

行政院國家科學委員會補助專題研究計畫成果報告

以電氣紡絲進行奈米級導引性組織再生膜的製備及其應用研究

計畫類別： 個別型計畫

計畫編號：NSC 91-2213-E-038-001

執行期間： 91年 8月 1日至 92年 7月 31日

計畫主持人：曾厚

成果報告類型(依經費核定清單規定繳交)：精簡報告

執行單位：臺北醫學大學醫學研究所

中 華 民 國 92 年 9 月 1 日

行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告

以電氣紡絲製備具奈米結構之生物分解性薄膜

Preparation of nanostructured biodegradable membrane by electrospinning

計畫編號：NSC 91-2213-E-038 -001

執行期限：91 年 8 月 1 日至 92 年 7 月 31 日

主持人：曾厚 臺北醫學大學·醫學研究所

一、中文摘要

就組織工程而言，欲發揮導引組織再生(GTR)或是導引骨再生用的功能，就必需(1)控制薄膜或成型物的孔洞大小、尺寸及厚薄，以對不同細胞種別的阻隔與篩選或讓特定細胞種別易於增生，及(2)選擇膜的使用材料的種類、分子鏈長短及結晶度的多寡，因不同材料性質均會影響薄膜在目的組織中吸收期的長短。若能將傳統的纖維僅能到達數個 μm 的直徑縮小至奈米級且具強力，則可大幅提昇薄膜製作的控制能力，而電氣紡絲則可達到如此的目的。本研究主要是以電氣紡絲為手段，以 polylactide 或 polybutylene succinate-co-adipate 所構成的溶液製備薄膜以作為 GTR 或 GBR 用薄膜。首先，是以高壓直流變壓器所產生的高電壓(約 10-50kV)，將溶解高分子溶液經毛細管射出，再經高電壓導致的拉伸及分裂後，飛行至鋁板而成的蒐集區而成為各種厚度多種樣式組成的薄膜。所得的薄膜並以偏光顯微鏡、電子顯微鏡、傅立葉變換紅外光譜顯微鏡、X 射線繞射儀、材料測試系統評估其物理化學性質。

關鍵詞：電氣紡絲、奈米結構、不織布薄膜

Abstract

In biomedical materials field, electrospinning is a novel technique with broad applicability for forming fibers from a wide range of polymers in solution. In this

investigation, electrospinning were used to prepared poly L-lactide or/and polybutylene succinate-co-adipate nanostructured membrane which accumulate these “nanofibers” to be a membrane like non woven fabrics. The electrospinning process is based on the use of large voltages (ca. 10-50 kV) which generate sufficient surface charge to overcome surface tension in a pendant drop of the polymer solution. Polarizing microscope, electron microscopy, X-ray diffraction, differential scanning calorimetry, and mechanical properties analysis are all being used to evaluate these membranes for guiding tissue regeneration or guiding bone regeneration.

Keywords: Electrospinning, Nanostructured, non-woven membrane

二、緒論

在生物醫學工程及組織工程中，薄膜狀之生物材料應用相當廣泛，種類也相當繁多，如應用在引導組織再生術的組織再生膜、人工角膜、甚至是用於藥物釋放中。早期的薄膜大多使用非生物分解性的材料，有需二次手術的缺點，目前較不被使用，現在則以具生物分解性及生物相容性的高分子被視為較理想的薄膜材料，但現今之高分子薄膜礙於加工步驟仍具下列缺點：

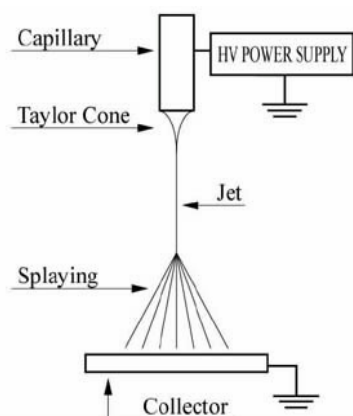
- (1)降解時間長短不易控制。
- (2)薄膜孔洞率、孔徑不易控制。

(3) 薄膜張力強度不足，容易產生弱點(weak point)。

本研究基於以上幾點希望藉由電氣紡絲(Electrospinning)的技術，將具生物分解性、生物相容性之高分子原料紡織成具有奈米結構(Nanostructured)的不織布薄膜。電氣紡絲是利用一高壓電場作為驅動力[1]，將含有高分子的離子溶液，利用高電壓差，使溶液在毛細管(capillary)的一端形成泰勒錐(Taylor cone)[2]，當電壓逐漸升高之後，溶液隨即脫離泰勒錐射出形成一飛行軌跡(jet)[2]，當高速的飛行高分子溶液逐漸接近收集板時，會發生展開(splaying)[2]的現象，使飛行的高分子分裂成更細小的纖維，沈積於收集板(collector)上。如圖一。

分裂之後的高分子纖維直徑可精準控制在數毫米到一百奈米(1 μ m~100nm)間，平均散佈於收集板上，形成沒有方向性的不織布薄膜，同時纖維與纖維間也會形成交錯連結的網目結構(network)[3]，更加的提升了薄膜的張力強度，不織布的型態也消除了各方向的弱點(weak point)。

藉由射出電壓、溶液黏度、飛行距離等條件控制，紡織出單一直徑大小的纖維[4]，進而精準控制薄膜之孔洞率、孔徑，而達到不同薄膜使用目的的需求。同時也因纖維直徑的奈米化，造成量子尺寸效應及表面效應，而展現出許多優異的物理與化學的性質。高度配相後的高分子也使其降解時間更趨穩定，也較易控制。



圖一、電氣紡絲示意圖

三、實驗方法與步驟

使用聚乳酸 Poly-L-lactic acid(PLLA) 及脂肪族 Polybutylene succinate-co-adipate (PBSA)為溶質，溶劑為 CH_2Cl_2 及 CHCl_3 ，加入磁石攪拌子，使用磁石攪拌，個別混合成濃度 7.5%、10%、12.5%、15%、20% 之溶液，使用動態黏度計測試混合完成之溶液。

電氣紡絲使用的射出電壓為 5kV、10kV、15kV、20kV，射出距離為 15cm，毛細管直徑為 $\Phi 2.69\text{mm}$ 、 $\Phi 1.08\text{mm}$ 。溶液體積為 5ml。收集沈積於收集板上之纖維薄膜，觀察其結構型態。各種分析方法如下所述。

■ 光學顯微鏡觀察：將製備完成之薄膜置於光學顯微鏡(ECLIPSE E600，NIKON，Japan)下，初步觀察其結構。

■ SEM 電子掃瞄式顯微鏡觀察：將樣品用碳帶固定在台座上，並鍍上黃金，利用掃瞄式電子顯微鏡 (S-2400，HITACHI，Japan)觀察。

■ 膜厚測試：將薄膜尺寸裁切成 5cm*5cm，利用膜厚測試機 (MEGA-CHECK 5F，LIST-MAGNETIK，Germany)測試中央及四個角落，共計五點，觀察其電氣紡絲分佈的平均度。

■ DSC 示差掃瞄式熱分析：將試片裁切成 5mg，利用打錠機將試片打入鋁盤內，再利用示差掃瞄式熱分析儀(DSC，Perkin Elmer，Pyris 1，USA)進行熱分析，程式設定為從 30°C 開始加熱到 200°C，加熱速率 10°C/min。

■ DMA 動態機械性質測試：將試片裁切成 5mm*35mm 大小，利用機械力分析儀 (DMA7e，Perkin Elmer，USA)測試薄膜張力，程式設定為從 0 mN 開始拉伸，至 3000 mN 為止，速率為 100 mN/min，環境溫度為 25°C。

四、結果

在電壓逐漸提高下，毛細管尖端的高

分子液體因高電壓形成的尖端放電效果，由內聚的圓形變成泰勒錐，而開始射出高分子細絲；在使用不同電壓的條件下，可發現在電壓 5kV 時就會有射出的動作，但不會有展開(splaying)的現象，直到射出電壓升高到 10kV 以上時，才會有展開的現象，且飛行軌跡有明顯的螺旋運動，當射出電壓超過 20kV 之後，泰勒錐(Taylor cone)就無法維持穩定，而無法再固定地點成膜。

而在使用不同濃度的條件下，我們發現在濃度 7.5% 時，因電壓產生的牽引力遠大於溶液的內聚力，故在溶液射出後就產生了展開的現象，且因溶劑無法及時揮發之故，造成無法成絲，而形成點狀沈積物。而在濃度 20% 以上之溶液則是因為內聚力太大，而不會產生展開的現象。

比較相同射出條件但不同毛細管徑的薄膜時，發現管徑大小會與纖維直徑成正比關係。例如使用 $\Phi 2.69\text{mm}$ 之毛細管射出之纖維直徑約為 $1\sim 0.5\mu\text{m}$ ，而使用 $\Phi 1.08\text{mm}$ 之毛細管射出之纖維直徑約為 $300\sim 150\text{nm}$ (射出條件為：射出電壓 15kV、溶液濃度 12.5%、射出距離 15cm)。

在不同成分混和的結果中，我們可以發現，PLLA 與 PBSA 有相當良好的混和均勻度，同時也能經由射出條件的改變，控制單一成分的纖維尺寸及結構型態，也能控制其組成之比例。經由熱分析得到的結果也可以看出，電紡的過程並不會對單一或多個射出的高分子造成結構及物化性質的影響，同時對纖維尺寸及結構型態控制能力也相當良好。



圖、PLLA 及 PBSA 混合射出

物性測試：

■ 膜厚測試：將樣品薄膜裁切成 $5\text{ cm} * 5\text{ cm}$ 見方的尺寸，利用膜厚測試機測試中央及四個角落，共計五點，觀察其電氣紡絲分佈的平均度。

經由測試結果發現(見表一)，當濃度固定時，電壓的改變對膜厚並無太大影響。但供液速率改變時，沈積之薄膜的膜厚會明顯改變，趨勢為當供液速率越大時，膜厚越厚。推斷是單位時間內的流量變大，相對的體積便增加，由於成膜的範圍固定，故膜厚便增加。而電壓的改變只作用在纖維直徑的不同，當電場電壓越大，纖維直徑便越小，故電場電壓與薄膜之厚度無關。

電場電壓(V)	平均膜厚(μm)
22k	30.0 ± 11.7
20k	36.4 ± 6.0
19k	34.0 ± 6.4
18k	30.4 ± 1.9
17k	27.6 ± 5.6
15k	36.5 ± 2.3

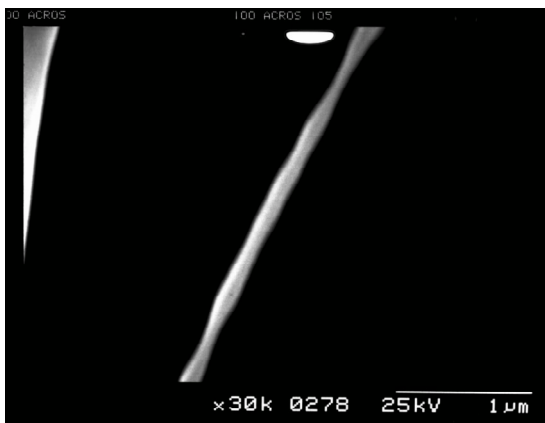
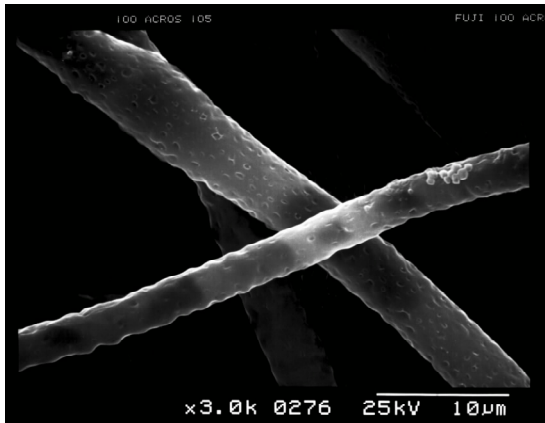
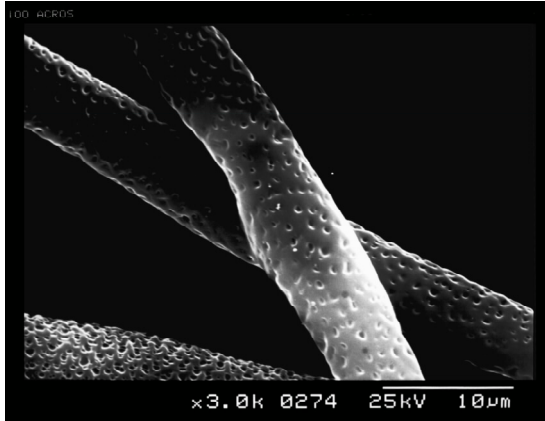
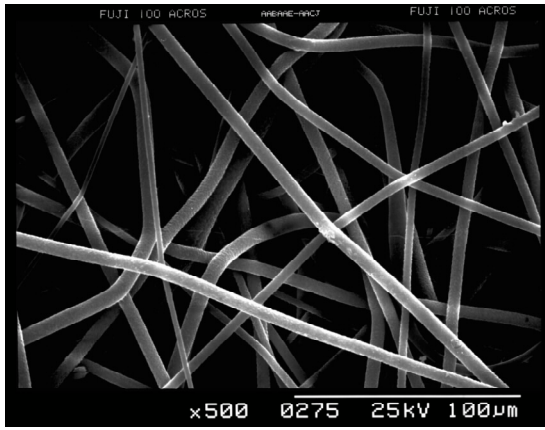
(a)濃液濃度 10wt%，供液速率 5d/min，電場電壓與膜厚關係表

供液速率(d/min)	平均膜厚(μm)
30	305.8 ± 111.6
20	198.2 ± 28.6
10	44.1 ± 15.3
5	35.1 ± 10.7

(b)濃液濃度 15wt%，電場電壓 25kV，供液速率與膜厚關係表

表一：膜厚測試結果

■ SEM 觀察：將取得樣品使用碳帶固定上台座上，並鍍上黃金，利用掃瞄式電子顯微鏡 (S-2400, HITACHI, Japan) 觀察。觀察結果如下圖：



張力測試：將試片裁切成 5mm*35mm 大小，利用機械力分析儀(DMA7e, Perkin Elmer, USA)測試薄膜張力，程式設定為從 0 mN 開始拉伸，至 3000 mN 為止，速率為 100 mN/min，環境溫度為 25°C。每組

測試四片樣品，以降低誤差。測試數據如下(表二)，由數據顯示，雖然薄膜之平均膜厚約略相同，但其平均張力卻隨電場電壓升高而明顯降低，推測是由於電場電壓升高會導致薄膜之纖維直徑變小，雖然能累積膜厚到一定範圍之數值內，但由於單一纖維提供之強力不足，故使薄膜強力下降。

使用電壓 (V)	平均膜厚 (µm)	平均張力(mN)
22k	29.98	472 ± 45.7
20k	36.38	519.3 ± 90.2
19k	34.02	544.3 ± 57.0
18k	30.42	551.3 ± 32.0
17k	27.6	814.5 ± 80.0
15k	36.5	998.3 ± 120.7

表二：濃液濃度 10 wt%，供液速率 5d/min，電場電壓為變數條件下之薄膜強力表

五、結論

從所得薄膜的分析結果中發現，纖維直徑與射出電壓應成一反比關係，纖維直徑與毛細管徑應成一正比關係。而部分濃度則會有較佳的射出結果，推測和溶液之粘彈性有相當的關係。多個射出端也使覆合材料在微觀上的混合變為可能，同時不會影響各高分子之結構及物化性質。

總結而言，我們已經可以藉由射出條件的微調整，可以精準的控制生物分解性薄膜的尺寸及結構，同時能夠以奈米尺寸均勻混合不同高分子。

在膜厚測試的結果中我們能發現，只要利用供液速率的改變，就能精準控制薄膜厚度，而且能從電場電壓的改變控制薄膜之纖維直徑的大小變化，其加工過程中的控制容易，簡化了加工的困難度，同時也能利用控制薄膜厚度的不同，以其利用於不同的使用標的上。

利用 SEM 的型態學觀察上也發現，可簡單且準確地利用電場電壓調控薄膜之纖

維直徑及其結構，例如纖維的大小、型態、表面孔洞的有無等等，皆可透過適當的變因調控，來達到不同的型態結果，無論是在組織隔離膜、組織工程骨架、藥物輸送與釋放基材、創傷敷料等等，皆能符合其要求，增加了電氣紡絲在生醫材料製作上的實用性。

在張力測試的結果中我們能發現，最大強力能達 1173mN，但若纖維直徑變小後強力也逐漸下降，未來努力方向將朝向利用較粗的纖維做為骨架，再用電氣紡絲紡上奈米級之纖維，以彌補強力上之不足，同時保有薄膜的奈米特性。

參考文獻：

[1] L. Larrondo, R.J. Manley, *Electro-static Fiber Spinning From Polymer Melts*.

II.Examination of the Flow Fiber in an Electrically Driven Jet, Journal of Polymer Science, 19: 921-932(1981).

[2] D.H. Reneker, I. Chun, *Nanometer Diameter Fibers of Polymer, Produced by Electro-spinning*, Nanotechnology, 7: 216-223(1996).

[3] H. Fong, I. Chun, D.H. Reneker, *Beaded Nanofibers formed During Electro-spinning*, Polymer, 40: 4585-4592(1999).

[4] J. Doshi, D.H. Reneker, *Electrospinning Process and Applications of electrospun Fibers*, Journal of Electrostatics, 35: 151-160(1995).

可供推廣之研發成果資料表

可申請專利

可技術移轉

日期：92年9月10日

<p>國科會補助計畫</p>	<p>計畫名稱：以電氣紡絲進行奈米級導引性組織再生膜的製備及其應用研究 計畫主持人：曾厚 計畫編號：NSC 91-2213-E-038-001 學門領域：生醫材料</p>
<p>技術/創作名稱</p>	<p>奈米吸收導引性組織再生膜的製備</p>
<p>發明人/創作人</p>	<p>曾厚</p>
<p>技術說明</p>	<p>中文：本研究主要是以電氣紡絲為手段，以吸收性高分子所構成的溶液製備薄膜以作為 GTR 或 GBR 用薄膜。首先，是以高壓直流變壓器所產生的高電壓，將溶解高分子溶液射出經拉伸及分裂後，蒐集成為各種厚度多種樣式的薄膜。</p> <p>英文：In this investigation, electrospinning were used to prepared poly L-lactide or/and polybutylene succinate-co-adipate nanostructured membrane. The electrospinning process is based on the use of large voltages (ca. 5-30 kV) which generate sufficient surface charge to overcome surface tension in a pendant drop of the polymer solution. These membranes could be used for GTR or GBR.</p>
<p>可利用之產業及可開發之產品</p>	<p>可應用於醫療產業中，腹腔外科用之組織隔離膜，或是牙科中用於牙周病治療做為 GTR 或 GBR 功能的組織再生膜。</p>
<p>技術特點</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 可將構成薄膜的纖維尺寸縮小至奈米級 2. 可藉由纖維粗細度控制薄膜降解的時間 3. 可以多重射出達到不同型式的混合
<p>推廣及運用的價值</p>	<p>本研究僅為電氣紡絲系列研究的起點，初期就技術的可行性評估完成，發現有其可行性，若再能經進一步較精細的活體內及活體外實驗的評估，那麼其可推廣及運用的價值就可大大地提昇了。</p>

※ 1.每項研發成果請填寫一式二份，一份隨成果報告送繳本會，一份送 貴單位研發成果推廣單位（如技術移轉中心）。

※ 2.本項研發成果若尚未申請專利，請勿揭露可申請專利之主要內容。

※ 3.本表若不敷使用，請自行影印使用。