



NGHIÊN CỨU CẮT MẠCH CHITOSAN TỪ MAI MỰC VỚI ĐỘ DEAXETYL ~ 70% BẰNG HYDROPEROXIT TRONG MÔI TRƯỜNG DỊ THỂ VÀ ĐỒNG THỂ

Bùi Phước Phúc¹

¹Trường Đại học An Giang, ĐHQG-HCM

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 01/08/2018

Ngày nhận kết quả bình duyệt:
12/01/2019

Ngày chấp nhận đăng:
04/2020

Title:

Study on degradation of chitosan from squid pens with degree of deacetylation ~ 70% by hydrogen peroxide in heterogeneous and homogeneous medium

Keywords:

β -chitosan, degree of deacetylation, oxidation degradation

Từ khóa:

β -chitosan, độ deaxetyl, cắt mạch oxi hóa

ABSTRACT

Chitosan samples was prepared from squid pens (β -chitosan) with degree of deacetylation (DD) ~ 70%. The oxidation degradation of β -chitosan (β CTS) by hydrogen peroxide in heterogeneous and homogeneous medium have been studied. The oxidation degradation rate constants (k_{ox}) have been determined: $0.18 \times 10^{-4} h^{-1}$ in heterogeneous medium and $0.48 \times 10^{-4} h^{-1}$ in homogeneous medium. Structure of oxidation degraded chitosan in heterogeneous and homogeneous medium was investigated by FT-IR spectra. The deacetylation degree of chitosan was calculated from FT-IR spectra which was almost unchanged during process in the oxidation degradation in heterogeneous and homogeneous medium.

TÓM TẮT

Các mẫu chitosan (CTS) được chế tạo từ mai mực (β -chitosan) có độ deaxetyl (DD) ~ 70%. Quá trình cắt mạch oxi hóa β -chitosan (β CTS) bằng hydroperoxit trong môi trường dị thể và đồng thể được nghiên cứu. Hằng số tốc độ cắt mạch oxi hóa (k_{ox}) được xác định: $0,18 \times 10^{-4} \text{ giờ}^{-1}$ trong môi trường dị thể và $0,48 \times 10^{-4} \text{ giờ}^{-1}$ trong môi trường đồng thể. Cấu trúc của chitosan đã cắt mạch oxi hóa trong môi trường dị thể và đồng thể được khảo sát bằng phổ FT-IR. Độ deaxetyl của chitosan tính từ phổ FT-IR hầu như không thay đổi trong quá trình cắt mạch oxi hóa trong môi trường dị thể và đồng thể.

1. GIỚI THIỆU

α -chitosan (α CTS) thường được chế tạo từ deaxetyl α -chitin vỏ tôm, cua và β -chitosan (β CTS) được chế tạo từ deaxetyl β -chitin mai mực (Gu, Peng, Jiang, & Zhao, 2012; Huang và cs., 2011; Jung & Zhao, 2013; Kim, No, & Prinyawiwatkul, 2007; Lê thị Hải Yến, Nguyễn Thị Ngọc Tú, & Nguyễn Thị Thu Hà, 2002; Y. Zhang, H. Zhang, Chen, Fu, & Zhao, 2018). Nhờ

các tính năng ưu việt như không độc, tương hợp và phân hủy sinh học, kháng vi khuẩn và nấm bệnh, nên chitin/CTS và các dẫn xuất của chúng được ứng dụng rộng rãi trong công nông nghiệp, y học và dược phẩm (Châu Văn Minh, Phạm Hữu Điển, Đặng Lan Hương, Trịnh Đức Hưng, & Hoàng Thanh Hương, 1996; Dahlan, Hashim, & Bahari, 2010; Hon & Dumitriu, 1996; Huang và cs., 2011; Jung & Zhao, 2013; Kewsuwan, 2010; Le Quang Luan và cs., 2005; Lê thị Hải Yến và

cs., 2002; Shahidi, Arachchi, & Jeo, 1999). Mai mực mềm cũng là một nguồn cung cấp chitin đang được quan tâm (Kurita và cs., 1993). Chitin được chiết xuất từ mai mực sẽ có chất lượng và hoạt tính hoá học cao hơn chitin được sản xuất từ vỏ các loài giáp xác khác (Methacanon, Prasitsilp, Pothsree, & Pattaraarchachai, 2003; Trịnh Đức Hưng, Châu Văn Minh, Ngô Thị Thuận, & Đoàn Việt Nga, 2003). Mặt khác, trong qui trình chế tạo β CTS từ deacetyl β -chitin mai mực có ưu điểm là không cần giai đoạn loại khoáng (demineralization) (Kurita và cs., 1993; Phạm Lê Dũng, Phạm Thị Mai, Nguyễn Thị Đông, & Lê Thanh Sơn, 1997). Tuy nhiên, do khối lượng phân tử (KLPT) trung bình CTS thường khá cao đã giới hạn khả năng ứng dụng. Nhằm mở rộng và nâng cao hiệu quả sử dụng, một trong những biện pháp thường dùng là cắt mạch CTS để chế tạo CTS có KLPT trung bình thấp và oligochitosan. So với các tác nhân hóa học thì phương pháp cắt mạch CTS bằng H_2O_2 có nhiều ưu điểm khi cắt mạch chitosan cho hiệu suất cao và thân thiện với môi trường. Trong công trình này nghiên cứu cắt mạch oxi hóa hai mẫu β CTS với DD \sim 70% bằng hydroperoxit trong môi trường dị thể và đồng thể để xác định hằng số tốc độ cắt mạch oxi hóa, KLPT trung bình M_v , M_w và độ deacetyl của chitosan đã cắt mạch oxi hóa với chitosan ban đầu. Khảo sát một số đặc trưng tính chất trên cơ sở đo độ nhớt, sắc kí lỏng gel phân tử GPC và phổ hồng ngoại biến đổi FT-IR.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Vật liệu nghiên cứu

Mẫu β -chitosan từ mai mực có DD = 72, 3%, M_{V0} = 1.318.000 Da kí hiệu là β CTS70 và mẫu β -chitosan từ mai mực có DD = 70,41%, M_{w0} = 91.500 Da kí hiệu là β C70, hai mẫu đều từ Trung tâm Vinagamma. Etanol tuyệt đối độ tinh khiết 99,7% của Trung Quốc, H_2O_2 độ tinh khiết 99% của Thái Lan, axit lactic dạng tinh khiết của Trung Quốc, NH_4OH độ tinh khiết 99,5% của

Trung Quốc. Nước sử dụng là nước đã được khử ion.

2.2 Phương pháp nghiên cứu

2.2.1 Khảo sát nồng độ H_2O_2 ảnh hưởng đến phản ứng cắt mạch chitosan

Mẫu β CTS70 được cắt mạch trong môi trường dị thể, pH 9, ở nhiệt độ phòng (25 °C), tỷ lệ 1 kg mẫu/15lít dung dịch H_2O_2 theo nồng độ từ 0 - 2%.

2.2.2 Cắt mạch β CTS70 bằng H_2O_2 1% trong môi trường dị thể theo thời gian

Mẫu β CTS70 được cắt mạch trong môi trường dị thể, pH 9, ở nhiệt độ phòng (25 °C), tỷ lệ 1kg mẫu/15lít dung dịch H_2O_2 1% từ 0 - 24 giờ.

2.2.3 Cắt mạch β C70 bằng H_2O_2 trong môi trường đồng thể theo thời gian

Hòa tan 50g β C70 trong 1 lít dung dịch axit lactic 3%, pH 3,7. Cắt mạch dung dịch CTS chứa 1% H_2O_2 ở nhiệt độ phòng (25 °C) theo thời gian từ 0 - 24giờ. Tủa dung dịch thu được sau phản ứng bằng etanol tuyệt đối với tỉ lệ 1/5 (20ml dung dịch thu được sau phản ứng/100ml etanol tuyệt đối), trợ kết tủa bằng NH_4OH 2,5%. Lọc và rửa kết tủa (3 lần) bằng etanol tuyệt đối cùng tỉ lệ trên. Mẫu được sấy khô 60 °C trong tủ sấy quạt gió (Đức).

2.2.4 Xác định khối lượng phân tử trung bình độ nhớt M_v

M_v được xác định bằng phương pháp đo độ nhớt, dùng nhớt kế Ostwald (Đức) sử dụng hệ dung môi CH_3COOH 0,2M / CH_3COONa 0,1M. M_v được tính theo phương trình Mark- Houwink:

$$[\eta] = k \times M_v^\alpha \quad (1)$$

k và α là hằng số phụ thuộc DD% ; $[\eta]$ (dl/g): độ nhớt đặc trưng (S. Wang, Huang, & Q. Wang, 2005; W. Wang, Shuqin, Shuqing, & Qin, 1991).

2.2.5 Xác định khối lượng phân tử trung bình M_w bằng đo GPC

M_w của chitosan được xác định bằng phương pháp sắc ký gel đo trên máy HP-GPC 1100 của hãng Agilent (Mỹ) dùng cột Ultrahydrogel 250, 500, hãng Waters (Mỹ) và dùng mẫu chuẩn Pullulan có

M_w từ 780 - 380.000 Da. Đầu dò Refractive Index, hãng Agligen (Mỹ) dùng ghi sắc ký đồ. Mẫu chitosan nồng độ 0,4% được pha trong dung môi hỗn hợp CH_3COOH 0,25 M/ CH_3COONa 0,25 M được đưa vào cột với tốc độ bơm 1 mL/phút (Knaul, Kasaai, Bui V. Tam, & Creber, 1998).

2.2.6 Xác định DD% bằng phổ FT-IR

DD% của các mẫu CTS tính từ phổ FT-IR được đo trên máy Equinox 55 của hãng Bruker (Mỹ) và được tính theo công thức của Brugnerotto và cs. (2001):

$$DD\% = 100 - (A_{1320}/A_{1420} - 0,3822)/0,03133 \quad (2)$$

A_{1320} và A_{1420} là mật độ quang tương ứng tại các đỉnh hấp thụ 1320 và 1420 cm^{-1} .

2.2.7 Tính toán các giá trị đánh giá cắt mạch từ các kết quả M_v , M_w , DD%

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Khảo sát ảnh hưởng nồng độ H_2O_2 đến cắt mạch chitosan

Bảng 1. Ảnh hưởng nồng độ H_2O_2 đến M_v của β CTS70 cắt mạch trong môi trường dị thể, thời gian cắt mạch 16 giờ ở nhiệt độ phòng (25 °C)

Nồng độ H_2O_2 %	M_v (10^5 Da)
0	13,18
1,0	4,87
1,5	3,27
2,0	2,98

Kết quả từ bảng 1 khi nghiên cứu cắt mạch β CTS70 với H_2O_2 từ 0 - 2% trong môi trường dị thể cho thấy KLPT trung bình M_v của β CTS70 giảm dần theo chiều tăng nồng độ H_2O_2 . Tuy nhiên, M_v chỉ giảm nhanh từ 1.318.000 đến 487.000 Da trong khoảng nồng độ H_2O_2 từ 0 - 1%, sau đó giảm không đáng kể khi nồng độ H_2O_2 tăng lên từ 1 - 2%. Kabal'Nova và cs. (2001) khi cắt mạch CTS bằng H_2O_2 trong môi trường dị thể thu được kết quả KLPT trung bình của CTS giảm khi tăng nồng độ H_2O_2 , thời gian và nhiệt độ xử lý cắt mạch. Qin, Du, & Xiao (2002) khi cắt mạch CTS với H_2O_2 (0 - 5%) cũng nhận thấy KLPT trung bình của chitosan giảm dần khi tăng nồng độ H_2O_2 . Như vậy cắt mạch oxi hóa bằng H_2O_2 là rất hiệu quả để làm giảm KLPT trung bình của

Hằng số tốc độ cắt mạch k (giờ⁻¹) được tính theo phương trình (3) (Chang, Tai, & Cheng 2001; Wasikiewicz, Yoshii, Nagasawa, Wach, & Mitomo, 2005):

$$\frac{1}{M_t} = \frac{1}{M_0} + \frac{kt}{m} \quad (3)$$

Trong đó M_0 , M_t lần lượt là khối lượng phân tử trung bình của chitosan ban đầu và chitosan sau thời gian t (giờ) oxi hoá; m là khối lượng trung bình của một mắc xích chitosan, tính từ phương trình (4):

$$m = [(DD\% \times 161) + 203 \times (100 - DD\%)] / 100 \quad (4)$$

Trong đó DD% là độ deacetyl của chitosan.

chitosan. Tuy nhiên, nồng độ H_2O_2 quá cao bên cạnh xúc tiến sự cắt mạch cũng làm thay đổi cấu trúc của chitosan (Qin và cs., 2002; Tian, Liu, Hu, & Zhao, 2004).

So với các nghiên cứu khi cắt mạch α CTS từ vỏ tôm, để cắt mạch có hiệu quả Quin và cs. (2002) đã sử dụng nồng độ H_2O_2 đến 5%, nhiệt độ ở 70 °C còn Chang và cs. (2001) sử dụng nồng độ H_2O_2 3,5%, nhiệt độ ở 80 °C thì từ bảng 1 công trình này cho thấy β CTS được chế tạo từ mai mực để cắt mạch hơn vì nồng độ H_2O_2 được sử dụng để cắt mạch có hiệu quả là thấp hơn (1%) và nhiệt độ cắt mạch cũng thấp hơn (nhiệt độ phòng, 25 °C). Mặt khác theo Lê thị Hải Yến và cs. (2002)

β CTS dễ cắt mạch hơn α CTS do cấu trúc tinh thể của β CTS có độ kết tinh kém hơn.

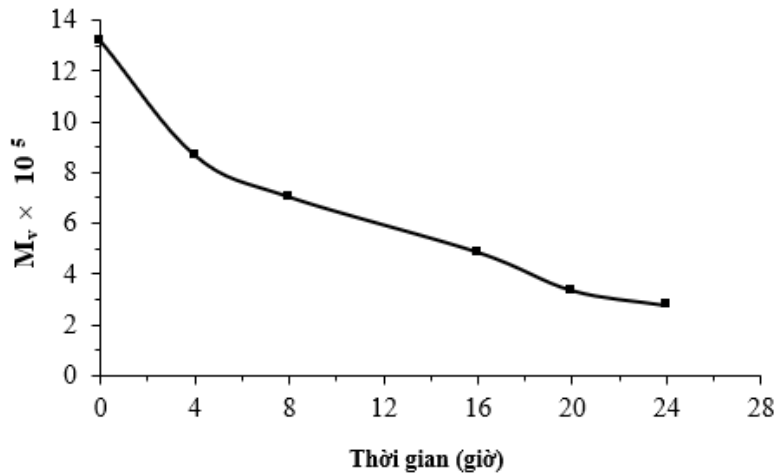
Như vậy nồng độ H_2O_2 là 1% và nhiệt độ 25 °C là điều kiện được lựa chọn để cắt mạch có

hiệu quả đối với các β -chitosan cho các nghiên cứu tiếp theo.

3.2 Khảo sát động học cắt mạch CTS bằng H_2O_2 trong môi trường dị thể

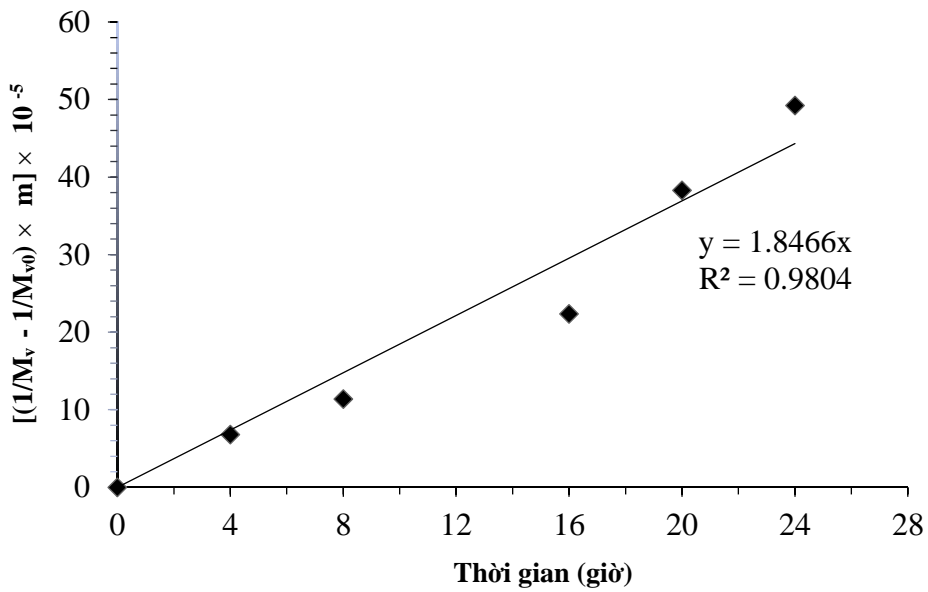
Bảng 2. M_V của β CTS70 cắt mạch oxi hóa với H_2O_2 1% theo thời gian t (giờ), dị thể

t	Kí hiệu mẫu	[η] (dl/g)	M_V (Da)	$(1/M_V - 1/M_{V0}) \times m \times 10^5$
0	β CTS70-OX-0h	7,4375	1.318.000	0
4	β CTS70-OX-4h	4,6577	868.000	6,79
8	β CTS70-OX-8h	3,6898	705.000	11,39
16	β CTS70-OX-16h	2,4392	487.000	22,35
20	β CTS70-OX-20h	1,6089	336.000	38,28
24	β CTS70-OX-24h	1,2960	277.000	49,22



Hình 1. Sự phụ thuộc M_V của β CTS70 cắt mạch với H_2O_2 1% theo thời gian

Kết quả hình 1 cho thấy M_V của β CTS70 giảm dần theo thời gian oxi hóa, cụ thể là: β CTS70 ban đầu là 1.318.000 giảm dần đến 277.000 Da sau 24 giờ phản ứng.



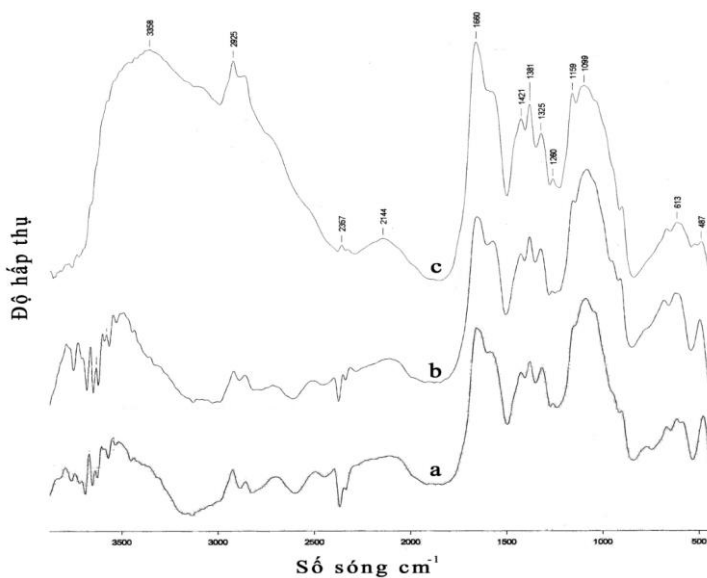
Hình 2. Sự phụ thuộc $(1/M_v - 1/M_{v0}) \times m$ theo thời gian oxi hóa β CTS70- H_2O_2 1%

Từ hình 2 kết hợp với phương trình (3) đã xác định được hằng số tốc độ cắt mạch oxi hóa bằng H_2O_2 1% trong môi trường dị thể của β CTS70 là $k_{ox} = 0,18 \times 10^{-4}$ giờ $^{-1}$. So với nghiên cứu của Chang và cs. (2001) có các giá trị k_{ox} cao hơn từ $4,2 \times 10^{-4}$ đến $7,1 \times 10^{-4}$ phút $^{-1}$ (252×10^{-4} đến 426×10^{-4} giờ $^{-1}$) nguyên nhân là do Chang và cs. (2001) thực hiện ở điều kiện nhiệt độ cao là 80 °C và sử dụng nồng độ H_2O_2 cao hơn đến 3,5%, còn

trong công trình này khi cắt mạch β CTS70 nồng độ H_2O_2 được sử dụng là 1% và ở nhiệt độ phòng (25 °C).

3.2 Khảo sát cấu trúc của các β CTS70 cắt mạch bằng phổ FT-IR

Kết quả đo phổ FT-IR của các sản phẩm cắt mạch β CTS70 bằng H_2O_2 1%, môi trường dị thể theo thời gian oxi hóa: a. 0 giờ, b. 8 giờ, c. 16 giờ được thể hiện ở hình 3.



Hình 3. Phổ FT-IR của β CTS70 cắt mạch với H_2O_2 1% : a. 0 giờ b. 8 giờ và c. 16 giờ

Từ hình 3 các giá trị DD% của β CTS70 cắt mạch theo thời gian oxi hóa được xác định từ các mật độ quang tương ứng tại các đỉnh hấp thụ ở 1421 - 1426 cm^{-1} và 1316 - 1325 cm^{-1} .

Các kết quả tính giá trị DD% từ phổ FT-IR ở hình 3 được trình bày trên bảng 3.

Bảng 3. Ảnh hưởng thời gian oxi hóa đến DD% của các CTS (Tính từ phổ FT-IR)

Ký hiệu mẫu	DD% theo thời gian t (giờ) oxi hóa với H ₂ O ₂ 1%		
	0	8	16
β CTS70	72,3	72,0	72,4

Kết quả bảng 3 cho thấy các sản phẩm cắt mạch β CTS70 theo thời gian oxi hóa thu được có DD% đều thay đổi rất ít so với chitosan tương ứng ban

đầu. Như vậy cắt mạch oxi hóa chủ yếu phá vỡ liên kết β -1,4-glucozit làm giảm khối lượng phân tử trung bình.

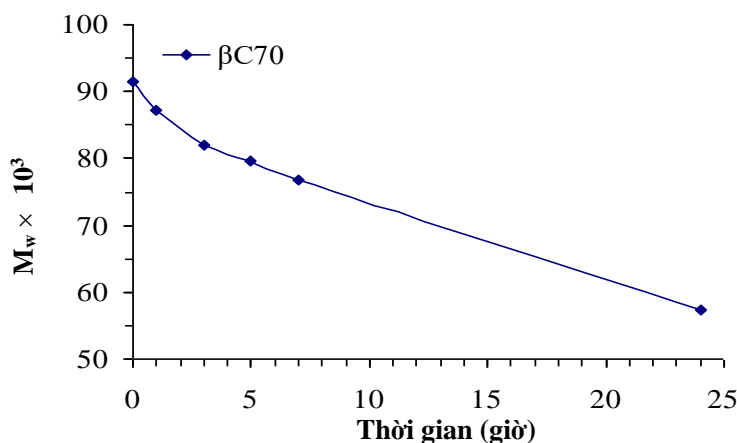
Sự khác biệt của chúng tôi so với nghiên cứu của Qin và cs. (2002) là qua các kết quả từ phổ FT-IR, phổ ¹³C-NMR, kết quả phân tích nguyên tố, phân tích hóa học, Qin và cs. (2002) nhận thấy cấu trúc CTS bị thay đổi do hình thành nhóm cacboxyl, tách nhóm -NH₂ khỏi phân tử và mở vòng. Nguyên nhân là do tác giả Qin và cs. (2002) sử dụng nồng độ H₂O₂ cao đến 5% và nhiệt độ ở 70 °C, trong khi chúng tôi thực hiện ở nhiệt độ phòng (25 °C) và nồng độ H₂O₂ sử dụng là 1% cho cắt mạch β -chitosan.

3.3 Khảo sát cắt mạch CTS bằng H₂O₂ trong môi trường đồng thể

Bảng 4. Mw của β C70 oxi hóa với H₂O₂ 1% theo thời gian t (giờ), đồng thể

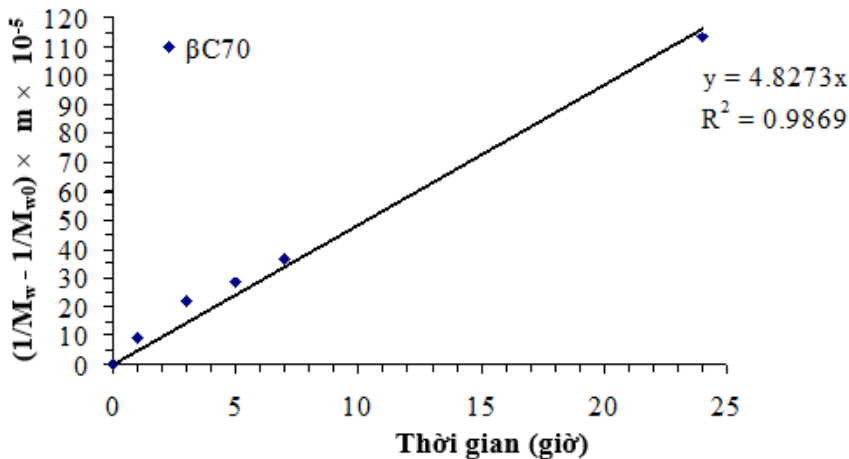
t	Kí hiệu mẫu	M _w (Da)	$(1/M_w - 1/M_{w0}) \times m \times 10^5$
0	β C70-OX-0h	91.500	0
1	β C70-OX -1h	87.200	9,35
3	β C70-OX -3h	82.000	21,96
5	β C70-OX -5h	79.600	28,34
7	β C70-OX -7h	76.800	36,28
24	β C70-OX -24h	57.300	113,13

Kết quả cắt mạch chitosan β C70 bằng H₂O₂ 1% trong môi trường đồng thể được trình bày trên hình 4.



Hình 4. Sự phụ thuộc Mw của β C70 theo thời gian oxi hóa với H₂O₂ 1%

Từ hình 4 cho thấy M_w của β C70 giảm dần theo thời gian oxi hóa từ 91.500 Da xuống còn 57.300 Da sau 24 giờ phản ứng.

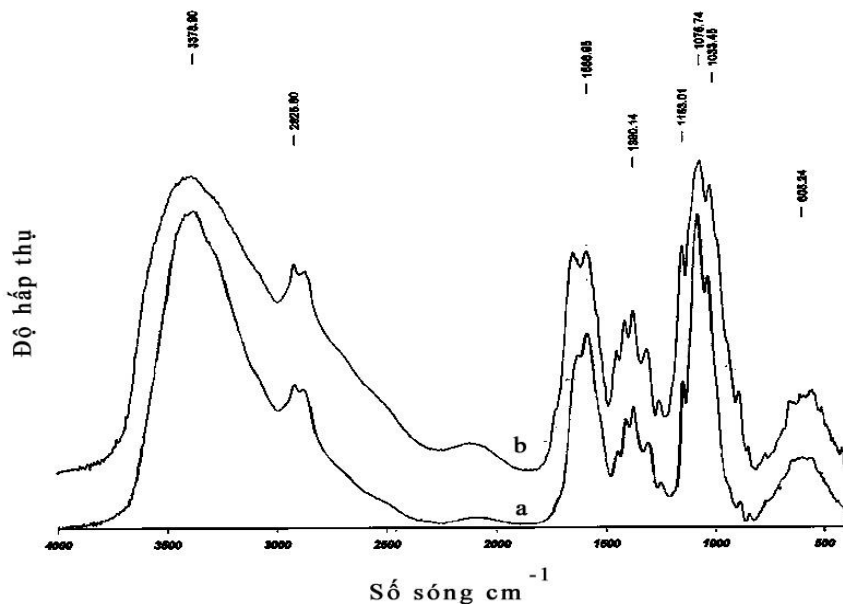


Hình 5. Sự phụ thuộc $(1/M_w - 1/M_{w0}) \times m$ theo thời gian oxi hóa β C70 - H_2O_2 1%

Từ hình 5 kết hợp với phương trình (3) cho kết quả tốc độ cắt mạch bằng H_2O_2 1% trong môi trường đồng thể của β C70 là $k_{ox} = 0,48 \times 10^{-4}$ giờ⁻¹.

cứu cắt mạch CTS bằng H_2O_2 đều cho thấy hằng số tốc độ cắt mạch oxi hóa k_{ox} chỉ tăng theo chiều tăng của nhiệt độ phản ứng và độ deaxetyl của CTS nguồn.

Theo kết quả nghiên cứu của Chang và cs. (2001), Qin và cs. (2002), Tian và cs. (2004) khi nghiên



Hình 6. Phổ FT-IR của β C70 ban đầu (a) và β C70 oxi hóa (b)

Kết quả hình 6 cho thấy phổ FT-IR của β C70 oxi hóa bằng H_2O_2 1% trong môi trường đồng thể không có sự khác biệt rõ rệt so với β C70 ban đầu.

DD% thay đổi không đáng kể (DD% của β C70 và β C70 oxi hóa tương ứng là 70,41 và 70,38%). Như vậy cắt mạch đồng thể chủ yếu do đứt cầu

nổi β -1,4-glucozit. Điều này được giải thích là do trong suốt quá trình cắt mạch đồng thể ở môi trường axit, $-\text{NH}_2$ bị proton hóa chuyển thành $-\text{NH}_3^+$, điện tích dương này làm mật độ điện tích trên C_2 bị giảm đi và tác nhân thân điện tử OH^- sẽ ít tấn công vào đây nên nhóm $-\text{NH}_2$ được bảo vệ (Tian, Liu, Hu, & Zhao, 2003; Tian và cs., 2004).

4. KẾT LUẬN

- Đã lựa chọn được nồng độ H_2O_2 1% và nhiệt độ 25 °C là điều kiện để cắt mạch hiệu quả đối với β -chitosan.
- Đã nghiên cứu cắt mạch chitosan từ mai mực với độ deacetyl $\sim 70\%$ bằng hydroperoxit trong môi trường dị thể và đồng thể.
- Kết quả cho thấy khối lượng phân tử trung bình của CTS giảm dần theo thời gian oxi hóa. β -chitosan dễ cắt mạch hơn α -chitosan.
- Phổ FT-IR của CTS oxi hóa không có sự khác biệt rõ so với CTS ban đầu chứng tỏ quá trình cắt mạch oxi hóa cả trong môi trường dị thể và đồng thể không làm thay đổi đáng kể DD% của CTS.
- Đã xác định được các hằng số tốc độ cắt mạch oxi hóa $0,18 \times 10^{-4}$ và $0,48 \times 10^{-4} \text{ giờ}^{-1}$ lần lượt đối với $\beta\text{CTS}70$ trong môi trường dị thể và $\beta\text{C}70$ trong môi trường đồng thể.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Brugnerotto, J., Lizardi, J., Goycoolea, F. M., Argüelles-Monal, W., Desbrières, J., & Rinaudo, M. (2001). An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization. *Polymer*, 42, 3569 - 3580.

Chang, K. L. B., Tai, M. C., & Cheng, F. H. (2001). Kinetics and products of the degradation of chitosan by hydrogen peroxide. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49 (10), 4845 - 4851.

Dahlan, K. Z. H. M., Hashim, K., & Bahari, K. (2010). Application of radiation degraded chitosan as plant growth promoter. *Report of the 2nd RCM on ‘Development of radiation-processed products of natural polymers for application in agriculture, healthcare, industry and environment’*, Reims, France 12-16

October 2009, International Atomic Energy Agency, Reproduced by the IAEA, Vienna, Austria, 121 - 129.

Phạm Lê Dũng., Phạm Thị Mai., Nguyễn Thị Đông., & Lê Thanh Sơn. (1997). β -chitin. *Tạp chí Hóa học*, 35(3b), 81 - 84.

Gu, L., Peng, X. Q., Jiang, C., & Zhao, C. C. (2012). The Preparation and Research of β -Chitosan/HA Composite Magnetic Microspheres. *Advanced Materials Research*, 767 - 771.

Hon, D. N. S., & Dumitriu, S. (1996). Polysaccharides in medicinal application. New York, 631 - 649.

Huang, J. , Mao, J. W., Hu, S., Zhao, D. K., Mei, L. H., Liu, S. W., ..., Shao, Q. (2011). Ultrasonic-Assisted Preparation, Characterization and Antibacterial Activity of β -Chitosan from Squid Pens. *Advanced Materials Research*, 282 - 287.

Trịnh Đức Hưng, Châu Văn Minh, Ngô Thị Thuận, & Đoàn Việt Nga. (2003). Ảnh hưởng của cấu hình chitin đến sự phân bố mật độ điện tử trên nguyên tử nitơ, khả năng hấp phụ tạo phức của chitin và hoạt tính xúc tác của phức kim loại- chitin trong phản ứng oxi hóa Na_2S bằng oxi phân tử. *Tạp chí Hóa học*, 41(1), 84 - 87.

Jung, J., & Zhao, Y. (2013). Impact of the Structural Differences between α - and β -Chitosan on Their Depolymerizing Reaction and Antibacterial Activity. *J. Agric. Food Chem.*, 61 (37), 8783 - 8789.

Kabal'Nova, N. N., Murinov, K. Y., Mullagaliev, I. R., Krasnogorskaya, N. N., Shereshovets, V. V., Monakov, Y. B. , & Zaikov, G. E. (2001). Oxidative destruction of chitosan under the effect of ozone and hydrogen peroxide. *Journal of Applied Polymer Science*, 81(4), 875 - 881.

Kewsuwan, P. (2010). Utilization of degraded chitosan for growth promoter and blossom blight disease controls in okra. *Report of the 2nd RCM on ‘Development of radiation-*

- processed products of natural polymers for application in agriculture, healthcare, industry and environment''*, Reims, France 12-16 October 2009, International Atomic Energy Agency, Reproduced by the IAEA, Vienna, Austria, 153 - 158.
- Kim, S. H., No, H. K., & Prinyawiwatkul, W. (2007). Effect of molecular weight, type of chitosan, and chitosan solution pH on the shelf-life and quality of coated eggs. *J. Food Sci.*, 72(1), 44 - 48.
- Knaul, J. Z., Kasaai, M. R., Bui V. Tam, & Creber, K. A. M. (1998). Characterization of deacetylated chitosan and chitosan molecular weight review. *CAN. J. CHEM.*, 76(11), 1699 - 1706.
- Kurita, K., Tomita, K., Tada, T., Ishii, S., Nishimura, S. I., & Shimoda, K. (1993). Squid chitin as a potential alternative chitin source: Deacetylation behaviour and characteristic properties. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.*, 31, 485 - 491.
- Le Quang Luan, Vo Thi Thu Ha, Nagasawa, N., Kume, T., Yoshii, F., & Nakanishi, T. M., (2005). Biological effect of irradiated chitosan on plants in vitro. *Biotechnol. Appl. Biochem.*, 41, 49 - 57.
- Methacanon, P., Prasitsilp, M., Pothsree, T., & Pattaraarchachai, J. (2003). Heterogeneous N-deacetylation of squid chitin in alkaline solution. *Carbohydrate Polymers*, 52, 119 - 123.
- Châu Văn Minh, Phạm Hữu Điền, Đặng Lan Hương, Trịnh Đức Hưng, & Hoàng Thanh Hương. (1996). Nghiên cứu sử dụng chitosan trong nông nghiệp và bảo quản thực phẩm. *Tạp chí Hóa học*, 34(4), 29 - 33.
- Qin, C. Q., Du, Y. M., & Xiao, L. (2002). Effect of hydrogen peroxide treatment on the molecular weight and structure of chitosan. *Polymer Degradation and Stability*, 76 (2), 211 - 218.
- Shahidi, F., Arachchi, J. K. V., & Jeo, Y. J. (1999). Food applications of chitin and chitosans. *Trends in Food Sci. Technol.*, 10, 37 - 51.
- Tian, F., Liu, Y., Hu, K., & Zhao, B. (2003). The depolymerization mechanism of chitosan by hydrogen peroxide. *Journal of Materials Science*, 38 (23), 4709 - 4712.
- Tian, F., Liu, Y., Hu, K., & Zhao, B. (2004). Study of depolymerization behavior of chitosan by hydrogen peroxide. *Carbohydrate Polymers*, 57, 31 - 37.
- Wang, S. M., Huang, Q. Z., & Wang, Q. S. (2005). Study on the synergic degradation of chitosan with ultraviolet light and hydrogen peroxide. *Carbohydrate Research*, 340, 1143 - 1147.
- Wang, W., Shuqin, B., Shuqing, L., & Qin, W. (1991). Determination of the Mark-Houwink equation for chitosans with different degrees of deacetylation. *Int. J. Biol. Macromol.*, 13, 281 - 285.
- Wasikiewicz, J. M., Yoshii, F., Nagasawa, N., Wach, R. A., & Mitomo, H. (2005). Degradation of chitosan and sodium alginate by gamma radiation, sonochemical and ultraviolet methods. *Radiation Physics and Chemistry*, 73(5), 287-295.
- Lê thị Hải Yến., Nguyễn Thị Ngọc Tú., & Nguyễn Thị Thu Hà. (2002). Nghiên cứu điều chế β -chitosan từ mai mực ở nhiệt độ thường. *Tạp chí Dược Học*, 4, 13 - 16.
- Zhang, Y., Zhang, H., Chen, S., Fu, H., & Zhao, Y. (2018). Microwave-assisted degradation of chitosan with hydrogen peroxide treatment using Box-Behnken design for enhanced antibacterial activity. *International Journal of Food Science and Technology*, 53, 156 - 165.