

Sự phân bố polyphenol tổng và trích ly hợp chất polyphenol từ vỏ trắng bưởi năm roi với sự hỗ trợ của enzyme

Total Polyphenol Distribution and Extraction of Polyphenols from White Peel of Pomelo Assisted by Enzyme

Hoàng Quang Bình, Trịnh Ngọc Thảo Ngân, Hồ Thị Thảo My, Lê Trung Thiên*
Khoa Công nghệ Thực phẩm, Trường Đại học Nông Lâm Tp. Hồ Chí Minh, Tp. Hồ Chí Minh, Việt Nam
*Email: le.trungthien@hcmuaf.edu.vn

Tóm tắt

Trái bưởi chứa nhiều polyphenol, nhóm hợp chất kháng oxy hóa có nhiều lợi ích cho sức khỏe. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm mục đích khảo sát sự phân bố của polyphenol tổng trong trái bưởi và điều kiện trích ly hợp chất polyphenol, naringin, khả năng chống oxy hóa (DPPH) từ phần vỏ trắng của trái bưởi. Kết quả nghiên cứu cho thấy phần thịt trái có tỷ lệ phần trăm về khối lượng lớn nhất 48,6%; tiếp theo là phần vỏ trắng chiếm 25,20%, vỏ xanh chiếm 18,70% và màng thịt quả chiếm 7,5%. Tuy nhiên sự phân bố về khối lượng và sự phân bố về polyphenol tổng có khác biệt; cụ thể, phần vỏ trắng chiếm tỷ lệ phần trăm polyphenol tổng là 40,32%, phần vỏ xanh chiếm 25,21%, thịt trái chiếm 22,39% và màng thịt quả chiếm 12,15%. Phần vỏ trắng (nguồn phụ phẩm của quá trình chế biến bưởi) đã được chọn làm nguyên liệu trích ly polyphenol. Kết quả nghiên cứu cũng cho thấy tỷ lệ enzyme Pectinex Ultra SP-L bổ sung, nhiệt độ thủy phân và thời gian thủy phân ảnh hưởng có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) đến hàm lượng polyphenol tổng, hàm lượng naringin và khả năng kháng oxy hóa. Các điều kiện trích ly là sử dụng ethanol 50% với sự hỗ trợ của enzyme; trong đó tỷ lệ enzyme bổ sung 1%; thủy phân ở 50 °C. trong 1 giờ cho dịch trích ly có hàm lượng polyphenol tổng, khả năng chống oxy hóa DPPH và hàm lượng naringin cao nhất lần lượt là 19,48 mg GAE/g chất khô, 1,79 mg AAE/g chất khô và 5,85 mg NE/g chất khô.

Từ khóa: Vỏ bưởi, trích ly polyphenol, naringin, khả năng chống oxy hóa, enzyme.

Abstract

Pomelo has many polyphenol contents, the antioxidant compound group has many health benefits. This study was conducted to investigate the distribution of total polyphenols in pomelo and the extraction condition of polyphenol, naringin, antioxidant capacity (DPPH) from the white peel of pomelo (*Citrus Grandis Osbeck*). The results of the study showed that the fruit flesh had the highest percentage of weight at 48.6%; followed by the white peel accounting for 25.20%, the green peel accounted for 18.70% and the flesh membrane accounted for 7.5%. However, the distribution of mass and the distribution of total polyphenols is different. Specifically, the white peel accounted for a percentage of total polyphenols of 40.32%, the green peel accounted for 25.21%, the flesh accounted for 22.39% and the flesh membrane accounted for 12.15%. The white peel (a by-product of pomelo processing) was selected as a polyphenol extraction material. The results also showed that the percentage of Pectinex Ultra SP-L supplementation, hydrolysis temperature and hydrolysis time had a statistically significant effect ($p < 0.05$) on the total polyphenol content, naringin content, and antioxidation capacity. The extraction conditions are by using 50% ethanol, 1% added Pectinex Ultra SP-L at 50 °C, and extraction time for 1 hour resulted in an extract with total phenolic content, antioxidant capacity (DPPH), and naringin content of 19.48 mg GAE/g dry matter, 1.79 mg AAE/g dry matter and 5.85 mg NE/g dry matter, respectively.

Keywords: pomelo peel, extraction of polyphenols, naringin, antioxidant capacity, enzyme-assisted extraction

1. Đặt vấn đề

Tại Việt Nam sản lượng trồng cây họ có múi khoảng 107.000 ha và 8.000 ha đối với cây bưởi [1]. Vỏ của họ trái cây có múi chiếm khoảng 50 % khối lượng trái [2]. Bên cạnh đó, các phần phụ phẩm của trái cây có chứa rất nhiều hợp chất polyphenol. Một số nghiên cứu chỉ ra rằng hợp chất polyphenol là

nhân tố bảo vệ giúp chống lại nguy cơ mắc bệnh tim mạch, tăng huyết áp, béo phì, xơ vữa động mạch, tiểu đường, lão hóa và ung thư [3-5]. Tuy nhiên, các hợp chất polyphenol phân bố trong các mô bào thực vật ở dạng kết hợp tạo ra các phức chất nên sẽ khó tiêu thụ hoặc tốn nhiều thời gian để phân giải trong cơ thể, đặc biệt phụ phẩm của trái bưởi thường có vị khá đắng khó ăn. Vì vậy để ứng dụng chúng vào lĩnh vực thực phẩm, trước tiên cần trích ly các hợp chất này ra khỏi nguyên liệu thực vật. Trong một số nghiên cứu trên nho và lựu đã cho thấy trích ly polyphenol có sự hỗ trợ của enzyme cho hiệu quả trích ly cao cũng như duy trì được tính chất vốn có của các hợp chất này

[6-8]. Hiện nay, tại Việt Nam vẫn chưa có nhiều công trình công bố về trích ly các hợp chất sinh học từ vỏ bưởi. Trong nghiên cứu này sự phân bố của polyphenol tổng trong quả trái bưởi cũng như điều kiện trích ly hợp chất này bằng dung môi có hỗ trợ enzyme đã được đánh giá.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu

Bưởi Năm Roi (*Citrus Grandis Osbeck*) được mua tại siêu thị Coop Xtra Linh Trung, quận Thủ Đức, TP.HCM. Nguyên liệu được lựa chọn không bị dập nát hay thối hỏng. Chế phẩm enzyme Pectinex Ultra SP-L (Novozyme, Đan Mạch) được mua tại công ty Brenntag Việt Nam, 202 đường Hoàng Văn Thu, quận Phú Nhuận, Tp. Hồ Chí Minh. Enzyme được sản xuất từ nấm mốc *Aspergillus aculeatus*, có hoạt tính lớn hơn hoặc bằng 3800 unit/ml. Enzyme hoạt động tốt tại pH tối ưu 3,5 - 4,5; nhiệt độ 45-50 (Thông tin cung cấp từ công ty).

2.2. Hóa chất

Ethanol, Sodium carbonate (Na_2CO_3), diethylene glycol, sodium hydroxide (NaOH) của hãng Xilong (Trung Quốc). Naringin, DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), ascorbic acid, folic acid, gallic acid của hãng Merck (Đức).

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Khảo sát sự phân bố polyphenol trong các thành phần của trái bưởi

Trái bưởi được tách riêng thành từng phần vỏ xanh, vỏ trắng, thịt trái và màng bao thịt trái. Sau đó từng nguyên liệu được tiến hành phân tích khối lượng và hàm lượng polyphenol tổng số.

Phần trăm khối lượng (%): Khối lượng mẫu (thịt, vỏ, màng) chia cho tổng khối lượng nguyên trái.
Phần trăm polyphenol tổng số (%): Khối lượng polyphenol tổng của mẫu (thịt, vỏ, màng) chia cho tổng khối lượng polyphenol tổng nguyên trái.

2.3.2. Nghiên cứu điều kiện trích ly polyphenol có hỗ trợ enzyme

Chuẩn bị bột vỏ bưởi: Vỏ bưởi trắng được sấy tại 60°C, đến khi đạt độ ẩm khoảng 10%. Sau đó vỏ bưởi được xay nhỏ và rây qua sàng có kích thước 1 mm. Bột vỏ bưởi được bảo quản trong bao nhôm ở nhiệt độ -18 °C.

Thủy phân mẫu: Bổ sung 40 ml nước cất vào 2 g bột vỏ bưởi. Sau đó, mẫu được điều chỉnh pH bằng dung dịch NaOH 2 M và HCl 2 M đến pH 4. Tiếp theo mẫu được bổ sung enzyme và thủy phân với điều kiện nhiệt độ 50 °C. trong thời gian 1,0 giờ, tốc độ khuấy đảo 150 vòng/phút. Enzyme được bắt hoạt ở nhiệt độ 85 °C/15 phút. Mẫu sau đó được ly tâm tại 5000 vòng/10 phút thu được dịch trích A.

Trích ly mẫu với ethanol: Phần cặn còn lại sau ly tâm được bổ sung thêm 40 ml ethanol 50%. Mẫu được trích ly ở điều kiện 60 °C/60 phút. Mẫu sau đó được ly tâm tại 5000 vòng/10 phút thu được dịch trích B. Phối trộn dịch trích A và B; tiếp theo hỗn hợp được lọc qua giấy lọc và tiến hành định mức. Mẫu được phân tích trong ngày.

2.3.2.1. Khảo sát ảnh hưởng của phương pháp trích ly

Thí nghiệm một yếu tố là ương pháp trích ly gồm (1) trích ly với ethanol 50%, (2) trích ly với ethanol có kết hợp enzyme, (3) trích ly i nước 50% có kết hợp enzyme. Phương pháp (1) chỉ thực hiện bước trích ly với ethanol như trong mục 2.3.2; phương pháp (2) thực hiện thủy phân và trích ly như trong mục 2.3.2; phương (3) thực hiện thủy phân và trích ly như trong mục 2.3.2; thay thế ethanol bằng nước cất..

2.3.2.2 Khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ enzyme bổ sung đến hàm lượng polyphenol, khả năng chống oxy hóa, hàm lượng naringin và của dịch trích

Thí nghiệm một yếu tố là tỷ lệ enzyme bổ sung gồm 3 mức 0,5%; 1,0% và 1,5%. Quy trình chuẩn bị mẫu được thực hiện tương tự mục 2.3.2. Dịch mẫu được phân tích hàm lượng polyphenol tổng, hàm lượng naringin và khả năng chống oxy hóa DPPH.

2.3.2.3. Khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ thủy phân đến hàm lượng polyphenol, khả năng chống oxy hóa, hàm lượng naringin và của dịch trích

Thí nghiệm một yếu tố là nhiệt độ thủy phân gồm 3 mức: 45 °C , 50 °C và 55 °C. Quy trình chuẩn bị mẫu được thực hiện tương tự mục 2.3.2. Tỷ lệ enzyme bổ sung là kết quả thí nghiệm mục 2.3.2.2. Dịch mẫu được phân tích hàm lượng polyphenol tổng, hàm lượng naringin và khả năng chống oxy hóa DPPH.

2.3.2.4. Khảo sát ảnh hưởng của thời gian thủy phân đến hàm lượng polyphenol, khả năng chống oxy hóa, hàm lượng naringin và của dịch trích

Thí nghiệm một yếu tố là thời thủy phân gồm 3 mức: 0,5; 1; 1,5 và 2 giờ. Quy trình chuẩn bị mẫu được thực hiện tương tự mục 2.3.2. Tỷ lệ enzyme bổ sung là kết quả thí nghiệm mục 2.3.2.2, nhiệt độ thủy phân là kết quả thí nghiệm mục 2.3.2.3. Dịch mẫu được phân tích hàm lượng polyphenol tổng, hàm lượng naringin và khả năng chống oxy hóa DPPH.

2.4. Các phương pháp phân tích

Hàm lượng polyphenol tổng (TPC): 1ml mẫu được phản ứng với 5 ml Folin - Ciocalteu 10%. Sau 5 phút dùng, bổ sung 4 ml Na_2CO_3 7,5% vào trong hỗn hợp và trộn đều. Mẫu được để yên trong tối ở nhiệt độ phòng trong 60 phút; sau đó mẫu được đo mật độ quang ở bước sóng 765 nm. Hàm lượng polyphenol tổng số được tính dựa trên phương trình đường chuẩn axit gallic [9]. Công thức tính:

$$TPC = \frac{P \cdot V \cdot df}{W \cdot (1 - M) \cdot 1000} \text{ (mg GAE/g chất khô)}$$

trong đó: P : hàm lượng polyphenol tính từ phương trình đường chuẩn ($\mu\text{g GAE/ml}$), v : thể tích dịch chiết (ml), df : hệ số pha loãng, W : khối lượng mẫu phân tích (g), M : độ ẩm của mẫu (%)

Khả năng chống oxy hóa DPPH: Hòa tan 24 mg DPPH trong 100 ml ethanol. Tiếp theo pha loãng dung dịch này với ethanol đến khi có độ hấp thụ là 1,1 ở bước sóng 517 nm. Lấy 200 μl mẫu phản ứng với 3800 μl dung dịch DPPH rồi để trong bóng tối 30 phút. Mẫu được đo độ hấp thụ quang ở bước sóng 517 nm. Khả năng chống oxy hóa được tính dựa trên phương trình đường chuẩn axit ascorbic [10]. Phương pháp phân tích được thực hiện trong thí nghiệm này đã có hiệu chỉnh điều kiện thực hiện (dung môi, bước sóng phân tích, chất chuẩn) so với tài liệu [10] để phù hợp với điều kiện thí nghiệm. Công thức:

$$\text{Hoạt tính kháng oxy hóa} = \frac{P \cdot V \cdot df}{W \cdot (1 - M) \cdot 1000} \text{ (mg}$$

AAE/g chất khô)

trong đó: P : khả năng bắt gốc tự do DPPH tính từ phương trình đường chuẩn ($\mu\text{g/ml}$), v : thể tích dịch chiết (ml), df : hệ số pha loãng, W : khối lượng mẫu phân tích (g), M : độ ẩm của mẫu (%)

Hàm lượng naringin: Lấy 0,2 ml mẫu cho vào bình định mức tiếp tục cho 0,2 ml NaOH 4 N; tiếp theo dùng ethylen glycol định mức thành 10 ml, dùng máy vortex trộn đều. Để yên mẫu trong tối ở nhiệt độ phòng 15 phút; sau đó mẫu được đo mật độ quang ở 420 nm. Hàm lượng naringin được tính dựa trên phương trình đường chuẩn naringin [11]. Công thức

$$\text{Hàm lượng naringin} = \frac{P \cdot V \cdot df}{W \cdot (1 - M) \cdot 1000} \text{ (mg NE/g}$$

chất khô)

trong đó: P : hàm lượng naringin tính từ phương trình đường chuẩn ($\mu\text{g/ml}$), v : thể tích dịch chiết (ml), df : hệ số pha loãng, W : khối lượng mẫu phân tích (g), M : độ ẩm của mẫu (%)

2.5. Xử lý số liệu

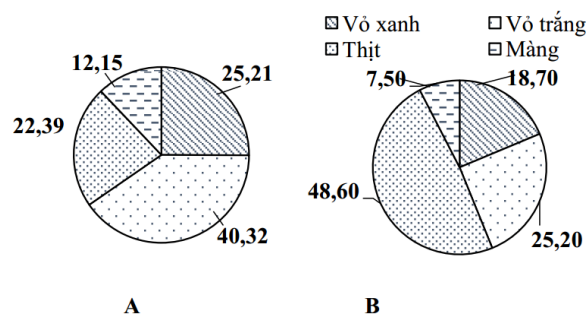
Thiết kế và xử lý số liệu thí nghiệm bằng phần mềm JMP 10.0 và Microsoft Excel 2010. Các giá trị $p < 0,05$ được coi là có ý nghĩa thống kê.

3. Kết quả nghiên cứu

3.1. Sự phân bố polyphenol trong các thành phần của trái bưởi

Kết quả nghiên cứu được thể hiện trong Hình 1. Hình 1 cho thấy phần thịt trái ăn được chiếm tỷ lệ nhiều nhất 48,60% về khối lượng, tiếp đến là vỏ trắng 25,20%, vỏ xanh 18,70% và màng tép bưởi 7,5%.

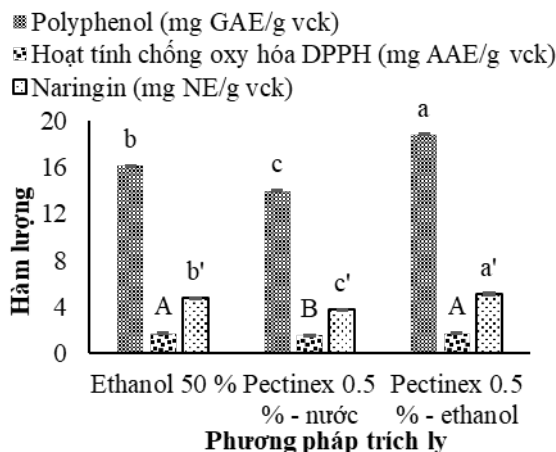
Tuy nhiên, sự phân bố về polyphenol lại không tương đồng với sự phân bố khối lượng; phần vỏ trắng chiếm tỷ lệ nhiều nhất 40,32%, tiếp theo là phần vỏ trắng 25,21%, thịt trái 22,39% và màng 12,15%. Một số nghiên cứu cũng cho thấy phần phụ phẩm trái cây như vỏ có hàm lượng polyphenol tổng số cao hơn phần ăn được [12-14]. Vì vậy vỏ trắng được chọn là nguồn nguyên liệu để trích ly cho các thí nghiệm tiếp theo của đề tài.



Hình 1. Tỷ lệ phân trăm về hàm lượng polyphenol tổng số của các thành phần trái bưởi (A), tỷ lệ phân trăm về khối lượng của các thành phần trái bưởi (B)

3.2. Khảo sát phương pháp trích ly

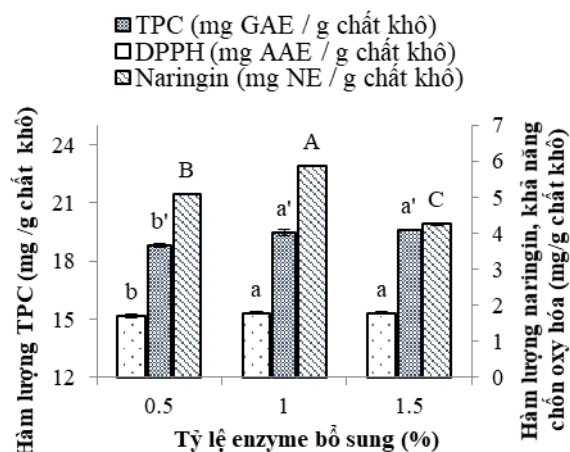
Kết quả nghiên cứu cho thấy phương pháp trích ly dùng ethanol 50% có sự hỗ trợ của enzyme cho hàm lượng polyphenol tổng, hàm lượng naringin cũng như khả năng kháng oxy hóa của dịch trích cao hơn so với dùng phương pháp trích ly chỉ sử dụng dung môi ethanol hoặc enzyme (Hình 2).



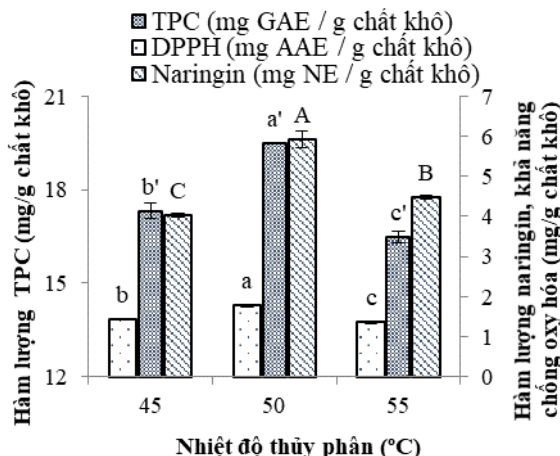
Hình 2. Ảnh hưởng của phương pháp trích ly đến hàm lượng polyphenol tổng, khả năng chống oxy hóa, hàm lượng naringin trong dịch trích

3.3. Khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ enzyme bổ sung đến hàm lượng polyphenol, khả năng chống oxy hóa, hàm lượng naringin và của dịch trích

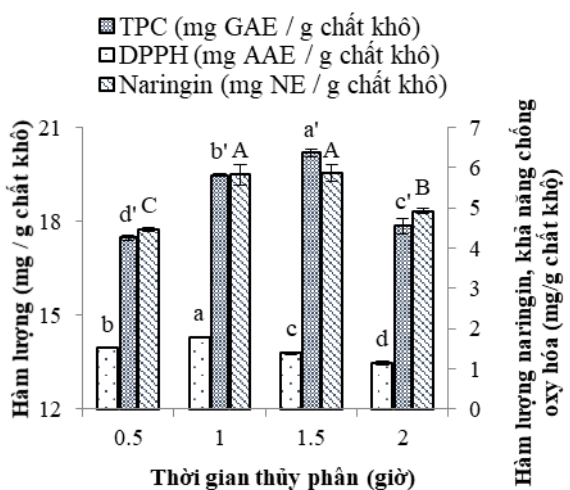
Tỷ lệ enzyme bổ sung ảnh hưởng đến hiệu quả trích ly hàm lượng polyphenol tổng số, khả năng chống oxy hóa và hàm lượng naringin của dịch trích (Hình 3)



Hình 3. Ảnh hưởng của tỷ lệ enzyme bổ sung đến hàm lượng polyphenol tổng, khả năng chống oxy hóa, hàm lượng naringin trong dịch trích



Hình 4. Ảnh hưởng của nhiệt độ thủy phân đến hàm lượng polyphenol tổng, khả năng chống oxy hóa, hàm lượng naringin trong dịch trích



Hình 5. Ảnh hưởng của thời gian thủy phân đến hàm lượng polyphenol tổng, khả năng chống oxy hóa, hàm lượng naringin trong dịch trích

Tỷ lệ enzyme bổ sung 1% cho dịch trích ly có hàm lượng các chỉ số theo dõi cao hơn có khác biệt về thống kê ($p < 0,05$) so với các tỷ lệ còn lại; cụ thể TPC đạt 19,41 mg/g chất khô; DPPH đạt 1,78 mg/g chất khô và naringin đạt 5,87 mg/g chất khô; các giá trị này cao. Hàm lượng enzyme càng lớn lượng cơ chất (pectin, cellulose...) bị biến đổi càng nhiều, thành tế bào bị phá hủy làm các chất tan (polyphenol, naringin) dễ tiếp xúc với dung môi, giúp quá trình trích ly dễ dàng hơn [15]. Trong quá trình thủy phân, bổ sung 1,5% enzyme đã giúp thúc đẩy nhanh trích ly naringin từ trong mẫu ra ngoài dung môi, naringin chuyển từ dạng “liên kết” sang dạng “tự do”, lúc này dưới tác động của nhiệt độ và oxy môi trường, một số phản ứng không mong muốn đã diễn ra làm suy giảm naringin có trong dịch trích; trong khi đó, trong cùng thời gian thủy phân này, ở các tỷ lệ enzyme còn lại, lượng naringin “tự do” trong dịch trích ít hơn, nên ít bị tác động suy giảm hơn. Tỷ lệ enzyme bổ sung 1% là thông số cố định cho thí nghiệm tiếp theo.

3.4. Khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ thủy phân đến hàm lượng polyphenol, khả năng chống oxy hóa, hàm lượng naringin và của dịch trích

Nhiệt độ thủy phân ảnh hưởng đến hàm lượng polyphenol tổng số, khả năng chống oxy hóa và hàm lượng naringin của dịch trích. Hình 4 cho thấy nhiệt độ thủy phân tăng từ 45 °C đến 50 °C đã làm tăng hàm lượng polyphenol tổng số có trong dịch trích; tuy nhiên khi nhiệt độ tăng đến 55 °C đã làm giảm hàm lượng hợp chất này; giá trị tương ứng với các mức nhiệt độ này lần lượt là 17,32; 19,48 và 16,48 mg/g chất khô. Có thể khi nhiệt độ thủy phân vượt quá 50 °C, enzyme đã vượt qua vùng hoạt động tối ưu, dẫn đến hiệu quả phân cắt thành tế bào giảm, giảm hiệu suất trích ly.

Kết quả xử lý thống kê cho thấy giữa các giá trị này có sự khác biệt thống kê ($p < 0,05$). Mẫu 50 °C cũng cho dịch trích ly có hàm lượng naringin (5,92 mg/g chất khô), khả năng chống oxy hóa (1,78 mg/g chất khô) là cao nhất. Một số nghiên cứu khác cũng cho thấy xử lý dịch trái với enzyme Pectinex tại nhiệt độ 50°C cho dịch trích có hàm lượng TPC cao [16,17]. Trong khoảng nhiệt độ tối ưu của enzyme khi tăng nhiệt độ thủy phân thì tốc độ phản ứng tăng lên do phân tử enzyme có động năng lớn hơn, tăng cường khả năng tiếp xúc giữa enzyme và cơ chất. Nhiệt độ thủy phân 50 °C là thông số cố định cho thí nghiệm tiếp theo.

3.5. Khảo sát ảnh hưởng của thời gian thủy phân đến hàm lượng polyphenol, khả năng chống oxy hóa, hàm lượng naringin và của dịch trích

Thời gian thủy phân ảnh hưởng đến hàm lượng polyphenol tổng số, khả năng chống oxy hóa và hàm lượng naringin trong dịch trích. Hình 5 cho thấy khi tăng thời gian thủy phân từ 0,5 đến 1,5 giờ đã làm tăng hàm lượng polyphenol tổng trong dịch trích 17,47 - 20,18 mg/g chất khô; tuy nhiên nếu tiếp tục tăng thời gian trích ly lên 2 giờ lại dẫn đến giảm hàm

lượng polyphenol tổng. Nguyên nhân là do thời gian thủy phân dài giúp enzyme có đủ thời gian để phân cắt hiệu quả các liên kết trong cơ chất, giúp tăng hiệu quả trích ly. Ngược lại, khả năng chống oxy hóa và hàm lượng naringin của dịch trích đạt giá trị cao nhất khi thời gian thủy phân 1 giờ; các giá trị ghi nhận được lần lượt là 1,79 mg/g vck và 5,83 mg/g chất khô. Điều này là do trong dịch chiết có thể gồm nhiều chất khác nhau ngoài polyphenol; bên cạnh đó sự khác biệt về cấu trúc giữa các hợp chất polyphenol cũng có ảnh hưởng đáng kể đến khả năng kháng oxy hóa. Thời gian trích ly 1 giờ cho dịch trích đạt giá trị cao ở cả ba chỉ số theo dõi, do đó 1 giờ được chọn là kết quả của thí nghiệm này.

4. Kết luận

Sự phân bố hàm lượng polyphenol tổng trong vỏ xanh, vỏ trắng, thịt quả và màng thịt không có sự tương đồng với sự phân bố về khối lượng. Tỷ lệ phần trăm khối lượng, phần thịt trái chiếm 48%, vỏ trắng chiếm 25,20%, vỏ xanh chiếm 18,70% và màng thịt quả chiếm 7,5%. Tỷ lệ phần trăm polyphenol tổng vỏ trắng chiếm 40,32%, phần vỏ xanh chiếm 25,21%, thịt trái chiếm 22,39% và màng thịt quả chiếm 12,15%. Phần không ăn được trong trái bưởi có tỷ lệ phần trăm polyphenol tổng nhiều hơn so với phần ăn được.

Quá trình trích ly có sự hỗ trợ của enzyme Pectinex đạt hiệu quả cao khi thực hiện ở các điều kiện là tỷ lệ enzyme bổ sung là 1 (%), nhiệt độ thủy phân 50 °C, thời gian thủy phân 1 giờ cho dịch trích có hàm lượng TPC, naringin và khả năng chống oxy hóa lần lượt là 19,48 mg GAE/g chất khô, 1,79 mg AAE/g chất khô và 5,85 mg NE/g chất khô.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu này được tài trợ kinh phí từ Sở Khoa Học Công Nghệ TP.HCM (40/2018/HĐ-QKHCN) và VLIR-UOS - VN2018TEA478A103 (Bi)

Tài liệu tham khảo

- [1] Puglisi I., De P. A., Schena L., Jung T., Evoli M., Pane A., et al., Two previously unknown *Phytophthora* species associated with brown rot of Pomelo (*Citrus grandis*) fruits in Vietnam. PLoS One, vol. 12, no. 2, 2017.
- [2] Rezzadori K., Benedetti S. and Amante E. R., 2012. Proposals for the residues recovery: Orange waste as raw material for the new products, Food and bioproducts processing vol. 9, no. 4, pp. 606-614, 2012.
- [3] Nile S. H. And Park S. W., 2014. Edible berries: Bioactive components and their effect on human health, Nutrition, vol. 30, no. 2, pp. 134-144, 2014.
- [4] Ranilla L. G., Kwon Y. I., Apostolidis E. and Shetty K., Phenolic compounds, antioxidant activity and in vitro inhibitory potential against key enzymes relevant for hyperglycemia and hypertension of

commonly used medicinal plants, herbs and spices in Latin America, Bioresource Technology vol. 101, no. 12, pp. 4676-4689, 2010.

- [5] Rodriguez-Mateos A., Heiss C., Borges G. and Crozier A., Berry (Poly)phenols and Cardiovascular Health, Journal Agricultural and Food Chemistry vol. 62, no. 18, 2013.
- [6] Gómez-García R., Martínez-Ávila G. C. G. and Aguilar C. N., Enzyme-assisted extraction of antioxidative phenolics from grape (*Vitis vinifera* L.) residues, 3 Biotech vol. 2, no. 4, pp. 297-300, 2012.
- [7] Heemann A. C. W., Heemann R., Kalegari P., Spier M. R. and Santin E., Enzyme-assisted extraction of polyphenols from green yerba mate, Brazilian Journal of Food Technology 22 (2019).
- [8] Mushtaq M., Sultana B., Akram S., Adnan A., Owusu-Apenten R. and Nigam Singh P., Enzyme-assisted Extraction of Polyphenols from Pomegranate (*Punica granatum*) Peel, Journal of Microbiology and Biotechnology vol. 5, no. 2, pp. 2347-2286, 2016.
- [9] Determination of substances characteristic of green and black tea -- Part 1: Content of total polyphenols in tea -- Colorimetric method using Folin-Ciocalteu reagent, ISO 14502-1, 2015.
- [10] Thaipong K., Boonprakob U., Crosby K. Cisneros-Zevallos L., Byrne D. Ha., Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts, Journal of Food Composition and Analysis vol. 19, no. 6-7, pp. 669-675, 2006.
- [11] David, Determination of flavanones in citrus fruits, Analysis Chemistry vol. 19, no. 7, pp. 476-478, 1947.
- [12] Karsheva M., Kirova E., Alexandrova S. And Georgieva S., 2013. Comparison of citrus peels as a source of valuable components - polyphenols and antioxidants, Journal of Chemical Technology and Metallurgy vol.48, no. 5, pp. 475-478, 2013.
- [13] Soong Y. Y. and Barlow P. J., Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds, Food Chemistry vol. 88, no. 3, pp 411-417, 2004.
- [14] Toh J. J., Khoo H. E. And Azrina A., Comparison of antioxidant properties of pomelo (*Citrus grandis* (L) Osbeck) varieties, International Food Research Journal vol. 20, no. 4, pp. 1661-1668, 2013.
- [15] Fu L., Bo Tao X, Xuc X. R., Gana, R. Y. And Zhanga Y., Antioxidant capacities and total phenolic content of 62 fruits, Food Chemistry vol. 129, no. 2, pp. 345 - 50, 2011.
- [16] Mai Thành Trung, Nguyễn Vương Tường Vân, Nguyễn Công Hà và Lê Nguyễn Đoàn Duy, Nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng đến khả năng trích ly dịch quả sơ ri (*Magnolyophyta glabra*) bằng enzyme, Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ số 42, trang 11-18, 2016.
- [17] Nguyễn Nhật Minh Phương, Chế Văn Hoàng, Lý Nguyễn Bình và Châu Trần Diễm Ái, Tác động enzyme pectinase đến khả năng trích ly dịch quả và các điều kiện lên men đến chất lượng rượu vang xoài sau thời gian lên men chính, Tạp chí Khoa học trường Đại học Cần Thơ số 20, tập a, trang 127-136, 2011.