

细茎石斛多糖的提取条件优化及其抗氧化活性研究

Muhammad Naeem Asghar (合肥工业大学食品科学与工程学院, 安徽合肥 230009)

摘要 [目的]研究细茎石斛多糖的最佳提取条件及其抗氧化活性。[方法]通过单因素试验和响应面分析,研究细茎石斛多糖(DMP)的最佳提取条件。通过体外试验评价细茎石斛多糖的体外抗氧化活性。[结果]在料液比为1:53,时间为3 h,温度为83 ℃的提取条件下,DMP最高产量可达185 mg/g。体外抗氧化活性研究表明,DMP对超氧阴离子自由基、ABTS自由基、羟基自由基具有明显的清除作用,其中对ABTS自由基清除能力与维生素C相当;DMP对DPPH自由基的清除能力和还原能力效果比较适中。[结论]该研究揭示细茎石斛多糖可以作为一种天然抗氧化剂,为基于多糖的药物及保健食品的开发提供新思路。

关键词 细茎石斛;多醣;最佳提取条件;抗氧化活性
中图分类号 S-3 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2018)20-0001-05

Optimal Extraction Conditions and Antioxidant Activity of Polysaccharide from *Dendrobium moniliforme*
Muhammad Naeem Asghar (School of Food Science and Engineering, Hefei University of Technology, Hefei, Anhui 230009)

Abstract [Objective] The research aimed to study the optimal extraction conditions and antioxidant activity of polysaccharide from *Dendrobium moniliforme*. [Method] Through single-factor tests and response surface analysis, the optimal conditions for extraction of polysaccharide from *Dendrobium moniliforme* were studied. The antioxidant activity of polysaccharide from *Dendrobium moniliforme* was evaluated *in vitro*. [Result] The maximum yield obtained 185 mg/g at solid-liquid ratio 1:53, time 3 hours and temperature 83 ℃. The results of *in vitro* antioxidant activity showed that DMP had obvious scavenging effects of superoxide anion radical, ABTS radical, hydroxyl radical, while moderate scavenging effects of DPPH radical. In addition, ABTS radical scavenging activity of DMP was as stronger as vitamin C. [Conclusion] This polysaccharide could be developed as a new source of natural antioxidants, polysaccharide-based drugs or food ingredients with specific health improving functions.

Key words *Dendrobium moniliforme*; Polysaccharide; Optimal extraction conditions; Antioxidant activity

细茎石斛[*Dendrobium moniliforme* (L.) Sw.]为兰科石斛属(*Dendrobium*)多年生草本植物,其茎是药用石斛的重要来源,具有滋阴养胃、益气润肺、润阴生津、清脑明目、益寿延年等功效,对咽喉疾病、肠胃疾病、白内障、心血管疾病、糖尿病和抑制肿瘤生长具有显著疗效^[1]。石斛的药用成分主要是多糖,在石斛多糖的作用下,能够显著提高人体内超氧化歧化酶(SOD)含量,降低过氧化脂质(LPO)对人体的作用,清除体内自由基^[2-3]。而且,石斛多糖还有抗激素、抗前列腺、抗肿瘤等功能活性^[4-6]。但是,目前尚缺少有关细茎石斛多糖的最佳提取条件和体外抗氧化活性方面的研究。笔者基于Box-Behnken设计,采用响应面法(RSM)优化细茎石斛的水溶性多糖的提取条件,并研究多糖的抗氧化活性,以期为其应用开发提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料 细茎石斛原材料采集于安徽省。

1.2 方法

1.2.1 单因素试验设计。通过单因素试验分析提取温度、提取时间和料液比对DMP产率的影响。在优化试验因素期间,改变其中一个因素,而其他因素在每个试验中保持不变。试验设计5个料液比1:20、1:30、1:40、1:50、1:60,选择5个提取时间分别为0.5、1.0、2.0、3.0、4.0 h,提取温度分别设计在20、40、60、80、100 ℃。

1.2.2 Box-Behnken设计。根据单因素试验设计,确定提取变量的范围。根据Box-Behnken设计,将它们作为提取多糖的因子,并进行了17次随机试验以确定最佳水平。设计的5

个重复用于估计误差平方和。所有试验进行3次,提取糖的平均含量作为响应。通过初步的单因素试验确定变量的水平。表1中显示了变量的实际值和编码值,选择用于试验的3个因素 X_1 、 X_2 和 X_3 ,分别表示高、中、低值,编码分别为+1、0和-1。

通过Box-Behnken设计,得出回归方程: $Y = a_0 + a_1X_1 + a_2X_2 + a_3X_3 + a_{11}X_1^2 + a_{22}X_2^2 + a_{33}X_3^2 + a_{12}X_1X_2 + a_{13}X_1X_3 + a_{23}X_2X_3$,式中,Y是预测的响应值。系数中 a_0 、 a_i 、 a_{ii} 、 a_{ij} 代表了常数项、线性效应、二次效应和独立因素之间的相互作用效应。

响应曲面曲线可以预测变量的最佳水平,实现多糖的最大产量。回归模型的重要性通过每个反应的方差分析(ANOVA)来检验。 R^2 、调整 R^2 、预测 R^2 显示拟合指数的质量,通过P值发现模型中的重要变量。另外,比较每个自变量的实验值和预测值(表2)。

表1 3个独立变量的试验范围和水平

Table 1 Experimental range and levels of the three independent variables

变量水平编码 Coded variable levels	料液比(X_1) Solid-liquid ratio//g/mL	提取时间(X_2) Extraction time//h	提取温度(X_3) Extraction temperature//℃
-1	40	2	60
0	50	3	80
+1	60	4	100

1.2.3 细茎石斛多糖的提取。根据提取参数将干燥的细茎石斛粉末用蒸馏水提取3次,3次提取物合并,将合并的提取物过滤,收集上清液,以10 000 r/min离心10 min,并将滤液通过旋转蒸发器浓缩。将该物质冷却至室温,并以1:4(V/V)的比例缓慢加入95%乙醇,同时迅速搅拌,于室温放

置过夜^[7]。乙醇沉淀后,通过 Sevag 的方法进行脱蛋白^[8]。然后,将提取物以 8 000 r/min 离心 10 min 后,并用冷冻干燥机进行干燥,最终得到细茎石斛粗多糖(DMP),用于测定抗氧化活性的研究。

1.2.4 体外抗氧化活性测定。

1.2.4.1 DPPH 自由基清除活性测定。根据 Gao 等^[9]方法稍作修改,测定 DMP 对 DPPH 自由基的清除活性。2 mL 不同浓度的多糖样品(0.5、1.0、2.0、4.0 和 8.0 mg/mL)和 2 mL 的 DPPH-乙醇溶液(0.16 mmol/L)混匀后在 25 ℃下温育 15 min,然后在 525 nm 处测量吸光度。使用相同浓度抗坏血酸(V_c)代替样品作为阳性对照。通过以下公式计算样品的 DPPH 自由基清除活性。

表 2 多糖提取条件优化的响应面设计

Table 2 Box-Behnken design for the optimization of polysaccharides extraction and responses

组别 Group	X_1 (料液比 Solid-liquid ratio)	X_2 (提取时间 Extraction time)	X_3 (提取温度 Extraction temperature)	多糖提取率 Polysaccharides yield//mg/g	
				实际 Actual	预测 Predicted
1	-1	-1	0	159.23	160.13
2	+1	-1	0	165.72	167.11
3	-1	+1	0	168.12	166.73
4	+1	+1	0	177.26	176.36
5	-1	0	-1	159.51	159.98
6	+1	0	-1	171.20	171.18
7	-1	0	+1	169.85	169.87
8	+1	0	+1	173.80	173.33
9	0	-1	-1	155.78	154.41
10	0	+1	-1	168.62	169.54
11	0	-1	+1	164.86	163.94
12	0	+1	+1	172.46	173.83
13	0	0	0	183.09	181.43
14	0	0	0	183.09	180.79
15	0	0	0	183.09	184.61
16	0	0	0	183.09	179.14
17	0	0	0	183.09	189.46

DPPH 自由基清除率= $\frac{1-A}{A_0} \times 100\%$

其中,A 是样品的吸光度; A_0 是对照的吸光度。

1.2.4.2 超氧自由基清除活性测定。DMP 对超氧自由基的清除活性是根据 He 等^[10]的方法并稍作修改。取 pH 8.2 的 Tris-HCl 缓冲液 4.5 mL,在 25 ℃水浴中预热 20 min。1 mL 不同浓度的多糖溶液(0.5、1.0、2.0、4.0 和 8.0 mg/mL)中依次加入 0.4 mL (25 mmol/L) 的焦性没食子酸,并剧烈混合,在 25 ℃反应 5 min,并用 1 mL(8 mol/L)盐酸终止反应,测定吸光度为 A_1 。使用相同的测定程序,其中蒸馏水代替多糖和焦性没食子酸测定吸光度为 A_2 ,焦性没食子酸代替多糖测定吸光度为 A_3 ,蒸馏水代替焦性没食子酸测定吸光度为 A_4 。在 325 nm 处测量吸光度,通过以下公式以样品的清除率评估样品的清除超氧化物自由基活性。

超氧阴离子自由基清除率= $[A_3-(A_1-A_4)-A_2] \times 100\%$

1.2.4.3 ABTS 自由基清除试验。ABTS⁺ 试验溶液的配制是将 5.0 mL (7 mmol/L) ABTS⁺和 2.88 μ L (2.45 mmol/L)过硫酸钾的混合而成,并在室温下温育 16 h。在使用时,ABTS⁺溶液用去离子水稀释后,在 734 nm 处测得吸光度为 0.70 $\pm$ 0.02 可用。将 0.1 mL 不同的浓度(0.5、1.0、2.0、4.0 和 8.0 mg/mL)的多糖样品加入到 1 mL 的 ABTS⁺溶液中并混合均匀。将样品溶液在室温下放置 6 min 进行反应,使用抗坏血酸(V_c)作为阳性对照,立即在 734 nm 处测量吸光度。在空白对照中,样品用蒸馏水代替。ABTS⁺清除率通过以下公式计算。

ABTS⁺清除率= $[(Ac-As)/Ac] \times 100\%$

式中,Ac 是空白对照的吸光度,As 是样品的吸光度。

1.2.4.4 羟基自由基清除试验。根据 He 等^[10]的方法测量羟基自由基的清除活性。1 mL 不同浓度的多糖样品溶液(0.5、1.0、2.0、4.0 和 8.0 mg/mL)、1 mL(9 mmol/L)硫酸亚铁和 1 mL(9 mmol/L)水杨酸乙醇溶液,于 37 ℃混合反应 30 min。用蒸馏水作为参考,在 510 nm 处测量吸光度。考虑到多糖本身的吸光度,将用 8.8 mmol/L H₂O₂ 替代多糖测定吸光度。通过下面公式评估样品的抗氧化活性。

羟自由基清除率= $[A_0-(A_x-A_{x_0})]/A_0 \times 100\%$

式中, A_x 是多糖溶液的吸光度; A_0 是空白对照的吸光度; A_{x_0} 是不含多糖的 H₂O₂ 溶液的吸光度。

2 结果与分析

2.1 单因素分析

2.1.1 料液比对细茎石斛多糖提取率的影响。从图 1 可看出,在固定的提取时间 3 h 和温度 80 ℃时,随着料液比从 1:20 增加至 1:50,提取产率逐渐增加,当料液比为 1:50 提取率达到最高值。料液比超过 1:50 时,提取率会显著降低。原因可能是水与原料的较大比例意味着内部植物细胞与外部溶剂之间的浓度差异较大,从而使材料中进入更多的多糖分子^[11]。可见高比率可以反过来降低提取率。因此,该试验中 1:50 被认为是水与原料的最佳比例。

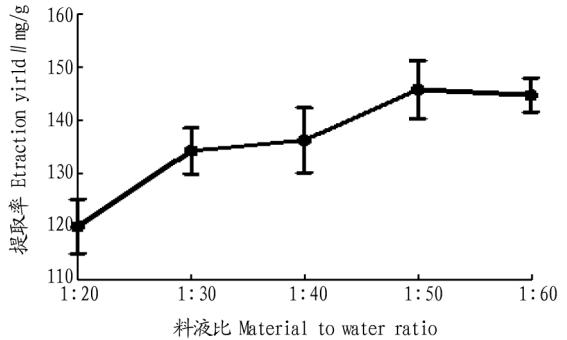


图 1 料液比对 DMP 提取率的影响

Fig.1 Effect of solid-liquid ratio on the extraction rate of DMP

2.1.2 提取时间对 DMP 提取率的影响。在水与原料的比例为 1:50,提取温度为 80 ℃时,对不同提取时间对提取率的影响进行考察。从图 2 可以看出,在最初的 3 h 期间,提取产率显著增加,然而随着时间进一步增加,产率会降低。这可能是由于加热效应和过度较长的提取时间,使多糖的结构遭到

破坏和分解^[12]。提取率在 3 h 前与提取时间成正比,3 h 后没有显著增加。因此,最佳提取时间设定为 3 h。

2.1.3 提取温度对 DMP 提取率的影响。提取温度对 DMP 提取率的影响见图 3, 而提取时间和料液比分别固定为 3 h 和 1:50。当提取温度从 20 ℃ 升高到 80 ℃ 时,提取率迅速增加,随着温度的进一步升高,提取率有所下降。这种趋势可能是由于高温提高了多糖的扩散系数,提高了多糖在提取溶剂中的溶解度,导致多糖物质从物料中流出到提取液中^[13]。然而,较高的温度可能会促进多糖化合物的降解反应。因此,该试验选择的最佳提取温度为 80 ℃。

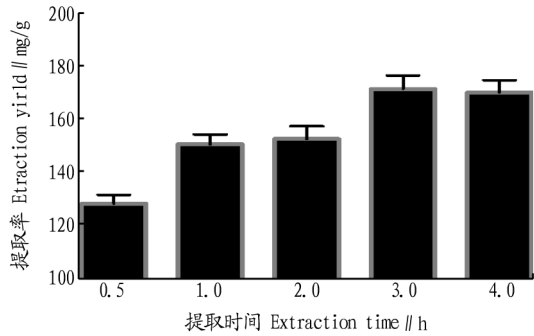


图2 提取时间对 DMP 提取率的影响

Fig.2 Effect of extraction time on the extraction rate of DMP

2.2 Box–Behnken 分析

2.2.1 DMP 提取条件的优化。经计算,所得模型中的 F 值为 13.47,这意味着该模型是显著的。相对于纯粹的误差,失拟值 0.23 并不显著。检测方程回归系数的显著性结果表明,

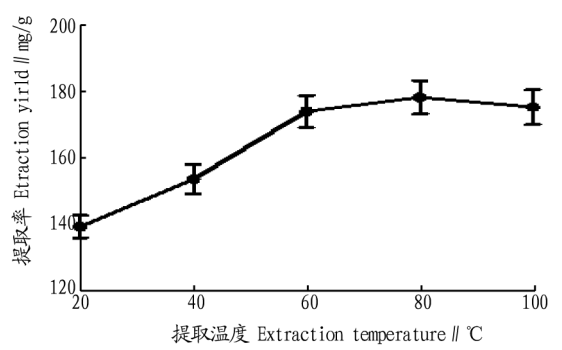


图3 提取温度对 DMP 提取率的影响

Fig.3 Effect of extraction temperature on extraction rate of DMP

多糖产量受线性项 X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_2X_3 、 X_2^2 、 X_3^2 影响显著。 P 值是显著的,因为它们低于预期的 R^2 (0.799 6) 与调整 R^2 (0.875 2) 合理,所以该模型可用。

通过使用 Design Expert 软件绘制响应曲面来研究 2 个参数之间的相互作用并确定最大 DMP 产量的最佳条件。3D 响应面和 2D 轮廓图如图 4 和图 5 所示。每幅图显示了 2 个变量对 DMP 产量的影响,而另一个固定在 0 水平。轮廓图的不同形状表示变量之间的不同相互作用。

响应曲面曲线(图 4~5)反映了变量与 DMP 多糖产量之间的定量关系。随着料液比、提取时间和提取温度的升高,多糖产量逐渐增加。当料液比增加时,可以将多糖产量从 120 mg/g 提高至 183 mg/g。随着料液比增加,较高的温度也可以增加多糖的产量。但料液比超过 1:50 或提取时间超过 3 h 或提取温度超过 80 ℃ 时,多糖产量将下降,并分别在响

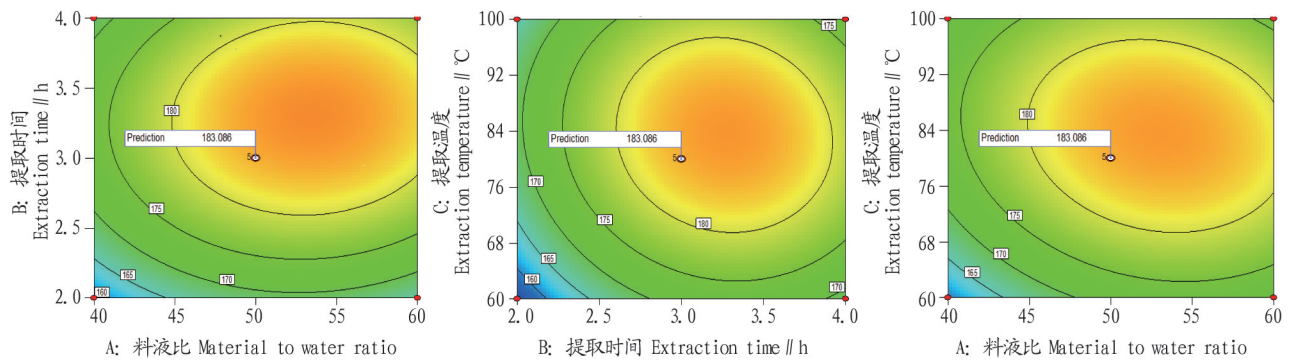


图4 等高线图显示料液比、提取时间和提取温度对 DMP 提取的影响

Fig.4 Contour plots shows the effect of the extraction on solid-liquid ratio,extraction time and extraction temperature on DMP extraction

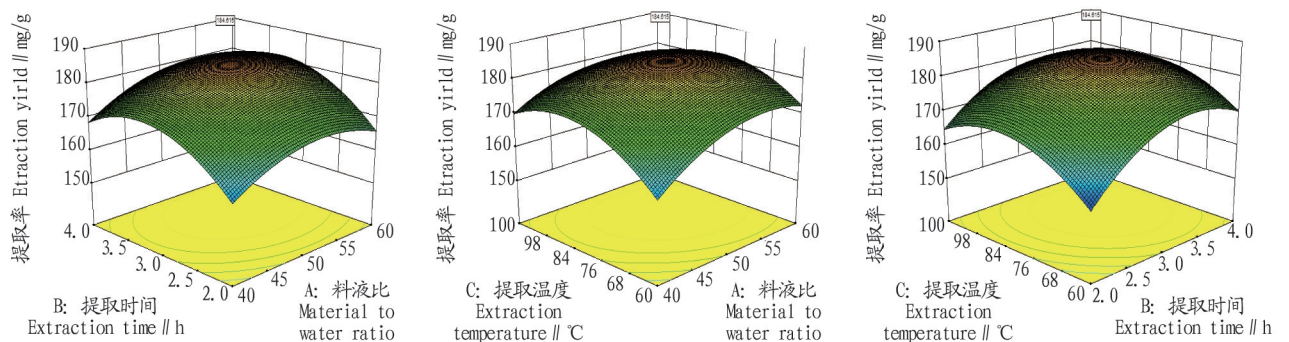


图5 料液比、提取时间和提取温度在 DMP 提取上的相互作用

Fig.5 Interaction of solid-liquid ratio,extraction time and extraction temperature on DMP extraction

应面上得到峰值。在一定范围内,较长的提取时间和较高的温度将显著提高多糖产量。

2.2.2 验证预测模型。从回归方程得到 DMP 最大产量的最佳提取条件为料液比 1:53、提取时间 3 h、提取温度 83 ℃。在最佳提取条件下,试验 DMP 产量为 185 mg/g,与预测值相符,表明响应模型可用于优化 DMP 提取过程。因此,可以确定 DMP 多糖的最佳提取条件是料液比 1:53、提取时间 3 h、提取温度 83 ℃,多糖产量可以达 185 mg/g。

2.3 多糖的抗氧化活性

2.3.1 DPPH 自由基清除活性。DPPH 是具有质子自由基的重要化合物,一旦接触质子自由基清除剂会使其含量极大减少。目前,许多研究表明,从植物中分离出的多糖能够清除自由基,因此可以归类为天然抗氧化剂^[14-16]。从图 6 可看出,0.5、1.0、2.0、4.0 和 8.0 mg/mL 的 DMP 对 DPPH 自由基清除能力分别为 2.35%、8.79%、18.99%、33.28% 和 49.29%。在相同浓度 0.5、1.0、2.0、4.0 和 8.0 mg/mL 下, V_c 的清除活性分别为 88.00%、91.52%、91.99%、92.60% 和 92.40%,可见当 V_c 浓度增加到 8.0 mg/mL 其清除率有所降低。细茎石斛多糖溶液以剂量依赖的方式对 DPPH 自由基产生清除作用,但在相同浓度下其作用稍低于 V_c 。因此, DPPH 清除率随着 DMP 浓度的增加而增加,进一步揭示 DMP 可以提供氢原子并对 DPPH 自由基发挥强有力的清除活性。

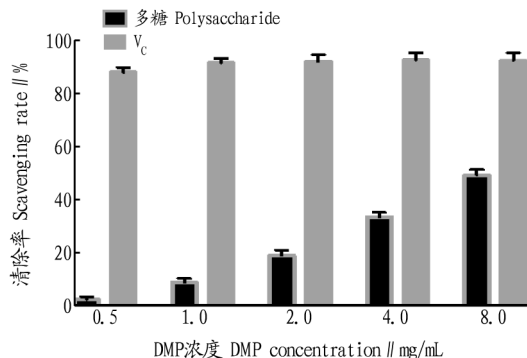


图 6 不同浓度 DMP 的 DPPH 自由基清除活性

Fig.6 DPPH free radical scavenging activity of DMP at different concentrations

2.3.2 超氧自由基清除活性。超氧化物自由基是具有高毒性的活性氧物质,可以转化为有害的物质,如过氧化氢、羟基自由基和破坏性生物分子,导致慢性疾病。过氧化物阴离子自由基由酶系统产生,如过氧化物酶、NADPH 氧化酶和黄嘌呤氧化酶^[17-18]。尽管超氧阴离子在大多数生物体中是由线粒体电子系统产生的自由基。它可以很容易地与其他分子反应并形成更强的活性氧和次生自由基,如羟基自由基、过氧化氢和单线态氧,然后可能导致各种疾病如炎症、癌症和神经变性。因此,超氧阴离子自由基的清除对抗氧化非常重要。最近研究证实,特定的天然多糖表现出显著的清除超氧阴离子自由基的活性^[19]。

从图 7 可看出, DMP 以剂量依赖性方式对超氧阴离子自由基发挥明显的清除活性,特别是当 DMP 的浓度为 4.0 和 8.0 mg/mL 时,其清除率分别为 41.21% 和 65.60%。而较低浓

度(0.5~2.0 mg/mL)的 DMP 溶液显示出较低的清除活性。表明 DMP 可清除超氧化物阴离子自由基,特别是在高浓度时。

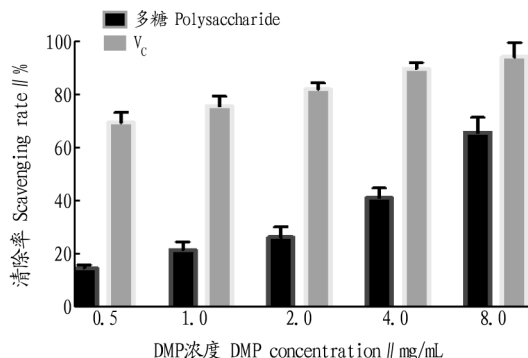


图 7 不同浓度 DMP 的超氧阴离子自由基清除活性

Fig.7 Superoxide anion free radical scavenging activity of DMP at different concentrations

2.3.3 ABTS 自由基清除试验。ABTS 分析经常用于评估单种化合物和各种植物的复杂混合物的总抗氧化能力^[20-22]。为了研究 DMP 的抗氧化能力,对 ABTS 自由基清除活性进行测定。ABTS 可以被氧化剂氧化产生亚稳态自由基阳离子的过氧化物酶底物,作为反映提取多糖的抗氧化活性的指标^[23]。在该测定中,在过硫酸钾存在下的 ABTS 被转化为自由基阳离子(在 734 nm 处具有吸光度)。当与抗氧化剂反应时,蓝色 ABTS 自由基阳离子变为无色。因此,抗氧化能力越高,在 734 nm 处吸光度越小^[22]。

从图 8 可看出, DMP 多糖样品对 ABTS 自由基的清除活性随着浓度的升高而增加。不同浓度的 DMP 多糖(0.5、1.0、2.0、4.0 和 8.0 mg/mL)和 V_c 的清除能力分别为 5.05%、23.77%、48.73%、73.35%、95.62% 和 99.16%、98.99%、99.16%、99.32%、100.00%。当浓度为 8.0 mg/mL 时, DMP 多糖表现出与 V_c 几乎相同的清除活性,仅比 V_c 低 4.38%。表明 DMP 对 ABTS 自由基具有很强的清除能力,可以作为潜在的抗氧化剂进行探索。

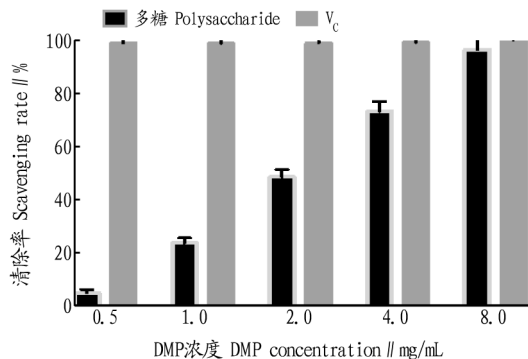


图 8 不同浓度 DMP 的 ABTS 自由基清除活性

Fig.8 ABTS radical scavenging activity of DMP at different concentrations

2.3.4 羟基自由基清除活性。羟基自由基($\cdot OH$)被认为是一种强大的氧化剂,可严重损害生物分子^[24]。 $\cdot OH$ 是最具反应活性和有害的活性氧物质之一,可以轻易地攻击脂质、

蛋白质和 DNA,导致细胞死亡和组织损伤。因此,去除羟基对保护生命系统非常重要^[25]。

从图 9 可看出,DMP 样品对 ·OH 的清除效果呈剂量依赖性,0.5、1.0、2.0、4.0 和 8.0 mg/mL 的 DMP 样品对 ·OH 的清除率分别达到 45.35%、56.46%、70.16%、77.18% 和 80.29%;DMP 对 ·OH 的清除作用非常接近 V_c 。表明在以 V_c 为阳性对照下,DMP 多糖可以剂量依赖性方式清除 ·OH,进一步验证 DMP 多糖可作为潜在抗氧化剂。

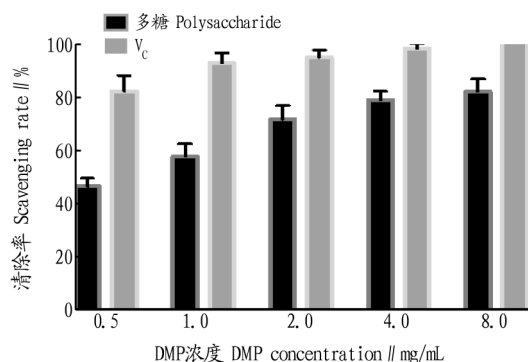


图 9 不同浓度 DMP 的羟基自由基清除活性

Fig.9 Hydroxyl radical scavenging activity of DMP at different concentrations

3 结论

综合以上研究结果,可得到 DMP 最佳的提取条件为料液比 1:53、提取时间 3 h、提取温度 83 ℃,在这种提取条件下,DMP 的最大产量可达到 185 mg/g。而且,DMP 表现出显著的抗氧化活性。因此,DMP 可作为功能性食品中的天然抗氧化剂。

参考文献

[1] LUKOVA P,KARCHEVA-BAHCHEVANSKA D,NIKOLOVA M,et al. Comparison of structure and antioxidant activity of polysaccharides extracted from the leaves of *Plantago major* L., *P. media* L. and *P. lanceolata* L. [J]. Bulgarian chemical communications,2017,49(4):282-288.

[2] WANG M C,ZHU P L,ZHAO S W,et al.Characterization, antioxidant activity and immunomodulatory activity of polysaccharides from the swollen culms of *Zizania latifolia* [J].International journal of biological macromolecules,2017,95:809-817.

[3] XU Z,WANG H D,WANG B L,et al.Characterization and antioxidant activities of polysaccharides from the leaves of *Lilium lancifolium* Thunb. [J].International journal of biological macromolecules,2016,92:148-155.

[4] LEE Y H,PARK J D,BAEK N I,et al. *In vitro* and *in vivo* antitumoral phenanthrenes from the aerial parts of *Dendrobium nobile* [J].Planta medica,1995,61(2):178-180.

[5] LIN T H,CHANG S J,CHEN C C,et al.Two phenanthraquinones from *Dendrobium moniliforme* [J].Journal of natural products,2001,64(8):1084-1086.

[6] HSU J L,LEE Y J,LEU W J,et al.Moniliformediquinone induces *in vitro* and *in vivo* antitumor activity through glutathione involved DNA damage response and mitochondrial stress in human hormone refractory prostate cancer [J].The journal of urology,2014,191(5):1429-1438.

[7] JIANG P,YUAN L,CAI D L,et al.Characterization and antioxidant activities of the polysaccharides from mycelium of *Phellinus pini* and culture medium [J]. Carbohydrate polymers,2015,117:600-604.

[8] SEVAG M G,LACKMAN D B,SMOLENS J.The isolation of the components of streptococcal nucleoproteins in serologically active form [J]. Journal of biological chemistry,1938,124(1):42-49.

[9] GAO J,ZHANG T,JIN Z Y,et al.Structural characterisation, physicochemical properties and antioxidant activity of polysaccharide from *Lilium lancifolium* Thunb. [J].Food chemistry,2015,169:430-438.

[10] HE Y,YE M,JING L Y,et al.Preparation, characterization and bioactivities of derivatives of an exopolysaccharide from *Lachnum* [J].Carbohydrate polymers,2015,117:788-796.

[11] SAMAVATI V,MANOOCHHEHRIZADE A.Polysaccharide extraction from *Malva sylvestris* and its anti-oxidant activity [J].International journal of biological macromolecules,2013,60(6):427-436.

[12] YING Z,HAN X X,LI J R.Ultrasound-assisted extraction of polysaccharides from mulberry leaves [J].Food chemistry,2011,127(3):1273-1279.

[13] SAMAVATI V,YARMAND M S.Statistical modeling of process parameters for the recovery of polysaccharide from *Morus alba* leaf [J].Carbohydrate polymers,2013,98(1):793-806.

[14] AMAROWICZ R,PEGG R B,RAHIMI-MOGHADDAM P,et al. Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies [J].Food chemistry,2004,84(4):551-562.

[15] MISHRA K,OJHA H,CHAUDHURY N K.Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH assay:A critical review and results [J]. Food chemistry,2012,130(4):1036-1043.

[16] XU W T,ZHANG F F,LUO Y B,et al.Antioxidant activity of a water-soluble polysaccharide purified from *Pteridium aquilinum* [J].Carbohydrate research,2009,344(2):217-222.

[17] YUAN H M,ZHANG W W,LI X G,et al.Preparation and *in vitro* antioxidant activity of κ-carrageenan oligosaccharides and their oversulfated, acetylated, and phosphorylated derivatives [J]. Carbohydrate research,2005,340(4):685-692.

[18] CHEN J J,ZHANG T,JIANG B,et al.Characterization and antioxidant activity of *Ginkgo biloba* exocarp polysaccharides [J]. Carbohydrate polymers,2012,87(1):40-45.

[19] WOOTTON-BEARD P C,RYAN L.Improving public health?:The role of antioxidant-rich fruit and vegetable beverages [J].Food research international,2011,44(10):3135-3148.

[20] LUO A X,HE X J,ZHOU S D,et al.Purification, composition analysis and antioxidant activity of the polysaccharides from *Dendrobium nobile* Lindl. [J]. Carbohydrate polymers,2010,79(4):1014-1019.

[21] HUANG S S,HUANG G J,HO Y L,et al.Antioxidant and antiproliferative activities of the four Hydrocotyle species from Taiwan [J].Botanical studies,2008,49(4):311-322.

[22] KATALINIC V,MILOS M,KULISIC T,et al.Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols [J].Food chemistry,2006,94(4):550-557.

[23] HAN J,WENG X C,BI K S.Antioxidants from a Chinese medicinal herb-*Lithospermum erythrorhizon* [J].Food chemistry,2008,106(1):2-10.

[24] YUAN J F,ZHANG Z Q,FAN Z C,et al.Antioxidant effects and cytotoxicity of three purified polysaccharides from *Ligusticum chuanxiong* Hort. [J].Natural product research & development,2012,74(4):822-827.

[25] CHEN S X,SCHOPFER P.Hydroxyl-radical production in physiological reactions [J].FEBS Journal,1999,260(3):726-735.

科技论文写作规范

文内标题 文章内标题力求简短,一般不超过 20 字,标题内尽量不用标点符号。标题顶格书写,文内标题层次不宜过多,一般不超过 4 级,分别以 1;1.1;1.1.1;1.1.1.1 方式表示。

结果 利用图、表及文字进行合乎逻辑的分析。务求精练通顺。不需在文字上重复图或表中所具有的数据,只需强调或阐述其重要发现及趋势。