

Cô lập hợp chất (2S)-naringin từ vỏ quả bưởi non thu hái tại huyện Châu Thành, tỉnh Tiền Giang

Nguyễn Khánh Hưng¹, Nguyễn Hoàng Phương Thanh¹, Nguyễn Thị Thùy Luyện², Bùi Thị Thúy Lan¹, Nguyễn Huy Du^{1,3,*}



Use your smartphone to scan this QR code and download this article

¹Khoa Hóa học, Trường ĐH Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM, Việt Nam

²Khoa Địa chất, Trường ĐH Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM, Việt Nam

³Phòng Thí nghiệm Phân tích Trung tâm, Trường ĐH Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM, Việt Nam

Liên hệ

Nguyễn Huy Du, Khoa Hóa học, Trường ĐH Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM, Việt Nam

Phòng Thí nghiệm Phân tích Trung tâm, Trường ĐH Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM, Việt Nam

Email: nhdu@hcmus.edu.vn

Lịch sử

- Ngày nhận: 15-12-2022
- Ngày chấp nhận: 13-6-2022
- Ngày đăng: 30-6-2022

DOI: 10.32508/stdjns.v6i2.1156



Bản quyền

© ĐHQG Tp.HCM. Đây là bài báo công bố mở được phát hành theo các điều khoản của the Creative Commons Attribution 4.0 International license.



TÓM TẮT

Với sản lượng bưởi hàng năm lên tới 800.000 tấn, việc cô lập hợp chất naringin từ vỏ bưởi đang được quan tâm đầu tư nghiên cứu. Quả bưởi non, được thái loại trong quá trình trồng trọt, cũng có thể được xem là một nguồn nguyên liệu tiềm năng cho quá trình cô lập hợp chất naringin. Kết quả phân tích vỏ bưởi bằng phương pháp RP-HPLC-UV cho thấy hàm lượng, hiệu suất cô lập, độ tinh khiết hóa học của hợp chất naringin trong vỏ bưởi đều giảm mạnh theo độ trưởng thành của quả bưởi. Cụ thể, nghiên cứu đã nhận thấy độ tinh khiết hóa học (% naringin) giảm theo độ tuổi của quả: vỏ bưởi non (từ 7-15 ngày tuổi) cho ra sản phẩm naringin có chứa tới 92.3% naringin, trong khi % sản phẩm naringin được cô lập từ vỏ bưởi chín (lớn hơn 90 ngày tuổi) chỉ có 53.3% naringin. Hơn thế nữa, bằng phương pháp phân tích HPLC, sử dụng cột sắc ký thủ tính, mức độ tiêu triển tại vị trí C-2 của hợp chất naringin cô lập từ vỏ quả bưởi tăng nhanh (đối phân 2S bị chuyển thành đối phân 2R) theo độ trưởng thành của quả bưởi. Vỏ quả bưởi non (quả có ngày tuổi từ 7–15 ngày) có lượng thừa một loại đối phân (% ee) của (2S)-naringin là +79,3%, trong khi đó, vỏ quả bưởi chín (quả có ngày tuổi lớn hơn 90 ngày) có % ee của (2S)-naringin là -2,2%. Kết quả nghiên cứu cho thấy vỏ quả non của giống bưởi lồng cổ cò, thu hái tại huyện Châu Thành, tỉnh Tiền Giang, có thể là nguồn nguyên liệu tiềm năng để cô lập hợp chất naringin có độ tinh khiết cao, góp phần tăng thêm giá trị kinh tế cho ngành trồng bưởi ở Việt Nam, nói chung.

Từ khóa: Vỏ bưởi, Citrus grandis (L) Osbeck, naringin, lượng thừa một loại đối phân (% ee), HPLC-UV, sắc ký sử dụng cột thủ tính

MỞ ĐẦU

Naringin là một hợp chất flavonoid thực vật, được sinh tổng hợp theo con đường phenylpropanoid thông qua bảy bước xúc tác của enzyme, từ phenylalanine đến prunin¹. Naringin đã được chứng minh là có khả năng chống oxy hóa², chống viêm và kháng u³; và có các hoạt tính sinh học giúp chữa bệnh hen suyễn, tăng lipid máu, tiểu đường, khối u, cường giáp và giúp tái tạo xương^{4,5}. Dựa trên nghiên cứu được báo cáo về thử nghiệm naringin trên động vật cho thấy naringin có thể được sử dụng để điều trị các rối loạn chuyển hóa ở người^{1,6}. Bên cạnh đó, các flavonoid như naringin đang được nghiên cứu kết hợp vào trong các phân tử thuốc đa mục tiêu⁵. Như vậy, naringin có tầm quan trọng trong lĩnh vực y dược và thực phẩm trong cả hiện tại và tương lai.

Với sản lượng bưởi lên đến 800.000 tấn/năm theo thống kê của Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn (2020), do đó, vỏ bưởi chín đang là một nguồn phế phẩm nông nghiệp dồi dào ở Việt Nam. Theo kinh nghiệm canh tác, ước tính cần loại bỏ 5–10 trái bưởi non để cho một trái bưởi có thể sinh trưởng đạt kích

cỡ đạt chất lượng, vì vậy, trái bưởi non đang là một nguồn phế phẩm nông nghiệp tiềm năng. Theo Yao và các cộng sự (2018)⁷, vỏ bưởi non chứa naringin với hàm lượng cao, chủ yếu là đối phân (2S)-naringin, và theo độ tăng trưởng của trái bưởi, đối phân này chuyển đổi thành dạng (2R)-naringin, do đó, vỏ bưởi non có tiềm năng là một nguồn nguyên liệu để sản xuất naringin. Tuy nhiên, hiện nay chưa có nghiên cứu nào đánh giá tổng thể hiệu quả kinh tế của việc cô lập naringin từ vỏ bưởi non, nhất là bưởi của Việt Nam.

Bài báo trình bày việc cô lập hợp chất naringin từ các mẫu vỏ bưởi có độ tuổi khác nhau theo phương pháp đơn giản nhất (có hiệu quả kinh tế), bao gồm hai bước: trích ly naringin bằng methanol nóng và tái kết tinh naringin trong nước. Sau đó, xác định hiệu suất cô lập và kiểm tra độ tinh khiết hóa học của naringin trong các sản phẩm cô lập bằng phương pháp HPLC-UV. Bên cạnh đó, mức độ tiêu triển cho đối phân (2S)-naringin trong các sản phẩm cô lập cũng được xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng thủ tính hiệu năng cao (chiral-HPLC-UV).

Trích dẫn bài báo này: Hưng N K, Thanh N H P, Luyện N T T, Lan B T T, Du N H. **Cô lập hợp chất (2S)-naringin từ vỏ quả bưởi non thu hái tại huyện Châu Thành, tỉnh Tiền Giang.** *Sci. Tech. Dev. J. - Nat. Sci.*; 6(2):2076-2082.

Bảng 1: Kết quả khảo sát sự biến đổi naringin trong vỏ trái bưởi theo độ tuổi của quả

Mẫu	PO1	PO2	PO3	PO4	PO5	PO6
Số ngày tuổi (ngày)	7–15	15–30	30–60	60–90	90–120	>120
Đường kính quả (n=10) (cm)	5,1±0,3	6,8±0,2	7,8±0,2	9,6±0,5	11,3±0,3	15,0±0,5
Khối lượng vỏ khô tính trên mỗi trái (g/trái)	32,0	42,7	52,4	66,1	70,0	87,5
Độ ẩm của bột vỏ khô (n=3) (%)	8,92±0,22	7,15±0,15	7,88±0,26	8,55±0,35	9,25±0,42	10,14±0,20
Hàm lượng naringin trong bột vỏ khô ^a (n=3) (mg g ⁻¹)	295,7±1,7	154,8±1,2	112,8±3,0	60,9±2,4	50,78±0,55	35,18±0,87
Lượng naringin tính trên mỗi trái bưởi ^b (g/trái)	9,48	6,61	5,89	4,02	3,53	3,08
Lượng naringin cô lập (g/trái)	5,12	4,18	2,20	1,52	1,26	1,13
Độ tinh khiết hóa học ^d (%)	92,3	95,0	97,0	92,5	71,5	53,3
Hiệu suất cô lập ^c (%)	49,8	60,7	36,2	35,0	25,5	19,6
Lượng thừa một loại đối phân (% ee) (%ee) ^e	79,3	61,0	39,2	8,2	-1,5	-2,2

^a Hàm lượng được tính theo phương pháp HPLC-UV (TB±SD, n=3)

Lượng naringin được tính dựa trên hàm lượng naringin có trong một trái bưởi

^c Hiệu suất cô lập được tính theo khối lượng naringin thu được và độ tinh khiết hóa học

^d Độ tinh khiết của naringin thô được xác định theo độ đáp ứng của chuẩn naringin

^e Lượng thừa một loại đối phân (% ee) được xác định theo công thức 1 dựa trên diện tích của peak (2S)-naringin và (2R)-naringin

THỰC NGHIỆM VÀ PHƯƠNG PHÁP

Hóa chất và thiết bị

Thiết bị HPLC-UV đầu dò DAD 1200 series của Agilent. Cột phân tích Zorbax-SB C₁₈ (250 × 4,6 mm × 5μm), cột thủ tính Chiracel OD-H (250 × 4,6 mm × 5μm), cột phân tích Intersil pha thường (150 × 4,6 mm × 5 μm). Tủ sấy chân không Binder (Đức). Cân phân tích 5 số lẻ (Sartorius, Đức)

Methanol, ethanol, isopropanol và *n*-hexane (HPLC Grade, Scharlau, Tây Ban Nha); trifluoroacetic acid (HPLC Grade, Fischer, Mỹ); ethyl acetate và dichloromethane (ACS, Scharlau, Tây Ban Nha) và naringin (Sigma-Aldrich) với độ tinh khiết (HPLC) > 99%.

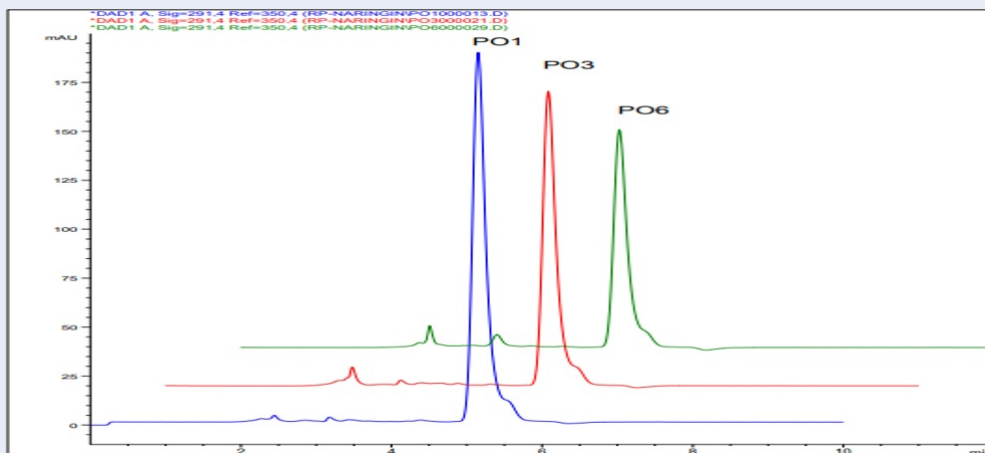
Đối tượng nghiên cứu

Bưởi bưởi lông cổ cò (*Citrus grandis* (L) Osbeck) được thu hái tại vườn thuộc huyện Châu Thành, tỉnh Tiền Giang theo số ngày tuổi khác nhau của quả, thông tin được trình bày trong Bảng 1. Đối với mỗi lô bưởi với số ngày tuổi xác định, tiến hành loại bỏ phần vỏ xanh,

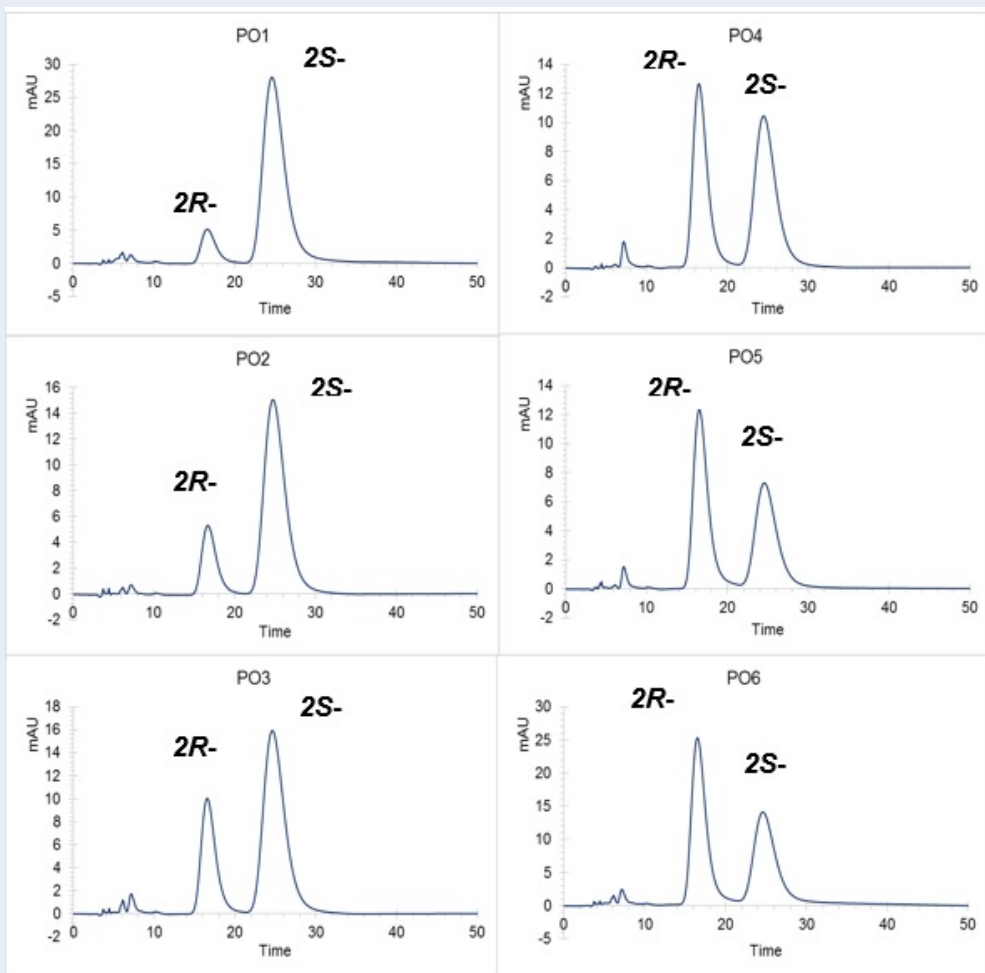
bóc lấy vỏ trắng (albedo), cắt thành miếng nhỏ, sấy khô chân không ở 60 °C trong 6 giờ, và nghiền thành bột mịn⁸. Bột vỏ bưởi sau đó được bảo quản ở 25 °C trong túi zipper. Giá trị khối lượng bột khô trung bình tính cho mỗi quả bưởi được ước lượng và trình bày trong Bảng 1. Độ ẩm của các mẫu bột này cũng được xác định theo phương pháp khối lượng với ba lần lặp lại, như mô tả trong TCVN 10788:2015 (xem Bảng 1).

Cô lập naringin từ vỏ bưởi

Quy trình cô lập hợp chất naringin từ vỏ bưởi được thực hiện theo nghiên cứu của Victor và các cộng sự (2018)⁹. Bột vỏ bưởi (10 ±0.01 g) được chiết trong bình cầu với 100 mL methanol ở 70 °C trong vòng 3 giờ. Dịch chiết được lọc và cô quay thu hồi dung môi ở áp suất kém, thu được chất đặc sệt màu nâu vàng. Chất sệt này được chiết lỏng–lỏng với hệ dung môi H₂O: DCM (85:15, v/v), sau đó chuyển vào bình lỏng để làm sạch. Pha nước được tiếp tục chiết vài lần với 15 mL DCM cho đến khi pha hữu cơ không còn màu. Sau cùng, pha nước được thực hiện sự kết tinh ở nhiệt



Hình 1: Sắc ký đồ xác định độ tinh khiết hóa học của mẫu naringin được cô lập từ vỏ bưởi 15 ngày tuổi (PO1), dưới 60 ngày tuổi (PO3), từ vỏ bưởi trưởng thành (PO6)



Hình 2: Kết quả phân tích bằng cột thủ tính Chiralcel OD-H (250 × 4,6 mm × 5 μm) các mẫu naringin được cô lập từ các lô bưởi có số ngày tuổi khác nhau

độ 10 °C trong 24 giờ và lọc thu lấy chất rắn. Rửa phần chất rắn với H₂O lạnh, làm khan và sấy chân không ở 80 °C thu được các mẫu naringin sản phẩm. Độ tinh khiết hóa học của các mẫu sản phẩm (hàm lượng naringin) được xác định phương pháp HPLC-UV.

Xác định hàm lượng naringin trong vỏ bưởi

Hàm lượng naringin trong vỏ bưởi được khảo sát trong nghiên cứu trước đây của nhóm¹⁰: Mẫu bột khô (0,1 g) lặp lại ba lần, được chiết siêu âm với 5 mL hỗn hợp MeOH/H₂O (7:3, v/v) ở 70 °C trong vòng 30 phút và ly tâm. 1 mL dịch chiết được loại tạp trên cột C₁₈-SPE, pha loãng đến nồng độ thích hợp và lọc qua màng lọc PTFE 0,45 μm trước khi được phân tích trên thiết bị HPLC-UV với các thông số đầu dò DAD có bước sóng định lượng là 280 nm, vùng sóng quét 190–400 nm, cột phân tích Zorbax-SB C₁₈ (250 × 4,6 mm × 5 μm), tốc độ dòng 1 mL/phút, nhiệt độ lò cột được giữ ở 30 °C trong suốt quá trình phân tích và pha động được sử dụng là nước (kênh A) và methanol (kênh B). Quá trình rửa giải khởi đầu tại 20% methanol trong nước, sau đó tăng dần % methanol từ 20–80% trong 10 phút, rồi từ 80–100% B trong 2 phút, sau khi giữ 5 phút 100% methanol, % methanol được giảm về 20% trong 2 phút và giữ trong 3 phút.

Hàm lượng naringin trong các mẫu naringin sản phẩm (độ tinh khiết hóa học) được tiến hành tương tự nhưng bỏ qua bước làm sạch mẫu trên cột C₁₈-SPE. Hình 1 thể hiện các sắc ký đồ thu được từ mẫu PO1, PO3 và PO6.

Xác định lượng thừa một loại đối phân (%ee) của (2S)-naringin.

Sau khi tinh chế bằng HPLC điều chế pha thường (SiO₂) trên cột Intersil (150 mm × 4,6 mm × 5 μm) với pha động *n*-hexane: ethyl acetate (80:20, v/v), lượng thừa một loại đối phân (%ee) của (2S)-naringin được xác định bằng phương pháp Chiral-HPLC-UV theo quy trình của Caccamese và cộng sự (2007)¹¹: hai đối phân của naringin được phân tích trên cột thủ tính Chiracel OD-H (250 × 4,6 mm × 5 μm) bằng pha động là hệ dung môi *n*-hexane/ethanol/TFA (60:39,9:0,1, v/v/v) tại tốc độ dòng là 0,7 mL/phút, nhiệt độ lò cột là 30 °C. Tín hiệu của hai đối phân được ghi nhận tại bước sóng 280 nm. Theo Caccamese và cộng sự¹¹; (2R)-naringin được rửa giải ra trước (2S)-naringin (xem Hình 2) và giá trị %ee của (2S)-naringin được tính theo công thức (1)

$$\%ee (2S - na - ringin) = \frac{S_{2S} - S_{2R}}{S_{2S} + S_{2R}} \quad (1)$$

Với S_{2S} là diện tích của mũi (2S)-naringin và S_{2R} là diện tích của mũi (2R)-naringin.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Hàm lượng naringin trong vỏ bưởi

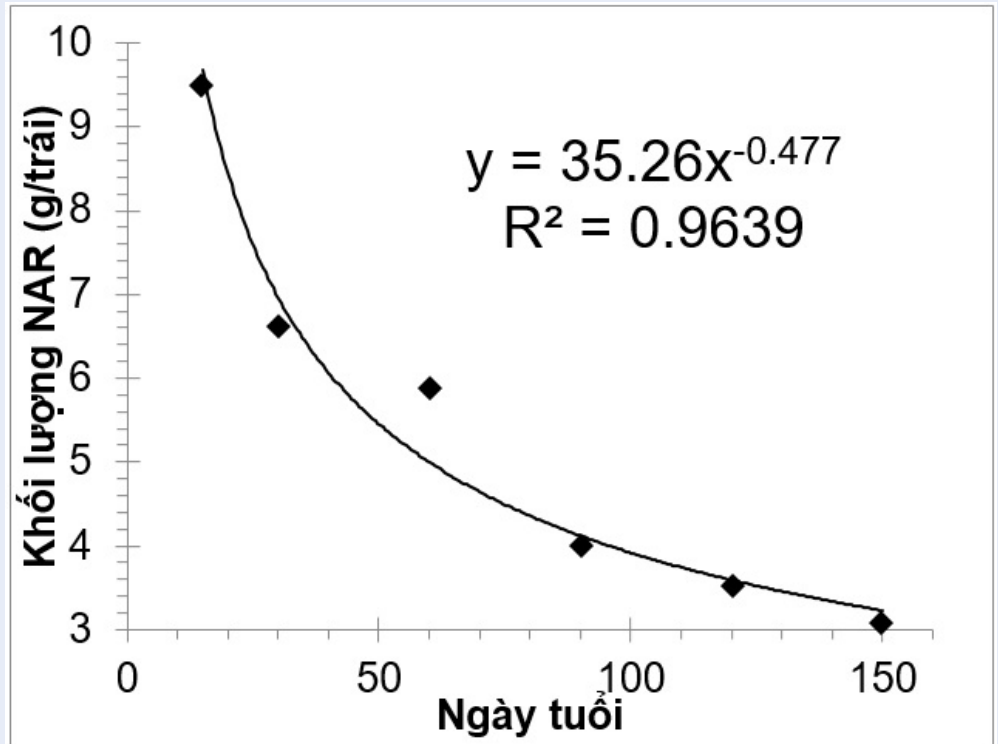
Để đánh giá lượng naringin trung bình có trong mỗi quả bưởi theo độ tuổi, bài báo trình bày việc chuẩn bị sáu mẫu bột vỏ bưởi khô từ 6 lô quả bưởi có số ngày tuổi khác nhau (Bảng 1), sau đó xác định hàm lượng naringin trong các mẫu bột vỏ bưởi khô bằng phương pháp HPLC-UV. Dựa trên hàm lượng naringin trong bột khô và khối lượng bột khô trung bình tính cho mỗi quả bưởi của từng lô, lượng naringin có trong mỗi quả bưởi của từng lô đã được ước lượng. Kết quả cho thấy rằng bất chấp sự tăng của khối lượng vỏ, lượng naringin trong mỗi quả bưởi vẫn giảm theo số ngày tuổi (Hình 3). Kết quả này phù hợp với nghiên cứu cho biết naringin có vai trò quan trọng trong sinh trưởng của lá, hoa, nụ và trái của cây¹². Theo kết quả này, quả bưởi non sau khi được ngắt loại bỏ, cần được thu gom để cô lập naringin từ vỏ.

Hiệu quả cô lập naringin từ vỏ bưởi

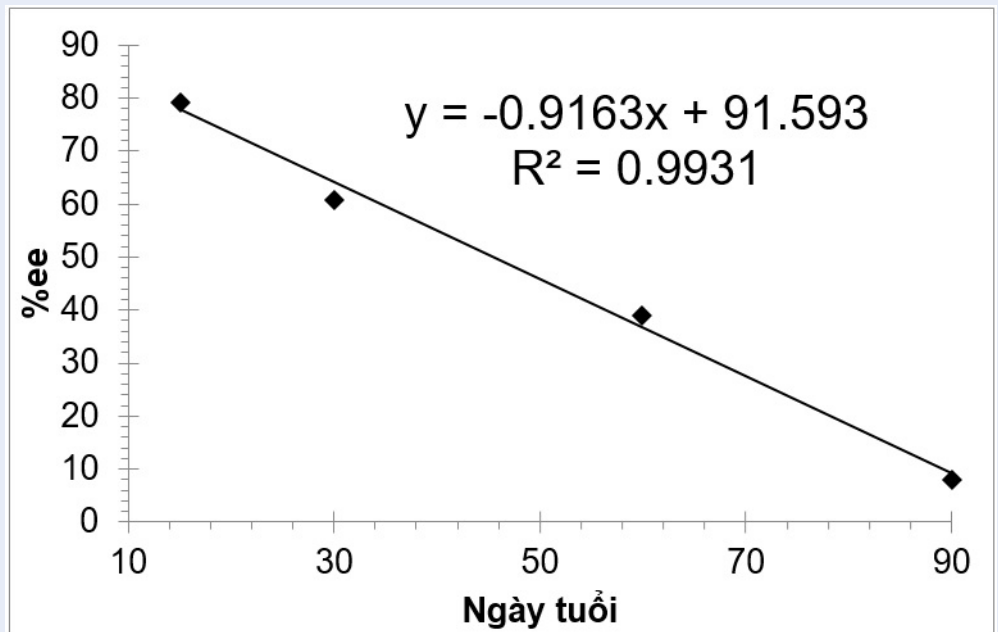
Sau khi cô lập naringin từ các mẫu bột khô của các loại vỏ bưởi có số ngày tuổi khác nhau, xác định hàm lượng naringin có trong các mẫu naringin sản phẩm, khối lượng và hàm lượng naringin của các mẫu naringin sản phẩm, hiệu suất cô lập naringin từ các mẫu vỏ quả bưởi có số ngày tuổi khác nhau được trình bày trong Bảng 1. Kết quả cho thấy có nhiều tạp chất (ở giai đoạn đầu của sắc ký đồ) được sinh ra theo thời gian sinh trưởng của quả bưởi (Hình 1), làm cho độ tinh khiết hóa học của các mẫu naringin giảm theo số ngày tuổi của quả bưởi. Kết quả này cho thấy việc cô lập naringin từ vỏ quả bưởi non có hiệu quả kinh tế hơn việc cô lập naringin từ vỏ bưởi chín vì tiết kiệm được chi phí làm sạch sản phẩm naringin.

Lượng thừa một loại đối phân (%ee)

Tương tự như các nghiên cứu trước^{7,11,13}, kết quả khảo sát cho thấy đối phân (2S)-naringin chiếm ưu thế tuyệt đối trong vỏ quả bưởi non với lượng thừa một loại đối phân (%ee) lên tới 79,3% với trái bưởi dưới 15 ngày tuổi, nhưng sau đó giá trị %ee cho (2S)-naringin giảm một cách tuyến tính theo thời gian sinh trưởng của quả bưởi và đạt tới mức tiêu triển khi quả bưởi già hơn 90 ngày tuổi (xem Bảng 1 và Hình 4). Điều này cho thấy chỉ có thể thu được mẫu đối phân (2S)-naringin khi trích ly naringin từ vỏ bưởi non, ngược lại, chỉ thu được sản phẩm tiêu triển (±)-naringin nếu tiến hành cô lập naringin từ vỏ quả bưởi chín.



Hình 3: Khuyh hướng suy giảm hàm lượng naringin trong vỏ trái bưởi theo số ngày tuổi của quả bưởi.



Hình 4: Khuyh hướng suy giảm lượng thừa một loại đối phân (% ee) của (2)-naringin trong vỏ quả bưởi theo số ngày tuổi của quả bưởi.

KẾT LUẬN

Đây là khảo sát đầu tiên về sự biến đổi của hợp chất naringin theo thời gian sinh trưởng của vỏ quả bưởi lông cổ cò, thu hái tại vườn thuộc huyện Châu Thành, tỉnh Tiền Giang. Kết quả khảo sát cho thấy bên cạnh quả bưởi trưởng thành để xuất bán thành phẩm, cần thu gom trái bưởi non vì đó là một phế phẩm nông nghiệp có giá trị kinh tế cao vì mỗi trái bưởi non có thể cho ra naringin với độ trội đối phân (2S)-naringin lên đến 79,3% và độ tinh sạch 92,3%.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Đại học Quốc Gia Thành phố Hồ Chí Minh trong khuôn khổ Đề tài mã số 562-2020-18-7.

DANH MỤC CÁC TỪ VIẾT TẮT

HPLC-UV: Sắc ký lỏng hiệu năng cao ghép nối đầu dò tử ngoại

C₁₈-SPE: chiết pha rắn C₁₈

TCVN: Tiêu chuẩn Việt Nam

DCM: Dichloromethane

NAR: Naringin

XUNG ĐỘT LỢI ÍCH

Các tác giả cam đoan không có bất kỳ xung đột lợi ích nào trong nghiên cứu này

ĐÓNG GÓP CỦA CÁC TÁC GIẢ

Nguyễn Khánh Hưng thu thập mẫu, chiết xuất và xác định tỉ lệ đối quang, viết bản thảo bài báo

Nguyễn Hoàng Phương Thanh xác định hàm lượng tổng bằng HPLC-UV

Nguyễn Thị Thùy Luyện góp ý, sửa chữa bản thảo

Bùi Thị Thúy Lan xử lý mẫu

Nguyễn Huy Du phân bố cục và chỉnh sửa chi tiết.

Tất cả tác giả đã đọc và chấp nhận bản thảo cuối cùng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Sharma P, Kumar V, Guleria P. Naringin: Biosynthesis and Pharmaceutical Applications. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2019;81(6):988-99; Available from: <https://doi.org/10.36468/pharmaceutical-sciences.596>.

2. Jain M, Parmar HS. Evaluation of antioxidative and anti-inflammatory potential of hesperidin and naringin on the rat air pouch model of inflammation. *Inflammation Research*. 2011;60(5):483-91; PMID: 21181230. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00011-010-0295-0>.
3. Li H, Yang B, Huang J, Xiang T, Yin X, Wan J. Naringin inhibits growth potential of human triple-negative breast cancer cells by targeting β -catenin signaling pathway. *Toxicology Letters*. 2013;220(3):219-28; PMID: 23694763. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2013.05.006>.
4. Ghanbari-Movahed M, Jackson G, Farzaei MH, Bishayee A. A Systematic review of the preventive and therapeutic effects of naringin against human malignancies. *Frontiers in Pharmacology*. 2021;12:250; PMID: 33854437. Available from: <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.639840>.
5. Rivoira MA, Rodriguez V, Talamoni G, de Talamoni NT. New perspectives in the pharmacological potential of naringin in medicine. *Current Medicinal Chemistry*. 2021;28(10):1987-2007. <https://doi.org/10.2174/0929867327666200604171351>; PMID: 32496985.
6. Bacanlı M, Başaran AA, Başaran N. The major flavonoid of grapefruit: naringin. *Polyphenols: prevention and treatment of human disease*; Elsevier; 2018. 37-44; Available from: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813008-7.00004-7>.
7. Yao H, Su W, Lin L, Pan W, Zeng X, Li P. Comprehensive investigation into the interconversion of C-2 diastereomers of naringin. *Chirality*. 2018;30(5):652-60; PMID: 29443426. Available from: <https://doi.org/10.1002/chir.22830>.
8. Hung PV, Yen Nhi NH, Ting LY, Lan Phi NT. Chemical composition and biological activities of extracts from pomelo peel by-products under enzyme and ultrasound-assisted extractions. *Journal of Chemistry*. 2020;2020; Available from: <https://doi.org/10.1155/2020/1043251>.
9. Victor MM, David JM, Sakukuma MC, França EL, Nunes AV. A simple and efficient process for the extraction of naringin from grapefruit peel waste. *Green Processing and Synthesis*. 2018;7(6):524-9; Available from: <https://doi.org/10.1515/gps-2017-0112>.
10. Musmade KP, Trilok M, Dengale SJ, Bhat K, Reddy M, Musmade PB. Development and validation of liquid chromatographic method for estimation of naringin in nanoformulation. *Journal of Pharmaceutics*. 2014;2014; PMID: 26556205. Available from: <https://doi.org/10.1155/2014/864901>.
11. Caccamese S, Bianca S, Santo D. Racemization at C-2 of naringin in sour oranges with increasing maturity determined by chiral high-performance liquid chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2007;55(10):3816-22; Available from: <https://doi.org/10.1021/jf063355w>; PMID: 17417869.
12. Thanh NHP. Determination of enantiomeric excess of naringin isolated from *Citrus grandis* peels by chiral-HPLC-UV [Undergraduate thesis]. Department of Analytical Chemistry: University of Science, VNU-HCM; 2021;.
13. Gaffield W, Lundin RE, Gentili B, Horowitz RM. C-2 stereochemistry of naringin and its relation to taste and biosynthesis in maturing grapefruit. *Bioorganic Chemistry*. 1975;4(3):259-69; Available from: [https://doi.org/10.1016/0045-2068\(75\)90036-X](https://doi.org/10.1016/0045-2068(75)90036-X).