

## NGHIÊN CỨU CHẾ TẠO OLIGOCHITOSAN BẰNG PHƯƠNG PHÁP CHIẾU XẠ GAMMA Co-60 DUNG DỊCH CHITOSAN-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> VÀ KHẢO SÁT HIỆU ỨNG CHỐNG OXI HÓA

Nguyễn Quốc Hiến<sup>1</sup>, Đặng Xuân Dự<sup>2</sup>, Đặng Văn Phú<sup>1</sup>, Lê Anh Quốc<sup>1</sup>,  
Phạm Đình Dũng<sup>3</sup>, Nguyễn Ngọc Duy<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Trung tâm Nghiên cứu và Triển khai Công nghệ Bức xạ, Viện Năng lượng Nguyên tử Việt Nam,  
202A đường 11, P. Linh Xuân, Q. Thủ Đức, TP. HCM

<sup>2</sup>Trường Đại học Khoa học Huế, 77 Nguyễn Huệ, TP. Huế

<sup>3</sup>Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển Nông nghiệp Công nghệ cao, Củ Chi, TP. HCM

\*Email: [ngocduy158@yahoo.com](mailto:ngocduy158@yahoo.com)

Đến Tòa soạn: 24/3/2014, Chấp nhận đăng: 11/5/2015

### TÓM TẮT

Nghiên cứu cắt mạch chitosan bằng phương pháp chiếu xạ hỗn hợp dung dịch chitosan (5 %) và H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1 %) để chế tạo oligochitosan. Khối lượng phân tử (KLPT) được đo bằng sắc kí gel thẩm qua. Cấu trúc của oligochitosan được khảo sát bằng phổ hồng ngoại và tử ngoại. Kết quả cho thấy oligochitosan với KLPT <10 kDa được chế tạo hiệu quả trong khoảng liều từ 10 đến 20 kGy. Hoạt tính chống oxi hóa của chitosan và oligochitosan (44,4; 17,4; 10,2 và 4,1 kDa) được khảo sát sử dụng gốc tự do 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS<sup>•+</sup>). Kết quả cho thấy oligochitosan có KLPT thấp thể hiện hoạt tính chống oxi hóa hiệu quả hơn so với chitosan và oligochitosan KLPT cao. Cụ thể là, hoạt tính chống oxi hóa đạt 69,9; 84,5; 89,2 và 99,3 tương ứng đối với các mẫu chitosan và oligochitosan có KLPT là 44,4; 17,4; 10,2 và 4,1 kDa cùng thời gian phản ứng là 90 phút. Như vậy, oligochitosan chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ gamma Co-60 có tiềm năng ứng dụng như là chất chống oxi hóa tự nhiên.

*Từ khóa:* chitosan, oligochitosan, gamma Co-60, cắt mạch, chống oxi hóa.

### 1. MỞ ĐẦU

Nhiều chất chống oxi hóa tổng hợp hóa học, điển hình như hợp chất phenol (*t*-butylhydroquinon, dẫn xuất butyl của hydroxyanisole, hydroxytoluen,...) là những chất bắt gốc tự do hiệu quả đang được sử dụng trong nhiều lĩnh vực, đặc biệt là trong thực phẩm để ngăn cản quá trình peroxi hóa lipid [1, 2, 3]. Mặc dù vậy, sử dụng các chất chống oxi hóa tổng hợp hóa học phải tuân thủ nghiêm ngặt về liều lượng do tác dụng phụ có hại đến sức khỏe người sử dụng [3]. Vì vậy, nghiên cứu sử dụng các chất chống oxi hóa có nguồn gốc tự nhiên thay thế cho các sản phẩm tổng hợp là rất cần thiết.

Chitosan là một polysaccharit tự nhiên bao gồm các monome glucosamin và axetyl glucosamin nối với nhau qua liên kết  $\beta$  (1–4) glycozit và thường được chế tạo bằng phương pháp đề axetyl hóa chitin từ vỏ tôm, cua, mai mực mềm trong dung dịch kiềm đặc. Chitosan được ứng dụng rộng rãi trong nông nghiệp, sinh y học, dược phẩm, thực phẩm và xử lý môi trường do những tính chất đặc thù như kháng khuẩn, kháng nấm, chống oxi hóa, kích kháng bệnh và tăng trưởng cây trồng, ngăn cản sự phát triển của tế bào ung thư ... [4 - 8]. Gần đây, chitosan khối lượng phân tử thấp và oligochitosan được quan tâm nghiên cứu do có khả năng hòa tan trong nước và có những hoạt tính sinh học vượt trội so với chitosan như gia tăng hoạt tính miễn dịch, kích kháng bệnh, hoạt tính chống oxi hóa, kháng khuẩn ... [1 - 12].

Trong nghiên cứu này chúng tôi nghiên cứu chế tạo oligochitosan bằng phương pháp chiếu xạ tia gamma Co-60 dung dịch chitosan (5 %) chứa H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1 %). Phương pháp chiếu xạ có một số ưu điểm là quá trình tiến hành ở nhiệt độ thường, sản phẩm nhận được có độ tinh khiết cao, có khả năng triển khai sản xuất qui mô lớn [12, 13]. Hơn nữa, chiếu xạ hỗn hợp dung dịch chitosan-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> cắt mạch chitosan trên cơ sở hiệu ứng đồng vận (synergistic effect) làm gia tăng hiệu suất cắt mạch chitosan nên làm giảm liều xạ, tạo điều kiện thuận lợi để triển khai sản xuất [12, 14]. Hiệu ứng chống oxi hóa của các sản phẩm oligochitosan có khối lượng phân tử khác nhau cũng được khảo sát.

## 2. THỰC NGHIỆM

### 2.1. Nguyên liệu và hóa chất

Chitosan nguyên liệu được chế tạo từ vỏ tôm có  $Mw_0 = 44,4$  kDa, độ đề axetyl (ĐĐA) 91,3 %. Hydro peroxit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) là sản phẩm tinh khiết của Merck (Đức). Các hóa chất khác như axit lactic, CH<sub>3</sub>COONa, CH<sub>3</sub>COOH, KBr, ... được sử dụng ở dạng tinh khiết phân tích. Nước cất được sử dụng cho toàn bộ thí nghiệm.

### 2.2. Phương pháp

Chuẩn bị mẫu và chiếu xạ: Hòa tan 5 g chitosan vào 90 mL dung dịch axit lactic nồng độ 2,5 %, khuấy cho đến khi tan hoàn toàn. Lọc dung dịch chitosan qua lưới thép không rỉ 100 mesh. Thêm H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> vào dung dịch chitosan để đạt nồng độ là 1 %, bổ sung nước đến 100 mL. Đưa dung dịch chitosan/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> vào lọ thủy tinh có nút vặn kín khí và chiếu xạ trên nguồn gamma SVST Co-60/B tại Trung tâm VINAGAMMA, TP. HCM trong khoảng liều cho đến 25 kGy. Kết tủa mẫu chitosan từ dung dịch chiếu xạ được tiến hành như sau: Lấy 20 mL dung dịch mẫu chitosan, trung hòa bằng dung dịch NH<sub>4</sub>OH 5 % cho đến pH ~ 7,5 - 8. Sau đó kết tủa mẫu chitosan bằng 120 mL cồn tuyệt đối, để yên khoảng 30 phút. Lọc và rửa kết tủa bằng cồn. Sấy khô kết tủa trong tủ sấy quạt gió ở 60 °C [13]. Mẫu chitosan và oligochitosan khô được nghiền nhỏ dùng để đo khối lượng phân tử, phổ hồng ngoại, phổ UV-vis và khảo sát hoạt tính chống oxi hóa.

Xác định khối lượng phân tử (KLPT) và độ đề axetyl (ĐĐA): KLPT của các mẫu chitosan được xác định bằng phương pháp sắc kí gel thẩm qua (GPC) trên máy LC-20AB Shimadzu, Nhật bản, sử dụng detector RID-10A và cột Utrahydrogel 250 của hãng Waters, kích thước cột 7,8 × 300 mm. Nhiệt độ cột là 40 °C, pha động là dung môi CH<sub>3</sub>COOH 0,25M/CH<sub>3</sub>COONa 0,25M với tốc độ dòng là 1 mL/phút [15]. ĐĐA của chitosan được xác định bằng phương pháp đo phổ hồng ngoại trên máy FT-IR 8400S, Shimadzu, Nhật và được tính từ phổ đồ theo phương trình [16]:

$$\text{ĐĐA \%} = 100 - ([31,92 \times (A_{1320}/A_{1420})] - 12,20) \quad (1)$$

trong đó:  $A_{1320}$  và  $A_{1420}$  là mật độ quang tương ứng tại các đỉnh 1320 và 1420  $\text{cm}^{-1}$ .

Đo phổ UV-Vis dung dịch oligochitosan: Phổ UV-vis của mẫu oligochitosan được đo trên máy UV-2401 PC, Shinmadzu, Nhật Bản trong khoảng bước sóng từ 200 - 600 nm. Nồng độ dung dịch oligochitosan là 0,1 % (w/v) dung môi so sánh là 0,05 % (v/v) axit axetic [17].

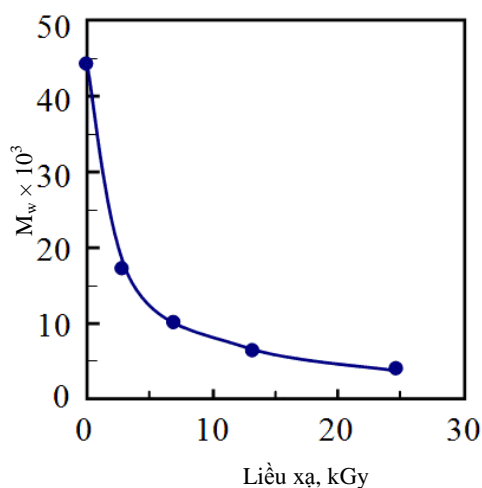
Hiệu suất cắt mạch bức xạ (Gs,  $\mu\text{mol/J}$ ) đối với chitosan trong dung dịch được tính theo công thức [13]:  $(1/M_w - 1/M_{w0}) = G_s \cdot D \cdot d / 2C$ . Trong đó  $M_{w0}$  và  $M_w$  là khối lượng phân tử trung bình khối lượng của chitosan ban đầu và chitosan sau khi chiếu xạ cắt mạch,  $D$  là liều hấp thụ bức xạ (Gy),  $d$  là tỉ trọng của dung dịch ( $\text{kg/m}^3$ ) và  $C$  là nồng độ của chitosan trong dung dịch (g/l).

Hoạt tính chống oxi hóa của các mẫu chitosan và oligochitosan được xác định như sau: Hòa tan 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS) nồng độ 7,4 mM trong nước. Dùng 2 mL dung dịch 7,4 mM ABTS trộn với 2 mL dung dịch 2,6 mM  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$  để tạo gốc tự do cation  $\text{ABTS}^{*+}$ . Dung dịch  $\text{ABTS}^{*+}$  được để yên trong tối qua đêm, sau đó pha loãng bằng nước để nhận được giá trị mật độ quang  $\sim 1,0 \pm 0,1$  tại bước sóng 734 nm. Các mẫu dung dịch chitosan và oligochitosan 0,2 % (w/v) được pha trong axit axetic 0,1 % dùng để nghiên cứu hoạt tính chống oxi hóa. Dùng 0,6 mL dung dịch mẫu đưa vào cuvet chứa 1 mL dung dịch  $\text{ABTS}^{*+}$  (mẫu đối chứng dùng 0,6 mL nước). Đo mật độ quang (OD) của các mẫu theo thời gian trên máy quang phổ tại bước sóng  $\lambda = 734$  nm. Hiệu suất bắt gốc tự do được tính như sau:

$$\text{Hiệu suất (\%)} = 100 \times (\text{OD}_{\text{AC}} - \text{OD}_{\text{AS}}) / \text{OD}_{\text{AC}} \quad (2)$$

trong đó  $\text{OD}_{\text{AC}}$  là mật độ quang của mẫu đối chứng (nước và  $\text{ABTS}^{*+}$ ) và  $\text{OD}_{\text{AS}}$  là mật độ quang của mẫu khảo sát (chitosan/oligochitosan và  $\text{ABTS}^{*+}$ ) [18, 19].

### 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN



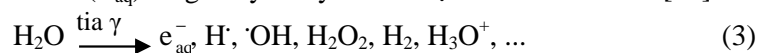
Hình 1. Sự phụ thuộc KLPT trung bình khối lượng ( $M_w$ ) theo liều xạ.

Hình 1 mô tả mức độ suy giảm KLPT  $M_w$  của chitosan theo liều xạ. Kết quả Hình 1 và Bảng 1 cho thấy  $M_w$  và  $M_n$  giảm nhanh khi tăng liều xạ cho đến khoảng 10 kGy sau đó giảm chậm dần.

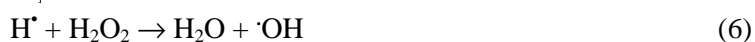
*Bảng 1. Khối lượng phân tử trung bình số (Mn), chỉ số đa phân tán (PI = Mw/Mn) ĐĐA, % của mẫu chitosan chiếu xạ và Gs của dung dịch chitosan 5 %/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 1% theo liều xạ.*

Liều xạ, kGy	0	3,1	7,2	13,5	24,8
Mn × 10 <sup>3</sup>	12,7	5,8	4,3	3,2	2,4
PI	3,50	3,00	2,43	2,06	1,71
ĐĐA, %	91,3	88,1	85,4	82,5	80,7
Gs, μmol/J	-	1,13	1,05	0,96	0,89

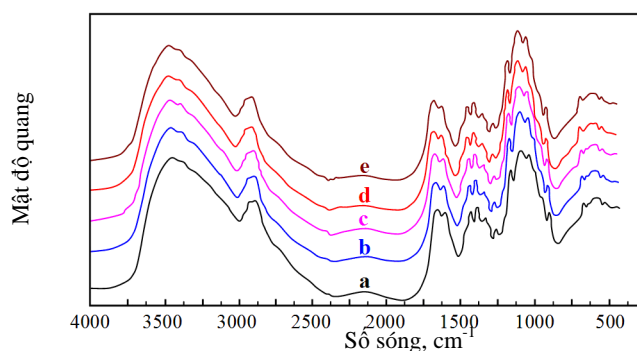
Chỉ số PI của các mẫu chitosan chiếu xạ cắt mạch giảm dần khi tăng liều xạ chứng tỏ chitosan và oligochitosan tạo ra do quá trình cắt mạch bức xạ có mức độ phân bố phân tử hẹp hơn hay đồng nhất hơn so với mẫu chitosan ban đầu. Giá trị ĐĐA suy giảm khoảng 10 % tại liều xạ 24,8 kGy. Chưa rõ nguyên nhân gây ra sự suy giảm ĐĐA của chitosan, vì vậy cần tiếp tục nghiên cứu để làm rõ nguyên nhân của hiện tượng này. Giá trị Gs được tính theo công thức như đã mô tả trong các công trình trước đây [13, 20]. Trên cơ sở lý thuyết thì giá trị Gs của dung dịch chitosan chứa H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> giảm khi tăng liều xạ vì bậc phản ứng cắt mạch chitosan trong trường hợp này là bậc hỗn hợp (bậc 1 và bậc 2) [20]. Kết quả nghiên cứu trước đây của chúng tôi [13] cho thấy, Gs đối với dung dịch chitosan 5 % cắt mạch bằng phương pháp chiếu xạ gamma Co-60 không có H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> là ~0,1 μmol/J nhỏ hơn khoảng 10 lần so với giá trị Gs (~1,0 μmol/J) nhận được trong nghiên cứu này khi chiếu xạ dung dịch chitosan 5%/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 1%. Mặt khác, Gs đối với dung dịch chitosan 3%/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 1 % [13] tương đương so với kết quả nhận được trong nghiên cứu này đối với dung dịch chitosan 5 %/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 1 %. Điều đó chứng tỏ rằng tại cùng 1 liều xạ xử lý, chitosan có mức độ suy giảm KLPT tương đương, tuy nhiên hàm lượng oligochitosan nhận được sẽ cao hơn ở nồng độ 5 % so với 3 %. Về cơ chế cắt mạch chitosan trong dung dịch chứa H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> xảy ra theo hiệu ứng đồng vận [13, 14]. Hien et al. [14] đã minh chứng hiệu ứng đồng vận thông qua kết quả đo KLPT chitosan cắt mạch bằng H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, chiếu xạ gamma Co-60 và chiếu xạ gamma Co-60 cùng với cắt mạch bằng H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> [14]. Kết quả cho thấy xử lý cắt mạch đồng thời bức xạ gamma Co-60 và H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> hiệu quả cắt mạch cao hơn khi sử dụng kết hợp riêng rẽ từng tác nhân cắt mạch. Cơ chế cắt mạch chitosan hiệu quả bằng hiệu ứng đồng vận (tia γ và H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) được giải thích là do có sự phân li bức xạ của nước và H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dưới tác dụng của tia γ hình thành gốc tự do hydroxyl (·OH) có tính oxi hóa mạnh làm tăng hiệu quả cắt mạch chitosan. Cơ chế phân li bức xạ của H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> và nước tạo ra electron solvat (e<sub>aq</sub><sup>-</sup>) và gốc hydroxyl ·OH được đề xuất như sau [21]:



Trong quá trình chiếu xạ e<sub>aq</sub><sup>-</sup> and H<sup>·</sup> có thể phản ứng với H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> để tiếp tục tạo ra gốc ·OH như sau:

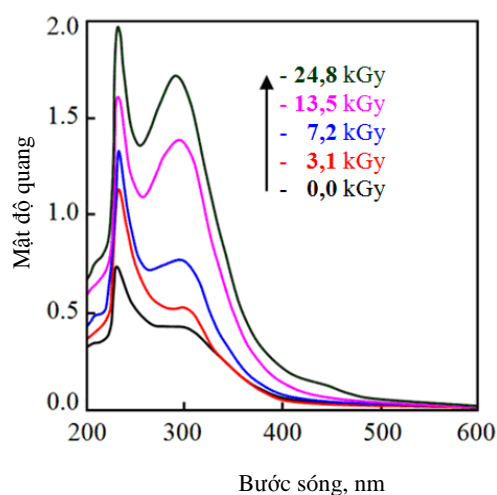


Theo Ulanski và von Sonntag [20] gốc ·OH làm đứt liên kết C – H hình thành gốc tự do cacbohydrat và tiếp theo là chuyển vị gốc tự do đại phân tử dẫn đến liên kết glucozit bị cắt, tạo thành phân tử chitosan có KLPT thấp hơn.



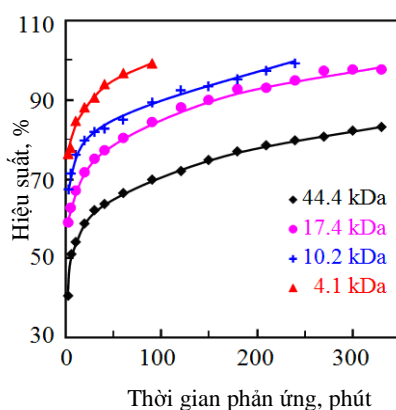
Hình 2. Phổ IR của mẫu chitosan ban đầu (a) và chitosan chiếu xạ: 3,1 kGy (b); 7,2 kGy (c); 13,5 kGy (d) và 24,8 kGy (e).

Phổ IR trên Hình 2 cho thấy chitosan cắt mạch có KLPT thấp (Hình 2b, c) và oligochitosan (Hình 2d, e) có cấu trúc chính hầu như không thay đổi so với chitosan ban đầu (Hình 2a). Sự khác nhau về cường độ của các đỉnh ở 1320 và 1420 cm<sup>-1</sup> đặc trưng tương ứng cho nhóm N – acetylglucosamine và nhóm so sánh – CH<sub>2</sub> thể hiện sự thay đổi ĐĐA của chitosan [16]. Mặc dù vậy, ĐĐA của oligochitosan KLPT ~4 kDa giảm khoảng 10 % so với chitosan ban đầu (Bảng 2).



Hình 3. Phổ UV-Vis của mẫu chitosan ban đầu (0 kGy) và chitosan chiếu xạ theo liều khác nhau.

Phổ UV-Vis Hình 3 cho thấy ngoài đỉnh 230 của chitosan thì chitosan cắt mạch xuất hiện thêm đỉnh 293 nm và cường độ của hai đỉnh này tăng dần theo liều xạ. Wasikiewicz et al. [17] và Tahtat et al. [22] cũng đưa ra kết quả tương tự về xuất hiện đỉnh 293 nm của chitosan cắt mạch bằng bức xạ gamma Co-60 cũng như bức xạ vi sóng (microwave). Đỉnh 293 nm có thể là do xuất hiện của nhóm carbonyl (C=O) cuối mạch tại các vị trí cacbon C<sub>1</sub> và C<sub>4</sub> khi chitosan bị cắt mạch [22].



Hình 4. Hiệu suất bắt gốc tự do của chitosan và oligochitosan.

Kết quả Hình 4 cho thấy chitosan và oligochitosan có KLPT càng nhỏ hiệu suất bắt gốc tự do càng cao. Tại thời gian phản ứng 90 phút, hiệu suất bắt gốc tự do là 69,9; 84,5; 89,2 và 99,3 % tương ứng đối với KLPT chitosan và oligochitosan là 44,4; 17,4; 10,2 và 4,1 kDa. Tomida et al. [10] và cũng xác nhận xu hướng này khi nghiên cứu hiệu suất chống oxi hóa của chitosan và oligochitosan có KLPT từ 2,8 đến 931 kDa. Kết quả của Feng et al. [23] nghiên cứu hoạt tính chống oxi hóa của chitosan cắt mạch bằng phương pháp chiếu xạ tia gamma Co-60 trong khoảng liều cho đến 20 kGy cũng cho thấy mẫu chitosan chiếu xạ tại liều 20 kGy có hoạt tính chống oxi hóa là cao nhất 63,8 % so với 16,6; 41,1 và 47,1% tương ứng với liều xạ 0, 2 và 10 kGy. Yang et al. [2] cho rằng nhóm amin ( $-NH_2$ ) và hydroxyl ( $-OH$ ) của chitosan và oligochitosan đóng vai trò quyết định hoạt tính chống oxi hóa. So sánh với chitosan thì các nhóm  $-NH_2$  và  $-OH$  của oligochitosan linh động hơn. Các nhóm này trong phân tử của chitosan kém linh động do liên kết hydro nội phân tử và ngoại phân tử do đó làm giảm hoạt tính chống oxi hóa của chitosan.

#### 4. KẾT LUẬN

Oligochitosan ( $M_w < 10$  kDa) được chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ tia gamma Co-60 hỗn hợp dung dịch chitosan 5 % và H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 1 % trong khoảng liều xạ 10 - 20 kGy.

Oligochitosan chế tạo được có hoạt tính chống oxi hóa tăng theo sự giảm KLPT. Tại nồng độ 0,2 % (w/v) hoạt tính chống oxi hóa xác định được là 69,9; 84,5; 89,2 và 99,3 % tương ứng đối với KLPT chitosan và oligochitosan là 44,4; 17,4; 10,2 và 4,1 kDa.

Kết quả nhận được chứng tỏ rằng oligochitosan  $M_w < 10$  kDa rất có tiềm năng ứng dụng làm chất chống oxi hóa do oligochitosan có hoạt tính chống oxi hóa hiệu quả và an toàn.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Je J. Y, Park P. J, Kim S. K. - Radical scavenging activity of hetero-chitooligosaccharides, *European Food Research and Technology* **219** (2004) 60-65.
2. Yang Y., Shu R., Shao J., Xu G., Gu X. - Radical scavenging activity of chitooligosaccharide with different molecular weights, *European Food Research and Technology* **222** (2006) 36-40.

3. Schyvens C. - Food additives: antioxidant, *Encyclopedia of Food Safety* **2** (2014) 455-458, 2014.
4. Xia W., Liu P., Zhang J., Chen J. - Biological activities of chitosan and chitooligosaccharides, *Food Hydrocolloids* **25** (2011)170-179.
5. Kim K. W., Thomas R. L. - Antioxidative activity of chitosan with varying molecular weight, *Food Chemistry* **101** (2007) 308-313.
6. Zheng L. Y., Zhu J. F. - Study on antimicrobial activity of chitosan with different molecular weights, *Carbohydrate Polymers* **54** (2003) 527-530.
7. No H. K., Meyers S. P. Prinyawiwatkul W., Xu Z. - Applications of chitosan for improvement of quality and shelf life of foods: A review, *Journal of Food Science* **72** (2007) 87-100.
8. Yin H., Zhao X., Du Y. - Oligochitosan: A plant diseases vaccine-A review, *Carbohydrate Polymers* **82** (2010) 1-8.
9. Aziz A., Trotel-Aziz P., Dhucq L., Jeandet P., Couderchet M., Vernet G. - Chitosan oligomers and copper sulfate induce grapevine defense reactions and resistance to gray mold and downy mildew, *Phytopathology* **96** (2006) 1188-1194.
10. Tomida H., Fujii T., Furutani N. et al. - Antioxidant properties of some different molecular weight of chitosan, *Carbohydrate Research* **344** (2009)1690-1696.
11. Du D. X., Phuc B. P., Thuy T. T., Quoc L. A., Phu D. V., Hien N. Q. - Study on degradation of chitosan swollen in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> solution by  $\gamma$ -irradiation and its antimicrobial activity, *Nuclear Science and Technology, VAEI* (2014) (đang in).
12. Haji-Said M., Safrany A., Sampa M. H. O, Ramamoorthy N. - Radiation processing of natural polymers: the IAEA contribution, *Radiation Physics and Chemistry* **79** (2010) 255-260.
13. Duy N. N., Phu D. V., Anh N. T., Hien N. Q. - Synergistic degradation to prepare oligochitosan by  $\gamma$ -irradiation of chitosan solution in the presence of hydrogen peroxide, *Radiation Physics and Chemistry* **80** (2011) 848-853.
14. Hien N. Q., Phu D. V., Duy N. N., Lan N. T. K. - Degradation of chitosan in solution by gamma irradiation in the presence of hydrogen peroxide, *Carbohydrate Polymers* **87** (2012) 935-938.
15. Knaul J. Z., Kasai M. R., Bui V. T., Creber K. A. M. - Characterization of deacetylated chitosan and chitosan molecular weight review, *Canadian Journal of Chemistry* **76** (1998) 1699-1706.
16. Brugnerotto J., Lizardi J., Goycoolea F. M., Arguelles-Monal W., Desbrieres J., Rinaudo M. - An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization, *Polymer* **42** (2001) 3569-3580.
17. Wasikiewicz J. M., Yeates S. G. - "Green" molecular weight degradation of chitosan using microwave irradiation, *Polymer Degradation and Stability* **98** (2013) 863-867.
18. Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Evans C. R. - Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, *Free Radical Biology and Medicine* **26** (1999) 1231-1237.

19. Thaipong K., Boonprakob U., Crosby K., Zevallos L. C., Byrne H. D. - Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts, *Journal of Food Composition and Analysis* **19** (2006) 669-675.
20. Ulanski P., von Sonntag C. - OH-radical-induced chain scission of chitosan in the absence and presence of dioxygen, *Journal of the Chemistry Society, Perkin Transactions* **2** (2000) 2022-2028.
21. Woods R. T., Pikaev A. K. - *Applied Radiation Chemistry: Radiation Processing*. Wiley, New York (1994) 341-342.
22. Tahtat D., Mahlous M., Benamer S., Khodja A. N., Yousef S. L. - Effect of molecular weight on radiation degradation yield of chain scission of  $\gamma$ -irradiated chitosan in solid state and in aqueous solution, *Radiation Physics and Chemistry* **81** (2012) 659-665.
23. Feng T., Du Y., Li J., Hu Y., Kenedy J. F. - Enhancement of activity of chitosan by irradiation, *Carbohydrate Polymers* **73** (2008) 126-132.

### ABSTRACT

#### STYDY ON PREPARATION OF OLIGOCHITOSAN BY GAMMA Co-60 IRRADIATION OF CHITOSAN-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> SOLUTION AND INVESTIGATION OF ANTIOXIDANT ACTIVITY

Nguyen Quoc Hien<sup>1</sup>, Dang Xuan Du<sup>2</sup>, Dang Van Phu<sup>1</sup>, Le Anh Quoc<sup>1</sup>, Pham Dinh Dung<sup>3</sup>,  
Nguyen Ngoc Duy<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>*Research and Development Center for Radiation Technology, Vietnam Atomic Energy Institute, 202A, Str. 11, Linh Xuan Ward, Thu duc District, Ho Chi Minh City*

<sup>2</sup>*Hue University of Sciences, 77 Nguyen Hue Street, Hue City*

<sup>3</sup>*Research and Development Center for Hi-Tech Agriculture, Cu Chi District, Ho Chi Minh City*

\*Email: [ngocduy158@yahoo.com](mailto:ngocduy158@yahoo.com)

Study on degradation of chitosan to prepare oligochitosan by gamma Co-60 irradiation of chitosan solution (5 %) in the presence of hydrogen peroxide (1 %) was carried out. The average molecular weight (Mw) of degraded chitosan (oligochitosan) was analyzed by gel permeation chromatography (GPC). The structure of resultant chitosan and oligochitosan was characterized by Fourier-transform infrared (FT-IR) and ultraviolet visible (UV-vis) spectra. Results showed that oligochitosan with Mw less than 10 kDa could be efficiently prepared at dose range from 10 to 20 kGy. The antioxidant activity of low Mw chitosan and oligochitosan (44.4, 17.4, 10.2 and 4.1 kDa) was investigated using free radical 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS<sup>+</sup>). Results showed that low Mw oligochitosan was more effective for antioxidant activity compared with that of high Mw. In particular, the antioxidant activity was of 69.9, 84.5, 89.2 and 99.3 % for Mw of chitosan and oligochitosan of 44.4, 17.4, 10.2 and 4.1 kDa, respectively at the same reaction time of 90 min. Thus, oligochitosan prepared by gamma Co-60 irradiation can be potentially applied as natural antioxidant agent.

**Keywords:** chitosan, oligochitosan, gamma Co-60, degradation, antioxidant.