

MÀNG CHITOSAN TÍCH HỢP DES CHỨA ASTAXANTHIN: ĐẶC TÍNH CẤU TRÚC, CƠ CHẾ GIẢI PHÓNG VÀ ỨNG DỤNG BẢO QUẢN TÔM

Trần Chí Hải¹, Phan Văn Mẫn², Lê Thị Hồng Ánh^{1*}

¹Trường Đại học Công Thương Thành phố Hồ Chí Minh

²Trường Cao đẳng Kỹ thuật Công nghệ Bà Rịa - Vũng Tàu

*Email: anhlth@huitt.edu.vn

Ngày nhận bài: 25/7/2025; Ngày nhận bài sửa: 26/9/2025; Ngày chấp nhận đăng: 08/10/2025

TÓM TẮT

Trong bối cảnh ngày càng gia tăng nhu cầu cải thiện khả năng bảo vệ hoạt chất của các màng bao bọc thực phẩm, nghiên cứu này nhằm phát triển một hệ màng chitosan kết hợp với hệ dung môi eutectic sâu (DES) chứa astaxanthin, để nâng cao hiệu quả bảo quản thực phẩm, đặc biệt là tôm lột vỏ. Mục tiêu của nghiên cứu là so sánh màng chitosan nguyên chất và màng tích hợp DES-astaxanthin, nhằm đánh giá tác động của hệ này đối với đặc tính lý – hóa, cơ học và hiệu quả bảo quản. Kết quả cho thấy, màng DES-astaxanthin duy trì độ dẻo tốt hơn (EAB giảm từ 52,37% xuống 32,14% so với 39,17% xuống 27,64% ở màng chitosan thuần) và giữ ổn định cấu trúc vật lý cũng như tính chất cơ học trong suốt 10 ngày bảo quản lạnh. Cùng với đó, màng này giúp giảm mất khối lượng tôm (3,76% so với 6,2% ở màng chitosan và 8,94% ở mẫu đối chứng), duy trì pH ổn định và giảm sự hình thành base bay hơi (TVB-N), đồng thời giảm oxy hóa lipid (chỉ số TBARS giảm 60% so với mẫu đối chứng). Các chỉ số cảm quan như màu sắc tôm (WI) được bảo vệ tốt hơn, và sự phát triển của vi sinh vật (TVC) cũng bị ức chế mạnh mẽ trong mẫu phủ màng DES-astaxanthin. Quá trình giải phóng astaxanthin từ màng được mô phỏng theo hai mô hình động học, trong đó mô hình bậc 2 phản ánh tốt hơn quá trình giải phóng trong suốt thời gian bảo quản. Kết quả nghiên cứu cho thấy, màng DES-chitosan chứa astaxanthin có tiềm năng cao trong ứng dụng bao bì bảo quản lạnh, nhưng cần được kiểm chứng thêm trong thực tế thực phẩm để khẳng định hiệu quả bảo quản toàn diện.

Từ khóa: Dung môi deep eutectic, astaxanthin, màng chitosan, tính chất cơ lý, hoạt tính kháng khuẩn.

1. TỔNG QUAN

Ô nhiễm môi trường do bao bì nhựa sử dụng một lần đang trở thành vấn đề nghiêm trọng toàn cầu, đặc biệt trong ngành công nghiệp thực phẩm. Điều này thúc đẩy sự quan tâm đến việc phát triển các vật liệu phân hủy sinh học thay thế bao bì nhựa truyền thống, vừa an toàn vừa thân thiện với môi trường. Trong số các vật liệu tiềm năng, chitosan – một polysaccharide tự nhiên chiết xuất từ vỏ giáp xác – được đánh giá cao nhờ khả năng tạo màng, tính phân hủy sinh học, kháng khuẩn, kháng nấm và độ tương thích sinh học [1 - 4]. Tuy nhiên, màng chitosan nguyên chất thường giòn, kém dẻo và hạn chế trong việc bảo vệ các hợp chất kỵ nước như astaxanthin [1, 3 - 5], làm giảm khả năng ứng dụng trong bao bì thực phẩm và dẫn truyền hoạt chất sinh học.

Để khắc phục những nhược điểm này, nhiều nghiên cứu đã sử dụng các chất hóa dẻo truyền thống như glycerol [6], sorbitol [2] và polyethylene glycol [7, 8] nhằm tăng cường độ linh hoạt và cải thiện cơ tính của màng. Tuy nhiên, các chất này lại làm giảm khả năng cản ẩm, ảnh hưởng đến độ bền cơ học của màng và đặc biệt không hiệu quả trong việc ổn định các hợp chất kỵ nước như astaxanthin, một carotenoid tự nhiên có hoạt tính chống oxy hóa mạnh mẽ, khả năng kháng khuẩn nhưng lại dễ bị phân hủy dưới ánh sáng, nhiệt độ và oxy [9, 10]. Do đó, cần phải tìm kiếm một hệ dung môi mới không chỉ cải thiện tính chất cơ học của màng, mà còn có khả năng bảo vệ và duy trì sự ổn định của astaxanthin.

Dung môi eutectic sâu (Deep eutectic solvent – DES) gần đây đã được đề xuất là một giải pháp triển vọng nhờ tính xanh, khả năng phân hủy sinh học, độc tính thấp, khả năng hòa tan tốt các hợp chất kỵ nước và tính tương thích với polymer sinh học [11, 12]. Nghiên cứu cho thấy, khi kết hợp với

chitosan, DES không chỉ đóng vai trò là dung môi hòa tan hoạt chất, mà còn tương tác với mạng lưới polymer, từ đó cải thiện độ bền và độ dẻo của màng [13, 14]. Tuy nhiên, việc ứng dụng hệ màng chitosan chứa DES để hòa tan và ổn định astaxanthin vẫn chưa được nghiên cứu đầy đủ, đặc biệt là về vai trò kép của DES, vừa là chất hóa dẻo, vừa là dung môi bảo vệ các hợp chất kỵ nước như astaxanthin.

Mặt khác, mặc dù đã có nhiều nghiên cứu về cơ chế phóng thích hoạt chất từ các loại màng sinh học, và đã chỉ ra rằng tốc độ phóng thích phụ thuộc vào bản chất polymer, loại hoạt chất và điều kiện bảo quản, nhưng các mô hình động học này chưa được áp dụng cho hệ màng chitosan–DES chứa astaxanthin. Các nghiên cứu đã chỉ ra rằng các màng từ carboxymethyl cellulose kết hợp gelatin hoặc octenyl succinic anhydride starch kết hợp gelatin thường thể hiện cơ chế phóng thích hai giai đoạn, với giai đoạn phóng thích nhanh ban đầu và sau đó chuyển sang khuếch tán chậm, mô tả qua mô hình động học Higuchi hoặc Ritger–Peppas [15]. Những nghiên cứu khác cũng áp dụng động học bậc một và bậc hai để mô tả sự phóng thích của polyphenol hoặc flavonoid từ các hệ như carboxymethyl cellulose kết hợp whey protein và pectin, cho thấy tốc độ phóng thích bị chi phối đồng thời bởi cấu trúc polymer, tính chất hoạt chất và môi trường bảo quản [16]. Tuy nhiên, những mô hình này chưa được áp dụng cho hệ màng chitosan–DES chứa astaxanthin, tạo ra một khoảng trống quan trọng trong nghiên cứu.

Mặc dù DES đã được chứng minh có khả năng cải thiện tính chất cơ học và tương thích sinh học của màng chitosan, nhưng hiệu quả của DES trong việc bảo vệ và ổn định các hợp chất kỵ nước như astaxanthin vẫn chưa được nghiên cứu đầy đủ. Đây là một vấn đề khoa học cần giải quyết, bởi nếu không có một hệ màng phù hợp, việc kiểm soát phóng thích astaxanthin sẽ gặp khó khăn, đặc biệt là trong quá trình bảo quản thực phẩm. Với mục tiêu giải quyết các vấn đề nêu trên, nghiên cứu này sẽ tập trung vào: (i) phát triển hệ màng chitosan chứa dung môi eutectic sâu để hòa tan astaxanthin chiết xuất từ vỏ tôm; (ii) đánh giá các đặc tính cơ học, cấu trúc và hình thái của màng cũng như khả năng bảo vệ astaxanthin; và (iii) phân tích động học suy giảm và phóng thích astaxanthin trong điều kiện bảo quản tôm *Penaeus monodon*, nhằm làm rõ cơ chế kiểm soát phóng thích và xác định tiềm năng ứng dụng trong bảo quản tôm lột vỏ.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Vỏ tôm sú (*Penaeus monodon*) và tôm sú tươi được cung cấp bởi Công ty Minh Phú, Cà Mau, Việt Nam. Vỏ tôm sú sau khi thu thập được rửa sạch, sấy khô ở 60°C trong tủ sấy chân không (Tecnal, Piracicaba, Brazil) đến khi độ ẩm còn dưới 10%. Sau khi sấy, vỏ tôm được nghiền thành bột mịn và rây qua rây kích thước 125 µm, phần bột mịn được bảo quản trong túi nhựa. Tôm sú tươi (25 con/kg) được lột vỏ, loại bỏ đầu và thân, rồi rửa sạch bằng nước đá lạnh và sau đó được sử dụng để khảo sát bảo quản bằng màng. Các hóa chất sử dụng trong thí nghiệm bao gồm ethanol (99,9%), axit hydrochloric (99%), natri hydroxide (NaOH, >95%), DPPH (1,1-Diphenyl-2-picryl-hydrazyl, >98%), choline chloride (>99%), astaxanthin (99,5%), acid lactic (99,5%) và chitosan (≥85% độ tinh khiết, chỉ số degree of deacetylation - DDA >75%), tất cả đều được cung cấp bởi Sigma-Aldrich (Saint Louis, MO, Mỹ).

2.2. Chuẩn bị dung dịch và chiết tách astaxanthin

Dung môi eutectic sâu (DES) được tổng hợp từ choline chloride và axit lactic theo tỉ lệ mol 1:2, bổ sung 15% nước (w/w), sau đó gia nhiệt ở 60 °C và khuấy cho đến khi tạo thành dung dịch đồng nhất, trong suốt và ổn định sau 24 giờ [17]. DES này được sử dụng trực tiếp làm dung môi chiết astaxanthin từ bột vỏ tôm đã sấy khô và nghiền mịn; hỗn hợp rắn–lỏng được khuấy gia nhiệt trong điều kiện tối ưu, sau đó lọc để thu dịch chiết màu đỏ đặc trưng, định lượng bằng UV–Vis/HPLC và bảo quản trong tối ở 4 °C [17]. Song song đó, dung dịch chitosan được chuẩn bị bằng cách hòa tan 2,0 g chitosan trong 100 mL dung dịch axit axetic 1% (v/v), khuấy ở 25 ± 2 °C trong 24 giờ, thu được dung dịch trong suốt, ổn định trong vòng 48 giờ và dùng ngay cho các thí nghiệm tiếp theo [12].

2.3. Tạo màng sinh học

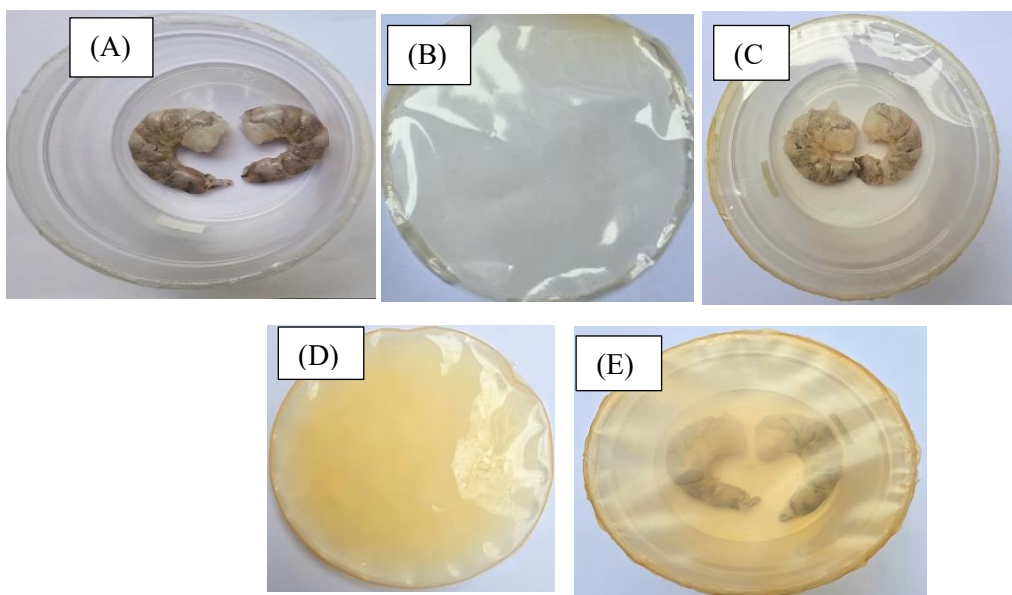
Dịch chiết giàu astaxanthin được thu nhận bằng dung môi eutectic sâu và phối trộn với dung dịch chitosan theo tỷ lệ 1:5 (v/v), tạo hỗn hợp có pH dao động trong khoảng 3,5–4,0. Dung dịch được khuấy đều trong 30 phút ở nhiệt độ phòng cho đến khi đạt độ nhớt ổn định và không xảy ra hiện tượng phân lớp sau 24 giờ.

Mỗi 50 mL dung dịch được rót vào đĩa Petri (đường kính 9 cm) và làm khô trong tủ hút khí độc Labconco (Mỹ) với chế độ hút gió liên tục, không gia nhiệt. Điều kiện được duy trì ở $25 \pm 2^\circ\text{C}$ và RH $\approx 50\%$ trong 7 ngày, cho phép dung môi bay hơi tự nhiên mà không ảnh hưởng đến cấu trúc màng. Sau khi khô hoàn toàn, màng được bóc tách khỏi đĩa và bảo quản ở 25°C , RH 50% cho đến khi sử dụng. Hàm lượng astaxanthin trong màng đạt khoảng $14,89 \mu\text{g/g}$ màng khô. Trong nghiên cứu này, hai loại màng sinh học được chế tạo gồm: (i) màng chitosan nguyên chất và (ii) màng chitosan chứa DES–astaxanthin.

2.4. Chuẩn bị mẫu tôm và thí nghiệm bảo quản

Tôm sú (*Penaeus monodon*) tươi sống, kích cỡ trung bình 25 con/kg, được lột vỏ, bỏ đầu và rửa sạch bằng nước đá lạnh. Mỗi phần 50 g tôm (tương đương 2 con) được cho vào hũ nhựa polypropylene (PP) hình trụ, dung tích 500 mL, đường kính miệng 12 cm, đường kính đáy 9,5 cm và chiều cao 7 cm.

Đối với mẫu phủ màng, một màng sinh học được đặt phủ kín miệng hũ và cố định bằng vòng silicon. Đối với mẫu đối chứng, hũ không được đậy. Bên cạnh hai mẫu chính được trình bày trong nghiên cứu này, các khảo sát đối chứng bổ sung – bao gồm màng chứa DES không có astaxanthin – cũng đã được tiến hành trong quá trình nghiên cứu, nhằm phân tích vai trò riêng lẻ của từng thành phần trong hệ màng. Những kết quả này được trình bày chi tiết trong một nghiên cứu tiếp theo. Tất cả các hũ được bảo quản trong tủ lạnh chuyên dụng Panasonic MIR-254 (Panasonic, Japan) ở $4 \pm 1^\circ\text{C}$ trong 10 ngày. Nhiệt độ được giám sát bằng bộ ghi dữ liệu Testo 174T (Germany), đảm bảo dao động không vượt quá $\pm 1^\circ\text{C}$ trong suốt quá trình thí nghiệm. Trong thời gian bảo quản, các chỉ tiêu chất lượng tôm bao gồm: tỷ lệ giảm khối lượng, pH, tổng nitơ bay hơi (TVB-N), tổng số vi khuẩn hiếu khí (TVC), và chỉ số oxy hóa lipid (TBARS) được phân tích định kỳ. Đồng thời, hàm lượng astaxanthin còn lại trong màng được xác định bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) nhằm theo dõi quá trình suy giảm astaxanthin trong điều kiện bảo quản lạnh.



Hình 1. Mẫu tôm đối chứng (A: không phủ màng) và các mẫu bảo quản bằng màng sinh học: (B: màng chitosan, C: tôm phủ màng chitosan), (D: màng chitosan–DES chứa astaxanthin, E: tôm phủ màng chitosan–DES chứa astaxanthin).

2.5. Đánh giá động học thất thoát astaxanthin trong màng chitosan – DES theo thời gian bảo quản

Để khảo sát sự suy giảm hàm lượng astaxanthin trong màng chitosan–DES, màng được sử dụng làm lớp màng phủ trên nắp hũ chứa tôm tươi và bảo quản ở $4 \pm 1^\circ\text{C}$ trong 10 ngày. Trong điều kiện này, màng không tiếp xúc trực tiếp với bề mặt tôm mà đóng vai trò như một màng hoạt tính. Astaxanthin giải phóng không được đo trực tiếp trong không gian khí, mà được xác định gián tiếp thông qua việc thu hồi màng ở các mốc thời gian định trước, hòa tan trong ethanol tuyệt đối và phân tích bằng HPLC. Lượng astaxanthin còn lại trong màng phản ánh sự phóng thích/thất thoát của hợp chất này trong điều

kiện bảo quản lạnh. Sự suy giảm astaxanthin trong màng được mô tả bằng các mô hình động học thường được áp dụng cho carotenoid [18].

Mô hình bậc 1 giả định tốc độ suy giảm tỉ lệ thuận với nồng độ còn lại, được mô tả bằng phương trình: $C_t = C_0 e^{-k_1 t}$ hay dạng tuyến tính: $\ln C_t = \ln C_0 - k_1 t$. Hằng số k_1 được tính theo: $k_1 = \frac{\ln C_0 - \ln C_t}{t}$. Thời gian bán phân rã theo mô hình này được xác định $t_{1/2} = \frac{\ln(2)}{k_1}$.

Trong khi đó, ở mô hình bậc 2, tốc độ phân hủy tỉ lệ thuận với bình phương nồng độ còn lại theo phương trình sau: $\frac{dC}{dt} = -k_2 C^2$. Phương trình: $\frac{1}{C_t} = \frac{1}{C_0} + k_2 \cdot t$, trong đó k_2 có đơn vị $1/(\% \cdot \text{ngày})$. Thời gian bán phân rã được tính theo công thức: $t_{1/2} = \frac{1}{k_2} \left(\frac{1}{C_t} - \frac{1}{C_0} \right)$.

2.6. Đặc tính của màng

2.6.1. Đặc tính cơ học

Tính chất cơ học của màng được đánh giá thông qua ba chỉ tiêu chính: độ bền kéo (tensile strength – TS) và độ giãn dài khi đứt (elongation at break – EAB), sử dụng máy phân tích kết cấu TA-XT2i (Stable Micro Systems, UK) với cảm biến tải trọng 50 kg, theo phương pháp của Lawal và cộng sự [14]. Các mẫu màng được cắt thành hình chữ nhật với kích thước 20 mm × 50 mm, khoảng cách kẹp ban đầu 30 mm và kéo giãn ở tốc độ không đổi 1 mm/s.

Độ bền kéo được xác định bằng cách chia lực kéo tối đa ($F_{\max}$) cho diện tích mặt cắt ngang (A) của màng, phản ánh khả năng chịu lực của màng trước khi bị đứt. Mỗi công thức màng được thử nghiệm trên 3 mẫu độc lập ($n = 3$) và toàn bộ thí nghiệm được lặp lại ba lần để đảm bảo độ tin cậy. Kết quả được biểu diễn dưới dạng giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn (SD).

2.6.2. Đánh giá tốc độ truyền hơi nước (WVP) và độ hòa tan

WVP (Water Vapor Permeability) được xác định theo phương pháp của Zhou và cộng sự [12]. Mẫu màng được đặt lên miệng ống ly tâm 50 mL chứa 25 mL nước cất, đảm bảo bề mặt kín hoàn toàn. Các ống được đặt trong bình hút ẩm có độ ẩm tương đối 0% và cân định kỳ mỗi 2 giờ trong 48 giờ để theo dõi sự thay đổi khối lượng do sự bốc hơi nước. Độ hòa tan trong nước được mô tả theo Zhou và cộng sự như sau: Màng được ngâm trong 50 mL nước cất ở 22 ± 1 °C trong 24 giờ [12]. Sau đó, phần dung dịch hòa tan được loại bỏ, phần màng còn lại được sấy ở 105 °C đến khi khối lượng không đổi [12, 14]. Độ hòa tan (%) được tính bằng tỷ lệ giữa khối lượng hòa tan và khối lượng ban đầu của màng.

2.7. Phân tích phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (FTIR)

Phân tích FTIR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy) được thực hiện bằng máy quang phổ Nicolet 6700 của hãng Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, Hoa Kỳ. Máy được cài đặt 32 lần quét với độ phân giải 4 cm^{-1} , phạm vi quang phổ dùng để phân tích cấu trúc phân tử của các hợp chất nằm trong khoảng từ 4000 đến 500 cm^{-1} .

2.8. Phân tích kính hiển vi lực nguyên tử (AFM)

Đặc điểm vi mô bề mặt của các mẫu màng chitosan được phân tích bằng kính hiển vi lực nguyên tử (AFM - Atomic Force Microscopy), NanoScope MultiMode (Veeco Metrology, Inc., Mỹ) ở chế độ tapping mode tại nhiệt độ phòng. Mẫu được quét trên diện tích 5 $\mu\text{m} \times 5 \mu\text{m}$, cho ảnh ba chiều độ phân giải cao. Các thông số độ nhám như R_a (độ lệch trung bình tuyệt đối) và R_q (độ lệch chuẩn độ cao trung bình) được tính bằng phần mềm tích hợp, nhằm đánh giá mức độ xù xì và sự thay đổi hình thái bề mặt khi bổ sung DES và astaxanthin vào nền chitosan.

2.9. Xác định hàm lượng astaxanthin có trong màng

Hàm lượng astaxanthin trong các màng sinh học được xác định bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC). Mẫu màng khô (khoảng 50 mg) được cắt nhỏ, hòa tan trong 10 mL dung dịch ethanol:acetone (1:1, v/v), siêu âm trong 30 phút và ly tâm ở 5000 vòng/phút trong 10 phút. Phần dịch nổi được lọc qua màng lọc 0,22 μm trước khi phân tích. Hệ HPLC (Shimadzu, Nhật Bản) được trang bị detector DAD, sử dụng cột C18 (250 × 4,6 mm, 5 μm). Pha động gồm acetonitrile: methanol (70:30, v/v), tốc độ dòng 1,0 mL/phút, thể tích tiêm mẫu 20 μL , bước sóng phát hiện 474 nm. Hàm lượng astaxanthin được tính toán dựa trên đường chuẩn chuẩn bị từ astaxanthin chuẩn (Sigma-Aldrich, USA).

2.10. Đánh giá độ ổn định của sản phẩm trong quá trình bảo quản lạnh

Để đánh giá độ ổn định của sản phẩm trong quá trình bảo quản lạnh, các chỉ tiêu hóa học được theo dõi bao gồm độ giảm khối lượng, pH, chỉ số TBARS (Thiobarbituric acid reactive substances), tổng hàm lượng base bay hơi (TVB-N). Đồng thời, chất lượng vi sinh được kiểm tra thông qua tổng số vi sinh vật hiếu khí (TVC).

Giá trị pH được xác định bằng pH kế kỹ thuật số theo phương pháp của Zhang và cộng sự [19], phản ánh mức độ phân giải protein hoặc sự phát triển của vi sinh vật sinh ra các hợp chất kiềm trong thực phẩm.

Chỉ số TBARS được đo theo phương pháp của Lawal và cộng sự [14], đại diện cho mức độ oxy hóa lipid thông qua sự hình thành các hợp chất thứ cấp như malondialdehyde (MDA) – vốn ảnh hưởng tiêu cực đến cảm quan và giá trị dinh dưỡng của sản phẩm. Cụ thể, khoảng 10 g mẫu tôm được đồng hóa với 25 mL dung dịch acid trichloroacetic 7,5% (TCA) chứa 0,1% acid propyl gallate và 0,1% acid EDTA để ức chế quá trình oxy hóa tiếp tục. Hỗn hợp được lọc qua giấy lọc Whatman No.1 để thu dịch chiết trong. Sau đó, 2 mL dịch lọc được trộn với 2 mL dung dịch TBA 0,02 M và đun cách thủy ở 95 °C trong 30 phút. Sau khi làm nguội nhanh bằng nước đá, độ hấp thụ quang được đo ở bước sóng 532 nm bằng máy quang phổ UV-Vis (Thermo Scientific, Mỹ). Kết quả được biểu thị bằng mg MDA/kg mẫu, thông qua đường chuẩn thiết lập từ tetraethoxypropane (TEP).

Chỉ tiêu TVB-N (Total Volatile Basic Nitrogen) được xác định theo phương pháp chưng cất hơi nước theo Zhang và cộng sự [19]. Cụ thể, mẫu thực phẩm được trộn với dung dịch kiềm (MgO) và đun sôi trong bình chưng cất. Các hợp chất nitơ bay hơi (như amoniac, trimethylamine, và các amin bậc ba) sẽ bay hơi và được ngưng tụ trong dung dịch axit boric với chỉ thị Tashiro. Sau đó, dung dịch acid này được chuẩn độ bằng dung dịch HCl chuẩn. Hàm lượng TVB-N tính được sẽ được biểu thị dưới dạng mg N/100 g mẫu, phản ánh mức độ phân hủy protein và chất lượng của sản phẩm trong suốt quá trình bảo quản.

Màu sắc bề mặt của tôm được đo bằng máy đo màu Konica Minolta CR-400 (Nhật Bản), thông qua ba chỉ số: L^* (độ sáng), a^* (màu đỏ/xanh lá) và b^* (màu vàng/xanh dương). Chỉ số Whiteness Index (WI) [20] được tính toán theo phương trình (1):

$$WI = 100 - \sqrt{(L - 100)^2 + a^2 + b^2} \quad (1)$$

Trước khi đo, mẫu tôm lột vỏ sau bảo quản lạnh được làm sạch và lau khô để đảm bảo bề mặt không bị ảnh hưởng bởi nước hoặc tạp chất. Tôm được cắt thành miếng có kích thước đồng đều và mỗi mẫu tôm được đặt vào vị trí phẳng trên đĩa đo màu của máy, đảm bảo bề mặt tiếp xúc trực tiếp với cảm biến. Các phép đo được thực hiện ở các thời điểm xác định trong suốt quá trình bảo quản (0, 2, 4, 6, 10 ngày) và tại cùng một vị trí trên mỗi mẫu tôm. Mỗi phép đo được lặp lại ít nhất ba lần để tính giá trị trung bình, giảm thiểu sai số.

Tổng số vi sinh vật hiếu khí (TVC) được xác định bằng kỹ thuật đổ đĩa trên môi trường Plate Count Agar (PCA) theo hướng dẫn của Nguyen và cộng sự [20]. Mẫu được ủ ở 30 °C trong 48 giờ và kết quả được thể hiện dưới dạng log CFU/g. Ngưỡng chấp nhận tối đa là 6 log CFU/g theo khuyến nghị của CLSI (2015) [21]; vượt ngưỡng này được xem là không đạt yêu cầu an toàn vi sinh thực phẩm.

2.11. Phân tích thống kê

Tất cả các thí nghiệm được thực hiện với ba lần lặp lại độc lập ($n = 3$), kết quả biểu diễn dưới dạng giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn (SD). Phân tích phương sai một chiều (ANOVA) và so sánh hậu nghiệm bằng phép kiểm Tukey được tiến hành bằng phần mềm STATISTICA 13.1 (StatSoft Inc., USA) với mức ý nghĩa $p < 0,05$. Phân tích mô hình động học suy giảm astaxanthin và xây dựng đồ thị được thực hiện bằng Excel 2023.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Sự thay đổi đặc tính màng trong quá trình bảo quản

Trong suốt 10 ngày bảo quản lạnh, các chỉ tiêu vật lý và cơ học của màng chitosan nguyên chất và màng chitosan-DES-astaxanthin đều biến đổi rõ rệt, phản ánh sự tương tác phức tạp giữa vật liệu màng và môi trường thực phẩm (Bảng 1). Ngay từ đầu, màng chitosan-DES-astaxanthin có độ dày lớn

hơn (0,18 mm so với 0,15 mm) và tiếp tục tăng nhẹ lên 0,19 mm sau 10 ngày, cho thấy hiện tượng hút ẩm và giãn nở mạng polymer trong điều kiện lạnh ẩm. Sự khác biệt này chủ yếu do DES có khả năng giữ ẩm cao, làm tăng tính linh động chuỗi polymer và tạo điều kiện cho phân tử nước thẩm sâu [16, 24 - 25]. Ngoài ra, astaxanthin có thể tương tác với khung polymer thông qua nhóm hydroxyl và liên kết π - π , góp phần làm thay đổi cấu trúc mạng theo thời gian [16].

Bảng 1. Sự thay đổi tính chất vật lý và cơ học của màng chitosan và màng chitosan-DES-astaxanthin theo thời gian

Thời gian (ngày)	Mẫu	Độ dày (mm)	WVP ($\times 10^{-10}$ g/m $\cdot$ s $\cdot$ Pa)	EAB (%)	TS (MPa)
0	Chitosan nguyên chất	0,15 $\pm$ 0,01 ^{bA}	2,99 $\pm$ 0,06 ^{bA}	39,19 $\pm$ 1,71 ^{bA}	6,35 $\pm$ 0,72 ^{aA}
	Chitosan – DES – astaxanthin	0,18 $\pm$ 0,01 ^{aA}	3,51 $\pm$ 0,07 ^{aE}	52,36 $\pm$ 0,91 ^{aA}	3,83 $\pm$ 0,54 ^{bA}
2	Chitosan nguyên chất	0,15 $\pm$ 0,01 ^{bA}	3,06 $\pm$ 0,09 ^{bA}	37,85 $\pm$ 1,56 ^{bA}	5,94 $\pm$ 0,74 ^{aAB}
	Chitosan – DES – astaxanthin	0,18 $\pm$ 0,01 ^{aA}	3,76 $\pm$ 0,10 ^{aDE}	48,63 $\pm$ 0,82 ^{aB}	3,56 $\pm$ 0,38 ^{bAB}
4	Chitosan nguyên chất	0,15 $\pm$ 0,01 ^{bA}	3,11 $\pm$ 0,11 ^{bA}	35,43 $\pm$ 1,48 ^{bAB}	5,37 $\pm$ 0,65 ^{aABC}
	Chitosan – DES – astaxanthin	0,18 $\pm$ 0,01 ^{aA}	4,01 $\pm$ 0,11 ^{aCD}	44,11 $\pm$ 0,77 ^{aC}	3,15 $\pm$ 0,35 ^{bABC}
6	Chitosan nguyên chất	0,15 $\pm$ 0,01 ^{bA}	3,15 $\pm$ 0,13 ^{bA}	32,98 $\pm$ 1,37 ^{bABC}	4,88 $\pm$ 0,59 ^{aABC}
	Chitosan – DES – astaxanthin	0,19 $\pm$ 0,01 ^{aA}	4,28 $\pm$ 0,13 ^{aBC}	39,76 $\pm$ 0,68 ^{aD}	2,79 $\pm$ 0,32 ^{bBC}
8	Chitosan nguyên chất	0,16 $\pm$ 0,01 ^{bA}	3,18 $\pm$ 0,12 ^{bA}	30,56 $\pm$ 1,26 ^{bCD}	4,42 $\pm$ 0,53 ^{aBC}
	Chitosan – DES – astaxanthin	0,19 $\pm$ 0,01 ^{aA}	4,45 $\pm$ 0,15 ^{aAB}	35,84 $\pm$ 0,61 ^{aE}	2,48 $\pm$ 0,29 ^{bC}
10	Chitosan nguyên chất	0,16 $\pm$ 0,01 ^{bA}	3,22 $\pm$ 0,14 ^{bA}	27,64 $\pm$ 1,33 ^{bD}	3,98 $\pm$ 0,48 ^{aC}
	Chitosan – DES – astaxanthin	0,19 $\pm$ 0,01 ^{aA}	4,61 $\pm$ 0,14 ^{aA}	32,14 $\pm$ 0,84 ^{aF}	2,21 $\pm$ 0,28 ^{bC}

Trong cùng một cột, các kí tự ^{a,b,c} ... khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa giữa hai nghiệm thức mẫu tại cùng một nghiệm thức thời gian với mức ý nghĩa 5% và các kí tự ^{A,B,C} ... khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa giữa các nghiệm thức thời gian tại cùng một nghiệm thức mẫu với mức ý nghĩa 5%.

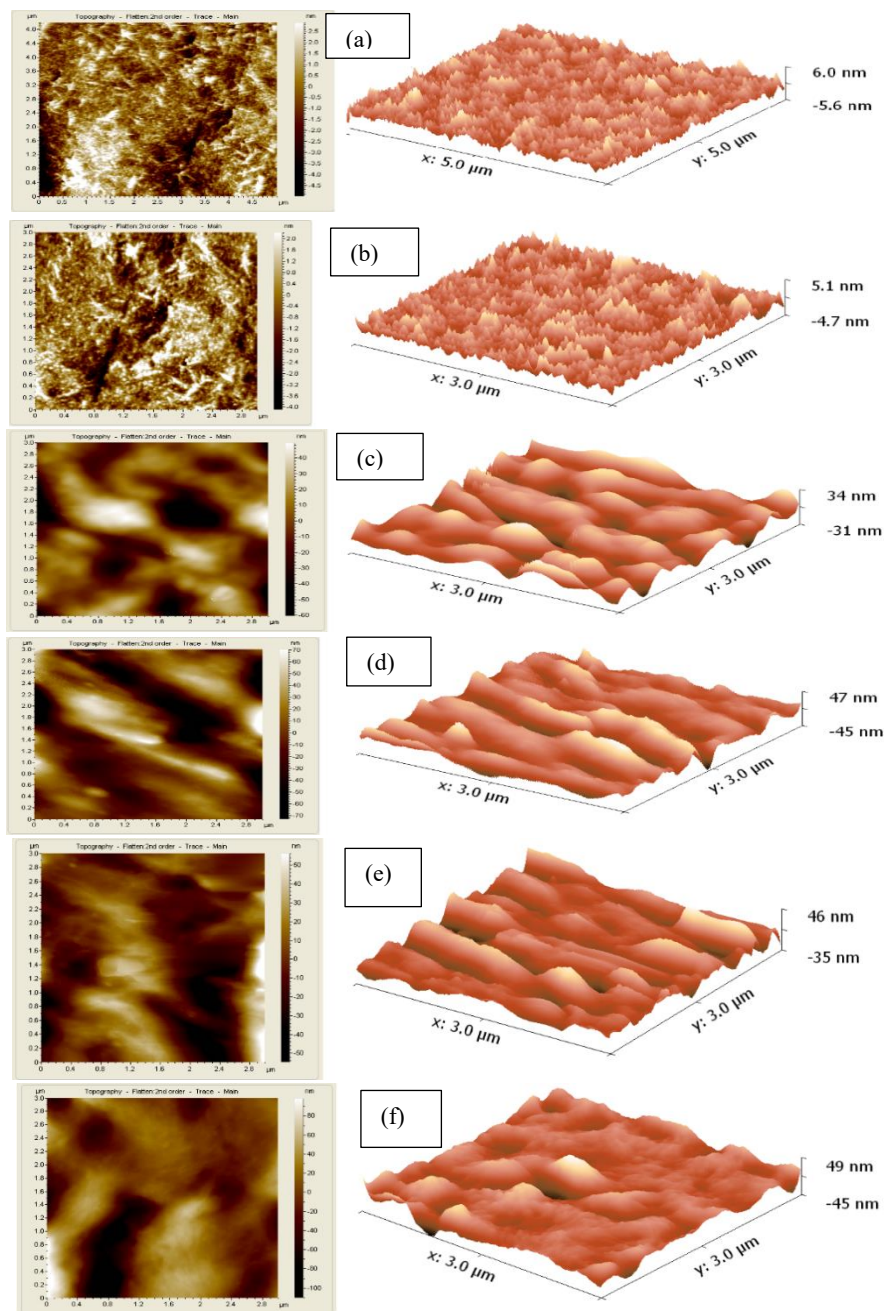
Đáng chú ý, sự gia tăng độ dày đi kèm với biến động đáng kể về độ thẩm hơi nước (WVP). Trong giai đoạn 2–4 ngày, WVP của màng chitosan-DES-astaxanthin tăng từ 3,76 lên $4,01 \times 10^{-10}$ g/m $\cdot$ s $\cdot$ Pa, đồng thời độ nhám bề mặt (R_a) tăng từ 2,67 lên 9,67 nm (Bảng 2). Sự đồng biến này phản ánh chuỗi thay đổi vi mô: khi màng hút ẩm và tái sắp xếp mạng polymer, các vùng liên kết yếu giữa chitosan và astaxanthin dễ bị phá vỡ cục bộ, hình thành vi mao quản và bề mặt gồ ghề hơn (Hình 2). Chính sự xuất hiện các “kênh dẫn” này làm gia tăng đáng kể sự khuếch tán hơi nước [14, 16 - 25]. Cơ chế này giải thích trực tiếp cho kết quả bảo quản (mục 3.2): khi WVP tăng, hơi nước thoát qua màng dễ dàng hơn, dẫn đến mất nước nhiều hơn từ mô tôm. Ngược lại, màng có WVP thấp hơn sẽ duy trì được hàng rào ẩm tốt hơn, nhờ đó làm giảm tỷ lệ mất khối lượng trong quá trình bảo quản. Như vậy, biến động WVP không chỉ là chỉ số vật lý của màng mà còn đóng vai trò quyết định đến khả năng kiểm soát hao hụt khối lượng của tôm.

Bảng 2. Hàm lượng astaxanthin, khả năng kháng oxy hóa, các thông số động học và độ nhám bề mặt của màng chitosan-DES trong suốt thời gian bảo quản.

Thời gian (ngày)	Hàm lượng còn lại (μ g/g)	DPPH (μ mol TE/mL)	k_1 (ngày $^{-1}$)	k_2 (μ g/g) $^{-1}$)	R_a (mm)	R_q (mm)
0	14,89 $\pm$ 0,00 ^a	4,91 $\pm$ 0,18 ^a	-	-	1,97 $\pm$ 0,03 ^d	2,63 $\pm$ 0,02 ^c
2	14,22 $\pm$ 0,60 ^b	4,05 $\pm$ 0,20 ^b	0,0230 ^a	0,0016 ^a	2,67 $\pm$ 0,07 ^d	2,92 $\pm$ 0,05 ^c
4	13,76 $\pm$ 0,51 ^b	3,51 $\pm$ 0,25 ^{bc}	0,0196 ^{ab}	0,0014 ^b	9,67 $\pm$ 0,12 ^c	7,26 $\pm$ 0,18 ^b
6	13,42 $\pm$ 0,60 ^c	3,49 $\pm$ 0,11 ^c	0,0172 ^b	0,0011 ^c	9,80 $\pm$ 0,20 ^c	7,53 $\pm$ 0,10 ^b
8	13,20 $\pm$ 0,62 ^{cd}	3,41 $\pm$ 0,25 ^{cd}	0,0150 ^c	0,0011 ^c	10,91 $\pm$ 0,22 ^b	8,23 $\pm$ 0,20 ^a
10	12,88 $\pm$ 0,55 ^d	2,88 $\pm$ 0,17 ^d	0,0144 ^c	0,0011 ^c	12,36 $\pm$ 0,19 ^a	9,57 $\pm$ 0,15 ^a

k_1, k_2 : Hằng số tốc độ phản ứng theo các mô hình động học bậc 1 và 2. Trong cùng một cột, các chữ cái ^{a,b,c}... khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa giữa các nghiệm thức với mức ý nghĩa 5%.

Về cơ học, màng chitosan–DES–astaxanthin giữ được độ giãn dài (EAB) cao hơn trong suốt quá trình bảo quản (giảm từ 52,37% xuống 32,14%), trong khi chitosan giảm chậm hơn (39,17% xuống 27,64%). DES đóng vai trò hóa dẻo, làm tăng linh động chuỗi polymer, còn astaxanthin hoạt động như một chất ổn định mạng, hạn chế oxy hóa nội mạng – nguyên nhân chính gây giảm EAB khi bảo quản kéo dài [14, 18, 23, 24]. Ngược lại, độ bền kéo (TS) lại cho thấy xu hướng giảm nhanh hơn ở chitosan nguyên chất. TS ban đầu của màng chitosan cao hơn chitosan – DES–astaxanthin (6,35 MPa so với 3,82 MPa), tuy nhiên đến ngày thứ 10, TS của chitosan giảm mạnh còn 3,98 MPa, trong khi DES–astaxanthin vẫn giữ được 2,21 MPa. Mức suy giảm thấp hơn ở màng chứa astaxanthin chứng tỏ astaxanthin có khả năng bảo vệ một phần mạng polymer khỏi phân cắt do stress môi trường [14, 25].



Hình 2. Hình ảnh AFM ba chiều của chiều cao bề mặt và pha (kích thước quét $5 \times 5 \mu\text{m}$) của màng DES chứa astaxanthin tích hợp với chitosan qua các ngày bảo quản tại nhiệt độ 4°C trong (a-f) 0, 2, 4, 6, 8, 10 ngày

Như vậy, kết quả Bảng 1 và Bảng 2 cho thấy sự thay đổi của màng không diễn ra độc lập mà có quan hệ nhân quả rõ rệt: tăng độ ẩm, tái cấu trúc bề mặt, tăng độ nhám và WVP. Điều này dẫn đến kết quả là giảm hiệu quả hàng rào và thay đổi cơ tính. Cấu trúc màng được điều chỉnh bởi các tương tác giữa chitosan, DES và astaxanthin, trong đó sự hiện diện của DES vừa mang lại độ mềm dẻo vừa khiến màng dễ tái tổ chức dưới điều kiện lạnh ẩm. Astaxanthin đóng vai trò then chốt trong việc duy trì ổn định mạng polymer, hạn chế lão hóa vật liệu và giảm tốc độ suy giảm tính chất cơ học.

3.2. Hiệu quả bảo quản tôm lột vỏ bằng màng DES–chitosan chứa astaxanthin

Trong bảo quản lạnh, chất lượng tôm lột vỏ suy giảm chủ yếu bởi ba cơ chế: thoát ẩm, hoạt động vi sinh vật và oxy hóa lipid. Các chỉ tiêu như hao hụt khối lượng, pH, TVB-N, TBARS, TVC và chỉ số màu WI có mối liên hệ tương tác chặt chẽ, phản ánh toàn diện biến đổi vật lý – hóa học – sinh học trong suốt quá trình bảo quản (Bảng 3). Sau 10 ngày ở $4 \pm 1^\circ\text{C}$, mẫu phủ màng chitosan–DES–astaxanthin chỉ mất 3,76% khối lượng, thấp hơn đáng kể so với màng chitosan thuần (6,2%) và đối chứng không phủ màng (8,94%). Kết quả này khẳng định vai trò rào cản vật lý của màng trong việc hạn chế bay hơi nước, bảo vệ cấu trúc mô và giảm biến tính protein cơ [19, 27]. Ngoài ra, nhờ đặc tính acid lactic trong DES, màng còn tạo vi môi trường bất lợi cho vi sinh vật, góp phần duy trì pH thấp hơn (6,81 so với 7,46 ở đối chứng) và giảm hình thành TVB-N (22,76 so với 36,85 mg/100 g). Điều này phản ánh khả năng ức chế hoạt động khử amin – khử carboxyl của vi sinh vật sinh hư hỏng, vốn là cơ chế chính tạo ra các base bay hơi [25].

Bảng 3. Quá trình oxy hóa lipid và sự phát triển vi sinh vật trong tôm trong suốt 10 ngày bảo quản ở 4°C

Mẫu	Ngày	Độ giảm khối lượng (%)	pH	TVB-N (mg/100g)	TBARS (mg MDA/kg)	TVC (log CFU/g)	WI (%)
Đối chứng không phủ màng	0	0,0 $\pm$ 0,0 ^{aF}	6,31 $\pm$ 0,05 ^{aD}	9,31 $\pm$ 0,12 ^{aF}	0,25 $\pm$ 0,01 ^{aE}	2,22 $\pm$ 0,05 ^{aF}	51,73 $\pm$ 0,96 ^{aA}
	2	1,41 $\pm$ 0,04 ^{aE}	6,51 $\pm$ 0,07 ^{aCD}	17,94 $\pm$ 0,22 ^{aE}	0,39 $\pm$ 0,02 ^{aE}	4,11 $\pm$ 0,25 ^{aE}	50,45 $\pm$ 0,90 ^{aAB}
	4	3,09 $\pm$ 0,09 ^{aD}	6,72 $\pm$ 0,05 ^{aC}	22,63 $\pm$ 0,27 ^{aD}	0,76 $\pm$ 0,03 ^{aD}	5,20 $\pm$ 0,14 ^{aD}	48,94 $\pm$ 1,01 ^{aB}
	6	5,02 $\pm$ 0,12 ^{aC}	6,96 $\pm$ 0,09 ^{aB}	29,17 $\pm$ 0,35 ^{aC}	0,99 $\pm$ 0,05 ^{aC}	6,10 $\pm$ 0,19 ^{aC}	46,37 $\pm$ 0,66 ^{aC}
	8	7,05 $\pm$ 0,21 ^{aB}	7,23 $\pm$ 0,11 ^{aA}	33,56 $\pm$ 0,46 ^{aB}	1,46 $\pm$ 0,09 ^{aB}	6,90 $\pm$ 0,22 ^{aB}	45,94 $\pm$ 0,97 ^{aC}
	10	8,94 $\pm$ 0,24 ^{aA}	7,46 $\pm$ 0,14 ^{aA}	36,85 $\pm$ 0,64 ^{aA}	2,25 $\pm$ 0,12 ^{aA}	7,42 $\pm$ 0,25 ^{aA}	45,29 $\pm$ 0,78 ^{aC}
Phủ màng chitosan	0	0,0 $\pm$ 0,0 ^{aF}	6,29 $\pm$ 0,05 ^{aE}	9,30 $\pm$ 0,10 ^{aF}	0,24 $\pm$ 0,01 ^{aE}	2,22 $\pm$ 0,05 ^{aF}	51,52 $\pm$ 1,06 ^{aA}
	2	1,22 $\pm$ 0,03 ^{bE}	6,45 $\pm$ 0,09 ^{aDE}	16,42 $\pm$ 0,21 ^{bE}	0,29 $\pm$ 0,01 ^{bE}	3,80 $\pm$ 0,09 ^{bE}	50,70 $\pm$ 0,95 ^{aAB}
	4	2,58 $\pm$ 0,08 ^{bD}	6,63 $\pm$ 0,12 ^{abCD}	18,14 $\pm$ 0,23 ^{bD}	0,51 $\pm$ 0,02 ^{bD}	4,70 $\pm$ 0,14 ^{bD}	49,78 $\pm$ 0,84 ^{aAB}
	6	4,27 $\pm$ 0,11 ^{bC}	6,81 $\pm$ 0,13 ^{abBC}	25,78 $\pm$ 0,32 ^{bC}	0,78 $\pm$ 0,04 ^{bC}	5,61 $\pm$ 0,19 ^{bC}	48,48 $\pm$ 0,79 ^{bBC}
	8	5,48 $\pm$ 0,14 ^{bB}	7,04 $\pm$ 0,14 ^{aB}	27,58 $\pm$ 0,41 ^{bB}	1,15 $\pm$ 0,07 ^{bB}	6,33 $\pm$ 0,17 ^{bB}	46,78 $\pm$ 0,79 ^{bC}
	10	6,2 $\pm$ 0,12 ^{bA}	7,37 $\pm$ 0,15 ^{aA}	30,63 $\pm$ 0,52 ^{bA}	2,05 $\pm$ 0,09 ^{aA}	6,90 $\pm$ 0,23 ^{aA}	46,87 $\pm$ 0,89 ^{bC}
Phủ màng DES–chitosan chứa astaxanthin	0	0,0 $\pm$ 0,00 ^{aF}	6,31 $\pm$ 0,05 ^{aC}	9,32 $\pm$ 0,15 ^{aE}	0,25 $\pm$ 0,01 ^{aD}	2,23 $\pm$ 0,05 ^{aD}	51,80 $\pm$ 1,13 ^{aA}
	2	0,85 $\pm$ 0,02 ^{cE}	6,39 $\pm$ 0,06 ^{aC}	14,65 $\pm$ 0,35 ^{cD}	0,26 $\pm$ 0,03 ^{bD}	2,41 $\pm$ 0,06 ^{cD}	51,28 $\pm$ 0,89 ^{aA}
	4	1,44 $\pm$ 0,04 ^{cD}	6,48 $\pm$ 0,07 ^{bBC}	15,72 $\pm$ 0,40 ^{cD}	0,29 $\pm$ 0,03 ^{cD}	2,91 $\pm$ 0,09 ^{cC}	50,12 $\pm$ 0,92 ^{aA}
	6	2,56 $\pm$ 0,07 ^{cC}	6,58 $\pm$ 0,11 ^{bABC}	19,14 $\pm$ 0,43 ^{cC}	0,47 $\pm$ 0,04 ^{cC}	3,20 $\pm$ 0,12 ^{cC}	50,81 $\pm$ 0,92 ^{aA}
	8	3,22 $\pm$ 0,09 ^{aB}	6,72 $\pm$ 0,13 ^{bAB}	20,83 $\pm$ 0,50 ^{cB}	0,66 $\pm$ 0,07 ^{cB}	3,71 $\pm$ 0,13 ^{cB}	50,66 $\pm$ 0,94 ^{aA}
	10	3,76 $\pm$ 0,12 ^{cA}	6,81 $\pm$ 0,14 ^{bA}	22,76 $\pm$ 0,62 ^{cA}	0,95 $\pm$ 0,08 ^{bA}	4,3 $\pm$ 0,16 ^{bA}	49,96 $\pm$ 0,83 ^{aA}

Trong cùng một cột, các kí tự ^{a,b,c} ... khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa giữa các nghiệm thử mẫu tại cùng một nghiệm thử ngày với mức ý nghĩa 5% và các kí tự ^{A,B,C} ... khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa giữa các nghiệm thử ngày tại cùng một nghiệm thử mẫu với mức ý nghĩa 5%.

Sự kết hợp giữa cơ chế vật lý và hóa học này còn hỗ trợ hiệu quả chống oxy hóa. Chỉ số TBARS ở mẫu phủ DES–chitosan–astaxanthin chỉ đạt 0,95 mg MDA/kg, thấp hơn gần 60% so với đối chứng (2,25 mg/kg). Hiệu quả này chủ yếu đến từ astaxanthin, một chất chống oxy hóa mạnh (IC₅₀ DPPH = 4,91 $\mu\text{mol TE/mL}$), được giải phóng bền vững nhờ cấu trúc mao quản và kênh dẫn quan sát được qua SEM. Dữ liệu FTIR cho thấy biến đổi các nhóm chức –OH, –NH₂, C=O, cùng cơ chế “solvent-

activated release”, trong đó môi trường ẩm thúc đẩy quá trình giải phóng astaxanthin, từ đó bảo vệ lipid và protein trước sự tấn công của gốc tự do [15, 16].

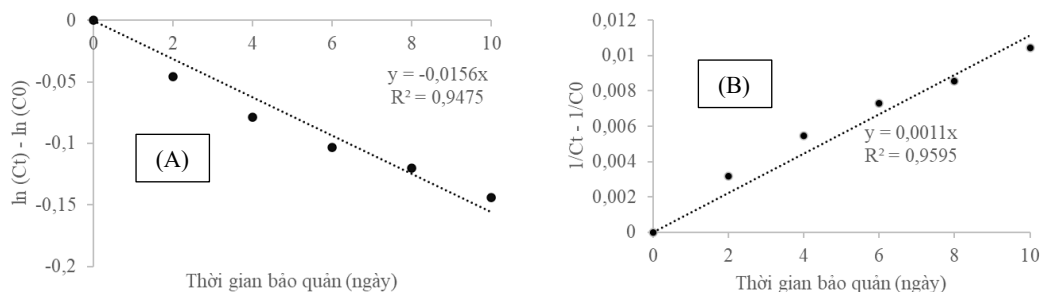
Ngoài ra, màng còn duy trì ổn định màu sắc sản phẩm. Chỉ số WI của mẫu phủ DES–chitosan–astaxanthin được giữ ở mức cao trong suốt thời gian bảo quản, trong khi đối chứng suy giảm đáng kể. Đây là minh chứng cho khả năng ngăn ngừa hiện tượng mất màu do oxy hóa lipid và quá trình biến đổi vi sinh. Song song đó, tổng số vi khuẩn hiếu khí (TVC) ở mẫu phủ DES chỉ đạt 4,3 log CFU/g, thấp hơn nhiều so với đối chứng (7,42 log CFU/g), cho thấy tác động hiệp đồng kháng khuẩn giữa chitosan và acid lactic [19]. Như vậy, hiệu quả bảo quản không chỉ dựa trên một yếu tố đơn lẻ, mà là kết quả tổng hợp của hàng rào vật lý hạn chế ẩm và oxy, cơ chế hóa học duy trì cân bằng pH – ngăn hình thành TVB-N và tác động sinh học từ astaxanthin và acid lactic giúp kháng khuẩn – chống oxy hóa, tất cả cùng phối hợp để kéo dài chất lượng và tuổi thọ của tôm.

Trong nghiên cứu này, màng DES–chitosan–astaxanthin không được phủ trực tiếp lên bề mặt tôm mà đóng vai trò như một lớp bảo vệ bên ngoài, tương tự cơ chế “seal” trong bao gói. Do đó, các thành phần hoạt tính như astaxanthin không thẩm thấu sâu vào mô, mà chủ yếu bảo vệ bề mặt tôm khỏi oxy hóa và vi sinh vật. Nhờ vậy, màng không làm biến đổi thành phần dinh dưỡng bên trong nhưng vẫn duy trì độ tươi và tính an toàn cảm quan. Về khía cạnh an toàn, các cấu phần tạo màng (acid lactic và choline chloride) đều thuộc nhóm GRAS (Generally Recognized As Safe) [26, 27] trong khi astaxanthin là carotenoid tự nhiên đã được EFSA và FDA phê duyệt cho ứng dụng trong thủy sản [28, 29]. Điều này khẳng định rủi ro gây mất an toàn thực phẩm ở mức rất thấp.

Tuy nhiên, nghiên cứu chỉ sử dụng mẫu không phủ màng làm đối chứng, nhằm đánh giá hiệu quả lớp màng chứa hợp chất có hoạt tính sinh học. Cách làm này chưa phản ánh đầy đủ các phương pháp bảo quản phổ biến như dùng vật liệu PE, PP, hút chân không hay MAP [30]. Do đó, cần có thêm nghiên cứu so sánh với các vật liệu bao gói thương mại. Hướng tiếp theo nên tích hợp màng này vào các hệ đóng gói hiện hành để đánh giá khả năng ứng dụng thực tế và triển khai công nghiệp.

3.3. Động học astaxanthin giải phóng trong quá trình bảo quản tôm

Quá trình suy giảm hàm lượng astaxanthin trong màng chitosan–DES trong điều kiện bảo quản ở 4 °C được mô phỏng bằng hai mô hình động học bậc 1 và bậc 2 (Hình 3). Ở giai đoạn đầu (0–2 ngày), mô hình bậc 1 với phương trình $\ln C_t = \ln C_0 - k_1 t$ mô tả tương đối chính xác sự suy giảm astaxanthin, khi hệ số tốc độ phân hủy k_1 giảm nhẹ từ 0,0230 xuống 0,0196 ngày⁻¹ (Bảng 2). Điều này phù hợp với dữ liệu AFM (Hình 2a–b), cho thấy bề mặt màng còn mịn và đồng nhất, với độ nhám thấp ($R_a = 1,97\text{--}2,67$ nm; $R_q = 2,63\text{--}2,92$ nm, Bảng 2), giúp astaxanthin dễ dàng khuếch tán. Bên cạnh đó, phổ FTIR (Hình 4) vẫn ghi nhận rõ các đỉnh hấp thụ đặc trưng khoảng 3300 cm⁻¹, thể hiện liên kết hydro yếu –OH và N–H vẫn chiếm ưu thế, cho thấy cấu trúc màng còn ổn định [12, 24]. Do đó, giả định của mô hình bậc 1 – tốc độ phân hủy tỷ lệ thuận với nồng độ còn lại – là hợp lý trong giai đoạn mà cấu trúc màng còn ổn định.

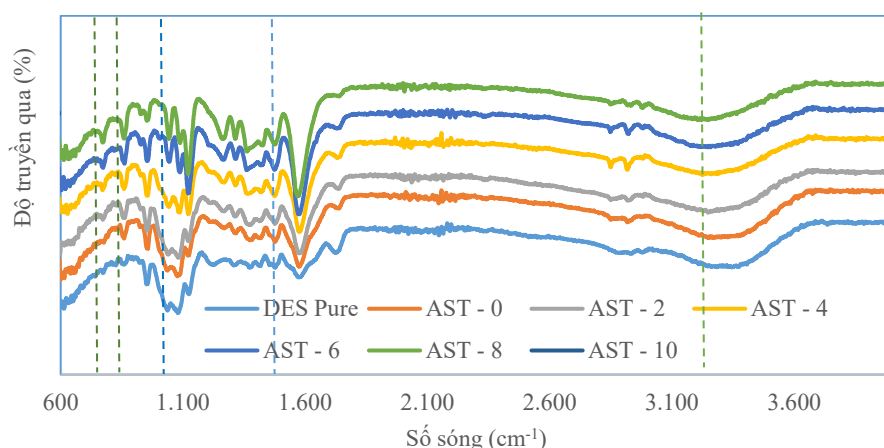


Hình 3. Mô hình động học bậc 1 (A) và bậc 2 (B) mô tả quá trình suy giảm astaxanthin trong màng chitosan – DES theo thời gian bảo quản

Tuy nhiên, từ ngày thứ 2 trở đi, đặc biệt là giai đoạn từ ngày 4 đến ngày 10, mô hình bậc 1 không còn mô tả đúng tiến trình phân hủy. Độ nhám bề mặt tăng mạnh (R_a lên tới 12,36 nm; $R_q = 9,57$ nm, Bảng 2), chứng tỏ màng đã trải qua tái cấu trúc rõ rệt (Hình 2c–f) với sự xuất hiện các rãnh sâu, bề mặt gồ ghề khiến việc khuếch tán astaxanthin bị hạn chế. Phổ FTIR ở các mẫu AST–6 đến AST–10 cũng ghi nhận sự suy giảm đỉnh –OH (~3300 cm⁻¹) đồng thời tăng các dải hấp thụ đặc trưng liên kết C=O (~1650 cm⁻¹) và N–H uốn (~1550 cm⁻¹) [17], phản ánh sự hình thành liên kết bền giữa astaxanthin và

nền chitosan–DES. Những thay đổi này báo hiệu cơ chế phân hủy không còn đơn giản phụ thuộc vào nồng độ như mô hình bậc 1, mà chịu ảnh hưởng mạnh bởi tái cấu trúc mạng polymer và tương tác hóa học phức tạp [16].

Trong khi đó, mô hình bậc 2 với phương trình $1/C_t = 1/C_0 + k_2 t$ cho thấy khả năng mô phỏng phù hợp hơn trên toàn bộ chu kỳ bảo quản, đặc biệt là sau ngày thứ 4. Mô hình giả định tốc độ phân hủy tỷ lệ thuận với bình phương nồng độ, phản ánh trạng thái hoạt chất không còn tự do khuếch tán mà bị giữ lại trong mạng polymer tái cấu trúc [18]. Hệ số k_2 duy trì ổn định trong khoảng $0,0011\text{--}0,0016\ (\mu\text{g/g})^{-1}\cdot\text{ngày}^{-1}$ và hệ số tương quan R^2 đạt 0,9595, cao hơn so với mô hình bậc 1. Sai số RMSE thấp hơn ($\sim 0,188\ \mu\text{g/g}$) cũng chứng minh mô hình bậc 2 mô phỏng chính xác hơn quá trình suy giảm astaxanthin trong màng chitosan–DES. Hơn nữa, mô hình này phản ánh rõ tính hai pha của quá trình phân hủy: pha đầu khuếch tán nhanh nhờ mạng polymer mở và cấu trúc lỏng lẻo; pha sau chậm dần do sự hình thành liên kết liên phân tử bền và cấu trúc mạng đặc hơn, hạn chế vận động của phân tử astaxanthin. Kết quả phù hợp với các nghiên cứu trước đó như của Qiang và cộng sự [31] và Dewati và cộng sự [18] khi mô tả sự chuyển tiếp từ khuếch tán tự do sang khuếch tán bị kiểm soát bởi mạng polymer.



Hình 4. Sự thay đổi chất lượng thịt tôm trong suốt quá trình bảo quản tại 4 °C bằng màng chitosan nguyên chất và màng chitosan chứa DES và astaxanthin (tỷ lệ DES:chitosan 1:5) qua các thời điểm 0, 2, 4, 6, 8, 10 ngày (AST-0 đến AST-10).

Tóm lại, trong quá trình bảo quản lạnh, khi màng chitosan–DES trải qua sự tái cấu trúc và biến đổi hóa học nội mạng, mô hình động học bậc 1 chỉ phù hợp trong giai đoạn đầu (0–2 ngày). Từ sau ngày thứ 4, mô hình bậc 2 mô tả tốt hơn tiến trình phân hủy nhờ phản ánh bản chất phi tuyến và phụ thuộc vào cấu trúc hệ vật liệu. Tuy mô hình bậc 2 phù hợp nhất về RMSE, nhưng nghiên cứu tiếp theo nên thử nghiệm mô hình khuếch tán kiểm soát như Higuchi để làm rõ bản chất khuếch tán phức tạp hơn, từ đó mở rộng khả năng mô phỏng động học phóng thích hoạt chất từ màng chitosan–DES.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu này cho thấy việc tích hợp dung môi eutectic sâu (DES) và astaxanthin vào nền chitosan đã cải thiện rõ rệt các đặc tính của màng sinh học. Màng chitosan–DES–astaxanthin thể hiện khả năng giữ ẩm tốt, tính linh động polymer cao và độ bền cấu trúc ổn định trong điều kiện bảo quản lạnh. Nhờ đó, màng giúp giảm mất khối lượng, hạn chế oxy hóa lipid và kiểm soát hiệu quả các chỉ tiêu chất lượng của tôm lột vỏ như pH, TVB-N, TBARS và TVC. Phân tích động học cho thấy mô hình bậc hai mô phỏng tốt quá trình suy giảm astaxanthin. Kết quả này phản ánh sự chuyển đổi từ khuếch tán tự do sang khuếch tán bị kiểm soát bởi mạng polymer tái cấu trúc. Tuy nhiên, nghiên cứu còn tồn tại một số hạn chế. Cụ thể, chưa có mẫu đối chứng chỉ chứa DES và chưa đánh giá cảm quan sau bảo quản. Do đó, các nghiên cứu tiếp theo cần bổ sung mẫu đối chứng, mẫu bao gói bằng màng PP hoặc PE thương mại, đồng thời tích hợp đánh giá cảm quan và mở rộng điều kiện bảo quản. Ngoài ra, việc khai thác astaxanthin từ phụ phẩm vỏ tôm cần được tiếp tục nghiên cứu như một hướng đi bền vững trong phát triển màng sinh học thực phẩm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Libio I.C., Demori R., Ferrão M.F., Lionzo M.I.Z., da Silveira N.P. - Films based on neutralized chitosan citrate as innovative composition for cosmetic application, *Materials Science and Engineering C* **67** (2016) 115-124, <https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.05.009>
2. Zhang W., Zhou W., Zhang Z., Zhang D., Guo Z., Ren P., Liu F. - Effect of nano-silica and sorbitol on the properties of chitosan-based composite films, *Polymers* **15** (2023) 4015, <https://doi.org/10.3390/polym15194015>
3. Priyadarshi R., Rhim J. W. - Chitosan-based biodegradable functional films for food packaging applications, *Innovative Food Science & Emerging Technologies* **62** (2020) 102346, <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102346>
4. Khubiev O. M., Egorov A. R., Kirichuk A. A., Khrustalev V. N., Tskhovrebov A. G., Kritchenkov A. S. - Chitosan-based antibacterial films for biomedical and food applications, *International Journal of Molecular Sciences* **24** (2023) 10738, <https://doi.org/10.3390/ijms241310738>
5. Liu Y., Yuan Y., Duan S., Li C., Hu B., Liu A., Wu D., Cui H., Lin L., He J., Wu W. - Preparation and characterization of chitosan films with three kinds of molecular weight for food packaging, *International Journal of Biological Macromolecules* **155** (2020) 249-259, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.03.217>
6. Cissé M., Montet D., Loiseau G., Ducamp-Collin M. N. - Influence of the concentrations of chitosan and glycerol on edible film properties showed by response surface methodology, *Journal of Polymers and the Environment* **20** (2012) 830-837, <https://doi.org/10.1007/s10924-012-0437-2>
7. Campos E. V. R., Oliveira J. L., Fraceto L. F. - Poly(ethylene glycol) and cyclodextrin-grafted chitosan: From methodologies to preparation and potential biotechnological applications, *Frontiers in Chemistry* **5** (2017) 93, <https://doi.org/10.3389/fchem.2017.00093>
8. Ninjiaranai P. - Biopolymer films based on chitosan and polyethylene glycol with pineapple leaf fiber for food packaging applications, *Macromolecular Symposia* **354** (2015) 294-298, <https://doi.org/10.1002/masy.201400090>
9. Higuera-Ciapara I., Félix-Valenzuela L., Goycoolea F. M. - Astaxanthin: A review of its chemistry and applications, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **46** (2006) 185-196, <https://doi.org/10.1080/10408690590957188>
10. Johnson E. A., An G.-H - Astaxanthin from Microbial Sources, *Critical Reviews in Biotechnology* **11** (1991) 297 – 326, <https://doi.org/10.3109/07388559109040622>
11. Jakubowska E., Gierszewska M., Nowaczyk J., Olewnik-Kruszkowska E. - Physicochemical and storage properties of chitosan-based films plasticized with deep eutectic solvent, *Food Hydrocolloids* **108** (2020) 106007, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106007>
12. Zhou W., Yu J., Zhao L., Wang K., Hu Z., Wu J., Liu X. - Enhancement of chitosan-based film physicochemical and storage properties by interaction with proanthocyanidin and natural deep eutectic solvent, *International Journal of Biological Macromolecules* **278** (2024) 134611, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.134611>
13. Kaczmarek-Szczepańska B., Sosik A., Małkowska A., Zasada L., Michalska-Sionkowska M., “Chitosan-based films enriched by caffeic acid with poly(ethylene glycol) – A physicochemical and antibacterial properties evaluation,” *International Journal of Biological Macromolecules* **192** (2021) 728–735, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.10.067>
14. Lawal K. G., Nazir A., Sundarakani B., Stathopoulos C., Maqsood S. - Unveiling the effect of natural deep eutectic solvents-based date seed polyphenolic extract on the properties of chitosan-PVA films and its application in shrimp packaging, *International Journal of Biological Macromolecules* **280** (2024) 135593, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.135593>
15. Łupina K., Kowalczyk D., Kazimierzczak W. - Gum arabic/gelatin and water-soluble soy polysaccharides/gelatin blend films as carriers of astaxanthin—a comparative study of the kinetics of release and antioxidant properties, *Polymers* **13** (2021) 1062, <https://doi.org/10.3390/polym13071062>

16. Łupina K., Kowalczyk D., Lis M., Raszewska-Kaczor A., Drożdowska E. - Controlled release of water-soluble astaxanthin from carboxymethyl cellulose/gelatin and octenyl succinic anhydride starch/gelatin blend films, *Food Hydrocolloids* **123** (2022) 107179, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.107179>
17. Tran C. H., Phan V. M., Le T. H. A. - Microwave-assisted extraction of astaxanthin from shrimp shell by-products (*Penaeus monodon*) using deep eutectic solvents and evaluation of antioxidant activity, *Journal of Food Measurement and Characterization* **19** (2025) 4796-4811, <https://doi.org/10.1007/s11694-025-03292-9>
18. Dewati P. R., Rochmadi, Rohman A., Budiman A. - Degradation rate of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis*, *Food Research* **6** (2022) 254-258, [https://doi.org/10.26656/fr.2017.6\(4\).462](https://doi.org/10.26656/fr.2017.6(4).462)
19. Zhang Z., Xia G., Yang Q., Fan X., Lyu S. - Effects of chitosan-based coatings on storage quality of Chinese shrimp, *Food Science and Nutrition* **7** (2019) 4085-4094, <https://doi.org/10.1002/fsn3.1275>
20. Nguyen M. T., Phan T. T. T., Le L. N., Vu T. K. L. - Synergistic antioxidant and antibacterial activities of polyphenol extracts from mangosteen peels in preservation of *Pangasius hypophthalmus* fish balls, *Journal of Agriculture and Food Research* **17** (2024) 101242, <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2024.101242>
21. CLSI - M07-A10: Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard—Tenth Edition, 2015. [Online]. Available: www.clsi.org.
22. Inthamat P., Lee Y. S., Boonsiriwit A., Siripatrawan U. - Improving moisture barrier and functional properties of active film from genipin-crosslinked chitosan/astaxanthin film by heat curing, *International Journal of Food Science and Technology* **57** (2022) 137–144, <https://doi.org/10.1111/ijfs.15396>
23. Trần Chí Hải, Bùi Thục Trinh, Đỗ Hào Nam, Phan Văn Mẫn, Lê Thị Hồng Ánh - Ứng dụng dung môi eutectic sâu chứa astaxanthin trích ly từ vỏ tôm để nâng cao đặc tính màng chitosan, *Tạp chí Khoa học Đại học Công Thương* **25** (2025) 3-12, https://doi.org/10.62985/j.huit_ojs.vol25.no3.191
24. Arancibia M. Y., López-Caballero M. E., Gómez-Guillén M. C., Montero P. - Chitosan coatings enriched with active shrimp waste for shrimp preservation, *Food Control* **54** (2015) 259–266, <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.02.004>
25. Jeyakumari A., George N., Joshy C. G., Parvathy U., Zynudheen A. A., Lalitha K. V. - Effect of chitosan on shelf life of restructured fish products from pangasius (*Pangasianodon hypophthalmus*) surimi during chilled storage, *Journal of Food Science and Technology* **53** (2016) 2099–2107, <https://doi.org/10.1007/s13197-016-2174-3>
26. U.S. Food and Drug Administration (FDA) - 21 CFR §184.1061 – Lactic acid, Electronic Code of Federal Regulations (eCFR), 2024. [Online]. Available: <https://www.ecfr.gov/current/title-21/section-184.1061>
27. U.S. Food and Drug Administration (FDA) - 21 CFR §182.8252 – Choline chloride, Electronic Code of Federal Regulations (eCFR), 2024. [Online]. Available: <https://www.ecfr.gov/current/title-21/section-182.8252>
28. U.S. Food and Drug Administration (FDA) - 21 CFR §73.35 – Astaxanthin, Electronic Code of Federal Regulations (eCFR), 2024. [Online]. Available: <https://www.ecfr.gov/current/title-21/section-73.35>
29. EFSA FEEDAP Panel - Scientific opinion on the safety and efficacy of astaxanthin for salmonids, other fish and crustaceans, *EFSA Journal* **12** (2014) 3724. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2014.3724>
30. Laorenza Y., Chonhenchob V., Bumbudsanpharoke N. - Polymeric packaging applications for seafood products: packaging-deterioration relevance, technology and trends, *Polymers* **14** (2022) 3706, <https://doi.org/10.3390/polym14183706>
31. Qiang M., Pang X., Ma D., Ma C., Liu F. - Effect of membrane surface modification using chitosan hydrochloride and lactoferrin on the properties of astaxanthin-loaded liposomes, *Molecules* **25** (2020) 610, <https://doi.org/10.3390/molecules25030610>

ABSTRACT

CHITOSAN FILMS INCORPORATED WITH DES-CONTAINING ASTAXANTHIN: STRUCTURAL CHARACTERISTICS, RELEASE MECHANISM, AND APPLICATION IN SHRIMP PRESERVATION

Tran Chi Hai¹, Phan Van Man², Le Thi Hong Anh^{1*}

¹*Ho Chi Minh City University of Industry and Trade*

²*Ba Ria - Vung Tau College of Technology*

*Email: anhlth@huit.edu.vn

In response to the increasing demand for improved protection and delivery of bioactive compounds in food packaging materials, this study focuses on the development of a chitosan-based film integrated with a deep eutectic solvent (DES) system containing astaxanthin, aiming to enhance its functionality for cold storage, particularly in peeled shrimp preservation. The study aimed to compare pure chitosan films with those containing DES–astaxanthin in terms of physicochemical characteristics, mechanical properties, and preservation performance. The DES–astaxanthin films exhibited superior flexibility, as indicated by a smaller decrease in elongation at break (from 52.37% to 32.14%), compared to the pure chitosan films (from 39.17% to 27.64%). These films also demonstrated enhanced structural stability and mechanical integrity throughout 10 days of refrigerated storage. In terms of preservation efficiency, the DES–astaxanthin films reduced shrimp weight loss (3.76%) more effectively than both the chitosan-only films (6.2%) and the control samples (8.94%). Furthermore, they contributed to maintaining pH stability, lowering total volatile basic nitrogen (TVB-N) accumulation, and inhibiting lipid oxidation, with TBARS values reduced by 60% relative to the control. Sensory quality, particularly color retention (measured via whiteness index, WI), was better preserved in the DES–astaxanthin group, while microbial growth (total viable count, TVC) was significantly suppressed. The release profile of astaxanthin from the film matrix was described using two kinetic models, with the second-order model providing a better fit for the release behavior over the storage period. These findings suggest that chitosan films incorporated with DES–astaxanthin present a promising strategy for the development of active packaging materials for cold-chain seafood products. However, further validation in real food systems is necessary to confirm their comprehensive preservative efficacy.

Keywords: Deep eutectic solvent, astaxanthin, chitosan film, mechanical properties, antibacterial activity.