92農科-1.1.2-糧-Z4(3)(7 .P)

行政院農業發展委員會專題研究計畫

期末成果報告

絲瓜來源幾丁質(Chitin)/去乙醯幾丁質(Chitosan)於藥學領域之應用開發以及絲瓜去乙醯幾丁質之基因載體輸送開發應用

計畫編號：**91 農科-1.1.1-糧-ZB(2)**

92 農科-1.1.2-糧-Z4(3)

執行期限：91 年 4 月 1 日至 92 年 12 月 31 日

計畫主持人：**許明照**

計畫參與人員：**許明照**

執行機構及單位名稱：**臺北醫學大學藥學系研究所**

中文摘要

本計劃之目的，為完成絲瓜幾丁質與去乙醯幾丁質的分離製備與直打物性評估。經由去乙醯化實驗中可以發現，去乙醯化的程度會隨著作用溫度與時間的增加而提高，而分子量會隨之下降。在粉體特性分析方面，將實驗所得的絲瓜幾丁質與去乙醯幾丁質分別和其他五種粉體比較（市售的去乙醯幾丁質Wako10、Wako100、Wako500、Sacchachitosan和市售幾丁質所製備之去乙醯幾丁質），比較項目包括：bulk density、tapped density、Carr's index、repose和water content。三種市售品Wako10、Wako100、Wako500其分類方法為黏度之不同，其在粉體特性可以發現，以Wako500之流動性最佳，其次是靈芝所萃取出之去乙醯幾丁質，再者是絲瓜去乙醯幾丁質，絲瓜幾丁質和市售製備出的去乙醯幾丁質在流動性方面的表現差不多。而在直打物性的評估方面，選用五種不同物性之去乙醯幾丁質（wako10、wako100、wako500、Sacchachitosan和絲瓜去乙醯幾丁質）評估影響直壓成錠性之因素。評估項目包括：直壓成錠性、排錠壓力、有效做功、臨界成錠壓力、抗張強度和彈性恢復強度。試驗結果顯示Sacchachitosan表現出不佳的成錠性，而在壓製曲線下顯示這五種去乙醯幾丁質在有效作功上無顯著差異。由Heckel plot計算之臨界成錠壓力亦無顯著差異。但在壓力抗張強度的表現上卻是明顯wako10 與wako 100高於其他三者，而在彈性恢復程度之測定結果可說明wako10 與wako 100為何有較好之抗張強度。

另外，為比較經由絲瓜來源之去乙醯幾丁質對於HeLa cell細胞株的轉染效能，建立結構與物性對於轉染效能的影響關係。所欲進行細胞轉染的質體DNA為p-Enhanced Green Flurorescence Protein-C1 (p-EGFP-C1)，購自CLONTECH。絲瓜去乙醯幾丁質溶液（5 mM 的醋酸鈉緩衝液，pH 5.5，內含0.02 %絲瓜去乙醯幾丁質）與DNA的溶液（25 mM 的硫酸鈉溶液，內含1 μg/ml的DNA），以進行絲瓜去乙醯幾丁質與DNA之奈米微球複合物（nanoparticles）之製備。取不同比例之兩種溶液，利用高速震盪器混合15-30秒，靜置後即可得絲瓜去乙醯幾丁質與

DNA之奈米微球複合物，並利用電泳膠片實驗進行DNA被包覆之測定。與市售之幾丁質進行DNA包覆比較可以發現其包覆的效果並不如市售幾丁質好。將HeLa cell培養在6-well的培養皿（$8x10^4$ cells/ml）培養24小時後，再將絲瓜去乙醯幾丁質與DNA之奈米微球複合物加入培養皿中，共同培養48小時後，利用螢光顯微鏡和流式細胞儀對基因轉染之表現做測定及分析。由轉染實驗可以發現市售產品能將基因帶入HeLa cell，而經由絲瓜所萃取得之絲瓜去乙醯幾丁質，雖然並沒有顯著的轉染效果， 但還是具有轉染的效能。

Abstract

The study was to accomplish the isolation and the preparation of chitin and chitosan from Luffa aegyptiaca and physical characterization of direct compressibility. From the deacetylation study, the degree of deacetylation will increase with increasing temperature and extending reaction time, but the molecular weight was in an opposite way. Powder characterization of chitin and chitosan from Luffa aegyptiaca and the other five powers (three commercial products: Wako10, Wako100, Wako500, Sacchachitosan and the preparation of chitosan from the commercial chitin) were compared. Characterization of the different powders included bulk density, tapped density, Carr's index, repose and water content. The three commercial products: Wako 10, Wako 100 and Wako 500 were different in viscosity. Results demonstrated that powder flowability was in the following order as Sacchachitosan > chitosan from Luffa aegyptiaca > chitin from Luffa aegyptiaca ≡ chitosan from commercial chitin. Five different chitosan products (Wako10, Wako100, Wako500, Sacchachitosan and chitosan from Luffa aegyptiaca) varied in physical properties were selected for evaluation of main factors influencing the success of direct compression. The factors

included : direct compression, ejection force, effective work, yield pressure, tensile strength and elastic recovery. Preliminary results demonstrated that the compressibility of Sacchachitosan was so poor to form tablet. Compaction profiles showed that there was insignificant difference in profiling parameters including effective work and ejection force for all chitosan products compared. Yield pressure calculated from Heckel plot for each product also demonstrated to be insignificant difference. However, the tensile strength of tablets prepared with wako10 and Wako 100 was much higher than the others. Degree of elastic recovery might be used to explain why wako10 and Wako 100 could make tablets stronger.

As above mentioned, we compared the transfection efficiency of chitosans from various sources and the optimal condition of processing Luffa chitin into chitosan was also investigated. The plasmid p-EGFP-C1 (Clontech, USA) encoding fluorescence protein was grown in *Escherichia coli* and extracted by a QIAGEN kit. A 0.02% chitosan solution (dissolved in 5 mM sodium acetate buffer, pH 5.5) and a DNA solution of 1 μg/μl in 25mM sodium sulfate solution were preheated to 55℃ separately. Both solutions in equal volume (10 μl) were mixed together speedily and vortexed for 15-30 s, then kept in ambient temperature for use. Complex formation was confirmed by electrophoresis on a 0.8 % agarose gel with TBE running buffer at 100 V. DNA was visualized with ethidium bromide. At the time of transfection, 20 μl of chitosan /DNA complexes were diluted with 1 ml fresh DMEM medium and added to each well. After 48 h incubation, the cells was removed from the culture plate and analyzed on a FACScan flow cytometer. Alternatively, cells were directly viewed under a fluorescence microscopy. Complex formation between chitosan and DNA was confirmed by agarose gel electrophoresis. It may reveal that, in comparison to commercial products, the Luffa chitosan bears relatively low charge, which make it

carry less DNA amount than the others do. The transfection of HeLa cells with chitosan/ DNA complexes was studied by using the plasmid p-EGFP-C1 encoding fluorescence protein. The investigation of fluorescent microscopy revealed that, including Luffachitosan, those commercial chitosans we selected in this study were capable of carrying genes into HeLa cells. FASCan analysis also validated this observation except that Luffachitosan / DNA complex showed less significant but still detectable expression of transfection .

緒論

本研究所首創利用非動物性素材，以靈芝 (Ganoderma tsugae) 子實體萃取後之廢料，製成皮膚創傷敷料薄膜，不僅是一種廢物再利用，其製程也更為簡單化。SACCHACHITIN 為靈芝子實體經酒精及熱水萃取後殘渣 再以氫氧化鈉及次氯酸鈉處理編織成膜之產品，主要成份為幾丁質 (50%) 及葡萄多醣 (Glucan, 50%)。目標是作為皮膚創傷癒合促進敷料，已在大白鼠、天竺鼠及局部之狗完成臨床試驗。實驗結果均顯示 SACCHACHITIN 為具有潛力之癒傷敷料，目前人體試驗之進度已接近完成 (五十病例)，主要針對糖尿病患者等半年以上無法癒合之慢性皮膚創傷，均可達到十分滿意之治療效果。過去科學界均認為幾丁質之來源以甲殼類為主，真菌界之菌絲也會產生幾丁質，但一般認為含量少而不具備開發價值。靈芝廢渣之應用實例啟發本研究所對於其他農產品中幾丁質開發之探討。目前已完成初步試驗之農產品為菜瓜布。絲瓜(Luffa aegyptiaca) 為臺灣普遍種植之主要疏菜，其老熟瓜體纖維即為菜瓜布。經分析菜瓜布之纖維亦發現含有幾丁質，經與靈芝廢渣相同步驟處理成薄膜後其韌性及物理性質較靈芝廢渣為佳，而初步動物試之結果亦顯示對傷口癒合有顯著之效用。此外，本研究最近研究發現新鮮之絲瓜瓜體所產生之黏稠液，即以去乙醯幾丁質為主要成分。此種需由蟹殼

經繁雜處理過程才能得到昂貴之多醣，可由植物之果實直接產生也是一項重大發現。此發展也顯示類似之植物性素材也有合成生物醫學材料之能力，更進而可分離直接應用於藥學領域。

材料與方法

【絲瓜去乙醯幾丁質製備】

經由絲瓜纖維所得到的幾丁質可利用去乙醯方式於分子骨幹上進行修飾，本研究將以鹼水解方式進行處理。經過均質處理後，粉碎的纖維將以濃度 50%NaOH 溶液於三組不同的高溫下(90℃，110℃，130℃)，分別處理不同的時間(1hr，3hr，5hr)，經鹼水解後，利用超高速過濾方式將混合液進行透析，再經過冷凍乾燥即可得到去乙醯幾丁質。

【去乙醯化程度測定】

利用 PVSK 膠體滴定法來探討在不同條件的鹼處理下，去乙醯幾丁質的去乙醯化程度與其反應時間與反應溫度之間的相關性。取 0.5g chitosan，再加入 5%(v/v) 醋酸，使成 100g。取 1g 醋酸溶液並加入 30 ml 去離子水，加入 0.1% toluidine blue 2-3 滴作為指示劑，用 N/400 PVSK 滴定(factor = 1.005)。計算去乙醯化方法如下：

$$D = \frac{X/161}{X/161 + Y/203}$$

$$X = \frac{1}{400} \times \frac{1}{1000} \times f \times 161 \times v$$

$$y = conc. \quad of \quad chitosan - X$$

【分子量測定】

利用膠體滲透層析法(GPC, gel permeation chromatography)，可以得到去乙醯幾丁質的分子量，分析條件如下：使用管柱為 TSK-GEL column，移動相為 0.3 M 醋酸/ 0.2M 醋酸納緩衝溶液，注射體積為 100 uL，流速為 0.5ml/min，偵測器為雷射光散射微差黏度儀，分析軟體為：TriSEC Data acq.。

【粉體特性解析】

測定項目包括：bulk density，tapped density，Carr's index，Repose 和水分含量。利用粉體測量儀 (A.B.D. Fine Particle Characteristics Measuring Instrument (Japan)) 於測量粉體樣品的 bulk density，tapped density，與 repose angle。 Carr's index 是以 tapped density 與 bulk density 之差值對 tapped density 的比值計算而得。粉體樣品的水分含量是以 OHAUS Moisture Determination Balance (Model MB200, OHAUS Co., USA) 來測量. Apparent particle density 則利用 nitrogen-air pycnometer (Automated Gas Pycnometer, Model PYC-G100A-1, Porous Materials Inc., Ithaca, New York, USA) 來測量.

【直打物性評估】

評估項目包括：直壓成錠性、排錠壓力、有效做功、臨界成錠壓力、抗張強度和彈性恢復強度。由 tableting tester 可測得不同時間下壓力變化與粉體受壓力位移變化之數據，對每一錠片均可由其不同壓錠力對粉體壓力位移變化作圖（ orce－Displacement plot ）。由受壓粉體位移之變化可轉換得其粗密度(bulk density)之變化，可與壓力變化作圖求得 Heckle plot，將 Heckle plot 進行回歸即可求得一斜率，斜率之倒數即為臨界成錠壓力（yield pressure） 粉體產生塑性形變所需之最小壓力，又根據 Force－Displacement plot，利用 F_{weff} 對 displacecment 作積分，可以得到壓錠過程中欲製造顆粒間鍵結所施與之功。但此處實驗數據僅可得到 Force－Displacement plot 中 Increasing part 之部份，故只能求得所施與錠片之功 (input work)，此功可能被錠片排出 (ejection) 以及壓錠後膨脹 (expansion) 所作之功消耗，剩下才是真正造成錠片鍵結之功 (effective work)。四者可得一關係：

Effective work= Input work-(Ejection work+Expansion work)

彈性恢復程度的測試如下，打好的錠片立刻測其厚度，測定完畢後馬上置於 desicator 中 24 小時後再測定其厚度。並以以下公式計算其彈性回復程度：

$$E\% = (E_{2nd} - E_{1st}) \ / \ E_{1st} \times 100\%$$

【質體建構】

所欲進行細胞轉染體外試驗的質體 DNA 為 p-Enhanced Green Flurorescence Protein-C1 (p-EGFP-C1)，購自 CLONTECH。GFP 是腔腸動物 jellyfish *Aequorea Victoria* 的傘狀帽緣可發綠色螢光的蛋白質，由 238 個胺基酸組成，而 p-EGFP-C1 是將原始的 GFP 以基因工程方式在 Phe64 以 Leu 取代，Ser65 以 Thr 取代，在哺乳類細胞中有較明亮的螢光及較強的基因表現，其特定激發波長是 488nm，放射波長是 507nm。經由 E coli.大量複製質體後，以電泳膠片分析方式確認量產所得之質體 DNA 片段與實驗所需之 DNA 相同，鑑定質體 DNA 所用之酵素為 λ HindIII。

【絲瓜去乙醯幾丁質與 DNA 之奈米微球複合物製備】

分別製備絲瓜去乙醯幾丁質溶液（5 mM 的醋酸鈉緩衝液，pH 5.5，內含 0.02 % 絲瓜去乙醯幾丁質）與 DNA 的溶液（25 mM 的硫酸鈉溶液，內含 1 μg/ml 的 DNA），以進行絲瓜去乙醯幾丁質與 DNA 之奈米微球複合物（nanoparticles）之製備。取等量之兩種溶液後，利用高速震盪器混合 15-30 秒，靜置後即可得絲瓜去乙醯幾丁質與DNA之奈米微球複合物，並進行之後的DNA被包覆之含量測定。

【細胞培養和轉染試驗】

由台北醫學大學生物醫學材料研究所蘇慶華所長實驗室所提供之human cervix epithelial carcinoma cells（HeLa cell）細胞株，建立其繼代培養之技術。將HeLa cell利用含10%小牛血清之DMEM在含5%二氧化碳，37℃的培養箱內培養。將細方移植到6-well的培養皿內培養（$8x10^4$ cells/ml）培養24小時後，再將絲瓜去乙醯幾丁質與DNA之奈米微球複合物加入培養皿中，共同培養48小時後，利用螢光顯微鏡和流式細胞儀對基因轉染之表現做測定及分析。

結果與討論

將粉碎的纖維利用濃度 50%NaOH 溶液於三組不同的高溫下(90℃，110℃，130

℃)，分別處理不同的時間(1hr，3hr，5hr)後，經鹼水解，再利用超高速過濾方式將混合液進行透析，並經過冷凍乾燥即可得到去乙醯幾丁質。利用 PVSK 膠體滴定法探討去乙醯幾丁質在不同條件的鹼處理下，所產生的去乙醯化程度與其反應時間與反應溫度之間的相關性，依此定義可得到所需物性之去乙醯幾丁質的適宜化反應條件，並計算在不同條件鹼水解下的產率，以作為製備去乙醯幾丁質為後續的應用開發。表一為不同條件鹼水解的去乙醯幾丁質的去乙醯化程度，由實驗結果發現，隨著鹼水解時溫度的提高，去乙醯幾丁質的去乙醯化程度越高，而最高產率之絲瓜去乙醯幾丁質則是以 50% NaOH 在 130℃溫度下處理 2 小時所得到（如圖一所示）。利用膠體滲透層析法(GPC, gel permeation chromatography)可測得去乙醯幾丁質的分子量，隨著鹼水解時溫度和時間的提高，去乙醯幾丁質的分子量會隨之下降。由於絲瓜去乙醯幾丁質的產量不高，無法收集足夠量以完成粉體特質解析。因此，為修飾這部分的實驗條件，製備絲瓜去乙醯幾丁質的方法採用：利用配製 45% KOH 時，溶液本身的放熱來進行去乙醯化，而不再額外進行加熱，等到溶液溫度降為室溫時，再收集絲瓜去乙醯幾丁質。用此方法可得到較高的產率，以順利進行之後的粉體特質解析。在粉體特質解析方面，將實驗所得的絲瓜幾丁質與去乙醯幾丁質分別和其他五種粉體比較（市售的去乙醯幾丁質 Wako10、Wako100、Wako500 和經由靈芝和市售幾丁質所製備之去乙醯幾丁質），其結果如表二，三種市售品 Wako10、Wako100、Wako500 其分類方法為黏度之不同，其在粉體特性可以發現，以 Wako500 之流動性最佳，其次是靈芝所萃取出之去乙醯幾丁質，再者是絲瓜去乙醯幾丁質，絲瓜幾丁質和市售製備出的去乙醯幾丁質在流動性方面的表現差不多。再藉由真密度的測量和掃描室電子顯微鏡做進一步的粉體特性探討。在直打物性的評估方面，選用五種不同物性之去乙醯幾丁質（wako10、wako100、wako500、Sacchachitosan 和絲瓜去乙醯幾丁質）評估影響直壓成錠性之因素。評估項目包括：直壓成錠性、排錠壓力、有效做功、臨界成錠壓力、抗張強度和彈性恢復強度。試驗結果顯示 Sacchachitosan 表現出不佳的成錠性，而在壓製曲線下顯示這五種去乙醯幾丁質在有效作功上無顯著差異，如

圖二所示。由圖三可以發現wako10 與wako 100排錠壓力較高。圖四為Heckel plot計算之臨界成錠壓力，可以發現其五者並無顯著差異。但在壓力抗張強度的表現上卻是明顯wako10 與wako 100高於其他三者，如圖五所示。而在圖六之彈性恢復程度的測定結果可說明wako10 與wako 100為何有較好之抗張強度。

分別取不同比例之絲瓜去乙醯幾丁質溶液與DNA的溶液（1/1，1/2，1/3，1/4，1/5），以高速震盪器混合15-30秒，靜置後所得之絲瓜去乙醯幾丁質與DNA之奈米微球複合物，利用電泳膠片實驗進行DNA被包覆測定的結果發現，其包覆的效果並不如市售幾丁質好，可能的原因為絲瓜去乙醯幾丁質除了含有N-acetylglucosamine 及 Glucosamine 還含有其他醣類小分子，所以帶有的正電荷不如市售幾丁質豐富，因此包覆的DNA較少，但若是能夠達到基因轉染的效果，則此結果將可以忽略。將絲瓜去乙醯幾丁質與 DNA 之奈米微球複合物加入培養皿中，共同培養 48 小時後，利用螢光顯微鏡和流式細胞儀對基因轉染之表現做測定及分析。由於背景值之干擾太大，因此利用螢光染色劑 propidium iodine（PI）對死細胞進行染色，以降低背景值的干擾。所進行之比較包括不同黏度和分子量之市售幾丁質產品，和經由絲瓜所萃取得之絲瓜去乙醯幾丁質。將市售幾丁質產品，和經由絲瓜所萃取得之絲瓜去乙醯幾丁質，與 DNA 之奈米微球複合物體外之轉染試驗結果顯示，市售產品分子量 150kDa 的幾丁聚醣比分子量 400kDa 和600kDa 有較明顯的螢光強度，而黏度 200-400mPa.s 的幾丁聚醣有較佳的基因轉染表現。而經由絲瓜所萃取得之絲瓜去乙醯幾丁質，其在細胞轉染方面和對照組的表現差不多，雖然經由螢光顯微鏡可以觀察到螢光表現（如圖七所示），但是在流式細胞儀上的分析結果並沒有顯著的差異，可能是因為其結構中所能攜帶正電荷部分的單元體較少，在與市售幾丁質的比較之下，能包覆的質體DNA較少，所以基因遞送進入細胞的比例也可能較低（如圖八所示）。

結論

1. 以 50% NaOH 在 130℃溫度下處理 2 小時，可得到最高產率之絲瓜去乙醯幾丁質。
2. 在粉體特性方面，市售的去乙醯幾丁質中 Wako500 之流動性最佳，其次是靈芝所萃取出之去乙醯幾丁質，再者是絲瓜去乙醯幾丁質，而絲瓜幾丁質和市售製備出的去乙醯幾丁質在流動性方面的表現差不多。
3. 五種不同物性之去乙醯幾丁質（wako10、wako100、wako500、Sacchachitosan 和絲瓜去乙醯幾丁質）的直壓成錠性結果顯示出 Sacchachitosan 的成錠性不佳；而在壓製曲線下顯示這五種去乙醯幾丁質在有效作功上無顯著差異，另由 Heckel plot 計算之臨界成錠壓力亦同樣無顯著差異。
4. 在壓力抗張強度的表現上， wako10 與 wako 100 明顯高於其他三者，此現象由彈性恢復程度之測定結果可說明 wako10 與 wako 100 為何有較好之抗張強度。另外，樣品中以 wako10 的排定壓力為最大，其粉體顆粒分佈亦為五種材料中最小。
5. 由轉染實驗可以發現市售產品能將基因帶入 HeLa cell，而經由絲瓜所萃取得之絲瓜去乙醯幾丁質，雖然並沒有顯著的轉染效果， 但還是具有轉染的效能。其較為準確之轉染機轉和測定方法，還需日後更進一步之探討。

文獻參考

[1] Singla A. K. and Chawla M., (2001) Chitosan: some pharmaceutical and biological aspects- an update. J. Pharm. Pharmacol.53: 1047-1067.

[2] Pankaj R. Rege, Dhruti J. Shukla, Lawrence H. Chitinosans as tableting excipients for modified release delivery systems Block International Journal of Pharmaceutics 181 (1999) 49–60

[3] Yomota C. Miyazaki T. Okada S. Sustained-release effect of the direct compressed tablet based on chitosan and Na alginate. Yakugaku Zasshi - Journal of the Pharmaceutical Society of Japan. 114(4):257-63, 1994 Apr.

[4] Singla AK. Chawla M. Chitosan: some pharmaceutical and biological aspects--an update. Journal of Pharmacy & Pharmacology. 53(8):1047-67, 2001 Aug.

[5] Borchard G. Junginger HE. Modern drug delivery applications of chitosan. Advanced Drug Delivery Reviews. 52(2):103, 2001 Nov 5.

[6] Ilango R. Kavimani S. Jaykar B. Umamaheshwari G. Dissolution studies on tablets of ibuprofen using chitosan. Indian Journal of Experimental Biology. 37(5):505-8, 1999 May.

[7] Felt O. Buri P. Gurny R. Chitosan: a unique polysaccharide for drug delivery. Drug Development & Industrial Pharmacy.
24(11):979-93, 1998 Nov

[8] Illum L. Chitosan and its use as a pharmaceutical excipient. Pharmaceutical Research. 15(9):1326-31, 1998 Sep.

[9] Sabnis S. Rege P. Block LH. Use of chitosan in compressed tablets of diclofenac sodium: inhibition of drug release in an acidic environment. Pharmaceutical Development & Technology. 2(3):243-55, 1997 Aug.

[10] Miyazaki T. Komuro T. Yomota C. Okada S. Usage of chitosan as a pharmaceutical material effectiveness as an additional additives of sodium alginate. Eisei Shikenjo Hokoku - Bulletin of National Institute of Hygienic Sciences. (108):95-7, 1990.

[11] Inouye K. Machida Y. Nagai T. Sustained release tablets based on chitosan and carboxymethylcellulose sodium. Drug Design & Delivery. 1(4):297-305, 1987 May.

[12] Sawayanagl Y. Nambu N. Nagai T. Directly compressed tablets containing chitin or chitosan in addition to mannitol. Chemical & Pharmaceutical Bulletin. 30(11):4216-8, 1982 Nov.

[13] E. Tomlinson and A. P. Rolland. J. Control Rel., 39 (1996) 357-372.

[14] C. H. Su, C. S. Sun, S. W. Juan, C. h. Hu and M. T. Sheu. Biomaterials, 18 (1997) 1169-1174.

[15] N. Acosta, C. Jimenez and A. Heras. Biomass and Bioenergy. 5 (1993) 145-151.

[16] A. C. Wu and W.A. Bough. MIT Sea Grant Program, Cambridage, MA. (1978) pp88

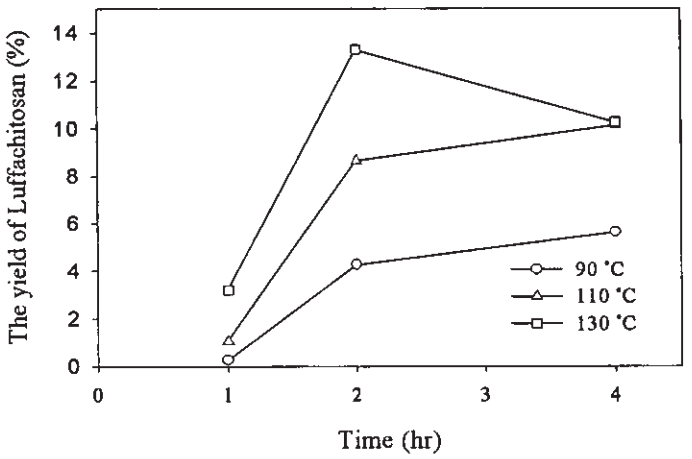
[17] C.V. Lusena and R.C. Rose. J. Fish. Res. Board Can. 10 (1953) 521-526.

表一、不同條件鹼水解的去乙醯幾丁質的去乙醯化程度

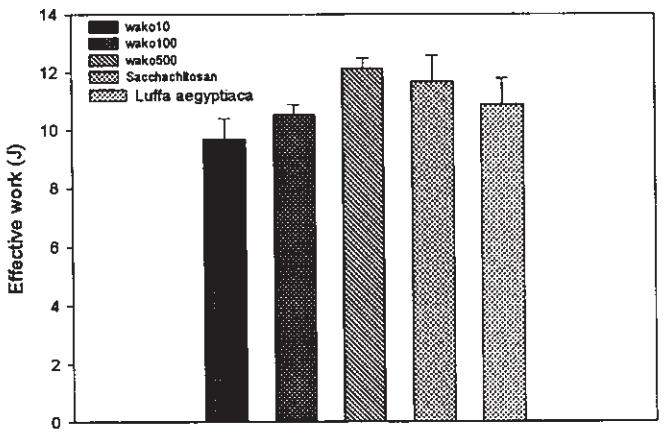
	90℃	110℃	130℃
1hr	76.9%±0.0291	87.2%±0.0040	98.5%±0.0135
3hr	70.3%±0.0214	85.8%±0.2211	95.0%±0.0409
5hr	70.6%±0.0268	86.5%±0.0143	97.7%±0.0235

表二、粉體特性之解析

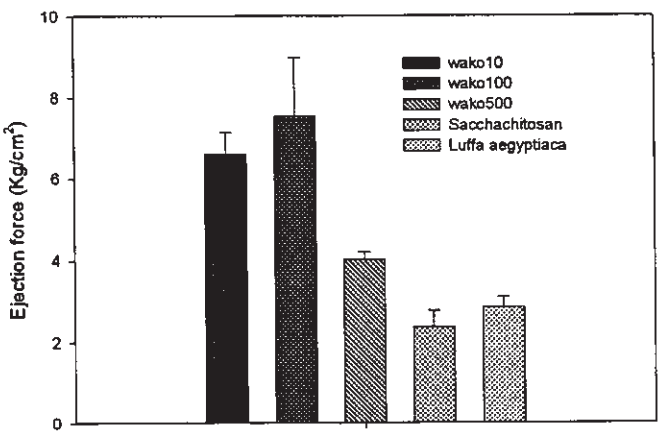
	bulk density (g/ml)	tapped density (g/ml)	Carr's index	Repose (deg)	Water content (%)
wako10	0.335±0.001	0.483±0.013	30.61±0.86	44.00±0.00	13.8
wako100	0.244±0.003	0.356±0.009	31.38±0.91	44.67±0.58	12.6
wako500	0.252±0.004	0.294±0.004	14.00±0.21	35.33±0.58	8.7
絲瓜幾丁質	0.107±0.001	0.147±0.003	27.20±0.85	48.33±0.58	9.8
絲瓜去乙醯幾丁質	0.114±0.002	0.147±0.001	22.37±0.63	44.33±0.58	11.8
Sacchachitosan	0.169±0.001	0.213±0.001	20.38±0.47	40.00±0.00	18.3
市售幾丁質	0.043±0.001	0.060±0.001	29.46±0.63	45.00±0.00	16.7



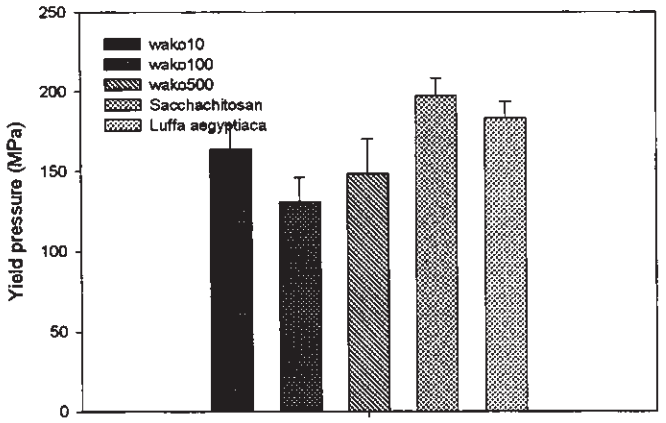
圖一、不同處理的條件對去乙醯幾丁質產率的影響



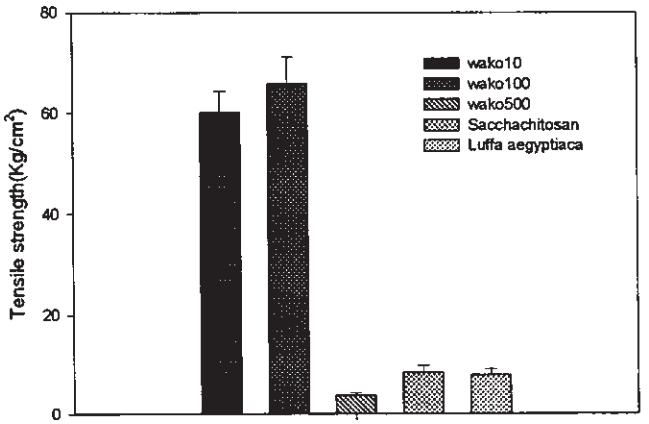
圖二、五種去乙醯幾丁質之有效作功



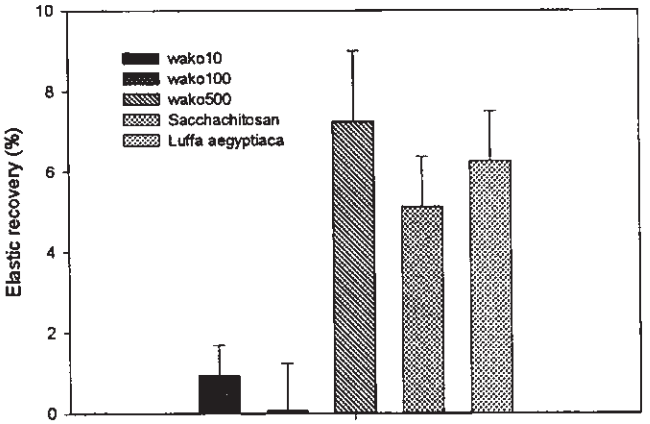
圖三、五種去乙醯幾丁質之排錠壓力



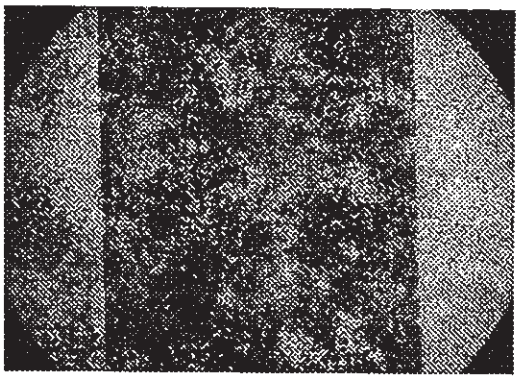
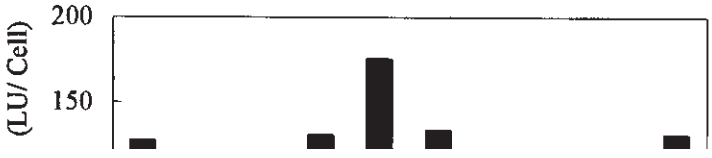
圖四、五種去乙醯幾丁質之臨界成錠壓力



圖五、五種去乙醯幾丁質之壓力抗張強度



圖六、五種去乙醯幾丁質之彈性恢復程度



圖七、螢光顯微鏡觀察絲瓜去乙醯幾丁質與DNA之奈米微球複合物的轉染效果