

Abstract

In this research, the synthesis of high molecular weight polylactones was performed by a lipases-catalyzed ring-opening lactones polymerization (ROP) in biphasic medium. The results of screening showed that lipase from *Candida antarctica* type B (CALB), CALB immobilized on acrylic resin (L2) and lipase from *Burkholderia cepacia* (lipase PS) were capable to catalyze the polymerization of ϵ -caprolactone (ϵ -CL) and ω -Pentadecanolactone (ω -PDL) yielding an oligomer with the average molecular weight ($\overline{Mn}$) of approximately 1000 g/mol. The interfacial kinetic parameters of lipase PS and CALB catalyzing hydrolysis of emulsified triglyceride were determined and used as a model to determine those of lipase PS catalyzed ROP of ϵ -CL and ω -PDL. It was evident that the ROP activity of lipases in biphasic media was controlled by enzyme molecular properties, forms of immobilization, properties of interfaces and properties of polylactone products. The systematic studied focused on the rate of ROP in biphasic medium compared with the one in organic solvent indicated that the precipitation of oligomers in aqueous medium was the origin of the $\overline{Mn}$ limitation in the case of ω -PDL, while the ϵ -CL water solubility was the origin of $\overline{Mn}$ limitation in the case of ROP of ϵ -CL. For ROP of ω -PDL, the optimization including the addition of toluene together with the lactone monomers and the design of optimum weight ratio of lipase to monomer in one droplet let to the increase of $\overline{Mn}$ of oligopentadecanolactone from about 1000 g/mol to approximately 3500 g/mol. The $\overline{Mn}$ of oligocaprolactone was optimized up to 1.4 times by increasing the molar concentration of ϵ -CL in water. Finally, the preliminary step of core-shell shaped dextran-coated polylactone nanoparticles synthesis was carried out. The type and the concentration of modified dextran necessary for stabilizing nanoparticles model were investigated. Moreover, the adsorption capacity percentage of lipases on one ω -PDL droplet and its influence on the $\overline{Mn}$ of lactone particles was determined.

The results of this study help us to understand the action of lipases at the interface using high substrate concentrations which is a key criterion for technological applications in general.

Keywords: Lipase, Ring-opening polymerization, biphasic medium, lactones.

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ ศึกษาการสังเคราะห์โพลีแลคโตนที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงโดยใช้เอนไซม์ไลเปส เร่งปฏิกิริยา ring-opening โพลีเมอร์ไรเซชัน (ROP) ของแลคโตน ในระบบสองวัฏภาค (biphasic medium) ผลการคัดเลือกเอนไซม์ในระบบดังกล่าวได้แสดงให้เห็นว่าไลเปสจาก *Candida antarctica* type B (CALB), CALB ที่ถูกตรึงบนเรซินอะคริลิก (L2) และจาก *Burkholderia cepacia* (lipase PS) สามารถสังเคราะห์โอลิโกแลคโตนที่มีน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย ($\overline{Mn}$) ประมาณ 1000 กรัม/โมล จากปฏิกิริยา ROP ของ ϵ -caprolactone (ϵ -CL) และ ω -Pentadecanolactone (ω -PDL) ทำการวัดค่าตัวแปรทางจลนศาสตร์ที่ผิวสัมผัสของเอนไซม์ทั้งสองชนิดในการเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของอิมัลชันของน้ำมัน และใช้เป็นวิธีต้นแบบในการวัดค่าตัวแปรทางจลนศาสตร์ที่ผิวสัมผัส ในการเร่งปฏิกิริยา ring-opening ของ อิมัลชันของแลคโตนด้วยไลเปส ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่า ความสามารถของเอนไซม์ไลเปสในการเร่งปฏิกิริยา ROP ขึ้นอยู่กับ คุณสมบัติของเอนไซม์ โมเลกุล ลักษณะการตรึงเอนไซม์ คุณสมบัติของผิวสัมผัส และคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์โอลิโกเมอร์ การศึกษาอัตราเร็วในการเร่งปฏิกิริยา ROP ของ ω -PDL ด้วยเอนไซม์ไลเปสในระบบสองวัฏภาค เปรียบเทียบกับในสารละลายอินทรีย์ชี้ให้เห็นว่า การตกตะกอนของโอลิโกเมอร์ในน้ำเป็นต้นเหตุที่ทำให้ ค่า $\overline{Mn}$ ของโอลิโกเมอร์มีค่าต่ำ ในขณะที่การละลายน้ำของ ϵ -CL โมโนเมอร์ เป็นสาเหตุที่จำกัดค่า $\overline{Mn}$ ในกรณีของปฏิกิริยา ROP ของ ϵ -CL จึงทำการเพิ่มค่า $\overline{Mn}$ ของ oligopentadecanolactone ในกรณีที่สังเคราะห์ด้วยปฏิกิริยา ROP ของ ω -PDL โดยการผสม toluene กับ ω -PDL ก่อนทำปฏิกิริยา ROP และ ทำการออกแบบอัตราส่วนโดยน้ำหนัก ของ เอนไซม์ไลเปส ต่อ ω -PDL ที่ดีที่สุด ทำให้ค่า $\overline{Mn}$ เพิ่มขึ้นจาก 1000 กรัม/โมล เป็น 3500 กรัม/โมล ในขณะที่ค่า $\overline{Mn}$ ของ oligocaprolactone เพิ่มขึ้นประมาณ 1.4 เท่าโดยการเพิ่มความเข้มข้นของ ϵ -CL ในน้ำ ท้ายที่สุดได้ทำการทดลองเบื้องต้นเพื่อสังเคราะห์อนุภาคนาโน dextran-coated polylactone โดยการเลือกชนิดของและวัดปริมาณของ modified dextran ที่ จำเป็นสำหรับการใช้เป็นสารเพิ่มความเสถียรของอนุภาค polylactone นอกจากนี้ได้ทำการวิเคราะห์ เปอร์เซ็นต์ของการเกาะของเอนไซม์ไลเปสบนหนึ่งอนุภาคของ lactone และอิทธิพลของ เปอร์เซ็นต์ของการเกาะของเอนไซม์ไลเปสต่อ $\overline{Mn}$ ของอนุภาคแลคโตน

ผลการศึกษาที่ได้จากงานวิจัยนี้ ช่วยให้เกิดความเข้าใจ เกี่ยวกับ การเร่งปฏิกิริยาบนผิวสัมผัส ของไลเปส ในระบบที่ความเข้มข้นของสับสเตรมีค่าสูง ซึ่งเป็นเทคโนโลยีที่สำคัญสำหรับการผลิตโดยทั่วไป

คำสำคัญ: ไลเปส, Ring-opening polymerization, ระบบสองวัฏภาค, สารแลคโตน