

TÁCH CHIẾT, TINH SẠCH PECTIN VÀ ĐIỀU CHẾ DẪN XUẤT CHLOROPHYLLIN TAN TRONG NƯỚC TỪ LÁ DÂY HOÀNG THANH *Cocculus sarmentosus* (Lour.) Diels.

Tạ Duy Tiên¹, Dương Thị Hương Giang¹ và Phan Thị Bích Trâm²

ABSTRACT

In this study, the extraction conditions of pectin from Cocculus sarmentosus (Lour.) Diels) leaves were examined. The highest yield of pectin was 9.63 % in the extraction condition of hot-acidic water (pH = 3 at 85°C). The pectin product is of 78.51% purity with 77.53% esterification degree. The water-soluble sodium-copper-chlorophyllin, synthesized from chlorophyll by-product of pectin extraction, was achieved with 89.68% of purity. Both pectin and chlorophyllin obtained products can be used in food processing.

Keywords: *Cocculus sarmentosus (Lour.) Diels, pectin, chlorophyll, chlorophyllin derivative, esterification degree*

Title: *Extraction, purification of pectin and refinement of water-soluble chlorophyllin derivative from Cocculus sarmentosus (Lour.) Diels. leaves*

TÓM TẮT

Đề tài nghiên cứu nhằm khảo sát các điều kiện chiết xuất và tinh sạch pectin từ lá dây hoàng thanh Cocculus sarmentosus (Lour.) Diels. Hiệu suất pectin thu được cao nhất là 9,63% trong điều kiện tách chiết là dung môi nước có pH = 3 ở 85°C. Sản phẩm nhận được có hàm lượng pectin khoảng 78,51%, với tỷ lệ ester hóa là 77,51%. Dẫn xuất Na-Cu-Chlorophyllin tan trong nước được nghiên cứu điều chế từ sản phẩm phụ là chlorophyll trong quy trình tách chiết pectin có độ tinh sạch là 89,68%. Cả hai sản phẩm pectin và chlorophyllin nhận được đều có thể ứng dụng trong chế biến thực phẩm.

Từ khóa: *Cocculus sarmentosus (Lour.) Diels, pectin, chlorophyll, dẫn xuất chlorophyllin, tỷ lệ ester hóa*

1 ĐẶT VẤN ĐỀ

Pectin là hợp chất tạo gel có nguồn gốc từ thực vật bậc cao, được ứng dụng rộng rãi trong công nghệ thực phẩm. Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra những tác dụng có lợi của pectin đến sức khỏe con người như có thể làm hạ mức độ đường và cholesterol trong máu (Behall *et al.*, 1986), đặc biệt là hoạt tính chống ung thư đã được nghiên cứu ở chuột (Nangia-Makker *et al.*, 2002). Các nguồn pectin dồi dào trong tự nhiên là bã táo, vỏ quả của cây có múi (citrus) (Joye *et al.*, 2000), đây là những nguồn chính phục vụ cho sản xuất pectin trong công nghiệp.

Dây hoàng thanh, có tên khoa học là *Cocculus sarmentosus* (Lour.) Diels., thuộc họ Menispermaceae, bộ Rannunculales, lớp Magnoliopsida, ngành Magnoliophyta (Phạm Hoàng Hộ, 1999). Đây là loài dây leo mọc hoang, lá được sử dụng bằng cách vò với nước và hỗn hợp sẽ đông lại thành dạng thạch sau vài giờ do trong lá

¹ Viện Nghiên Cứu & Phát Triển Công Nghệ Sinh Học

² Bộ môn Sinh Lý - Sinh Hóa, Khoa Nông Nghiệp và Sinh Học Ứng Dụng

chứa hàm lượng pectin cao. Vì vậy có thể nghiên cứu, xây dựng quy trình tách chiết pectin từ lá dây hoàng thanh.

Trong quy trình này, chlorophyll là một sản phẩm phụ hiện diện với hàm lượng tương đối cao. Nguồn chlorophyll có thể tận dụng để điều chế dẫn xuất chlorophyllin tan trong nước, một chất phụ gia thực phẩm có nguồn gốc thiên nhiên thay cho phẩm màu hóa học, được sử dụng phổ biến trên thế giới. Yêu cầu khảo sát các điều kiện tách chiết chlorophyll và thiết lập quy trình điều chế dẫn xuất chlorophyllin là cần thiết.

2 PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1 Phương tiện thí nghiệm

Thí nghiệm được tiến hành tại phòng Công nghệ Enzyme, Viện Nghiên Cứu và Phát Triển Công nghệ Sinh Học trường Đại Học Cần Thơ.

2.1.1 Nguyên liệu

Chuẩn bị bột lá:

Lá dây hoàng thanh được thu ở một số nhà vườn tại thành phố Cần Thơ. Lá được chọn có kích thước to và tương đối đồng đều, không quá già hoặc quá non, không sâu bệnh, vẫn còn xanh đều. Lá được rửa sạch bụi, để ráo nơi tối, trữ trong túi ni lông và giữ ở nhiệt độ 5 – 8°C đến khi về phòng thí nghiệm. Sau đó lá được sấy ở nhiệt độ 50 – 55°C đến khi độ ẩm đạt dưới 8%. Nghiền mịn lá và trữ trong túi ni lông kín, trong tối, ở nhiệt độ -20°C.

2.1.2 Hóa chất

Acetone (Trung Quốc), Methanol (Trung Quốc), HCl (Trung Quốc), Celit-Supercell (Merck), Ethanol (Trung Quốc), AgNO₃ (Merck), NaOH (Trung Quốc), CuSO₄ (Merck).

2.2 Phương pháp phân tích

2.2.1 Xác định thành phần chlorophyll trong lá dây hoàng thanh

Hàm lượng chlorophyll a và chlorophyll b trong lá được xác định theo phương pháp của AOAC (2000).

2.2.2 Trích ly và tinh sạch pectin

Bột lá dây hoàng thanh được xử lý với acetone 90% theo tỉ lệ 1:100 (w/v) thu được hai phần: phần rắn đem lọc, rửa, sấy khô để trích pectin, phần lỏng chứa sắc tố dùng để tách chlorophyll. Bột lá đã tách sắc tố được huyền phù trong dung dịch HCl ở các pH và nhiệt độ khác nhau để tách chiết pectin. Dung dịch pectin được làm nguội và lọc rút chân không 3 lần qua phễu Buchner có phủ một lớp Celit-Supercel với tỷ lệ mẫu:Celit-Supercel = 1:15 (w/w). Tủa pectin bằng ethanol 96% với tỷ lệ 1:2 (v:v) ở 4°C, qua đêm. Lọc lấy tủa và ngâm tủa trong ethanol 80%, sau đó rửa lại bằng ethanol 96% 3 lần để loại bỏ hoàn toàn ion Cl⁻ (kiểm tra bằng dung dịch AgNO₃ 1%). Tủa sau đó được đông khô.

Hiệu suất tách chiết pectin được tính trên lượng sản phẩm thu nhận được chia cho trọng lượng lá sử dụng (đã được sấy đến độ ẩm dưới 8%) nhân 100. Nồng độ polyphenol trong dịch trích pectin được xác định một cách tương đối bằng độ hấp thụ ánh sáng của dung dịch ở bước sóng 330 nm (Fahey *et al.*, 1989).

2.2.3 *Khảo sát các yếu tố pH, nhiệt độ và sự tương tác giữa các yếu tố này trong quá trình tách chiết pectin*

- Khảo sát ảnh hưởng của pH lên quá trình tách chiết pectin ở 7 mức độ pH: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7. Thí nghiệm lập lại 3 lần với 21 đơn vị thí nghiệm.
- Khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ lên quá trình tách chiết pectin ở 5 mức độ: 25°C, 65°C, 75°C, 85°C, 95°C. Thí nghiệm lập lại 3 lần với 15 đơn vị thí nghiệm.
- Khảo sát tương tác giữa pH và nhiệt độ lên quá trình tách chiết pectin; nhân tố pH có 3 mức độ: pH 1, pH 3 và pH 5; nhân tố nhiệt độ có 3 mức độ: 75°C, 85°C, 95°C. Thí nghiệm lập lại 3 lần với 27 đơn vị thí nghiệm.

Chỉ tiêu khảo sát trong các thí nghiệm trên là hiệu suất tách chiết và hàm lượng polyphenol trong dịch trích.

2.2.4 *Khảo sát tính chất pectin*

Xác định một số tính chất của pectin từ lá dây hoàng thanh sau khi tách chiết, bao gồm: hàm lượng pectin, hàm lượng acid galacturonic và tỷ lệ ester hóa.

Hàm lượng pectin trong sản phẩm được xác định bằng phương pháp Calci pectate (Nguyễn Văn Mùi, 2001). Hàm lượng acid galacturonic trong sản phẩm pectin theo phương pháp được xác định theo Taylor và Buchanan-Smith (1992). Tỷ lệ ester hóa được tính toán dựa trên hàm lượng acid galacturonic và lượng NaOH cần dùng để xà phòng hóa hoàn toàn pectin.

2.2.5 *Điều chế dẫn xuất Na-Cu- chlorophyllin tan trong nước*

Quy trình được đề xuất dựa trên quy trình sản xuất dẫn xuất chlorophyllin tan trong nước từ cỏ alfalfa của Kephart (1955). Dung dịch chlorophyll đã trích ly được xà phòng hóa bằng NaOH 0,1 N trong methanol để loại béo. Tủa chlorophyllin bằng acetone 100%. Ly tâm với tốc độ 5000 vòng/phút, lấy tủa, rửa nhiều lần bằng acetone 100%. Hòa tan lại tủa trong acetone 65%. Tách lấy lớp acetone bên dưới và thu hồi, còn lại dung dịch Na-Mg-chlorophyllin. Phối trộn dung dịch chlorophyllin nhận được với CuSO₄ 20 mM theo tỉ lệ 1:3 ở pH và nhiệt độ thích hợp. Tủa thu nhận được lọc và rửa bằng nước cất nhiều lần để loại lượng CuSO₄ thừa (kiểm tra bằng NaOH 0,1 M và BaCl₂ 1%). Tủa được huyền phù trong nước cất, chỉnh pH về kiềm bằng NaOH cho đến khi tan hoàn toàn. Dung dịch được đông khô, bột Cu-chlorophyllin thu nhận được kiểm tra chất lượng theo phương pháp của FAO (2006).

Các chỉ tiêu khảo sát:

- Xác định điều kiện nhiệt độ và pH môi trường thích hợp cho phản ứng tạo dẫn xuất Na-Cu-chlorophyllin bền, tan trong nước.
- Thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên, 2 nhân tố là nhiệt độ và pH. Nhân tố nhiệt độ có 3 mức độ là 25°C, 45°C, 65°C; nhân tố pH có 5

mức độ là pH 2, 3, 4, 5 và 6. Thí nghiệm lặp lại 3 lần với 45 đơn vị thí nghiệm. Chỉ tiêu đánh giá là hàm lượng Na-Cu-chlorophyllin thu được.

- Kiểm tra một số tính chất của sản phẩm Na-Cu-Chlorophyllin như: tính tan, độ hấp thu ánh sáng ở bước sóng từ 400 - 410nm và độ tinh sạch.

Số liệu của các thí nghiệm được phân tích thống kê bằng phần mềm STATGRAPHICS 15.0 và vẽ biểu đồ bằng phần mềm Microsoft Excel 2003.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Thành phần chlorophyll trong lá dây hoàng thanh

Kết quả nghiên cứu cho thấy tỷ lệ giữa chlorophyll a và chlorophyll b trong lá dây hoàng thanh trung bình là 2,24 : 1 (bảng 1). Kiểm định χ^2 cho thấy tỷ lệ này thấp hơn so với tỷ lệ 3 : 1 như Lê Ngọc Tú (2005) và MacDougall (2000) đã đề cập; bước xử lý nhiệt có thể làm phân hủy một lượng nhỏ Chl a do tính nhạy cảm với nhiệt cao hơn Chl b (MacDougall, 2000). Hàm lượng chlorophyll tổng qua khảo sát khá cao, đạt 0,85% trọng lượng khô, thích hợp để làm nguồn trích ly chlorophyll.

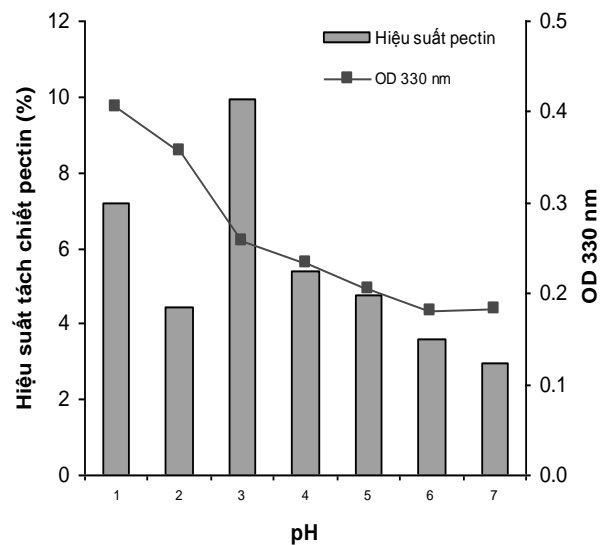
Bảng 1: Hàm lượng chlorophyll trong lá dây hoàng thanh

Hàm lượng chlorophyll	mg/gam chất khô
Chlorophyll a	5,91
Chlorophyll b	2,64
Chlorophyll tổng	8,54
Tỷ lệ Chl a : Chl b	2,24

3.2 Ảnh hưởng của pH và nhiệt độ lên quy trình tách chiết pectin

3.2.1 Ảnh hưởng của pH

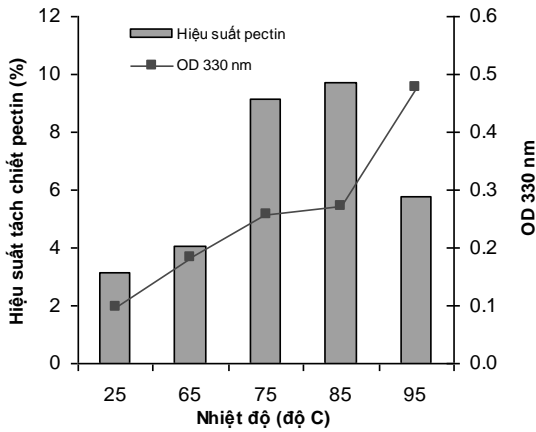
Kết quả khảo sát (hình 1) cho thấy hiệu suất chiết xuất pectin cao nằm trong vùng pH axit (pH 3), tương tự với các kết quả nghiên cứu của Joye *et al.* (2000), và tài liệu của Lê Ngọc Tú (2005). Trong môi trường pH axit các liên kết giữa các mạch polysaccharide trong vách tế bào bị phá vỡ do đó pectin được ly trích dễ dàng hơn. Ở pH 3, hiệu suất pectin thu được là cao nhất (9,92%), ở pH axit mạnh hơn (pH 1 và 2) các liên kết trong chuỗi polygalacturonic axit có thể bị phân cắt dẫn đến hiệu suất thu được thấp hơn. Song song khảo sát nồng độ polyphenol trong dịch trích qua lọc trên quang phổ kế ở bước sóng 330nm cho thấy, khi pH tăng lượng polyphenol trong dịch trích giảm. Tuy nhiên ở giá trị pH 3 lượng polyphenol ở mức độ trung bình, không cao như ở



Hình 1: Ảnh hưởng của pH lên hiệu suất tách chiết pectin và hàm lượng polyphenol

pH 1 và 2 (hình 1). Điều này cho thấy môi trường nước axit pH 3 thích hợp cho chiết xuất pectin.

3.2.2 Ảnh hưởng của nhiệt độ



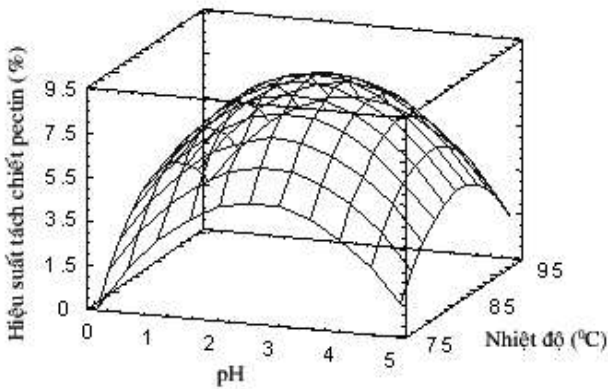
Hình 2: Ảnh hưởng của nhiệt độ lên hiệu suất tách chiết pectin và hàm lượng polyphenol

Kết quả nghiên cứu (hình 2) cho thấy hiệu suất chiết xuất pectin cao nhất trong khoảng nhiệt độ 75°C – 85°C. Một điều cần lưu ý là màu của dung dịch pectin lại sậm hơn khi nhiệt độ tăng, đó là do tác dụng không mong muốn của phản ứng Maillard và phản ứng caramel hóa. Theo Ozdemir (2000) các phản ứng phụ này diễn ra rất nhanh trong môi trường axit. Bên cạnh đó, nồng độ polyphenol trong dịch trích cũng tăng theo nhiệt độ tách chiết và cao nhất ở 95°C. Tuy nhiên trong khoảng nhiệt độ 75°C- 85°C nồng độ polyphenol trung bình và không biến động nhiều, vì vậy có thể xem nhiệt độ này là nhiệt độ

thích hợp cho quá trình chiết xuất pectin.

3.2.3 Tương tác giữa pH và nhiệt độ

$$-230,161+5.2826*x+5.3909*y-0.744792*x^2-0.0310417*y^2-0.0171875*x*y$$



Hình 3: Đồ thị biểu diễn sự tương quan giữa hiệu suất pectin và hai nhân tố pH và nhiệt độ tách chiết

Phân tích thống kê cho thấy có sự tương tác giữa hai nhân tố pH và nhiệt độ. Hiệu suất tách chiết pectin cao nhất ở trong khoảng pH 2-3 và nhiệt độ trong khoảng 85 – 90°C (hình 3), tương tự với các kết quả khảo sát riêng từng nhân tố. Phương trình hồi quy giữa hiệu suất tách chiết pectin với pH và nhiệt độ với hệ số tương quan R = 0,96 cho thấy chúng có mối tương quan khá chắc chắn.

Đối với nồng độ polyphenol, sự tương tác giữa pH và nhiệt độ

cũng có ảnh hưởng khá rõ rệt, lượng polyphenol tách ra cùng với pectin cao ở giá trị pH thấp và nhiệt độ cao (bảng 2). Tuy pH thấp và nhiệt độ cao là các yếu tố hạn chế sự hóa nâu của sản phẩm do enzyme polyphenol oxidase bị ức chế, nhưng môi trường axit sẽ thuận lợi cho phản ứng hóa nâu phi enzyme thông qua sự oxy hóa hợp chất polyphenol. Hàm lượng polyphenol còn liên quan đến khả năng tạo gel của pectin (Arkarapanthu *et al.*, 2005), nên cần giảm đến mức tối thiểu để tránh sự tự tạo gel của dung dịch tách chiết. Hiệu suất pectin đạt 9,63% cho thấy hàm lượng pectin trong lá dây hoàng thanh khá cao, tương đương với vỏ cam quýt khi tách chiết ở cùng điều kiện (Lê Ngọc Tú (2005); Cho *et al.* (2003)).

3.2.4 Một số tính chất của sản phẩm pectin

Bảng 2: Độ hấp thu của dung dịch pectin tách chiết ở các nhiệt độ và pH khác nhau

Nh.độ (°C) pH	Độ hấp thu ở bước sóng 330 nm		
	75	85	95
1	0.401	0.244	0.372
3	0.221	0.280	0.265
5	0.352	0.281	0.289

Sản phẩm pectin thu được ở dạng bột mịn, màu vàng nhạt tan tốt trong nước cho dung dịch có tính nhớt.

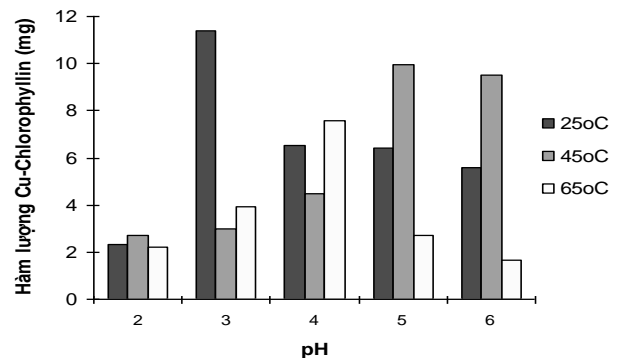
Hàm lượng acid galacturonic trong sản phẩm cao hơn so với pectin trong vỏ quýt (Cho *et al.*, 2003). Tỷ lệ ester hóa của pectin trong lá dây hoàng thanh cao hơn so với pectin trong một số nguồn khác như lá dây sâm lông *Cyclea barbata* (Arkarapanthu *et al.*, 2005) và bã táo (Canteri-Schemin *et al.*, 2005) (bảng 2).

Bảng 3: Tính chất của pectin ly trích từ một số nguồn thông dụng

Nguồn pectin	Dây hoàng thanh	Sâm lông C. barbata	Vỏ quýt	Bã táo
Hàm lượng acid galacturonic (%)	77,53	70 - 75	68,0 – 72,2	-
Tỷ lệ ester hóa (%)	77,11	66,3 (methyl hóa)	-	68,84 (methyl hóa)
Tính nhớt	Có	Có	Có	Có
Methyl hóa	Cao	Cao	Thấp	Cao
Độ tinh sạch	78.51%	-	-	-

3.3 Xà phòng hóa chlorophyll và tạo dẫn xuất Cu-chlorophyllin

Phản ứng xà phòng hóa với NaOH có tác dụng cắt đứt chuỗi phytol trong phân tử chlorophyll, tạo ra sodium chlorophyllate hay Na-Mg-Chlorophyllin không tan trong acetone, nhưng tan tốt trong nước. Tuy nhiên phức Na-Mg-chlorophyllin không bền, dễ bị phân hủy dưới tác dụng của nhiệt độ và ánh sáng và làm mất màu xanh đặc trưng cho chlorophyll. Sự thay thế ion Mg²⁺ bằng ion Cu²⁺ trong phức hợp sẽ tạo hợp



Hình 4: Hàm lượng Cu-chlorophyllin thu được ở những điều kiện nhiệt độ và pH khác nhau

chất chlorophyllin có độ bền màu cao và tan tốt trong môi trường nước.

Theo Kephart (1955), phản ứng tạo phức giữa ion Cu^{2+} và vòng porphyrin diễn ra trong môi trường axit nóng. Tuy nhiên kết quả khảo sát cho thấy phản ứng này có thể diễn ra tốt ở môi trường có pH thấp (pH = 3) và ở nhiệt độ phòng (25°C), hay trong môi trường pH axit yếu (pH = 5-6) và nhiệt độ cao hơn (45°C) (hình 4).

Sản phẩm Na-Cu-chlorophyllin sau khi đông khô ở dạng bột mịn có màu xanh đen, dễ hút ẩm, các tính chất về cảm quan và vật lý đáp ứng một số yêu cầu theo trong chuyên khảo của tổ chức FAO (2006) (bảng 4).

Bảng 4: Một số tính chất của sản phẩm Na-Cu-chlorophyllin

Tính chất	
Tính tan	
- Trong nước	Tan hoàn toàn
- Trong cồn (dưới 60 ⁰)	Tan hoàn toàn
- Trong acetone, diethylether	Không tan
Màu sắc dung dịch trong nước	Xanh lục
pH dung dịch trong nước	9,5 – 10,5
Độ hấp thu ánh sáng	401 - 410 nm (cực đại ở 405 nm)
Độ tinh sạch	89,68%

4 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

Có thể sử dụng dây hoàng thanh *Cocculus sarmentosus* để làm nguồn chiết xuất pectin do hàm lượng pectin trong lá khá cao (9,63%) tương đương với vỏ cam quýt. Sản phẩm pectin có mức độ ester hóa là 77,11%, thuộc loại pectin methyl hóa cao.

Sản phẩm phụ trong qui trình chiết xuất pectin là chlorophyll có thể được tận dụng để điều chế sản phẩm Na-Cu-chlorophyllin. Bột chlorophyllin nhận được tan tốt trong nước, rất bền màu, độ tinh sạch 90%, sản phẩm này đạt một số yêu cầu về chất lượng của FAO. Tuy nhiên cần xác định hàm lượng của các kim loại nặng để có thể khẳng định về mặt an toàn thực phẩm của sản phẩm.

Cần tiến hành nghiên cứu điều chế pectin có tỷ lệ methyl hóa thấp hơn; khảo sát khả năng tạo gel của pectin so sánh với các gel thương mại khác như agar, gelatin, alginate; xét nghiệm các chỉ tiêu an toàn thực phẩm trước khi đưa sản phẩm vào ứng dụng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- AOAC. 2000. Official Methods of Analysis, 17th ed., in Horwitz (Eds.). Vol.I, chapter 3: 27-29. Association of Official Analytical Chemists, Washington DC.

- Arkarapanthu, A., Chavasit, V., Sungpuag, P., and Phuphathanaphong L.. 2005. Gel extracted from Khrua-ma-noi (*Cyclea barbata* Miers.) leaves: chemical composition and gelation properties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85:1741–1749.
- Behall, K. and Reiser, S. 1986. Effects of pectin on human metabolism, in Fishman, M. L., and Ren, J. J. (Eds.), *Chemistry and functions of pectins*, 248–265. Washington, DC: American Chemical Society.
- Canteri-Schemin, M. H., Fertonani, H. C. R., Waszczynskyj N., and Wosiacki G. 2005. Extraction of Pectin From Apple Pomace. *Brazilian Archives of Biology And Technology*, 48, 2: 259-266.
- Cho, C. W., Lee, D. Y, Kim, C. W.. 2003. Concentration and purification of soluble pectin from mandarin peels using crossflow microfiltration system. *Carbohydrate Polymers*, 54: 21–26.
- Fahey, G. J. and Jung, H-JG. 1989. Phenolic compounds in forages and fibrous feedstuffs. in *Phenolics*, ed by Cheeke PR, 123-176. CRC Press. Boca Raton, USA.
- FAO. 2006. Analytical methods, test procedures and laboratory solutions used by and referenced in the food additive specifications. *FAO JECFA Monographs 1*, vol. 4.
- Phạm Hoàng Hộ. 1999. *Cây cỏ Việt Nam*, Quyển I. Nhà xuất bản Trẻ, Việt Nam.
- Joye, D. D., Luzio, G. A.. 2000. Process for selective extraction of pectins from plant material by differential pH. *Carbohydrate Polymers*, 43: 337–342.
- Kephart, J. C.. 1955. Chlorophyll Derivatives - Their Chemistry, Commercial Preparation and Uses. *Economic Botany*, 9:3-38.
- Lê Ngọc Tú, La Văn Chứ, Đặng Thị Thu, Nguyễn Thị Thịnh, Bùi Đức Hợi, Lê Doãn Diên. 2005. *Hóa sinh công nghiệp*, 154-158. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, Việt Nam.
- MacDougall, D. B.. 2000. *Colour in food: Improving quality*. CRC Press LLC, Corporate Blvd, NW, USA.
- Nangia-Makker, P., Hogan,V., Honjo,Y., Baccarini,S., Tait, L., Bresalier,R., Raz, A.. 2002. Inhibition of Human Cancer Cell Growth and Metastasis in Nude Mice by Oral Intake of Modified Citrus Pectin. *Journal of the National Cancer Institute*, 94, 24: 1854-1862.
- Nguyễn Văn Mùi. 2001. *Thực hành hóa sinh học*. Nhà xuất bản Đại học Quốc gia Hà Nội.
- Ozdemir, M. 2000. Foods browning and its control. *Okyanus Danismanlik Sayfa* 1:1–14.
- Taylor, K. A. and Buchanan-Smith, J. G.. 1992. A colorimetric method for the quantification of uronic acids and a specific assay for galacturonic acid. *Analytical Biochemistry*, 201: 190–196.