^[31]。本研究结果还表明,沙棘果甲醇提取液表现出较强的超氧阴离

子自由基清除活性(40.15%~49.93%),这与Papuc等人^[32]的结果一致。

在我们的试验中,针对适宜于河西走廊祁连山生长的5个沙棘品种的主要活性成分及甲醇抽提液对ROS的清除作用进行了较全面的测定,研究结果将有助于延伸沙棘加工产业链,以期为开发新的天然抗氧化剂和合理利用沙棘资源提供科学依据。本工作仅讨论了沙棘鲜果的有关化学参数,而更完整意义上的沙棘活性成分及抗氧化性能的研究,还须结合沙棘油、枝、叶,尤其是干果等器官,这些都有待于进一步的研究和发展。另外,本试验分析探讨了沙棘浆果的自由基清除效应,而对沙棘果中Vc和黄酮等活性物质对特异性免疫、非特异性免疫的增强作用等方面尚需进一步分析。

致谢:对中种国际种子有限公司的刘鹏先生在采样及样品前处理中所做的贡献,以及西北农林科技大学农学院的常立国硕士在进行ROS测定试验上的帮助表示由衷的感谢。

参考文献

- Yuan Y(袁媛),Zhang H(张浩),Zheng M(郑苗). Extracting technology of total flavonoid glycosides in fruit of *Hippophae rhamnoides*. *West China J Pharm Sci*(华西药学杂志),2012,27:70-72.
- Jomova K,Valko M. Advances in metal-induced oxidative stress and human disease. *Toxicology*,2011,283:65-87.
- Bonnefoy M,Drai J,Kostka T. Antioxidants to delay the process of aging: facts and perspectives. *Presse Med*,2002,31:1174-1184.
- Geetha S,Ram MS,and Singh V *et al.* Antioxidant and immune-modulatory properties of seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides*)-an *in vitro* study. *J Ethnopharmacol*,2002,179:373-3781.
- Lugasi A,Hovari J,Kadar G, *et al.* Phenolics in raspberry, blackberry, and currant cultivars grown in Hungary. *Acta Aliment*,2011,40:52-64.
- Hua SZ(花圣卓),Wen HP(温中平),Teng XP(滕晓萍). Study on antioxidant performance of seabuckthorn. *Int Seabuckthorn Res Dev*(国际沙棘研究与开发),2010,8(2):34-37.
- Liang K(梁楷),Jiang YM(蒋玉梅),Li WX(李霁昕). Active compound extraction from sea-buckthorn fruit and antioxidation activity research. *Sci Technol Food Ind*(食品工业科技),2014,35:264-269.
- Ma LA(马宁安),He MJ(何茂军),Lu PY(鲁平原), *et al.* Study of external antioxidant activity of Seabuckthorn fruit powder. *Int Seabuckthorn Res Dev*(国际沙棘研究与开发),2014,12(2):25-28.
- Qiang W(强伟),Zhu LN(朱利娜),Shi JY(史俊友), *et al.* Study on antioxidant activity of fruit powder from Qinghai *Hippophae rhamnoides* L. *Chin Wild Plant Res*(中国野生植物资源),2014,33:24-26.
- Rop O,Ercisli S,Mlcek J, *et al.* Antioxidant and radical scavenging activities in fruits of 6 sea buckthorn (*H. rhamnoides* L.) cultivars. *Turkish J Agric Forestry*,2014,38:224-238.
- Kim DO,Neony SW, Lee CY. Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food Chem*,2003,51:321-326.
- Han J(韩菊),Wei FX(魏福祥). Determination of polyphenols in apple pomace by Folin-Ciocalteu colorimetry. *Food Sci*(食品科学),2010,31:179-182.
- Singleton VL,Orthofer R,Lamuela RM. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by Folin-Ciocalteu reagent. *Method Enzymol*,1999,299:152-178.
- Wang LH(王林嵩). *Experimental Technology of Biochemistry*. Beijing: The Science Publishing Press,2007. 133-134.
- Ghiselli A,Nardini M,Baldi A, *et al.* Antioxidant activity of different phenolic fractions separated from an Italian red wine. *J Agric Food Chem*,1998,46:361-367.
- Green LC,Wagner DA,Glogowski J, *et al.* Analysis of nitrate, nitrite, and nitrate in biological fluids. *Anal Biochem*,1982,126:131-138.
- Beissenhirtz MK,Kwan RC,Ko KM, *et al.* Comparing an *in vitro* electrochemical measurement of superoxide scavenging activity with an *in vivo* assessment of antioxidant potential in Chinese tonifying herbs. *Phytother Res*,2004,18:149-153.
- Papuc C,Nicorescu V,Crivineanu DC, *et al.* Phytochemical constituents and free radical scavenging activity of extracts from sea buckthorn fruits (*H. rhamnoides*). *Acta Hort*,2009,806:187-192.
- Veliouglu YS,Mazza G,Gao Lei, *et al.* Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grass products. *J Agric Food Chem*,2008,46:4113-4117.
- Rop O,Jurikova T,Mlcek J. Antioxidant activity and selected nutritional values of plums (*Prunus domestica* L.) typical of the White Carpathian Mountains. *Sci Hort*,2009,122:545-549.
- Lugasi A,Hovari J,Kadar G, *et al.* Phenolics in raspberry, blackberry, and currant cultivars grown in Hungary. *Acta Aliment*,2011,40:52-64.