

東 海 大 學

工業工程與經營資訊學系

碩士論文

使用光固化水性材料建構三維列印軟骨支架  
之近似最佳化研究

研 究 生：張雯晴

指 導 教 授：王偉華 博士

陳怡文 博士

中 華 民 國 一 〇 五 年 六 月

**Approximate Optimization Study of Light Curing  
Waterbone Polyurethane Materials for the Construction of  
3D Printed Cytocompatible Cartilage Scaffolds**

By  
Wen Ching Chang

Advisors : Dr. Wei-Hua Wang  
Dr. Yi- Wen Chen

A Thesis  
Submitted to the Institute of Industrial Engineering and  
Enterprise Information at Tunghai University  
in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Science  
in  
Industrial Engineering and Enterprise Information

June 2016  
Taichung , Taiwan

# 使用光固化水性材料建構三維列印軟骨支架之近似最佳化研究

學生：張雯晴

指導教授：王偉華 博士

陳怡文 博士

東海大學工業工程與經營資訊學系

## 摘 要

關節軟骨位於硬骨與硬骨的交接面，是一個厚度約為 1~2 mm 的白色透明組織，主要功能為傳遞上下硬骨的應力、吸收衝擊力和降低摩擦力等。當關節軟骨受損時人體無法感受到疼痛，並且難以自體修復與再生。現有之臨床治療方案是利用裝置人工關節、玻尿酸注射、關節透鏡手術和軟骨組織工程等方式來取代已受損的軟骨，達到支撐及降低疼痛的功能。其中許多治療方案，都是以異物植入方式取代原來人體組織，本研究則傾向利用再生醫學的方式，積層製造組織工程的方法及幹細胞的技術重建軟骨組織。尤其如何製作出生物相容的仿生軟骨支架，並促進細胞貼附及生長，是近年來許多研究投入的重點之一。本研究希望藉由實驗設計法開發出可應用在數位光固化技術的生物相容性材料，且此材料能符合軟骨生物支架製造的需求，並結合生物支架設計、機台製程參數，達到軟骨生物支架製程的最佳化。此外，本研究將結合軟骨組織工程的概念及積層製造技術，以三維列印的方式建構軟骨生物支架，期望未來能應用於膝關節軟骨損傷的治療，並客製化軟骨生物支架。

**關鍵字詞：** 軟骨生物支架、光固化水性 PU、數位光固化技術、實驗設計

# **Approximate Optimization Study of Light Curing Waterbone Polyurethane Materials for the Construction of 3D Printed Cytocompatible Cartilage Scaffolds**

Student : Wen Ching Chang

Advisors : Dr. Wei-Hua Wang  
Dr. Yi- Wen Chen

Department of Industrial Engineering and Enterprise Information  
Tunghai University

## **ABSTRACT**

Articular cartilage, which is a white transparent tissue with 1 ~ 2 mm thickness, is located in the interface between the two hard bones. The main functions of articular cartilage are stress transmission, absorption, and friction reduction. The cartilage cannot be repaired and regenerated once it has been damaged, which need to be replaced by artificial joints. Many approaches such as artificial joint replacement, hyaluronic acid injection, microfracture surgery and cartilage tissue engineering have been applied in clinical treatment. Basically, some of these approaches are foreign material implantation for joint replacement to reach the goal of pain reduction and mechanism supporting. This study demonstrated another frontier research of cartilage reconstruction by applying regeneration medicine, additive manufacturing (3D Printing) approach and stem cell technology. Light curing materials have been modified and tested to be printable and cytocompatible for stem cells in this research. Design of Experiments (DOE) is adapted in this investigation to search the optimal manufacturing parameter for biocompatible scaffold fabrication and stem cell attachment and growth. Based on the results of this thesis, we will conclude an optimal working process of biocompatible and printable scaffolds for cartilage regeneration; hopefully, this will create an innovative clinical treatment for cartilage ageing, damage, and replacement.

**Keywords : Cartilage Scaffold, Light Curing Waterbone Polyurethane, Digital Light Processing, Design of Experiments**

## 誌謝

轉眼之間，研究所的生涯到了尾聲，而我能夠完成這份論文，首先要感謝我的指導教授陳怡文老師與王偉華老師，二位老師在這兩年時間的細心指導，從一開始的論文方向、文獻的探討到最後真正將實驗完成，每次的開會都讓我獲益良多，同時也謝謝老師給予我帶著專題生參加比賽的機會，讓我增加帶團隊的經驗。

在研究所的日子裡，感謝學長姐、同學以及學弟妹們的幫助。政憲學長、忠軒學長及佳蕙學姊，除了在課業上提醒我們該注意的事項，也會提供自身的經驗給我們參考，時常鼓勵並給予及時的幫助。除了學長姐之外，也要謝謝 AUTO 研究室的夥伴們，一同上課、討論、熬夜，也一起度過無數個歡樂的時光，因為有你們，使我的研究所生活不覺得枯燥乏味。另外，還要謝謝學弟妹侑蓁、哲瑋及威鈞，在我忙到焦頭爛額時候，給予的協助與支持。最後，要感謝我最親愛的家人，因為有你們的關心與鼓勵，讓我可以無後顧之憂地完成學業。

謹將這份成果獻給每一位幫助過我的人，因為有你們的支持及鼓勵，才能將此論文完成。

張雯晴 謹誌於

東海大學工業工程與經營資訊學系研究所

中華民國一〇五年六月

# 目錄

摘要 .....	i
ABSTRACT.....	ii
誌謝 .....	iii
目錄 .....	iv
表目錄 .....	vi
圖目錄 .....	vii
第一章 緒論 .....	1
1.1 研究背景 .....	1
1.2 研究動機 .....	2
1.3 研究目的 .....	3
1.4 研究架構 .....	3
第二章 文獻探討 .....	5
2.1 組織工程 .....	5
2.2 生物支架製造技術發展 .....	6
2.3 實驗設計法 .....	12
第三章 研究方法與流程 .....	14
3.1 實驗設備與材料 .....	14
3.2 實驗流程 .....	17
3.3 參數設定 .....	20
3.4 部分因子實驗 .....	23
3.5 反應值測定 .....	24
3.6 小結 .....	27
第四章 實驗數據與結果 .....	28
4.1 實驗數據 .....	28
4.2 ANOVVA 分析 .....	29
4.3 分析討論 .....	33
4.4 驗證實驗 .....	35
4.5 小結 .....	39
第五章 結果與未來建議 .....	40

5.1 結論 .....	40
5.2 未來建議 .....	40
參考文獻 .....	42
附錄 .....	45

## 表目錄

表 2.1 各種積層製造技術比較 .....	9
表 3.1 光固化型水性聚氨酯材料特性 .....	15
表 3.2 Miicraft 機台規格 .....	16
表 3.3 強度測試機規格 .....	17
表 3.4 本研究實驗因子與水準 .....	22
表 3.5 $2^{5-2}$ 部分因子實驗設計之實驗組合 .....	23
表 3.6 四種反應變數 .....	27
表 4.1 本研究之實驗組合與反應值 .....	28
表 4.2 徑向強度之 ANOVA 分析 .....	29
表 4.3 楊氏模數之 ANOVA 分析 .....	30
表 4.4 細胞貼覆量之 ANOVA 分析.....	31
表 4.5 細胞存活率之 ANOVA 分析.....	32
表 4.6 顯著因子統整表 .....	33
表 4.7 四組參數最佳化組合 .....	36
表 4.8 四組組數實際印製結果 .....	36
表 4.9 各組數實際數據 .....	37
表 4.10 組數 4 最佳參數驗證 .....	38



## 圖目錄

圖 2.1 組織工程流程圖 .....	5
圖 3.1 聚氨酯化學式 .....	14
圖 3.2 光固化型基本反應示意圖 .....	14
圖 3.3 實驗流程 .....	17
圖 3.4 材料去水 .....	18
圖 3.5 HEMA 和光起始劑混合 .....	19
圖 3.6 生物支架設計 .....	19
圖 3.7 強度測試機 .....	24
圖 3.8 細胞貼覆簡易流程 .....	25
圖 3.9 細胞存活率簡易流程 .....	26
圖 4.1 相同孔隙率、不同單體大小之比較 .....	34
圖 4.2 相同孔隙率、不同 HEMA 之比較 .....	34
圖 4.3 相同單體大小、不同孔隙率之比較 .....	35

# 第一章 緒論

## 1.1 研究背景

關節軟骨位於硬骨與硬骨的交接面，是一個層厚 1~2mm 的白色透明組織，主要功能為傳遞上下硬骨的應力、吸收衝擊力和降低摩擦力等。關節軟骨組織內無血管、淋巴系統及神經，軟骨細胞被大量的細胞基質包圍。關節軟骨受損時，軟骨組織難以自體修復與再生，且人體無法感受到疼痛。當人體感受到異樣或疼痛時，通常已受損到有血管和神經的硬骨位置，且關節軟骨已嚴重損傷(廖俊仁, 2009)。現今臨床修復膝關節軟骨的方式有人工膝關節置換手術、玻尿酸注射、膝關節透鏡手術和軟骨組織工程等，但以上方式皆不盡理想，例如：人工膝關節使用壽命約 10~15 年，若應用在青年人須經歷二次以上置換手術，且金屬離子的釋放問題會導致人體長期疼痛。因此，發展出更好的軟骨損傷治療方式是現今極為重要的議題(陳佳君, 張至宏, & 方旭偉, 2015)。

符合軟骨組織特性及合適的支架孔洞設計是製造仿生軟骨生物支架的兩大要素。過去的文獻報導軟骨的楊氏模數(Young's modulus)約為 24 MPa (Claycomb & Tran, 2010)，且過去的研究亦顯示生物支架的孔洞在 350  $\mu\text{m}$  以上較適合細胞生長(Shoufeng Yang et al., 2001)。此外，生物支架製造技術一般分為傳統製造技術和積層製造技術兩類。傳統製造技術有溶劑鑄造-鹽析法 (Solvent-casting particulate-leaching)、氣體發泡法 (Gas foaming)、纖維建結 (Fibre meshes/ fibre bonding) 等(Sachlos & Czernuszka, 2003)。積層製造技術常見的有 3DP™ (3D Printer)<sup>1</sup>、熔融沉積成型 (Fused deposition modeling, FDM)、選擇性雷射燒結 (Selective laser sintering, SLS)、立體平版印刷 (Stereo lithography Apparatus, SLA) 和數位光固化技術 (Digital Light Processing, DLP)(Cha, Piraino, & Khademhosseini, 2014)。上述的技術在第二章文獻探討中會有詳細的介紹。

高精度及低成本是支架製造的發展目標。因此，使用開源(open source)的數位光固化技術(Digital Light Processing, DLP)機台，不僅可以調整製程

---

註 1: 3DP™ 全名為 Powder bed and inkjet head 3D printing

參數，且保有高精度的優點，符合本研究所要印製的軟骨生物支架的需求。但是數位光固化技術所使用的光敏樹脂通常含有有機溶劑，具有毒性，不利細胞在其上生長，且不能作為植入物使用。因此，本研究希望藉由實驗設計法開發出可應用在數位光固化技術的生物相容性材料，且此材料能符合軟骨生物支架製造的需求，並結合生物支架設計、機台製程參數，達到軟骨生物支架製程的最佳化。此外，本研究將結合軟骨組織工程的概念及積層製造技術，以三維列印的方式建構仿生軟骨生物支架，期望未來能應用於膝關節軟骨損傷的治療，並客製化軟骨生物支架。

## 1.2 研究動機

一般傳統生物支架製造技術常遇到的問題如下：

### 材料層面

- 材料降解釋放出的物質使 pH 值呈現酸性，不利於細胞生長。此外，釋放出的顆粒會誘發發炎反應。

### 製程層面

- 製造過程中無法精準控制孔徑、孔洞的形狀、孔洞之間分布狀況和生物支架內部的通道建設。(例如：溶劑鑄造/鹽析法製造出的支架孔洞連通性受鹽粒是否相互接觸影響，且其支架孔徑大小因蒸發和凝聚等複雜因素難以控制。此外，生物支架厚度過高將導致鹽粒難以清除。)

- 纖維鍵結製造出來的生物支架機械強度差。

- 雖然可製造出泡沫式結構的生物支架，但孔洞並不完全通聯，細胞只在生物支架的外圍生長，導致細胞缺乏養分和氧氣，並且產生的代謝物無法去除。

### 後製程層面

- 多數傳統生物支架製造技術會使用有機溶劑，如氯仿和二氯甲烷，溶解合成聚合物。殘留的有機溶劑具有毒性且有致癌的危險，是在技術上遇到最顯著的問題。

因此，急需開發出可應用在積層製造技術的生物相容性材料，並結合生物支架設計、機台製程參數最佳化設定及改善後製程，解決上述問題。

### **1.3 研究目的**

本研究利用實驗設計法( Design of Experiments, DOE )開發具生物相容性且可應用於光固化型三維列印機之生醫材料，並使此材料配方與生物支架設計達到最佳化，以適於軟骨組織工程。本研究使用部分因子實驗設計，期望藉由最少的資源達到最大的效益並能夠達到以下目的：

#### **科學層面**

- 開發出具生物相容性之光固化材料，並利用市售的 DLP 機台製造軟骨支架。

#### **工程層面**

- 藉由實驗設計法及統計分析找出生物支架材料開發、生物支架設計與機台製程參數之間最佳化參數。

#### **技術層面**

- 透過最佳化回歸模型初步建構近似最佳化之仿生軟骨生物支架。

### **1.4 研究架構**

#### **第一章 緒論**

本章介紹研究背景包括關節軟骨受損之嚴重性、已應用於臨床修復關節軟骨之技術、目前修復技術所面臨的瓶頸及生物支架製造的方式與問題，最後說明本研究之研究動機與目的。

#### **第二章 文獻探討**

本章介紹組織工程、組織工程之生物支架及傳統生物支架製造技術之發展，並探討已運用在生物支架技術上的積層製造技術，最後以文獻探討相關製造技術。

#### **第三章 研究方法與流程**

本章針對本研究的實驗流程做詳細的說明，並說明實驗因子的選定和反應值的量化方式。

#### **第四章 實驗數據與結果**

本章針對實驗數據進行分析、討論，並找出製造仿生軟骨生物支架的最佳化參數。

#### **第五章 結論與未來建議**

本章提出本研究之結果與討論，並提出未來可研究之課題。

## 第二章 文獻探討

### 2.1 組織工程

在 2000 年 5 月份的美國《時代》(Time) 雜誌中「組織工程」被列為未來十大熱門工作的榜首，顯示這項技術正朝著蓬勃發展的前景邁進。組織工程致力於組織和器官的再生與形成，並利用材料科學與生物科技的進步，在一個模仿組織與器官形狀的材料中植入細胞，使細胞依著模型來長成新的組織與器官，以供修復人體的組織缺損。這項技術對於世界上許許多多因器官衰竭而亟待修復的患者來說，無疑是一大福音。

組織工程定義為應用生物與工程的原理發展活組織的取代物，來修復、維持或改善人體組織的功能。此取代物可植入人體損傷處，以期能夠達到醫療及修復的目的。

目前組織工程的基本做法，如圖 2.1：(1) 取得細胞；(2) 在體外將細胞培養到足夠的數量；(3) 將細胞填入、培養在人工生物支架中；(4) 依需要加入化學分子或生長因子促進細胞的生長或分化；(5) 將此人工組織植入患者。(李宣書, 2001)

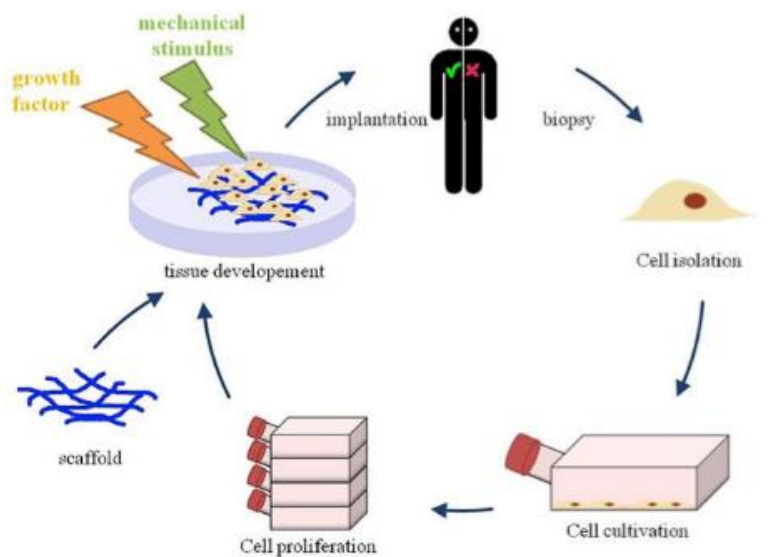


圖 2.1 組織工程流程圖

資料來源：Wikipedia, 2016

組織工程的三大要素為細胞 (cell)、生物支架 (scaffold) 及訊息因子 (signal)。

## 1. 細胞 ( Cell )

大致上分為兩大類，一種是已分化完全的「成熟細胞」，另一種是具有分化能力的「幹細胞」。

## 2. 生物支架 ( Scaffold )

建構三維空間的立體框架，讓植入的細胞可以在其中生長，並更進一步引導細胞朝特定方向生長及分化。

生物支架材料需具有以下特性：

- 生物相容性(Biocompatibility)：材料與人體接觸後不產生免疫反應、無毒性且能使細胞生長及繁殖。
- 生物降解性(Biodegradability)：最理想的狀態是希望材料能被細胞降解，且有恰當的降解速率。當細胞在材料上生長，隨著時間材料會慢慢被分解及代謝。
- 良好的機械強度：要提供細胞可生長的環境，材料除了須具備可支撐的條件外，亦須符合需要的機械強度。

## 3. 訊息因子 ( Signal )

給細胞生長所需的環境，並刺激細胞，誘導分化。

### 2.2 生物支架製造技術發展

生物支架製造技術可分為傳統製造技術和積層製造技術兩類(Sachlos & Czernuszka, 2003)。

## 2.2.1 傳統製造技術

以下介紹的傳統製造技術主要是運用合成或天然的材料以製成多孔結構之生物支架的技術。

### 1. 溶劑鑄造-鹽析法 (Solvent-casting particulate-leaching)

選擇適合的溶劑將高分子聚合物溶解，加入固定大小的鹽類顆粒，均勻攪拌產生懸浮液。將溶劑蒸發後，留下聚合物本身和鹽類顆粒嵌入貫穿其中。將此複合材料浸泡在離子水中，將鹽類顆粒濾出產生孔洞。

### 2. 氣體發泡法 (Gas foaming)

由於不同壓力下氣體在固體中溶解度的不同，透過壓力的改變在聚合物中形成氣腔，並最終形成 3D 多孔生物支架。高分子聚合物的材料性質及製備過程中的各種因素決定生物支架的孔隙率和孔結構。

### 3. 纖維鍵結 (Fibre meshes/fibre bonding)

高分子纖維透過編織、鑄造等方式使纖維之間產生縫隙形成孔洞來製作生物支架。但此種生物支架的結構穩定性低，常使在生物支架上的細胞收縮，導致變形。因此，此技術發展重點在增強機械強度。

### 4. 溶化製造 (Melt moulding)

此過程需要用高分子聚合物與特定直徑的水溶性微球體填充在模具中。高分子聚合物在加熱的過程因高溫而玻璃化 (Glass-Transition Temperature)，同時加壓，使高分子聚合物顆粒聚在一起。模具移除後，用水溶出水溶性微球體，再去除水分，所需生物支架結構即可成形。

### 5. 相分離法 (Phase separation)

將高分子聚合物溶解在熔融的苯酚或萘和生物活性分子中，例如：鹼性磷酸等溶劑中。降溫後產生液-液分離；並急速冷卻形成兩項固體。最後昇華去除溶劑取得有生物活性分子的多孔生物支架結構。

### 6. 冷凍乾燥 (Freeze drying)

高分子聚合物 (例如：聚乳酸-甘醇酸) 溶解在溶劑中。將所得溶液冷凍並乾燥，得到多孔性基質。孔洞的尺寸可以透過冷凍速率和 pH 值控制，



且快速的冷凍速度可以讓孔洞變小。單向凝固已被用來建構一個均勻 3D 的微孔結構。

## 7. 乳化冷凍乾燥 ( Emulsion freeze drying )

將超純透析用水與高分子聚合物溶液均勻混在一起。不相容的液體形成水包油的乳狀液，將此液體倒入模具中，放在液態氮下瞬間冷卻，冷凍乾燥產生多孔結構。

## 8. 溶液鑄模法 ( Solution Casting )

將聚合物溶解於有機溶劑中，並與顆粒混合，再將溶液澆鑄於一個預先設定的三維模具中，脫模後即可成型。

### 2.2.2 積層製造技術

為了改善傳統的支架製造技術，利用積層製造技術可以自訂外部形狀和內部結構，能夠控制孔徑大小、孔隙率的分布，進而幫助氧氣和營養物質在生物支架內的運輸。

積層製造技術是運用層層堆疊的方式建構工件，因此可以任意建構所需工件的外型。欲製造的三維立體模型可利用 CAD/CAM 軟體直接設計，或是由電腦斷層掃描影像( Computerised Tomography , CT )或核磁共振影像 ( Magnetic Resonance Imaging , MRI ) 得到之醫學影像數據取得。此外，電腦斷層掃描或核磁共振影像數據可配合運用 CAD/CAM 軟體進行受損組織結構重建，進行客製化結構建模。有了 CAD 模型之後，將進行檔案切層，之後將檔案放入積層製造的機台，由底層開始層層建構直到工件完成，最後經由後處理除去支撐結構(Cha et al., 2014) 。

目前的各種積層製造技術可製造的支架孔洞大小(K.F. Leong, C.M. Cheah, & Chua, 2003)及優缺點分析(Kumar et al., 2016)統整如表 2.1。

表 2.1 各種積層製造技術比較

技術	成型原理	精度	優點	缺點
<b>3DP™ ( 3D Printer )</b>	運用噴頭噴出黏著劑， 使粉末材料黏結	每層厚度：20~100 μm 最小精度：350~500 μm 生物支架孔徑：45~100 μm	製程簡單、無支撐材、加工 速度快、材料選擇範圍廣	易損壞、有毒性之 有機溶劑
<b>熔融沉積成型 ( Fused Deposition Modeling , FDM )</b>	將線狀材料加熱到一定 溫度後，透過齒輪將半 熔融狀態的材料經噴頭 擠出	每層厚度：250~370 μm 最小精度：260~700 μm 生物支架孔徑：250~1000 μm	低成本、機械強度佳	加工溫度高、噴頭 的擠料範圍固定、 孔徑容易被材料堵 塞
<b>選擇性雷射燒結 ( Selective Laser Sintering , SLS )</b>	利用高功率雷射光，混 著低熔點的粉末材料熔 化作為黏著劑，黏結其 他高熔點的粉末材料	每層厚度：76~100 μm 最小精度：45~100 μm 生物支架孔徑：45~100 μm	機械強度佳、高精度	加工溫度高、粉材 殘留不易移除
<b>立體平版印刷 (Stereo Lithography Apparatus,SLA)</b>	利用雷射光束掃描液態 光敏樹脂使其固化	每層厚度：25~100 μm	高精度	商用材料具有毒性
<b>數位光固化技術 ( Digital Light Processing , DLP )</b>	利用德州儀器的 DLP 投影技術，將切層後的 一片片圖案照射在液態 光敏樹脂上	每層厚度：20~100 μm	高精度、加工速度快、無支 撐材	商用材料具有毒性

上述這些技術中，3DP™ 使用的黏著劑為有毒性的有機溶劑，印製出的成品機械強度差，易損壞；SLS 雖然以低熔點的粉材作為黏著劑，無使用有機溶劑，但加工溫度高且未固化的粉材在成品內不易移除。

FDM 技術之成本低、機械強度佳，因此是最常被研究和運用的技術。SLA 及 DLP 技術則需改善材料具有毒性之缺點，即可應用於生物支架列印。因此，本研究針對 FDM、SLA 和 DLP 等技術進行深入的探討。

### 2.2.3 FDM 技術相關文獻

#### FDM 技術

在組織工程中，良好的生物支架需具有生物相容性佳、促進細胞增生、對於養分傳輸和廢物排出具有良好的擴散作用和提供適當的機械強度等優點。在積層製造技術中，FDM 技術之成本低、製程簡單且使用的材料具有生物相容性和可生物降解等特性(例如：聚乳酸(Poly Lactic Acid, PLA)和聚己內酯(Polycaprolactone, PCL))，因此廣被應用於生物支架製造。

- 材料研究

Zein 等學者在 2002 年發表使用 PCL 的材料搭配具有不同結構生物支架設計所製造的生物支架(Zein, Tan, Teoh, & Alvarez, 2002)，接著在 2003 年 Kalita 等學者生產出聚合物-陶瓷的複合材料之生物支架(Kalita, Bose, Hosick, & Bandyopadhyay, 2003)。此外，在 2013 年 Sabino 研究團隊針對兩種材料 (PLA 和 PCL) 分別研究其不同製程參數和生物支架設計之差異，並利用細胞貼覆與細胞增生探討其生物相容性(Sabino et al., 2013)。

- 技術研究

Tanaka 等學者在 2010 年將傳統製造技術與積層製造技術中的 FDM 技術進行比較，測量生物支架孔洞大小與孔隙率並做壓痕硬度 (indentation force deflection)和楊氏模數(Young's modulus) 測試。製成之生物支架之物理性質亦與天然軟骨做比較，並進行動物實驗以評估軟骨組修復的效益(Tanaka et al., 2010)。Naghieh 等學者在 2016 年使用有限元素分析(Finite Element Method, FEM)預測以 FDM 技術建構硬骨支架之每列印層間的黏著性對支架的楊氏模數(Young's modulus)之影響，其研究結果證實其預測之

準確性(Naghieh, Karamooz Ravari, Badrossamay, Foroozmehr, & Kadkhodaei, 2016)。

FDM 技術之缺點為線材與噴頭尺寸受到限制，且改變材料時，機台需重新校正。此外，選用之材料在被擠出前需可呈現熔融的半液態狀，因此材料的選擇有限，一般天然聚合物均不適用。再者，因噴頭溫度過高，其高溫影響需添加之生物分子，不利於仿生。另外，被噴頭擠出的絲狀容易將孔洞堵塞，導致孔洞成型不全。

## 2.2.4 SLA 和 DLP 技術相關文獻探討

SLA 和 DLP 之技術非常相似，材料均為液態光敏樹脂，成型方式皆為光固化。差異在 SLA 的光源為雷射光束，DLP 的光源為運用投影技術的紫光或藍光。SLA 在每層固化後，平台下降直至工件完成，DLP 則是平台倒掛浸在樹脂槽中，每層固化後，平台上升直至工件完成。

SLA 和 DLP 技術主要應用於商業及工業用途，例如：印製設計之模型，因此其材料一般不具生物相容性或生物可降解性。因其具有良好的精度，適合應用於組織工程中的生物支架製造，因此生物相容性材料的開發成為近年來的研究方向。

### 1. SLA 技術

在 1988 年，3D Systems 公司推出第一個 SLA 技術之商用系統。其列印材料為含有機溶劑的液態光敏樹脂，具毒性，列印之成品無法直接作為生物支架。在 2001 年，Chu 等人則使用 SLA 技術印製模具，將生醫材料倒入模具中，進行翻模，製作出硬骨支架 (T.-M.G.Chu, J.W.Halloran, S.J.Hollister, & S.E.Feinberg, 2001)。

於 2007 年，Bens 之研究團隊開發出可用於醫療的具生物相容性之光固化材料(FlexSL®)，其可短期接觸骨頭、牙齒或組織，細胞存活率為 87% (Bens et al., 2007)。隔年，Sharifi 等學者報導其研發之不同材料所列印之工件可具有不同之楊氏模數，其楊氏模數範圍可從 0.4 至 8000 MPa，顯示 SLA 可製作出不同機械性質的複雜工件(Sharifi, Mirzadeh, Imani, Atai, & Ziaee, 2008)。2009 年 Melchels 等人開始研發含感光性材料與非感光性材料之複合式材料(Melchels, Feijen, & Grijpma, 2009)，且在 2010 年，進行生物支架

製造，並證實運用 SLA 技術製造之生物支架具有良好的滲透率(Melchels et al., 2010)。

## 2. DLP 技術

在 2008 年，Han 等學者將低分子量的 PEGDA 聚合物和惰性液體混合，製造生物支架，並觀察細胞在此生物支架上的貼附情形。此 PEGDA 材料所製造的生物支架不具可降解性(Han, Mapili, Chen, & Roy, 2008)。在 2009 年，Choi 等學者以可生物降解的材料製作三維生物支架，但其生物支架內部有未固化的材料殘留，且未進行生物相容性測試(Choi et al., 2009)。於 2011 年，Heller 等學者報導低毒性的光固化型聚合物之相關研究，並指出材料的降解程度受材料的親水性影響(Heller et al., 2011)。隔年，Felzmann 研究團隊提出 DLP 技術的優勢是光源不需連續性，其整層的投射光源可取代 SLA 雷射光束的製成方式，其建構工件的速度較快，且其可運用陶瓷填充之光固化聚合物使工件形成精緻的蜂窩結構(Felzmann et al., 2012)。

從上述文獻得知，過去的研究多專注於可應用在 DLP 技術之具醫材特性的光固化型材料之開發，鮮少有研究是針對 DLP 技術之機台參數及生物支架設計進行相關探討。因此，本研究將研發具生物相容性之光固化材料，並結合機台參數設定及支架設計，製造最佳化之生物支架。

## 2.3 實驗設計法

實驗設計 (Statistical design of experiment)，意指規劃實驗的過程，利用統計方式分析資料，得到正確、客觀的結論。普遍用在許多領域上，視為科學研究過程的一部份，用來了解系統或過程是如何達成的功能學習方式。

實驗設計的三個基本原理是隨機化 (randomization)、重複 (replication) 和區集劃分 (blocking)。

實驗設計步驟如下：

### 1. 問題的認知及陳述

問題的清晰描述有助於更加了解研究現象與問題最後解答。

### 2. 選擇因子、水準及範圍

實驗者可以將製程中的因子分為潛在設計因子 (potential design factor) 與干擾因子 (nuisance factor) 。

### 3. 選擇反應變數

在選擇反應變數時，實驗者需確定此變數能確實提供有價值的資訊。普遍來說，實驗設計中常會有多重反應變數。

以上三個步驟稱為實驗的前置規劃。步驟 2 與步驟 3 會因為目標或遇到的問題而改變順序。因此，有時步驟 2 與步驟 3 是同時進行，或是順序互換。

### 4. 選擇實驗設計

依照實驗目的的不同可選擇全因子實驗 (full factorial experiment)、部分因子實驗 (fractional factorial design )或田口實驗設計(taguchi design)...等。

### 5. 執行實驗

實驗進行時，需仔細監控過程，以確保實驗能按照計畫完成。

### 6. 資料的統計分析

應用統計方式分析資料，使決策過程、結果和結論達到客觀性。

### 7. 結論與建議

資料分析結束後，實驗者必須做出合理的結論及暫時性的假設，進行確認實驗以驗證結果。



光固化型水性 PU 與熱塑型的水性 PU 相比，固化後的硬度較硬，固化速度快。因此光固化型水性 PU 無毒性又可被光固化，故可被應用於 DLP 技術之具生物相容性之材料開發。本研究以其為實驗主體材料，材料特性參考表 3.1。

表 3.1 光固化型水性聚氨酯材料特性

	純 PU 比例 (%)	黏度 [MPAS]	PH 值	最低 成型溫度 °C	硬度 (照光後)
光固化型水 性 PU	39 - 41	10-200	7.0- 8.5	0	150

資料來源：Alberdingk Boley 廠商

本研究在前置實驗時發現單使用光固化型水性 PU 材料所印製出的生物支架楊氏模數高達 45MPa，而真實軟骨的楊氏模數落在 20~30MPa 之間，並不符合軟骨組織的物理性質，因此需加入其他材料進行改質(參考附錄二)。

## 2. 熱塑型水性聚氨酯

本研究使用的熱塑型水性聚胺脂由 Alberdingk Boley 廠商所提供。由於熱塑型水性 PU 固化後具有彈性且硬度較低，故本研究以熱塑型水性 PU 與光固化型水性 PU 進行混和，期望調製出符合軟骨組織之物理性質的支架材料。

光固化型與熱塑型水性 PU 的水分約占總材料的 60 %，因此需經過去水的步驟才能固化完全。但部分去水後，造成材料過於黏稠，無法以 DLP 的機台進行印製，故需添加稀釋劑進行配方調製。

## 3. 甲基丙烯酸羟乙酯 (2-hydroxyethyl methacrylate, HEMA)

本研究以 HEMA 為稀釋劑。添加後，使部分去水之水性 PU 的黏稠度降低。

HEMA 應用在工業有多種用途，例如：油漆塗料、光固化印刷板、軟式隱形眼鏡和水凝膠的製造或作為外科手術和牙科所使用的壓克力(塑膠)。



#### 4. 光起始劑(TPO)

本研究使用的光起始劑為 DAROCUR TPO 由朴峰實業有限公司所提供，反應之波長範圍為 269~420nm。特徵為淡黃色的粉末狀，在攝氏 88 - 92 度會融化，為低毒性的光起始劑，在固化後便無毒性。

### 3.1.2 設備介紹

#### 1. 實驗設備

本研究使用台灣自行開發的 Miicraft 機台。運用 DLP 技術達到高精度的品質。此機台可調整製程參數，屬於開源的機台利於研究。表 3.2 為 Miicraft 機台詳細規格。

表 3.2 Miicraft 機台規格

機台名稱	Miicraft
材料	光敏樹脂
光源波長	405nm
建構尺寸	43 mm x 27 mm x 180 mm
X-Y 解析度	0.056 mm
Z 軸 (每層最小列印厚度)	0.05 mm


資料來源：Miicraft

#### 2. 測量設備

##### (1) 強度測試機

本研究使用 EZ Test 桌上型強度測試機進行物理性質測定，可取得徑向強度( Diametral Tensile Strength , DTS)與楊氏模數(Young's modulus )之數據，表 3.3 為機台詳細規格。

表 3.3 強度測試機規格

	名稱	EZ Test 桌上型強度測試機
	尺寸	W 400 x D 530 x H 885 mm
	重量	33 KG
特性	1. 精度誤差在 $\pm 0.5\%$ ，可測定範圍 1~500 牛頓(N)之間 2. 來回移動速度快，減少測試時的等待時間 3. 每秒回傳 1000 個數據，準確找到力的最大值	

資料來源：Shimadzu

### 3.2 實驗流程

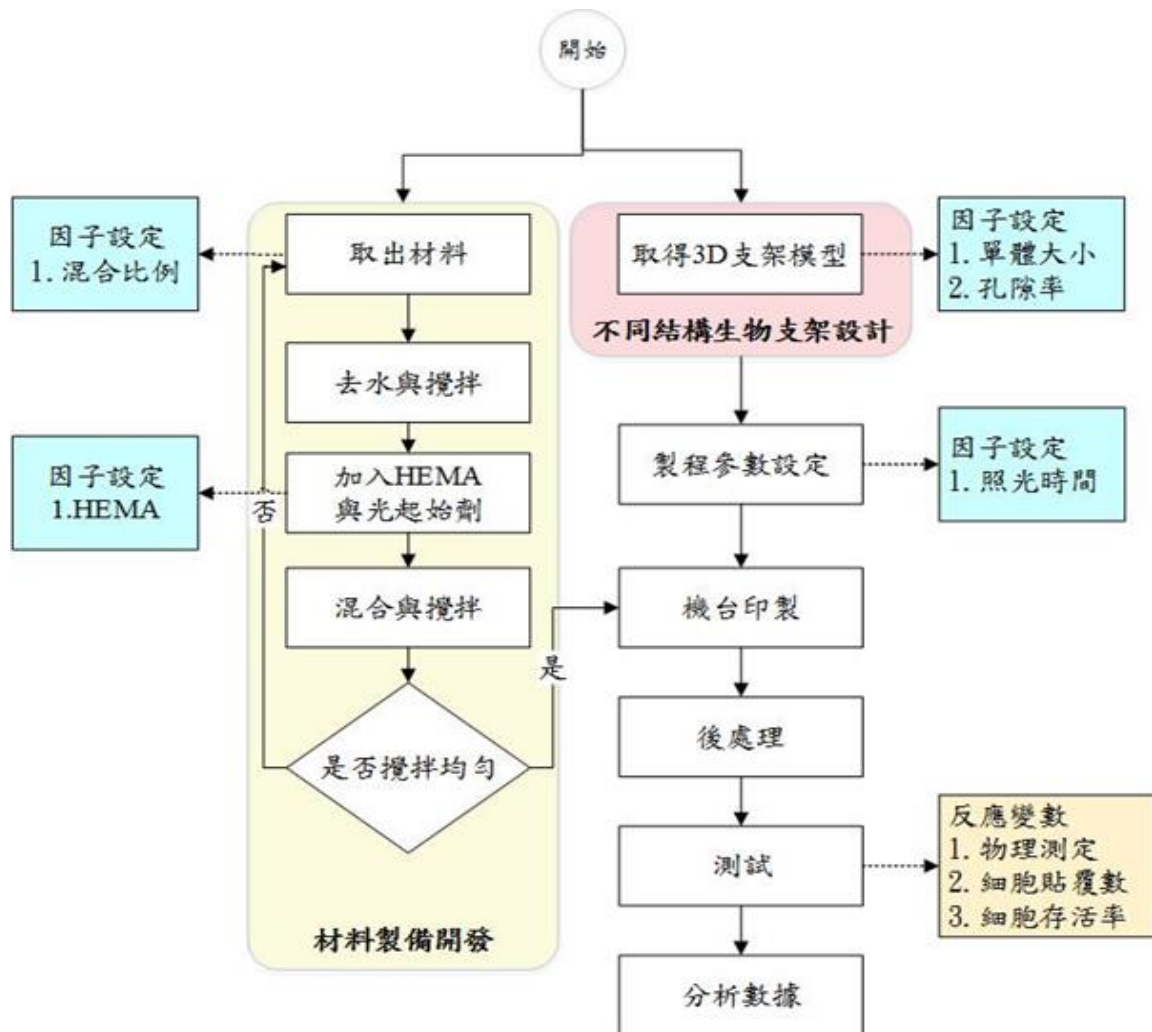


圖 3.3 實驗流程

### 步驟 1. 材料製備開發

由於本研究所使用的光固化型水性 PU 和熱塑型水性 PU 這兩種材料均占有 50~60% 的水分，而這些水分會對固化反應造成影響，所以須將水分去除(參考附錄一)。

1. 將空燒杯秤重，做紀錄，並將此次所要加入的光固化型水性 PU 和熱塑型水性 PU 依照重量百分比混和 (例如: 若要調配光固化型水性 PU : 熱塑型水性 PU 為 1 : 1，則總重 100 c.c. 的材料中，需要 50 c.c. 的光固化型水性 PU 和 50 c.c 的熱塑型水性 PU 做混和)，並秤重做紀錄。最後加入攪拌所需的磁石，並秤重做紀錄。

依照上述秤重的數據開始進行計算，得到去水後燒杯的總重量。

- 需去除之水的重量 = [ 加入光固化型水性 PU 和熱塑型水性 PU 後的燒杯重量 - 空燒杯的重量 ] × 50%

- 去水後燒杯的總重量 = 加入磁石後的燒杯總重量 - 需去除之水的重量

2. 在電磁加熱攪拌器上將溫度設為攝氏 180 度，進行去水並利用磁石轉動均勻攪拌，直到重量達到去水後燒杯的總重量 (圖 3.4)。

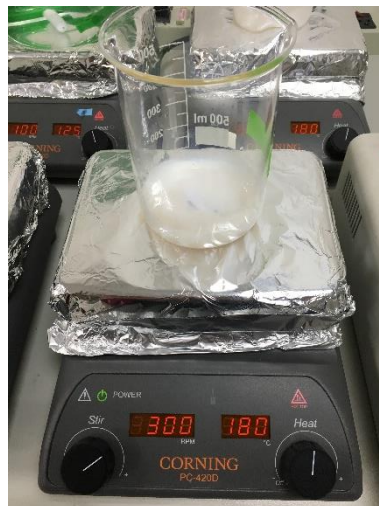


圖 3.4 材料去水

3. 由於 HEMA 之閃火點為攝氏 104 度。因此，將溫度從攝氏 180 度降至低於閃火點的溫度，並將 HEMA 和粉狀的光起始劑在攝氏 60 度下均勻混合 (圖 3.5)。

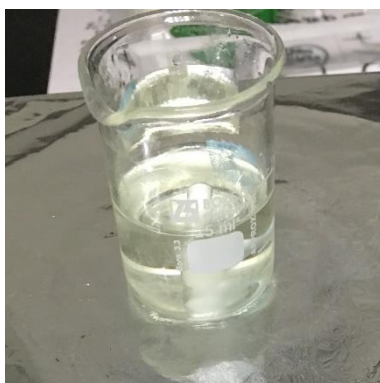


圖 3.5 HEMA 和光起始劑混合

4. 將混和均勻的 HEMA 和光起始劑倒入去水完成的燒杯中，在攝氏 60 度下均勻混和。

### 步驟 2. 不同結構生物支架設計

使用 3D 繪圖軟體繪製不同結構的生物支架，此軟體內建繪製結構的功能。繪製方式是將一個單體結構佈滿整個實心物體，主要可調整的參數有單體形狀、單體大小和孔隙率。內建的單體形狀種類眾多，本研究選擇最簡單的單體形狀，以減低印製出的支架形狀與設計模型的誤差率。本研究先畫一個半徑 3 mm，高度 3 mm 的圓柱，並根據軟體需求輸入單體大小和孔隙率，成品如圖 3.6：

單體大小	1mm	1mm	2mm	2mm
孔隙率	50%	70%	50%	70%



圖 3.6 生物支架設計

### 步驟 3. 印製

本研究使用 Miicraft 機台印製生物支架。印製步驟如下：

1. 將生物支架的檔案匯入機台的軟體中，設定生物支架在機台中的擺放位置。
2. 將擺好位置的生物支架的檔案進行切層設定，本研究將生物支架切成每層厚度 0.05 mm。
3. 檢查已切層的檔案是否有誤。
4. 設定製成參數並開始印製。
5. 印製完成後，進行後處理。使用酒精清洗殘留未固化之材料並以紫外光再次固化。

### 3.3 參數設定

要做出最適合軟骨的生物支架，必須找到最有影響力的實驗因子。而實驗因子的來源主要由材料開發、生物支架設計與機台條件限制三大部分。依照過往文獻和前置實驗，挑出重要的參數。

#### 1. 材料開發

在前置實驗階段，本實驗加入的材料如下：

- (1) 光固化型水性 PU：本實驗之主體材料。實驗發現若只加入光固化型水性 PU，則固化後硬度過高。本研究目的為製造仿生軟骨支架，故需添加硬度低的材料，使此複合材料近似軟骨的物理性質（參考附錄二）。
- (2) 熱塑型水性 PU：添加此材料是為了調整製造之生物支架的物理性質，其可與光固化型水性 PU 做搭配，調製成可製造出不同物理性質之支架的材料。前置實驗得知光固化型水性 PU 之重量百分需佔複合材料之 50% 以上，材料才可固化成型，因此，將熱塑形水性 PU 添加比例訂為 0 - 50%。
- (3) HEMA：光固化型水性 PU 和熱塑型水性 PU 在去水後會變得非常黏稠，此稠度放入 3D 列印機台無法印製，因此需加入 HEMA 降低材料黏度。HEMA 的添加量為複合材料總重量的 0.1 - 0.3 倍。添加過多之 HEMA 會使印製成品產生脆化現象，由前置實驗中得知，添加量不可超過複合材料總重量的 0.3 倍。

(4) 光起始劑 (TPO)：添加於光固化型水性 PU 中，使其可進行光固化反應。光起始劑的建議添加量為 1–5 %，有些微的毒性。前置實驗得知本研究之光起始劑的最適添加量為 1.5%。

## 2. 生物支架設計

物理性質測定所用的強度測試機可測定的最大強度為 500 N，若生物支架結構設計過大會超出強度的偵測極限。因此本研究將生物支架整體大小固定在半徑 3 mm、高度 3 mm 的圓柱。

將圓柱套入軟體中，軟體可選擇單體大小、單體形狀及孔隙率

- (1) 單體大小：由於要符合圓柱大小範圍限制，單體大小設定在 1 ~ 2 mm 之間。單體小於 1 mm 可能導致列印結構不清晰，單體大於 2 mm 則有產生孔洞結構不足的問題。
- (2) 單體形狀：有 10 種不同的單體形狀提供選擇，由於本研究材料還在開發階段，故選擇其中一種形狀，使其所形成的孔洞不複雜、容易清理。
- (3) 孔隙率：根據文獻得知，孔隙率需要在 50 % 以上較適合細胞生長。另外，孔隙率高，孔洞分布過密集，會有列印成型不良的狀況，因此受到系統的限制最大孔隙率被限制在 70 %。

## 3. 機台條件限制

- (1) 每層照光時間：原廠提供之材料的參數設定為每層照 7 秒，但根據材料比例的不同，需增加秒數使每層固化完全。前置實驗得知秒數超過 25 秒會有過度固化的現象發生，因此將時間控制在 7~25 秒之間。

表 3.4 顯示本研究所設定的因子與高低水準：

表 3.4 本研究實驗因子與水準

	混和比例 <sup>1</sup> (%)	HEMA (倍)	照光時間 (秒)	單體大小 (MM)	孔隙率 (%)
低	50	0.1	7	1	50 %
高	100	0.3	25	2	70 %


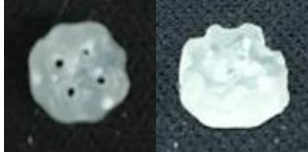
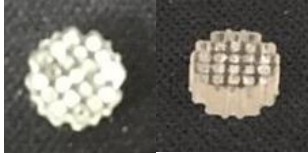

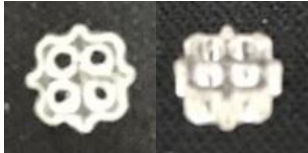
註<sup>1</sup>: 光固化型與熱塑型水性 PU 之混和比例

### 3.4 部分因子實驗

#### 1. 因子設定


本研究選用  $2^{5-2}$  部分因子實驗設計，選定的因子混和比例<sup>1</sup>、HEMA 的添加量、照光時間、單體大小與孔隙率。因子水準與實驗組合，如表 3.5。

表 3.5  $2^{5-2}$  部分因子實驗設計之實驗組合

	混和比例 <sup>1</sup> (%)	HEMA (倍)	照光時間 (秒)	單體大小 (mm)	孔隙率 (%)	
1	50	0.3	25	1	50	
2	50	0.1	25	2	50	
3	100	0.1	25	1	70	
4	100	0.3	25	2	70	
5	50	0.3	7	1	70	Fail
6	100	0.3	7	2	50	
7	50	0.1	7	2	70	Fail

註1: 光固化型與熱塑型水性 PU 之混和比例



	混和比例 <sup>1</sup> (%)	HEMA (倍)	照光時間 (秒)	單體大小 (mm)	孔隙率 (%)	
8	100	0.1	7	1	50	

### 3.5 反應值測定

本研究以四種反應變數呈現生物支架之最佳化研究，分別為徑向強度 ( Diametral Tensile Strength , DTS)、楊氏模數(Young's modulus )、細胞貼附在生物支架的數量和細胞存活率。其中徑向強度與楊氏模數需符合軟骨組織的物理性質，故將此兩種反應變數設定在與軟骨組織物理性質相似的一定的範圍之內。另外，本實驗目的是開發具生物相容性之材料，故期望細胞貼覆量與細胞存活率兩者皆高，因此此兩者之反應變數之範圍設定為越高越好。

#### 3.5.1 物理性質測定



圖 3.7 強度測試機

在測試之前先對機台做基本設定，本研究將每次垂直向下施壓速度訂為 40 mm/s，最大施力為 500 N。最後設定此次要測之組數，便可開始測試。

測試後，所得到的數據為每毫米向下施壓的力，單位為牛頓(N)。將所測得的最大力值套入公式，即可算出徑向強度( Diametral Tensile Strength , DTS)。而所測得的原始數據，選擇 a、b 兩組數據，並將兩組數據之強度(Fa 與 Fb)與兩點之距離(Da 與 Db)帶入楊氏模數(Young's modulus )公式，即可得到生物支架之楊氏模數值。

徑向強度(DTS)公式如下：

$$DTS = \frac{2N}{\pi bw}$$

N：最大的力(牛頓)      b：直徑(mm)      w：厚度(mm)      單位：MPa

楊氏模數(Young's modulus)公式如下：

$$\text{Young's modulus} = \frac{(Fb - Fa)}{[(Db - Da)/b]}$$

Fb：強度(N)

Fa：強度(N)

Db：距離(mm)

Da：距離(mm)

b：直徑(mm)

單位：N

- 套入楊氏模數的公式後，需將單位 N 換算成 MPa。

### 3.5.2 細胞貼覆量

將生物支架分別放入 24 孔培養盤內，在紫外光下殺菌 1 小時。種入  $1 \times 10^5$  的人類臍帶間葉幹細胞細胞株 (Wharton's Jelly Mesenchymal stem cells, WJMSCs) 進行培養。3 小時後，將生物支架移入新的 24 孔培養盤內，以磷酸鹽緩衝液 (Phosphate buffered saline, PBS) 清洗，並加入 1 ml 胰蛋白酶消化液使細胞懸浮，以細胞計數盤計算總細胞數。細胞計數盤計數方式：取出 10 $\mu$ l 的均勻細胞混合液，置入細胞計數盤中。細胞技術盤上有九宮格，每格大小為 1mm  $\times$  1mm，均勻分布後，數四個角的細胞數，並平均。所得細胞數，乘以稀釋倍數，再乘以  $10^4$ ，即為每 ml 中之細胞數目。

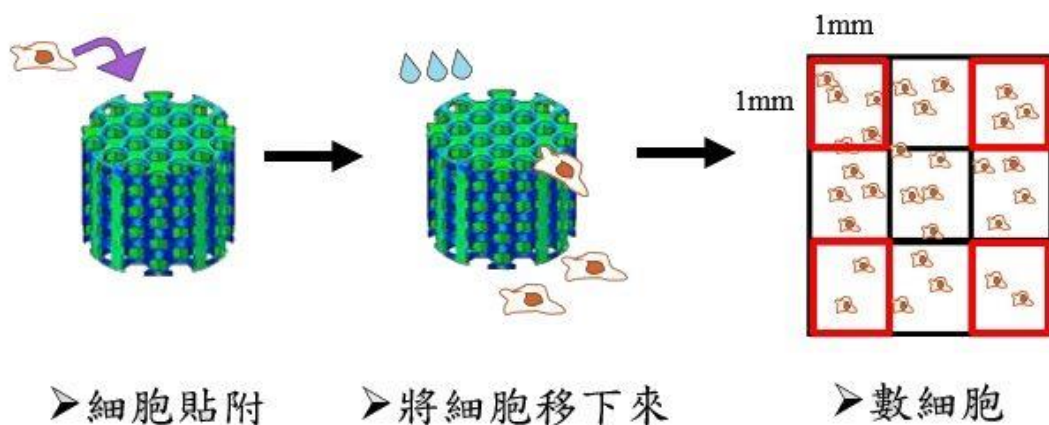


圖 3.8 細胞貼覆簡易流程

資料來源：本研究整理

### 3.5.3 細胞存活率

將實驗分實驗組與對照組，實驗組中有細胞和生物支架，對照組只放細胞。將生物支架分別放入 24 孔培養盤內，在紫外光下殺菌 1 小時。種入  $1 \times 10^5$  的 WJMSCs 進行培養。培養一天後，以 PrestoBlue™ 細胞活性檢測試劑進行細胞活性測定。PrestoBlue™ 細胞活性檢測試劑利用活細胞的還原能力來定量測定細胞的增殖，從而指示細胞活性。其包含了一種細胞通透性的化合物，這種化合物是藍色的，且幾乎沒有螢光。在加入細胞後，其被活細胞的還原環境所修飾，變成紅色，且螢光很強。利用螢光或吸光度測量，可檢測這種變化。加入 PrestoBlue™ 細胞活性檢測試劑後，靜置 1 小時。1 小時後，以酵素免疫分析儀 (ELISA Reader) 測波長 570 及 600 nm 的吸光度。將對照組的數據設為存活率 100%，計算實驗組的相對細胞存活率。

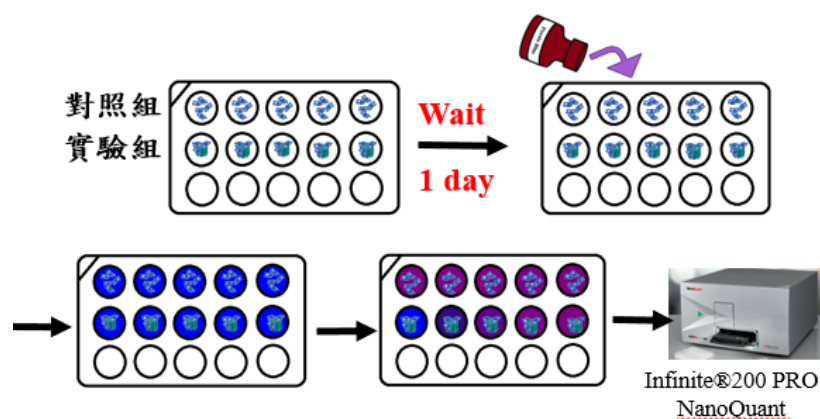


圖 3.9 細胞存活率簡易流程

資料來源：本研究整理

### 3.5.4 小結

根據文獻本研究將徑向強度和楊氏模數設定在與軟骨組織物理性質相似的範圍內，而細胞貼覆在生物支架上的數量和細胞存活率則設定越多越好，詳細請看表 3.6。

表 3.6 四種反應變數

反應變數	範圍
徑向強度 ( Diametral Tensile Strength , DTS)	0.6~4.5(MPa)
楊氏模數 (Young's modulus )	20~30(MPa)
細胞貼覆量	Max
細胞存活率	Max

### 3.6 小結

將所有印製完成的生物支架進行四項測試之後，將數據輸入 Design Expert<sup>®</sup> 進行分析，找出每個反應值的顯著因子，進行探討。並將最佳化之模型做驗證實驗，給予建議與結論。

## 第四章 實驗數據與結果

### 4.1 實驗數據

依照上述之實驗因子、水準和實驗步驟執行實驗，做兩次重複實驗，並測出反應變數的實驗數據，如表 4.1。

表 4.1 本研究之實驗組合與反應值

	混合比例 <sup>1</sup> (%)	HEMA (倍)	照光時間 (秒)	單體大小 (mm)	孔隙 率 (%)	徑向 強度 (MPa)	楊氏 模數 (MPa)	細胞貼覆量 (個)	細胞 存活率 (%)
1	50	0.3	25	1	50	5.05	17.39	2.775×10 <sup>4</sup>	126.82
2	50	0.3	25	1	50	3.27	10.34	2.5×10 <sup>4</sup>	129.6
3	50	0.1	25	2	50	0.72	3.52	1.1×10 <sup>4</sup>	97.74
4	50	0.1	25	2	50	0.84	5.39	1.1×10 <sup>4</sup>	114.35
5	100	0.1	25	1	70	11.03	34.64	3.05×10 <sup>4</sup>	92.93
6	100	0.1	25	1	70	12.42	32.41	3.125×10 <sup>4</sup>	75.13
7	100	0.3	25	2	70	4.06	26.64	2.2×10 <sup>4</sup>	120.43
8	100	0.3	25	2	70	4.35	26.48	2.5×10 <sup>4</sup>	122.38
9	50	0.3	7	1	70	0	0	0	0
10	50	0.3	7	1	70	0	0	0	0
11	100	0.3	7	2	50	3.00	22.15	1.65×10 <sup>4</sup>	143.35
12	100	0.3	7	2	50	3.16	23.12	2.2×10 <sup>4</sup>	147.7
13	50	0.1	7	2	70	0	0	0	0
14	50	0.1	7	2	70	0	0	0	0
15	100	0.1	7	1	50	4.72	14.91	2.775×10 <sup>4</sup>	86.85
16	100	0.1	7	1	50	2.17	16.4	3.325×10 <sup>4</sup>	86.1

註1: 光固化型與熱塑型水性 PU 之混和比例

## 4.2 ANOVOA 分析

本研究將實驗數據進行 ANOVOA 分析，根據分析結果找出與各項反應值有顯著影響的因子。

### 1. 徑向強度 ( Diametral Tensile Strength ,DTS)

表 4.2 顯示徑向強度之 ANOVA 分析結果，其結果指出混合比例<sup>1</sup> (A)、照光時間 (C)、單體大小 (D) 和 HEMA 與孔隙率產生的交互作用 (BE) 為顯著因子。說明混合比例、照光時間、單體大小與 BE 之交互作用對徑向強度具有顯著之影響。

表 4.2 徑向強度之 ANOVA 分析

Response:徑向強度						
Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	Prob > F	
Model	197.67	6	32.94	31.46	< 0.0001	significant
<u>A-混合比例<sup>1</sup></u>	76.69	1	76.69	73.23	< 0.0001	
B-HEMA	5.07	1	5.07	4.84	0.0553	
<u>C-照光時間</u>	51.44	1	51.44	49.12	< 0.0001	
<u>D-單體大小</u>	31.73	1	31.73	30.29	0.0004	
E-孔隙率	4.98	1	4.98	4.76	0.0570	
<u>BE</u>	27.75	1	27.75	26.49	0.0006	
Residual	9.43	9	1.05			
Lack of Fit	3.56	1	3.56	4.86	0.0586	
Pure Error	5.86	8	0.73			
Std. Dev.	1.02			R-quared	0.9545	
Mean	3.42			Adj R-quared	0.9241	

註1: 光固化型與熱塑型水性 PU 之混和比例

徑向強度 =  $3.42 + 2.19 * \text{混合比例}^1 - 0.56 * \text{HEMA} + 1.79 * \text{照光時間} - 1.41 * \text{單體大小} + 0.56 * \text{孔隙率} - 1.32 * \text{HEMA} * \text{孔隙率}$

## 2. 楊氏模數(Young's modulus)

表 4.3 顯示楊氏模數之 ANOVA 分析結果，結果指出混合比例<sup>1</sup>(A)、照光時間(C)和 HEMA 與孔隙率的交互作用(BE)為顯著因子。說明光固化型與熱塑型水性 PU 之混合比例、照光時間和 BE 之交互作用對楊氏模數具有顯著之影響。

表 4.3 楊氏模數之 ANOVA 分析

Response: 楊氏模數					
Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	Prob > F
Model	2166.09	5	433.22	74.84	< 0.0001 significant
<u>A-混合比例<sup>1</sup></u>	1602.20	1	1602.20	276.78	< 0.0001
B-HEMA	22.21	1	22.21	3.84	0.0786
<u>C-照光時間</u>	402.30	1	402.30	69.50	< 0.0001
E-孔隙率	3.02	1	3.02	0.52	0.4867
<u>BE</u>	136.36	1	136.36	23.56	0.0007
<b>Residual</b>	57.89	10	5.79		
<b>Lack of Fit</b>	27.21	2	13.60	3.55	0.0789
<b>Pure Error</b>	30.68	8	3.83		
Std. Dev.	2.41			R-squared	0.9740
Mean	14.59			Adj R-squared	0.9610

楊氏模數 =  $14.59 + 10.01 * \text{混和比例}^1 + 1.18 * \text{HEMA} + 5.01 * \text{照光時間} + 0.43 * \text{孔隙率} - 2.92 * \text{HEMA} * \text{孔隙率}$

註1: 光固化型與熱塑型水性 PU 之混和比例

### 3. 細胞貼覆量

為了讓模型能夠顯著，可判斷出顯著因子，以公式 $y' = (y + k)$ 進行轉換，其中  $y$  為測量值。表 4.4 顯示細胞貼覆量之 ANOVA 分析結果，其結果指出混合比例<sup>1</sup> (A) 與照光時間 (C)、單體大小 (D)、孔隙率 (E) 和 HEMA 與照光時間產生的交互作用 (BC) 為顯著因子。說明混合比例、照光時間、單體大小、孔隙率與 BC 之交互作用對細胞貼覆在生物支架上的數量來說具有顯著之影響。

表 4.4 細胞貼覆量之 ANOVA 分析

Response: 細胞貼覆量						
Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	Prob > F	
Model	212.03	6	35.34	22.17	< 0.0001	significant
<u>A-混合比例<sup>1</sup></u>	100.53	1	100.53	63.08	< 0.0001	
B-HEMA	3.65	1	3.65	2.29	0.1645	
<u>C-照光時間</u>	25.53	1	25.53	16.02	0.0031	
<u>D-單體大小</u>	58.92	1	58.92	36.96	0.0002	
<u>E-孔隙率</u>	9.81	1	9.81	6.61	0.0349	
<u>BC</u>	13.59	1	13.59	8.53	0.0170	
<b>Residual</b>	14.34	9	1.59			
<b>Lack of Fit</b>	4.32	1	4.32	3.45	0.1004	
<b>Pure Error</b>	10.02	8	1.25			
Std. Dev.	1.26			R-squared	0.9366	
Mean	4.55			Adj R-squared	0.8944	

註1: 光固化型與熱塑型水性 PU 之混和比例



$(\text{細胞貼覆量})^2 = 4.55 + 2.51 * \text{混和比例}^1 - 0.48 * \text{HEMA} + 1.26 * \text{照光時間} - 1.92 * \text{單體大小} - 0.78 * \text{孔隙率} + 0.92 * \text{HEMA} * \text{照光時間}$

#### 4. 細胞存活率

表 4.5 顯示細胞存活率之 ANOVA 分析結果，其結果表示混合比例<sup>1</sup> (A)、HEMA (B)、照光時間 (C)、單體大小 (D)、孔隙率 (E) 和 HEMA 與孔隙率產生的交互作用 (BE) 為顯著因子。說明混合比例、HEMA、照光時間、單體大小、孔隙率與 BE 之交互作用具有顯著之影響。

表 4.5 細胞存活率之 ANOVA 分析

Response:細胞存活率						
Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	Prob > F	
Model	43486.10	6	7247.68	209.11	< 0.0001	significant
<u>A-混合比例<sup>1</sup></u>	1032.53	1	10320.53	297.77	< 0.0001	
<u>B-HEMA</u>	3515.90	1	3515.90	101.44	< 0.0001	
<u>C-照光時間</u>	10783.78	1	10783.78	311.14	< 0.0001	
<u>D-單體大小</u>	1378.64	1	1378.64	39.78	0.0001	
<u>E-孔隙率</u>	17006.77	1	17006.77	490.68	< 0.0001	
<u>BE</u>	480.49	1	480.49	13.86	0.0047	
<b>Residual</b>	311.93	9	34.66			
<b>Lack of Fit</b>	0.060	1	0.060	1.54E-003	0.9697	Not significant
<b>Pure Error</b>	311.87	8	38.98			
Std. Dev.	5.89			R-squared	0.9929	
Mean	83.96			Adj R-squared	0.9881	

註1: 光固化型與熱塑型水性 PU 之混和比例

細胞存活率 = 83.96 + 25.40 \* 混和比例<sup>1</sup> + 14.82 \* HEMA + 25.96 \* 照光時間 + 9.28 \* 單體大小 - 32.60 \* 孔隙率 - 5.48 \* HEMA \* 孔隙率

### 4.3 分析討論

表 4.6 顯著因子統整表

反應變數	因子 混合比例 <sup>1</sup> (A)	HEMA (B)	照光時間 (C)	單體大小 (D)	孔隙率 (E)	BE	BC
徑向強度	V		V	V		V	
楊氏模數	V		V			V	
細胞貼覆量	V		V	V	V		V
細胞存活率	V	V	V	V	V	V	

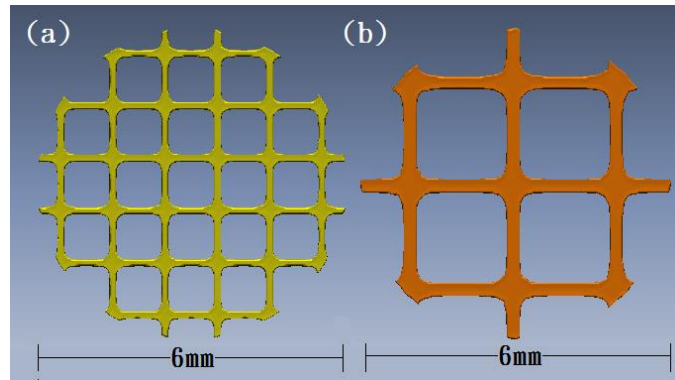
表 4.6 整理出四個反應變數分別產生的顯著因子，並針對每個反應變數進行分析與探討。

#### 1. 徑向強度

材料的配方及支架的結構皆會影響支架之徑向強度。在先前的材料介紹中，曾說明光固化型水性 PU 之強度較高，熱塑型水性 PU 之強度較低且彈性較大，隨著二者的混和比例不同，材料之物理性質亦受到影響，故(A)為顯著因子。此外，光照時間將影響固化的程度，而過度固化將導致印製的支架直徑變大(許敦翔, 2014)，進而影響徑向強度，故(C)亦為徑向強度之顯著因子。

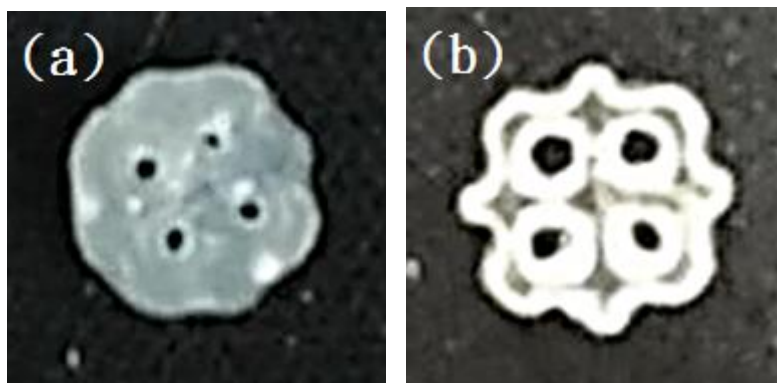
圖 4.1 顯示相同的孔隙率與不同的單體大小會形成不同的支架結構。支架的結構是決定徑向強度的重要因素之一，故(D)為徑向強度之顯著因子。此外，因子(B)與(E)產生的交互作用亦影響支架的結構。圖 4.2 顯示相同孔隙率與不同 HEMA 含量之支架結構圖。HEMA 在本研究中作為稀釋劑，當 HEMA 含量較低時，材料較黏稠，影響列印解析度，造成印製的支架直徑變大，孔洞變小，進而使支架之徑向強度受到影響。

註1: 光固化型與熱塑型水性 PU 之混和比例



(a)孔隙率：70%和單體大小：1mm (b)孔隙率：70%和單體大小：2mm

圖 4.1 相同孔隙率、不同單體大小之比較



(a)HEMA：0.1 倍 孔隙率：50% (b)HEMA：0.3 倍 孔隙率：50%

圖 4.2 相同孔隙率、不同 HEMA 之比較

## 2. 楊氏模數

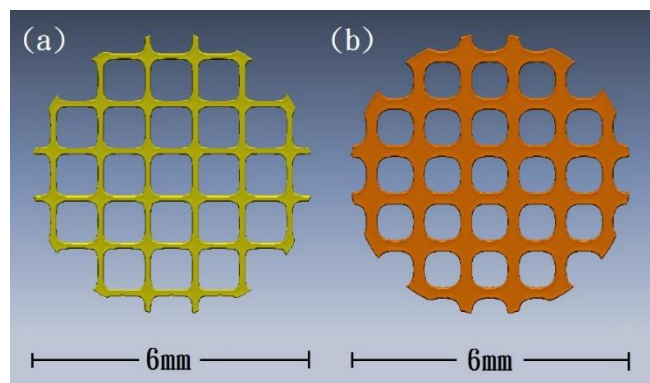
楊氏模數與徑向強度皆為支架之物理性質，因此本研究推測影響楊氏模數數值的原因與徑向強度雷同。而楊氏模數與徑向強度的顯著因子相似，其差別僅在楊氏模數之顯著因子不含因子(D)。

## 3. 細胞貼覆量

支架上的細胞貼覆量受到支架表面積影響，支架表面積越大，可貼覆的細胞數越多。(D)和(E)皆直接與支架表面積有關，而前述的討論亦題到(C)會造成支架直徑變大，而間接影響表面積，故(D)、(E)和(C)皆為影響細胞貼覆量的顯著因子。

因添加較多熱塑型水性 PU 會造成列印解析度下降，印製的支架直徑變大，孔洞變小，進而使支架表面積增大，故(A)為顯著因子。此外，因子

(B)與(C)產生的交互作用，亦會影響列印出的支架表面積。如前述，HEMA 含量較低時，印製的支架直徑變大，孔洞變小，進而表面積增大，細胞貼覆量增加。而較多的固化秒數和較低的 HEMA 含量，會造成印製的支架之表面積大增，故(B)與(C)產生的交互作用為細胞貼覆量的顯著因子。



(a) 孔隙率：70%和單體大小：1mm (b) 孔隙率：50%和單體大小：1mm

圖 4.3 相同單體大小、不同孔隙率之比較

#### 4. 細胞存活率

細胞存活率與材料總體積有關，材料總體積越大，具微毒性之光起始劑的含量越高，將較不利細胞生長。因子(D)及(E)與支架總體積有關，故為顯著因子。此外，如前述所提(A)、(B)、(C)及(B)與(E)的交互作用皆會影響支架之列印外觀，進而與支架總體積有關，故亦為顯著因子。此外，除了材料總體積，孔隙率及孔徑大小亦會影響細胞的存活率。支架孔隙率越高，氣體與養分流通越暢通，細胞生長越好。再者，文獻顯示支架孔徑大於 350  $\mu\text{m}$  有利於細胞生長，而本研究所設定的支架孔徑皆大於 350  $\mu\text{m}$ 。

#### 4.4 驗證實驗

根據統計分析結果，可以得到數組最佳參數組合(參考附錄三)。本研究則依照最佳之可行解之參數進行實驗，並確認實驗結果。

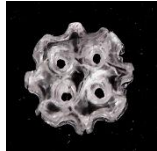

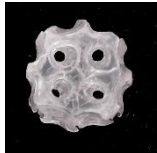





篩選的標準除了最理想之參數組合外，另外還選擇各因子的最大數值和最小數值做比較，確認所得之模型的準確性。

表 4.7 四組參數最佳化組合

	混合比例 <sup>1</sup> (%)	HEMA (倍)	照光時間 (秒)	單體大小 (mm)	孔隙率 (%)	徑向 強度 (MPa)	楊氏 模數 (MPa)	細胞貼覆量 (個)	細胞 存活率 (%)
1	100	0.1713	13.2	1.96	50	2.98	21.42	2.4274×10 <sup>4</sup>	136.64
2	81.83	0.2507	17.98	1.94	50	3.00	20.06	2.1139×10 <sup>4</sup>	147.67
3	100	0.2777	7.21	1.82	50	3.00	22.44	2.0801×10 <sup>4</sup>	138.22
4	76.37	0.2998	23.08	2.00	60	2.91	20.00	1.9827×10 <sup>4</sup>	125.94

根據上述挑選之四組參數設定，依序編號命名為組數 1 到組數 4，並進行印製。印製結果顯示在表 4.8，並且將針對各組數據進行分析與探討。

表 4.8 四組組數實際印製結果

	混合比例 <sup>1</sup> (%)	HEMA (倍)	照光時間 (秒)	單體大小 (mm)	孔隙率 (%)		
1	100	0.1713	13.2	1.96	50		
2	81.83	0.2507	18	1.94	50		
3	100	0.2777	7.2	1.82	50		
4	76.37	0.2998	23	2	60		

註1: 光固化型與熱塑型水性 PU 之混和比例

#### 4.4.1 各組數實際值之比較

表 4.9 整理出四組反應值的實際數據，根據文獻表示人的關節軟骨徑向強度之範圍落在 0.6 到 4.5MPa 之間(Woodfield et al., 2004)，此四組均落入範圍內。但是楊氏模數的範圍則在 20~30MPa 之間(Dai, Kawazoe, Lin, Dong, & Chen, 2010)，只有組數二與四落入範圍內，因此將組數一和三進行淘汰。

表 4.9 各組數實際數據

	混合比例 <sup>1</sup> (%)	HEMA (倍)	照光 時間 (秒)	單體 大小 (mm)	孔隙率 (%)	徑向強 度 (MPa)	楊氏 模數 (MPa)	細胞 貼覆量 (個)	細胞 存活率 (%)
1	100	0.1713	13	1.96	50	4.18	32.66	2.5×10 <sup>4</sup>	135.01
2	81.83	0.2507	18	1.94	50	3.71	24.29	2.08×10 <sup>4</sup>	94.39
3	100	0.2777	7	1.84	50	2.98	15.97	2.75×10 <sup>4</sup>	103.22
4	76.37	0.2998	23	2	60	3.05	22.37	2.75×10 <sup>4</sup>	106.89

細胞貼覆量與細胞存活率地數值則是希望越高越好，而組數四的細胞貼覆量與細胞存活率均高於組數二。因此可判定在這四組當中組數四為最好的選擇。

#### 4.4.2 組數 4 參數確認

組數 4 之因子組合參數是混合比例<sup>1</sup>為 76.37%、HEMA 為 0.2998 倍、照光時間為 23.08 秒、單體大小為 2mm 及孔隙率為 60%。經由確認實驗，測得徑向強度之實際反應值為 3.05 MPa，與預測值相差 0.14 MPa，誤差率為 4.81 %；楊氏模數為 22.37 MPa，與預測值相差 2.37 MPa，誤差率為 10.59 %；細胞貼覆量是 2.75×10<sup>4</sup> 個，與預測值相差 7673 個，誤差率為 27.90%；細胞存活率是 106.89 %，與預測值相差 19.05，誤差率為-17.82 %。

註 1 光固化型與熱塑型水性 PU 之混和比例

表 4.10 組數 4 最佳參數驗證

	混合比例 <sup>1</sup> (%)	HEMA (倍)	照光時間 (秒)	單體大小 (mm)	孔隙率 (%)	徑向 強度 (MPa)	楊氏 模數 (MPa)	細胞貼 覆量 (個)	細胞 存活率 (%)
預測 值	76.37	0.2998	23.08	2	60	2.91	20.00	1.9827 ×10 <sup>4</sup>	125.94
實際 值	76.37	0.2998	23	2	60	3.05	22.37	2.75× 10 <sup>4</sup>	106.89
誤差	0%	0%	-0.35%	0%	0%	+4.81 %	+10.59 %	+27.90 %	-17.82 %

而與預測模型相比，徑向強度和楊氏模數的實際值跟預測值相比雖然偏高，但是落在真實軟骨的範圍內，為可接受之誤差。細胞貼覆量之實際值比預測值高很多，但是細胞貼覆量的標準為越高越好，因此表示實際值比預測值好。而細胞存活率的實際值跟預測值相比，數據偏低，但是根據 ISO10993，細胞存活率大於 80% 以上此材料被視為無毒之材料，因此視為可接受之誤差。

## 4.5 小結

本研究依照所選定之可行解之參數進行實驗，並確認實驗結果，且依據實驗之實際反應值數據，進行分析與探討。

經過分析與探討後，組數 2 與組數 4，在物理性質方面均落入真實軟骨的範圍內，而組數 4 的細胞貼覆數與而細胞存活率數均高於組數 2。就總括的反應值而言組數 4 為最好的組數。在模型誤差方面，組數 4 的誤差均在可接受之範圍內，因此，建議組數 4 之參數進行可植入之仿生軟骨生物支架的製造。



## 第五章 結果與未來建議

### 5.1 結論

本研究利用實驗設計法 (Design of Experiments, DOE) 開發出可應用在數位光固化技術的生醫材料，且此材料能符合軟骨生物支架製造的需求，並結合生物支架設計、機台製程參數，達到軟骨生物支架製程的最佳化，使其適於軟骨組織工程。

以往相關的研究多專注於如何開發出具有生醫材料特性的光固化型材料，但是鮮少有研究是針對 DLP 技術之機台參數及生物支架設計進行相關探討。本研究將材料開發、生物支架設計與製程參數進行最佳化之研究。透過實驗數據分析結果，歸納出以下結論：

以可植入人體為優先考量之最符合的仿生軟骨生物支架之建議製造參數為：光固化型與熱塑型水性 PU 之混合比例為 76.37%、HEMA 的添加量為的 0.2998 倍、照光時間為 23.08 秒、單體大小為 2 mm 及孔隙率為 60%。

本研究針對不同因子影響之反應變數進行分析及探討，並提供製造仿生物軟骨支架之最佳參數，因此本研究將有助於軟骨組織工程之發展，並在未來能應用於膝關節軟骨損傷的治療，且達成客製化軟骨生物支架的目標。

### 5.2 未來建議

本研究因時間、成本與實驗環境之限制，給予以下建議：

1. 在時間限制上，本研究只測定細胞培養一天後的存活率，但建議未來可進行 7 天培養後的存活率測試。
2. 在參數上，此研究之前置實驗階段未考慮到後處理步驟對反應值的影響，故未將後處理步驟列為實驗參數。但在研究後期，發現不確實的後處理步驟會造成未固化之材料的殘留，不利細胞貼覆與存活。
3. 在反應變數上，因本研究之目的為開發可植入之仿生軟骨生物支架，故反應值的設定主要針對軟骨之物理性質與細胞之貼覆數及存活率。但在

研究中，發現材料的配方與固化時間均會影響印製品的精度，因此建議未來需將印製品之精度列為反應值。

## 參考文獻

- 李宣書. (2001). 淺談組織工程. *物理雙月刊*, 24(3), 430-435.
- 許敦翔. (2014). 3D 數位光處理(DLP)列印技術之製程參數最佳化研究。東海大學，台中市。
- 陳佳君, 張至宏, & 方旭偉. (2015). 仿生環境促進關節軟骨修復之技術. *化工會刊*, 62(1), 118-125.
- 廖俊仁. (2009). 一次修復關節軟骨. *科學人雜誌*, 88, 66-69.
- Bens, A., Seitz, H., Bermes, G., Emons, M., Pansky, A., Roitzheim, B., Tille, C. (2007). Non-toxic flexible photopolymers for medical stereolithography technology. *Rapid Prototyping Journal*, 13(1), 38-47. doi:10.1108/13552540710719208
- Cha, C., Piraino, F., & Khademhosseini, A. (2014). Microfabrication Technology in Tissue Engineering. 283-310. doi:10.1016/b978-0-12-420145-3.00009-2
- Choi, J.-W., Wicker, R., Lee, S.-H., Choi, K.-H., Ha, C.-S., & Chung, I. (2009). Fabrication of 3D biocompatible/biodegradable micro-scaffolds using dynamic mask projection microstereolithography. *Journal of Materials Processing Technology*, 209(15-16), 5494-5503. doi:10.1016/j.jmatprotec.2009.05.004
- Claycomb, J. R., & Tran, J. Q. P. (2010). *Introductory biophysics: Perspectives on the living state*: Jones & Bartlett Learning.
- Dai, W., Kawazoe, N., Lin, X., Dong, J., & Chen, G. (2010). The influence of structural design of PLGA/collagen hybrid scaffolds in cartilage tissue engineering. *Biomaterials*, 31(8), 2141-2152. doi:10.1016/j.biomaterials.2009.11.070
- Han, L.-H., Mapili, G., Chen, S., & Roy, K. (2008). Projection Microfabrication of Three-Dimensional Scaffolds for Tissue Engineering. *Journal of Manufacturing Science and Engineering*, 130(2), 021005. doi:10.1115/1.2823079
- K.F. Leong, C.M. Cheah, & Chua, C. K. (2003). Solid freeform fabrication of three-dimensional scaffolds. *Biomaterials*, 24, 2363-2378. doi:10.1016/S0142-9612(03)00030-9
- Kalita, S. J., Bose, S., Hosick, H. L., & Bandyopadhyay, A. (2003). Development of controlled porosity polymer-ceramic composite scaffolds via fused deposition modeling. *Materials Science and Engineering: C*, 23(5), 611-620. doi:10.1016/s0928-4931(03)00052-3
- Kumar, A., Mandal, S., Barui, S., Vasireddi, R., Gbureck, U., Gelinsky, M., & Basu, B. (2016). Low temperature additive manufacturing of three dimensional scaffolds for bone-tissue engineering applications: Processing

- related challenges and property assessment. *Materials Science and Engineering: R: Reports*, 103, 1-39. doi:10.1016/j.mser.2016.01.001
- Melchels, F. P., Bertoldi, K., Gabbrielli, R., Velders, A. H., Feijen, J., & Grijpma, D. W. (2010). Mathematically defined tissue engineering scaffold architectures prepared by stereolithography. *Biomaterials*, 31(27), 6909-6916. doi:10.1016/j.biomaterials.2010.05.068
- Melchels, F. P., Feijen, J., & Grijpma, D. W. (2009). A poly(D,L-lactide) resin for the preparation of tissue engineering scaffolds by stereolithography. *Biomaterials*, 30(23-24), 3801-3809. doi:10.1016/j.biomaterials.2009.03.055
- Naghieh, S., Karamooz Ravari, M. R., Badrossamay, M., Foroozmehr, E., & Kadkhodaei, M. (2016). Numerical investigation of the mechanical properties of the additive manufactured bone scaffolds fabricated by FDM: The effect of layer penetration and post-heating. *J Mech Behav Biomed Mater*, 59, 241-250. doi:10.1016/j.jmbbm.2016.01.031
- Sabino, M., Fermín, Z., Marielys, L., Moret, J., Rodríguez, D., Rezende, R. A., . . . Alvarez, J. (2013). In vitro biocompatibility study of biodegradable polyester scaffolds constructed using Fused Deposition Modeling (FDM). *IFAC Proceedings Volumes*, 46(24), 356-360. doi:10.3182/20130911-3-br-3021.00120
- Sachlos, E., & Czernuszka, J. T. (2003). Making Tissue Engineering Scaffolds Work. Review On The Application Of Solid Freeform Fabrication Technology To The Production Of Tissue Engineering Scaffolds. *European Cells and Materials*, 5, 29-40.
- Sharifi, S., Mirzadeh, H., Imani, M., Atai, M., & Ziaee, F. (2008). Photopolymerization and shrinkage kinetics of in situ crosslinkable N-vinyl-pyrrolidone/poly(epsilon-caprolactone fumarate) networks. *J Biomed Mater Res A*, 84(2), 545-556. doi:10.1002/jbm.a.31384
- Shoufeng Yang, P. D., Kah-Fai Leong, M.S.E., M.S.M.E., ZHAOHUI DU, P. D., & CHEE-KAI CHUA, P. D. (2001). The Design of Scaffolds for Use in Tissue Engineering Part I. Traditional Factors. *TISSUE ENGINEERING*, 7(6), 679-689.
- T.-M.G.Chu, J.W.Halloran, S.J.Hollister, & S.E.Feinberg. (2001). Hydroxyapatite implants with designed internal architecture. *Journal of Materials Science Materials in Medicine*, 12(6), 471-478.
- Tanaka, Y., Yamaoka, H., Nishizawa, S., Nagata, S., Ogasawara, T., Asawa, Y., Hoshi, K. (2010). The optimization of porous polymeric scaffolds for chondrocyte/atelocollagen based tissue-engineered cartilage. *Biomaterials*, 31(16), 4506-4516. doi:10.1016/j.biomaterials.2010.02.028
- Woodfield, T. B., Malda, J., de Wijn, J., Peters, F., Riesle, J., & van Blitterswijk, C. A. (2004). Design of porous scaffolds for cartilage tissue engineering

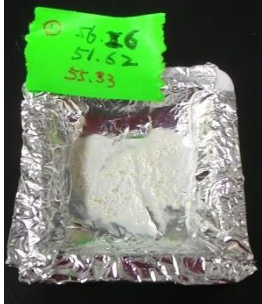
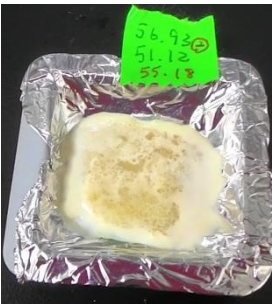
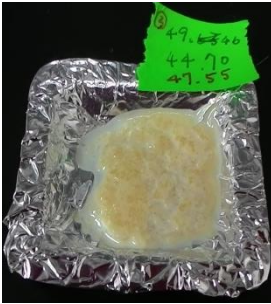




using a three-dimensional fiber-deposition technique. *Biomaterials*, 25(18), 4149-4161. doi:10.1016/j.biomaterials.2003.10.056

Zein, I., , D. W. H., Tan, K. C., Teoh, S. H., & Alvarez, J. (2002). Fused deposition modeling of novel scaffold architectures for tissue engineering applications. *Biomaterials*, 23, 1169–1185.

## 附錄

### 附錄一

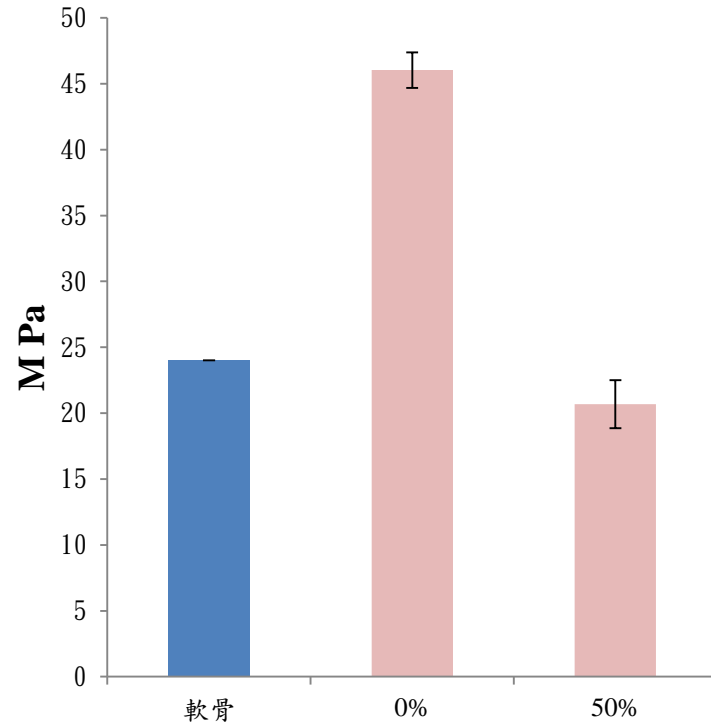
#### 1. 光固化型水性 PU 去水後之重量百分比

80% (未固化)	70% (部分固化)	60% (部分固化)	55% (全固化)
			
50% (全固化)	45% (全固化)	40% (全固化)	
			

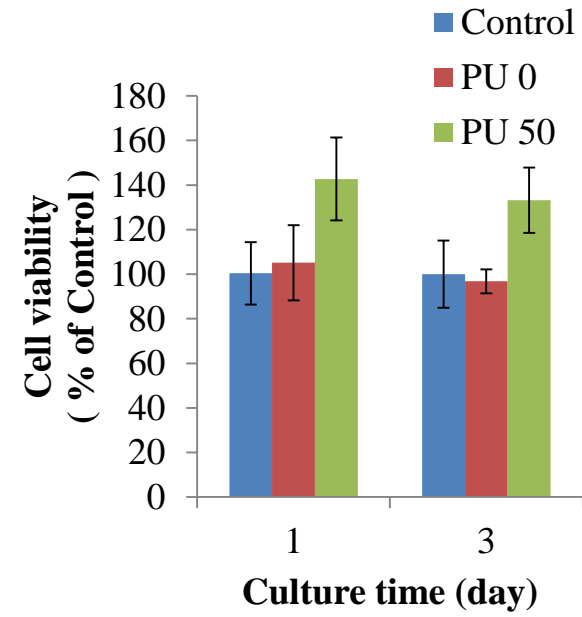
光固化型水性 PU 需去水後，才可固化完全。經測試得知在去水至重量百分比 55%時(尚含水 15%)，已可全固化。

## 附錄二 添加熱塑型水性 PU 後與真實軟骨之比較

(a) 楊氏模數( Young's modulus )



(b) 細胞存活率



附錄三 生物支架之可行解

Number	混和比例 (%)	HEMA (倍)	照光時間 (秒)	單體大小 (mm)	孔隙率 (%)	徑向強度 (MPa)	楊氏模數 (MPa)	細胞貼覆量 (個)	細胞存活率 (%)	Desirability
<u>1</u>	<u>100</u>	<u>0.1713</u>	<u>13.2</u>	<u>1.96</u>	<u>50.00</u>	<u>2.98</u>	<u>21.42</u>	<u>24274</u>	<u>136.64</u>	<u>0.828</u>
2	100	0.1886	13.42	2.00	50.00	3	22.04	23647	140.93	0.824
3	99.98	0.1361	14.37	2.00	50.02	2.84	20.63	24707	133.51	0.820
4	94.32	0.2285	14.17	2.00	50.00	3	22.03	22153	145.97	0.811
5	86.43	0.2079	18.42	2.00	50.00	2.99	20.39	22099	146.03	0.811
6	96.02	0.2405	12.97	2.00	50.00	2.99	22.53	21863	146.67	0.808
7	98.89	0.2343	11.88	2.00	51.23	2.99	22.75	21975	140.94	0.794
<u>8</u>	<u>81.83</u>	<u>0.2507</u>	<u>17.98</u>	<u>1.94</u>	<u>50</u>	<u>3</u>	<u>20.06</u>	<u>21139</u>	<u>147.67</u>	<u>0.793</u>



Number	混和比例 (%)	HEMA (倍)	照光時間 (秒)	單體大小 (mm)	孔隙率 (%)	徑向強度 (MPa)	楊氏模數 (MPa)	細胞貼覆量 (個)	細胞存活率 (%)	Desirability
9	79.04	0.2588	19.46	1.97	50.83	3	20.00	20665	148.42	0.788
10	98.31	0.2173	9.02	1.73	50.00	2.99	20.30	23674	127.88	0.785
11	85.07	0.2788	15.71	1.96	50.00	2.99	21.24	20381	150.41	0.783
12	77.51	0.2901	21.43	1.99	53.06	2.99	20.00	19956	147.7	0.775
13	89.11	0.2994	14.37	1.99	52.03	2.99	22.46	19622	147.70	0.768
14	91.96	0.2999	13.28	2.00	52.05	2.99	23.00	19549	147.70	0.767
<u>15</u>	<u>100</u>	<u>0.2777</u>	<u>7.21</u>	<u>1.84</u>	<u>50</u>	<u>3</u>	<u>20.06</u>	<u>21139</u>	<u>138.22</u>	<u>0.753</u>
16	94.97	0.2991	12.99	2.00	54.83	2.99	23.33	19595	139.19	0.745
17	100.00	0.2968	8.93	1.94	51.93	3	23.72	19616	142.10	0.740

Number	混和比例 (%)	HEMA (倍)	照光時間 (秒)	單體大小 (mm)	孔隙率 (%)	徑向強度 (MPa)	楊氏模數 (MPa)	細胞貼覆量 (個)	細胞存活率 (%)	Desirability
18	95.57	0.3000	8.39	1.94	50.00	2.67	22.24	18427	143.91	0.740
19	100.00	0.1291	11.86	2.00	54.57	2.96	20.08	23715	111.77	0.735
<u>20</u>	<u>76.37</u>	<u>0.2998</u>	<u>23.08</u>	<u>2</u>	<u>60</u>	<u>2.91</u>	<u>20.00</u>	<u>19827</u>	<u>125.94</u>	<u>0.712</u>
21	79.22	0.2698	20.80	2.00	58.58	3	20	19625	126.89	0.687
22	80.09	0.2997	21.45	1.91	53.26	3	20.02	20218	114.75	0.687
23	100.00	0.2777	12.74	2.00	59.54	3	23.22	19629	111.37	0.641
24	92.85	0.2341	12.14	2.00	59.69	2.61	20.00	18998	106.375	0.639
25	79.36	0.2976	22.86	1.96	59.00	3	20.00	20261	99.00	0.611
26	99.96	0.30	14.79	1.88	59.67	3	22.67	20163	90.87	0.611

#### 附錄四 真實孔隙率

	組數 1		組數 2		組數 3		組數 4	
正方體 體積	0.935×0.987×1.002 =0.92469(cm <sup>3</sup> )		1.031×0.997×0.95 =0.97651(cm <sup>3</sup> )		0.97×0.98×0.92 =0.87455(cm <sup>3</sup> )		1.033×0.967×0.933 =0.90492(cm <sup>3</sup> )	
正方體重量	1.09(g)		1.11(g)		1.01(g)		1.06(g)	
<b>密度</b>	<b>1.09÷0.92469</b> <b>=1.18(g/cm<sup>3</sup>)</b>		<b>1.11÷0.97651</b> <b>=1.14(g/cm<sup>3</sup>)</b>		<b>1.01÷0.87455</b> <b>=1.15(g/cm<sup>3</sup>)</b>		<b>1.06÷0.90492</b> <b>=1.17(g/cm<sup>3</sup>)</b>	
圓柱 體積	0.3065 <sup>2</sup> ×3.14×0.252 =0.0754(cm <sup>3</sup> )		0.305 <sup>2</sup> ×3.14×0.251 =0.0733(cm <sup>3</sup> )		0.319 <sup>2</sup> ×3.14×0.246 =0.0786(cm <sup>3</sup> )		0.294 <sup>2</sup> ×3.14×0.257 =0.0698(cm <sup>3</sup> )	
支架 重量	<b>1.</b>	0.06(g)	<b>1.</b>	0.06(g)	<b>1.</b>	0.06(g)	<b>1.</b>	0.05 (g)
	<b>2.</b>	0.06(g)	<b>2.</b>	0.06(g)	<b>2.</b>	0.07(g)	<b>2.</b>	0.06 (g)
	<b>3.</b>	0.06(g)	<b>3.</b>	0.06(g)	<b>3.</b>	0.05(g)	<b>3.</b>	0.06 (g)
	<b>平均</b>	<b>0.06(g)</b>	<b>平均</b>	<b>0.06(g)</b>	<b>平均</b>	<b>0.06(g)</b>	<b>平均</b>	<b>0.06 (g)</b>
支架體積	0.06÷1.18=0.05085(cm <sup>3</sup> )		0.06÷1.14=0.05263(cm <sup>3</sup> )		0.06÷1.15=0.05217(cm <sup>3</sup> )		0.06÷1.17=0.05128(cm <sup>3</sup> )	
孔隙率	(0.0754-0.05085)÷0.0754× 100%=32.56%		(0.0733-0.05263)÷0.0733× 100%=28.20%		(0.0786-0.05217)÷0.0786× 100%=33.63%		(0.0698-0.05128)÷0.0698× 100%=26.53%	