

NGHIÊN CỨU CÁC ĐIỀU KIỆN TIỀN XỬ LÝ NGUYÊN LIỆU BẰNG ENZYME TRONG QUÁ TRÌNH TÁCH CHIẾT CELLULOSE TỪ THÂN CÂY CHUỐI SAU THU HOẠCH

**ĐỖ TRỌNG HUNG¹ - NGUYỄN THUỖ LINH¹ -
NGUYỄN HOÀNG PHI¹ - LƯƠNG THỊ NHƯ HOA¹**

¹Viện Công nghiệp thực phẩm
Food Industries Research Institute

*Email: hungdt@firi.vn

Ngày nhận bài: 25/5/2026

Ngày sửa bài: 12/6/2026

Ngày duyệt đăng bài: 27/6/2026

Tóm tắt:

Nghiên cứu này nhằm xác định các điều kiện tiền xử lý thích hợp bằng enzyme trong quá trình tách chiết cellulose từ thân cây chuối sau thu hoạch. Nguyên liệu thân chuối được xử lý bằng hệ enzyme nhằm loại bỏ các thành phần hemicellulose, lignin và pectin, từ đó nâng cao hàm lượng cellulose trong chế phẩm thu được. Điều kiện thích hợp tiền xử lý nguyên liệu được xác định cụ thể như sử dụng kết hợp hai enzyme laccase và xylanase với nồng độ mỗi loại 0,3% (so với cơ chất), nhiệt độ xử lý 50°C, thời gian 2,5h cho kết quả chế phẩm cellulose có độ tinh khiết trên 95%. Nghiên cứu góp phần đề xuất quy trình tiền xử lý sinh học thân thiện môi trường, có tiềm năng ứng dụng trong sản xuất cellulose từ phụ phẩm nông nghiệp.

Từ khóa: cellulose, thân cây chuối, tiền xử lý enzyme, lignocellulose, laccase, xylanase.

Research on enzymatic pretreatment conditions for cellulose extraction from postharvest banana pseudostems

Tóm tắt:

This study determines suitable enzymatic pretreatment conditions for extracting cellulose from postharvest banana pseudostems. The material was treated with enzymes to remove hemicellulose, lignin, and pectin, thereby increasing the cellulose content of the resulting preparation. The findings show that a combination of laccase and xylanase, each at a concentration of 0.3% relative to the substrate, provides the most effective pretreatment. Treatment at 50°C for 2.5 hours, followed by alkaline extraction, produced a cellulose preparation with a purity exceeding 95%. The combined enzymes exhibited a synergistic effect by disrupting lignin and hemicellulose structures and improving chemical accessibility during extraction. The study proposes an environmentally friendly biological pretreatment process with potential applications in producing high-purity cellulose from agricultural by-products while contributing to biomass valorization and circular agricultural development.

Keywords: cellulose, banana pseudostem, enzymatic pretreatment, lignocellulose, laccase, xylanase.

1. Đặt vấn đề

Việt Nam là quốc gia có nền nông nghiệp đa dạng cây trồng, trong đó cây chuối được trồng phổ biến trên nhiều vùng sinh thái khác nhau. Sau thu hoạch, phần thân cây chuối thường bị loại bỏ hoặc chỉ được sử dụng với giá trị thấp như làm thức ăn gia súc hoặc phân bón. Điều này không chỉ gây lãng phí nguồn tài nguyên sinh khối dồi dào mà còn gây ô nhiễm môi trường nếu không được xử lý hợp lý. Thân cây chuối (banana pseudostem) là một trong những nguồn sinh khối giàu lignocellulose, chứa hàm lượng cellulose đáng kể, chiếm trên 50% trong sinh khối (Badanayaka et al., 2023); Li et al., 2015), một nghiên cứu khác còn cho thấy cellulose trong thân chuối sau thu hoạch chiếm lên tới 74,37% (Iliyin et al., 2020). Sau thu hoạch, phần lớn thân chuối bị loại bỏ, chiếm tới 80-90% tổng sinh khối cây, gây lãng phí tài nguyên và tiềm ẩn nguy cơ ô nhiễm môi trường (Nascimento et al., 2023). Vì vậy, việc tận dụng nguồn nguyên liệu này để sản xuất cellulose có ý nghĩa quan trọng trong phát triển kinh tế tuần hoàn và giảm thiểu chất thải nông nghiệp.

Cellulose là polysaccharide tự nhiên phổ biến nhất trong tự nhiên, đóng vai trò quan trọng trong cấu trúc thành tế bào thực vật và có nhiều ứng dụng trong công nghiệp thực phẩm, dược phẩm và vật liệu sinh học. Trong lĩnh vực thực phẩm, cellulose và các dẫn xuất của nó như carboxymethyl cellulose (CMC) được sử dụng rộng rãi như phụ gia nhờ khả năng tạo cấu trúc, ổn định nhũ tương và cải thiện cảm quan sản phẩm. Tuy nhiên, nguồn cellulose truyền thống đang có xu hướng thay thế từ phụ phẩm nông nghiệp là cần thiết (Ardila et al., 2024). Ngoài ra, cellulose từ thân chuối còn được ứng dụng trong sản xuất màng sinh học phân hủy sinh học, góp phần thay thế vật liệu nhựa trong bao gói thực phẩm (Sachcha et al., 2024).

Một số phương pháp tách chiết cellulose từ thân cây chuối đã được nghiên cứu, trong đó phổ biến nhất là phương pháp hóa học sử dụng dung dịch kiềm (NaOH), axit hoặc chất oxy hóa nhằm loại bỏ lignin và hemicellulose. Việc ứng dụng các kỹ thuật hỗ trợ tiền xử lý nguyên liệu, trong đó có sử dụng enzyme giúp tăng hiệu quả tách chiết, rút ngắn thời gian xử lý và giảm lượng hóa chất sử dụng trong quá trình tách chiết thu được chế phẩm cellulose có độ tinh khiết được nâng cao đáng kể (Ardila et al., 2024). Nhóm nghiên cứu của Lou (2022) đã dùng enzyme cố định xylanase và laccase để xử lý sơ bộ thân cây ngô, sau đó tách chiết cellulose bằng phương pháp axit-bazơ, kết quả giúp cải thiện đáng kể hiệu quả tách chiết cellulose. Độ tinh khiết của chế phẩm cellulose chỉ thu được bằng phương pháp axit-bazơ đạt 85,46%, trong khi cellulose thu được bằng enzyme đạt 96,72% (Lou et al., 2022). Nascimento et al. (2023) cũng cho thấy, cellulose thu được từ phương pháp enzyme có độ kết tinh cao và tính ổn định nhiệt tốt, mặc dù hiệu suất có thể thấp hơn so với phương pháp hóa học (Nascimento et al., 2023).

Nghiên cứu này nhằm xác định các thông số thích hợp của quá trình tiền xử lý nguyên liệu bằng enzyme và tách chiết cellulose. Kết quả của đề tài mong muốn đóng góp giải pháp ứng dụng công nghệ sinh học trong quá trình tách chiết cellulose từ sinh khối chuối góp phần mở ra hướng ứng dụng hiệu quả nguồn phụ phẩm nông nghiệp, nâng cao giá trị kinh tế và bảo vệ môi trường.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Thân chuối được thu gom từ các nơi trồng chuối ở khu vực ven sông Hồng - Hà Nội. Loại bỏ những phần bẹ hồng, khô. Băm nhỏ, xử lý ngâm ngay trong dung dịch axit citric 0,3% trong 15 phút để chống biến màu nâu, sau đó ly tâm loại bỏ nước thu bã ẩm. Bã thân chuối được sấy khô ở 70-75°C đến độ ẩm < 10% làm nguyên liệu thí nghiệm.

Hóa chất: Enzyme laccase dạng lỏng có hoạt lực ≥ 1000 LAMU/g được tổng hợp bởi chủng *Aspergillus* sp, xylanase dạng bột có hoạt lực ≥ 2500 units/g được tổng hợp bởi chủng *Aspergillus oryzae*, pectinase dạng lỏng có hoạt lực $\geq 3,800$ units/mL được tổng hợp bởi chủng *Aspergillus aculeatus*, NaOH, H₂SO₄ 98%, HCl, axit acetic glacial, axit nitric, anthrone, avicel PH-101 (Sigma, Merck).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp phân tích

Phương pháp phân tích hàm lượng cellulose theo phương pháp Updegraff (Updegraff, 1969): Cellulose tác dụng với hỗn hợp axit acetic/nitric sẽ tạo thành cellodextrins acetylate hòa tan và tiếp tục bị thủy phân thành glucose dưới tác dụng của H_2SO_4 67%. Glucose sẽ bị khử thành hydroxymethyl furfural, tạo ra phức màu xanh khi phản ứng với anthrone. Sử dụng máy đo quang phổ UV-Vis ở bước sóng 630nm để tính được hàm lượng cellulose trong mẫu dựa vào đường chuẩn của nồng độ cellulose (Avicel PH-101).

2.2.2. Phương pháp công nghệ

Nghiên cứu khảo sát ảnh hưởng của enzyme tiền xử lý nguyên liệu trong quá trình tách chiết cellulose: Nguyên liệu được bổ sung nước với tỷ lệ nguyên liệu/dung dịch là 1/20. Bổ sung enzyme laccase, xylanase và pectinase riêng biệt hoặc có sự kết hợp của các enzyme với tỷ lệ cố định (so với cơ chất). Phản ứng enzyme được thực hiện ở 50°C trong thời gian 2 giờ. Kết thúc xử lý enzyme, bổ sung NaOH sao cho nồng độ dung dịch NaOH 2%. Tiến hành xử lý mẫu ở 80°C trong 2 giờ. Kết thúc quá trình tách chiết, mẫu được lọc rửa và sấy khô chế phẩm cellulose. Kết quả thí nghiệm được đánh giá bằng hàm lượng cellulose trong chế phẩm. Thí nghiệm được thực hiện 3 lần và lấy kết quả trung bình.

Nghiên cứu xác định các điều kiện tiền xử lý nguyên liệu thích hợp bằng enzyme trong quá trình tách chiết cellulose: Các điều kiện được thử nghiệm là nồng độ enzyme, nhiệt độ và thời gian tiền xử lý nguyên liệu. Nguyên liệu được bổ sung nước với tỷ lệ nguyên liệu/dung dịch là 1/20. Mỗi điều kiện thí nghiệm được khảo sát thì các điều kiện khác được cố định. Kết thúc xử lý enzyme, bổ sung NaOH sao cho nồng độ dung dịch 2%. Tiến hành tách chiết cellulose ở 80°C trong 2 giờ. Kết thúc thời gian tách chiết, mẫu được lọc rửa và sấy khô chế phẩm. Kết quả thí nghiệm được đánh giá bằng hàm lượng cellulose trong chế phẩm. Thí nghiệm được thực hiện 3 lần và lấy kết quả trung bình.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Nghiên cứu ảnh hưởng của enzyme thích hợp tiền xử lý nguyên liệu

Enzyme laccase, xylanase và pectinase được ứng dụng để phân huỷ lignin và hemicellulose nhằm phá vỡ cấu trúc thành tế bào thực vật, tăng khả năng tiếp cận hóa chất với lignocellulose trong quá trình tách chiết. Do vậy, thí nghiệm này nhằm xác định được enzyme thích hợp nhằm tăng hiệu quả tách chiết cellulose bằng NaOH. Trong thí nghiệm này, bột thân chuối khô được bổ sung nước sạch với tỷ lệ nguyên liệu/dung dịch = 1/20. Tiến hành tiền xử lý bằng các enzyme khác nhau với nồng độ 0,1% tại 50°C trong 2h. Kết thúc xử lý enzyme, bổ sung NaOH sao cho nồng độ dung dịch NaOH 2%. Tách chiết cellulose ở 80°C trong 2 giờ. Kết thúc, mẫu cellulose được lọc rửa thu và sấy khô chế phẩm. Kết quả thí nghiệm được thể hiện qua Bảng 1.

Bảng 1. Ảnh hưởng của enzyme tiền xử lý nguyên liệu trong quá trình tách chiết cellulose

STT	Loại enzyme	Hàm lượng cellulose (%, tính theo chất khô)
1	Đối chứng	63,62 ± 1,21
2	Laccase	80,12 ± 1,13
3	Xylanase	76,48 ± 1,25
4	Pectinase	70,17 ± 1,24

Kết quả thí nghiệm cho thấy, enzyme laccase có tác dụng hỗ trợ tách chiết cellulose tốt nhất, tiếp theo là xylanase và pectinase. Laccase có khả năng oxy hóa khử phá vỡ liên kết của lignin bao bọc thành tế bào thực vật, giúp hóa chất NaOH được tiếp xúc tốt hơn làm hoà tan dễ dàng các thành phần này làm

tăng độ tinh khiết cellulose của chế phẩm. Trong khi đó xylanase và pectinase khó tiếp xúc hơn do sự ngăn cản của thành ligin nên hiệu quả thủy phân kém hơn gây khó khăn NaOH tiếp xúc để tách chiết cellulose. Tuy nhiên, sự tác dụng hiệp đồng của các enzyme cũng là yếu tố cần nghiên cứu tiếp.

3.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của sự kết hợp các enzyme tiền xử lý nguyên liệu trong quá trình tách chiết cellulose

Thành tế bào thực vật được cấu thành từ đa dạng các thành phần, do đó sự hiệp đồng các enzyme có chức năng khác nhau giúp thủy phân nhanh các thành phần tạo điều kiện cho phản ứng tiếp theo. Trong thí nghiệm này, nguyên liệu bột thân chuối được bổ sung nước với tỷ lệ nguyên liệu/nước = 1/20 và tiền xử lý bằng kết hợp các loại enzyme laccase, xylanase và pectinase với nồng độ enzyme mỗi loại 0,1% (so với cơ chất). Điều kiện xử lý ở 50°C trong 2h. Kết thúc xử lý enzyme, bổ sung NaOH sao cho nồng độ dung dịch NaOH 2%. Tách chiết cellulose ở 80°C trong 2 giờ. Mẫu tách chiết cellulose được lọc rửa thu và sấy khô chế phẩm. Kết quả thí nghiệm được thể hiện qua Bảng 2.

Bảng 2. Ảnh hưởng của sự kết hợp các enzyme tiền xử lý nguyên liệu trong quá trình tách chiết cellulose

STT	Kết hợp enzyme	Hàm lượng cellulose (% , tính theo chất khô)
1	Laccase + Xylanase	85,82 ± 1,14
2	Laccase + Pectinase	80,18 ± 1,07
3	Xylanase + Pectinase	77,36 ± 1,15

Kết quả thí nghiệm trên cho thấy, sự kết hợp 2 enzyme laccase và xylanase cho kết quả hỗ trợ tách chiết cellulose tốt nhất. Enzyme laccase có tác dụng phá vỡ liên kết lignin thành tế bào do đó enzyme xylanase có tác dụng thủy phân thành phần xylan trong hemicellulose tốt hơn. Do đó, dưới tác dụng của kiềm làm hòa tan tốt hơn các thành phần này làm độ tinh khiết của chế phẩm cellulose cao hơn.

3.3. Nghiên cứu ảnh hưởng nồng độ enzyme thích hợp tiền xử lý nguyên liệu

Enzyme laccase và xylanase được ứng dụng để phân hủy lignin và hemicellulose nhằm phá vỡ cấu trúc thành tế bào thực vật, tăng khả năng tiếp cận của NaOH trong quá trình tách chiết cellulose. Thí nghiệm này nhằm xác định nồng độ enzyme tiền xử lý nguyên liệu thích hợp trong quá trình tách chiết cellulose. Nguyên liệu bột thân chuối được bổ sung nước sạch với tỷ lệ nguyên liệu/dung dịch = 1/20. Tiến hành xử lý enzyme với các tỷ lệ khác nhau ở 50°C trong 2h. Kết thúc xử lý enzyme, bổ sung NaOH sao cho nồng độ dung dịch NaOH 2%. Tách chiết cellulose ở 80°C trong 2 giờ. Kết thúc tách chiết, mẫu được lọc rửa thu và sấy khô chế phẩm. Kết quả thí nghiệm được thể hiện qua Bảng 3.

Bảng 3. Ảnh hưởng của nồng độ enzyme tiền xử lý nguyên liệu trong quá trình tách chiết cellulose

Nồng độ xylanase (%)	Nồng độ laccase (%)				
	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5
0,1	85,27 ± 1,02	87,15 ± 0,83	88,57 ± 0,62	89,12 ± 0,36	89,53 ± 0,47
0,2	87,46 ± 0,82	89,25 ± 0,57	91,36 ± 1,02	92,36 ± 0,58	92,85 ± 0,63
0,3	88,65 ± 1,15	92,37 ± 1,38	95,76 ± 0,56	95,78 ± 0,56	95,73 ± 0,59
0,4	87,12 ± 0,73	93,28 ± 0,48	95,82 ± 0,48	95,83 ± 0,42	95,78 ± 0,82
0,5	87,34 ± 1,16	93,47 ± 0,82	95,85 ± 0,35	95,87 ± 0,53	95,81 ± 0,57

Kết quả thí nghiệm cho thấy, với nồng độ enzyme laccase 0,3% và xylanase 0,3% tiền xử lý nguyên liệu giúp hóa chất NaOH loại bỏ các thành phần lignin, hemicellulose cho kết quả tách chiết cellulose với hàm lượng đạt cao và tương đương với các nồng độ enzyme lớn hơn.

3.4. Nghiên cứu xác định nhiệt độ thích hợp của enzyme tiền xử lý nguyên liệu

Mỗi loại enzyme có khoảng nhiệt độ hoạt động thích hợp. Thí nghiệm này nhằm xác định được nhiệt độ thích hợp cho hoạt động của enzyme laccase và xylanase tiền xử lý nguyên liệu nhằm tăng hiệu quả tách chiết cellulose. Nguyên liệu bột thân chuối được bổ sung nước sạch với tỷ lệ nguyên liệu/dung dịch = 1/20. Bổ sung enzyme laccase và xylanase 0,3% mỗi loại (tính trên cơ chất). Tiến hành xử lý ở các nhiệt độ khác nhau trong 2h. Kết thúc xử lý enzyme, mẫu được tách chiết cellulose trong dung dịch NaOH 2%, 80°C trong 2 h. Lọc rửa thu và sấy khô chế phẩm. Kết quả thí nghiệm được thể hiện qua Bảng 4.

Bảng 4. Xác định nhiệt độ thích hợp của enzyme tiền xử lý nguyên liệu trong quá trình tách chiết cellulose

STT	Nhiệt độ (°C)	Hàm lượng cellulose (% , tính theo chất khô)
1	30 (nhiệt độ phòng)	80,13 ± 1,21
2	40	89,25 ± 1,05
3	50	95,76 ± 0,51
4	60	91,25 ± 1,42

Kết quả thí nghiệm cho thấy, nhiệt độ hoạt động của 2 enzyme tiền xử lý nguyên liệu tại 50°C cho kết quả tách chiết cellulose đạt cao nhất. Ở nhiệt độ 60°C hoạt động của enzyme có chút giảm hiệu quả xử lý. Để tiến hành thí nghiệm tiếp theo, nhiệt độ tiền xử lý bằng enzyme là 50°C được lựa chọn.

3.5. Nghiên cứu xác định thời gian xử lý thích hợp trong quá trình tiền xử lý nguyên liệu bằng enzyme

Thời gian tiền xử lý quá ngắn sẽ làm hiệu quả enzyme thấp, cấu trúc thành tế bào thực vật chưa được lỏng lẻo, dẫn đến khả năng tách chiết sẽ hạn chế. Ngược lại, thời gian quá dài gây tăng chi phí năng lượng. Do đó, việc xác định được thời gian xử lý thích hợp mang lại các lợi ích như tối đa hóa hiệu quả phân giải lignocellulose, tạo điều kiện thuận lợi cho tách chiết cellulose tinh khiết và giảm chi phí enzyme và năng lượng.

Trong thí nghiệm này, nguyên liệu bột thân chuối được bổ sung nước sạch với tỷ lệ nguyên liệu/dung dịch = 1/20. Bổ sung enzyme laccase và xylanase 0,3% mỗi loại (tính theo cơ chất). Tiến hành xử lý ở các thời gian khác nhau tại 50°C. Kết thúc xử lý enzyme, mẫu được tách chiết cellulose trong dung dịch NaOH 2%, 80°C trong 2h. Lọc rửa thu và sấy khô chế phẩm. Kết quả thí nghiệm được thể hiện qua Bảng 5.

Bảng 5. Xác định thời gian thích hợp của quá trình tiền xử lý nguyên liệu bằng enzyme

STT	Thời gian xử lý (h)	Hàm lượng cellulose (% , tính theo chất khô)
1	1	81,32 ± 1,51
2	1,5	90,26 ± 1,18
3	2	93,62 ± 0,65
4	2,5	95,78 ± 0,45
5	3	95,83 ± 0,52

Kết quả thí nghiệm trên cho thấy, với thời gian tiền xử lý mẫu nguyên liệu bằng enzyme ở 2,5h đã cho kết quả tách chiết cellulose đạt cao tương đương với điều kiện 3h. Do vậy, lựa chọn thời gian tiền xử lý mẫu nguyên liệu bằng enzyme ở 2,5h để tiến hành thí nghiệm tiếp theo.

4. Kết luận

Nghiên cứu đã xác định được sự kết hợp hai enzyme laccase và xylanase tiền xử lý nguyên liệu bột thân chuối có tác dụng giúp quá trình tách chiết cellulose bằng NaOH được hiệu quả hơn. Kết quả nghiên cứu cũng xác định được các điều kiện thích hợp tiền xử lý nguyên liệu bằng enzyme laccase và xylanase với nồng độ mỗi loại 0,3% (so với cơ chất), nhiệt độ xử lý tại 50°C, thời gian xử lý 2,5h. Hàm lượng cellulose trong chế phẩm đạt trên 95%■

Lời cảm ơn: Nghiên cứu này được sự hỗ trợ kinh phí từ Đề tài cấp Thành phố Hà Nội: “Nghiên cứu quy trình công nghệ tách chiết cellulose và sản xuất phụ gia thực phẩm carboxymethyl cellulose (CMC) từ phụ phẩm cây chuối sau thu hoạch trên địa bàn Hà Nội, mã số: CT03/04-2024-3. Đơn vị chủ trì: Viện Công nghiệp thực phẩm, Bộ Công Thương.

TÀI LIỆU THAM KHẢO:

- Ardila A., Arriola-Villaseñor A. N., González E., Guerrero E. E. V., Hernández-Maldonado H. E. G., Gutiérrez-Pineda J. A.E. and Villa C. C. (2024). Enhanced Cellulose Extraction from Banana Pseudostem Waste: A Comparative Analysis Using Chemical Methods Assisted by Conventional and Focused Ultrasound. *Polymers*, 16(19): 2785.
- Badanayaka P., Jose S., & Bose G. (2023). Banana pseudostem fiber: A critical review on fiber extraction, characterization, and surface modification. *Journal of Natural Fibers*, 20(1): 2168821.
- Iliyin I., Purwaningsih H. and Irawadi T. (2020). Isolation and Characterization of Cellulose from Banana Stems using Microwave Heating. *Jurnal Kimia Valensi*. 6:169-176
- Li W., Zhang Y., Li J., Zhou Y., Li R. and Zhou W. (2015). Characterization of cellulose from banana pseudo-stem by heterogeneous liquefaction. *Carbohydrate polymers*. 132: 513-519.
- Lou C., Zhou Y., Yan A., Liu Y. (2022). Extraction cellulose from corn-stalk taking advantage of pretreatment technology with immobilized enzyme. *RSC Adv.*, 12(2):1208-1215.
- Nascimento R.E.A., Carvalheira M., Crespo J.G., & Neves L.A. (2023). Extraction and characterization of cellulose obtained from banana plant pseudostem. *Clean Technologies*, 5(3):1028-1043.
- Sachcha I.H., Paddar K., Minar M.M., Rahman L., Hasan S.M.K., Akhtaruzzaman M., Billah M.T., Yasmin S. (2024). Development of eco-friendly biofilms using microcrystalline cellulose from banana pseudostem. *Heliyon* 10 (2024): e29070
- Updegraff D.M. (1969). Semimicro Determination of Cellulose in Biological Materials. *Analytical Biochemistry*, 32:420-424