

Thesis Title	Syntheses, Characterizations and Biological Activities of Carboxymethylchitosans
Author	Miss Atchara Jaidee
Degree	Master of Science (Chemistry)
Thesis Advisor	Dr. Suwapron Luangkamin

ABSTRACT

N,O-carboxymethylchitosan (*N,O*-CMCS), *O*-carboxymethylchitosan (*O*-CMCS) and *N*-carboxymethylchitosan (*N*-CMCS) were prepared from various source and type chitosans. *N,O*-CMCS were synthesized by the reaction between shrimp, crab and squid chitosans with monochloroacetic acid under basic conditions at 50°C whereas *O*-CMCS was obtained by deacetylation of carboxymethyl chitin (*O*-CMC). *O*-CMC was synthesized from crab and shrimp chitins by using the same method as preparation of *N,O*-CMCS under temperatures -20 to 50 °C. *N*-CMCS was synthesized by the reaction between shrimp chitosans and glyoxalic acid. Then, the product was hydrogenated by reaction with sodium borohydride. The carboxymethylchitosans showed the improvement in water solubility (45-97%). The insertion of carboxymethyl group on chitosan molecules was analyzed by Fourier Transformed Infrared Spectroscopy (FT-IR), Proton Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy (¹H-NMR) and Scanning Electron Microscopy (SEM). The study of

FTIR spectra, $^1\text{H-NMR}$ spectra, and SEM images shows that carboxymethylation does take place. In addition, the $^1\text{H-NMR}$ was used for determining the degree of deacetylation (DD) and the degree of substitution (DS) at hydroxyl and amino groups of chitosan. The titration method was used for determining the DD and DS at N -sites ($\text{DS}_{N\text{-sub}}$) of carboxymethylchitosans. The DD and $\text{DS}_{N\text{-sub}}$ from titration method were similar to $^1\text{H-NMR}$ method. The DS of N,O -carboxymethyl chitosans were in the range of 1.0-2.2. The DS of N -carboxymethyl chitosan and O -carboxymethylchitosan were 0.1-0.4 and 0.2-0.8, respectively. Some N,O -CMCS, N -CMCS and O -CMCS were evaluated the antimicrobial activities against one fungal, *Candida albicans*, two Gram-negative bacteria, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* and three Gram-positive bacteria, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* and *Streptococcus pyogenes*, but the results were inactive.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การสังเคราะห์ การหาลักษณะเฉพาะ และฤทธิ์ทางชีวภาพของคาร์บอกซีเมทิลไคโตซาน
ผู้เขียน	นางสาวอัจฉรา ใจดี
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เคมี)
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ดร. สุวพร เหลืองขมิ้น

บทคัดย่อ

เอ็น,โอ-คาร์บอกซีเมทิลไคโตซาน (N,O-CMCS) โอ-คาร์บอกซีเมทิลไคโตซาน (O-CMCS) และ เอ็น-คาร์บอกซีเมทิลไคโตซาน (N-CMCS) ถูกเตรียมขึ้นจากไคโตซานหลายชนิด เอ็น,โอ-คาร์บอกซีเมทิลไคโตซานสังเคราะห์สังเคราะห์ได้จากปฏิกิริยาระหว่างไคโตซานของกุ้ง ปู และปลาหมึก กับโมโนคลอโรอะซิติกแอซิด ภายใต้สภาวะเบสที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ส่วนโอ-คาร์บอกซีเมทิลไคโตซาน ได้จากปฏิกิริยาการกำจัดหมู่อะเซทิลของคาร์บอกซีเมทิลไคติน (O-CMC) ซึ่งคาร์บอกซีเมทิลไคตินสังเคราะห์ได้จากไคตินของกุ้งและปูโดยใช้วิธีเดียวกันกับการเตรียม เอ็น,โอ-คาร์บอกซีเมทิลไคโตซาน ภายใต้อุณหภูมิ -20 ถึง 50 องศาเซลเซียส เอ็น-คาร์บอกซีเมทิลไคโตซานสังเคราะห์ได้จากปฏิกิริยาระหว่างไคโตซานของกุ้งกับไกลออกซาลิกแอซิด ตามด้วยปฏิกิริยาการเติมไฮโดรเจนโดยโซเดียมโบโรไฮไดรด์ คาร์บอกซีเมทิลไคโตซานแสดงถึงความสามารถในการละลายน้ำได้ดีขึ้น (45 - 97%) การเติมหมู่คาร์บอกซีเมทิลบนโมเลกุลของไคโตซานสามารถวิเคราะห์ได้จากเทคนิคฟูรีเยร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรด สเปกโทรสโกปี (FT-IR) โปรตอนนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ สเปกโทรสโกปี ($^1\text{H-NMR}$) และ ลักษณะพื้นผิวภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกนนิ่ง (SEM) จากการศึกษาสเปกตรัมของ FT-IR, $^1\text{H-NMR}$ และ ภาพถ่าย SEM แสดงให้เห็นว่าเกิดปฏิกิริยาการเติมหมู่คาร์บอกซีเมทิล นอกจากนี้เทคนิค $^1\text{H-NMR}$ ยังถูกใช้ในการหาค่าระดับการกำจัดหมู่อะเซทิล (DD) และ ค่าระดับการแทนที่ของการเติมหมู่คาร์บอกซีเมทิล (DS) ที่หมู่ไฮดรอกซิล และ อะมิโนของไคโตซาน เทคนิคการไทเทรชันถูกใช้ในการหาค่า DD และ ค่า DS ที่ตำแหน่งในไตรเจน (DS_{N-sub}) ของคาร์บอกซีเมทิลไคโตซาน ค่า DD และ DS_{N-sub} จากเทคนิคไทเทรชันมีค่าใกล้เคียงกับเทคนิค $^1\text{H-NMR}$ ค่าระดับการแทนที่ของเอ็น,โอ-คาร์บอกซีเมทิลไคโตซานมีค่าอยู่ในช่วง 1.0 - 2.2 ส่วนค่าระดับการแทนที่ของ

เอ็น-คาร์บอกซีเมทิลโคโตซาน และ โอ-คาร์บอกซีเมทิลโคโตซานเท่ากับ 0.1 - 0.4 และ 0.2 - 0.8 ตามลำดับ เอ็น,โอ-คาร์บอกซีเมทิลโคโตซาน, เอ็น-คาร์บอกซีเมทิลโคโตซาน และ โอ-คาร์บอกซีเมทิลโคโตซาน บางตัว นำไปทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์กับเชื้อรา 1 ชนิดได้แก่ *Candida albicans* เชื้อแบคทีเรียชนิดแกรมลบ 2 ชนิดได้แก่ *Salmonella typhimurium* กับ *Escherichia coli* และ เชื้อแบคทีเรียชนิดแกรมบวก 3 ชนิดได้แก่ *Staphylococcus aureus* *Bacillus cereus* และ *Streptococcus pyogenes* พบว่าไม่แสดงฤทธิ์