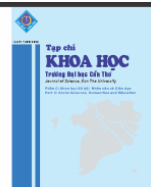




Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ

Số chuyên đề: Công nghệ thực phẩm

website: [sj.ctu.edu.vn](http://sj.ctu.edu.vn)



DOI:10.22144/ctu.jsi.2021.003

## ẢNH HƯỞNG CỦA ĐIỀU KIỆN TRÍCH LY VÀ CÔ QUAY CHÂN KHÔNG ĐẾN ĐẶC TÍNH CỦA CAO CHIẾT TỪ VỎ BƯỞI DA XANH (*Citrus maxima* (BURN.) MERR.)

Tô Nguyễn Phước Mai<sup>1\*</sup> và Nguyễn Văn Mười<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Học viên cao học Bộ môn Công nghệ thực phẩm, Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

<sup>2</sup>Bộ môn Công nghệ thực phẩm, Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

\*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Tô Nguyễn Phước Mai (email: [maiM2219001@gstudent.ctu.edu.vn](mailto:maiM2219001@gstudent.ctu.edu.vn))

### Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 23/02/2021

Ngày nhận bài sửa: 10/03/2021

Ngày duyệt đăng: 28/04/2021

### Title:

Effects of extraction and rotary evaporation conditions to the characteristics of concentrated aqueous extract from pomelo peel (*Citrus maxima* (Burn.) Merr.) of Da Xanh cultivar

### Từ khóa:

Cao chiết, cô quay chân không, hoạt tính sinh học, phương pháp trích ly, bưởi Da Xanh

### Keywords:

Bioactive compounds, concentrated aqueous extract, Da Xanh cultivars, extraction method, rotary evaporation

### ABSTRACT

The present work was aimed at recovering soluble polyphenolic compounds from pomelo peel (*Citrus maxima* (Burn.) Merr.) of Da Xanh cultivar in different extraction and rotary evaporation conditions. To this end, the effect of raw material condition, the process of extraction, and the process of rotary evaporation (air pressure, weight loss) were examined to acquire the concentrated aqueous extract high in bioactive compounds. The analysis of data showed that by following the industrial extraction process of crushing and pressing (fresh material, with the addition of ethanol 40° at the ratio of 1:1, w/v, heating to 90°C for 2 minutes) helped to achieve the concentrated aqueous extract with high bioactive compounds content and reduced the energy cost compared to the common approach (carried out on dried material, by immersion method with or without the assistance of microwave). Besides, rotary evaporation at the absolute pressure of 160-180 mBar was determined to be the most effective, especially in the capacity to increase the TPC, TFC, and TEAC value of the extract after solvent removal. The highest quality of concentrated aqueous extract can be obtained by rotary evaporation until 92,5% loss of weight.

### TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện với mục đích đánh giá hiệu quả thu nhận thành phần polyphenol hòa tan từ vỏ bưởi Da Xanh (*Citrus maxima* (Burn.) Merr.) ở các điều kiện trích ly và cô quay chân không khác nhau. Trên cơ sở này, ảnh hưởng của đặc tính nguyên liệu và phương pháp trích ly, điều kiện cô quay chân không để đuổi dung môi (áp suất, độ giảm khối lượng) được khảo sát. Kết quả phân tích cho thấy thực hiện ly trích theo phương pháp tách ép công nghiệp (nguyên liệu tươi, bổ sung ethanol 40° ở tỉ lệ 1:1, w/v, gia nhiệt ở 90°C trong thời gian 2 phút) giúp cải thiện chất lượng của dịch trích sau khi đuổi dung môi và giảm chi phí năng lượng khi so sánh với phương pháp thông dụng (trên nguyên liệu khô, ngâm trích, không hoặc có sự hỗ trợ của vi sóng). Song song đó, hiệu quả của chế độ loại dung môi bằng thiết bị cô quay ở áp suất tuyệt đối 160-180 mBar cũng được ghi nhận, đặc biệt với khả năng giúp gia tăng giá trị TPC, TFC, TEAC của dịch trích sau khi loại dung môi. Cô quay cho đến khi mất đi 92,5% khối lượng dịch trích được đề nghị để thu nhận cao chiết có chất lượng tốt nhất.

## 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bưởi (*Citrus maxima*) là trái cây có múi (chi *Citrus*) có kích thước lớn nhất (Pichaiyongvongdee et al., 2014). Nhóm chất polyphenol từ vỏ cây có múi nói chung và vỏ bưởi nói riêng có giá trị sinh học rất cao. Cơ cấu thành phần flavonoid của vỏ bưởi cấu thành chủ yếu gồm các chất hesperidin, naringenin, kể đến là rutin (theo Gattuso et al., 2007) hoặc eriodictyol và synephrine (theo Liu et al., 2012). Đây đều là các thành phần vừa có khả năng kháng oxy hóa mạnh, đồng thời lại có các tác dụng hỗ trợ sức khỏe. Cao chiết giàu polyphenol từ vỏ bưởi là an toàn, không gây độc tính ở liều 1.000 mg/kg trên chuột, có khả năng tăng cường chức năng gan, tim và tụy (Ali et al., 2019), có đặc tính kháng khuẩn tốt (Khan et al., 2018) và có hiệu quả trong việc giảm cholesterol, triglyceride và glucose khi thử nghiệm chuột (Fayek et al., 2017). Riêng ở Việt Nam, vào thế kỷ XIV, vỏ bưởi sấy khô cũng đã được Tuệ Tĩnh ghi nhận trong quyển “Nam dược Thần hiệu” với tên gọi là “cam phao” (Nguyễn Bá Tĩnh, 2004). Các bài thuốc nam sử dụng cho đến nay đã chứng minh hiệu quả hỗ trợ sức khỏe và tính an toàn của vỏ bưởi. Năm 2020, trên cơ sở xây dựng nền tảng khoa học để khai thác giá trị từ thành phần polyphenol của vỏ bưởi, Trần Tuyết Mai và ctv. (2020) đã tiến hành nghiên cứu về ảnh hưởng của giống đến tính chất và hoạt tính sinh học của quả bưởi ở Đồng bằng sông Cửu Long. Tác giả khẳng định sự tồn tại với hàm lượng lớn các hợp chất nhóm polyphenol và flavonoid trong phần vỏ của cả 4 giống bưởi khảo sát (Da Xanh, Năm Roi, Lông Cò cò và Thanh Kiều). Đáng chú ý nhất phải kể đến phần vỏ của bưởi Da Xanh khi cho hoạt tính kháng oxy hóa vượt trội, thể hiện trên 5 phương pháp thử thông dụng, dựa trên khả năng quét gốc tự do DPPH, ABTS<sup>+</sup> và khả năng khử các gốc oxy hóa FRAP, RP và TAC.

Để sử dụng thành phần polyphenol có hiệu quả, thu nhận cao chiết giàu polyphenol từ nguyên liệu cần được thực hiện, chủ yếu thông qua hai tiến trình là trích ly và loại bỏ dung môi. Cơ bản của vấn đề ly trích thành phần mang hoạt tính sinh học từ vỏ bưởi ở quy thí nghiệm có thể tham khảo ở nghiên cứu trích ly và tinh sạch naringin của tác giả Nguyễn Hoài Thương và ctv. (2014) (sử dụng phương pháp ngâm ở 70°C, dung môi EtOH: H<sub>2</sub>O loãng 8:2, tỉ lệ mẫu: dung môi là 1:14, thời gian chiết 1 giờ); hoặc gần đây nhất là nghiên cứu về khảo sát điều kiện trích ly polyphenol từ bột vỏ bưởi của Đỗ Thị Thúy Vy và ctv. (2020) (sử dụng dung môi ethanol 70%, phương pháp ngâm trích có hoặc không có hỗ trợ vi

sóng). Trái ngược với điều kiện ly trích trong các nghiên cứu, điều kiện ly trích khi thực hiện ở quy mô công nghiệp đơn giản hơn rất nhiều. Reeve (1974) và sau đó là Sinija et al. (2007) trong thu nhận dịch trích để sản xuất trà hòa tan không đề nghị sử dụng thêm dung môi, chỉ đề nghị xử lý nhiệt và sau đó tiến hành tách ép để thu nhận dịch trích. Mâu thuẫn này cho thấy phương pháp trích ly đóng vai trò quan trọng và yêu cầu phương pháp trích ly là tốt khi vừa có hiệu quả thu nhận thành phần mong muốn tốt, đồng thời lại phải có khả năng ứng dụng trên điều kiện sản xuất thực tế. Tuy vậy, việc sử dụng dung môi để hỗ trợ trích ly là cần thiết, do tính tan của thành phần này phụ thuộc rất lớn vào độ phân cực của dung môi. So sánh với các dung môi khác, ly trích với ethanol cho hiệu quả thu nhận polyphenol kém hơn (Putnik et al., 2017; Lê Phạm Tấn Quốc, 2019); tuy nhiên, ethanol vẫn có ưu tiên hơn do đây là dung môi không có tính độc và thân thiện với môi trường. Một ưu điểm khác của ethanol do ở khả năng tan trong nước, do đó dựa vào nồng độ hòa tan có thể kiểm soát độ phân cực của hỗn hợp nước – ethanol. Ứng dụng đặc tính này có thể tìm ra điểm hòa tan tốt nhất cho thành phần polyphenol cần ly trích, điển hình như nghiên cứu trích ly polyphenol từ vỏ chuối xiêm (ethanol 40%, Phạm Trần Bảo Nghi và ctv., 2019), hoặc từ lá trà xanh (dung môi ethanol 60%, Xi et al., 2009). Nồng độ ethanol sử dụng cũng có phổ thay đổi rất rộng, thay đổi tùy thuộc vào đối tượng và mục tiêu của quá trình ly trích.

Cô quay chân không là phương pháp loại dung môi thông dụng (Putnik et al., 2017; Phạm Trần Bảo Nghi và ctv., 2019; Trần Tuyết Mai và ctv., 2020). Mặc dù tiến trình loại bỏ dung môi có thể xem là quá trình ngược lại với tiến trình trích ly, nhưng gần như không tìm được tài liệu khoa học nào ghi nhận quá trình này, nhất ảnh hưởng của tiến trình đến tính chất của hợp phần mang hoạt tính sinh học. Về cơ bản, tiến trình cô quay chân không được tiến hành tại điểm sôi của dung môi; đồng thời, dịch trích sẽ có sự thay đổi lớn về độ phân cực do phần lớn dung môi sẽ bị bay hơi. Hai tác động này đều có khả năng làm thay đổi tính chất của dịch trích ly, đặc biệt khi thành phần polyphenol vốn nhạy cảm với nhiệt độ cao và có khả năng hòa tan phụ thuộc vào độ phân cực (Putnik et al., 2017; Belščak-Cvitanović et al., 2018). Do đó, quá trình cô quay sẽ có những tác động đáng kể đến chất lượng của dịch trích.

Trên cơ sở khoa học đã được trình bày, trong phạm vi nghiên cứu, ảnh hưởng của tiến trình trích ly và cô quay chân không đến chất lượng của cao

chiết từ vỏ bưởi Da Xanh được khảo sát. Mục đích của nghiên cứu nhằm thu nhận được cao chiết giàu các hợp phần hòa tan mang hoạt tính sinh học. Cao chiết có thể sử dụng trực tiếp (bảo quản trái cây, kháng khuẩn, pha chế tạo trà cô đặc) hoặc điều chế tiếp tục thành dược phẩm, mỹ phẩm, từ đó giúp tạo ra nguồn giá trị gia tăng cho phụ phẩm vỏ bưởi.

## 2. PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu được xác định là dịch trích từ nguyên liệu vỏ bưởi Da Xanh (*Citrus maxima* (Burn.) Merr.). Vỏ bưởi Da Xanh sử dụng trong nghiên cứu là phụ phẩm của quá trình chế biến giảm thiểu, được thu nhận trực tiếp từ công ty TNHH MTV The Fruit Republic Cần Thơ (B15-1, khu Công Nghiệp 1, đường 1A, Tân Phú, Cái Răng, Cần Thơ).

### 2.2. Phạm vi nghiên cứu

Cải biến quy trình trích ly theo phương pháp công nghiệp (Reeve, 1974) thông qua việc thay đổi dung môi là nước bằng dung dịch ethanol, tiếp cận trên dịch trích ly trước và sau đun dung môi.

So sánh hiệu quả thu nhận của quá trình trích ly vừa cải biến với các phương pháp thông dụng (hai phương pháp phát triển bởi Đỗ Thị Thúy Vy và ctv., 2020).

Khảo sát ảnh hưởng quá trình loại dung môi bằng thiết bị cô quay chân không đến chất lượng dịch trích.

### 2.3. Nội dung thực hiện

Bố trí thí nghiệm được tiến hành trên cơ sở một hay hai nhân tố và cố định các nhân tố còn lại. Các thí nghiệm được bố trí ngẫu nhiên với 3 lần lặp lại.

#### 2.3.1. Thí nghiệm 1: Ảnh hưởng của nồng độ ethanol đến hiệu quả trích ly hợp phần polyphenol hòa tan theo phương pháp tách ép

Đánh giá sự hiện diện của các thành phần mang hoạt tính sinh học trên dịch trích khi thực hiện ly trích sử dụng dung môi ethanol ở các nồng độ khác nhau (25; 40; 55; 70; 85; 99,5). Mẫu đối chứng sử dụng dung môi là nước cất. Theo dõi chất lượng trên các mẫu dịch trích trước và sau khi loại dung môi.

Trích ly theo phương pháp tách ép áp dụng theo Reeve (1974), gồm các bước: Làm nhỏ (xay cắt, ≤

1,5mm) → Bổ sung dung môi, tỉ lệ 1:1 (w/w) → Nâng nhiệt 85÷90°C, giữ nhiệt 2 phút → Tách ép để thu dịch trích. Loại dung môi bằng thiết bị cô quay chân không ở áp suất tuyệt đối 160÷180 mBar cho đến khi phần lớn ethanol đã bay hơi (nồng độ chất khô đến 35°Brix, tỉ trọng 1,13). Làm trong dịch bằng giấy lọc Whatman No.4 (lỗ lọc 20 – 25 µm) trước khi phân tích chi tiêu.

Chỉ tiêu theo dõi: định tính sự hiện diện của các thành phần polyphenol cơ bản; hàm lượng polyphenol, flavonoid, khả năng kháng oxy hóa TEAC.

#### 2.3.2. Thí nghiệm 2: Ảnh hưởng của phương thức xử lý nguyên liệu và phương pháp trích ly đến hiệu quả thu nhận thành phần polyphenol hòa tan từ vỏ bưởi Da Xanh

Mục tiêu của thí nghiệm là đánh giá hiệu quả thu nhận các hợp phần hòa tan mang hoạt tính sinh học của 3 phương pháp: tách ép công nghiệp, ngâm trích không và có sự hỗ trợ của vi sóng.

Quy trình theo phương pháp ngâm trích có và không có hỗ trợ vi sóng được thực hiện theo Đỗ Thị Thúy Vy và ctv. (2020) trên nguyên liệu bột vỏ bưởi. Thu nhận bột từ nguyên liệu vỏ bưởi tươi cắt lát, sấy chân không ở 50°C về còn 8% ẩm, nghiền mịn. Trích ly theo phương pháp ngâm trích được thực hiện với dung môi ethanol 70°, tỉ lệ dung môi: nguyên liệu 15: 1 (v/w), gia nhiệt đến 70°C và giữ nhiệt trong 60 phút. Trích ly có hỗ trợ vi sóng thực hiện theo với dung môi ethanol 70°, tỉ lệ dung môi: nguyên liệu là 300 mL cho 15g bột vỏ bưởi trên một lần trích, tác dụng vi sóng ở công suất 480W trong 6 phút. Cô đặc và làm trong mẫu sau trích ly được thực hiện tương tự thí nghiệm 1.

Chỉ tiêu theo dõi: hàm lượng polyphenol, flavonoid, khả năng kháng oxy hóa TEAC.

#### 2.3.3. Thí nghiệm 3: Khảo sát ảnh hưởng quá trình loại dung môi bằng thiết bị cô quay chân không đến chất lượng hợp phần polyphenol hòa tan trong dịch trích

Nhằm đánh giá ảnh hưởng của quá trình loại dung môi bằng thiết bị cô quay chân không khi vận hành ở 3 chế độ áp suất tuyệt đối khác nhau (100-120, 160-180, 300-320 mBar). Chất lượng của dịch trích được theo dõi trong suốt tiến trình, ghi nhận theo độ giảm khối lượng (9 mức độ, từ 10 đến 90%). Nhiệt độ cô quay được cố định tại 55, 65, 75°C lần lượt cho ba chế độ, đây là điểm nhiệt độ vừa đủ đảm bảo dịch trích luôn ở trạng thái sôi trong suốt tiến

trình. Mẫu đối chứng là mẫu dịch trích ở thời điểm nạp liệu.

Chỉ tiêu theo dõi: nồng độ chất khô hòa tan và tỉ trọng dịch trích; hàm lượng polyphenol, flavonoid, khả năng kháng oxy hóa TEAC.

#### 2.4. Phương pháp phân tích

– Hàm lượng polyphenol tổng (TPC): Dựa trên phản ứng tạo màu với thuốc thử Folin-Ciocalteu, cho chất màu có độ hấp thụ cực đại ở bước sóng 738 nm, gallic acid được sử dụng để xây dựng đường chuẩn. Kết quả thể hiện trên đơn vị đương lượng với mg acid gallic (mg GAE), tính trên trên 1 g|chất khô nguyên liệu (CKNL) (Siddiqua et al., 2010).

– Hàm lượng flavonoid tổng (TFC): xác định dựa trên phản ứng tạo màu với  $AlCl_3$ , đo độ hấp thụ tại bước sóng 415 nm, sử dụng quercetin làm chất chuẩn (Mandal et al., 2013). Kết quả thể hiện trên đương lượng với mg quercetin (mg QE) khi tính trên 1 g CKNL.

– Khả năng kháng oxy hóa TEAC: sử dụng phương pháp xác định gốc tự do được hiệu chỉnh xác định, trên phản ứng làm mất màu chất oxy hóa là 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) và chất kháng oxy hóa chuẩn là Trolox (Chmelová et al., 2015). Mức độ phản ứng được xác định thông qua đo độ hấp thụ ở bước sóng 738 nm. Kết quả thể hiện trên đơn vị đương lượng với  $\mu mol$  Trolox ( $\mu mol$  TE), tính trên 1 g CKNL.

– Phương pháp phân tích định tính: được thực hiện theo Evans (2002). Trong đó, định tính tanin bằng thuốc thử  $FeCl_3$  5%, gelatin mặn và chì acetate 10%; định tính flavonoid bằng thuốc thử NaOH 10% và  $FeCl_3$  1%; định tính alkaloid bằng thuốc thử Dragendorf và thuốc thử Bouchardat; định tính saponin dựa trên khả năng tạo bọt. Kết quả được thể hiện trên 4 mức độ: âm tính, dương tính, dương tính rõ và rất rõ.

– Nồng độ chất khô hòa tan: chiết quang kế (Atago, 0÷32°Brix, 30÷60°Brix, 58÷60°Brix, Nhật).

– Tỉ trọng: xác định thông qua đo khối lượng trên thể tích bằng dụng cụ đo chuyên dụng.

Các hóa chất sử dụng đều đạt chuẩn phân tích, được cung cấp bởi Công ty Thiết bị - Hóa chất Khoa học Kỹ thuật An Khánh, Ninh Kiều, Cần Thơ.

#### 2.5. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được thu thập và xử lý bằng phần mềm thống kê Statgraphics Centurion 16.2 và phần mềm Excel. Phân tích phương sai (ANOVA) và kiểm định LSD, Duncan được sử dụng để kết luận về sự sai khác giữa trung bình các nghiệm thức ở mức độ ý nghĩa  $P < 0,05$ .

### 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

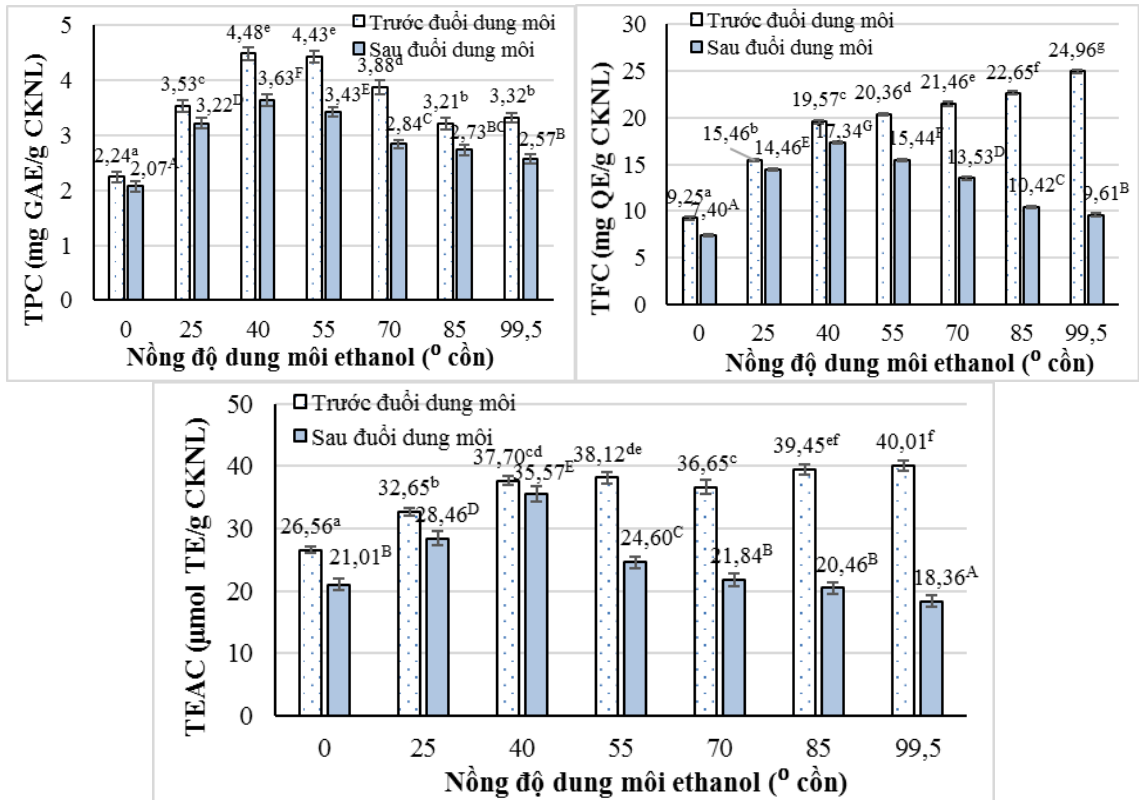
#### 3.1. Ảnh hưởng của nồng độ ethanol đến hiệu quả trích ly hợp phần polyphenol hòa tan theo phương pháp tách ép

Tiếp cận quy trình trích ly theo phương pháp tách ép công nghiệp (Reeve, 1974; Sinija et al., 2007), nghiên cứu đề xuất cải tiến quy trình bằng việc thay thế dung môi bổ sung là nước (ở tỉ lệ 1:1) bằng dung môi ethanol ở các nồng độ khác nhau, đồng thời thực hiện mở rộng hơn thông qua theo dõi chất lượng của cả dịch trích ly trước và sau khi loại dung môi.

Kết quả khảo sát chất lượng của các hợp phần hòa tan mang hoạt tính sinh học thay đổi theo nồng độ ethanol sử dụng được thể hiện ở Hình 1. Nhìn chung, kết quả thu nhận thể hiện theo 2 xu hướng chính:

(i) Đối với dịch trích ly trước khi đuổi dung môi, việc sử dụng nồng độ ethanol càng cao càng có lợi cho quá trình trích ly. TPC thu nhận có xu hướng gia tăng và cao nhất khi sử dụng ethanol ở 40-55°; song song đó, TFC và khả năng kháng oxy hóa TEAC có xu hướng gia tăng khi sử dụng ethanol ở nồng độ tuyệt đối ( $\geq 99,5^\circ$ ). Cần lưu ý rằng trích ly được thực hiện theo phương pháp tách ép và lượng ethanol bổ sung là 1:1 so với nguyên liệu tươi, do đó nồng độ cồn của hỗn hợp sẽ nhỏ hơn nồng độ sử dụng vào khoảng 1,76 lần (với độ ẩm nguyên liệu ở 75,67%). Kết quả thu được cũng phù hợp với nghiên cứu trước đây trên đối tượng nguyên liệu vỏ bưởi và ctv naringin trong vỏ hòa tan tốt nhất khi ở nồng độ ethanol 80° (Nguyễn Hoài Thương và ctv., 2014), và ctv dịch trích ly có hàm lượng TFC và khả năng kháng oxy hóa TEAC cao nhất ở nồng độ ethanol 70° (Đỗ Thị Thúy Vy và ctv., 2020).





**Hình 1. Ảnh hưởng của việc thay đổi dung môi sử dụng trong phương pháp tách ép đến hiệu quả thu nhận hợp phần polyphenol trong dịch trích trước và sau khi loại dung môi**

(Các giá trị trung bình trong một hình theo sau có mẫu tự giống nhau thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức tin cậy 95%)

(ii) Ngược lại, dịch trích ly sau khi đuổi dung môi lại có TFC, TPC và TEAC giảm, và độ giảm cao nhất nằm ở mẫu sử dụng dung môi có nồng độ ethanol cao nhất. Ethanol tan trong nước tạo thành hỗn hợp đẳng phí. Ở một cách nhìn khác, việc đuổi dung môi trong hỗn hợp đẳng phí là quá trình chưng cất để tách chiết dung môi. Trong hỗn hợp ethanol và nước, ethanol có nhiệt độ sôi nhỏ hơn nên cũng sẽ có xu hướng bay hơi trước hơn; do đó theo thời gian chưng cất, hàm lượng nước từ từ sẽ chiếm ưu thế trong cơ cấu pha lỏng (Võ Tấn Thành & Vũ Trường Sơn, 2013). Điều này làm thay đổi độ phân cực của dung môi, từ đó lại làm thay đổi tính tan của thành phần polyphenol. Hiện nay, gần như không tìm được tài liệu nghiên cứu tương đồng để so sánh và đối chiếu kết quả. Tuy nhiên, kết quả thu được ở mục (i) cùng với kết quả của Nguyễn Hoài Thương và ctv. (2014) và Đỗ Thị Thúy Vy và ctv. (2020) có thể được áp dụng để giải thích sự suy giảm của TPC, TFC, TEAC trong dịch trích trước và sau khi đuổi dung môi theo nguyên tắc suy luận ngược. Theo đó, sự thay đổi

nồng độ ethanol trước và sau khi cô quay càng cao, độ giảm suy giảm của các hợp chất mang hoạt tính sinh học càng lớn, thất thoát vào phần không hòa tan. Các mẫu có thất thoát nhỏ nhất tương ứng là mẫu đối chứng (nước), mẫu ethanol 25° và 40°; mẫu ly trích bằng ethanol 40° có hiệu quả ly trích ban đầu cao hơn nên sau khi đuổi dung môi còn lại là nhiều hơn.

Song song đó, Bảng 1 cũng khái quát sự hiện diện của một số hợp phần mang hoạt tính sinh học trên dịch chiết sau khi loại đã dung môi. Theo đó, thể hiện rõ ràng ở dịch trích bằng dung môi ethanol 40° có sự hiện diện của tannin, flavonoid, alkaloid. Saponin dương tính trên mẫu trích bằng nước nhưng không hiện diện trong các dịch trích bằng cồn.

Tổng kết dữ liệu thu nhận cho thấy việc cải biến phương pháp tách ép công nghiệp thông qua thay thế dung môi nước bằng ethanol cho hiệu quả rõ rệt trong cải thiện chất lượng của dịch trích thu nhận; theo đó sử dụng ethanol ở nồng độ 40° cho kết quả thu nhận dịch trích sau khi loại dung môi là tốt nhất.

**Bảng 1. Sự hiện diện một số thành phần nhóm polyphenol trên cao chiết vỏ bưởi đã loại dung môi**

TT	Nhóm chất	Phương pháp	0	25	40	55	70	85	99,5
1	Tannin	FeCl <sub>3</sub> 5%	+++	+++	+++	++	+	+	++
		Gelatin mặn	++	++	+	+	+	+	++
		Chi acetate 10%	++	++	+++	+++	+++	+++	+++
2	Flavonoid	FeCl <sub>3</sub> 1%	+++	+++	++	+	+	+	+
		NaOH 10%	+++	+++	++	+	+	+	+
3	Alkaloid	Dragendorff	++	++	+++	+++	+++	+++	+++
		Bouchardat	++	++	+++	+++	+++	+++	+++
4	Saponin	Tạo bọt	++	-	-	-	-	-	-

(Ghi chú: - : Âm tính; + : Dương tính; ++ : Dương tính rõ; +++ : Dương tính rất rõ)

**3.2. Ảnh hưởng của phương thức xử lý nguyên liệu và phương pháp trích ly đến hiệu quả thu nhận thành phần polyphenol hòa tan từ vỏ bưởi Da Xanh**

Trên cơ sở áp dụng phương pháp trích ly công nghiệp đã cải biên theo nội dung đã trình bày, hiệu quả của quá trình trích ly này được so sánh với các phương pháp trích ly thông dụng, xây dựng bởi Đỗ Thị Thúy Vy và ctv. (2020). So sánh được thực hiện trên hiệu quả thu nhận các hợp phần mang hoạt tính sinh học (Bảng 2) và tính khả thi khi triển khai thực tế, dựa trên so sánh một số tiêu hao cần thiết (Bảng 3).

Về hiệu quả thu nhận các hợp phần mang hoạt tính sinh học, có thể nhận thấy phương pháp ly trích theo cơ sở tách ép cho hiệu quả thu nhận TPC, TFC

và TEAC ở dịch trích ly trước khi đui dung môi thấp hơn nhiều so với hai phương pháp còn lại. Mặc dù khả năng thu nhận thành phần TPC, TFC và TEAC của phương pháp tách ép trên nguyên liệu tươi là không cao, tuy nhiên các thành phần này được giữ lại sau khi loại dung môi với lượng hơn 85% (TFC từ 19,57 giảm còn 17,34 mg QE/g CKNL, TEAC giảm từ 37,70 còn 35,57 μmol TE/g CKNL), so sánh với 50% theo hai phương pháp còn lại. Dung môi sử dụng cho cả hai phương pháp này là ethanol 70° (Đỗ Thị Thúy Vy và ctv., 2020), do đó sự thay đổi lớn của nồng độ ethanol trước và sau khi loại dung môi dẫn đến sự thay đổi lớn về thành phần chất hòa tan thu nhận.

**Bảng 2. So sánh chất lượng dịch trích và dịch cô đặc thu nhận từ các phương pháp trích ly**

Mẫu	Hiệu quả thu nhận	Tách ép (nguyên liệu tươi)	Ngâm trích thường (nguyên liệu khô)	Có hỗ trợ vi sóng (nguyên liệu khô)
Trước loại dung môi	TPC (mg GAE/g CKNL)	4,48 <sup>b</sup> ±0,11	1,64 <sup>a</sup> ±0,02	5,19 <sup>c</sup> ±0,15
	TFC (mg QE/g CKNL)	19,57 <sup>a</sup> ±0,18	26,65 <sup>b</sup> ±0,12	57,01 <sup>c</sup> ±0,39
	TEAC (μmol TE/g CKNL)	37,70 <sup>a</sup> ±0,71	51,35 <sup>b</sup> ±0,54	86,93 <sup>c</sup> ±0,33
Sau loại dung môi	TPC (mg GAE/g CKNL)	3,63 <sup>b</sup> ±0,11	1,24 <sup>a</sup> ±0,04	4,54 <sup>c</sup> ±0,14
	TFC (mg QE/g CKNL)	17,34 <sup>b</sup> ±0,16	12,42 <sup>a</sup> ±0,18	21,36 <sup>c</sup> ±0,26
	TEAC (μmol TE/g CKNL)	35,57 <sup>b</sup> ±1,17	20,34 <sup>a</sup> ±0,46	40,12 <sup>c</sup> ±0,87

(Các giá trị trung bình trong một hàng theo sau có mẫu tự giống nhau thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức tin cậy 95%)

Về tính khả thi xét khi xem xét trên tiêu hao tối thiểu khi thực hiện các phương pháp trích ly, cũng có thể dễ dàng nhận thấy phương pháp trích ly theo cơ sở tách ép có những ưu điểm hơn hẳn. Điều này là kết quả hiển nhiên khi đây là phương pháp xây dựng trên cơ sở mô phỏng quá trình trích ly để sản xuất trà hòa tan, vốn đã được ứng dụng trong thực tế sản xuất theo Reeve (1974). Phương pháp tách ép trên nguyên liệu tươi đòi hỏi sử dụng ít dung môi hơn, từ đó lợi thế lớn hơn về yêu cầu năng lượng cần thiết cần phải cung cấp. Tuy nhiên, nguyên liệu vỏ

bưởi tươi có hàm lượng ẩm cao dễ bị biến đổi trong quá trình bảo quản và chế biến (Trần Tuyết Mai và ctv., 2020); do đó chỉ trên đặc thù của trong sản xuất khi dòng nhập liệu và tiêu thụ sản phẩm luôn được thông suốt mà trích ly bằng tách ép mới có thể triển khai được dễ dàng. Ngâm trích (có hoặc không có hỗ trợ vi sóng) thực hiện trên nguyên liệu khô nhìn chung vẫn có lợi thế hơn trong bảo quản và thực hiện (Đỗ Thị Thúy Vy và ctv., 2020; Lê Phạm Tấn Quốc, 2019).

**Bảng 3. So sánh tiêu hao tối thiểu cho các phương pháp trích ly (tính trên 100 g vỏ tươi)**

TT	Tiêu hao	Tách ép (nguyên liệu tươi)	Ngâm trích (nguyên liệu khô)	Trích ly hỗ trợ vi sóng (nguyên liệu khô)
1	Năng lượng xử lý nguyên liệu	Không	Năng lượng sấy bay hơi 73,55 g nước	Năng lượng sấy bay hơi 73,55 g nước
	Dung môi trích ly	Ethanol 40°, 100 mL	Ethanol 70°, 396 mL	Ethanol 70°, 529 mL
2	Năng lượng trích ly	Gia nhiệt 200 g hỗn hợp đến 90°C ( $\geq 50,16 \text{ kJ}^*$ ); giữ nhiệt 2 phút	Gia nhiệt 423 g hỗn hợp đến 70°C ( $\geq 70,63 \text{ kJ}^*$ ); giữ nhiệt 60 phút	Hoạt động lò vi sóng 400W, 6 phút ( $\geq 228,53 \text{ kJ}^*$ )
3	Năng lượng cô quay**	Nhiệt bốc hơi cho ít nhất 82 mL dung môi	Nhiệt bốc hơi cho ít nhất 300 mL dung môi	Nhiệt bốc hơi cho ít nhất 433 mL dung môi

\* Các thông số tính theo cân bằng năng lượng;

\*\* Chế độ cô quay để loại bỏ gần như hoàn toàn ethanol, thu nhận cao chiết ở khoảng 35°Brix với tỉ trọng xấp xỉ 1,13.

Nghiên cứu cho kết quả phù hợp với các công bố của Reeve (1974) và Sinija et al. (2007), chính vì vậy phương pháp tách ép có cải biến được đề xuất để thu nhận dịch trích ly giàu các hợp phần hòa tan mang hoạt tính sinh học.

### 3.3. Ảnh hưởng quá trình loại dung môi bằng cô quay chân không đến chất lượng của cao chiết [vỏ bưởi Da Xanh]

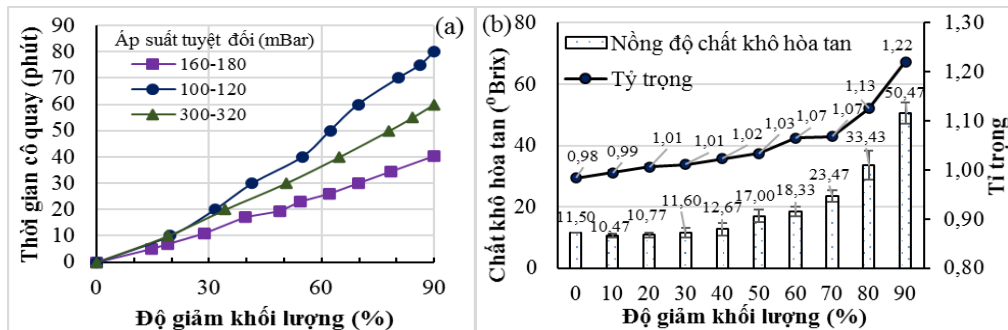
Trong các phương pháp loại dung môi đã được phát triển, cô quay chân không là phương pháp loại dung môi được sử dụng phổ biến (Phạm Trần Bảo Nghi và ctv., 2019; Putnik et al., 2017 Trần Tuyết Mai và ctv., 2020). Về mặt kỹ thuật, cô quay chân không có thể vừa được xem là quá trình chưng cất, khi xét trên đối tượng hỗn hợp dung môi có điểm sôi khác nhau; cũng vừa là quá trình cô đặc khi xét trên đối tượng cần thu nhận là phần chất khô hòa tan. Cô quay loại dung môi xảy ra tại điểm sôi của hỗn hợp, và chân không được sử dụng để hạ giá trị nhiệt độ sôi (Võ Tấn Thành & Vũ Trường Sơn, 2013), từ đó giúp ổn định hoạt tính của các hợp phần mang hoạt tính sinh học (Belščak-Cvitanović et al., 2018). Về cơ bản, áp suất càng thấp cho nhiệt độ sôi càng thấp; tuy nhiên, nhiệt độ sôi của hỗn hợp lại là một biến phức tạp phụ thuộc vào cả ba thành phần gồm ethanol, nước và chất rắn hòa tan, thay đổi rất phức tạp trong suốt quá trình cô quay. Do đó, áp suất tuyệt đối được lựa chọn như một nhân tố thay thế, với mục tiêu gián tiếp là kiểm soát khoảng nhiệt độ làm việc của thiết bị. Kết quả thu nhận gồm sự thay đổi tính chất vật lý của mẫu (Hình 2) và tính chất của các hợp phần mang hoạt tính sinh học (Hình 3) trong suốt tiến trình cô đặc với độ giảm khối lượng khảo sát đến 90%.

#### 3.3.1. Sự thay đổi các đại lượng vật lý của dịch trích

Thời gian cần thiết để thực hiện cô quay (Hình 2a) thể hiện mối quan hệ gần tuyến tính với độ giảm khối lượng. Áp suất tuyệt đối của thiết bị càng nhỏ, thời gian cô quay chân không cần thiết càng cao. Về lý thuyết, có thể xem cô quay chân không là quá trình bay hơi dung môi, cũng tức là một phản ứng thu nhiệt; áp suất hệ càng cao cho khoảng nhiệt độ làm việc càng cao, do đó cho phản ứng cân bằng về bên phải, tức tốc độ phản ứng càng nhanh (Bùi Thị Bửu Huệ & Nguyễn Văn Đạt, 2014). Song song đó, hai chỉ tiêu vật lý khác, gồm nồng độ chất khô hòa tan và tỉ trọng cũng được theo dõi (Hình 2b). Hai đại lượng vật lý này thay đổi không phụ thuộc độ áp suất cô quay, chỉ phụ thuộc vào độ giảm khối lượng của dịch trích. Có thể xem trong hỗn hợp dịch trích với 3 phần tử cấu thành chính, gồm: nước, ethanol và vật chất rắn hòa tan không bay hơi. Hàm lượng chất khô hòa tan và tỉ trọng là hàm phụ thuộc vào hàm lượng ethanol và chất rắn không bay hơi. Quá trình cô quay chân không (chưng cất), làm bốc hơi hỗn hợp ethanol và nước, trong đó ethanol mất đi chiếm ưu thế hơn (Võ Tấn Thành & Vũ Trường Sơn, 2013). Hiển nhiên, khi ethanol mất đi và phần chất rắn tăng biểu kiến, nồng độ chất khô hòa tan và tỉ trọng sẽ thay đổi. Tuy nhiên, biến động này là phức tạp do phụ thuộc vào cả hai nhân tố. Kết quả thể hiện ở dạng đường cong trên Hình 2b, vào khoảng giảm khối lượng từ 0 đến 70%. Khi ethanol đã giảm đến giá trị tối thiểu, tác động từ ethanol không gây sai biệt đáng kể, lúc này quá trình cô quay chân không sẽ chỉ bị ảnh hưởng chỉ bởi chất rắn hòa tan và nước, tức trở nên tương đồng với quá trình cô đặc dung dịch đường. Lúc này, sự thay đổi tỉ trọng của hỗn hợp và nồng độ chất khô hòa tan (°Brix) sẽ về gần

theo quy luật tuyến tính (Trần Xoa và ctv., 2006). Giai đoạn này được quan sát theo Hình 2b từ độ

giảm khối lượng lớn hơn 70%, đây giai đoạn cho hiệu quả đuổi ethanol là tối đa.



**Hình 2. Sự thay đổi khối lượng dịch trích theo thời gian cô quay (a) và mối quan hệ của độ giảm khối lượng, nồng độ chất khô hòa tan và tỉ trọng dịch trích (b)**

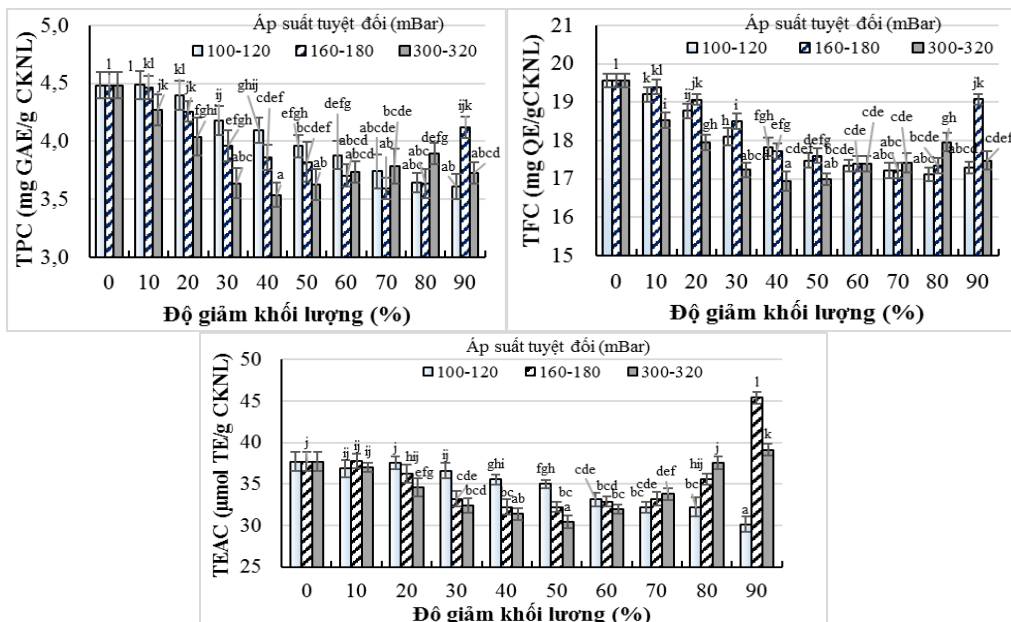
**3.3.2. Sự thay đổi chất lượng của các hợp phần mang hoạt tính sinh học**

Khác với các đại lượng vật lý thay đổi chỉ theo độ giảm khối lượng, sự thay đổi về chất lượng của các hợp phần hòa tan mang hoạt tính sinh học phụ thuộc vào cả điều kiện áp suất thiết bị (Hình 3).

Nhìn chung, sự thay đổi của các hợp phần mang hoạt tính sinh học có thể quan sát ở 2 chiều hướng:

(i) Chiều hướng giảm chất lượng hợp phần diễn ra xuyên suốt trong quá trình cô quay chân không ở áp suất tuyệt đối 100-120 mBar, đồng thời là giai đoạn đầu tiêu trong quá trình cô quay tại 160-180 Bar (giảm khối lượng từ 0 đến 70%) và tại 300-320

mBar (từ 0 đến 50%). Giảm chất lượng ở dịch trích là hiện tượng tất yếu do tác động của nhiệt độ và sự thay đổi độ phân cực của dịch trích khi ethanol bay hơi, làm ảnh hưởng đến độ bền và khả năng hòa tan của các hợp phần mang hoạt tính sinh học, mà chủ yếu là polyphenol (et al; Belščak-Cvitanović et al., 2018; Putnik et al., 2017). Lê Phạm Tấn Quốc (2019) và Đỗ Thị Thúy Vy và ctv. (2020) cũng ghi nhận sự suy giảm của các hợp phần mang hoạt tính sinh học thuộc nhóm polyphenol khi giữ dịch trích ở nhiệt độ cao trong thời gian dài. Mức độ giảm ở cả ba chế độ áp suất là giống nhau và không khác biệt ý nghĩa thống kê với giá trị tối thiểu ghi nhận được (TPC 3,54 mg GAE/g CKNL, TFC 16,94 mg QE/g CKNL và TEAC 30,42 μmol TE/g CKNL).



**Hình 3. Ảnh hưởng của chế độ cô quay chân không đến chất lượng hợp phần polyphenol hòa tan thu nhận (Các giá trị trung bình trong một hình theo sau có mẫu tự giống nhau thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức tin cậy 95%)**



(ii) Chiều hướng gia tăng chất lượng của dịch trích xảy ra khi tiếp tục cô quay diễn ra ở giai đoạn giảm khối lượng từ 80-90% khi cô quay tại áp suất tuyệt đối 160-180 mBar và giai đoạn 50-90% tại áp suất 300-320 mBar. Ghi nhận sự gia tăng mạnh nhất ở chế độ áp suất 160-180 mBar với TPC tăng khoảng 13% (từ 3,63 lên 4,12 mg GAE/g CKNL), TFC tăng khoảng 10% (từ 17,34 lên 19,07 mg QE/g CKNL), và TEAC tăng khoảng 27% (từ 35,57 lên 45,36  $\mu\text{mol TE/g CKNL}$ ). Sự gia tăng ở chế độ áp suất 300-320 mBar diễn ra xuyên suốt trong giai đoạn từ 50-80% và khoảng tăng cũng thấp hơn. Hiện nay, chưa tìm thấy các tài liệu khoa học cùng phương pháp tiếp cận nên cũng chưa thể đối chiếu, cũng như lý giải nguyên nhân xảy ra hiện tượng này. Các nghiên cứu của Đỗ Thị Thúy Vy và ctv. (2020), Lê Phạm Tấn Quốc (2019) và Phạm Trần Bảo Nghi và ctv. (2019) cũng ghi nhận một giai đoạn tăng hoạt tính của nhóm polyphenol khi giữ ở nhiệt độ cao, tuy nhiên với lý giải là do sự gia tăng nồng độ của polyphenol hòa tan vào môi trường trích ly, chứng tỏ không hợp lý trong trường hợp nghiên cứu. Ở một số nghiên cứu với đối tượng và các tiếp cận tương đối khác hơn, hiện tượng gia tăng về hoạt tính của các hợp polyphenol khi có xử lý nhiệt cũng được ghi nhận. Điển hình nhất là trên các sản phẩm trà lên men, như sự phân hủy nhiệt của catechin gallate làm gia tăng hàm lượng catechin và acid gallic, hoặc chuỗi phản ứng oxy hóa, ngưng tụ và phân hủy catechin để tạo thành theaflavins thearubigin, và theabrownin. Các phản ứng này giải phóng thêm các nhóm chức từ đó làm gia tăng hoạt tính của thành phần polyphenol (et al; Belščak-Cvitanović et al., 2018; Lv et al., 2013). Một số polyphenol có hiện diện trên vỏ bưởi cũng được

nhận thấy có khả năng phân hủy do nhiệt như naringin có thể bị thủy phân tạo D-rammora và naringenin hoặc hesperidin cũng có khả năng bị thủy phân để chuyển hóa thành hesperetin and rutinose (Gattuso et al., 2007). Tuy nhiên, chưa có bằng chứng nào chứng minh rằng quá trình này có thể diễn ra khi thực hiện cô quay. Một khả năng khác là sự gia tăng khả năng kháng oxy hóa do các sản phẩm tạo thành từ phản ứng Maillard. Hiện tượng này được khi nhận trên sản phẩm trái cây hoặc pasta trong giai đoạn sấy ẩm (Nooshkam et al., 2019). Về lý thuyết, phản ứng Maillard có thể xảy ra trong quá trình cô quay do dịch trích có đủ cơ chất là đường khử, amino acid, nhiệt độ cao và khoảng  $a_w$  vào 0,6 đến 0,8 (Nooshkam et al., 2019). Tuy nhiên, amino acid tự do tồn tại rất ít trong vỏ quả (Trần Tuyết Mai và ctv., 2020), dưới 1%cbk, chỉ ở lượng cần thiết để cấu thành tế bào. Dự đoán nếu phản ứng có xảy ra thì mức độ phản ứng cũng không cao.

Tóm lại, hai giai đoạn thay đổi chất lượng là giảm và sau đó là tăng hoạt tính của các hợp chất sinh học trong quá trình cô quay. Đồng thời, áp suất tuyệt đối tại 160-180 mBar được đề nghị sử dụng cho quá trình cô quay chân không loại dung môi để thu nhận cao chiết từ bưởi Da Xanh.

3.3.3. Thay đổi chất lượng của dịch trích vào giai đoạn cuối của quá trình cô quay tại 160-180 mBar

Giai đoạn cuối của quá trình cô quay tại áp suất tuyệt đối 160-180 mBar tuy diễn ra trong thời gian ngắn nhưng lại là giai đoạn có những biến đổi chất lượng mạnh nhất. Tìm hiểu sâu hơn về các biến đổi này, khoảng phân tích từ sau độ giảm khối lượng 80% được chia nhỏ và khảo sát mở rộng (Bảng 4).

**Bảng 4. Phân tích sự thay đổi chất lượng cao chiết khi cô quay tại áp suất tuyệt đối 160-180 mBar, giai đoạn giảm khối lượng từ 80 đến 95%**

Độ giảm khối lượng (%)	Chất khô hòa tan ( $^{\circ}\text{Brix}$ )	Tỉ trọng	TPC (mg GAE /g CKNL)	TFC (mg QE /g CKNL)	TEAC ( $\mu\text{mol TE/g CKNL}$ )
80,0	33,4	1,130	3,63 <sup>a</sup> ±0,13	17,34 <sup>a</sup> ±0,20	35,57 <sup>a</sup> ±1,16
85,0	44,6	1,175	3,73 <sup>ab</sup> ±0,17	18,82 <sup>b</sup> ±0,20	40,25 <sup>b</sup> ±0,49
90,0	66,0	1,220	3,87 <sup>b</sup> ±0,09	19,07 <sup>b</sup> ±0,13	48,22 <sup>c</sup> ±0,89
92,5	74,6	1,265	4,12 <sup>c</sup> ±0,09	19,12 <sup>b</sup> ±0,20	53,36 <sup>d</sup> ±0,80
95,0	72,4	-	4,12 <sup>c</sup> ±0,09	19,01 <sup>b</sup> ±0,20	52,36 <sup>d</sup> ±0,66

(Các giá trị trung bình trong một cột theo sau có mẫu tự giống nhau thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức tin cậy 95%)

Thay đổi đầu tiên được khảo sát là về tính chất vật lý của dịch trích. Hàm lượng chất khô hòa tan tiếp tục tăng khi loại dung môi, tuy nhiên đạt cao nhất ở độ giảm khối lượng 92,5% vào khoảng 74,6 $^{\circ}\text{Brix}$  và không gia tăng nữa khi tiếp tục cô

quay. Đây là giá trị bão hòa của chất rắn hòa tan trong dịch trích và cũng là thời điểm cuối cùng để thu nhận cao chiết. Khi tiếp tục cô quay, dịch trích sẽ đi vào trạng thái quá bão hòa, quá trình xả áp nhanh sẽ hạ nhiệt độ, buộc dung dịch chuyển trạng

thái thành rắn vô định hình, từ đó mất đi khả năng rót chảy (Trần Xoa và ctv., 2006). Song song đó, sự gia tăng của TPC, TFC và TEAC cũng được ghi nhận rõ hơn. Trong đó, giá trị TFC tăng và đạt cao nhất khi dịch giảm 90% khối lượng; TPC và TEAC tiếp tục tăng và đạt cao nhất khi dịch trích giảm 92,5% khối lượng. Chất lượng của các hợp chất mang hoạt tính sinh học là không đổi khi tiếp tục cô quay cho đến 95% độ giảm khối lượng.

Tóm lại, độ giảm khối lượng 92,5% cho nồng độ và hoạt tính sinh học của các hợp phần hòa tan là cao nhất, là thời điểm tích hợp để thu nhận cao chiết từ vỏ bưởi.

#### 4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xây dựng được điều kiện trích ly và cô quay chân không thích hợp để thu nhận cao chiết từ vỏ bưởi Da Xanh giàu các hợp phần hòa tan mang hoạt tính sinh học. Quá trình trích ly được xây dựng theo phương pháp tách ép công nghiệp phù hợp trên nguyên liệu tươi, cải biến lại thông qua thay đổi dung môi trích ly hỗ trợ là nước bằng ethanol 40° nhằm đảm bảo được chất lượng của dịch trích sau khi đuổi dung môi là tốt nhất. Sự thay đổi đặc tính của các hợp phần mang hoạt tính sinh học trong quá trình đuổi dung môi cũng lần đầu được ghi nhận ở 2 giai đoạn, một giai đoạn làm giảm hoạt tính sinh học và một giai đoạn làm tăng hoạt tính sinh học của dịch trích. Đồng thời ghi nhận được chế độ cô quay tại áp suất tuyệt đối 160-180 mBar cho đến khi mất đi 92,5% khối lượng dịch trích (72,5°Brix, tỉ trọng 1,265) để thu nhận cao chiết từ vỏ bưởi Da Xanh có nồng độ chất khô hòa tan, TPC, TFC và TEAC là cao nhất.

#### LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được thực hiện thông qua sự tài trợ kinh phí từ đề tài nghiên cứu khoa học cấp Bộ (Bộ Giáo dục và Đào tạo) “Nghiên cứu hoạt chất sinh học của vỏ trái bưởi miền Tây Nam Bộ và ứng dụng sản xuất trà vỏ bưởi hỗ trợ bảo vệ sức khỏe” (mã số: B2020-TCT-01).

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

Ali, M. Y., Rumpa, N. E. N., Paul, S., Hossen, M. S., Tanvir, E. M., Hossan, T., Saha M., Alam N., Karim N., Khalil M. I. & Gan, S. H. (2019). Antioxidant potential, subacute toxicity, and beneficiary effects of methanolic extract of pomelo (*Citrus grandis* L. Osbeck) in long evan rats. *Journal of Toxicology*, 2019, 1 – 12.

Belščak-Cvitanović, A., Durgo, K., Huđek, A., Bačun-Družina, V., & Komes, D. (2018). Overview of polyphenols and their properties.

*Polyphenols: Properties, recovery, and applications*: 3-44. Woodhead Publishing.

Bùi Thị Bửu Huệ và Nguyễn Văn Đạt. (2014). *Hóa học đại cương*. Nhà xuất bản Đại học Cần Thơ, 204 tr.

Chmelová, D., Ondrejovič, M., Havlento, M., & Hozlár, P. (2015). Antioxidant activity in naked and hulled oat (*Avena sativa* L.) varieties. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 4(3), 63–65.

Đỗ Thị Thúy Vy, Trần Thanh Trúc & Nguyễn Văn Mười. (2020). Ảnh hưởng của nồng độ ethanol và tỉ lệ dung môi sử dụng đến hiệu quả trích ly các hợp chất có khả năng kháng oxy hóa từ bột vỏ bưởi Năm Roi. *Tạp chí Công thương*, 24, 51-56.

Evans, W. C. (2002). Trease and Evans Pharmacognosy. 15th edition. *Edinburgh, Saunders*, 249.

Fayek, N. M., El-Shazly, A. H., Abdel-Monem, A. R., Moussa, M. Y., Abd-Elwahab, S. M., & El-Tanbouly, N. D. (2017). Comparative study of the hypocholesterolemic, antidiabetic effects of four agro-waste Citrus peels cultivars. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 27(4), 488-494.

Gattuso, G., Barreca, D., Gargiulli, C., Leuzzi, U., & Caristi, C. (2007). Flavonoid composition of citrus juices. *Molecules*, 12(8), 1641–1673.

Khan, M. K., Abert-Vian, M., Fabiano-Tixier, A. S., Dangles, O., & Chemat, F. (2010). Ultrasound-assisted extraction of polyphenols from orange (*Citrus sinensis* L.) peel. *Food Chemistry*, 119 (2), 851–858.

Lê Phạm Tấn Quốc. (2019). Nghiên cứu trích ly polyphenol từ củ hà thủ ô đỏ (*Polygonum multiflorum* Thunb.) và ứng dụng trong thực phẩm. Luận án tiến sĩ ngành Công nghệ thực phẩm, Đại học Cần Thơ.

Liu, Y., Heying, E., & Tanumihardjo, S. A. (2012). History, global distribution, and nutritional importance of citrus fruits. *Comprehensive reviews in Food Science and Food safety*, 11(6), 530-545.

Mandal, S., Patra, A., Samanta, A., Roy, S., Mandal, A., Mahapatra, T.D., Pradhan, S., Das, K. & Nandi, D. K. (2013). Analysis of phytochemical profile of Terminalia arjuna bark extract with antioxidative and antimicrobial properties. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(12), 960–966.

Nguyễn Bá Tĩnh. (2004). Tuệ Tĩnh toàn tập. Nhà xuất bản Y học, 496 tr.

Lv, H. P., Zhang, Y. J., Lin, Z., & Liang, Y. R. (2013). Processing and chemical constituents of Pu-erh tea: a review. *Food Research International*, 53(2), 608-618.

Nguyễn Hoài Thương, Nguyễn Trọng Tuấn, Nguyễn Thế Duy, Nguyễn Ngọc Tú Uyên, Nguyễn Trần Anh Thư, Lê Thị Ngọc Thảo & Phan Văn Sang.

- (2014). Qui trình tối ưu chiết xuất naringin từ vỏ quả bưởi *Citrus maxima*. *Tạp chí Khoa học – ĐHQG Hà Nội*, vol. 30.
- Nooshkam, M., Varidi, M., & Bashash, M. (2019). The Maillard reaction products as food-born antioxidant and antibrowning agents in model and real food systems. *Food chemistry*, 275, 644-660.
- Phạm Trần Bảo Nghi, Trương Hoài Vương, Nguyễn Văn Mười & Trần Thanh Trúc. (2019). Ảnh hưởng của mức độ chín và điều kiện trích ly bằng phương pháp ngâm trích đến hiệu quả thu nhận polyphenol từ vỏ chuối xiêm. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp 2019*, 2, 1295-1304.
- Pichaiyongvongdee, S. & Haruenkit, R. (2009). Comparative studies of limonin and naringin distribution in different parts of pummelo (*Citrus grandis* (L.) Osbeck) cultivars grown in Thailand. *Kasetsart Journal of Natural Science*, 43(1), 28-36.
- Putnik, P., Kovačević, B. D., Jambrak R. A., Barba, F. J., Cravotto, G., Binello, A., Lorenzo J. M. & Shpigelman, A. (2017). Innovative “green” and novel strategies for the extraction of bioactive added value compounds from citrus wastes A review. *Molecules*, 22(5), 680-704.
- Reeve, B., 1974. Process for the preparation of an instant tea powder. *U.S. Patent No. 3,821,440*. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office, 9 pp.
- Siddiqua A, Premakumari K. B., Sultana R & Vithya, S. (2010). Antioxidant activity and estimation of total phenolic content of *Muntingia calabura* by colorimetry. *International Journal of ChemTech Research*, 2(1), 205-208.
- Siniija, V. R., H. N. Mishra & S. Bal (2007). Process technology for production of soluble tea powder. *Journal of Food Engineering*, 82(3), 276-283.
- Trần Tuyết Mai, Trần Thanh Trúc, Nguyễn Văn Mười & Tô Nguyễn Phước Mai. (2020). Đặc điểm hình thái và tính chất hóa lý của 4 giống bưởi tại đồng bằng sông Cửu Long. *Tạp chí Công thương*, 24, 57-64.
- Trần Xoa, Nguyễn Trọng Phương & Hồ Lê Viên (2006). *Sổ tay quá trình và thiết bị công nghệ hóa chất* (tái bản lần hai). Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, 631 tr.
- Võ Tấn Thành & Vũ Trường Sơn. (2013). *Kỹ thuật thực phẩm P. 2*. Nhà xuất bản Đại học Cần Thơ, 200 tr.
- Xi, J., Shen, D., Zhao, S., Lu, B., Li, Y., & Zhang, R. (2009). Characterization of polyphenols from green tea leaves using a high hydrostatic pressure extraction. *International Journal of Pharmaceutics*, 382(1-2), 139-143.