**DOI:** 10. 14188/j. ajsh. 2021. 06. 006

# 三种乌贼内骨骼生化成分研究

蕊<sup>1,2</sup>,朱文静<sup>2</sup>,边 力<sup>2</sup>,徐郑鑫<sup>2</sup>,李凤辉<sup>2</sup>,陈四清<sup>2\*</sup>,陈成勋<sup>1\*</sup>

(1. 天津农学院 水产学院 天津市水产生态及养殖重点实验室,天津 300384;

2. 中国水产科学研究院黄海水产研究所 青岛海洋科学与技术试点国家实验室/海洋渔业科学与食物产出过 程功能实验室,山东 青岛 266071)

摘要:曼氏无针乌贼(Sepiella maindroni)和金乌贼(Sepia esculenta)的内骨骼称为海螵蛸,可用于制酸、止血等。通过对曼 氏无针乌贼、金乌贼和虎斑乌贼(Sepia pharaonis)内骨骼生化成分的比较,有望实现传统中药海螵蛸原料质量的提升和替代。分 别使用烘干干燥法、高温灼烧法、凯氏定氮法、索氏提取法、酸碱浸泡法、茚三酮柱后衍生离子交换色谱法、离子发光色谱法检测 水分、灰分、粗蛋白、粗脂肪、粗甲壳素、氨基酸及矿物质。结果显示:三种内骨骼营养成分中,虎斑乌贼水分和粗蛋白含量最高,分 别为(2.52±0.16)%和(3.43±0.10)%;金乌贼灰分和粗脂肪含量最高,分别为(94.7±0.26)%和(0.24±0.04)%;甲壳素含量 最高的为曼氏无针乌贼内骨骼,为(9.48±0.36)%,约为其他两种的1.50倍。三种乌贼内骨骼共检出15种氨基酸,其中必需氨 基酸(EAA)7种,半必需氨基酸(HEAA)1种,非必需氨基酸(NEAA)7种,三种乌贼骨的EAA/TAA为44.64%~47.09%,符合 FAO/WHO中对于蛋白质EAA/TAA的理想评定标准。金乌贼内骨骼的钙含量最高(3.93×105 mg/kg)、曼氏无针乌贼的钠含 量最高(1.02×104 mg/kg)、虎斑乌贼的钾含量最高(589.5 mg/kg)。可见三种乌贼内骨骼均是低脂肪、高甲壳素、高矿物质的中 药。虎斑乌贼内骨骼蛋白和灰分营养成分含量较为丰富,是否可以作为传统海螵蛸的替代品,值得进一步探讨。

关键词:曼氏无针乌贼;金乌贼;虎斑乌贼;内骨骼

中图分类号: S963

文献标志码:A

文章编号:2096-3491(2021)06-0575-08

# Biochemical components of the cuttlebone of three species of cuttlefish

TIAN Rui<sup>1,2</sup>, ZHU Wenjing<sup>2</sup>, BIAN Li<sup>2</sup>, XU Zhengxin<sup>2</sup>, LI Fenghui<sup>2</sup>, CHEN Siqing<sup>2,\*</sup>, CHEN Chengxun<sup>1,\*</sup>

(1. Tianjin Key Laboratory of Aqua-ecology and Aquaculture, College of Fisheries, Tianjin Agricultural University, Tianjin 300384, China; 2. Laboratory for Marine Fisheries Science and Food Production Processes/Pilot National Laboratory for Marine Science and Technology (Qingdao), Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, Shandong, China)

Abstract: The cuttlebone of Sepiella maindroni and Sepia esculenta is called cuttlebone, which can be used for acid suppression and hemostasis. By comparing the biochemical components of the cuttlebone of S. maindroni, S. esculenta and S. pharaonis, it is expected to improve and replace the quality of cuttlebone raw materials of traditional Chinese medicine. Moisture, ash, crude protein, crude fat, crude chitin, amino acids and minerals were detected by drying method, high temperature ignition method, Kjeldahl method, Soxhlet extraction method, acid-base soaking method, ninhydrin post-column derivatization ion exchange chromatography, and ion luminescence chromatography, respectively. S. pharaonis had the highest moisture and crude protein contents, which were  $(2.52\pm0.16)\%$  and  $(3.43\pm0.10)\%$ , respectively. The highest ash  $(94.70\pm0.26)\%$  and crude fat contents  $(0.24\pm0.04)\%$  were found in S. esculenta. The highest chitin content was

收稿日期: 2021-07-05 修回日期: 2021-09-01 接受日期: 2021-11-15

作者简介: 田蕊(1997-),女,硕士生,研究方向:海螵蛸结构与药理。E-mail:814952350@qq.com

<sup>\*</sup>通讯联系人: 陈四清(1966-),男,研究员,研究水产苗种繁育与养殖技术、营养与饲料、海水养殖标准化技术。 E-mail:chensq@ysfri. ac. cn; 陈成勋(1967-),男,研究员,从事水产养殖研究。E-mail:cccnxy@163. com。

基金项目: 财政部和农业农村部:国家现代农业产业技术体系资助;中国水产科学研究院基本科研业务费资助(2020GH02)

引用格式:田蕊,朱文静,边力,等. 三种乌贼内骨骼生化成分研究[J]. 生物资源, 2021, 43(6): 575-582.

Tian R, Zhu W J, Bian L, et al. Biochemical components of the cuttlebone of three species of cuttlefish [J]. Biotic Resources, 2021, 43(6): 575-582.

found in the cuttlebone of S. maindroni (9.  $48\pm0.36)\%$ , which was about 1. 50 times higher than the other two species. A total of 15 kinds of amino acids were detected in the three cuttlebones, including 7 kinds of essential amino acids (EAA), 1 kind of semi-essential amino acids (HEAA) and 7 kinds of non-essential amino acids (NEAA). The EAA/TAA of the three cuttlebones ranged from 44. 64% to 47.09%, which met the ideal evaluation criteria for protein EAA/TAA in FAO/WHO. The Ca²+ content of S. esculenta was higher (3.  $93\times10^5$  mg/kg), the Na+ content of S. esculenta was the highest ( $1.02\times10^4$  mg/kg), and the K+ content of S. esculenta was the highest ( $1.02\times10^4$  mg/kg), and the K+ content of S. esculenta was the highest ( $1.02\times10^4$  mg/kg), and the K+ content of S. esculenta was the highest ( $1.02\times10^4$  mg/kg), and the K+ content of S. esculenta was the highest ( $1.02\times10^4$  mg/kg), and the K+ content of S. esculenta was the highest ( $1.02\times10^4$  mg/kg), and the K+ content of S. esculenta was the highest ( $1.02\times10^4$  mg/kg), and the K+ content of S. esculenta was the highest ( $1.02\times10^4$  mg/kg), and the K+ content of S. esculenta was the highest ( $1.02\times10^4$  mg/kg), and the K+ content of S. esculenta was the highest ( $1.02\times10^4$  mg/kg), and the K+ content of S. esculenta was the highest ( $1.02\times10^4$  mg/kg), and the K+ content of S. esculenta was the highest ( $1.02\times10^4$  mg/kg), and the K+ content of S. esculenta was the highest ( $1.02\times10^4$  mg/kg). All three cuttlebones are potential traditional Chinese medicines with low fat, high chitin, and high minerals. The cuttlebone needs further exploration.

Key words: Sepiella maindroni; Sepia esculenta; Sepia pharaonis; cuttlebone

# 0 引言

《中国药典》将曼氏无针乌贼(Sepiella maindroni)和金乌贼(Sepia esculenta)内骨骼称为海螵蛸,气 微腥,味微咸,新鲜时为白色,存放易变为微黄色,具 有收敛止血、涩精止带、制酸止痛、收湿敛疮等医学 作用[1]。一定剂量的海螵蛸具有凝血活性,且能缩 短凝血时间[2],治疗月经过多、崩漏有很好的效 果[3],能有效地减轻胃黏膜损伤和促进溃疡愈 合[4,5]。海螵蛸还可以治疗多种原因引起的皮肤溃 烂,改善创面微循环,明显缩短治疗周期[6]。海螵蛸 作为一味传统中药,疗效稳定,价格低廉易取得,一 直被民众所认可。目前对海螵蛸的研究多数集中 在其临床应用[4~6]、药理与毒理实验研究[7~9]、作为 组织工程支架材料等医学研究[10],在化学成分(碳 酸钙[11]、微量元素[2]、氨基酸[11]、多糖[12])也有部分研 究。对于以上研究,海螵蛸来源仅是曼氏无针乌贼 与金乌贼的内骨骼,对虎斑乌贼(Sepia pharaonis) 内骨骼的报道较少。但近年来虎斑乌贼已形成规 模化苗种繁育与养殖,产量逐年升高,研究发现虎 斑乌贼内脏多糖具有天然抗氧化活性和吸湿保湿 性能,在功能性食品、药品和化妆品领域具有一定

的应用潜力[13]。因此,应进一步对虎斑乌贼其他部位,如其内骨骼的应用方面进行研究,尝试其内骨骼能否作为中药源。本文分别分析乌贼目(Sepioidea)乌贼科(Sepiidae)乌贼属(Sepia)的金乌贼与虎斑乌贼以及同科无针乌贼属(Sepiella)的曼氏无针乌贼内骨骼,旨在清晰了解各个种类内骨骼的生化成分,比较其在水分、灰分、粗蛋白、粗脂肪、粗甲壳素、氨基酸、矿物质方面的差异,不同成分表现的生物学意义,精确利用其功能及疗效,实现传统中药海螵蛸原料质量的提升和替代,为其他药物开发及医学研究提供理论依据。

# 1 材料与方法

# 1.1 试验材料

曼氏无针乌贼、金乌贼、虎斑乌贼分别采自表1 所示地点,均为新鲜成体乌贼,取下内壳后用蒸馏水洗净,自然风干(如图1A~1C),放入干燥器中干燥备用;乙酸镁;硫酸;石油醚;过甲酸;溴化氢;氢氧化钠;盐酸(实验室常用试剂均为分析纯)。

#### 1.2 主要仪器设备

电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司 DHG-9246A)、微波马弗炉(上海屹尧仪器科

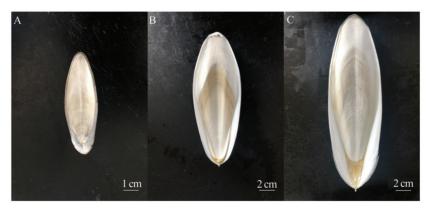


图1 三种乌贼内骨骼整体形态

Fig. 1 The overall shape of the cuttlebone of three species of cuttlefish

注:A,曼氏无针乌贼内骨骼;B,金乌贼内骨骼;C,虎斑乌贼内骨骼

Note: A, Sepiella maindroni cuttlebone; B, Sepia esculenta cuttlebone; C, Sepia pharaonis cuttlebone

生物资源 ・ 577 ・

#### 表1 三种乌贼内骨骼来源

Table 1 The sources of the cuttlebone of three species of cuttlefish

品种	来源海域
曼氏无针乌贼	广东省湛江市海域(E110°61′~N21°00′)
金乌贼	山东省青岛市海域(E120°24′~N36°11′)
虎斑乌贼	福建省宁德市海域(E119°98′~N26°43′)

技发展有限公司 WN-2)、凯氏定氮仪(Foss kjeitec 8400)、索氏提取仪(Foss soxtec 8000+)、全自动 氨基酸分析仪(Hitachi L 8900)、电感耦合等离子 体发射光谱(美国安捷伦公司 7900)、分析研磨机(IKA A11-2900025)、真空玻璃干燥器(B-004806)等。

#### 1.3 实验方法

备用的乌贼样品通过实验专用粉碎机磨碎,过200目筛,分别采用105  $^{\circ}$  C烘箱干燥法(GB T 5009. 3-2016) $^{[14]}$ 、(550±25)  $^{\circ}$  高温灼烧法(GB T 5009. 4-2016) $^{[15]}$ 、凯氏定氮法(GB T 5009. 5-2016) $^{[16]}$ 、索氏提取法(GB T 5009. 6-2016) $^{[17]}$ 、茚三酮柱后衍生离子交换色谱法(GB T 5009. 124-2016) $^{[18]}$ 、离子发光色谱法(GB T 5009. 268-2016) $^{[19]}$ 检测水分、灰分、粗蛋白、粗脂肪、氨基酸和矿物质的含量。

粗甲壳素含量的测定<sup>[20]</sup>用蒸馏水清洗三种内骨骼表面的粘液,在40°温度下烘干2h称重记为 $M_1$ ,放入平整的塑料容器,先加入2~3 mol/L氢氧化钠溶液浸没内骨骼,后逐次升高盐酸浓度(3~4 mol/L),反复浸泡3~5次,将酸液倒掉,用蒸馏水冲洗干净,40°温度烘干,记为 $M_2$ ,粗甲壳素含量(%)= $M_2$ / $M_1$ ×100%。

# 1.4 数据处理

所有试验数据均以平均值士标准差(mean±SD)表示,采用 Excel 2019 进行统计与整理;用 SPSS22.0软件进行统计分析,P<0.05表示差异显著,P>0.05表示无显著差异。

#### 2 结果与分析

#### 2.1 三种乌贼内骨骼基本成分

三种乌贼内骨骼与其他鱼骨的水分、灰分、粗脂肪、粗蛋白基本成分如表 2 所示。乌贼骨水分、灰分、粗蛋白、粗脂肪含量最高的依次为:虎斑乌贼、金乌贼、虎斑乌贼、金乌贼。粗甲壳素含量分别为:曼氏无针乌贼内骨骼(9.48±0.36)%、金乌贼内骨骼(6.25±0.21)%、虎斑乌贼内骨骼(6.36±0.27)%,在相同处理条件下,曼氏无针乌贼的内骨骼甲壳素显著高于另两种内骨骼,约为另两种乌贼的1.50倍。

# 2.2 三种乌贼内骨骼氨基酸种类及含量

表 3 为三种乌贼内骨骼氨基酸测定结果,曼氏无针乌贼、金乌贼、虎斑乌贼内骨骼总氨基酸分别为 2.11%、1.89%、2.24%,占其总蛋白含量的70.10%、56.59%、65.31%。三种内骨骼中含量前五种氨基酸均一致,缬氨酸(Val)含量丰富,分别占总氨基酸含量的 26.07%、25.93%、25.00%,其次为半胱氨酸(Cys)(13.74%、13.28%、14.29%),天冬氨酸(Asp)(9.48%、9.00%、9.82%),谷氨酸(Glu)(8.53%、7.41%、8.93%),丝氨酸(Ser)(7.11%、6.35%、6.70%),含量最少的为蛋氨酸(Met)(1.90%、2.17%、1.79%)。虎斑乌贼中缬氨酸、半胱氨酸、天冬氨酸、谷氨酸含量最高,曼氏无针乌贼与虎斑乌贼丝氨酸(Ser)含量高于金乌贼。

曼氏无针乌贼、金乌贼和虎斑乌贼三种内骨骼中呈味氨基酸占有一定比例,其中鲜味氨基酸包括天冬氨酸、谷氨酸,二者总和分别占总氨基酸含量的18.00%、16.40%、18.75%;甜味氨基酸包括甘氨酸(Gly)、丙氨酸(Ala),二者总和分别占总氨基酸含量的6.17%、9.52%、7.59%。

### 2.3 三种乌贼内骨骼矿物质

实验采用电感耦合等离子体发射光谱,对三种内骨骼的8种矿物质元素(Ca、Na、Sr、Fe、P、K、Mg、

表 2 三种乌贼内骨骼基本成分含量

Table 2 The content of basic components of the cuttlebone of three species of cuttlefish

				/ 0
种类	水分	灰分	粗蛋白	粗脂肪
曼氏无针乌贼	$2.46 \pm 0.16^{a}$	$93.61 \pm 0.25^{a}$	$3.01 \pm 0.16^{a}$	$0.19 \pm 0.07^{\circ}$
金乌贼	$1.58 \pm 0.19^{b}$	$94.7 \pm 0.26^a$	$3.34 \pm 0.14^{a}$	$0.24 \pm 0.04$ a
虎斑乌贼	$2.52 \pm 0.04^{\text{a}}$	$93.45 \pm 0.25^{a}$	$3.43 \pm 0.10^{a}$	$0.19 \pm 0.03^{a}$

注:同组数据带有不同上标字母表示差异显著(P<0.05)

Note: different superscript letters in the same group mean significant difference (P < 0.05)

%

表 3 三种乌贼内骨骼氨基酸含量(干重)

Table 3 Amino acid content of the cuttlebone of three species of cuttlefish (dry weight)

0/

			%
氨基酸种类	曼氏无针 乌贼	金乌贼	虎斑乌贼
缬氨酸(Val)*	$0.55 \pm 0.04^a$	$0.49 \pm 0.05^a$	$0.56 \pm 0.08^a$
半胱氨酸(Cys)**	$0.29 \pm 0.02^a$	$0.25 \pm 0.07^{a}$	$0.32 \pm 0.03^a$
天冬氨酸(Asp)**+	$0.20 \pm 0.01^{a}$	$0.17 \pm 0.07^{\mathrm{a}}$	$0.22 \pm 0.03^a$
谷氨酸(Glu)**+	$0.18 \pm 0.01^a$	$0.14 \pm 0.06^{a}$	$0.20 \pm 0.03^a$
丝氨酸(Ser)**	$0.15 \pm 0.01^{a}$	$0.12 \pm 0.03^{a}$	$0.15 \pm 0.02^{a}$
赖氨酸(Lys)*	$0.13 \pm 0.01^a$	$0.11 \pm 0.03^{a}$	$0.13 \pm 0.01^a$
脯氨酸(Pro)**	$0.09 \pm 0.01^a$	$0.08 \pm 0.03^a$	$0.09 \pm 0.01^a$
苏氨酸(Thr)*	$0.09 \pm 0.01^a$	$0.08 \pm 0.02^a$	$0.10 \pm 0.01^a$
亮氨酸(Leu)*	$0.09 \pm 0.01^a$	$0.08 \pm 0.02^{a}$	$0.09 \pm 0.01^a$
精氨酸(Arg)#	$0.08 \pm 0.01^a$	$0.06 \pm 0.02^{ab}$	$0.08 \pm 0.01^{b}$
甘氨酸(Gly)**+	$0.07 \pm 0.01^a$	$0.10 \pm 0.05^{a}$	$0.09 \pm 0.01^a$
丙氨酸(Ala)**+	$0.06 \pm 0.01^a$	$0.08 \pm 0.03^{a}$	$0.08 \pm 0.01^a$
异亮氨酸(Ile)*	$0.04 \pm 0.01^a$	$0.04 \pm 0.01^a$	$0.05 \pm 0.01^a$
苯丙氨酸(Phe)*+	$0.04 \pm 0.01^a$	$0.05 \pm 0.02^a$	$0.04 \pm 0.01^a$
蛋氨酸(Met)*	$0.04 \pm 0.01^a$	$0.04 \pm 0.01^a$	$0.04 \pm 0.01^a$
总氨基酸(TAA)	2.11±0.11ª	$1.89 \pm 0.51^{a}$	$2.24 \pm 0.25^{a}$
必需氨基酸(EAA)	$0.98 \pm 0.06^{a}$	$0.89 \pm 0.1^a$	$1.00 \pm 0.13^{a}$
非必需氨基酸 (NEAA)	$1.05 \pm 0.06^{a}$	$0.92 \pm 0.38^{a}$	$1.15 \pm 0.12^{a}$
半必需氨基酸 (HEAA)	$0.08 \pm 0.01^{a}$	$0.06 \pm 0.02^{ab}$	$0.09 \pm 0.01^{b}$

注:\*必需氨基酸;\*\*非必需氨基酸;\*\*半必需氨基酸;\*\*呈味氨基酸;同组数据带有不同上标字母表示差异显著(P<0.05) Note: \* essential amino acid; \*\* non-essential amino acid; \*semi-essential amino acid; \* taste amino acid; different superscript letters in the same group mean significant difference (P<0.05)

呈味氨基酸(DAA) 0.55±0.03° 0.53±0.27° 0.63±0.08°

Zn)进行测定,其中常量元素 5 种,微量元素 3 种。结果表明(表 4),曼氏无针乌贼、金乌贼、虎斑乌贼三种物种内骨骼矿物质元素虽然前三位排序顺序相同但含量差异显著,依次是 Ca( $3.43\times10^5\pm100$  mg/kg、 $3.93\times10^5\pm1$  000 mg/kg、 $3.44\times10^5\pm500$  mg/kg)、Na( $1.02\times10^4\pm50.0$  mg/kg、 $7.59\times10^3\pm20$  mg/kg、 $7.82\times10^3$  mg/kg)、Sr( $2.88\times10^3\pm90$  mg/kg、 $2.38\times10^3\pm25$  mg/kg、 $2.58\times10^3\pm30$  mg/kg),而后 5 种元素含量高低的排列顺序略有差异,从整体看与前人的研究结果大致相同[21]。此外,实验中共检测了内骨骼的三种微量元素,含量从高到低依次是 Sr( $2.88\times10^3\pm30$  mg/kg),可用 5 种元

 $10^3\pm 90~{\rm mg/kg}\ , 2.~385\times 10^3\pm 25~{\rm mg/kg}\ , 2.~58\times 10^3\pm 30~{\rm mg/kg}\ , Fe(97.~90\pm 0.~50~{\rm mg/kg}\ , 786\pm 16~{\rm mg/kg}\ , 246.~50\pm 0.~50~{\rm mg/kg})\ , Zn~(91.~90\pm 0.~60~{\rm mg/kg}\ , 59.~60\pm 0.~20~{\rm mg/kg}\ , 144\pm 0.~20~{\rm mg/kg})_\circ$ 

表 4 三种乌贼内骨骼矿物质种类及含量
Table 4 The types and contents of minerals in the cuttlebone of three species of cuttlefish

mg/kg

矿物质 种类	曼氏无针乌贼	金乌贼	虎斑乌贼
Ca	$3.43 \times 10^{5} \pm 100^{c}$	$3.93 \times 10^5 \pm 1000^a$	3.44×10⁵± 500⁵
Na	$1.02 \times 10^4 \pm 50^a$	$7.59 \times 10^3 \pm 20^c$	$7.82 \times 10^3 \pm 55^b$
Sr	$2.88 \times 10^3 \pm 90^a$	$2.38 \times 10^3 \pm 25^c$	$2.58 \times 10^3 \pm 30^6$
Fe	$97.90 \pm 0.50^{\circ}$	$786 \pm 16^{a}$	$246.50\!\pm\!0.50^{b}$
P	$285 \pm 1^{a}$	$139.50\!\pm\!0.50^{c}$	$282.50 \pm 0.50^{b}$
K	$500 \pm 15^{\text{b}}$	$189\pm3^{\circ}$	$589.50 \pm 1.50^a$
Mg	$1.15 \times 10^3 \pm 10^a$	$662\!\pm\!18^{c}$	$738.50\!\pm\!1.50^{b}$
Zn	$91.90 \pm 0.60^{b}$	$59.60 \pm 0.20^{\circ}$	$144 \pm 0.20^{a}$

注:同组数据带有不同上标字母表示差异显著(P<0.05) Note: different superscript letters in the same group mean significant difference (P<0.05)

#### 3 讨论

#### 3.1 三种乌贼内骨骼基本成分分析

分析结果显示,三种乌贼骨基本成分中灰分含 量多达93%以上,最明显的特征是骨灰分含量远高 于海水鲈鱼(68.16%)[22]和金枪鱼(57.20%)[23],是 淡水虹鳟(21.32%)[24]的4倍以上,灰分中含有丰富 的有益矿物质,Fe、P、K、Mg、Zn等含量丰富,特别 是曼氏无针乌贼骨骼中Sr的含量高达2.88×103 mg/kg,这可能是乌贼骨具有特殊的药用成分,并作 为传统中药材的重要原因,三种乌贼骨甲壳素含量 虽然低于小龙虾壳[20]、蟹壳[25]、南极磷虾[26]中甲壳素 含量,但是含量均高于6%,是第二大含量成分,具 有调控营养物质代谢、促进生长、提高免疫能力等重 要的作用[27]。从虾、蟹壳中制备的甲壳素和壳聚糖, 分子链之间以反平行式排列,具有较强的分子氢键, 是α-结构;而乌贼骨和鱿鱼中,分子链之间以平行式 排列,分子间作用力较弱,是β-结构[28]。β-甲壳素对 血小板有黏附作用、有优异的透光性与力学性能,因 此将其应用在止血药材、材料等方面,具有相当大的 潜力[29,30]。甲壳素具有无毒、无抗原性和生物兼容 性。甲壳素具有止血功能,利用此功能可以制备出 创伤治疗中的止血材料[31],传统中医海螵蛸单味药 生物资源 • 579 •

及其复方制剂在临床大多用于产后血崩、便血、经期延长和崩漏等出血病症,并且取得良好的效果,如海螵蛸与蒲黄等联用则主要用于各种出血病症,有研究认为治疗出血症、带下病和崩漏等置信度均在80%以上,且治疗崩漏的效果最显著,支持度占8.46%<sup>[32]</sup>,说明乌贼骨是一种富含矿物元素和甲壳素的传统中药材。

### 3.2 三种乌贼内骨骼氨基酸组成分析

三种内骨骼中均含有丰富的氨基酸,共检出15 种氨基酸,其中金乌贼内骨骼总氨基酸含量与传统 海螵蛸——金乌贼内骨骼[11]研究结果相一致;虎斑 乌贼内骨骼总氨基酸含量与成体虎斑内壳的氨基酸 含量一致[33],但由于样品采样地点、生长季节、沉积 能量和检测技术等的差异导致氨基酸种类略有差 别;曼氏无针乌贼内骨骼总氨基酸含量未见报道,三 种内骨骼计算的含量均占蛋白质含量的56%以上。 根据FAO/WHO建议的理想模式,质量较好的蛋白 质其氨基酸组成为EAA/TAA为40%左右,EAA/ NEAA为60%以上[34]。三种乌贼骨的EAA/TAA 分别为46.45%、47.09%、44.64%, EAA/NEAA分 别 93.33%、96.74%、86.96%,接近或好于理想模 式,即氨基酸组成及比例平衡效果非常好,必需氨基 酸缬氨酸的含量最高,它可以为肌肉提供额外的能 量产生葡萄糖,以防止肌肉衰弱,促进肝脏毒素的排 出[35],因此乌贼内骨骼蛋白是优质的蛋白质。三种 乌贼内骨骼氨基酸含量中,虎斑乌贼内骨骼的总氨 基酸、必需氨基酸、呈味氨基酸含量均最多,作为与 金乌贼同属的虎斑乌贼,对于其内骨骼的研究较少, 之前曼氏无针乌贼与金乌贼的产量较高,而近年来 虎斑乌贼在世界上首次实现该物种的规模化苗种繁 育与养殖,产量逐年升高[36],虎斑乌贼具有个体大、 生长快的特点,其内壳较大,根据本试验研究得到其 内壳具有丰富的营养物质,因此虎斑乌贼内骨骼功 能及药用价值有待进一步研究。

# 3.3 三种乌贼内骨骼8种矿物质元素含量分析

检测的三种乌贼内骨骼的8种矿物质元素中,Ca含量最高,海螵蛸为中医制酸良药,CaCO3是中和胃酸的直接因素,与Ca含量同样密不可分[4],有研究发现1g海螵蛸粉末约中和0.10 mol/L 盐酸140 mL[37],有研究认为海螵蛸的凝血作用很可能与Ca含量有关[38]。元素中Na含量高的原因可能是乌贼骨的内部分为若干规整的小气室,乌贼活体状态下,气室内包含气体和液体,乌贼通过改变它们的容量比来改变自身在水中的浮力[39],很可能由于小气室中的液体或有海水存留,从而导致Na的含量偏

高。Na能促进人体的新陈代谢,作为电解物具有保持细胞内部水分的稳定与平衡功能。Sr有促进骨基质蛋白的合成和沉淀,促进成骨细胞分化和骨的生成,研究认为Sr在头足类耳石生物矿化过程中扮演重要角色[40],乌贼内骨骼的矿化过程很可能与耳石的矿化过程相近,Sr的含量高也是一个重要原因;Mg能调节体内多种酶,对骨生长与骨代谢有重要作用[41],这些元素的功能都有助于内骨骼发挥药效。虎斑乌贼同曼氏无针乌贼、金乌贼物质元素含量有差异但差别不大,8种元素含量基本处于其他二者的中间水平,甚至微量元素Fe、Zn高于其他二者,因此虎斑乌贼内骨骼也能起到传统海螵蛸的功效,成为海螵蛸的新药源。

《中国药典》把金乌贼和曼氏无针乌贼的内骨 骼作为海螵蛸[1],没有提到虎斑乌贼内骨骼,目前常 用的海螵蛸只是曼氏无针乌贼、金乌贼的干燥内 壳。通过测定三种乌贼内骨骼的基本成分、粗甲壳 素、氨基酸、矿物质的含量,表明生化组成存在一定 的差异,本实验分析虎斑乌贼内骨骼具有与金乌贼 和曼氏无针乌贼相同的成分,只是氨基酸总量、粗 蛋白含量略高,粗脂肪、钙含量次之,矿物质中K、 Zn含量略高,其余元素居中;有研究显示,虎斑乌贼 内骨骼也有抗菌作用,只是与金乌贼和曼氏无针乌 贼的内骨骼抑菌效果有差异[42]。因此本研究推测 成分不同有可能是造成抑菌效果差异的一个原因。 由此可见,虎斑乌贼内骨骼具有金乌贼和曼氏无针 乌贼同样的成分,具有抗菌效果,很可能会具有海 螵蛸的功效,是潜在的海螵蛸药材来源,虎斑乌贼 内骨骼的药理作用需要进一步研究,以便充分开发 利用海洋生物资源。

#### 参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 307.
  - Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China Part I [S]. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 2020: 307.
- [2] 郑红.海螵蛸对胃粘膜损伤保护及其凝血、止血功效研究[D].福州:福建农林大学,2015.
  - Zheng H. Studies on protection of gastric mucosa injury, blood coagulation and hemostatic efficacy of cuttlebone [D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2015.
- [3] 肖晓玲. 固本止崩汤治疗气虚型功能失调性子宫出血 56 例临床观察[J]. 实用中医内科杂志, 2014, 28(11):

48-50.

- Xiao X L. Deficiency dysfunctional uterine bleeding clinical observation of 56 cases ended consolidate collapse decoction [J]. Journal of Practical Traditional Chinese Internal Medicine, 2014, 28(11): 48-50.
- [4] 刘麟,李京生,鞠海,等.海螵蛸在制酸止痛应用中不同服药方式验案举隅[J].中国民族民间医药,2018,27(2):82-84.
  - Liu L, Li J S, Ju H, *et al*. Medical records of protecting stomach from aching pains by using cuttlebone through different administrations [J]. Chinese Journal of Ethnomedicine and Ethnopharmacy, 2018, 27(2): 82-84.
- [5] 郭一峰,周文丽,张建鹏,等.海螵蛸多糖对小鼠胃黏膜保护作用的研究[J].第二军医大学学报,2008(11): 1328-1332.
  - Guo Y F, Zhou W L, Zhang J P, *et al.* Protective effect of cuttlebone polysaccharides on gastric mucosa in mice [J]. Academic Journal of Second Military Medical University, 2008(11): 1328-1332.
- [6] 吕灿利. 复方海螵蛸散治疗皮肤溃烂 282 例疗效观察 [J]. 中医临床研究, 2015, 7(20): 115-116. Lü C L. Treating 282 cases of skin ulcers with the compound Hai Piaoxiao San [J]. Clinical Journal of Chinese Medicine, 2015, 7(20): 115-116.
- [7] 王慧, 唐菲, 刘维俊. 海螵蛸一般药理实验研究[J]. 中国热带医学, 2010, 10(6): 713-714.
  - Wang H, Tang F, Liu W J. Experimental study on the general pharmacology of cuttlebone [J]. China Tropical Medicine, 2010, 10(6): 713-714.
- [8] 王亚勇,马桂芝,王忠,等.阿魏海螵蛸软胶囊的急性毒性和长期毒性实验研究[J].新疆医科大学学报,2017,40(5):651-658.
  - Wang Y Y, Ma G Z, Wang Z, et al. Observation on acute and long-term toxicity of Aweihaipiaoxiao soft capsules [J]. Journal of Xinjiang Medical University, 2017, 40(5): 651-658.
- [9] 裘力锋. 海螵蛸对吲哚美辛诱导的大鼠急性胃黏膜损伤的保护作用研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2013. Qiu L F. Effect of cuttlebone on healing of indometacininduced acute gastric mucosal lesion in rats [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2013.
- [10] 周蔚, 吴海涛, 李采. 海螵蛸作为组织工程支架材料的实验研究[J]. 复旦学报(医学版), 2007(3): 438-441.

  Zhou W, Wu H T, Li C. Experimental study of cuttlebone as the scaffold in tissue-engineering [J]. Fudan University Journal of Medical Sciences, 2007(3): 438-441.
- [11] 司玮,阿如娜,李尚蓉,等.7种海洋矿物药的比较分析研究[J].中国中药杂志.2014,39(17):3321-3325. Si W, A R N, Li S R, et al. Comparative analysis of

- seven marine biological source of mineral drugs [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2014, 39(17): 3321-3325.
- [12] 魏江洲,张建鹏,刘军华,等.海螵蛸多糖的提取分离及活性组分 CPS-1的纯化[J].第二军医大学学报,2006(1):17-21.
  - Wei J Z, Zhang J P, Liu J H, *et al*. Extraction of cuttlebone polysaccharides and purification of their active component CPS-1 [J]. Academic Journal of Second Military Medical University, 2006(1): 17-21.
- [13] 孙玉林, 罗琴琴, 冯梓欣, 等. 响应面法优化虎斑乌贼内脏多糖提取工艺及抗氧化活性、吸湿保湿性能研究 [J]. 食品工业科技, 2018, 39(10): 182-189.
  - Sun Y L, Luo Q Q, Feng Z X, *et al.* Study on extraction optimization of the polysaccharides from *Sepia phara-onis* viscera and its antioxidant activities, moisture-absorption and moisture-retention properties [J]. Science and Technology of Food Industry, 2018, 39(10): 182-189.
- [14] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. GB/T 5009. 3-2016, 食品安全国家标准/食品中水分的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
  - National health and family planning commission of the People's Republic of China, China food and drug administration. GB/T 5009. 3-2016, National food safety standard: determination of water in foods [S]. Beijing: China Standard Publishing House, 2016.
- [15] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. GB/T 5009. 4-2016, 食品安全国家标准/食品中灰分的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
  - National health and family planning commission of the People's Republic of China, China food and drug administration. GB/T 5009. 4-2016, National food safety standard: determination of ash in foods [S]. Beijing: China Standard Publishing House, 2016.
- [16] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. GB/T 5009. 5-2016, 食品安全国家标准/食品中蛋白质的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
  - National health and family planning commission of the People's Republic of China, China food and drug administration. GB/T 5009. 5-2016, National food safety standard: determination of protein in foods [S]. Beijing: China Standard Publishing House, 2016.
- [17] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会,国家食品药品监督管理总局. GB/T 5009. 6-2016,食品安全国家标准/食品中脂肪的测定[S]. 北京:中国标准出版社,2016.

生物资源 ・ 581 ・

National health and family planning commission of the People's Republic of China, China food and drug administration. GB/T 5009. 6 - 2016, National food safety standard: determination of fat in foods [S]. Beijing: China Standard Publishing House, 2016.

- [18] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会,国家食品药品监督管理总局. GB 5009. 124-2016,食品安全国家标准/食品中氨基酸的测定[S]. 北京:中国标准出版社,2016.
  - National health and family planning commission of the People's Republic of China, China food and drug administration. GB 5009. 124-2016, National food safety standard: determination of amino acid in foods [S]. Beijing: China Standard Publishing House, 2016.
- [19] 中华人民共和国卫生和计划生育委员会. 国家食品药品监督管理总局. GB 5009. 268-2016. 食品安全国家标准/食品中多元素的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016
  - National health and family planning commission of the People's Republic of China, China food and drug administration. GB 5009. 268-2016, National food safety standard: determination of multiple elements in foods [S]. Beijing: China Standard Publishing House, 2016.
- [20] 蔚鑫鑫, 刘艳, 吴光旭. 小龙虾壳中甲壳素的提取及壳聚糖的制备[J]. 湖北农业科学, 2013, 52(13): 3120-3123.
  - Wei X X, Liu Y, Wu G X. Extraction of chitin and preparation of chitosan from *Procambarus clarkii* shell [J]. Hubei Agricultural Sciences, 2013, 52(13): 3120-3123
- [21] 李兰, 吴启南. 海螵蛸的化学成分研究[J]. 现代中药研究与实践, 2009, 23(2): 52-54.

  Li L, Wu Q N. Study on the chemical compositions of Os Sepiae [J]. Research and Practice of Chinese Medi-

cines, 2009, 23(2): 52-54.

- [22] 马国红, 张延华, 宋理平. 鲈鱼骨营养价值的分析与评价[J]. 大连海洋大学学报, 2014, 29(6): 646-649.
  Ma G H, Zhang Y H, Song L P. Nutrition value analysis and evaluation of bones in Japanese sea perch *Lateolabrax japonicus* [J]. Journal of Dalian Fisheries University, 2014, 29(6): 646-649.
- [23] 贾建萍,周彦钢,林赛君,等. 金枪鱼骨营养成分分析 [J]. 食品工业科技, 2013, 34(10): 334-337.

  Jia J P, Zhou Y G, Lin S J, et al. Nutritional components analysis of *Thunnus albacares* bone [J]. Science and Technology of Food Industry, 2013, 34(10): 334-337.
- [24] 赵楠, 李学科, 张春晖, 等. 虹鳟鱼骨营养成分分析 [J]. 中国食品添加剂, 2016(1): 141-146.
  Zhao N, Li X K, Zhang C H, et al. Nutritional compo-

nents of trout bone [J]. China Food Additives, 2016(1): 141-146.

- [25] Varun T K, Senani W, Kumar N, et al. Extraction and characterization of chitin, chitosan and chitooligosaccharides from crab shell waste [J]. Indian Journal of Animal Research, 2017, 51(6): 1066-1072.
- [26] 梁玉佳. 南极磷虾虾壳中甲壳素的制取与应用[D]. 大连: 大连工业大学, 2013.
  Liang Y J. Extracting and applying chitin in Antarctic krill shell [D]. Dalian: Dalian Polytechnic University, 2012
- [27] 张志红,张国华,王菊华,等.甲壳素及其衍生物在水产动物养殖上的应用现状[J]. 江西科学,2016,34(1):19-23
  - Zhang Z H, Zhang G H, Wang J H, *et al.* Application of chitin and its derivatives (chitosan and chitooligosaccharides) in aquatic animals [J]. Jiangxi Science, 2016, 34(1): 19-23.
- [28] 王爱勤, 俞贤达. β-壳聚糖的制备及几种理化性能的测试[J]. 中国海洋药物, 2000(2): 21-23.
  Wang A Q, Yu X D. The preparation of β-chitosan and its characteristic properties [J]. Chinese Journal of Marine Drugs, 2000(2): 21-23.
- [29] Keisuke K, Koji T, Tomoyoshi T, et al. Squid chitin as a potential alternative chitin source: deacetylation behavior and characteristic properties [J]. Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry, 1993, 31(2): 485-491.
- [30] 吴启静,王怡仁,周彤,等.高透明度β-甲壳素纳米 纤维薄膜的制备与性能[J].包装工程,2021,42(9): 79-85.
  - Wu Q J, Wang Y R, Zhou T, *et al*. Preparation and characterization of β chitin nanofiber membrane with high transparency [J]. Packaging Engineering, 2021, 42 (9): 79-85.
- [31] 马军阳,陈亦平,李俊杰,等.甲壳素/壳聚糖止血机 理及应用[J]. 北京生物医学工程,2007(4): 442-445. Ma J Y, Chen Y P, Li J J, *et al.* The hemostatic mechanism and application of chitin/chitosan [J]. Beijing Biomedical Engineering, 2007(4): 442-445.
- [32] 战職,付先军.古代医家应用海洋中药海螵蛸临床用药经验模式分析[J].中国实验方剂学杂志,2016,22 (19):165-170.
  - Zhan X, Fu X J. Clinical application experience mode of marine Chinese medicine Sepiae Endoconcha by ancient physicians [J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2016, 22(19): 165-170.
- [33] 江茂旺, 蒋霞敏, 梁晶晶, 等. 不同生长时期虎斑乌贼 内壳营养成分含量分析比较[J]. 动物营养学报, 2016,

28(7): 2300-2308.

Jiang M W, Jiang X M, Liang J J, *et al.* Comparative analysis: nutritional component contents in cuttlebone of *Sepia pharaonis* at different growth stages [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2016, 28(7): 2300-2308.

- [34] 王峥,刘长琳,陈四清,等.福建海域小管枪乌贼肌 肉营养成分分析及评价[J]. 生物资源,2019,41(4): 353-362
  - Wang Z, Liu C L, Chen S Q, *et al.* Analysis and evaluation of muscle nutrition of *Loligo oshimai* in the Fujian sea area [J]. Biotic Resources, 2019, 41(4): 353-362.
- [35] Alfaqih M A, Abu-Khdair Z, Saadeh R, *et al.* Serum branched chain amino acids are associated with type 2 diabetes mellitus in Jordan [J]. Korean J Fam Med, 2018, 39(5): 313-317.
- [36] 杜金明, 翁长春, 李明远. 虎斑乌贼首次实现大规模人工繁育[J]. 农家之友, 2020(6): 35.

  Du J M, Weng C C, Li M Y. *Sepia pharaonis* realizes large-scale artificial breeding for the first time [J]. Nong Jia Zhi You, 2020(6): 35.
- [37] 金玲, 居明秋, 居明乔. 海螵蛸制胃酸量测定[J]. 中成药, 2000(6): 66-67.

  Jin L, Ju M Q, Ju M Q. Determination of gastric acid production by cuttlebone [J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2000(6): 66-67.
- [38] 王劲松, 王艳, 周培根, 等. 海螵蛸凝血活性的研究

- [J]. 天然产物研究与开发, 2008, 19(B11): 408-410. Wang J S, Wang Y, Zhou P G, et al. Study on coagu-
- lation activity of cuttlebone [J]. Natural Product Research and Development, 2008, 19(B11): 408-410.
- [39] 肖述. 乌贼海螵蛸形成机理研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2003.
  - Xiao S. The preliminary studies on the mechanism of calcification in cephalopod cuttlebones [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2003.
- [40] Jerry K A. Magnesium: it's biologic significance [M]. Boca Raton: CRC Press, 2019.
- [41] 刘必林, 陈新军, 马金, 等. 头足类耳石的微化学研究 进展[J]. 水产学报, 2010, 34(2): 315-321.

  Liu B L, Chen X J, Ma J, *et al.* Review of studies of the microchemical structure of cephalopod statoliths [J].

  J Fish China, 2010, 34(2): 316-321.
- [42] 朱文静. 中华蛸受精卵和环境微生物群落结构及海螵蛸抗菌性的研究[D]. 石河子: 石河子大学, 2021. Zhu W J, Studies on fertilized eggs and environmental microorganisms of *Octopus sinensis* and the antibacterial activity of cuttlebone [D]. Shihezi: Shihezi University, 2021.

(编辑:张丽红)