AN APPROACH FOR OLIGOCHITOSAN VIA CHITINASE SYSTEM AND THE CHEMICAL MODIFICATION

Ms. Dararat Mekkriengkrai

A Thesis Submitted in Partial Fulfilment of the Requirements
for the Degree of Master of Science
The Petroleum and Petrochemical College, Chulalongkorn University
in Academic Partnership with
The University of Michigan, The University of Oklahoma
and Case Western Reserve University
2000

ISBN 974-334-169-2

Thesis Title	:	An Approach for Oligochitosan via Chitinase System and the Chemical Modification
By	:	Ms. Dararat Mekkriengkrai
Program	:	Polymer Science
Thesis Advisors	:	Asst. Prof. Suwabun Chirachanchai
		Dr. Rath Pichyangkura
		Assoc. Prof. David C. Martin

Accepted by the Petroleum and Petrochemical College, Chulalongkorn University, in partial fulfilment of the requirements for the Degree of Master of Science.

..... College Director

(Prof. Somchai Osuwan)

Thesis Committee:

.....

(Asst. Prof. Suwabun Chirachanchai)

.....

(Dr. Rath Pichyangkura)

.....

(Assoc. Prof. David C. Martin)

.....

(Dr. Ratana Rujiravanit)

บทคัดย่อ

ดารารัตน์ เมฆเกรียงไกร : การพัฒนาโครงสร้างไคตินให้เป็นโอลิโกเมอร์ด้วยกระบวนการย่อยด้วยเอนไซม์และการปรับโครงสร้างทางเคมี (An Approach for Oligochitosan via Chitinase System and the Chemical Modification) อ. ที่ปรึกษา : ผศ. ดร. สุวบุญ จิรชาญชัย ดร. รัฐ พิชญางกูร และ รศ. ดร. เดวิด ซี มาร์ติน (Assoc. Prof. David C. Martin) 66 หน้า ISBN 974-334-169-2

ไคติเนสถูกเตรียมจากแบคทีเรีย *Staphylococcus species* strain TU005 (E) ซึ่งพบในดินในประเทศไทย จากการตรวจวัดโดยวิธีคอลอริเมตริกที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสพบว่ามีค่าแอคติวิตี้ 18 mU/mg โอลิโกไคโตแซนที่ได้จากการย่อยด้วยไคติเนสถูกพบว่ามีความหนืดเป็น 1 ใน 3 เท่าของไคโตแซนตั้งต้นจากการวัดค่าอินทรินสิกวิสคอสิตี ปฏิกิริยาพาทาโลอิลเลชั่น (N-Phthaloylation) ที่ตำแหน่งคาร์บอนตัวที่ 2 ได้นำมาใช้เพื่อปกป้องหมู่อะมิโนให้คงอยู่และพบว่าปฏิกิริยานี้ทำสำเร็จจากการตรวจสอบกลุ่มพาทาลิมิโด (phthalimido group) ที่ 1714 และ 1775 เลขคลื่นด้วย FT-IR. อนุพันธ์ที่ได้แสดงการละลายได้ดีในไดเมทิลฟอร์มามายด์ ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ และ ไพริดีน ปฏิกิริยาโทซิลเลชั่นของโอลิโกไคโตแซน (O-Tosylation of oligochitosan) ทำได้สำเร็จที่อุณหภูมิห้องภายใต้ระบบสารละลายโดยตรวจสอบจากกลุ่มโทซิล (tosyl group) ที่ 817, 1599 และ 1173 เลขคลื่น การศึกษาการผนวกโมเลกุลของอัลคิลที่มีสายโซ่ยาวทำโดยการเตรียมลอริลพาทาโลอิลโอลิโกไคโตแซน (O-Lauryl-N-Phthaloyloligochitosan) ซึ่งพบหมู่เมธิลีนได้อย่างชัดเจนที่ 2926 เลขคลื่น ผลการวิเคราะห์ด้วย XRD ของอนุพันธ์โอลิโกไคโตแซนเหล่านี้แสดงว่าปฏิกิริยาการปรับแต่งอนุพันธ์โอลิไคโตแซนทำให้การจัดเรียงตัวเป็นผลึกของโอลิโกไคโตแซนตั้งต้นลดลง

ABSTRACT

4172007063 : POLYMER SCIENCE PROGRAM

KEYWORDS : *Staphylococcus species* strain TU005 (E), Oligochitosan, N-Phthaloylation, O-Tosylation, O-Lauryl-N-Phthaloyloligochitosan.

Dararat Mekkriengkrai: An Approach for Oligochitosan via Chitinase System and the Chemical Modification. Thesis Advisors: Asst. Prof. Suwabun Chirachanchai, Dr. Rath pichyangkura, and Assoc. Prof. David C. Martin, 66 pp. ISBN 974-334-169-2

Chitinase was prepared from bacteria, *Staphylococcus species* strain TU005 (E), found in Thailand soil. The activity was 18 mU/mg as determined by colorimetric assay at 37°C. Oligochitosan obtained from enzymatic degradation was found to be one-third of the starting chitosan as clarified by intrinsic viscosity. N-Phthaloylation at C-2 position was conducted to protect amino group. The compound showed the characteristic peaks of phthalimido group at 1714 and 1775 cm^{-1} by FT-IR. The product became well dissolved in DMF, DMSO, and pyridine. The precursor, O-tosylation of oligochitosan, was successfully prepared at room temperature under homogeneous system as confirmed from the tosyl peak at 817, 1599, and 1173 cm^{-1}. The conjugation of long chain alkyl onto the precursors was prepared to obtain O-Lauryl-N-Phthaloyloligochitosan as evidenced from the significant peak at 2926 cm^{-1}. The XRD patterns of these oligochitosan derivatives implied that the reaction decreased the crystallinity of the starting oligochitosan.

ACKNOWLEDGEMENTS

I would like to give special thanks to my Thai Advisor, Asst. Prof. Suwabun Chirachanchai and Dr. Rath Pichyangkura who not only originated this thesis work, but also gave the intensive suggestion and vital help throughout this research work. I wish to appreciate my U.S. advisor, Assoc. Prof. David C. Martin who gave the suggestions and comments on this research.

I would like to thank Prof. Suwalee Chandrkrachang for her help and kindness to support chitin-chitosan in this research. I would like to give the sincerest appreciation to Prof. Seiichi Tokura, Chemical Branch, Faculty of Engineering, Kansai University and Prof. Seiichi Aiba, National Institute of Materials and Chemical Research, Japan, for their recommendations in the work. I also would like to thank Prof. Kohji Tashiro of Department of Macromolecular Science, Osaka University for his suggestion in XRD. I would like to extend my special thanks Prof. Yasuyuki Tanaka of Department of Chemical Technology, Chulalongkorn University, for his kindness and suggestions.

I would like to thank my seniors Mr. Apirat Laobuthee and Ms. Amornrat Lertworasirikul, for the fruitful suggestions. I would like to thank the college members, staff, and all my best friends at the Petroleum and Petrochemical College.

Finally, I would like to express a special thanks to my family for the love, understanding, encouragement and, especially, financial support.

TABLE OF CONTENTS

CHAPTER **PAGE**

CHAPTER **PAGE**

LIST OF TABLES

LIST OF FIGURES

FIGURES **PAGE**

FIGURE **PAGE**

FIGURE **PAGE**

LIST OF SCHEMES