袁媛,宋兵兵,陈菁,等. 不同来源硫酸软骨素的结构特征及抗氧化活性与降脂活性比较 [J]. 食品工业科技,2026,47(3):42−51. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2024110311

YUAN Yuan, SONG Bingbing, CHEN Jing, et al. Comparative Analysis of Structural Characterization, Antioxidant, and Hypolipidemic Activities of Chondroitin Sulfate from Different Sources[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(3): 42−51. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2024110311

·研究与探讨·

不同来源硫酸软骨素的结构特征及抗氧化活性与降脂活性比较

袁　媛[1],宋兵兵[1],陈　菁[1],黎梓玉[1],黄耀莹[1],钟赛意[1,2,3,*]

(1.广东海洋大学食品科技学院,广东省水产品加工与安全重点实验室,广东湛江 524088;
2.广东省海洋生物制品工程实验室,广东湛江 524088;
3.广东海洋大学深圳研究院,广东深圳 518100)

摘　要: 硫酸软骨素（Chondroitin sulfate，CS）是一类通过共价键连接于蛋白的糖胺聚糖，具有重要药理活性，但其来源差异对结构与功能的影响尚未系统研究。本研究以本实验室制备的罗非鱼头硫酸软骨素和市售不同动物来源（牛软骨、鸡软骨、鲨鱼）CS 为对象，通过紫外光谱、红外光谱和核磁共振技术分析结构特征，并结合 DPPH、$ABTS^+$等自由基清除实验及胆酸盐结合实验评估其体外抗氧化与降脂活性。结果显示：罗非鱼头来源的 CS 和鲨鱼 CS 有相似的硫酸化模式，都是以 CS-C 型（6-O-硫酸化）为主，牛与鸡来源的 CS 为 CS-A 型（4-O-硫酸化）。罗非鱼头 CS 的抗氧化活性最优，在 4 mg/mL 浓度下，$ABTS^+$自由基清除率达 90.72%±0.19%；鲨鱼 CS 降脂效果最佳，在 6 mg/mL 浓度下，胆固醇胶束结合率为 39.38%±0.86%。本研究表明，罗非鱼头和鲨鱼来源的 CS-C 型结构因硫酸基位置优势，在抗氧化与降脂活性上显著优于牛和鸡来源的 CS-A 型。本研究系统比较了陆生与海洋来源 CS 的结构特征与活性差异，揭示了硫酸基位置（C4 vs C6）对其抗氧化与降脂功能的显著影响，并显示出海洋来源 CS 的应用潜力，可为不同来源 CS 的开发利用提供参考。

关键词: 硫酸软骨素,结构特征,抗氧化活性,降脂活性,罗非鱼

中图分类号: TS201.4　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1002−0306(2026)03−0042−10

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2024110311　　本文网刊:

Comparative Analysis of Structural Characterization, Antioxidant, and Hypolipidemic Activities of Chondroitin Sulfate from Different Sources

YUAN Yuan[1], SONG Bingbing[1], CHEN Jing[1], LI Ziyu[1], HUANG Yaoying[1], ZHONG Saiyi[1,2,3,*]

(1.Guangdong Key Laboratory of Aquatic Product Processing and Safety, School of Food Science and Technology, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China;
2.Guangdong Marine Bioproducts Engineering Laboratory, Zhanjiang 524088, China;
3.Shenzhen Research Institute, Guangdong Ocean University, Shenzhen 518100, China)

Abstract: Chondroitin sulfate (CS), a glycosaminoglycan covalently linked to proteins in proteoglycans, exhibits significant pharmacological activities. However, systematic comparisons of structural and functional differences among CS from diverse sources remain limited. This study comparatively analyzed CS extracted from tilapia heads in our laboratory and commercially available animal sources (bovine cartilage, chicken cartilage, and shark cartilage) using UV, IR, and NMR

收稿日期: 2024−11−25

基金项目: 深圳市国际合作项目（GJHZ20240218114715029）;国家重点研发计划（2020YFD0901101）;广东省高校重点领域专项（2023ZDZX2025）;广东省高校科技创新团队项目（2021KCXTD021）。

作者简介: 袁媛（1998−）,女,硕士研究生,研究方向:海洋多糖研究与开发,E-mail:sunrise0300@163.com。

*** 通信作者:** 钟赛意（1979−）,男,博士,教授,研究方向:食品营养与健康、农产品营养与功能化开发,E-mail:zsylxc@126.com。

spectroscopy, and evaluated their antioxidant and hypolipidemic activities through DPPH, $ABTS^+$ radical scavenging assays and bile-acid binding tests. Results revealed that tilapia head-derived CS and shark CS shared similar sulfation patterns, predominantly classified as CS-C type (6-O-sulfation), whereas bovine and chicken-derived CS belonged to CS-A (4-O-sulfation). Notably, tilapia CS exhibited the highest $ABTS^+$ scavenging capacity (90.72%±0.19%) at 4 mg/mL, while shark CS showed superior cholesterol micelle binding (39.38%±0.86%) at 6 mg/mL. This study revealed that the CS-C type configuration (dominant in tilapia head- and shark-derived CS) exhibited significantly superior antioxidant and lipid-regulating activities compared to the CS-A type (bovine and chicken sources) due to the positional advantage of 6-O-sulfation. This work systematically compared structural and functional divergences between terrestrial and marine-sourced CS, elucidating the critical impact of sulfation sites (C4 vs C6) on bioactivity while highlighting the application potential of marine-derived CS, thereby providing strategic insights for source-specific CS exploitation.

Key words: chondroitin sulfate (CS); structural characterization; antioxidant activity; hypolipidemic activities; tilapia

硫酸软骨素(Chondroitin sulfate, CS)是一种硫酸线性多糖, 属于糖胺聚糖(Glycosaminoglycan, GAG)的一种, 存在于各种陆地和海洋动物的气管、软骨等中。CS 基本骨架是由 D-葡萄糖醛酸(GlcA)和 N-乙酰半乳糖胺(GalNAc)组成的二糖单位(GlcAβ1-3GalNAc), 其通过 β-1,4-糖苷键重复连接而成的直链多糖[1]。硫酸化修饰通常发生在已糖胺残基的 C-4 和/或 C-6 位置以及己糖醛酸残基的 C-2 和/或罕见的 C-3 位置[2]。根据硫酸基的位置分类, CS 可分为 GlcA-GalNAc-4-O-硫酸盐(CS-A)、GlcA-GalNAc-6-O-硫酸盐(CS-C)、GlcA-2-O-硫酸盐-GalNAc-6-O-硫酸盐(CS-D)、GlcA-GalNAc-4,6-硫酸盐(CS-E)和其他异构体[3]。硫酸化的程度和位置通常会因其来源[4]、组织[5]、年龄[6] 等不同而存在差异。Liu 等[7] 发现大齿螠多糖的分子量、单糖组成和糖苷键的改变会导致其不同的 α-葡萄糖苷酶抑制活性; Pang 等[8] 发现不同海洋来源的 CS 对 α-淀粉酶具有不同的抑制作用; 牛、猪和鱼源来源的 CS 抑制破骨细胞形成和活性的能力不同[9]。此外, 有研究发现, CS 有显著的抗氧化能力[1], 可以减少炎症和氧化应激的发生[10], 同时还具有抗血栓形成[11]、抗炎[12]、免疫调节[13]、抗癌[14] 和降血脂[10,15] 等药理作用, 可应用于动脉粥样硬化、冠心病以及其他心脑血管疾病的治疗, 且 CS 已在欧洲和美国作为膳食补充剂中的营养保健品[1]。尽管已有大量研究关注 CS 的生物活性, 但关于罗非鱼头来源和市售不同动物来源的 CS 在结构特征以及体外抗氧化和降脂方面效果是否存在差异, 目前没有系统比较。

据相关数据显示, 在全球范围内, 大约有三分之一的人口处于超重状态, 而肥胖人口的比例也占到了约十分之一[16]。预计到 2030 年, 全球肥胖人数将达到 11.2 亿[17]。肥胖并非仅仅体现于外观方面的改变, 更与脂质和葡萄糖代谢失衡、慢性炎症、氧化应激以及众多疾病风险的上升有着紧密的关联[18−20], 特别是心血管疾病、糖尿病以及癌症这类严重威胁健康的病症[21]。而现有的减肥和降血压药物存在一定副作用, 近年, 天然抗肥胖替代药剂以非药品的形式已经在治疗肥胖过程中使用, 这些可以降低化学合成的抗肥胖药物在临床上的副作用[22]。寻找有效的抗肥胖和降血脂的天然产物成为了研究的热点。

因此, 本研究旨在比较罗非鱼头来源与市售不同动物(牛、鸡、鲨鱼)来源 CS 的结构特征及其体外抗氧化和降脂活性有何不同, 探究 CS 的活性差异, 并通过紫外、红外、核磁技术分析结构特征, 结合 DPPH、$ABTS^+$自由基清除实验及胆酸盐结合实验评估其体外抗氧化与降脂活性, 比较陆生与海洋来源 CS 的结构特征与活性差异, 揭示硫酸基位置(C4 vs C6)对其抗氧化与降脂功能的显著影响, 为 CS 的进一步开发和利用提供理论支持。

1　材料与方法

1.1　材料与仪器

牛来源、鸡来源和鲨鱼来源的 CS(分别为: BCS、CCS 和 SCS, 纯度均为 95%)　均购自上海麦克林生化科技有限公司; 罗非鱼鱼头　广东省湛江市遂溪县恒诚生物科技有限公司; Savinase 16L(酶活性>1.5 AU-N/g)　购自美国 Sigma 公司; 2709 碱性蛋白酶(酶活性 20 万~150 万 U/g)　购自南宁庞博生物工程有限公司; 卵磷脂、油酸、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)、2,2-联氮-双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二铵盐(ABTS)　均购自上海麦克林生化科技股份有限公司; 胆固醇、胆酸钠　均购自上海源叶生物科技有限公司; 单糖标准品: 岩藻糖(Fuc)、鼠李糖(Rha)、阿拉伯糖(Ara)、半乳糖(Gal)、葡萄糖(Glc)、木糖(Xyl)、甘露糖(Man)、果糖(Fru)、核糖(Rib)、半乳糖醛酸(Gal-UA)、葡萄糖醛酸(Glc-UA)、甘露糖醛酸(Man-UA)、古罗糖醛酸(Gul-UA)　Sigma 公司; 胆固醇试剂盒　购自南京建成生物科技有限公司。

NicoletiS-5 型傅里叶变换红外光谱仪、Varioskan Flash 全自动酶标仪、ICS 5000+离子色谱仪　美国 Thermo 公司; 1200LC 高效液相色谱仪(High performance liquid chromatography, HPLC)　美国 Agilent 公司; UV-1900i 紫外-可见分光光度计　日本 SHIMADZU 公司; JIDI-20R 台式多用途高速冷冻离心机　广州吉迪仪器有限公司; THZ-702A 恒温振荡培养箱　太仓华大实验仪器科技有限公司; Ascend™ 600MHz 核磁共振谱仪　德国 Bruker 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 罗非鱼头硫酸软骨素的提取制备 参考左格格[23]的方法，采用 Savinase 16L 和 2709 碱性蛋白酶复合酶法。a.罗非鱼头简单处理取出骨头磨成粉，取罗非鱼鱼头骨粉按 1∶25(m/v)加入 50 mmol/L Na_2CO_3 溶液，依次加 Savinase 16L(55 ℃，4 h)和 2709 碱性蛋白酶(终浓度 5.4 mg/mL，50 ℃，2 h)，每次酶解后 100 ℃ 灭酶 10 min；b.上清经 5% 三氯乙酸除杂，3 倍乙醇醇沉，6% 氯化十六烷基吡啶选择性沉淀，2 mol/L NaCl-乙醇复溶后二次醇沉；c.透析 24 h，冷冻干燥后即得到罗非鱼头来源的硫酸软骨素(TCS，纯度 90.37%)。

1.2.2 不同来源硫酸软骨素的硫酸基含量测定 采用 $BaCl_2$-明胶比浊法[24]。a.标准曲线绘制：梯度取 0~0.2 mL K_2SO_4 标准液(0.6 mg/mL，1 mol/L HCl 溶解)，用 1 mol/L HCl 补足至 0.2 mL，加 3.8 mL 3% 三氯乙酸和 1.0 mL 氯化钡-明胶溶液(0.5% 明胶中加 1% $BaCl_2$，4 ℃ 静置 2 h)，静置 20 min，360 nm 测吸光度(A)，空白组以明胶溶液替代氯化钡-明胶测背景值(B)，以(A-B)为纵坐标，硫酸基浓度为横坐标绘制标准曲线；b.样品测定：取 0.2 mL CS 溶液(0.5~6 mg/mL)，同法测定，代入标准曲线计算含量。

1.2.3 不同来源硫酸软骨素的傅里叶红外光谱扫描 采用溴化钾压片法[25]，称取少量不同来源的硫酸软骨素与 KBr(质量比为 1∶100)，干燥后充分研磨成细粉末并混合均匀，用压片机压成透明薄片，在 400~4000 cm^{-1} 区间波长下进行傅里叶红外光谱扫描。

1.2.4 不同来源硫酸软骨素的紫外光谱扫描 将不同来源的 CS 用蒸馏水溶解并配成 0.5 mg/mL 浓度，用紫外-可见分光光度计于 190~400 nm 范围内进行紫外光谱扫描。

1.2.5 不同来源硫酸软骨素的分子量测定 将不同来源的 CS 用超纯水溶解并配成 2 mg/mL 浓度，用滤膜过滤后，采用高效凝胶过滤色谱测定样品的相对分子质量。色谱条件：色谱柱 Waters Ultrahydrogel ColumTy500(7.8 mm×300 mm)，流动相为超纯水，流速为 0.8 mL/min，柱温 35 ℃。以不同分子量的葡聚糖作为标准品。横坐标为出峰时间，纵坐标为分子量的对数来绘制标准曲线。

1.2.6 不同来源硫酸软骨素的单糖组成测定 色谱系统采用的是 ICS 5000+离子色谱系统(ICS 5000+，Thermo Fisher Scientific，USA)，利用电化学检测器对单糖组分进行分析测定。参考米圣成等[26]的方法，色谱柱为 Dionex™ CarboPac™ PA20(150×3.0 mm，10 μm)液相色谱柱；流动相：流动相 A(H_2O)，流动相 B(0.1 mol/L NaOH)，流动相 C(0.1 mol/L NaOH，0.2 mol/L NaAc)；流速为 0.5 mL/min；柱温为 30 ℃；进样量为 5 μL；洗脱梯度见表 1。

表 1 洗脱梯度

Table 1 Elution gradients

时间段(min)	A相(%)	B相(%)	C相(%)
25.99	95	5	0
26.00~41.99	85	5	10
42.00~42.09	60	0	40
42.10~51.99	60	40	0
52.00~60.00	95	5	0

1.2.7 不同来源硫酸软骨素的核磁共振氢谱测定 称取不同来源的硫酸软骨素，用 D_2O 溶解并冷冻干燥。重复 3 次，转移样品到核磁共振管中，室温下用核磁共振谱仪进行 ^1H NMR 检测。具体参数：射频延时 0.002 ms，回波时间 0.12 ms，等待时间 500 ms，回波个数 10000，波峰偏移 0.004 ms，累加次数 16，反演迭代次数 200000。数据采集后，用 MestReNova 软件进行分析。

1.2.8 不同来源硫酸软骨素的体外抗氧化活性测定

1.2.8.1 DPPH 自由基清除能力测定 采用 Shimada 等[27]报道的方法，对不同来源 CS 的 DPPH 自由基的清除能力进行测定。具体操作是：a.0.1 mmol/L DPPH 溶液配制：准确称取 1.96 mg DPPH，以甲醇定容至 50 mL 容量瓶中，避光备用；b.取 0.5 mL 不同浓度(0.5~6 mg/mL)的 CS 溶液，分别加入 1.5 mL 配好的 DPPH 溶液，振荡混匀，避光反应 20 min，在 517 nm 处测定其 OD 值。每组设置三个平行。DPPH 自由基清除率公式如下：

$$\text{DPPH自由基清除率}(\%) = \frac{A_0 - (A_1 - A_2)}{A_0} \times 100$$

式中：A_1 为样品反应后的吸光值，A_0 为用蒸馏水代替样品的吸光值，A_2 为用蒸馏水代替 DPPH 溶液的样品溶液吸光值。

1.2.8.2 羟基自由基清除能力测定 参考 Wang 等[28]的方法稍作改动，对不同来源 CS 的羟基自由基清除能力进行测定。具体步骤：a.取 1 mL 不同浓度(0.5~6 mg/mL)的 CS 溶液，分别加入 1 mL 9 mmol/L 的 $FeSO_4$、1 mL 9 mmol/L 水杨酸-乙醇溶液、1 mL 8.8 mmol/L 的 H_2O_2，振荡混匀，于 37 ℃ 反应 30 min；b.反应结束，离心(6000 r/min，10 min)，取上清于 510 nm 处测定吸光值。每组设置三个平行。羟基自由基清除率公式如下：

$$\text{羟基自由基清除率}(\%) = \frac{A_0 - (A_1 - A_2)}{A_0} \times 100$$

式中：A_1 为样品反应后的吸光值，A_0 为用蒸馏水代替样品的吸光值，A_2 为用蒸馏水代替 H_2O_2 的吸光值。

1.2.8.3 ABTS 阳离子自由基清除能力测定 参考 Li 等[29]报道的方法并略微修改。ABTS 工作液由 7 mmol/L ABTS 溶液和 2.45 mmol/L $K_2S_2O_8$ 按 1∶1 体积比混合配制，避光反应，过夜(12~16 h)，然后用

15 mmol/L，pH7.4 的磷酸缓冲溶液将上述溶液稀释至吸光值为 0.70±0.02（734 nm），稀释后的溶液称为 ABTS 工作液。取 ABTS 工作液与样品溶液（0.5、1、2、4、6 mg/mL）按体积比 10∶1 混合均匀，避光反应 30 min，于 734 nm 波长下检测吸光度值。每组设置三个平行。ABTS 阳离子自由基清除率公式如下：

$$\text{ABTS阳离子自由基清除率}(\%) = \frac{A_0 - (A_1 - A_2)}{A_0} \times 100$$

式中：A_1 为样品与 ABTS 工作液混合反应后的吸光度，A_2 为样品与磷酸盐缓冲液反应的吸光度，A_0 为磷酸盐缓冲液与 ABTS 工作液反应的吸光度。

1.2.9　不同来源硫酸软骨素的体外降脂活性测定

1.2.9.1　对胆固醇胶束的结合能力试验　胆固醇胶束溶液配制：参考 Kirana 等[30] 方法并稍作改动：a.称取 232 mg 胆固醇（最终质量浓度 5 mmol/L），454.8 mg 卵磷脂（最终质量浓度 5 mmol/L），169.5 mg 油酸（最终质量浓度 5 mmol/L）溶解于 50 mL 甲醇中，超声波处理 10 min，输出功率 500 W（100%），使其充分溶解；b.氮气吹干后分别加入牛磺胆酸钠溶液、氯化钠溶液、15 mmol/L，pH7.4 的磷酸缓冲溶液各 100 mL，使牛磺胆酸钠溶液最终质量浓度 10 mmol/L、氯化钠溶液最终质量浓度 132 mmol/L，混合后超声波处理 2 次每次 20 min，输出功率 500 W（100%）；c.处理后的溶液在 37 ℃ 条件下培养 12 h，即为所需胆固醇胶束溶液。

胆固醇结合能力测定：a.取上述胆固醇胶束溶液 3 mL 于 50 mL 离心管中，实验组加入 1 mL 不同浓度（0.5、1、2、4、6 mg/mL）的 CS 溶液，空白组加入 1 mL 蒸馏水，在 37 ℃，振荡 2 h；b.离心 20 min（10000 r/min）；c.留上清待测。具体步骤参照试剂盒说明书。每个浓度及空白组均设置三次平行。胆固醇的减少量即为 CS 的结合量。

$$\text{胆固醇结合率}(\%) = \frac{A_0 - A_{样}}{A_0} \times 100$$

式中：$A_{样}$为样品组的吸光度；A_0 为空白组的吸光度。

1.2.9.2　对胆酸盐的结合能力试验　参考赵小亮等[31] 和廖敏等[32] 的方法，绘制胆酸盐标准曲线。取 1 mL 不同来源不同浓度的 CS（0.5、1、2、4、6 mg/mL）经前处理后，同标准曲线的测定方法，于 387 nm 波长处测定吸光度。胆酸盐结合率公式如下：

$$\text{胆酸钠结合率}(\%) = \frac{A_0 - A_{样}}{A_0} \times 100$$

式中：$A_{样}$为样品组的吸光度；A_0 为空白组的吸光度。

1.3　数据处理

用 WPS office 进行数据整理，结果以平均值±标准偏差（$\overline{X}$±SD）的形式表示。采用 Origin2022 等软件进行数据分析和绘制图像，采用 SPSS Statistics 27.0 软件进行单因素 ANOVA 检验中的邓肯检验（Duncan's text）对数据间的差异显著性分析（$P<0.05$）。

2　结果与分析

2.1　不同来源硫酸软骨素的硫酸基含量分析

硫酸钾标准曲线，回归方程为 y=0.0808x+0.0001，R^2=0.9974。根据对应的吸光值计算得硫酸基含量如表 2 所示。结果表明，不同来源 CS 的硫酸基含量有差异，其中鲨鱼来源的 CS 含量最高 17.96%±0.24%，显著高于其他来源（$P<0.05$），与郑江等[33] 的研究基本一致；罗非鱼来源的 CS 中含 15.57%±1.37%，略高于鲟鱼来源 CS 中硫酸基含量[33]，但未显著高于陆生 CS。牛来源的 CS 含 14.77%±0.65%，鸡来源的 CS 中含 14.27%±0.81%，与王雯芳等[34] 的研究结果一致。同时也有研究表明[35]，CS 的抗氧化能力会受硫酸化程度影响。本研究发现 SCS 和 TCS 的硫酸基含量更高，可能具有更好的抗氧化活性，但因硫酸基取代位置及分子空间构象差异，其抗氧化活性与硫酸基含量并非完全线性相关。下文将进一步验证其他结构因素对活性的影响。

表 2　不同来源硫酸软骨素的硫酸基含量

Table 2　Sulfate group content of chondroitin sulfate from different sources

指标	牛来源	鸡来源	鲨鱼来源	罗非鱼头来源
硫酸基含量（%）	14.77±0.65^b	14.27±0.81^b	17.96±0.24^a	15.57±1.37^b

注：不同字母表示存在显著差异（$P<0.05$）。

2.2　不同来源硫酸软骨素的傅里叶红外光谱扫描分析

图 1 为傅里叶红外光谱扫描结果，四个来源的 CS 在 4000~1300 cm^{-1} 范围内相差不大，主要区别在于 1300~400 cm^{-1} 之间的指纹区域。1240 cm^{-1} 附近有吸收峰，说明存在硫酸基；1370 cm^{-1} 附近有以葡萄糖醛酸形式存在的 O-H 变角振动[36]；1420 cm^{-1} 附近有羧基的 C=O 的伸缩振动[23]；1550 cm^{-1} 和 1640 cm^{-1} 附近有吸收峰，说明存在 N-H 变角振动和-$NHCOCH_3$ 的 C=O 伸缩振动，属于酰胺Ⅰ吸收带[37]；2900 cm^{-1} 附近有糖类物质的特征吸收峰[38]；此外，在 820~860 cm^{-1} 处有吸收，表明存在硫酸基结合位点，即硫酸化模式[39]。C-O-S 的伸缩振动峰在 820 cm^{-1} 处表明 CS 的硫酸基团在 C6 位置与 N-乙酰半乳糖胺（GalNAc）结合，在 850 cm^{-1} 左右为 CS 的硫酸基团在 C4 位置与 GalNAc 结合[40]。图中 BCS 和 CCS 在 850 cm^{-1} 附近检测出了信号，说明牛和鸡来源的 CS 中含有 C4 位的硫酸基，而 SCS 和 TCS 在 820 cm^{-1} 和 850 cm^{-1} 附近都检测出了信号峰，说明鲨鱼和罗非鱼头来源的 CS 结构中存在 C4 位和 C6 位的硫酸基。这些结果说明四个来源的 CS 都存在硫酸基、羟基、羧基、乙酰氨基和糖环等官能团，具有 CS 的基本结构，并且鲨鱼和罗非鱼头来源

的 CS 硫酸化程度更高，与左格格等[25]、Pang 等[41−42]研究结果一致。这些结构差异为后文研究 CS 的活性差异提供了分子基础。后续实验将进一步验证硫酸基位置和含量对 CS 抗氧化、降脂活性的影响。

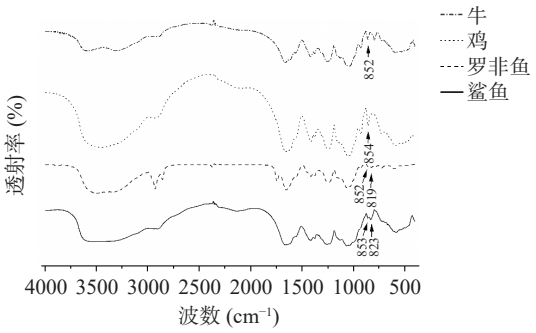


图 1 不同来源硫酸软骨素的傅里叶红外光谱图

Fig.1 Fourier infrared spectra of chondroitin sulfate from different sources

2.3 不同来源硫酸软骨素的紫外光谱扫描分析

如图 2 所示，不同来源的 CS 都在 190~200 nm 之间出现了糖类特征吸收峰，且无其他杂峰；鸡来源和罗非鱼头来源的 CS 在 260 nm 处有微弱的吸收峰，说明可能含有少量的核酸；四个来源在 280 nm 处几乎都没有蛋白质的吸收峰，说明蛋白质都已基本除尽。

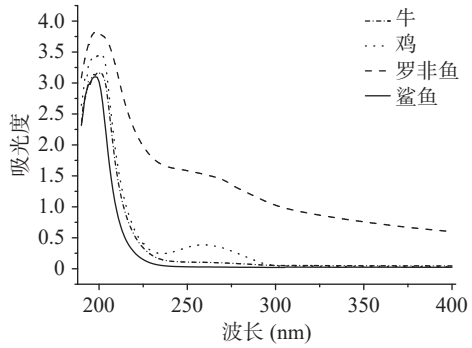


图 2 不同来源硫酸软骨素的紫外光谱图

Fig.2 UV spectra of chondroitin sulfate from different sources

2.4 不同来源硫酸软骨素的分子量分析

分子量图谱如图 3 所示，四种来源硫酸软骨素的出峰时间基本一致，都在 10 min 左右，且都呈现出对称和均一的单峰，表明它们是一种均一多糖。用葡聚糖绘制标准曲线，其线性回归方程为 y=−0.4017x+8.1709，R^2=0.992。以出峰时间为横坐标，代入标曲，计算 CS 分子量。结果如表 3 所示，符合文献报道 CS 一般的分子量范围 5000~50000[43]，同时发现牛来源和鸡来源的 CS 分子量相近，与刘莎等[44]研究结果相似，罗非鱼头和鲨鱼来源的 CS 的分子量较牛和鸡来源更小，可能因为水生动物（如鲨鱼、罗非鱼）软骨含水量高或需快速提取，常采用强酸、高温或氧化处理，导致其分子量更低[45−46]。

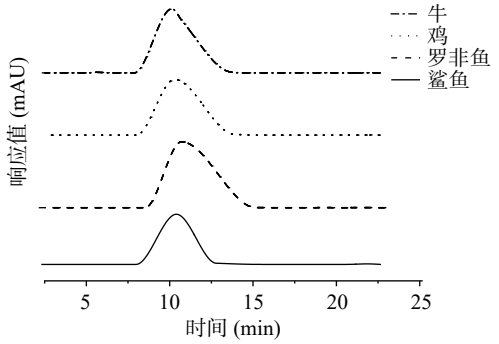


图 3 不同来源硫酸软骨素的分子量分布

Fig.3 Molecular weight distribution of chondroitin sulfate from different sources

表 3 不同来源硫酸软骨素的分子量

Table 3 Molecular weight of chondroitin sulfate from different sources

指标	牛来源	鸡来源	鲨鱼来源	罗非鱼头来源
分子量(Da)	10879.37	10839.19	7411.36	9754.45

2.5 不同来源硫酸软骨素的单糖组成分析

以 13 种单糖为标准品，根据出峰时间对不同来源硫酸软骨素进行单糖组成测定。实验结果如表 4 所示，四种来源硫酸软骨素的单糖组成相似，均为由多种单糖构成的硫酸化多糖，主要包含半乳糖(Gal)、木糖(Xyl)和葡萄糖醛酸(Glc-UA)，与王雯芳等[34]的研究基本一致，同时还有少量的岩藻糖(Fuc)。此外，来源于罗非鱼头的硫酸软骨素还含有少量的阿拉伯糖(Ara)和半乳糖醛酸(Gal-UA)。已有研究发现半乳糖和岩藻糖的含量与多糖的抗氧化活性呈正相关[47]，可通过影响多糖构象间接调节生物活性。本研究中不同来源 CS 单糖组成的差异，尤其是罗非鱼头来源的特殊单糖构成，或为后文其抗氧化、降脂活性的差异化表现奠定结构基础。

表 4 不同来源硫酸软骨素的单糖组成

Table 4 Monosaccharide composition of chondroitin sulfate from different sources

来源	单糖(摩尔质量比)					
	Fuc(%)	Ara(%)	Gal(%)	Xyl(%)	Gal-UA(%)	Glc-UA(%)
牛来源	0.19	−	7.26	0.96	−	91.59
鸡来源	0.36	−	7.99	0.99	−	90.66
鲨鱼来源	0.06	−	2.95	0.67	−	96.32
罗非鱼头来源	0.77	1.44	9.82	2.31	1.23	84.44

注：−表示低于检测限，未检出。

2.6 不同来源硫酸软骨素的核磁共振氢谱分析

四个不同来源 CS 的核磁共振氢谱图如图 4 所示，可以看出，四种 CS 的所有质子信号都出现在 1.5~5.0 ppm 范围内，符合文献报道的 CS 谱图信号，主要集中在 1.9~2.1 ppm 和 3.2~5 ppm 两个区间，表明四种 CS 的纯度较好[48]。有研究[49−50]表明，鲨鱼等海洋生物里提取的 CS，因其与硫酸皮肤素(DS，亦

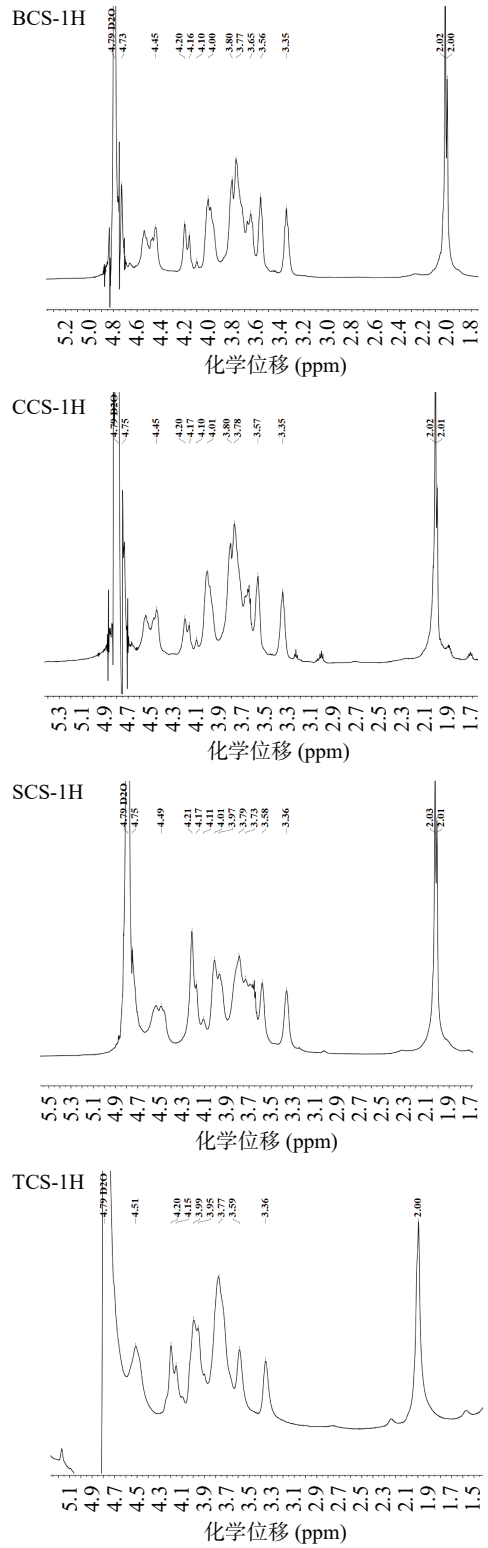


图 4　牛、鸡、鲨鱼和罗非鱼头来源的 CS 的^{1}H-NMR 谱图

Fig.4　^{1}H-NMR spectra of CS from bovine, chicken, shark and tilapia sources

注: BCS-1H 表示牛来源 CS(BCS)的^{1}H-NMR 谱图, CCS-1H、SCS-1H 和 TCS-1H 同理。

称为硫酸软骨素 B)分子量相似, 在 GPC 洗脱图上两者难以区分, 故而海洋来源提取的 CS 中易出现杂质 DS。而在这四种来源 CS 的^{1}H-NMR 光谱图中均未发现 DS 上艾杜糖醛酸(IdoA)H-1 的特征信号峰(约 4.90 ppm)。在 1.9~2.1 ppm 区间内出现信号峰, 说明存在乙酰氨基甲基信号[51], 是硫酸软骨素的特征峰; 在 3.2~5 ppm 区间内, 4.45、4.45、4.49 和 4.51 ppm 分别为 BCS、CCS、SCS 和 TCS 中 6-硫酸基取代的 GalNAc-6SO_4 的 H-1 信号; 4.20、4.20、4.21 和 4.20 ppm 的峰分别对应 BCS、CCS、SCS 和 TCS 中 6-硫酸基取代的 GalNAc-6SO_4 的 H-6 信号, 且其峰高值高于 4.16、4.17、4.17 和 4.15 ppm 处的 GalNAc 的 H-4 信号, 这些信号的出现说明四种来源的 CS 中都存在单硫酸化的二糖 GlcA-GalNAc-6SO_4, 即含有 CS-C 的特征结构。在 SCS 和 TCS 光谱中 GalNAc-6SO_4 的 H6 信号峰(4.20 ppm 附近)其峰高值明显高于 GalNAc-4SO_4 的 H4(4.73 ppm 附近)的信号峰。而 BCS 和 CCS 光谱中这两者的 GalNAc-4SO_4 的 H4(4.73 ppm 附近)的信号峰值更高[52−53]。上述结果表明鲨鱼和罗非鱼头来源的 CS 中 6-硫酸化 CS 的含量高于牛和鸡来源 CS 中的含量, 与文献 [14] 报道一致。3.77、3.78、3.79 和 3.77 ppm 的峰分别对应 BCS、CCS、SCS 和 TCS 中 6-硫酸基取代的 GalNAc 的 H-6 信号; 3.56、3.57、3.58 和 3.59 ppm 的峰分别对应 BCS、CCS、SCS 和 TCS 中 6-硫酸基取代的 GlcA 的 H-3 信号; 3.35、3.35、3.36 和 3.36 ppm 的峰分别对应 BCS、CCS、SCS 和 TCS 中 6-硫酸基取代的 GlcA 的 H-2 信号。上述结果和文献报道的二糖测定结果相符[14,24]。

2.7　不同来源硫酸软骨素的体外抗氧化活性分析

研究发现, 多糖的抗氧化活性或许和其单糖组成分[54]、分子大小等[55−56] 因素息息相关。多糖中的单糖成分可以提供氢原子, 与自由基相互结合, 从而在抗氧化过程中发挥关键作用[57]。本实验通过测定四种来源 CS 对 DPPH、羟自由基和 $ABTS^+$自由基清除能力来评价它们的体外抗氧化能力差异。图 5A 表明, 四种来源 CS 的 DPPH 自由基清除率都呈现浓度依赖性, 其中 TCS 的清除率最佳, SCS 次之, 当浓度为 6 mg/mL 时, 清除率分别达到了 61.56%±0.93% 和 26.25%±0.31%, 显著高于牛和鸡来源 CS(P<0.05)。图 5B 所示, 浓度为 4 mg/mL 时, TCS 的羟自由基清除率最高, 达 32.47%±0.64%, 而其他三种来源的 CS 随着浓度增加清除率呈现轻微下降趋势。这一现象可能归因于高浓度下多糖分子通过疏水作用或氢键形成聚集体, 导致溶液粘度增加, 阻碍了 CS 分子与羟自由基的接触效率。相关研究指出[58], 多糖抗氧化活性的浓度依赖性需结合分子构象与溶液行为综合分析。此外, 图 5C 所示, 四种来源 CS 的 $ABTS^+$自由基清除率也呈现出浓度依赖性, 且与 DPPH 自由基和羟自由基结果一致, TCS 的表现最突出, 在 4 mg/mL 时清除率高达 90.72%±0.19%, 显著高于其他三种来源的 CS(P<0.05)。

综上所述, 牛、鸡、鲨鱼和罗非鱼头来源的 CS 都表现出不同程度的自由基清除能力, 其中 TCS 相比其他三个来源的 CS 有更显著的自由基清除活性,

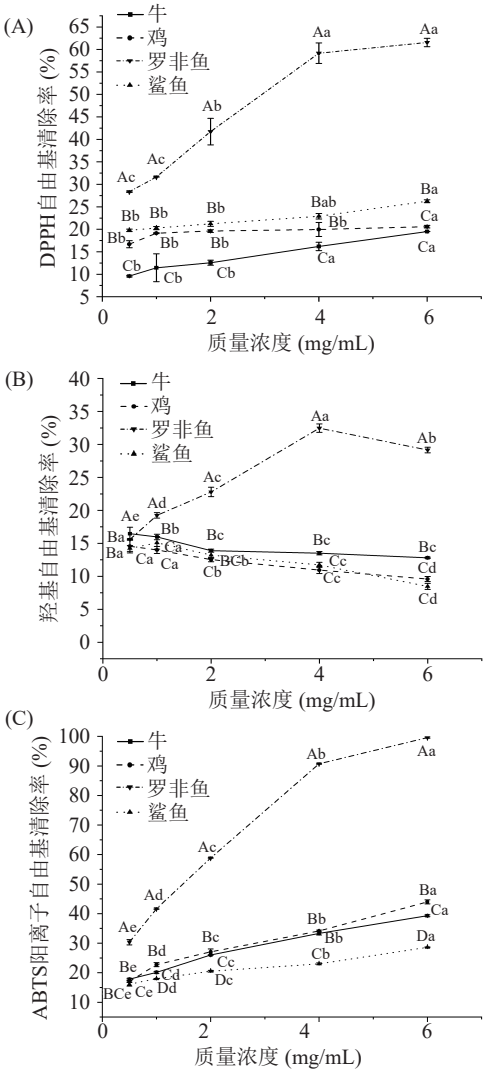


图 5 DPPH、羟自由基和 ABTS⁺自由基清除能力

Fig.5 DPPH, the hydroxyl radical and ABTS⁺ radical scavenging capacity

注: 图(A)表示不同来源 CS 的 DPPH 自由基清除能力; 图(B)表示不同来源 CS 的羟自由基清除能力; 图(C)表示不同来源 CS 的 ABTS⁺自由基清除能力; 不同大写字母表示同一浓度下不同来源 CS 的清除率存在显著差异(P<0.05), 不同小写字母表示同一来源 CS 不同浓度的清除率存在显著差异(P<0.05)。

这可能与 TCS 的单糖组成(岩藻糖、半乳糖)及分子构象等密切相关, 为海洋生物资源的高值化开发提供了实验依据。此研究结果与文献报道的 CS 抗氧化特性一致[3,59], 进一步验证了硫酸软骨素作为天然抗氧化剂的潜力。

2.8 不同来源硫酸软骨素的降脂活性分析

2.8.1 对胆固醇胶束的结合能力分析 四种不同来源的 CS 对胆固醇胶束吸附的影响如图 6 所示, CS 对胆固醇胶束的结合作用随着浓度的增加而增强。相比其他三种, 鲨鱼来源的 CS 结合效果最好, 在浓度为 6 mg/mL 时, 达到了 39.38%±0.86%, 这可能要归因于其 GalNAc 残基 6-O-硫酸化比例较高以及分子量较其他三者低的特性; 其次是罗非鱼头 CS, 在浓度为 6 mg/mL 时, 胆固醇胶束结合率为 31.75%±2.42%。SCS 和 TCS 对胆固醇胶束的结合力都优于 BCS 和 CCS(陆生动物来源), 可能因为前两者硫酸化程度更高。这些发现表明, CS 能够与胆固醇胶束结合, 减少其被肠道吸收的量, 进而一定程度上可以降低血液中胆固醇含量, 罗非鱼头 CS 和鲨鱼 CS 都表现出了潜在的降血脂作用。与文献报道 CS 具有抗肥胖作用一致[60−61]。

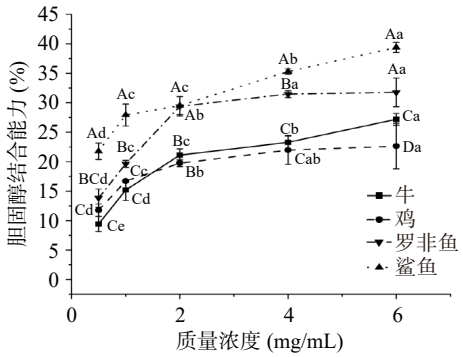


图 6 胆固醇结合能力

Fig.6 Cholesterol binding capacity

注: 不同大写字母表示同一浓度下不同来源 CS 的胆固醇结合能力存在显著差异(P<0.05), 不同小写字母表示同一来源 CS 不同浓度的胆固醇结合能力存在显著差异(P<0.05)。

2.8.2 对胆酸钠的结合能力分析 据报道, 胆固醇代谢会加速脂肪的消化吸收[62], 而胆酸盐作为胆固醇代谢的终产物, 其排泄会促进胆固醇消耗, 从而降低血脂。而 Gao 等[63] 发现海带多糖的胆盐结合能力与其硫酸化修饰和单糖组成等密切相关。本研究四种不同来源 CS 对胆酸钠结合量的影响结果如图 7 所示。随着 CS 量的增加, 结合的胆盐量整体呈现增加的趋势, 在高浓度(4~6 mg/mL)下, SCS 结合胆酸钠的能力显著优于其他样品, 高浓度可能通过聚集效应及与胆盐的协同作用实现结合, 而低浓度因分子分散导致结合不足, 且这一趋势与 SCS 对胆固醇胶束的结合能力高度一致。这一现象也印证了 CS 的体外降脂活性受其结构特征调控。

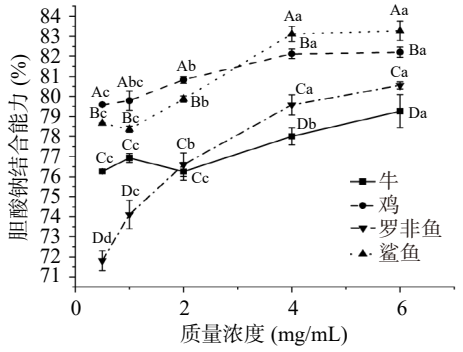


图 7 胆酸钠结合能力

Fig.7 Sodium bile acid binding capacity

注: 不同大写字母表示同一浓度下不同来源 CS 的胆酸钠结合能力存在显著差异(P<0.05), 不同小写字母表示同一来源 CS 不同浓度的胆酸钠结合能力存在显著差异(P<0.05)。

3 结论

综上所述, 以罗非鱼头和市售牛、鸡、鲨鱼来源

的 CS 为研究对象，对它们的结构和体外抗氧化和降脂活性进行比较，发现在结构、抗氧化和降脂活性方面都存在差异。根据硫酸基含量、红外、单糖和核磁测定等结果发现，鲨鱼和罗非鱼来源的 CS 两者的结构更相似，主要为 CS-C 构型，含有少量 CS-A。体外抗氧化实验显示，四种 CS 均具备一定的自由基清除能力，但罗非鱼来源的 CS 表现最为突出，在 4 mg/mL 浓度下，$ABTS^{+}$自由基清除率达 90.72%±0.19%；鲨鱼 CS 体外降脂效果最佳，在 6 mg/mL 浓度下，胆固醇胶束结合率为 39.38%±0.86%，其次是罗非鱼头 CS，胆固醇胶束结合率为 31.75%±2.42%。此外，因罗非鱼头和鲨鱼来源 CS 主要属于 CS-C 型结构，可发现 CS-C 型（6-O-硫酸化）的体外抗氧化与降脂活性显著优于 CS-A 型（4-O-硫酸化），推测硫酸基位置可能通过空间位阻或电荷分布影响其与自由基/胆汁酸的结合效率。这为 CS 的构效关系提供了新依据，同时也为罗非鱼来源的 CS 的开发利用提供了理论依据，后续可进一步探究其在体内的功效及潜在活性。

© The Author(s) 2026. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

参考文献

[1] SHEN Qingshan, GUO Yujie, WANG Kangyu, et al. A review of chondroitin sulfate's preparation, properties, functions, and applications[J]. Molecules, 2023, 28(20): 7093.

[2] YUAN Qingxia, SHI Xiang, MA Haiqiong, et al. Recent progress in marine chondroitin sulfate, dermatan sulfate, and chondroitin sulfate/dermatan sulfate hybrid chains as potential functional foods and therapeutic agents[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 262: 129969.

[3] ZHOU Chang, MI Si, LI Jiao, et al. Purification, characterisation and antioxidant activities of chondroitin sulphate extracted from *Raja porosa* cartilage[J]. Carbohydrate Polymers, 2020, 241: 116306.

[4] ABDALLAH M M, FERNÁNDEZ N, MATIAS A A, et al. Hyaluronic acid and chondroitin sulfate from marine and terrestrial sources: Extraction and purification methods[J]. Carbohydrate Polymers, 2020, 243: 116441.

[5] TAKEDA N, HORAI S, TAMURA J I. Facile analysis of contents and compositions of the chondroitin sulfate/dermatan sulfate hybrid chain in shark and ray tissues[J]. Carbohydrate Research, 2016, 424: 54−58.

[6] COLLIN E C, CARROLL O, KILCOYNE M, et al. Ageing affects chondroitin sulfates and their synthetic enzymes in the intervertebral disc[J]. Signal Transduction and Targeted Therapy, 2017, 2: 17049.

[7] LIU Chunyu, SUN Yangyang, JIA Yunqin, et al. Effect of steam explosion pretreatment on the structure and bioactivity of *Ampelopsis grossedentata* polysaccharides[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 185: 194−205.

[8] PANG Huimin, LI Jinwen, MIAO Zhiwei, et al. Inhibitory effects of chondroitin sulfate on alpha-amylase activity: A potential hypoglycemic agent[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 184: 289−296.

[9] CANTLEY M D, RAINSFORD K D, HAYNES D R. Comparison of the ability of chondroitin sulfate derived from bovine, fish and pigs to suppress human osteoclast activity *in vitro*[J]. Inflammopharmacology, 2013, 21(6): 407−412.

[10] DENG Yuxuan, LI Qingyuan, SONG Junxian, et al. Intervention effects of low-molecular-weight chondroitin sulfate from the nasal cartilage of yellow cattle on lipopolysaccharide-induced behavioral disorders: Regulation of the microbiome-gut-brain axis[J]. Frontiers in Nutrition, 2024, 11: 1371691.

[11] GUI Meng, SONG Juyi, ZHANG Lu, et al. Chemical characteristics and antithrombotic effect of chondroitin sulfates from sturgeon skull and sturgeon backbone[J]. Carbohydrate Polymers, 2015, 123: 454−460.

[12] REGINSTER J Y, VERONESE N. Highly purified chondroitin sulfate: A literature review on clinical efficacy and pharmacoeconomic aspects in osteoarthritis treatment[J]. Aging Clinical and Experimental Research, 2021, 33(1): 37−47.

[13] 黄后培，袁媛，汪卓，等. 罗非鱼头硫酸软骨素对 RAW 264.7 细胞和小鼠免疫刺激活性研究[J]. 食品工业科技，2024, 45(23): 381−387. [HUANG Houpei, YUAN Yuan, WANG Zhuo, et al. Immunostimulatory activity of tilapia-head chondroitin sulfate in RAW 264.7 cells and mice[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(23): 381−387.]

[14] WU Ruiyun, LI Pinglan, WANG Yi, et al. Structural analysis and anti-cancer activity of low-molecular-weight chondroitin sulfate from hybrid sturgeon cartilage[J]. Carbohydrate Polymers, 2022, 275: 118700.

[15] 周世林. 刺梨多糖的提取及其体外降脂活性研究[D]. 广州：华南理工大学，2022. [ZHOU Shilin. Extraction and hypolipidemic activity of polysaccharides from *Rosa roxburghii* tratt fruit *in vitro*[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2022.]

[16] LIU Bingnan, LIU Xiaotong, LIANG Zihan, et al. Gut microbiota in obesity[J]. World Journal of Gastroenterology, 2021, 27(25): 3837−3850.

[17] FINKELSTEIN E A, KHAVJOU O A, THOMPSON H, et al. Obesity and severe obesity forecasts through 2030[J]. American Journal of Preventive Medicine, 2012, 42(6): 563−570.

[18] ČOLAK E, PAP D. The role of oxidative stress in the development of obesity and obesity-related metabolic disorders[J]. Journal of Medical Biochemistry, 2021, 40(1): 1−9.

[19] PATI S, IRFAN W, JAMEEL A, et al. Obesity and cancer: A current overview of epidemiology, pathogenesis, outcomes, and management[J]. Cancers, 2023, 15(2): 485.

[20] 陈晓玲，韩岩智. 肠道菌群与肥胖相关性高血压的研究进展[J]. 中国社区医师，2021, 37(25): 7−8. [CHEN Xiaoling, HAN Yanzhi. Progress of research on intestinal flora and obesity-associated hypertension[J]. Chinese Community Doctors, 2021, 37(25): 7−8.]

[21] BENDOR C D, BARDUGO A, PINHAS-HAMIEL O, et al. Cardiovascular morbidity, diabetes and cancer risk among children and adolescents with severe obesity[J]. Cardiovascular Diabetology, 2020, 19(1): 79.

[22] SHAIK MOHAMED SAYED U F, MOSHAWIH S, GOH H P, et al. Natural products as novel anti-obesity agents: Insights into mechanisms of action and potential for therapeutic management[J]. Frontiers in Pharmacology, 2023, 14: 1182937.

[23] 左格格. 罗非鱼加工副产物不同部位硫酸软骨素的制备、结构表征及抗衰老活性[D]. 湛江: 广东海洋大学, 2022. [ZUO Gege. Preparation, structural characterization and anti-aging activity of chondroitin sulfate from different parts of tilapia by-product[D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University, 2022.]
[24] 张惟杰. 糖复合物生化研究技术[M]. 第 2 版. 杭州: 浙江人民出版社, 1994. [ZHANG Weijie. Biochemical research technology of sugar complex[M]. 2nd ed. Hangzhou: Zhejiang People's Publishing House, 1994.]
[25] 左格格, 钟赛意, 陈菁, 等. 罗非鱼加工副产物不同部位硫酸软骨素的制备、理化性质及结构表征[J]. 食品科学, 2022, 43(24): 67−73. [ZUO Gege, ZHONG Saiyi, CHEN Jing, et al. Preparation, physicochemical properties and structural characterization of chondroitin sulfate from tilapia processing by-products[J]. Food Science, 2022, 43(24): 67−73.]
[26] 米圣成, 徐晓杰, 魏菱鸽, 等. 元宝枫种仁多糖提取纯化、结构表征以及降糖活性研究[J]. 食品工业科技, 2024, 45(8): 29−38. [MI Shengcheng, XU Xiaojie, WEI Lingge, et al. Study on extraction, purification, structure characterization and hypoglycemic activity of the seed kernel polysaccharide from *Acer truncatum* Bunge [J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(8): 29−38.]
[27] SHIMADA K, FUJIKAWA K, YAHARA K, et al. Antioxidative properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1992, 40(6): 945−948.
[28] WANG Liwa, SUN Zenghong, WANG Linyang, et al. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of polyphenols from *Salvia deserta* Schang flowers based on response surface methodology and deep neural network and analysis of its *in vitro* antioxidant activities[J]. Industrial Crops and Products, 2024, 213: 118389.
[29] LI Chao, LI Xiangshi, YOU Lijun, et al. Fractionation, preliminary structural characterization and bioactivities of polysaccharides from *Sargassum pallidum*[J]. Carbohydrate Polymers, 2017, 155: 261−270.
[30] KIRANA C, ROGERS P F, BENNETT L E, et al. Naturally derived micelles for rapid *in vitro* screening of potential cholesterol-lowering bioactives[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005, 53(11): 4623−4627.
[31] 赵小亮, 牟翩, 张晶, 等. 苦参多糖的提取工艺优化及体外抗氧化、降血脂活性分析[J]. 食品工业科技, 2024, 45(13): 212−220. [ZHAO Xiaoliang, MOU He, ZHANG Jing, et al. Optimization of the extraction process and *in vitro* antioxidant and hypolipidemic activities of polysaccharides from *Sophora flavescens*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(13): 212−220.]
[32] 廖敏, 谌素华, 王维民, 等. 张氏马尾藻多糖的体外降胆固醇活性[J]. 广东海洋大学学报, 2017, 37(3): 80−85. [LIAO Min, CHEN Suhua, WANG Weimin, et al. Cholesterol-lowering activity of *Sargassum zhangii* polysaccharide *in vitro*[J]. Journal of Guangdong Ocean University, 2017, 37(3): 80−85.]
[33] 郑江, 关瑞章, 黄文树, 等. 鲟鱼硫酸软骨素的纯化及其特性[J]. 水产学报, 2008, 32(3): 478−483. [ZHENG Jiang, GUAN Ruizhang, HUANG Wenshu, et al. Purification and characteristics of sturgeon chondroitin sulfate[J]. Journal of Fisheries of China, 2008, 32(3): 478−483.]
[34] 王雯芳, 王康宇, 郭玉杰, 等. 硫酸软骨素低共熔溶剂法高效提取及其结构表征[J]. 农业工程学报, 2023, 39(23): 276−284. [WANG Wenfang, WANG Kangyu, GUO Yujie, et al. Efficient extraction and structural characterization of chondroitin sulfate by deep eutectic solvents[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2023, 39(23): 276−284.]
[35] BOBULA T, BUFFA R, HERMANNOVÁ M, et al. The synthesis of a new unsaturated derivative of chondroitin sulfate with increased antioxidant properties[J]. Carbohydrate Polymers, 2018, 190: 175−183.
[36] 王俊, 张扬星, 熊光权, 等. 鲟鱼软骨硫酸软骨素降解产物的结构分析[J]. 现代食品科技, 2019, 35(12): 102−111. [WANG Jun, ZHANG Yangxing, XIONG Guangquan, et al. Structural analysis of the degradation products of chondroitin sulfate from sturgeon cartilage[J]. Modern Food Science and Technology, 2019, 35(12): 102−111.]
[37] 王瑞琦, 郭玉杰, 沈青山, 等. 鸡胸软骨糖/肽水解物的结构表征及其抗炎活性[J]. 现代食品科技, 2021, 37(8): 44−52,207. [WANG Ruiqi, GUO Yujie, SHEN Qingshan, et al. Structural characterization and anti-inflammatory activity of chicken breast cartilage polysaccharide/peptide hydrolysate[J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(8): 44−52,207.]
[38] 陈菁, 杜振兴, 陈建平, 等. 虾头类肝素的制备、理化性质及抗凝血活性评价[J]. 食品科学, 2021, 42(11): 71−77. [CHEN Jing, DU Zhenxing, CHEN Jianping, et al. Preparation, physicochemical properties and anticoagulant activity of heparinoid from shrimp head[J]. Food Science, 2021, 42(11): 71−77.]
[39] LI J, LI S, WU L, et al. Ultrasound-assisted fast preparation of low molecular weight fucosylated chondroitin sulfate with antitumor activity[J]. Carbohydrate Polymers, 2019, 209: 82−91.
[40] FOOT M, MULHOLLAND M. Classification of chondroitin sulfate A, chondroitin sulfate C, glucosamine hydrochloride and glucosamine 6 sulfate using chemometric techniques[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2005, 38(3): 397−407.
[41] PANG Hailong, LU Han, LIU Peng, et al. A chondroitin sulfate purified from shark cartilage and bovine serum albumin interaction activity[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 260(Pt 1): 129499.
[42] PANG Hailong, ZHANG Litao, ZHANG Yuntao, et al. Separation and purification of bovine nasal cartilage-derived chondroitin sulfate and evaluation of its binding to bovine serum albumin[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 277(Pt 4): 134501.
[43] 张玉倩. 伊拉兔耳糖胺聚糖的提取分离、结构表征及其生物活性的评价[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2014. [ZHANG Yuqian. Extraction, isolation, structural characterization and bioactivity evaluation of the glycosaminoglycan from the ears of Hyla rabbits[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2014.]
[44] 刘莎, 沈建如, 于荣敏. 不同动物来源中硫酸软骨素的提取及降压活性初探[J]. 中药材, 2010, 33(2): 180−183. [LIU Sha, SHEN Jianru, YU Rongmin. Extraction and antihypertensive activity analysis of chondroitin sulfate from different animals[J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2010, 33(2): 180−183.]
[45] 罗小芳, 郭乙颖, 陈海峰, 等. 不同来源和制备工艺硫酸软骨素的二糖分析[J]. 食品工业, 2018, 39(10): 1−5. [LUO Xiaofang, GUO Yiying, CHEN Haifeng, et al. Disaccharide analysis of chondroitin sulfates from different origins and process conditions [J]. The Food Industry, 2018, 39(10): 1−5.]
[46] 李燕妮. 宽分子量硫酸软骨素制备工艺: CN202011413051.9[P]. 2021-04-16. [LI Yanni. Process for preparing high-molecular-weight chondroitin sulfate: CN202011413051.9[P]. 2021-04-16.]
[47] WANG Zichao, ZHENG Yi, LAI Ziru, et al. Effect of

monosaccharide composition and proportion on the bioactivity of polysaccharides: A review[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 254(Pt 2): 127955.
[48] 周畅. 鳐硫酸软骨素及其降解产物的结构表征和抗氧化活性研究[D]. 保定：河北农业大学, 2020. [ZHOU Chang. Structural characterization and antioxidant activity of skate chondroitin sulfate and its degradation products[D]. Baoding: Hebei Agricultural University, 2020.]
[49] NOVOA-CARBALLAL R, PÉREZ-MARTÍN R, BLANCO M, et al. By-products of *Scyliorhinus canicula, Prionace glauca* and *Raja clavata*: A valuable source of predominantly 6S sulfated chondroitin sulfate[J]. Carbohydrate Polymers, 2017, 157: 31−37.
[50] BOUGATEF H, KRICHEN F, CAPITANI F, et al. Chondroitin sulfate/dermatan sulfate from corb (*Sciaena umbra*) skin: Purification, structural analysis and anticoagulant effect[J]. Carbohydrate Polymers, 2018, 196: 272−278.
[51] IM A R, PARK Y, KIM Y S. Isolation and characterization of chondroitin sulfates from sturgeon (*Acipenser sinensis*) and their effects on growth of fibroblasts[J]. Biological & Pharmaceutical Bulletin, 2010, 33(8): 1268−1273.
[52] TOIDA T, TOYODA H, IMANARI T. High-resolution proton nuclear magnetic resonance studies on chondroitin sulfates[J]. Analytical Sciences, 1993, 9(1): 53−58.
[53] MUCCI A, SCHENETTI L, VOLPI N. 1H and ^{13}C nuclear magnetic resonance identification and characterization of components of chondroitin sulfates of various origin[J]. Carbohydrate Polymers, 2000, 41(1): 37−45.
[54] SHI Min, ZHANG Zhenya, YANG Yingnan. Antioxidant and immunoregulatory activity of *Ganoderma lucidum* polysaccharide (GLP)[J]. Carbohydrate Polymers, 2013, 95(1): 200−206.
[55] 张汇, 鄢嫣, 聂少平, 等. 黑灵芝不同部位多糖成分分析及抗氧化活性[J]. 食品科学, 2011, 32(1): 56−61. [ZHANG Hui, YAN Yan, NIE Shaoping, et al. Monosaccharide composition and antioxidant activity *in vitro* of polysaccharides from different parts of *Ganoderma atrum*[J]. Food Science, 2011, 32(1): 56−61.]
[56] 郭俏俪, 武志博, 周玉碧, 等. 兰州肉苁蓉多糖的组成分析及抗氧化活性[J]. 食品工业科技, 2021, 42(15): 96−103. [GUO Qiaoli, WU Zhibo, ZHOU Yubi, et al. Composition identification and antioxidant activity of *Cistanche lanzhouensis* polysaccharides[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(15): 96−103.]
[57] CAO Hui, MA Shan, GUO Hong, et al. Comparative study on the monosaccharide compositions, antioxidant and hypoglycemic activities *in vitro* of intracellular and extracellular polysaccharides of liquid fermented *Coprinus comatus*[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 139: 543−549.
[58] CHEN Nuo, JIANG Tingyue, XU Jianxin, et al. The relationship between polysaccharide structure and its antioxidant activity needs to be systematically elucidated[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 270: 132391.
[59] ZOU Zihua, WEI Ming, FANG Jie, et al. Preparation of chondroitin sulfates with different molecular weights from bovine nasal cartilage and their antioxidant activities[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 152: 1047−1055.
[60] LI Wen, KOBAYASHI T, MOROI S, et al. Anti-obesity effects of chondroitin sulfate oligosaccharides from the skate *Raja pulchra*[J]. Carbohydrate Polymers, 2019, 214: 303−310.
[61] GAO Ruichang, QI Zexiu, LIN Jie, et al. Chondroitin sulfate alleviated obesity by modulating gut microbiota and liver metabolome in high-fat-diet-induced obese mice[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2023, 71(24): 9419−9428.
[62] LI Qiaoyun, DOU Zuman, DUAN Qingfei, et al. A comparison study on structure-function relationship of polysaccharides obtained from sea buckthorn berries using different methods: Antioxidant and bile acid-binding capacity[J]. Food Science and Human Wellness, 2024, 13(1): 494−505.
[63] GAO Jie, LIN Lianzhu, SUN Baoguo, et al. Comparison study on polysaccharide fractions from *Laminaria japonica*: Structural characterization and bile acid binding capacity[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2017, 65(44): 9790−9798.