

การดัดแปรพื้นผิวของฟิล์มโคโตซานโดยการกราฟต์ด้วยอนุพันธ์อัลดีไฮด์ของเอทีลินไกลคอล



นางสาววิมลศิริ อมรไชย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาปิโตรเคมีและวิทยาศาสตร์พอลิเมอร์

หลักสูตรปิโตรเคมีและวิทยาศาสตร์พอลิเมอร์

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2545

ISBN 974-17-2431-4

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

SURFACE MODIFICATION OF CHITOSAN FILMS BY GRAFTING  
WITH ALDEHYDE DERIVATIVES OF ETHYLENE GLYCOL



Miss Wimonsiri Amornchai

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Science in Petrochemistry and Polymer Science  
Program of Petrochemistry and Polymer Science

Faculty of Science  
Chulalongkorn University

Academic Year 2002

ISBN 974-17-2431-4

**Thesis Title** Surface modification of chitosan films by grafting with aldehyde derivatives of ethylene glycol


**By** Miss Wimonsiri Amornchai

**Field of Study** Petrochemistry and Polymer Science


**Thesis Advisor** Varawut Tangpasuthadol, Ph.D.


---

Accepted by the Faculty of Science, Chulalongkorn University in Partial Fulfillment of the Requirements for the Master's Degree


  
.....Dean of Faculty of Science  
(Associate Professor Wanchai Phothiphichitr, Ph.D.)


Thesis Committee

  
.....Chairman  
(Associate Professor Supawan Tantayanon, Ph.D.)

  
.....Thesis Advisor  
(Varawut Tangpasuthadol, Ph.D.)

  
.....Member  
(Associate Professor Amorn Petsom, Ph.D.)

  
.....Member  
(Assistant Professor Warinthorn Chavasiri, Ph.D.)

  
.....Member  
(Assistant Professor Worawan Bhanthumnavin, Ph.D.)

วิมลศิริ อมรไชย: การดัดแปรพื้นผิวของฟิล์มไคโตซานโดยการกราฟต์ด้วยอนุพันธ์อัลดีไฮด์ไฮดรอกซีของเอทีลินไกลคอลล (SURFACE MODIFICATION OF CHITOSAN FILMS BY GRAFTING WITH ALDEHYDE DERIVATIVES OF ETHYLENE GLYCOL) อาจารย์ที่ปรึกษา: อ.ดร. วรารุณี ตั้งพสุธาตล, 47 หน้า. ISBN 974-17-2431-4

ไคโตซานเป็นพอลิเมอร์จากธรรมชาติที่ได้จากการกำจัดหมู่แอสซิทิลของไคติน โครงสร้างของไคโตซานประกอบไปด้วยหมู่ไฮดรอกซีและหมู่อะมิโนจำนวนมาก ซึ่งสามารถดัดแปรได้โดยปฏิกิริยาเคมี ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาการทำปฏิกิริยาระหว่างหมู่อะมิโนบนไคโตซานกับสารที่เป็นอนุพันธ์อัลดีไฮด์ของโมโนเมทอกซีพอลิเอทีลินไกลคอลล และโมโนเมทอกซีไทรเอทีลินไกลคอลล โดยทำปฏิกิริยาแบบรีดักทีฟอัลคิลเลชัน การดัดแปรหมู่ฟังก์ชันบนพื้นผิวของฟิล์มไคโตซาน กระทำโดยแช่ฟิล์มลงในสารละลายที่มีเอทีลินไกลคอลลละลายอยู่ในตัวทำละลายเมธานอลและตัวทำละลายไดเมทิลฟออร์มาไมด์ จำนวนของเอทีลินไกลคอลลที่ติดอยู่บนฟิล์มหาได้โดยเทคนิคอินฟราเรด และนิวเคลียสแมกเนติกเรโซแนนซ์ สเปกโตรสโกปี ผลการวิเคราะห์โดยการวัดมุมสัมผัสของน้ำบนพื้นผิวฟิล์มพบว่าพื้นผิวของฟิล์มไคโตซานมีความชอบน้ำมากขึ้นหลังจากนำฟิล์มไปดัดแปรพื้นผิว และสุดท้ายนำฟิล์มที่ถูกดัดแปลงเหล่านี้มาทดสอบการดูดซับโปรตีน เพื่อประเมินการนำวัสดุนี้ไปใช้ในทางการแพทย์ จากผลการทดลองพบว่า วิธีการดัดแปรที่ใช้ในงานนี้ส่งผลกระทบต่อความสามารถในการดูดซับโปรตีนอัลบูมินและไลโซไซม์บนพื้นผิวฟิล์ม

## ศูนย์วิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา..... - .....ลายมือชื่อนิสิต..... วิมลศิริ..... อมรไชย.....  
สาขาวิชา ปิโตรเคมีและวิทยาศาสตร์พอลิเมอร์..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา..... *Yud Tulp*.....  
ปีการศึกษา..... 2545..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม..... - .....

# # 4372412123: MAJOR PETROCHEMISTRY AND POLYMER SCIENCE

KEYWORD: SURFACE MODIFICATION, CHITOSAN FILMS, REDUCTIVE ALKYLATION, PROTEIN ADSORPTION, AND HYDROPHILICITY

WIMONSIRI AMORNCHAI: SURFACE MODIFICATION OF CHITOSAN FILMS BY GRAFTING WITH ALDEHYDE DERIVATIVES OF ETHYLENE GLYCOL. THESIS ADVISOR: VARAWUT TANGPASUTHADOL, Ph.D. 47 pp. ISBN 974-17-2431-4.

Chitosan, a partially deacetylated form of chitin, is a natural polymer. Structure of chitosan contains a large number of hydroxy and amino groups which can be modified by various chemical reactions. This research focused on the reactions between the amino groups of chitosan and aldehyde derivatives of monomethoxy poly(ethylene glycol) and monomethoxy triethylene glycol by reductive alkylation. The chemical modification was performed by immersing chitosan films in ethylene glycol (EG) solution. The amount of EG attached on the films were determined by IR and NMR spectroscopy. Results from contact angle measurements suggested that surface hydrophilicity of the modified films increased. Finally, these modified films were subjected to protein adsorption study in order to assess their uses in biomedical applications. It was found that the modified films somewhat affected the adsorptivity of albumin and lysozyme.

ศูนย์วิจัยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Department..... Student's signature..... Wimonsiri Amornchai  
Field of study <sup>Petrochemistry and Polymer Science</sup>..... Advisor's signature..... Varawut Tangpasuthadol  
Academic year..... 2002..... Co-advisor's signature.....

## ACKNOWLEDGEMENTS

This research would never be finished in a timely manner if not for the endless efforts of my thesis advisor, Dr. Varawut Tangpasuthadol who always provide me the suggestion and encouragement during the whole research.

Special thanks are extended to all members of OSRU Group. Especially, I gratefully acknowledge the instrumental support from The Spectroscopy Research Group.

Finally, I would like to affectionately give all gratitude to the members of my family for their love, understanding and patient support throughout my entire study.



ศูนย์วิจัยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

# CONTENTS

	Page
ABSTRACT IN THAI.....	iv
ABSTRACT IN ENGLISH.....	v
ACKNOWLEDGEMENTS.....	vi
LIST OF FIGURES.....	x
LIST OF TABLES.....	xii
LIST OF ABBREVIATIONS.....	xiii
LIST OF SYMBOLS.....	xiii
CHAPTER I INTRODUCTION.....	1
1.1. Rationale.....	1
1.2. Statement of the purpose.....	1
1.3. The scope of this research.....	1
1.4. Theory.....	2
1.4.1. Chitosan.....	2
1.4.2. TEG and PEG.....	4
1.4.3. Chemical modification of chitosan.....	6
1.4.4. Surface characterization.....	9
1.4.5. Protein adsorption on polymer surface.....	12
CHAPTER II EXPERIMENTAL.....	13
2.1 Material.....	13
2.2 Equipments.....	
2.2.1 Nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy.....	13
2.2.2 Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy.....	13
2.2.3 Attenuated total reflectance infrared (ATR-IR) spectroscopy.....	13
2.2.4 Air-water contact angle measurement.....	14

## CONTENTS (Continued)

	Page
2.2.5 UV-spectroscopy.....	15
2.3 Preparation of chitosan films.....	15
2.4 Synthesis of MTEG-ald.....	15
2.5 Synthesis of MPEG-ald.....	15
2.6 Reaction between chitosan and butyraldehyde (homogeneous state).....	16
2.7 Reaction between chitosan and MTEG-ald (homogeneous state).....	16
2.8 Reaction between chitosan and MPEG-ald (homogeneous state).....	16
2.9 Reaction between chitosan films and butyraldehyde.....	17
2.10 Reaction between chitosan films and MTEG-ald.....	17
2.11 Reaction between chitosan films and MPEG-ald.....	17
2.12 Contact angle measurement.....	17
2.13 Protein adsorption on the surface of chitosan films.....	18
 CHAPTER III RESULTS AND DISCUSSION.....	 19
3.1. Determination of % degree of deacetylation (%DD) of chitosan by $^1\text{H}$ NMR.....	 19
3.2. Synthesis of MTEG-ald and MPEG-ald.....	20
3.2.1. Preparation of MTEG-ald.....	20
3.2.2. Preparation of MPEG-ald.....	21
3.3. Reductive alkylation of chitosan.....	21
3.3.1. Grafting of chitosan in the homogeneous state.....	21
3.3.1.1. Reaction with butyraldehyde (homogeneous state).....	21
3.3.1.2. Reaction with MTEG-ald (homogeneous state).....	24
3.3.1.3. Reaction with MPEG-ald (homogeneous state).....	26
3.3.2. Grafting of chitosan films.....	27
3.3.2.1. Reaction with butyraldehyde (heterogeneous state).....	27
3.3.2.2. Reaction with MTEG-ald (heterogeneous state).....	29
3.3.2.3. Reaction with MPEG-ald (heterogeneous state).....	31



**CONTENTS (Continued)**

	Page
3.4. Air-water contact angle.....	32
3.5. Protein adsorption study.....	33
CHAPTER IV CONCLUSIONS.....	36
REFERENCES.....	37
APPENDICES.....	40
VITAE.....	47



ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## LIST OF FIGURES

Figure	Page
1.1	Reaction of interchain anhydrides with linear poly(ethylenimine) (LPEI), followed by reaction of the surface-grafted LPEI with an acyl chloride (CICOR, R=CH <sub>3</sub> , CH <sub>2</sub> (OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> OCH <sub>3</sub> ).....
	5
1.2	Two silanated PEG used to grafted on glass surface.....
	6
1.3	Equilibrium of the three-phase boundary on solid surface.....
	10
1.4	Schematic of a typical FT-IR converter spectroscopy.....
	11
1.5	Diagram of ATR-IR.....
	11
2.1	Instrument set up for the measurement of air-water contact angle.....
	14
3.1	<sup>1</sup> H NMR spectrum of chitosan from Seafresh Chitosan (Lab) Co., Ltd. (Solvent: 1% CD <sub>3</sub> COOD in D <sub>2</sub> O, 25 °C).....
	19
3.2	FT-IR spectrum of unmodified chitosan.....
	22
3.3	FT-IR spectrum of chitosan by grafting with butyraldehyde.....
	23
3.4	<sup>1</sup> H NMR spectrum of <i>n</i> -butyl chitosan (Solvent: 1% CD <sub>3</sub> COOD in D <sub>2</sub> O, 25 °C).....
	23
3.5	FT-IR spectrum of chitosan by grafting with MTEG-ald.....
	24
3.6	<sup>1</sup> H NMR spectrum of chitosan-g-MTEG (Solvent: 1% CD <sub>3</sub> COOD in D <sub>2</sub> O, 25 °C).....
	25
3.7	FT-IR spectrum of chitosan by grafting with MPEG-ald.....
	26
3.8	<sup>1</sup> H NMR spectrum of chitosan-g-MPEG (Solvent: 1% CD <sub>3</sub> COOD in D <sub>2</sub> O, 25 °C).....
	26
3.9	ATR-IR spectrum of non-modified chitosan films.....
	27
3.10	ATR-IR spectrum of modified chitosan films by grafting with butyraldehyde (Solvent: 1% CD <sub>3</sub> COOD in D <sub>2</sub> O, 25 °C).....
	28
3.11	<sup>1</sup> H NMR spectrum of modified chitosan films by grafting with butyraldehyde (Solvent: 1% CD <sub>3</sub> COOD in D <sub>2</sub> O, 25 °C).....
	29
3.12	ATR-IR spectrum of modified chitosan films by grafting with MTEG-ald (Solvent: 1% CD <sub>3</sub> COOD in D <sub>2</sub> O, 25 °C).....
	29

3.13	$^1\text{H}$ NMR spectrum of modified chitosan films by grafting with MTEG-ald (Solvent: 1% $\text{CD}_3\text{COOD}$ in $\text{D}_2\text{O}$ , 25 °C).....	30
3.14	ATR-IR spectrum of modified chitosan films by grafting with MPEG-ald (Solvent: 1% $\text{CD}_3\text{COOD}$ in $\text{D}_2\text{O}$ , 25 °C).....	31
3.15	$^1\text{H}$ NMR spectrum of modified chitosan films by grafting with MPEG-ald (Solvent: 1% $\text{CD}_3\text{COOD}$ in $\text{D}_2\text{O}$ , 25 °C).....	31
3.16	Color intensity of protein solution, 16 h after adding BCA working solution, at different amounts of protein.....	34
3.17	Standard curve between absorbance at 562 nm and protein concentration.....	34
a	Formation of purple complex with BCA and cuprous ion generated from the biuret reaction.....	42
b-1	$^1\text{H}$ NMR spectrum of modified chitosan films by grafting with MTEG-ald (1:30:30) (Solvent: 1% $\text{CD}_3\text{COOD}$ in $\text{D}_2\text{O}$ , 25 °C).....	43
b-2	ATR-IR spectrum of modified chitosan films by grafting with MTEG-ald (1:30:30) (Solvent: 1% $\text{CD}_3\text{COOD}$ in $\text{D}_2\text{O}$ , 25 °C).....	44
c-1	$^1\text{H}$ NMR spectrum of modified chitosan films by grafting with MPEG-ald (1:30:30) (Solvent: 1% $\text{CD}_3\text{COOD}$ in $\text{D}_2\text{O}$ , 25 °C).....	45
c-2	ATR-IR spectrum of modified chitosan films by grafting with MPEG-ald (1:30:30) (Solvent: 1% $\text{CD}_3\text{COOD}$ in $\text{D}_2\text{O}$ , 25 °C).....	46

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## LIST OF TABLES

Figure		Page
3.1	Information from $^1\text{H}$ NMR spectrum of chitosan from Seafresh Chitosan (Lab) Co., Ltd.....	19
3.2	Information obtained from $^1\text{H}$ NMR spectrum of <i>n</i> -butyl chitosan.....	24
3.3	Information obtained from $^1\text{H}$ NMR spectrum of chitosan-g-MTEG.....	25
3.4	Information obtained from $^1\text{H}$ NMR spectrum of chitosan-g-MPEG.....	27
3.5	Information from $^1\text{H}$ NMR spectrum of modified chitosan films by grafting with butyraldehyde.....	29
3.6	Information from $^1\text{H}$ NMR spectrum of modified chitosan films by grafting with MTEG-ald.....	30
3.7	Information from $^1\text{H}$ NMR spectrum of modified chitosan films by grafting with MPEG-ald.....	32
3.8	Air-contact angle of chitosan films and modified chitosan films.....	33
3.9	The amounts of protein adsorbed on the unmodified and modified chitosan films.....	35
a	Protein used in this study.....	41
b-1	Information from $^1\text{H}$ NMR spectrum of modified chitosan films by grafting with MTEG-ald (1:30:30).....	43
c-1	Information from $^1\text{H}$ NMR spectrum of modified chitosan films by grafting with MPEG-ald (1:30:30).....	45

## LIST OF ABBREVIATIONS

ATR	: attenuated total reflection
$d_p$	: penetration depth
FT-IR	: Fourier transform infrared
Ge	: germanium
IRE	: internal reflection element
A	: absorbance
R	: reflectance
EG	: ethylene glycol
EO	: ethylene oxide
PEO	: poly(ethylene oxide)
TEG	: triethylene glycol
PEG	: poly (ethylene glycol)
MTEG	: monomethoxy triethylene glycol
MPEG	: monomethoxy poly(ethylene glycol)
DMSO	: dimethylsulfoxide
DCM	: dichloromethane
TEA	: triethylamine
pI	: isoelectric point
BSA	: bovine serum albumin

## LIST OF SYMBOLS

$\theta$	: angle of incidence
$\mu$	: micro
$n$	: refractive index
$\gamma$	: interfacial tension