

行政院國家科學委員會專題研究計畫 成果報告

顆粒型 PVDF 薄膜之製備、改質及在生醫技術上的應用(3/3)

計畫類別：個別型計畫

計畫編號：NSC93-2216-E-032-001-

執行期間：93年08月01日至94年07月31日

執行單位：淡江大學化學工程與材料工程學系

計畫主持人：鄭廖平

計畫參與人員：張啟林

報告類型：完整報告

報告附件：出席國際會議研究心得報告及發表論文

處理方式：本計畫可公開查詢

中 華 民 國 94 年 10 月 31 日

顆粒型 PVDF 薄膜之製備、改質及生醫技術上的應用(3/3)

Formation and modification of particulate PVDF membrane and its application in biomedical technology

鄭廖平 張啟林

淡江大學化學工程與材料工程系

一、摘要

本研究利用恆溫浸漬沈澱法，將製膜液浸於不同非溶劑強度之沈澱槽中，以製作具備緻密或多孔表面之PVDF薄膜，並將薄膜表面固定離胺酸。固定反應分兩步驟進行：首先利用電漿誘導聚合技術，將聚丙烯（PAA）酸接枝在PVDF薄膜上，不同電漿處理時間、電漿功率、亞鐵濃度、薄膜型態，可得到不同PAA接枝量，最高接枝量為 0.64 mg/cm^2 。再利用水溶性水溶性二亞胺基碳試劑EDC為活化劑，使PVDF薄膜表面PAA的羧基與離胺酸上之胺基縮合後形成共價鍵，成功地固定離胺酸於薄膜表面。離胺酸固定量與薄膜表面PAA量有關，亦受pH值、EDC濃度與EDC活化時間等所影響，最高固定量為 $0.65 \mu\text{g/cm}^2$ 。在細胞培養方面，多孔型的薄膜結構比緻密型有更高之生物相容性，固定上離胺酸之薄膜具有最高之生物相容性。

Abstract

Poly(vinylidene fluoride) (PVDF) membranes with either dense or porous surface were prepared by isothermal immersion-precipitation of a casting solution in coagulation baths of different non-solvent strengths. On top of the membrane surfaces, an amino acid (l-lysine) was chemically immobilized by a dual-step process. First, the membranes were grafted with poly(acrylic acid) (PAA) by means of plasma-induced free radical polymerization technique. Then, l-lysine was covalently bonded to the as-grafted PAA chains with the aid of a water soluble carbodiimide, 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)-carbodiimide hydrochloride (EDC). The highest attainable graft density of PAA on PVDF membrane reached up to 0.64 mg/cm^2 , which was realized when grafting was carried out on a porous surface under an optimal reaction condition. For immobilization of l-lysine, the yield was found to depend on the parameters for the EDC-activation process, such as concentration of EDC, activation time, and pH value. The maximal immobilization yield was $0.65 \text{ } \mu\text{g/cm}^2$, a value significantly higher than those reported in the literature for other lysine-immobilization systems. Furthermore, neuron (cell line PC-12) was cultured on pristine PVDF, PAA/PVDF, and l-lysine/PAA/PVDF membranes. The results indicated that porous and/or l-lysine immobilized surfaces offered in vitro environments well suited to the growth of neurons, with a MTT value comparable to the standard culture dish. In contrast, dense and/or PAA grafted surfaces do not indicate any capability in this application.

二、前言

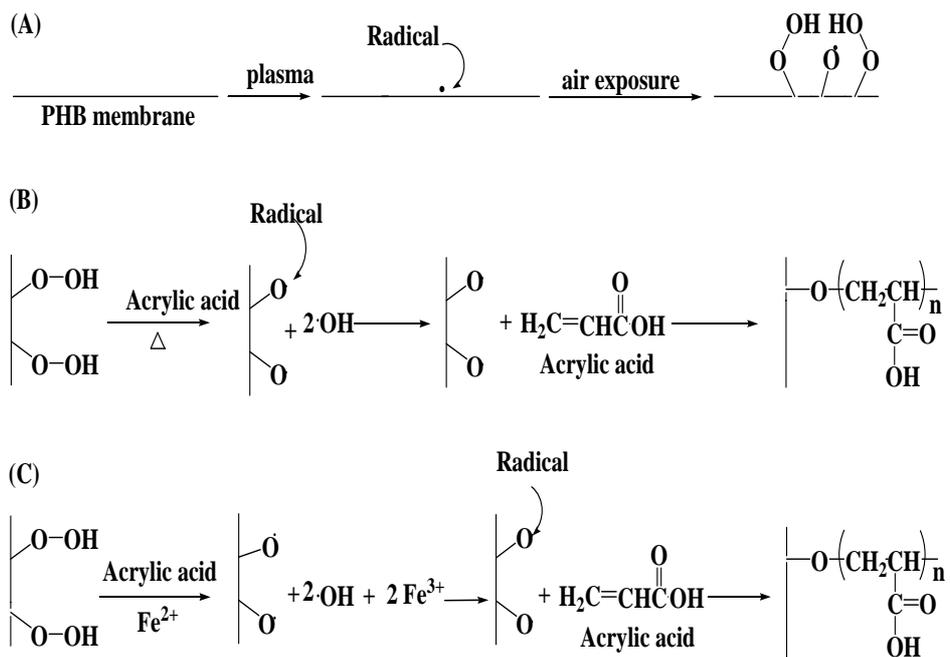
高分子薄膜之結構豐富，應用範圍也相當廣泛，如氣體分離、海水淡化、食品濃縮、血液透析與藥物釋放等。浸漬沉澱法是製備多孔型高分子薄膜最廣用的方式【1~4】；製膜之原料主要由非溶劑、溶劑及高分子等三個成份組成，製膜時首先將適量之高分子溶解於溶劑中，依實際情況加入少量添加物（如：無機鹽類、各類非溶劑、水溶性高分子等），然後將此製膜液均勻地平鋪於載體上，經過一段溶劑蒸發時間後，再將其浸漬到含大量非溶劑之沉澱槽中（亦有不經溶劑蒸發，而直接將製膜液浸入沉澱槽之情形）；當製膜液與非溶劑發生接觸，由於彼此間之化學勢不同，將在界面處發生質量交換；非溶劑進入製膜液，溶劑離開製膜液，而促使高分子溶解度下降，最後終於發生相分離而使高分子沉澱析出，相分離之方式以液-液相分離和結晶（僅發生於結晶型高分子）【1~13】為主，分離後低分子所形成之相經乾燥處理後即成為薄膜之孔隙，而以高分子為主體之相，則形成多孔型薄膜。由於其製備程序簡便且形成的薄膜具有多樣化之孔隙結構，因此此方法是最廣用的製膜方法；並且藉由改變製備程序之各項參數，例如製膜溶液的濃度、沉澱槽的濃度與製膜的溫度等條件，可使結晶和液-液相分離兩種相行為彼此間之競爭能力有所變化、消長，便可以得到各種非對稱性或對稱性的薄膜孔隙結構。

PVDF 為一半結晶高分子，它具有良好的機械性質、熱安定性、耐化性及耐酸性，是一重要的多孔型薄膜製備原料，市售 PVDF 薄膜的主要供應商為 Millipore Corp.，工業上多孔型 PVDF 薄膜常被應用在超過濾及微過濾等分離程序，而由於 PVDF 之生物相容性相當好，也適合開發其在生醫領域上的用途。本研究基於過去合成 PVDF 薄膜之經驗，利用浸漬沈澱法製作一系列多孔型薄膜，製膜系統包含水-DMSO-PVDF 等三成份，並將薄膜改質以適合作為細胞培養之用途。

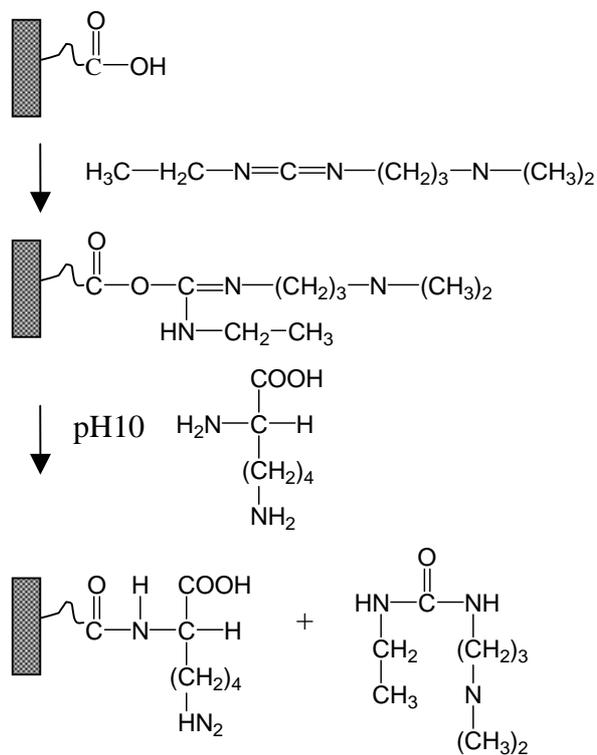
近年來由於社會的高齡化，一些退化性的神經疾病(Neurodegenerative

disease)如阿茲海默氏症(Alzheimer's disease)、巴金森氏症(Parkinson's disease)等已逐漸對人體的健康構成威脅。因此利用薄膜培養神經細胞，植入缺陷的組織，扮演引導修復組織的架橋，提供神經細胞受損的病患使用，乃是一個可嘗試的方法；離胺酸為身體成長與組織修復之必要胺基酸，也是一種可增進神經細胞貼附、分化和突觸生長的細胞外基質(ECM)，此乃因其具有非常適合細胞貼附的胺基；本研究以多孔型 PVDF 薄膜作為基材，先將其電漿接枝聚丙烯酸，然後再固定離胺酸，以利於神經細胞之培養。

電漿接枝聚丙烯酸之反應機制示於 Scheme 1，首先將 PHB 薄膜照射電漿生成自由基，接著將薄膜曝於空氣中，產生過氧化基(Scheme 1-(A))，然後將此薄膜與丙烯酸接觸引發聚合反應，而此反應可分為兩種機制【15-17】，其中 Scheme 1-(B)所示為加熱分解法；Scheme 1-(C)所示為氧化還原分解反應，本研究同時採用上述兩種接枝機制，即在丙烯酸溶液中加入適量亞鐵離子並同時加熱，來進行接枝聚合反應。丙烯酸可與離胺酸反應而將其固定於薄膜上，我們選擇 1-ethyl-3 (3-diethylaminopropyl) carbodiimide hydrochloride (EDAC) 作為反應活化劑，其作用原理示於 Scheme 2【18-22】，首先將薄膜表面上聚丙烯酸之羧基予以活化，即與 EDAC 反應生成 O-acrylisourea，然後再與幾丁聚醣之胺基反應形成醯胺鍵結，而固定於 PHB 薄膜表面。



Scheme 1 電漿誘導接枝聚合聚丙烯酸反應示意圖。



Scheme 2 EDAC 活化聚合聚丙烯酸與固定離胺酸反應示意圖。

三、實驗

(一)實驗材料

1. 丙烯酸 (Acrylic acid), Acros, mp = 141°C
2. 硫酸亞鐵(Mohr's salt), Junsei Chemical Co.
3. 鹽酸水溶液(HCl, 1N), Acros
4. 氫氧化鈉(NaOH), Riedel-deHaen
5. 酚酞(Phenolphthalein indicator), Acros
6. 離胺酸(L-lysine), SIGAM
7. 1-ethyl-3- (3-diethylaminopropyl) carbodiimide hydrochloride (EDC), Acros, M=191.70g/mol
8. 緩衝溶液(Buffer solution), Riedel-deHaen
9. 甲基橙(acid orange 7), Acros, M=350.32g/mol
10. 聚偏二氟乙烯(PVDF), Kynar 740 型
11. 二甲亞砜(DMSO), Acros, d=1.096 g/ml
12. 蒸餾去離子水 (H₂O), 自備
13. 異丙醇 (IPA), 景明, bp=82, d=0.782 g/ml
14. 正己烷 (1-Hexane), 景明, bp=69, d=0.695 g/ml

(二)實驗方法

用濕式相轉換法製備 PVDF 薄膜，首先將高分子加入 DMSO 中（高
分子：溶劑 = 18：82），放置於旋轉烘箱中攪拌 24 小時，溶解溫度為 70，
待製膜液完全溶解後，取出製膜液並靜置在室溫下一小時以去除氣泡；將
適量製膜液以刮刀塗佈於玻璃板載體上，然後迅速浸入沉澱槽（純水、
40%DMSO、70%DMSO），用純水洗滌，再浸漬到異丙醇中 24 小時，然後
再將薄膜浸入正己烷中 24 小時，將殘留在薄膜孔洞中之異丙醇置換出來，
利用正己烷之高度揮發性，防止薄膜結構在乾燥過程中結構的塌陷，浸泡

完畢後，將薄膜取出置於 50 °C 烘箱中乾燥，並標示上、下表面，以待備用。

首先以減壓蒸餾方式，將丙烯酸中所含微量之聚合抑止劑(MEHQ)去除。因抑止劑會抑止壓克力酸的聚合，故要事先去除，但由於丙烯酸的沸點為 141 °C，而丙烯酸單體的自身聚合反應，在 80 °C 時就會大量發生，若使用一般的蒸餾裝置將會使丙烯酸結膠，進而無法得到純化單體。本實驗以減壓蒸餾來純化壓克力酸單體，經由水幫浦將系統壓力降低後，即可以在 60 °C 左右使壓克力酸單體蒸餾出來。將純化後之壓克力酸單體配製成所需濃度之壓克力酸溶液，並在其中加入Mohr's salt。由於Mohr's salt中含有 Fe^{2+} ，當壓克力酸溶液在高溫下行接枝反應時，能減緩壓克力酸本身的聚合反應發生，使壓克力酸水溶液不至於太快結膠【15,16】否則當壓克力酸尚未有效的接枝上薄膜前反應就被迫中止，達不到接枝的效果。此外，因溶氧會攻擊薄膜上的自由基，也就是與活化後薄膜上的自由基反應，造成可反應點的數目下降，而對接枝反應產生抑止作用，故反應前必須先將丙烯酸水溶液除氧。本實驗利用氮氣通入丙烯酸水溶液中除氧兩小時，當氮氣通入時，少量的丙烯酸會隨著氮氣一起揮發出去，導致單體溶液的濃度改變，為避免此一現象，本實驗在接枝中利用冷凝回流裝置。

將先前製作好的PVDF薄膜置於甲醇中 24 小時以去除薄膜表面上之雜質，取出烘乾；將薄膜黏貼於玻璃板上，放入電漿反應器中，抽真空至 2×10^{-2} torr 以下除氧十分鐘，通入氮氣並保持在 0.4 torr 下十分鐘，打開電漿 60 秒使薄膜的表面產生自由基，反應結束後將薄膜由反應器中取出，並將其曝於空氣中 10 分鐘使薄膜表面的自由基轉換為過氧化基。將已活化之薄膜放入配製好的丙烯酸水溶液之中，此溶液事先已經過除氧與預熱步驟，置於 80 °C 之水浴下反應。反應過程中持續通入氮氣，反應時間約為五小時，取出後先以清水清洗 10 分鐘，再以去離子水浸泡並震盪搖晃清洗 24 小時，清洗完畢後烘乾備用。將已接枝丙烯酸並清洗乾淨之薄膜裁成 3×3 cm^2 的面積，裝入瓶中並加入 0.02N 氫氧化鈉水溶液 25ml，放入震盪機中

24hr，取 20ml 出來用 0.004N 鹽酸水溶液滴定。

將適量 EDC 溶於緩衝溶液中，再將已接枝聚丙烯酸之薄膜放入其中活化 5 小時，溫度保持在 4℃，主要是讓丙烯酸上的羧基轉變為酸酐形式。把過量之離胺酸溶於 pH 10 的緩衝溶液中，再將已活化之薄膜浸漬其中 24 小時，進行接枝離胺酸之反應。完成固定離胺酸之程序後，將薄膜浸漬於緩衝溶液中以震盪機清洗 24 小時，以除去未共價鍵結之離胺酸及尿素，最後清洗完畢之薄膜則烘乾備用。離胺酸固定量之分析可以利用 UV 比色法來實施【23】。acid orange 7 在 UV 特定波長 485nm 處有最大的吸收值，如圖 1 所示。首先將 acid orange 7 用 0.001N 的鹽酸水溶液配製成不同濃度之 acid orange 7 水溶液，分別去做 UV 吸收值，以製作 acid orange 7 之檢量線。而指示劑 acid orange 7 會和離胺酸上的胺基產生離子鍵結，由減少的 acid orange 7 濃度即可換算鍵結在薄膜上之離胺酸含量。離胺酸含量越多，acid orange 7 濃度則下降越多。acid orange 7 之檢量線如圖 2 所示。取適當固定離胺酸薄膜，浸漬於定量之 acid orange 7 水溶液中，放入震盪機中震盪 12 小時，使薄膜上之胺基與 acid orange 7 能充分反應。取出薄膜後，有接枝離胺酸的表面則被染色成橘色，未接枝之薄膜表面則呈現原先白色。取已反應完之 acid orange 7 水溶液去測其 UV 吸收度，與檢量線比較則可定出反應後的 acid orange 7 濃度，其中減少之濃度則可用來計算離胺酸的含量。

(三)儀器分析

本實驗使用食品工業研究所的 cell line (PC-12)。細胞培養基是市售的 RPMI 培養基，混合 5% 胎牛血清 FBS、10% 馬血清 HS 及加入 1% 的三合一抗生素所調配而成。在培養神經細胞之前，薄膜必須先經過一些前處理步驟：1. 將薄膜裁剪成直徑約 1.5 公分圓面積試片，先以 UV 燈照射一天。2. 將滅菌好的薄膜置入 24 孔洞培養盤中 (Costar, U.S.A)，並以

Silicon 環將薄膜固定，以防止薄膜浮起。3.加入 70%酒精浸泡約一天，並同時用 UV 燈照射，以達到滅菌的效果。再用 PBS 緩衝溶液沖洗浸泡，將酒精完全除去。

將細胞種入裝有待測試片的細胞培養盤上，細胞數量控制為 8×10^4 個 cell/ml，然後，放進細胞培養箱中培養。其每個井 (well) 細胞培養基含量為 1 ml。每組試片均重覆 6 次實驗。分別經過 4 小時、1 天、2 天、4 天培養，神經細胞株之存活率乃用 MTT 來決定。將培養在試片上的細胞培養盤，從細胞培養箱中拿出，用 MTT 來評估細胞的活性。將細胞培養液移去，再在每個井 (well) 中加入濃度為 2 mg MTT / ml PBS 之 MTT 溶液 100 μ l，在 37 $^{\circ}$ C 培養箱中培育 3 小時，加入 200 μ l DMSO 來溶解藍色結晶，並在搖盪器上搖 15 分鐘，使其均勻後，從溶液中吸取 100 μ l 於 96-well 細胞培養盤中，用 ELISA 在 570 nm 波長讀取吸收值，結果用標準差來表示。

四、結果與討論

(一)電漿接枝丙烯酸

由純水、40%DMSO、70%DMSO 沈澱槽製備之 PVDF 薄膜，編號分別為 0-10-w、0-10-40、0-10-70；圖 3 為丙烯酸接枝反應中添加不同濃度的亞鐵離子對接枝量的影響，固定條件為：膜材 0-10-70 之下表面、RF 電漿 100W、電漿處理時間為 60 秒、接枝溫度為 80 $^{\circ}$ C、50% 丙烯酸水溶液【24,25】。從圖 3 中可以發現當亞鐵離子濃度為 1.5×10^{-4} M 時，會有最大接枝量，濃度再增大時丙烯酸的接枝量就慢慢降低，其原因就是過多的亞鐵離子將自由基還原所造成之結果。

圖 4 為薄膜 0-10-70 接枝前與接枝後的 FTIR 比較圖，(a) 為未接枝，(b) 為接枝量 0.39 mg/cm²，(c) 為接枝量 0.64 mg/cm² 之情況；可以很明顯地觀察到接枝後的 PVDF 薄膜在 1713 cm⁻¹ 處有一聚丙烯酸中 C=O stretching 的吸收峰，接枝量越大時，吸收峰則越明顯。不同表面結構對於接枝量會有

所影響，如圖 5 所示，使用純水沈澱槽製備之PVDF薄膜上表面與 40、70 %DMSO沈澱槽製備之PVDF下表面來做接枝反應，能看出純水所製備之PVDF薄膜上表面接枝量較低，這是因為其結構屬於緻密皮層，並無太多空隙可以讓聚丙烯酸成長，只能在表面形成少量聚丙烯酸。接枝時間反應到五小時便需停止反應，因在此時丙烯酸水溶液中已有許多丙烯酸開始進行自身聚合，此反應會和接枝聚合反應形成競爭態勢，若反應繼續進行，約 30 分鐘後丙烯酸水溶液會聚合膠化，使得薄膜無法使用。

一般常見的能量供應系統包含直流(DC)、高週波(RF)與微波(MW)等。本研究所使用之能源供應系統為RF高週波，使用之功率對於接枝量有一定的影響，圖 6 為使用不同電漿功率下之聚丙烯酸接枝量，固定條件為：使用膜材 40%DMSO bath之PVDF下表面、 1.5×10^{-4} M亞鐵離子、電漿處理時間為 60 秒、接枝溫度為 80 °C、50%丙烯酸水溶液。由圖可以得知在電漿功率為 100W時有最高之接枝量。電漿處理時間的長短，對於自由基產生的程度有相當的影響。由文獻可以得知【14,16】，基材表面所能產生的自由基對處理時間作圖有一極大值。圖 7 為不同電漿處理時間下之聚丙烯酸接枝量，固定條件為：使用膜材 70%DMSO bath之PVDF下表面、 1.5×10^{-4} M亞鐵離子、電漿功率為 100W、接枝溫度為 80 °C、50%丙烯酸水溶液。由圖可以得知在電漿處理時間為 60 秒時可以得到一極大值，隨著時間增加接枝量反而下降，這可能是由於電漿處理過久，電漿處理器的離子束會破壞表面結構，造成表面高分子鏈的斷裂，或是過多自由基造成鄰近自由基互相交聯，造成自由基下降，進而接枝量就有下降的趨勢。

(二)薄膜固定離胺酸

圖8為PVDF薄膜接枝前與接枝離胺酸後的FTIR比較圖，(a)為未接枝，(b)為接枝 $0.65 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 離胺酸。可以很明顯觀察到接枝後的PVDF薄膜在 1562cm^{-1} 處與 1650cm^{-1} 處有CO-NH 之amide吸收峰、在 1717cm^{-1} 處有C=

O stretching的吸收峰、在 2848cm^{-1} 與 2928cm^{-1} 處有離胺酸上之亞甲基的吸收峰、在 3341cm^{-1} 處有C-NH₂ 離胺酸上amine的吸收峰。由接枝前後的差異可以證實離胺酸已經固定在薄膜表面上。

EDC活化劑主要功能是將丙烯酸上的羧基轉變為酸酐的形式，EDC的濃度會影響活化的程度，也間接影響離胺酸的接枝量。由圖9中可以觀察出隨EDC濃度增加時，離胺酸接枝量也隨之增加，但是當濃度到達 $3\times 10^{-2}\text{M}$ 時，接枝量就難以增加，顯示活化已經達到飽和狀態，即使濃度再增加也不能增加離胺酸接枝量。EDC活化過程中，酸鹼值對丙烯酸之活化程度有相當之影響，在酸性環境下有利於EDC與羧基反應生成O-acylisourea衍生物，進而產生之後的縮合反應。由圖10中可以觀察出在pH 3有最高接枝量，隨著pH值再增加，接枝量則下降。接枝時pH值固定為10，因此環境下有利於胺基之親核取代反應，若於酸中性環境則親核取代將難以發生【26】。

EDC活化時間關係著丙烯酸上的羧基活化程度，因此與離胺酸接枝量有關，由圖11可以觀察出，當活化時間到達三小時則達到活化飽和，即使增加活化時間，對於接枝量幫助也不大。利用不同膜材與不同聚丙烯酸接枝量來做離胺酸接枝，由於固定離胺酸需要先在膜材上接枝聚丙烯酸，再用EDC活化使離胺酸固定在材料表面，故材料表面接枝越多聚丙烯酸則可以固定越多離胺酸。此外，相同聚丙烯酸接枝量下，多孔型薄膜之離胺酸固定量比皮層結構來得多，其原因可能是多孔型薄膜表面積較皮層來得多，有較多面積去固定離胺酸所導致，其結果如表1所示。

(三)複合薄膜培養神經細胞

圖 12 為多孔性 PVDF 材料對控制組之相對 MTT 活性圖，由圖可以發現未接枝離胺酸時，在第一、二天相對活性都是低於控制組，但在第四天時，由於控制組細胞增生太多導致培養基快速耗盡，因而使 MTT 值快速下降，

故其相對活性在第四天時高於控制組。固定離胺酸之後情況剛好相反，前幾天相對活性皆高於控制組，但到了第四天反而也因為培養基快速耗盡而皆比控制組來得低。由此結果可以得知，材料固定上離胺酸有利於細胞增生，若在第二天可以更換新鮮培養基，則預計可以延續此優勢而成長更快。圖 13 為皮層 PVDF 材料對控制組之相對 MTT 活性圖，由圖可以發現與圖 12 之消長模式類似，只是因其 MTT 值在改質前後皆低於控制組，故其相對活性都未曾超過 100%。

五、結論

1. 接枝反應中，亞鐵離子的功能為能減緩聚丙烯酸本身的聚合反應同時將薄膜上的過氧化物氧化成為自由基。添加適量之亞鐵鹽有助於接枝量的提升，在本研究中，亞鐵濃度為 $1.5 \times 10^{-4} \text{M}$ 時達到最高接枝量 0.64 mg/cm^2 。
2. 不同膜材結構對接枝量也有一定的影響，若使用 40% 與 70% 之 PVDF 膜下表面，由於具有較多孔隙與表面積，接枝量則明顯比皮層結構來得高。
3. 使用 EDC 活化劑來接枝離胺酸可以成功將離胺酸固定在含有聚丙烯酸的薄膜基材上。在 EDC 濃度之效應上與 EDC 活化時間方面，當濃度達到 $3 \times 10^{-2} \text{M}$ 時與羧基反應時間達到 3 小時接枝量就難以增加，表示活化已達到飽和狀態。
4. 在羧基活化過程中，酸性環境之下有利活化反應，由實驗結果可知當 pH 值為 3 時最佳。
5. 在 PVDF 上接枝一層聚丙烯酸將會抑制細胞的貼附與生長，因其表面帶有負電荷以及丙烯酸對細胞有略微毒性之影響所致。細胞在固定離胺酸後有良好的貼附與生長，但其增生的速度太快可能導致於培養基快速耗盡，若能適時更換培養基，預計將有利於細胞持續成長。

六、参考文献

1. M. Mulder, "Basic Principles of Membrane Technology," Ch. 3 Kluwer Academic Publishers, Dordrecht (1991).
2. Beltsios K, Steriotis T, Stefanopoulos K, Kanellopoulos N. Membrane Science and Applications. In: Schueth F, Sing K, Weitkamp J, editors. "Handbook of Porous Solids," Chapter 6, Wiley-VCH (2002).
3. H. K. Lonsdale, *J. Membr. Sci.*, **10**, 81 (1982).
4. R. E. Kesting, "Synthetic Polymeric Membranes," John Wiley & Sons, NY, (1985).
5. L. R. Douglas, K. S. Sung, K. E. Kevin, *J. Membr. Sci.*, **64**, 1 (1991).
6. F. J. Tsai, J. M. Torkelson, *Macromolecules*, **23**, 775 (1990).
7. L. Zeman, T. Fraser, *J. Membr. Sci.*, **84**, 93 (1993).
8. I. Cabasso, E. Klein and J. K. Smith, *J. Appl. Polym. Sci.*, **20**, 2377 (1976).
9. J. A. Van't Hof, A. J. Reuver, R. M. Boom, H. H. M. Roleviink, C. A. Smolders, *J. Membrane Sci.*, **70**, 17 (1992).
10. L. P. Cheng, A. W. Dwan, C. C. Gryte, *J. Polym. Sci.: Part B: Polym. Phys.*, **32**, 1183 (1994).
11. L. P. Cheng, A. W. Dwan, C. C. Gryte, *J. Polym. Sci.: Part B: Polym. Phys.*, **33**, 211 (1995).
12. A. M. W. Bulte, B. Folkers, M.H. V. Mulder, C. A. Smolders, *J. Appl. Polym. Sci.*, **50**, 13 (1993).
13. L. P. Cheng, A. W. Dwan, C. C. Gryte, *J. Polym. Sci.: Part B: Polym. Phys.*, **33**, 223 (1995).

14. S. D. Lee, G. H. Hsiue, C. P. Chuen-Thuen and C. Y. Kao, *Biomaterials*, **17**, 16 (1996).
15. K. Fujimoto, H. Tadokoro, Y. Ueda and Y. Ikada, *Biomaterials*, **46**, 442 (1993).
16. J. Chen, Y. C. Nho, and J. S. Park, *Radiat Phys Chem.*, **52**, 201 (1998).
17. I. K. Kang, O. H. Kwon, M. K. Kim, Y. M. LEE and Y. K. Asung, *Biomaterials.*, **17**, 841 (1996).
18. I. K. Kang, O. H. Kwon, M. K. Kim, Y. M. LEE and Y. K. Sung, *Biomaterials.*, **18**, 1099 (1997).
19. S. Sano, K. Kato, H. B. Lee and J. H. Lee, *Biomaterials*, **14**, 797 (1993).
20. K. L. Carraway, and D. E. Koshloand, *Methods in Enzymol.*, **25**, 616 (1972).
21. D. R. Lloyd, and C. M. Burns, *J. Polym. Sci. Chem Ed.*, **17**, 3459 (1979).
22. D. R. Lloyd, and C. M. Burns, *J. Polym. Sci. Chem Ed.*, **17**, 3473 (1979).
23. E. Uchida, Y. Uyama, Y. Ikada, *Langmuir*, **9**, 1121 (1993)
24. 黃方明, 私立淡江大學化學工程學系碩士論文
25. 陳宗欽, 私立淡江大學化學工程學系碩士論文
26. T. H. Young, W. W. Hu, *Biomaterials*, **24**, 1477 (2003).

Table 1 The effect of membrane morphology on immobilization yield

Membrane	Lysine grafting yield
0-10-40 bottom grafted 0.6mg/cm ² PAA	0.65 µg/cm ²
0-10-40 bottom grafted 0.4mg/cm ² PAA	0.4 µg/cm ²
0-10-w top grafted 0.4mg/cm ² PAA	0.2 µg/cm ²
0-10-w top grafted 0.2mg/cm ² PAA	0.1 µg/cm ²

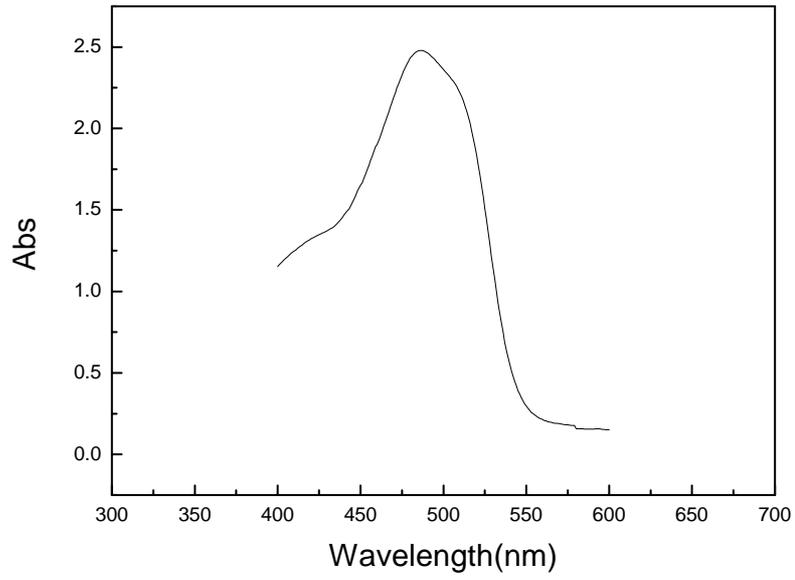


Figure 1 UV spectrum of acid orange 7

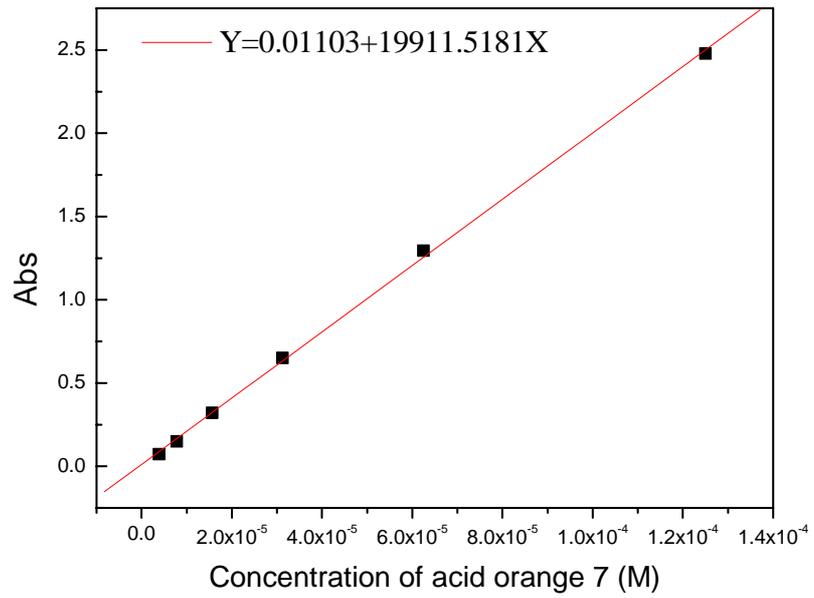


Figure 2 Calibration line of acid orange 7

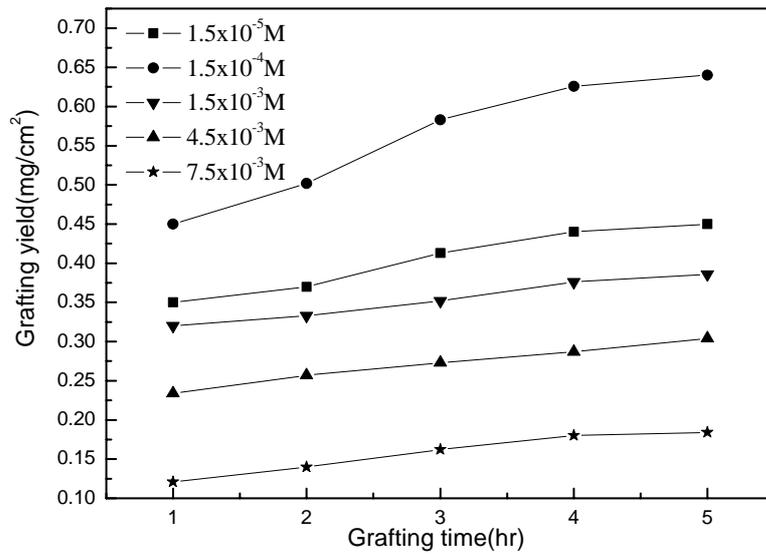


Figure 3 The effect of adding Mohr's salt on grafting yield of PAA

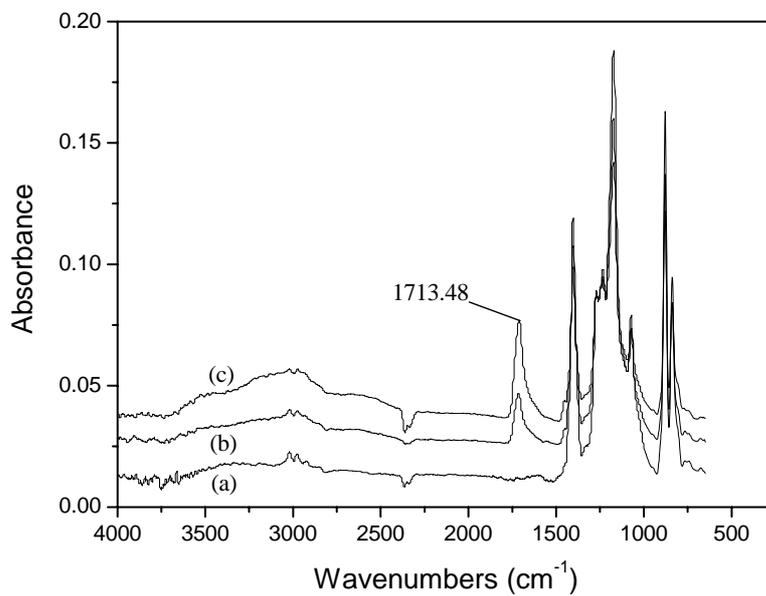


Figure 4 FTIR-ATR spectra of pure PVDF and PAA-PVDF membranes

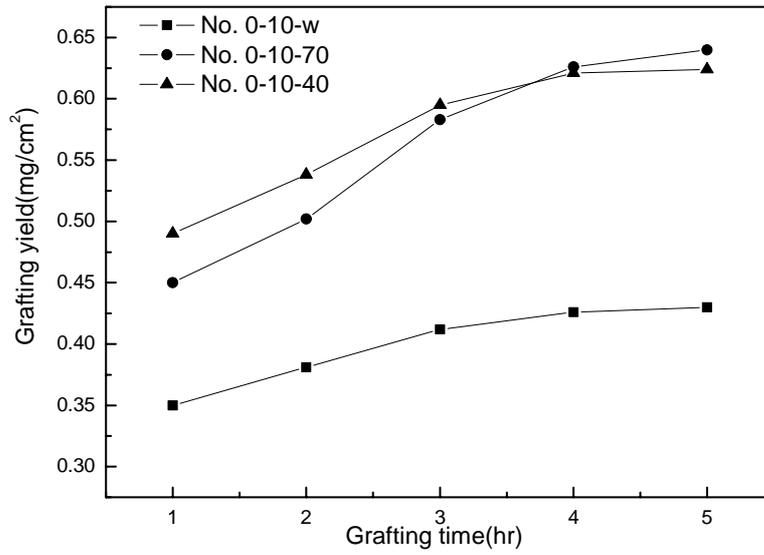


Figure 5 The effect of surface morphology on grafting yield of PAA

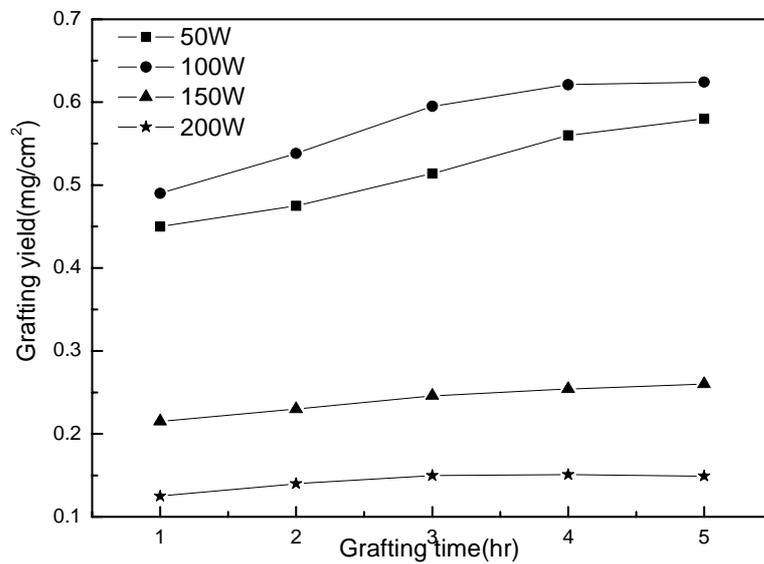


Figure 6 The effect of plasma power on grafting yield of PAA

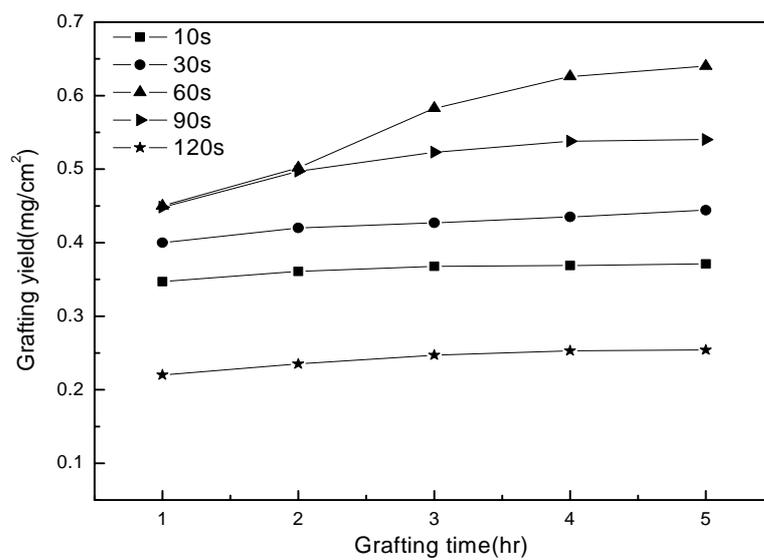


Figure 7 The effect of plasma treatment time on grafting yield of PAA

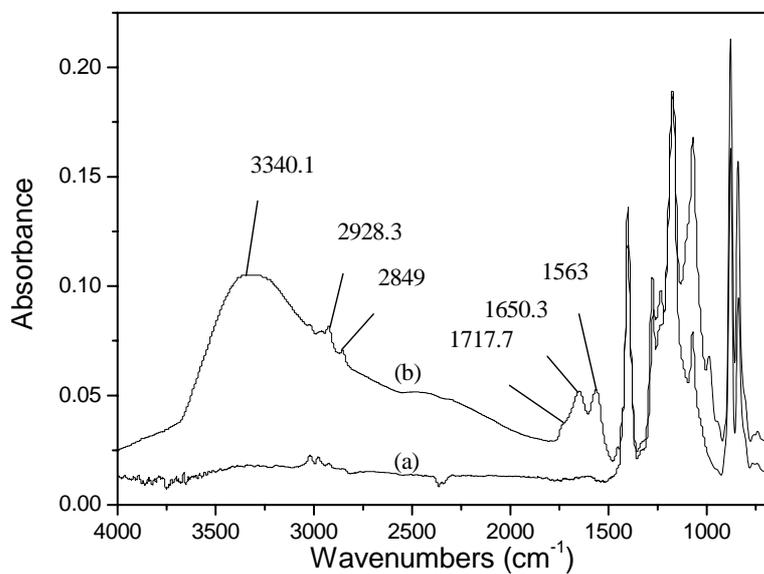


Figure 8 FTIR-ATR spectra of PVDF membranes

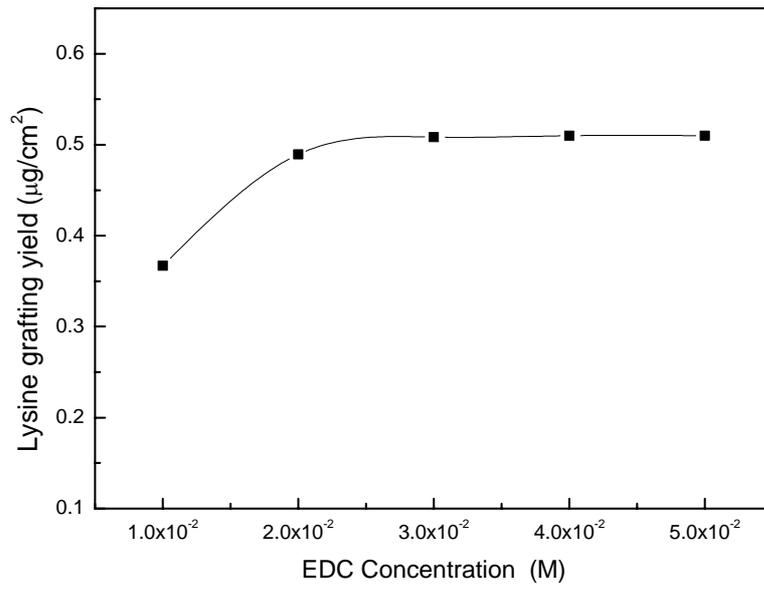


Figure 9 The effect of concentration of EDC on grafting yield of lysine

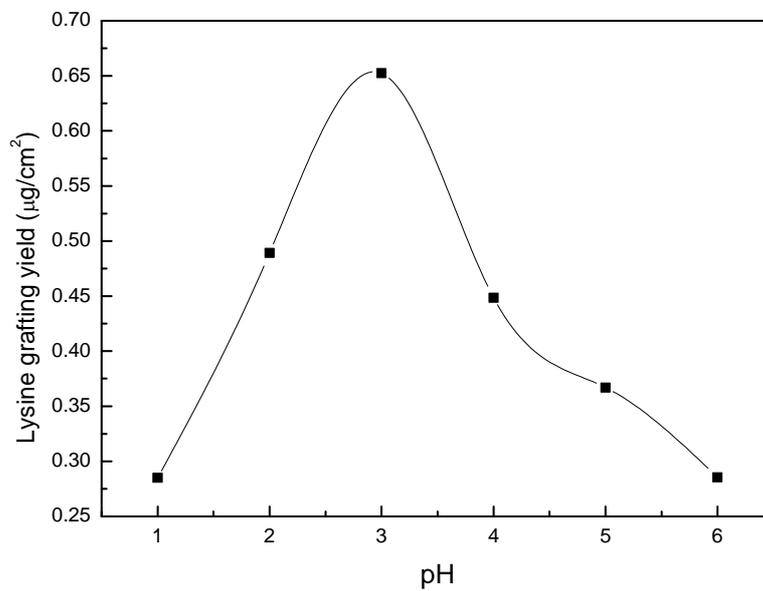


Figure 10 The effect of activation pH on grafting yield of lysine

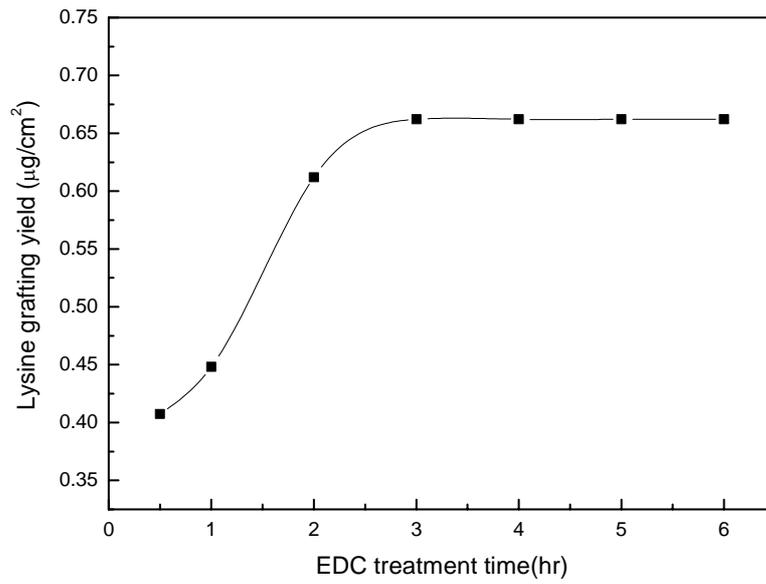


Figure 11 The effect of treatment time of EDC on grafting yield of lysine

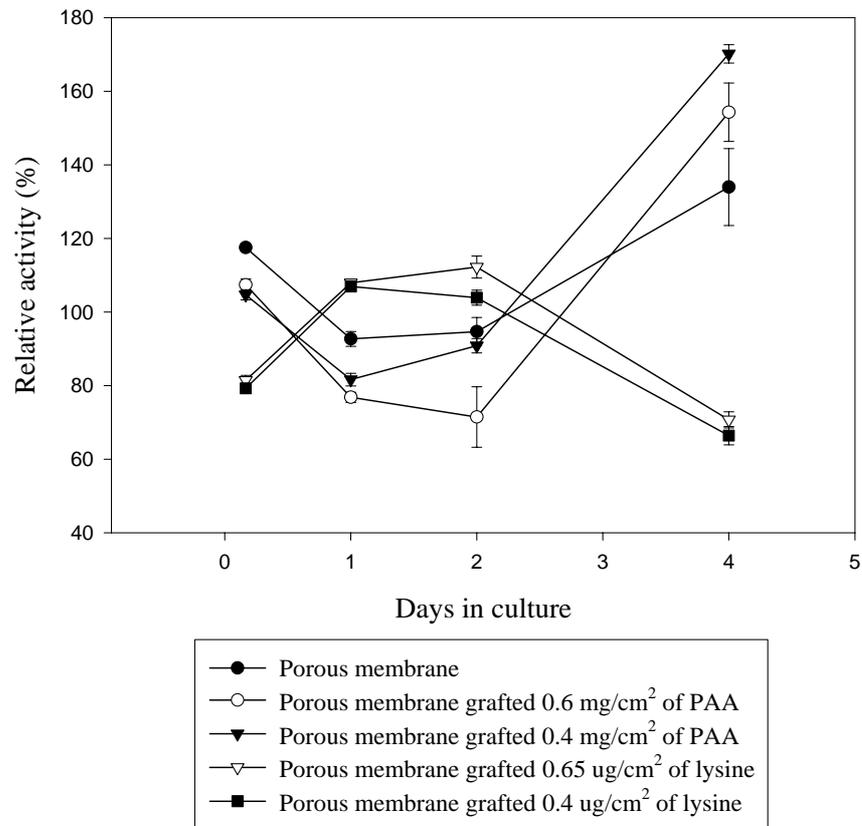


Figure 12 MTT relative activity of porous membranes

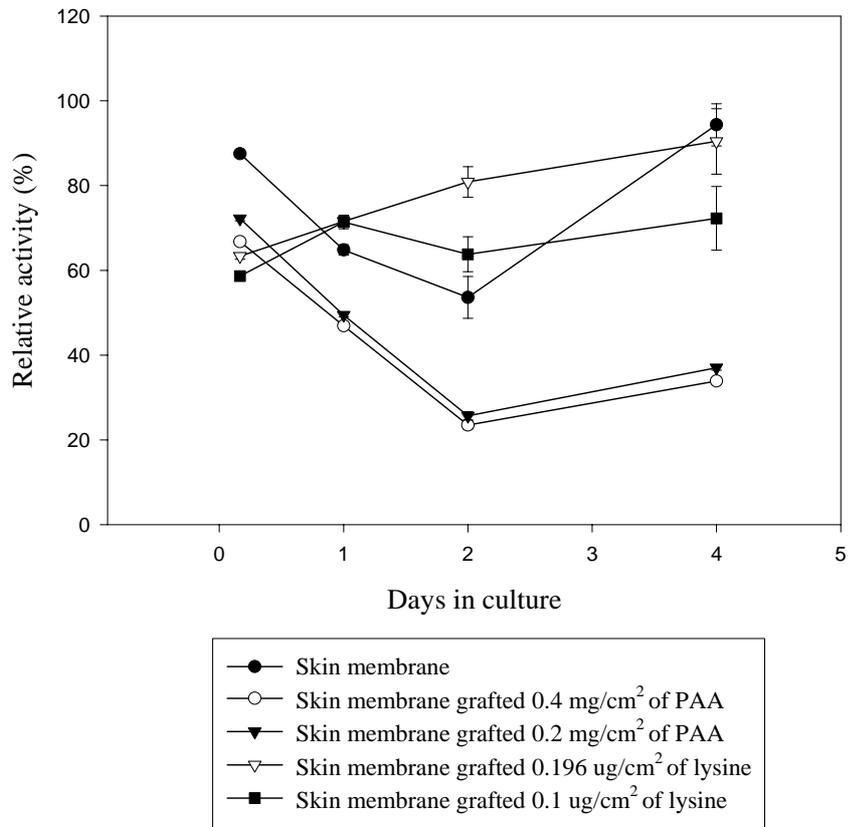


Figure 13 MTT relative activity of skinned membranes