

行政院國家科學委員會補助
大專學生研究計畫研究成果報告

* *****
* 計 畫
* : 以 Gellan gum 為基材製備組織黏著劑
* 名 稱
* *****

執行計畫學生： 曾友棣
學生計畫編號： NSC 101-2815-C-040-005-E
研究期間： 101年07月01日至102年02月28日止，計8個月
指導教授： 李明偉

處理方式： 本計畫涉及專利或其他智慧財產權，2年後可公開查詢

執行單位： 中山醫學大學醫學檢驗暨生物技術學系（所）

中華民國 102年04月02日

大專學生參與專題研究計畫研究成果報告

計畫名稱：以 Gellan gum 為基材製備組織黏著劑

執行計畫學生：曾友棣

學生計畫編號：101-2815-C-040 -005-E

研究期間：101 年 7 月 1 日至 102 年 2 月底止，計 8 個月

指導教授：李明偉

執行單位：中山醫學大學 醫事檢驗暨生物技術學系(醫事檢驗組)

中華民國 102 年 3 月

研究計畫內容:

(一)摘要

(二)研究動機與現行生物組織劑

(三)文獻回顧

- 1.Gellan gum 來源和結構
- 2.Gellan gum 生化和物化特性
- 3.現行皮膚黏著劑原理與製備機制
- 4.研究計畫實驗製備機制

(四)實驗方法

- 1.IR紅外線光譜儀測試
- 2.NMR
- 3.機械強度測試-拉伸測試
- 4.機械強度測試-黏度測試
- 5.細胞毒性試驗
- 6.Animal model

(五)參考文獻

(六)需要指導教授指導內容

一、摘要

Gellan gum 是一種多醣類，是通過美國 FDA 及歐盟認可的材料，可以應用在食品，亦可被作為藥物傳遞的載體以及組織工程的細胞載體。與其他多醣類做比較，gellan gum 對熱及酸較穩定、可以調整的彈性及堅硬度、高透光度，且具有活性基團，適合進行化學性質改變，其生物相容性及可降解性是生醫材料必備的優點。

為了要發展新的組織黏著劑，本計畫是以 gellan gum 作為基材利用共價鍵與 ADH 反應後再與 biotin 結合，最後利用 biotin 與 streptavidin 有很高的親和性，以非共價鍵結合，形成 gellan gum 凝膠，因為現有組織黏著劑比較昂貴，所以未來將繼續發展其是否可代替現有組織黏著劑使用。

二、研究動機與現行生物組織劑

皮膚表面出現傷口，最廣泛的還是使用包紮的方式，但是近年來有新的東西產生，稱為組織黏著劑，而理想的組織黏合劑至少具備無毒、無致癌等良好的生物相容性及保持無菌，常溫常壓下能快速黏著且不能妨礙人體組織自身的癒合，癒合期間不僅黏著強度要能持久，達到使用效果後還能逐漸降解吸收，且癒後黏合部位要有適合的彈性和韌性等基本要求。這不僅可以使用在小傷口，需要縫合的傷口也

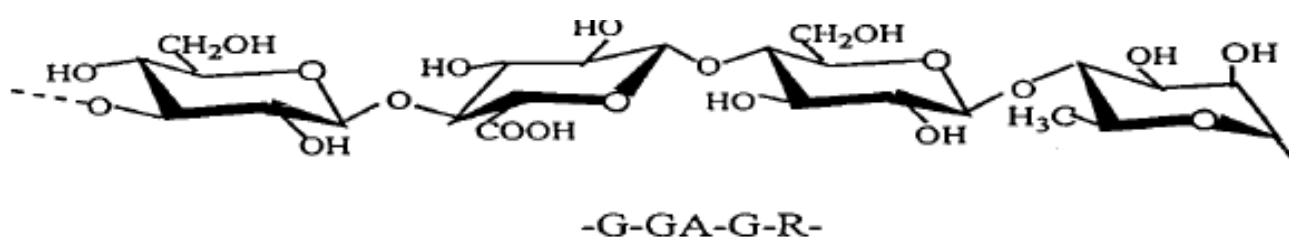
可應用，而且塗上後過不久就可以碰水。目前所使用的生物組織黏著劑，大致分為三種類型(1)血纖維蛋白膠 (fibrin glue)，如 Tissucol®。(2)氰丙基酸鹽化學合成黏著劑 (cyanoacrylates)，如 Trufill®。(3)蛋白膠黏著劑 (protein crosslinked glue)如 BioGlue®。而現行的組織黏著劑主要是以纖維蛋白(fibrinogen)加上凝血蛋白(thrombin)合併的使用，也是市面上最主要的組織黏著劑，但以上的組織膠不可能包含五種最理想的性質，可能產生的缺點有免疫反應的產生，價格較昂貴，或者是黏著性不佳，甚至感染的問題。因此，我們利用 gellan gum 作為基材共價鍵結 biotin，然後藉由 biotin 與 streptavidin 高親和力結合，使原本為水狀的 gellan-biotin 形成凝膠狀態，測試此凝膠是否有成為黏著劑的特性，希望可以製備出比現行更多優點的組織黏著劑。

(三)文獻回顧

1.Gellan gum 來源和結構

Gellan gum 中文稱為結蘭膠或是結冷膠，合成附著在細胞表面或分泌到胞外溶液中的無定形黏液，即是微生物胞外多醣(Exopolysaccharide,EPS)[9]，又稱微生物代謝膠，它是取自於一種非病原性的菌株-Sphingomonas elodea ATCC 31461 所分泌的膠體，如要形成膠狀物質需要一價或是二價陽離子存在之下才能形成膠狀物質，其中以二價陽離子形成膠狀物值的能力優於一價陽離子，所凝固的膠狀物體類似於洋菜膠。

Gellan gum成品為白色粉末狀，分子量為 5×10^5 ，Gellan gum屬於一種高分子聚合物，又Gellan gum單體結構為 β -D-1,3-glucose, β -D-1,4-glucuronic acid, β -D-1,4-glucose,和 α -L-1,4-rhamnose [Fig1]。Gellan gum可藉著廣泛且多樣化的陽離子形成凝膠，也可與酸中的氫離子(H^+)作用，和陽離子結合形成聚合物分子並形成凝膠。其中兩個葡萄糖個別接有乙酯和甘油酯基。Gellan gum自然形式中，以每單位約有1.5個O-醯基基團，其中單體結構中有O-乙醯取代基和O-甘油醯取代基，後者多於前者，甘油醯基位於3-連接成鍵的葡萄糖殘基的2位，乙醯基則在6位上。O-醯基很容易被鹼脫除，從而由自然形式的Gellan gum得到脫醯基形式^[3]。Gellan gum的單體結構當中，其中兩個葡萄糖個別接有乙酯和甘油酯基。而葡萄糖醛酸會被中和而被K、Na、Ca、Mg等的鹽類，且還原端的羥基可能與官油酸或是乙酸的羥基形成糖苷酯。



(G= β -D-1,3-glucose,GA= β -D-1,4-glucuronic acid,R= α -L-1,4-rhamnose)

Fig 1. Gellan gum 之單體結構圖

2.Gellan gum 生化和物化特性

Gellan gum水溶液粘度隨濃度的升高增大，溫度升高而減小，pH 值影響很小。流變學角度而言Gellan gum在 0.01% ~0.04% 的範圍呈假塑性流體特性，當結蘭膠含量大於 0.05%時，則基本上呈凝膠狀液體。低質量分數的Gellan gum的流變學類型接近Cross模型，該體系具有剪切稀化性、觸變性及屈服應力，三者均隨Gellan gum質量分數的增大而增大。Gellan gum流變學特性依賴於膠體濃度，溶液溫度，45 °C，1.5%的體系中呈現牛頓特性；5~20 °C，0.5%的溶液呈非牛頓特性。不添加鹽離子的Gellan gum溶液表現出牛頓特性，添加單價和二價鹽離子，有很強的非牛頓特性，如表現出屈服應力、觸變性和高度的剪切稀釋特徵，這些是典型的“流體凝膠”特徵^[9]。

天然Gellan gum的主鏈上因為連接有醯基，也會因醯基比率差異不同而不同，醯基的目的是使得所形成的凝膠能比較柔軟，富有彈性而且粘著力強。脫醯基的Gellan gum由於主鏈上的醯基部分或全部被除去，使得分子間空間阻礙作用明顯減弱，形成凝膠能力增強，具有強度大、易脆裂的特點。雖然高醯基Gellan gum體比低醯基Gellan gum膠體柔軟，但是在高溫下高醯基結冷膠比低醯基Gellan gum在構象上更有次序，因此高醯基Gellan gum的結構本質卻更穩定。兩者混合時高醯基Gellan gum含量越多保水性、彈性越好，混合膠可形變能力可比低醯基Gellan gum大為兩好，凝膠溫度也高於低醯基Gellan gum，從而可見

高醯基/低醯基的比例對膠體性質的影響比較大。

3. 現行皮膚黏著劑原理與製備機制

以 Tissucol® 這個產品來舉例:

該產品是仿造人體凝血過程的最後步驟在數分鐘內形成生理性 fibrin 架構。這 fibrin 架構是一個三維化的網狀結構。隨後增殖為纖維織母細胞。這纖維織母細胞所添入的膠原合成能幫助受傷部位的組織連結。在這同時纖維蛋白(fibrin)漸漸被吸收，組織形態上與血管外的纖維蛋白(fibrin)被分解是相同。fibrin 分解的速度，一方面是周圍組織的纖維蛋白溶解活化物(fibrinolytic activity)與所移入的顆粒細胞(granulocytes)及吞噬細胞(macrophages)，而另一方面是受纖維蛋白溶解(fibrinolysis)抑制劑 aprotinin 含量的影響。纖維蛋白溶酶原(plasminogen) 在 Tissucol 溶液裏含量極少，由周圍組織釋放纖維蛋白溶酶活化物(plasminogen activators)活化纖維蛋白溶酶原

(plasminogen)進而轉變成纖維蛋白溶酶(plasmin)，此酶分解纖維蛋白(fibrin)把它分解成連續的小型可溶性的纖維蛋白分解產物(FDP)，此纖維蛋白分解產物(FDP)由顆粒細胞(granulocytes) 及吞噬細胞(macrophages)吞噬分解，進入傷口組織與纖維母細胞(fibroblasts) 繼續被分解。凝血酶(Thrombin)與抗凝血酶 III (Antithrombin III)形成一個複合物，在有 Aprotinin 與鈣離子存在之下會將此複合物分解。

BioGlue® :

BioGlue® 是一種蛋白膠黏著劑，改善了血纖維蛋白膠與氰丙基酸鹽化學合成黏著劑應用上的缺點。其主要利用化學交聯劑將蛋白質交聯成膠體的原理應用在組織黏著上，是利用戊二醛(glutaraldehyde)混合牛血清蛋白分子，與生物組織之胞外基質共同交聯成膠，可以為塗上黏著劑的地方形成密封，而可以達到防止血液及體液滲漏的效果。它可以在兩分鐘達到最大黏著強度。

4. 研究計畫實驗製備機制

Gallen-biotin streptavidin reaction mechanism:

取 0.2g 溶於 40ml 的二次水裡，於 90°C 下加熱至完全溶解，冷卻至室溫。加入相對於 Gallen gum 單體莫耳為 5 倍的 ADH(0.81g)，再用 0.01N HCL 將溶液的 pH 值維持在 5.5，然後在 25°C 下反應 30 分鐘。再加入相對 Gallen gum 單體莫耳為 5 倍之 EDC(0.89g)繼續反應 3 小時。之後，加入 4 倍體積之 95% 乙醇溶液(160ml)使 Gellan gum-ADH 產物沉澱終止反應。將溶液離心後，取沉澱物溶於二次水，再倒入乙醇溶液作沉澱，重複此步驟 3 次用來純化產物(將未接枝上 gallen 的 ADH

洗掉)，保存於乾燥箱中。之後，將 Gallen-ADH 在加入 PBS 中(pH 7.4)，加入 NHS-Biotin，然後再 25°C 下反應 3 小時，加入 4 倍體積之 95% 乙醇溶液(160ml)使產物沉澱終止反應。

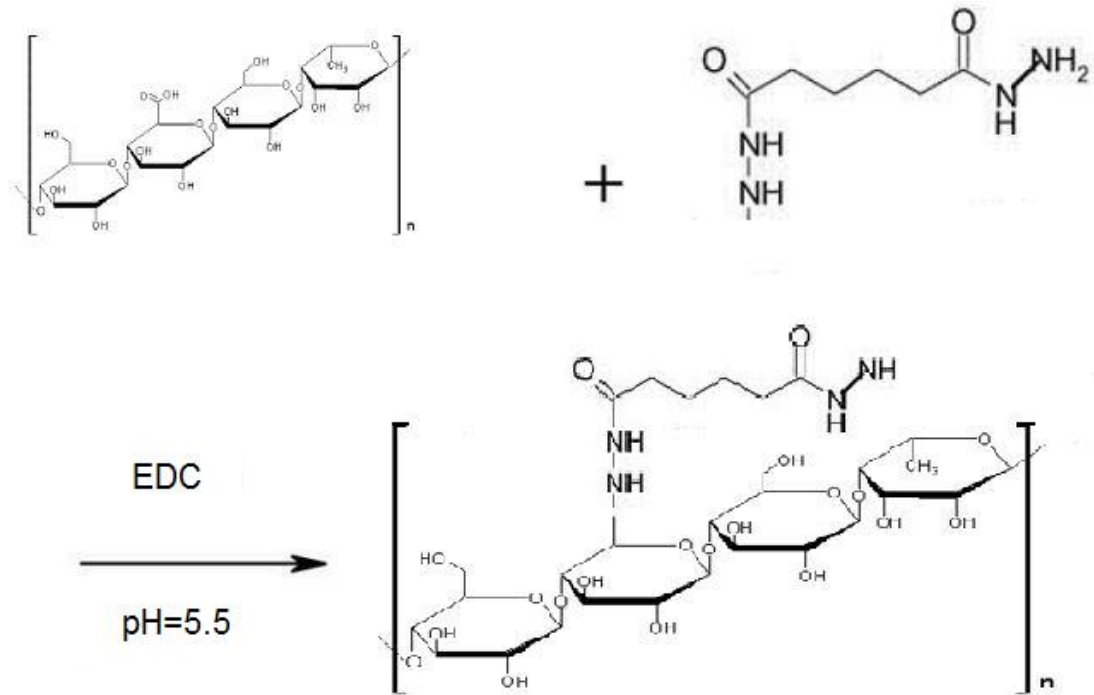


Fig 2. Gallen gum 共價鍵結 ADH 機制圖

Gallen-Biotin-Streptavidin

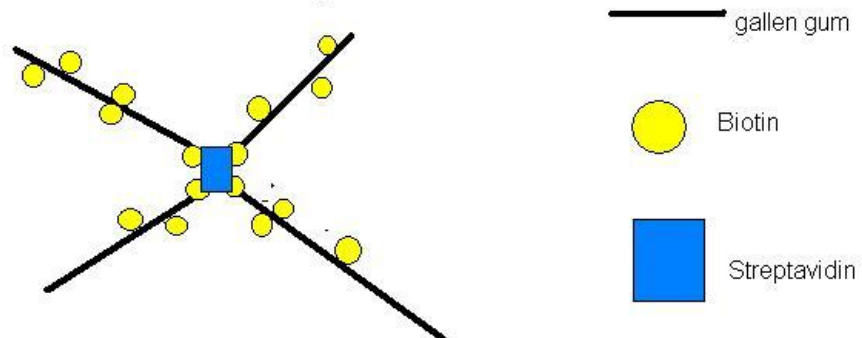


Fig 3.以 gellan-biotin 與 streptavidin 以 1 : 4 比例混和反應機制圖

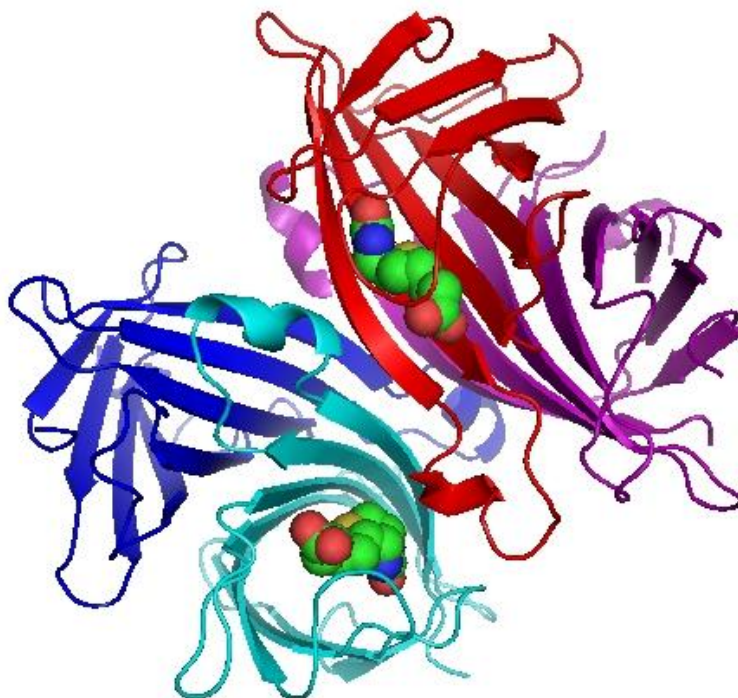


Fig 4.Biotin-Streptavidin 結合圖

(四)實驗方法

1. IR紅外線光譜儀測試

IR 是用來鑑定有機化合物得一種工具，是研究化學分子或化學物種因為吸收或發射紅外線輻射，而在某些震動的模式下產生波動，藉助於紅外線光譜的分析使化合物的結構及含量可以測定。

依震動又可分為：

特徵頻率區($4000\sim 1300\text{cm}^{-1}$) 其可顯現分子的一些官能基的吸收頻率。

指紋區(1300cm^{-1} 以下)可顯現分子結構的細微差異。

由此可以比對Gellan-ADH 和Gellan-biotin 在分子結構及官能基的差異。

2. NMR

取Gellan gum-ADH 20mg溶於D₂O中，已NMR spectrum(500MHz，Bruker Advance DRX500)分析產物結構與ADH接枝比率

3. 機械強度測試-拉伸測試

由於皮膚黏著劑是要作為表皮貼附之用，所以需要有一定的彈性及柔軟度，且想要知道交聯過後其機械強度是否有增強，所以要測試其可拉伸的程度。

根據ASTM D882 標準之下，放置於拉伸試驗機下以300mm/min 的拉伸速率測試凝膠的抗拉強度及深長量變化，再將其結果求取平均值。

$\Delta L(\text{長度的變化量})/L_0(\text{原長度})\times 100\%$

4. 機械強度測試-黏度測試

利用黏度分析儀來測試gallen-biotin-streptavidin的黏度，然後在使用一般市面上的組織黏著劑(使用Tissucol®)來做黏度測試，作為對照組，以兩邊所測出來的數據來比較，是否與一般市售組織膠相同或是有更高之黏度。

5. 細胞毒性試驗

Gallen-biotin-streptavidin 細胞毒性試驗是用 Ciapetti et al.[10]來測試體外細胞可行性得測試，此試驗是利用 Gallen-biotin-streptavidin 萃取出稀釋後與老鼠的 subconjunctive tissue cell 來做反應，細胞培養是使用 NCTC Clone 929 line (ATCC-CCL1)這個方法來培養(培養 conjunctive cell)。使用酚溶液與 HDPE (high density polyethylene)萃取出分別作為正操作組與負操作組。計算可行性的百分比與細胞控制有關，算完後通過圖表來表示，使用 IC50%來作細胞毒性指標來比對。(IC50%萃取出物的濃度會傷害或殺死 50%的細胞)

6. Animal model

利用動物實驗來證明 Gallen-biotin-streptavidin 在表皮上是否有成為組織黏著劑之效果。從樂斯科公司購入 300g 的 rat(品種：SD)，使用兩隻老鼠作為實驗組和對照組，利用手術刀在小白鼠身上劃出一道傷口，將對照組老鼠的傷口使用縫合技術做處理，實驗組將傷口敷上 Gallen-biotin-streptavidin，然後以三天為一個單位，觀察其傷口變化，對照兩組傷口的癒合情況，來做比較，測是黏著復原效果。

(五)參考文獻

- [1]Donkerwokke, Burny M, Muster FD. Tissues and bond adhesive historical aspects. *Biomaterials*, 1998; 19:1461.
- [2] A. J. Jay, et al. Analysis of structure and function of gellans with different substitution patterns. *Carbohydrate Polymers*, 1998;35(3-4):179-188.
- [3] J. Tang, M A. Tung, and Y Zeng. Compression strength and deformation of gellan gels formed with mono-and divalent cations. *Carbohydrate Polymer*, 1996; 29(1):11-16.
- [4] Rinaudo, M., Role of Substituents on the Properties of Some Polysaccharides. *Biomacromolecules-Washington*, 2004.5(4): 1155-1165.

[5] 衛署菌疫輸字第 000769 號, "Tissucol duo quick “百特” 組織修復凝合劑,"2004

[6] Green, NM. "Avidin". *Advances in protein chemistry* , 1975.**29**: 85–133

[7] Dechancie, Jason; Houk, K. N. "the Origins of Femtomolar Protein–Ligand Binding: Hydrogen Bond Cooperativity and Desolvation Energetics in the Biotin–(Strept)Avidin Binding Site". *Journal of the American Chemical Society* , 2007.**129** (17): 5419–29.

[8] Wu, SC; Wong, SL. "Engineering Soluble Monomeric Streptavidin with Reversible Biotin Binding Capability". *Journal of Biological Chemistry* ,2005.**280** (24): 23225–31.

[9] SL. Tomić, EH. Suljovrujić, JM. Filipović. "Biocompatible and bioadhesive hydrogels based on 2-hydroxyethyl methacrylate, monofunctional poly(alkyleneglycol)s and itaconic acid" *Polymer Bulletin* , 2006.**57**:691–702.

[10] Ciapetti G, Granchi D, Verri E, Savarino L, Cavedagna D, Pizzoferrato A ,1996.*Biomaterials* 17:1259

(六)需要指導教授指導內容

目前實驗進行到 gallen-ADH 交聯反應，有待進一步去利用 NMR 來偵測其結構與接枝比率，與 IR 圖譜的比對，確認後才能大量製造 gallen-biotin-streptavidin 粉末，進行機械強度的測試和細胞的培養與細胞毒性測試，這些都是沒有接觸過的測試，所以還需要老師的指導。

生醫材料是我以前比較少接觸，期望藉由接觸後可以在這一個領域學到一些技能與經驗，而且生醫材料也可以與我所學到的生物技術做結合，希望經過實驗與老師的指點後可以找到自己未來的方向與興趣，然後盡自己最大的力量去執行

(七)結果

一、

NMR

二、

1.膜的外觀

2.water content &gel content

3.IR 紅外線光譜

4.animal model

(七)結果 一

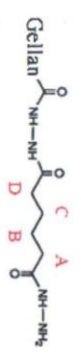
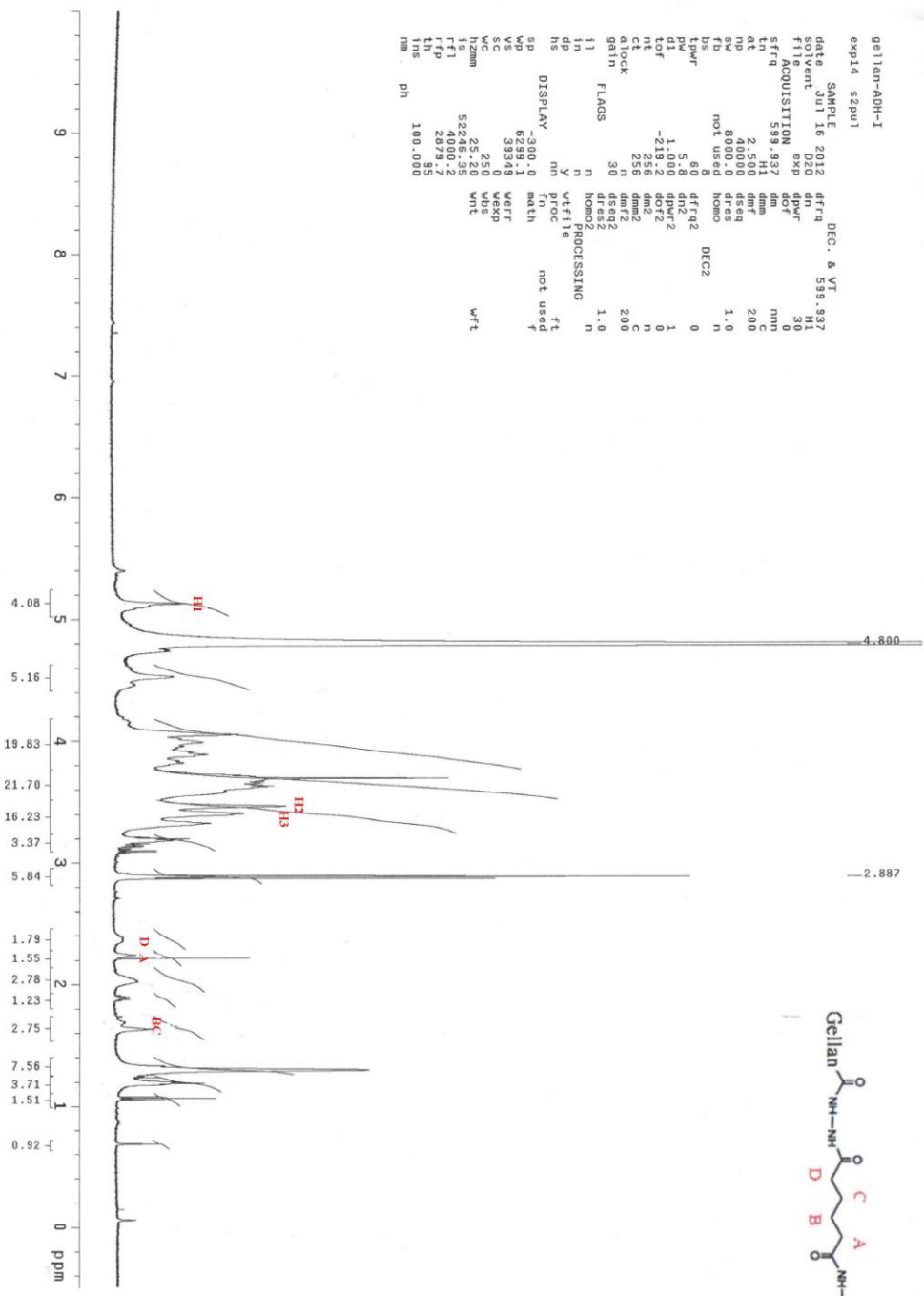
本研究目前已將 Gellan gum 和 ADH 進行偶和，由 NMR 圖譜分析 Gellan gum 醣類的氫主要的 peak 皆出現在 3ppm 至 5ppm 之間，而 ADH 的 peak 主要出現在 1~2ppm 之間，兩者吸收峰不會重疊，因此不會影響 ADH 接枝上 Gellan gum 的定性與定量。Gellan gum 單醣上的環第一個碳所帶的氫(H1 表示)出現在 5.1ppm，而第二和第三個碳帶的氫(H2、H3)則出現在 3.2ppm 和 3.7ppm 之間。另外，接枝上的 ADH 其結構類似烷類(-CH₂-)，氫出現的位置在 1.69ppm(以 B、C 標示)；2.2ppm 為接枝上的 ADH 中間兩個烷類旁外側探鎖黛的氫(以 A 標示)，2.4ppm 為接枝上的 ADH 中間兩個烷類內側碳所帶的氫(以 D 標示)。

gellan-ADH-I

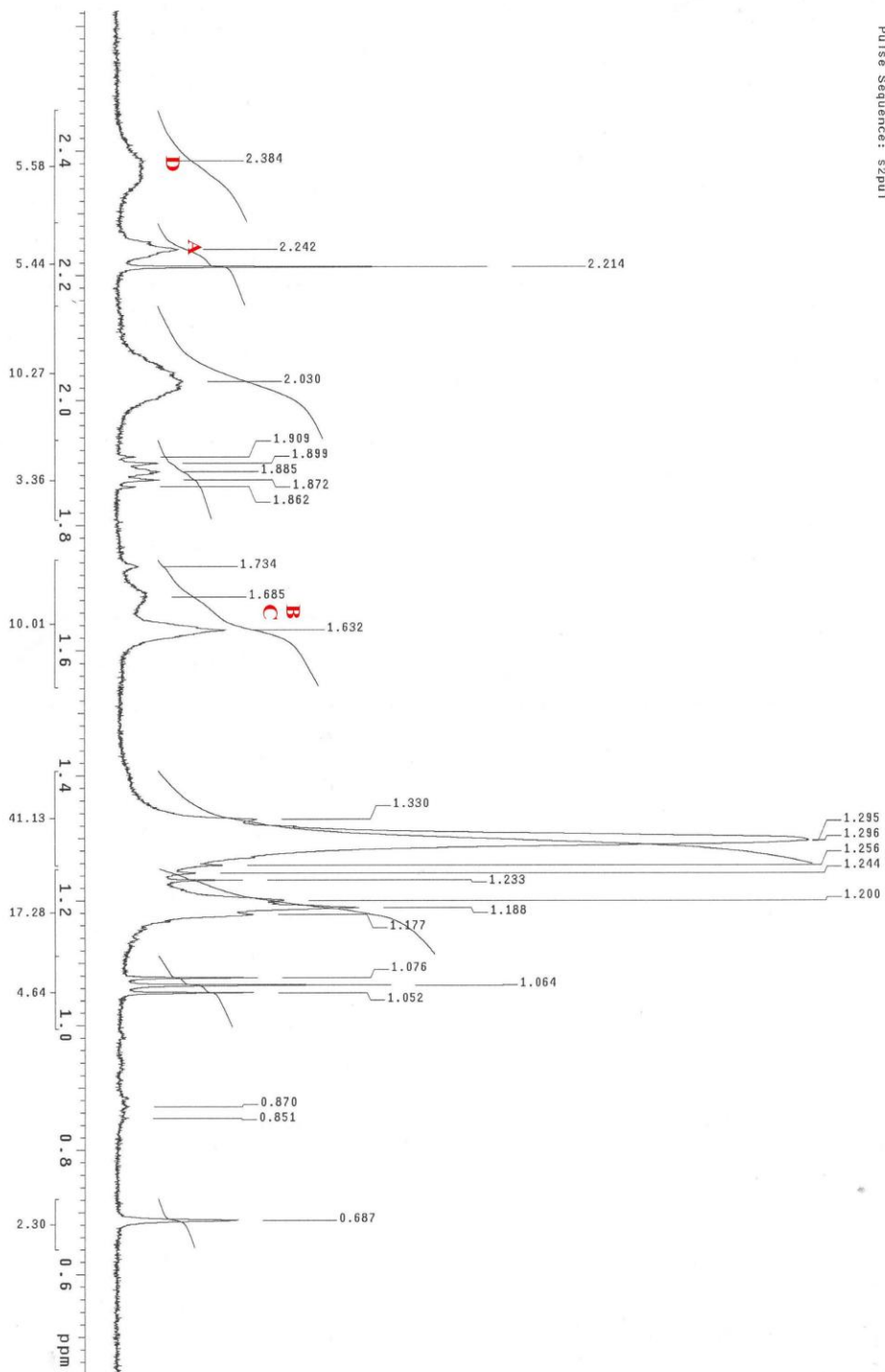
```

expid  s2put
SAMPLE  date Jul 16 2012  DEC. & VT  599.937
SOLVENT  D2O  dn  1.103
T1  30  dt  3.0
ACQUISITION  smp  dot  0
sfrq  599.937  dm  0  mm
tn  2.50  dnm  200
nt  40000  dres  1.0
sw  8000.0  dres  1.0
fd  not used  homo  DEC2  0
lwr  60  dfrq2  0
pw  5.8  dh2  1
d1  1.000  dpr2  1
sd  1.000  dpr2  1
nt  -2.256  dm2  n
ct  256  dm2  n
clock  n  dm2  200
gain  30  ds42  1.0
fl  n  homo2  n
in  n  wflte  n
dp  n  wflte  n
ns  y  wflte  n
DISPLAY  -300.0  math  not used f
sp  6299.1  werr  0
vc  339.0  wexp  0
sc  0  wbs  0
wc  250  wnt  0
h2mm  522.120
rf1  4000.2
rfp  2879.7
th  95
ms  100.000
ph

```



gellian-ADH-1
Pulse Sequence: s2pu1



但實驗到此發現，ADH 與實驗室之 biotin 皆帶-NH₄，因此不能鍵結，因此將 ADH 去除，換成 biotin，因此化合物變成 Gellan-biotin，但將 biotin 接上後，加入 streptavidin 後發現其黏稠效果不如預期，因此在不改變計畫本質，以 gellan gum 為基材製作皮膚黏著劑之計畫修改成 **gellan-HA(hyaluronic acid)膜製作機制**

取 0.75g gellan 與 0.75g HA 分別加入 150ml 二次水中，Gallen gum 需加熱至 90°C 讓其完全溶解，HA 在常溫下溶解，混合均勻，然後準備 9 支離心管，以 HA:Gallen=3:7、5:5、7:3 分成三份，每支離心管有不同比例 30ml 的 HA 與 Gellan gum，HA 與 Gellan gum 混合均勻後以 3000rpm 離心 5 分鐘去除氣泡。

準備 9 個盤子，標上記號分別放入不同比例的 HA 與 Gallen，放進烘箱，等待兩天，將膜取下後，晾乾，取 0.086g 之 EDC 溶入 30ml 配置好的 80% 酒精，將膜泡進配置好的 EDC 溶液進行交聯，浸泡一天，隔天將浸泡的膜放入 95% 的酒精中浸泡一天後晾乾。

實驗方法：

1. IR 紅外線光譜儀測試

IR 是用來鑑定有機化合物得一種工具，是研究化學分子或化學物種因為吸收或發射紅外線輻射，而在某些震動的模式下產生波動，藉助於紅外線光譜的分析使化合物的結構及含量可以測定。

依震動又可分為：

特徵頻率區(4000~100cm⁻¹) 其可顯現分子的一些官能基的吸收頻率。由此可以比對 Gellan gum-HA EDC 交聯 和 Gellan gum-HA 在分子結構及官能基的差異。

2. 機械強度測試-拉伸測試

由於皮膚黏著劑是要作為表皮貼附之用，所以需要有一定的彈性及柔軟度，且想要知道交聯過後其機械強度是否有增強，所以要測試其可拉伸的程度。根據 ASTM D882 標準之下，放置於拉伸試驗機下以 300mm/min 的拉伸速率測試凝膠的抗拉強度及深長量變化，再將其結果求取平均值。

$\Delta L(\text{長度的變化量})/L_0(\text{原長度}) \times 100\%$

3. 透氣度測試

根據 ASTM E96 BW 標準之下，作為敷傷材料，必須要考慮到如何將傷口表免的水分散失減到最低及透氣的重要性，將 Gellan gum-HA 與 EDC 交聯的膜將其裁成適當大小，並利用透氣度測試機，於室溫下測試，再將其結果求取平均值。

4. gel content water content

要了解Gellan film 的含水量及含膠量，及測試是否交聯成功，所以需做此實驗：

膜含水量測試(water content):將Gellan gum-HA 交聯EDC之薄膜裁成1cmX2cm大小， $n>5$ ，置入烘箱內乾燥，待膜重量不再改變秤得乾重 W_d 。將膜浸在二次水中，於室溫24hr 後取出，將膜以濾紙吸乾膜表面水分後再秤重，秤得濕重 W_w 。含水量(water content)= $(W_w - W_d) / W_w \times 100\%$

膜含膠量測試

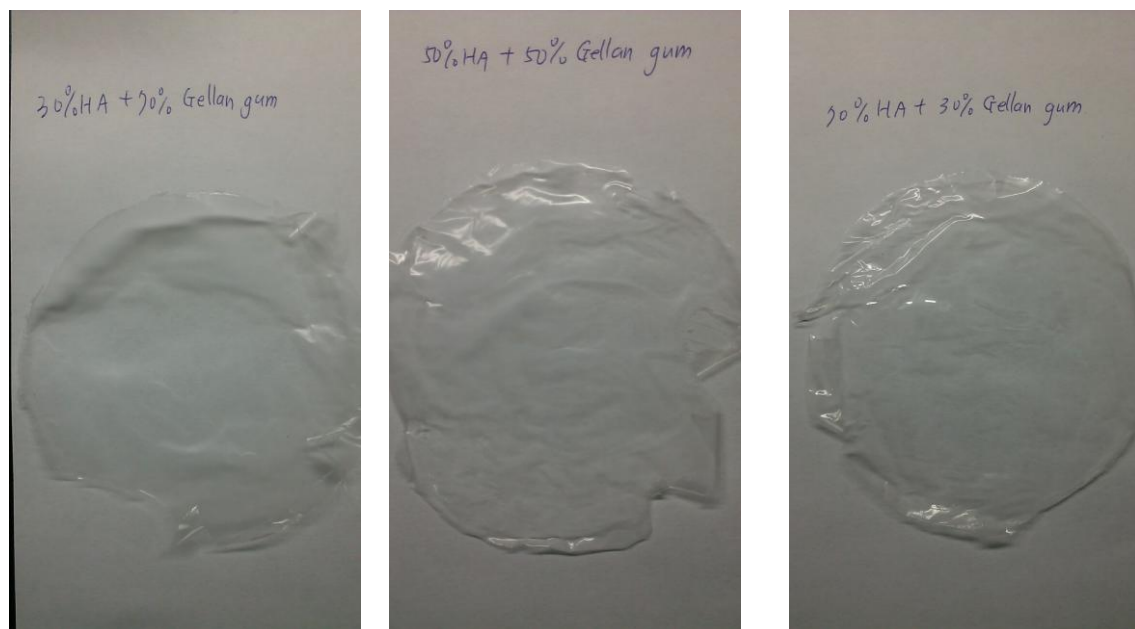
將膜裁成1X2 大小，置入烘箱內乾燥，待膜重量不再改變秤得重量為 W_a 。在浸泡二次水24hr，取出秤重 W_b 。含膠量(gel content) $W_a / W_b \times 100\%$

5. Animal model

利用動物實驗來證明 Gellan gum-HA 在表皮上是否有成為組織黏著劑之效果。從樂斯科公司購入 300g 的 rat(品種：SD)，使用兩隻老鼠作為實驗組和對照組，利用手術刀在小白鼠身上劃出一道傷口，將對照組老鼠的傷口使用縫合技術做處理，實驗組將傷口敷上 Gellan gum-HA，然後以三天為一個單位，觀察其傷口變化，對照兩組傷口的癒合情況，來做比較，測試黏著復原效果。

七、結果 (二)

1. 膜的外觀



以上三張是做出來的膜，外觀並沒有具體的差別

由左到右分別是 30% 的 HA+70% Gellan gum、50%HA+50%Gallen gum、70%HA+30% Gellan gum

2. Water content & Gel content

以 gel content 和 water content 來評估不同濃度的 Gellan gum-HA 膜在相同濃度的 EDC(0.086g)溶於酒精(95%30ml)溶液的交聯情況。water content 可以用來觀察膜的帶水量，HA 濃度越高之膜，其含水量要越高；gel content 表示膜的含膠量，用來觀察膜的交聯反應好壞，交聯反應佳的膜，gel content 百分比越高，水解掉的膠越少；交聯反應越差的膜，gel content 百分比越低，水解掉的膠越多。

以下是使用 1(cm)X2(cm)大小薄膜的各種濃度之重量(g)

- 30% HA+70% Gellan gum

24hr 吸水前烘乾重	24hr 吸水重	24hr 吸水後烘乾重
0.0064	0.0102	0.0065
0.0068	0.0099	0.0063
0.0068	0.0098	0.0063
0.0055	0.0094	0.0069
0.0066	0.0071	0.0056
0.005	0.0074	0.006
0.0056	0.0069	0.0067
0.0065	0.0077	0.0053
0.0052	0.011	0.0048
0.0064	0.009	0.0051
平均 0.00608	0.00884	0.00595

- 50% HA+50% Gellan gum

50%24hr 吸水前烘乾重	50%24hr 吸水重	50%24hr 吸水後烘乾重
0.0053	0.0064	0.0051
0.0067	0.0075	0.0065
0.005	0.006	0.0047
0.0054	0.0059	0.0058

0.0062	0.0069	0.0053
0.0056	0.0078	0.0054
0.0058	0.0072	0.0041
0.0044	0.0086	0.0051
0.0056	0.0075	0.0044
0.0051	0.0056	0.0048
平均	0.00551	0.00694
		0.00512

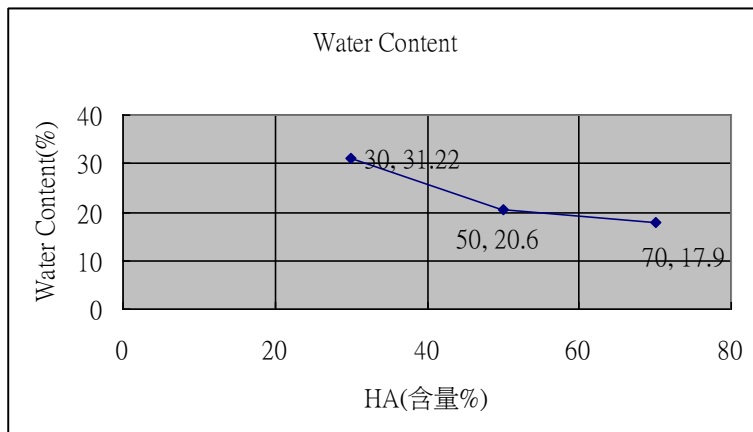
● 70% HA+30% Gellan gum

70%24hr 吸水前烘乾重	70%24hr 吸水重	70%24hr 吸水後烘乾重
0.0067	0.0063	0.005
0.0047	0.0068	0.0049
0.005	0.0088	0.0047
0.006	0.0077	0.0065
0.005	0.0057	0.0056
0.0053	0.0053	0.0056
0.0048	0.0061	0.0047
0.006	0.0085	0.0046
0.0069	0.0052	0.0042
0.0046	0.0066	0.0057
平均	0.0055	0.0067
		0.00515

WATER Content : 30% Gellan-HA 31.22%

50% Gellan-HA 20.6%

70% Gellan-HA 17.9%



Water Content 曲線圖

GEL Content : 30% Gellan-HA 97.8%

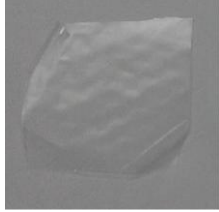
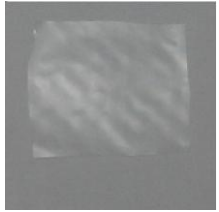
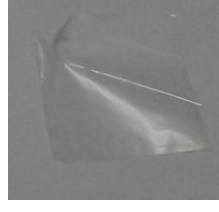
50% Gellan-HA 92.9%

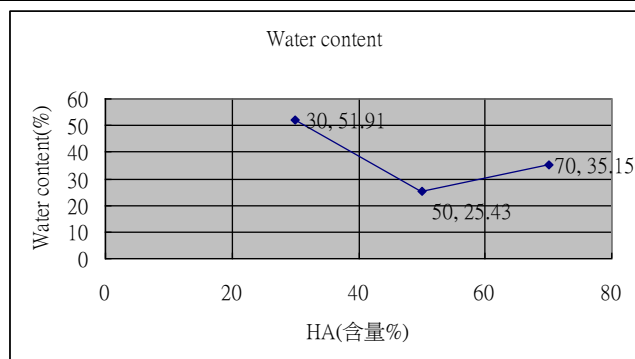
70% Gellan-HA 93.6%

正常來說，Water Content 是隨著 HA 量的增加而上升，但經由實驗後發現是下降的，因此 HA 高的薄膜吸水量是比低得少，這不符合理論的結果，因此實驗還在進行中，也與老師討論此結果之原因。

以 Gel Content 來看，流失的 Gellan gum 並不多，因此現在需要在找出原因來解決 Water Content 之問題。

另一批 Gellan gum-HA

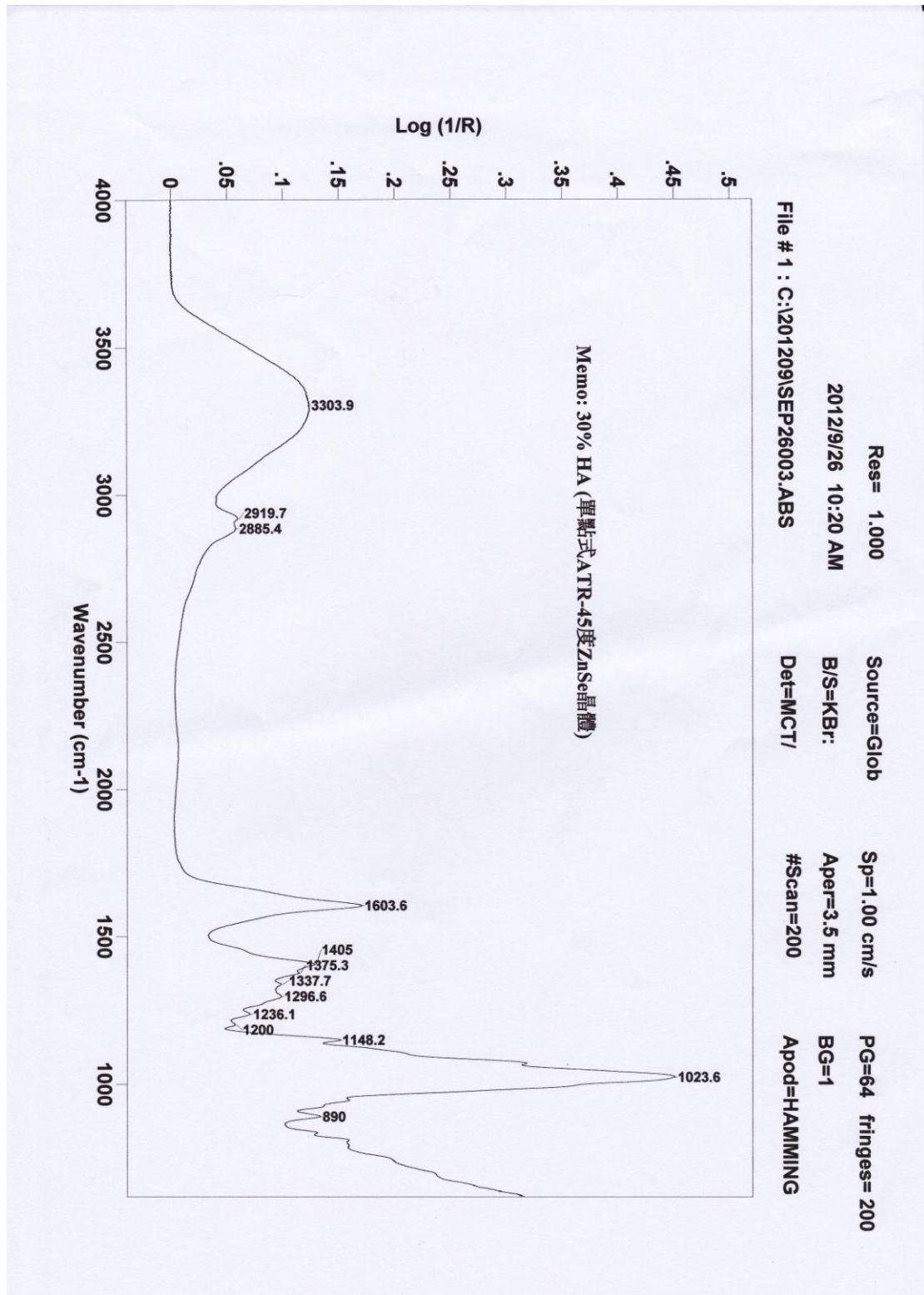
	HA 含量 30% 之 Gellan-HA 交聯 EDC 膜	HA 含量 50% 之 Gellan-HA 交聯 EDC 膜	HA 含量 70% 之 Gellan-HA 交聯 EDC 膜
2(cm)X2(cm) 大小之外觀			
厚度平均(cm)	0.0246	0.023	0.0212
24 小時吸水前 烘乾重(g)	0.01006	0.0102	0.0107
24 小時吸水重 (g)	0.02092	0.01368	0.0165
24 小時吸水後 烘乾重(g)	0.00958	0.00976	0.01028
WATER Content	51.91%	25.43%	35.15%
GEL Content	95.23%	95.69%	96.07%



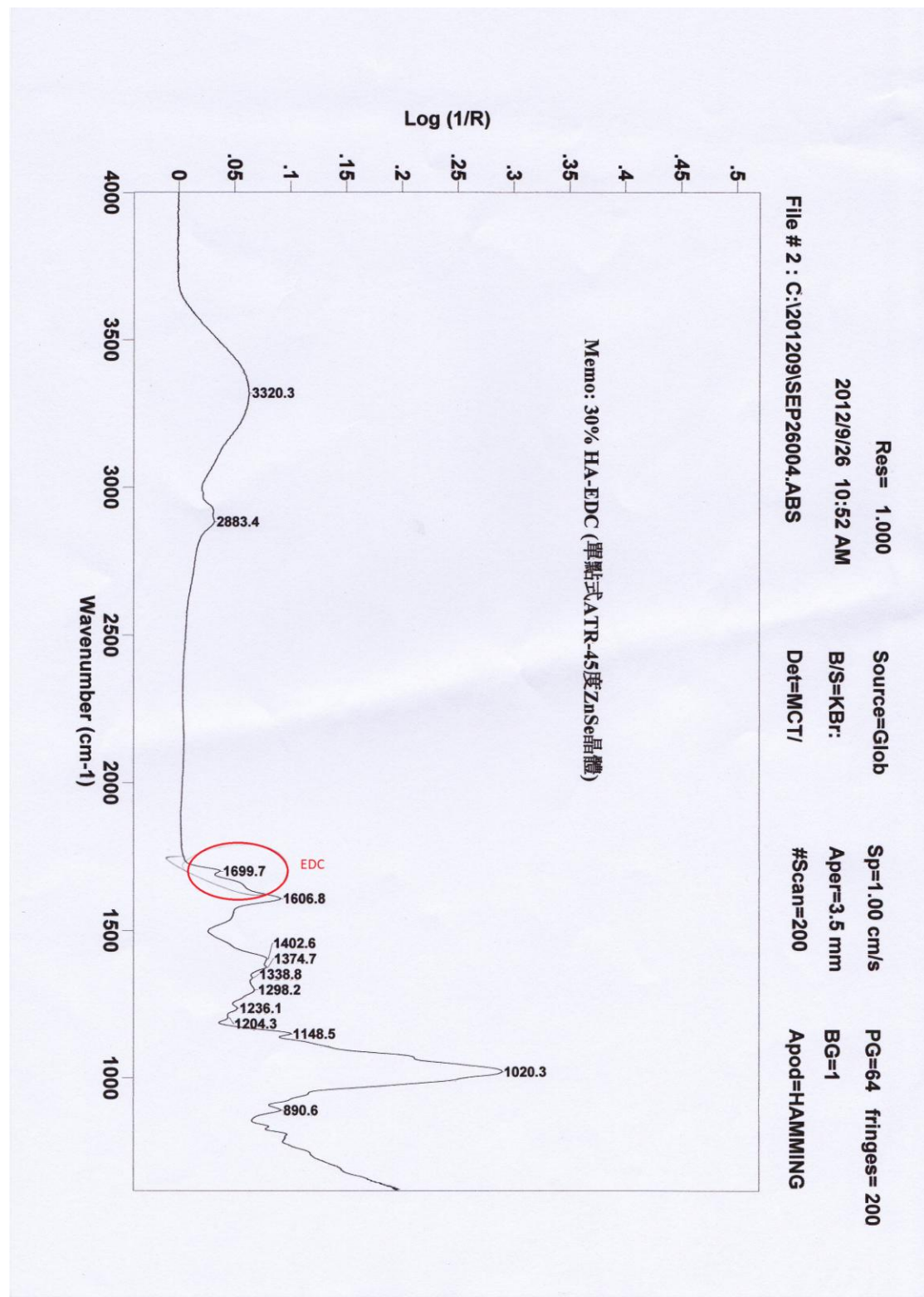
Water Content 曲線圖

3. 紅外線光譜(IR)

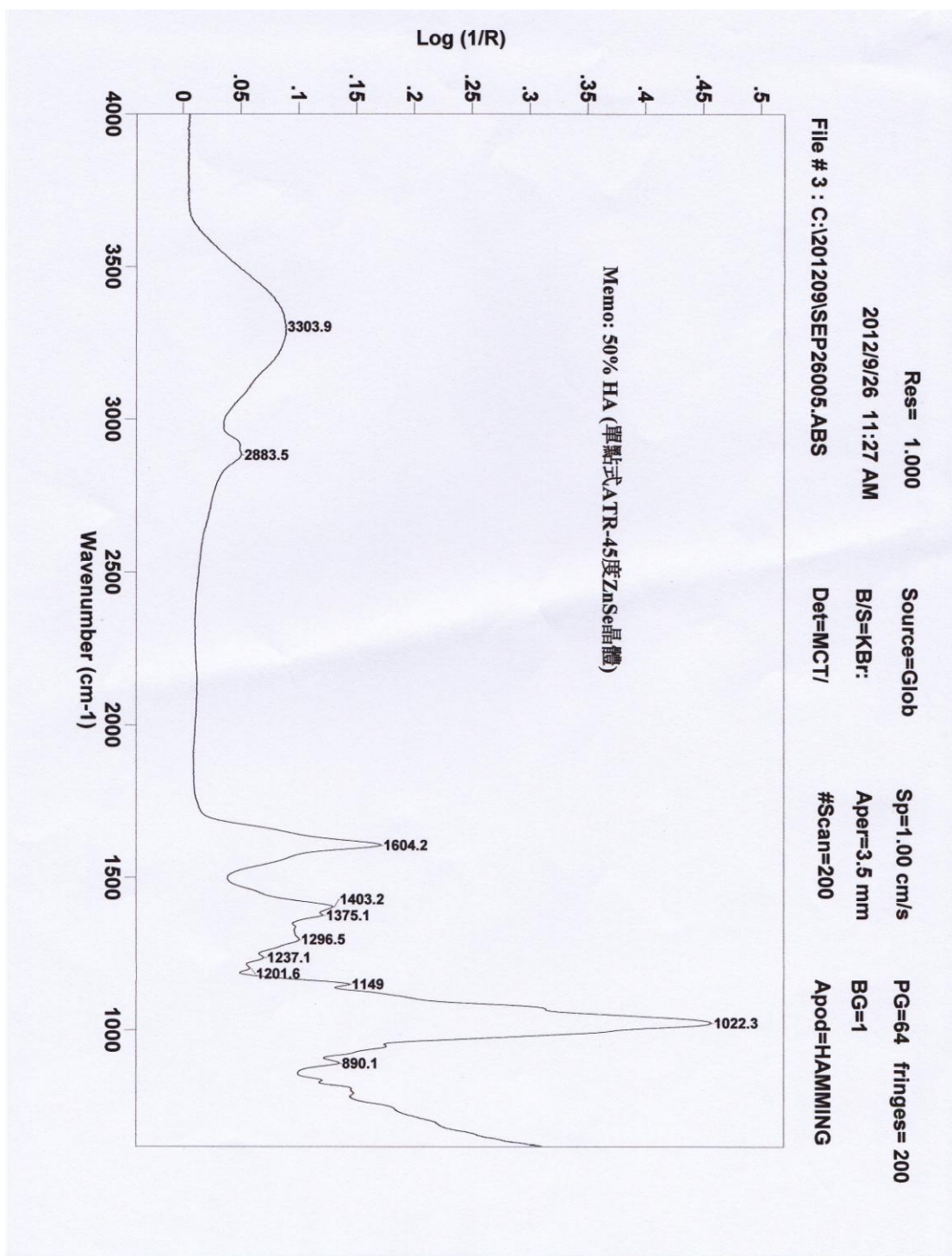
30%未交聯之 Gellan-HA 薄膜



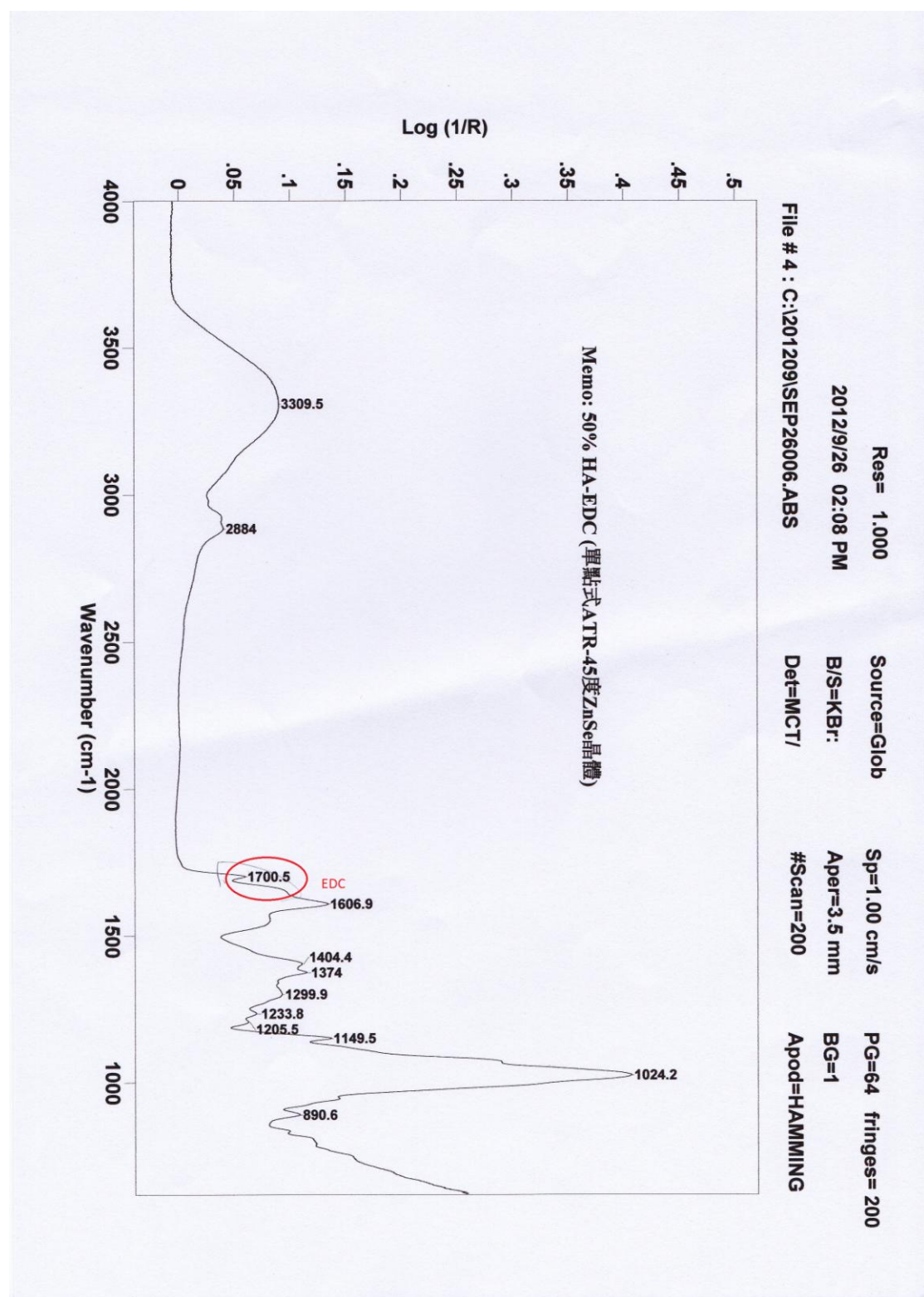
30%與 EDC 交聯之 Gellan-HA 薄膜
在紅色圈圈處表示有 EDC 之交聯的地方



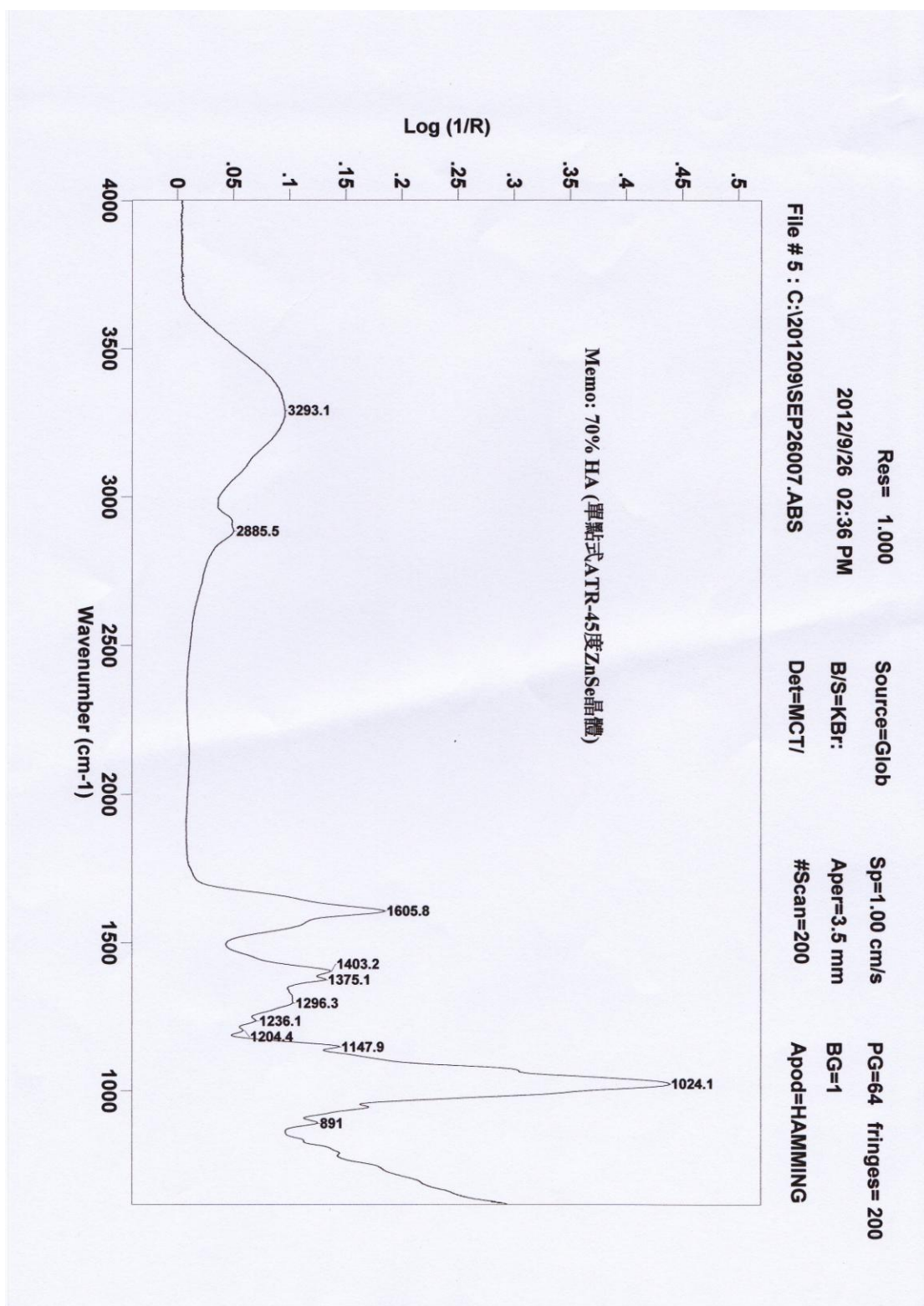
50% 未交聯之 Gellan-HA 薄膜



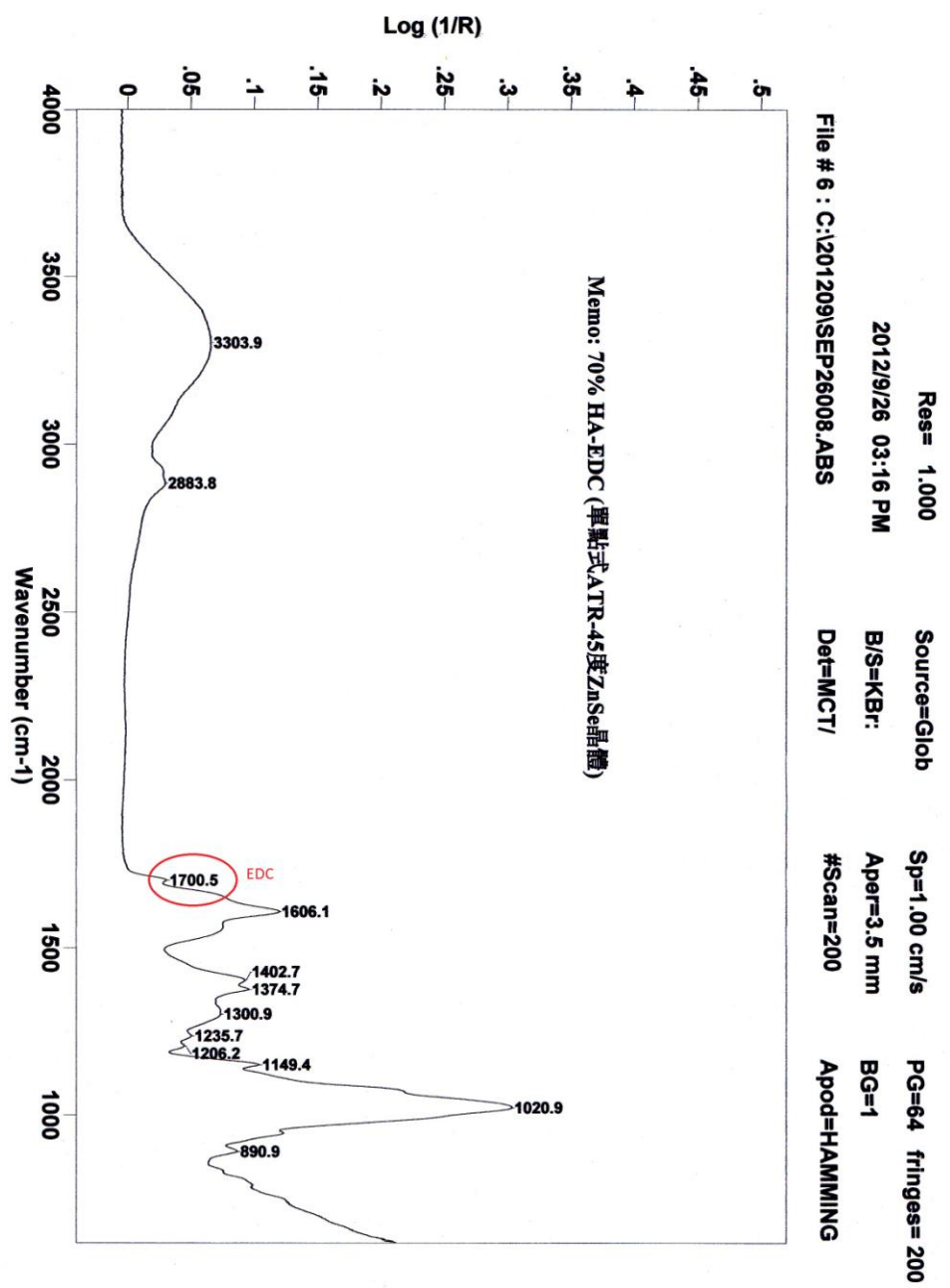
50%與 EDC 交聯之 Gellan-HA 薄膜
在紅色圈圈處表示有 EDC 之交聯的地方



70% 未交聯之 Gellan-HA 薄膜



70%與 EDC 交聯之 Gellan-HA 薄膜
 在紅色圈圈處表示有 EDC 之交聯的地方



4. Animal model

將三種不同濃度 Gellan gum-HA 膜分別裁成 1.5cmX1.5cm 的大小，敷在老鼠表面的傷口，分別都用兩隻老鼠做實驗組與對照組，已三天為一個單位觀察其傷口變化，目前實驗正在進行中。