

國立臺灣大學生物資源暨農學院食品科技研究所

碩士論文

Graduate Institute of Food Science and Technology

College of Bioresources and Agriculture

National Taiwan University

Master Thesis



以靜電紡絲技術包埋檸檬烯於 β 環狀糊精及聚乙烯
醇奈米纖維之新穎活性包材開發

Electrospinning Encapsulation of D-limonene into Nanofiber of β -cyclodextrin and
Polyvinyl Alcohol for Developing a Novel Active Packaging Material

蘇昱穎

Yu-Ying Su

指導教授：丁俞文 博士

Advisor : Yu-Wen Ting, Ph.D

中華民國 108 年 7 月

July, 2019



國立臺灣大學碩士學位論文
口試委員會審定書

以靜電紡絲技術包埋檸檬烯於 β -環狀糊精及聚
乙烯醇奈米纖維之新穎活性包材開發
Electrospinning Encapsulation of D-limonene into
Nanofiber of β -cyclodextrin and Polyvinyl Alcohol for
Developing a Novel Active Packaging Material

本論文係蘇昱穎君(R06641021)在國立臺灣大學食品科技研究所所完成之碩士學位論文，於民國 108 年 06 月 24 日承下列考試委員審查通過及口試及格，特此證明

口試委員：

丁俞文 (簽名)
(指導教授)

蔡瑞碧 吳明昌
沈思川 林哲安

系主任、所長

潘敏雄 (簽名)



謝誌

承蒙指導教授 丁俞文博士與吳瑞碧博士以及沈賜川博士在研究所期間悉心指導，不僅在實驗方面提供經費及資源，更給我許多寶貴的建議與方向，讓我學到更多知識及思考的邏輯，課外之餘也舉辦許多實驗室活動和聚餐讓研究生生活多了許多趣味，感謝你們讓我在各方面都有所成長。

感謝台灣大學生命科學院 TechConn 科技共同空間的陳香君老師和莊以君學姊及吳佩穎學姊，感謝你們不厭其煩協助電子顯微鏡的使用與校正。還要感謝台大食品科技研究所的鄭光成老師，出借空間及設備供作實驗使用，沿佐、則宇及岱青在實驗過程中給予許多建議，實驗空檔的閒聊也讓實驗沒那麼索然無味。感謝碩一的冠珍、若涵、郡沛、亦宏、郭凱、峻瑋、紹庭、秉玉，感謝你們共同分擔了實驗室的大小事務，你們帶來的歡樂，讓人在實驗室待到很晚都不想走。感謝文昌、冠汝、茹敏、榕萱、睿揚、培芬、騏襄、建智、士翔等學長姊，碩一有你們的陪伴讓我更快融入實驗室的生活，從你們身上學到許多，也了解我能進步的事情還有很多。特別要感謝肇毅、芙敏、妤柔、芳昀、灼華、紫緣、琬婷，實驗室的事務很多而我們也撐過來了，或許每個人的付出可能有多有少，但對於實驗室各自都有特殊的情感，你們的陪伴讓我這兩年過的多彩多姿。

感謝在茶改場服替代役時期的長官及同事，在生活及人生道理方面的教導，那一年逍遙自在的生活豐富了我的精神層次。感謝高中的鼠們，每年聚餐都讓我有回到高中男宿的錯覺，以後還要繼續扶持彼此。

最後要感謝親愛的家人，你們的鼓勵及支持是我堅強的後盾，這些感謝會銘記於心，未來我會成為你們的後盾。

蘇昱穎 謹誌於
國立台灣大學 食品科技研究所



摘要

抗菌包裝能減緩食品腐敗以延長貨架期及減少食品中毒風險，將奈米技術應用於抗菌包材可提高成品機械強度，並提升單位體積下反應表面積，使活性物質作用效果更迅速。靜電紡絲是一種新興生產奈米纖維之技術，生產程序簡單且為非熱加工，有效提升活性物質之包覆效率，從而增加其適用性。植物合成之精油，因有許多正面功效而被廣泛運用於製藥及食品領域，D-檸檬烯是柑橘精油主成分，具抗菌，抗氧化和抗癌活性，然而，檸檬烯的使用受其本身高度揮發性而受限制，且暴露於空氣後會迅速氧化。因此，運用具減緩物質揮發性及氧化性之 β -環狀糊精(β CD)以改善， β CD 具前述優點是因其可將疏水性化合物包埋到內腔。

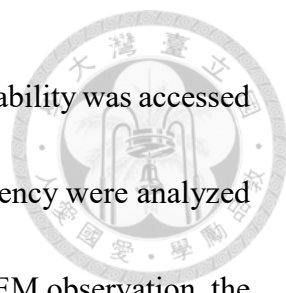
本研究以 β CD 作為包覆檸檬烯的核心材料，聚乙烯醇 (PVA) 用於形成纖維基質。為了生產具有最佳性能的纖維，研究了包括電壓，流速，收集距離在內的操作參數。掃描電子顯微鏡 (SEM) 用於研究形態和直徑。熱重分析 (TGA) 用於檢測熱穩定性。ISO 20743 評估薄膜對大腸桿菌及金黃色葡萄球菌之抗菌能力。X-光繞射儀 (XRD) 用於觀測 β CD 是否為有效包埋活性物質的通道型。最後，使用氣相層析火焰離子化偵檢器 (GC-FID) 分析承載效率。在 SEM 觀察中，優化纖維的表面是光滑且其直徑約 180 nm，這表明大的表面積與體積比。於 TGA 結果，游離檸檬烯於環境溫度下開始釋放並在 160°C 釋放完畢，而固定在 PVA 膜內的檸檬烯/ β CD 複合物則顯示 116°C~180°C 都有檸檬烯質量損失，這表明包埋後檸檬烯熱穩定性顯著增加。XRD 結果確認成品中的 β CD 為有效包埋物質的通道型。檸檬烯承載效率約為 93%。PVA/檸檬烯/ β CD 奈米薄膜對大腸桿菌及金黃色葡萄球菌的抗菌能力為 95.23% 及 97.84%。總結，新開發的 PVA/檸檬烯/ β CD 具有高的承載效率、穩定性及抗菌活性，具有應用於食品包裝和生物醫學領域的潛力。

關鍵字：靜電紡絲、 β 環狀糊精、R- (+) -檸檬烯、聚乙烯醇、抗菌包裝

Abstract



Active packaging used to eliminate food born spoilage has been a promising investigation in the field of food packaging. D-limonene, a main component of citrus essential oil, was reported to have antimicrobial, antioxidant and anticarcinogenic Activity. However, the use of limonene is constrained due to their highly volatile nature and would be rapidly oxidized when exposed to air. Hence, β -cyclodextrin with ability of entrapping hydrophobic compound into its inner cavity was used to improve aqueous solubility and stability of essential oil. Recently, nanotechnology that is capable of improving mechanical strength and exhibiting a larger surface to volume ratio has been applied to upgrade efficacy of active packaging system. Among various approaches to produce nanomaterials, electrospinning is an emerging technique with simple operating process and high encapsulation efficiency could be used to fix substances into fiber mat increasing its applicability. In this work, β -cyclodextrin(β CD) was used as core material to encapsulate limonene. Additionally, 8 wt% polyvinyl alcohol(PVA) was used to form fiber matrix. To produce fiber mat with optimum properties, operation parameter including voltage, flow speed, collection distance was researched. Scanning electron microscopy(SEM) was used to study morphology and diameter. Thermogravimetric analysis(TGA) was used to detect the thermal stability. The crystalline structure of fiber



mat was recorded by X-Ray powder Diffraction(XRD). Antibacterial ability was accessed by ISO 20743 against *E. coli* and *S.aureus*. Finally, the loading efficiency were analyzed using gas chromatography - flame ionization detector(GC-FID). In SEM observation, the surface of the optimized fiber was smooth and its diameter was around 180 nm indicating a large surface area to volume ratio. From the TGA result, it shows release of free-form limonene started at ambient temperature and reached its maximum rate at 160°C, whereas limonene/ β -CD complexes fixed within the PVA membrane show limonene mass lost at 116°C~180°C. This phenomenon indicated a significant increase of limonene stability after being encapsulated. Through XRD result, the present of inclusion between β CD and limonene can be confirmed. The loading efficiency of limonene was around 93%. PVA/limonene/ β CD nanaofibers exhibited 97.84% and 95.23% antibacterial ability against *S.aureus* and *E.coli*. In conclusion, newly developed PVA/ limonene/ β CD with high loading efficiency, antibacterial activity may have great potentials for applications in food packaging and biomedical field.

Key words : electrospinning , β -cyclodextrin , R-(+)-limonene , active packaging , antibacterial food packaging

目 錄

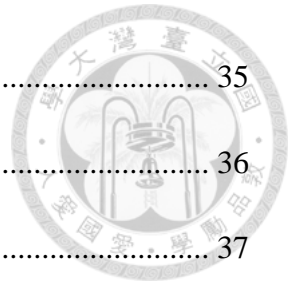


謝誌	I
摘要	II
Abstract.....	III
目 錄	V
圖目錄	VIII
表目錄	X
第一章、前言	1
第二章 文獻回顧	2
2.1 奈米科技	2
2.2 食品包裝	3
2.2.1 包裝目標及趨勢	3
2.2.2 奈米科技於活性包裝應用	4
2.2.3 抑菌食品包材	6
2.3 靜電紡絲	9
2.3.1 靜電紡絲原理及優點	10
2.3.2 靜電紡絲參數	13
2.3.3 靜電紡絲應用	19
2.3.4 聚乙烯醇於靜電紡絲之應用	19
2.3.5 具抗菌性之聚合物於靜電紡絲之應用	20



2.3.6 環狀糊精包埋精油於靜電紡絲之應用	21
2.4 檸檬烯性質	23
2.4.1 檸檬烯之抗癌性	24
2.4.2 檸檬烯之抗菌性	24
第三章、研究目的與實驗架構	27
3.1 研究目的	27
3.2 實驗架構	27
第四章、材料與方法	29
4.1 材料	29
4.2 儀器	30
4.3 實驗方法	31
4.3.1 靜電紡絲溶液設計	31
4.3.2 靜電紡絲操作參數設定	31
4.3.3 靜電紡絲溶液配置	32
4.3.4 電紡溶液之黏度測定	32
4.3.5 電紡溶液之導電度測定	32
4.3.6 靜電紡絲過程	33
4.3.7 電紡絲膜之表徵觀察	33
4.3.8 樣品結晶分析	33
4.3.9 樣品熱重分析	34
4.3.10 檸檬烯承載效率分析	34

4.3.11 靜電紡絲膜抑菌測試.....	35
4.3.12 統計分析.....	36
第五章、結果與討論.....	37
5.1 靜電紡絲溶液設計.....	37
5.2 靜電紡絲操作參數設定.....	38
5.3 樣品結晶結構分析.....	44
5.4 樣品熱重分析.....	46
5.5 樣品承載效率.....	50
5.6 抗菌試驗.....	52
第六章、結論.....	53
第七章、未來展望.....	54
第八章、參考資料.....	55
附錄一.....	i

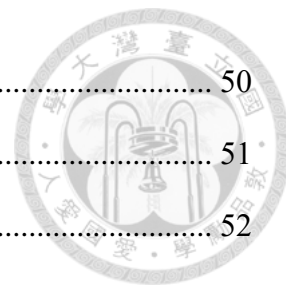


圖目錄



圖一、奈米科技於食品中應用展望	6
圖二、一般實驗室靜電紡絲機台結構	10
圖三、靜電紡絲射流現象	11
圖四、靜電紡絲及靜電噴灑之優點	12
圖五、同軸靜電紡絲機台結構	13
圖六、靜電紡絲參數	14
圖七、黏度低到高之聚環氧乙烷溶液靜電紡絲後以掃描式電子顯微鏡觀測	15
圖八、聚乙烯醇合成過程	20
圖九、環狀糊精化學結構通式	22
圖十、檸檬烯化學結構	23
圖十一、革蘭氏陽性和革蘭氏陰性的細胞壁示意圖	25
圖十二、實驗架構圖	28
圖十三、以不同 PVA 濃度靜電紡絲之掃描式電子顯微鏡觀測圖	37
圖十四、不同電壓下，聚乙烯醇纖維的掃描電子顯微鏡圖及其直徑分布	40
圖十五、不同推進流速下，聚乙烯醇纖維的掃描電子顯微鏡圖及其直徑分布	41
圖十六、不同工作距離下，聚乙烯醇纖維的掃描電子顯微鏡圖及其直徑分布	42
圖十七、最佳參數製作靜電紡絲，其掃描電子顯微鏡圖及其直徑分布	43
圖十八、各樣品 X 光繞射圖譜	45
圖十九、各樣品之熱重分析結果	47
圖二十、 β CD 之熱重分析圖	48
圖二十一、檸檬烯之熱重分析圖	48
圖二十二、PVA 奈米薄膜之熱重分析圖	49
圖二十三、PVA/limonene 奈米薄膜之熱重分析圖	49

圖二十四、PVA/limonene/ β CD 奈米薄膜之熱重分析圖	50
圖二十五、樣品承載效率分析	51
圖二十六、PVA/ limonene/ β CD 奈米薄膜抗菌試驗結果.....	52





表目錄

表一、 β 環狀糊精的重要特性.....	22
表二、R-(+)-檸檬烯對致病原性細菌的抑菌力.....	26
表三、R-(+)-檸檬烯對真菌之抑菌力.....	26
表四、不同濃度聚乙烯醇溶液之黏度及導電度.....	38



第一章、前言

食品產業的發展在多個世紀以來各領域優秀科學家的戮力下突飛猛進，三個世紀前鉛的價格比銀還貴，一個世紀前現在隨手可得便宜塑膠包裝還尚未被研發，現今大型食品工廠需要工廠產線的機械設計、管理制度、配方調配，從許多例子中可以知道，食品領域的發展需要其他領域的進步作為輔助才能完成。

奈米科技由材料相關研究開始，發展至今食品界也踏入這個領域，雖然目前應用上有無法量產的困難以及成本偏高的問題，但是相信隨著越來越多的研究人員投入心力研發，在未來會給人類的生活文化帶來巨大的改變。

本研究嘗試將奈米科技引入食品包裝的開發，傳統食品包裝的功能著重於保護、溝通、盛裝及便利性，但隨著食安議題被社會重視，廠商及科學家注意到許多可以改進的項目，因此提高包裝功能性的活性包裝及增加溝通性及功能性的智能包裝應運而生⁵⁵。奈米科技製成的成品由於奈米結構堆疊緊密，因此可以增強抗拉強度、阻隔性及單位體積下接觸表面積，相當適合應用於增加食品包裝功能性。靜電紡絲是製造奈米纖維的其中一種方法，能承載活性物質，製成產品程序簡易可一步得到成品是它最大的優點，加工方式屬於非熱加工。本研究透過靜電紡絲製成含奈米級纖維之抗菌纖維，達到抑制雜菌生長的效果，具有應用於食品包裝和生物醫學領域的潛力。

第二章 文獻回顧



2.1 奈米科技

人體頭髮直徑約為 50 微米，意味著有 1 單位奈米的 5000 倍之多，當以 1 立方奈米與原子做比較其體積也大約 20 倍於原子，如果用日常生活上的物體作比喻，在比例上 1 立方奈米相對於籃球，就如同籃球相比於地球。而在詞彙上美國國家科學基金會⁶³對奈米科學/奈米工程做了幾項定義，(a) 尺寸上至少需介於 1 至 100 奈米 (b) 掌握分子之物理性值及化學性質並以此設計實驗方法 (c) 使用的奈米技術能將分子結合形成大結構。

Mansoori⁴⁶指出 (a) 奈米尺度的變化會影響到電子的量子力學特性，例如通過奈米級材料的設計，在不改變化學成分的情況下能改變物質在微觀及宏觀下的特性，如熔化溫度 (b) 生物體是由奈米規格的物質組成 (c) 具有高的表面積與體積比，也就是單位體積下反應表面積大 (d) 由奈米組成的宏觀系統相對於微米級組成者會有更高的密度，如果能有效控制並妥善、熟悉運用其在物理、化學、生物性的特性，在生醫領域將可以成為複合材料、反應系統及藥物運輸的理想製成方法，在其他領域也會有不錯發揮。



2.2 食品包裝

食品包裝的主要功用是在食物經包裝之後，能減低環境對食品之影響，以保護食品、延緩食品劣變³⁶、減少外在環境所造成的損害⁸，其內容物能免受汙染且可有效減少腐敗的發生。

2.2.1 包裝目標及趨勢

食品包裝目標是在合理成本考量下，確保食品安全且能達成工業化大量生產並儘量減少對環境的影響⁴⁸。許多因子會對食品品質造成影響，內在因子包含水活性 (water activity)、氧化還原電位 (oxidation-reduction potential)、食品組成分 (food components) 及酸鹼值 (pH value)，外在因子包含光線 (light)、相對濕度 (relative humidity)、氣體組成 (gas composition)、溫度 (temperature) 等因素。所作之標式能為消費者提供產品之成分及營養訊息²⁹，再經由統一規格的包裝標示方便人們了解。在運輸和儲存貨物方面，包裝也使產品大規模運送及銷售成為可行的方法⁶²。

由於國際貿易興盛使的當今食品市場競爭極為激烈，食品包裝的功能也不再只是基本的保護 (protection)、溝通 (communication)、盛裝 (containment) 及便利性 (convenience)²⁶，在食品方面有哪些發展能使人類生活品質較過往提高是值得的廠商、科學家及消費者思考的議題。食品品質控制在全球各地一直是個極重要的一環，因為它與提高生活質量息息相關⁶⁵，對於消費者而言，優良的品質控制可以減少因汙染而造成的食品中毒風險，對於廠商而言，所製作的成品能有更好的化學穩定性，並減少易腐敗食品受汙染而滋生微生物的機會⁷⁸。為此開始研發能延長保存期，改善或維持包裝食品狀況的材料和製品的活性包裝 (active packaging)，將包裝的角色從被動轉為主動，係食品、包裝與環境以積極主動方式作用以達到延長

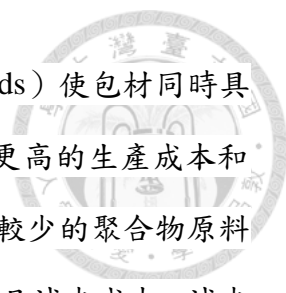
保存期限、提高食品安全性和保持品質之系統⁵⁵。可對食品周圍環境釋放化學物質，如抗氧化劑、抑菌劑，或吸收目標物質以達到效果^{22,61}，此外，能監控包裝食品狀況或存放環境的材料和物品，並向整個食品供品鍊的使用者（例如，製造商，零售商和消費者）傳遞各式訊息的智能包裝（intelligent packaging）都是重點研究的項目^{22,84}。

所謂的智慧包裝（smart packaging）正是結合兩者的協同作用下所生之產品，即具備活性包裝主動對某些食品特性進行改善並配合智能包裝的檢查、監控並分享訊息，卓越的功能使近期許多相關研究持續累積，因此也被預期為在未來食品包裝會因此有重大創新⁷⁶。

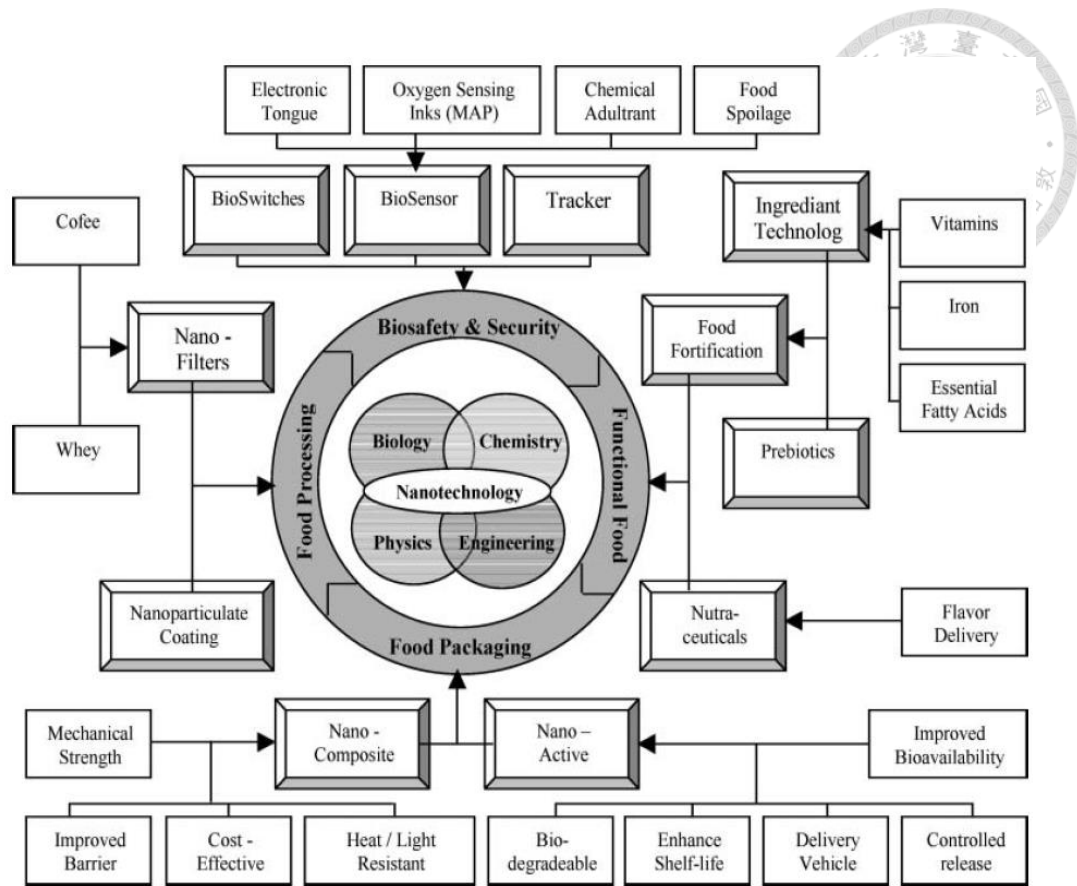
Mahalik and Nambiar⁴⁵ 等人對食品工業的研究做整理，特別指出奈米複合材料具改善機械強度、氧化穩定性和阻隔性的特性，對於提升包裝機械強度及減少氣體滲入有極佳效果，另外粒徑越小的系統裡更能展現高的表面積與體積比，這意味著小量體積下就能與受體有高的接觸面積，因此能讓整個系統反應更為迅速⁸²。而上述這些特性應用在活性包裝（active packaging）即智能包裝（intelligent packaging）時，都能較傳統材料更加強化其功能，這也讓食品包裝成為奈米科學最早對食品工業產生影響的原因³³

2.2.2 奈米科技於活性包裝應用

傳統活性包裝研究範圍極廣，例如：除氧劑中氧化亞鐵是常被用於吸附氧氣，且在肉類應用上有不錯應用，其他應用包含吸濕劑、二氧化碳清除劑和排放劑、乙烯吸收劑、香味吸收/釋放系統及抗菌薄膜等⁵⁴，但因為沒有已知的材料能表現出所有所需的機械和阻隔性能，因此實際工業應用上，會使用複合多層膜（complex multilayer films），例如 EVOH 是具高氧氣阻隔的材料，但對水親合性高的材料，所以欲內部產品能在溼度泛圍很大的前提下儲存，需要夾在兩層疏水性聚合物如



聚乙烯 (polyethylene) 之間^{85, 88}，或混合聚合物 (polymer blends) 使包材同時具有所需的氣氣體阻隔和機械性能，但缺點是這兩種方法會需要更高的生產成本和材料成本，並且需要額外使用添加劑及黏合劑。而奈米材料能在較少的聚合物原料下，得到相同甚至更好的機械性質及效能³¹，達到使用較少原料且減少成本、減少廢棄物體積⁶⁶。奈米技術在食品包裝應用上實例有，奈米黏土蒙脫石 (Montmorillonite) 置入聚乙烯亞胺 (Polyethylenimine, PEI) 所製成的食品包裝研究裡⁶⁰，對氧氣阻隔率達到將近 100%，這是因為黏土彼此間能形成多種緊密結構，可增加包裝對氣體阻隔性，其他研究也指出奈米黏土能有效增加熱穩定性及機械性能^{22, 61, 78}。此外研究將惰性奈米級填料如粘土 (clay) 和矽酸鹽奈米片 (silicate nanoplatelets) 填入生物可分解材料聚乳酸 (poly lactic acid) 中，較未添加者有更快生物分解速率⁶⁹，這意味著能對環境造成的汙染可以減少，在抗菌性包裝研究中，銀奈米粒子能使包裝具優異的抗菌性即抗黴菌特性³⁸，其原因可能為奈米銀黏附於細胞表面，降解脂多醣並在膜上形成坑洞⁷；或穿透細胞膜並影響細胞基因⁶⁴，相關奈米科技於食品領域的應用請見圖一³³。



圖一、奈米科技於食品中應用展望³³。

Figure 1. Prospect of applying nanotechnology in food³³.

2.2.3 抑菌食品包材


開發抑菌食品包材的目的是為了抑制微生物生長以提升食品貨架期及品質，減少造成食品中毒的風險。抗菌包裝由三個部分組成，分別為包裝材料、抗菌劑及食品本身。根據使用的材料不同可將抗菌包裝體系分為五類，(a) 抗菌劑具揮發性者被封入密封小袋中，並置入食物包裝內透過揮發使其擴散到頂空，以此產生殺菌效果 (b) 將抗菌劑塗層於包裝材料上或直接塗覆於食物上來做抗菌 (c) 將抗菌劑以離子鍵或共架鍵形式固定於包材 (d) 將揮發性或非揮發性抗菌劑加入聚合物中並製成包材，依靠抗菌劑在包材內釋放達到效果 (e) 使用本身具抗菌功能的聚合物作為材料²。每個品種微生物會因抗菌劑本身結構和化學性而有不同效果，但

通則是抗菌劑濃度越高，抗菌性也越高。狀態如固體顆粒、氣體、粉末、乳液的不同，會影響到接觸面積及分布均勻性等因素，並進一步直接影響到抗菌性能。製作奈米級或微米級的抗菌包裝具有許多優點，在應用上能較直徑較大的相同材料具有更高表面積而提高了抗菌性，此外，奈米級的纖維透過彼此堆疊緊密增加了機械性能、氣體阻隔性^{28,37}。

隨著具抑菌性的材料之研究及產品增加，各國對此也制定法規規範。常見之抑菌材料由型態可粗分為三大類-硬材、紡織品及液體。硬材涵蓋玻璃、金屬、陶瓷、塑膠（片）、粒狀檢體、木材製品、玻璃製品等，而紡織品部分包含紡織品、柔濕巾、濕紙巾，近年來台灣也將奈米抗菌紡織品、奈米銀抗菌功能試驗納入規範，液體部分則如殺菌劑。國際上許多組織針對抗菌功能的做出規範，其中最具影響性的組織有 ISO（International Organization for Standardization）、JISZ（Japanese Industrial Standards Committee）、AATCC（American Association of Textile Chemists and Colorists）、ASTM（American Society for Testing and Materials），各國對於抗菌功能的規定及實驗流程常參考這四個組織的規範。

眾多的材料使的抗菌功能試驗的方法繁多，此節著重於探討紡織品的適用方法選擇。對於抗菌功能試驗分為定性試驗及定量試驗，而所使用之菌種通常都有規範，但某些時候會因抗菌膜作用的目標不同，而選擇其他菌種。定性試驗較常用的有 AATCC 147, ISO 20645 及 JIS L 1902 –Halo method，而定量試驗則為 AATCC 100 及 ISO 20743⁵⁹。

以下簡述定性流程，AATCC 147 為將接菌的接菌環在培養基上劃五條直線，此間不重新接菌，並在其中中心點位置中附上欲試驗之膜，培養 18~24 小時後會出現五條菌數不同的直線，並觀測膜周圍的抑菌效果，AATCC 147 的實驗方法也因可觀測對不同菌量之抗菌效果，所以為半定性、半定量方法。ISO 20645 則是兩片培養基以培養基那面夾住試驗膜，下層 10±0.1 mL 的營養培養基而上層具有 5±0.1 mL 的營養培養基，兩片培養基都含 6.7×10⁵/mL 的細菌，培養 18~24 小時



觀測抑菌圈，JIS L 1902 則是置抗菌膜在固化含菌培養基上方，培養 18~24 小時觀測抑菌圈。三個方法比較後，在一般具擴散性抗菌能力的膜之試驗皆無差別，但在不具擴散性抗菌能力的抗菌膜試驗裡，ISO 20645 試驗設計是將膜夾在兩片培養基之中因此無法觀測^{23, 59}。

而定量部分，兩個方法都是將菌液以定量滴於膜上，並透過膜之吸水力作吸附，主要差別是在 AATCC 147 膜的使用量是以面積計算，而 JIS L 1902 則是以重量計算。



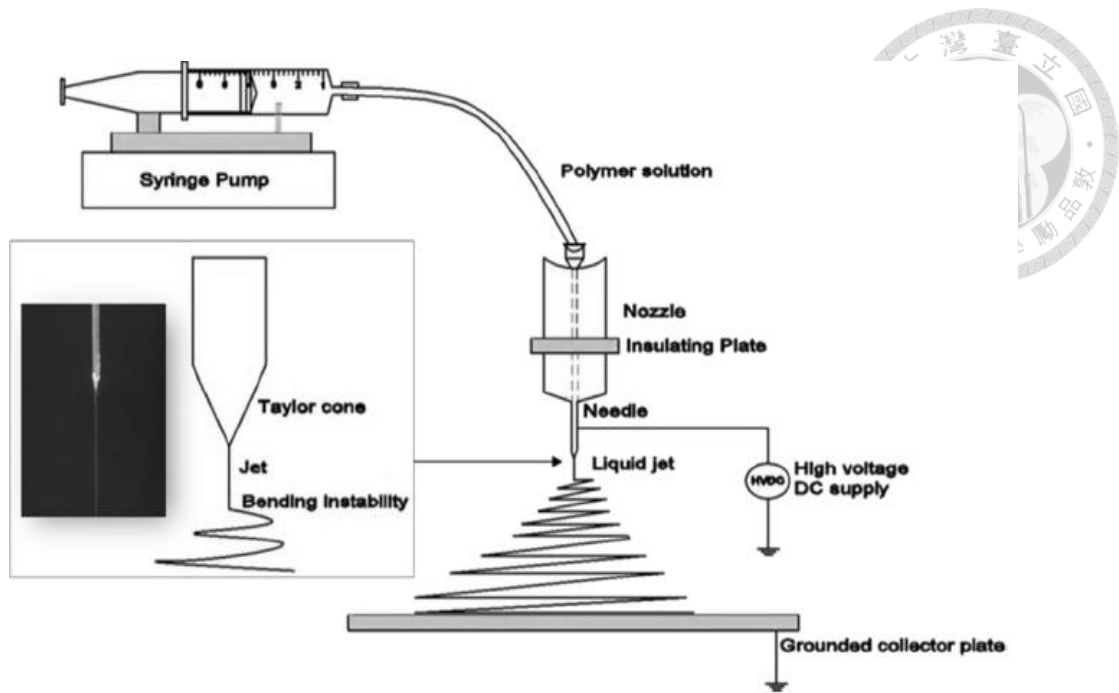
2.3 靜電紡絲

靜電紡絲 (electrospinning) 是屬於電流體加工過程, 使用的溶液由高分子組成, 高分子為組成大分子的小分子重複片段數量大於 1000-2000 時, 其本身性質會獨立於單分子外, 一般定義是分子之分子量大於 20000 時被稱為高分子²⁰。高分子溶液 (polymer solution)、高分子熔融體 (polymer melts)⁵⁰ 或含乳液 (emulsion)⁸³ 之高分子溶液在高壓靜電場作用後產生奈米級顆粒或纖維。

靜電紡絲儀器由四個主要因子構成如圖二⁴。

- (a) 定量推送裝置組 (feeding pump) 由裝液體之針筒及推送裝置。
- (b) 鈍頭的不銹鋼針或毛細管柱 (needle or capillary)。
- (c) 高電壓供應器 (high voltage supply) 使用 1-30kV 直流或交流電。
- (d) 收集系統 (grounded collector) 裝有接地線, 功用為收集產物⁴。

此外, 為確保製成進行時的靜電場、環境參數等影響減少, 所以需要適當隔離外在環境, 於此研究中使用以壓克力隔板製成的櫃子來減低外界環境的干擾。



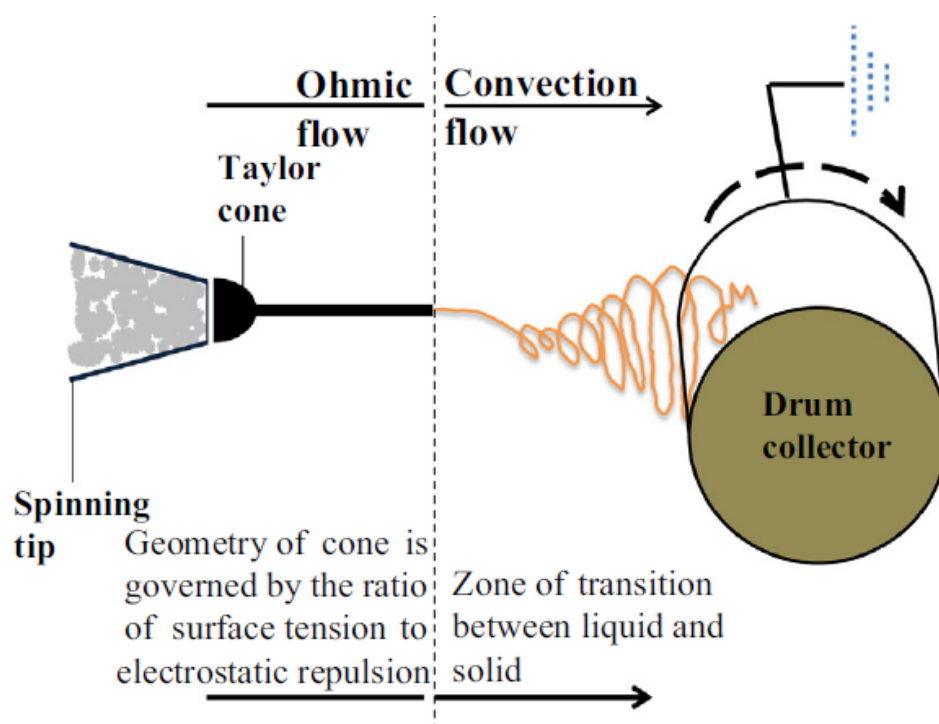
圖二、一般實驗室靜電紡絲機台結構⁴。

Figure 2. General structure of electrospinning machine in laboratory⁴.

2.3.1 靜電紡絲原理及優點

於靜電紡絲製程示意圖如圖三²⁴，配置好的高分子溶液經由推送幫浦以固定速率推送至針頭，針頭部分在施加高壓電場下，本身具有導電性的溶液因靜電感應而帶有庫倫靜電力，隨著施加的電場上升，彼此帶高分子溶液的靜電斥力也隨之上升，同性電荷的推力使的同性電荷集中於液珠表面，隨著累積的電荷量上升會使的表面斥力變大，並傾向將其分散至帶電場最小的地方(於此指有接地線的收集板)，這使針頭表面的液珠由正常只有表面張力狀態的半球體漸漸變成半圓錐體(泰勒錐)，最後當靜電斥力達到可抵銷溶液表面張力的臨界點時，帶電射流(jet)將從泰勒錐中筆直彈出，值得注意的是由尖端噴出之聚合物溶液並非單純做直線運動，一開始射流溶液受歐姆力(ohmic flow)方向影響，移動型式即同電流由高電壓(受高電壓之針頭)往低電壓(收集板)的直線移動，而形成的細絲因溶劑的揮發加上細絲狀使垂直於歐姆力方向同性電荷的距離變近，使的此方向的靜電斥力變大，帶電分子更傾向向外側移動，最終溶液的靜電斥力使射流由直線變成鞭甩

(whipping) 運動，使纖維拉長、直徑下降，並伴隨更多溶劑蒸發，最後如若溶劑完全蒸發固化，所形成的纖維通常為平滑狀，如否則溶劑可能影響周圍纖維，使成品在顯微鏡觀測下會有彼此黏著、暈開的情形，通常最後附於接收版上纖維直徑通常都可為微米或奈米級纖維^{4,41}。射流之所以在初期的直線運動及之後的鞭甩過程中都能保持穩定，係因高分子溶液彼此分子糾纏形成的黏彈力，使的整個過程都能保持穩定而不斷裂行成纖維形式，此為靜電紡絲，如若彼此分子間糾纏力不足以延展，便會在過程中斷裂，形成顆粒型式，即為靜電噴灑^{6,41}。

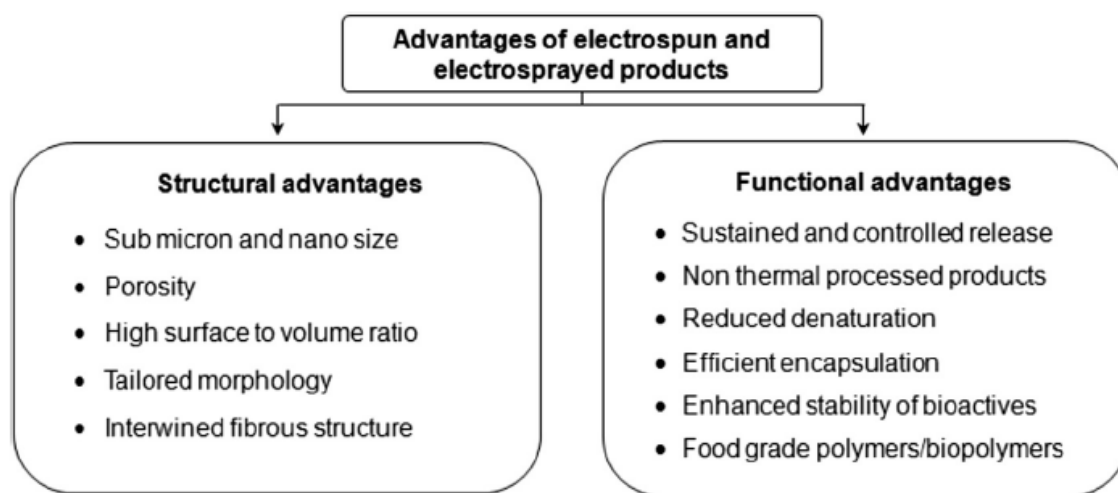


圖三、靜電紡絲射流現象²⁴。

Figure 3. Phenomenon of electrospinning jet²⁴.

靜電紡絲在製程方法以及得到的產品都具有優點，相對於傳統的噴霧技術需要專門處理奈米粒產品的機具，乳化技術產生的產品需透過乾燥之後才能取得成品，靜電紡絲所生成之微米級或奈米級纖維的過程屬於非熱加工且只要一步得到成品，在生成得產品特性上,其生成纖維本身及纖維間具高孔隙率、表面積對體積比大及連續性，這可以加速纖維於目標位置的反應速率，此外其適用的系統範圍也

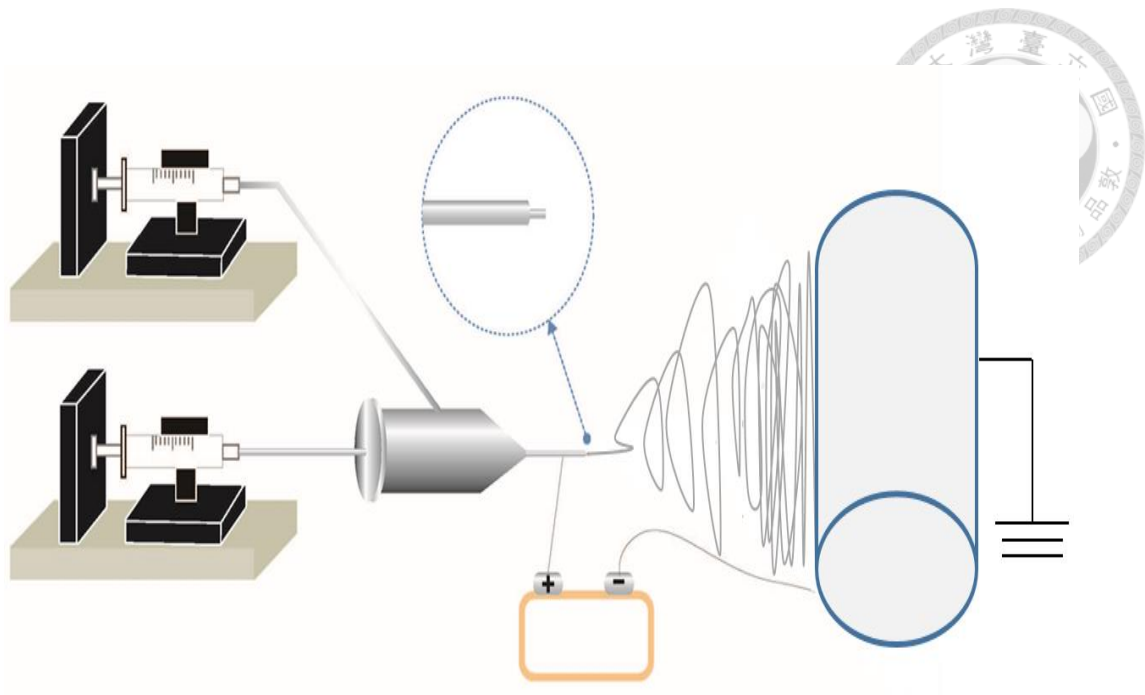
可由溶劑及溶質的極性去做搭配，親水性高分子可溶於水或具極性之有機溶劑，反之，疏水性分子的應用也類似，能有效包埋活性物質並減少變性、延長儲存時間並提升其穩定性，在穿透性跟物理抗力方面，較直徑較大且使用相同原料製成的纖維有更高的效能，優點整理如圖四⁴。



圖四、靜電紡絲及靜電噴灑之優點⁴。

Figure 4. Advantages of electrospun and electrosprayed products⁴.

而相對於單針，同軸靜電紡絲使用同軸針，並有兩個轉接套組，可將兩種溶液分別流通於內針及外針，藉由外針溶液帶動內針溶液形成具芯材及壁材之雙層膜⁸⁹，提供更佳的包埋釋放控制性並增加利用性³⁵，結構如圖五。



圖五、同軸靜電紡絲機台結構。

Figure 5. Structure of Coaxial electrospinning machine.

2.3.2 靜電紡絲參數

以靜電紡絲製作纖維時須考量到許多因素，而總括來說可以分成三類：溶液參數（solution parameter）、電紡設定參數（electrospinning parameter）、環境參數（environmental parameter）。

溶液參數（solution parameter）部分包含溶質性質、溶劑揮發性、溶液電導度及溶液黏度，電紡設定參數（process parameter）包含電壓、針頭直徑、流速及工作距離，環境參數（ambient parameter）包含溫度及濕度²⁴，整理如圖六。適當溶液濃度或黏度及導電度，電紡儀器設定參數及環境參數都在適當範圍內，才能使靜電紡絲過程穩定，而不會產生不良情形如針頭表面溶液固化導致塞針、靜電斥力不足以突破表面張力而使液滴受重力影響而滴落、鞭甩過程纖維斷裂形成顆粒、溶液揮發未完全的帶珠狀纖維或纖維溶解並暈開等情型，不同條件可能會得到不同結果，因此了解每一參數對於靜電紡絲所帶來之影響是必須的。



圖六、靜電紡絲參數。

Figure 6. Parameters of electrospinning.

2.3.2.1 溶液參數

在靜電紡絲系統中溶液系統的影響舉足輕重，由高分子溶質、溶劑組成，影響的因子可分開分析，高分子溶質於溶液中因彼此分子間及分子內的作用力產生黏度，因此不同高分子分子量會有不同黏度，不同高分子會有不同特性，一般靜電紡絲時須考量高分子之分子量及特性決定使用配方，而溶劑部分之蒸氣壓及極性影響靜電紡絲過程的溶劑揮發量以及溶質溶解性，此外形成的溶液由溶質及溶劑的導電性共同決定，導電性高低攸關使用的臨界電壓高低以及能否成絲。

(a) 溶劑揮發性

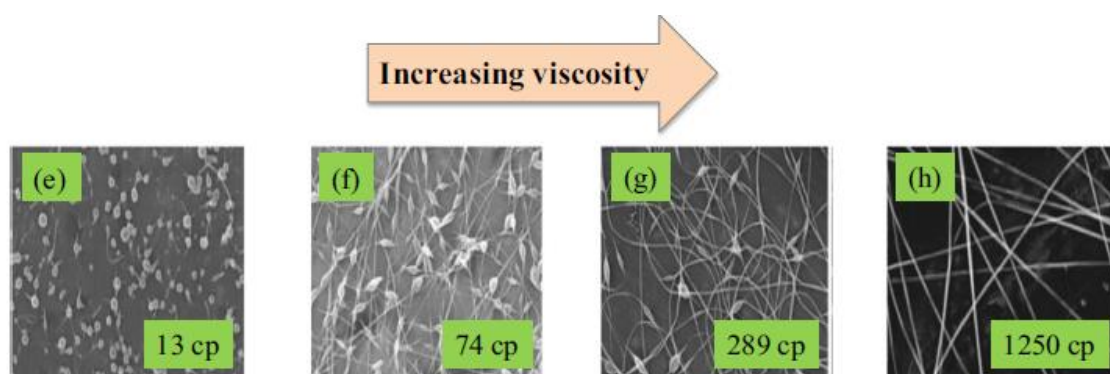
溶劑必須要能溶解高分子，此外蒸氣壓跟沸點高低與揮發性有關，選用的溶劑沸點適中，就可以在飛行過程中適量揮發並於接收版上凝固，但如果選用的溶劑沸點過低，就易因揮發過快，射流來不及拉伸就固化形成纖維容易於紡嘴堵塞⁷⁰，且因射流拉伸時間縮短讓纖維直徑較大，而沸點過高會使揮發量太小而無法固化，導致串珠狀的纖維產生³⁹。



溶劑的揮發也會影響到纖維樣貌，由纖維內部揮發的溶劑分子穿過外部後，會使纖維表面產生孔洞，如果使用混合溶劑的沸點不同揮發情況也不同，可以藉此調控纖維孔隙型態及比表面積⁶⁸。

(b) 溶質性質

高分子會彼此糾纏，除非所含支鏈數量高否則通常分子量提高會糾纏更緊密，這個現象在溶液中會產生黏性的特性。在靜電紡絲製程裡射流拉伸要形成纖維，需建立在分子間有足夠的交互作用力來維持射流⁴⁹，因此有高分子量之高分子相對比低分子量者具有更高糾纏特性。用分子量及重量百分比去表示溶液時，如果再加上所測的溶液黏度會讓整體指標明確，可適用分子量範圍能提升。因此在靜電紡絲時，先找到可紡絲的最低黏度是很重要的¹⁴，確保分子糾纏足夠不在過程中斷裂，如果在過程中分子間鬆脫可能會產生串珠型態 (beaded morphology) 的纖維甚至直接以顆粒形式呈現⁵⁸。如圖七¹⁸所示不同黏度得到不同的結構。即使找到最低可靜電紡絲黏度也不代表沒有上限黏度，黏度過高除了在配置溶液過程中會有溶質難以融解及攪拌的問題，在靜電紡絲過程中也會因溶劑含量相對少，在射流拉伸過程前段及揮發完畢，得到的纖維因為在鞭甩運動只進行短時間拉伸後及固化，使的直徑會較粗，而在鞭甩運動前固化的可透過肉眼觀察到明顯的粗纖維絲，此情況持續下去可能會導致針嘴堵塞²⁵。



圖七、黏度低到高之聚環氧乙烷溶液靜電紡絲後以掃描式電子顯微鏡觀測¹⁸。

Figure 7. SEM images of the electrospun nanofibers obtained from solutions of poly(ethylene oxide) at different viscosity¹⁸.



(c) 溶液電導率

溶液電導率表示電流在各種介質中傳輸能力強弱的一種測量值，溶液電導率高低跟其所內含物是否有含內部電子分布不平衡而解離之電解質及鹽類含量有關。靜電紡絲溶液內部的靜電斥力由電導率及施加電壓有關，當電導率高時代表施加於液體以突破表面張力的電壓不用太高，即臨界電壓降低。電導率過低會使的液滴表面電荷不多，臨界電壓須提高才能靜電紡絲，甚至會因靜電斥力不足以突破表面張力行成泰勒錐而無法電紡，電導率過高雖然代表液滴表面帶電量大，但同樣會讓液滴表面的切線電位差減小，而使靜電斥力反而變小，反而也突破不了表面張力形成泰勒錐²⁴。在適量範圍內提升電導率，可以使鞭甩運動更為劇烈，進而使收集板上的纖維直徑下降⁷¹。最直接提升電導率方法就是加入鹽類電解質，可增加導電率並讓表面電荷密度上升，最後提升靜電斥力²⁴。

(d) 溶液表面張力

表面張力是因液體分子內聚以減小每單位體積的表面積的特性，因此在高分子溶劑系統中，溶劑主要決定表面張力之大小，黏度高時高分子佔整體溶液體積也大，使的溶劑可均勻分散在高分子間，而黏度低時溶劑分子相對含量較多使表面張力較大。液體的表面張力除了跟泰勒錐形狀有關，也跟某些參數收集之纖維帶有串珠狀結構及靜電噴灑所生之顆粒有關，當收集板上纖維含有的溶劑揮發不全，彼此會內聚形成珠狀，而靜電噴灑的顆粒主要是因為高分子間糾纏鬆脫，溶劑的內聚使其以顆粒狀形式存在，因此要得到平滑纖維的條件之一即是降低表面張力，方法是透過調配有一定黏度且溶劑能均勻分散於溶質間之溶液。

2.3.2.2 操作參數

靜電紡絲製程中可以透過外部的參數有工作電壓、流速、工作距離、紡嘴內部

直徑，本研究使用固定紡嘴直徑，主要調節其他三項參數以得到目標產物，以下僅討論工作電壓、流速、工作距離之影響。



(a)電壓

一般靜電紡絲設備施高電壓於金屬針頭處，藉不斷提高電壓致靜電斥力突破表面張力形成泰勒錐，因此會有一個臨界電壓值，而這個數值會隨使用的聚合物不同而有所變化，而要維持溶液射流穩定的前提下，使儀器設定的電壓有最高使用的臨界值，而臨界值也是隨聚合物而有不同⁴⁰。在此範圍中隨著電壓上升，纖維直徑會因此下降，這是因為電壓上升使射流中靜電斥力變大，加強的纖維的延伸因此讓直徑變小，但當超過臨界電壓上限時可能會有多重射流產生，且會使同泰勒錐體積縮小且射流飛行速率變快而導致溶劑揮發不多，使的整體纖維直徑上升且有串珠結構²⁴。

(b)工作距離

工作距離描述收集板跟被施加電壓的針頭距離，收集板因為具有接地線所以跟電壓源的電位差會較同距離沒加裝接地線的空間大，所以可以收集較多纖維。工作距離太近，溶劑來不及完全揮發，產生串珠結構或者彼此沾黏連結，適當距離可使溶劑完全揮發得平滑纖維³，工作距離過長可能會使纖維沉積到其他比收集板更近的部件上。

(c)流速

流速是幫浦推送溶液的速率，因為電壓高會使的射流速率上升，所以流速需和使用的電壓互相調整。推送流速低於射流會使泰勒錐不穩定，在沒形成新的泰勒錐之前即於針頭產生射流，這個現象會使所收集到的纖維直徑分布範圍變大⁸⁷。適當推送流速是達到平滑纖維的條件之一，當流速過量時，除了會使溶劑不易全部揮發，



造成串珠狀纖維且直徑變大，另外可能造成纖維直徑變大原因是纖維攜帶的溶劑量變多使表面的電荷密度變小，在飛行中間射流因斥力變小而融合導致收集到的直徑上升³⁴。

2.3.2.3 環境參數

許多環境因素會影響靜電紡絲，包含溫度、濕度、氣流擾動、環境氣體，本研究使用的電紡機器置於壓克力板製作的櫃內，一般情形下環境氣體及氣流擾動的改變都不大，因此對於靜電紡絲的影響主要是溫度及濕度。

(a) 溫度

環境溫度高低，會讓溶劑的揮發速率不同，溫度過高會使溶劑揮發過快而提前固化，此外溶液溫度升高會導致表面張力及黏度下降²⁴，因此通常提升溫度可以減少纖維直徑¹⁰。

(b) 濕度

濕度是以空氣中的水蒸氣含量作為指標。溶液由溶質及溶劑組成，而濕度對兩者都有各自的影響，溶劑方面，濕度含量高低攸關溶劑揮發速率，當外在濕度高時使的射流過程溶劑較難揮發，會有串珠狀纖維產生，但對於直徑的影響，會使射流的溶劑更易揮發，在實驗中觀測到降低濕度可以降低纖維直徑的情況³⁰，但也有直徑濕度越高直徑越小的研究⁵⁷，因此認為濕度影響直徑關係尚待釐清。溶質部分，有親水性高分子及是疏水性高分子，Huang, et al.³⁰以親水性的聚丙烯腈 (poly acrylonitrile) 和疏水性的聚磺 (poly sulfone) 在不同濕度下靜電紡絲，並研究濕度對於其纖維性質的影響，親水性分子的纖維表面型態因溼度上升而變粗糙，這是因為隨著溶劑蒸發伴隨的熱量使部分水氣冷凝形成小液滴，之後纖維固化伴隨液滴



再蒸發造成表面粗糙，而疏水性高分子於高濕度下時由於極性不同使的射流不能穩定連續，產生的纖維較低濕度時纖維直徑分布更不均，且表面因水分子冷凝內聚後再蒸發，所留下的孔洞較大。

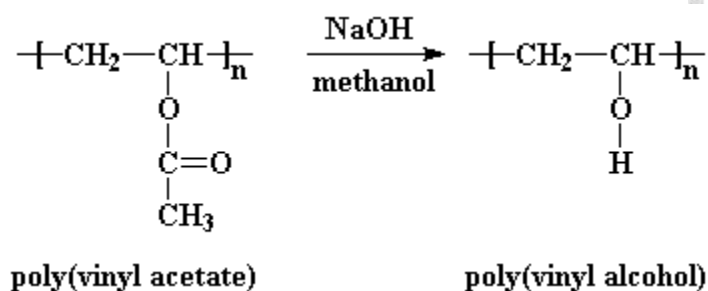
2.3.3 靜電紡絲應用

靜電紡絲具高包埋效率 (encapsulation efficiency)，且可控制釋放所封裝的物質，不錯的耐熱性、儲存性及耐光照等優點，用以包埋活性物質在存放過程可避免降解並提升穩定性。近幾年有關靜電紡絲的研究數量持續上升，而與研究領域包含包埋活性成分、酵素固定化、食品包材、組織工程、傷口敷料等⁴。

2.3.4 聚乙烯醇於靜電紡絲之應用

聚乙烯醇無法由單體乙烯醇製備，而是由聚醋酸乙烯酯 (polyvinyl acetate) 之支鏈部分醇解而製備，其反應式如圖八²⁰，根據皂化程度的不同會性質上會有些許不同，在部分醇解之組別由於同時具有親水基及疏水基所以具有乳化劑的效果，依據文獻指出 75~80%醇解之聚乙烯醇的比完全醇解的 PVA 具有更強乳化力⁵。聚乙烯醇之親水性高，易形成結晶結構。聚乙烯醇有許多優點使其被廣泛使用，如優秀的化學抗性、抗拉伸力強及耐磨性佳等，而透過增加分子量、增加水解程度及改變化學結構規則性可強化其性能，此外聚乙烯醇之生物相容性讓其在活體系統中不會有負面影響¹²，因此在紡織工業、藥物運送系統都有被使用。聚乙烯醇於靜電紡絲研究中，由於其易成絲又可以適當包埋而被使用，在濾膜研究中使用聚乙烯醇於電紡的成品使用聚乙烯醇/聚丙烯腈製作的靜電紡絲雙層膜具於高穿透量 210 公升/平方公尺 x 小時 (l/m^2h) 時能有效分離 99.5%的油/水乳液系統，有效改善一般複合材質分離乳液效果不佳的缺點⁷⁹，此外在包埋精油的研究中，聚乙烯醇配合

β 環狀糊精能延長精油抗菌性⁸¹。



圖八、聚乙烯醇合成過程²⁰。

Figure 8. Synthesis process of polyvinyl alcohol²⁰.

2.3.5 具抗菌性之聚合物於靜電紡絲之應用

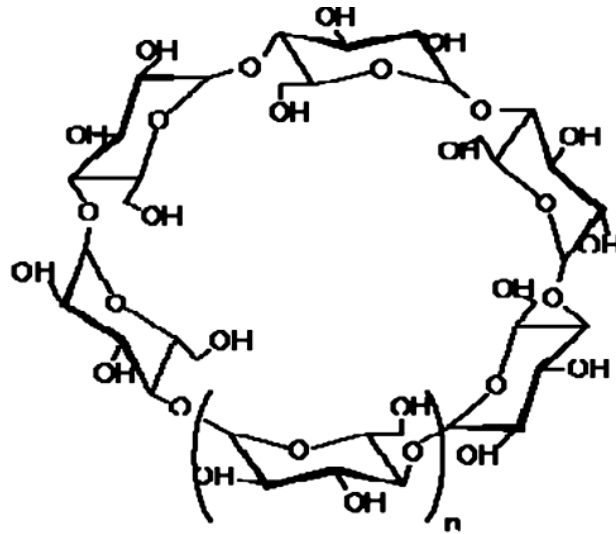
靜電紡絲之製作原料需含有高分子聚合物，原料具有抗菌性的聚合物在用途上可做為抗菌敷料、抗菌包裝^{32, 44}。陽離子聚合物如幾丁聚醣和聚 L-賴氨酸有促進細胞粘附之效果，而本身帶正電的胺類與細胞膜上的負電荷相互作用，導致細胞內成分洩漏，此外，通過共聚合丙烯酸質子化胺之丙烯酸聚合物及含雙胍取代基之聚合物也同具抗菌性^{53, 56}。

幾丁聚醣是抗菌聚合物較中常被使用的原料，其生成是以幾丁質為基質，幾丁質為 2-acetamido-2-deoxy- β -D-glucose 經由 β (1 \rightarrow 4) 鍵結的多醣體，經化學或酵素去乙醯化 (deacetylation) 後即成幾丁聚醣，而工業用幾丁聚醣 (chitosan) 多是從蝦蟹殼中所純化之成分，具有抗菌性及抗黴性 (antifungal)，可能機制有兩種分別是幾丁聚醣帶正電之陽離子會與細菌表面之陰離子的產生靜電交互作用 (electrostatic interaction)，而改變細菌細胞膜的穿透性，另外也可能是與細胞中的 DNA 結合抑制 RNA 合成¹⁷。其抗菌性跟濃度、去乙醯化、溶液 pH 值及分子量大小有關¹⁷，然而幾丁聚醣為聚合物通常有在 pH 值 6.5 以上水溶性不佳的缺點，而需要使用有機酸溶劑溶解，這些酸性物質在電紡過程中殘留物質，之後使用在人體組織上時會造成傷害¹⁷。因此，研究使用衍生化的幾丁聚醣，如 O-羧甲基幾丁

聚醣可提升水中溶解性，且在不使用酸性溶劑外還可以提升對大腸桿菌的抗菌性¹⁷，並具有不錯的生物學特性。目前於靜電紡絲研究中多集中在幾丁聚醣，在水溶性幾丁聚醣研究中研究不多，目前已有研究發現使用聚乙烯醇混合 O-羧甲基幾丁聚醣可增加成絲穩定性¹³，以及可加速人類間質幹細胞體(human mesenchymal stem cells)增生⁶⁷，在食品抗菌包裝部分並無太多著墨。

2.3.6 環狀糊精包埋精油於靜電紡絲之應用

環狀糊精結構是由葡萄糖單體組成的環狀結構如圖九，依據單體數目可以分成多型而每一種具有不同水溶性，常用的 α 、 β 及 γ 形其性質如表一表一、環狀糊精的重要特性⁴⁷。環狀結構外部為親水性，內部腔室則為疏水性能將疏水性物質包埋入內，藉此方法可以提升疏水性物質的水溶性，同時可以減少某些有刺鼻味道的物質的味道強度，此外如果具有高揮發性的物質可以藉由環狀糊精的包埋，減少其揮發性並達到延長保存的效果⁴⁷。鑒於對包裝的要求在未來會不斷增加，在抗菌性包裝方面若欲使用精油達到抗菌目的，可以使用環狀糊精包埋精油並使其在親水性溶劑中可以混合，並減少精油揮發達到延長抗菌時間的目的，而考量到靜電紡絲所具有的優點，結合兩者應用於抗菌包裝是可以發展的項目。



圖九、環狀糊精化學結構通式⁴⁷。

Figure 9. Chemical structure of cyclodextrin⁴⁷.

表一、環狀糊精的重要特性⁴⁷

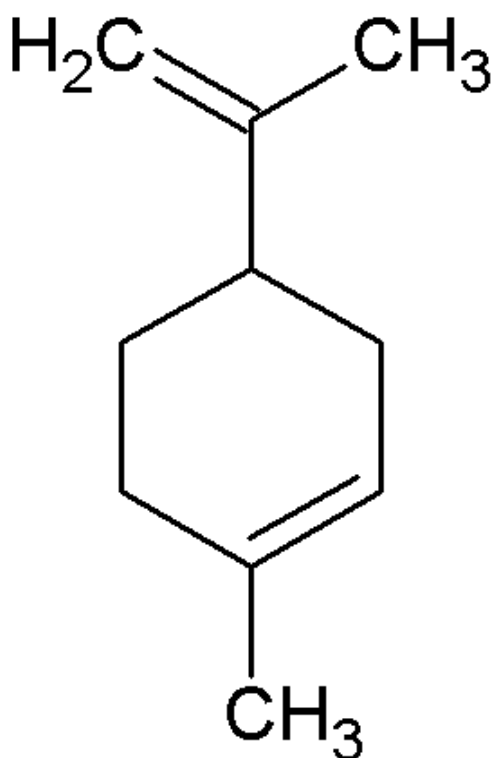
Table 1. Characteristics of CD⁴⁷

Characteristic	α -CyD	β -CyD	γ -CyD
No. of glucose units	6	7	8
Molecular weight (Da)	972	1135	1297
No. of water molecules in cavity	6	11	17
Water solubility at 25°C (%w/v)	14.5	1.85	23.2
Half-life in 1 M HCl at 60°C (h)	6.2	5.4	3.0
Melting onset (°C)	≈275	≈280	≈275
Diameter of central cavity (nm)	0.5–0.6	0.6–0.8	0.8–1.0
Diameter of outer periphery (nm)	1.4–1.5	1.5–1.6	1.7–1.8
Height of the torus (nm)	0.8	0.8	0.8



2.4 檸檬烯性質

檸檬烯為環狀單萜烯，其化學結構式如圖十。具有檸檬般的氣味，為檸檬，柑橘，和葡萄柚等幾種柑橘油的主要成分，具有抗菌，抗氧化和抗癌活性⁸⁶。檸檬烯分子中含有一個手性中心，有左旋檸檬烯、右旋檸檬烯光學異構體，常溫下具揮發性，這兩種異構體都為無色有強烈宜人香味，目前在食品中應用上為 GRAS (generally recognized as safe) 級別的風味劑的添加。在小鼠實驗中，d-檸檬烯能增加肝臟中 UDP-葡糖醛酸糖基轉移酶活性，UDP-葡糖醛酸糖基轉移酶功用為催化葡糖醛酸基轉移到具極性基團之化合物，能增加毒物及毒物等化合物水中溶解性，因此毒物更易隨膽汁或尿液排至體外⁷⁵。



圖十、檸檬烯化學結構。

Figure 10. Chemical structure of limonene.



2.4.1 檸檬烯之抗癌性

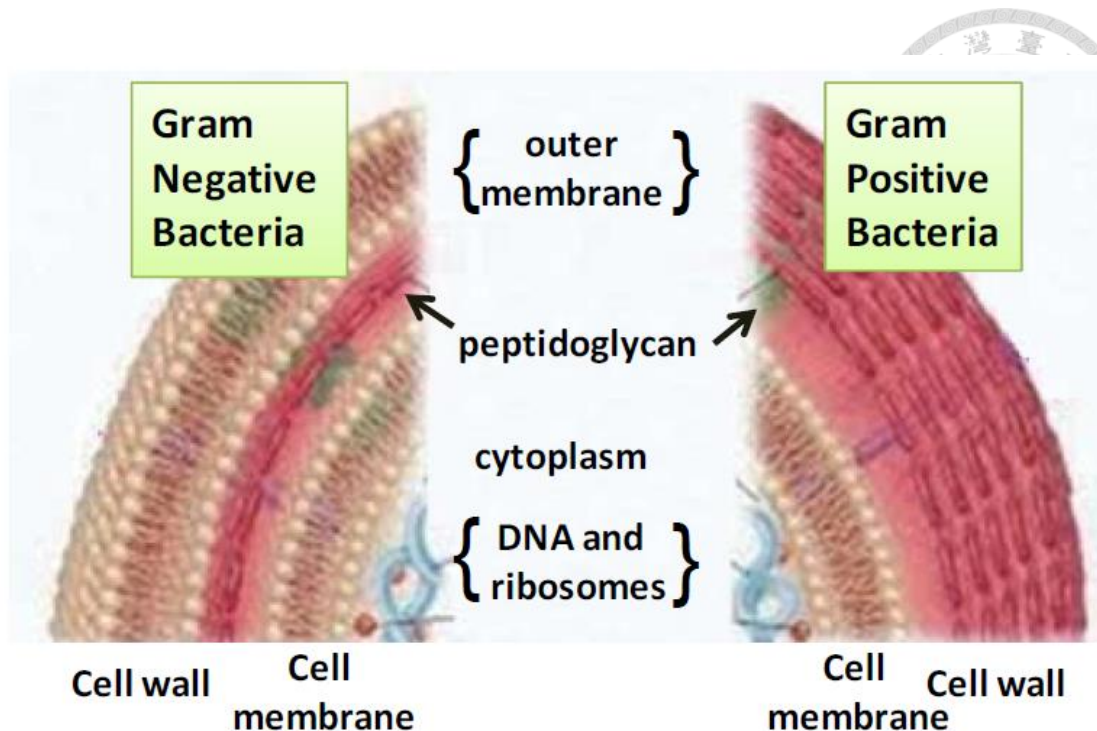
d-檸檬烯在動物研究中對幾種癌症具有化學保護作用，在對齧齒動物中施用橙皮精油及 d-檸檬烯並觀測是否能抑制化學誘導之乳腺癌的實驗中，結果顯示兩者都有抑制的效果，此外其他動物試驗亦證明 d-檸檬烯可抑制肝癌的發育¹⁵⁻¹⁶，肺腺瘤和前胃腫瘤之增生¹¹，具加速腫瘤細胞死亡和/或誘導腫瘤細胞腫分化的效果。

d-檸檬烯能抑制蛋白質異戊二烯化，多種異戊二烯化蛋白質與調節細胞生長和/或轉化有相關，減少這類異戊烯化蛋白質可說明為何 d-檸檬烯具抗腫瘤活性⁸⁰。

2.4.2 檸檬烯之抗菌性

大部分情況下，革蘭氏陰性細菌比革蘭氏陽性細菌對疏水性抑菌物(如:精油)更具抗性⁷³，這可歸因於兩類細菌在結構上面的不同，兩者結構如圖十一。

革蘭氏陽性細菌的細胞壁大約 90%-95% 由肽聚醣組成，而磷壁酸和蛋白質相互聯繫於其上。革蘭氏陽性細菌細胞壁的結構使疏水分子容易穿透細胞並於細胞壁和細胞質內作用。革蘭氏陰性細菌的細胞壁更複雜，它的肽聚醣層約 2-3 nm 厚，比革蘭氏陽性細菌的細胞壁薄，細胞壁外層有層磷脂質組成的薄膜，這讓疏水性的抗菌物質較難進入細胞內部，此外，肽聚醣層及外膜透過脂蛋白緊密相連;脂蛋白上所含有脂多醣是可提升對抑菌物之抵抗性。



圖十一、革蘭氏陽性和革蘭氏陰性的細胞壁示意圖⁵¹。

Figure 11. Cell wall structure of Gram-positive and Gram-negative bacteria⁵¹.

研究顯示檸檬烯抗菌原理為萜烯成分穿越細胞壁並積聚在膜中，膜的結構因而改變同時影響到質子動力，進一步可能破壞革蘭氏陽性菌及革蘭氏陰性菌之細胞膜⁵¹。檸檬烯對許多微生物都有抗性，尤其對 *Aspergillus niger*, *Colletotrichum falcatum*, *Bacillus subtilis* 及 *Staphylococcus aureus* 都有優異抗菌性，其抗菌性如表二、表三¹。研究也顯示 S-(-)-檸檬烯在抗菌性功能比 R-(+)-檸檬烯差許多，原因可能為反應結合位對不同光學異構體有不同反應⁴³。



表二、R- (+) -檸檬烯對致病原性細菌的抑菌力¹

Table 2. Antibacterial activity of R- (+) -limonene¹

Bacterial strain	Minimum inhibitory dilution (MID)	Diameter of the zone of bacterial growth inhibition (mm) caused by 5 µl/disc
<i>Escherichia coli</i>	1/800	12
<i>Enterococcus faecalis</i>	1/800	10
<i>Salmonella typhi</i>	1/800	12
<i>Staphylococcus aureus</i>	1/800	13
<i>Mycobacterium smegmatis</i>	1/800	12
<i>Streptococcus mutans</i>	1/800	23
<i>Bacillus subtilis</i>	1/400	13
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1/400	ND ^a

^a ND, not determined.

表三、R- (+) -檸檬烯對真菌之抑菌力¹

Table 3. Antifungal activity of R- (+) -limonene¹

Fungal strain	Minimum inhibitory dilution (MID)	Corresponding diameter of the zone of fungal growth inhibition (mm) at 5 µl/disc
<i>Microsporum gypseum</i>	1/3200	30
<i>Aspergillus niger</i>	1/400	33
<i>Aspergillus flavus</i>	1/200	25
<i>Trichophyton rubrum</i>	1/400	15
<i>Sporothrix schenckii</i>	1/800	23
<i>Candida albicans AI</i>	1/400	17
<i>Candida albicans</i>	1/800	26

第三章、研究目的與實驗架構



3.1 研究目的

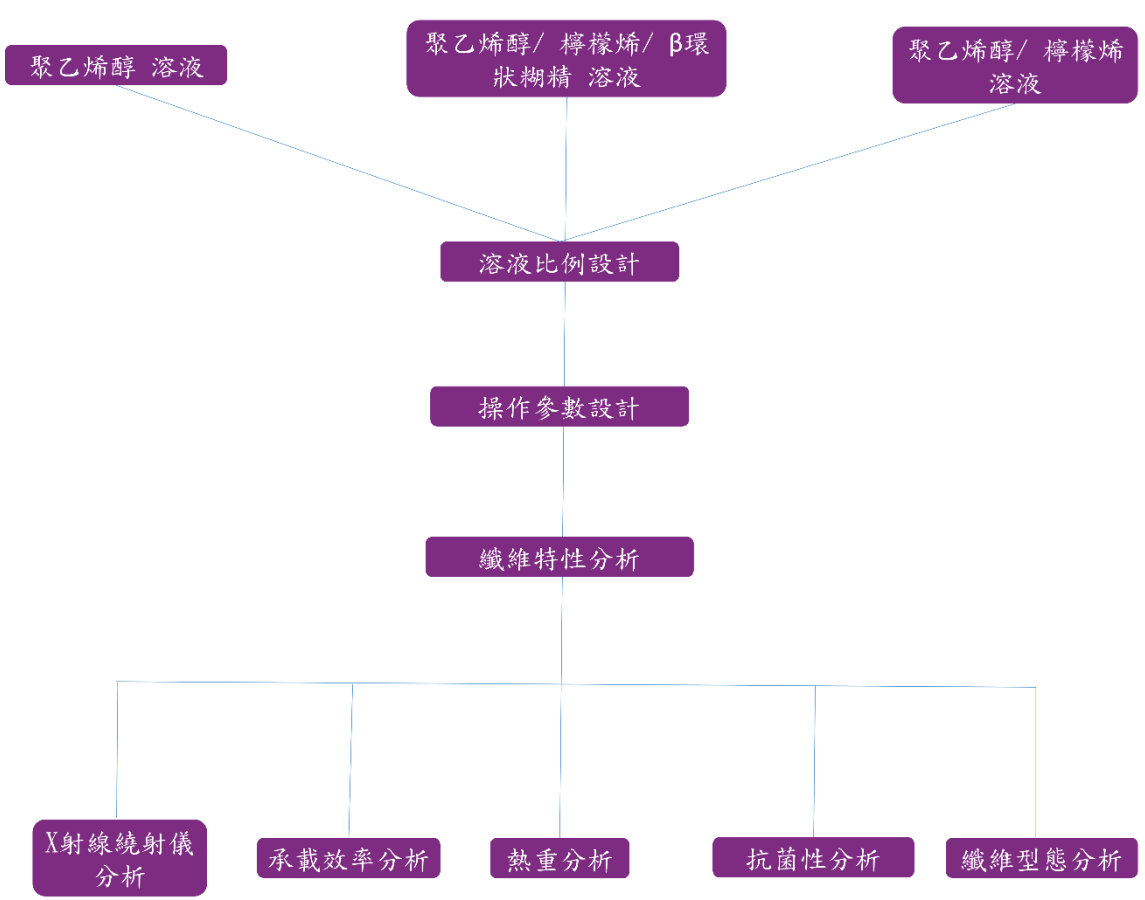
本研究使用單軸靜電紡絲，將檸檬烯及 β -環狀糊精加入聚乙烯醇溶液內攪拌，在過程中 β -環狀糊精內部的疏水環狀腔室會將疏水性的檸檬烯包入而達到減少檸檬烯揮發、提高熱穩定性及承載效率，攪拌數小時後進行靜電紡絲，收集纖維膜做後續性質分析。本研究運用 β -環狀糊精包覆檸檬烯製成穩定性提升的抗菌聚乙烯醇纖維，目的為減少食品病原菌增長。

3.2 實驗架構

本研究架構如圖十二所示。溶液設計部分，靜電紡絲之成絲主要依靠高分子聚乙烯醇， β -環狀糊精及聚乙烯醇非成絲主成分，因此首先研究不同濃度之聚乙烯醇經靜電紡絲後之成絲性，並依據掃描式電子顯微鏡結果評估成絲情況以決定適當濃度。而 β -環狀糊精添加比例是參考 Frömmling and Szejtli¹⁹ (1993) 得知 β -環狀糊精於 25°C 下之溶解度¹⁹，並參考 Li, et al.⁴² (2007) 之製備方法，以具有較高包埋效率而被使用的莫爾比例 β -環狀糊精與檸檬烯為 1 比 2 作為最終添加濃度比⁴²。決定溶液配方後，進一步研究機台之操作電壓、溶液推進流速、工作距離等參數對纖維之影響，以期得到製成直徑最小且成品穩定之纖維。為了解聚乙烯醇及 β -環狀糊精承載檸檬烯後的性質，單軸製成的纖維依據溶液配方不同分為三組，分別是聚乙烯醇奈米薄膜 (PVA-NF)、聚乙烯醇/檸檬烯奈米薄膜 (PVA/limonene-NF)、聚乙烯醇/檸檬烯/ β -環狀糊精奈米薄膜 (PVA/limonene/ β CD-NF)，進行熱重分析、X 光粉末繞射分析、承載效率分析、纖維型態分析，並選擇檸檬烯承載效率最高者，與對照組比較對 E.coli 及 S.aureus 之抑菌性。本實驗架構探討重點有 (a) 了解所



用之溶液配方及操作參數對靜電紡絲成品纖維型態的影響 (b) 觀測 β -環狀糊精是否具有包埋效果且可提升熱穩定性 (c) 研究具最高檸檬烯乘載效率的纖維之抑菌能力。



圖十二、實驗架構圖。

Figure 12. Experimental scheme.

第四章、材料與方法



4.1 材料

(1) 以下產品購自 Sigma-Aldrich (St. Louis, USA)

Polyvinyl alcohol (PVA, Mw~125,00 g/mol, 98% hydrolyzed)

(2) 以下產品購自 Bioshop (Burlington, Canada)

Agar

(3) 以下產品購自 ECHO (Miaoli, Taiwan)

β -cyclodextrin

97% ethanol

Methanol

(4) 以下產品購自 Alfa Chemistry (New York, USA)

(R) - (+) -Limonene 純度 97%

(5) 以下產品購自 Becton, Dickinson and Company (Sparks, USA)

Luria-Bertani broth



4.2 儀器

1. 靜電紡絲機 (Electrospinning) (雲集, Taipei, Taiwan)
2. 掃描式電子顯微鏡 (Scanning Electron Microscope, SEM) (FEI Inspect S, Netherlands, USA)
3. 純水機 (Milli-Q ultrapure water system) (Millipore, Bedford, MA, USA)
4. 超音波震盪器 (Micro Ultrasonic cell disruptor) (KONTES, NJ, USA)
5. 高壓滅菌釜 (Autoclave) (HL-341, 雙鷹, Taipei, Taiwan)
6. 無菌操作台 (Laminar flow) (VCM240, 炬安, Taipei, Taiwan)
7. 培養箱 (Environmental Chamber) (BTH80/-20, FIRSTEK, Taipei, Taiwan)
8. 電子微量天秤 (balances) (HR-200, A&D, Tokyo, Japan)
9. -20°C 低溫冷凍櫃 (-20°C refrigerator) (CH-401, 通信, Taipei, Taiwan)
10. 冰箱 (refrigerator) (RT-088S, 太尹西屋, Taipei, Taiwan)
11. 微量吸管 (pipette) (pipetman P, Gilson, Middleton, WI, USA)
12. 電導度計 (Conductivity Meter) (CON 6/TDS 6 Meter, Eutech Instruments Pte Ltd, Singapore)
13. 黏度儀 (viscometer) (DVEELVTJ0, AMETEK Brookfield, MA, USA)
14. X 光粉末繞射儀 (X-ray powder diffractometer, XRD) (D2 PHASER- X-ray Powder Diffraction, BRUKER, Massachusetts, United States)
15. 熱重分析儀 (Thermogravimetric Analyzer, TGA) (Q50, TA instrument, New Castle, USA)
16. 氣相層析火焰離子化偵測器 (gas chromatography flame Ionization detector, GC-FID) (7890A, Agilent, California, United States)



4.3 實驗方法

4.3.1 靜電紡絲溶液設計

此研究使用靜電紡絲製作纖維，溶液分成三組，聚乙烯醇組、聚乙烯醇/檸檬烯組、聚乙烯醇/ β 環狀糊精/檸檬烯包埋態組。首先，需決定聚乙烯醇之濃度，因主要成絲之物質為聚乙烯醇，溶劑皆使用去離子水，調配聚乙烯醇濃度梯度由 2wt%、4wt%、8wt%，經靜電紡絲後用掃描式電子顯微鏡觀測纖維，依據纖維的成絲性決定聚乙烯醇比例，此外配置溶液時需量測各濃度之導電度及黏度作為探討成絲原因。而 β -環狀糊精添加比例是參考 Marques⁴⁷ 得知 β -環狀糊精於 25°C 下之水中溶解度為 1.85% (w/v)，並參考 Li, et al.⁴² (2007) 之製備方法，以具有較高包埋效率而被使用的莫爾比例 β -環狀糊精與檸檬烯為 1 比 2 作為最終添加濃度比⁴²，最後以 SEM 觀測靜電紡絲成品。

4.3.2 靜電紡絲操作參數設定

為了簡化探討操作參數實驗的過程，本篇文獻以主要成絲物質-聚乙烯醇探討參數對纖維之影響，所使用電壓分為 16 kV、18 kV、20 kV，幫浦推進流速分為 0.4 mL/h、0.8 mL/h、1.2 mL/h，工作距離分別為 16 cm、18 cm、20 cm，上述參數以中間值作為固定值，因此為 18 kV、0.8 mL/h、18 cm。依據所欲探討之事項為電壓、流速或工作距離去個別改變變因，例如在探討電壓對成絲性之影響時，固定流速及工作距離為 0.8 mL/h、18 cm，並改變電壓為 16 kV、18 kV、20 kV 做靜電紡絲，之後藉由 SEM 觀測，以 Image J 軟體測量纖維直徑，挑選能讓直徑較小之參數作為最終參數。



4.3.3 靜電紡絲溶液配置

溶液配方為 8% PVA (w/w, 相對於去離子水加 PVA 之重), 1.85% β CD (w/w, 相對於去離子水重) 及 0.44% 檸檬烯 (w/w, 相對於去離子水重); 溶劑為去離子水。首先將 8 g PVA 加入 92 g 去離子水中, 置磁石於溶液中並於 85°C 低速攪拌攪拌 1 小時, PVA 結晶狀態在加熱過程中會漸漸被破壞, 形成具有黏度且澄清透明之溶液, 確認完全溶解後, 放置冷卻並儲藏於 25°C 下備用。聚乙烯醇/ β 環狀糊精/檸檬烯包埋態組配置方法為加入 1.85% β CD (w/w, 相對於去離子水重) 及 0.44% 檸檬烯 (w/w, 相對於去離子水重) 至聚乙烯醇溶液中, 於 25°C 下攪拌 2.5 小時後形成白色且混濁的溶液, 立刻進行靜電紡絲。聚乙烯醇/檸檬烯組之配置方法是直接加入 0.44% 檸檬烯 (w/w, 相對於去離子水重) 於聚乙烯醇溶液, 25°C 下攪拌 2.5 小時後, 立刻進行靜電紡絲。聚乙烯醇組則是聚乙烯醇溶液在配置後的兩天內即進行靜電紡絲。

4.3.4 電紡溶液之黏度測定

當轉子在樣品中變速旋轉的時候, 樣品會因為本身黏度高低, 而產生不同大小的摩擦力, 而該作用在轉子上的力矩, 經由黏度計的微電腦計算之後即可得到樣品的黏度。本實驗使用 Brookfield DVELV Viscometer, 配合 SC4-31 轉子進行測定, 而每次測定需要 15 mL 樣品進行測定。

4.3.5 電紡溶液之導電度測定

導電性的測量是測量電解溶液中離子的導電能力。本實驗使用 CON 6/TDS 6 Meter 量測電導度, 首先取乾淨錐形瓶加入 15 mL 去離子水, 以電導度計測量去離子水的電導度值當做空白值, 以移液吸管吸 15 mL 欲測量之溶液至另一錐形瓶中, 測量電導度值。



4.3.6 靜電紡絲過程

靜電紡絲過程於 (25°C) 進行，將前面配置好的溶液在確認無明顯溶解不均及沉澱情形後，裝入 5 mL 針筒並接上轉接套組，於出液端裝上金屬針頭，並接上接地線避免電壓差過小，提供電壓範圍為 0-40 kV，在收集器上黏附鋁箔 (aluminum foil) 收集靜電紡絲成品。調整電壓、流速及工作距離至適合參數以穩定產出纖維，於紡絲過程觀測泰勒錐是否維持穩定且具相同的動態表現。單軸靜電紡絲經操作參數實驗過後固定參數為電壓 18 kV；電紡針頭至收集器距離 20 cm、流速 0.4 mL/h。首先，開啟注射器推送幫浦使流速穩定並確定管線中皆無氣泡，再設定電壓與滾筒收集器轉速後開始靜電紡絲，電紡所得成品放置於乾燥皿中密封保存。

4.3.7 電紡絲膜之表徵觀察

靜電紡絲之成品將利用掃描式電子顯微鏡 (Scanning electron microscope, SEM) 進行纖維膜之表面型態觀察，並評估電紡膜之纖維直徑與整體表面型態。成膜之纖維將於 SEM 觀測後，以 Image J 隨機選出 100 條纖維判定直徑。

4.3.8 樣品結晶分析

以 X 光繞射分析儀 (X-ray diffractometer, XRD) 分析樣品內部結構。XRD 原理為運用 X 射線的波長和晶體內部原子面之間間距相近，入射的 X 射線受到原子影響而產生許多散射波，這些波彼此干涉形成衍射，通過測量這些衍射光束的角度和強度，我們可以獲得晶體內的電子密度，並產生晶體的結構。通過應用 Cu K α 輻射的 X 光繞射儀記錄 β 環狀糊精、聚乙烯醇薄膜、聚乙烯醇/檸檬烯薄膜、聚乙烯醇/檸檬烯/ β 環狀糊精薄膜在 2θ 範圍 10–50° 下之衍射情形。



4.3.9 樣品熱重分析

以熱重分析儀 (Thermogravimetric analysis, TGA) 分析樣品在加熱過程重量損失的情形，以此了解樣品之熱穩定性。使用氮氣，以 20°C/分之升溫速率加熱 β 環狀糊精、檸檬烯、聚乙烯醇薄膜、聚乙烯醇/檸檬烯薄膜、聚乙烯醇/檸檬烯/ β 環狀糊精薄膜，溫度設定範圍為常溫至 500°C。藉不同溫度下重量損失的情形，分析樣品之熱穩定性。

4.3.10 檸檬烯承載效率分析

萃取方法參考 Fuenmayora et al. (2003) ²¹ 定量薄膜中檸檬烯之方法，將 10 mg 膜浸入 10 mL 甲醇中並以 200 轉/分鐘攪拌 12 小時，並用超音波震盪 10 分鐘以提取薄膜內之檸檬烯。使用外部標準法定量標準曲線。氣相層析儀分離甲醇及檸檬烯，藉由火焰離子化偵測器將分子汽化後定量。氣象層析儀配備管柱為 DB-WAX (Hewlett-Packard, Avondale, Pennsylvania) (30 m x 0.25 mm 內徑, 0.25 μ m 膜厚)。使用氮氣作載氣 (1.0 mL/min)。注射器和檢測器設定在 230 和 260°C，烘箱升溫梯度：起始溫度 40°C (持續 3 分鐘)，40 至 180°C，速率為 10°C/min (180°C 保持 3 分鐘)。



4.3.11 靜電紡絲膜抑菌測試

4.3.11.1 菌種保存

本研究採用大腸桿菌 (BCRC 10239) 及金黃色葡萄球菌 (BCRC 10451)，菌種保存為取凍管菌株 100 μL 加入 LB broth 900 μL ，在最適生長溫度 37°C 下培養 48 小時，再取菌液 1 mL 加入 9 mL LB broth 於最適生長溫度 37°C 下培養 24 小時，放置 4°C 冰箱保存，此後每兩個星期更新一次。

4.3.11.2 菌種活化

取保存於 4°C 之菌液 1 mL 加入 9 mL LB broth 混合後，放入培養箱並將溫度設定於最適生長溫度 37°C，活化 24 小時後進行實驗。

4.3.11.3 抗菌紡織品性能評估

評估方法修改自 ISO 20743：2013 (Textiles -- Determination of antibacterial activity of textile products)。

(一)細菌前培養

由保存於 LB 培養基之菌種，取一個接種環的量於 LB 洋菜培養基上，以四區畫線法分離菌株，並於 37°C 下培養 24 小時後，挑單一菌落到 10 mL LB broth 於 37°C 下培養 18-24 小時，此時濃度約 $(1-3) \times 10^8$ CFU/mL。

(二)試驗步驟

(a)調製試驗菌液

將 LB broth 以室溫無菌水稀釋 20 倍成為 1/20 LB broth，再以 1/20 LB 調整菌液到 $(1-3) \times 10^5$ CFU/mL，稀釋後的菌液做序列稀釋塗盤，於隔日確認菌數正常。



(b)接種試驗菌液

將 0.05g 膜（對照組 3 組，實驗組 3 組）放入 50 mL 離心管，之後吸取 0.1mL 前述之 $(1-3) \times 10^5$ CFU/mL 試驗菌液，小心且均勻接種於各試樣上（不可使菌液接觸離心管內壁及蓋子），確認封口鎖緊並用石臘膜封住蓋口後，以 37°C 培養 18~24 小時。

(c)試驗菌之沖刷

三個對照組和三個樣品試樣分別加入 10mL 沖刷液（1/20 LB broth），為了確定菌均勻分散，使用震盪器震盪 30 秒後，吸取菌液做序列稀釋，並於 LB 洋菜培養基上塗盤，每個稀釋倍率需進行二重複。以 37°C 培養 24 小時並計算菌落數。

(d)計算生菌數

培養後，取含有（30~300）個菌落的培養皿，計算其菌落數。在相同時間內，將樣品菌落數與控制組別菌落數作抑菌率計算可得知抑菌效果，抑制率公式如下。

$$\text{抑制率(\%)} = \frac{\text{CFU/ml(控制組)} - \text{CFU/ml(樣品)}}{\text{CFU/ml(控制組)}} \times 100\% \dots\dots\dots (1)$$

4.3.12 統計分析

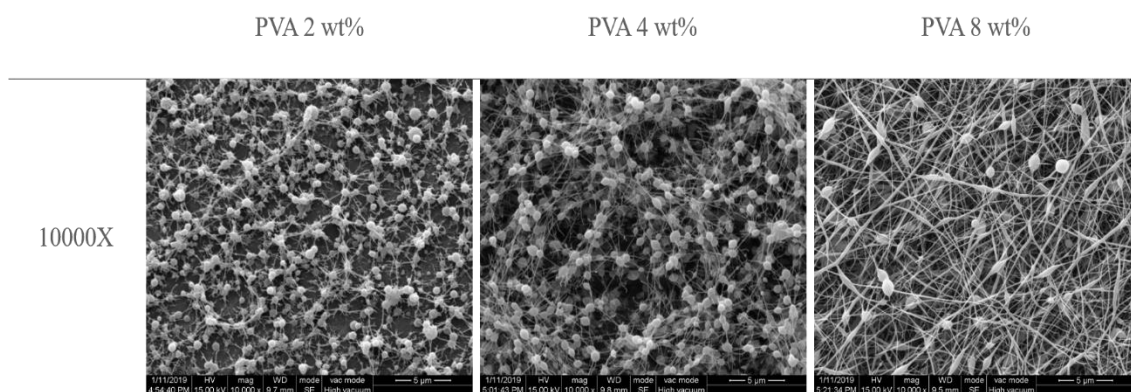
本研究所得之實驗結果以統計軟體 SigmaPlot 10.0 版（Systat Software, Inc., San Jose, CA, USA）進行標準差分析及作圖。並以 one-way ANOVA 判定組間是否有顯著差異。

第五章、結果與討論



5.1 靜電紡絲溶液設計

聚乙烯醇濃度梯度為 2wt%、4wt%、8wt%，經靜電紡絲後以掃描式電子顯微鏡觀測，結果如圖十三，由圖可以觀測出隨著濃度提高，纖維狀結構增加，而珠狀結構減少，這與 Fong, et al.¹⁸ 結果相符，纖維束越多代表著靜電紡絲過程能有效生成纖維膜，因此選擇能生成較多纖維結構之濃度 8wt% 作為後續實驗聚乙烯醇的濃度。為了進一步了解原因，根據量測各濃度之導電度及黏度之表四比對，隨著聚乙烯醇濃度提升，黏度及導電率都上升，由此可確定使用的聚乙烯醇濃度上升，可以提升溶液黏度及導電度。在靜電紡絲製程裡射流透過拉伸形成纖維，需建立在分子間有足夠的交互作用力來維持射流⁴⁹，聚乙烯醇溶液黏度越大，纏結度和內聚分子鏈越強，能使溶液在高電場引起的攪打動作過程中，保持相對於低黏度溶液更高的連續性而不斷裂，因而抑制纖維中的珠狀結構生成，另外導電率的提升可使靜電紡絲射流內部有更強的靜電斥力，產生更多次拉伸運動，使溶劑揮發增多，最終減少珠粒狀纖維的存在。



圖十三、以不同 PVA 濃度靜電紡絲之掃描式電子顯微鏡觀測圖。

Figure 13. SEM images of the electrospun nanofibers obtained from solutions of PVA at different concentration.



表四、不同濃度聚乙烯醇溶液之黏度及導電度

Table 4. Properties of the PVA Solutions at different concentration

	黏度(cP)	導電度(μ S)
PVA 2wt%	3.3 \pm 0.30	49.34 \pm 2.52
PVA 4wt%	12.3 \pm 0.52	130.06 \pm 3.45
PVA 8wt%	144.6 \pm 2.16	156.96 \pm 3.60

5.2 靜電紡絲操作參數設定

操作參數會影響到靜電紡絲之泰勒錐形態、射流的鞭甩效應及飛行時間、纖維膜型態，對於纖維膜品質影響大，因此研究參數包含工作電壓、工作距離、推進流速在本論文皆有探討，工作電壓結果如圖十四，推進流速結果如圖十五，工作距離結果如圖十六。

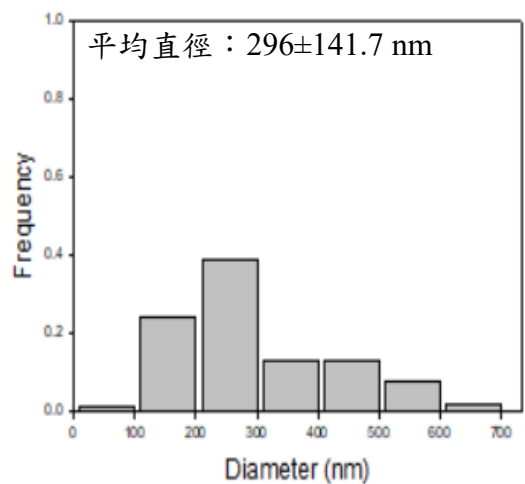
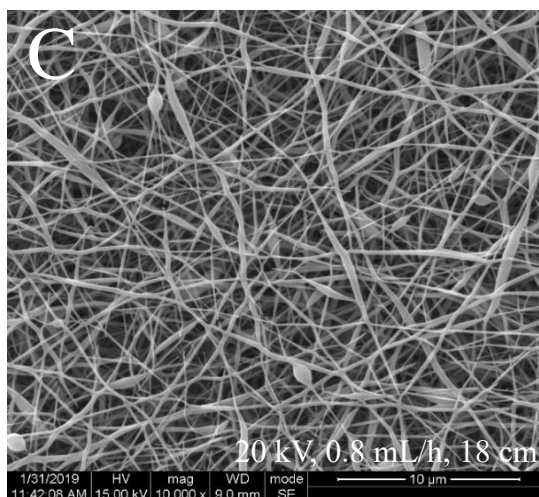
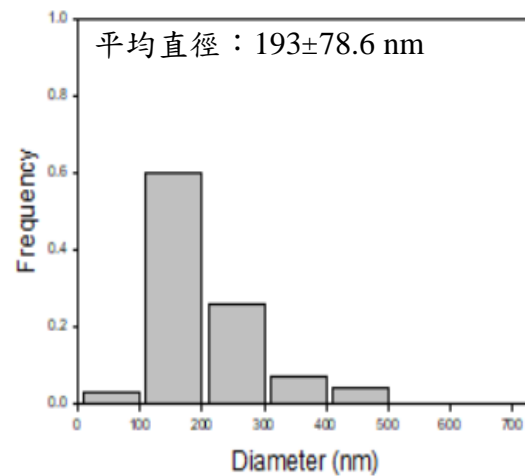
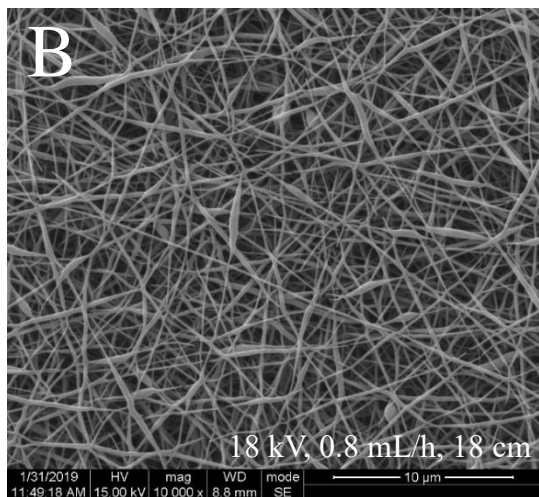
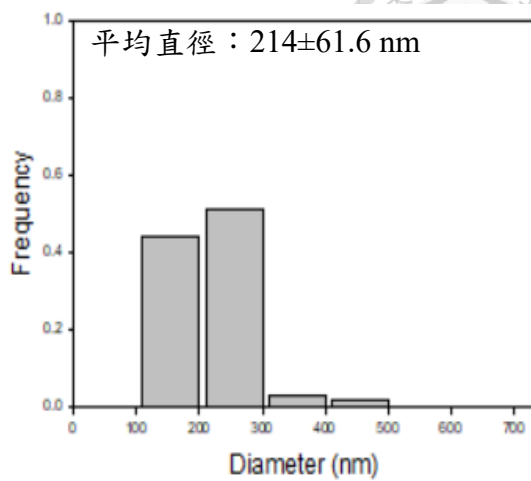
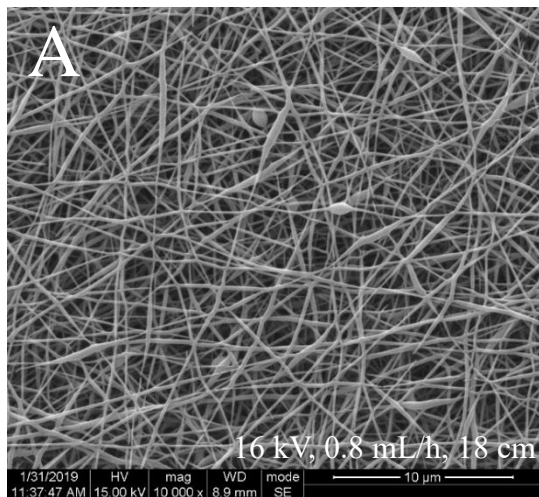
由圖十四可觀測電壓對纖維直徑及纖維外觀之影響，及在低電壓（16 kV）時帶珠狀之纖維較多且直徑較大，這是因為較弱的靜電斥力無法使射流有足夠的鞭甩效應以產生穩定的連續纖維，而過高電壓（20 kV）會導致纖維直徑分佈增加且帶珠狀之纖維，這是因為電壓過高，使的射流飛行時間縮短讓射流溶劑揮發不全⁵²，綜上以直徑分布較低之 18 kV 為試驗參數。

由圖十五可觀測推進流速對纖維直徑及纖維外觀之影響，由直徑計算可知流速低（0.4 mL/h）時，纖維直徑較低，這是由於流速低時射流過程中溶劑揮發較完全，當流速提高（0.8 mL/h~ 1.2 mL/h）時，除了射流量上升使得噴射過程中溶劑揮發不全造成直徑上升，此外，Zuo, et al.⁹⁰ 等人也提到合適的流速可以穩定泰勒錐結構，泰勒錐會因為過多液體存在於針尖而不穩定，進而受重力影響而滴

落，綜上以直徑分布較低之 0.4 mL/h 為試驗參數。

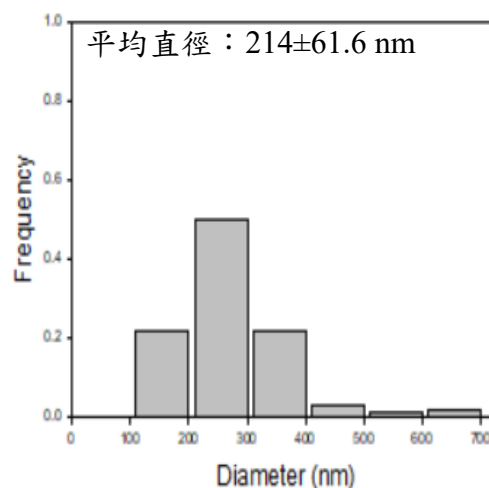
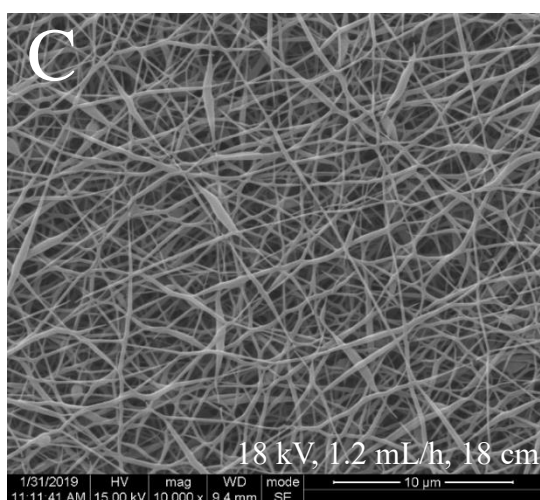
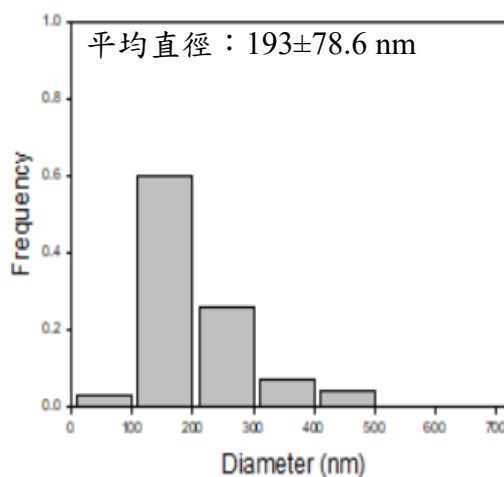
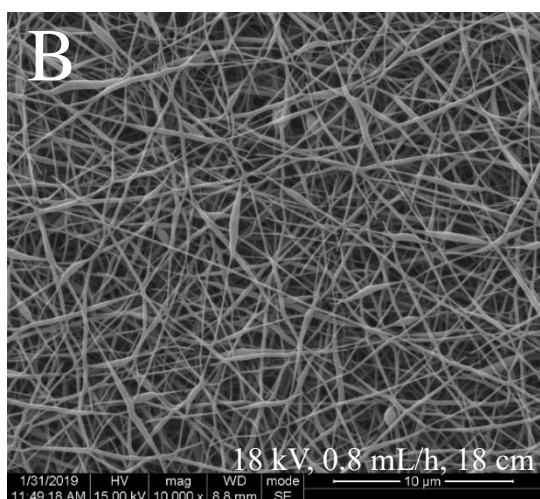
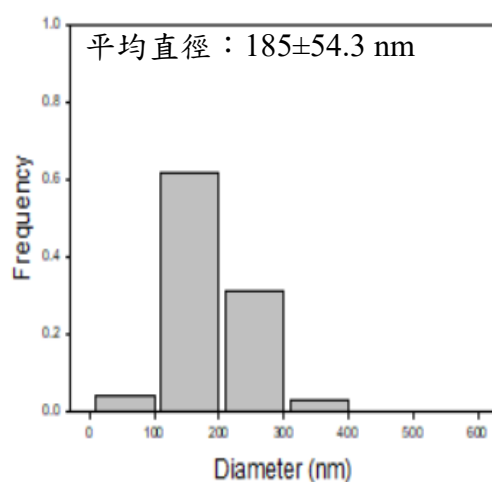
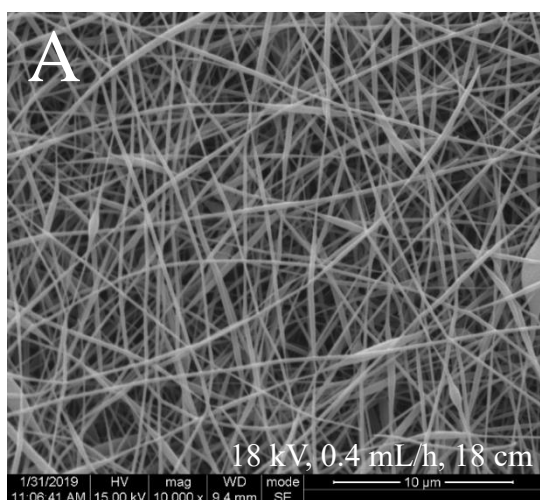
由圖十六可觀測工作距離對纖維直徑及纖維外觀之影響，工作距離主要影響射流的飛行。過短的飛行距離（16 cm）會使溶劑無發揮發完全而使纖維彼此沾黏，纖維品質較不穩定且直徑較粗，而飛行距離拉長（18~20cm）則可以使溶劑揮發增加且直徑較細³，但同時過程中受到重力及本身靜電斥力的減弱，損失掉一些纖維，造成收集效率下降，綜上以直徑分布較低之 20 cm 為試驗參數。

由 SEM 圖及直徑計算，本研究之最佳靜電紡絲條件電壓為 18 kV，距離為 20 cm，流速為 0.4 mL/h，由此條件產生的奈米纖維及直徑分布結果如圖十七，PVA 奈米纖維具有光滑及均勻性，平均直徑 163 奈米，所製作的 PVA/ β CD 平均直徑為 187 奈米，PVA/ β CD/limonene 的奈米纖維也具有光滑及均勻性，平均直徑為 184 奈米。



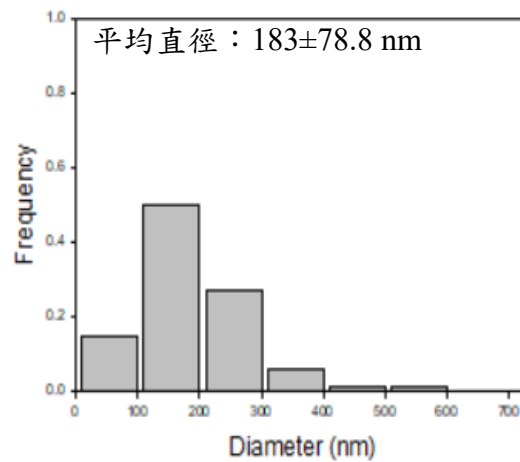
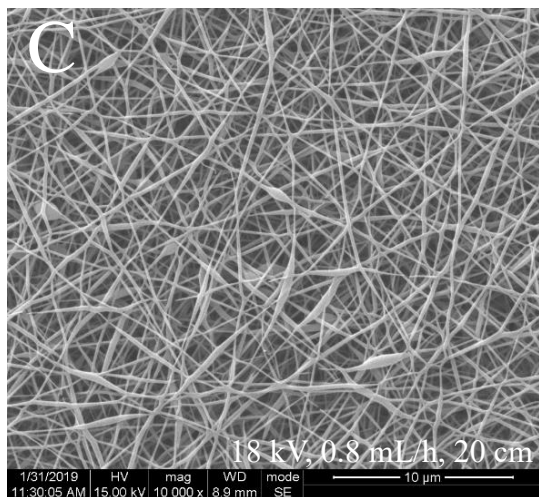
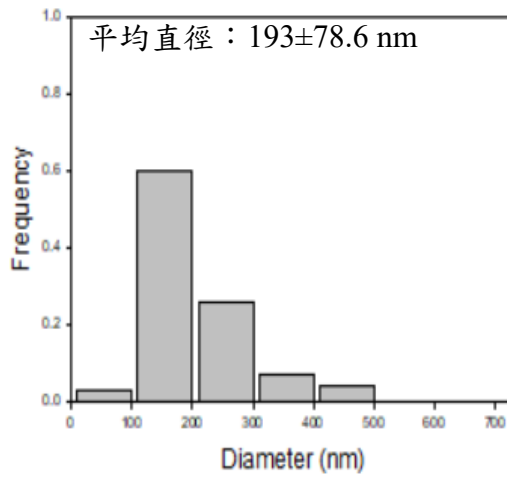
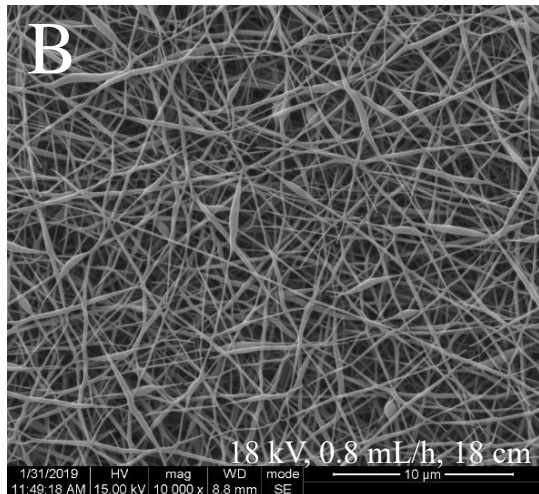
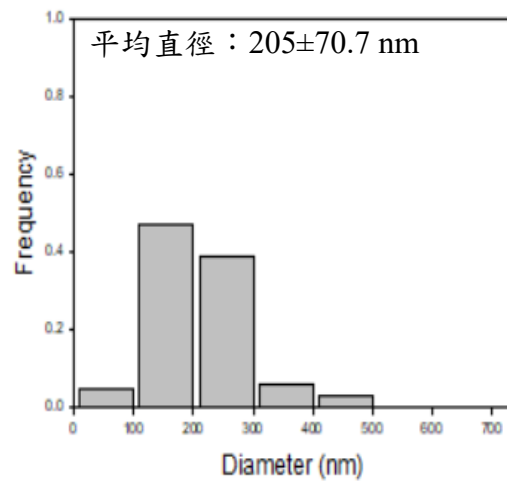
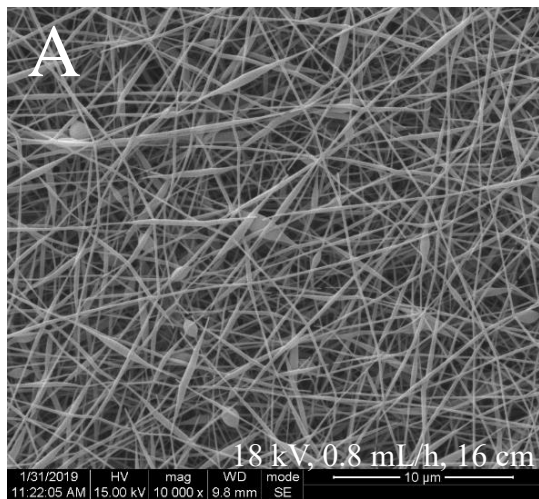
圖十四、不同電壓下，聚乙烯醇纖維的掃描電子顯微鏡圖及其直徑分布，其他參數為流速 0.8 mL/h，工作距離 18 cm。

Figure 14. SEM images and fiber diameter distributions with average fiber diameter (AFD) of the PVA electrospun nanofibers obtained from different voltage.



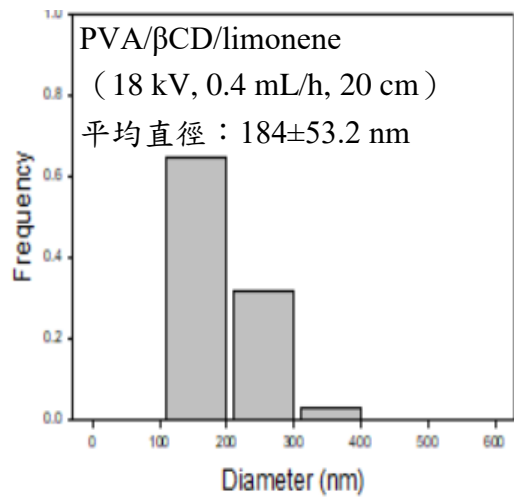
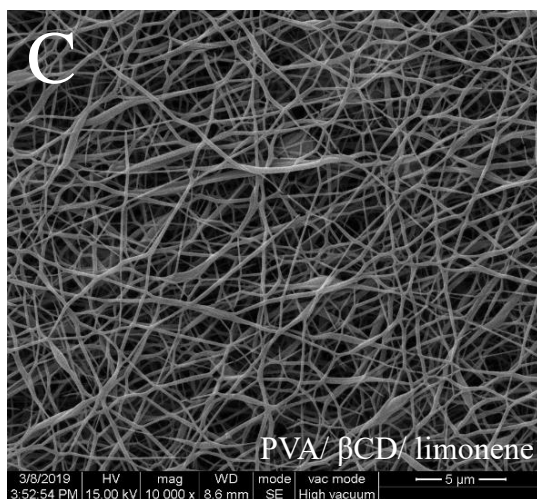
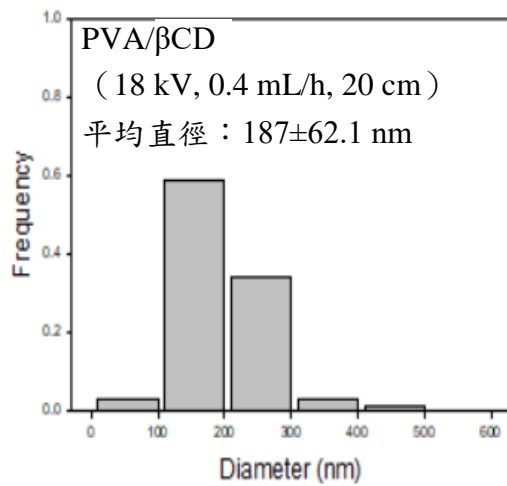
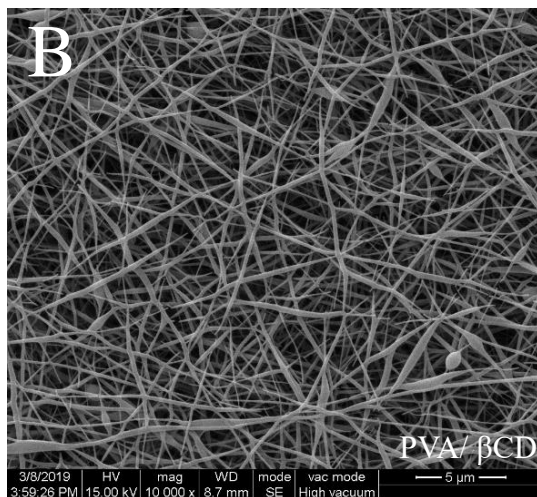
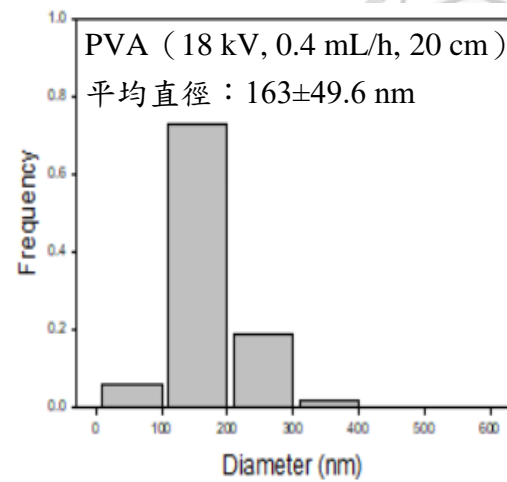
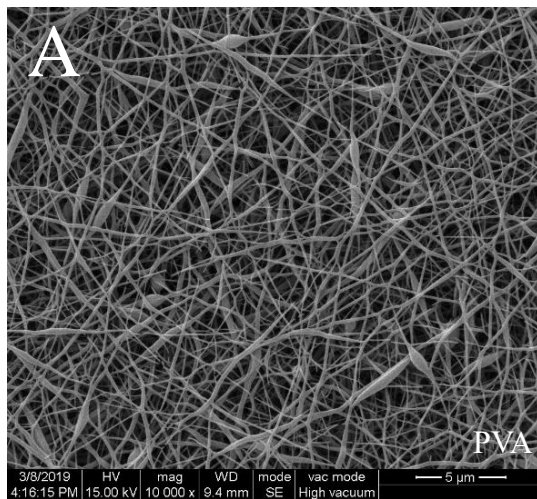
圖十五、不同推進流速下，聚乙烯醇纖維的掃描電子顯微鏡圖及其直徑分布，其他參數為工作距離 18 cm，電壓 18 kV。

Figure 15. SEM images and fiber diameter distributions with average fiber diameter (AFD) of the PVA electrospun nanofibers obtained from different flow rate.



圖十六、不同工作距離下，聚乙烯醇纖維的掃描電子顯微鏡圖及其直徑分布，其他參數為流速 0.8 mL/h，電壓 18 kV。

Figure 16. SEM images and fiber diameter distributions with average fiber diameter (AFD) of the PVA electrospun nanofibers obtained from different collection distance.



圖十七、最佳參數 18 kV,0.4 mL/h,20 cm 製作靜電紡絲，其掃描電子顯微鏡圖及其直徑分布 (A) PVA (B) PVA/βCD (C) PVA/limonene/βCD。

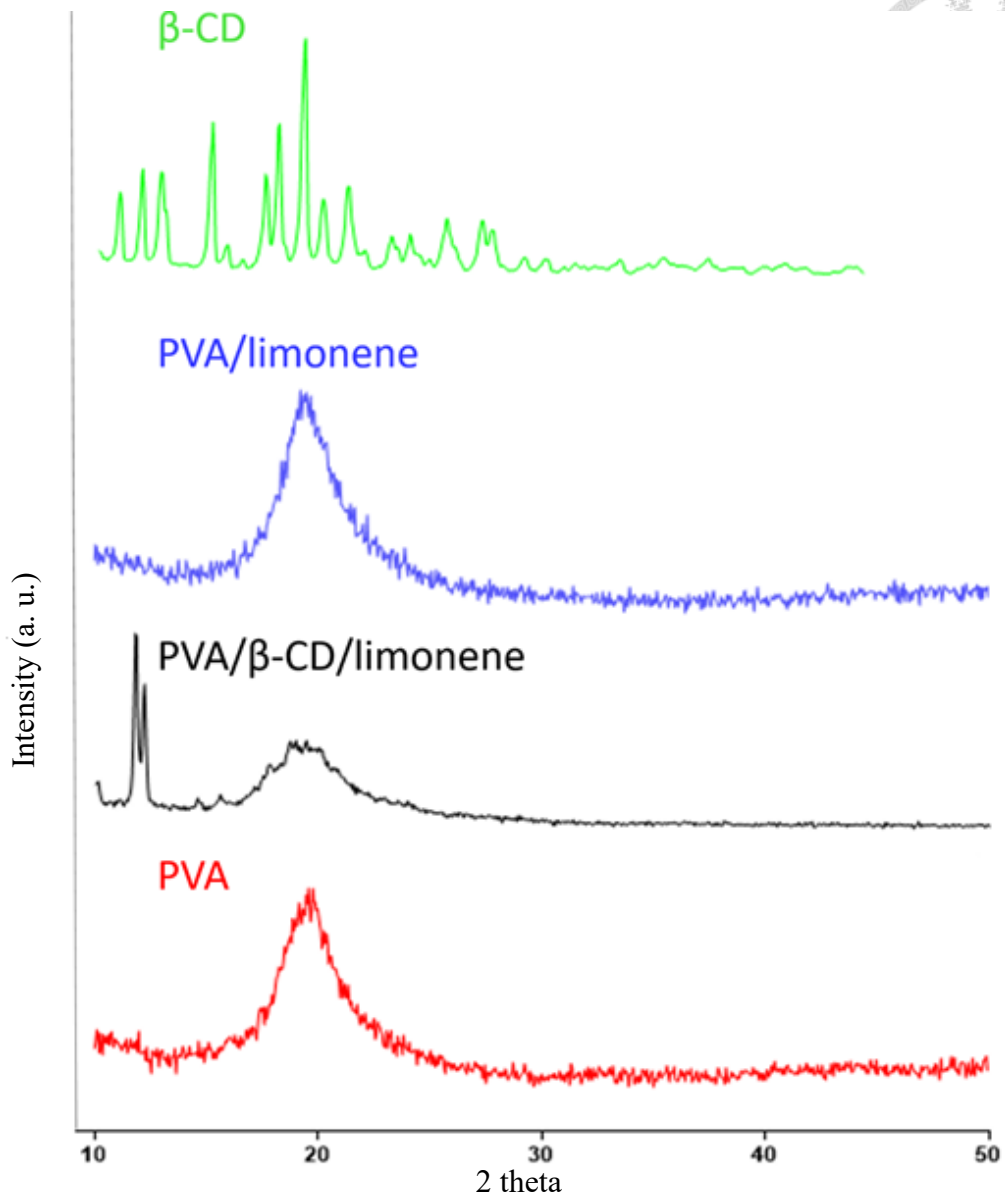
Figure 17. SEM images and fiber diameter distributions with average fiber diameter (AFD) of the electrospun nanofibers obtained from solutions of (a) PVA, (b) PVA/βCD, (c) PVA/ limonene/ βCD at 18 kV, 0.4 mL/h, 20 cm.



5.3 樣品結晶結構分析

檸檬烯在室溫下是液體化合物，因此無法分析其結晶結構。PVA 奈米纖維、 β CD 粉末、PVA/limonene 奈米纖維、PVA/limonene/ β CD 奈米纖維的 XRD 衍射圖如圖十八。PVA 奈米纖維在 19.6° 出現寬的衍射波可知為半結晶聚合物，此與 Uyar, et al.⁷⁴ 等人文獻相符。PVA/limonene 奈米纖維的 XRD 圖譜與 PVA 奈米纖維相似，因此可知 limonene 在加入檸檬烯後 PVA 半結晶結構仍然存在，代表檸檬烯不會影響到 PVA 分子排列。一般 β CD 的結晶型態有分兩種，分為一般未填充之籠型晶體結構及內腔室含有包埋物時的溝道型晶體⁷⁴。繞射圖中的 β CD 是未包埋前的 XRD 圖，而經過攪拌包埋及靜電紡絲所得的 PVA/limonene/ β CD 奈米纖維，在繞射圖譜上有相當大的差別且在 $\sim 12^\circ$ 具有顯著的特徵峰，這是因為 β CD 內部腔室包埋小分子化物，而內部小分子化物彼此仍具有親和性，致使 β CD 分子堆疊情形改變，造成溝道型晶體在繞射圖譜會與籠型有所差別，而此差別之特色波峰在 $\sim 12^\circ$ 出現²⁷。

綜上所述，可以得出 PVA/limonene/ β CD 奈米纖維中的 β CD 確實可包埋檸檬烯，另外，PVA 衍射波型也稍有改變，這可能是部分 β CD 對 PVA 中未醇解完全的甲基進行包埋所導致。



圖十八、βCD、PVA/limonene 奈米薄膜、PVA/limonene/βCD 奈米薄膜、PVA 奈米薄膜之 X 光繞射圖譜。

Figure 18. XRD patterns of βCD, PVA/ limonene nanofibers, PVA/ βCD/ limonene nanofibers and PVA nanofibers.



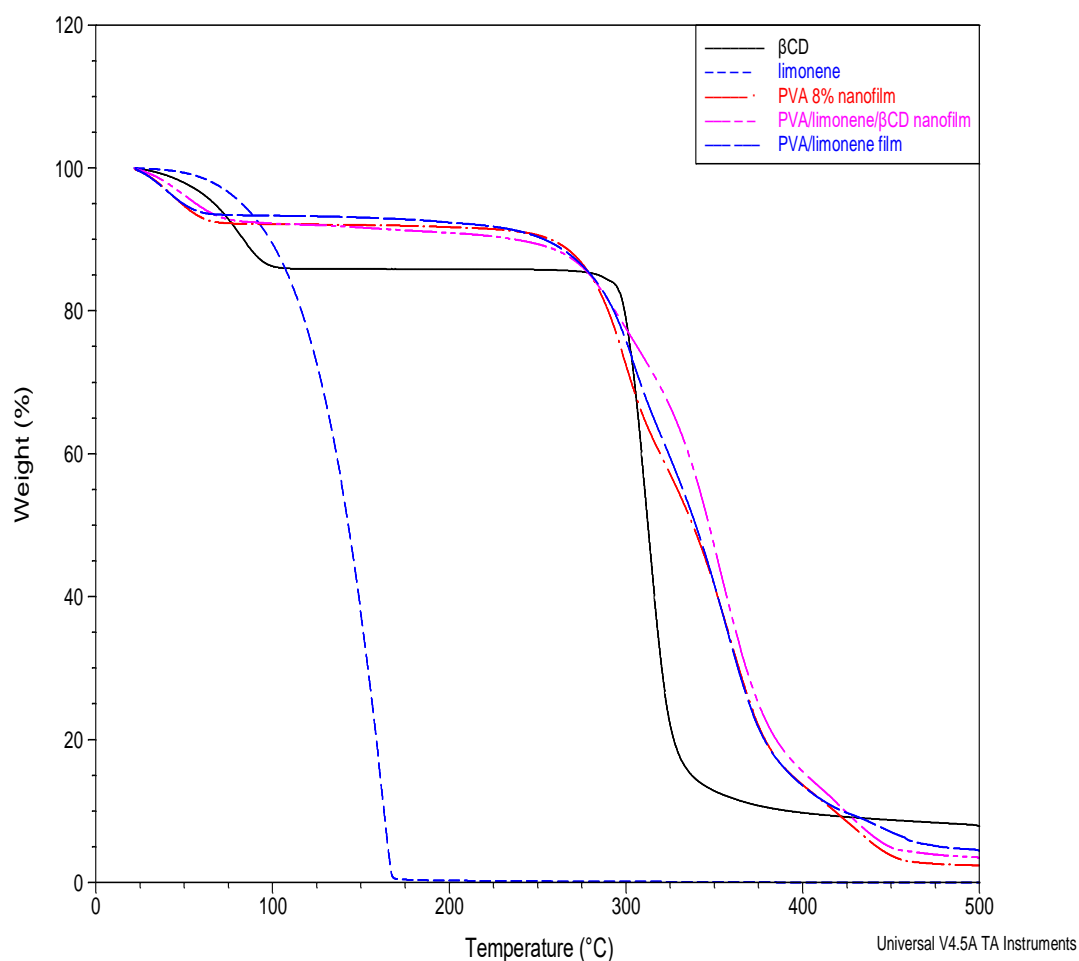
5.4 樣品熱重分析

各組樣品的熱重分析如圖十九，為了進一步了解各溫度下重量降解的速率，另外製作各樣品於不同溫度下重量百分比之改變量圖，如圖二十至圖二十四。圖二十為 β CD 之熱重分析圖，主要有兩個重量損失的部分，分別是 100°C 以下的水分損失及 300°C 以上的 β CD 結構降解。圖二十一為純品檸檬烯之熱重分析圖，重量減少由常溫開始至 160°C ，於 160°C 左右揮發速率最快。圖二十二為 PVA 奈米薄膜之熱重分析圖組，主要有三個重量損失部分，分別是 100°C 以下的水分損失， 170°C 至 300°C ，這是因膜內高分子的支鏈及主鏈部分斷裂及膜結構破壞的溫度， 320°C 到 450°C 則是高分子主鏈斷裂及原子彼此重組。圖二十三為 PVA/limonene 奈米薄膜之圖譜，波的形狀相較於 PVA 組並無太大差異，主要有三個重量損失部分， 100°C 以下為水分損失，在 $100^{\circ}\text{C}\sim 115^{\circ}\text{C}$ 重量損失極少， 116°C 至 160°C 之間的重量損失是檸檬烯揮發，有檸檬烯殘留是因配置溶液後，未揮發檸檬烯因疏水特性而聚集於溶液中，於靜電紡絲後以分部不均的形式附於膜上，因此 116°C 至 160°C 會有檸檬烯之揮發，此重量損失速率波形與純品檸檬烯相似，且一樣於 160°C 時揮發最快，可推測其檸檬烯熱穩定性質與純品檸檬烯相同， 160°C 過後重量損失速率仍持續上升至 304°C 達到波峰，這是因膜內高分子的支鏈及主鏈部分斷裂及膜結構破壞，而 330°C 到 500°C 則是高分子主鏈斷裂及原子位置重新排列。圖二十四為 PVA/limonene/ β CD 奈米薄膜之熱重分析圖，主要有三個重量損失部分，在 100°C 以下的重量為水分損失， $100^{\circ}\text{C}\sim 200^{\circ}\text{C}$ 區間比較，可觀察到 PVA/limonene/ β CD 奈米薄膜於 115°C 到 180°C 皆有檸檬烯重量損失，而於 180°C 重量損失速率下降，代表藉由包埋可使檸檬烯達到最高揮發速率的溫度為 180°C ，而相較於 PVA/limonene 奈米薄膜組，PVA/limonene/ β CD 奈米薄膜於 160°C 至 300°C 左右的重量減少速率較小，這是因為 β CD 與 PVA 的羥基彼此形成氫鍵而減緩主鏈及支鏈的部份斷鏈，但同樣的在 330°C 到 500°C 有相似的波形，這是因高分子主



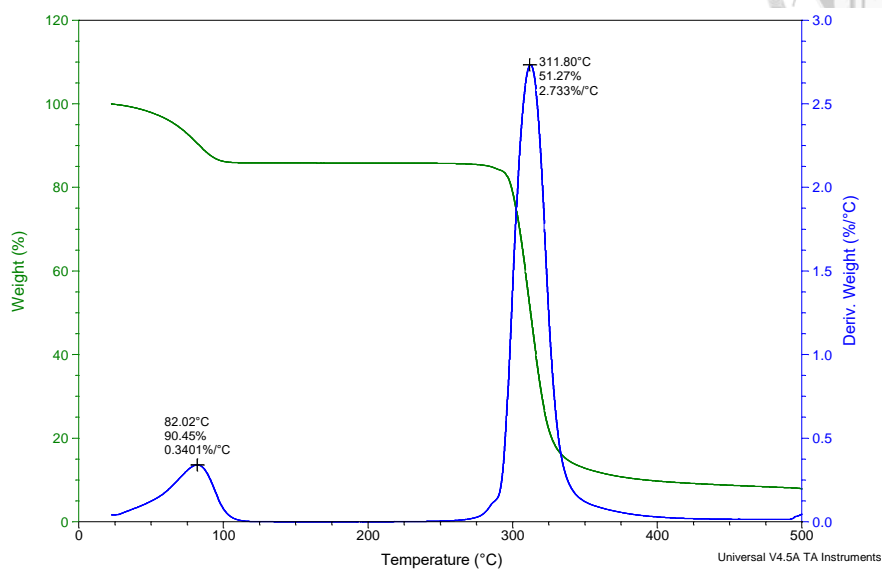
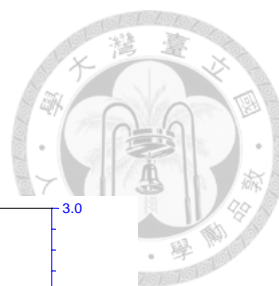
鏈斷裂及原子位置重新排列造成。

在熱穩定性上，純品檸檬烯揮發為常溫至 160°C，而 PVA/limonene/ β CD 奈米薄膜的揮發是由 116°C~180°C，同樣熱穩定性提升的現象在 PVA/肉桂精油 (cinnamon essential oil, CEO) / β CD 奈米薄膜試驗也有，CEO 之熱揮發溫度為 63°C~119°C，而 PVA/ CEO/ β CD 奈米薄膜之 CEO 揮發溫度則是 85°C~133°C⁸¹。藉由上述比較可知 PVA/limonene/ β CD 奈米薄膜中存在著包埋的型式，且可以提升熱穩定性。



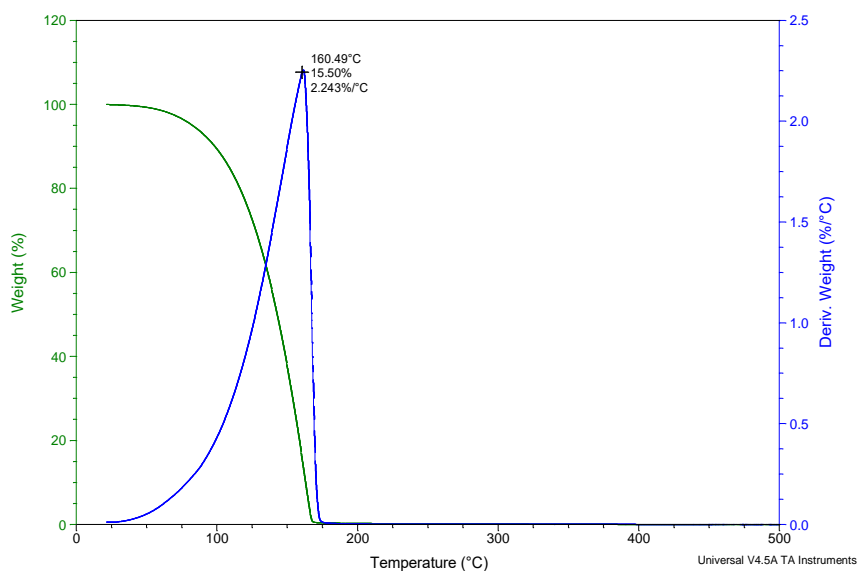
圖十九、各樣品之熱重分析結果。

Figure 19. TGA curves of different samples.



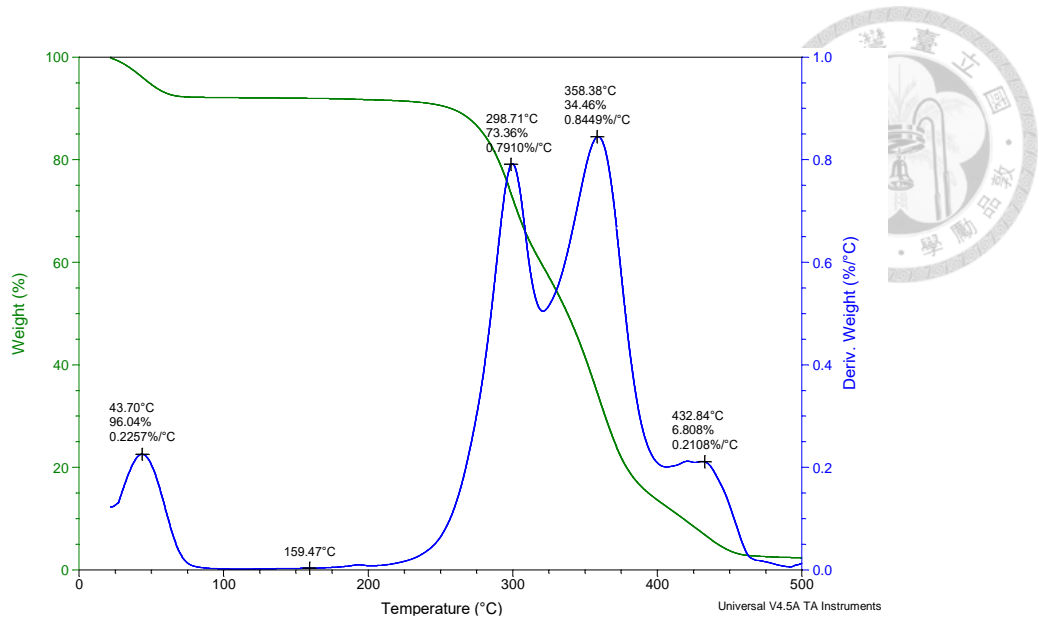
圖二十、 β CD 之熱重分析圖。

Figure 20. TGA thermogram of β CD.



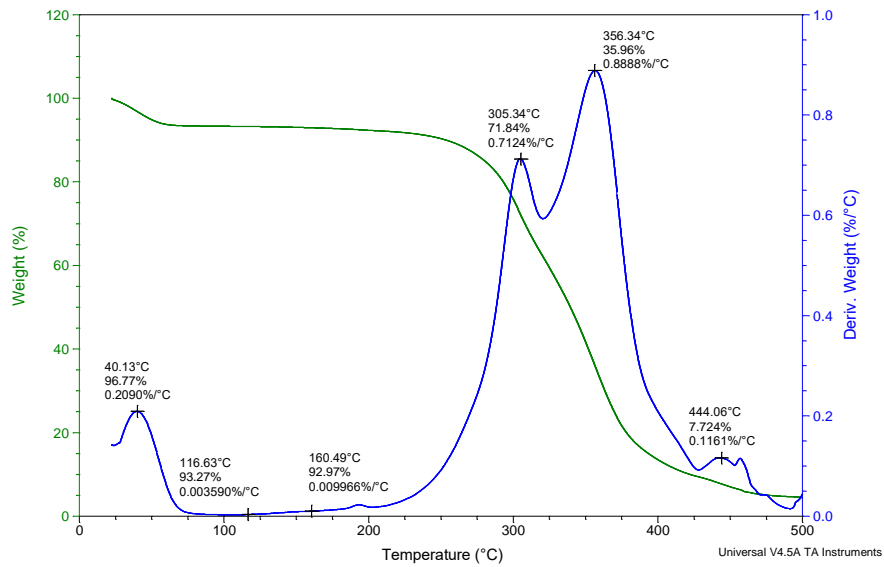
圖二十一、檸檬烯之熱重分析圖。

Figure 22. TGA thermogram of limonene.



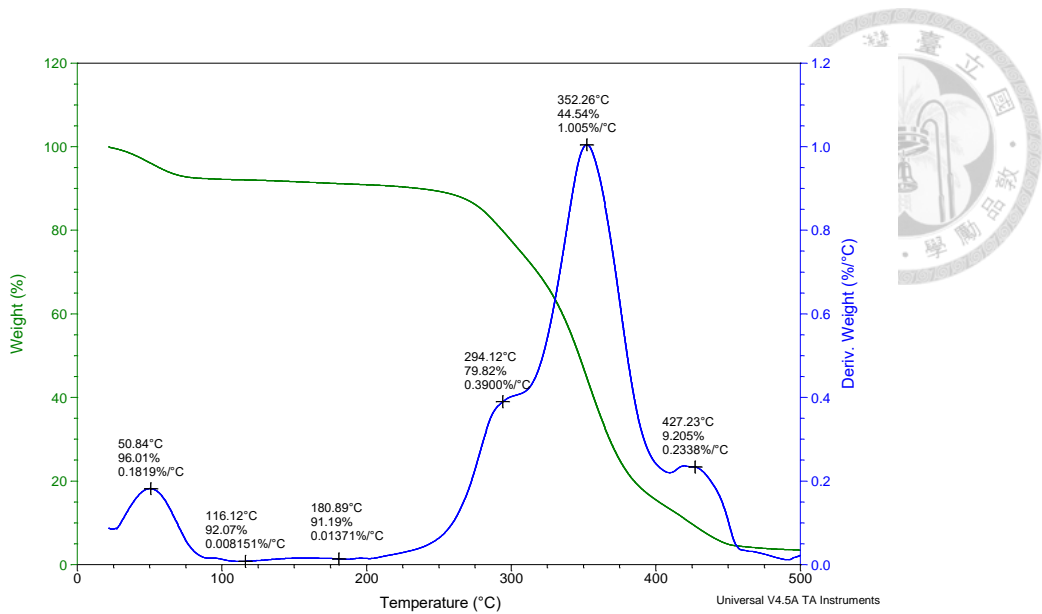
圖二十二、PVA 奈米薄膜之熱重分析圖。

Figure 22. TGA thermogram of PVA nanofibers.



圖二十三、PVA/limonene 奈米薄膜之熱重分析圖。

Figure 23. TGA thermogram of PVA/ limonene nanofibers.

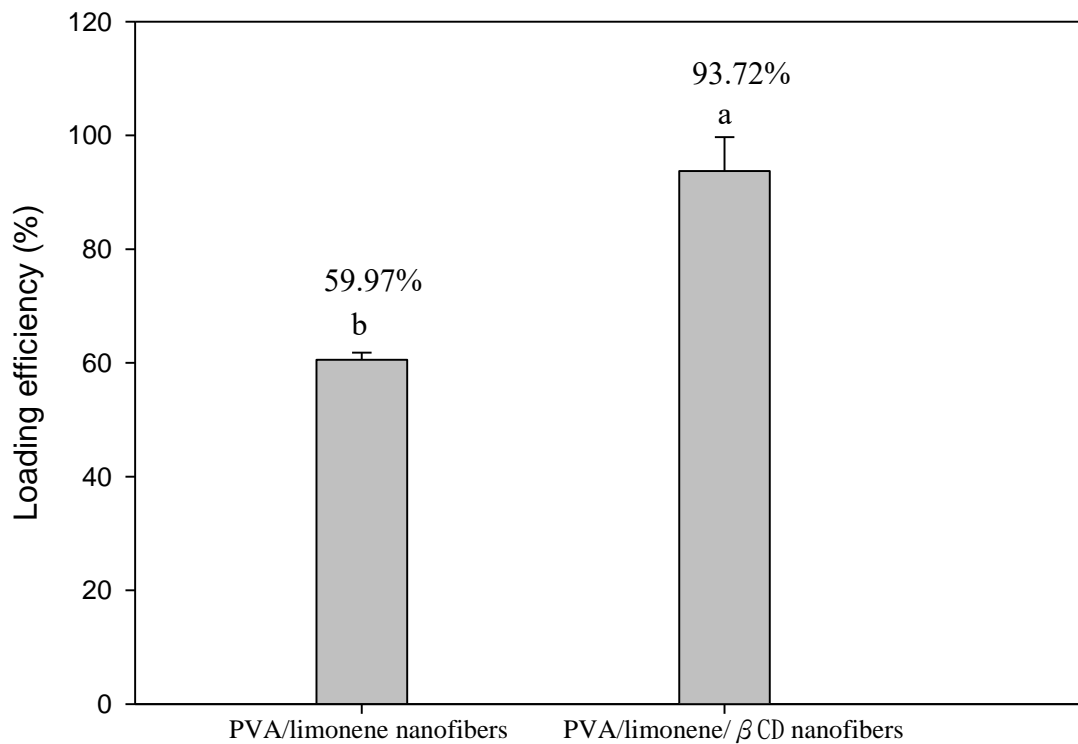


圖二十四、PVA/limonene/ β CD 奈米薄膜之熱重分析圖。

Figure 24. TGA thermograms of PVA/ limonene/ β CD nanofibers.

5.5 樣品承載效率

樣品的承載效率結果如圖二十五，在 PVA/limonene 奈米薄膜組的 limonene 承載效率為 59.97%，PVA/limonene/ β CD 奈米薄膜的承載效率則是 93.72%，兩組樣品承載效率有顯著差異是因 β CD 確有包埋檸檬烯效果，此可由先前的 X 光繞射分析及熱重分析實驗驗證，因此 PVA/limonene/ β CD 組檸檬烯承載量較多且在靜電紡絲過程中的揮發量較少。而 PVA/limonene 組本身仍承載檸檬烯之原因是檸檬烯本身因疏水特性而聚集於溶液中，於靜電紡絲過程後未揮發完全，因此會有部分檸檬烯存在於膜上。



圖二十五、樣品承載效率分析。

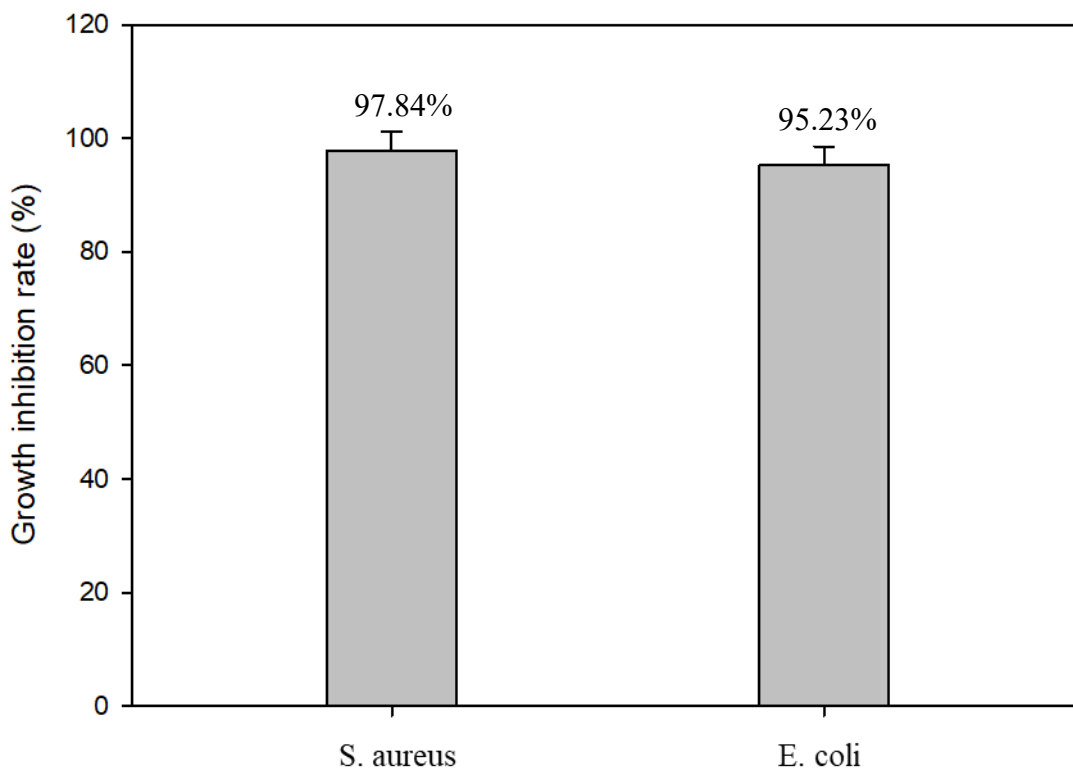
a~b 表示不同組別具顯著差異($p < 0.05$)。

Figure 25. loading efficiency of different samples.

a~b letter is significantly different among all sample test ($p < 0.05$).



5.6 抗菌試驗



圖二十六、PVA/ limonene/ β CD 奈米薄膜抗菌試驗結果。

Figure 26. Growth inhibition rate (%) of *E. coli* and *S. aureus* in PVA/ limonene/ β CD nanofibers.

抗菌試驗的結果如圖二十六，PVA/limonene/ β CD 奈米薄膜對於食品常見病原菌：大腸桿菌具有 95.23% 的抑菌效果，金黃色葡萄球菌 97.84%。由此實驗可知含有檸檬烯的 PVA/ limonene/ β CD 薄膜對兩種常見之食品病原菌具抗菌性，此外，靜電紡絲製程過程中使用高電壓並無影響到檸檬烯之抗菌性。兩種細菌具不同抗菌性之原因在於細胞壁的結構不同，革蘭氏陰性菌細胞壁外層有層磷脂質組成的薄膜，這讓疏水性的抗菌物質較難進入細胞內部，因此大腸桿菌對檸檬烯具有較強的抵抗力⁷³。

第六章、結論



本實驗結果可了解 PVA 溶液於不同濃度及不同操作參數下對靜電紡絲成品纖維型態的影響，依據實驗結果選擇之操作參數：電壓 18 kV, 流速：0.4 mL/h, 工作距離 20 cm，於靜電紡絲後可得外型光滑且平均直徑為 184 奈米之 PVA/ limonene/ β CD 奈米薄膜，粒徑較小表明可具有更大的表面積與體積比，可提升膜與目標作用物之反應速率。透過 X 光繞射分析圖譜觀測到成品 PVA/ limonene/ β CD 奈米薄膜具溝道型 β CD 的特徵波峰，證明本實驗製程對檸檬烯確有包埋效果，而非單純以鑲嵌形式附著於膜上，此兩者差異攸關檸檬烯於環境中之穩定性，並對後續應用有正面效果。在熱重分析試驗裡，比較各樣品於加熱過程中的重量損失特性，未使用 β CD 之 PVA/limonene 奈米薄膜組別對照有使用 β CD 之 PVA/limonene/ β CD 奈米薄膜組，發現後者能提升檸檬烯的熱穩定性，這是因為 β CD 包埋的效果，實務上之優點為減少檸檬烯於貯存期的揮發，並延長作用時間。而被包埋及熱穩定性提升之成效在成品 PVA/ limonene/ β CD 奈米薄膜對檸檬烯的承載效率上充分展現，帶來揮發性下降及熱穩定性提升等正面效應，有效提升檸檬烯承載效率至 93.72%。抗菌試驗部分，PVA/limonene/ β CD 奈米薄膜對大腸桿菌及金黃色葡萄球菌的具優良抗菌效果。總結，新開發的 PVA/limonene/ β CD 奈米薄膜具有高的承載效率、熱穩定性及抗菌活性，有應用於食品包裝和生物醫學領域的潛力。

第七章、未來展望



為了進一步評估纖維特性，儲存試驗、釋放試驗以及纖維抗拉力強度測試的執行，可做為未來應用之參考。

未來如欲提升功能性，增加薄膜之抗菌性是可行的選項，選用抗菌聚合物作為纖維基質並配合抗菌物質達到加乘作用，可卓越提升對細菌的抗菌性。

靜電紡絲製成的纖維應用多元，除本論文將纖維用於抗菌試驗，相關能延伸的題目如過濾膜、抗菌敷料、生物傳遞系統。靜電紡絲在過濾膜應用的優點在於製成之纖維直徑小、具高孔隙率、纖維相互連接且單位體積的表面積大，適合用於過濾物質⁷⁷。抗菌敷料部分，靜電紡絲製成的纖維與人體組織密合性高，配合選用之聚合物材料，可有效促進組織細胞增生⁷²。在生物傳遞系統中，靜電紡絲製成的纖維可增加包覆之活性物質於體內的生物利用率⁹。

第八章、參考資料



1. Aggarwal, K., Khanuja, S., Ahmad, A., Santha Kumar, T., Gupta, V. K., Kumar, S.,
Antimicrobial activity profiles of the two enantiomers of limonene and carvone isolated
from the oils of *Mentha spicata* and *Anethum sowa*. *Flavour and Fragrance Journal* **2002**,
17 (1), 59-63.
2. Appendini, P., Hotchkiss, J. H., Review of antimicrobial food packaging. *Innovative
Food Science & Emerging Technologies* **2002**, *3* (2), 113-126.
3. Bhardwaj, N., Kundu, S. C., Electrospinning: a fascinating fiber fabrication
technique. *Biotechnology advances* **2010**, *28* (3), 325-347.
4. Bhushani, J. A., Anandharamakrishnan, C., Electrospinning and electrospraying
techniques: Potential food based applications. *Trends in Food Science & Technology* **2014**,
38 (1), 21-33.
5. Blehn, G., Ernsberger, M., Polyvinyl alcohol as an emulsifying agent. *Industrial &
Engineering Chemistry* **1948**, *40* (8), 1449-1453.
6. Brandenberger, H., Nüssli, D., Piech, V., Widmer, F., Monodisperse particle
production: A method to prevent drop coalescence using electrostatic forces. *Journal of
electrostatics* **1999**, *45* (3), 227-238.
7. Cava, D., Gimenez, E., Gavara, R., Lagaron, J., Comparative performance and



barrier properties of biodegradable thermoplastics and nanobiocomposites versus PET for food packaging applications. *Journal of Plastic Film & Sheeting* **2006**, 22 (4), 265-274.

8. Coles, R., McDowell, D., Kirwan, M. J., *Food packaging technology*. CRC Press: 2003; Vol. 5.

9. de Vos, P., Faas, M. M., Spasojevic, M., Sikkema, J., Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food components. *International dairy journal* **2010**, 20 (4), 292-302.

10. De Vrieze, S., Van Camp, T., Nelvig, A., Hagström, B., Westbroek, P., De Clerck, K., The effect of temperature and humidity on electrospinning. *Journal of materials science* **2009**, 44 (5), 1357.

11. Dietrich, D. R., Swenberg, J. A., The presence of α_2 -globulin is necessary for d-limonene promotion of male rat kidney tumors. *Cancer research* **1991**, 51 (13), 3512-3521.

12. Dong, Q., Wang, G., Hu, H., Yang, J., Qian, B., Ling, Z., Qiu, J., Ultrasound-assisted preparation of electrospun carbon nanofiber/graphene composite electrode for supercapacitors. *Journal of Power Sources* **2013**, 243, 350-353.

13. Du, J., Hsieh, Y.-L., Nanofibrous membranes from aqueous electrospinning of carboxymethyl chitosan. *Nanotechnology* **2008**, 19 (12), 125707.

14. Eichhorn, S. J., Sampson, W. W., Statistical geometry of pores and statistics of



porous nanofibrous assemblies. *Journal of the royal society Interface* **2005**, 2 (4), 309-318.

15. Elegbede, J., Elson, C., Qureshi, A., Tanner, M., Gould, M., Inhibition of DMBA-induced mammary cancer by the monoterpene d-limonene. *Carcinogenesis* **1984**, 5 (5), 661-664.

16. Elson, C. E., Maltzman, T. H., Boston, J. L., Tanner, M. A., Gould, M. N., Anti-carcinogenic activity of d-limonene during the initiation and promotion/progression stages of DMBA-induced rat mammary carcinogenesis. *Carcinogenesis* **1988**, 9 (2), 331-332.

17. Fei Liu, X., Lin Guan, Y., Zhi Yang, D., Li, Z., De Yao, K., Antibacterial action of chitosan and carboxymethylated chitosan. *Journal of applied polymer science* **2001**, 79 (7), 1324-1335.

18. Fong, H., Chun, I., Reneker, D., Beaded nanofibers formed during electrospinning. *Polymer* **1999**, 40 (16), 4585-4592.

19. Frömmling, K.-H., Szejtli, J., *Cyclodextrins in pharmacy*. Springer Science & Business Media: 1993; Vol. 5.

20. Fried, J. R., *Polymer science and technology*. Pearson Education: 2014.

21. Fuenmayora, C. A., Mascheronia, E., Cosioa, M. S., Piergiovannia, L., Benedettia, S., Ortenzic, M., Schiraldia, A., Manninoa, S., Encapsulation of R-(+)-limonene in edible

electrospun nanofibers. *Chemical Engineering* **2013**, 32, 1771-1776.

22. Ghaani, M., Cozzolino, C. A., Castelli, G., Farris, S., An overview of the intelligent packaging technologies in the food sector. *Trends in Food Science & Technology* **2016**, 51, 1-11.

23. Höfer, D., Antimicrobial textiles—evaluation of their effectiveness and safety. In *Biofunctional textiles and the skin*, Karger Publishers: 2006; Vol. 33, pp 42-50.

24. Haider, A., Haider, S., Kang, I.-K., A comprehensive review summarizing the effect of electrospinning parameters and potential applications of nanofibers in biomedical and biotechnology. *Arabian Journal of Chemistry* **2015**.

25. Haider, A., Kim, S., Huh, M.-W., Kang, I.-K., BMP-2 grafted nHA/PLGA hybrid nanofiber scaffold stimulates osteoblastic cells growth. *BioMed research international* **2015**, 2015.

26. Han, J. H., *Innovations in food packaging*. Elsevier: 2005.

27. Harada, A., Okada, M., Li, J., Kamachi, M., Preparation and characterization of inclusion complexes of poly (propylene glycol) with cyclodextrins. *Macromolecules* **1995**, 28 (24), 8406-8411.

28. Hardiansyah, A., Tanadi, H., Yang, M.-C., Liu, T.-Y., Electrospinning and antibacterial activity of chitosan-blended poly (lactic acid) nanofibers. *Journal of Polymer Research* **2015**, 22 (4), 59.



29. Hine, T., *The Total Package: The Evolution and Secret Meanings of Boxes, Bottle, Cars and Tubes*. Thomas Hine: 1995.
30. Huang, L., Bui, N. N., Manickam, S. S., McCutcheon, J. R., Controlling electrospun nanofiber morphology and mechanical properties using humidity. *Journal of polymer science part B: Polymer physics* **2011**, 49 (24), 1734-1744.
31. Huang, Z.-M., Zhang, Y.-Z., Kotaki, M., Ramakrishna, S., A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites. *Composites science and technology* **2003**, 63 (15), 2223-2253.
32. Ignatova, M., Manolova, N., Markova, N., Rashkov, I., Electrospun non-woven nanofibrous hybrid mats based on chitosan and PLA for wound-dressing applications. *Macromolecular bioscience* **2009**, 9 (1), 102-111.
33. Imran, M., Revol-Junelles, A.-M., Martyn, A., Tehrany, E. A., Jacquot, M., Linder, M., Desobry, S., Active food packaging evolution: transformation from micro-to nanotechnology. *Critical reviews in food science and nutrition* **2010**, 50 (9), 799-821.
34. Jia, H., Zhu, G., Vugrinovich, B., Kataphinan, W., Reneker, D. H., Wang, P., Enzyme-carrying polymeric nanofibers prepared via electrospinning for use as unique biocatalysts. *Biotechnology progress* **2002**, 18 (5), 1027-1032.
35. Jiang, H., Wang, L., Zhu, K., Coaxial electrospinning for encapsulation and controlled release of fragile water-soluble bioactive agents. *Journal of Controlled Release*



2014, *193*, 296-303.

36. Kaewprachu, P., Rawdkuen, S., Application of Active Edible Film as Food Packaging for Food Preservation and Extending Shelf Life. In *Microbes in food and health*, Springer: 2016; pp 185-205.

37. Kayaci, F., Umu, O. C., Tekinay, T., Uyar, T., Antibacterial electrospun poly (lactic acid)(PLA) nanofibrous webs incorporating triclosan/cyclodextrin inclusion complexes. *Journal of agricultural and food chemistry* **2013**, *61* (16), 3901-3908.

38. Kumar, R., Münstedt, H., Silver ion release from antimicrobial polyamide/silver composites. *Biomaterials* **2005**, *26* (14), 2081-2088.

39. Lannutti, J., Reneker, D., Ma, T., Tomasko, D., Farson, D., Electrospinning for tissue engineering scaffolds. *Materials Science and Engineering: C* **2007**, *27* (3), 504-509.

40. Laudenslager, M. J., Sigmund, W. M., Electrospinning. In *Encyclopedia of nanotechnology*, Springer: 2012; pp 769-775.

41. Li, D., Xia, Y., Electrospinning of nanofibers: reinventing the wheel? *Advanced materials* **2004**, *16* (14), 1151-1170.

42. Li, X., Jin, Z., Wang, J., Complexation of allyl isothiocyanate by α - and β -cyclodextrin and its controlled release characteristics. *Food chemistry* **2007**, *103* (2), 461-466.

43. Lis-Balchin, M., Hart, S., Deans, S., Eaglesham, E., Comparison of the



pharmacological and antimicrobial action of commercial plant essential oils. *Journal of herbs, spices & medicinal plants* **1996**, 4 (2), 69-86.

44. Liu, Y., Wang, S., Lan, W., Qin, W., Fabrication of polylactic acid/carbon nanotubes/chitosan composite fibers by electrospinning for strawberry preservation.

International journal of biological macromolecules **2019**, 121, 1329-1336.

45. Mahalik, N. P., Nambiar, A. N., Trends in food packaging and manufacturing systems and technology. *Trends in Food Science & Technology* **2010**, 21 (3), 117-128.

46. Mansoori, G. A., *Principles of nanotechnology: molecular-based study of condensed matter in small systems*. World Scientific: 2005.


47. Marques, H. M. C., A review on cyclodextrin encapsulation of essential oils and volatiles. *Flavour and fragrance journal* **2010**, 25 (5), 313-326.

48. Marsh, K., Bugusu, B., Food packaging--roles, materials, and environmental issues. *J Food Sci* **2007**, 72 (3), R39-55.

49. Moghe, A., Gupta, B., Co-axial electrospinning for nanofiber structures: preparation and applications. *Polymer Reviews* **2008**, 48 (2), 353-377.

50. Nagy, Z. K., Balogh, A., Drávavölgyi, G., Ferguson, J., Pataki, H., Vajna, B., Marosi, G., Solvent-free melt electrospinning for preparation of fast dissolving drug delivery system and comparison with solvent-based electrospun and melt extruded systems.

Journal of pharmaceutical sciences **2013**, 102 (2), 508-517.

- 
51. Nazzaro, F., Fratianni, F., De Martino, L., Coppola, R., De Feo, V., Effect of essential oils on pathogenic bacteria. *Pharmaceuticals* **2013**, *6* (12), 1451-1474.
52. Ojha, S. S., Afshari, M., Kotek, R., Gorga, R. E., Morphology of electrospun nylon-6 nanofibers as a function of molecular weight and processing parameters. *Journal of applied polymer science* **2008**, *108* (1), 308-319.
53. Olstein, A. D., Polymeric biocidal agents. Google Patents: 1992.
54. Ozdemir, M., Floros, J. D., Active food packaging technologies. *Crit Rev Food Sci Nutr* **2004**, *44* (3), 185-93.
55. Ozdemir, M., Floros, J. D., Active food packaging technologies. *Critical reviews in food science and nutrition* **2004**, *44* (3), 185-193.
56. Pardini, S. P., Method for imparting antimicrobial activity from acrylics. Google Patents: 1987.
57. Park, J.-Y., Lee, I.-H., Relative humidity effect on the preparation of porous electrospun polystyrene fibers. *Journal of nanoscience and nanotechnology* **2010**, *10* (5), 3473-3477.
58. Pillay, V., Dott, C., Choonara, Y. E., Tyagi, C., Tomar, L., Kumar, P., du Toit, L. C., Ndesendo, V. M., A review of the effect of processing variables on the fabrication of electrospun nanofibers for drug delivery applications. *Journal of Nanomaterials* **2013**, *2013*.

59. Pinho, E., Magalhães, L., Henriques, M., Oliveira, R., Antimicrobial activity assessment of textiles: standard methods comparison. *Annals of microbiology* **2011**, *61* (3), 493-498.



60. Priolo, M. A., Gamboa, D., Grunlan, J. C., Transparent clay– polymer nano brick wall assemblies with tailorable oxygen barrier. *ACS Applied Materials & Interfaces* **2009**, *2* (1), 312-320.

61. Regulation, E., No. 1935/2004 of the European Parliament and of the Council of 27 October 2004 on materials and articles intended to come into contact with food and repealing Directives 80/590/EEC and 89/109/EEC. *Off J Eur Union L* **2004**, *338* (4).

62. Robertson, G. L., *Food packaging: principles and practice*. CRC press: 2005.

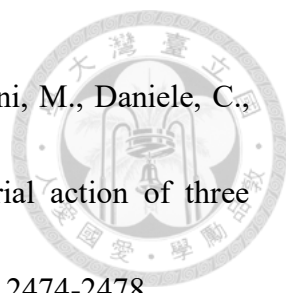
63. Roco, M., Williams, R., Alivisatos, P. *Nanotechnology Research Directions: IWGN Workshop Report. Vision for Nanotechnology R&D in the Next Decade*; NATIONAL SCIENCE AND TECHNOLOGY COUNCIL ARLINGTON VA: 1999.

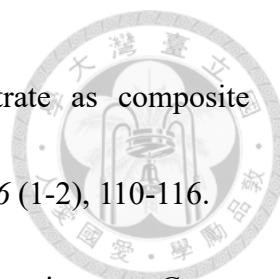
64. Sanchez-Garcia, M., Gimenez, E., Lagaron, J., Novel PET nanocomposites of interest in food packaging applications and comparative barrier performance with biopolyester nanocomposites. *Journal of Plastic Film & Sheeting* **2007**, *23* (2), 133-148.

65. Sandulescu, R., Cristea, C., Harceaga, V., Bodoki, E., Electrochemical sensors and biosensors for the pharmaceutical and environmental analysis. In *Environmental Biosensors*, InTech: 2011.



66. Sekhon, B. S., Food nanotechnology—an overview. *Nanotechnology, science and applications* **2010**, 3, 1.
67. Shalumon, K., Binulal, N., Selvamurugan, N., Nair, S., Menon, D., Furuike, T., Tamura, H., Jayakumar, R., Electrospinning of carboxymethyl chitin/poly (vinyl alcohol) nanofibrous scaffolds for tissue engineering applications. *Carbohydrate Polymers* **2009**, 77 (4), 863-869.
68. Sill, T. J., von Recum, H. A., Electrospinning: applications in drug delivery and tissue engineering. *Biomaterials* **2008**, 29 (13), 1989-2006.
69. Sinha Ray, S., Yamada, K., Okamoto, M., Ueda, K., Polylactide-layered silicate nanocomposite: a novel biodegradable material. *Nano Letters* **2002**, 2 (10), 1093-1096.
70. Subbiah, T., Bhat, G., Tock, R., Parameswaran, S., Ramkumar, S., Electrospinning of nanofibers. *Journal of applied polymer science* **2005**, 96 (2), 557-569.
71. Sun, B., Long, Y., Zhang, H., Li, M., Duvail, J., Jiang, X., Yin, H., Advances in three-dimensional nanofibrous macrostructures via electrospinning. *Progress in Polymer Science* **2014**, 39 (5), 862-890.
72. Supaphol, P., Suwanton, O., Sangsanoh, P., Srinivasan, S., Jayakumar, R., Nair, S. V., Electrospinning of biocompatible polymers and their potentials in biomedical applications. In *Biomedical applications of polymeric nanofibers*, Springer: 2011; pp 213-239.

- 
73. Trombetta, D., Castelli, F., Sarpietro, M. G., Venuti, V., Cristani, M., Daniele, C., Saija, A., Mazzanti, G., Bisignano, G., Mechanisms of antibacterial action of three monoterpenes. *Antimicrobial agents and chemotherapy* **2005**, *49* (6), 2474-2478.
74. Uyar, T., Nur, Y., Hacaloglu, J., Besenbacher, F., Electrospinning of functional poly (methyl methacrylate) nanofibers containing cyclodextrin-menthol inclusion complexes. *Nanotechnology* **2009**, *20* (12), 125703.
75. VAN DER LOGT, E. M., ROELOFS, H. M., VAN LIESHOUT, E. M., NAGENGAST, F. M., PETERS, W. H., Effects of dietary anticarcinogens and nonsteroidal anti-inflammatory drugs on rat gastrointestinal UDP-glucuronosyltransferases. *Anticancer research* **2004**, *24* (2B), 843-850.
76. Vanderroost, M., Ragaert, P., Devlieghere, F., De Meulenaer, B., Intelligent food packaging: The next generation. *Trends in Food Science & Technology* **2014**, *39* (1), 47-62.
77. Veleirinho, B., Lopes-da-Silva, J., Application of electrospun poly (ethylene terephthalate) nanofiber mat to apple juice clarification. *Process Biochemistry* **2009**, *44* (3), 353-356.
78. Viswanathan, S., Radecki, J., Nanomaterials in electrochemical biosensors for food analysis-a review. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences* **2008**, *58* (2).
79. Wang, X., Zhang, K., Yang, Y., Wang, L., Zhou, Z., Zhu, M., Hsiao, B. S., Chu, B.,



Development of hydrophilic barrier layer on nanofibrous substrate as composite membrane via a facile route. *Journal of Membrane Science* **2010**, 356 (1-2), 110-116.

80. Wattenberg, L., Inhibition of neoplasia by minor dietary constituents. *Cancer Research* **1983**, 43 (5 Suppl), 2448s-2453s.

81. Wen, P., Zhu, D.-H., Wu, H., Zong, M.-H., Jing, Y.-R., Han, S.-Y., Encapsulation of cinnamon essential oil in electrospun nanofibrous film for active food packaging. *Food Control* **2016**, 59, 366-376.

82. Wong, Y., Yuen, C., Leung, M., Ku, S., Lam, H., Selected applications of nanotechnology in textiles. *AUTEX Research Journal* **2006**, 6 (1), 1-8.

83. Xu, X., Zhuang, X., Chen, X., Wang, X., Yang, L., Jing, X., Preparation of core-sheath composite nanofibers by emulsion electrospinning. *Macromolecular Rapid Communications* **2006**, 27 (19), 1637-1642.

84. Yam, K., Intelligent packaging to enhance food safety and quality. In *Emerging Food Packaging Technologies*, Elsevier: 2012; pp 137-152.

85. Yam, K. L., *The Wiley encyclopedia of packaging technology*. John Wiley & Sons: 2010.

86. Yoshii, H., Neoh, T.-L., Beak, S.-H., Furuta, T., Release behavior of flavor encapsulated CD in slurry solution under boiling conditions. *Journal of inclusion phenomena and macrocyclic chemistry* **2006**, 56 (1-2), 113.

87. Zargham, S., Bazgir, S., Tavakoli, A., Rashidi, A. S., Damerchely, R., The Effect of Flow Rate on Morphology and Deposition Area of Electrospun Nylon 6 Nanofiber.

Journal of Engineered Fabrics & Fibers (JEFF) **2012**, 7 (4).

88. Zhang, Z., Britt, I. J., Tung, M. A., Oxygen ingress in plastic retortable packages during thermal processing and storage. *Journal of Plastic Film & Sheeting* **1998**, 14 (4), 287-307.

89. Zheng, J., Zhang, H., Zhao, Z., Han, C. C., Construction of hierarchical structures by electrospinning or electrospraying. *Polymer* **2012**, 53 (2), 546-554.

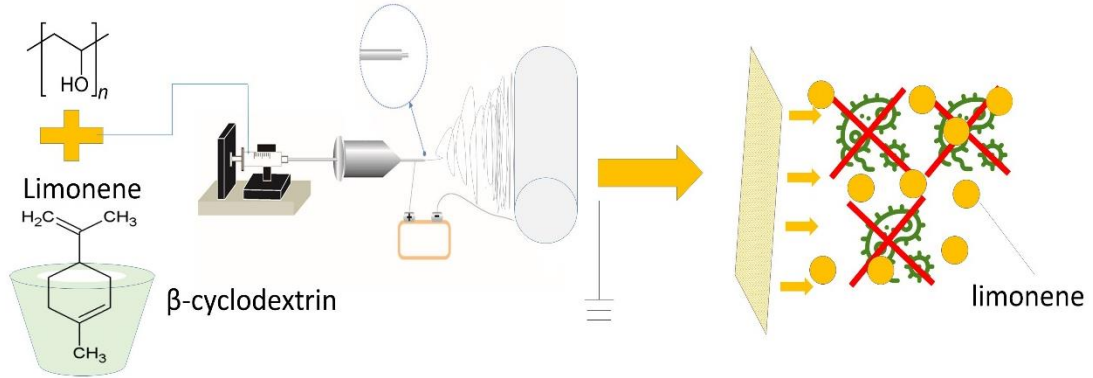
90. Zuo, W., Zhu, M., Yang, W., Yu, H., Chen, Y., Zhang, Y., Experimental study on relationship between jet instability and formation of beaded fibers during electrospinning.

Polymer Engineering & Science **2005**, 45 (5), 704-709.

附錄一



Polyvinyl alcohol



PVA/limonene/βCD nanofibers exhibited 97.84% and 95.23% antibacterial ability against *S.aureus* and *E.coli*.