

國立交通大學

機械工程學系

碩士論文

**Fast Incorporation of Amino Functional Group on**

**PLA Surface Using the Post-discharge Jet Region of a**

**Nitrogen-based Dielectric Barrier Discharge**

利用氮氣為主的常壓電漿束於聚乳酸材料表面快速植入胺

基官能基之研究

研究生：黃皓遠

指導教授：吳宗信 博士

中華民國九十九年七月

利用氮氣為主的常壓電漿束於聚乳酸材料表面快速植入胺

基官能基之研究

**Fast Incorporation of Amino Functional Group on  
PLA Surface Using the Post-discharge Jet Region of a  
Nitrogen-based Dielectric Barrier Discharge**

研 究 生：黃皓遠

Student : Hao-Yuan Huang

指 導 教 授：吳宗信博士

Advisor : Dr. Jong-Shinn Wu



**Submitted to Department of Mechanical Engineering  
College of Engineering  
National Chiao Tung University  
in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the degree of  
Master in  
Mechanical Engineering**

July 2010

**Hsinchu, Taiwan**

西元二零一零年七月

## 摘要

近幾年來，常壓電漿逐漸興起，用途從過去的半導體製程跨到成  
日常工業，像是表面改質、生醫科技、能源科技甚至是環境工程，都  
有人將之和常壓電漿作不同程度上的結合。本實驗先由氧氣(0.1%)混  
合氮氣產生的親水電漿來對聚乳酸(PLA)薄膜表面作前處理  
(pretreatment)，目的是提升材料表面能，增加表面親水性，同時也提  
供官能基導入之空缺。接著再轉換成氮氣(5%)混合氮氣產生之電漿，  
希望藉由電漿產生的氮基官能基導入人工血管表面，以提升後續細胞  
培養上的生長力、貼附力。此裝置放電區域是由兩塊外面包覆鐵氟龍  
的金屬平板所產生，並將人工血管材料放在電漿出口的位置加以處  
理。在初步實驗中，我們先以較快速、方便的方法-水滴接觸角的量  
測方法來觀察電漿處理的參數對 PLA 材料表面之影響，從結果可以  
知道電漿處理次數、氧氣和氮氣混合比例以及處理距離都會影響到親  
水性效果。PLA 材料由未處理前的  $82^\circ$ ，經過兩階段製程電漿處理後  
最多可下降至  $28^\circ$ 。但親水性的增加不代表官能基同時被導入材料表  
面，必須藉由 FTIR 和 XPS 等儀器來分析表面化學結構和元素比例，  
才能得知材料表面官能基存在與否。PLA 材料表面 N1s 元素比例經  
過電漿處理後上升至 2.97%，隨著處理次數的增加最高可到達 5%。

最後對試片進行細胞培養測試，並於培養後定時觀察細胞貼附情形、數量變化、形態等情況。本實驗同時採用了細胞活性測量方法，期望藉由收集細胞代謝出之晶粒數量多寡，來得知細胞在此一材料上之生長情況。由實驗結果可以看出經過電漿處理的 PLA 試片比起未處理之試片，細胞有良好的貼附率，長時間觀察下也有穩定的形態成長、活性維持。將細胞培養的結果與 FTIR 和 XPS 所量測數據交叉比對下，更可以發現胺基官能基(399.2 eV)是真正對細胞生長是有幫助的，以及如何從實驗參數操作下來得到最佳官能基覆蓋率。衰退(aging)和氧化同時是一個很重要的議題，在常壓電漿操作下，試片難免與環境有所接觸，由接觸角實驗中可以觀察到衰退現象隨著時間持續的作用，並於最後達到穩定，詳細的結果在文中會有所描述。

# ABSTRACT

Atmospheric plasma become popular in recent years. It has been used in surface modification, Biomedical Technology, Energy Science, and even environmental engineering. Although not so clean, but the advantage is that low-cost, and fast processing time. therefore, atmospheric plasma technology can be applied very widely. The experiment was made using different proportions of ammonia(5%) /nitrogen mixture to generate plasma, and modify the surface of PLA. We expect to promote the biocompatibility by plasma generated nitrogen-based functional groups such as primary amino groups. The discharge was generated between two planar metal electrodes, with the both electrodes covered by quartz and the PLA sample was placed post-discharge region. At the beginning, plasma properties such as electrical, spectrum, temperature and chemical composition will be measured. To optimize the parameters as the experimental conditions. After plasma treatment, the contact angle changes from  $82^{\circ}$  to a minimum of  $28^{\circ}$ . N1s atomic ratio increase from 0% to 2.97%, it's can be reach 5% with the increasing treatment times. The effect of plasma treatment on cell affinity of PLA surface was identified by observing the morphology through the culture of mouse C2C12 cells. Obviously, many cells attached to the surface of the modified PLA film and the cells stretched very well. Cells activity was grow stable in a long time observation. Compare with FTIR and XPS data, we might be known that primary amino functional groups(399.2 eV) are beneficial to cell adhesion. And

how to get the optimize results by experimental control. Aging effect of plasma polymer are important, as marked changed to the surface chemistry of polymer may happen over the storage period. The detail of phenomenon will be described in this paper.



## 誌謝

要感謝的人實在太多了，族繁不及備載。名字可能無法一一記述於文中，在此先說聲抱歉，但你們絕對永遠都在我心中。原本以為當兩年後我從交大走出去時，頭腦會變得更聰明靈光，但是很可惜的，我依然是一個很平凡的人。但是在吳宗信老師的指導下，我學到如何合理的思考以及解決問題；學長的帶領下讓我了解什麼是正確的做事精神、態度；實驗室同學和學弟的陪伴更是在做實驗的閒暇空檔間，提供了解悶紓壓的管道。在實驗室外，黃宣諭學長和駱炳江同學算是與我共同完成此論文的夥伴，沒有你們我絕對無法順利如期完成論文。最後是我的家人，在經濟上給我穩定堅強的後盾，在生活上給我許多期望與鼓勵，當我遇到挫折時無怨無悔的陪伴在我身邊。有你們真好，真的很好!

# 目錄

摘要.....	I
Abstract.....	III
誌謝.....	V
目錄.....	VI
表目錄.....	X
圖目錄.....	XI
Nomenclature.....	XV
第一章 緒論.....	1
1.1 研究動機與目標.....	1
1.2 前言.....	3
1.2.1 常壓電漿簡介與基本特性.....	3
1.2.2 DBD 電漿簡介.....	5
1.2.3 組織工程學簡介.....	6
1.2.3.1 組織工程的定義與基本概念.....	7
1.2.3.2 聚乳酸 Poly(L-lactide).....	8
第二章 文獻回顧.....	11
2.1 傳統表面改質技術.....	11
2.2 電漿表面改質技術.....	13



2.2.1	低壓電漿改質聚合物薄膜.....	14
2.2.2	常壓電漿改質聚合物薄膜.....	16
<b>第三章 實驗架構與設備.....</b>		<b>18</b>
3.1	平行板介電質(DBD)常壓電漿束.....	18
3.1.1	電極設計與配備.....	19
3.1.2	DC quasi pulsed 電源供應器.....	19
3.1.3	氣體管路系統.....	19
3.1.4	冷卻系統.....	20
3.1.5	實驗腔體.....	20
3.1.6	單向移動平台.....	21
3.2	實驗量測系統.....	21
3.2.1	電性量測.....	21
3.2.2	熱耦式溫度計(TC).....	22
3.2.3	光譜儀(OES).....	22
3.2.4	接觸角量測系統(CA).....	24
3.2.5	傅立葉轉換紅外線光譜儀(ATR-FTIR).....	24
3.2.6	XPS 化學元素分析儀.....	26
3.2.7	倒立式光學顯微鏡.....	27
3.2.8	盤式酵素免疫分析儀(Elisa reader).....	27

3.3 實驗參數及流程概述.....	28
3.3.1 電漿表面改質.....	28
3.3.2 細胞培養流程.....	29
<b>第四章 實驗結果與討論.....</b>	<b>31</b>
4.1 DBD 常壓電漿特性與實驗參數之選擇.....	31
4.1.1 電性量測.....	31
4.1.2 電漿後放電區(Post discharge)之溫度量測.....	32
4.1.3 光譜分析.....	33
4.2 接觸角量測與分析.....	34
4.2.1 材料表面能(surface energy).....	37
4.2.2 衰退效應(aging effect).....	38
4.3 FTIR 表面特定官能基之分析.....	39
4.4 XPS 分析.....	40
4.5 小鼠肌肉母細胞(C2C12)之貼附與增生.....	43
4.5.1 細胞活性測試.....	45
4.5.2 細胞培養於多種電漿改質材料.....	46
<b>第五章 結論與未來展望.....</b>	<b>48</b>
5.1 結論.....	48
5.2 未來展望.....	49

參考文獻.....51



## 表目錄

表 2.1 多種聚合物簡介.....	55
表 2.2 低壓電漿對 PLA 處理之親水效果.....	56
表 2.3 電漿處理 PSU 薄膜之 XPS 分析結果.....	56
表 3.1 光柵操作範圍對照表.....	57
表 3.2 實驗條件.....	57
表 4.1 SpecLine 軟體分析親水電漿 NO- $\gamma$ 光譜.....	58
表 4.2 對照組和電漿處理試片表面能( $\gamma_s$ )計算.....	58
表 4.3 XPS 分析 PLA 表面元素組成 : (1) 對照組 (2) 親水電漿 (3) 氨氣電漿 (4) 兩階段製程電漿 處理.....	59
表 4.4 XPS 分析 PLA 表面元素組成 : (1) N <sub>2</sub> + 0.1% O <sub>2</sub> 親水電漿 (2) N <sub>2</sub> + 0.04% O <sub>2</sub> 親水電漿 處理.....	59
表 4.5 兩階段製程變動氨氣電漿處理次數 : (1) 0 次 (2) 40 次 (3) 80 次 (4) 120 次 (5) 160 次.....	60
表 4.6 不同改質方法對 C2C12 細胞生長於 PLA 薄膜 1-3 天所量測活 性.....	60

## 圖目錄

圖 1.1 傳統與電漿表面改質流程圖.....	61
圖 1.2 電漿溫度和氣壓關係圖.....	62
圖 1.3 常壓電漿源.....	62
圖 1.4 Paschen curve.....	63
圖 1.5 1857 年 W. Siemens 所研發出之臭氧放電管.....	63
圖 1.6 DBD 各類電極設計.....	64
圖 1.7 體外再生方式 (in vitro) .....	65
圖 1.8 體內再生方式 (in vivo) .....	65
圖 2.1 PE 表面 XPS 分析結果 : (a) 對照組 (b) 氮氣電漿 (c) 氮氣電 漿預處理+氮氣電漿 (d) 氮氣電漿預處理+氮氣電漿.....	66
圖 2.2 常壓 DBD 電漿改質 Low-Density Polyethylene 表面 NH <sub>2</sub> 密度分 佈(N = pure nitrogen, F = H <sub>2</sub> /N <sub>2</sub> forming gas) .....	67
圖 2.3 常壓平板型 DBD 電漿構造示意圖以及 PLA 試片處理位置...	68
圖 2.4 MC3T3-E1 細胞貼附於不同電漿處理之 PLA 薄膜活性狀態...	68
圖 3.1 DBD 常壓電漿系統.....	69
圖 3.2 DBD 常壓電漿電及構造圖.....	69
圖 3.3 脈衝電源供應器前視圖.....	70
圖 3.4 脈衝電源供應器後視圖.....	70

圖 3.5 電漿密度模式定義.....	71
圖 3.6 水路冷卻系統.....	72
圖 3.7 實驗腔體.....	72
圖 3.8 單向移動平台/升降平台.....	73
圖 3.9 光譜儀(OES) .....	73
圖 3.10 接觸角量測系統(CA) .....	74
圖 3.11 全反射式傅立葉轉換紅外線光譜儀(ATR-FTIR) .....	74
圖 3.12 XPS 化學元素分析儀.....	75
圖 3.13 倒立式光學顯微鏡.....	75
圖 3.14 盤式酵素免疫分析儀((Elisa reader, Multiskan Accent)) .....	76
圖 3.15 實驗流程圖.....	77
圖 4.1 親水電漿電壓電流波形圖.....	78
圖 4.2 氬氣電漿電壓電流波形圖.....	78
圖 4.3 親水電漿 Lissajous 圖.....	79
圖 4.4 電漿出口 X-Z 二維定義.....	80
圖 4.5 親水電漿量測出口下方 4 mm 溫度.....	81
圖 4.6 氬氣電漿量測出口下方 4 mm 溫度.....	81
圖 4.7 親水電漿 180-400 nm 光譜分析.....	82
圖 4.8 氬氣電漿 180-400 nm 光譜分析.....	82

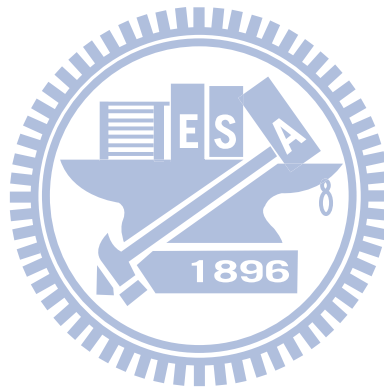
圖 4.9 PLA 水滴接觸角在不同氣體下隨處理次數之變化.....	83
圖 4.10 PLA 水滴接觸角在不同氣體下隨輸入功率之變化.....	83
圖 4.11 PLA 水滴接觸角隨 O <sub>2</sub> 比例之變化.....	84
圖 4.12 PLA 水滴接觸角隨處理距離之變化.....	84
圖 4.13 兩階段製程電漿對 PLA 薄膜親水性改質.....	85
圖 4.14 PLA 電紡絲結構表面水滴接觸角隨親水電漿處理次數之變化 :	
(a) 0 (b) 4 (c) 8 (d) 12 (e) 16 次.....	85
圖 4.15 兩階段製程電漿表面改質試片之衰退現象.....	86
圖 4.16 PLA 分子結構.....	86
圖 4.17 FTIR 1500-1800 cm <sup>-1</sup> 表面官能基分析.....	87
圖 4.18 甲殼素塗佈與電漿處理對照 : 1500-1800 cm <sup>-1</sup> .....	87
圖 4.19 甲殼素塗佈與電漿處理對照 : 1800-2000 cm <sup>-1</sup> .....	88
圖 4.20 PLA XPS 全頻譜 : (1) 對照組 (2) 親水電漿 (3) 氨氣電漿 (4)	
兩階段製程電漿 處理.....	89
圖 4.21 PLA XPS N1s 頻譜 : (1) 對照組 (2) 親水電漿 (3) 氨氣電漿	
(4) 兩階段製程電漿 處理.....	90
圖 4.22 對照組 PLA 之細胞培養顯微鏡(x100)觀察 : (A) 2 (B) 4 (C) 24	
小時.....	91

圖 4.23 親水電漿處理 PLA 之細胞培養顯微鏡(x100)觀察 : (A) 2 (B) 4 (C) 24 小時.....	92
圖 4.24 氦氣電漿處理 PLA 之細胞培養顯微鏡(x100)觀察 : (A) 2 (B) 4 (C) 24 小時.....	93
圖 4.25 兩階段製程電漿處理 PLA 之細胞培養顯微鏡(x100)觀察 : (A) 2 (B) 4 (C) 24 小時.....	94
圖 4.26 對照組 PLA 之長時間細胞培養顯微鏡(x100)觀察 : (A) 2 (B) 24 (C) 48 (D) 72 小時.....	95
圖 4.27 兩階段製程電漿處理 PLA 之長時間細胞培養顯微鏡(x100)觀察 : (A) 2 (B) 24 (C) 48 (D) 72 小時.....	96
圖 4.28 不同改質方法對 C2C12 細胞生長於 PLA 薄膜 24 小時所量測活性.....	97
圖 4.29 不同改質方法對 C2C12 細胞生長於 PLA 薄膜 1-3 天所量測活性.....	97
圖 4.30 細胞培養於 PS、PDMS 等電漿改質材料.....	98



# Nomenclature

<b>E</b>	electrical energy consumed per voltage cycle
<b>P</b>	plasma absorbed power
<i>f</i>	frequency of AC-pulsed voltage
<b>V</b>	input voltage to the electrodes
<b>I</b>	input current to the electrodes



# 第一章 緒論

## 1.1 研究動機與目標

一般的電漿已被廣泛地應用於材料或半導體元件的製程上，像是蝕刻、鍍膜或是輔助化學氣相沉積(PECVD)等製程，根據統計，所有半導體製程中約有 50% 是屬於電漿製程，由此可見其重要性。因同時考量到半導體製作過程中所需之高真空、高潔淨度，所採用幾乎為低壓電漿。低壓電漿又稱為非熱平衡電漿(non- equilibrium plasma)或是冷電漿(cold plasma)，原因在於它的電子溫度遠大於氣體溫度，也因為此一特性，一些熱敏材料也可被應用於低壓電漿製程上，而不需擔心材料受熱損傷。相較於低壓電漿，常壓電漿所擁有的優勢為不需要一個低壓環境去維持，就成本上來說免去了許多抽真空設備之花費，就效率而言，更是省去了許多腔體抽真空所耗費的時間，利用此一特性可以達到製程連續性(continuous in-line)，大大提升產品之生產效率。對於現今常壓電漿已被應用在民生、能源、生醫等各種用途上，以其快速、低成本和高彈性製程變化，具有相當的潛力來取代舊有的產品製程。

近年隨著科技的進步，人們對醫療品質的要求也相對的提高，各類生醫材料被設計成取代性器官，像是人工皮膚、人工關節、人工血

管、人工器官等，用來對人體受創傷或老化所導致不可修復之器官或組織，來進行取代 [田村康一 1992]。但無論人工組織功能被設計的如何強大，基本前提是它必須穩定的在人體內，不受外界環境影響，不被人體排斥，才能算是一個良好的人工組織。聚乳酸(PLA,  $C_6H_8O_4$ )提煉自天然澱粉酵素，原料取得容易且製作過程環保，同時具有良好的生物相容性、穩定機械性質以及生物可分解性，在生物醫學領域上被大量的應用，如可生產一次性輸液用具、免拆型手術縫合線等，低分子聚乳酸作藥物緩釋包裝劑等。近年來，更有學者研究如何利用聚乳酸材料製成人工血管支架(scaffold)，血管作為人體中輸送血液的通道 [Yoshimoto H., *et al.* 2003]。然而對人工材料的各個特性要求更為嚴苛，製程如何在不破壞材料現有特性優點的條件下，又能提升生物相容性，變成一個關鍵的所在。

傳統已知用來促進細胞貼附與生長的方法，像是將細胞貼附因子或細胞外間質材料塗佈(coating)於材料表面，常常受限於塗佈物質與材料表面之附著性，手續繁雜和時間冗長也是其問題之一。利用常壓電漿所產生之離子或活性粒子(radical)與表面進行溫和的物理和化學反應來達到表面改質功效，而不影響材料原有特性，製程的快速性更是競爭力所在；若能將常壓電漿對單一生醫材料的處理，推廣至多種生醫材料，相信對生醫科技領域會有很大的貢獻。

## 1.2 前言

使用電漿進行材料改質，逐漸地被應用在生醫材料上，從圖 1.1 可以看到在時間的耗費上，電漿製程所需的時間不到傳統製程方法的十分之一，也減少了無菌室的使用，使人員在操作上變得較為流暢。若在化學分析上和生物測試上有相同甚至是更佳的效果，相信在未來將被廣泛應用，同時也造福病患，降低等待的時間和治療的成本。

### 1.2.1 常壓電漿簡介與基本特性

電漿的產生是由電場中受加速之電子，撞擊到其他氣體原子或分子，使其離子化，被游離出的電子再受電場加速，形成一循環。另一方面，電子也有可能與離子作結合(recombination)，當離子化速率與結合速率相當時，電漿中電子密度與離子密度會達到穩定狀態，即形成電中性。電漿中反應其實相當複雜，電子、離子、自由基和中性粒子皆涉及反應，有別於傳統化學僅以自由基或特殊官能基的結果。以電漿粒子溫度，可以將電漿分成兩大類：熱平衡電漿(thermal plasma)和非熱平衡電漿(non-thermal plasma)，如圖 1.2 所示。一般來說，電子帶有電性且質量輕，相對於其他重粒子，電子受電場加速帶有較高之能量，電子與其他粒子碰撞後再將能量傳遞出去，因此能量傳遞均勻與否取決於碰撞頻率與電子能量大小，粒子間碰撞頻率與粒子所在

的環境有相當大的關係。在低氣壓的狀況下，粒子分佈較為鬆散，電子平均自由徑(mean free path)大，意味著電子與其他粒子碰撞頻率低，能量依然集中在電子上，導致重粒子溫度遠低於電子溫度，此時稱為非熱平衡電漿；某些常壓狀況下，空間中佈滿各種粒子，電子與其他粒子頻繁碰撞後將能量均勻的傳遞出去，因此電子溫度與其它粒子溫度大致相等，此時稱為熱平衡電漿。

常壓電漿近年來被廣泛地研究及應用於各方面產業上，其中較熟為人知的有電漿火炬(plasma torch)、暈光放電(corona discharge)、介電質屏蔽放電(dielectric barrier discharge)和常壓電漿束(atmospheric pressure plasma jet)，如圖 1.3。電漿火炬屬於熱平衡電漿，氣體溫度高，大多應用在冶金或焊接上。暈光放電屬於非熱平衡電漿，溫度約介於 50°~400 °C 之間，暈光放電容易在電極間產生電弧(arc)，對電極常常造成損壞，因此應用上會有所限制。介電質屏蔽放電屬於非熱平衡電漿，在兩端電極間加入一層或數層介電質材料來防止電弧產生，常見的介電質材料有石英或陶瓷。常壓電漿束是利用電弧放電與氣體產生穩定輝光放電，屬於非熱平衡電漿，由於常壓電漿束溫度低且放電均勻，故多被應用在不耐熱塑膠或聚合物表面處理上，例如：提升表面能、改質親水性等 [Akishev Yu., *et al.* 2008]。有人將含矽前趨物(precursor)通入電漿放電出口，可以鍍 SiO<sub>2</sub> 膜在材料表面 [Nowling G.R., *et al.* 2005]。

總結常壓電漿基本生成原理，都是兩平行電極板或同軸圓心管通以直流或交流電來產生電漿，主要的差異來自於電源供應器。直流電漿主要是利用兩電極間固定的電位差來加速電子產生電漿，交流電漿為了避免電荷累積在電極上，對電極施加一放電頻率，例如 10-100 kHz、13.56 MHz、2.45 GHz 等。可以想像的出，電子在交流電漿中並非固定地從一電極往另一電極之單一方向，而是隨著電位差頻率變動而改變方向，在此條件下電漿被激發的崩潰電壓(breakdown voltage)較低，代表交流電漿比起直流電漿僅需要較低的電壓輸出即可產生電漿。所謂崩潰電壓是指氣體中帶電荷粒子到達一定數量後，這些氣體粒子由原本屬於不良導體，變成崩潰(breakdown)狀態，此時電壓值即為崩潰電壓。根據兩電極間通以不同氣體成分可以得到其崩潰電壓和氣體壓力曲線圖，如圖 1.4。簡單來說，氣體壓力和放電距離乘積值大者所需崩潰電壓越大，原因是電子未受電場充足加速前就和氣體粒子或原子碰撞，自然難以產生電漿；但氣體壓力和放電距離乘積過小同樣不利於電漿產生，考慮一超高真空之狀態，即使帶有高能量電子在電極間以高速移動，但碰撞到氣體粒子的機率太低，當然也就難以產生電漿，有巧婦難為無米之炊之感。

## 1.2.2 DBD 電漿簡介

介電質屏蔽放電(Dielectric barrier discharge)早在一個世紀以前即存在，第一個被記錄於文獻，簡單的構造可參照圖 1.5。早期的介電質屏蔽放電被應用於臭氧(ozone)的製造，後來有大量的研究專注在介電質屏蔽放電過程中放出的 UV 或 VUV 相關探討，利用填充氣體不同(通常為惰性氣體)。設計出的 excimer lamps 可對材料做表面清潔、去除有機物等應用，並一直延用至今，特別是半導體產業。介電質屏蔽放電最大的問題就是放電不均勻，對應用上有相當大的限制，不過介電質放電幾何構造簡單，處理面積可以依應用調整大小，所以被廣泛的應用在大面積表面清潔 [Roth J.R. and Ku Y., 1995]、鍍膜 [Pierre-Luc G.L., *et al.* 2005] 以及表面氮化等處理 [Gao Y., 2006]，另外由於有介電質包覆住電極，使得介電質屏蔽放電電漿對金屬材料的表面改質變的可行。幾個典型的平板型介電質屏蔽放電構造如圖 1.6，兩電極間以至少一層的介電質來隔離兩電極。由於介電質材料非導體，電荷在介電質表面累積至一定量後與接地端電極形成電位差，以微電弧得到一暈光放電，同時能量足以將氣體崩潰產生電漿 [Kogelschatz U., 2003]。

### 1.2.3 組織工程學簡介

近年由於細胞生物學及細胞分化研究領域的進步，組織工程學已成為新興的科技學門。組織工程學涉及生物學、現代醫學、材料與工

程學的跨領域學科。因此，組織工程學不但可以帶動相關跨領域學科的發展，推動生物材料、生物反應器等新的高技術產業和產業群的形成，並可應用於替代、修復或改善人體各種組織或器官損傷，目前國際間以研發製造人工皮膚、神經再生、人工軟硬骨、人工肝、人工血管、人工眼角膜、細胞治療及幹細胞等為技術發展的主要項目，這是一個具有潛力、前瞻性的科技發展項目。

### 1.2.3.1 組織工程的定義與基本概念

組織工程的定義是：應用生物與工程的原理發展活組織的取代物，來修復、維持或改善人體組織的功能，而此取代物將成為病人身體的一部分，對疾病可提供特定的醫療，也就是移植具有正常或類似功能的人工組織或器官於損傷處，以期能夠達到修復的目的。現在組織工程的基本做法是：

- (1) 由人體取出細胞
- (2) 在體外將細胞培養到足夠的數量
- (3) 將這些細胞填入、培養在人工支架裡
- (4) 有時需要再函一些化學物或生長因子促進細胞的分化
- (5) 將此人工組織移植到患者身上

上述組織工程的基本做法的五項裡面，我們可以歸納出組織工程有三



大要素：

- (1) 細胞(cell)
- (2) 支撐細胞生長所需的支架(scaffold)
- (3) 影響細胞行為的訊息因子(signal)

本研究主要探討的對象，著重在支撐細胞的支架結構上，研究如何製備出可應用再組織工程上之管狀支架結構。組織工程的執行，可利用體外(in vitro)或體內(in vivo)的方式來進行，如圖 1.7、1.8 所示。所謂體外的方式，是指結合上述的組織工程三要素，在實驗室無菌操作的環境下，培養出人體組織與器官的零件，之後再由外科醫師植入病人的身上。而體內的方式，則是僅提供人工細胞外間質與生長信息蛋白質分子，在醫生植入病人缺損的部位後，引進病人周遭組織與器官的細胞，而完成修復的動作。

### 1.2.3.2 聚乳酸 Poly(L-lactide)

1954 年起，PLA 就已被知悉具有塑性(Plastic)性質 [Schneider A.K., 1955]。它是一種人工合成、生物可吸收性白色半結晶玻璃態高分子(分子式參考圖 4.16)，屬於 poly-alpha-hydroxy acids，其玻璃轉化溫度為 57 °C，熔點為 174 °C，化學結構型式有 4 種，視其立體結構為 L 型 (L-configuration) 或 D 型 (D-configuration) 而定 [Holten C.H., 1971]；PLA 通

常在環雙酯乳酸(Cyclicdiester Lactide)的開環聚合作用(Ring 12 Opening Polymerization)中被合成；在活體內，PLA 會經水解去酯作用(Hydrolytic Deesterfication)變成乳酸。而乳酸是所有有機體內碳水化合物代謝的中間或最終產物；乳酸可藉乳酸脫氫酵素(Lactate Dehydrogenase)的催化而氧化成焦葡萄糖酸鹽(Pyruvate)。接著焦葡萄糖酸鹽可用於葡萄糖的合成。或經檸檬酸循環被代謝成水和二氧化碳，再由肺和腎排出。PLA 的生物相容性良好、有合適的堅硬度、在活體內可被吸收代謝掉，滿足了部份理想接合材料的需求。當添加低分子量聚乳酸的含量愈多，有愈高的生物分解速率，添加低分子量聚乳酸的含量達 30%時生物薄膜能於約 60 天後能完全被吸收。

PLA 被吸收掉的時間範圍相當大，在動物體內，PLA 被完全吸收掉的時間由 32 週至超過 4 年，PDLLA 則在 24 週至 18 個月；在人體中，則在植入後約 12-18 個月才會開始被吸收 [Brady J.M., et al. 1972]。影響 PLA 被吸收的因素包括其分子量和結晶性、被植入的位置、所製成植體的大小和形狀、以及 PLA 的製造和消毒方法等。聚乳酸的優點主要有以下幾方面：

(1) 生物可分解性良好:聚乳酸使用後能被自然界中微生物完全

降解，最終生成二氧化碳和水，不污染環境，對保護環境非常有利。

(2) 機械性能及物理性能良好

(3) 細胞相容性與可降解性良好:在醫藥領域應用方面，可生產  
一次性輸液用具、免拆型手術縫合線，低分子聚乳酸可做為藥  
物緩釋包裝劑等。



## 第二章 文獻回顧

### 2.1 傳統表面改質技術

生醫材料被用來增強或取代人體受不可逆之損壞或老化的器官，這些材料置入人體內不可避免的與人體的組織、體液或血液接觸。因此選用某些材料來製作成醫療用具除了要注意材料本身的物理、化學性質外，還需考量到與人體的生物相容性，以防排斥現象。

一般生醫材料研發基本概念有以下幾項原則：

- (1) 良好的生物相容性
- (2) 惰性
- (3) 無毒性
- (4) 不產生過敏
- (5) 不致癌
- (6) 適當的機械性質
- (7) 材料獲得容易與低成本



高分子聚合物材料具備了以上大多數的條件，但由於高分子聚合物之疏水性造成了生物相容性的不佳，因此我們必須對這類材料表面作適當且不破壞原有特性之表面處理。傳統表面改質以化學處理法居多，目的就是希望利用這些化學物質來改變材料表面之特性，比較常見的

有玻尿酸(hyaluronic acid)、甲殼素(chitosan)、幾丁聚醣(chitin)以及明膠(gelatin)等物質。這些物質具有幾項共同特性，首先，來源萃取於生物體內，因此對人體幾乎不會有免疫反應；第二，與人體組織接觸後會形成一種支持細胞的基質來促進細胞的增生與繁殖；第三，在體內以自然的生物降解方式代謝；第四，因為這些物質在塗佈上材料後必須經過高溫高壓殺菌步驟，因此必須具有熱安定性。以明膠為例，明膠的獲得必須經由萃取、純化、化學合成然後最後消毒才能用於生醫材料方面應用。配製的流程如下，首先以 0.1%明膠與二次水(DI water)混合，需利用磁石攪拌機加溫到 40~50 °C 攪拌，才可將明膠溶於水中，溫度不可以超過 60 °C，60 °C 以上會破壞明膠性質，攪拌均勻後，利用無菌針筒過濾器(Filter)在無菌操作台過濾，將完成好的 0.1%明膠溶液冷藏 4 °C 備用。若要將明膠塗佈於材料其上，使用時先將明膠放入恆溫水浴槽加溫到室溫，在無菌操座台使用 1 滴管尖頭(Tips)將材料表面滴上適當的 0.1%明膠溶液蓋滿，一個小時後再使用滴管尖頭將 0.1%明膠溶液吸出，利用無菌操作台的紫外光(UV)照射一天或隔夜方可使用。其他化學物質的處理方法也和明膠相差不多，可以看的出來雖然沒有毒性有機溶劑製程，不過大大小小之處理手續使得整個表面改質的時間拉得相當長。

## 2.2 電漿改質表面技術

當我們要在一材料上佈線或是附著東西，有時候材料原有特性未必符合我們的需求，為了能得到更好的附著性，必須做些表面改質。

電漿處理僅對材料表面或較上層原子層進行改質，對材料整體塊材 (bulk) 並無影響，故可保留原有特性 [Poll H., et al. 2001]。電漿表面改質大


致分四類：

(1) 去除污染物(Contamination Removal)

(2) 表面活化(Surface Activation)

(3) 蝕刻(Etch)

(4) 鏈結(Cross Linking)



電漿產生之離子和活性粒子分別以物理和化學機制來對表面改質，離子帶電受電場加速，以高速離子轟擊(ion bombardment)撞擊材料表面分子鏈，分子鏈斷裂後達到表面活化或去除污染物之效果。但是對於常壓電漿的某些表面改質應用上，處理試片被放置在後放電區域(post discharge)，由於此區幾乎無電場加速效應，同時離子與空氣中充斥的大氣粒子快速反應後還原成原子或分子態，代表電漿無法對材料表面進行斷鍵活化。幸好電漿中伴隨著許多激發態粒子，激發態粒子由高能階軌域返回較低能階軌域時可能會放出 UV 或 EUV 等光源，這類短波長光源同時具有將表面斷鍵活化之效 [Iwasaki M., et al. 2008]。活性粒子

雖然不受電場加速，但其強烈的反應性可以與表面官能基作用，來改變特性，例如，大量的官能基可以被導入聚合物表面，含氧官能基可以有效率的改善材料表面親水性、含氮官能基對提升材料生物相容性有相當的幫助。很重要的一點，電漿表面改質過程中，並不需要用到水或其他化學溶劑，汙染物產生相對的低，因此可以稱得上對環境很友善的一項科技 [Mukhopadhyay SM., *et al.* 2002]。

### 2.2.1 低壓電漿改質聚合物薄膜

在電漿改質聚合物薄膜的研究中，低壓電漿依然為主流上使用的設備，原因為低壓電漿能以較低的功率輸入和小流量氣體來產生電漿，另外高真空環境下電子有較大的平均自由徑，因此電漿的能量也較強，但缺點即為前面章節所提，低壓電將不僅需要昂貴的器材設備，也需要較長的抽真空等待時間。

在處理材料的選擇上，不同的聚合物有不同的物理、化學性質，因此在應用上各有獨特的用處，表 2.1 為數種聚合物之名稱、化學結構之基本介紹。雖然不同聚合物材料的結構上有所差異，但經過低壓微波(microwave)電漿處理過後所得到的效果非常的類似，都使表面更具親水性，XPS 分析結果指出表面含氮官能基比率提升，最大值為 5%，最後經過譜峰分析後統計出含氮官能基中又約有 50% 為胺基官

能基，推測電漿對所有聚合物表面改質有特定的機制來提升生物相容性 [Schrofer K., *et al.* 2001]。表面親水性對細胞在聚合物材料表面貼附上有很大的意義，較佳的親水性對生物相容性提升的幫助也較大。PLA 在 20 Pa 壓力下被 RF (13.56 MHz, 50 W) 電漿處理 120 秒，表面水滴接觸角由原本的 78.5° 降至 21.5° (表 2.2)，經由第二種液體滴於 PLA 表面上可得到另一接觸角，再代入液體已知參數可計算出表面能從 43.2 上升至 69.1 mJ/m<sup>2</sup>，表面能的上升代表極性官能基被導入材料表面所造成 [Yang J., *et al.* 2002]。對聚合物的 XPS 表面分析上，文獻經常選擇的待測元素為碳(C1s)、氮(N1s)、氧(O1s)，電漿中的電子、活性粒子可能透過物理或化學反應來使聚合物之 C-C 斷鍵，產生 C-O 或 C-N。表 2.3 為 PSU 材料被氨氣/氫氣電漿(MW, 60 W)處理後之 XPS 分析，C1s 值從未處理前的 88.8% 最低可降至 68.5%；O1s 從 9.1 上升至 14.1；N1s 從 0 上升至 15.3。和純氨氣電漿比起來，氨氣/氫氣電漿能以更有效率的方式提高官能基導入 PSU 表面 [Bryjak M., *et al.* 2002]。有時候單道電漿處理對聚合物表面改質效果並不出色，有些研究結合了兩道電漿處理希望能提升改值效果，圖 2.1 為多種電漿組合對 Polyethylene 處理 30 秒之 XPS 分析結果，從 N1s 訊號強度看來，在氨氣電漿前加入一道氫氣電漿作預處理有較佳的效果，然而分析譜峰組成後卻發現 N-C=O 為主要成份，但對生物相容性的提升上，N-C 扮演一個關鍵



的角色而非 N-C=O。在此篇低壓電漿文獻的結論指出，氮氣電漿前加入氫氣或氮氣電漿的預處理表面上看來可以提升 N/C、O/C 之比率，但由於這類的化學結構太穩定、數量也太多以致於真正對生物相容性有幫助之胺基官能基被壓抑，難以導入表面 [Martin KRAL, *et al.* 2008]。

## 2.2.2 常壓電漿改質聚合物薄膜

常壓電漿被用來對聚合物進行表面改質已經有數十年的歷史，和低壓電漿差異最大的地方，就是使用的氣體。跟據 Paschen curve 指出氣體的崩潰電壓和壓力距離乘積呈反比，以氮氣為例，在放電距離固定為 1 公分下需要 35 kV 才能將氣體崩潰產生電漿，因此除了較高的電壓輸入外，常壓電漿通常需要藉由類似 Pening effect，混入極少量(trace)比例的第二種氣體來增加電漿強度。同時常壓電漿的氣體流量通常較大，考量到成本的問題，選擇的氣體大多為氮氣、氫氣甚至是壓縮空氣，比較少看到純氧氣電漿和純氮氣電漿來作應用。

同軸式 DBD 常壓電漿對放置在後放電區域(post discharge)的 Low-Density Polyethylene 作處理可在表面導入  $15 \times 10^{14} \text{ cm}^{-2}$  為最佳條件(圖 2.2)，此篇文獻中指出表面改質的效果與  $\text{N}_2(\text{A})$  強度有很大的關係， $\text{N}_2(\text{A})$  具有足夠的能量將 Low-Density Polyethylene 表面 C-C 斷鍵後導入胺基官能基，而從光譜的量測正好對照出來  $\text{N}_2 + 2.5\% \text{ H}_2$  電漿

能產生大量的  $N_2(A)$ ，因此效果也較  $N_2$ 、 $N_2 + 1.7\% NH_3$  電漿來的佳 [Klages C.P. and Grishin A., 2008]。在應用上，我們還是希望電漿能處理的面積越大越好，且具有規律的幾何形狀。平板型 DBD 電漿能以大面積的處理方式來進行表面改質，聚合物薄膜放置在電漿出口下方以移動方式來回處理(圖 2.3)，均勻地改質表面。圖 2.4 為平板型 DBD 電漿對 PLA 以 0.5 cm/s 移動速度處理一次至兩次後所作之細胞活性測試， $CO_2$  和空氣電漿所處理的 PLA 薄膜明顯的在細胞活性上有較好的效果， $C_3F_8$  電漿雖然效果不比前兩者出色，但還是比對照組 PLA 薄膜有較強的吸收光譜強度(OD)。 $C_3F_8$  電漿處理所提升 PLA 表面生物相容性的原理和前面所提到的改質機制有很大的不同，從表面水滴接觸角的量測可以發現到 PLA 薄膜經過  $C_3F_8$  電漿處理過後反而變得更疏水，原因為電漿中產生之氟粒子對 PLA 有蝕刻的作用，造成表面粗糙，但這樣的粗糙結構也令細胞在 PLA 表面貼附時提供更有利的環境 [Masafumi Nakagawa, *et al.* 2005]。

## 第三章 實驗架構與設備

本研究中實驗的平行板介電質(DBD)常壓電漿系統(圖 3.1)主要由五個部分組成:DC quasi pulsed 電源供應器、平行板介電質電極、水路冷卻系統、氣體管路系統與其他相關之實驗量測設備。

### 3.1 平行板介電質(DBD)常壓電漿束

所謂之 DBD 電漿，又稱介電質屏蔽放電(Dielectric Barrier Discharge)，屬於 Townsend discharge 中的不正常放電區(abnormal discharge)。相較於其他型態之電漿，DBD 會在電極與電極間另外設置一層或數層介電質，常見的介電質有陶瓷、石英等等，目的是用來減少電極間的直接放電，但相對的使電漿激發之 breakdown voltage 也相對來的較高。基於上述原則下，可將電極設計成平板型或同心軸型，平板型電極出口面積大、電極大小可隨情況調整，甚至可內置水路作為冷卻系統，因此有相當廣泛的應用價值；另外由於幾何形狀呈對稱，氣體流場規律，代表了模擬上的可行性。本篇文章所用之設備即為平行板 DBD 電漿，由實驗室自行設計製作，詳細構造會有更深入的介紹。

### 3.1.1 電極設計與配備

詳細構造圖可參考圖 3.2，此套電漿系統主要由兩塊平行電極組成，電極材料為銅(50\*50\*8 mm each)，電極內設有水路通道，可維持銅電極之溫度。兩塊電極間各覆蓋一塊同樣為平板石英介電質(70\*70\*1 mm)，石英介電質係數為 3.92。電漿放電間隙(gap)由厚度 1 mm 的鐵氟龍材料控制，若欲改變放電間隙，可藉由改變鐵氟龍厚度來達成。其餘電極外露部分，基於實驗安全原則考量下皆以鐵氟龍包覆，防止高壓電對尖端或腔體放電，危害實驗人員。

### 3.1.2 DC quasi pulsed 電源供應器

此套 DC quasi pulsed 電源供應器由 EN Technologies Inc. (model Genius 2,圖 3.3、3.4)，頻率操作範圍 20 到 60 kHz，最大輸出電壓為 15 kV (peak to peak)，最大輸出功率為 2 kW，電源密度分成大、中、小三種模式可供調變，相異模式對電性影響在圖 3.5 會另作描述。

### 3.1.3 氣體管路系統

氮氣、氧氣以及氬氣從各自氣體鋼瓶外接一調壓閥，氮氣和氧氣氣體純度為 4N，氬氣為 5N，出口壓力皆為 2 至 5 公斤(相對大氣壓力)。經由鐵氟龍材質管線(1/4 inch)接至流量計，並於此部分來調控

各種氣體的流量，進而控制混合氣體之混和比例。流量計總共有三種型式，本實驗所採用皆為浮子式流量計，實驗前必須確認浮球穩定，不能有上下晃動太大之情形，以確保氣體流量的精準度。經過數個三叉接頭後最終通入電漿電極放電間隙，間隙入口處設有一層多孔濾網，可確保混合氣體之均勻性。

### 3.1.4 冷卻系統

當電源供應器對電極輸入功率時，部分能量用於激發電漿並維持，但部分能量以各種型式消耗掉，其中有一部分以熱的形式產生於電極。為了防止電極受熱產生熱變形，電極內設有水路通道，電漿操作時水路流通並外接冰水機，水流溫度控制在 20 °C 左右(圖 3.6)。


### 3.1.5 實驗腔體

對於常壓電漿之腔體，目的不在於抽真空時保持氣密性，腔體將電極部分包覆於內部，提供高壓電運作時一層隔離，也將電漿產生之廢氣包覆在腔體內部，以便腔體外接一抽風櫃對廢氣作後處理。腔體有數個玻璃視窗，方便實驗者可以直接對電漿狀況作觀察或量測(圖 3.7)。

### 3.1.6 單向移動平台

單向移動平台由宏惠光電提供，為一維移動方向，設置於電漿電極後放電區域(post discharge)之出口下方，試片可放置於平台上讓電漿對其來回掃動處理。最大處理距離為 30 公分，可調控平台移動速度(最大速度每秒 9 公分，最低速度每秒 1 公分)、加速度、來回(passes)次數。當平台距離電漿出口距離太近可能會產生放電之情況，干擾平台作動，因此平台下方有架設一機械式升降平台(圖 3.8)，在必要時或視應用需要來調整距離電漿出口距離。

## 3.2 實驗量測系統



對於實驗中被用來量測的設備包括了電性量測、熱耦式溫度計、光譜儀、接觸角量測系統、傅立葉轉換紅外光譜儀(FTIR)、XPS化學元素分析儀以及用來對細胞培養作觀察的穿透式顯微鏡。以上這些儀器之功能和基本操作方法將在後續有更詳細的介紹。

### 3.2.1 電性量測

常壓電漿中，大多數人將電極放電激發電漿時的電壓以及電流當作指標性量測參數，而非電源供應器輸出之電壓和電流。另一種名為voltage-versus-charge的量測方法，主要是在電極接地端串聯上一耐

高壓電容，並以電壓探棒跨接在電容兩端量測其分壓，和高壓探棒量測電極之電壓數據一起匯集到三用電表，在螢幕上顯示出Lissajous圖，利用此圖形產生的封閉區域並積分其面積可計算出電極實際吸收功率。所有上述的參數量測方法，搭配量測電流用Rogowski coil(IPC CM-100-MG, Ion Physics Corporation Inc.)、高壓探棒(Tektronix P6015A)、電壓探棒(Tektronix P2220)分別連接三用電表(Tektronix TDS1012B)，便可以對DBD量測出完整的電性資料，另外我們採用之耐高壓電容的電容值 $C_m=6.8\text{ nF}$ 。

### 3.2.2 熱耦式溫度計(TC)

本實驗使用K type熱耦式溫度計來對電漿出口處氣體溫度( $T_g$ )作量測，可量測範圍介於 $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 到 $400\text{ }^\circ\text{C}$ 。但要特別注意的是，對於低溫電漿，電子溫度( $T_e$ )和氣體溫度有相當大的差異，此設備無法量測到電漿的電子溫度。

### 3.2.3 光譜儀(OES)

電漿的產生主要是由受電場加速之電子，經過粒子間一連串的碰撞才會形成，依照碰撞能量強弱，可能將粒子改變成以下之狀態：從低能階軌域至高能階軌域之激發(excitation)、游離(ionization)、甚至

是斷鍵解離(dissociation)，其中處在激發態之粒子並不穩定，所以會經由de-excitation或relaxation的方式返回較穩定的低能階軌域，並伴隨著發出特定波段的光來釋放能量。由於每一種粒子的能階組成各異，放射出的特性光譜也不相同，利用此一特性，我們可以藉由量測光譜訊號和強度來判斷電漿中可能含有哪些活性粒子。另外在400-700 nm可見光波段的光譜訊號，更和肉眼所觀察到的電漿顏色，有相當大的關係，實驗中我們常用肉眼直接觀察電漿來判定氣體比例是否正確、穩定。

本實驗用來量測常壓電漿光譜訊號設備(圖3.9)，採用單光儀(PI Acton SP 2500)內含光電倍增管(Hamamatsu R928)，藉由光纖連結一個光源偵測頭，將量測到的光譜訊號傳回OES並送至軟體記錄分析。我們可以根據量測波段不同來選擇光柵(表3.1)，以達到最大訊號接受效率。某些光譜訊號可能較微弱以至於我們很難觀察的到，這時候可以藉由調整PMT的大小或積分時間來增強訊號強度；若想要調整解析度來避免訊號重疊(overlap)的現象，則可以控制掃描寬度(step)和狹縫寬度 slit width)來提升解析度，不過相對的掃描所需時間比較長。根據以上原則，我們可以對各種電漿的各種條件作光譜量測，但要特別注意的是，每組條件所使用的參數必須相同，才能得到一準確且客觀的數據。



### 3.2.4 接觸角量測系統(CA)

接觸角在材料表面科學領域中為一重要的參數，可以經由簡易且快速的方式量測出液體對材料表面的接觸角，進而推算出表面能量(surface energy)和表面張力(surface tension)。表面能量主要由一polar liquid，最常被拿來使用的為蒸餾水(DI water)；一disperse liquid，像是甘油(glycerin)或二碘甲烷(diiodomethane)等液體，滴於受測材料上，將會得到不同的接觸角，再把數據輸入電腦中經過軟體的公式計算出表面能量(Girifalco-Good-Fowkes-Young equation <sup>[Navascues G., 1979]</sup>)。

實驗裝置如圖3.10所示(KRÜSS GmbH-Germany)，三維機器手臂前端裝設數支微量注射器，並配有CCD來擷取液體影像，影像顯示於電腦上並由軟體根據使用者選擇不同的公式計算出角度。在本實驗中，液體體積固定為2  $\mu$ l，每片試片隨機選擇四點測試，最後將四點所得之接觸角數據平均，根據所得的數據可以對材料經過電漿處理後的影響效果作分析。

### 3.2.5 傅立葉轉換紅外線光譜儀(ATR-FTIR)

傅立葉轉換紅外線光譜儀是一種很重要的分析工具，被廣泛地用來對聚合物表面作定性和定量的量測，。主要透過分子吸收紅外區輻射作用引起振動或轉動能階的遷移所產生的紅外線吸收光譜，來鑑定

化合物，也可以對表面官能基作判定。

紅外線光譜涵蓋的範圍從12800-10 ( $\text{cm}^{-1}$ )或者波長為0.78-1000  $\mu\text{m}$ ，現今應用於分析上是主要在中-紅外區，範圍從4000-400  $\text{cm}^{-1}$ ，依照振動特性又可分為：

(1) 特徵頻率區(characteristic-group frequency region；4000-1300  $\text{cm}^{-1}$ )，其可以顯現分子的一些官能基的吸收頻率。

(2) 指紋區(finger-print region；1300  $\text{cm}^{-1}$ 以下)，此區可以顯現分子結構的細微差異。

紅外線光譜分析對於有機化合物及一些無機化合物的鑑定與分析幫助很大，那是因為紅外線光譜具有獨特的指紋區能夠提供許多有用的資訊。然而對某些情況下，像是電漿處理材料表面，所影響表層厚度，遠低於材料本身厚度時，紅外線光譜測得的官能基訊號強度及解析度均不佳，結果可能難以讓人滿意。

本研究使用大葉大學生科系所提供之全反射式傅立葉轉換紅外線光譜儀(HITACHI 8400S，圖3.11)作實驗量測，量測範圍從4000-500  $\text{cm}^{-1}$  (64 scans were taken with 4  $\text{cm}^{-1}$  resolution, 45°)，用來判別PLA薄膜表面之化學鍵結種類及結構，並選擇吸收(absorbance)的模式作檢定。由於FTIR量測很容易受周遭環境像是溫度、溼度影響，因此實驗前必須留意儀器放置環境，還有每次實驗前先對未受電漿處理的

PLA當作背景環境作校正。

### 3.2.6 XPS化學元素分析儀

化學元素分析儀(XPS, X-ray photoelectron spectroscopy)可用來分析材料表面除了氫、氦以外的元素比例及化學鍵結結構。此技術基本原理為光電效應，物質吸收 X-ray 或紫外光之光子，若光子能量大於原子內層 Z 軌域的電子束縛能便會激發出自由電子，不同元素或化學結構受光子激發後游離出的自由電子各異，藉著研判這些自由電子來分析材料元素種類和化學型態。一般檢測自由電子動能範圍為 50-20keV 上下，對試片而言是一種分析表面特性很靈敏的分析工具。XPS 能譜訊號主要來自於自由電子，並以自由電子能譜圖能量值來分析元素種類、以訊號強弱分析元素含量、以譜線位移來分析組態，因此每項訊號特徵都和原子內的電子組態結構有密切關聯。

本研究使用清大貴儀中心之 XPS(圖 3.12), X-ray 以 15 kV、250 W 產生在腔體壓力為  $2 \times 10^{-8}$  torr 環境下，光子對材料以  $45^\circ$  入射材料表面，一般而言入射角度需視實驗中欲量測的表面深度來決定，若想要分析材料較深層的元素組成或化學結構，應選擇垂直方向入射表面之角度。當以 XPS 量測材料後獲得數據，在分析數據前應該作以下四個前處理步驟，平滑化(smoothing)、去混參(deconvolution)、背景

扣除(background removal) 與譜峰曲線配湊(curve fitting)等，以避免後續分析之誤差。

### 3.2.7 倒立式光學顯微鏡

倒立式光學顯微鏡主要由目鏡和多組倍率物鏡組成，常用來對生物細胞或材料表面微結構作觀察，但受觀察物體本身需具有透光度，否則無法對物體作觀察。本研究使用之光學顯微鏡，DM IL，LEICA，Major Instruments Co.,Ltd. 圖 3.13，台灣之製品。顯微鏡配有 CCD，連接電腦並由軟體將影像匯轉成電子檔案。

### 3.2.8 盤式酵素免疫分析儀(Elisa reader)

檢驗蛋白質的方法很多，如 SDS 膠片電泳(SDS gel electrophoresis)、西方點漬法(Western bolt)、免疫沉降法(imunoprecipitation)以及酵素連結免疫吸附分析(enzyme-link immunosorbent assay，簡稱 ELISA)等。ELISA 的原理是利用抗原(antigen，就是蛋白質)與抗體(antibody)結合的專一性，加上酵素的呈色(或產生螢光)反應，來顯示特定蛋白質是否存在。主要特點有下列幾點：

- (1) 線性範圍，-0.20 至 3.00 Å

(2) 波長濾光板(Filter)可依需求不同而設計

(3) 內藏自我診斷系統，確保機器正常運作

(4) 數據可由 PC 終端機輸出及印出

本研究使用之 Elisa Reader (Thermal Labssystem, Multiskan Accent)由交大生科所提供，圖 3.14。內含多種波段率光板，並有振動模式，可使細胞代謝晶粒均勻混合在藥劑中，呈色也更加均勻，增加實驗的準確性。

### 3.3 實驗參數及流程概述



#### 3.3.1 電漿表面改質

本研究的主要目的是希望藉由對電漿參數之調控來對 PLA 材料作表面改質。常壓電漿主要設備如圖 3.2 所示，由兩片厚度 1 mm 的石英介電質覆蓋銅電極，放電間距(gap)為 1 mm，試片放置在電極出口下方 4 mm 之移動平台上作來回掃動處理。電漿依氣體種類大致上分兩種：

(1)  $N_2 + 0.1\% O_2$

(2)  $N_2 + 5\% NH_3$

第一種電漿混合氣體總流量為 50 slm，電源供應器功率輸入為 500 W、頻率 60 kHz，在本篇文章中以”親水電漿”代稱(pretreatment

plasma)。第二種電漿混合氣體總流量為 10 slm，電源供應器功率輸入為 400 W、頻率 30 kHz，在本篇文章中以”氮氣電漿”代稱(rare ammonia plasma)。兩種電漿將對 PLA 材料各自處理或結合成一個兩階段製程(2-step process) – 先以親水電漿作預處理(pretreatment)，再以氮氣電漿處理，來觀察親水性改質和官能基導入率，詳細實驗條件可參照表 3.2。研究的流程，如圖 3.15 所示，可以大略分成四大部分：

- (1) 試片準備
- (2) 電漿實驗設備架設及參數選擇
- (3) 材料改質後之觀察與分析
- (4) 細胞貼附測試

其中第三部分表面分析與第四部分細胞測試可以同時進行，再將結果互相比對來尋找可能與關鍵的機制，最後對實驗作多次的驗證。

### 3.3.2 細胞培養流程

整個細胞培養過程需要經過非常完善的隔離防護，以及事先詳細的流程規劃，一個小細節的不注意可能導致整個實驗的失敗，例如細菌的汙染、藥品調配比例及用量和時間掌控等。C2C12 小鼠肌肉母細胞被用來作細胞生長測試，實驗前將細胞培養在含有小牛血清培養基(Fetal Bovine Serum)之培養皿內，並放置在溫度 37°C、5% CO<sub>2</sub> 的恆

溫箱(incubator)內。由於 C2C12 屬於貼附型細胞，當要將細胞由培養皿移至 PLA 表面上時，必須先加入約 0.3 ml 胰蛋白酶一至兩分鐘，目的是為了將細胞由原本貼附表面拔起，再加入新的培養基，分盤到各實驗條件之 PLA 表面上。為了力求實驗公正性和得到一個相同基準點，每盤細胞數量都控制在  $2 \times 10^4$ /ml，當試片放置在直徑 6 cm 的培養皿內，約需要 3 ml 培養基，因此每組試片上約有  $6 \times 10^4$  的細胞數量。細胞在一材料表面生長必須經過貼附、適應及增殖的過程，由不同實驗時間點可以觀察到細胞的生長情形，本實驗以光學顯微鏡分別在培養後 2 至 72 小時內作多次觀察。最後若要對細胞活性進行量測，必須加入 DMEM 混合 10% MTT 到培養皿內靜置 3~4 小時，其主要依賴細胞粒線體中琥珀酸去氫酶之作用將 MTT 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide) 之 tetrazolium 轉為藍色之晶粒產物，粒線體是細胞體內把養份轉換成能量的胞器，與細胞活性息息相關，所以當細胞活性越好時，產出的晶粒數量越多，晶粒集中後加入 DMSO，搭配 Elisa Reader 和 570 nm 吸收波段，可以量測到細胞活性。

## 第四章 實驗結果與討論

### 4.1 DBD 常壓電漿特性與實驗參數之選擇

在對 PLA 作表面改質前，操作參數的選擇顯得非常重要。本節將對電漿特性，如電性、溫度和光譜等參數作量測，希望從量測中找到一個既有效率，且能有效改質 PLA 來提生生物相容性之方法。

#### 4.1.1 電性量測

圖 4.1 和圖 4.2 為各自對親水電漿和氮氣電漿電性量測所得之波形圖，實際上，兩種電漿從電性量測上有些許的差異。從波形圖觀察，電壓皆約為 10 kV，而親水電漿之電流約為 400 mA，比氮氣電漿高了約 100 mA，以銅電極  $25 \text{ cm}^2$  ( $5*5 \text{ cm}$ ) 的面積來計算電流密度的話，親水電漿為  $16 \text{ mA/cm}^2$ ，氮氣電漿則為  $12 \text{ mA/cm}^2$ 。另外可以觀察到的是，電壓緩緩上升時帶動電流以微小相位差上升，當電壓上升至一個範圍後電流急速下降。造成此現象的原因和 DBD 電漿構造有關，金屬電極間並非直接放電而是屏蔽了兩層的石英介電質，電荷累積在介電質表面到一個程度的同時，也在電極的兩端累積了高電位差，當累積之電位差有能力將氣體推至崩潰狀態，電極的兩端便以電流的型式短暫的導通並釋放電位差來回到穩定狀態，周而復始地形成

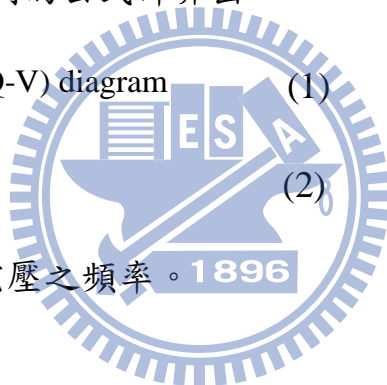


循環。圖 4.3 為親水電漿之電性 Lissajous 圖，從 Q-V 曲線圖觀察為封閉的平行四邊形，對此平行四邊形積分計算出封閉區域面積便可推算出電漿實際的吸收功率，此方法是參照一使用弦波交流電源供應器同樣對 DBD 結構驅動電漿之文獻 [Wagner H.E., et al. 2003]。親水電漿之 Lissajous 圖計算出吸收功率約為 175 W，而對照電源供應器輸入功率 500 W，代表了此 DBD 電極約有 35% 的效率，而當電壓持續下降時，有效電容值也如預期的跟著下降。每次電壓電流周期  $E$  所消耗以及吸收的功率  $P$  可以被下列的公式計算出 [Wagner H.E., et al. 2003]：

$$E = \oint V(t)dQ \equiv \text{area of (Q-V) diagram} \quad (1)$$

$$P = \frac{1}{T} E = fE \quad (2)$$

上式  $f$  代表 AC 脈衝電壓之頻率。1896



#### 4.1.2 電漿後放電區(Post discharge)之溫度量測

一般高分子材料有熔點較低的問題，在應用上造成許多的限制。聚乳酸 PLA 熔點界於 110 °C 左右，在不影響材料本身結構的前提下，對電漿製程訂出可行的操作範圍乃是首要的工作。圖 4.4 為 DBD 電漿電極示意圖，在出口定義了一個 X-Z 二維空間來顯示溫度的分佈，由於往後的實驗試片將放置在出口下方 4 mm ( $Z = 4$  mm) 位置處，因此熱耦式溫度計放置在出口下方 4 mm 量測溫度，並根據親水電漿以

及氮氣電漿的輸入功率、氣體流量和溫度的關係繪製出了圖 4.5、圖 4.6。一般很直覺地，輸入功率和溫度有著絕對的正相關，對親水電漿之輸入功率至少 500 W 才有較穩定的放電狀態來說，若要將出口溫度限制在 80 °C 以下，必須選擇 50 slm 作為氣體流量操作參數。快速的流場將使氣體在放電區停留時間變短，ion ohmic heating 效應下及電子與氣體彈性碰撞機會變少，因此在相同的輸入功率下，氣體流量越大則出口溫度越低。氮氣電漿受限於氣體成份之關係(ammonia 為毒性物質)，在本研究中不希望使用太大量之氮氣，總流量只有 10 slm，因此我們降低輸入功率(400 W)來確保較低的出口溫度。對於 X 方向之溫度分佈，呈現非常均勻的狀況，出口左右兩端溫度較中央約低了 6%，中央溫度皆落在誤差範圍之內。

### 4.1.3 光譜分析

光譜量測系統架構如圖 3.9，光源偵測頭透過光纖與光譜儀連結。氮氣電漿在放電區出口亮度非常微弱，若從側面量測幾乎量不到訊號，因此光源偵測頭被置於電漿出口正下方，對放電區直接作量測。偵測頭與電漿出口間放置一個 180 nm 濾片，防止 180 nm 以下之光源在其他區域產生倍數光頻，去影響到分析之結果。圖 4.7、4.8 為光譜儀分別對親水電漿和氮氣電漿作 200-400 nm 區域的量測，兩者

所使用的量測距離、PMT 大小和積分時間都相同，方便我們作比較。親水電漿在 200-280 nm 波段有很強的 NO- $\gamma$ ，大致上有 236、247、258 nm 幾支，NO- $\gamma$  的由來和 N<sub>2</sub> 2<sup>nd</sup> positive 有很大的關係，位於 337 nm 的 N<sub>2</sub> 2<sup>nd</sup> positive 主要是氣體中的氮分子受到加速電子的撞擊所激發，再躍遷至較低能軌域所形成，NO 分子再與 N<sub>2</sub> 2<sup>nd</sup> positive 反應後產生大量的 NO- $\gamma$ 。280-400 nm 主要為 NO- $\beta$ ，其來源和 NO- $\gamma$  非常相似。氮氣電漿氣體成分中也含有大量的氮氣，但由於氮氣本身為負電型電漿，一受到激發很容易與自由電子反應藉此返回分子態，當電漿中自由電子數量減少時電漿能量也相對的減弱，可以從圖中明顯的觀察到 N<sub>2</sub> 2<sup>nd</sup> positive 的數量大為減少，強度只有親水電漿的三分之一。如此一來，氮氣電漿甚至無法偵測到 NO- $\gamma$  的存在，只在 315、357 nm 有強度較弱的 NO- $\beta$ ，這樣的現象隨著氮氣混入氮氣的比例增加而顯得更明顯。究竟光譜所量測到的 N<sub>2</sub> 2<sup>nd</sup> positive、NO- $\gamma$ 、NO- $\beta$  對表面改質有什麼重要的意義？我們可以從表 4.1，記錄了 NO- $\gamma$  的一些資訊，NO- $\gamma$  所放出的光子能換算後大約為 5.45 eV，而 N<sub>2</sub> 2<sup>nd</sup> positive 也有 6.2 eV 的光子能，足以對材料表面作斷鍵活化，詳細的機制在後面的章節會繼續闡述。

## 4.2 接觸角量測與分析

本節將對電漿輸入功率、處理時間、混合氣體種類和比例以及處理距離作為變因，來觀察 PLA 薄膜處理後接觸角的變化，並總結出一個最佳親水條件。表面親水性和極性官能基多寡有相關性，因此在滴定液體選擇上必須同樣屬於極性的液體，最常被使用的即為取得方便且成本低廉的去離子水(DI water)。圖 4.9-12 為 PLA 薄膜經過各種不同條件之電漿處理後所測得的水滴接觸角數據，試片放置平台移動速度固定在 1 cm/s。可以從結果很明顯看得出來，只要經過電漿的處理，無論條件如何，PLA 薄膜的水滴接觸角從未處理前的 82° 皆有下降的趨勢。除了電漿輸入功率對表面親水性改質幾乎沒有差異性以外，氮氣混入 0.03% 至 0.1% 氧氣所產生的電漿可得到 50° 以下之水滴接觸角，比起純氮氣電漿和 5% 氮氣電漿有較佳的親水效果。雖然氮氣混入 0.03% 氧氣有最佳的效果，但由於氣體混合比例相差太懸殊，本實驗採用之浮子流量計無法作太精確的控制，容易有不穩定乃至於誤差的狀況發生，因此最後親水電漿的氧氣混合比例定為 0.1% 這個參數。隨著處理次數的增加，PLA 薄膜表面親水性效果也越來越好，以親水電漿為例，當處理次數到達 8 次水滴接觸角即達到飽和，約在 45° 上下。試片處理次數換算成每個位置平均暴露在電漿束的時間 (exposure time)，處理 20 次約等於 2 秒的暴露時間，方法為求出電漿束(plasma jet)到達材料表面時的有效寬度，除以試片移動速度後乘上

處裡次數 [Gonzalez E., *et al.* 2008]。從試片放置位置看來，有一個最適當的範圍約在 4 到 6 mm 之間，而非距離電漿出口越近越好 [Chiang M.H., *et al.* 2010]。圖 4.13 為兩階段製程電漿來處理 PLA 薄膜所測得水滴接觸角數據，先以親水電漿作預處理，再以氮氣電漿以 2 cm/s 的移動速度處理，在此部分移動速度調快的原因為氮氣電漿氣體流量只有 10 slm，出口溫度較高，若移動速度保持在先前固定之 1 cm/s 容易表面蓄熱導致溫度過高，為了得到相同的暴露時間，處裡次數調整為 40 次。從圖上可以觀察到 PLA 薄膜表面水滴角從原本飽和之 45° 可以突破至 31°，但隨著氮氣電漿處理次數的增加對水滴接觸角並無太大的突破。單一種電漿會在材料表面產生固定幾類極性官能基，當處理到一個階段親水性便可能會達到飽和。利用此一概念，使用不同電漿產生之不同的極性官能基，便有可能使材料表面更具親水性。對於兩階段電漿製程所產生的這一個有趣現象，其背後原因和物理意義，在後續結論部份會有更詳細的解釋。

在應用上，PLA 同時可以以電紡絲的方法製作出具方向性或不具方向性的絲狀結構，粗糙的表面使細胞有更多的接觸點，但是表面的多孔性也減低表面的親水性，造成一體兩面的問題。常壓電漿改質對表面粗糙度影響甚低 [Chiang M.H., *et al.* 2010]，卻又能改善親水性，圖 4.14 為親水電漿對電紡絲 PLA 結構處理 4~16 次之結果。如前面所描述，

雖然同樣皆為 PLA 成份，電紡絲結構比起薄膜有較粗糙的表面，因此未處理試片之水滴接觸角高達  $135^\circ$ ，從照片上看起來水滴與表面接觸面積非常小。經過親水電漿處理過後，親水性改善幅度相當明顯，處理次數到 8 次以後甚至水滴完全滲入表面孔洞，被材料吸收。

#### 4.2.1 材料表面能 (surface energy)

材料表面能同樣可以使用接觸角的方法來量測，但必須用到兩種不同的液體，本篇研究選擇去離子水和二碘甲烷(di-iodomethane,  $\text{CH}_2\text{I}_2$ )。根據以下的公式(Harmonic mean equation)：

$$(1 + \cos \theta_1) \gamma_1 = 4 \left( \frac{\gamma_1^d \gamma_s^d}{\gamma_1^d + \gamma_s^d} + \frac{\gamma_1^p \gamma_s^p}{\gamma_1^p + \gamma_s^p} \right) \quad (1)$$

$$(1 + \cos \theta_2) \gamma_2 = 4 \left( \frac{\gamma_2^d \gamma_s^d}{\gamma_2^d + \gamma_s^d} + \frac{\gamma_2^p \gamma_s^p}{\gamma_2^p + \gamma_s^p} \right) \quad (2)$$

$\gamma^p$  為極性特性參數， $\gamma^d$  為擴張特性參數； $\theta_1$  為去離子水對 PLA 薄膜量測之接觸角， $\theta_2$  為二碘甲烷對 PLA 薄膜量測之接觸角。其中一些參數為已知，對去離子水來說， $\gamma_1 = 72.8 \text{ mJ/m}^2$ ， $\gamma_1^p = 50.7 \text{ mJ/m}^2$ ， $\gamma_1^d = 22.1 \text{ mJ/m}^2$ ；對二碘甲烷來說， $\gamma_2 = 50.8 \text{ mJ/m}^2$ ， $\gamma_2^p = 6.7 \text{ mJ/m}^2$ ， $\gamma_2^d = 44.1 \text{ mJ/m}^2$ 。量測數據整理成表 4.2，表面能  $\gamma_s = \gamma_s^p + \gamma_s^d$ ，經過電漿處理過之試片比起對照組，表面能由  $46 \text{ mJ/m}^2$  上升至  $62.6 \text{ mJ/m}^2$ ，表面極性分佈率( $X^p = \gamma_s^p / \gamma_s$ )更是由 0.33 上升至 0.56。這樣的結果可以推測，極性官能基經由電漿處理過程中被植入表面，並提升表面能。

## 4.2.2 衰退效應 (aging effect)

衰退效應是一個很重要的議題，它隨著時間來影響表面化學結構。造成衰退效應的原因主要有兩個：

(1) 氧化(oxidation)

(2) 自我表面適應(adaptation)

首先是氧化，在大氣中有許多粒子或水氣分子不斷的與表面反應，造成表面化學結構改變，這個反應的速率可能跟濕度、溫度和環境氣體成分有很大關係。再來是自我表面適應，由於材料經過電漿處理後表面可能多出許多極性官能基，表面活化能提高的另外一個意思就是變的非常地不穩定，因此表面會藉由和其他物質反應或自我調整表面極性官能基濃度來趨於平衡。圖 4.15 為 PLA 薄膜經過兩階段製程電漿處理放置 3 天的接觸角變化，理論上從 XPS 量測也可以發現到衰退的現象。衰退效應在起初的 12 個小時內非常的明顯，從原本電漿處理後的  $29^\circ$  上升至  $39^\circ$ ，但接下來衰退速率逐漸趨於緩慢，從第 24 小時到第 72 小時只上升了  $6^\circ$ ，但和未處理的試片  $82^\circ$  相比還是有較佳的親水性。然而我們雖然無法完全阻止衰退的現象，但卻可以使其減緩效果，文獻中提到了幾個辦法包括了以氫電漿預處理 [Favia P., et al. 1996]、化學浸潤 [Friedrich A., et al. 2003]、低溫環境保存 [Yang J., et al. 2002] 以及最廣被使用的方法 - 放置在培養皿中以隔離空氣 [Gengenbach T.R., et al. 1994]。

### 4.3 FTIR 表面特定官能基之分析

本節利用 ATR-FTIR 來檢測 PLA 薄膜經過電漿處理後表面鍵結的變化，PLA 的化學式為 $(C_6H_8O_4)_n$ ，結構式可參照圖 4.16，大多為 C-C、C-O 以及 C=O 之鍵結。圖 4.17 為對照組和不同電漿改質方法的比較。親水電漿對 PLA 以 1 cm/s 的移動速度處理 20 次，氮氣電漿對 PLA 以 2 cm/s 的移動速度處理 40 次，如 4.2 章節所提，這樣條件下試片單位面積暴露在電漿中的時間是相同的(2 sec)。首先可以觀察到，某些特性吸收峰值只要經過電漿處理，強度會變的較弱，像是  $1738\text{ cm}^{-1}$  的 C=O 或  $1725\text{ cm}^{-1}$  的 C-C，這些都是 PLA 本身特有的吸收峰值，可能被電漿中產生之 NO- $\gamma$ 、N<sub>2</sub> 2<sup>nd</sup> positive 以物理方式斷鍵，或是藉由 O (<sup>3</sup>P) 之活性粒子以化學方式與表面反應，造成強度下降。另外可以看到位於  $1640\text{ cm}^{-1}$  和  $1545\text{ cm}^{-1}$  的吸收峰值在電漿處理過後有些許的增強，原因是表面 C=N 鍵結的增加，以及 NH 鍵之彎曲震動產生的吸收峰。從不同電漿改質方法比較，先以親水電漿作預處理，再以氮氣電漿處理的兩階段電漿製程比起單純親水電漿或單純氮氣電漿處理的條件，在 C=N 和 NH 鍵結之吸收峰值有較佳的強度。圖 4.18 和圖 4.19 為電漿改質方法與傳統細胞貼覆因子塗佈在材料的方法作不同區段之觀察，實驗中所採用之貼覆因子為甲殼素(chitosan)，原因為甲殼素中含有豐富的胺基官能基(amino groups)，與



本電漿實驗欲對 PLA 表面導入之官能基成分上很類似的。可以明顯的看的出來，無論是在  $1500\sim 1800\text{ cm}^{-1}$  區段或是  $1800\sim 2000\text{ cm}^{-1}$  區段上，電漿處理在 PLA 表面產生之各種 amide、Imine 或是 amido acid 都和甲殼素塗佈有非常接近的效果，所有上述提到的吸收峰都確實地指出胺基官能基存在於 PLA 表面。

#### 4.4 XPS 分析

對於分析 PLA 薄膜的表面元素測定上，這裡選擇了 C、N、O 三種元素來分析其比例，利用計算出的 N/C 和 O/C 值來推敲表面胺基官能基多寡、型態，以及官能基和表面親水性的關聯性。表 4.3 為不同電漿改質方法和對照組量測之結果，首先要強調的一點是，PLA 本身由 C、H、O 三種元素構成，故未經過表面處理過的 PLA 薄膜是量測不到 N1s 的訊號。親水電漿處理過的 PLA 薄膜 C 元素比例下降，而 O 和 N 的元素比例稍稍地上升，氨氣電漿處理過的 PLA 薄膜各項元素比例看似沒有太大的改變，甚至對於我們關注的 N1s 值也只有 0.07%。我們可以從親水電漿和氨氣電漿的光譜資訊看出一點端倪，雖然親水電漿和氨氣電漿的處理都有可能在 PLA 表面產生胺基官能基，但前提是電漿的處理必須先讓 PLA 表面的 C-C 斷鍵，提供官能基導入之空缺，也增加表面能。親水電漿在 UV、EUV 波段的 NO- $\gamma$ 、

$N_2 2^{nd}$  positive 所產生的光子能約 6.2 eV，足以讓鍵結能 4.2 eV 的 C-C 斷鍵，反觀氮氣電漿在光譜的量測上，可以很明顯的看的出來，強度上差了許多，因此在這推測為無效的原因。和前面章節量測的接觸角、FTIR 結果比較起來有很相似的一點，兩階段製程電漿處理過的 PLA 薄膜，無論是對 C-C 斷鍵的比率、O 元素的提升，都較其他條件來的有效，特別是 N1s 比率也大幅提升到了 2.97%。圖 4.20 為 XPS 分析之全譜圖，主要的峰值有 C1s (285 eV)、N1s (400 eV)、O1s (532 eV)。

表 4.4 為不同氧氣比例產生的電漿和對照組所作的整理，由於經過電漿處理的 PLA 薄膜 C 元素比例皆下降而 O 元素比例皆上升，因此計算出來的 O/C 值從未處理的 0.57% 上升至 0.62%，微幅變動氧氣比例對 O/C 值沒有太大的影響。O/C 值的上升可能代表有親水官能基被導入 PLA 薄膜表面，像是羧基(carboxy-group, COOH)和羥基(hydroxyl-group, OH)等，另外 N1s 代表的胺基官能基(NH<sub>2</sub>)也對親水性有影響效果。從上述結果可得到一結論，藉由選擇電漿氣體種類來控制材料表面的親水性是可行的。

表 4.5 為固定親水電漿處理次數，變動氮氣電漿處理次數來觀察 N1s 的變化，次數從 0 到 160 次。當氮氣電漿處理 0 次，其實就等同於只被親水電漿處理，N1s 值為 0.51%。隨著處理次數從 40 次到 120

次，N1s 值慢慢上升到一個極限約 5.01%，因此次數到了 160 次以後 N1s 值沒有太大的變動。N1s 值並不會隨著處理次數的持續增加而上升，因為材料受到電漿改質後表面會提供一定數量因斷鍵所產生之空缺，接著電漿產生的官能基導入到表面的同時，也不斷減少空缺的數量，當空缺漸漸被填滿而表面逐漸趨於穩定平衡，這時候再持續被電漿處理實際上沒有太大的功效。

雖然最被我們最關注的 N1s 值和胺基官能基有很大的關聯，但還是要經過譜峰曲線配湊(fitting)後才能了解 N1s 裡包含了多少對細胞貼覆有幫助之成分 - 胺基官能基，或是沒有用的成分 - 氧化胺基官能基 [Kim S.S., *et al.* 2006]。圖 4.21 為 N1s 在 400 eV 波段放大分析後之結果，整個波峰裡含有兩個副波，一個是位於 399.2 eV 之胺基官能基 (N-C, amino group)，一個是位於 400.3 eV 之酰胺基官能基 (N-C=O, amido group)，也就是氧化胺基官能基。只經過親水電漿或氨氣電漿處理的 PLA 薄膜，雖然在 N1s 的位置有微小的訊號，但是分析後發現氧化胺基官能基成分佔多數，整個波峰位置偏向 400 eV 以上。經過兩階段製程電漿處理的 PLA 薄膜不僅 N1s 值較大，且胺基官能基佔了多數，波峰位置也偏向 400 eV 以下。常壓電漿並不需要一個隔離腔體來進行抽真空動作，因此在速度上相較於低壓電漿有明顯的優勢，但過程中難免與大氣有所接觸，表面氧化反應在所難免，如何改

進或避免氧化對常壓電漿改質效果的影響，有許多相關的論文探討，在此不多作敘述。

#### 4.5 小鼠肌肉母細胞(C2C12)之貼附與增生

在最終的應用上，PLA 薄膜在經過電漿表面改質過後，表面親疏水性、官能基種類及多寡對生物相容性提升之影響，都需要經過細胞培養測試，透過觀察細胞的貼附速度、生長型態以及繁殖情況來得知改質效果。小鼠肌肉細胞 C2C12 採自老鼠腿肌肉上的細胞，一般哺乳類動物細胞屬於貼附型生長細胞，意思就是如果細胞要在一材料上生長，他們必須先貼附於材料表面上才有可能存活下去，即使漂浮於含有養分之培養液中也無法令其生長繁殖。圖 4.22-25 為實驗對不同條件的 PLA 薄膜作細胞培養後第 2、第 4 以及第 24 小時的觀察，第一次觀察選在 2 個小時後的原因為前面所提，一開始細胞貼附與否決定了往後的生長情況。在培養後第 2 個小時的觀察可以發現，細胞對親水電漿與兩階段製程電漿處理的 PLA 薄膜有非常好的貼附情形，已經有少數細胞拉長，代表細胞已經貼附於材料上。對照組試片所培養的細胞很明顯的處於漂浮狀態，細胞形狀也是圓球狀，這時候稍微晃動試片從顯微鏡可以看到細胞隨著培養液流動而飄移。第四個小時細胞均貼附於每組 PLA 薄膜上，但對照組還有相當多的細胞處

於漂浮狀態，而細胞在兩階段電漿製程處理的 PLA 薄膜上幾乎完全貼附，形狀也拉成更細長的紡錘狀(spindle shape)。最後在第 24 小時的觀察，兩階段製程電漿無論在生長型態上，或數量分佈上比起其他條件，都有最好的效果，對照組和氮氣電漿處理的 PLA 薄膜雖然有細胞貼附於表面，但卻聚成團狀，此一現象代表細胞生長的不是很好，因此必須集結成團來提高生存的機率。親水電漿在觀察初期有還不錯的貼附速率，但長時間觀察下來，細胞生長效果卻顯得不出奇，這樣的結果和許多探討有關表面親水性和細胞貼附關聯之文獻有相似之處，他們的結論指出材料的親水性對初期細胞貼附有良好的助益，但光靠親水官能基無法提供細胞長時間生長之有利環境。比對前面所量測到之 FTIR、XPS 數據，PLA 薄膜經過兩階段製程電漿處理過後，表面的確多出了許多官能基，無論是親水官能基，或是含氮(N-containing)的胺基官能基。這些胺基官能基由於帶有極性之關係，會讓表面產生等同於生理學帶正電之效果，因此對培養液中帶負電之細胞或蛋白質有吸附的效果 [Yang J., et al. 2002]。從上述結果看來也可以澄清一點，胺基官能基並非直接提供細胞養份的來源，養份是由培養液中的成分像是糖蛋白來提供，胺基官能基只是有利於細胞和養分同時被吸附於材料表面，營造出好的生長環境。

圖 4.26、4.27 為對電漿處理的 PLA 薄膜作更長時間的觀察，其

實趨勢和前面所得之結果差不多，比較特別的是無論在對照組或電漿處理的條件下，細胞數量從第一天(24 H)至第二天(48 H)沒有太明顯的增加，反而從第二天到第三天(72 H)數量幾乎增加了兩倍。從這次的觀察可以察覺到一個問題，也就是顯微鏡觀察的為試片的局部區塊，無法代表整片試片細胞生長狀況，就統計意義上來說會有很大的誤差，因此若要測得所有細胞的生長情形，活性量測是一個不錯的選擇，關於這部分實驗量測的結果會在下面章節做更詳細的報告。

#### 4.5.1 細胞活性測試

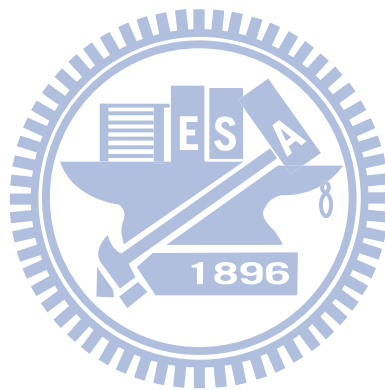
細胞活性測試使用的原理為呈色法，再透過盤式酵素免疫分析儀(Elisa reader)的特定波段濾片來量測吸收光譜強度。圖 4.28 為細胞活性量測結果，親水電漿和氨氣電漿因為在細胞培養效果上沒有太大的功效，因此在此實驗中不作討論，而剩下的三個條件分別為對照組、兩階段製程電漿處理以及傳統生長因子塗佈的方法分別作比較。為了增加統計平均數，和重複實驗再現性，每組條件各作三片( $n=3$ )。經過一天以後的培養，傳統生長因子塗佈方法和電漿處理之條件活性明顯的較對照組來的高，數值約為兩倍。圖 4.29 為同樣條件下作三天的活性觀察，長時間觀察下，電漿處理效果不僅和傳統生長因子塗佈效果差不多，細胞活性也有穩定的成長，第三天的活性值比起第一天成長約 50%，原始數值可參照表 4.6。對照圖 4.27 可以看到細胞對經

過電漿處理的 PLA 薄膜有很好的生長，到了第三天甚至幾乎完全覆蓋於整個材料，實際上這也是活性量測時間無法延長的原因，當細胞長滿整個材料八成以上，細胞擁擠的緊靠在其他細胞邊，雖然重新補充培養液可以提供更多細胞所需的養分，但考量到老化的問題，我們需要將部份細胞繼代(subculture)移至其他環境，但如此一來便會影響活性量測的數據，因此文獻上量測活性多為 3 天。

#### 4.5.2 細胞培養於多種電漿改質材料

電漿表面改質看起來在功效上幾乎和傳統改質方法有不相上下的功效，而傳統改質方法被使用了相當長的一段時間，原因不外乎應用範圍相當地廣，對多數的生醫材料包括高分子聚合物(polymer)、金屬(metal)、陶瓷(ceramic)以及複合材料(composite material)皆可以應用其上。因此電漿改質方法所面臨的挑戰除了功效的比較外，還有很重要的一點就是應用範圍的大小。跟據前面章節結論所推導出的電漿改質機制，理論上也可應用於其他的材料上，圖 4.30 為 PS、PDMS 經過電漿處理後之細胞培養結果，PS 和 PLA 同樣為聚合物，細胞培養上常用的培養皿即為 PS 所製，一般普通的培養皿直接拿去作細胞培養效果非常的差，外面商業化培養皿大多經過特殊處理才有很好的生物相容性，但相對地價格也比較高。PDMS (聚二甲基矽氧烷)是一種已經廣被使用於微流體元件(microfluidic device)製作的技術，可以自

在搭配矽晶圓、玻璃或另一片 PDMS，低價地製作微流道、微混合器、微泵浦、微閥門等元件，最小的轉寫幾何尺寸也能達到奈米等級。這兩項材料從本實驗結果看來，經過電漿處理後都有相當不錯的效果，PDMS 更是可以利用本身的微結構與電漿製程結合，令細胞的生長有方向性，再再都驗證了電漿也有相當廣的應用範圍，同時這也是實驗室未來努力邁進的目標之一。





## 第五章 結論與未來展望

### 5.1 結論

本研究主要是利用不同電漿的特性，互相搭配，各取所長來強化電漿表面改質功效，增進 C2C12 細胞在 PLA 表面的貼附力。 $\text{N}_2 + 0.1\% \text{O}_2$  親水電漿的處理可將 PLA 表面水滴接觸角從  $82^\circ$  降至  $47^\circ$ ，這樣的親水效果對細胞初期貼附速率有明顯的幫助，但長時間觀察後卻發現細胞活性並不佳。在此說明了這個實驗一直強調很重要的一點，單純親水電漿處理對表面親水性改質有顯著的影響，但對代表胺基官能基的 N1s 提升則有所限制，從 XPS 數據看來也只有 0.51 (N/C = 0.01) 的元素比例。在親水電漿後加入一道氮氣電漿的處理，N1s 值可上升至 2.97 (N/C = 0.05)，並隨著處理處數增加最高可到達 5 (N/C = 0.09)，說明了胺基官能基是由氮氣電漿所產生並導入 PLA 表面。然而就表面科學來說，一個穩定的物質狀態是難以和其他官能基作結合，因此相反的，氮氣電漿也需要親水電漿先對 PLA 作預處理，藉著親水電漿所放出的  $\text{NO}\cdot$ 、 $\text{N}_2$  2<sup>nd</sup> positive 以及  $\text{O}(^3P)$  活性粒子與表面反應，提高表面能才有可能將官能基導入，否則單純氮氣電漿也無法有效的改質表面。兩階段製程電漿保留了兩種電漿的特性，在細胞培養的觀察和活性的測試上，均有不錯的效果。和對照組比較起來，在

初期有較快的貼附速率；在長時間的活性測試上也得到幾乎兩倍的活性值，這樣的結果也間接證明了位於能譜 399.2 eV 之胺基官能基 (primary amino group) 的功效，釐清眾多官能基對細胞生長之影響。

回到研究動機，我們想藉由一個快速、方便且低成本的常壓電漿製程來替代傳統改質方法。從細胞測試看來，兩者有幾乎相同的效果，雖然本研究中電漿改質方法無法做出太大的突破，但考量到所節省的時間，電漿絕對有它獨特的魅力。從 4.2.2 章節的研究裡也指出電漿製程普遍存在的問題 – 衰退效應，但透過適當的保存方式和環境，可以有效的降低衰退速率和程度。

總結實驗結果，電漿改質 PLA 的機制推測為兩個主要反應：(1) 表面斷鍵活化 (2) 官能基團導入。在文章的最後，為了證明理論的可行性，PS 培養皿與 PDMS 試片被拿來做相同條件的電漿處理，在細胞培養觀察中也有相當不錯的效果，PDMS 本身的微結構和電漿結合更是可以令細胞有方向性的生長。

## 5.2 未來展望

對於電漿提升生物相容性這個題目來說，同時包含了電漿物理機制、材料分析理論以及生物細胞的相關知識，算是一門跨領域的研究，因此嚴格上來說在許多部份的探討稍嫌不足，也有很多疑問尚未

解開，在這簡列三個未來可以持續努力鑽研的部份，提供後續研究者一個可能的方向：

(1) 電漿源：透過模擬的分析可以清楚的了解粒子間互相的反應，像是主要產物、反應速率等，增加我們對電漿的掌控度。從實驗上可以藉由更換氣體來得到不同的官能基，使應用範圍更廣。同時對更多參數進行調變，如處理距離、時間、輸入功率、平台移動速度等，明確的畫出一個有效工作範圍後，選用一個較有效率的實驗參數來作為未來應用之依據。

(2) 表面量測與分析：未來可加入 AFM 或 SEM 來對材料表面作粗糙度和表面型態的觀察。

(3) 應用：涉及到不同的應用，未必所有材料或所有細胞都適用於某個電漿改質參數，希望藉由重複的實驗來整理出一個表格，記載有關特定材料或特定細胞之有效參數。

## 參考文獻

- [1] Yu A., Grushin M., Dyatko N., Kochetov I., Napartovich A., Trushkin N., Tran Minh Duc and S Descours, “*Studies on cold plasma–polymer surface interaction by example of PP- and PET-films,*” J. Phys. D: Appl. Phys. 41 235203, pp 13, (2008).
- [2] Nowling G.R., Yajima M., Babayan S.E., Moravej M., Yang X., Hoffman W and Hicks R.F., “*Chamberless plasma deposition of glass coatings on plastic,*” Plasma Sources Sci. Technol. 14, pp.477–484, (2005).
- [3] Roth J.R and Ku Y., “*Surface cleaning of metals in air with a one atmosphere uniform glow discharge plasma,*” in Abstracts IEEE Int. Conf. Plasma Sci. pp.251, (1995).
- [4] Pierre-Luc Girard-Lauriault, Mwale F., Iordanova M., Demers C., Desjardins P. and Wertheimer M.R., “*Atmospheric pressure deposition of micropatterned nitrogen-rich plasma-polymer films for tissue engineering,*” Plasma Processes and Polymers Volume 2, Issue 3, pp.263-270, (2005).
- [5] Gao Y., Surface and Coating Technology SCT-12442 pp.3, (2006).
- [6] Kogelschatz U., “*Dielectric-barrier discharges: Their history, discharge physics, and industrial applications*”, 23, 1, pp.1-46, (2003).
- [7] Schneider A.K., “*Polymers of high melting lactide.*”, US Pat 2,703,316, (1955).
- [8] Holten C.H., “*Lactic Acid: Properties and Chemistry of Lactic Acid and Derivatives*”, Verlag Chemie, pp.221-231, (1971).
- [9] Brady J.M., Cutright D.E., Miller R.A. and Battistone G.C., “*Resorption rate , route of elimination and ultrastructure of the implant site of PLA in the abdominal wall of the rat.*”, Journal of Biomedical Materials Research, vol. 7, pp.155-166, (1972).

- [10] Schutze A., Jeong J.Y., Babayan S.E., Park J., Selwyn G.S. and Hicks R.F., “*The Atmospheric-Pressure Plasma Jet : A Review and Comparison to Other Plasma Sources.*”, IEEE Transactions on Plasma Science, Vol. 26, No. 6, (1998).
- [11] Poll H., Schladitz U., Schreiter S., Surf Coat Technology 142–144, pp.489–493, (2001).
- [12] Iwasaki M., Matsudaira Y., Takeda K., Ito M., Miyamoto E., Yara T., Uehara T., Hori M., “*Roles of oxidizing species in a nonequilibrium atmospheric-pressure pulsed remote O<sub>2</sub>/N<sub>2</sub> plasma glass cleaning process,*” Journal of Applied Physics 103, 023303, (2008).
- [13] Mukhopadhyay SM., Joshi P., Datta S., Zhao JG., France P J Phys D—Appl Phys 35(16): 1927–1933, (2002).
- [14] Schroder K., Meyer-Plath A., Keller D., Besch W., Babucke G. and Ohl A., “*Plasma-Induced Surface Functionalization of Polymeric Biomaterials in Ammonia Plasma,*” Contrib. Plasma Phys. 41 6, pp.562–572, (2001).
- [15] Yang J., Bei J and Wang S., “*Improving Cell Affinity of Poly(D,L-lactide) Film Modified by Anhydrous Ammonia Plasma Treatment,*” Polym. Adv. Technol. 13, pp.220-226, (2002).
- [16] Bryjak M., Gancarz I., Pozniak G. and Włodzimierz Tylus, “*Modification of polysulfone membranes 4. Ammonia plasma treatment,*” European Polymer Journal 38, pp.717-726, (2002).
- [17] Martin KRAL, Akihisa OGINO and Masaaki NAGATSU, “*Effect of Ar and N<sub>2</sub> Plasma Pretreatment with Biased Sample Holder on Amino Group Introduction Onto Polyethylene Sheet Treated by Ammonia Plasma,*” Japanese Journal of Applied Physics Vol. 47, No. 9, pp.7346-7348, (2008).

- [18] Klages C.P. and Grishin A., “*Plasma Amination of Low-Density Polyethylene by DBD Afterglows at Atmospheric Pressure*,” *Plasma Process. Polym* 5, pp.368-376, (2008).
- [19] Masafumi Nakagawa, Fumio Teraoka, Shinji Fujimoto, Yoshinosuke Hamada, Hiroyuki Kibayashi and Junzo Takahashi, “*Improvement of cell adhesion on poly(L-lactide) by atmospheric plasma treatment*,” Wiley Periodicals, Inc. (2005).
- [20] Navascues G., *Rep. Prog. Phys.*, 42, pp.1131, (1979).
- [21] Wagner H.E., Brandenburg R., Kozlov K.V., Sonnenfeld A., Michel P., Behnke J.F., *Vacuum* 71(3):417-436, (2003).
- [22] Wagner H.E., Brandenburg, R., Kozlov, K.V., Sonnenfeld, A., Michel, P., Behnke J.F., “*The barrier discharge: basic properties and applications to surface treatment*,” *Vacuum*, Vol. 71, pp.417-436, (2003).
- [23] Gonzalez E., Barankin M.D., Guschl P.C., Hicks R.F., “*Remote Atmospheric Pressure Plasma Activation of the Surfaces of Polyethylene Terephthalate and Polyethylene Naphthalate*,” *Langmuir* 24, pp.12636-12643, (2008).
- [24] Chiang M.H., Liao K.C., Lin I.M., Lu C.C., Huang H.Y., Kuo C.L. and Wu J.S., “*Modification of Hydrophilic Property of Polypropylene Films by a Parallel-Plate Nitrogen-Based Dielectric Barrier Discharge Jet*,” *IEEE TRANSACTIONS ON PLASMA SCIENCE*, (2010).
- [25] Favia P., Palumbo F., Stendardo M.V., D’Agostino R., “*Surface Modification of Polymeric Biomaterials*”, Plenum Press, New York, (1996).
- [26] Friedrich J., Kuehn G, Mix R., Fritz A., Schoenhals A., *J. Adhes. Sci. Technol.* 17, pp.1591, (2003).
- [27] Gengenbach T.R., Xie X., Chatelier R.C., Griesser H.J., *J. Adhes. Sci. Technol.* 8, pp.305, (1994).

- [28] Kim S.S., Leanne B., Sunil K., Hans J. Griesser, “*Plasma Methods for the Generation of Chemically Reactive Surfaces for Biomolecule Immobilization and Cell Colonization - A Review*”, *Plasma Process. Polym.* 3, pp.392-418, (2006).
- [29] H. Yoshimoto, Y. M. Shin, H. Terai and J. P. Vacanti, “*A biodegradable nanofiber scaffold by electrospinning and its potential for bone tissue engineering*”, *BIOMATERIALS*, Vol:24 (12), pp.2077-2082, (2003).
- [30] 田村康一, *人工臓器*, 21(3), pp.1222-1226, (1992).



# Table

表 2.1 多種聚合物簡介 [Schroder K., *et al.* 2001]

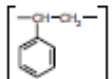
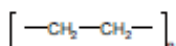
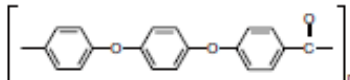
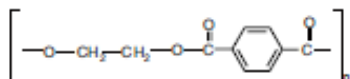
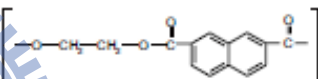
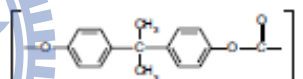
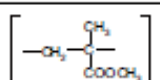
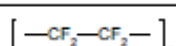
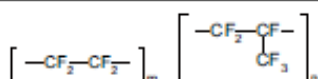
Name	Abbreviation	Supplier Product No.	Chemical structure of repetition unit
Polystyrene	PS	Falcon™, 1016	
Polyethylene	PE	Goodfellow, ET 303 050	
Polyetheretherketone	PEEK	Reichelt 48921	
Polyethyleneterephthalate	PET	Goodfellow, ES 301 445	
Polyethylenenaphthalate	PEN	Goodfellow, ES 301 445	
Polycarbonate	PC	Goodfellow, CT 301 260	
Polymethylmethacrylate	PMMA	Goodfellow, ME 303 050	
Polytetrafluoroethylene	PTFE	Goodfellow, FP 301 350	
Fluorinated ethylene propylene copolymer	FEP	Satorius, bioFOLIE, IV-76 077 316	



表 2.2 低壓電漿對 PLA 處理之親水效果 [Yang J., *et al.* 2002]

Sample	Condition			Contact angles to H <sub>2</sub> O (deg)
	Power (W)	Time (sec)	Pressure (Pa)	
1	50	10	20	60.5
2	50	20	20	47.5
3	50	30	20	37.0
4	50	60	20	25.0
5	50	120	20	21.5
6	30	120	60	49.5
7	30	120	40	44.0
8	90	120	20	35.0
9	70	120	20	27.5
10	50	120	80	40.5
Control	—	—	—	78.5

表 2.3 電漿處理 PSU 薄膜之 XPS 分析結果 [Bryjak M., *et al.* 2002]

XPS elemental analysis of plasma treated PSU films

Pretreatment	Atomic concentration, %				
	C	O	N	N/C	O/C
None	88.8 (84.4) <sup>a</sup>	9.1 (12.5) <sup>a</sup>	0 (0) <sup>a</sup>	0 (0) <sup>a</sup>	0.102 (0.148) <sup>a</sup>
NH <sub>3</sub> plasma	76.9	12.5	8.7	0.113	0.162
NH <sub>3</sub> /Ar plasma	68.5	14.1	15.3	0.223	0.206

表 3.1 光柵操作範圍對照表

Grating	Holographic	300 nm Blade	500 nm Blade
Range	180-280 nm	280-400 nm	400-900 nm

表 3.2 實驗條件

	Pretreatment Plasma	Rare Ammonia Plasma
Gas	N <sub>2</sub> + 0.1% O <sub>2</sub>	N <sub>2</sub> + 5% NH <sub>3</sub>
Flow rate	50 slm	10 slm
Gap distance	1 mm	
Dielectric	quartz (1mm)	
Input power	500 W	400 W
Frequency	60 kHz	30 kHz
Treatment distance	4 mm	
Velocity	1 cm/s (20)	2 cm/s (40)

表 4.1 SpecLine 軟體分析親水電漿 NO- $\gamma$  光譜

Element	Line (nm)	I (rel.)	Energy (eV) lower-upper	$\Delta E$ (eV)	Transition lower-upper	Quantum number lower-upper	Comment
NO	226.28	800	0.00 – 5.45	5.45	X2Pi – A2Sig+	0 – 0	
NO	237.02	1000	0.00 – 5.45	5.45	X2Pi – A2Sig+	1 – 0	Kaplan's. System
NO	247.11	1000	0.00 – 5.45	5.45	X2Pi – A2Sig+	2 – 0	
NO	258.75	900	0.00 – 5.45	5.45	X2Pi – A2Sig+	3 – 0	
NO	271.32	800	0.00 – 5.45	5.45	X2Pi – A2Sig+	4 – 0	

表 4.2 對照組和電漿處理試片表面能( $\gamma_s$ )計算

Surface	$\theta$ (deg) to H <sub>2</sub> O	$\theta$ (deg) to CH <sub>2</sub> I <sub>2</sub>	$\gamma_s$	$\gamma_s^d$	$\gamma_s^p$
control	78.46	38.12	46.0	30.5	15.5
plasma treated	31.16	43.10	62.6	27.4	35.2

表 4.3 XPS 分析 PLA 表面元素組成：(1) 對照組 (2) 親水電漿 (3) 氮

氣電漿 (4) 兩階段製程電漿 處理

Surface of PLA	O1s (%)	N1s (%)	C1s (%)	O/C	N/C
1	36.43	0.00	63.57	0.57	0.00
2	37.60	0.51	61.89	0.61	0.01
3	36.06	0.07	63.87	0.56	0.001
4	37.03	2.97	60.00	0.62	0.05



表 4.4 XPS 分析 PLA 表面元素組成：(1)  $N_2 + 0.1\% O_2$  親水電漿 (2)

$N_2 + 0.04\% O_2$  親水電漿 處理

Surface of PLA	O1s (%)	N1s (%)	C1s (%)	O/C	N/C
1	37.60	0.51	61.89	0.62	0.01
2	37.29	0.41	62.30	0.60	0.01

表 4.5 兩階段製程變動氮氣電漿處理次數：(1) 0 次 (2) 40 次 (3) 80  
次 (4) 120 次 (5) 160 次

Surface of PLA	O1s (%)	N1s (%)	C1s (%)	O/C	N/C
1	37.60	0.51	61.89	0.62	0.01
2	37.03	2.97	60.00	0.62	0.05
3	36.41	3.84	59.75	0.61	0.06
4	38.20	5.01	56.79	0.67	0.09
5	37.83	4.67	57.50	0.66	0.08

表 4.6 不同改質方法對 C2C12 細胞生長於 PLA 薄膜 1-3 天所量測活  
性

	Control	2 step plasma	Gelatin coating
1 <sup>st</sup> day	1.34	2.28	2.19
2 <sup>nd</sup> day	1.21	2.61	2.34
3 <sup>rd</sup> day	2.14	4.21	4.10

# Figure

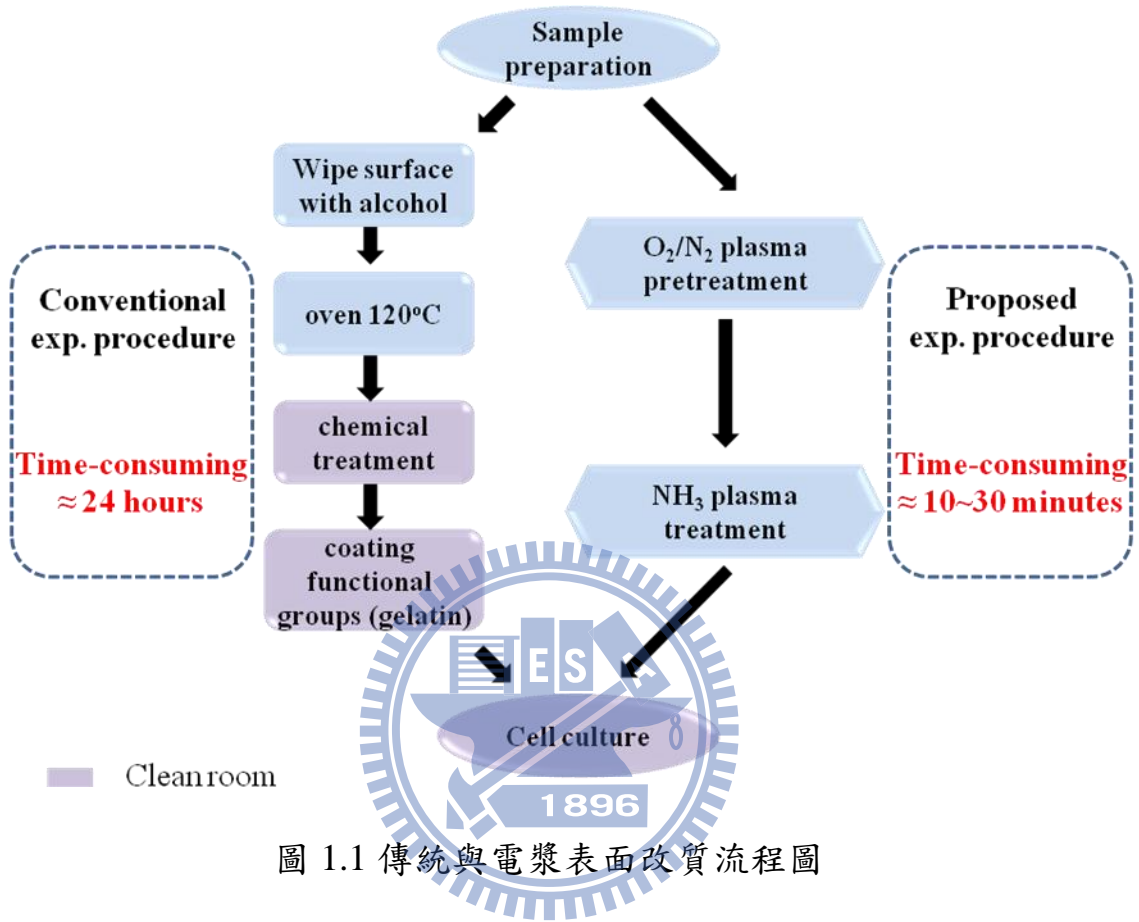


圖 1.1 傳統與電漿表面改質流程圖

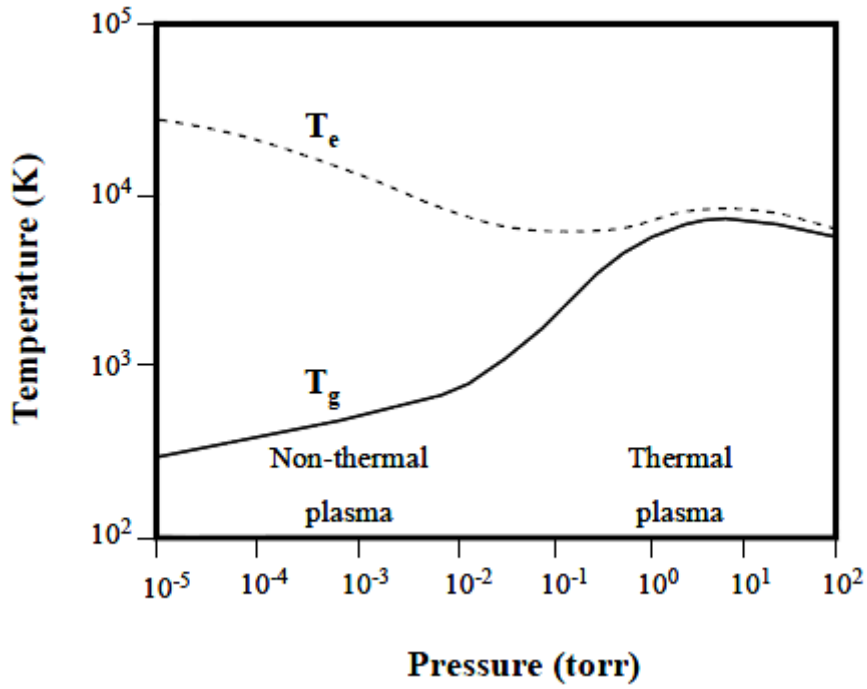


圖 1.2 電漿溫度和氣壓關係圖 [Schutze A., et al. 1998]

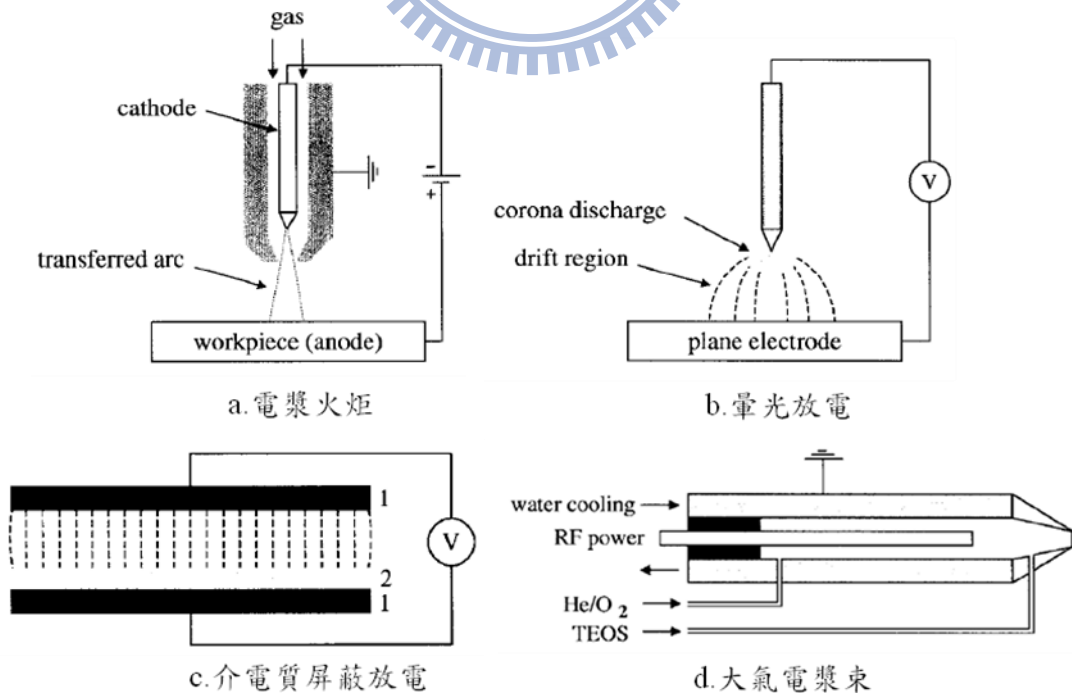


圖 1.3 常壓電漿源 [Schutze A., et al. 1998]

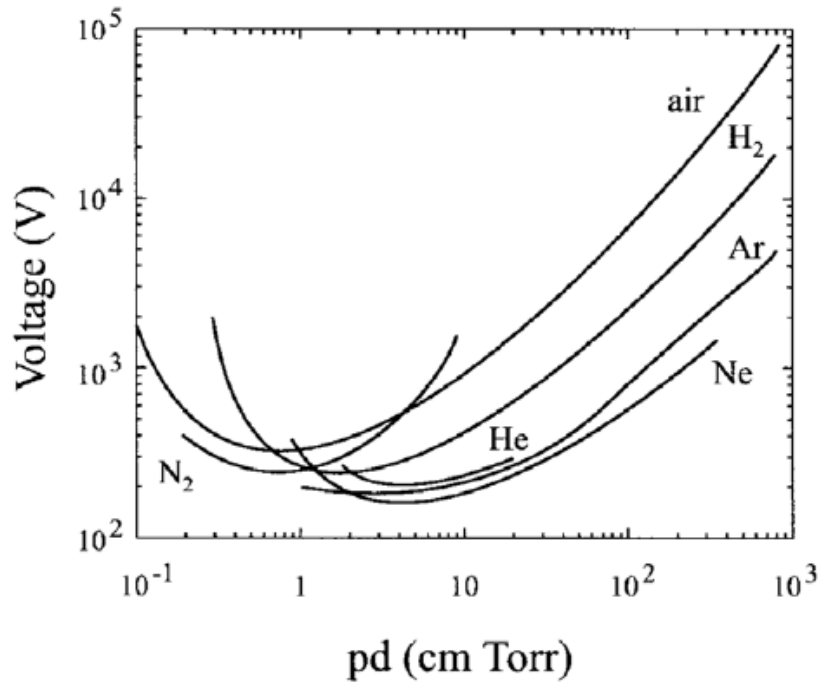


圖 1.4 Paschen curve [Schutze A., et al. 1998]

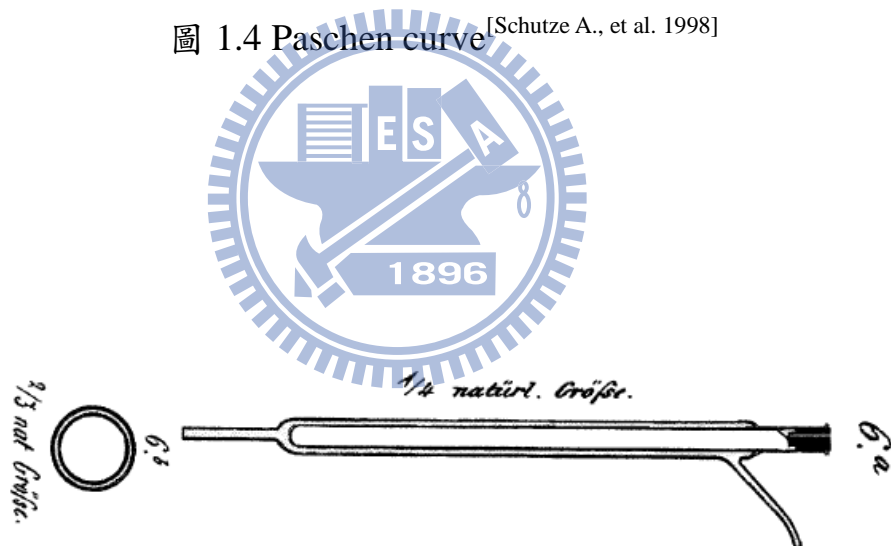


圖 1.5 1857 年 W. Siemens 所研發出之臭氧放電管



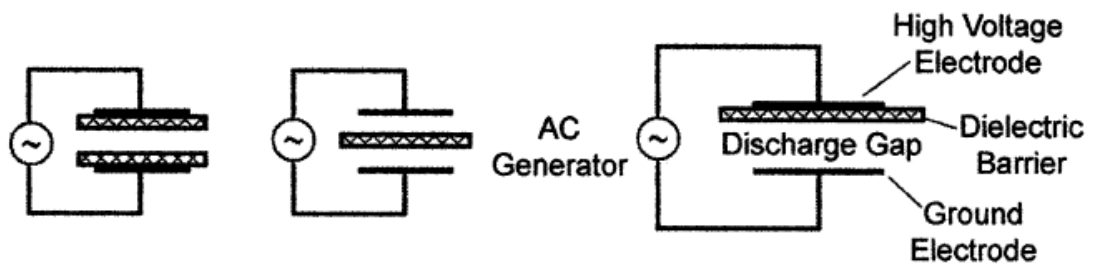
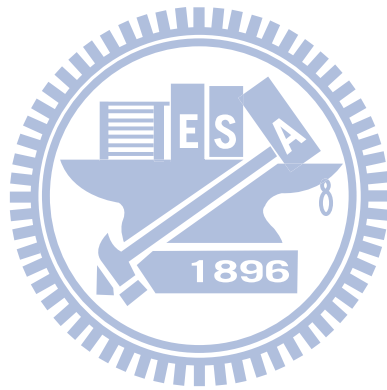


圖 1.6 DBD 各類電極設計



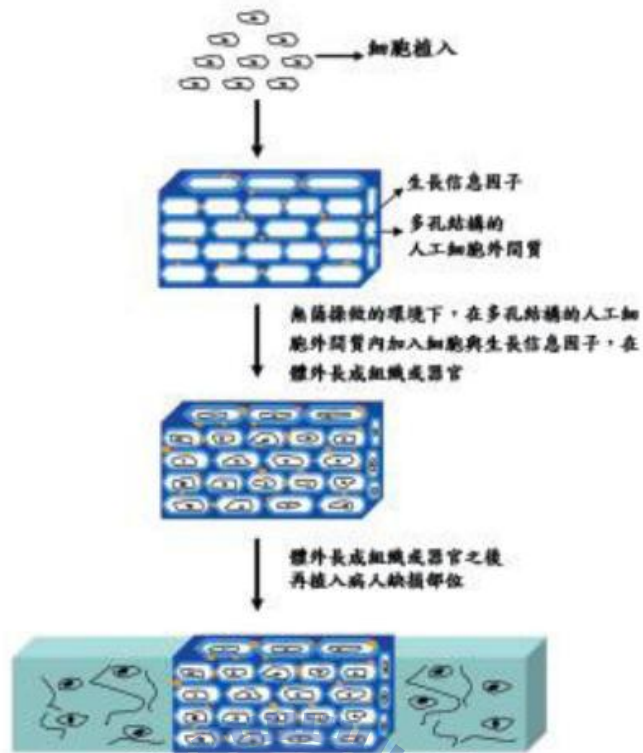


圖 1.7 體外再生方式 (in vitro)

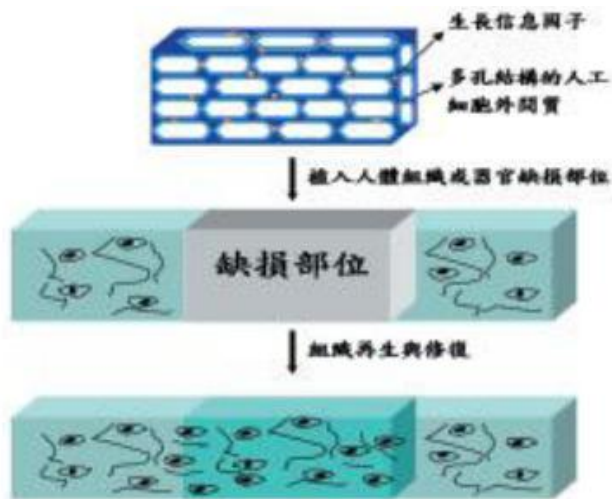


圖 1.8 體內再生方式 (in vivo)

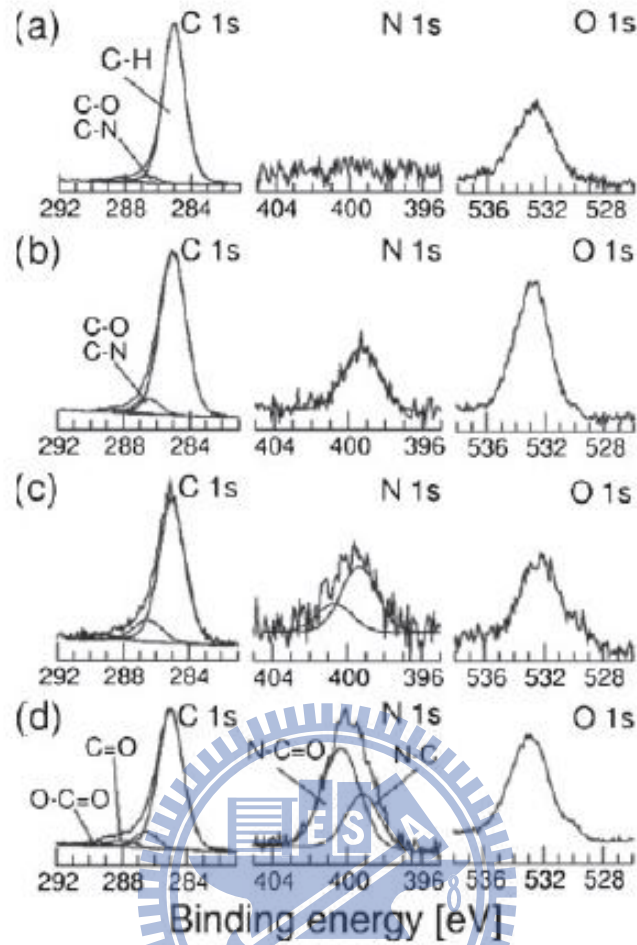


圖 2.1 PE 表面 XPS 分析結果 [Martin KRAL, *et al.* 2008] : (a) 對照組 (b) 氨氣電漿 (c) 氨氣電漿預處理+氨氣電漿 (d) 氨氣電漿預處理+氨氣電漿

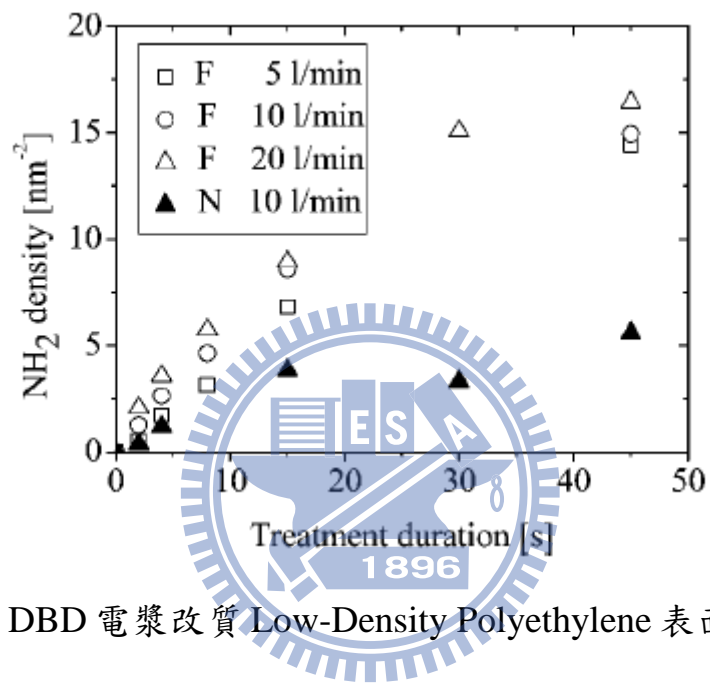
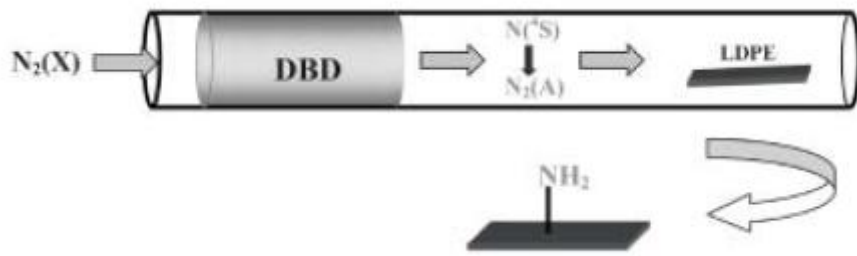


圖 2.2 常壓 DBD 電漿改質 Low-Density Polyethylene 表面 NH<sub>2</sub> 密度分佈 [Klages C.P. and Grishin A., 2008] (N = pure nitrogen, F = H<sub>2</sub>/N<sub>2</sub> forming gas)

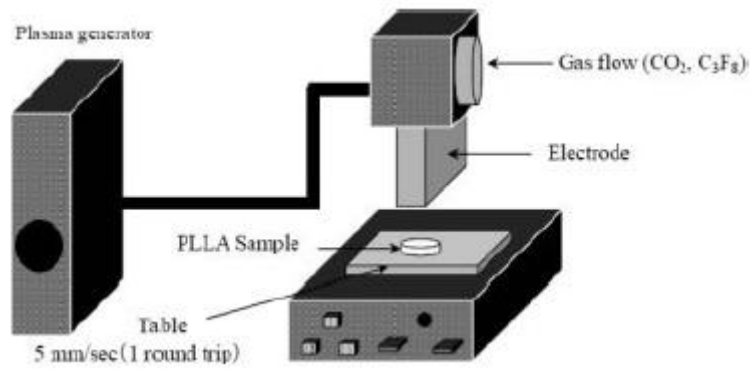


圖 2.3 常壓平板型 DBD 電漿構造示意圖以及 PLA 試片處理位置

[Masafumi Nakagawa, *et al.* 2005]

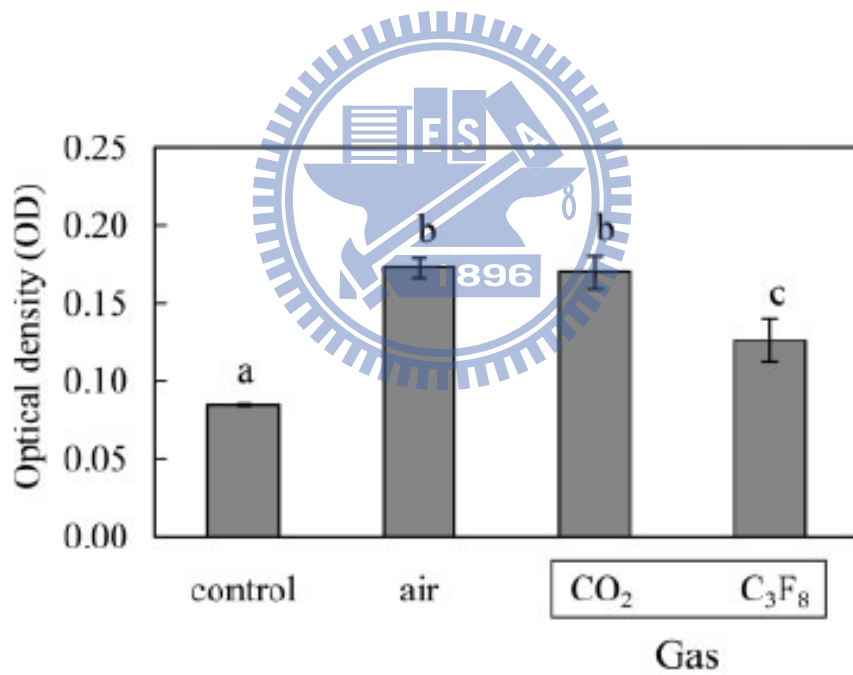


圖 2.4 MC3T3-E1 細胞貼附於不同電漿處理之 PLA 薄膜活性狀態

[Masafumi Nakagawa, *et al.* 2005]

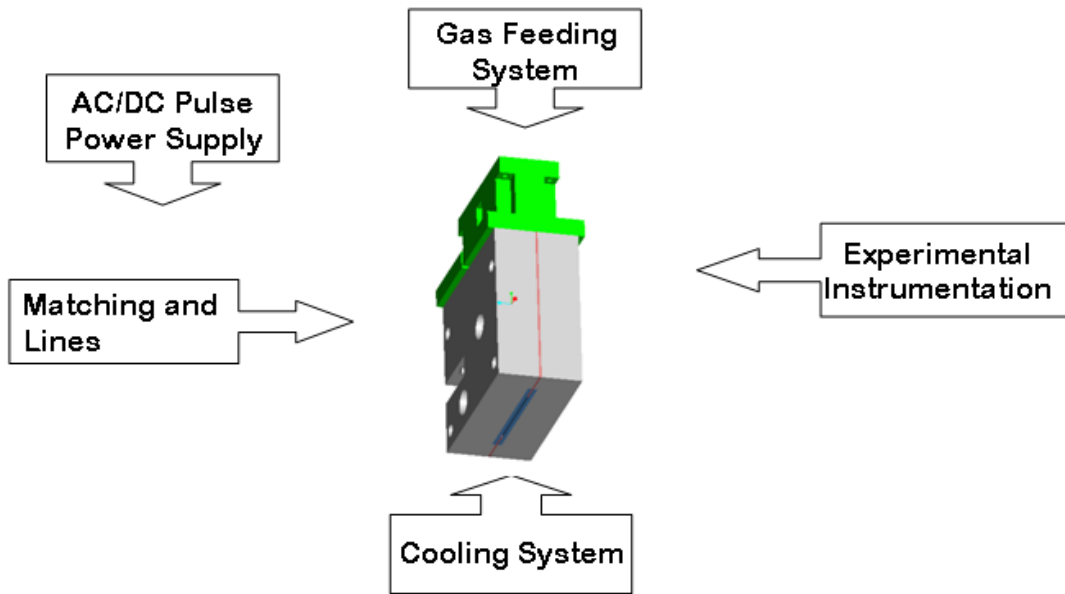


圖 3.1 DBD 常壓電漿系統

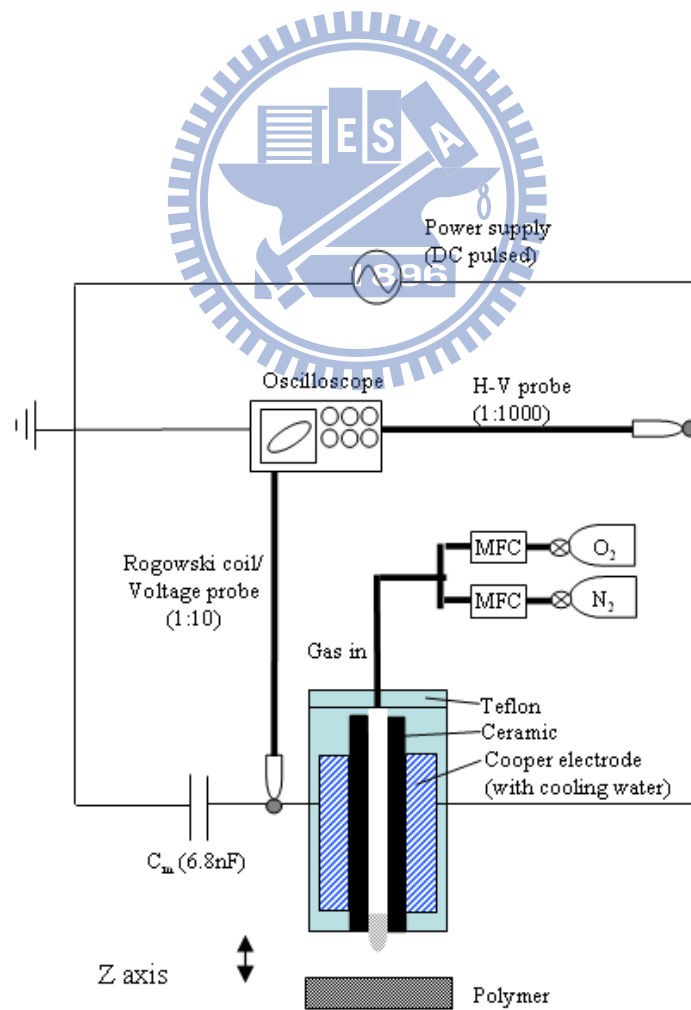


圖 3.2 DBD 常壓電漿電及構造圖

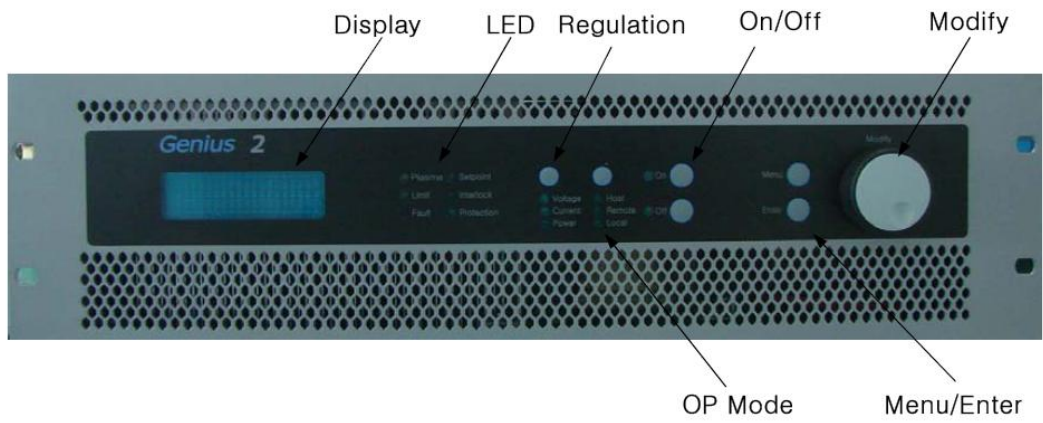


圖 3.3 脈衝電源供應器前視圖

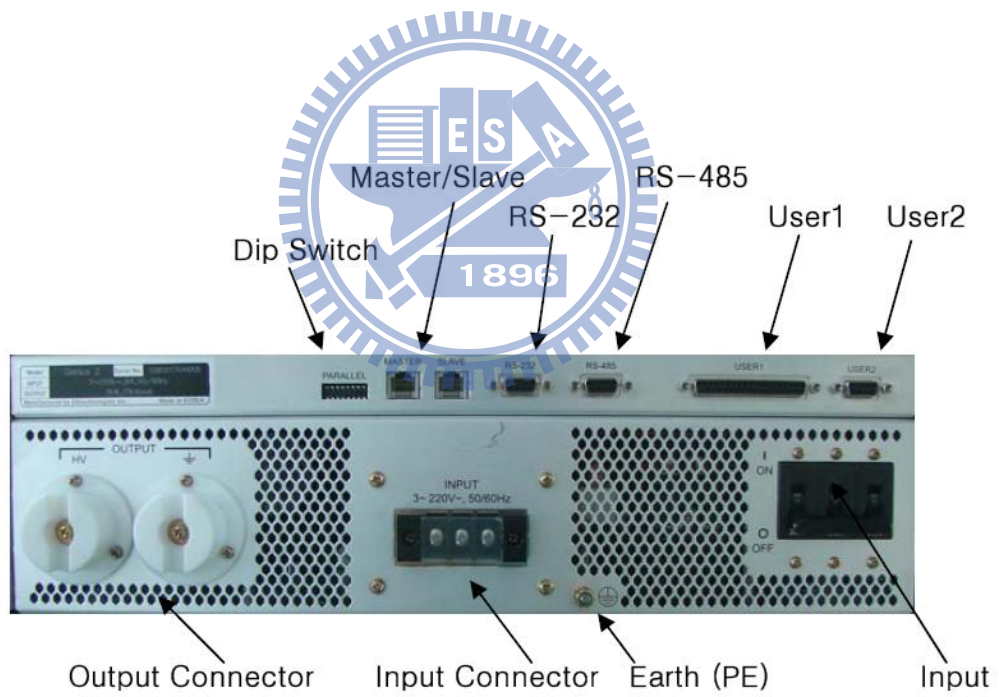
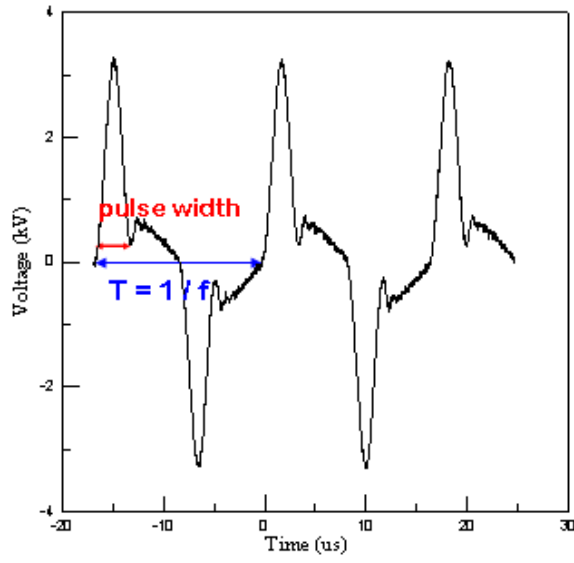


圖 3.4 脈衝電源供應器後視圖



power density	pulse width ( $\mu s$ )
Large	3.82 ~ 4.06
Middle	4.15 ~ 4.58
Small	5.5 ~ 6.3

$N_2$  (10 s.lm), 60kHz, large

圖 3.5 電漿密度模式定義







圖 3.6 水路冷卻系統

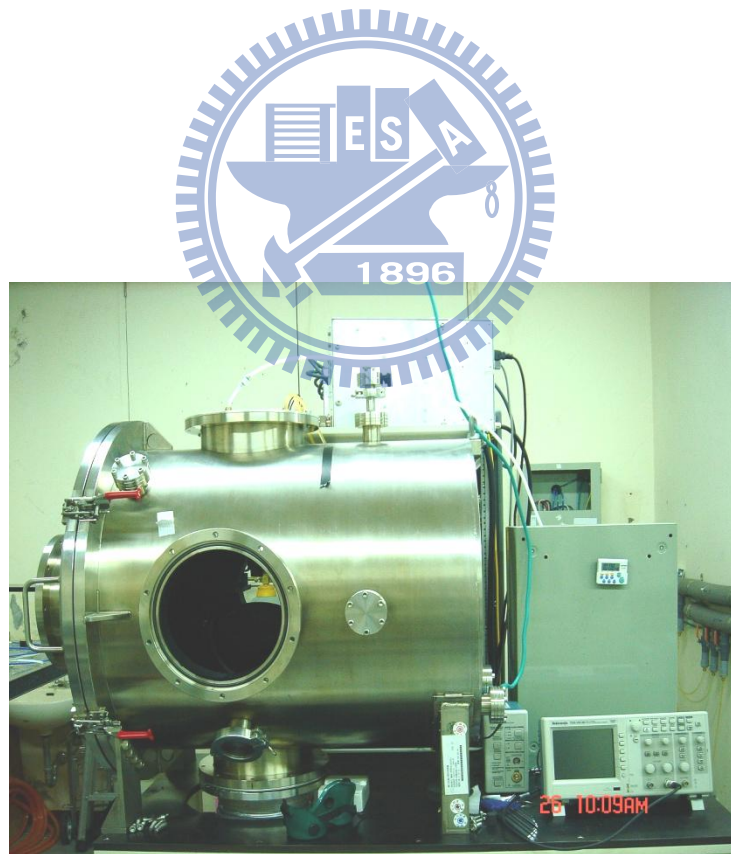


圖 3.7 實驗腔體

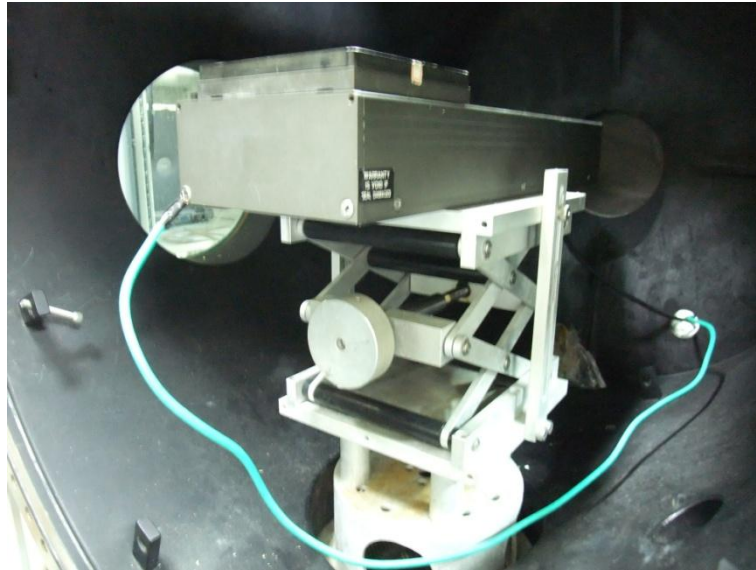


圖 3.8 單向移動平台/升降平台

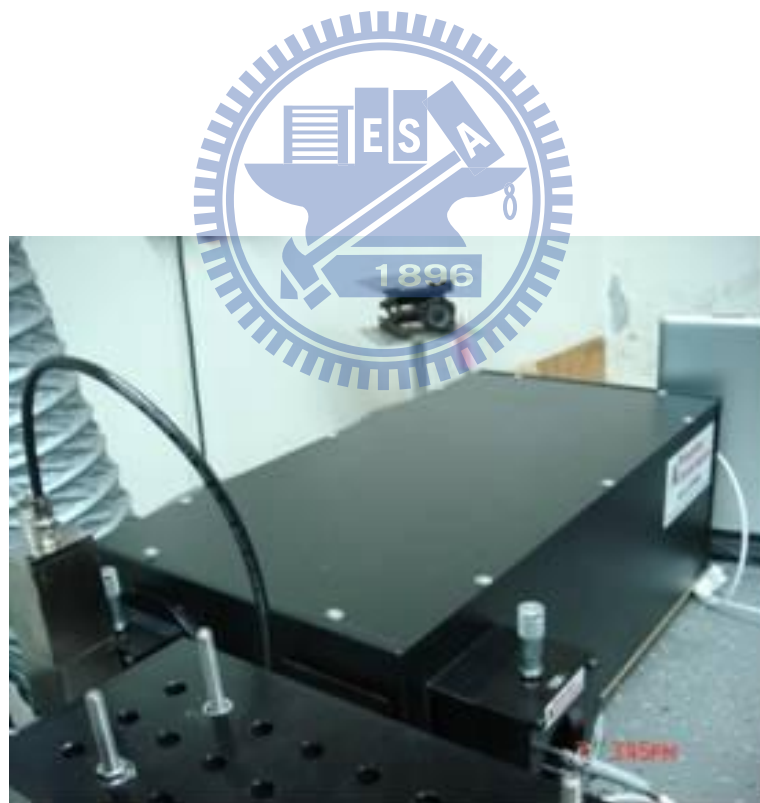


圖 3.9 光譜儀(OES)

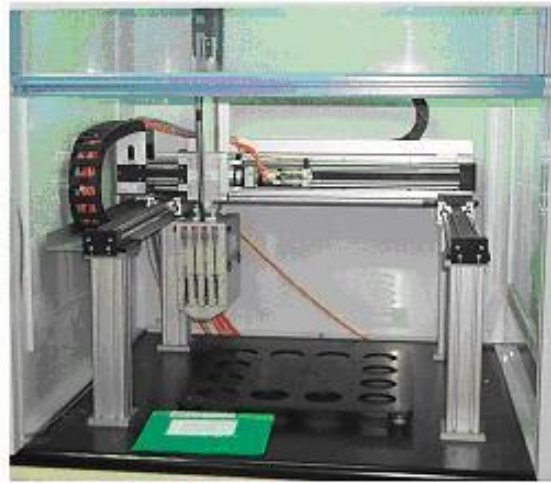


圖 3.10 接觸角量測系統(CA)



圖 3.11 全反射式傅立葉轉換紅外線光譜儀(ATR-FTIR)



圖 3.12 XPS 化學元素分析儀



圖 3.13 倒立式光學顯微鏡



圖 3.14 盤式酵素免疫分析儀(Elisa reader, Multiskan Accent)



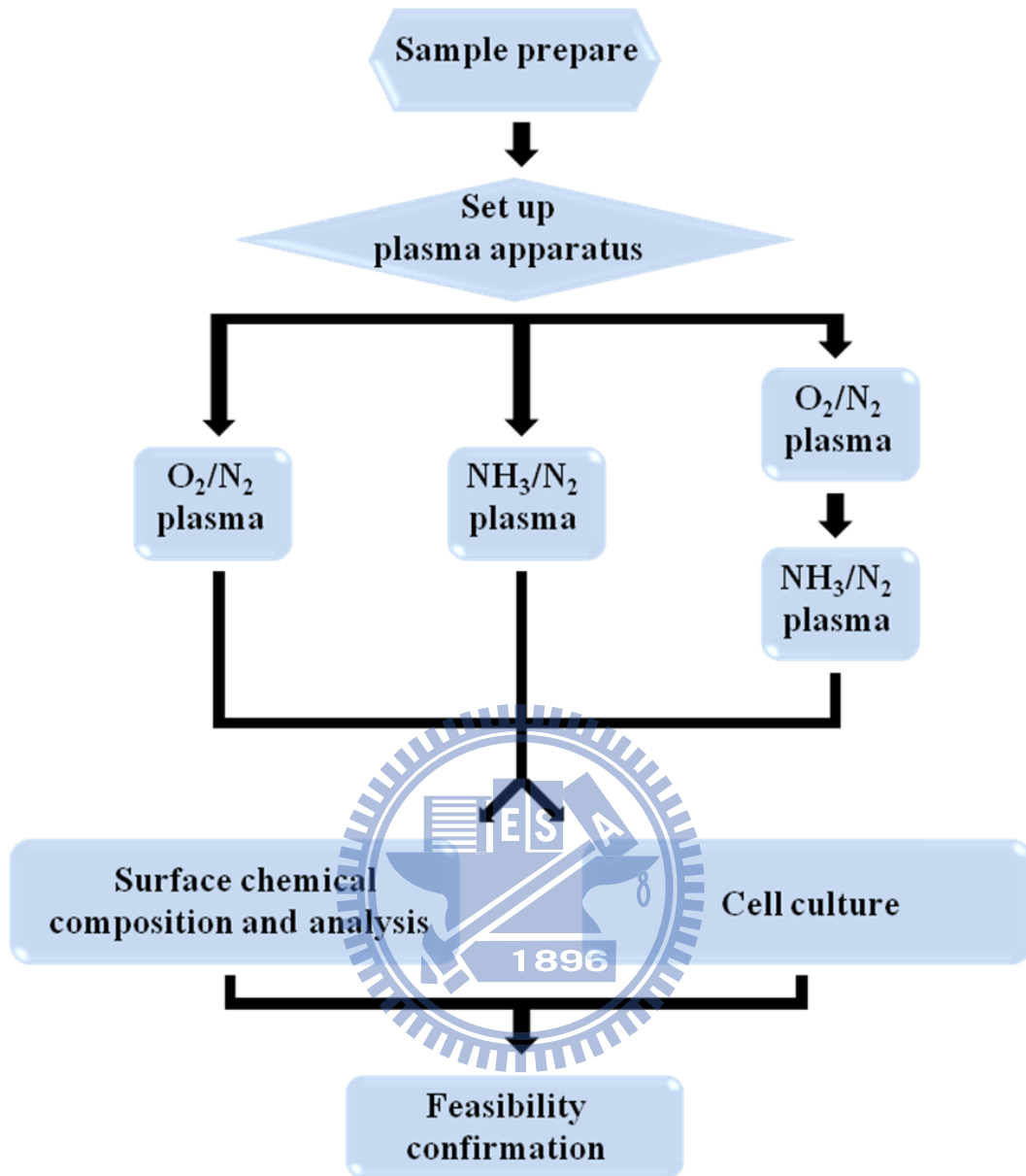


圖 3.15 實驗流程圖

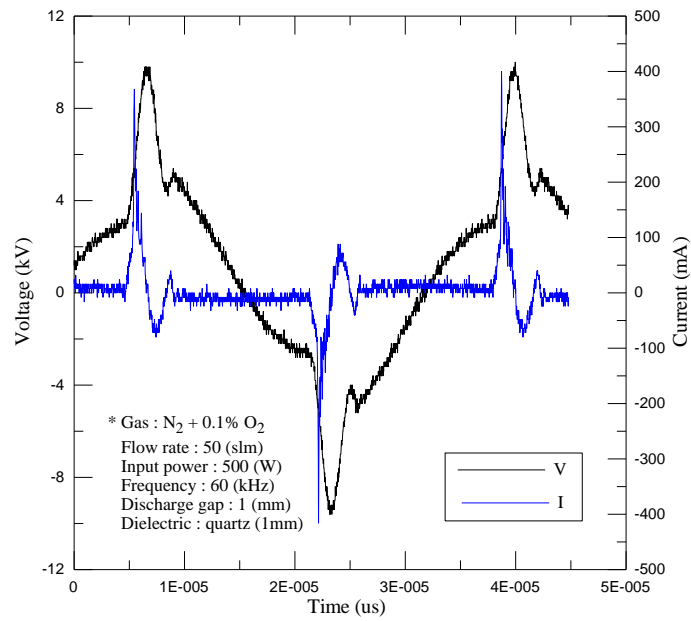


圖 4.1 親水電漿電壓電流波形圖

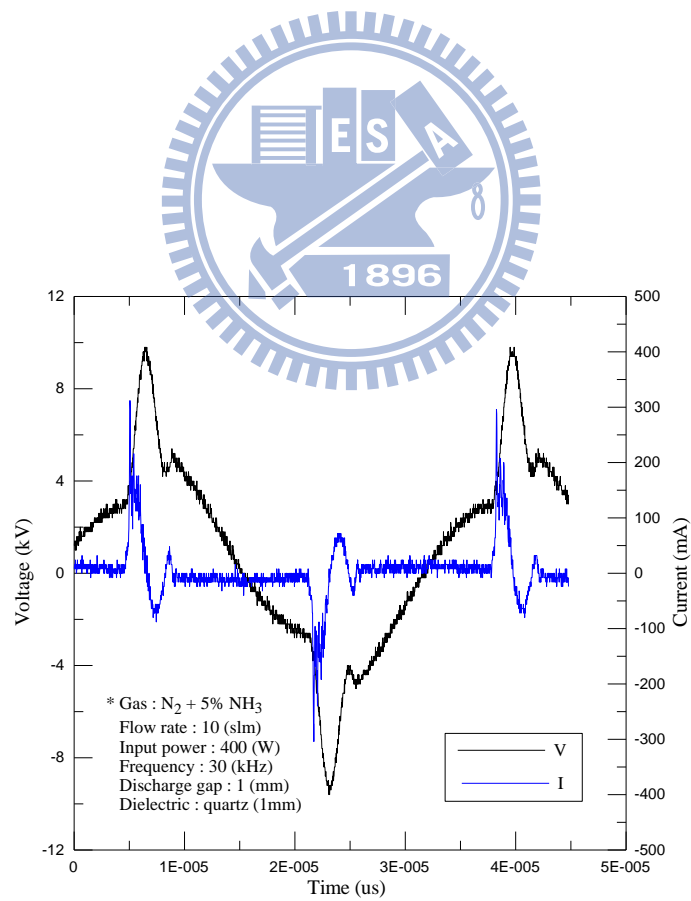


圖 4.2 氨氣電漿電壓電流波形圖

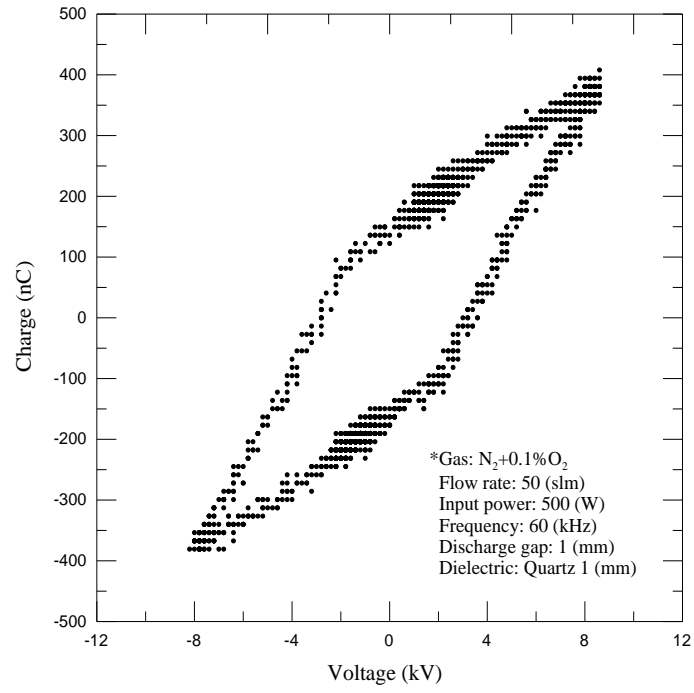


圖 4.3 親水電漿 Lissajous 圖





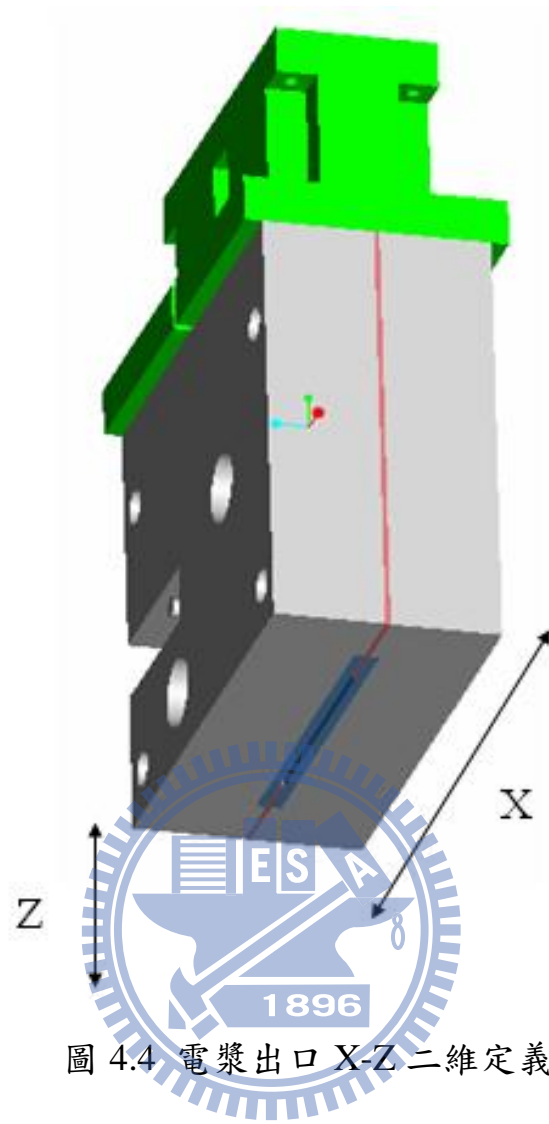


圖 4.4 電漿出口 X-Z 二維定義

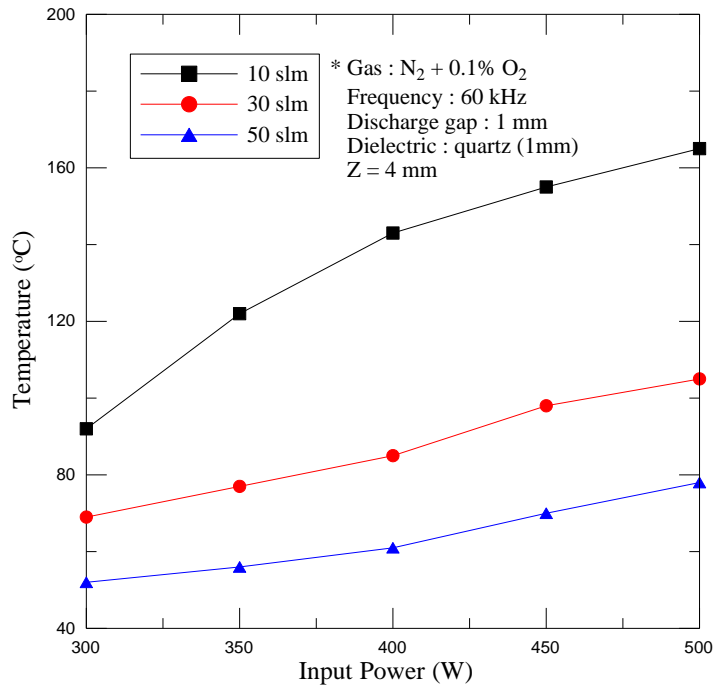


圖 4.5 親水電漿量測出口下方 4 mm 溫度

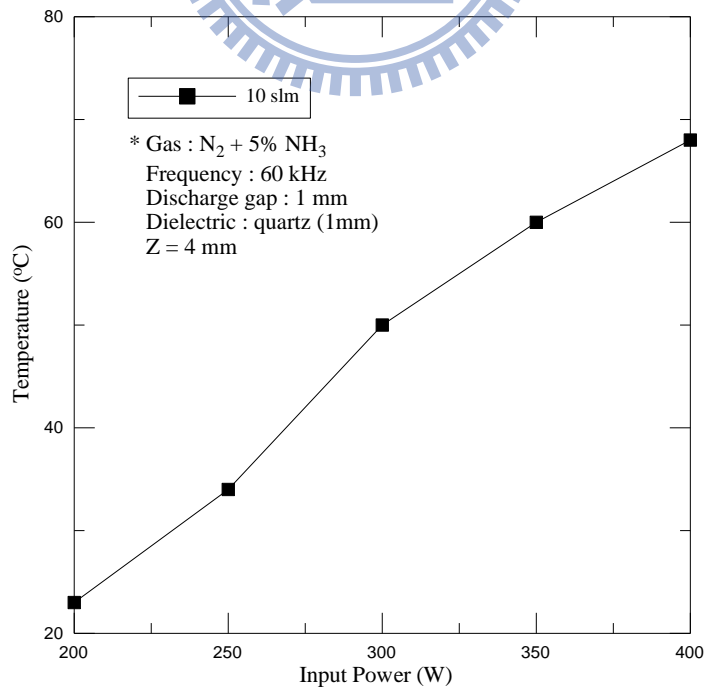


圖 4.6 氨氣電漿量測出口下方 4 mm 溫度

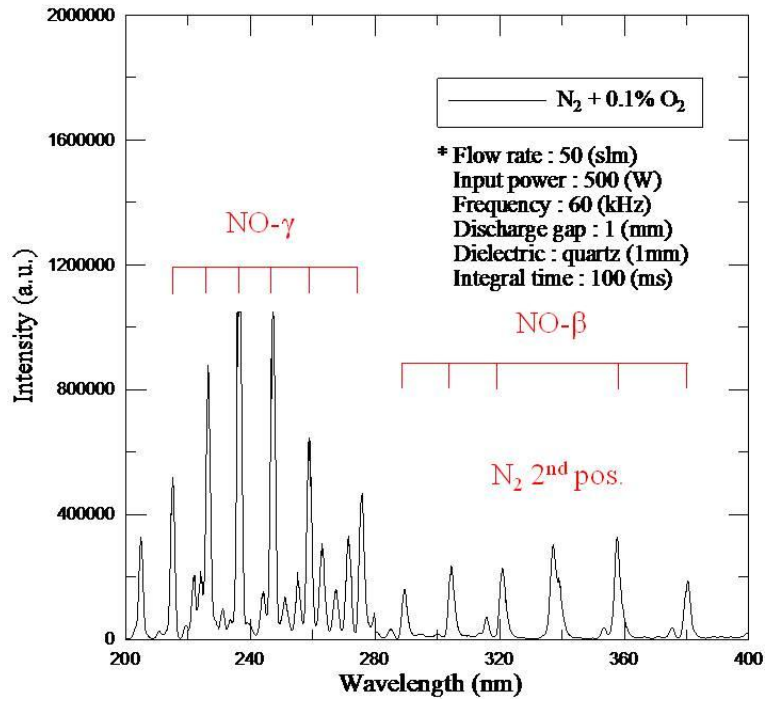


圖 4.7 親水電漿 180-400 nm 光譜分析

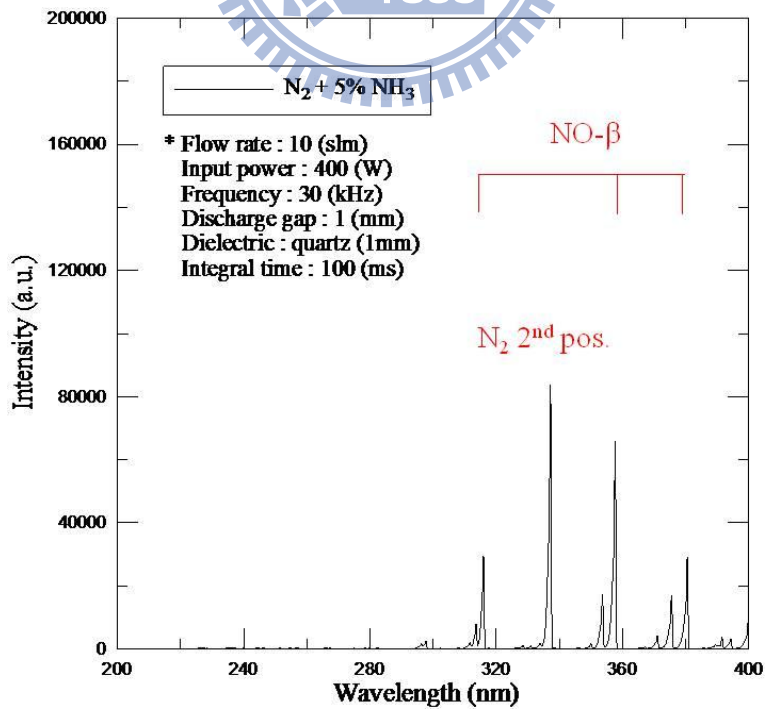


圖 4.8 氨氣電漿 180-400 nm 光譜分析

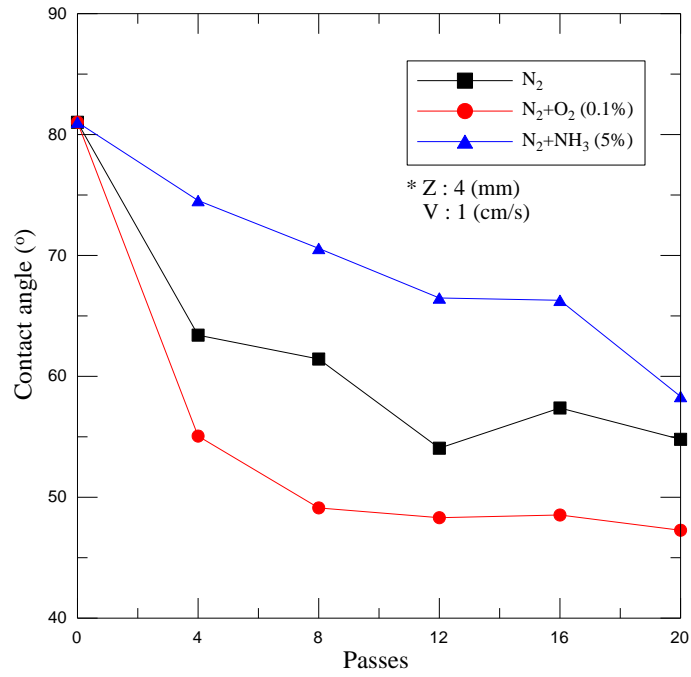


圖 4.9 PLA 水滴接觸角在不同氣體下隨處理次數之變化

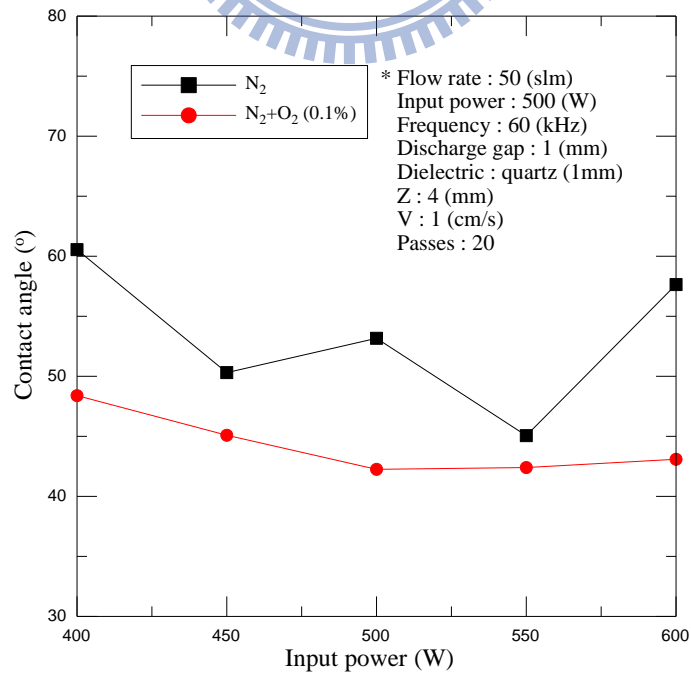
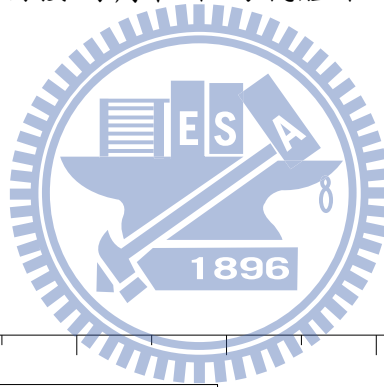


圖 4.10 PLA 水滴接觸角在不同氣體下隨輸入功率之變化

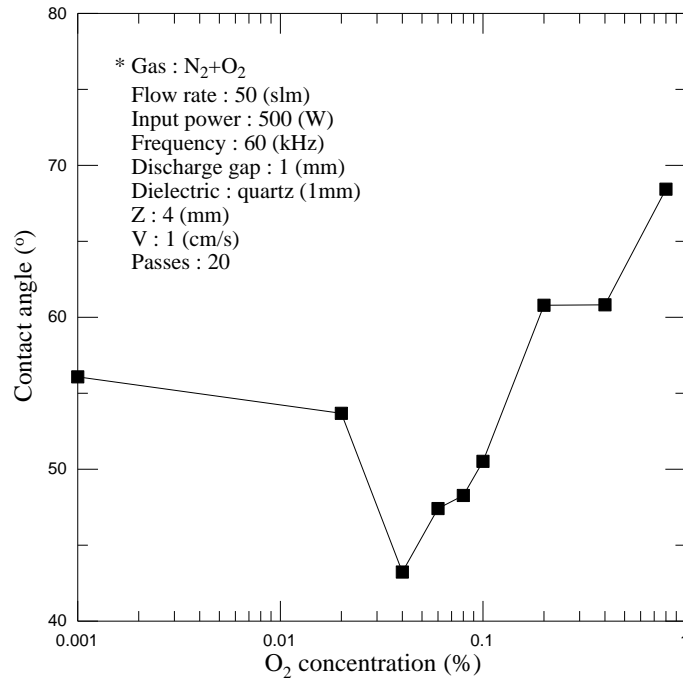


圖 4.11 PLA 水滴接觸角隨 O<sub>2</sub> 比例之變化

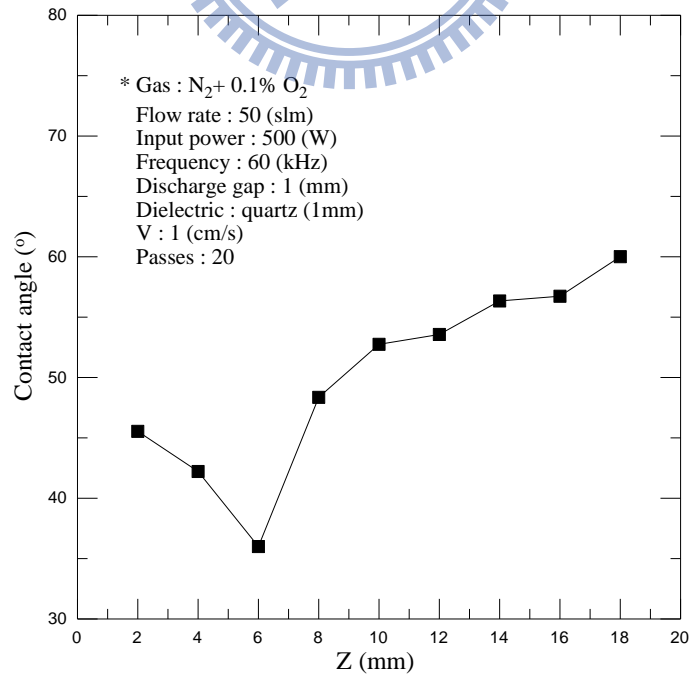


圖 4.12 PLA 水滴接觸角隨處理距離之變化

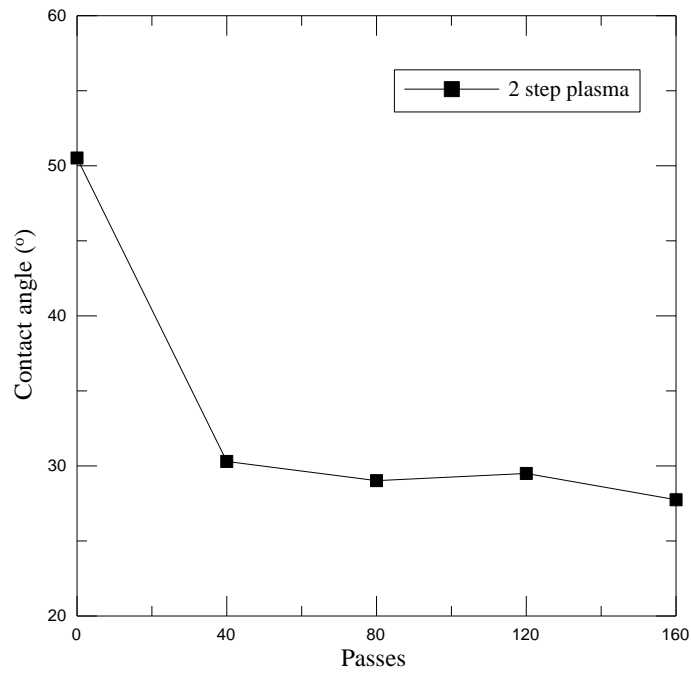


圖 4.13 兩階段製程電漿對 PLA 薄膜親水性改質

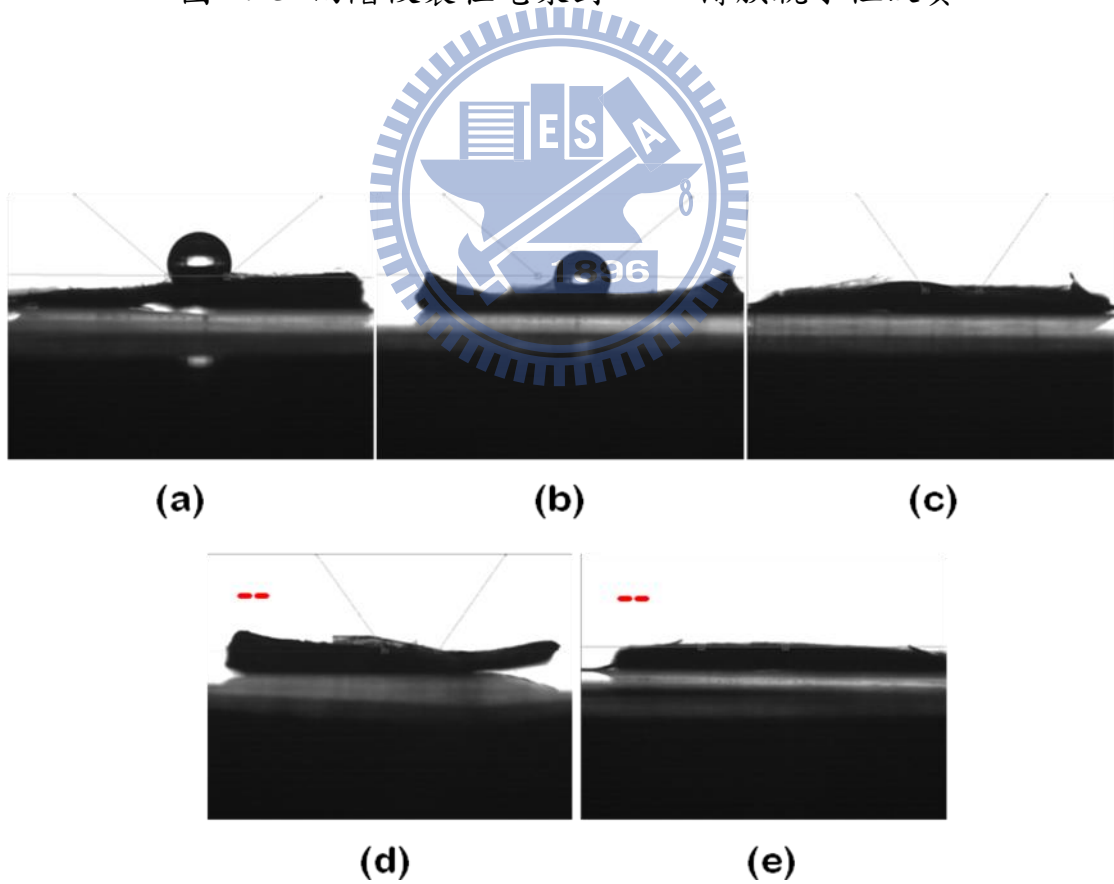


圖 4.14 PLA 電紡絲結構表面水滴接觸角隨親水電漿處理次數之變化：

(a) 0 (b) 4 (c) 8 (d) 12 (e) 16 次

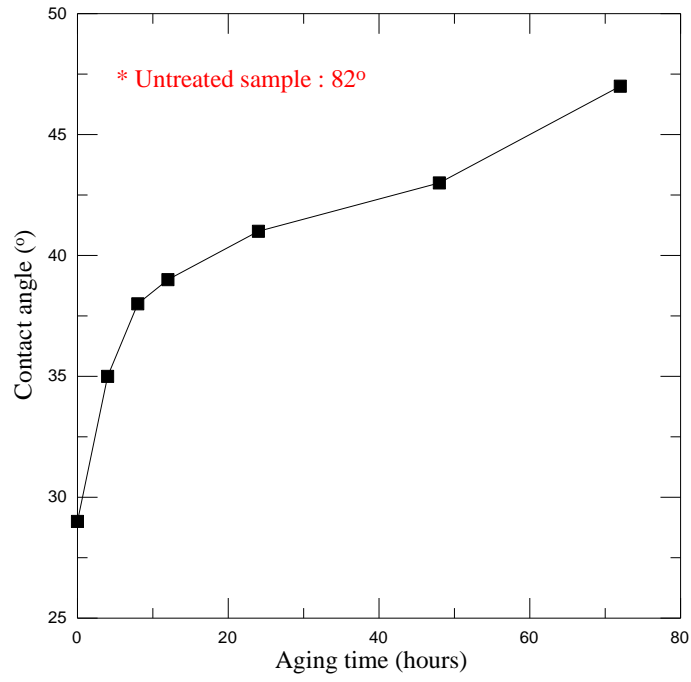


圖 4.15 兩階段製程電漿表面改質試片之衰退現象

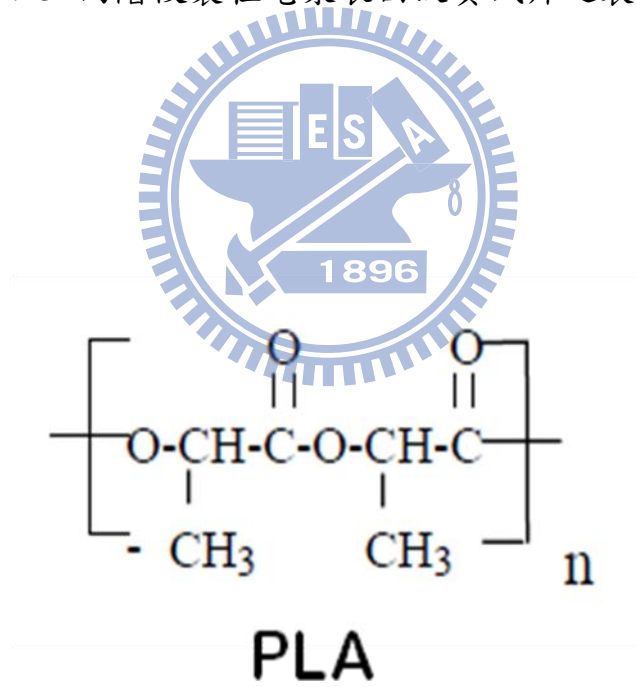


圖 4.16 PLA 分子結構

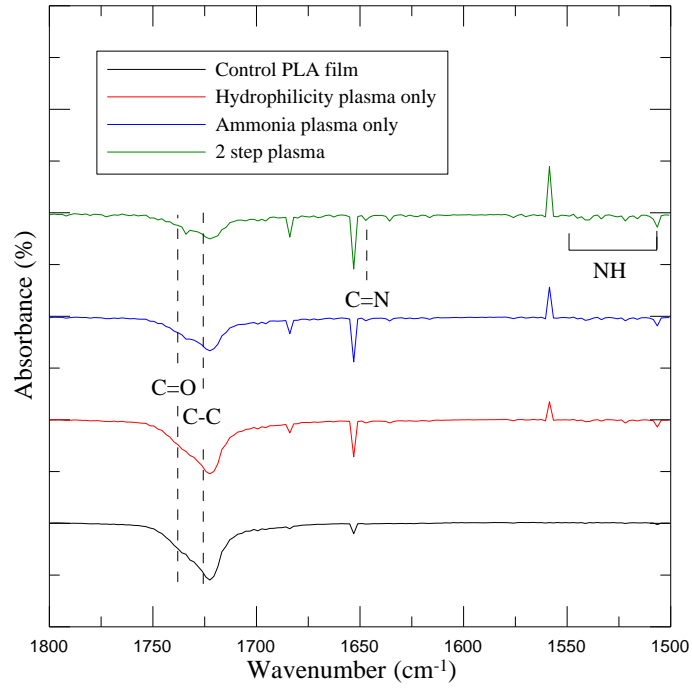


圖 4.17 FTIR 1500-1800  $\text{cm}^{-1}$  表面官能基分析

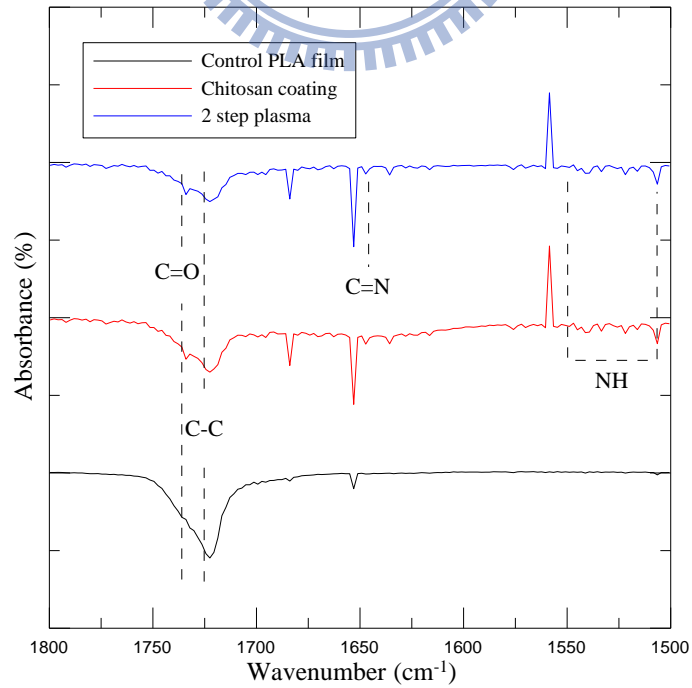


圖 4.18 甲殼素塗佈與電漿處理對照：1500-1800  $\text{cm}^{-1}$



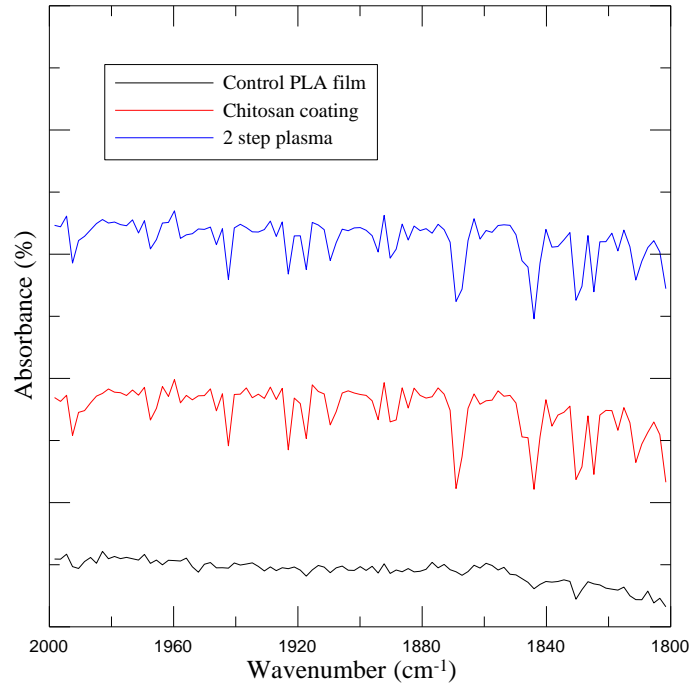


圖 4.19 甲殼素塗佈與電漿處理對照：1800-2000 cm<sup>-1</sup>



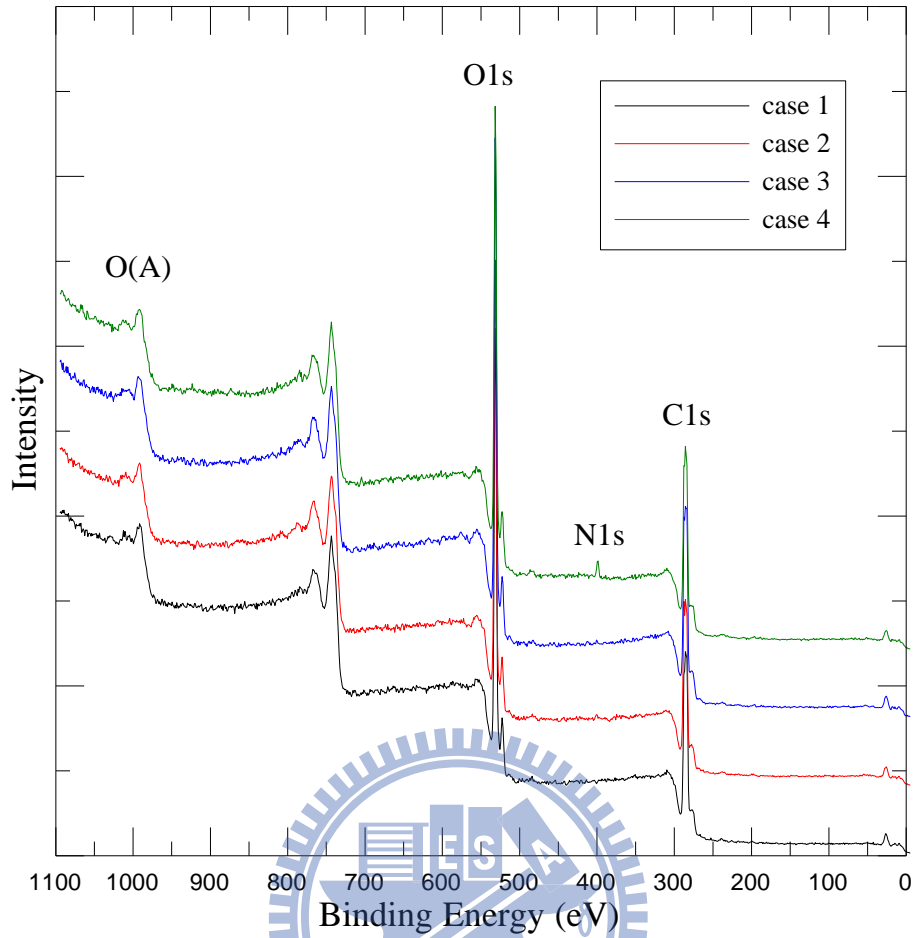


圖 4.20 PLA XPS 全頻譜：(1) 對照組 (2) 親水電漿 (3) 氨氣電漿 (4)

兩階段製程電漿處理

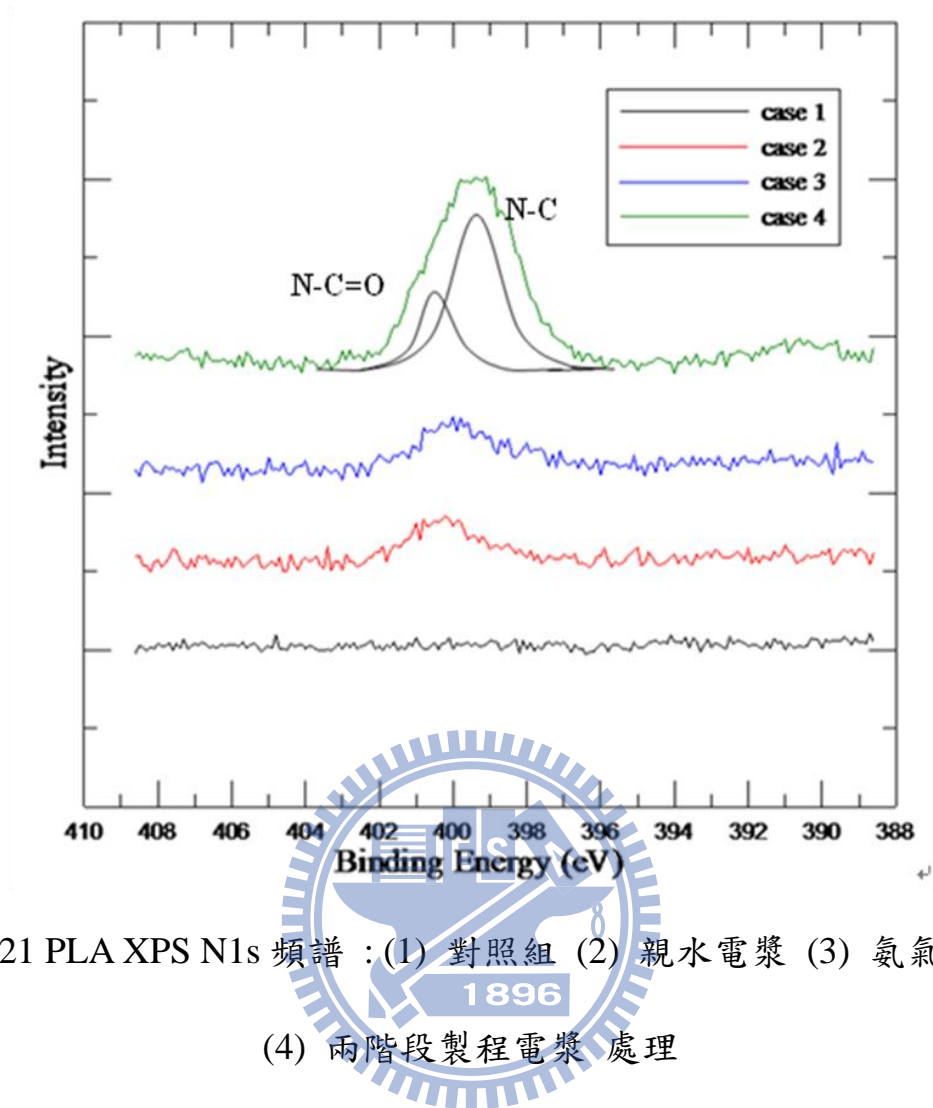
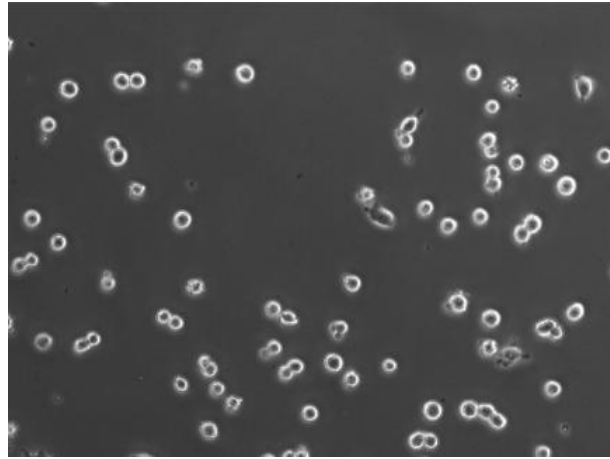
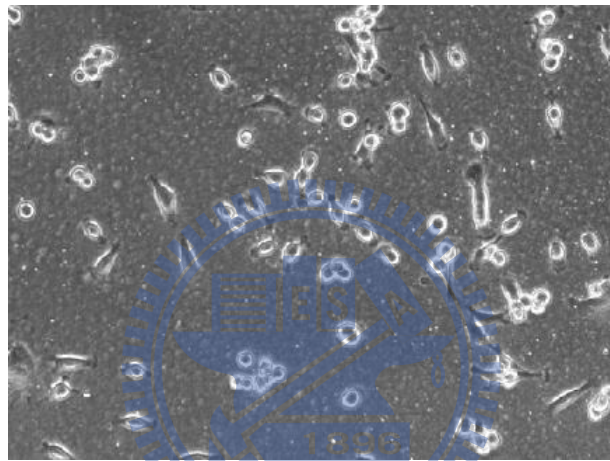


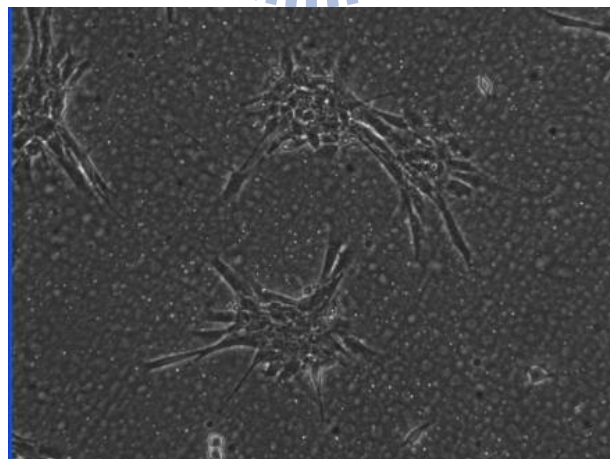
圖 4.21 PLA XPS N1s 頻譜：(1) 對照組 (2) 親水電漿 (3) 氨氣電漿  
(4) 兩階段製程電漿 處理



(A)



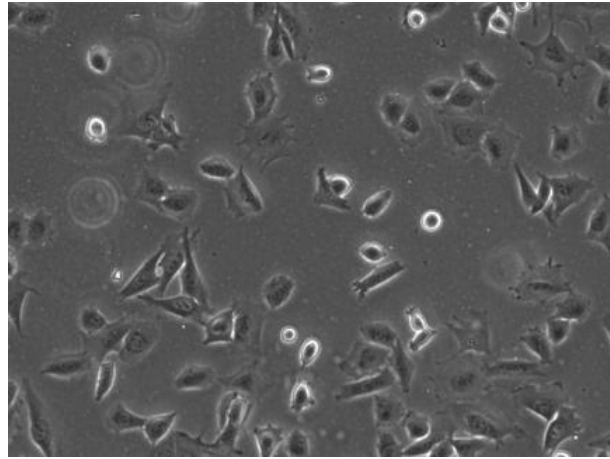
(B)



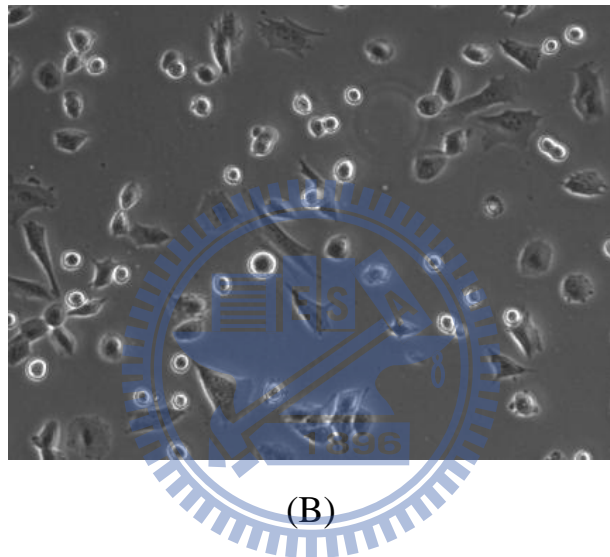
(C)

圖 4.22 對照組 PLA 之細胞培養顯微鏡(x100)觀察 : (A) 2 (B) 4 (C) 24

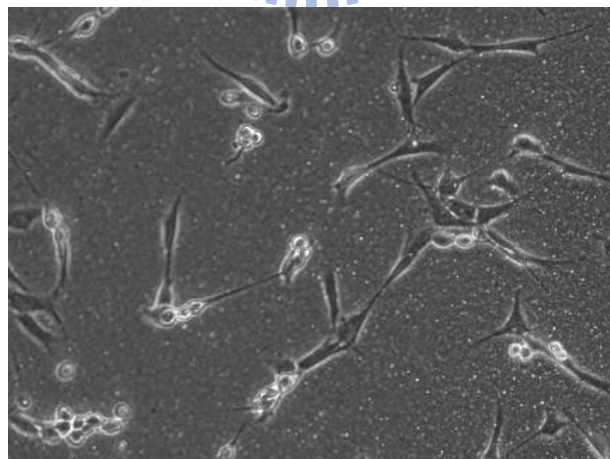
小時



(A)



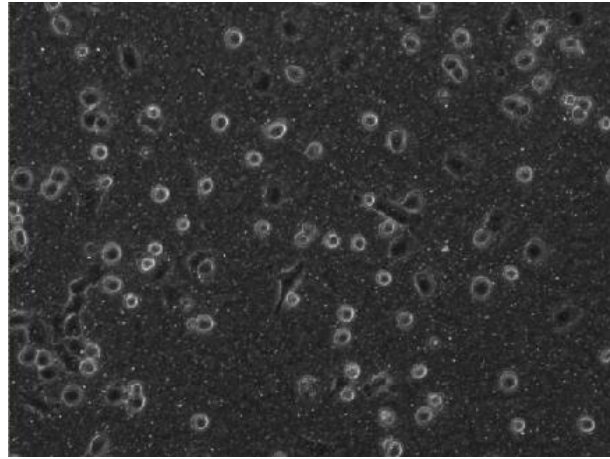
(B)



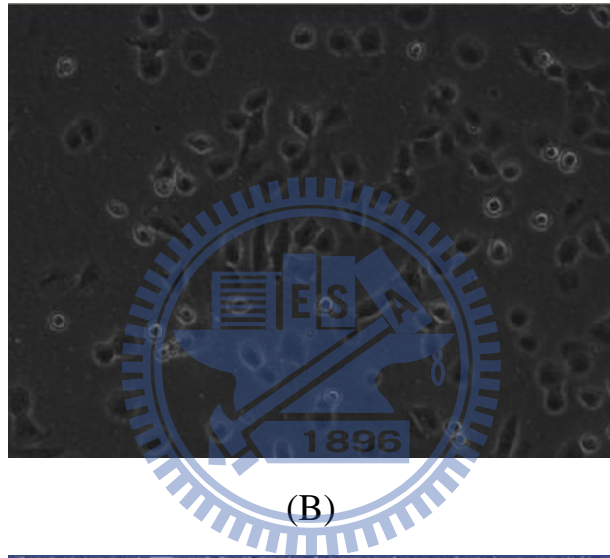
(C)

圖 4.23 親水電漿處理 PLA 之細胞培養顯微鏡(x100)觀察 : (A) 2 (B)

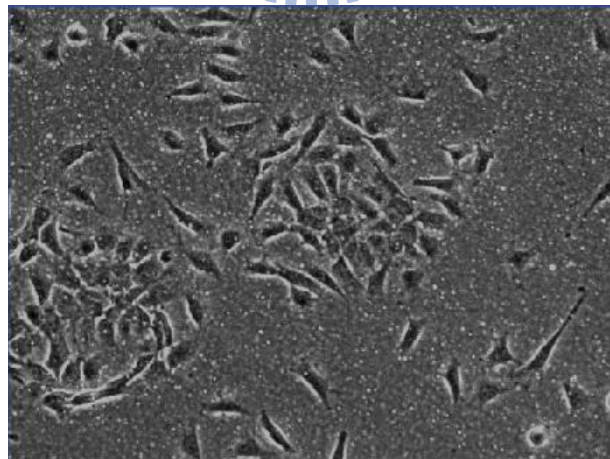
4 (C) 24 小時



(A)



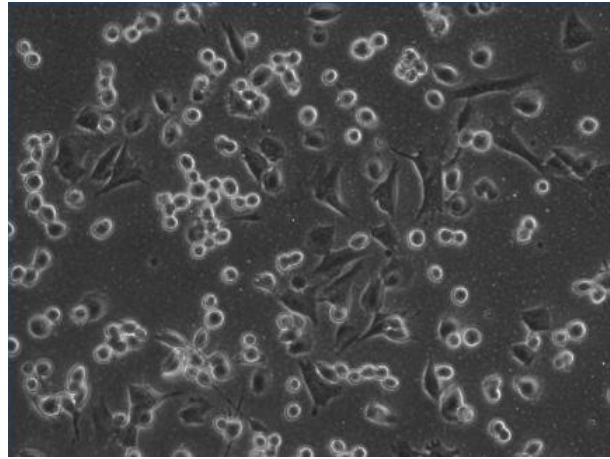
(B)



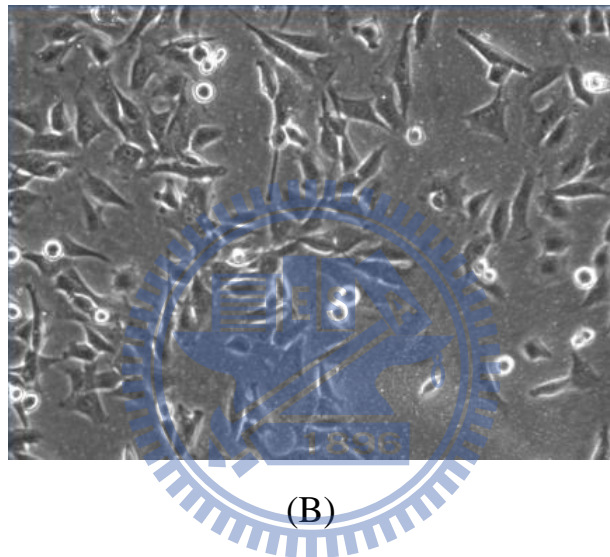
(C)

圖 4.24 氮氣電漿處理 PLA 之細胞培養顯微鏡(x100)觀察 : (A) 2 (B)

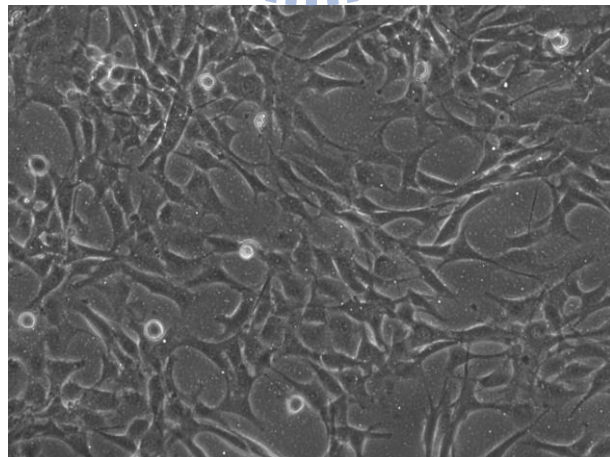
4 (C) 24 小時



(A)



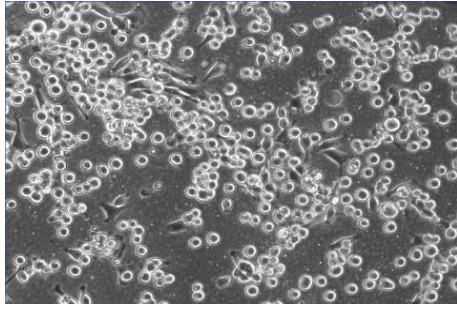
(B)



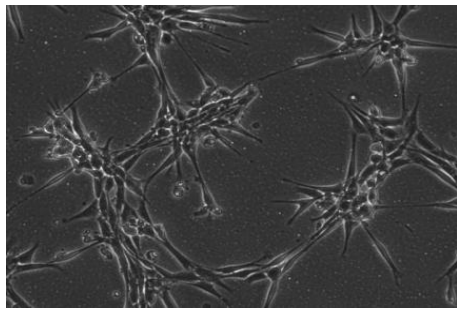
(C)

圖 4.25 兩階段製程電漿處理 PLA 之細胞培養顯微鏡(x100)觀察 : (A)

2 (B) 4 (C) 24 小時



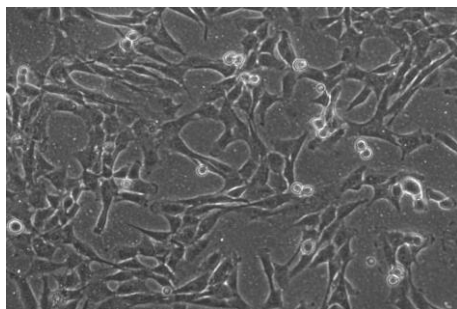
(A)



(B)



(C)

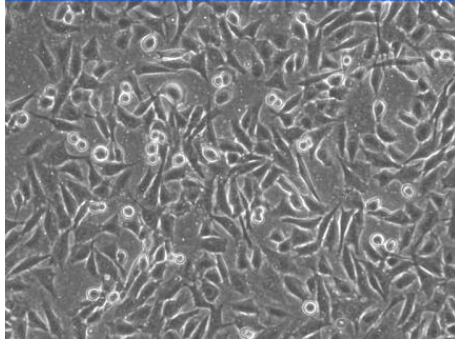


(D)

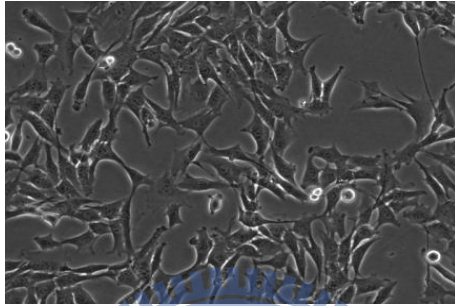
圖 4.26 對照組 PLA 之長時間細胞培養顯微鏡(x100)觀察 : (A) 2 (B)

24 (C) 48 (D) 72 小時

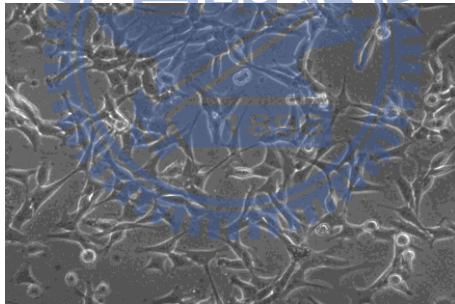




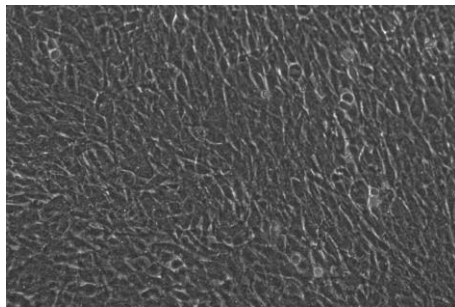
(A)



(B)



(C)



(D)

圖 4.27 兩階段製程電漿處理 PLA 之長時間細胞培養顯微鏡(x100)觀

察 : (A) 2 (B) 24 (C) 48 (D) 72 小時

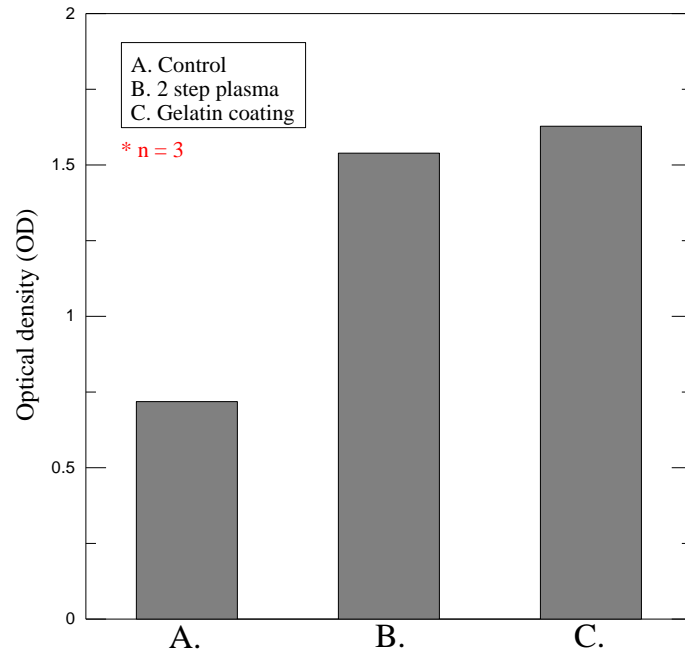


圖 4.28 不同改質方法對 C2C12 細胞生長於 PLA 薄膜 24 小時所量

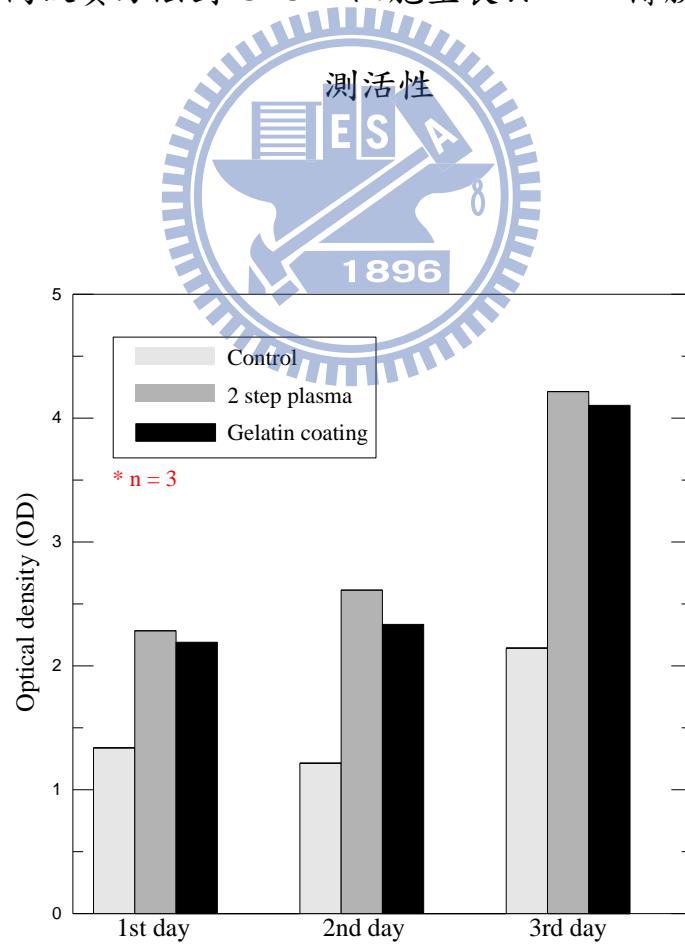


圖 4.29 不同改質方法對 C2C12 細胞生長於 PLA 薄膜 1-3 天所量

測活性

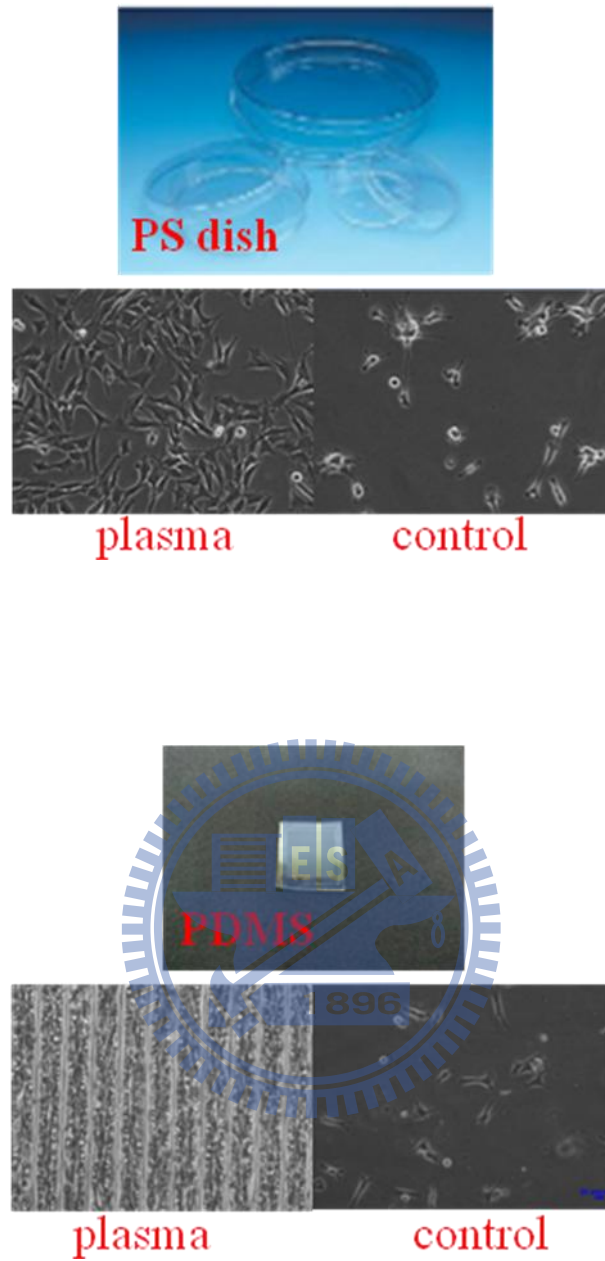


圖 4.30 細胞培養於 PS、PDMS 等電漿改質材料