

## 鲟鱼硫酸软骨素制备工艺优化

宋居易<sup>1</sup> 桂萌<sup>1</sup> 马长伟<sup>1</sup> 王顺<sup>2</sup> 彭朝辉<sup>3</sup> 李平兰<sup>1\*</sup>

(1. 中国农业大学 食品科学与营养工程学院,北京 100083;

2. 北京市水科学技术研究院,北京 100048;

3. 北京北水食品工业有限公司,北京 101108)

**摘要** 为制备高纯度鲟鱼硫酸软骨素,利用鲟鱼头骨和脊骨为原料,经过硫酸软骨素提取专用酶与碱性蛋白酶联合酶解新工艺,并进一步经季铵盐纯化、乙醇沉淀,制得硫酸软骨素纯品。硫酸软骨素提取专用酶和碱性蛋白酶提取的最佳工艺为:硫酸软骨素提取专用酶用量 15 mg/g,酶解温度 55 ℃,酶解时间 4 h;碱性蛋白酶用量 50 mg/g,酶解温度 60 ℃,酶解时间 2 h。季铵盐-乙醇沉淀法纯化最佳工艺为:季铵盐质量浓度 1 g/100 mL、作用温度 20 ℃,作用时间 1.5 h;乙醇沉淀体积分数为 75%、溶液 pH 为 7。该工艺制得的鲟鱼头骨、脊骨硫酸软骨素纯品的产率分别为 19.5%、22.0%,纯度分别为 94.80%、95.32%,蛋白含量分别为 0.287%、0.267%。

**关键词** 鲟鱼;头骨;脊骨;硫酸软骨素;提取;纯化

中图分类号 S 986

文章编号 1007-4333(2014)05-0116-08

文献标志码 A

## Optimized technology of chondroitin sulfate preparation from cultured sturgeon

SONG Ju-yi<sup>1</sup>, GUI Meng<sup>1</sup>, MA Chang-wei<sup>1</sup>, WANG Shun<sup>2</sup>, PENG Chao-hui<sup>3</sup>, LI Ping-lan<sup>1\*</sup>

(1. College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China;

2. Beijing Water Science and Technology Institute, Beijing 100048, China;

3. Beijing North Water Food Industry Limited Company, Beijing 101108, China)

**Abstract** Research aimed to prepare high pure production of chondroitin sulfate of sturgeon. The pure chondroitin sulfate from skull and spinal of cultured sturgeon was extracted by sequential hydrolysis with the chondroitin sulfate extraction of special enzyme and alkaline proteinase and purified by quaternary ammonium salt and ethanol. The optimum enzymolysis procedure by the chondroitin sulfate extraction of special enzyme and alkaline proteinase was as follows: 15 mg/g chondroitin sulfate extraction of special enzyme was added and kept at 55 ℃ for 4 h for hydrolysis, and then 50 mg/g alkaline proteinase was added and kept at 60 ℃ for 2 h. The optimum procedure of method of quaternary ammonium salt and ethanol precipitation was as follows: 1 g/100 mL quaternary ammonium salt solution was added and kept at 20 ℃ for 1.5 h and ethanol solution adjusted to pH 7 was 75%. Under these conditions, the yield of the pure products of chondroitin sulfate from skull and spinal was 19.5% and 22.0%, the purity was 94.80% and 95.32%, and the protein level was 0.287% and 0.267%, respectively.

**Key words** cultured sturgeon; skull; spinal; chondroitin sulfate; extraction; purification

硫酸软骨素(Chondroitin sulfate, CS)是一种天然酸性粘多糖,具有调节机体免疫、抗关节炎、抗凝

血、调脂降脂、抗动脉粥样硬化以及神经元保护和修复等医药和保健作用<sup>[1]</sup>。鲟鱼是现在世界上最

收稿日期: 2013-12-19

基金项目: 北京市鲟鱼、鲑鳟鱼创新团队项目(SCGWZJ 20121105-2)

第一作者: 宋居易, 硕士研究生, E-mail: songjiuyi526@163.com

通讯作者: 李平兰, 教授, 主要从事益生菌微生物方面的研究, E-mail: lipinglan@cau.edu.cn

大、最原始的软骨硬鳞鱼类,我国目前鲟鱼养殖量已达到 2.5 万 t<sup>[2]</sup>,同时鲟鱼骨中富含结构与鲨鱼硫酸软骨素相似的硫酸软骨素 C。因此,对鲟鱼硫酸软骨素的开发和应用研究,不仅可以提高鲟鱼的经济价值、延伸鲟鱼产业链,而且高质量的硫酸软骨素对提高人民的身体健康水平也具有重大的意义。

谷安超等<sup>[3]</sup>以匙吻鲟的软骨为原料,用稀碱-胰蛋白酶相结合的方法提取硫酸软骨素;许永安等<sup>[4]</sup>以史氏鲟鱼软骨为原料,按碱提-胰蛋白酶酶解-醇沉的工艺流程,进行硫酸软骨素的碱提工艺优化研究;刘安军等<sup>[5]</sup>用稀碱-碱性蛋白酶-醇沉提取硫酸软骨素;徐传屯等<sup>[6]</sup>以养殖鲟鱼软骨为原料,用稀碱-盐解-胰酶酶解法提取硫酸软骨素。相比较而言,国内外对鲟鱼硫酸软骨素纯化研究不多。陆钊等<sup>[7]</sup>采用超滤-离子层析法精制猪硫酸软骨素,产物纯度为 95.74%;谢捷等<sup>[8]</sup>采用阳离子交换树脂分离纯化猪硫酸软骨素,与传统酶解-氧化法相比,收率提高 6.5%,产品质量提高 5.6%,杂蛋白含量降低 28.6%;Murado 等<sup>[9]</sup>以鲛软骨为原料采用了碱性含醇水解纯化工艺,最后再经超滤-透析过程,进一步纯化。

虽然上述几种提取工艺相对于单纯的碱提能获得更高的硫酸软骨素得率,而且产品质量也显著提高,但是随着国家对环保的日益重视,对生产工艺便提出新的要求,即从此前单一加工软骨提取硫酸软骨素转变成软骨的综合利用——生产硫酸软骨素和提取蛋白,而生产工艺的改进首先体现在用酶方面<sup>[10]</sup>。乙醇沉淀法是分离纯化的传统方法,适合工业化生产纯度要求不高的产品,但要得到纯度较高的产品,一般还需与其他方法联用<sup>[7-8]</sup>。一般联用的离子交换法、柱层析法等工序繁琐、成本高、样品量损失也大。因此,开发一套工艺简单、成本低、环境污染小、得率高的硫酸软骨素提取纯化工艺显得尤为重要。本研究采用硫酸软骨素提取专用酶和碱性蛋白酶复合提取,季铵盐-乙醇沉淀法分离纯化来对鲟鱼硫酸软骨素的制备工艺进行优化,旨在为其工业化生产提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料及仪器

人工养殖鲟鱼购于市场。

鲨鱼硫酸软骨素(98.5%(质量分数))购于北京

恒元启天化工技术研究院;盐酸、氢氧化钠(AR:分析纯)购于北京化工厂;碱性蛋白酶购于北京奥博星生物技术有限责任公司;硫酸软骨素提取专用酶购于诺维信(此酶含有胶原蛋白酶、脂肪酶和糖原酶,可生物降解);葡萄糖醛酸购于美国 Sigma 公司;牛血清白蛋白、考马斯亮蓝:进口分装,购于美国 Santa Cruz 公司;吡啶(AR)购于北京化学试剂公司。

3K 15 通用台式冷冻离心机,美国 Sigma 公司;UV-2450 紫外可见分光光度计,日本岛津公司;Shodex OHPak SB-806M HR 柱(8.0 mm×300 mm),美国怀雅特技术公司。

### 1.2 主要工艺流程

软骨粉→硫酸软骨素提取专用酶和碱性蛋白酶复合酶解→灭酶→加三氯乙酸→离心去蛋白→上清液→醇沉、干燥→季铵盐沉淀→醇沉→膜透析→冷冻干燥→硫酸软骨素纯品

#### 1.2.1 软骨前处理

将鲟鱼鱼头和脊柱分别放到锅中水煮 1 h,取出放冷后剔除头部、脊索软骨上残留的肌肉、脂肪和其他结缔组织,切碎后转至烧杯中,加 95%乙醇浸泡 2 h,移出乙醇,重复浸泡一次。冷冻干燥后的软骨称重,粉碎,制成头骨粉和脊骨粉备用。

#### 1.2.2 酶解

将 1.2.1 所得鲟鱼软骨粉加入硫酸软骨素提取专用酶进行酶解,酶解后煮沸 10 min 使酶失活,之后加入碱性蛋白酶进行酶解,之后煮沸 10 min 使酶失活,过滤收集酶解液<sup>[11-13]</sup>。

1) 专用酶正交试验。根据单因素预试验结果,对 A 因素,酶用量(10、15 和 20 mg/g),B 因素,温度(50、55 和 60 °C)和 C 因素,时间(8、9 和 10 h)各取 3 个水平,采用 L<sub>9</sub>(3<sup>3</sup>) 正交试验,以得率、葡萄糖醛酸含量、蛋白含量为指标,得最佳工艺。

2) 专用酶-碱性蛋白酶双酶法。通过研究硫酸软骨素提取专用酶-碱性蛋白酶的酶解时间(5 和 1 h、4 和 2 h、3 和 3 h、2 和 4 h、1 和 5 h)和酶用量(5 和 50 mg/g、10 和 50 mg/g、15 和 50 mg/g、15 和 30 mg/g、15 和 40 mg/g)进行酶解条件优化。

#### 1.2.3 醇沉

经预试验,研究醇沉体积分数(65%、70%、75%、80%和 85%)及其 pH(5.5、6.0、6.5、7.0 和 7.5)对样品得率及葡萄糖醛酸含量的影响,确定最佳工艺<sup>[14]</sup>。

### 1.2.4 季铵盐沉淀

经预试验,对 A 因素,氯化十六烷基吡啶质量浓度(0.5、1.0 和 1.5 g/100 mL);B 因素,作用温度(15、20 和 25 °C)和 C 因素,作用时间(0.5、1.0 和 1.5 h)各取 3 个水平,采用  $L_9(3^3)$  正交试验,以得率、葡萄糖醛酸含量为指标,得季铵盐沉淀的最佳工艺。

### 1.3 产品分析方法

葡萄糖醛酸含量采用硫酸-咔唑法<sup>[15]</sup>;蛋白质含量采用考马斯亮兰法<sup>[16]</sup>;水分含量采用干燥法;澄清度测定用分光光度法测定 640 nm 处溶液的吸收值,小于 0.05 为合格;酸碱度测定使用 pH 法;粗品得率/% = 硫酸软骨素粗品/所用软骨粉末;纯品得率/% = 硫酸软骨素纯品/硫酸软骨素粗品。

### 1.4 凝胶色谱分析

采用多角度激光散射仪结合凝胶渗透色谱(GPC/MALLS)分别对鲨鱼硫酸软骨素标品、鲟鱼头骨和脊骨硫酸软骨素分子量和纯度进行测定。

色谱条件:紫外可见检测器、示差检测器、多角度激光光散射器;流动相为 0.1 mol/L  $\text{NaNO}_3$ ;

进样量,10  $\mu\text{L}$ ;流速,0.5 mL/min;柱温,室温。

## 2 结果与分析

### 2.1 专用酶酶解正交试验

以硫酸软骨素的得率、葡萄糖醛酸含量和蛋白质质量分数为评价指标,对酶用量、酶解温度和酶解时间进行三因素三水平的正交试验,结果见表 1。

表 1 不同提取工艺组合对硫酸软骨素质量的影响

Table 1 Influence of different extraction technology combinations of the chondroitin sulfate quality

序号 Sequence number	得率/% Yield	葡萄糖醛酸含量/mg Glucuronic acid content	蛋白质质量分数/% Protein level
1	33.37	92.69	0.304
2	38.25	97.40	0.331
3	35.43	95.91	0.297
4	43.53	98.53	0.287
5	46.72	138.69	0.237
6	40.25	115.31	0.258
7	39.97	96.59	0.268
8	34.89	93.05	0.281
9	30.42	92.24	0.261

由表 2 极差 R 分析可知,极差越大说明该因子的水平对试验结果影响就越大,因而不同工艺条件对硫酸软骨素中葡萄糖醛酸含量的影响顺序为:酶用量>提取温度>提取时间。对硫酸软骨素产品而言,葡萄糖醛酸含量高,产品质量优。 $k_1$ 、 $k_2$ 、 $k_3$  分别代表各因素在各水平所对应的试验指标的平均值,它们的大小可以判断同一因素各水平对实验指标的影响大小,所以由  $k$  值大小确定葡萄糖醛酸含量最高的工艺组合为  $A_2B_2C_3$ ,即酶用量(15 mg/g)、于 55 °C 下振荡浸提 10 h。

### 2.2 专用酶-碱性蛋白酶双酶法

专用酶-碱性蛋白酶的酶解时间组合试验结果见表 3,从中可以看出,蛋白质含量在酶组合 2 降到最低,而葡萄糖醛酸含量则达到最高。由此可见,在专用酶和碱性蛋白酶用量一定的条件下,先加专用酶水解 4 h,后加碱性蛋白酶水解 2 h 效果较好。

蛋白质含量在酶组合为 3 最低,而样品得率和葡萄糖醛酸含量在这组合中达到最高。由此可见,在酶解时间确定的情况下,采用 15 mg/g 专用酶和 50 mg/g 碱性蛋白酶进行酶解效果较好。

表 2 不同工艺组合对硫酸软骨素质量影响的极差分析

Table 2 Variance analysis of different technological combinations in the influence of chondroitin sulfate quality

指标 Index		因素 Factors		
		酶用量(A)	温度(B)	时间(C)
		Dosage of enzyme(A)	Temperature(B)	Time(C)
葡萄糖醛酸含量 Glucuronic acid content	$k_1$	95.33	95.94	98.35
	$k_2$	117.51	102.32	96.05
	$k_3$	93.69	99.15	101.87
	极差	23.82	6.38	5.82
蛋白质质量分数 Protein level	$k_1$	0.312	0.281	0.271
	$k_2$	0.243	0.267	0.297
	$k_3$	0.274	0.277	0.267
	极差	0.038	0.014	0.030
得率 Yield	$k_1$	32.89	37.29	36.27
	$k_2$	42.84	43.52	38.62
	$k_3$	35.91	36.43	42.43
	极差	9.95	7.09	6.16

表 3 专用酶-碱性蛋白酶的酶解时间、酶用量组合试验结果

Table 3 Experimental results of the combination of special enzyme and alkaline protease enzymolysis

项目 Grape	酶名称 Enzyme name	酶质量分数* / % Enzyme concentration	酶解时间* / h Enzymolysis time	得率/% Yield	葡萄糖醛酸/mg Glucuronic acid content	蛋白质含量/% Protein level
酶解时间结果 Results of Enzymolysis time	专用酶+ 碱性蛋白酶 Special enzyme+ alkaline protease		5+1	43.51	100.91	0.241
			4+2	46.67	140.31	0.138
		1.5+5.0	3+3	40.26	99.24	0.179
			2+4	39.78	110.05	0.217
			1+5	40.25	98.40	0.220
酶解用量结果 Results of Enzyme Concentration	专用酶+ 碱性蛋白酶 Special enzyme+ alkaline protease	0.5+5.0		36.15	96.19	0.223
		1.0+5.0		42.32	99.73	0.197
		1.5+5.0	4+2	44.65	134.75	0.159
		1.5+3.0		40.76	100.13	0.235
		1.5+4.0		41.97	120.98	0.173

注：\*“+”前为专用酶的用量及酶解时间，后为碱性蛋白酶的用量及酶解时间。

Note: \* Before “+” means concentration and enzymolysis time of special enzyme, and after it means concentration and enzymolysis time of alcalase in Table 3.

## 2.3 醇沉

### 2.3.1 乙醇沉淀浓度

由图1、图2可以看出,产品得率随着酒精沉淀浓度的升高而提高,在75%~85%时基本趋于稳定;而葡萄糖醛酸含量则先随着酒精沉淀浓度的升高而增加,浓度75%时达到最高,之后却有所下降。考虑到醇浓度增加,成本相对增加,而且酒精沉淀浓度75%以上得率增加极少,因此乙醇沉淀浓度选择75%为宜。

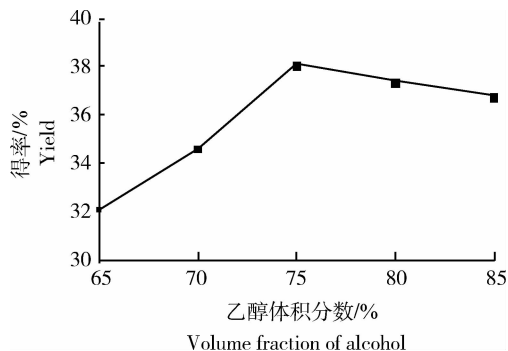


图1 乙醇体积分数对样品得率的影响

Fig. 1 Effect of the volume fraction of alcohol on the yield

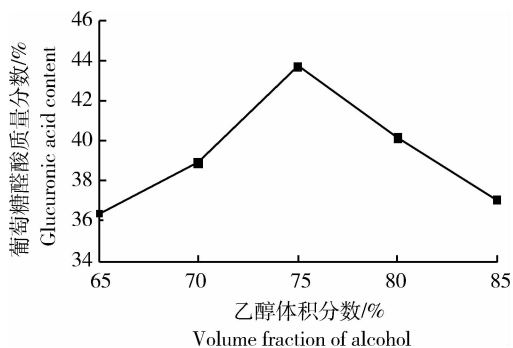


图2 乙醇体积分数对葡萄糖醛酸含量的影响

Fig. 2 Effect of the volume fraction of alcohol on the glucuronic acid content

### 2.3.2 醇沉溶液的 pH

葡萄糖醛酸含量和样品得率随溶液 pH 都呈先上升后下降的趋势(图3、图4)。在溶液 pH 为7时,葡萄糖醛酸含量和产品得率都达到最高,故溶液 pH 选取7。

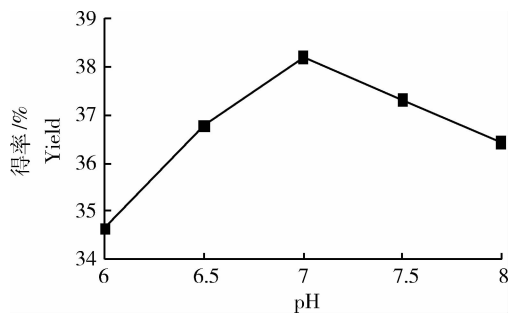


图3 醇沉溶液 pH 对产品得率的影响

Fig. 3 Effect of pH on the yield

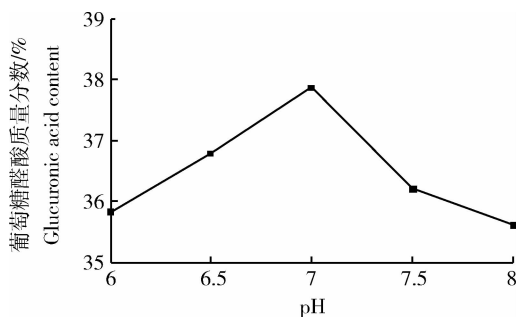


图4 醇沉溶液 pH 对葡萄糖醛酸质量分数的影响

Fig. 4 Effect of pH on glucuronic acid content

## 2.4 季铵盐沉淀正交试验

以硫酸软骨素的得率、葡萄糖醛酸质量分数为评价指标,对氯化十六烷基吡啶质量浓度、作用温度和作用时间进行三因素三水平的正交试验,试验设计及结果见表4。

表4 季铵盐沉淀正交试验结果

Table 4 Orthogonal experiment result of quaternary ammonium salt precipitation

序号 Sequence number	因素 Factors			得率/% Yield	葡萄糖醛酸 质量分数/% Glucuronic acid content
	氯化十六烷基吡啶质量浓度(A) Quality content of cetylpyridinium chloride(A)	温度(B) Temperature(B)	时间(C) Time(C)		
1	1	1	1	31.25	38.31
2	1	2	2	29.43	37.05
3	1	3	3	30.72	38.24

表 4(续)

序号 Sequence number	因素 Factors			得率/% Yield	葡萄糖醛酸 质量分数/% Glucuronic acid content
	氯化十六烷基吡啶质量浓度(A) Quality content of cetylpyridinium chloride(A)	温度(B) Temperature(B)	时间(C) Time(C)		
4	2	1	2	35.97	40.69
5	2	2	3	37.51	42.86
6	2	3	1	32.05	39.40
7	3	1	3	29.42	38.91
8	3	2	1	31.47	37.59
9	3	3	2	30.53	38.53

由表 5 极差 R 分析看出,极差越大说明该因子的水平对试验结果影响就越大,因而不同工艺条件对硫酸软骨素中葡萄糖醛酸含量的影响顺序为:季铵盐质量浓度>作用温度>作用时间。对硫酸软骨素产品而言,葡萄糖醛酸含量高,产品质量优。 $k_1$ 、

$k_2$ 、 $k_3$  分别代表各因素在各水平所对应的试验指标的平均值,最大的  $k$  值对应着最好的水平,所以葡萄糖醛酸含量最高的工艺组合为  $A_2B_2C_3$ ,即季铵盐浓度 1%、于 20 °C 下静置 1.5 h。

表 5 不同工艺组合对硫酸软骨素质量影响的极差分析

Table 5 Variance analysis of different technological combinations in the influence of chondroitin sulfate quality

指标 Index		因素 Factors		
		氯化十六烷基吡啶质量浓度(A) Quality content of cetylpyridinium chloride(A)	温度(B) Temperature(B)	时间(C) Time(C)
得率 Yield	$k_1$	29.51	33.06	31.89
	$k_2$	34.08	34.67	32.82
	$k_3$	30.97	31.46	33.78
	极差	5.29	3.21	1.89
葡萄糖醛酸质量分数 Glucuronic acid content	$k_1$	37.84	38.23	38.29
	$k_2$	40.43	40.04	39.02
	$k_3$	38.06	38.71	39.27
	极差	2.59	1.81	0.98

### 2.5 产品的质量

通过上述工艺得到鲟鱼头骨和脊骨的粗品率分别为 43%、46%,纯品得率分别为 19.5%、22%,对

样品鲟鱼头骨和脊骨硫酸软骨素纯品进行质量分析,并与购买的标准品鲨鱼硫酸软骨素进行对比,结果见表 6。

表6 鲟鱼硫酸软骨素产品质量测定结果

Table 6 Quality analysis of the chondroitin sulfate from sturgeon

指标 Index	鲨鱼硫酸软骨素标准指标 Standard indexes of shark chondroitin sulfate	测定结果 Determination results	
		头骨硫酸软骨素 Skull chondroitin sulfate	脊骨硫酸软骨素 Spinal chondroitin sulfate
葡萄糖醛酸质量分数/% Glucuronic acid content	35	36	42
蛋白质质量分数/% Protein level	1.780	0.287	0.261
含水率/% Water level	2.0	1.8	1.5
澄清晰度 Clarity	0.050	0.036	0.036
酸碱度 pH	7.0	7.0	7.0

## 2.6 凝胶色谱分析

通过凝胶色谱图分析软件 Astra (version 5.3.4.20) 得到鲨鱼硫酸软骨素标品、鲟鱼头骨、脊

骨硫酸软骨素的纯度(质量分数)分别为 82.22%、94.80% 和 95.32%，它们的分子质量及其分布如表 7 所示。

表7 鲟鱼和鲨鱼硫酸软骨素的分子质量及其分布

Table 7 Molecular weight and its distribution of sturgeon and shark chondroitin sulfates

样品 Sample	平均分子质量 Average molecular weight			分子质量分布(重均/数均) Molecular weight distribution
	数均 Mn	重均 Mw	Z 均 Mz	
鲨鱼硫酸软骨素 Shark CS	16 640±509	70 335±474	25 067±269	4.320±0.028
鲟鱼头骨硫酸软骨素 Sturgeon skull CS	28 265±431	38 500±976	52 590±3 578	1.363±0.055
鲟鱼脊骨硫酸软骨素 Sturgeon spinal CS	32 000±1 640	49 170±2 630	57 885±2 793	1.439±0.141

比较 3 种硫酸软骨素的分子量发现,数均 Mn 与重均 Mw 都相互有显著差异( $P < 0.05$ )。鲟鱼脊骨硫酸软骨素的 Mn 显著高于鲟鱼头骨硫酸软骨素和鲨鱼硫酸软骨素( $P < 0.05$ ),鲨鱼硫酸软骨素的 Mw 显著高于鲟鱼头骨、脊骨硫酸软骨素( $P < 0.05$ ),但鲨鱼硫酸软骨素的 Mz 却显著小于鲟鱼头骨、脊骨硫酸软骨素( $P < 0.05$ )。通过  $t$  检验法发现,鲟鱼头骨与脊骨硫酸软骨素的分子量分布之间并没有显著差异( $P < 0.05$ ),但鲨鱼和鲟鱼头骨、脊骨硫酸软骨素的分子量分布呈现显著差异( $P < 0.05$ ),相应的变异系数  $T(T=SD/X)$  分别为 0.006 48

(鲨鱼 CS)、0.040 35(鲟鱼头骨 CS)和 0.097 98(鲟鱼脊骨 CS),说明纯化出的鲟鱼头骨、脊骨硫酸软骨素的分子量组分更为均一、集中,纯度也更高。

## 3 结论与讨论

制备鲟鱼硫酸软骨素最佳的酶解工艺条件是:先将碳酸钠缓冲液调 pH 7,接着加入硫酸软骨素提取专用酶 1.5%,55 °C 保温水解 4 h;后升温至 60 °C,加入碱性蛋白酶 5%,保温水解 2 h;季铵盐-乙醇沉淀法纯化最佳工艺为:季铵盐浓度 1%、于 20 °C 下静置 1.5 h,乙醇沉淀浓度为 75%、pH 为 7;

按所研究的最佳工艺条件制备鲟鱼头骨和脊骨的硫酸软骨素,其纯品得率分别为 19.5%、22.0%,蛋白质质量分数分别为 0.287%、0.261%,葡萄糖醛酸质量分数分别为 36%、42%,纯度为 94.80%、95.32%,与购买的鲨鱼硫酸软骨素标准品相比,分子量组分更为均一、集中,纯度也更高。

鲟鱼头骨与脊骨硫酸软骨素的分子量分布之间虽然没有显著差异,但数均( $M_n$ )与重均( $M_w$ )两者之间具有显著差异,推测可能由于硫酸软骨素本身结构的多样性,比如硫酸软骨素 A、硫酸软骨素 C 等<sup>[17]</sup>,还有分别的含量多少,故要想确定鲟鱼头骨和脊骨硫酸软骨素中的结构成分,还需要进行高效液相、核磁共振等研究,本试验对其分别进行提取纯化得到相应纯品,为进一步研究其结构功能奠定基础。

### 参 考 文 献

- [1] 许永安,陈守平,吴靖娜,等. 鲟鱼硫酸软骨素的制备工艺研究[J]. 渔业科学进展,2011,32(3):121-129
- [2] Robert M Lauder. Chondroitin sulphate: A complex molecule with potential impacts on a wide range of biological systems [J]. Complement Ther in Med,2009,17(1):56-62
- [3] 谷安超,李诚,肖岚,等. 匙吻鲟硫酸软骨素提取及纯化工艺研究[J]. 食品研究与开发,2007,28(12):30-33
- [4] 许永安,陈守平,苏金华,等. 史氏鲟鱼硫酸软骨素的提取及抗肿瘤活性的研究[J]. 上海海洋大学学报,2010,19(4):553-559
- [5] 刘安军,王慧,朱振元,等. 鲟鱼硫酸软骨素提取工艺的研究[J]. 现代食品科技,2009,25(6):617-619
- [6] 徐传屯,关瑞章,郑江,等. 养殖鲟鱼软骨中硫酸软骨素的优化提取工艺研究[J]. 中国生化药物杂志,2009,30(3):154-161
- [7] 陆钊,董树国,王玥,等. 超滤-离子层析法精制猪硫酸软骨素[J]. 吉林农业大学学报,2012,34(2):171-175
- [8] 谢捷,罗小芳,朱兴一,等. 离子交换法分离纯化猪硫酸软骨素的研究[J]. 浙江工业大学学报,2012,40(2):124-128
- [9] Murado M A, Fragues J, Montemayor M I, et al. Preparation of highly purified chondroitin sulphate from skate (*Raja clavata*) cartilage by-products. Process optimization including a new procedure of alkaline hydroalcoholic hydrolysis [J]. Biochem Eng J,2010,49(1):126-132
- [10] 王安,刘靓,刘敏尧,等. 硫酸软骨素提取用酶的现状及其前景[J]. 食品研究与开发,2011,32(4):182-183
- [11] 田甲春,余群力. 胃蛋白酶提取硫酸软骨素工艺优化[J]. 肉类研究,2011,25(8):22-25
- [12] 陈亚,徐晓燕. 响应面法优化硫酸软骨素提取的酶解工艺[J]. 中国生化药物杂志,2012,35(5):548-541
- [13] 李川,段振华. 利用罗非鱼头提取硫酸软骨素的工艺探讨[J]. 食品科技,2010,35(1):235-238
- [14] 郝淑贤,魏涯,李来好,等. 鲟鱼软骨素提取工艺研究[J]. 食品工业科技,2012,33(24):253-261
- [15] 周叶,赵婷,冯伟伟,等. 咔唑法测定中华鲟软骨中硫酸软骨素的含量[J]. 安徽农业科学,2011,39(19):11597-11598
- [16] 户业丽,蔡焕焕,程波,等. 人工养殖鲟鱼头中硫酸软骨素的提取工艺[J]. 食品研究与开发,2010,31(4):115-118
- [17] Volpi Nicola. Quality of different chondroitin sulfate preparations in relation to their therapeutic activity [J]. J Pharm Pharmacol,2009,61:127-1280

责任编辑: 苏燕