行政院國家科學委員會專題研究計畫　成果報告

多孔型 PVDF 薄膜固定離胺酸與己二胺用於細胞培養

計畫類別：個別型計畫
計畫編號：NSC94-2216-E-032-003-
執行期間：94 年 08 月 01 日至 95 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

報告類型：精簡報告
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 95 年 10 月 30 日

行政院國家科學委員會專題研究計畫

成果報告

多孔型PVDF 薄膜固定離胺酸與己二胺用於細胞培養

Immobilization of lysine and 1,6-hexanediamine on porous PVDF membranes for cell culture

計畫類別： 個別型計畫

計畫編號： NSC 94-2216-E-032-003-

執行期間： 94年08月01日至95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： 鄭廖平、楊台鴻、張旭賢

中 華 民 國 95年10月31日

多孔型PVDF 薄膜固定離胺酸與己二胺用於細胞培養

Immobilization of lysine and 1,6-hexanediamine on porous PVDF membranes for cell culture

鄭廖平、楊台鴻、張旭賢

淡江大學 化學工程與材料工程學系

中文摘要

本研究主要探討聚偏二氟乙烯(PVDF)多孔型薄膜之製備、改質及其在生醫技術方面的運用。首先利用浸漬-沈澱法製備聚偏二氟乙烯(PVDF)薄膜，溶劑為磷酸三乙酯(TEP)，非溶劑為水；藉由改變製膜液與沈澱槽之組成，製作出一系列不同孔隙結構之薄膜，並以SEM、DSC、XRD、Contact Angle等來作膜材物性分析。其次，利用電漿聚合法將聚甲基丙烯酯環氧丙烷(PGMA)接枝在各薄膜上，並探討電漿處理時間、電漿功率、薄膜孔隙結構、反應溫度、反應濃度等參數對接枝量的影響，於多孔型薄膜有最大接枝量 0.293 mg/cm^2；再利用PGMA的環氧基分別與離胺酸及己二胺上的胺基反應形成共價鍵，而將此二者固定於薄膜表面，同樣地對各反應參數(例如反應溫度、反應濃度、pH等)加以探討，於多孔型薄膜有最高固定離胺酸的量 0.278 mg/cm^2，最高固定己二胺的量為 0.222 mg/cm^2。最後將各種不同孔隙結構或化學組成的薄膜應用於神經細胞的培養，結果發現離胺酸與己二胺化學組成上唯一的差異-酸基，對於神經細胞的培養有相當程度的影響。

關鍵詞：聚偏二氟乙烯、多孔型薄膜、電漿接枝、固定化、神經細胞培養

Abstract

This research investigate the preparation, modification, and application in the biomedical field of porous poly(vinylidene fluoride) (PVDF) membranes. PVDF membranes with different porous structures were prepared by immersion-precipitation of a casting solution in coagulation baths composed of triethylphosphate (TEP, solvent) and water (nonsolvent). SEM, DSC, XRD, and Contact Angle analyzer were used to characterize the membranes. Onto the membrane surface, an amino acid, l-lysine, and 1,6-hexanediamine were immobilized by a chemical process. First, the membrane was grafted with poly(glycidyl methacrylate) (PGMA) by means of plasma-induced free radical polymerization. Then, lysine and 1,6-hexanediamine were immobilized on the membranes by reaction of them with epoxy group of previously grafted PGMA. The highest attainable grafting yield of PGMA on PVDF membrane reached up to 0.293 mg/cm^2. For immobilization of l-lysine and 1,6-hexanediamine on the membrane, the yields were found to depend on factors, such as reaction concentrations, reaction temperature, and pH value. The maximal attainable immobilization yields were 0.278 mg/cm^2 and 0.222 mg/cm^2, respectively. Furthermore, neuron cells were cultured on l-lysine/PGMA/PVDF and 1,6-hexanediamine/PGMA/PVDF membranes. It was found that chemical compositions on the membrane, in particular, the carboxylic acid of l-lysine, had a marked influence on the cell activity.

Keywords: poly(vinylidene fluoride), porous membrane, plasma-induced polymerization, immobilization, neuron culture, l-lysine.

一、前言

結晶型高分子適合用來製作各種多孔型薄膜，已商品化者如 Millipore 公司的 PVDF、Pall 公司的 Nylon-66、Cuno 公司的 Nylon-6 薄膜等皆為典型例子；然而欲利用商業化薄膜從事相關應用研究，則會面臨兩個問題：(i)薄膜之孔隙結構無從選擇，對於某一高分子而言，商業化薄膜往往僅提供一種至二結構，因此無法研究孔隙結構對研究課題之影響；(ii)價格高昂，平均來說一平方呎(100 μm 厚)要價約數千元甚至數萬元不等。因此從實用或經濟效益來看，都值得去開發具備特殊孔隙結構之薄膜。

電漿接枝改質也已逐漸為學術界及產業界所重視，主要在於其安全、簡便、低污染、能在基材的表面形成穩固薄層、不會破壞材料內部結構等優點，本研究綜合電漿技術與胺基酸固定技術，將離胺酸與己二胺固定於具備特殊孔隙之 PVDF 薄膜，拓展薄膜之應用範圍至生醫領域。

在膜材表面製造類似 ECM 的環境，乃是生醫材料相當重要的研究課題，一般是以胺類化合物來製造類似 ECM 的環境，聚離胺酸即為其中一例，但聚離胺酸的價格過高並不適用於研究或生產，因此本計畫以簡便的方式固定價格較合理的胺類化合物於薄膜表面上，以此方式製造出類似 ECM 的環境，期望能有所貢獻。

材料在醫學方面的應用與日俱增，利用生醫材料培養神經細胞，而後植入缺陷的組織，扮演引導修復組織的架橋(guide bridge)，提供神經細胞受損病變的病患，讓組織得以重建，乃是一個可嚐試的方法；尤其近年來社會的高齡化，造成退化性的神經疾病，如阿茲海默氏症(Alzheimer’s disease)、巴金森氏症(Parkinson’s disease)等日趨普遍，開發適合培養神經細胞薄膜，顯得更具有商業化的潛力。因此本研究在學術上是相當值得去深究的。

二、研究目的

本研究以具有特殊孔隙結構之聚偏二氟乙烯(Poly(vinylidene fluoride, PVDF)薄膜為基材，在其表面改質固定離胺酸或己二胺，並應用於神經細胞之培養，期望能夠發展出具實用價值的生醫薄膜，藉此研究能開發出具有商業化價值之生醫材料。主要達成目標為：

(1) 建立多孔型 PVDF 薄膜之製備方法並探討膜材之微結構及物性。

(2) 將 PVDF 薄膜表面以電漿誘導聚合法接枝 PGMA。

(3) 於已接枝 PGMA 之薄膜上固定離胺酸及己二胺等利於神經細胞成長之胞外基質。

(4) 於各種薄膜上進行神經細胞培養，觀察薄膜與神經細胞之相容性，及彼此之間的相互影響關係。

三、文獻探討

Bottino【1-5】與 Cheng【6-9】等曾先後對 PVDF 薄膜的製作程序、薄膜結構及成膜機制作深入的探討，本研究基於過去合成 PVDF 薄膜之經驗，擬利用浸漬沈澱法製作多孔型薄膜，製膜系統包含水(非溶劑)-TEP(溶劑)-PVDF 等三成份，藉由改變製膜液與沉澱槽的組成，製作一系列不同孔隙結構的薄膜，並探討薄膜結構與與成膜條件之關係。

電漿誘導接枝聚合反應【10-20】是利用電漿來處理高分子材料表面，使其產生自由基而活化，然後將此活化表面暴露於空氣中，使自由基與空氣中的氧反應形成過氧化物，再經由熱分解 (thermal decomposition)或氧化還原分解 (red-ox decomposition) 反應【12,13】，使過氧化物中氧-氧鍵結斷裂形成-O・自由基，此自由基再與單體進行接枝聚合的反應。薄膜電漿改質的應用十分廣泛【14-19】，如製作親水表面、防腐蝕性表面、生醫薄膜及各種分離程序薄膜等。

本研究即採用電漿表面改質技術，以氬氣電漿活化PVDF薄膜並與Glycidyl methacrylate (GMA)單體反應完成接枝反應，再利用GMA之環氧官能基固定離胺酸及己二胺。文獻中指出下列幾種單體皆可作為固定肝素、DNA、胺基酸等生醫物質之擔體(spacer)：Acrylic acid (AA)、Methacryloyloxyethyl phosphate (MOEP)、Glycidyl methacrylate (GMA)、N-Vinylformamide (NVF) 及 N,N-dimethylaminoethyl methacrylate (DMAEMA)等【21】；本研究選用GMA為接枝對象乃基於兩個原因 (i)先前研究(93計畫)中發現，多孔型PVDF薄膜雖在培養細胞上有不錯的效果，但當薄膜接枝聚丙烯酸 (AA)之後，其MTT值(細胞活性)反而比未接枝之前來得低，推測可能是聚丙烯酸表面帶有負電荷以及丙烯酸對細胞略帶毒性所致，聚丙烯酸接枝量越高其影響越明顯；先前的研究也顯示聚丙烯酸在隨後固定離胺酸時，有嚴重副反應的發生，造成固定量偏低，以致於固定離胺酸後，MTT值雖然提高，但改善有限。(ii) GMA之環氧基具有高反應活性，不需太高溫即可與離胺酸反應，所以固定量可望大幅提升，且與AA、MOEP、NVF、DMAEMA等比較，其價格低廉，效果僅次於MOEP及DMAEMA所以值得嘗試使用【21】。

離胺酸為對細胞而言是相當有助於其貼附的 ECM，原因之一為其具有適合細胞貼附的胺基(amine group)，因此本研究在 PVDF 薄膜表面固定離胺酸，以開發適合神經細胞成長之新型生醫材料；此外也將己二胺固定於相同膜材，以瞭解離胺酸之羧基對細胞生長之影響。

四、研究方法

1. 實驗藥品

(1). 聚偏二氟乙烯(Poly(vinylidene fluoride), PVDF), Elf Atochem, Kynar 740 型，M＝254000.

(2). 磷酸三乙酯(Triethylphosphate, TEP), M=182.16 g/mole, b.p.=215 ^{o}C，d=1.07 g/ml, m.p.=-56 ^{o}C.

(3). 甲基丙烯酯環氧丙烷(Glycidyl methacrylate, GMA), M = 142.15 g/mol, b.p. = 189 ^{o}C, d = 1.07 g/ml.

(4). 己二胺(1,6-Hexanediamine), d = 0.93 g/ml.

(5). 離胺酸 (L-2,6-Diaminohexanoic acid, L-Lysine), 98%, monohydro chloride, Sigma, USA.

2. 複合薄膜之製作

本研究利用浸漬-沈澱法製備PVDF薄膜，將GMA單體中微量之聚合抑止劑(MEHQ)去除，再將純化後之GMA配製成所需濃度之溶液，除氧待用。將PVDF薄膜放入電漿反應器中; 將反應室抽真空至 1×10^{-3} torr以下除氧二十分鐘，通入氬氣使壓力保持在 0.4 torr，打開電漿使薄膜的表面產生自由基，然後將其曝於空氣中使自由基轉換為過氧化基，將薄膜放入配製好的GMA溶液中，恆溫於 50~90 ^{o}C下反應，待反應完成，以去離子水清洗，烘乾備用。接枝之定量可採用秤重法來進行，將接枝前、後薄膜之重量相減即可。將已接枝PGMA之薄膜放入離胺酸溶液中，溶劑為 1,4-二氧陸圜/水，控制恆溫(60, 80 ^{o}C)，調整適當pH，讓GMA上的環氧基能夠進行開環反應，待完成固定離胺酸之反應後，將薄膜浸漬於純水中以震盪機清洗，以除去未共價鍵結之離胺酸，將清洗完畢之薄膜烘乾備用。固定己二胺之步驟與離胺酸相同。

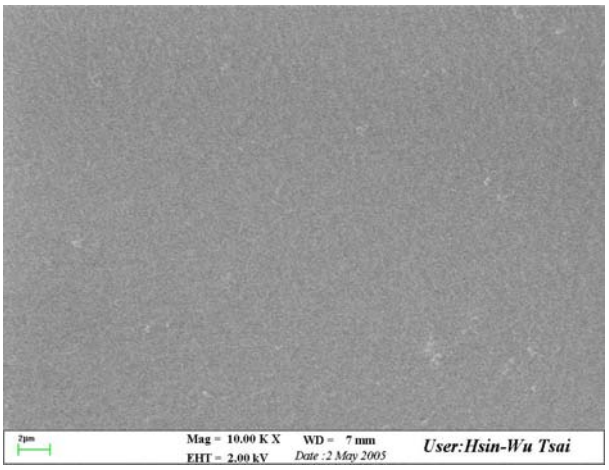
五、結果與討論

PVDF薄膜之合成與物性分析

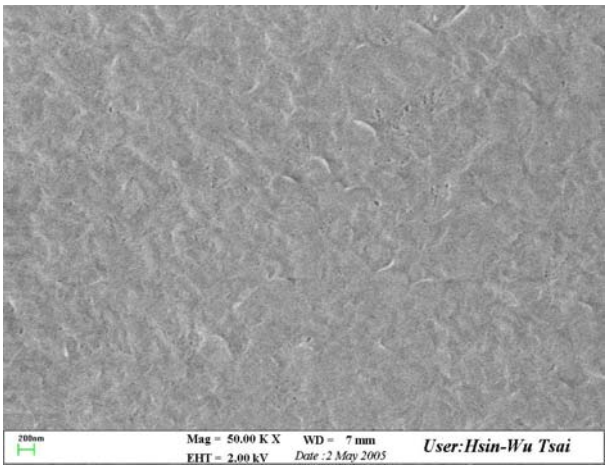
1.薄膜 SEM 結構分析

圖一為將 20%製膜液浸漬於純水所生成薄膜之 SEM 結構圖。其中圖一(a)、(b)為薄膜上表面，可發現此上表面為一緻密的皮層，這是因為以純水當沉澱槽，質傳速度過快，在表面高分子濃度迅速增高所造成。圖一(c)、(d)為薄膜下表面，可發現此下表面由類似於葉片而大小相仿之結晶所均勻分佈構成，孔隙大小約 700nm，薄膜之截面結構類似其下表面如圖一(e)、(f)所示。

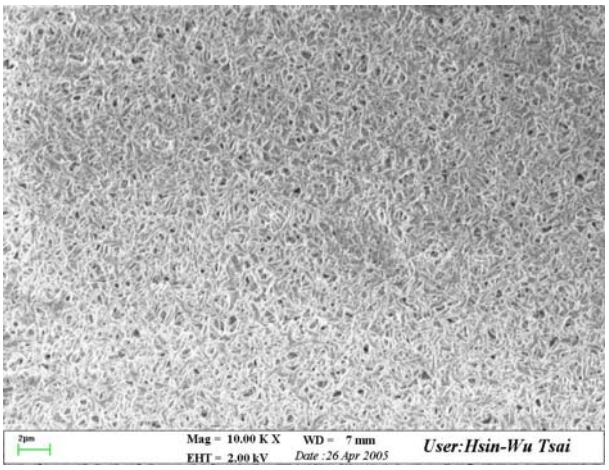
當沉澱槽中溶劑的濃度增加到 70% TEP 時，由於沉澱槽與製膜液濃度差距縮小，使得質傳速度變得較為緩和，液-液相分離行為的趨勢亦降低，這是因為非溶劑擴散進入薄膜之速率下降，延緩了製膜溶液進入液-液相分離區的時間，因此結晶的競爭能力會相對地較佔優勢，而薄膜上表面也因為結晶行為的增強，使得皮層結構不易形成；另外，表面高分子濃度較低不易膠化成為皮層也是原因之一，薄膜上表面結構示於圖二(a)、(b)，可發現高分子結晶形成條狀結構，其孔洞被條狀結晶所圍繞，呈不規則分佈。此上表面已經變的相當鬆散而多孔；由於質傳速度減緩，製膜液在結晶區的時間拉長，讓晶核可充分成核成長。(c)、(d)為薄膜下表面，可發現此下表面其結構與圖一之薄膜下表面類似，這是因為此處的高分子濃度較不受質傳影響的緣故。圖二(e)、(f)為薄膜之截面，可發現其主要由啞鈴狀結晶所構成，而球狀結晶亦隱約可見，此薄膜之孔隙分佈均勻且互通而呈連續網絡。將製膜液浸漬其他濃度沉澱槽所形成的薄膜，其結構介於圖一、二之間，於此不贅述，詳見文獻【22, 23】。



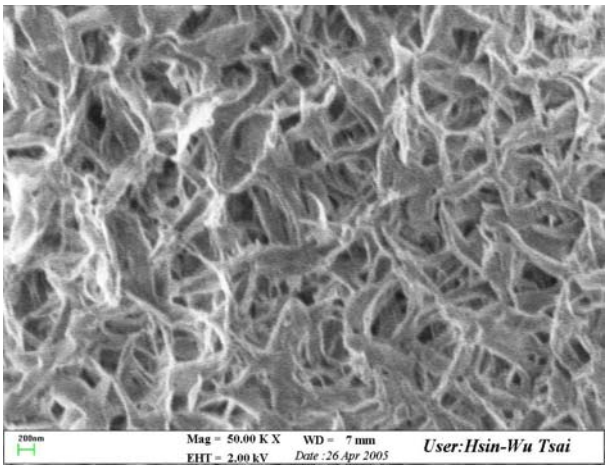
(a)



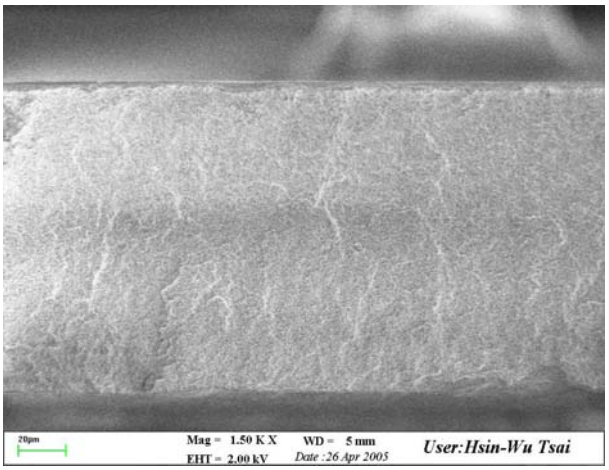
(b)



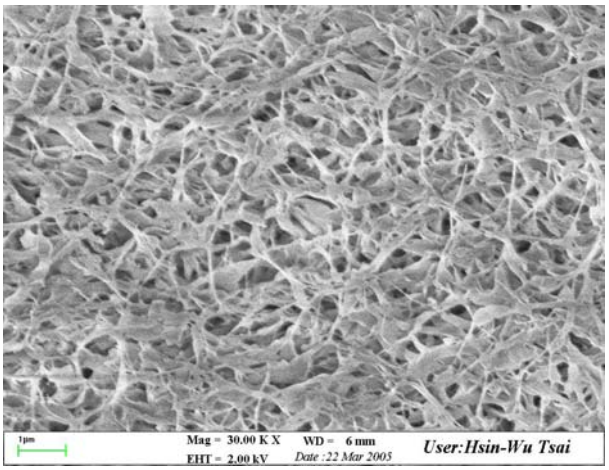
(c)



(d)

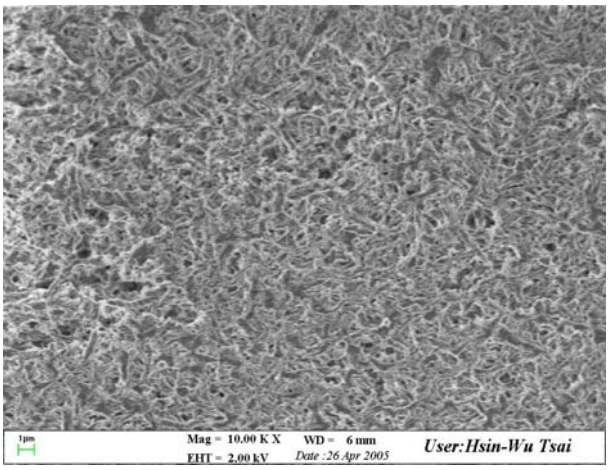


(e)

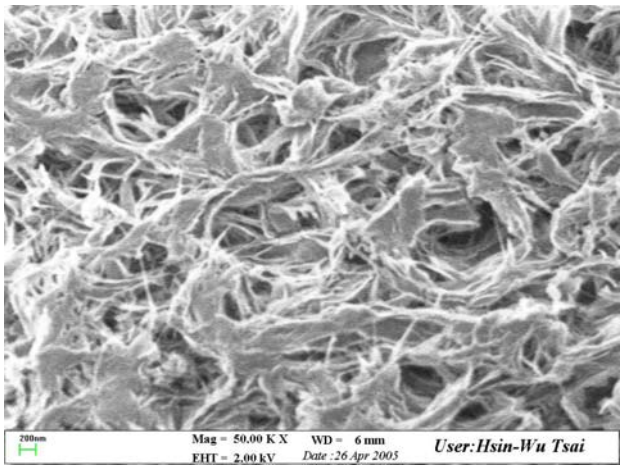


(f)

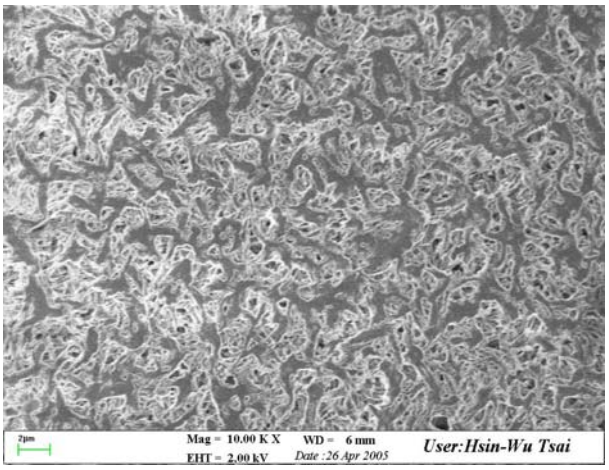
圖一 SEM micrographs of a PVDF membrane prepared from the Water/TEP/PVDF system, Bath : Pure water, Dope: 20 wt% PVDF in TEP (a), (b) Top surface 10KX, 50KX; (c), (d) Bottom surface 10KX, 50KX; (e), (f) Cross section 1.5KX, 30KX.



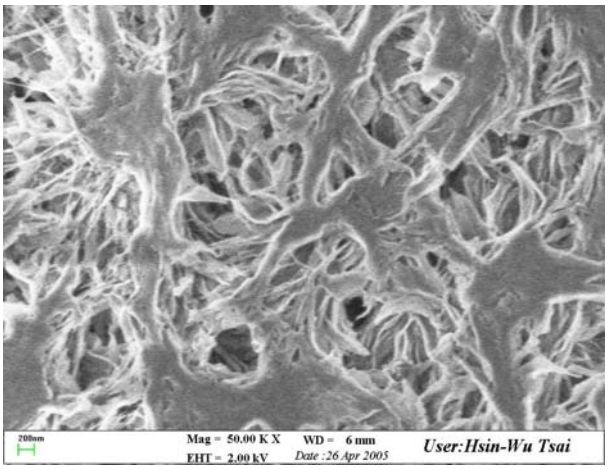
(a)



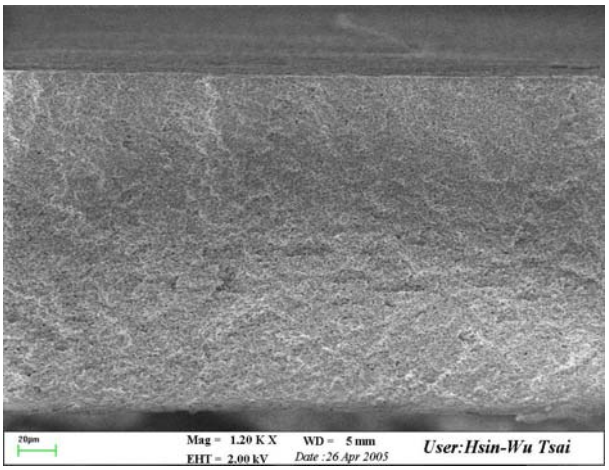
(b)



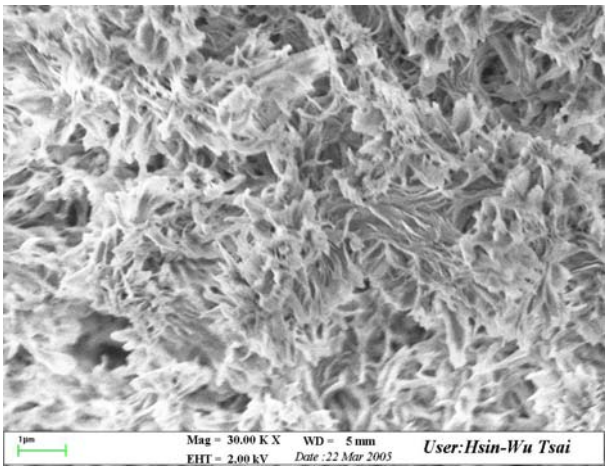
(c)



(d)



(e)



(f)

圖二 SEM micrographs of a PVDF membrane prepared from the Water/TEP/PVDF system, Bath : 70% TEP, Dope: 20 wt% PVDF in TEP (a), (b) Top surface 10KX, 50KX; (c), (d) Bottom surface 10KX, 50KX; (e), (f) Cross section 1.2KX, 30KX.

2.薄膜物性

各薄膜抗張強度的測試結果列於表一，以 70% TEP 沉澱槽所製備的 PVDF 薄膜為最弱，這可能是因為它不具皮層，且結構單純由束狀結晶堆疊而成，整體結構顯得孔隙多而鬆散所致。沉澱槽成分為純水時具有最高之抗張強度，這是因為它的皮層最為緊實的緣故，在伸長率方面也明顯的隨著 TEP 濃度上升而下降。

表一 Tensile strengths of membranes precipitated from different baths

Bath	Average Elongation (%)	Average Tensile force (Kg)	Average Thickness (μm)	Average Tensility (gw/mm^2)
Pure water	8.8	0.508	125	581
40% TEP	8.3	0.433	136	455
50% TEP	5.9	0.347	142	349
60% TEP	2.7	0.224	180	178
70% TEP	2.6	0.168	210	114

以DSC來分析各薄膜之熱性質，其結果如表二所示，可以看出各薄膜大約在 169 ^{o}C附近會有一結晶熔解吸熱峰，而ΔH差距亦不大，代表各薄膜之結晶度相當接近，約為 67%左右。另外，我們亦將不同沉澱槽中所形成薄膜之XRD圖形利用軟體作曲線擬合(curve fitting)，計算結晶度，其結果亦示於表二。結晶度大約為 61%~66%左右，顯示出薄膜間之結晶度差異不大，與DSC結果互相呼應。

表二 Themal properties and crystallinity of PVDF membranes

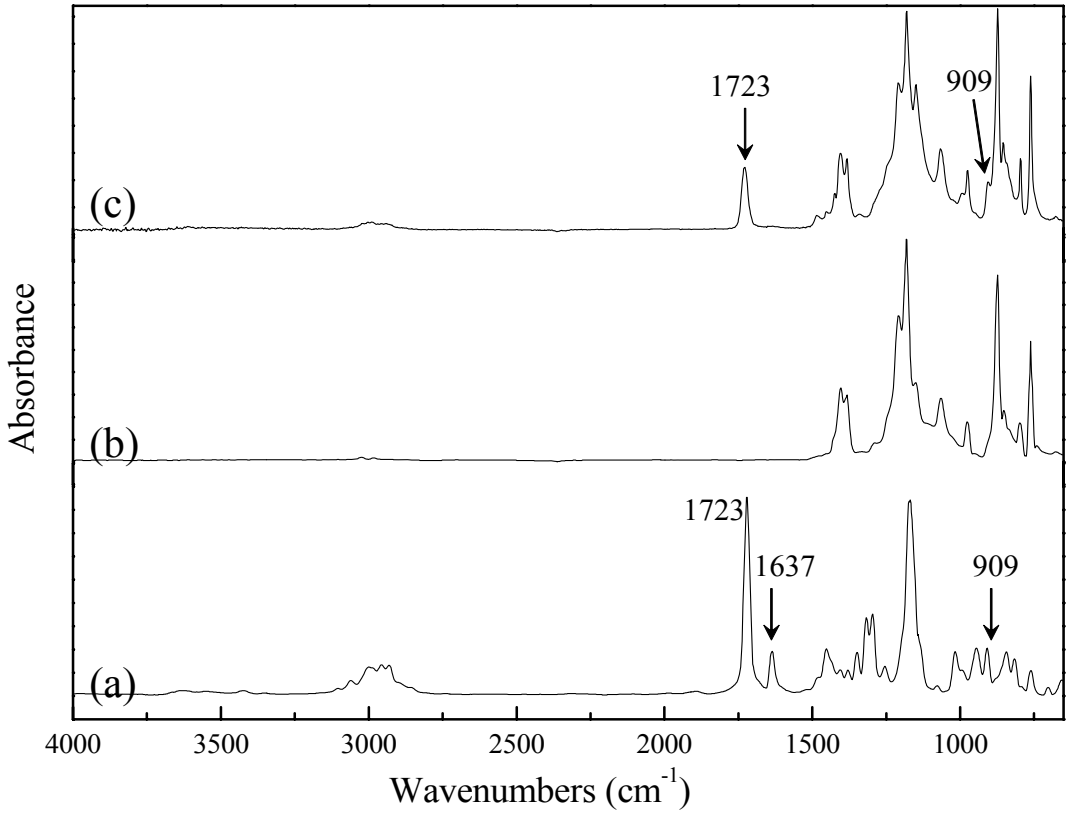
Bath	T_m (^{o}C)	ΔH of PVDF (J/g)	Crystallinity (DSC)	Crystallinity (XRD)
Water	169.1	68.5	0.65	0.6362
40wt% TEP	168.4	71.1	0.68	0.6131
50wt% TEP	168.9	72.4	0.69	0.6596
60wt% TEP	169.2	70.9	0.68	0.6499
70wt% TEP	168.7	69.5	0.66	0.6545

ΔH_m^o = 105 (J/g)

PGMA/PVDF複合薄膜之合成

1. 接枝 PGMA 薄膜之 FTIR-ATR 分析

圖三比較PVDF薄膜接枝PGMA前後的FTIR光譜變化情形，其中(a)、(b)、(c)分別代表GMA單體，未接枝前PVDF薄膜與接枝PGMA後之光譜。可以很明顯地觀察到接枝後的PVDF薄膜在 1723cm^{-1}處有一GMA之C=O延伸震動的吸收峰，此外在 909cm^{-1}處有GMA之環氧基吸收峰。而在(c)中可發現接枝後的PVDF薄膜在 1637cm^{-1}處並無GMA的C=C吸收峰，故可以推斷薄膜已被清洗乾淨不含未接枝的GMA。



圖三 FTIR-ATR spectra of GMA monomer, PVDF membrane, and PGMA/PVDF composite membrane

(a) GMA monomer, (b) Pure PVDF membrane,

(c) PGMA/PVDF composite membrane (grafting yield = 0.2148 mg/cm^2)

2.電漿處理條件對薄膜接枝 PGMA 之影響

由FTIR-ATR分析可證明我們已成功的將PGMA接枝在PVDF薄膜上，本研究同時也探討各個接枝反應的變因(電漿功率、電漿處理時間、單體濃度、反應溫度及薄膜孔隙結構等)對接枝量的影響，我們發現以RF電漿150W、電漿處理時間 90 秒、接枝溫度 60°C、50% GMA溶液時有最高之接枝率 0.293 mg/cm^{2}，詳細資料請參閱文獻【23】。

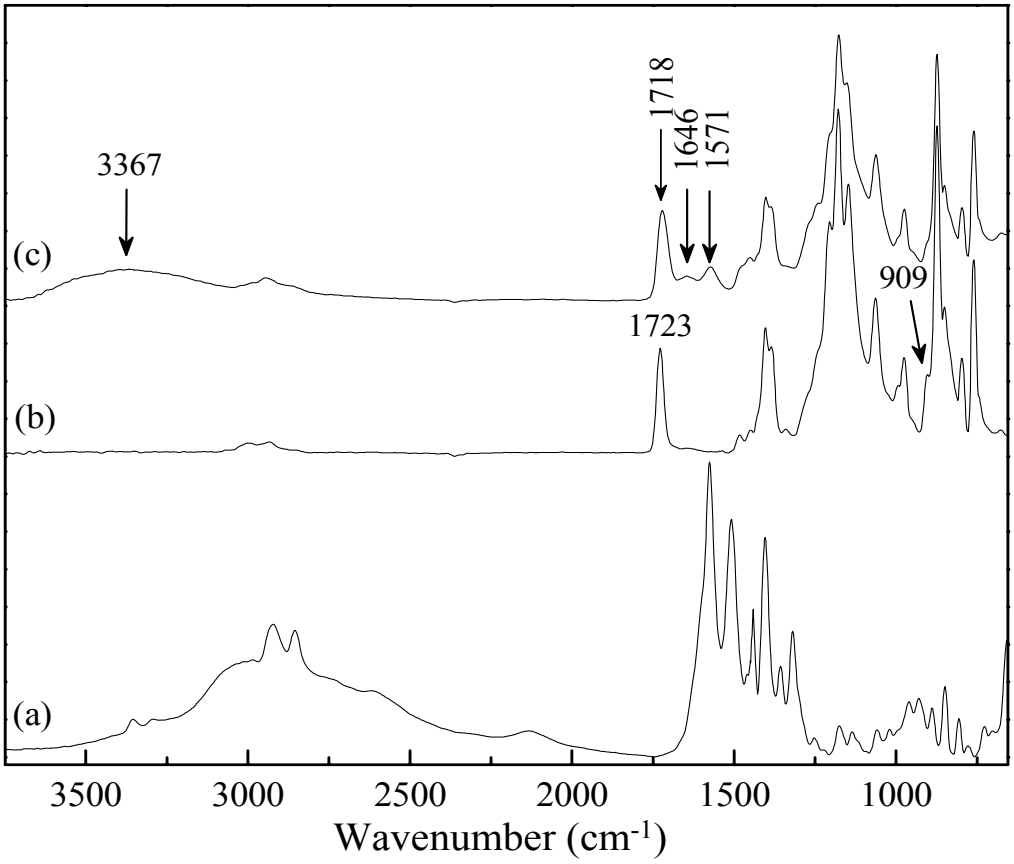
<u>PVDF-g-PGMA薄膜固定離胺酸與己二胺</u>

1.固定離胺酸與己二胺

本研究利用GMA上的環氧基與離胺酸或己二胺的胺基進行開環反應，離胺酸上的胺基及羧酸基或己二胺的胺基會因為外界的酸鹼度變化而以不同的形式存在。當離胺酸之pH值控制在pH10 時，僅只有α位置的胺基處於-NH_2的狀態，另一胺基呈現-NH_3^+之型態，而當己二胺之pH值控制在pH10.3 時，則僅只有一個胺基處於-NH_2的狀態，故本研究分別在離胺酸之pH值為 10 時及己二胺之pH值為 10.3 時作環氧基開環之固定反應，而獲得良好效果。離胺酸固定量隨反應時間增加而上升，且當離胺酸濃度為0.068M、溫度為 80°C時有最大的固定量 0.278 mg/cm^{2}，而當固定時間達24 小時後環氧基已大部份開環。己二胺固定量亦隨時間增加而上升，且當離胺酸濃度為 0.04M以上、溫度為 80°C時即可達到最大的固定量 0.222 mg/cm^{2}，詳細資料請參閱文獻【23】。

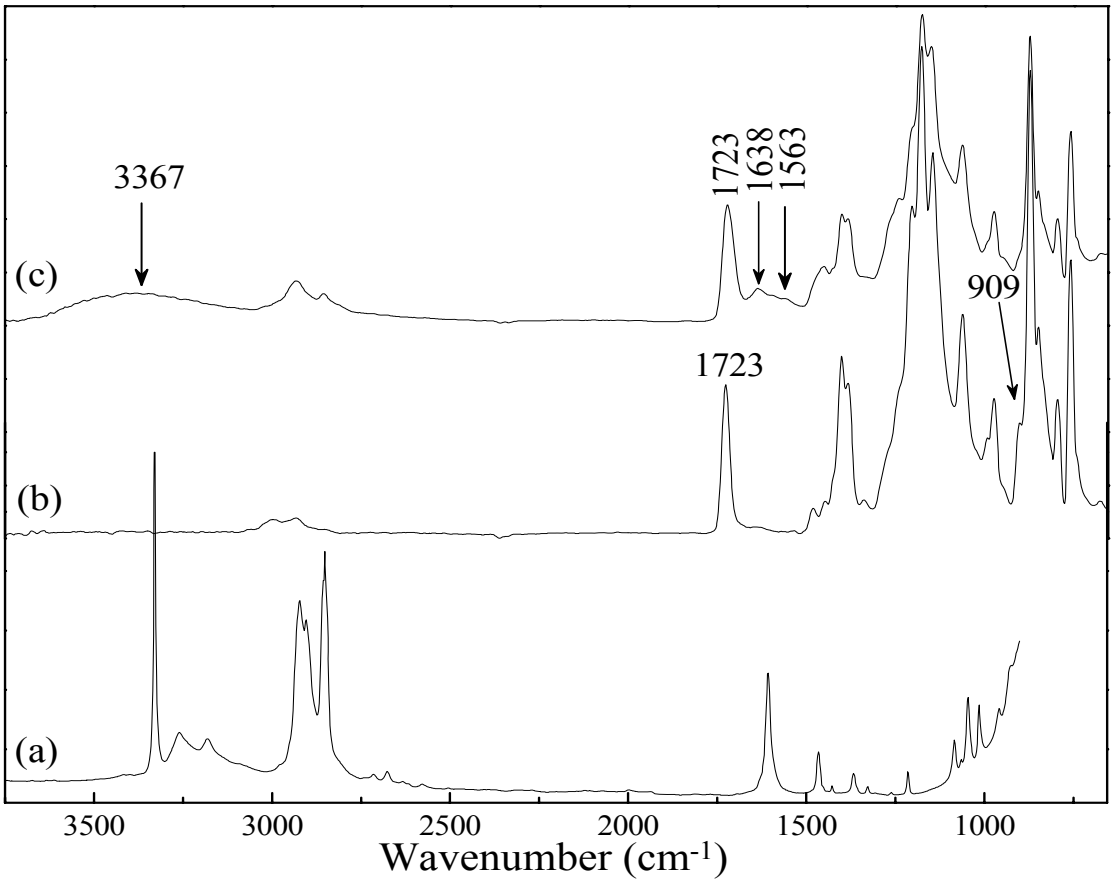
2.固定離胺酸與己二胺於複合薄膜之 FTIR-ATR 分析

圖四比較PVDF/PGMA複合薄膜固定離胺酸前後的FTIR光譜變化情形，其中(a)、(b)、(c)分別代表離胺酸單體，未固定前PVDF/PGMA複合薄膜與固定離胺酸後之光譜，(PGMA接枝量為 0.215 mg/cm^2，lysine固定量為 0.206 mg/cm^2)。可以很明顯地觀察到固定離胺酸後的複合薄膜在1646cm^{-1}及 1571cm^{-1}處有-NH_2及NH的吸收峰，此外如前所述，在 909cm^{-1}處GMA之環氧基吸收峰反應 24 小時後即消失，而 3367cm^{-1}處也出現了開環反應後之-OH的吸收峰。另外可以很明顯地觀察到在 1723cm^{-1}處GMA之C=O延伸震動的吸收峰受到離胺酸酸基之影響而向右移動至 1718cm^{-1}。



圖四 FTIR-ATR spectra of PVDF membranes
(a) Lysine, (b) PVDF/PGMA membrane, (c) lysine immobilized membrane

圖五比較PVDF/PGMA複合薄膜固定己二胺前後的FTIR光譜變化情形，其中(a)、(b)、(c)分別代表己二胺單體，未固定前PVDF/PGMA複合薄膜與固定己二胺後之光譜，(PGMA接枝量為 0.215 mg/cm^2，1,6-hexanediamine固定量為 0.163 mg/cm^2)。可以很明顯地觀察到固定己二胺後的複合薄膜在 1638cm^{-1}及 1563cm^{-1}處有-NH_2及NH的吸收峰，此外如前所述，在 909cm^{-1}處GMA之環氧基吸收峰反應 24 小時後即消失，而3367cm^{-1}處也出現了開環反應後之-OH的吸收峰。

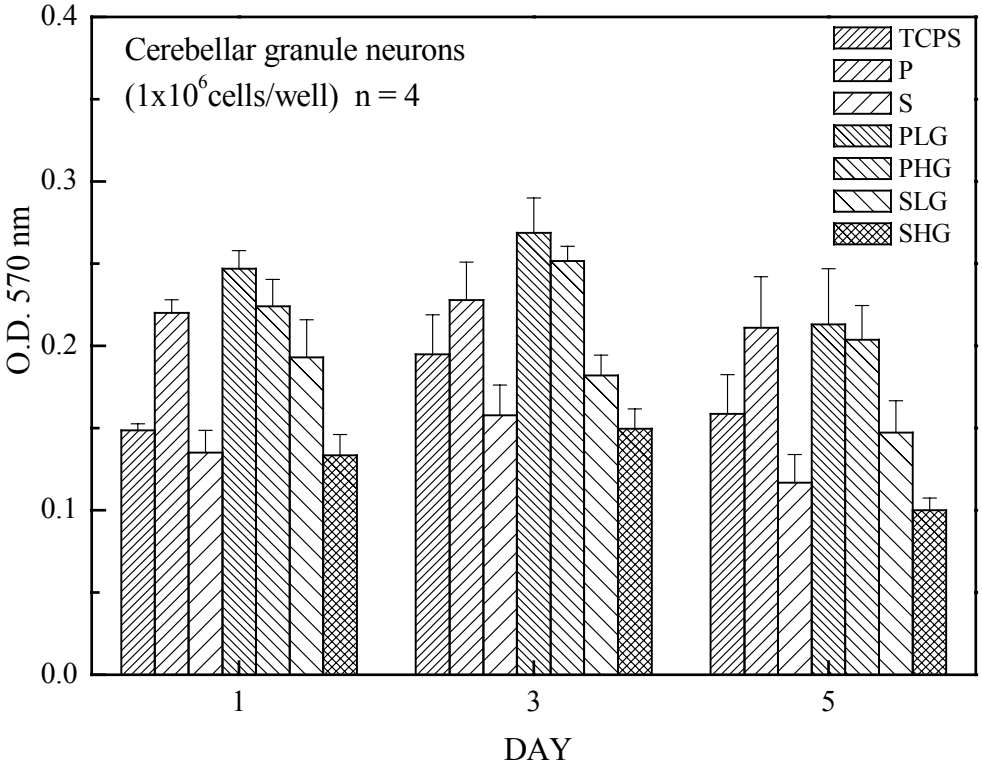


圖五 FTIR-ATR spectra of PVDF membranes
(a) 1,6-hexanediamine, (b) PVDF/PGMA membrane, (c) 1,6-hexanediamine immobilized membrane

複合薄膜培養神經細胞

1.細胞活性(MTT test)

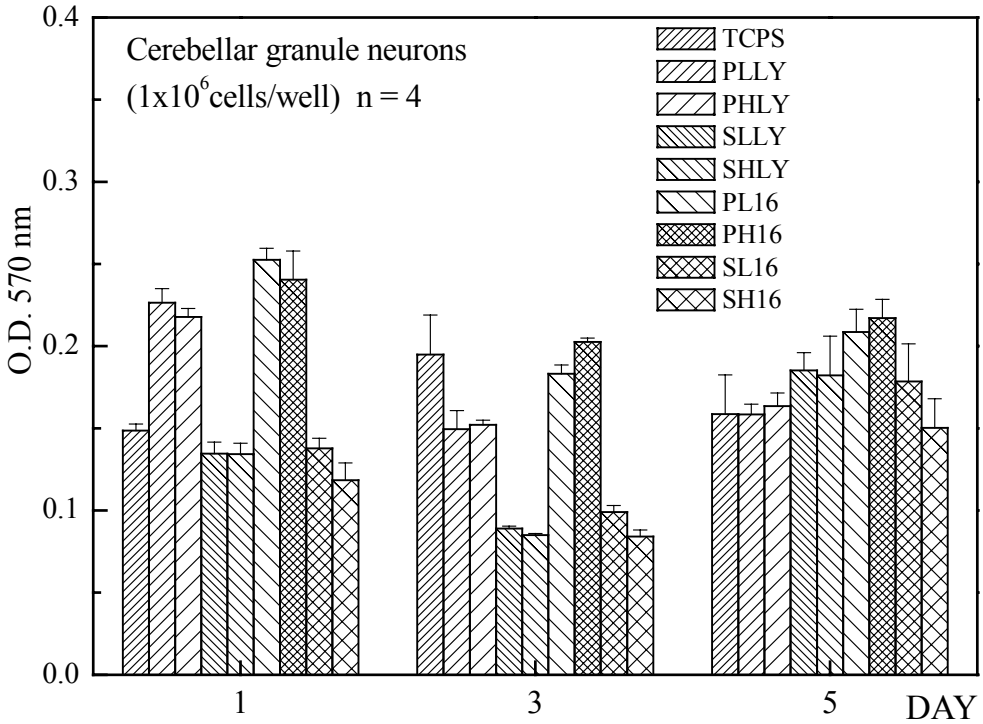
圖六為接枝PGMA前後之PVDF薄膜培養神經細胞之MTT圖，TCPS培養盤當作控制組。由圖可以觀察到多孔型PVDF薄膜在培養細胞表現上有不錯的效果，薄膜接枝了PGMA之後，其MTT值略高於未接枝之前，而兩者皆高於控制組。具皮層PVDF薄膜不論是否接枝PGMA，其MTT值大體上都比控制組低，多孔型薄膜之表面積較大且表面較為粗糙，有利於細胞貼附增生，故其MTT值比皮層結構來得高。



圖六 接枝PGMA前後之PVDF薄膜培養神經細胞之MTT圖

TCPS：控制組
P：多孔型PVDF薄膜
S：具皮層PVDF薄膜
PLG：多孔型PVDF薄膜接枝少量PGMA 0.164 mg/cm^2
PHG：多孔型PVDF薄膜接枝多量PGMA 0.293 mg/cm^2
SLG：具皮層PVDF薄膜接枝少量PGMA 0.037 mg/cm^2
SHG：具皮層PVDF薄膜接枝多量PGMA 0.215 mg/cm^2

圖七為不同薄膜材料固定離胺酸與己二胺後用於細胞培養之MTT圖。在多孔型材料方面，固定離胺酸與己二胺膜材在培養一天後，其MTT值皆比控制組高出許多，而提高固定量並不能提昇MTT值，這表示少量固定已經達到相當成效。在皮層材料方面，固定離胺酸與己二胺在表面，其效果與控制組比較其MTT值只略低一些。到了第五天時不論多孔型或緻密型薄膜其MTT值大致上高於控制組，所以整體來看經改質薄膜，對於神經細胞之培養確實有所助益，至於第三天MTT值低於控制組的情形，不如預期，另待深入研究。



圖七 不同薄膜材料固定離胺酸與己二胺後用於細胞培養之 MTT 圖

TCPS：控制組

PLLY：多孔型PVDF薄膜固定少量l-lysine 0.157 mg/cm^2

PHLY：多孔型PVDF薄膜固定多量l-lysine 0.278 mg/cm^2

SLLY：具皮層PVDF薄膜固定少量l-lysine 0.034 mg/cm^2

SHLY：具皮層PVDF薄膜固定多量l-lysine 0.206 mg/cm^2

PL16：多孔型PVDF薄膜固定少量 1,6-hexanediamine 0.124 mg/cm^2

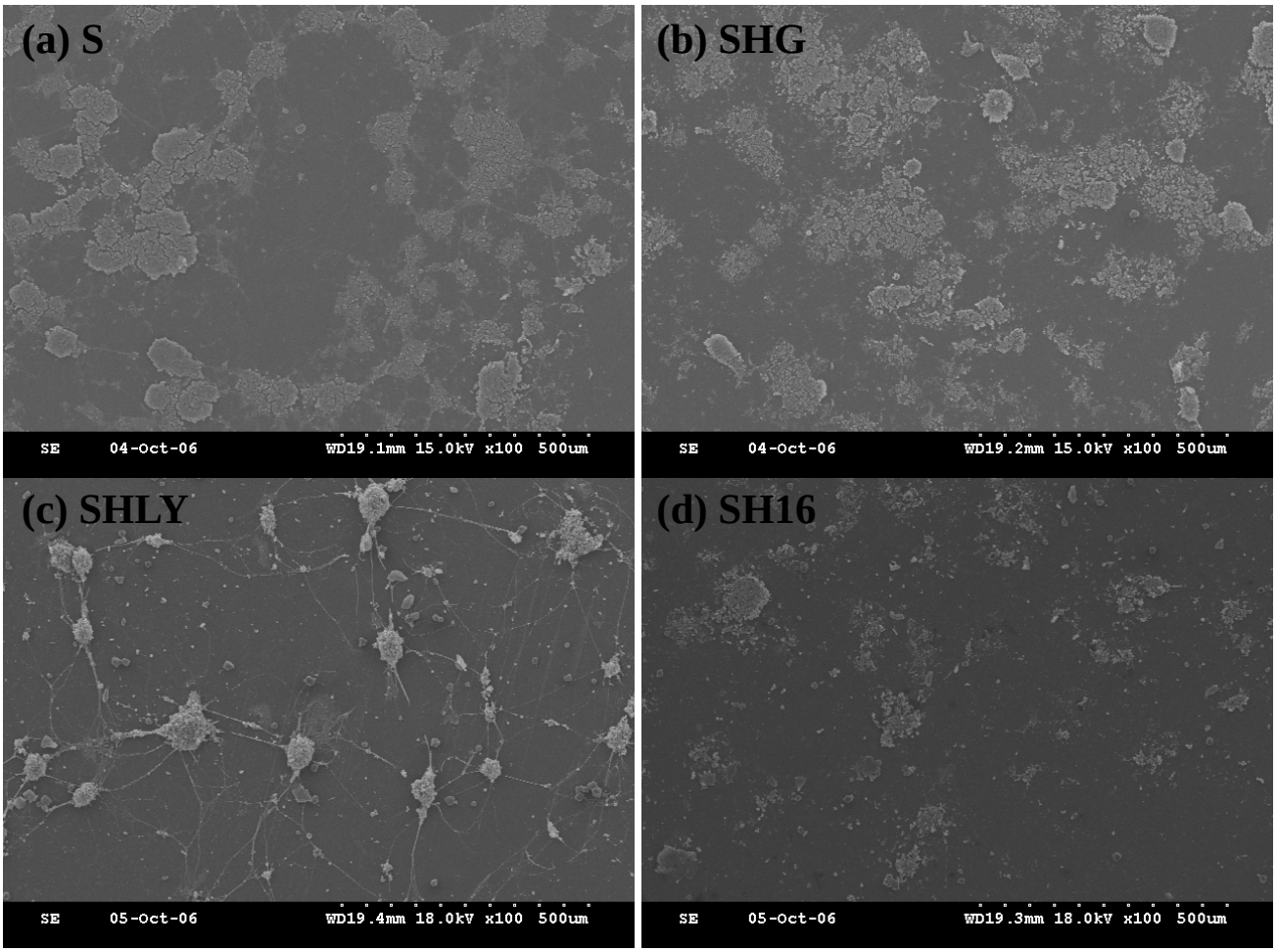
PH16：多孔型PVDF薄膜固定多量 1,6-hexanediamine 0.222 mg/cm^2

SL16：具皮層PVDF薄膜固定少量 1,6-hexanediamine 0.029 mg/cm^2

SH16：具皮層PVDF薄膜固定多量 1,6-hexanediamine 0.163 mg/cm^2

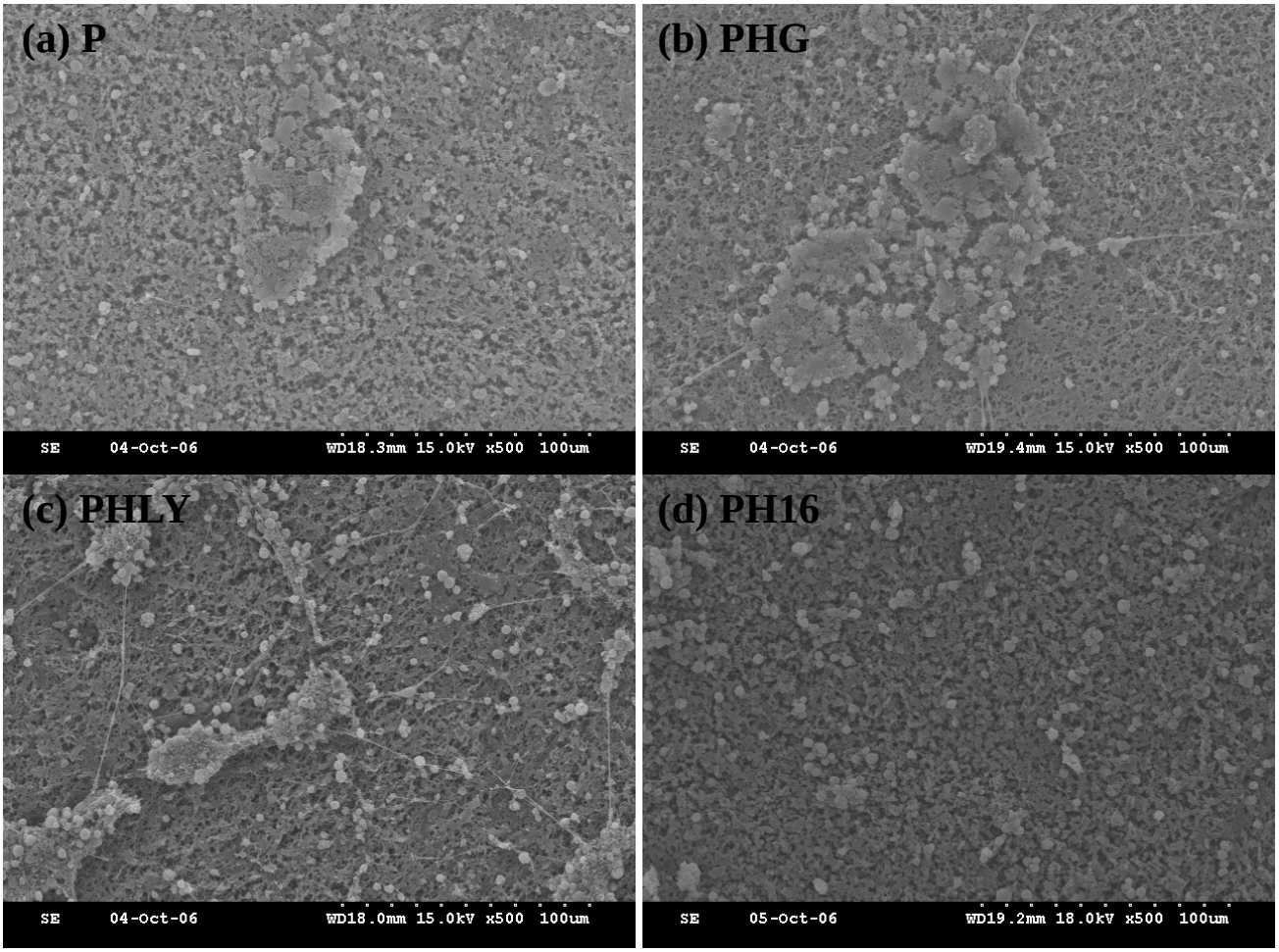
2.電子顯微鏡觀察

圖八為皮層型PVDF薄膜培養神經細胞一天後之SEM圖，(a)為純PVDF薄膜之情況，可發現細胞數量已相當多，(b)為接枝 0.215 mg/cm^2 PGMA之薄膜，與圖(a)相比較可以發現兩者細胞數量差不多，顯示PGMA並不影響神經細胞之生長。(c)為固定量較高之離胺酸薄膜(0.206 mg/cm^2)，可以發現神經細胞之神經突相當多，而且延伸的長度也相當長，因此可以預見改質離胺酸的薄膜，具備作為神經引導通道(nerve guide channel)的潛力。(d)為固定量較高之己二胺薄膜(0.163 mg/cm^2)，發現雖然有數量相當多之細胞分佈，但卻沒有神經細胞之神經突生長現象，因此推測離胺酸與己二胺化學組成上唯一的差異，酸基對於神經細胞的生長有相當程度的影響。接枝少量PGMA、固定少量離胺酸與己二胺，其SEM與圖八雷同。



圖八 皮層型薄膜培養神經細胞一天後之 SEM 圖，代號如圖六、七所示

圖九為多孔型PVDF薄膜培養神經細胞一天後之SEM圖，於圖(a)中可發現細胞數量已相當多，與皮層型薄膜趨勢一致。(b)為接枝 0.293 mg/cm^2 PGMA之薄膜，與圖(a)相比較可以發現細胞數量差不多，顯示PGMA對培養神經細胞影響不大。(c)為固定量較高之離胺酸薄膜(0.278 mg/cm^2)，可以觀察到神經細胞之神經突相當多，而且延伸的長度相當長，與圖八(c)相同。(d)為固定量較高之己二胺薄膜(0.222 mg/cm^2)，發現亦有數量相當多之細胞分佈，但卻沒有神經細胞之神經突生長現象，己二胺於多孔型PVDF薄膜培養神經細胞亦無神經突生長。



圖九 多孔型複合薄膜培養神經細胞一天後之 SEM 圖，各代號之意義請參閱圖六與圖七

六、結論

對於水-磷酸三乙酯-聚偏二氟乙烯製膜系統而言，可以利用恆溫浸漬沉澱法來製備多孔型高分子薄膜，當沉澱槽之溶劑濃度逐步增加，可使薄膜上表面結構產生變化，從帶有皮層，轉變為葉片狀結晶圍繞著孔洞的多孔型態。薄膜抗張強度隨著沉澱槽之強度而有所變化，70% TEP沉澱槽所製備的薄膜為最弱，沉澱槽為純水時，具有較高之抗張強度。DSC熱性質分析與XRD分析顯示薄膜之熔點(約為 169°C)、結晶構造(α-型)及結晶度(約61~66%)等，皆不隨沉澱槽的改變而大幅改變。

由FTIR-ATR分析可證明我們已成功的利用電漿誘導接枝技術將PGMA接枝在PVDF薄膜上。接枝量受電漿功率、電漿處理時間、薄膜表面結構等因素影響，研究結果顯示最佳使用功率為 150W，最佳處理時間為 90 秒，且多孔型表面之接枝量大於緻密型表面，最大接枝量為 0.293 mg/cm^2。

本研究分別在離胺酸之pH值為 10 時及己二胺之pH值為 10.3 時作開環反應，而將此二者固定於薄膜表面。發現不論是離胺酸或己二胺，其固定量皆隨反應時間增加而上升，前者在濃度為 0.068M而後者在 0.04M固定量達最高，分別固定量為 0.278 mg/cm^{2}和 0.222 mg/cm^2。

我們將各薄膜用於神經細胞培養，發現固定離胺酸之薄膜，有神經突之生長情況，而且神經突延伸的長度很長，因此推斷此薄膜應可做為神經引導通道的材質。但對於固定己二胺的薄膜，發現雖然數量相當多之細胞分佈其上，卻沒有神經突生長之現象，因此推測離胺酸與己二胺化學組成上唯一的差異-酸基，對於神經細胞的培養有相當程度的影響。

七、參考文獻

1. A. Bottino, G. Camera-Roda, G. Capannelli, S. Munari, *J. Membr. Sci.*, **57**, 1 (1991).
2. T. Boccaccio, A. Bottino, G. Capannelli, P. Piaggio, *J. Membr. Sci.*, **210**, 315 (2002).
3. A. Bottino, G. Capannelli, O. Monticelli, P. Piaggio, *J. Membr. Sci.*, **166**, 23 (2000).
4. A. Bottino, G. Capannelli, V. D'Asti, P. Piaggio, *Separation and Purification Technology*, **22**, 269 (2001).
5. A. Bottino, G. Capannelli, S. Munari, *J. Appl. Polym. Sci.,* **30**, 3009 (1985).
6. L.P. Cheng, D.J. Lin, C.H. Shih, A.H. Dwan, C. C. Gryte, *J. Polym. Sci., Part B:Polym. Phys.*, **37**, 2079 (1999).
7. D.J. Lin, C.L. Chang, C.L. Chang, T.C. Chen, L.P. Cheng, *J. Polym. Sci., Part B:Polym. Phys.,* **42**, 830 (2004).
8. D.J. Lin, C.L. Chang, C.L. Chang, H.Y. Shaw, Y.S. Jeng, L.P. Cheng, *J. Appl. Polym. Sci.,* **93**, 2266 (2004).
9. D.J. Lin, C.L. Chang, T.C. Chen, L.P. Cheng, *Desalination*, **145**, 25 (2002)
10. S.D. Lee, G.H. Hsiue, P.C. T. Chang, C.Y. Kao, *Biomaterials*, **17**, 1599 (1996)
11. K. Fujimoto, H. Tadokoro, Y. Ueda, Y. Ikada, *Biomaterials*, **14**, 442 (1992)
12. J. Chen, Y. C. Nho, J. S. Park, "*Radiat Phys Chem.,"* **52,** 201 (1998)
13. K. Fujimoto, H. Tadokoro, Y. Ueda, Y. Ikada, *Biomaterials*, **46,** 442 (1993)
14. D. Flosch, G. Clarotti, K. E. Geckeler, F. Schue , W. Gopel, *J. Membr. Sci.*, **73,** 163 (1992)

15. J. M. Willis, B.D. Favis, *Polym. Eng. Sci.,* **30**, 1073 (1990)
16. Y. C. Tyan, J. D. Liao, Y. D. Wu, K. Y. Hsu, *Chinese Journal of Medical and Biological Engineering,* **20**, 25 (2000)
17. Y. C. Tyan, J. D. Liao, R. Kauser, I. D. Wu, C. C. Weng, *Biomaterials*. **23**, 65 (2002)
18. T. W. Chung, Y. C. Tyan, J. H. Hsieh, S. S. Wang, S. S. Chu, *Thrombosis Research*. **105**, 325 (2002)
19. J. D. Liao and Y. C. Tyan, *Journal of Biomedical Engineering Applications, Basis & Communications*, **14**, 20 (2002)
20. U. Vohrer, M. Muller, C. Oehr, *Surface and Coating Technology*, **98,** 1128 (1998)
21. K. Kato and Y. Ikada, *Biootechnology and Bioengineering*, **51**, 581 (1996)
22. D.J. Lin, H.H. Chang, T.C. Chen, Y.C. Lee and L.P. Cheng, *Eur. Polym. J.* **42,** 1581 (2006)
23. 張旭賢, 淡江大學化學工程與材料工程學系碩士論文 (2005)