

Tap chí Công nghệ Sinh học **14**(3): 435-440, 2016

NGHIÊN CỨU HIỆU ỨNG SINH HỌC CỦA OLIGOCHITOSAN CHẾ TẠO BẰNG PHƯƠNG PHÁP CHIẾU XẠ γ -CO-60 TRÊN TẢO *SPIRULINA PLATENSIS*

Lê Quang Luân, Dương Hoa Xô

Trung tâm Công nghệ Sinh học Thành phố Hồ Chí Minh

Ngày nhận bài: 08.5.2016

Ngày nhận đăng: 20.8.2016

TÓM TẮT

Chitosan có khối lượng phân tử (Mw) ban đầu là khoảng 193 kDa và độ deacetyl khoảng 80% ở dạng bột khô đã được sử dụng cho chiếu xạ bằng tia gamma Co-60 để cắt mạch. Kết quả xác định bằng phương pháp sắc ký gel thẩm qua cho thấy chế phẩm oligochitosan có Mw từ 3,7 đến 28,9 kDa đã được chế tạo thành công ở các liều xạ từ 300 đến 2000 kGy. Chế phẩm oligochitosan sau khi chế tạo được bổ sung vào môi trường nuôi cấy tảo *Spirulina platensis* để khảo sát hiệu ứng sinh học. Kết quả nghiên cứu cho thấy tất cả các mẫu chitosan cắt mạch xạ đều thúc đẩy sự tăng trưởng sinh khối tươi và sinh khối khô của tảo *S. platensis* sau 7 ngày bổ sung. Chế phẩm oligochitosan có Mw ~ 15,4 kDa chế tạo ở liều xạ 500 kGy đã có hiệu ứng tăng trưởng tốt nhất ở tảo và nồng độ bổ sung tối ưu của chế phẩm này vào môi trường nuôi cũng đã được xác định là 100 ppm. Ngoài ra, việc bổ sung 100 ppm oligochitosan có Mw ~ 15,4 kDa không những đã có tác dụng thúc đẩy gia tăng 49,5% sinh khối tươi và 59,1% sinh khối khô sau 7 ngày nuôi mà còn làm gia tăng các chỉ tiêu chất lượng dinh dưỡng của tảo thành phẩm bao gồm hàm lượng chất khô, protein, carbohydrate và lipid lên tương ứng là 7,0; 23,3; 27,3; và 37,5%. Có thể thấy rằng chế phẩm oligochitosan có nguồn gốc hữu cơ từ tự nhiên chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ tia gamma Co-60 hứa hẹn là sản phẩm kích thích tăng trưởng tảo có tiềm năng ứng dụng cao, rất an toàn và hiệu quả cho mục đích sản xuất sinh khối tảo *S. platensis*.

Từ khóa: Chiếu xạ, chitosan, oligochitosan, *Spirulina platensis*, tia γ

MỞ ĐẦU

Chitosan có khối lượng phân tử thấp là một hoạt chất có nguồn gốc tự nhiên đã được chứng minh không những có tác dụng gia tăng hoạt tính kháng bệnh đối với cây trồng (Ma *et al.*, 2013; Yin *et al.*, 2010; Zhao *et al.*, 2007) mà còn kích thích quá trình sinh trưởng và phát triển của thực vật (Algam *et al.*, 2010). Để cắt mạch chitosan, phương pháp chiếu xạ đã được chứng minh là một phương pháp hữu hiệu với hàng loạt ưu điểm như quá trình thực hiện được tiến hành đơn giản và dễ điều chỉnh ở nhiệt độ phòng, sản phẩm thu được không cần phải tinh chế lại cũng như có thể kiểm soát được và có thể áp dụng ở quy mô lớn (Farkas, 1998; Lim *et al.*, 1998). Phương pháp chiếu xạ gamma có thể chế tạo ra sản phẩm oligochitosan có độ tinh khiết và độ deacetyl hóa cao bằng cách cắt mạch chính của chitosan để tạo ra hoạt chất có rất nhiều ứng dụng tiềm năng trong sinh học (Lim *et al.*, 1998). Không những là một kháng sinh thực vật (Yin *et al.*, 2010) giúp cây trồng kháng các vi sinh vật gây bệnh (Zhao *et al.*, 2007), oligochitosan còn có tác dụng lên quy trình

chết của tế bào thuốc lá (Zhang *et al.*, 2012) và kích thích lên các tế bào đại thực bào (Feng *et al.*, 2004) để bảo vệ quá trình phân chia tế bào. Bên cạnh khả năng giúp cây trồng kháng bệnh, chitosan có khối lượng phân tử thấp cũng có tác dụng kích thích tăng trưởng và nâng cao khả năng kháng hạn cho cây cà phê con trồng trong nhà kính cũng như trên đồng ruộng (Dzung *et al.*, 2011), tác dụng lên sự sinh trưởng và phát triển của thực vật như gia tăng năng suất của chuối (Xiangchun *et al.*, 2012), gia tăng năng suất tảo (Yan *et al.*, 2012), đào (Yang *et al.*, 2012) và có tác dụng kích thích sự phát triển của các mô của các cây hoa cúc, các tường và sao tím trong điều kiện *in vitro* (Luan *et al.*, 2005).

Hiện nay, tảo *Spirulina* đã được nghiên cứu và biết đến với nhiều chức năng và công dụng khác nhau và trở thành một loài tảo lam cực kỳ quý giá như dùng làm thức ăn cho người và động vật (Ali & Saleh, 2012; Kulshreshtha *et al.*, 2008), làm thực phẩm chức năng (Hosseini *et al.*, 2013), v.v. Ngoài ra, tảo *Spirulina* còn được ứng dụng trong xử lý nước thải (Chuntapa *et al.*, 2003), xử lý kim loại

nặng như đồng, chì, kẽm, v.v. (Fu & Wang, 2011; Greene & Darnall, 1988; Nalimova *et al.*, 2005). Để nâng cao năng suất sản xuất tảo, nhiều nhà khoa học trong và ngoài nước đã và đang tìm cách kiểm soát các điều kiện nuôi cấy như kiểm soát nhiệt độ và pH (Ogbonda *et al.*, 2007), ánh sáng (Danesi *et al.*, 2004), cải tiến quy trình (Madkour *et al.*, 2012; Torzillo *et al.*, 1986). Chính vì vậy, công trình này tiến hành nghiên cứu hiệu ứng của chế phẩm oligochitosan chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ lên sự tăng trưởng sinh khối của tảo *Spirulina platensis* nhằm phát triển ứng dụng loại hoạt chất tăng trưởng hữu cơ có nguồn gốc tự nhiên oligochitosan phục vụ công nghệ nuôi trồng an toàn loại tảo vốn giàu tiềm năng và giá trị cao này.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Vật liệu

Chitosan 8B có độ deacetyl 80% sử dụng trong nghiên cứu được cung cấp bởi Công ty Katokichi, Nhật Bản. Tảo *Spirulina platensis* do Bộ môn Công nghệ sinh học, Trường Đại học Nông Lâm cung cấp. Môi trường nuôi tảo sử dụng trong các thí nghiệm là môi trường Zarrouk (Clement *et al.*, 1968).

Chế tạo oligoalginate bằng công nghệ bức xạ

Chitosan dạng bột có khối lượng phân tử (Mw) ban đầu khoảng 193 kDa được chứa trong lọ thủy tinh có thể tích 50 ml và chiếu xạ tại các liều xạ 300, 500, 1000, 1500 và 2000 kGy bằng tia gamma phát ra từ nguồn xạ gamma Co⁶⁰ (Gamma cell model GC-5000, BRIT, Ấn Độ) với suất liều là 3 kGy/giờ.

Xác định khối lượng phân tử

Mẫu oligochitosan sau khi tạo ra bằng phương pháp chiếu xạ được xác định khối lượng phân tử bằng máy sắc ký gel thẩm qua (GPC: Gel Permeation Chromatography) model CO-8020 (Tosho Co. Ltd., Nhật Bản) sử dụng 4 cột TSKgel PW_{xl}, (G6000PW_{xl}, G4000PW_{xl}, G3000PW_{xl}, G2500PW_{xl}) được kết nối với cột bảo vệ TSK guard column PW_{xl}. Các mẫu chitosan được hoàn tan trong dung môi CH₃COOH 0,2 M và CH₃COONa 0,1 M tạo thành dung dịch có nồng độ 1 % và được đo ở nhiệt độ 40°C sử dụng detector tán xạ RI-8020 (Tosho Co. Ltd. Japan) và chất chuẩn là PEG có Mw là 0,2 – 6 kDa và PEO với Mw là 24 – 920 kDa (Wako Co. Ltd., Nhật Bản).

Xác định hiệu ứng tăng trưởng của oligochitosan

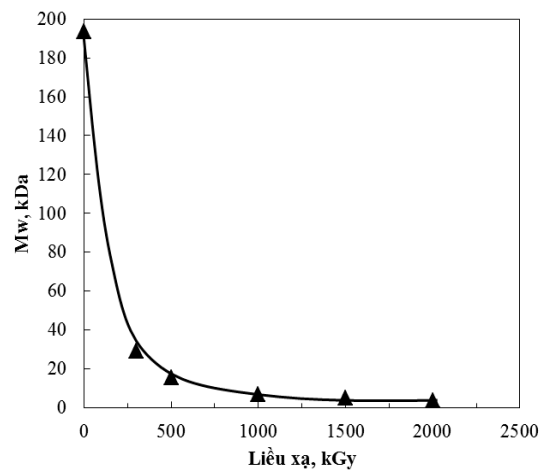
Mười ml dịch tảo ban đầu được cấy vào chai thủy tinh có chứa 500 ml môi trường Zarrouk có bổ sung 50 ppm oligochitosan được cắt mạch ở các liều xạ khác nhau. Nghiệm thức đối chứng là nghiệm thức tảo được nuôi cấy trong môi trường Zarrouk không có bổ sung oligochitosan. Mỗi nghiệm thức gồm 9 chai được nuôi cấy ở điều kiện sục khí liên tục và chiếu sáng với cường độ từ 25000 đến 30000 lux ở nhiệt độ 34-37°C. Thu hoạch dịch nuôi cấy sau 7 ngày theo dõi để xác định các chỉ tiêu bao gồm sinh khối tươi, sinh khối khô, hàm lượng chất khô, protein, carbohydrate và lipid. Các số liệu thu nhận được xử lý thống kê bằng phần mềm MSTATC.

Xác định chất lượng tảo

Hàm lượng protein được xác định bằng phương pháp Kjeldahl theo nguyên tắc vô cơ hóa chất hữu cơ bằng axit sunfuric với sự có mặt của chất xúc tác (TCVN 4328-2001, 2001), hàm lượng lipid thô được xác định bằng phương pháp chiết Soxhlet (TCVN 7129-2010, 2010), hàm lượng carbohydrate được xác định bằng phương pháp sắc ký trao đổi anion hiệu năng cao (TCVN9129-2011, 2011).

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Sự suy giảm Mw của chitosan theo liều xạ



Hình 1. Sự suy giảm Mw của chitosan theo liều xạ.

Nhiều nghiên cứu đã cho thấy hiệu ứng sinh học của chitosan lên tế bào tùy thuộc rất lớn vào khối lượng phân tử của chúng và thông thường các oligochitosan có Mw thấp thường biểu hiện hiệu ứng tăng trưởng đối với thực vật (Luan *et al.*, 2005 và

2009). Trong nghiên cứu này chitosan có Mw ban đầu là 193,9 kDa chiếu xạ cắt mạch ở dạng bột với liều xạ lên đến 2000 kGy. Kết quả nhận được từ hình 1 cho thấy Mw của chitosan giảm mạnh xuống còn 28,9 kDa ở liều xạ 300 kGy và sau đó giảm dần còn 15,4 đến 3,7 kDa ở các liều xạ từ 500 - 2000 kGy. Sự suy giảm Mw của chitosan có thể là do bức xạ gamma đã bẻ gãy các liên kết glycoside của phân tử chitosan (Chmielewski, 2010; Luan *et al.*, 2005; Yue, 2014) và liều chiếu xạ cao đồng nghĩa với thời gian chiếu xạ lâu, tác động của tia gamma lên phân tử chitosan càng mạnh do đó các liên kết glycoside bị bẻ gãy càng nhiều dẫn đến khối lượng phân tử càng thấp.

Ảnh hưởng chitosan chiếu xạ lên sự tăng trưởng của tảo *Spirulina*

Chitosan sau khi chiếu xạ được bổ sung vào môi trường nuôi cấy tảo với nồng độ 50 ppm để khảo sát hiệu ứng tăng trưởng nhằm tìm ra sản phẩm oligochitosan có Mw thích hợp cho mục đích gia tăng

sinh khối đối với tảo *S. platensis*. Kết quả trình bày ở bảng 1 cho thấy sau 7 ngày nuôi cấy, tất cả các chitosan chiếu xạ đều có tác dụng gia tăng sinh khối tươi từ 11,35 đến 35,64% và sinh khối khô từ 15,24 đến 39,11%, tuy nhiên các nghiệm thức bổ sung các oligochitosan có Mw từ 6,8 đến 15,4 kDa đã thể hiện hiệu quả vượt trội. Điều đáng chú ý là oligochitosan có Mw ~ 15,4 kDa đã có hiệu ứng tăng trưởng cao nhất với mức gia tăng 35,64% sinh khối tươi và 39,11% sinh khối khô so với đối chứng không bổ sung chế phẩm. Kết quả này cũng khá phù hợp với kết quả nghiên cứu trước đây của chúng tôi về Mw tối ưu của chitosan chiếu xạ lên sự phát triển của các mô của các cây hoa cúc, các tường và sao tím trong điều kiện *in vitro* (Luan *et al.*, 2005). Kết quả cũng phù hợp với các mô của cây hoa lan (Nge *et al.*, 2006). Ngoài ra kết quả nhận được từ bảng 1 cũng cho thấy sản phẩm tảo thu nhận được ở các nghiệm thức bổ sung chitosan chiếu xạ có hàm lượng chất khô khá ổn định và không thay đổi đáng kể so với nghiệm thức đối chứng và nghiệm thức bổ sung chitosan không chiếu xạ.

Bảng 1. Ảnh hưởng của oligochitosan có Mw khác nhau lên sự tăng trưởng của tảo.

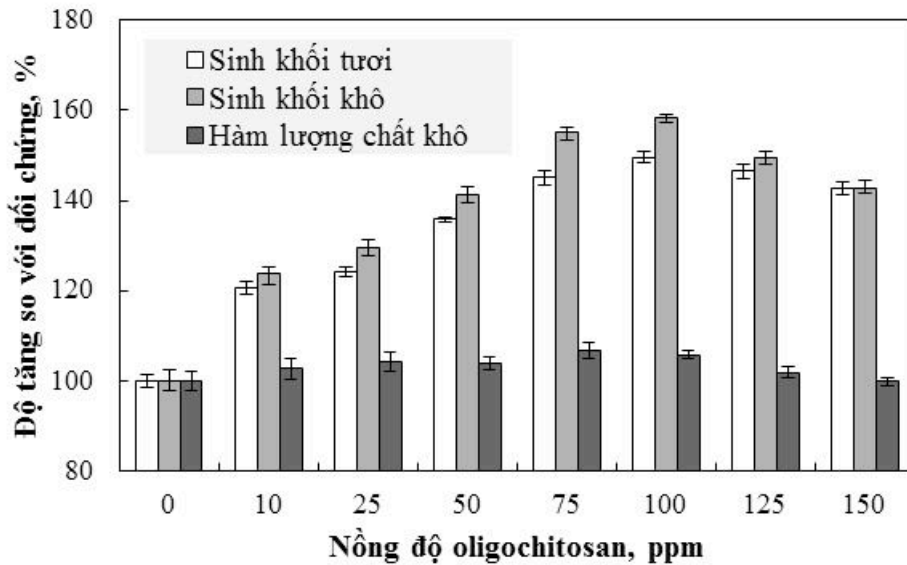
Mw, kDa	Sinh khối tươi		Sinh khối khô	
	mg/10 ml	SVĐC, %	mg/10 ml	SVĐC, %
ĐC	15,43 ^c	100,00	5,93 ^d	100,00
193,9	15,56 ^c	100,84	6,16 ^{cd}	103,85
28,9	17,49 ^b	113,35	6,91 ^{bc}	116,61
15,4	20,93 ^a	135,64	8,25 ^a	139,11
6,8	19,68 ^a	127,54	7,67 ^b	129,48
4,8	17,99 ^b	116,59	6,98 ^{bc}	117,75
3,7	17,83 ^b	115,55	6,83 ^c	115,24
CV, %	3,93		4,84	

ĐC: không bổ sung chitosan; SVĐC: so với đối chứng; CV: hệ số biến thiên (coefficient of variation); các ký tự khác nhau theo sau các giá trị trung bình trong cùng một cột biểu hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p < 0,05).

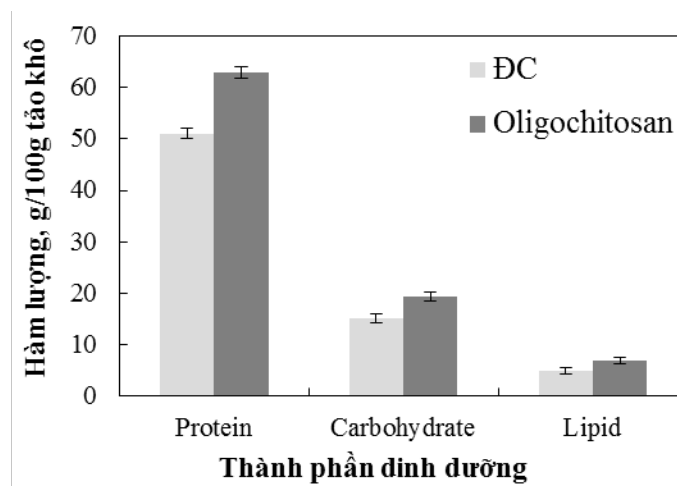
Bảng 2. Ảnh hưởng của nồng độ của oligochitosan lên sự tăng trưởng của tảo *S. platensis*.

Nồng độ, ppm	Trọng lượng tươi, mg/10 ml	Trọng lượng khô, mg/10 ml	Hàm lượng chất khô, g/100 g tảo tươi
0	15,44 ^d	5,91 ^d	38,3 ^b
10	18,61 ^c	7,32 ^c	39,3 ^{ab}
25	19,19 ^{bc}	7,76 ^{bc}	40,0 ^{ab}
50	20,98 ^d	8,35 ^b	39,8 ^{ab}
75	22,39 ^{ab}	9,17 ^a	41,0 ^a
100	23,08 ^a	9,40 ^a	40,5 ^a
125	22,62 ^{ab}	8,83 ^{ab}	39,0 ^{ab}
150	22,02 ^b	8,44 ^b	38,3 ^b
CV, %	3,63	2,82	3,02

CV: hệ số biến thiên (coefficient of variation); Các ký tự khác nhau theo sau các giá trị trung bình trong cùng một cột biểu hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p < 0,05).



Hình 2. Sự tăng trưởng tảo sau 7 ngày nuôi cấy trên môi trường có bổ sung oligochitosan ở các nồng độ khác nhau.



Hình 3. Hàm lượng chất dinh dưỡng cơ bản trong tảo có bổ sung 100 ppm và không có oligochitosan.

Như vậy chế phẩm oligochitosan có Mw ~ 15,4 kDa được chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ chitosan ở trạng thái bột khô với liều xạ 500 kGy lựa chọn để khảo sát nồng độ thích hợp nhằm phát triển ứng dụng một cách hiệu quả sản phẩm này cho mục đích gia tăng sinh khối trong thực tiễn sản xuất. Oligochitosan với nồng độ 10 đến 150 ppm được bổ sung vào môi trường nuôi cấy tảo (bảng 2 và hình 2) đã cho thấy sau 7 ngày nuôi cấy đều có tác dụng gia tăng sinh khối tảo. Tuy nhiên, ở các nồng độ bổ sung từ 10 – 25 ppm thì sinh khối tươi và khô được gia tăng ở mức thấp hơn so với nồng độ bổ sung từ 50 -

150 ppm (có sinh khối tươi của tảo đã gia tăng từ 35,9 – 49,5% và sinh khối khô cũng tăng từ 41,3 – 59,1%). Điều đáng lưu ý là việc bổ sung oligochitosan đã có tác dụng gia tăng mạnh sinh khối khô và do đó đã dẫn đến làm tăng hàm lượng chất khô trong tảo thành phẩm, có ý nghĩa rất lớn trong công nghệ sản xuất tảo. Có thể thấy rằng nồng độ bổ sung của oligochitosan ở mức 75 - 100 ppm là thích hợp nhất cho mục đích sản xuất sinh khối đối với tảo *S. platensis* và có hiệu suất gia tăng sinh khối tươi, sinh khối khô và hàm lượng chất khô trong tảo thành phẩm tăng 45,0 – 49,5%; 55,2 – 59,1% và 5,7 –

7,0%, tương ứng so với công thức đối chứng với mức sai khác có ý nghĩa thống kê sinh học.

Sinh khối tảo nuôi trồng được ở công thức đối chứng và thí nghiệm có bổ sung 100 ppm oligochitosan có Mw ~ 15,4 kDa được tiến hành phân tích các chỉ tiêu chất lượng cơ bản gồm hàm lượng protein, carbohydrate và lipid. Kết quả nghiên cứu thu được trên hình 3 cho thấy oligochitosan khi bổ sung vào môi trường nuôi cấy không chỉ có tác dụng kích thích sinh trưởng đối với tảo *S. platensis* mà còn có tác dụng làm gia tăng các chỉ tiêu dinh dưỡng cơ bản của sản phẩm tảo sau thu hoạch, cụ thể là hàm lượng protein, carbohydrate và lipid đã tăng tương ứng là 23,3; 27,3; và 37,5% so với công thức đối chứng.

KẾT LUẬN

Oligochitosan chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ trực tiếp chitosan ở dạng bột đã có tác dụng kích thích sự sinh trưởng và phát triển của tảo *Spirulina platensis*. Mw và nồng độ của oligochitosan có hiệu ứng tốt nhất đối với quá trình nuôi cấy tảo là 15,4 kDa và 100 ppm. Khi bổ sung oligochitosan ở nồng độ tối ưu vào môi trường nuôi cấy không chỉ thúc đẩy gia tăng 49,5% sinh khối tươi lên và 59,1% sinh khối khô mà còn gia tăng chất lượng thành phần dinh dưỡng cơ bản của tảo như hàm lượng chất khô, protein, carbohydrate và lipid lên lần lượt là 7,0; 23,3; 27,3; và 37,5% so với không bổ sung. Chế phẩm oligochitosan chế tạo bằng công nghệ bức xạ từ polymer có nguồn gốc tự nhiên an toàn và hiệu quả cao hứa hẹn là một sản phẩm ứng dụng rất triển vọng vào thực tiễn sản xuất sinh khối tảo *S. platensis*, đặc biệt là cho mục đích làm thực phẩm.

Lời cảm ơn: Nhóm tác giả xin cảm ơn Trung tâm Công nghệ Sinh học Thành phố Hồ Chí Minh đã tạo điều kiện để chúng tôi thực hiện nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Algam SAE, Xie G, Li B, Yu S, Su T, Larsen J (2010) Effects of paenibacillus strains and chitosan on plant growth promotion and control of Ralstonia wilt in tomato. *J Plant Pathol* 92(3):593-600.

Ali SK, Saleh AM (2012) Spirulina - An overview. *Int J Pharm Pharm Sci* 4(Suppl.3):9-15.

Clement G, Rebel M, Zarrouk C (1968) Method of culturing algae in an artificial medium. United State Patent No. US3403471.

Chmielewski AG (2009) Chitosan and radiation chemistry. *Radiat Phys Chem* 79(3):272-275.

Chuntapa B, Powtongsook S, Menasveta P (2003) Water quality control using *Spirulina platensis* in shrimp culture tanks. *Aquaculture* 220(1-4):355-366.

Danesi EDG, Rangel-Yagui CO, Carvalho JCM, Sato S (2004) Effect of reducing the light intensity on the growth and production of chlorophyll by *Spirulina platensis*. *Biomass and Bioenergy* 26(4):329-335.

Dzung NA, Khanh VTP, Dzung TT (2011) Research on impact of chitosan oligomers on biophysical characteristics, growth, development and drought resistance of coffee. *Carbohydr Polym* 84(2):751-755.

Farkas J (1998) Irradiation as a method for decontaminating food: A review. *Int J Food Microbiol* 44(3):189-204.

Feng J, Zhao L, Yu Q (2004) Receptor-mediated stimulatory effect of oligochitosan in macrophages. *Biochem Biophys Res Commun* 317(2):414-420.

Fu F, Wang Q (2011) Removal of heavy metal ions from wastewaters: A review. *J Environ Manage* 92(3):407-418.

Greene B, Darnall DW (1988) Temperature dependence of metal ion sorption by *Spirulina*. *Biorecovery* 1:27-42.

Hosseini S, Shahbazizadeh S, Khosravi-Darani K, Mozafari M (2013) *Spirulina platensis*: Food and Function. *Curr Nutr Food Sci* 9(3):189-193.

Kulshreshtha A, Zacharia AJ, Jarouliya U, Bhadauriya P, Prasad GBKS, Bisen PS (2008) *Spirulina* in health care management. *Curr Pharm Biotechnol* 9(5):400-405.

Lim LY, Khor E, Koo O (1998) Irradiation of chitosan. *J Biomed Mater Res*. 43(3):282-290.

Luan LQ, Ha VTT, Nagasawa N, Kume T, Yoshii F, Nakanishi TM (2005) Biological effect of irradiated chitosan on plants in vitro. *Biotechnol Appl Biochem* 41(Pt 1):49-57.

Luan LQ, Nagasawa N, Ha VTT, Hien NQ, Nakanishi TM (2009) Enhancement of plant growth stimulation activity of irradiated alginate by fractionation. *Radiat Phys Chem* 78(9):796-799.

Ma Z, Yang L, Yan H, Kennedy JF, Meng X (2013) Chitosan and oligochitosan enhance the resistance of peach fruit to brown rot. *Carbohydr Polym* 94(1):272-277.

Madkour FF, Kamil AEW, Nasr HS (2012) Production and nutritive value of *Spirulina platensis* in reduced cost media. *Egypt J Aquat Res* 38(1):51-57.

Nalimova AA, Popova V V (2005) Tsoglin LN, Pronina NA. The effects of copper and zinc on *Spirulina platensis* growth and heavy metal accumulation in its cells. *Russ J Plant Physiol* 52(2):229-234.

- Nge KL, Nwe N, Chandkrachang S, Stevens WF (2006) Chitosan as a growth stimulator in orchid tissue culture. *Plant Sci* 170(6):1185-1190.
- Ogbonda KH, Aminigo RE, Abu GO (2007) Influence of temperature and pH on biomass production and protein biosynthesis in a putative *Spirulina* sp. *Bioresour Technol* 98(11):2207-2211.
- TCVN 4328-2001. (2001). Bộ Khoa học và Công nghệ.
- TCVN 7129-2010. (2010). Bộ Khoa học và Công nghệ.
- TCVN9129-2011. (2011). Bộ Khoa học và Công nghệ.
- Torzillo G, Pushparaj B, Bocci F, Balloni W, Materassi R, Florenzano G (1986) Production of *Spirulina* biomass in closed photobioreactors. *Biomass* 11(1):61-74.
- Xiangchun M, Yanxia T, Aiyu Z, Xuemei H, Zhaoqi Z (2012) Effect of oligochitosan on development of *Colletotrichum musae* in vitro and in situ and its role in protection of banana fruits. *Fruits* 67(3):147-155.
- Yan J, Cao J, Jiang W, Zhao Y (2012) Effects of preharvest oligochitosan sprays on postharvest fungal diseases, storage quality, and defense responses in jujube (*Zizyphus jujuba* Mill. cv. Dongzao) fruit. *Sci Horticulture (Amsterdam)* 142:196-204.
- Yang LY, Zhang JL, Bassett CL, Meng XH (2012) Difference between chitosan and oligochitosan in growth of *Monilinia fructicola* and control of brown rot in peach fruit. *LWT - Food Sci Technol* 46(1):254-259.
- Yin H, Zhao X, Du Y (2010) Oligochitosan: A plant diseases vaccine-A review. *Carbohydr Polym* 82(1):1-8.
- Yue W (2014) Prevention of browning of depolymerized chitosan obtained by gamma irradiation. *Carbohydr Polym* 101(1):857-863.
- Zhang H, Wang W, Yin H, Zhao X, Du Y (2012) Oligochitosan induces programmed cell death in tobacco suspension cells. *Carbohydr Polym* 87(3):2270-2278.
- Zhao X, She X, Du Y, Liang X (2007) Induction of antiviral resistance and stimulatory effect by oligochitosan in tobacco. *Pestic Biochem Physiol.* 87(1):78-84.

STUDY OF THE BIOLOGICAL EFFECT OF OLIGOCHITOSAN PREPARED BY γ -CO-60 IRRADIATION METHOD ON *SPIRULINA PLATENSIS*

Le Quang Luân[✉], Dương Hoa Xô

Biotechnology Center of Ho Chi Minh City

SUMMARY

Chitosan with initial molecular weight (Mw) about 193 kDa and the deacetylation degree of about 80% was irradiated by gamma rays from a Co-60 source in powder state for degradation. The results on Mw estimation by gel permeation chromatography method indicated that oligochitosan products with Mw from 3.7 to 28.9 kDa were successfully prepared by irradiation of chitosan samples at doses from 300 to 2000 kGy. The prepared oligochitosans were then supplemented into the cultivated media for investigation of the biological effect on the cyanobacteria (blue – green alga) namely *Spirulina platensis*. The obtained results indicated that all of radiation degraded chitosan samples showed a growth promotion effect on the enhancement of fresh and dried biomass *S. platensis* after 7 days supplementation. The oligochitosan product with Mw ~ 15.4 kDa obtained from the irradiation dose of 500 kGy displayed the best growth promotion effect for the tested alga and the optimum concentration for supplementation of this product was found at 100 ppm. In addition, The supplementation with 100 ppm of the oligochitosan product enhanced 49.5% the fresh biomass and 59.1% the dried biomass of the tested alga after 7 days cultivating. The addition of oligochitosan also increased the dried matter, protein, carbohydrate and lipid contents of the harvested alga product in 7.0, 23.3, 27.3 and 37.5%, respectively. It can be seen that the oligochitosan product prepared from natural organic compound by gamma Co-60 irradiation method promised to be potential used as a safe and highly effective growth promoter for alga to biomass production of *S. platensis*.

Keywords: Chitosan, oligochitosan, irradiation, *Spirulina platensis*, γ -rays

[✉] Author for correspondence: E-mail: lequangluan@gmail.com