

**TỐI ƯU HÓA QUY TRÌNH CHIẾT CÁC THÀNH PHẦN TOCOPHEROL
VÀ γ -ORYZANOL TRONG CÁM GẠO
BẰNG PHƯƠNG PHÁP BỀ MẶT ĐÁP ỨNG**

Đến tòa soạn 12 - 10 - 2015

**Phạm Cảnh Em, Nguyễn Thị Kim Mơ, Lê Thị Tường Vi,
Nguyễn Trọng Tuấn**

Khoa Khoa học Tự Nhiên, Trường Đại học Cần Thơ

SUMMARY

**PROCESS OPTIMIZATION FOR EXTRACTING TOCOPHEROL
AND γ -ORYZANOL CONTENTS IN RICE BRAN USING RESPONSE
SURFACE METHODOLOGY**

Tocopherol and γ -oryzanol compounds are phytochemicals with antioxidant activities and potential health benefits. Their contents and isomer ratios in rice bran vary among Mekong River Delta cultivars, suggesting that breeding for higher contents or a favorable ratio of these phytochemicals is feasible. Response surface methodology (RSM) was employed to optimize the process conditions for the direct solvent, microwave and ultrasonic-assisted extraction of these phytochemicals with methanol as the extraction solvent. The results showed that optimal conditions for extracting these phytochemicals were as follows: methanol/rice bran ratio of 16 (weight/weight); extraction temperature of 51-55°C and the extraction time of 9-10 minutes.

Key words: *Phytochemical; tocopherol; γ -oryzanol; RSM.*

1. GIỚI THIỆU

Cám gạo có chứa một số hoạt chất tự nhiên có hoạt tính kháng oxy hóa có lợi cho sức khỏe con người. Trong số các hoạt chất tự nhiên, tocopherol bao gồm cả 4 đồng phân (α , β , γ và δ)[1] và γ -oryzanol [2,3]. Trong đó α -tocopherol

được xem là đồng phân của tocopherol có giá trị lớn nhất do có hoạt tính sinh học cao. Tuy nhiên gần đây γ -oryzanol được công bố có hoạt tính làm sạch các gốc tự do tốt hơn α -tocopherol trong thử nghiệm *in vitro*[4]. Hoạt chất γ -oryzanol hiện diện gấp nhiều lần

tocopherol trong cám gạo [5] với hoạt tính làm giảm nồng độ cholesterol huyết thanh ở động vật, có tác dụng chống viêm và có thể ức chế quá trình oxy hóa cholesterol trong thử nghiệm *in vitro*, ngăn ngừa ung thư[3,6-7]. Đây là một hoạt chất tự nhiên có giá trị nhất trong cám gạo vì hàm lượng cao, có nhiều hoạt tính tiềm năng ứng dụng trong điều trị bệnh. Ngoài những lợi ích tốt cho sức khỏe, các hoạt chất này còn có tiềm năng trong việc sử dụng làm phụ gia trong lưu trữ thực phẩm [8-9].

Việc định lượng thành phần tocopherol và γ -oryzanol trong cám gạo liên quan đến chiết chúng, sau đó phân tích thành phần các chất kháng oxy hóa tiềm năng trong cám gạo bằng HPLC. Các phương pháp chiết các thành phần này trong cám gạo bao gồm chiết lỏng-lỏng, pha rắn, hỗ trợ của vi sóng, sóng siêu âm và chiết dung môi trực tiếp [10-12]. Trong số đó, phương pháp chiết dung môi trực tiếp, chiết hỗ trợ của vi sóng và sóng siêu âm được sử dụng phổ biến.

Mục đích của nghiên cứu này là tối ưu hóa quy trình chiết tocopherol và γ -oryzanol trong cám gạo thông qua phương pháp bề mặt đáp ứng, từ đó có thể ứng dụng vào sản xuất ở quy mô công nghiệp.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1 Vật liệu và thiết bị nghiên cứu

Mẫu cám gạo của các giống lúa OM 2514, IR 50404, Nàng Hương được thu mua từ nhà máy xay xát. Đây là 3 giống lúa phổ biến ở Đồng bằng sông Cửu Long, trong đó IR 50404 được trồng

nhieu nhất và Nàng Hương là giống lúa đặc trưng của Việt Nam.

Các mẫu cám gạo có độ ẩm khoảng 20% được sấy khô đến 12%, sàng qua rây 0,5 mm để loại bỏ trấu, lưu trữ ở -20°C trong khí nitơ. Độ ẩm được xác định bằng phương pháp sấy khô, TCVN 1867:2001.

Thành phần tocopherol và γ -oryzanol trong cám gạo được phân tích bằng cột C18 (ODS Hypersil, 150 x 4,6 mm, 5 μ m) của máy HPLC (UV-vis detector, Thermo scientific). Điều kiện phân tích như sau: Tốc độ dòng là 1,7 mL/phút ở bước sóng 280 nm, pha động là hệ dung môi acetonitrile và methanol tỉ lệ 7:3.

2.2 Lựa chọn dung môi chiết

Cám gạo Nàng Hương được sử dụng để khảo sát hiệu quả của dung môi chiết. Ba phương pháp sử dụng để chiết gồm phương pháp chiết dung môi trực tiếp, chiết hỗ trợ của vi sóng và sóng siêu âm. Hỗn hợp 1 g cám gạo và 20 mL dung môi: methanol, ethanol, isopropanol, ethyl acetate, hexane được khuấy 15 phút ở nhiệt độ phòng đối với chiết dung môi trực tiếp và ở nhiệt độ 50°C đối với chiết hỗ trợ của vi sóng và sóng siêu âm. Năng lượng của thiết bị vi sóng được điều chỉnh ở mức 150 W và thiết bị siêu âm ở mức 15/20 công suất. Sau khi chiết, các mẫu cám gạo được ly tâm trong 5 phút với tốc độ 4000 vòng/phút. Thu lấy phần dung dịch sau đó thêm dung môi tương ứng và tiến hành ly tâm 2 lần nữa. Dung môi được làm bay hơi và dầu cám gạo được hòa tan với 4 mL hệ dung môi acetonitrile:

methanol (7:3). Cuối cùng, dung dịch được lọc qua màng lọc 0,45 μm và phân tích HPLC. Mỗi dung môi tiến hành chiết và phân tích HPLC 3 lần.

2.3 Tối ưu hóa quy trình chiết

Để tối ưu quy trình chiết, mô hình CCRD với 3 nhân tố và 5 mức được sử dụng trong nghiên cứu này. Các biến độc lập bao gồm tỉ lệ dung môi/cám gạo (wt/wt), nhiệt độ, thời gian và các biến bao gồm hàm lượng tocopherol và γ -oryzanol thể hiện trong Bảng 1. Số thí nghiệm $N = 2^k + 2k + 6$ ($N = 20$ với k

$= 3$). Trong đó, k là số biến số độc lập và $2k$ là số thí nghiệm bổ sung tại điểm sao. Khoảng cách từ tâm đến điểm sao $\alpha = 2^{k/4}$ ($\alpha = 1,68$ với $k = 3$). Tất cả các nghiên cứu được thực hiện ở năm mức $(-\alpha, -1, 0, +1, +\alpha)$. Như vậy, trong nghiên cứu này 20 thí nghiệm sẽ được thực hiện với 2^3 số thí nghiệm của quy hoạch toàn phần, 6 thí nghiệm lặp lại tại tâm để đánh giá sai số và 6 thí nghiệm bổ sung tại điểm sao nằm cách vị trí tâm thực nghiệm một khoảng $\pm\alpha$.

Bảng 1. Xác định phạm vi và mức biến đổi của các nhân tố

Biến thực	Biến mã hóa	Đơn vị	Mức nghiên cứu				
			-1,68(- α)	-1	0	+1	+1,68(+ α)
Tỉ lệ dung môi/cám gạo	X_1	wt/wt	6,59	10	15	20	23,41
Nhiệt độ trích ly	X_2	$^{\circ}\text{C}$	33,18	40	50	60	66,82
Thời gian trích ly	X_3	phút	1,59	5	10	15	18,41

wt/wt: khối lượng/khối lượng

Miền khảo sát trong nghiên cứu như sau: tỉ lệ dung môi/cám gạo (6,59-23,41), nhiệt độ chiết (33,18-66,82 $^{\circ}\text{C}$) và thời gian chiết (1,59-18,41 phút).

Mô hình thống kê biểu diễn sự phụ thuộc của hàm lượng tocopherol và γ -oryzanol vào các nhân tố được mã hóa

là một phương trình đa thức bậc hai được thiết kế bởi phần mềm Design Expert 9 (Stat-Ease Inc., USA). Phương trình có dạng như sau:

$$Y = b_0 + \sum_{i=1}^3 b_i X_i + \sum_{i=1}^3 b_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^2 \sum_{j=i+1}^3 b_{ij} X_i X_j$$

- Y hàm lượng tocopherol và γ -oryzanol (mg/g).
- b_0 hệ số hồi quy bậc 0.
- X_i nhân tố độc lập thứ i ảnh hưởng đến hàm mục tiêu Y
- b_i hệ số hồi quy bậc 1 mô tả ảnh hưởng của nhân tố X_i với Y
- b_{ii} hệ số hồi quy tương tác mô tả ảnh hưởng của yếu tố X_i với Y .
- b_{ij} hệ số hồi quy tương tác mô tả ảnh hưởng đồng thời X_i và X_j với Y .

Các hệ số hồi quy bậc 0, bậc hai và tương tác của mô hình đa thức bậc hai được xử lý bằng phần mềm Design Expert 9. Chất lượng của mô hình đa thức thể hiện qua hệ số xác định R^2 và phân tích ANOVA. Ý nghĩa của hệ số hồi quy được xác định qua kiểm định t và ý nghĩa thống kê được xác định qua kiểm định F.

2.4 Xử lý số liệu

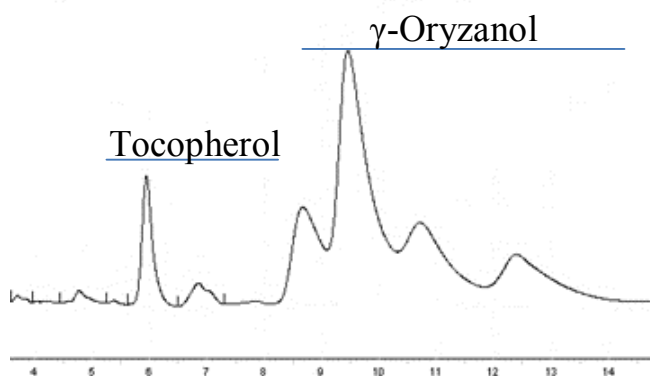
Tất cả các xử lý thống kê được thực hiện bằng phần mềm Design Expert 9 và IBM SPSS Statistics 22. Sự khác biệt có

ý nghĩa thống kê được xử lý ở mức $\alpha = 0,05$ trong phép thử Duncan.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Lựa chọn dung môi chiết

Sắc kí đồ trong phân tích tocopherol và γ -oryzanol bằng HPLC thể hiện trong Hình 1. Thời gian lưu của tocopherol khoảng 4,5-7,5 phút và γ -oryzanol khoảng 8,2-14,5 phút. Và kết quả chiết tocopherol và γ -oryzanol bằng 5 loại dung môi khác nhau: methanol, ethanol, isopropanol, ethyl acetate, hexane được trình bày trong Bảng 2.



Hình 1. Sắc kí đồ phân tích tocopherol và γ -oryzanol bằng HPLC

Dung môi lựa chọn là dung môi chiết được tocopherol và γ -oryzanol nhất. Qua kết quả ở Bảng 2 cho thấy dung môi methanol là dung môi tốt nhất ở cả 3 phương pháp để chiết các thành phần trong cám gạo. Một số công trình nghiên cứu gần đây đã công bố các dung môi phân cực đặc biệt là methanol có tiềm năng hơn nhiều so với các dung môi kém phân cực về hàm lượng tocopherol và γ -oryzanol chiết được cũng như hoạt tính kháng oxy hóa toàn phần của dầu cám

gạo [13]. Hợp chất γ -oryzanol được quan tâm nhất trong nghiên cứu vì hàm lượng cao, hoạt tính kháng oxy hóa mạnh, ngăn ngừa ung thư và có thể dễ dàng phân lập được. Trong phương pháp chiết dung môi trực tiếp có sự hỗ trợ của vi sóng, hàm lượng tocopherol và γ -oryzanol khi sử dụng methanol vượt trội hơn so với các dung môi khác. Nhưng trong phương pháp chiết hỗ trợ sóng siêu âm, dung môi ethanol chiết tocopherol cao hơn so với methanol.

Hàm lượng tocopherol và γ -oryzanol trong cám gạo Nàng Hương khá cao. Theo nghiên cứu của M. H. Chen và cộng sự (2005), hàm lượng γ -oryzanol khoảng 3,9-4,2 mg/g và tocopherol khoảng 0,2-0,3 mg/g khi chiết bằng dung môi methanol. So với nghiên cứu của M. H. Chen, hàm lượng γ -oryzanol có sự tương đồng trong khi hàm tocopherol trong cám gạo Nàng Hương gấp khoảng 3 lần. Điều đó cho thấy cám gạo Nàng Hương có tiềm năng về thành phần tocopherol.

3.2 Tối ưu hóa quy trình chiết bằng phương pháp bề mặt đáp ứng

Quy trình thực hiện để chiết tocopherol và γ -oryzanol trong phương pháp bề mặt đáp ứng tương tự như lựa chọn dung môi chiết đã trình bày ở mục 2.2. Thông qua phương pháp này, các nhân tố tỉ lệ dung môi/cám gạo (wt/wt), nhiệt độ và thời gian chiết được thiết kế thành ma trận 20 thí nghiệm. Kết quả hàm lượng tocopherol và γ -oryzanol được trình bày trong Bảng 3.

Bảng 2. Hàm lượng tocopherol và γ -oryzanol ở các phương pháp và dung môi khác nhau

Dung môi	Trích ly dung môi trực tiếp		Trích ly hỗ trợ của vi sóng		Trích ly hỗ trợ của sóng siêu âm	
	γ -Oryzanol (mg/g)	Tocopherol (mg/g)	γ -Oryzanol (mg/g)	Tocopherol (mg/g)	γ -Oryzanol (mg/g)	Tocopherol (mg/g)
Methanol	$2,84 \pm 0,07^a$	$0,38 \pm 0,02^a$	$4,49 \pm 0,02^a$	$1,07 \pm 0,03^a$	$4,30 \pm 0,07^a$	$0,92 \pm 0,03^b$
Ethanol	$1,26 \pm 0,04^e$	$0,04 \pm 0,01^e$	$3,95 \pm 0,03^b$	$1,08 \pm 0,02^a$	$4,12 \pm 0,16^b$	$1,17 \pm 0,02^a$
Isopropanol	$1,93 \pm 0,02^b$	$0,19 \pm 0,01^b$	$2,78 \pm 0,02^e$	$0,81 \pm 0,02^b$	$2,55 \pm 0,03^d$	$0,86 \pm 0,02^c$
Ethyl acetate	$1,46 \pm 0,01^d$	$0,16 \pm 0,01^c$	$2,89 \pm 0,06^d$	$0,60 \pm 0,01^c$	$3,42 \pm 0,04^c$	$0,73 \pm 0,02^d$
Hexane	$1,75 \pm 0,03^c$	$0,10 \pm 0,01^d$	$3,40 \pm 0,01^c$	$0,50 \pm 0,01^d$	$3,38 \pm 0,03^c$	$0,56 \pm 0,02^e$

Các kí tự khác nhau (a, b, c, d và e) trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa trong phép thử Duncan ($P < 0,05$).

Bảng 3. Ma trận và kết quả thực nghiệm

STT	Tỉ lệ dung môi/cá m gạo (wt/wt)	Nhiệt độ (°C)	Thời gian (phút)	Chiết dung môi trực tiếp		Chiết hỗ trợ của vi sóng		Chiết hỗ trợ của sóng siêu âm	
				γ -Oryzanol (mg/g)	Tocopherol (mg/g)	γ -Oryzanol (mg/g)	Tocopherol (mg/g)	γ -Oryzanol (mg/g)	Tocopherol (mg/g)
1	15	50	10	3,85	1,03	4,99	1,16	4,95	1,05
2	15	50	10	3,93	1,02	5,11	1,17	4,78	1,01
3	20	60	5	3,09	0,88	3,51	1,02	3,75	0,90
4	10	40	5	2,58	0,71	2,93	0,81	3,63	0,73
5	10	60	15	2,05	0,59	2,01	0,68	1,44	0,58
6	20	40	15	2,51	0,62	2,85	0,71	1,85	0,64
7	20	40	5	1,20	0,27	1,46	0,31	0,97	0,28
8	15	50	10	3,91	0,84	4,98	0,95	4,73	0,84
9	10	60	5	1,85	0,49	2,10	0,56	1,45	0,50
10	10	40	15	1,63	0,36	1,85	0,41	1,66	0,37
11	20	60	15	2,24	0,60	2,54	0,68	1,98	0,61
12	15	50	10	3,78	0,84	4,91	0,96	4,66	0,87
13	6,59	50	10	2,92	0,62	3,32	0,70	3,30	0,63
14	15	66,8 2	10	3,50	1,53	3,98	1,73	3,67	1,56
15	15	50	1,59	3,46	1,17	3,93	1,33	2,94	1,18
16	15	33,1 8	10	3,11	1,14	3,53	1,30	3,80	1,17
17	15	50	10	4,03	1,29	5,21	1,48	4,86	1,33
18	15	50	18,41	3,58	1,02	3,62	1,16	3,90	1,05
19	23,41	50	10	3,71	1,11	3,94	1,26	3,93	1,12
20	15	50	10	4,10	1,30	5,03	1,48	4,95	1,35

mg/g: hàm lượng tocopherol và γ -oryzanol (mg) trong 1 gam cám gạo

*Bảng 4. Phương trình hồi quy của tocopherol và γ-oryzanol
ở các phương pháp khác nhau*

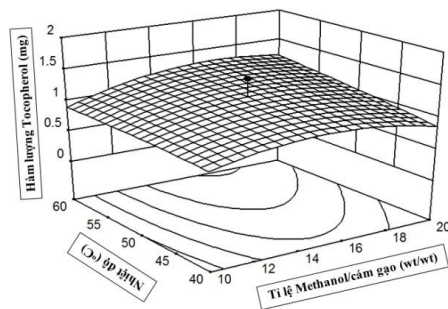
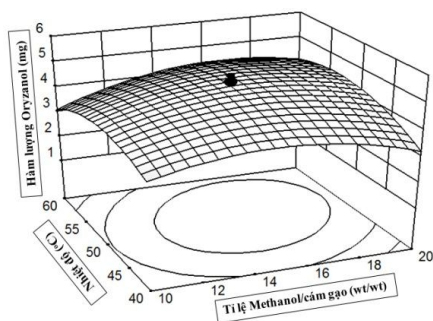
Nhân tố		Mô hình đa thức bậc hai
Hàm lượng γ-Oryzanol	*	$3,94 + 0,17X_1 + 0,14X_2 - 0,01X_3 + 0,24X_1X_2 + 0,15X_1X_3 - 0,13X_2X_3 - 0,49X_1^2 - 0,49X_2^2 - 0,41X_3^2$
	**	$4,84 + 0,18X_1 + 0,13X_2 - 0,09X_3 + 0,30X_1X_2 + 0,20X_1X_3 - 0,17X_2X_3 - 0,70X_1^2 - 0,66X_2^2 - 0,65X_3^2$
	***	$4,83 + 0,10X_1 + 0,02X_2 - 0,09X_3 + 0,70X_1X_2 + 0,14X_1X_3 - 0,09X_2X_3 - 0,74X_1^2 - 0,70X_2^2 - 0,81X_3^2$
Hàm lượng Tocopherol	*	$1,06 + 0,08X_1 + 0,09X_2 - 0,03X_3 + 0,07X_1X_2 + 0,04X_1X_3 - 0,02X_2X_3 - 0,02X_1^2 - 0,02X_2^2 - 0,10X_3^2$
	**	$1,20 + 0,09X_1 + 0,12X_2 - 0,04X_3 + 0,08X_1X_2 + 0,05X_1X_3 - 0,03X_2X_3 - 0,21X_1^2 - 0,02X_2^2 - 0,12X_3^2$
	***	$1,08 + 0,08X_1 + 0,09X_2 - 0,03X_3 + 0,08X_1X_2 + 0,04X_1X_3 - 0,03X_2X_3 - 0,19X_1^2 - 0,02X_2^2 - 0,11X_3^2$

** Phương pháp chiết dung môi trực tiếp ** Phương pháp chiết hỗ trợ của vi sóng ***
Phương pháp chiết hỗ trợ của sóng siêu âm*

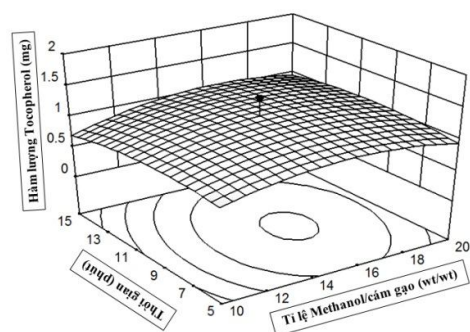
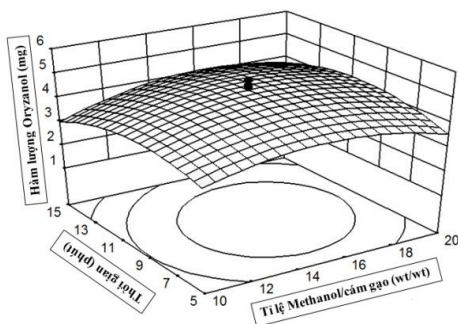
Bảng 5. Kết quả phân tích sai số của các mô hình

		Hệ số xác định R ²	Giá trị P			Hệ số xác định R ²	Giá trị P
Hàm lượng γ-Oryzanol	*	0,8703	0,0097	Hàm lượng Tocopherol	*	0,9170	0,0019
	**	0,9370	0,0007		**	0,9186	0,0018
	***	0,8708	0,0096		***	0,9278	0,0011

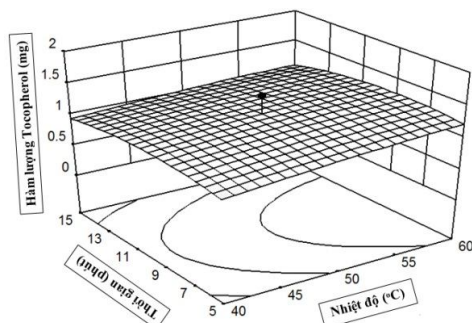
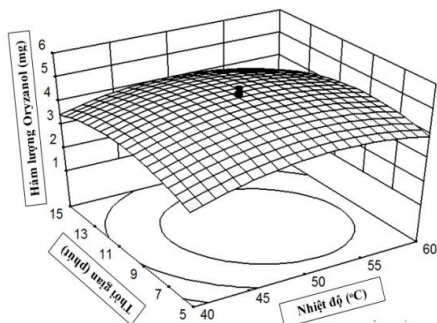
** Phương pháp chiết dung môi trực tiếp ** Phương pháp chiết hỗ trợ của vi sóng ***
Phương pháp chiết hỗ trợ của sóng siêu âm*



Hình 2 Đồ thị thể hiện sự ảnh hưởng của tỉ lệ dung môi/cám gạo và nhiệt độ chiết**



Hình 3. Đồ thị thể hiện sự ảnh hưởng của tỉ lệ dung môi/cám gạo và thời gian chiết**



Hình 4. Đồ thị thể hiện sự ảnh hưởng của nhiệt độ chiết và thời gian chiết**

Trong miền khảo sát, phương trình hồi quy cho thấy hàm lượng tocopherol và γ -oryzanol chịu ảnh hưởng bậc 1, bậc 2 của cả ba nhân tố nghiên cứu X_1 , X_2 , X_3 và chịu ảnh hưởng đồng thời của các cặp nhân tố tỉ lệ dung môi/cám gạo (wt/wt) - nhiệt độ chiết ($X_1 * X_2$), tỉ lệ dung môi/cám gạo (wt/wt) - thời gian

chiết ($X_1 * X_3$), nhiệt độ chiết - thời gian chiết ($X_2 * X_3$).

Các phương trình hồi quy ở 3 phương pháp có sự tương đồng về ảnh hưởng của các nhân tố đến hàm lượng tocopherol và γ -oryzanol. Điều này cho thấy sự hỗ trợ của vi sóng và sóng siêu âm chỉ làm tăng hiệu suất chiết, không

làm thay đổi quy luật ảnh hưởng của các nhân tố và do đó đã chứng minh tính khả thi của các mô hình tối ưu (Bảng 4).

Các giá trị P liên quan đến kiểm định F của mô hình ở Bảng 5 có giá trị nhỏ hơn 0,05 ($P < 0,05$) cho thấy độ tương thích của phương trình hồi quy với thực nghiệm và độ tin cậy thống kê. Hệ số xác định R^2 cho biết 87-93% sự biến đổi của hàm lượng tocopherol và γ -oryzanol là do ảnh hưởng của các biến độc lập như tỉ lệ dung môi/cám gạo (wt/wt), nhiệt độ và thời gian chiết, trong đó chỉ có 7-13% sự thay đổi là do các yếu tố không xác định gây ra (sai số ngẫu nhiên).

Ảnh hưởng của các cặp nhân tố đến hàm lượng tocopherol và γ -oryzanol thể hiện trong Hình 2-4. Hình 2 thể hiện sự ảnh hưởng của cặp nhân tố $X_1 * X_2$ đến hàm lượng tocopherol và γ -oryzanol trong phương pháp chiết hỗ trợ của vi sóng khi thời gian giữ không đổi ở mức 0 (10 phút). Tương tự, Hình 3 thể hiện

sự ảnh hưởng của cặp nhân tố $X_1 * X_3$ khi nhiệt độ giữ không đổi ở 50°C và Hình 4 thể hiện sự ảnh hưởng của cặp nhân tố $X_2 * X_3$ khi tỉ lệ dung môi/cám gạo (wt/wt) giữ không đổi ở 15. Qua các đồ thị 3D có thể thấy hàm lượng γ -oryzanol chịu ảnh hưởng lớn bởi các nhân tố trong khi hàm lượng tocopherol thay đổi nhỏ khi các nhân tố biến thiên trong miền khảo sát. Hàm lượng γ -oryzanol được xét ở mức độ quan trọng hơn trong phân tích giá trị tối ưu của các mô hình. Nguyên nhân là do γ -oryzanol có hàm lượng cao, tiềm năng lớn trong phát triển các sản phẩm phục vụ sức khỏe con người cũng như có thể cô lập dễ dàng thông qua phương pháp kết tinh. Điều kiện tối ưu của các phương pháp được xử lý bằng phần mềm Design Expert 9 có sự tương đồng được trình bày trong Bảng 6. Điều này có thể giải thích là do phương trình hồi quy của các mô hình thể hiện quy luật ảnh hưởng của các nhân tố, cặp nhân tố giống nhau.

Bảng 6. Bảng tổng kết giá trị tối ưu của mô hình

Phương pháp	Tỉ lệ dung môi/cám gạo (wt/wt)	Nhiệt độ (°C)	Thời gian (phút)
Chiết dung môi trực tiếp	16,42	55,04	9,77
Chiết hỗ trợ của vi sóng	15,78	53,54	9,26
Chiết hỗ trợ của sóng siêu âm	15,88	51,43	9,54

Qua Bảng 6 có thể thấy điều kiện tối ưu chung cho cả 3 phương pháp như sau: tỉ lệ dung môi/cám gạo (wt/wt) là 16; nhiệt độ chiết là 51-55°C và thời gian

chiết là 9-10 phút. So với phương pháp chiết dung môi trực tiếp và hỗ trợ của sóng siêu âm, phương pháp chiết hỗ trợ của vi sóng vượt trội hơn về hiệu suất

chiết. Tuy nhiên, phương pháp chiết dung môi trực tiếp thực hiện đơn giản và ít tốn kém hơn so với hai phương pháp còn lại. Do vậy, tùy vào điều kiện

thực tiễn có thể áp dụng phương pháp phù hợp và tiến hành chiết theo điều kiện đã tối ưu.

Bảng 7. Kết quả chiết bằng phương pháp hỗ trợ của vi sóng

	γ -Oryzanol (mg/g)	Tocopherol (mg/g)
Nàng Hương	$5,79 \pm 0,07^a$	$1,30 \pm 0,03^a$
OM 2514	$3,16 \pm 0,06^c$	$0,71 \pm 0,04^b$
IR 50404	$4,85 \pm 0,08^b$	$0,61 \pm 0,02^b$

Các kí tự khác nhau (a, b, c) trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa trong phép thử Duncan ($P < 0,05$)

Hàm lượng tocopherol và γ -oryzanol quyết định bởi loại cám gạo. Cám gạo chứa khoảng 0,1-0,14% vitamin E và 0,9-2,9% γ -oryzanol và hàm lượng này có thể thay đổi tùy theo cám gạo từng vùng. Kết quả chiết cám gạo Nàng Hương, OM 2514, IR 50404 bằng phương pháp hỗ trợ của vi sóng vừa kiểm chứng điều kiện tối ưu vừa khảo sát hàm lượng tocopherol và γ -oryzanol trong các loại cám gạo khác nhau ở Việt Nam (Bảng 7).

Kết quả về hàm lượng tocopherol và γ -oryzanol của cám gạo Nàng Hương cho thấy điều kiện tối ưu tìm được thông qua phương pháp bề mặt đáp ứng là chính xác và phù hợp với thực nghiệm. Các giá trị hàm lượng tại điều kiện tối ưu cao hơn so với các giá trị trong Bảng ma trận thực nghiệm. Ngoài ra, qua Bảng 7 cho thấy cám gạo Nàng Hương là loại cám gạo tiềm năng để chiết các thành phần tocopherol và γ -oryzanol.

4. KẾT LUẬN

Qua quá trình khảo sát cho thấy methanol là dung môi tốt nhất và cám gạo Nàng Hương có tiềm năng để chiết các thành phần tocopherol và γ -oryzanol. Những nhân tố ảnh hưởng đến quá trình chiết như tỉ lệ dung môi/cám gạo (wt/wt), nhiệt độ chiết và thời gian chiết được phân tích thống kê theo mô hình tâm phức hợp CCRD và phương pháp bề mặt đáp ứng. Điều kiện tối ưu tìm được như sau: tỉ lệ dung môi/cám gạo (wt/wt) là 16, nhiệt độ chiết là 51-55°C và thời gian chiết là 9-10 phút.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Shin T. S. and Godber J. S., (1994). *Isolation of four tocopherols and four tocotrienols from a variety of natural sources by semi-preparative high-performance liquid chromatography*. Journal of Chromatography A 678, 49-58.
- [2] Xu Z. and Godber J. S., (1999). *Purification and identification of components of γ -oryzanol in rice bran*

oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47, 2724-2728.

[3] Akihisa T., Yasukawa K., Yamaura M., Ukiya M., Kimura Y., Shimizu N. and Arai K., (2000). *Triterpene alcohol and sterol ferulates from rice bran and their anti-inflammatory effects*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48, 2313-2319.

[4] Packer L., (1995). *Nutrition and biochemistry of the lipophilic antioxidants, tocopherol, tocotrienol and carotenoids*. In: Ong A.S.H., Niki E., Packer L. (Eds.), *Nutrition, Lipids, Health, and Disease*. American Oil Chemists' Society, Champaign, IL, USA.

[5] Bergman C. J. and Xu Z., (2003). *Genotype and environment effects on tocopherols, tocotrienols and gamma-oryzanol contents of Southern US rice*. *Cereal Chemistry*, in press.

[6] Rong N., Ausman L. M. and Nicolosi R. J., (1997). *Oryzanol decreases cholesterol absorption and aortic fatty streaks in hamsters*. *Lipids* 32, 303-309.

[7] Xu Z., Hua N. and Godber J. S., (2001). *Antioxidant activity of tocopherols, tocotrienols, and γ -oryzanol components from rice bran against cholesterol oxidation accelerated by 2,20 -Azobis(2-methylpropionamide) dihydrochloride*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49, 2077-2081.

[8] Nanua J. N., McGregor J. U. and Godber J. S., (2000). *Influence of high-*

oryzanol rice bran oil on the oxidative stability of whole milk powder. *Journal of Dairy Science* 83, 2426-2431.

[9] Kim J. S. and Godber J. S., (2001). *Oxidative stability and tocopherol, tocotrienol levels increased in restructured beef roast with added ricebran oil*. *Journal of Food Quality* 24, 17-26.

[10] Hu W., Wells J. H., Shin T. S. and Godber J. S., (1996). *Comparison of isopropanol and hexane for extraction of tocopherol, tocotrienol and oryzanols from stabilized rice bran*. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 73, 1653-1656.

[11] Shin T. S., Godber J. S., Martin D. E. and Wells J. H., (1997). *Hydrolytic stability and changes in E vitamers and oryzanol of extruded rice bran during storage*. *Journal of Food Science* 62, 704-708.

[12] Xu Z. and Godber J. S., (2000). *Comparison of supercritical fluid and solvent extraction methods in extracting γ -oryzanol from rice bran*. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 77, 1127-1131.

[13] Chen M. H. and Bergman C.J., (2005). *A rapid procedure for analysing rice bran tocopherol, tocotrienol and γ -oryzanol contents*. *Journal of Food Composition and Analysis* 18, 139-151.