

壳聚糖的提取与抗菌凝胶制备的实验教学设计

程冬炳*, 段俊新, 高海玉

武汉理工大学化学化工与生命科学学院, 化学系, 武汉 430070

摘要: 壳聚糖是甲壳素脱乙酰化后的产物, 由于它具有良好的生物相容性和抗菌能力, 被广泛用于抗菌消毒、药物递送等生物医用领域。本科普实验基于废物利用的可持续发展理念, 选用生活中常见的厨余垃圾虾壳为原料, 完成了对虾壳中甲壳素的提取与壳聚糖的制备。并通过一系列表征手段对文章中的观点加以佐证, 同时根据本实验制备的壳聚糖衍生出一种壳聚糖抗菌消毒凝胶。我们采用梯度科普方案, 让幼儿园小朋友及小学生、广大青少年、大学生与社会公众感受到化学的魅力所在, 激发他们学习化学知识的兴趣, 并在最后呼吁大家一起摒弃成见, 重新审视化学, 以更加深远的眼光领略化学之妙。

关键词: 厨余垃圾; 甲壳素; 壳聚糖; 抗菌消毒; 梯度科普

中图分类号: G64; O6

Experimental Teaching Design on Chitosan Extraction and Preparation of Antibacterial Gel

Dong-Bing Cheng *, Junxin Duan, Haiyu Gao

Department of Chemistry, School of Chemistry, Chemical Engineering & Life Science, Wuhan University of Technology, Wuhan 430070, China.

Abstract: Chitosan, a deacetylated form of chitin, is renowned for its exceptional biocompatibility and antibacterial capabilities, making it a material of choice in various biomedical applications such as antimicrobial disinfection and drug delivery. This study, rooted in the principle of sustainable development of waste utilization, employs shrimp shells—an everyday kitchen waste—as the raw material for extracting chitin and preparing chitosan. Comprehensive characterization techniques are conducted to substantiate the viewpoints in the paper, leading to the development of a chitosan-based antibacterial gel. Employing a gradient science popularization program, we captivate audiences ranging from kindergarten children to university students and the general public, illuminating the allure of chemistry. The study aims to spark public interest in the subject, inviting everyone to discard preconceived notions and rediscover the intrinsic beauty of chemistry from a more enlightened vantage point.

Key Words: Kitchen waste; Chitin; Chitosan; Antibacterial gel; Gradient science popularization

甲壳素, 又名几丁质, 是一种氨基多糖, 广泛存在于虾蟹等海洋节肢动物的甲壳、昆虫的甲壳、菌类和藻类细胞膜及高等植物的细胞壁中, 是自然界中含量仅次于纤维素的第二大天然高分子物质^[1]。壳聚糖是甲壳素经脱乙酰化反应得到的产物(图1), 由于甲壳素分子结构中氨基基团的引入, 使其溶解性得到改善, 可以通过成盐的方式溶解在大多数稀酸中, 因此壳聚糖也被称为可溶性甲壳素^[2]。

收稿: 2023-08-10; 录用: 2023-08-31; 网络发表: 2023-09-18

*通讯作者, Email: chengdb@whut.edu.cn

基金资助: 武汉理工大学教学改革研究项目(w20210144, w20210147)

壳聚糖作为一种天然多糖类物质，具有良好的生物相容性、生物可降解性、粘合性和无毒性，这些性质使得它能够被广泛用于药物递送、抗菌消毒、伤口凝血等生物医学领域^[3-5]。

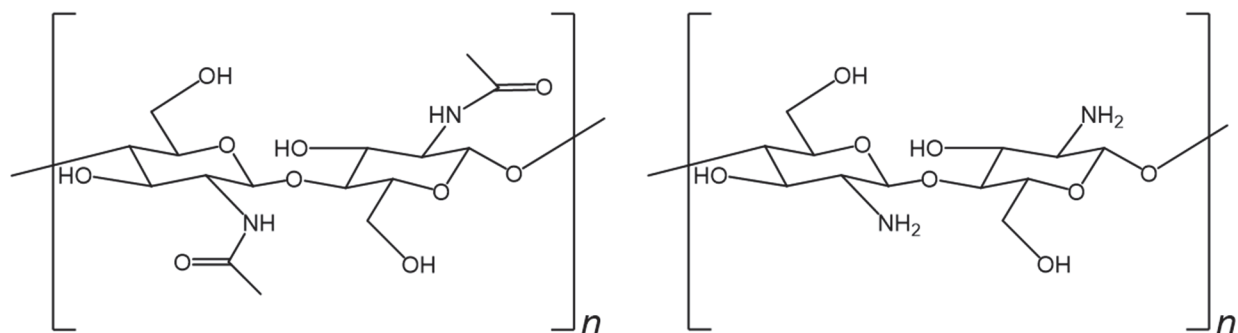


图1 甲壳素(左)和壳聚糖(右)化学结构式

在日常生活中，小龙虾在美食界中扮演着重要的角色，无论是在烧烤摊还是餐馆，我们都能看到它的身影。但在虾体被开发利用的同时产生了大量废弃虾壳。传统的处理方式是将虾壳粉碎用作动物饲料，但经济效益低，未能达到对虾壳的综合利用效果^[6]。

由于虾壳中富含甲壳素，在本实验中，我们将通过化学方法完成对虾壳中甲壳素的提取与壳聚糖的制备。并针对不同年龄段的受众人群，采用梯度科普方案。通过简易动画、科普海报和消毒凝胶的制作，将壳聚糖抗菌原理所包含的化学知识，用通俗易懂的方式呈现给幼儿园小朋友及中小学生，提升他们的科学兴趣并培养科学思维；同时也为饱受争议的化学正名，呼吁社会公众打破偏见，重新并深刻地认识到化学对于社会进步的重要性。

1 实验部分

1.1 实验原理

1.1.1 虾壳中提取甲壳素及壳聚糖制备原理

龙虾壳主要组成成分为水、矿物质、蛋白质和甲壳素，我们将充分干燥后的虾壳研磨成粉，经脱盐、脱蛋白处理首先得到甲壳素，再将甲壳素进行脱乙酰化处理，最终产物经表征确定为壳聚糖(如图2所示)。

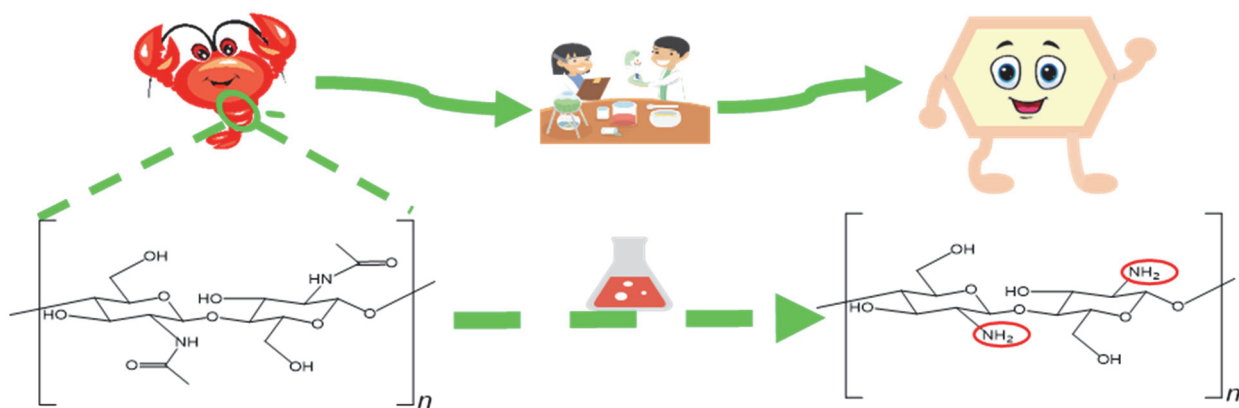


图2 壳聚糖制备原理示意图

1.1.2 壳聚糖抗菌原理

在酸性条件下,壳聚糖分子中的氨基($-NH_2$)可以质子化为铵离子($-NH_3^+$),使自身具有正电性,能够与表面带有负电荷的细菌结合^[7]。二者结合限制了细菌分子的自由度(如图3所示),干扰细菌细胞壁的合成,从而打破自然状态下细胞壁合成与溶解平衡,使得细胞壁趋于溶解。最终细菌细胞膜因不能承受外界渗透压而发生变形破裂,其膜内蛋白质和其它成分泄漏,造成细菌死亡^[8]。

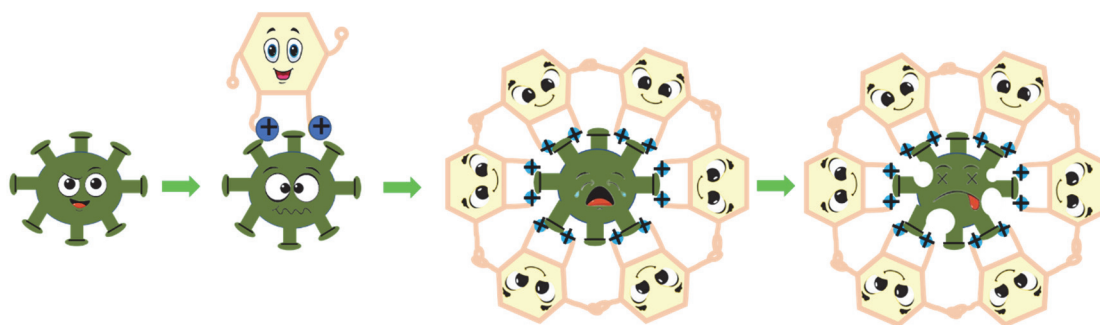


图3 壳聚糖抗菌原理示意图

1.2 试剂或材料

虾壳取自校外某餐馆的厨余垃圾,本实验涉及到的烧杯、容量瓶、抽滤瓶等玻璃仪器均由学校实验室提供,科普互动所用的壳聚糖水凝胶及护肤产品均在网上购得,虾壳中甲壳素提取及壳聚糖制备所用到的实验试剂如表1。

表1 实验试剂

试剂	规格	生产厂家
氢氧化钠	≥ 96%	国药集团化学试剂有限公司
高锰酸钾	≥ 99%	国药集团化学试剂有限公司
草酸	98%	国药集团化学试剂有限公司
盐酸	36%–38%	国药集团化学试剂有限公司
乙酸	≥ 98%	国药集团化学试剂有限公司
重水	≥ 99%	上海源叶生物科技有限公司

1.3 仪器和表征方法

壳聚糖的表征所用到的仪器如表2和表3。

表2 实验仪器

仪器	型号	生产厂家
粉碎机	304不锈钢 (500 mL)	京严选京东自营旗舰店
电子分析天平	FA1004C-2004C	青岛聚创环保集团有限公司
数显鼓风干燥箱	GZX-9023MBE	上海博迅医疗生物仪器股份有限公司
磁力加热搅拌器	C-MAG HS7	德国艾卡(IKA)仪器设备有限公司
循环水式真空泵	SHZ-D (III)	巩义市予华仪器有限责任公司

表3 表征仪器

仪器	型号	生产厂家
紫外可见分光光度计	UV-5100	上海元析仪器有限公司
傅里叶变换红外光谱仪	Nicolet iS20	美国赛默飞世尔科技公司
核磁共振波谱仪	Ascend 600	美国布鲁克(Bruker)公司
扫描电子显微镜	JSM-7800F Prime	日本电子(JEOL)公司
超声波清洗器	HX-03	武汉恒信世纪科技有限公司

1.4 实验步骤/方法/现象

1.4.1 实验步骤

1.4.1.1 虾壳中甲壳素的提取

虾壳中甲壳素的提取及壳聚糖制备均参照蔚鑫鑫等人的方法进行实验^[9]。

虾壳粉碎：将新鲜小龙虾壳洗净并除去附着物，在干燥箱中充分烘干后，取适量虾壳使用粉碎机打磨成粉，并通过200目的滤网进行过滤，保证参与反应的壳粉粒径足够小，从而提高甲壳素的提取率。

脱矿物质：将壳粉在室温下用100 mL 1 mol·L⁻¹的HCl溶液浸泡24 h，期间不断搅拌，以除去虾壳中的矿物质；抽滤除去酸液，将产物水洗至中性。

脱蛋白质：向经过脱矿处理后的壳粉中加入50 mL 2 mol·L⁻¹ NaOH溶液并在90–100 °C的水浴条件下反应4 h，水解除去虾壳中的蛋白质；抽滤除去NaOH溶液，将产物水洗至中性，最终得到甲壳素粗品(实验流程如图4)。

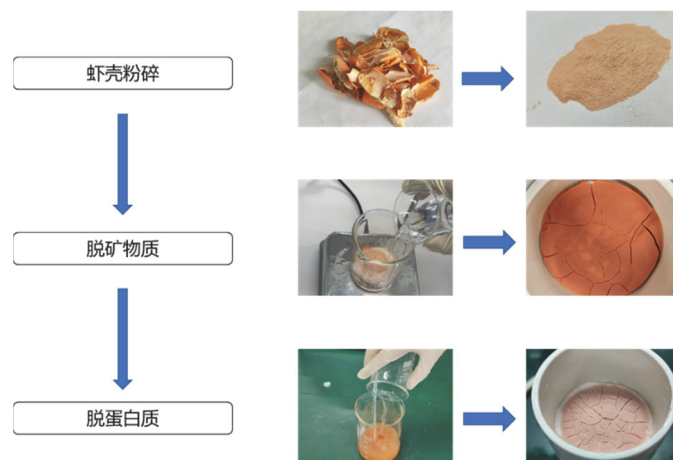


图4 虾壳中甲壳素的提取实验流程

1.4.1.2 甲壳素的后处理

将上一步反应得到的甲壳素粗品用50 mL 5 g·L⁻¹的KMnO₄溶液浸泡1 h进行杀菌消毒处理，过滤、水洗除去KMnO₄；用50 mL 10 g·L⁻¹的草酸水溶液于60–70 °C搅拌进行脱色处理，直至甲壳素粗品颜色由褐色完全转变为白色。将产物水洗至中性，于60–70 °C干燥1 h(实验流程如图5)。

1.4.1.3 壳聚糖的制备

向经过杀菌和脱色处理的甲壳素中加入100 mL质量分数为50%的浓NaOH溶液，在90 °C的油浴条件下反应3 h，使甲壳素在强碱作用下脱去乙酰基。反应期间使用回流冷凝装置以防止水分蒸发导致的氢氧化钠析出，从而影响脱乙酰化效率。反应结束后将产品水洗至中性，在80 °C下干燥1 h后得到浅黄色壳聚糖(实验流程如图6)。

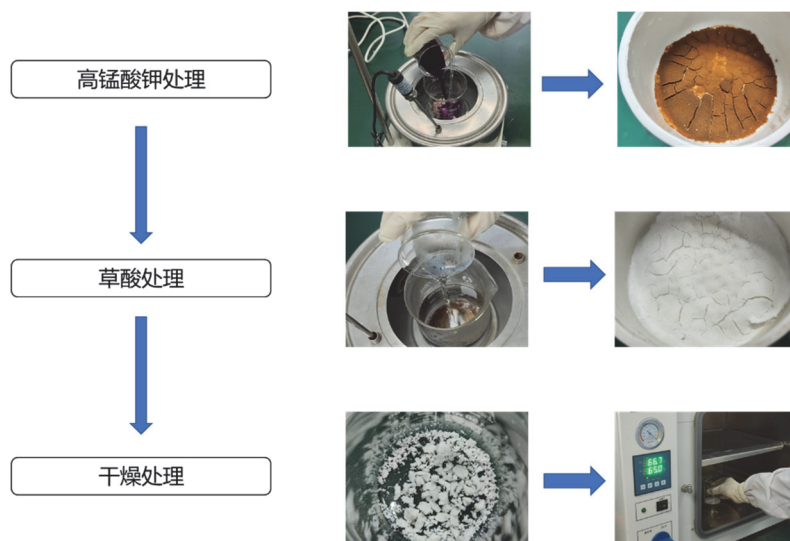


图5 甲壳素的后处理实验流程

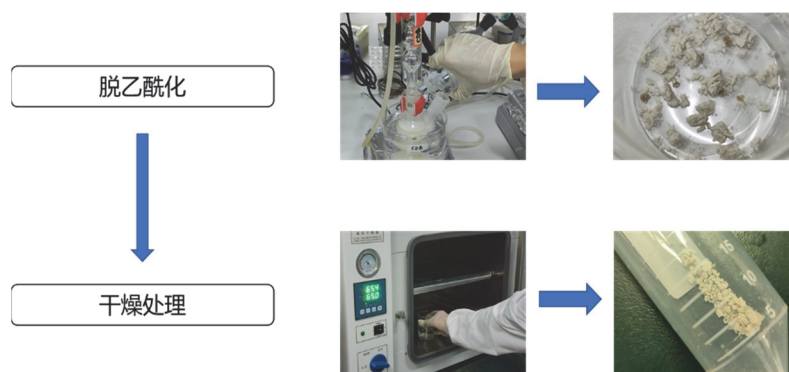


图6 由甲壳素制备壳聚糖实验流程

1.4.2 实验方法

1.4.2.1 壳聚糖成胶效果测试

取100 μg 产物于离心管中，加入1 mL去离子水并对整个体系进行超声分散，随后将离心管静置一段时间，观察记录管内液体变化。

1.4.2.2 壳聚糖分子结构表征

分别取少量产物进行紫外光谱、红外光谱和核磁共振氢谱表征分析。

1.4.2.3 壳聚糖形貌结构表征

分别取少量颗粒状产物及其水凝胶进行扫描电子显微镜测试。

1.4.2.4 壳聚糖抗菌性能表征

单增李斯特菌是一种人畜共患病的病原菌，广泛存在于自然界中^[10]。我们向在培养基中含有 10^3 CFU $\cdot\text{mL}^{-1}$ 的单增李斯特菌中加入 $0.1 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 本实验制备的壳聚糖溶液，并放置12 h，期间拍照记录培养皿中菌液在加入壳聚糖溶液前后的菌落数变化。

1.4.3 实验现象

1.4.3.1 壳聚糖成胶效果

壳聚糖平均分子量一般处于50 kD至150 kD之间，将壳聚糖分散于水中后，高分子链之间的相互缠绕作用，使得壳聚糖在水中形成三维网状空间结构，并且由于其分子结构中氨基、羟基等亲水基

团的存在，导致壳聚糖与水发生物理交联，通过氢键作用结合在一起，整个分散体系黏度逐渐增大并完成向水凝胶的转变。由图7可知由虾壳中制备的壳聚糖在水中所形成的凝胶效果较好，将离心管倒置后整个体系仍然可以附着在离心管底部，而且持续时间较长。

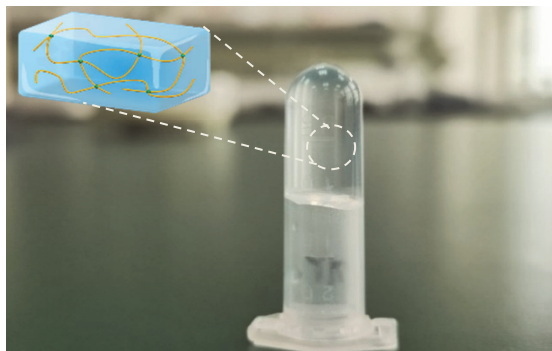


图7 由虾壳制备的壳聚糖分散于水中后体系形成的凝胶图

1.4.3.2 壳聚糖分子结构

图8A为壳聚糖的红外光谱，由图可知， 3423 cm^{-1} 附近吸收带为N—H和O—H伸缩振动迭合所致； 2875 cm^{-1} 处为C—H伸缩振动吸收峰； 1653 cm^{-1} 处为未发生脱乙酰化的C=O伸缩振动吸收峰，由于—NH—的诱导效应使得C=O伸缩振动吸收峰发生蓝移； 1597 cm^{-1} 处为N—H弯曲振动吸收峰； 1381 、 1323 cm^{-1} 附近吸收带为C—H和O—H弯曲振动迭合所致； 1080 cm^{-1} 附近吸收带为C—N和C—O弯曲振动迭合所致； 663 cm^{-1} 附近吸收带为N—H面外摇摆所致。综上所述，本实验得到的产物红外吸收峰与壳聚糖比较一致。

图8B为壳聚糖的紫外光谱。由于壳聚糖分子结构中不含生色团，因此谱图中没有明显的紫外吸收峰， 250 nm 附近的微弱吸收带为壳聚糖中残留的C=O基团所致。

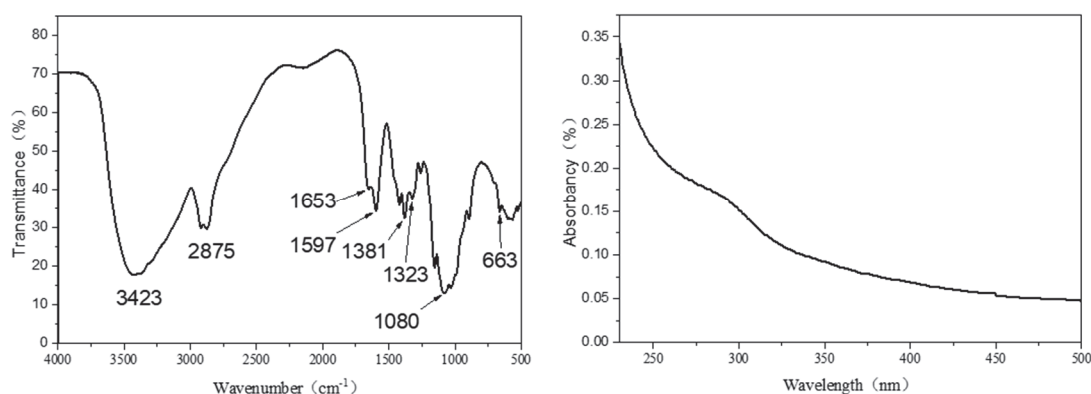
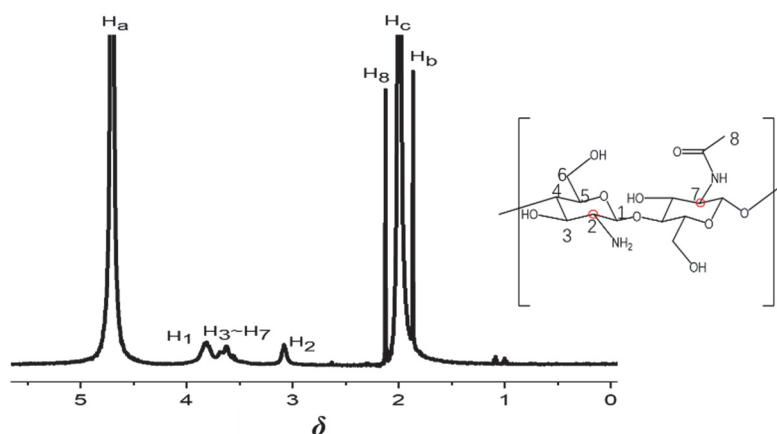


图8 由虾壳制备的壳聚糖红外光谱(A)和紫外光谱图(B)

图9为壳聚糖(重水作溶剂，乙酸作助溶剂)的核磁共振氢谱。其中峰a ($\delta 4.70$)为重水的溶剂峰，峰c ($\delta 2.00$)为乙酸上的氢；峰1 ($\delta 3.82$)为C₁上的氢；多重峰($\delta 3.82$ – 3.63)为C₃–C₇上几个化学环境相似的氢核自旋相互耦合所致；峰2 ($\delta 3.10$)为C₂上的氢；峰8 ($\delta 1.09$)为酰胺键上的甲基氢峰；峰b ($\delta 1.01$)为游离乙酰基上的甲基氢。根据谱图分析结果可知，甲壳素中乙酰基的脱去导致C₇上的氢化学位移向高场发生移动。由此可知本实验成功从虾壳中成功提取出了甲壳素，并实现甲壳素向壳聚糖的转化。

图9 由虾壳制备的壳聚糖核磁共振氢谱(400 MHz D₂O)

1.4.3.3 壳聚糖形貌结构

图10为壳聚糖及其水凝胶在10 μm尺度下的扫描电子显微镜图像，由图A可知，壳聚糖表面呈光滑平整结构，表明由本实验制备的壳聚糖分子结构排列有序，具有较好的结晶度；由图B可知，将壳聚糖分散于水中后，表面形成多孔网状结构，这是由于壳聚糖在水中溶胀且发生物理交联所致。

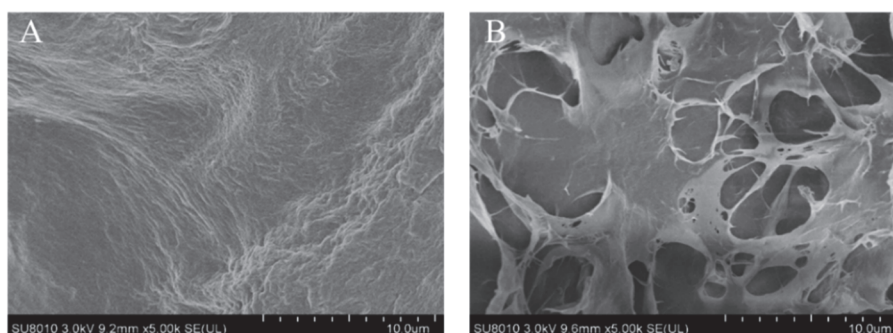


图10 由虾壳制备的壳聚糖(A)及壳聚糖水凝胶(B)扫描电子显微镜图

1.4.3.4 壳聚糖抗菌效果

由图11可知，向浓度为 10^3 CFU·mL⁻¹的单增李斯特菌中加入壳聚糖溶液12 h后，培养基中存活的菌落个数所剩无几。表明壳聚糖能够对细菌的生长造成负面影响并最终导致细菌死亡，表明壳聚糖具有良好的抗菌性能。

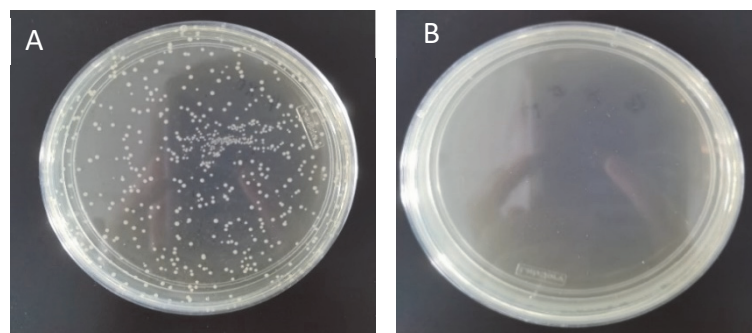


图11 培养基中原始菌落(A)与加入由虾壳制备的壳聚糖溶液后菌落图(B)

2 科普展示和互动方案

针对不同年龄段与化学知识储备的群体，我们采用梯度科普互动方案，实现“因材施教”，从而取得一个全面且完备的科普效果。

2.1 幼儿园和小学生：壳聚糖水凝胶——抛砖引玉

由于幼儿园和小学生群体还处在对事物的认知阶段，知识储备有限，所以我们首先通过向小朋友展示市面上已经上市的壳聚糖水凝胶产品来引起他们对于壳聚糖的好奇心。五颜六色的壳聚糖水凝胶彩珠在视觉效果上对于小朋友有着较强的吸引力，并且基于壳聚糖为主要成分的水凝胶具有无毒和可降解性，使得产品的安全性得到了有效保障(图12A)。

其次我们还制作了简易动画来科普壳聚糖的抗菌原理，在讲述过程中我们尽可能使用比喻拟人等修辞手法来通俗易懂地讲解其中蕴含的化学知识，让小朋友能够在聆听的过程中略知一二和有所思考，体会学习科学知识的乐趣所在，并激发他们的求知欲和探索精神(图12B-D)。

最后我们引导小朋友使用五彩斑斓的壳聚糖水凝胶拼写出化学的英语单词简写“CHEM”(Chemistry)以点明主旨。同时告诉他们这种水凝胶在盆栽保养中扮演着重要角色——既可以起到装饰作用，又能使盆栽保持在一个湿润的环境中，避免因水分流失造成的枯萎凋谢(图12E, F)。



图12 面向小朋友的科普互动过程

总之，针对幼儿园和小学生群体进行壳聚糖的科普，我们采用的是比较有吸引力的壳聚糖水凝胶彩珠，它可以起到抛砖引玉作用，让小朋友在了解学习新知识的过程中既不会感受到枯燥乏味，又能形象生动的理解其抗菌原理。

2.2 初中和高中生：壳聚糖消毒凝胶——融会贯通

对于已经具备一定化学和生物知识水平的初高中生群体，我们采用以自己提取制备的壳聚糖溶液为基础，向其中加入消毒酒精后制备得到壳聚糖消毒凝胶。由于壳聚糖大分子链之间互相缠绕，从而导致整个体系黏度增大，可以使得消毒凝胶能够更好地附着在皮肤上，抗菌消毒效果得到提升。

我们通过制作打印抗菌水凝胶的科普海报(图13)，在某中学附近寻找志愿者。向他们展示我们精心制作的壳聚糖抗菌科普传单与消毒凝胶(图14)，使用较为专业的语言为他们揭开抗菌凝胶背后的“神秘面纱”，并诚挚邀请志愿者体验我们自制的消毒凝胶。

2.3 大学生：壳聚糖凝胶化妆品——应运而生

对于化学知识体系较为完善的大学生群体，我们采用一种在市面上已经上市的壳聚糖凝胶祛痘产品(图15)面向化学专业的本科生进行科普。该化妆品的主要成分为水杨酸，采用壳聚糖包裹技术来释控递送水杨酸，大大降低了水杨酸的刺激性，而且使得功效更加持久，具有“杨”长避短，“壳”以祛痘的效果。此外，由于壳聚糖具有良好的生物相容性与抗菌能力，因此它可以有效抑制皮肤表面上的细菌生长，同时不会引起不良反应。



图13 壳聚糖抗菌科普海报



图14 面向高中生的科普互动过程



图15 面向大学生科普的壳聚糖凝胶化妆品

2.4 社会公众：谈生化环材——饮水思源

化学在当今社会总是饱受争议(图16), 但我们的衣食住行却离不开化学: 色彩斑斓的衣服是由聚酯纤维、聚丙烯腈等高分子材料制成; 阿司匹林、青蒿素、青霉素这些曾经拯救了无数人生命的药物都是经过化学方法发现并改良之后得以发挥作用; 手机、电动车、新能源汽车的电池更是经历了一代又一代的迭代更新才得以惠及全世界……设想如果没有化学, 这个世界将会变成什么样子?

祖国的伟大复兴不只需要阳春白雪，更需要下里巴人。



图16 网络上关于生化环材的评价

在本实验中，我们通过一步步的化学反应就可以让虾壳变废为宝。这“是造物主之无尽藏也，而吾与子之所共适”，更是我们化学这门学科的中心理念——化物利民，明德济生。

3 结语

本科普实验以厨余垃圾虾壳为原料制备抗菌消毒材料，符合可持续发展理念。该实验制备方法简单，表征手段综合，适合鼓励大学生积极参与尝试，培养其综合实践能力与应用所学知识分析和解决问题的能力。此外我们还采用梯度科普互动方案，针对不同年龄段受众群体采用不同的科普手段，并取得了良好的科普效果。让广大社会公众感受到化学的魅力所在，激发青少年群体对于化学的学习兴趣，培养他们的科学思维。

总之，我们基于自下而上的方式让作为厨余垃圾的虾壳变废为宝，在抗菌领域“大展身手”，故本实验不失为一个好的化学科普项目。

4 特点/特色/创新性声明

- (1) 实验采用自下而上的方式，变废为宝，符合可持续发展理念。
- (2) 实验操作简单，涉及到的化学知识综合全面，有利于推进学科交融。
- (3) 采用梯度科普方式，“因材施教”，寻求科普效果最优解。

参考文献

- [1] 严俊. 化学通报, 1984, No. 11, 26.
- [2] 徐健, 金鑫荣. 大学化学, 1994, 9 (3), 22.
- [3] 车小琼, 孙庆申, 赵凯. 高分子通报, 2008, No. 2, 45.
- [4] Harugade, A.; Sherje, A. P.; Pethe, A. *React. Funct. Polym.* **2023**, 191, 105634.
- [5] Khalaf, E. M.; Abood, N. A.; Atta, R. Z.; Ramirez-Coronel, A. A.; Alazragi, R.; Parra, R. M. R.; Abed, O. H.; Abosaooda, M.; Jalil, A. T. *Int. J. Biol. Macromol.* **2023**, 231, 123354.
- [6] 姚宏亮. 水产科学, 2004, No. 5, 34.
- [7] Gafri, H.; Mohamed Zuki, F.; Aroua, M.; Hashim, N. *Rev. Chem. Eng.* **2019**, 35 (3), 421.
- [8] 杨冬芝, 刘晓非, 李治, 徐怀玉, 管云林, 姚康德. 应用化学, 2000, No. 6, 598.
- [9] 蔚鑫鑫, 刘艳, 吴光旭. 湖北农业科学, 2013, 52 (13), 3120.
- [10] El-Zehery, H. R. A.; Zaghloul, R. A.; Abdel-Rahman, H. M.; Salem, A. A.; El-DougDoug, K. A. *Saudi J. Biol. Sci.* **2022**, 29 (4), 2582.