

## KHẢO SÁT QUÁ TRÌNH THỦY PHÂN CHITOSAN BẰNG CELLULASE TẠO CHITOOLIGOSACCHARIDE

Bùi Văn Hoài<sup>1\*,2</sup>, Đào An Quang<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Nam Phương<sup>1</sup>,  
Võ Đình Nguyên<sup>1</sup>, Trần Thị Kim Quyên<sup>1</sup>, Ngô Đại Nghiệp<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm TP.HCM

<sup>2</sup>Trường Đại học Khoa học Tự nhiên TP.HCM-VNU

\*Email: [hoaibv@cntp.edu.vn](mailto:hoaibv@cntp.edu.vn)

Ngày nhận bài: 24/6/2017; Ngày chấp nhận đăng: 12/9/2017

### TÓM TẮT

Nhằm tăng độ hòa tan trong nước của chitosan và tiềm năng ứng dụng cho các sản phẩm tốt cho sức khỏe con người là mục tiêu chính của nghiên cứu này. Cellulase là Enzyme không đặc hiệu được sử dụng trong nghiên cứu này, hàm lượng đường khử được xác định theo phương pháp có sử dụng DNS, trọng lượng phân tử của COS được xác định bằng sắc ký gel thẩm qua (GPC). Kết quả nghiên cứu đã chọn được các thông số thích hợp cho quá trình thủy phân như sau: nhiệt độ 50 °C; pH 5,5; nồng độ cơ chất 0,8%; hoạt tính enzyme 7 UI/g; thời gian thủy phân 150 phút. Trọng lượng phân tử trung bình của COS là 4.325,8 Da. Kết quả nghiên cứu có thể tiến tới triển khai ứng dụng tạo COS.

*Từ khóa:* Chitoooligosaccharide, chitosan, cellulase, thủy phân.

### 1. MỞ ĐẦU

Xu thế hiện nay các nhà khoa học thế giới đang nghiên cứu các chất có hoạt tính sinh học có nguồn gốc tự nhiên và từ đó cải biến để tạo ra các chất có hoạt tính được nâng cao, một trong những trường hợp đó là chitosan, một hợp chất deacetyl hóa từ chitin, một polymer tự nhiên được tạo thành từ các đơn phân N-acetyl glucosamine, hiện diện trong vỏ của các loài giáp xác, côn trùng và trong vách của tế bào nấm [1].

Chitosan được sử dụng làm nguyên liệu sinh hóa bởi những hoạt tính kháng khuẩn, giảm cholesterol, giảm huyết áp, kháng viêm, kháng oxy hóa,... Ngoài ra, chitosan là nguyên liệu rẻ tiền, dễ phân hủy sinh học và không độc vì vậy được ứng dụng rất nhiều và đa dạng trong công nghiệp thực phẩm [2]. Mặc dù chitosan có nhiều chức năng hiệu quả trong nhiều lĩnh vực, nhưng chúng có trọng lượng phân tử lớn và độ nhớt cao nên khó ứng dụng trong cơ thể. Hơn nữa, chitosan không được ruột non hấp thu vì hệ tiêu hóa của động vật, đặc biệt là hệ tiêu hóa của cơ thể người không có hệ enzyme chitinase và chitosanase để thủy phân chúng thành những chất có trọng lượng phân tử thấp để cơ thể hấp thu. Vì vậy, ảnh hưởng của chitosan trong cơ thể vẫn chưa rõ ràng. Tuy nhiên, trong những năm gần đây đã có nhiều nghiên cứu chuyển chitosan thành dẫn xuất nhằm nâng cao khả năng ứng dụng của chúng [3].

Chitoooligosaccharide (COS) là dạng oligomer của chitosan nên nó mang được hầu hết những hoạt tính sinh học của chitosan như kháng oxy hóa, kháng nấm, kháng khuẩn, kháng ung thư, tăng cường miễn dịch,...[4]. COS có thể được thu nhận bằng hai phương pháp: hóa học và enzyme. Trường hợp thủy phân chitosan để thu COS bằng phương pháp hóa học thường độc cho cơ thể. Trong khi đó, thủy phân chitosan để thu COS bằng enzyme sẽ an toàn, không độc và thân thiện môi trường [3].

COS được sản xuất từ chitosan bởi enzyme đặc hiệu như chitosanase và enzyme không đặc hiệu như cellulase, lipase, papain, lysozyme, hemicellulase, pectinase, pepsin,... Hạn chế khi sử dụng enzyme đặc hiệu là giá thành cao và sự thiếu hụt về số lượng khi sử dụng quy mô lớn. Vì lý do này, các nhà nghiên cứu và sản xuất thường nghiên cứu và lựa chọn loại enzyme không đặc hiệu thương mại, những enzyme không đặc hiệu này cho hiệu quả tạo COS tương tự như enzyme đặc hiệu trong khi giá thành lại thấp [5].

Cellulase là enzyme không đặc hiệu có khả năng thủy phân chitosan để tạo COS. Sản phẩm tạo ra có trọng lượng phân tử thấp, hòa tan tốt trong nước và không có sự thay đổi về cấu trúc của sản phẩm. Cellulase là loại enzyme có nhiều trong tự nhiên, được thu nhận từ các nguồn như vi khuẩn, nấm và thực vật [6].

Quá trình thủy phân chịu tác động bởi các yếu tố như nhiệt độ, pH, nồng độ cơ chất, nồng độ enzyme, thời gian thủy phân. Vì vậy, nghiên cứu “Khảo sát quá trình thủy phân chitosan bằng cellulase tạo chitooligosaccharide” được thực hiện nhằm tăng khả năng hòa tan của chitosan trong nước và tiềm năng ứng dụng cho các sản phẩm tốt cho sức khỏe con người.

## 2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu

Chitosan (Degree of deacetyl > 80%) được cung cấp bởi công ty Chitosan Việt Nam, Cellulase (Fungal cellulase, 4000 UI/g, nguồn từ *Trichoderma viride*) được cung cấp bởi hãng Zeon-Health (India), acid lactic 88% dùng trong thực phẩm (India), NaHCO<sub>3</sub> (India), 3,5-dinitrosalicylic acid (Merck), Glucosamine chuẩn (Sigma).

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. Chuẩn bị dung dịch chitosan

Dung dịch chitosan (1,4%, w/v) được chuẩn bị theo mô tả của Jeon và Kim (2000) với vài thay đổi nhỏ. Quy trình cụ thể như sau: lượng chitosan được tính toán theo nồng độ cần pha, hòa tan trong acid lactic (100 mL; 0,8%; v/v), khuấy liên tục trong 1 giờ, chỉnh pH bằng dung dịch NaHCO<sub>3</sub> bão hòa. Dung dịch này được pha loãng cho những thí nghiệm có nồng độ thấp hơn [7].

#### 2.2.2. Khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ

Các yếu tố được cố định: nồng độ enzyme 5 UI/g, pH 5,5; nồng độ cơ chất 1%; thời gian thủy phân 60 phút.

Các mức nhiệt độ khảo sát: 30 °C, 40 °C, 50 °C, 60 °C, 70 °C.

Cách tiến hành: 10 mL dung dịch chitosan 1% được chỉnh pH 5,5 bằng dung dịch NaHCO<sub>3</sub> bão hòa. Lượng enzyme được lấy theo nồng độ trên. Gia nhiệt chitosan và enzyme bằng nhiệt độ khảo sát. Trộn enzyme và chitosan, ủ hỗn hợp tại các mức nhiệt độ khảo sát, tính thời gian thủy phân. Mẫu sau khi thủy phân được đun sôi 10 phút để dừng quá trình thủy phân. Xác định hàm lượng đường khử tạo ra bằng phương pháp có sử dụng DNS. Kết quả thu được giữ cho thí nghiệm tiếp theo.

#### 2.2.3. Khảo sát ảnh hưởng của pH

Các yếu tố được cố định: nồng độ enzyme 5 UI/g, nồng độ cơ chất 1%, thời gian thủy phân 60 phút, nhiệt độ được chọn từ thí nghiệm khảo sát trước đó.

Các mức pH khảo sát: 4; 4,5; 5; 5,5; 6; 6,5.

Cách tiến hành: 10 mL dung dịch chitosan 1% được chỉnh pH theo các mức khảo sát bằng dung dịch NaHCO<sub>3</sub> bão hòa. Lượng enzyme được lấy theo nồng độ cố định trên. Gia

nhệt chitosan và enzyme đến nhiệt độ đã được chọn trước đó. Trộn enzyme và chitosan, ủ hỗn hợp, tính thời gian thủy phân. Mẫu sau thủy phân được đun sôi 10 phút để dừng quá trình thủy phân. Xác định hàm lượng đường khử tạo ra bằng phương pháp có sử dụng DNS.

#### 2.2.4. Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ cơ chất

Các yếu tố được cố định: nồng độ enzyme 5 UI/g, thời gian thủy phân 60 phút, nhiệt độ, pH được chọn từ thí nghiệm khảo sát trước đó.

Các mức nồng độ cơ chất thay đổi: 0,6%; 0,8%; 1%; 1,2%; 1,4%.

Cách tiến hành: 10 mL dung dịch chitosan được pha theo các mức nồng độ cơ chất khảo sát và được chỉnh đến pH đã được chọn từ thí nghiệm khảo sát trước đó. Lượng enzyme được lấy theo nồng độ cố định trên. Gia nhiệt chitosan và enzyme đến nhiệt độ đã được chọn trước đó. Trộn enzyme và chitosan, ủ hỗn hợp, tính thời gian thủy phân. Mẫu sau thủy phân được đun sôi 10 phút để dừng quá trình thủy phân. Xác định hàm lượng đường khử tạo ra bằng phương pháp có sử dụng DNS.

#### 2.2.5. Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ enzyme

Các yếu tố được cố định: thời gian thủy phân 60 phút, nhiệt độ, pH, nồng độ cơ chất được chọn từ thí nghiệm khảo sát trước đó.

Các mức nồng độ enzyme thay đổi: 1 UI/g, 3 UI/g, 5 UI/g, 7 UI/g, 9 UI/g.

Cách tiến hành: 10 mL dung dịch chitosan được pha theo nồng độ và được chỉnh đến pH đã được chọn từ thí nghiệm khảo sát trước đó. Lượng enzyme được lấy theo các mức nồng độ trên. Gia nhiệt chitosan và enzyme đến nhiệt độ đã được chọn trước đó. Trộn enzyme và chitosan, ủ hỗn hợp, tính thời gian thủy phân. Mẫu sau thủy phân được đun sôi 10 phút để dừng quá trình thủy phân. Xác định hàm lượng đường khử tạo ra bằng phương pháp có sử dụng DNS.

#### 2.2.6. Khảo sát ảnh hưởng của thời gian thủy phân

Các yếu tố được cố định: nhiệt độ, pH, nồng độ cơ chất, nồng độ enzyme được chọn từ thí nghiệm khảo sát trước đó.

Các mức thời gian thay đổi: 30 phút, 60 phút, 90 phút, 120 phút, 150 phút, 180 phút.

Cách tiến hành: 10 mL dung dịch chitosan được pha theo nồng độ và được chỉnh đến pH đã được chọn từ thí nghiệm khảo sát trước đó. Lượng enzyme được lấy theo nồng độ đã được chọn từ thí nghiệm khảo sát trước đó. Gia nhiệt chitosan và enzyme đến nhiệt độ đã được chọn trước đó. Trộn enzyme và chitosan, ủ hỗn hợp, tính thời gian thủy phân theo các mức thời gian thay đổi. Mẫu sau thủy phân được đun sôi 10 phút để dừng quá trình thủy phân. Xác định hàm lượng đường khử tạo ra bằng phương pháp có sử dụng DNS.

#### 2.2.7. Phương pháp xác định hàm lượng đường glucosamine (đường khử) theo phương pháp có sử dụng DNS (Dinitrosalicylic)

Phương pháp này dựa vào phản ứng tạo màu giữa đường khử với thuốc thử DNS trong môi trường kiềm nóng. Cường độ màu của hỗn hợp phản ứng tỷ lệ thuận với nồng độ đường khử. Dựa vào đồ thị đường chuẩn của glucosamine tinh khiết với thuốc thử DNS để tính hàm lượng đường khử của mẫu nghiên cứu [8].

Đường khử được xác định theo mô tả của Wood and Bhat (1988). Cụ thể như sau, trộn đều 1 mL dung dịch đường cần được phân tích và 3 mL thuốc thử DNS trong ống nghiệm ( $\phi=18$  mm). Đặt ống nghiệm vào bể cách thủy đang đun sôi, sau 5 phút lấy ống nghiệm ra làm nguội nhanh đến nhiệt độ phòng. Đo mật độ quang ở bước sóng 540 nm. Mẫu đối chứng được tiến hành tương tự nhưng dung dịch đường được thay thế bằng nước cất 1 lần. Đường chuẩn được xây dựng trước đó với nồng độ glucosamine chuẩn thay đổi từ 0,1 - 0,5 mg/mL.

Hàm lượng đường khử có trong mẫu phân tích được tính từ mối tương quan giữa mật độ quang và hàm lượng đường khử đã dựng trước đó [8].

### 2.2.8. Phân tích trọng lượng phân tử của COS

Trọng lượng phân tử của COS được phân tích bằng sắc ký gel thấm qua GPC (Gel Permeation Chromatography) [3]. Thiết bị phân tích sắc ký gel thấm qua: Sử dụng máy HPLC 1100 của hãng Agilent, cột Ultrahydrogel 500 (10  $\mu$ m, 300 mm x 7,8 mm).

Thông số phân tích mẫu:

Pha động: Đệm  $\text{CH}_3\text{COONa}/\text{CH}_3\text{COOH}$ , pha acid acetic 0,5 M, chỉnh pH 4 bằng  $\text{CH}_3\text{COONa}$  0,5 M, định mức tới vạch mức 1 lít bằng nước khử ion, sau đó lọc qua màng lọc 0,45  $\mu$ m. Sau cùng, đánh siêu âm đuổi bọt khí trong 45 phút.

Nhiệt độ lò cột: 40  $^{\circ}\text{C}$ .

Tốc độ dòng pha động: 1 mL/phút.

Thể tích mẫu tiêm: 20  $\mu$ L.

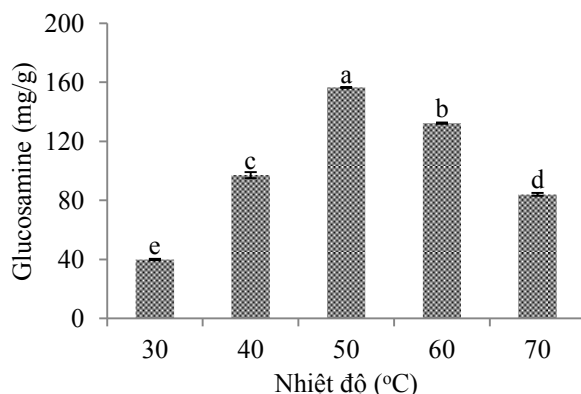
### 2.2.9. Phân tích thống kê

Tất cả các thí nghiệm được lặp lại 3 lần, thực hiện theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên. Kết quả thu được xử lý bằng phần mềm thống kê Statgraphic với độ tin cậy 95%. Sử dụng phương pháp xử lý phân tích ANOVA, so sánh sự khác biệt các giá trị trung bình dựa trên kiểm định LSD.

## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ

Kết quả khảo sát được thể hiện qua Hình 1. Khi thủy phân tại nhiệt độ 50  $^{\circ}\text{C}$ , hàm lượng glucosamine đạt cao nhất là  $156,48 \pm 0,33$  mg/g. Các khảo sát tại nhiệt độ 30  $^{\circ}\text{C}$ , 40  $^{\circ}\text{C}$ , 60  $^{\circ}\text{C}$ , 70  $^{\circ}\text{C}$  hàm lượng glucosamine thu được lần lượt là  $39,88 \pm 0,41$ ;  $97,80 \pm 2,00$ ;  $132,32 \pm 0,44$ ;  $83,99 \pm 1,01$  mg/g. Nhiệt độ 50  $^{\circ}\text{C}$  được chọn làm thí nghiệm tiếp theo.

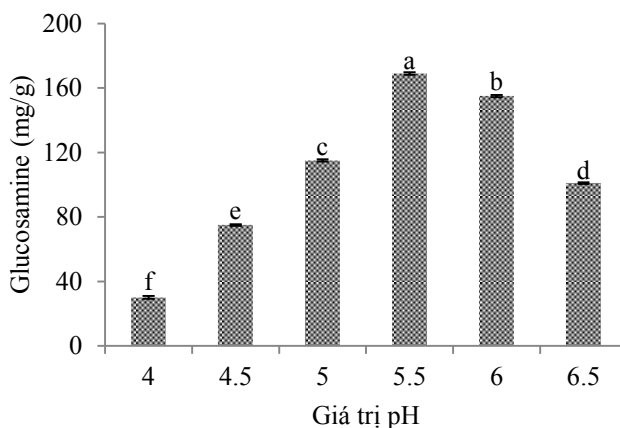


Hình 1. Đồ thị thể hiện sự thay đổi hàm lượng glucosamine theo nhiệt độ, kết quả được tính dựa trên giá trị trung bình với độ lệch chuẩn  $n = 3$ ; a, b, c, d, e là các ký tự có ý nghĩa sai biệt về mặt thống kê ( $p < 0,05$ ).

### 3.2. Ảnh hưởng của pH

Kết quả khảo sát được thể hiện qua Hình 2. Khi thủy phân tại pH 5, hàm lượng glucosamine đạt cao nhất là  $168,91 \pm 0,79$  mg/g. Các khảo sát tại pH 4; 4,5; 5; 6; 6,5 hàm lượng

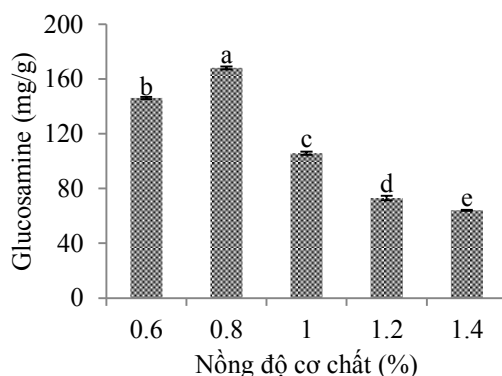
glucosamine thu được lần lượt là  $9,61 \pm 0,88$ ;  $75,09 \pm 0,49$ ;  $114,87 \pm 0,71$ ;  $154,63 \pm 0,67$ ;  $100,71 \pm 0,54$  mg/g. pH 5,5 được chọn làm thí nghiệm tiếp theo.



Hình 2. Đồ thị thể hiện sự thay đổi hàm lượng glucosamine theo pH, kết quả được tính dựa trên giá trị trung bình với độ lệch chuẩn  $n = 3$ ; a, b, c, d, e, f là các ký tự có ý nghĩa sai biệt về mặt thống kê ( $p < 0,05$ ).

### 3.3. Ảnh hưởng của nồng độ cơ chất

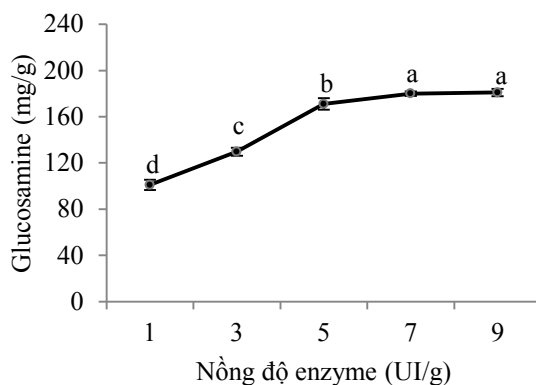
Kết quả khảo sát được thể hiện qua Hình 3. Khi thủy phân tại nồng độ cơ chất 0,8%, hàm lượng glucosamine đạt cao nhất là  $168,09 \pm 1,00$  mg/g. Các khảo sát tại nồng độ cơ chất 0,6%; 1%; 1,2%; 1,4% hàm lượng glucosamine thu được lần lượt là  $146,07 \pm 0,93$ ;  $105,82 \pm 1,20$ ;  $73,04 \pm 1,61$ ;  $64,07 \pm 0,40$  mg/g. Nồng độ cơ chất 0,8% được chọn làm thí nghiệm tiếp theo.



Hình 3. Đồ thị thể hiện sự thay đổi hàm lượng glucosamine theo cơ chất, kết quả được tính dựa trên giá trị trung bình với độ lệch chuẩn  $n = 3$ ; a, b, c, d, e là các ký tự có ý nghĩa sai biệt về mặt thống kê ( $p < 0,05$ ).

### 3.4. Ảnh hưởng của nồng độ enzyme

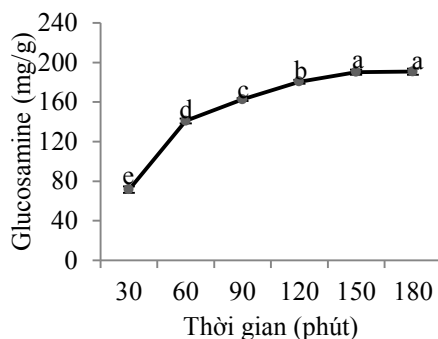
Kết quả khảo sát được thể hiện qua Hình 4. Khi thủy phân tại nồng độ enzyme 9 UI/g, hàm lượng glucosamine đạt cao nhất là  $180,88 \pm 3,20$  mg/g. Tuy nhiên, không có sự khác biệt tại nồng độ enzyme 7 UI/g với hàm lượng glucosamine là  $180,01 \pm 2,01$  mg/g. Các khảo sát tại nồng độ enzyme 1, 3, 5 UI/g hàm lượng glucosamine thu được lần lượt là  $101,05 \pm 4,54$ ;  $128,71 \pm 3,45$ ;  $170,89 \pm 4,81$  mg/g. Nồng độ enzyme 7 UI/g được chọn làm thí nghiệm tiếp theo.



Hình 4. Đồ thị thể hiện sự thay đổi hàm lượng glucosamine theo enzyme, kết quả được tính dựa trên giá trị trung bình với độ lệch chuẩn  $n = 3$ ; a, b, c, d là các ký tự có ý nghĩa sai biệt về mặt thống kê ( $p < 0,05$ ).

### 3.5. Ảnh hưởng của thời gian thủy phân

Kết quả khảo sát được thể hiện qua Hình 5. Khi thủy phân dừng tại thời điểm 180 phút, hàm lượng glucosamine đạt cao nhất là  $190,76 \pm 3,10$  mg/g. Tuy nhiên không có sự khác biệt khi thủy phân dừng tại thời điểm 150 phút với hàm lượng glucosamine là  $190,26 \pm 2,49$  mg/g. Các khảo sát khi thủy phân dừng tại thời điểm 30, 60, 90, 120 phút hàm lượng glucosamine thu được lần lượt là  $71,52 \pm 3,21$ ;  $140,87 \pm 2,51$ ;  $162,63 \pm 1,54$ ;  $180,53 \pm 2,00$  mg/g. Thời gian thủy phân được chọn là 150 phút. Kết quả nghiên cứu này tương đồng với nghiên cứu trước đó của Jeon và Kim (2000) [7].



Hình 5. Đồ thị thể hiện sự thay đổi hàm lượng glucosamine theo thời gian, kết quả được tính dựa trên giá trị trung bình với độ lệch chuẩn  $n = 3$ ; a, b, c, d, e là các ký tự có ý nghĩa sai biệt về mặt thống kê ( $p < 0,05$ ).

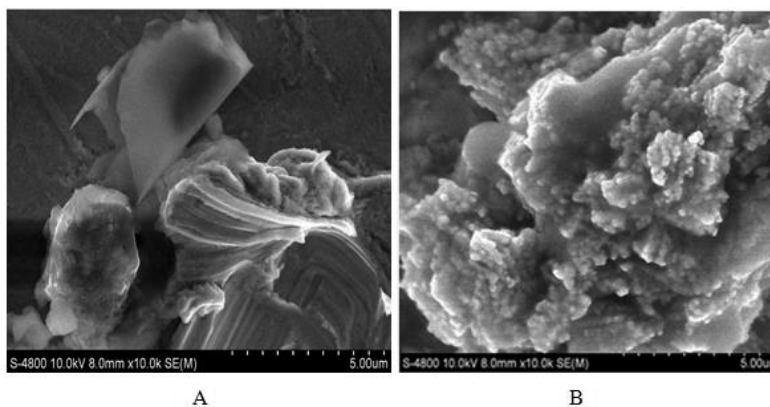
### 3.6. Kết quả phân tích trọng lượng phân tử sau quá trình thủy phân

Theo Nguyễn Anh Dũng (2012), chitosan khối lượng phân tử thấp có phân tử lượng trung bình khối ( $M_w$ ) từ 10.000 Da đến 100.000 Da, chitoooligosaccharide hòa tan được trong nước có  $M_w$  nhỏ hơn 10.000 Da [9]. Kết quả phân tích trọng lượng phân tử cho thấy chitosan ban đầu có trọng lượng phân tử thấp có  $M_w$  trung bình là 24.291 Da, sau khi thủy phân thu được COS có  $M_w$  trung bình là 4.325,8 Da, độ phân tán của mẫu COS khá đồng nhất khi chỉ số D bằng 1 (Bảng 1). Kết quả phân tích cho thấy COS có khả năng hòa tan trong nước. Kết quả phân tích cấu trúc bề mặt bằng SEM và trọng lượng phân tử bằng GPC của mẫu chitosan trước và sau thủy phân được thể hiện qua Hình 6 và 7.

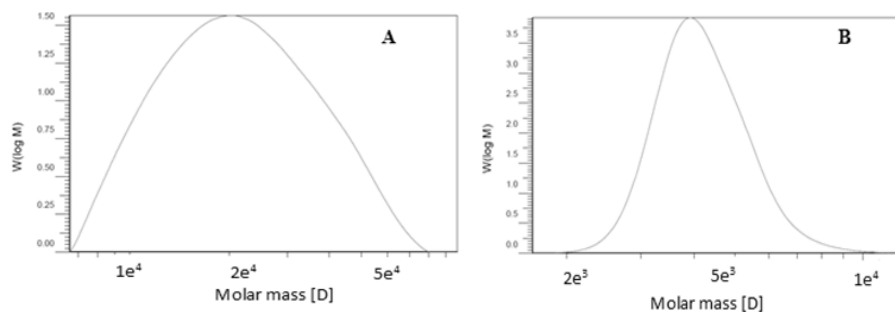
*Bảng 1. Kết quả phân tích sắc ký gel thẩm qua của mẫu Chitosan và COS*

Mẫu	$M_v$ (g/mol)	$M_n$ (g/mol)	$M_w$ (g/mol)	$D \left( \frac{M_w}{M_n} \right)$
Chitosan	$2,4291 \times 10^4$	$1,8656 \times 10^4$	$2,4291 \times 10^4$	1,3021
COS	$4,3258 \times 10^3$	$4,0001 \times 10^3$	$4,3258 \times 10^3$	1,0814

$M_v$  là phân tử lượng trung bình nhớt,  $M_n$  là phân tử lượng trung bình số.



*Hình 6. Ảnh SEM cho thấy cấu trúc bề mặt của chitosan trước và sau thủy phân  
A: chitosan ban đầu, B: chitosan sau khi thủy phân*



*Hình 7. Kết quả phân tích trọng lượng phân tử chitosan (A) và COS (B) bằng GPC*

#### 4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã tìm được thông số thích hợp cho quá trình thủy phân chitosan tạo oligochitosan hòa tan trong nước như sau: nhiệt độ 50 °C; pH 5,5; nồng độ cơ chất 0,8%; hoạt tính enzyme 7 UI/g, thời gian thủy phân 150 phút. Kết quả phân tích khối lượng phân tử trung bình của COS sau khi thủy phân là 4.325,8 Da. Kết quả nghiên cứu này là cơ sở để tối ưu hóa quá trình thủy phân bằng phương pháp quy hoạch thực nghiệm hoặc có thể triển khai ứng dụng tạo bột COS tan trong nước.

*Lời cảm ơn: Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ phát triển Khoa học và Công nghệ Quốc gia (NAFOSTED) trong đề tài mã số 106-NN.02-2014.87.*

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Muanprasat C. and Chatsudthipong V. - Chitosan oligosaccharide: Biological activities and potential therapeutic applications, *Pharmacology & Therapeutics* **170** (2016) 80-97.
2. Lillo L. *et al* - Antibacterial Activity of Chitooligosaccharides, *Carbohydrate Polymers* **63** (2008) 644-648.
3. Jeon Y. J. and Kim S. K. - Continuous production of chitooligosaccharides using a dual reactor system, *Process Biochemistry* **35** (2000) 623-632.
4. Kim S. K. and Rajapakse N. - Enzymatic production and biological activities of chitosan oligosaccharides (COS): A review, *Carbohydrate Polymers* **62** (2005) 357-368.
5. Xie Y., Jingang H., Wei Y., and Hong X. - Preparation of chitooligosaccharides by the enzymatic hydrolysis of chitosan, *Polymer Degradation and Stability* **94** (2009) 1895-1899.
6. Xia W., Liu P., and Liu J. - Advance in chitosan hydrolysis by non-specific cellulases, *Bioresource Technology* **99** (2008) 6751-6762.
7. Jeon Y. J. and Kim S. K. - Production of chitooligosaccharides using an ultrafiltration membrane reactor and their antibacterial activity, *Carbohydrate Polymers* **41** (2000) 133-141.
8. Wood T. M. and Bhat K. M. - Methods for measuring cellulase activities. In: Wood WA, Kellogg ST (ed.), *Methods in enzymology* **160** (1988) 87-112.
9. Nguyễn Anh Dũng và ctv. - Chitin, chitosan và các dẫn xuất: hoạt tính sinh học và ứng dụng, NXB Giáo dục Việt Nam, 2012, tr.348.

## ABSTRACT

### RESEARCH OF CHITOSAN HYDROLYSIS BY CELLULASE TO PRODUCE CHITOOIGOSACCHARIDE

Bui Van Hoai<sup>1\*,2</sup>, Dao An Quang<sup>1</sup>, Nguyen Thi Nam Phuong<sup>1</sup>,  
Vo Dinh Nguyen<sup>1</sup>, Tran Thi Kim Quyen<sup>1</sup>, Ngo Dai Nghiep<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>*Ho Chi Minh City University of Food Industry*  
<sup>2</sup>*University of Natural Science Ho Chi Minh City-VNU*  
\*Email: [hoaibv@cntp.edu.vn](mailto:hoaibv@cntp.edu.vn)

To increase the water solubility of chitosan and the potential application for many good products for human health is the primary objective of this study. Cellulase is non-specific enzyme used in this study, the reducing sugar content is determined using the DNS method, the molecular weight of chitooligosaccharide (COS) is determined by gel permeation chromatography (GPC). The research shows that the suitable parameters for the hydrolysis process include: temperature (50 °C), pH (5.5), substrate concentration (0.8%), enzyme activity (7 UI/g), hydrolysis duration (150 minutes). Average molecular weight of COS is 4,325.8 (Da). The research results may be applied to produce COS.

*Keywords:* Chitooligosaccharide, chitosan, cellulase, hydrolysis.