

# 等离子体协同超声波辅助弱酸弱碱法提取 小龙虾虾壳中甲壳素

Plasma assisted ultrasonic-assisted extraction of chitin from crayfish shell by weak acid and weak base method

丁子骏<sup>1</sup> 李金林<sup>1</sup> 符颖菲<sup>1</sup> 张秋霞<sup>1</sup> 毛艺莹<sup>1</sup>  
DING Zijun<sup>1</sup> LI Jinlin<sup>1</sup> FU Yingfei<sup>1</sup> ZHANG Qiuxia<sup>1</sup> MAO Yiyong<sup>1</sup>  
王 为<sup>1</sup> 彭 斌<sup>1</sup> 涂宗财<sup>1,2</sup> 周 炎<sup>3</sup>  
WANG Wei<sup>1</sup> PENG Bin<sup>1</sup> TU Zongcai<sup>1,2</sup> ZHOU Yan<sup>3</sup>

(1. 江西师范大学生命科学学院国家淡水鱼加工技术研发专业中心, 江西 南昌 330022;

2. 南昌大学食品科学与资源挖掘全国重点实验室, 江西 南昌 330047;

3. 顺祥食品有限公司, 湖南 益阳 413200)

(1. National Research and Development Center of Freshwater Fish Processing Technology, College of Life Science, Jiangxi Normal University, Nanchang, Jiangxi 330022, China; 2. State Key Laboratory of Food Science and Resources, Nanchang University, Nanchang, Jiangxi 330022, China; 3. Shunxiang Food Company, Yiyang, Hunan 413200, China)

**摘要:**目的:探索一种绿色高效的甲壳素提取方法。方法:将烘干的小龙虾虾壳粉碎后,依次经过 3 种目数(50, 100, 200 目)筛分后得到原料,进行等离子体照射处理(160 W, 2 min),利用柠檬酸和尿素在超声波作用下分别脱去样品中的钙质和蛋白质,利用过氧化氢脱色处理,过滤后烘干得到甲壳素产品。采用激光散射粒度分布分析仪分析甲壳素产品粒径大小,傅里叶红外光谱仪对其红外吸收特征进行测定,扫描电镜观察表面结构。结果:小龙虾虾壳粉过筛目数越大,等离子体处理后甲壳素产品纯度越高。200 目虾壳粉等离子体处理组的甲壳素得率提高至 43.93%,纯度提高到 55.39%。3 种目数虾壳粉经过等离子体处理后得到的甲壳素样品粒径由未经等离子体处理的 340.05, 184.30, 137.39  $\mu\text{m}$ , 分别下降至 195.95, 159.02, 53.51  $\mu\text{m}$ 。红外光谱检测显示,等离子体协同超声波辅助弱酸弱碱法脱钙质与脱蛋白处理的小龙虾虾壳粉

显现出甲壳素样品红外吸收特征,表明处理的样品主要成分为甲壳素。电镜扫描结果显示,经过等离子处理后甲壳素样品结构更为松散,表面不平整。多元统计分析显示,筛分和等离子体处理对甲壳素样品整体性质影响较大。结论:虾壳粉筛分后经过等离子体协同超声波辅助弱酸弱碱提取甲壳素,减少了传统酸碱法对环境的污染,有效提升了甲壳素的提取率和纯度。

**关键词:**筛分;等离子体;甲壳素;超声波;弱酸弱碱法

**Abstract: Objective:** To explore a green and efficient method for extracting chitin. **Methods:** The crayfish shells were crushed through three mesh sieves to obtain the raw material. Utilizing ultrasonic wave and citric acid and urea to remove calcium and protein from the sample, decolorize it with hydrogen peroxide, filter it, and then dry it to produce chitin products. The particle size of the chitin sample was analyzed by laser scattering particle size distribution analyzer. Infrared absorption characteristics were measured by an infrared spectrometer. Scanning electron microscopy was used to observe the apparent structure of the sample. **Results:** It was shown that the larger the mesh size, the higher the purity of the chitin product. The yield of chitin from 200 mesh crayfish shell powder increased to 43.93%, and the purity increased to 55.39%. The particle size of chitin samples obtained from shrimp shell powder of three mesh numbers after

**基金项目:**国家自然科学基金项目(编号:32260604, 32060557);  
江西省重点研发计划项目(编号:20203BBFL63062);  
财政部和农业农村部国家现代农业产业技术体系(编号:CARS-45)

**作者简介:**丁子骏,男,江西师范大学在读本科生。

**通信作者:**李金林(1983—),男,江西师范大学教授,博士。

E-mail: lijnlin405@126.com

**收稿日期:**2023-05-29 **改回日期:**2023-07-08

plasma treatment decreased from 340.05, 184.30, and 137.39  $\mu\text{m}$  without plasma treatment to 195.95, 159.02, and 53.51  $\mu\text{m}$  respectively. Infrared spectrum analysis showed that the crayfish shell powder treated by plasma-assisted ultrasonic-assisted weak acid and weak base method displayed the absorption characteristics of chitin and magenta, indicating that the main component of the treated sample was chitin. The scanning electron microscope results showed that the structure of the chitin sample was looser and the surface was uneven after plasma treatment. Multiple statistical analyses showed that screening and plasma treatment had a significant impact on the whole properties of chitin samples. **Conclusion:** In this study, plasma and ultrasonic-assisted weak acid and weak base extraction of chitin from crayfish shells can improve the traditional acid-base process, reduce the environmental pollution of acid-base reagents, and effectively improve the extraction rate and purity of chitin.

**Keywords:** screening; plasma; chitin; ultrasonic; weak acid and weak base method

小龙虾,学名克氏原螯虾(*Procambarus clarkii*),甲壳纲、十足目、螯虾科水生动物。近年来,中国小龙虾养殖面积持续增长<sup>[1]</sup>。据统计<sup>[2]</sup>,2021年中国小龙虾养殖面积 173.33 万  $\text{hm}^2$ 、产量 263.36 万 t,同比分别增长 19.01%和10.02%。但小龙虾加工产业发展严重滞后,虾壳综合利用率低、资源浪费严重且污染环境<sup>[3]</sup>。

虾壳中富含甲壳素。甲壳素作为一种功能性多糖聚合物,在食品领域可作为增稠剂和抗菌剂,在医学领域可作为潜在药物成分或载体。甲壳素不溶于水,可溶于酸。目前生产普遍采用强酸强碱提取甲壳素,以强酸脱钙、强碱脱蛋白,后经过氧化氢脱色。但该工艺产品纯度低、污染环境,亟待改进。超声波的空化作用能有效轰击虾壳物料,辅助弱酸弱碱的腐蚀作用可有效脱除虾壳中的钙质和蛋白<sup>[4]</sup>。等离子体处理是一种利用双极脉冲电源产生电势促进化学反应的新兴技术<sup>[5-6]</sup>,可被激发获得较高反应能级<sup>[7]</sup>,从而形成激活态的反应离子,通过相互碰撞活化反应物料。电感耦合等离子体处理技术被应用于甲壳素提取,可活化虾壳粉的颗粒表面,进而活化其内部所包含的甲壳素<sup>[8]</sup>。课题组<sup>[9]</sup>前期研究发现,不同目数筛分的虾壳粉所含甲壳素显著不同,过筛目数越高、甲壳素纯度越高、蛋白质含量越低。虾壳粉破碎程度越高,活性位点更多,越易于脱除蛋白和钙质,制备的甲壳素纯度越高。虾壳粉颗粒大小可能会影响等离子体轰击效果,然而等离子体搭配超声波辅助弱酸脱钙以及弱碱脱蛋白方法<sup>[10]</sup>提取不同目数虾壳粉中甲壳素提取效果尚不清楚。

研究拟依次对过 50, 100, 200 目筛的虾壳粉等离子体照射后,采用超声波辅助柠檬酸尿素法脱钙质脱蛋白,提取甲壳素,并计算得率、纯度,进行粒径测试、红外检测

以及电镜扫描,以期提供一种绿色高效的甲壳素提取方法。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

小龙虾:九江凯瑞生态农业开发有限公司;  
醋酸、柠檬酸、尿素、过氧化氢、溴化钾:分析纯,西陇科学股份有限公司;  
考马斯亮蓝快速染色液:碧云天生物技术有限公司;  
甲壳素标品:纯度>95%,食品级,北京索莱宝科技有限公司;  
数控超声波清洗器:KH-500DE型,昆山禾创超声仪器有限公司;  
电子分析天平:FA1104N型,精度 0.1 mg,上海丙林电子科技有限公司;  
数显恒温水浴锅:HH-6型,常州国华电器有限公司;  
电热恒温鼓风干燥箱:DUG-914OA型,上海精宏实验设备有限公司;  
程控箱式电炉:SXL-1008型,上海精宏实验设备有限公司;  
流水式粉碎机:YF8-1型,瑞安市永历制药机械有限公司;  
高压均质机:GYB60-6S型,上海东华高压均质机厂;  
自动凯氏定氮仪:SKD-800型,上海沛欧分析仪器有限公司;  
台式 pH 计:S220 Seven Compact型,上海梅特勒—托利多仪器有限公司;  
扫描电子显微镜:S-3400N型,日本日立(Hitachi)公司;  
傅里叶变换红外光谱仪:Thermo Fisher IS10型,上海赛默飞世尔科技公司;  
激光散射粒度分布分析仪:LA-950型,日本堀场(Horiba)公司。

### 1.2 试验方法

1.2.1 虾壳清洗和粉碎过筛 将准备好的小龙虾进行虾壳分离处理,分拣去残留肉质后,按料液比 1 : 10 (g/mL)加入 0.5%的醋酸,然后超声辅助清洗3次(超声清洗 30 min后换清洗液继续清洗 30 min,其间每隔 10 min搅拌1次),随后将虾壳于 80 °C烘干后待用(至净重无变化)。采用流水式粉碎机对虾壳进行粉碎,粉碎后依次用 50, 100, 200 目的网筛进行分离(分别标记为 T-50, T-100, T-200),用于后续研究<sup>[7]</sup>。

1.2.2 等离子体处理 将粉碎后的 3 种目数虾壳粉置于烘箱烘干至净重无变化。随后将虾壳粉分为无差别的两份(各组称取 5 g 虾壳粉),分别为未经等离子体处理组和等离子体处理组。等离子体处理组的虾壳粉均匀薄铺在

反应器皿表面,通过三温区化学气相沉积系统进行电感耦合等离子体处理(反应全程置于氮气氛围),系统的工作功率调为 160 W,等离子体处理 2 min,并对相应虾壳粉做好标记(50,100,200 目虾壳粉经等离子体处理后的样品分别标记为 PT-50,PT-100,PT-200),分开放置待用。

### 1.2.3 脱钙脱蛋白处理

(1) 脱钙处理:分别称取 12 g 相同目数筛分后未经等离子体处理和经过等离子体处理的虾壳粉置于两个相同规格的烧杯中,随即配制 120 g/L 的柠檬酸溶液,随后将 100 mL 柠檬酸溶液分别加入到装有虾壳粉烧杯中,可分多次加入,再将两个烧杯同时静置,并用玻棒不断搅拌烧杯中的悬浊液至无气泡生成即可。完成脱钙后将虾壳粉抽滤洗涤至中性。

(2) 脱蛋白处理:分别加入 100 mL 48% 的浓尿素溶液至上述两份不同的脱钙虾壳粉中,并在超声波工作功率 300 W,温度 60 °C 的条件下将两份样品同时进行水浴加热,超声 5 h,反应至变色即可。后用考马斯亮蓝法检验是否有蛋白质残留,检验脱蛋白效果。完成脱蛋白后将虾壳粉抽滤洗涤至中性。

(3) 漂白处理:分别向脱钙脱蛋白后的虾壳粉样品中加入 100 mL 30% 过氧化氢溶液,并置于磁力搅拌水浴锅中,60 °C 加热至虾壳粉变成白色。

(4) 洗涤烘干:将漂白处理后的虾壳粉置于烘箱中,60 °C 条件下烘干 8 h 即得甲壳素。

1.2.4 得率分析 根据张璐婷等<sup>[11]</sup>的方法,按式(1)计算甲壳素得率。

$$A = S/T \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

A——甲壳素得率,%;

S——精制甲壳素固体质量,g;

T——粗制虾壳粉总质量,g。

1.2.5 甲壳素纯度测定 根据高英立等<sup>[12]</sup>的方法,修改如下:准确量取氨基己糖标准液 0.0,0.2,0.4,0.6,0.8,1.0 mL,分别置于 10 mL 量瓶中,各加蒸馏水至 1 mL,1% 间苯二酚水溶液 1 mL,硫酸 7.5 mL,混匀,于沸水浴中加热 30 min,冷却至室温,加水至刻度,混匀,以试剂空白为对照,在 490 nm 处测光吸收度,绘制甲壳素标准品的标准曲线。按式(2)计算甲壳素纯度。

$$B = M/S \times 100\%, \quad (2)$$

式中:

B——甲壳素纯度,%;

M——甲壳素质量,g;

S——精制甲壳素固体质量,g。

1.2.6 蛋白质含量测定 根据虾壳中的总氮含量参照 GB/T 5009.5—2016《食品安全国家标准 食品中蛋白质

的测定》中的凯氏定氮法,修改如下:取 5 g 左右样品与浓硫酸和催化剂(硫酸铜和硫酸钾混合剂)共同加热消化后,用 SKD-800 型自动凯氏定氮仪测定。甲壳素中的氮含量也采用凯氏定氮法测定。由于虾壳中包括蛋白质和甲壳素,所以总氮含量包括甲壳素氮含量和蛋白质氮含量两部分。为测定甲壳素含量,将样品在 5% NaOH 沸水浴处理 1 [( $m_{\text{样品}} : V_{\text{NaOH 溶液}} = 1 : 50$  (g/mL))],待其中蛋白质完全除去后测定氮含量<sup>[8]</sup>。而甲壳素含量通过 CN 乘以 14.5 的换算系数计算(纯净的甲壳素分子中 N 含量为 6.9%)。按式(3)计算蛋白质含量。

$$C = (T - N) \times F, \quad (3)$$

式中:

C——蛋白质含量,%;

T——总氮含量,%;

N——甲壳素氮含量,%;

F——换算系数,6.25。

1.2.7 粒径测定 将甲壳素样品同蒸馏水混合均匀,采用激光散射粒度分布分析仪测定甲壳素颗粒直径,通过与原结构形状对比,观察甲壳素的粒径变化<sup>[13]</sup>。

1.2.8 红外光谱分析 取甲壳素样品 1~2 mg 与 200 mg 纯溴化钾于玛瑙研钵研磨成细粉,在压片机上压成透明薄片,在 4 000~400  $\text{cm}^{-1}$  处测定红外吸收光谱<sup>[14]</sup>。

1.2.9 扫描电镜分析 为了保证仪器量值的准确和一致,需要对扫描电子显微镜进行校准<sup>[15]</sup>。将 10 mg 样品固定在导电胶上,在观察表面喷金,1 万倍镜下对样品进行结构观察<sup>[16]</sup>。

## 1.3 数据处理

所有试验均重复 3 次,数据用平均值±标准偏差表示,Duncan 方法进行统计学分析,以  $P < 0.05$  表示具有显著差异。PCA 主成分分析和 PLS-DA 偏最小二乘回归分析法借助 SIMCA14.1 软件。

## 2 结果与分析

### 2.1 虾壳粉经不同处理后甲壳素得率、纯度和蛋白质含量

经等离子体处理后,虾壳表面污染物处理更加干净,制备样品中具有更少的水分和杂质。小龙虾 3 种目数虾壳粉经不同处理后甲壳素产品见图 1,甲壳素得率、纯度和蛋白质含量见表 1。50,100,200 目虾壳粉经等离子体处理后制备的甲壳素的蛋白质含量相比未经等离子体处理的分别下降了 38.31%,26.21%,14.68% ( $P < 0.05$ ),而纯度分别上升了 21.88%,4.56%,2.96% ( $P < 0.05$ )。结果表明,等离子体处理能使甲壳素脱蛋白质程度普遍大幅度增加,而且目数越大脱蛋白效果越佳。推测过筛数目高,虾壳粉颗粒小,经等离子体轰击后虾壳粉破碎程度更

表 1 不同处理方式下虾壳粉提取甲壳素样品得率、纯度和蛋白质含量<sup>†</sup>

Table 1 Yield, purity and protein content of chitin samples extracted from shrimp shell powder under different treatment methods

分组	粗制虾壳粉总质量/g	精制甲壳素固体质量/g	甲壳素得率/%	甲壳素纯度/%	蛋白质含量/%
T-50	12.00±0.08	6.20±0.04	51.67±0.10 <sup>a</sup>	24.77±0.14 <sup>f</sup>	49.93±0.13 <sup>a</sup>
PT-50	13.28±0.04	5.63±0.05	42.39±0.12 <sup>b</sup>	30.19±0.16 <sup>e</sup>	30.80±0.08 <sup>b</sup>
T-100	12.00±0.05	3.87±0.05	32.25±0.08 <sup>c</sup>	33.73±0.09 <sup>d</sup>	27.28±0.14 <sup>c</sup>
PT-100	12.00±0.06	5.14±0.04	42.83±0.07 <sup>b</sup>	35.40±0.08 <sup>c</sup>	20.13±0.08 <sup>d</sup>
T-200	12.00±0.04	2.94±0.06	24.50±0.13 <sup>d</sup>	53.80±0.11 <sup>b</sup>	18.60±0.14 <sup>e</sup>
PT-200	18.55±0.05	8.15±0.05	43.93±0.15 <sup>b</sup>	55.39±0.14 <sup>a</sup>	15.87±0.16 <sup>f</sup>

<sup>†</sup> 同列小写字母不同表示数据之间存在显著差异( $P < 0.05$ )。

高,结构更疏松,活性更高,与甲壳素整合的蛋白质和钙质更容易被脱除,因此制得的甲壳素产品纯度更高。

100,200 目虾壳粉经等离子体处理后,采用超声波辅助弱酸弱碱法提取所得甲壳素得率分别较未经等离子处理的上升 32.81% 和 79.31%,但 50 目的得率下降 17.96%。这可能是因为大颗粒经过等离子体处理后表面硬化,硬化层不利于后期脱钙和脱蛋白,提取的甲壳素纯度较低<sup>[17]</sup>。等离子体照射处理有助于降低精细虾壳粉中的蛋白质含量,提高提取的甲壳素样品纯度,且虾壳粉筛分目数越大,颗粒越小,处理效果越佳。

## 2.2 不同处理对甲壳素粒径的影响

如图 1 所示,50,100,200 目的虾壳粉经过等离子体照射处理后,超声波辅助弱酸弱碱法得到的甲壳素样品粒径较未经等离子体处理的分别下降了 42.38% ( $P < 0.05$ ),13.72% ( $P > 0.05$ ),61.05% ( $P < 0.05$ )。等离子体处理可降低甲壳素样品粒径,且粒径大小随过筛目数增加而减小。这可能是因为等离子体处理可活化甲壳素,使其结构松散,更易形成颗粒更小的物料成分<sup>[18]</sup>。较传统强酸强碱工艺,等离子体处理提取的甲壳素活性更高,性能更好,更利于人体吸收<sup>[19]</sup>。

甲壳素的粒径大小随不同的处理方式而改变。前期研究<sup>[20]</sup>发现,甲壳素样品经液氮粉碎后呈粉末状,通过电

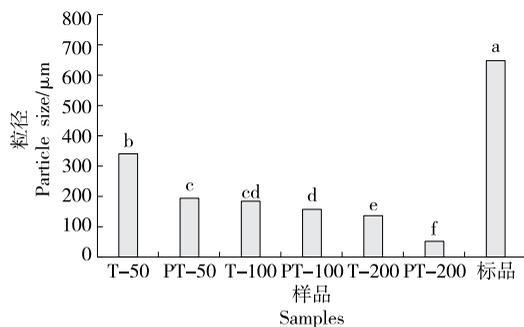


图 1 不同处理方式的甲壳素样品的粒径分析图

Figure 1 Particle size analysis of chitin samples with different treatment methods

子显微镜测得平均粒径为 120  $\mu\text{m}$ 。在等离子体激活态反应离子的连续轰击下,甲壳素容易破碎成粒径更小的颗粒成分。相比未经等离子体处理样品,等离子体处理样品细腻化程度更高。并且这一指标与过筛目数有关,甲壳素的结构崩塌基于原料结构成分,原料过筛目数越大,所得产物粒径越小。

## 2.3 不同处理对甲壳素红外吸收光谱的影响

甲壳素同钙质与蛋白质等组分相互渗透,纯度受此影响,甲壳素得率一直难以突破。以甲壳素标品为参照,分别对 50,100,200 目过筛后,等离子体处理与否的 6 组虾壳粉进行红外光谱测定,结果见图 2。1 660,1 560,1 370  $\text{cm}^{-1}$  分别代表酰胺 I、II、III 3 个谱带,是甲壳素的特征吸收峰。经等离子体处理后的 3 种甲壳素样品的红外光谱与市售甲壳素样品在典型吸收峰处十分相似,但不同目数筛分后的样品间存在红外光谱差异。其中以 200 目的样品为最佳,200 目的样品经等离子体处理后呈现出与甲壳素几乎一致的红外光谱图,可见其纯度较高。可能因为网筛选择目数大,所得颗粒小,等离子流和自由基对虾壳粉处理的效果更明显。50,100 目的虾壳粉经等离子体处理协同超声波辅助弱酸弱碱法提取甲壳素样品,在 3 260  $\text{cm}^{-1}$  处吸收峰明显低于标准样品。未经等离子体处理的样品在 1 560,1 370  $\text{cm}^{-1}$  处吸收不明显,

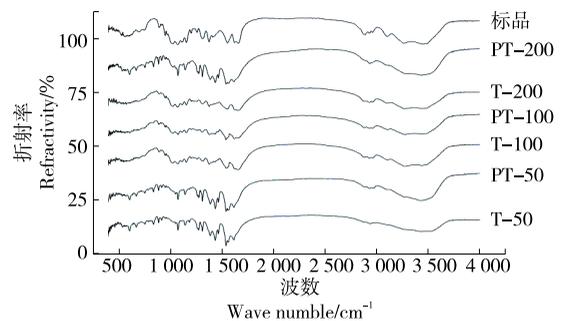


图 2 不同处理方式的甲壳素样品的红外检测图

Figure 2 Infrared detection of chitin samples with different treatment methods

表明甲壳素纯度不高,仍然含有钙质、蛋白质等杂质,干扰了甲壳素的红外吸收。

受不同处理方式的影响,所得甲壳素的红外吸收光谱结果各不相同。前期研究<sup>[9]</sup>发现,虾壳结构以甲壳素为核心,而钙质与蛋白质包裹于外表面,3种组分相互渗透,经乳酸脱钙和蛋白酶脱蛋白联合处理的样品表现出甲壳素的红色吸收特征。张巧等<sup>[21]</sup>研究发现,不同处理制备的甲壳素的红外谱带大致相同,但在峰形、峰数上还存在一些差异。利用等离子体协同超声波的空穴作用辅助柠檬酸脱钙、尿素脱蛋白,可深度破坏3种组分相互渗透的共存状态,相比传统提取技术,等离子体所得甲壳素产品红外吸收光谱相比之前研究更为接近甲壳素的标准吸收峰,甲壳素纯度更高。而等离子体射线的轰击,使甲壳素成分破碎,其比表面积增大,更有利于弱酸弱碱的侵蚀作用,推测甲壳素的纯度高与等离子体处理密不可分,而等离子体处理效果与筛分后虾壳粉粒径大小密切相关。

#### 2.4 不同处理对甲壳素微观结构的影响

电镜扫描结果显示,50,100,200目数筛后所得甲壳素纤维长度分别为10~20,25~45,5~10 μm,直径在9~14 nm(1.0×10<sup>4</sup>倍数下观测)。等离子处理后结构更为松散,活性位点更多,颗粒更小。这可能是由于等离子体的轰击造成甲壳素表面结构坍塌并使相结合导致蛋白质变性<sup>[22-24]</sup>。如图3所示,50目未经等离子体处理样品呈片状,甲壳素、钙质和蛋白质交错结合在一起,存在许多簇状结晶物质,样品整体结构未遭受破坏,甲壳素未完全脱离;经等离子体处理后的50目样品表层部分结构被破坏,颗粒更小,且原有独立平整的晶体堆积坍塌。表明等离子体处理破坏了甲壳素样品分子结构,柠檬酸和尿素进一步侵蚀渗透剥离钙质和蛋白质。100目虾壳粉提取

的甲壳素样品较50目的表面结构更为平整,但富含空隙,过筛目数增加更容易导致平整平面结构的堆积。100目等离子体处理组[图3(d)]相较于未经等离子体处理组[图3(c)]出现更多大小相同的片状晶体结构,其甲壳素纯度较高。200目未经等离子体处理的甲壳素样品[图3(e)]孔洞较多,结构松散,呈致密复合网状结构,表明弱酸弱碱对其内部结构侵蚀程度加剧,脱钙质和脱蛋白处理效果较好。经等离子体处理的200目虾壳粉[图3(f)]破碎程度更高,呈簇状小片块状结晶,颗粒更小,结构更疏松,其活性更高,甲壳素提取成分更多,可能是由于等离子体的轰击导致其碎片化所致。

等离子体处理可从微观层面上改变甲壳素的分子结构。刘慧等<sup>[18]</sup>通过电镜扫描观察发现,传统脱钙脱蛋白工艺处理的甲壳素外表面为网状结构,而内表面为蜂窝状结构。采用乳酸联合蛋白酶处理的甲壳素电镜结果显示出较多的裂纹,样品松散,表层的束状物更为舒展<sup>[9]</sup>。利用等离子体协同超声波的空穴作用辅助柠檬酸脱钙、尿素脱蛋白处理,甲壳素产品呈簇状小片块状结晶,颗粒更小,结构更疏松。证明等离子体轰击活化效果明显,激活态的反应离子被破坏并活化了甲壳素的功效成分,甲壳素提取率增加。

#### 2.5 多元统计分析

如图4所示,6组甲壳素样品整体性质数据可以很好地在PCA和PLS-DA中分离,PC1和PC2分别占据80.9%和13.7%,总和为94.6%。不同筛分目数虾壳粉后等离子照射处理,再经过超声波辅助弱酸弱碱法提取的甲壳素样品组相隔较远,说明筛分目数对甲壳素产品整体性质影响较大。相同目数筛分虾壳粉,未经等离子体处理和等离子体处理甲壳素样品组在图中较好分离,说明等离子体照射处理对提取甲壳素效果影响显著。

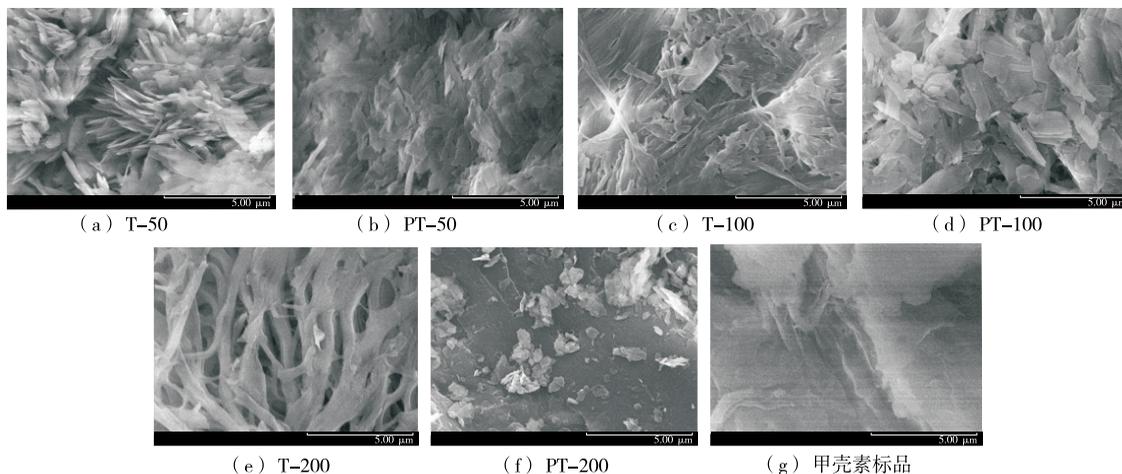


图3 不同处理方式的甲壳素样品的扫描电镜图

Figure 3 SEM images of chitin samples with different treatments (1.0×10<sup>4</sup>)

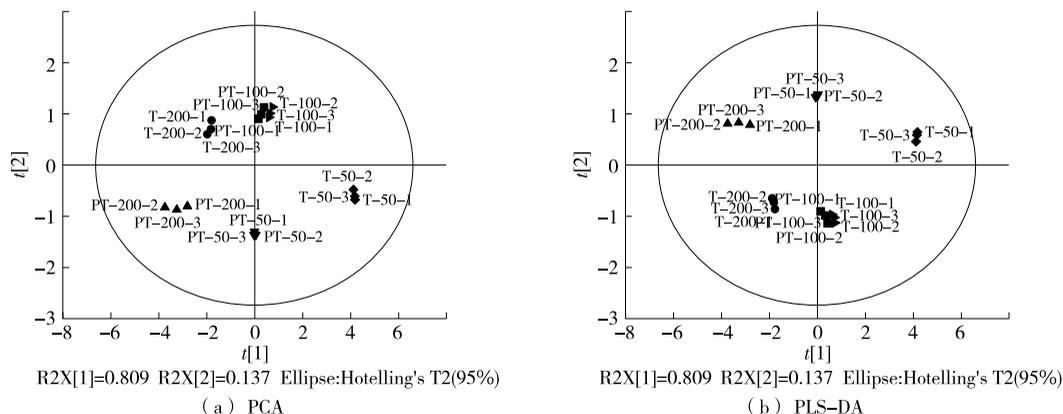


图4 不同处理方式的甲壳素样品的PCA和PLS-DA图  
Figure 4 PCA and PLS-DA images of chitin samples with different treatments

### 3 结论

以小龙虾壳为研究对象,虾壳经粉碎筛分后利用等离子体协同超声波辅助柠檬酸和尿素脱除钙质和蛋白,提取虾壳中的甲壳素,在此基础上检测甲壳素样品理化性质和结构表征。结果表明,200目虾壳粉经等离子体处理后,超声波辅助弱酸弱碱提取甲壳素得率最高,可达43.93%,纯度为55.39%;等离子体处理后的甲壳素样品颗粒粒径更小,细腻度更好;等离子体处理的甲壳素样品具有与甲壳素标品相似的化学键基团结构,且200目虾壳粉等离子体处理的甲壳素样品与标品结构更为接近;等离子体处理的甲壳素样品比其他表面更不均匀,结构更为松散,活性位点更多。综上,筛分后等离子体照射协同超声波辅助弱酸弱碱法作为一种操作简单且对环境友好的提取甲壳素的方式,能有效提升甲壳素的理化和结构特性,可作为促进小龙虾壳副产物资源制备甲壳素的一条有效途径。研究基于小试试验,小试和中试试验最佳的虾壳粉过筛条件和等离子体照射参数等有待后期深入研究。

#### 参考文献

[1] 李楚君,涂宗财,温平威,等.中国小龙虾产业发展现状和未来发展趋势[J].食品工业科技,2022,43(8):463-470.  
LI C J, TU Z C, WENG P W, et al. Current situation and future development trend of crayfish industry in China[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(8): 463-470.

[2] 于秀娟,郝向举,党子乔,等.中国小龙虾产业发展报告(2022)[J].中国水产,2022(6):47-54.  
YU X J, HAO X J, DANG Z Q, et al. China crayfish industry development report (2022) [J]. China Fisher, 2022(6): 47-54.

[3] 李思佳,沈俊毅,韩若冰.上海市虹口区市售小龙虾中汞和砷的污染水平分析[J].现代食品,2022,28(19):109-113.  
LI S J, SHEN J Y, HAN R B. Pollution levels of mercury and arsenic in crayfish sold in Hongkou district, Shanghai[J]. Modern Food, 2022, 28(19): 109-113.

[4] LE T Q X, WANG Q, RAVINDRA A V, et al. Microwave intensified synthesis of Zeolite-Y from spent FCC catalyst after acid activation [J]. Journal of Alloy Compound, 2019, 776: 437-446.

[5] SUBRAHMANYAM K, GUL K, SEHRAWAT R, et al. Impact of in-package cold plasma treatment on the physicochemical properties and shelf life of button mushrooms (*Agaricusbisporus*) [J]. Food Bioscience, 2023, 52: 102425.

[6] CSADEX I, VANKAT U, SCHREI J, et al. Treatment of ready-to-eat cooked meat products with cold atmospheric plasma to inactivate *Listeria* and *Escherichia coli*[J]. Foods, 2023, 12(4): 685.

[7] HUANG J B, KONG X W, CHEN Y Y, et al. Assessment of flavor characteristics in snakehead (*Ophiocephalusargus* Cantor) surimi gels affected by atmospheric cold plasma treatment using GC-IMS [J]. Front Nutrition, 2023, 9: 1086426.

[8] MOSTAFA K. Rendering viscose fabric dye-able with anionic dyes using plasma treatment technique and chitosan nanoparticles as an eco-friendly approach[J]. Pigment and Resin Technology, 2023, 52 (1): 134-141.

[9] 晏依洋,王美丹,张权,等.基于电镜与红外光谱技术研究不同处理方式对小龙虾壳粉表面观结构的影响[J].食品安全质量检测学报,2021,12(8):3182-3187.  
YAN N Y, WANG M D, ZHANG Q, et al. Effects of different treatment methods on the apparent structure of crayfish shell powder based on electron microscopy and infrared spectroscopy[J]. Journal of Food Safety and Quality, 2021, 12(8): 3182-3187.

[10] 彭元怀,黄川,赵泽洁.超声波辅助提取虾壳甲壳素的工艺研究[J].食品工业科技,2012,33(9):304-308.  
PENG Y H, HUANG C, ZHAO Z J. Ultrasonic assisted extraction of chitin from shrimp shell[J]. Science and Technology of Food Industry, 2012, 33(9): 304-308.

[11] 张璐婷,李晓芳,王星星,等.从蟹壳提取甲壳素及利用提取废液合成球霏石的研究[J].矿物学报,2022,42(5):675-682.  
ZHANG L T, LI X F, WANG X X, et al. Study on extraction of chitin from crab shell and synthesis of aragonite from waste liquid [J]. Acta Mineralogica Sinica, 2022, 42(5): 675-682.

- [12] 高英立, 肖蓬, 余长兴, 等. 甲壳质类化合物含量测定的研究[J]. 中国海洋药物, 2001(5): 24-26.  
GAO Y L, XIAO P, YU C X, et al. Studies on the quantitative determination of chitins compound[J]. Chinese Journal of Marine Drugs, 2001(5): 24-26.
- [13] TRIKILIDOU E, SAMIOTIS G, TSIKRITZIS L, et al. Performance of semi-micro-kjeldahl nitrogen method-uncertainty and nitrate interference[J]. International Journal of Environmental Analytical Chemistry, 2022, 102(18): 6 204-6 214.
- [14] TOONGSUWAN S, CHANG H C, LI L C, et al. Particle size determination of a three-component suspension using a laser-scattering particle size distribution analyzer[J]. Drug Development and Industrial Pharmacy, 2000, 26(8): 895-900.
- [15] ITOOKA K, TAKAHASHI K, KIMATA Y, et al. Cold atmospheric pressure plasma causes protein denaturation and endoplasmic reticulum stress in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2018, 102(5): 2 279-2 288.
- [16] CHEN Y, YAO M Y, YANG T Y, et al. Changes in structure and emulsifying properties of coconut globulin after the atmospheric pressure cold plasma treatment [J]. Food Hydrocolloid, 2023, 136: 108289.
- [17] 张钟, 高佳欣. 柠檬酸-反相微胶团法提取虾壳中甲壳素的研究[J]. 食品工业科技, 2017, 38(5): 269-273.  
ZHANG Z, GAO J X. Study on the extraction of chitin from shrimp shell by citric acid-reverse micelles method[J]. Science and Technology of Food Industry, 2017, 38(5): 269-273.
- [18] 刘慧, 邓春梅, 杨丹, 等. 虾皮制备壳聚糖的扫描电镜观察[J]. 广州化工, 2010, 38(3): 119-121.  
LIU H, DENG C M, YANG D, et al. Preparation of chitosan from shrimp skin by scanning electron microscope[J]. Guangzhou Chem Ind, 2010, 38(3): 119-121.
- [19] 曲玉超, 贾俊, 宫国强, 等. 现代近红外光谱技术在食品检测中的应用分析[J]. 食品安全导刊, 2022(31): 175-177.  
QU Y C, JIA J, GONG G Q, et al. Application analysis of modern near infrared spectroscopy in food detection[J]. Food Safety Guide, 2022(31): 175-177.
- [20] 陈懿, 张志源, 杨公明. 甲壳素液氮粉碎的微观结构变化[J]. 现代食品科技, 2011, 27(6): 637-639.  
CHENG Y, ZHANG Z Y, YANG G M. Changes of morphology and microstructures of chitin pulverized by liquid nitrogen [J]. Modern Food Science and Technology, 2011, 27(6): 637-639.
- [21] 张巧, 李永成. 南美白对虾虾壳甲壳素的提取工艺及结构分析[J]. 食品科技, 2020, 45(4): 187-192.  
ZHANG Q, LI Y C. Extraction process and structure analysis of shrimp shell chitin from *Penaeus albinus* [J]. Food Science and Technology, 2020, 45(4): 187-192.
- [22] 程泰. 纳米甲壳素的制备及其干法纺丝研究[D]. 上海: 东华大学, 2022: 30-44.  
CHENG T. Preparation and dry spinning of nano-chitin [D]. Shanghai: Donghua University, 2022: 30-44.
- [23] 寇律恒. 甲壳素纳米纤维的制备及其涂层的构筑与透光性研究[D]. 长春: 吉林大学, 2022: 48-69.  
KOU L H. Preparation, construction and light transmittance of chitin nanofiber coating [D]. Changchun: Jilin University, 2022: 48-69.
- [24] 刘锡红, 赵灵希, 张成杰, 等. 酶法从虾壳中提取甲壳素工艺优化的研究[J]. 食品工业科技, 2013, 34(22): 209-212, 216.  
LIU X H, ZHAO L X, ZHANG C J, et al. Study on optimization of enzymatic extraction of chitin from shrimp shell [J]. Science and Technology of Food Industry, 2013, 34(22): 209-212, 216.
- (上接第 17 页)
- [7] 曾子杰. 超高静压与热处理对蜂蜜品质的对比研究[D]. 广州: 暨南大学, 2018: 13-25.  
ZENG Z J. Comparison effect of heat treatment and ultra-high static pressure on honey quality [D]. Guangzhou: Jinan University, 2018: 13-25.
- [8] TIJS A M R, GUIDO S, ERIK V D L, et al. Effect of temperature and pressure on the stability of protein microbubbles[J]. ACS Appl Mater Interfaces, 2016, 8(1): 333-340.
- [9] 胡欣宇, 明建, 王姝, 等. 超微板栗粉对海绵蛋糕品质的影响[J]. 食品与机械, 2022, 38(7): 220-226.  
HU X Y, MING J, WANG S, et al. Effects of superfine chestnut powder on sponge cake quality [J]. Food & Machinery, 2022, 38(7): 220-226.
- [10] KADJO A, GARNIER J P, MAYE J P, et al. A new transient two-wire method for measuring the thermal diffusivity of electrically conducting and highly corrosive liquids using small samples [J]. International Journal of Thermophysics, 2008, 29(4): 1 267-1 277.
- [11] MONIKA B, PETER H, VLASTA V, et al. Thermal properties of selected bee products [J]. Progress in Agricultural Engineering Sciences, 2018, 14(S1): 37-44.
- [12] 张敏, 余信, 王琪琰, 等. 基于熵权法和灰色关联分析的藤茶理化品质评价与分级应用[J]. 食品与机械, 2021, 37(1): 186-192.  
ZHANG M, YU J, WANG Q Y, et al. Evaluation and classification for physicochemical quality of vine tea on entropy method an grey relation analysis [J]. Food & Machinery, 2021, 37(1): 186-192.
- [13] 谢成城, 陈佳敏, 曹仲文. 基于感官剖面分析法、熵权法和灰色关联度法的扬州兰花干品质评价[J]. 食品与机械, 2022, 38(9): 198-203.  
XIE C C, CHEN J M, CAO Z W. Quality evaluation of different varieties of Yangzhou orchid dry based on sensory pro le analysis, entropy weight method and grey interconnect degree analysis [J]. Food & Machinery, 2022, 38(9): 198-203.
- [14] JI P R, LIU X T, YANG C C, et al. Natural crystallization properties of honey and seed crystals-induced crystallization process for honey performance enhancing [J]. Food Chemistry, 2023, 405(3): 8-15.