

## 絲瓜幾丁聚醣含量測定與分析

鄔家琪<sup>1\*</sup> 張如鳳<sup>1</sup> 薛仲娟<sup>2</sup>

<sup>1</sup> 國立宜蘭大學園藝學系

<sup>2</sup> 國立宜蘭大學化學材料與工程學系

### 摘 要

絲瓜是台灣夏季重要蔬菜之一，由於含有幾丁聚醣成分，是現今頗受矚目的天然高分子材料，具有保濕、抗菌等作用，廣泛應用在生醫、食品、生技等領域。因萃取自絲瓜的幾丁聚醣分子量還不確定及所使用的高效能液相層析儀偵測器敏感度等因素，而利用標準品配置不同濃度，以分光光度計制定檢量線以求得絲瓜萃取液中幾丁聚糖含量，其不須經高倍數稀釋，可降低實驗誤差，故本研究以呈色法來檢測不同品種絲瓜不同部位幾丁聚醣含量。結果顯示絲瓜幾丁聚醣含量在不同型態品種間呈顯著差異，參試稜角絲瓜幾丁聚醣平均含量高於圓筒絲瓜，品種間最高與最低含量可相差  $5.676 \text{ mg g}^{-1}$ ，以品種‘美菱’幾丁聚醣含量最高。絲瓜不同部位幾丁聚醣含量差異更為顯著，以嫩葉中幾丁聚糖含量  $10.241 \text{ mg g}^{-1}$  最高，絲瓜露中含量  $0.884 \text{ mg g}^{-1}$  為最低，不同部位間差異達  $9.357 \text{ mg g}^{-1}$ 。本研究顯示絲瓜葉片中含有豐富的幾丁聚醣，以稜角絲瓜品種‘美菱’嫩葉中含量最高，可進一步開發利用。

關鍵詞：絲瓜、蔬菜、幾丁聚醣、機能性成分

\*通訊作者。E-mail：angwu@niu.edu.tw

# Analysis on the Luffa Gourd Chitosan Content

Chia-Chyi Wu <sup>1\*</sup>, Ju-Feng Chang <sup>1</sup>, Chung-Chuan Hsueh <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Horticulture, National Ilan University

<sup>2</sup> Department of Chemical and Materials Engineering, National Ilan University

## Abstract

Luffa gourd is an important summer vegetable in Taiwan. The chitosan of luffa gourd is a natural high polymer material that attracts attention now. Numerous studies have demonstrated that chitosan and its derivatives have various biological activities and have been proposed for diverse applications in biomedical, food, biotechnology, pharmaceutical and agricultural fields. The objectives of this study are to evaluate analysis method and the chitosan content among various luffa gourd cultivars and different parts of tissues. We used color test and High Performance Liquid Chromatography (HPLC) those two methods measured the content of chitosan. Due to the molecular weight of chitosan extraction from luffa gourd was uncertain and HPLC's detector sensitivity might not be applied to this system. Therefore, this study used color test to measure the content of chitosan from different cultivars and parts of luffa gourds. There were significantly different in chitosan content of cultivars and parts of luffa gourd. The chitosan content of angle luffa gourd was higher than that of sponge luffa gourd. The chitosan content was 5.676 mg g<sup>-1</sup> and 9.357 mg g<sup>-1</sup> between the highest and the lowest cultivars and parts, respectively. Cultivar 'Miriam' of angle luffa gourd had the highest chitosan content. Compare the chitosan content of different parts of gourd showed the highest content was 10.241 mg g<sup>-1</sup> in young leaves and the lowest content was 0.884 mg g<sup>-1</sup> in xylem sap of luffa gourd. This study showed the possibility of chitosan production and potential use from luffa gourd.

Keywords: luffa gourd, vegetable, chitosan, functional component

\*Corresponding author. E-mail: [angwu@niu.edu.tw](mailto:angwu@niu.edu.tw)

## 壹、前言

絲瓜 (*Luffa* spp.) 是葫蘆科一年生藥蔬兼用之蔓性草本植物，性喜溫暖、日照充足之氣候，根系發達，耐熱、耐濕且適應高溫多雨的季節，是台灣夏季重要的蔬菜之一。其栽培種可分為圓筒絲瓜 (*Luffa aegyptiaca* Mill.) 及稜角絲瓜 (*Luffa acutangula* (L.) Roxb.)，兩者果形有明顯差異，除嫩果食用外，其嫩葉、卷鬚、花朵均可食用。此外，絲瓜根、藤、葉、花、蒂、果實、種子、絲瓜絡、絲瓜露等全株都可入藥 (劉等, 2003)。本草綱目記載「絲瓜氣味甘平、無毒，有除熱利腸、去風化痰、涼血解毒等之效」，其莖部汁液稱為絲瓜露 (水)，一般民間均認為有清熱、鎮咳、消痰、解毒之效，更是美容潤膚之天然聖品。黃 (2003) 萃取絲瓜溶液作為生醫材料之傷口敷料，發現絲瓜萃取物薄膜能促進傷口癒合，且比紗布更能幫助組織復原。張 (2004) 以 15 種中草藥之乙醇萃取物對抑制黑色素生成與抗氧化活性之研究，發現絲瓜葉乙醇萃取物具有明顯的抗氧化能力。絲瓜藤煎劑對肺炎雙球菌、鏈球菌有抑制作用，可治家畜肺炎、氣管炎；絲瓜露能治家畜燙傷 (劉等, 2003)。絲瓜水萃取物具有抑制活性氮化物生物效應的能力 (薄, 2001)。近年社會大眾對以植物為主要來源之保健食品、藥品、美容品都需求若渴，而食用蔬果中含有許多機能性成分，值得進一步開發利用。文獻指出絲瓜含有生物活性的幾丁聚醣 (陳, 2002; 黃, 2005)。幾丁聚醣與生物體細胞有良好的生物相容性，無毒性且可被生物體分解，具有保濕、抗菌、抗氧化及增進免疫力等生物活性，可廣泛利用在生醫或農業上 (Abdelmalek *et al.*, 2017; El Knidri *et al.*, 2018)，但其來源大多來自甲殼類、昆蟲等動物，尚未有取自蔬菜。因此本研究擬先探討絲瓜不同品種與部位幾丁聚醣含量，做為日後栽培改良或利用之依據，以增加蔬菜之附加價值。

## 貳、材料方法

### 一、材料

將五個品種絲瓜 (*Luffa* spp.) 種子先行催芽，待胚根露出，再植於 50 格 (4.5 × 4.5 × 4 cm<sup>3</sup>) 穴盤中。育苗介質為根基旺 3 號，置於宜蘭大學園藝系溫室內四週，再定植於宜蘭大學實習農場試驗田中。品種「七星」 (Seven Star)、「七美」 (Seven Beauty)、「東光三號」 (Cylinder No.3) 為圓筒絲瓜，品種「三喜」 (San-C) 與「美菱」 (Miriam) 為稜角絲瓜，每一品種種植 10 株，田間採隧道棚架式栽培，行單蔓整枝，藤蔓生長至

棚架上時進行摘心，施肥及田間管理等均以一般慣行栽培。待植株成熟後，分別取不同成熟度之組織，葉片（嫩葉，葉片展開後一星期；老葉，葉片展開後三星期）、果實（嫩果，座果後 9 天果實；老果，座果後 15 天果實）、果皮（嫩果皮，座果後 9 天果實之果皮；老果皮，座果後 15 天果實之果皮）及絲瓜露。絲瓜露的採集，乃是將每一品種絲瓜莖蔓在離地約 60 公分處，先以酒精進行表面消毒後，剪斷莖蔓插入收集瓶中，14 小時後，取回實驗室進行幾丁聚醣含量分析。

## 二、幾丁聚醣的萃取與定量分析

取 2 g 樣品加入 20 ml 1% 醋酸溶液研磨，以 ADVANTEC NO.2 濾紙過濾後進行定量分析。樣品溶於 0.1M 鹽酸中，加入 0.5 mL 5% NaHSO<sub>4</sub> 和 0.5 mL 5% NaNO<sub>2</sub> 在冰浴中混合均勻進行反應。再加入 0.5 mL 12.5% NH<sub>4</sub>SO<sub>3</sub>NH<sub>2</sub>，震盪 5 分鐘後，再加入 0.5 mL 0.5% MBTH (3-methyl-2-benzothiazolone hydrazonehydrochloride) 混合均勻進行衍生化反應，最後加入 0.5 mL 5% FeCl<sub>3</sub> 進行呈色反應，以分光光度計(Thermo BioMate 3, USA) 波長 655 nm 進行吸收度偵測，另以葡萄糖胺 (Sigma-Aldrich Co., USA) 進行上述衍生化與呈色反應，以 Beer's law 方法建立檢量線。將衍生化之樣品稀釋，以波長 655 nm 偵測吸收度，將此吸收度以葡萄糖胺衍生物檢量線進行內插，即可得知經稀釋之衍生化樣品含有相當於葡萄糖胺之濃度，再乘回稀釋倍數，即是樣品含相當於葡萄糖胺之量(鍾，2004；Tsuji *et al.*, 1969)。每一樣品取自不同植株，5 重複。

## 三、統計分析

試驗以完全隨機設計，結果以 SAS 9.1 (Statistical Analysis System 9.1) 軟體進行最小顯著差異分析 (Least Significance Difference Test) 比較其 5% 之差異顯著性。試驗結果以軟體 SigmaPlot 10.0 進行繪圖。

## 參、結果討論

幾丁聚醣為葡萄糖胺的聚合物，分子結構中並無特殊發色團（如碳-碳雙鍵、羰基、偶氮雙鍵或苯環等官能基）會在紫外線-可見光區具有特定波長的吸收。是以高效能層析法 (High Performance Column Chromatography, HPLC) 檢測幾丁聚醣或葡萄糖胺時常使用折射率 (Refraction Index-RI) 偵測，其缺點為低選擇性及高偵測極限，或在波長 195 nm 左右偵測，其缺點為干擾性高，仍是低選擇性問題。因此本研究即將幾丁聚醣及葡

葡萄糖胺進行選擇性呈色反應，依據 Tsuji *et al.* (1969) 將具有一級胺基 ( $-\text{NH}_2$ ) 葡萄糖胺及幾丁聚醣重氮化後，再加入 3-methyl-2-benzothiazolinone hydrazone (MBTH) 進行偶合反應，接上特殊發色團呈現藍色，最大吸收波長在  $640\pm 20$  nm，即可進行分光光度計定量分析。以分光光度計定量分析，葡萄糖胺及幾丁聚醣在  $20\text{-}125$  mg  $\text{L}^{-1}$ ，具良好線性，且具低偵測極限。若以 HPLC 進行分析檢測，則因 UV-VIS 檢測器靈敏度不若分光光度計，是以偵測極限較高約需  $125$  mg  $\text{L}^{-1}$ ，但若是具複雜基質的樣品，仍須以 HPLC 進行分析，惟以 HPLC 進行分析前須先濃縮樣品，提高葡萄糖胺及幾丁聚醣濃度以利偵測。因萃取自絲瓜的幾丁聚醣分子量不確定及所使用的 HPLC 偵測器敏感度等因素，故不適用於本系統。葡萄糖胺和幾丁聚醣經衍生化呈色反應後再以分光光度計進行定量分析，其不須經高倍數稀釋，可降低實驗誤差。故本研究以呈色反應分析絲瓜果實、果皮、葉片及絲瓜露幾丁聚醣含量。

分析絲瓜不同品種不同部位幾丁聚醣含量，結果各品種絲瓜不同部位幾丁聚醣含量差異顯著 (圖 1)。絲瓜不同部位幾丁聚醣含量均以葉片部位含量高於其他部位。嫩葉 (葉片展開後一星期) 中幾丁聚醣含量平均  $6.739$  mg  $\text{g}^{-1}$  高於老葉 (葉片展開後三星期)  $6.652$  mg  $\text{g}^{-1}$ ，其中以品種 '美菱' 嫩葉幾丁聚醣含量  $10.241$  mg  $\text{g}^{-1}$  最高，品種 '東光三號' 嫩葉含量  $4.565$  mg  $\text{g}^{-1}$  最低 (圖 2)。嫩果 (座果後 9 天) 果實果肉幾丁聚醣含量  $2.634$  mg  $\text{g}^{-1}$  高於老果 (座果後 15 天果實)  $2.149$  mg  $\text{g}^{-1}$ ，其中品種 '七星' 嫩果幾丁聚醣含量  $3.138$  mg  $\text{g}^{-1}$  最高，品種 '三喜' 老果幾丁聚醣含量  $2.017$  mg  $\text{g}^{-1}$  最低 (圖 3)；果皮中以老果皮 (座果後 15 天果實之果皮) 含量  $2.218$  mg  $\text{g}^{-1}$  低於嫩果皮 (座果後 9 天果實之果皮)  $2.740$  mg  $\text{g}^{-1}$ ，品種 '美菱' 老果皮含量  $1.982$  mg  $\text{g}^{-1}$  最低，品種 '七美' 嫩果皮含量  $3.130$  mg  $\text{g}^{-1}$  最高 (圖 4)。絲瓜露幾丁聚醣含量以品種 '七美' 幾丁聚醣含量  $3.052$  mg  $\text{g}^{-1}$  最高；品種 '三喜' 幾丁聚醣含量  $0.884$  mg  $\text{g}^{-1}$  最低 (圖 5)。參試各品種全株平均含量可達  $3.553$  mg  $\text{g}^{-1}$ ；參試稜角絲瓜平均幾丁聚醣含量  $3.963$  mg  $\text{g}^{-1}$  高於圓筒絲瓜  $3.391$  mg  $\text{g}^{-1}$ ，其中以稜角絲瓜品種 '美菱' 全株幾丁聚醣含量平均  $4.939$  mg  $\text{g}^{-1}$  含量最高。相較於米根黴菌 (*Rhizopus oryzae*) 幾丁聚醣含量  $1.19$  mg  $\text{g}^{-1}$  (Chatterjee *et al.*, 2008) 及香菇 (*Lentinus edodes*) 幾丁聚醣含量  $6.18$  mg  $\text{g}^{-1}$  (Crestini *et al.*, 1996)，自絲瓜全株可獲取的幾丁聚醣含量並不低。尤其絲瓜葉片及果皮為農業廢棄物，絲瓜栽培過程中通常需要數次理蔓，果實也不食用果皮，而疏蔓所得的葉片藤蔓或果皮可利用其生產幾丁聚醣亦可以降低環境汙染，增加其利用價值。

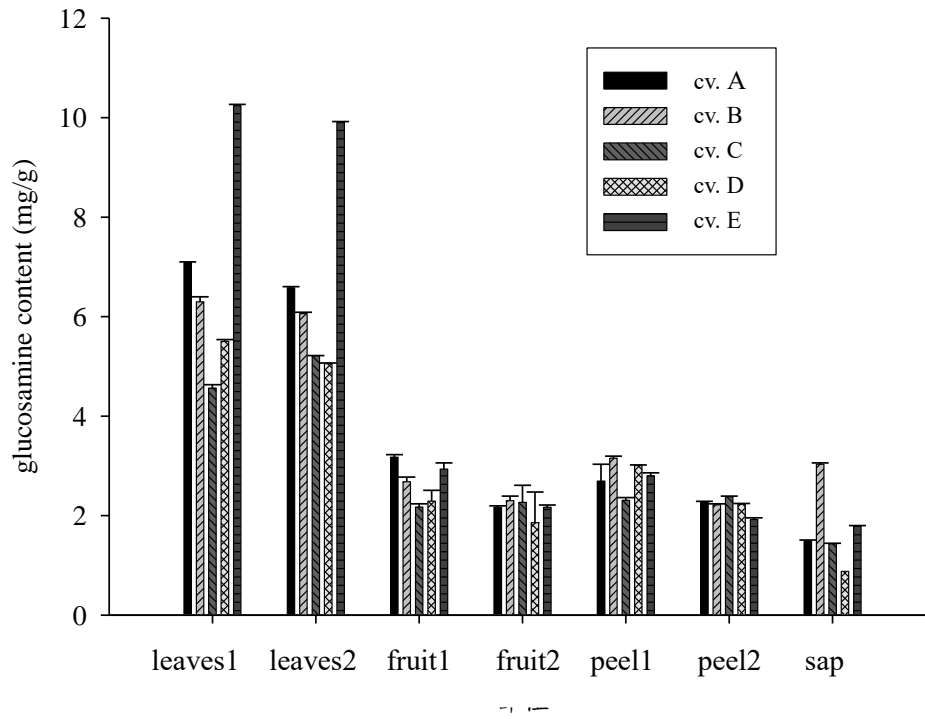


圖 1. 不同品種絲瓜不同部位幾丁聚醣含量。

Fig. 1. The chitosan contents of different luffa gourd cultivars and different parts of tissues. cv. A: 'Seven Star', cv. B: 'Seven Beauty', cv. C: 'Cylinder No.3', cv. D: 'San-C', cv. E: 'Miriam'. Leaves1: young leaves (1week after leaves fully expended); leaves2: old leaves (3 weeks after leaves fully expended); fruit1: young fruits (9 days after fruit set); fruit2: old fruits (15 days after fruit set); peel1: young fruits peels; peel2: old fruits peel; sap: xylem sap exudate. Vertical bars indicate standard error of the mean (n=5).

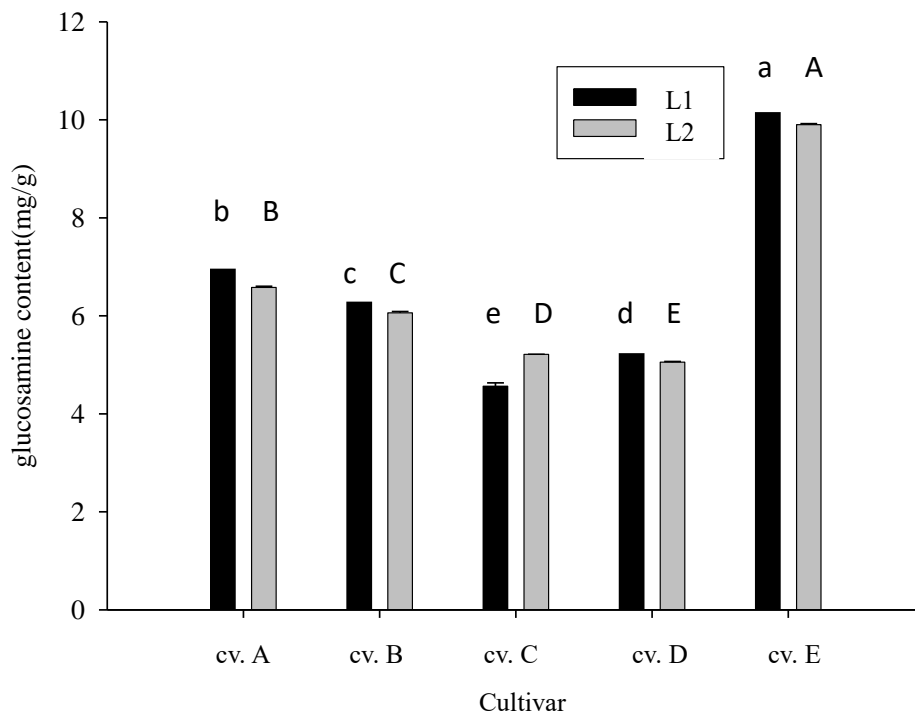


圖 2. 不同品種絲瓜嫩葉及老葉幾丁聚醣含量。

Fig. 2. The chitosan contents of young and old leaves among different luffa gourd cultivars. cv. A: 'Seven Star', cv. B: 'Seven Beauty', cv. C: 'Cylinder No.3', cv. D: 'San-C', cv. E: 'Miriam'. L1: young leaves (1 week after leaves fully expended); L2: old leaves (3 weeks after leaves fully expended). Vertical bars indicate standard error of the mean (n=5). The different letter cases among cultivars are significantly at 5% level by LSD test.

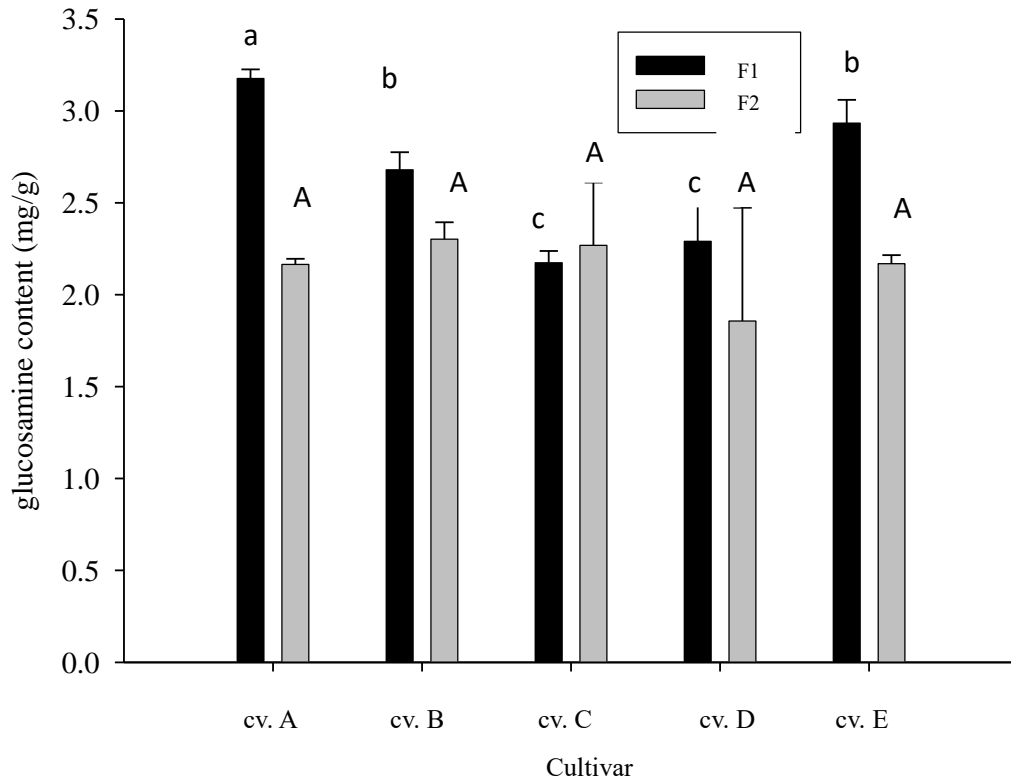


圖 3. 不同品種絲瓜嫩果及老果幾丁聚醣含量。

Fig. 3. The chitosan contents of young and old fruits among different luffa gourd cultivars. cv. A: 'Seven Star', cv. B: 'Seven Beauty', cv. C: 'Cylinder No.3', cv. D: 'San-C', cv. E: 'Miriam'. F1: young fruits (9 days after fruit set); F2: old fruits (15 days after fruit set). Vertical bars indicate standard error of the mean (n=5). The different letter cases among cultivars are significantly at 5% level by LSD test.



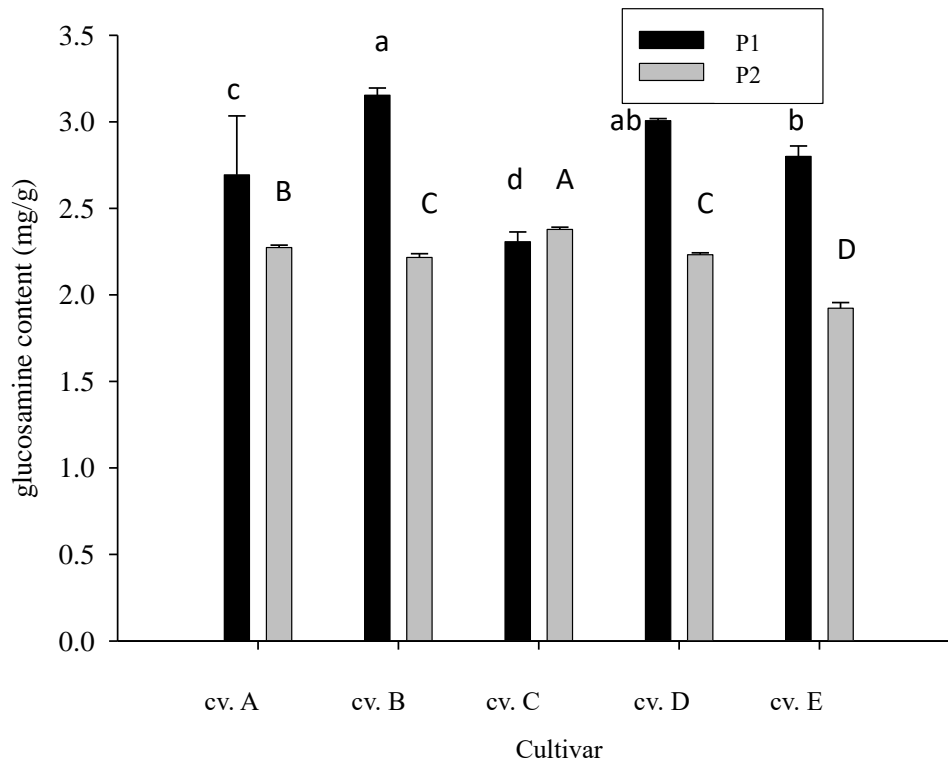


圖 4. 不同品種絲瓜嫩果皮及老果皮幾丁聚醣含量。

Fig. 4. The chitosan contents of young and old fruit peels among different luffa gourd. cv. A: 'Seven Star', cv. B: 'Seven Beauty', cv. C: 'Cylinder No.3', cv. D: 'San-C', cv. E: 'Miriam' P1: young fruits (9 days after fruit set) peels; P2: old fruits (15 days after fruit set) peels. Vertical bars indicate standard error of the mean (n=5). The different letter cases among cultivars are significantly at 5% level by LSD test.

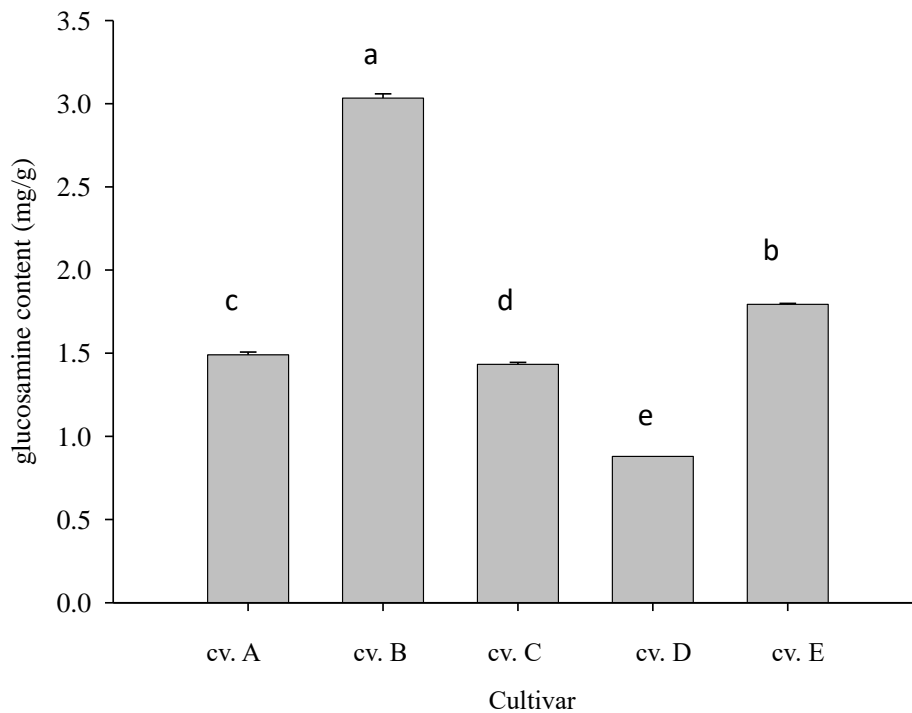


圖 5. 不同品種絲瓜露幾丁聚醣含量。

Fig. 5. The chitosan contents of xylem sap exudate among different luffa gourd cultivars. cv. A: 'Seven Star', cv. B: 'Seven Beauty', cv. C: 'Cylinder No.3', cv. D: 'San-C', cv. E: 'Miriam' Vertical bars indicate standard error of the mean (n=5). The different letters among cultivars are significantly at 5% level by LSD test.

幾丁聚醣為葡萄糖胺的聚合物，許多文獻指出幾丁聚醣具有保濕、抗菌、抗腫瘤、抗氧化及增進免疫力等生物活性的能力 (Kobayashi *et al.*, 1990; Lin and Chou, 2004; Lin *et al.*, 2005)，因此近年來廣泛用在生物醫學、食品、農業、生技與藥品等領域 (Felse and Panda, 1999; Abdelmalek *et al.*, 2017; El Knidri *et al.*, 2018)。黃 (2005) 研究顯示絲瓜的幾丁聚醣有顯著的吸水及保濕性，能抑制金黃色葡萄球菌和痤瘡丙酸桿菌之生長，有效降低誘變劑對 *Salmonella typhimurium* TA98、TA100、TA102 之誘變性。蕭 (2005) 研究也指出幾丁聚醣對於痤瘡桿菌之抑制效果大於常用痤瘡治療藥物-過氧化苯，不同萃取活性成分之間組合，可以獲得高度協同抑菌作用，因此可作為應用於化妝品之天然防腐劑。陳等 (2009) 探討幾丁聚醣對植物病原真菌、細菌、病毒等之抑制作用，結果可廣泛應用在植物保護上。劉與趙等 (2009) 利用幾丁聚醣處理小麥種子與幼苗，結果發現在乾旱逆境下，幾丁聚醣能明顯促進小麥發芽、幼苗生長與根系發育。幾丁聚醣是由幾丁質 (chitin) 去除部份或全部的乙醯基所得之高分子聚合物。幾丁聚醣是 2000-3000

個 N-去乙酰基葡萄糖胺 (N-deacetyl-D-glucosamine) 經由  $\beta$ -1,4 糖苷鍵結合而成，其結構類似纖維素。Muzzarelli (1985) 認為總氮量佔整個聚合物重量 7% (w/w) 以上者，即稱為幾丁聚醣。幾丁聚醣的抗菌作用大致歸納為 (一) 幾丁聚醣具陽離子會干擾細胞表面上之陰電荷。幾丁聚醣在酸性溶液中帶有陽電荷之官能基，此電荷會干擾黴菌與細菌表面所帶之負電荷，以靜電作用互相吸引而形成凝集作用，造成細胞內蛋白質外漏等影響。幾丁聚醣也可作為螯合劑和特定的細胞內物質結合，藉此抑制毒素或細胞的增生 (Rabea *et al.*, 2003)。(二) 幾丁聚醣結合 DNA 抑制 mRNA 的合成。幾丁聚醣為真菌細胞壁成分，當真菌細胞接觸到宿主細胞時，植物原本存在的內生性幾丁聚醣酶 (endochitinase) 和內生性葡萄聚醣酶 (endo- $\beta$ -1,3-glucanase) 會逐漸分解真菌細胞壁，釋放出短鏈幾丁聚醣，進而穿過細菌的細胞核和 DNA 結合，影響染色體構造，干擾 mRNA 及蛋白質合成 (Hadwiger *et al.*, 1986)。(三) 幾丁聚醣可誘導植物內生抵抗力。當植物宿主細胞接觸到幾丁聚醣時，可誘導內生真菌水解酶等活性增加，造成真菌細胞壁的崩解，進而導致死亡。此外，幾丁聚醣結合 DNA 後，由一些活化基因所轉錄出的 RNA 會產生蛋白質，促進酚類化合物的活性，而抑制真菌生長，達到抑菌的目的 (謝，2004；Rabea *et al.*, 2003)。

幾丁聚醣 (chitosan) 可由幾丁質 (chitin) 經部份或完全去乙酰基而得，而幾丁質可萃取自甲殼類、昆蟲、軟體動物和真菌類 (Abdelmalek *et al.*, 2017；El Knidri *et al.*, 2018；Knorr, 1984)；亦可由絲瓜和黃瓜萃取而得 (陳, 2002；黃, 2005)。甲殼類因富含幾丁質，近年來被大量利用在工業生產上。但從蝦蟹製備幾丁聚醣，因幾丁質去乙酰化作用，需使用高溫高濃度鹼液，生產過程所產生的廢水會造成環境汙染，且所得幾丁聚醣品質及物化特性較不穩定，部分人對甲殼類物質有過敏現象。又近年來廢棄蝦蟹被作為飼料生產原料，也常造成工業化生產原料的短缺。因甲殼類有季節性及保育動物考量和幾丁質再處理的環保等因素，近年來由真菌類和植物萃取幾丁聚醣與幾丁聚醣酶等有上升趨勢。以真菌發酵培養大量生產幾丁聚醣之去乙酰度雖高於蝦蟹製備之幾丁聚醣 (Rane *et al.*, 1993)，但真菌製備幾丁聚醣成本仍較高且產量較低，來源與技術尚未成熟仍待研發。絲瓜自古以來便具有豐富的保健功效，也是台灣非常重要的夏季蔬菜之一，基於環保資源永續農業利用，自絲瓜中萃取幾丁聚醣，如果能利用其生產過程中廢棄的莖葉藤蔓或果皮，應可大幅降低其生產成本，故利用絲瓜製備幾丁聚醣應更為可行。同時黃 (2005) 研究指出絲瓜比黃瓜含有較高量之幾丁聚醣，且絲瓜果肉與果皮中超高純度幾丁聚醣具有顯著的吸水與保濕性。但其研究中果肉的幾丁聚醣含量高於果皮，此與本研究結果不

同，或許是因為萃取的方式不同所致，但都能證明絲瓜確實含有優質的幾丁聚醣。

#### 四、結論

本研究結果顯示絲瓜全株均具有幾丁聚醣，不同品種、不同部位間呈顯著差異，參試各品種平均含量  $3.553 \text{ mg g}^{-1}$ ，參試稜角絲瓜幾丁聚醣含量高於圓筒絲瓜。參試部位以葉片中含量最高，其次為果皮。幾丁聚醣可應用於農業、食品科技、醫療用品、美容產品及工業等眾多用途，可從栽培管理上提高絲瓜中幾丁聚醣的含量與品質，增加蔬菜生產利用之價值。

#### 參考文獻

- 陳彧、周國英、劉君昂。2009。殼聚糖對植物病原微生物抑制作用。黑龍江農業科學 1:7-9。
- 黃明哲。2003。絲瓜萃取物應用於生物醫學材料。台北醫學大學生醫材料所碩士論文。台北。
- 陳盟勳。2002。絲瓜乾瓜體纖維的幾丁質來源並應用於生物醫學材料。台北醫學院醫學研究所碩士論文。台北。
- 黃新茹。2005。絲瓜與黃瓜中幾丁聚醣生物活性之研究。中山醫學大學營養學研究所碩士論文。台中。
- 張川虎。2004。中草藥對抑制黑色素生合成與抗氧化活性之研究。中國醫藥大學中藥所碩士論文。台中。
- 劉桂智、劉微、宋士清，高書國。2003。絲瓜的藥用價值。北方園藝 3：26-27。
- 劉婷、趙永富。2009。低聚殼聚糖對小麥幼苗抗乾旱脅迫之影響。江蘇農業科學 1:88-89。
- 鍾建中。2004。利用酵素降解幾丁聚醣之動力學研究。元智大學化學工程研究所碩士論文。桃園。
- 蕭憲誠。2005。幾丁聚醣與本土生藥之抗菌組合在化妝品上的應用。嘉南藥理科技大學化妝品科技研究所碩士論文。台南。
- 薄榮怡。2001。蔬菜對活性氮化物生物效應影響之研究。中興大學食科所碩士論文。台中。

- 謝欣彤。2004。幾丁聚醣膜之透氣性與對香蕉果實後熟之影響。台灣大學園藝學研究所碩士論文。台北。
- Abdelmalek, B. E., A. Sila, A. Haddar, A. Bougatef, and M. Ali. 2017. Chitin and chitosan from squid gladius: biological activities of chitosan and its application as clarifying agent for apple juice. *Int. J. Biol. Macromol.* 104: 953-962.
- Chatterjee, S., S. Chatterjee, B. P. Chatterjee, and A. K. Guha. 2008. Enhancement of growth and chitosan production by *Rhizopus oryzae* in whey medium by plant growth hormones. *Int. J. Biol. Macromol.* 42: 120-126.
- Crestini, C., B. Kovac, and G. Giovannozzi-Sermanni. 1996. Production and isolation of chitosan by submerged and solid-state fermentation from *Lentinus edodes*. *Biotech. and Bioeng.* 50: 207-210.
- Croisier, F. and C. Jerome. 2013. Chitosan-based biomaterials for tissue engineering. *Euro. Polymer J.* 49:780-792.
- Felse, P. A. and T. Panda. 1999. Studies on application of chitin and its derivatives. *Bioprocess Engineering* 20: 505-512.
- Hadwiger, L. A., D. F. Kendra, B. W. Fristensky, and W. Wagoner. 1986. Chitosan both activates genes in plants and inhibits RNA synthesis in fungi. *Chitin in Nature and technology*. 3rd ed., pp.209-221. New York and London: Plenum.
- Hirano, S., T. Yamamoto, M. Hayashi, T. Nishida and M. Inui. 1990. Chitosanase activity in seeds coated with chitosan derivatives. *Agric. Biol. Chem.* 54: 2719-2720.
- Knorr, D. 1984. Use of chitinous polymers in food - a challenge for food research and development. *Food Technol.* 38:85-89.
- Kobayashi, M., T. Watanabe, S. Suzuki, and M. Suzuki. 1990. Effect of N-acetylchitogalactosaminidase against *Candida albicans* infection of tumor-bearing mice. *Microbio. and Immuno.* 34: 413-426.
- Lin, H. Y. and C. C. Chou. 2004. Antioxidative activities of water-soluble disaccharide chitosan derivatives. *Food Res. Int.* 37: 883-889.
- Lin, H. Y., C. C. Chou, and C. F. Li. 2005. Antibacterial activity of N-alkylated disaccharide chitosan derivatives. *Int. J. Food Micro.* 97: 237-245.
- Muzzarelli, R. A. 1985. Determination of the degree of acetylation of chitosans by first derivative ultraviolet spectrometry. *Carbohydr. Polymers* 5: 461-467.
- Rabea, E. I., M. E. T. Badawy, C. V. Stevens, G. Smagghe, and W. Steurbaut. 2003. Chitosan as antimicrobial agent: applications and mode of action. *Biomacromol.* 4: 1457-1465.

- Rane, K. D. and D. G. Hoover. 1993. Production of chitosan by fungi. Food Biotech. 7: 11-33
- Tsuji, A., T. Kinoshita, and M. Hoshino. 1969. Analytical chemical studies on amino sugars. II. Determination of hexosamines using 3-methyl-2-benzothiazolone hydrazone hydrochloride. Chem. Pharm. Bull (Tokyo) 7:1505-1510.

108年 9月 24日 投稿

108年 11月 28日 接受