

逢甲大學學生報告 ePaper

海膽狀金奈米粒子/聚 (ϵ -己內酯)/殼聚醣電紡奈米
纖維用於抗菌活性包裝

The urchin-like gold nanoparticles/poly(ϵ -
caprolactone)/chitosan electrospun nanofibers for
antibacterial active packaging

作者：林瑋宸

系級：材料科學與工程學系

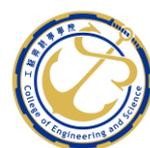
學號：D1127963

開課老師：駱榮富 教授

課程名稱：專題討論

開課系所：工程與科學學院

開課學年：一百一十三學年度 第二學期



摘要

活性包裝為延長食物的保質期的方法之一，可藉由金屬奈米粒子的添加提升包裝之抗菌效益。本研究製備海膽狀金奈米粒子 (Urchin-like gold nanoparticles, UGNPs)，並將其沉積於聚 (ϵ -己內酯)(Poly- ϵ -caprolactone, PCL) / 殼聚糖 (chitosan, CS) 電紡 P/C 奈米纖維膜上。根據實驗結果得知左旋多巴 (levodopa, L-Dopa) 為製備 UGNPs 之最佳還原劑，隨著 L-Dopa : H₂AuCl₄ 的莫耳比增加，奈米粒子表面成長的尖刺長度也增加；奈米纖維浸泡在奈米粒子溶液的時間長，負載於 P/C 奈米纖維膜上的 UGNP 含量增加。UGNPs 的尖刺長度與沉積的 UGNP 含量提升對金黃色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*, *S. aureus*) 和大腸桿菌 (*Escherichia coli*, *E. coli*) 之抑菌效果呈正相關。負載 UGNP 的 P/C 奈米纖維膜在熱穩定性、親水性、機械強度以及水氣滲透性的良好表現展現其具備作為抗菌活性包裝的潛力。

關鍵字：活性包裝、食品保存、電紡奈米纖維、金屬奈米粒子的抗菌性

Abstract

Active packaging is one of the strategies used to extend the shelf life of food products, and its antimicrobial efficacy can be enhanced by incorporating certain metal nanoparticles. In this study, the urchin-like gold nanoparticles (UGNPs) were synthesized and deposited onto poly(ε-caprolactone) / chitosan (PCL/CS) electrospun nanofiber membranes. Experimental results demonstrated that Levodopa (L-Dopa) served as the optimal reducing agent for UGNP synthesis. As the molar ratio of L-Dopa to H₂AuCl₄ increased, the spine length of the UGNPs also increased. Additionally, prolonged immersion time of the nanofibers in the UGNP solution led to a higher loading of UGNPs onto the PCL/CS membranes. Both the spine length and the deposited amount of UGNPs showed a positive correlation with the antibacterial efficacy against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. The UGNP-loaded PCL/CS nanofiber membranes exhibited great mechanical strength, hydrophilicity, water vapor permeability, and thermal stability, demonstrating its potential for use as antimicrobial active packaging materials.

Keywords : active packaging, antimicrobial properties of metal nanoparticles, electrospun nanofibers, food preservation

目次

摘要.....	1
Abstract.....	2
1. 研究背景與現況.....	5
2. 研究構想.....	7
3. 基本理論.....	8
3.1 靜電紡絲 (Electrospinning).....	8
3.1.1 靜電紡絲的基本原理.....	8
3.1.2 泰勒錐 (Taylor cone).....	9
3.1.3 靜電紡絲的調控參數.....	9
3.2 晶種生長法 (Seed-mediated method).....	10
3.3 抗菌機制.....	12
3.3.1 物理損傷機制.....	12
3.3.2 化學損傷機制.....	13
3.3.3 抗菌試驗之細菌.....	14
4. 實驗方法.....	16
4.1 實驗藥品.....	16
4.2 實驗材料.....	17
4.2.1 SNP 的製備.....	17
4.2.2 UGNP 的製備.....	17

4.2.3 負載不同奈米粒子的 P/C 奈米纖維的製備	18
4.3 使用儀器與測量方式	19
4.3.1 UGNPs 與奈米纖維表面特徵的分析	19
4.3.2 P/C 奈米纖維的性能分析	20
5. 結果與討論	22
5.1 UGNPs 與奈米纖維表面特徵	22
5.2 UGNPs@P/C 奈米纖維的性能分析	26
圖 12. (A) UGNP@P/C20 ; (B) UGNP@P/C60 ; (C) UGNP@P/C180 ; (D) SS-UGNP@P/C60 ; (E) SNP@P/C60 ; (F) P/C60 的水接觸角	29
5.3 UGNPs@P/C 奈米纖維的抗菌試驗	31
6. 本研究的應用潛力與未來發展	32
7. 本篇論文的觀察與學習心得	33
8. 結論	34
9. 參考文獻	35

1. 研究背景與現況

根據世界衛生組織 (World Health Organization, WHO) 資料統計，全球每年有六億人因為食用受到汙染的食物而生病，營養的攝取與糧食儲備和食品安全性息息相關，保存不當的食品除了造成消費者感染食源性疾病外，廢棄物也會對總體農牧業經濟造成損失^[1]。在聯合國 2030 永續發展目標 (Sustainable Development Goals, SDGs) 的第 12 項「責任消費與生產」中，亦提及全球人均食物浪費減半的目標可藉減少生產、供應鏈和採收後的糧食損失實現^[2]，可見除了糧食的生產外，食品儲藏方式的議題也日趨受到重視。

食品與蔬果的保值期長短受採收後的保存環境溫度、濕度及包裝方式大幅影響。為了避免食品的腐敗和汙染造成糧食浪費與病原體生長，對食品本身使用烘乾、鹽漬、發酵和冷凍等加工處理是常見的作法；在外部則採用傳統的食品包裝，例如：鐵罐、不透明玻璃瓶和紙袋，具備基本的物理隔離效果，能夠防止沾染髒污或潮濕。傳統包裝雖然也提供了產品防護力，但消費者無法直觀地得知產品內部實際樣貌，隨著存放時間的延長，包裝內部產品可能變質或細菌增殖，產生食用安全性上的疑慮。隨著技術的發展，包裝的方式也衍生出了活性包裝與智慧包裝兩種模式。活性包裝的核心技術是藉由化學反應調節

包裝內部的環境，主動釋放負載物質或著吸收環境副產物達到維持產物品質和延長保存期限的功用。

電紡奈米纖維膜作為活性包裝材料具備多種優勢——高比表面積，能夠負載更多的抗菌劑和抗氧化劑等活性成分或加速氣體的交換，有助於活性物質的吸附與釋放；透過調整奈米纖維膜的組成成分、結構與膜厚改變控制活性物質釋放速率；製備分層的奈米纖維膜可以摻雜多種活性物質，同時使得每層不同的化學成分有獨立功效；利用具備生物降解性的天然高分子，例如：CS 取代工業合成的原料，能夠在生產的同時符合現今綠色包裝的發展趨勢。

CS 因為具有生物降解性、生物相容性和抗菌特性而被廣泛應用於活性包裝^[3]，然而 CS 不溶於水與大部分的有機溶劑，只能溶於酸性溶劑，在電紡時蒸發速率慢，不利於生成奈米纖維。添加聚合物如：PCL 和聚乙醇醇 (Polyvinyl alcohol, PVA) 混合電紡，可以提升分子鏈的柔韌性改善纖維的拉伸。此外，由於 CS 的抗菌活性有限，製備時需要在以殼聚糖為基礎的活性包裝中添加抗菌劑強化抑菌功用。

抗菌金屬奈米粒子作為抗菌劑不需要針對特定的受體就可殺死細菌，使細菌難以產生抗藥性^[4]。其中，銀奈米粒子 (Silver nanoparticles, SNPs) 又因為優異的抗菌功能而被投入至研究中，由於 SNPs 會對哺乳動物細胞 (如：肝細胞和神經元細胞) 產生毒性，因此目前金奈米

粒子 (GNPs) 也被納入研究的選擇材料之一。與 SNPs 相比 GNPs 對哺乳動物細胞的毒性較小，GNPs 的形狀、尺寸和表面特性也容易調整，方便應用於多種用途。金屬奈米粒子的殺菌過程涉及對微生物表面或細胞內的物理和化學反應。大多數的金屬奈米粒子藉由產生活性氧 (Reactive oxygen species, ROS)、活性氮 (Reactive nitrogen species, RNS) 和金屬離子等等有毒物質誘導細菌細胞膜脂質氧化，並對細胞內蛋白質造成損傷^[5]。GNPs 的反應性較低，除了提升濃度之外，亦可藉由奈米粒子的結構形狀改善抗菌效益。機械性抗菌機制主要分為兩類：形狀和大小各異的奈米柱結構引起的細菌細胞拉伸，以及邊緣鋒利的奈米粒子使得細菌細胞膜被切割^{[5][6]}，本研究中合成的 UGNPs 表面的尖刺結構即基於機械性抗菌機制所設計。雖然近年來 UGNPs 的應用發展日漸廣泛，但多集中於光催化、電化學、電磁波吸收以及表面增強拉曼散射，在抗菌活性方面探討仍有限，顯示具有進一步開發的潛力。

2. 研究構想

本研究中採取使用晶種生長法 (Seed-mediated method)，製備 SNP 作為雙金屬奈米粒子中的核，再藉由不同還原劑的使用，合成 UGNPs 包覆作殼結構，並探討不同還原劑與不同還原劑和四氯金酸 (chloroauric acid, HAuCl₄) 的莫耳比對 UGNPs 的形貌以及尺寸造成的

影響。透過對 UGNPs 表面特徵和 UGNPs@P/C 奈米纖維的性能分析及抗菌試驗判斷其作為活性包裝之潛力。

3. 基本理論

3.1 靜電紡絲 (Electrospinning)

3.1.1 靜電紡絲的基本原理

高分子材料溶解於相容性佳的溶劑中形成聚合物溶液作為電紡液，即奈米纖維之前身。靜電紡絲的過程中施加的電壓造成電場的生成，填充的電紡液在電場的作用下克服溶液的表面張力並向收集器噴射，噴射過程中溶劑快速揮發固化，形成連續且直徑為奈米至微米等級的纖維。

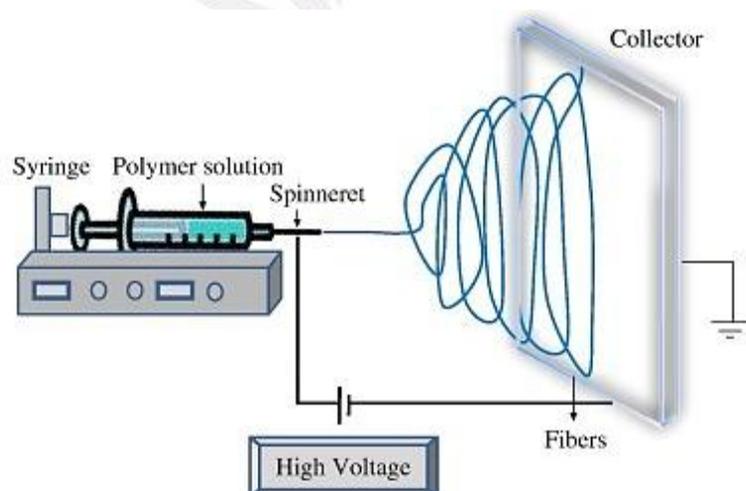


圖 1. 靜電紡絲 (Electrospinning) 技術示意圖^[7]

3.1.2 泰勒錐 (Taylor cone)

注射器尖端的聚合物溶液在高壓電場的作用下會使表面張力被突破，形成帶有電荷的泰勒錐液滴。

3.1.3 靜電紡絲的調控參數

影響電紡纖維形貌與直徑的因素眾多，包含注射流速、施加電壓、溶液性質、環境的溫度與濕度和注射器與收集器間的距離等。每個參數間的調控又會彼此影響，因此在操作靜電紡絲時須注意控制變因的設定。

表 1. 靜電紡絲的調控參數對電紡纖維影響的統整

參數類別		數值高	數值低
溶液性質	濃度	纖維直徑增加	產生珠狀結構
	黏度	纖維直徑增加	產生珠狀結構
	分子量	纖維直徑增加	產生珠狀結構

	導電率	纖維直徑較小 且均勻	產生珠狀結構
操作參數	注射流速	纖維直徑增加、產生珠狀結構、聚合物溶液從注射器尖端滴落	纖維直徑較小
	施加電壓	纖維直徑較小	生成珠狀結構、無收集到纖維
	注射器尖端到收集器間距離	生成珠狀結構	無收集到纖維
操作環境	溫度	纖維表面光滑 且直徑小	注射器針頭被堵塞'
	濕度	孔隙率增加	纖維直徑較小

3.2 晶種生長法 (Seed-mediated method)

奈米材料可透過多樣的物理和化學製程合成，例如：等離子體濺鍍法、雷射燒蝕法和高能球磨法屬於物理方式；而化學方式則有熱解法、氣相沉積法和溶液合成法等等。種晶生長法屬於溶液合成法的一種，可以透過生長溶液的 pH 值、溫度、濃度；環境的濕度、還原劑和保護劑的濃度跟添加量以及反應時間等，精確的調控 NPs 的形貌。

反應過程中，還原劑將金屬離子還原成原子並聚集形成作為「核」的 NPs，將核引入生長溶液中後金屬原子優先沉積於核的表面，形成奈米等級的雙金屬殼核結構。

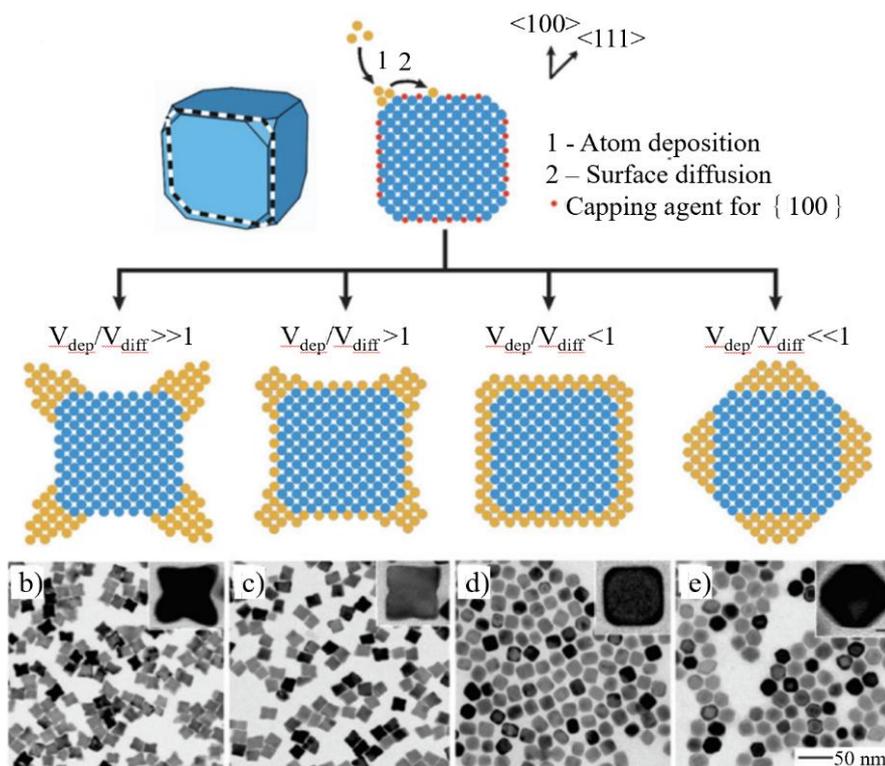


圖 2. 不同晶種的類型與晶體預期生長形貌^[8]

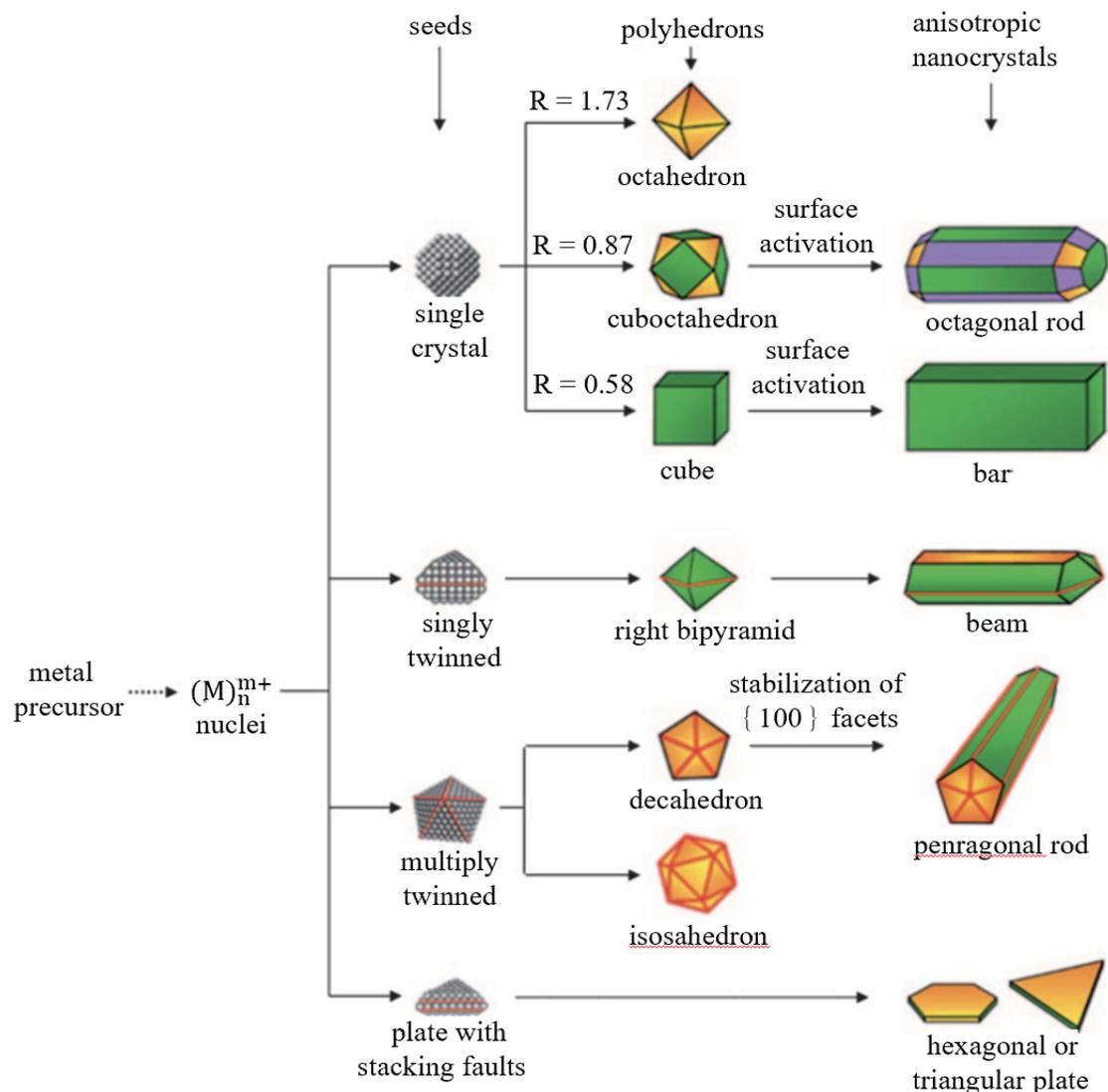


圖 3. 原子表面擴散速率差異造成的晶體生長對照圖^[9]

3.3 抗菌機制

NPs 與傳統的抗生素相比具有多樣的抗菌機制，且能標靶多種生物分子從而避免抗藥性菌株的產生。NPs 的抗菌機制可以分為物理損傷機制和化學損傷機制。

3.3.1 物理損傷機制

細菌細胞壁和細胞膜的破壞途徑包含：分散的 NPs 直接接觸細

胞膜，對膜表面累積應力造成拉伸破壞；藉由帶正電荷的 NPs 離子與帶負電荷的細菌細胞壁產生靜電作用力，NPs 離子附著在細菌細胞壁和細胞膜表面；採機械抗菌作用原理，仿造昆蟲翅膀的形貌特徵製備具有鋒利邊緣的 NPs 穿刺細胞壁結構。當細胞壁和細胞膜的完整性受損，孔洞的產生使細胞內容物（如：細胞質和遺傳物質）洩漏，細菌無法維持正常的滲透壓和結構，最終導致細胞死亡。

3.3.2 化學損傷機制

NPs 離子釋放會與細菌體內重要的蛋白質（尤其是含有硫醇基團-SH 的酶）結合，導致蛋白質結構變性並失去活性。例如，影響細胞呼吸鏈中的酶，導致細菌無法進行正常的呼吸作用和能量代謝，進而死亡。此外，NPs 也可能與細菌的 DNA 結合破壞其結構或干擾 DNA 的複製和轉錄過程，從而抑制細菌的生長和繁殖。

ROS 是生物體正常有氧呼吸過程中的副產物，對細胞間信號的傳遞和體內平衡不可或缺，常見的 ROS 物種包含過氧化氫 (Hydrogen Peroxide, H_2O_2)、超氧陰離子 (Superoxide Anion, O_2^-)、羥基自由基 (Hydroxyl Radical, OH^\cdot) 和一氧化氮 (Nitric Oxide, NO) 等等。在抗菌機制中影響其產生的因素包括 NPs 的結晶度、成份和奈米結構、濃度和外在環境干擾等等。當 ROS 生成濃度過高時會主動攻擊細胞內容物，包括脂質（造成細胞膜脂質過氧化）、蛋白質（導致蛋白質氧化損

傷和失去活性) 與 DNA(使 DNA 氧化損傷)，最終細胞因為廣泛性的損傷而死亡。

3.3.3 抗菌試驗之細菌

細菌主要分成兩類：革蘭氏陽性菌 (Gram-positive bacteria) 和革蘭氏陰性菌 (Gram-negative bacteria)。用於抗菌試驗的細菌須滿足以下幾點要素：安全性 (標準化菌株，如：ATCC 菌株，續代後毒性較低)、易於操作 (培養條件簡單和生長速率快，可大量試驗) 和相關性 (根據應用場景選擇具有臨床意義或廣泛存在的病原菌，測試結果更具應用價值) 以及具備代表性 (革蘭氏陽性菌和革蘭氏陰性菌各擇一，因為兩者細胞壁結構差異大，對抗菌劑的敏感性不同)。

抗菌效益的判斷方法包括定性與定量：

- 定性：初步篩選或快速判斷是否存在抗菌活性

(1) 抑制圈法 (Disk Diffusion Method / Zone Inhibition Method)

將含有抗菌物質的樣品放置在已接種細菌的培養皿表面，抗菌物質從樣品中擴散至瓊脂中。如果該物質具有抗菌性，則在樣品周圍會出現一圈細菌無法生長的透明區域即抑菌圈。抑菌圈的直徑大小與抗菌效果呈正相關，透過此作法能便捷且直觀地評估抗菌效益。

- 定量：根據具體數值比較不同抗菌劑或材料的效力，並能評估殺

菌或抑菌的程度

(1) 稀釋法 (Dilution Method)

將抗菌物質在液體培養基中進行稀釋後加入定量的細菌。在一定時間培養後，藉由最低抑菌濃度 (Minimum Inhibitory Concentration, MIC) 與最低殺菌濃度 (Minimum Bactericidal Concentration, MBC) 觀察細菌生長情況。

(2) 表面接觸法 (Surface Contact Method) / 菌落計數法 (Colony Counting Method)

將已知濃度的細菌液均勻接種在待測抗菌材料的表面，並設定一個對照組。在特定的接觸時間和溫度下培養後，用洗脫液將材料表面殘餘的細菌洗脫，稀釋後進行活菌計數 (通常採用平板塗佈法或傾倒平板法)。此作法雖然操作相對複雜和耗時，但模擬情境較完善，實際應用價值更高且適用於固體表面抗菌材料。

(3) 生物膜抑制試驗 (Biofilm Inhibition Assay)

將細菌在抗菌材料表面培養一段時間後，用染色法或活菌計數法評估生物膜的形成量和細菌存活率。

(4) ATP 螢光法 (ATP Luminescence Assay)

活的微生物細胞中含有三磷酸腺苷 (ATP)，通過測量

ATP 含量可以間接反映活細菌的數量。將樣品與細菌接觸後，裂解的細菌細胞釋放 ATP，螢光素酶反應產生螢光。雖然檢測快速且靈敏，但可能會受到 ATP 背景值干擾，無法區分活菌和死菌。

表 2. 革蘭氏陰性菌與革蘭氏陽性菌的性質比較圖

菌種類型	細胞壁		革蘭氏染色	細菌例子
	肽聚醣層	外層膜		
革蘭氏陰性菌	較薄	有(脂多醣)	紅、粉紅色	大腸桿菌、沙門氏菌
革蘭氏陽性菌	較厚	無	紫、藍色	金黃色葡萄球菌、鏈球菌

4. 實驗方法

4.1 實驗藥品

硝酸銀 (Silver nitrate, AgNO_3)、聚己內酯 (Polycaprolactone, PCL; $M_w \approx 80,000$)、殼聚糖 (chitosan, CS, 300 – 500 Pa·s viscosity)、六氟異丙醇 (Hexafluoroisopropanol, HFIP)、四氯金酸 (chloroauric acid, HAuCl_4)、檸檬酸鈉 (Sodium citrate, $\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7$)、鹽酸羥胺 (hydroxylamine hydrochloride)、單寧酸 (tannic acid) 和左旋多巴 (Levodopa, L-Dopa)。

4.2 實驗材料

4.2.1 SNP 的製備

將 3.6 mg 的 AgNO_3 溶於 20 mL 的超純水 (UPW) 中，攪拌並加熱溶液直至沸騰。在燒杯中逐漸加入 0.48 mL 的 1% 檸檬酸鈉 (Sodium citrate) 溶液，持續煮沸 10 分鐘，溶液顏色由淺黃轉深灰色。

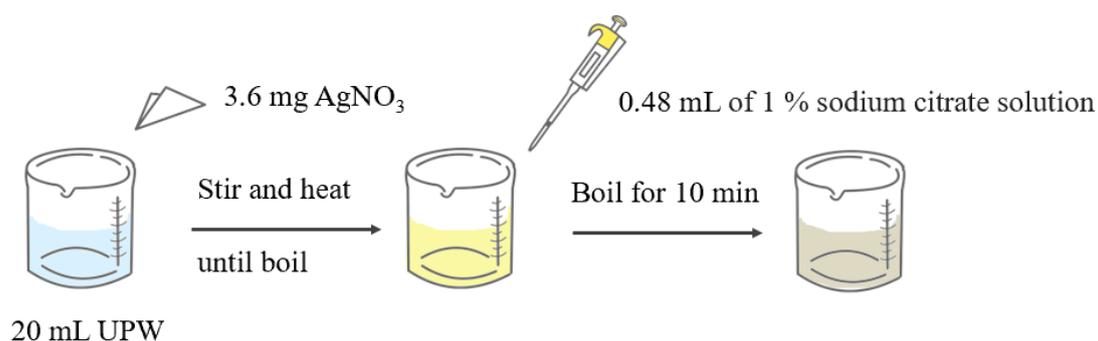


圖 4. SNP 的製備流程圖

4.2.2 UGNP 的製備

將 4.8 mL 的 10 mM 四氯金酸溶液加入至 8.6 mL 的 UPW 中，在 20°C 下攪拌至完全混合。燒杯內加入 1.8 mL 的 SNP 溶液，隨後逐滴添加 4.8 mL 的 10 mM 還原劑溶液。還原劑添加後持續攪拌，反應 10 分鐘後溶液顏色由淺黃色轉變成紅紫色，將所得溶液離心並用 UPW 沖洗，室溫下乾燥後即可得 UGNPs。

使用 L-DOPA、hydroxylamine hydrochloride 和 tannic acid 作為還原劑研究其對合成 UGNPs 之影響；L-DOPA : HAuCl_4 的莫耳比例 (R=1, R=2, R=3) 亦為操作變因之一。

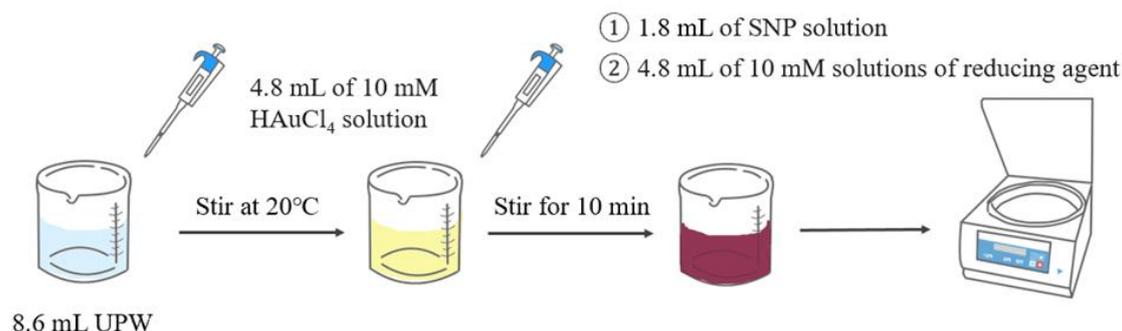


圖 5. UGNP 的製備流程圖

4.2.3 負載不同奈米粒子的 P/C 奈米纖維的製備

電紡溶液由溶劑 HFIP 分別加入溶質 PCL 與 CS 後形成 20% (w/v) 的 PCL 溶液和 1% (w/v) 的 CS 溶液。均勻混合兩種溶液後裝入注射器，靜電紡絲機台電壓設定 20 kV；流速為 0.5 mL/h；注射器針頭與收集器間距離則是 15 cm。

P/C 奈米纖維製作完成後浸入 UGNP 溶液中並依據規劃的浸泡時間長短放置於恆溫震盪培養箱中，即可獲得負載不同含量奈米粒子的奈米纖維。根據實驗結果選擇 R=3 的 UGNP 溶液，浸泡時間為 20、60 和 180 分鐘，標記作 UGNP-P/C20、UGNP-P/C60 和 UGNP-P/C180。短棘 UGNPs (UGNPs with short spines, SS-UGNPs) 為使用 R=1 的 UGNP 溶液製成結果，浸泡溶液 60 分鐘後的奈米纖維標示為 SS-UGNP-P/C60。SNP-P/C60 則是僅將奈米纖維浸泡 SNP 溶液，浸泡時間同樣為 60 分鐘。負載含量計算如下：

$$\text{負載含量} = \frac{M_2 - M_1}{M_1} \times 100$$

$M1$: 浸泡前奈米纖維重量

$M2$: 浸泡後奈米纖維重量

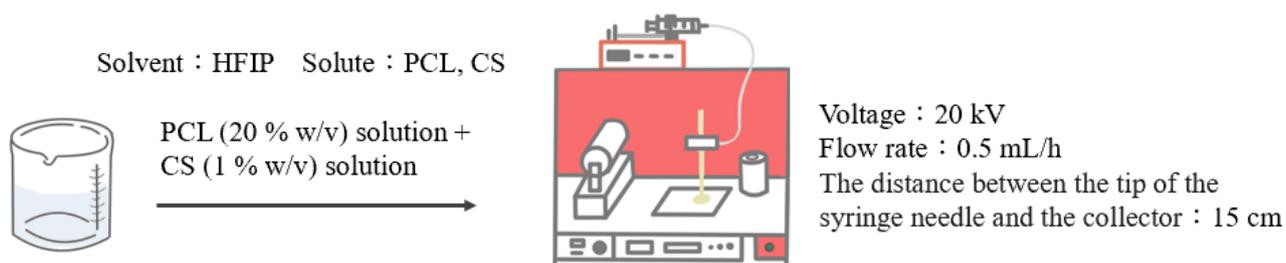


圖 6. P/C 奈米纖維製備流程圖

表 3. 負載不同奈米粒子的 P/C 奈米纖維

操作變因		浸泡溶液、浸泡時間	
浸泡溶液	UGNP (R=3)	SS-UGNPs (R=1)	SNP
製備樣品	UGNP@P/C20	SS-UGNP@P/C60	SNP@P/C60
	UGNP@P/C60		
	UGNP@P/C180		

4.3 使用儀器與測量方式

4.3.1 UGNPs 與奈米纖維表面特徵的分析

(1) 掃描式電子顯微鏡 (SEM)

使用 SEM 對奈米纖維掃描得到其表面樣貌後，由 ImageJ 軟體拉取纖維直徑，獲得直徑分布與平均值。

(2) 穿透式電子顯微鏡 (TEM)

(3) 紫外-可見分光光度法 (UV-Vis)

4.3.2 P/C 奈米纖維的性能分析

(1) 衰減全反射紅外光譜 (ATR-FTIR)

操作波長範圍為 4000-400 cm^{-1} ；光譜解析度為 0.5 cm^{-1} 。

(2) X-射線繞射儀 (XRD)

掃描角度 (2θ) 範圍為 3° 至 60° ；掃描速率為 2°min^{-1} 。

(3) 熱重分析 (TGA)

樣品熱穩定性檢定。在氮氣氛圍下進行，升溫速率為 $10^\circ\text{C} \text{min}^{-1}$ ，測試溫度範圍為 25°C 至 600°C 。

(4) 差式掃描量熱法 (DSC)

樣品熔點檢定。測試溫度範圍為 25°C 至 250°C ；升溫速率為 $10^\circ\text{C} \text{min}^{-1}$ 。

(5) 機械測試

拉伸試驗採用 10 N 的荷重元，並以 $0.2 \text{N} \text{min}^{-1}$ 的施力速率進行。奈米纖維膜裁切尺寸約為 $20 \text{mm} \times 5 \text{mm}$ ，厚度為 0.1 mm。

(6) 抗菌活性

使用 *S. aureus* 和 *E. coli* 兩種食源性細菌。採濁度法進行抗菌活性評估。將 10 mg 的奈米纖維膜浸入菌液 ($1.0 \times 10^6 \text{CFU mL}^{-1}$) 中，並在 37°C 下進行培養。每 2 hr 作區間紀錄一次，持續 24 hr。600 nm 波長下讀取吸光值。未加入奈米纖維膜的培養基作為對照

組。細菌培養 24hr 後抑制率計算方式如下：

$$\text{抑制率(\%)} = \frac{OD_{600}^C - OD_{600}^F}{OD_{600}^C} \times 100$$

OD_{600}^C ：對照組 OD_{600}^F ：實驗組

(7) 水蒸氣穿透率 (WVP)

將奈米纖維膜固定在裝有無菌水的滲透杯頂部，將滲透杯置於裝有乾燥矽膠的乾燥器中。每 12 hr 作區間紀錄重量，持續 4 天。WVP 計算方式如下：

$$\text{WVP} = \frac{\Delta M \times d}{\Delta t \times A \times \Delta p}$$

$\Delta M/\Delta t$ 為滲透杯的重量損失速率 (g h^{-1})； d 為塗層厚度 (mm)
 A 為塗層覆蓋的杯口面積 (m^2)； Δp 為薄膜兩側的水蒸氣分壓差 (Pa)。

(8) 接觸角 (WCA)

奈米纖維膜裁切尺寸約為 $10 \text{ mm} \times 10 \text{ mm}$ ，固定在載玻片上，滴定 $3 \mu\text{L}$ 的去離子水在薄膜表面，10 秒後測定水接觸角值。

5. 結果與討論

5.1 UGNPs 與奈米纖維表面特徵

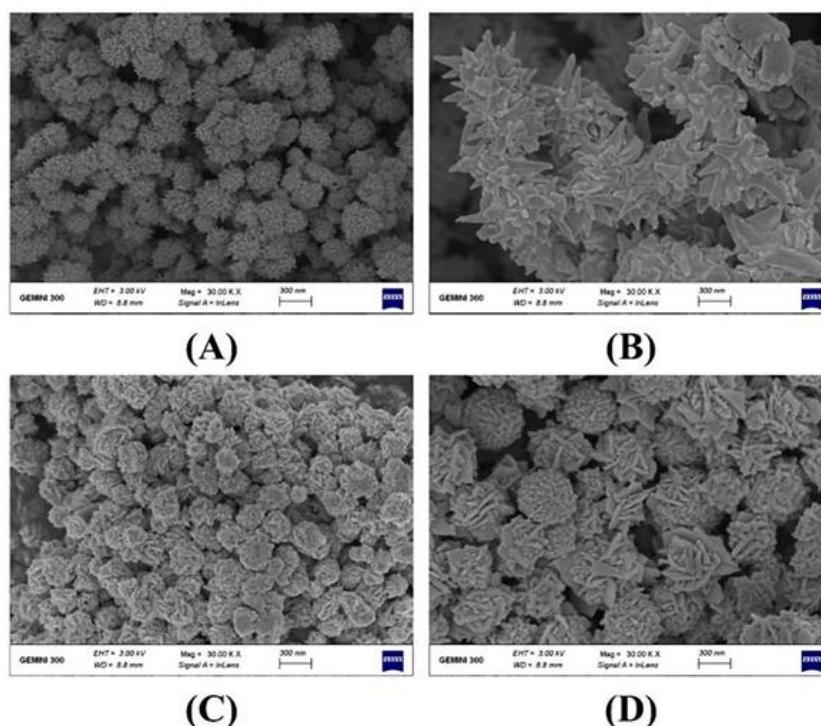


圖 7. 使用不同還原劑製備的奈米粒子 SEM 圖 (A) 左旋多巴 (B) 鹽酸羥基 (C) 單寧酸 (D) 無銀作為核心的金奈米粒子

由圖 7 中可見添加 hydroxylamine hydrochloride 作為還原劑產生的 UGNPs 奈米粒子尺寸較大且形狀不規則，對奈米顆粒的表面生長控制較低，採用 tannic acid 產生的奈米粒子則呈現明顯的團簇花狀結構，而直接以 L-DOPA 與 HAuCl_4 製備的 UGNPs，不包含銀作為核心的奈米粒子同樣呈不規則樣貌。由此推斷製備金奈米粒子最適合的還原劑為 L-DOPA，製備出的 UGNPs 尺寸最均一，在粒徑分布圖會較窄且集中，此外亦佐證合成過程中以銀作為核心是生成的關鍵之一。

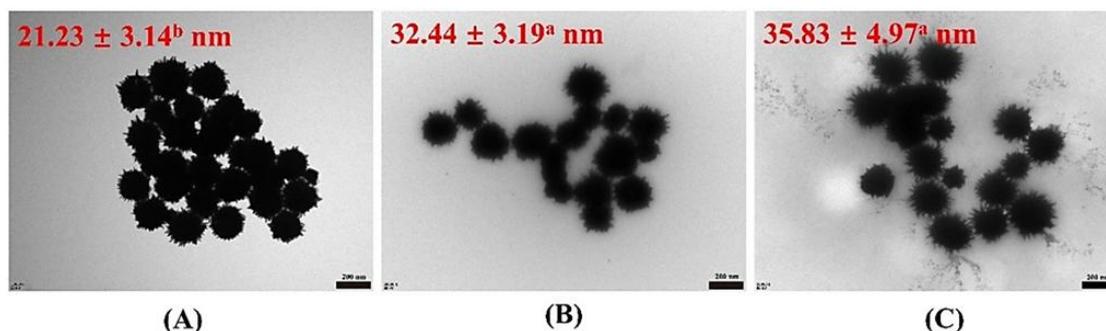


圖 8. 不同左旋多巴/四氯金酸莫耳比製備的奈米粒子 TEM 圖 (A) R=1 (B) R=2 (C) R=3

由圖 8 可知不同還原劑的添加量對奈米粒子大小的影響，隨著 R 值上升，奈米粒子表面的尖刺長度增加，因為 L-DOPA 的濃度增加，提高了自由離子的還原速率，並使其快速沉積於優選晶面上。實驗過程中涉及伽凡尼置換反應 (Galvanic replacement reaction)，反應式如下：



反應原理為銀的還原電位較金低，因此銀較容易失去電子被氧化，金離子接收電子後被還原。反應式中的銀氧化形成 Ag^{+} 並釋出的電子，而 AuCl_4^{-} 則被還原成固態的金。UGNPs 的形貌生成源自於一個金原子取代三個銀原子的過程中產生晶格缺陷，缺陷影響金的成長與沉積；反應中多餘的銀離子與氯離子結合生成不溶性的氯化銀，吸附於金的表面亦會阻礙對稱性生長，使得奈米粒子表面產生尖刺狀結構^[10]。

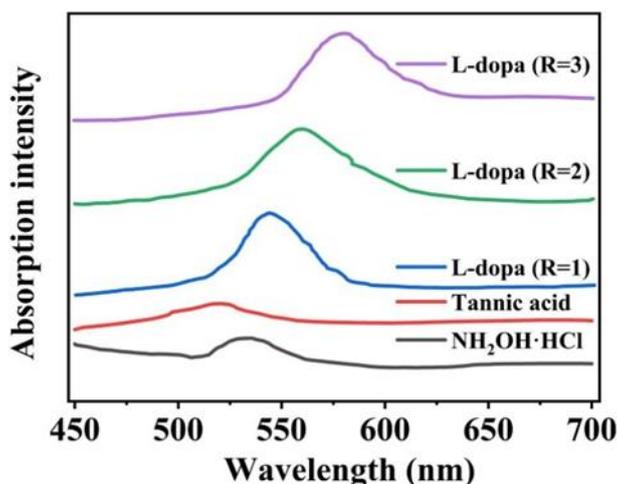


圖 9. 使用不同左旋多巴/四氯金酸莫耳比製備的奈米粒子 UV-Vis 圖

由圖 9 中可以得知由 L-dopa 合成的 UGNPs 吸收光譜比由 hydroxylamine hydrochloride 和 tannic acid 合成的金奈米花更寬廣，歸因於球形核心與尖刺分枝之間的電漿共振耦合作用所致。隨著左旋多巴的莫耳添加量增加，NPs 表面的尖刺長度增長使吸收峰產生紅移現象，從 540 nm 至 580 nm。

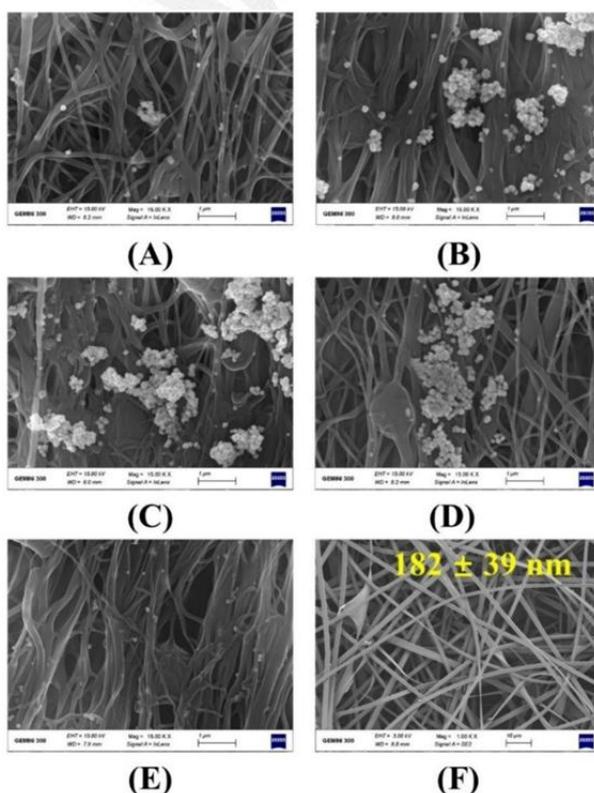


圖 10. 負載不同奈米粒子的 P/C 奈米纖維 SEM 圖 (A) UGNP@P/C20; (B) UGNP@P/C60; (C) UGNP@P/C180; (D) SS-UGNP@P/C60; (E) SNP@P/C60; (F) P/C60

表 4. 浸泡不同時長的 P/C 奈米纖維負載量

	UGNP @P/C20	UGNP @P/C60	UGNP @P/C180	SS-UGNP@P/C60	SNP @P/C60
Loading content (%)	5.25±1.74 ^d	10.35±1.86 ^b	19.97±2.01 ^a	9.67±1.38 ^b	7.47±1.52 ^c

Values are given as the mean±SD, a-d means in the same column with different letters differ significantly ($p < 0.05$).

由圖 10 (A)、(B)、(C) 與表 4 可佐證當浸泡時間增加，奈米纖維上吸附的 UGNP 含量增加。隨著浸泡時間延長，溶劑分子與奈米纖維中的聚合物交互作用，生成鍵結使聚合物分子間距擴大；纖維內部與外部溶劑之間的濃度梯度造成滲透壓，促使水分子進入纖維內部，兩者皆讓纖維膨脹。伴隨著應力的產生，纖維亦出現變形現象。當放置時間達 60 分鐘時，部分相鄰的奈米纖維融合降低了孔隙率與表面積，可能與纖維結構重排有關。

5.2 UGNPs@P/C 奈米纖維的性能分析

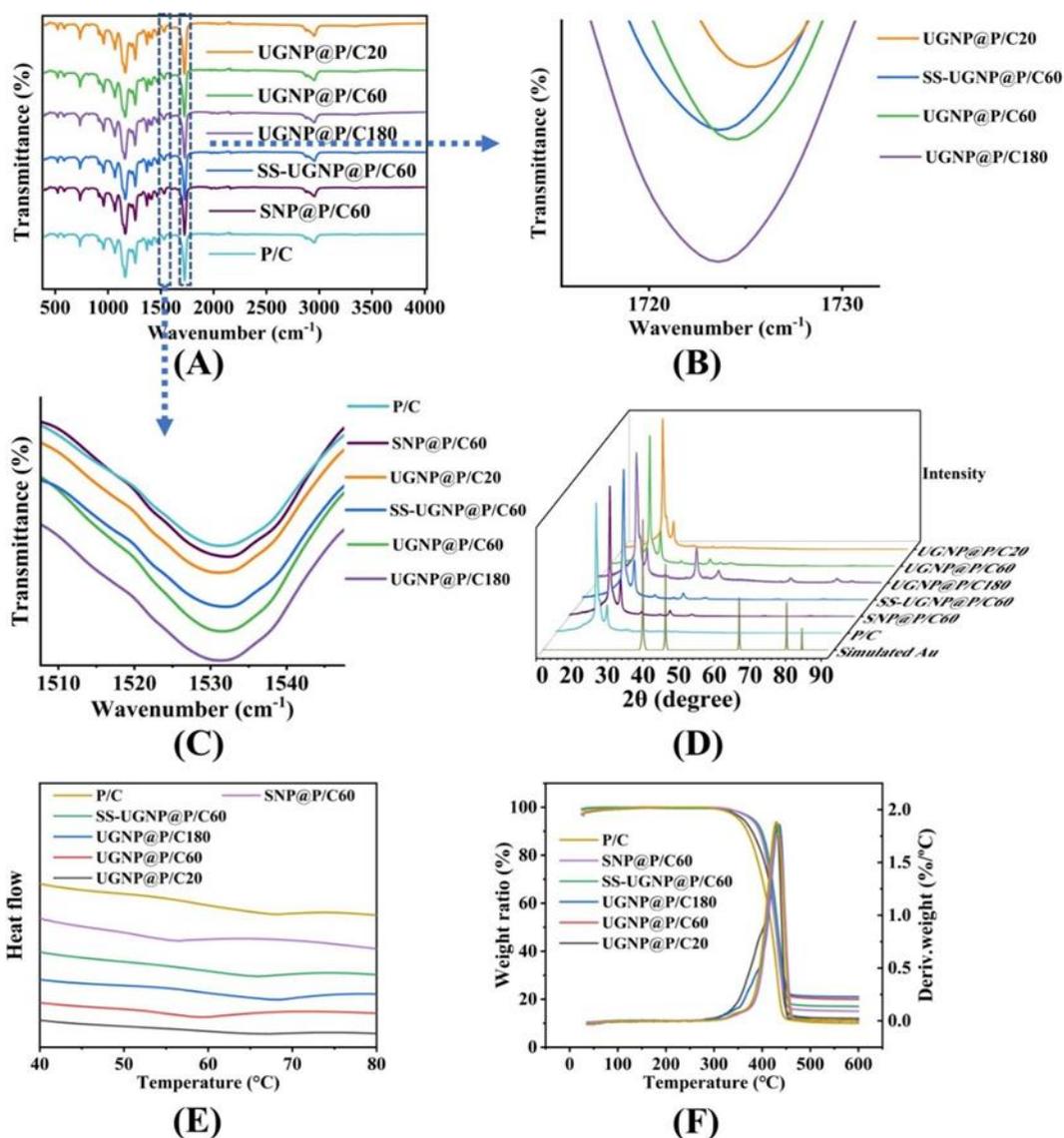


圖 11. UGNPs@P/C20、UGNP@P/C60、UGNP@P/C180、SS-UGNP@P/C60、SNP@P/C60 和 P/C60 的 (A)(B)(C) FTIR 光譜 (D) XRD 圖；(E) DSC 圖；(F) TGA

表 5. 不同 P/C 奈米纖維的 T_m 與 T_{max}

	UGNP@P/C20	UGNP@P/C60	UGNP@P/C180	SS-UGNP@P/C60	SNP@P/C60	P/C
T_m (°C)	67.30	59.00	68.30	66.00	56.70	68.30
T_{max} (°C)	430.00	433.37	435.63	433.33	434.01	430.01

圖 11 的 (A) 中顯示的 P/C 奈米纖維特徵峰 1725 cm^{-1} 為 PCL 中 C=O 的伸縮振動；在 1065 、 1161 和 1253 cm^{-1} 處為 C–O–C 鍵的伸縮振動；在 1369 、 1398 、 1417 與 1460 cm^{-1} 是 CH_2 彎曲振動，而在 2942 與 2862 cm^{-1} 分別表示 CH_2 的不對稱與對稱伸縮振動^[11]。所有樣品在 1592 cm^{-1} 處皆呈現 CS 的特徵峰，對應於一級胺基鍵 ($-\text{NH}_2$) 的彎曲振動。二級胺基鍵 ($-\text{NH}$) 的彎曲振動峰出現在約 1532 cm^{-1} 處^[12]，當奈米粒子沉積於奈米纖維上後，該峰從 1532 cm^{-1} 紅移至 1530 cm^{-1} 。由於 UGNP 表面被 L-dopa 及其氧化物包覆，物質中的羥基 ($-\text{OH}$) 與 CS 中的氨基 ($-\text{NH}$) 產生氫鍵，導致 FTIR 光譜中的紅移現象^[13]。奈米粒子與奈米纖維之間的氫鍵交互作用，使奈米粒子能穩定附著在奈米纖維上。除此之外，隨著 UGNP 尖刺長度的增加，C=O 伸縮振動峰值因為金奈米粒子定域化表面電漿共振 (LSPR) 效應從 1723 cm^{-1} 移動至 1725 cm^{-1} ^{[14][15]}。

由圖 11 的 (D) 中可以看到 P/C 奈米纖維的 XRD 曲線在 21.4° 與 24.3° 出現兩個尖銳的峰值，並且在 20.4° 至 23.4° 間底部存在較寬的波長範圍，顯示其具半結晶性質。此外，在 38.2° 、 44.3° 、 64.7° 與 77.7° 的特徵峰分別對應金的面心立方 (FCC) 結構中的 (111)、(200)、(220) 與 (311) 晶面^[16]。浸泡時間延長會使得奈米纖維上的 NPs 量增加，特徵峰值強度亦增加。

從圖 11 的 (E) 中能得知 NPs 的沉積改變了 P/C 奈米纖維吸熱峰位置，並使熔點 (T_m)。當浸泡時間從 20 分鐘拉長至 60 分鐘時 UGNP@P/C 奈米纖維的 T_m 下降。其現象可歸因於：(1) 長時間的浸泡使致聚合物分子鏈結斷裂；(2) NPs 的參雜增加了聚合物的自由體積。上述兩個情況都會使分子間作用力變小，相變所需克服的能量下降。而當時間增加到 180 分鐘時， T_m 又再次上升是因為沉積的 NPs 變成核點導致結晶度提升。結晶度越高，聚合物排列越緊密，所需克服的分子間作用力越高。

在圖 11 的 (F) TGA 圖表現出奈米纖維皆具備良好的熱穩定性，在大約 315°C 曲線才開始變化。在 350°C 到 450°C 間明顯的重量損失歸因於 P/C 奈米纖維的降解，藉由 TGA 的一階導數 (DTG) 了解在約 432°C 時重量損失速率最快。450°C 後曲線趨平，推估殘留物為不可揮發的金屬氧化物。

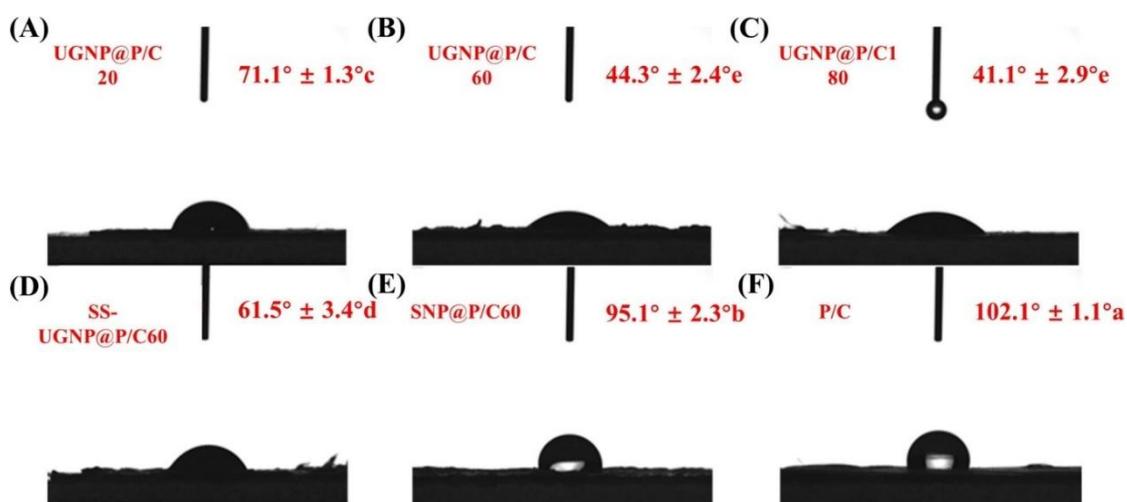


圖 12. (A) UGNP@P/C20 ; (B) UGNP@P/C60 ; (C) UGNP@P/C180 ; (D) SS-UGNP@P/C60 ; (E) SNP@P/C60 ; (F) P/C60 的水接觸角

表 6. 親水性與疏水性的角度範圍

親疏水性質	角度範圍
親水性	$0^\circ < \theta < 90^\circ$
疏水性	$90^\circ < \theta < 150^\circ$
超疏水性	$150^\circ < \theta < 180^\circ$

藉圖 12 水接觸角的量測判斷純 P/C 奈米纖維成疏水性，海膽狀金奈米粒子負載到奈米纖維後，水接觸角隨著浸泡時間拉長而下降，其原因為：(1)浸漬溶液中親水性分子附著於奈米纖維上，增加其親水性；(2) UGNPs 沉積在奈米纖維上，使得表面粗糙度增加與水分子間接觸面積變大，導致疏水性的降低。

表 7. 不同 P/C 奈米纖維的 WVP

	UGNP @P/C20	UGNP @P/C60	UGNP @P/C180	SS-UGNP@P/C60	SNP @P/C60	P/C
WVP (g/h·m ²)	34.17±0.74 ^b	37.92±1.17 ^a	39.05±0.95 ^a	36.04±0.36 ^b	35.41±0.31 ^b	31.04±0.56 ^c

Values are given as the mean±SD, a-d means in the same column with different letters differ significantly ($p < 0.05$).

對於活性包裝而言，WVP 會直接影響活性劑的穩定性、釋放效率以及包裝內部濕度，從而決定活性包裝能否有效地發揮其功能。低水蒸氣滲透率能有效阻隔外部的溼氣，但也可能使產品內部水蒸氣累積，塑造出有利於厭氧菌或黴菌生長的濕熱環境，因此奈米纖維膜的 WVP 需根據應用作平衡調整。由表 7 得知當浸泡時間從 20 分鐘增加至 180 分鐘時，UGNP@P/C 奈米纖維的 WVP 由 34.17 提升至 39.05 (g/h · m²)。此現象可歸因於兩個原因：(1) UGNPs 的沉積使奈米纖維粗糙度增加，親水性上升，WVP 亦增加；(2) 長時間的浸泡使奈米纖維結構變形，表面孔隙率的增加加速了水蒸氣的滲透導致 WVP 上升。奈米纖維結構的變形現象可由圖 10 的 SEM 圖結果佐證。

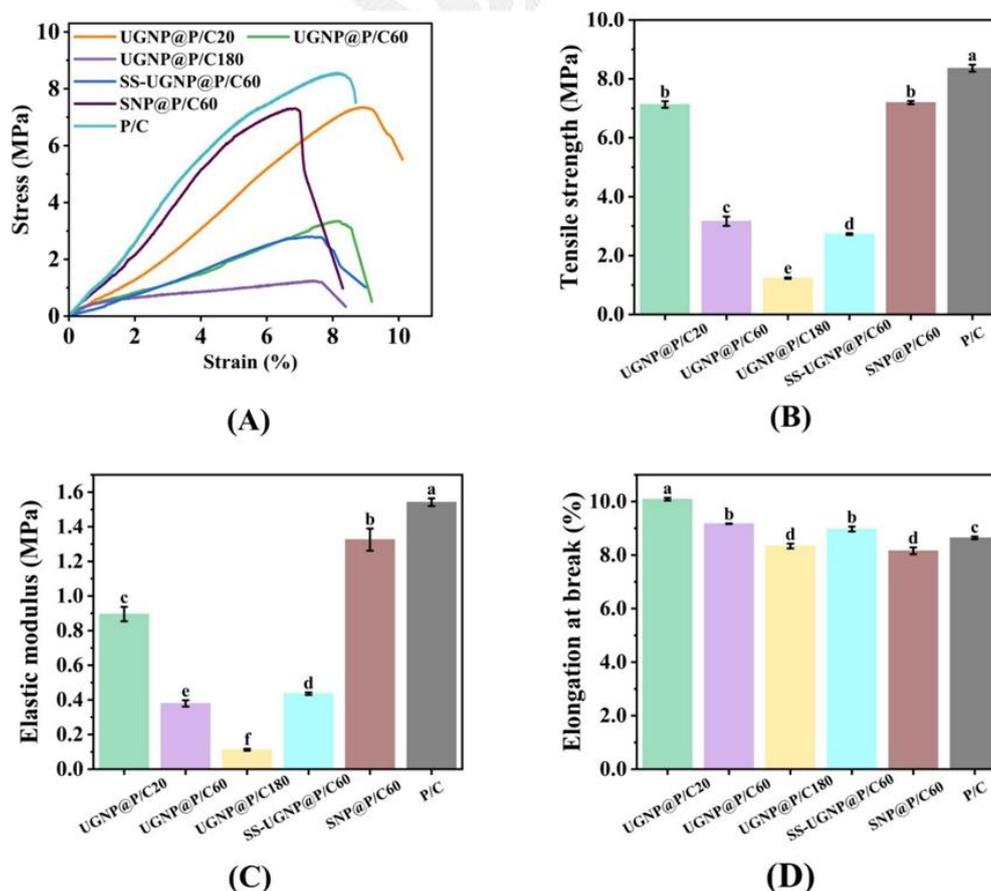


圖 13. 不同 P/C 奈米纖維的機械性質 (A) 應力-應變圖；(B) 抗拉強度；(C) 彈性模量；(D) 斷裂伸長率

從圖 13 中可以觀察到當浸泡時間由 20 分鐘增加至 180 分鐘時，UGNP 奈米纖維的抗拉強度由 7.12 MPa 下降至 1.23 MPa；彈性模數由 0.89 MPa 降至 0.11 MPa，斷裂伸長率則由 10.09% 降至 8.33%。然而，SS-UGNP 奈米纖維在適度的浸泡時間下，斷裂伸長率略有增加。P/C 奈米纖維上負載的 NPs 除了會阻礙聚合物鏈的自由運動外，當負載量增加時亦因為高比表面積和表面能而相互吸引並團聚，使得缺陷或應力集中，纖維產生裂痕。此外，UGNPs 本身也是硬且脆的材料，即使分散良好，也可能因為自身不具備延展性而降低整個複合材料的整體延展性。機械性質會受到分子間作用力的影響。浸泡過程除了在奈米纖維上引入 UGNPs 外，也將水分子與其他溶質分子引入纖維結構中。雖然 UGNPs 的沉積可能透過與高分子鏈之間形成氫鍵來增強相互作用，但水分子則會導致高分子鏈之間的纏繞結構鬆解，使得分子間作用力減弱^{[17][18]}。

5.3 UGNPs@P/C 奈米纖維的抗菌試驗

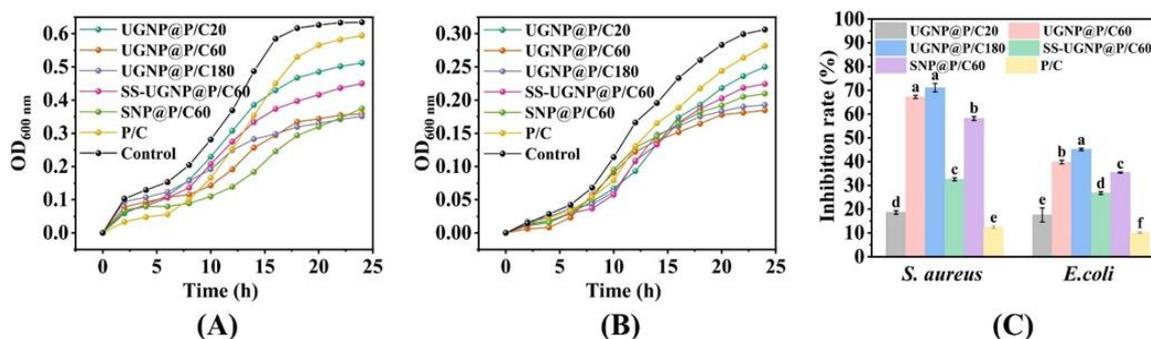


圖 14. 不同 P/C 奈米纖維對細菌生長曲線的抗菌效果 (A) *E. coli* ; (B) *S. aureus* ; (C) 對 *E. coli* 和 *S. aureus* 的抑菌率

圖 14 的 (A) 和 (B) 中顯示 *E. coli* 與 *S. aureus* 細胞經歷了遲滯期、對數生長期與穩定期，當培養時間至大約 20 hr 時吸光度曲線開始逐漸趨平，表示 UGNPs 沉積於 P/C 奈米纖維膜表面可提升其抗菌活性。此外，由 (C) 與表 7 可知 UGNP@P/C-60 對 *S. aureus* 的抑菌率為 67.21%，對 *E. coli* 為 39.78%；而 SS-UGNP@P/C-60 的抗菌率僅為 32.56% (對 *S. aureus*) 與 26.72% (對 *E. coli*)，推測具備較長尖刺結構的 UGNP 所修飾的 P/C 奈米纖維有最佳的抗菌效果。另外，UGNP@P/C-20 對 *S. aureus* 與 *E. coli* 的抑菌率分別為 18.60% 與 17.54%；而 UGNP@P/C-180 則對 *S. aureus* 展現出 71.12% 的抗菌率，對 *E. coli* 為 39.78%，進一步證實奈米纖維中 UGNP 含量越高，其抗菌效果越佳。

6. 本研究的應用潛力與未來發展

近年來，隨著消費者對食品安全與保鮮需求的日益提升，活性包裝 (Active Packaging) 技術應運而生，成為食品保存領域的重要發展方向。傳統包裝僅提供物理阻隔，而活性包裝則能藉由主動與內容物環境互動，延長食品保鮮期。其中，將抗菌劑整合到包裝材料中以抑制微生物生長是活性包裝關鍵的功能之一。在本研究中即

是利用電紡技術製造奈米纖維，並結合 NPs 的抗菌性用以開發出具備抗菌效益的活性包裝材料。

在此篇研究中，金奈米粒子除了應用到常見的 NPs 抗菌機制之外，亦透過設計其表面形貌對細菌造成物理損傷，由實驗結果中可以證實 UGNPs 表面的尖刺結構使抗菌的效益增加。細菌的死亡往往不僅受到一種抗菌機制的影響，或許這種機械式的抗菌原理在自然界中仍有許多案例等待我們發掘，若能將其原理套用，就能擁有更多樣化的抗菌方法。這種協同抗菌作用能夠使得奈米纖維適用於更廣泛的微生物，並可降低細菌產生抗藥性的風險。食品保存方式的進步可以減少食物的浪費和提升食品安全。這種跨學科的整合應用，充分展現了奈米科技在解決實際問題上的巨大潛力。

7. 本篇論文的觀察與學習心得

本篇論文內容是有關食品的活性包裝，在製作包裹多重抗菌效益的外層材料時運用到了靜電紡絲技術，與自己的專題主軸相關因此選擇了此篇研讀。在閱讀的過程中，我發現雖然標題為「海膽狀金奈米粒子/聚(ε-己內酯)/殼聚糖電紡奈米纖維用於抗菌活性包裝」，但內容著重講述 NPs 添加量的差異，以及仿造昆蟲翅膀結構排列的機械式殺菌原理的可行性，並無提及為何在眾多聚合物中選擇 PCL 和 CS 作

為複合材料之一與 UGNPs、PCL 和 CS 之間是否存在其他交互作用力，導致影響奈米纖維的抗菌效益。作者在此篇研究中做了許多關於 UGNPs 和奈米纖維表面的特徵分析及性能分析，但後續並沒有進一步實際應用至食品的包裝中試驗稍嫌可惜。

本篇論文在實驗過程中使用多種儀器與檢測法對材料微觀結構進行分析，其中有許多分析是我不曾接觸過的。為了理解圖表內容，在查找資料的過程中我了解了不同儀器的應用、運作原理以及生成圖表的判讀方法，此外，透過接觸大量的引用文獻，亦能夠在累積與專題相關學識的同時，得知目前科學與生技領域的研發與哪些關鍵字牽引掛勾，這些都有可能成為未來業界關注的焦點。

8. 結論

綜合結果與討論所述，UGNPs 的形貌、尺寸與光學性質受到還原劑種類及 L-Dopa 與 HAuCl_4 之莫耳比的影響。奈米纖維於溶液中的浸泡時間延長，可提高其表面所負載之 UGNP 含量。與未修飾的 P/C 奈米纖維相比，負載 UGNP 的 P/C 奈米纖維對 *S. aureus* 與 *E. coli* 表現出更佳的抗菌活性。雖然目前在食品藥物管理署中尚未記載對於國人攝取金的量值規範，但以美國食品藥物管理局 (FDA) 和歐盟食品

安全局 (EFSA) 為例，機構的指導原則為產品上市前須先進行安全性評估，並提供資料審查。

除了 UGNPs 濃度之外，UGNPs 的之尖刺長度也與抗菌效益成正相關。此外，負載 UGNP 的 P/C 奈米纖維亦展現良好的熱穩定性、機械強度與水蒸氣滲透性，具備成為食品包裝材料的特性與潛力。傳統包裝例如塑膠製品，雖然便宜易取得，但已被證實在使用的期間會不斷釋放塑膠微粒，除了結構難以分解的特性對環境和生態都造成難以忽視的破壞外，也會在人體中積累，進而影響身體的生理機制，罹患阿茲海默症的疾病等，可分解的抗菌活性包裝普及化不止對民生需求和環境友善，也對人們的身體健康有所助益。

9. 參考文獻

- [1] 世界衛生組織(2024, June 7). 食品安全
<https://www.who.int/zh/news-room/fact-sheets/detail/food-safety>
- [2] United Nations. (n.d.). *The 17 goals*. United Nations.
<https://sdgs.un.org/goals>
- [3] Koosha, M., & Mirzadeh, H. (2015). Electrospinning, mechanical properties, and cell behavior study of chitosan/PVA nanofibers. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 103(9), 3081-3093.
- [4] Slavin, Y. N., Asnis, J., Hñfeli, U. O., & Bach, H. (2017). Metal nanoparticles: understanding the mechanisms behind antibacterial activity. *Journal of nanobiotechnology*, 15, 1-20.
- [5] Wang, Y., Yang, Y., Shi, Y., Song, H., & Yu, C. (2020). Antibiotic-free antibacterial strategies enabled by nanomaterials: progress and perspectives. *Advanced Materials*, 32(18), 1904106.
- [6] Linklater, D. P., Baulin, V. A., Le Guével, X., Fleury, J. B., Hanssen,

E., Nguyen, T. H. P., ... & Ivanova, E. P. (2020). Antibacterial action of nanoparticles by lethal stretching of bacterial cell membranes. *Advanced Materials*, 32(52), 2005679.

[7] 林怡欣(2020, April 22). 淺談靜電紡絲技術於藥物傳輸應用. 經濟部產業技術司.

[8] Xia, Y., Xiong, Y., Lim, B., & Skrabalak, S. E. (2009). Shape-controlled synthesis of metal nanocrystals: simple chemistry meets complex physics?. *Angewandte Chemie International Edition*, 48(1), 60-103.

[9] Xia, Y., Gilroy, K. D., Peng, H. C., & Xia, X. (2017). Seed-mediated growth of colloidal metal nanocrystals. *Angewandte Chemie International Edition*, 56(1), 60-95.

[10] Li, Y., Zhai, M., & Xu, H. (2019). Controllable synthesis of sea urchin-like gold nanoparticles and their optical characteristics. *Applied Surface Science*, 498, 143864.

[11] Abdelrazek, E. M., Hezma, A. M., El-Khodary, A., & Elzayat, A. M. (2016). Spectroscopic studies and thermal properties of PCL/PMMA biopolymer blend. *Egyptian Journal of basic and applied sciences*, 3(1), 10-15.

[12] Smith, B. C. (2018). *Infrared spectral interpretation: a systematic approach*. CRC press.

[13] Kalcec, N., Ljulj, A., Božičević, L., Vrčak, V., Marson, D., Pricl, S., ... & Vinković Vrčak, I. (2022). Transformation of L-DOPA and dopamine on the surface of gold nanoparticles: An NMR and computational study. *Inorganic chemistry*, 61(28), 10781-10791.

[14] Abbas, M., Susapto, H. H., & Hauser, C. A. (2022). Synthesis and organization of gold-peptide nanoparticles for catalytic activities. *ACS omega*, 7(2), 2082-2090.

[15] Deniz, A. E., Vural, H. A., Ortaç, B., & Uyar, T. (2011). Gold nanoparticle/polymer nanofibrous composites by laser ablation and electrospinning. *Materials Letters*, 65(19-20), 2941-2943.

[16] Pham, T. T. H., Dien, N. D., & Vu, X. H. (2021). Facile synthesis of silver/gold alloy nanoparticles for ultra-sensitive rhodamine B detection. *RSC advances*, 11(35), 21475-21488.

[17] Ebrahimi, Y., Peighambaroust, S. J., Peighambaroust, S. H., & Karkaj, S. Z. (2019). Development of antibacterial carboxymethyl cellulose-based nanobiocomposite films containing various metallic nanoparticles for food packaging applications. *Journal of Food*

Science, 84(9), 2537-2548.

[18] Jafarzadeh, S., & Jafari, S. M. (2021). Impact of metal nanoparticles on the mechanical, barrier, optical and thermal properties of biodegradable food packaging materials. *Critical reviews in food science and nutrition*, 61(16), 2640-2658.

[19] Qin, Z., Fang, W., Jiang, Q., Li, J., & Zhang, H. (2024). The urchin-like gold nanoparticles/poly(ε-caprolactone)/chitosan electrospun nanofibers for antibacterial active packaging. *International Journal of Biological Macromolecules*, 274, 133287.

