

NGHIÊN CỨU CHIẾT XUẤT VÀ TINH CHẾ POLICOSANOL TỪ VỎ MÍA

Nguyễn Quốc Thăng*, Kiều Trần Kim Loan,
Nguyễn Ngọc Quỳnh, Lê Thanh Vĩnh Tuyền
Trường Đại học Y Dược Cần Thơ
*Email: nqthang.d42@student.ctump.edu.vn

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Policosanol là nhóm các ancol no mạch thẳng với 24 đến 34 cacbon, đã được chứng minh có tác dụng hạ cholesterol máu. **Mục tiêu nghiên cứu:** (1) Chiết xuất và tinh chế policosanol từ vỏ Mía; (2) Xác định thành phần của các policosanol trong mẫu sau tinh chế. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Vỏ Mía là phụ phẩm thu tại thành phố Cần Thơ. Sáp thô thu được từ vỏ Mía được chiết xuất và sau đó được làm sạch bằng phương pháp chiết pha rắn. Sáp được thủy phân, loại tạp sơ bộ và được tinh chế bằng phương pháp kết tinh/ kết tủa phân đoạn để thu được policosanol sau tinh chế. Hỗn hợp policosanol sau tinh chế được kiểm tra độ tinh khiết và thành phần hóa học bằng kỹ thuật sắc ký lớp mỏng (SKLM), phổ hồng ngoại (IR), sắc ký khí (GC-FID và GC-MS). **Kết quả:** Sản phẩm policosanol được chiết xuất và tinh chế từ vỏ Mía tinh khiết trên SKLM và đạt độ tinh khiết cao trên GC-FID. Kết quả phân tích bằng kỹ thuật GC-MS xác định được octacosanol là policosanol chính với hàm lượng 88,65 %. **Kết luận:** Từ vỏ Mía, 53,49mg policosanol đã được chiết xuất và tinh chế đạt độ tinh khiết cao đủ để thử tác dụng sinh học và hướng nghiên cứu làm ra các chế phẩm.

Từ khóa: sáp, Mía, policosanol.

ABSTRACT

EXTRACT AND PURIFY POLICOSANOLS FROM SUGARCANE BARK

Nguyen Quoc Thang, Kieu Tran Kim Loan,
Nguyen Ngoc Quynh, Le Thanh Vinh Tuyen
Can Tho University of Medicine and Pharmacy

Background: Policosanol is a group of saturated long-chain alcohols, with chain lengths varying between 24 to 34 carbon atoms, that has been proven to be effective in reducing blood cholesterol level. **Objectives:** (1) Extract and purify policosanol mixture from sugarcane bark; (2) Determine policosanol composition of purified sample. **Materials and methods:** Sugarcane bark, a byproduct of sugarcane juice production, was collected in Can Tho city. Crude wax, obtained from sugarcane bark, was extracted and refined by solid phase extraction (SPE). Refined wax was then hydrolyzed and by fractional crystallization/ precipitation to obtain purified policosanol mixture. The purity and composition of policosanol mixture product were determined by thin layer chromatography (TLC), infrared (IR) and gas chromatography (GC-FID and GC-MS). **Results:** The obtained policosanol mixture from sugarcane bark was high purity product and was confirmed by TLC and GC-FID. The GC-MS analysis determined that octacosanol was the main policosanol (88,65 % in GC-MS) in sugarcane wax in Can Tho City. **Conclusion:** From sugarcane bark, 53,49mg high purity policosanol mixture was extracted and confirmed to be ready for pharmacological trial and pharmaceutical preparations.

Keywords: wax, sugarcane, policosanol.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Mía là loài cây được trồng phổ biến ở Việt Nam nói chung và Đồng Bằng Sông Cửu Long nói riêng. Cây Mía thường được nhắc tới như một loại thực phẩm hoặc nguyên liệu trong các ngành công nghiệp thực phẩm, trong đó chủ yếu là ngành công nghiệp Mía đường.

Một số nghiên cứu đã bắt đầu tìm kiếm những ứng dụng khác của cây Mía và cũng đã cho những kết quả khả quan, đặc biệt là trong lĩnh vực công nghệ sinh học như làm vật liệu lọc nước, lọc kim loại nặng, sản xuất xăng sinh học...[1]

Policosanol là nhóm các ancol no mạch thẳng với 24 đến 34 cacbon. Hiện tại trên thế giới đã có những nghiên cứu về policosanol như octacosanol, triacontanol... được phân lập và tinh chế từ sáp Mía có tác dụng điều hòa cholesterol và kiểm soát mỡ máu [2]. Tuy nhiên, chưa thấy nghiên cứu chiết xuất, tinh chế policosanol từ Mía tại Việt Nam. Do đó, đề tài được thực hiện với các mục tiêu sau:

- 1) Chiết xuất và tinh chế policosanol từ vỏ Mía.
- 2) Xác định thành phần của các policosanol trong mẫu sau tinh chế.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Vỏ Mía là phụ phẩm được thu gom từ các vựa Mía ở quận Ninh Kiều, thành phố Cần Thơ. Vỏ Mía sau khi thu gom được sấy đến độ ẩm dưới 13 % dành cho chiết xuất.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Dung môi, hóa chất

Các dung môi và hóa chất dùng trong chiết xuất: cồn 96%, nước cất (Việt Nam); cloroform, ethanol tuyệt đối (Chemsol - Việt Nam), kali hydroxyt, natri sulfat, silica gel (Meck - Đức; 0,063 – 0,200mm).

Các dung môi và hóa chất chuẩn dùng trong phân tích: diclorometan chuẩn chạy GC (Merck - Đức), kali bromid, ankan C₂₁-C₄₀ chuẩn (Sigma-Aldrich).

Các dung môi và hóa chất dùng trong sắc ký lớp mỏng: cloroform, methanol, n-hexan, ethyl acetat, acid acetic, acid sulfuric.

Mẫu đối chiếu được chuẩn bị từ sản phẩm FAZ (Ecogreen) chiết nóng với dung môi X và kết tinh lại trong dung môi Y. Mẫu đối chiếu sau khi chuẩn bị được kiểm tra bằng phổ IR.

Thiết bị

Hệ thống GC-MS Agilent 7890B, đầu dò MS 5977B với cột mao quản HP-5MS Ultra Inert (30m x 0,25mm x 0,25 μ m, Mỹ); Hệ thống GC-FID Agilent 7890B (Agilent Technologies, G3461-6400, Mỹ) với cột mao quản DB-5MS (30m x 0,25mm x 0,25 μ m, Mỹ); Tủ sấy Panasonic; Máy cô quay áp suất giảm Heidolph (Đức); Bếp cách thủy Memmert; Máy quang phổ hồng ngoại Bruker Alpha T FTIR; Đèn UV-Vis Camag hai bước sóng 254nm và 365nm; Cân phân tích Kern ABJ.

Nội dung nghiên cứu

Chiết xuất và làm sạch sáp thô từ vỏ Mía

Chiết xuất sáp thô từ vỏ Mía

Cân 30kg vỏ Mía, sấy khô ở 50 - 60°C, chiết với 50 lít nước nóng ở 100°C, gạn thu lấy dịch nước nóng và làm lạnh đến 4°C, lọc lấy tủa, sấy tủa ở 50°C thu được sáp thô.

Khảo sát điều kiện làm sạch sáp thô từ vỏ Mía

Khảo sát dung môi hòa tan cho chiết pha rắn: 1 g sáp thô được hòa tan với 100 ml các dung môi bao gồm ethanol tuyệt đối, ethyl acetat, cloroform và n-hexan ở nhiệt độ phòng 30°C. Lọc lấy lượng cặn không tan trong dung môi, sấy khô ở nhiệt độ 100°C, cân.

Làm sạch sáp thô từ vỏ Mía bằng phương pháp chiết pha rắn

Tiến hành tinh chế sáp thô bằng chiết pha rắn: Nhồi cột chiết pha rắn với 30g silica gel, nạp mẫu với 20g sáp thô vào cột và loại tạp bằng 1500ml dung môi đã khảo sát để thu

được sáp đã tinh chế. Sáp đã tinh chế được đánh giá bằng cách so với policosanol đối chiếu trên SKLM.

Khảo sát điều kiện chiết xuất và tinh chế policosanol từ sáp đã tinh chế

Khảo sát thời gian thủy phân sáp đã tinh chế

Đun hồi lưu 3 g sáp đã tinh chế với 60ml KOH 2 Methanol tuyệt đối ở nhiệt độ 80 - 85°C trong 1 giờ, 2 giờ và 3 giờ, bổ sung 240ml nước vào hỗn hợp sau thủy phân và lọc thu lấy tủa, sấy khô được policosanol thô. Phân tích hỗn hợp sau thủy phân trên SKLM và phổ IR so với policosanol đối chiếu để xác định thời gian thủy phân phù hợp.

Tinh chế policosanol từ policosanol thô bằng phương pháp kết tinh/ kết tủa phân đoạn.

Đun hồi lưu policosanol thô với dung môi X ở 50 - 60°C trong 6 giờ, dịch thu được làm lạnh ở 4 °C để thu lấy tủa. Đun hồi lưu tủa với dung môi Y ở 50 - 60°C, rửa dịch trong dung môi Y với nước nóng. Dịch sau khi rửa được làm lạnh ở 4°C để thu lấy tủa, lọc lấy tủa, sấy khô thu được policosanol sạch (policosanol loại I). Phần dịch lọc còn 30ml và làm lạnh ở 4°C để thu lấy tủa, lọc lấy tủa, sấy khô thu được policosanol loại II.

Policosanol sạch được hòa tan trong cloroform (0,2 %) và tiến hành SKLM so với policosanol đối chiếu trong ba hệ dung môi có độ phân cực khác nhau gồm hệ dung môi 1: n-hexan - ethyl acetat - acid acetic (90 : 9 : 1); hệ dung môi 2: cloroform - acid acetic (10 : 0,1); hệ dung môi 3: cloroform - ethyl acetat - acid acetic (30 : 70 : 0,1). Vết SKLM được phát hiện trên UV 254nm, 365nm và thuốc thử H₂SO₄ 10 %/ methanol.

Xác định thành phần policosanol sau khi tinh chế

Xác định thành phần policosanol sạch bằng phổ IR

Quá trình chuẩn bị và đo phổ IR của policosanol sạch được tiến hành theo hướng dẫn trong Dược điển Việt Nam V: 1 mg policosanol sạch được nghiền với 300 mg bột mịn kali bromid (IR) đã sấy khô. Nén khuôn có hỗn hợp trên tới áp suất khoảng 800 MPa trong điều kiện chân không và tiến hành đo phổ IR.

Khảo sát điều kiện sắc ký policosanol sạch bằng GC-FID

Mẫu được pha với nồng độ 1000 ppm trong diclorometan. Thể tích tiêm mẫu 3μl (tỷ lệ chia dòng 2:1). Khí mang là nitrogen với tốc độ dòng 1ml/phút. Nhiệt độ tiêm mẫu và đầu dò lần lượt là 310°C và 320°C. Chương trình nhiệt: tăng từ 150°C đến 300°C (4°C/phút) và giữ ở 300°C trong 10 phút.

Xác định các ancol thành phần trong policosanol sạch bằng GC-MS

Xác định các ancol thành phần trong policosanol thu được bằng GC-MS dựa trên cơ sở dữ liệu khối phổ và chỉ số lưu khi so với ankan chuẩn. Thành phần của policosanol loại I được kiểm tra bằng GC-MS. Thể tích tiêm mẫu 1μl (chia dòng 5:1). Khí mang là heli với tốc độ dòng 1,2 ml/phút. Nhiệt độ tiêm mẫu và đầu dò lần lượt là 310°C và 320°C. Chương trình nhiệt: 150°C giữ trong 1 phút, tăng từ 150°C đến 300°C (10°C/phút) và giữ ở 300°C trong 4 phút. Chế độ ion hóa EI ở 70eV, phổ MS được ghi nhận ở chế độ tổng dòng ion (TIC - total ion current) trong khoảng m/z từ 50 đến 500.

Hàm lượng của ancol chính trong policosanol thu được được tính quy về 100 % diện tích đỉnh với công thức $\%Z = \frac{S_z}{\sum S}$. Trong đó, %Z là hàm lượng phần trăm ancol Z, S_z là diện tích đỉnh của ancol Z, $\sum S$ là tổng diện tích đỉnh các chất thu được từ sắc ký đồ GC-MS.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Chiết xuất và làm sạch sáp thô từ vỏ Mía

Chiết xuất sáp thô từ vỏ Mía

Từ 30kg vỏ Mía, sau quá trình chiết xuất thu được 20g sáp thô.

Khảo sát điều kiện làm sạch sáp thô từ vỏ Mía

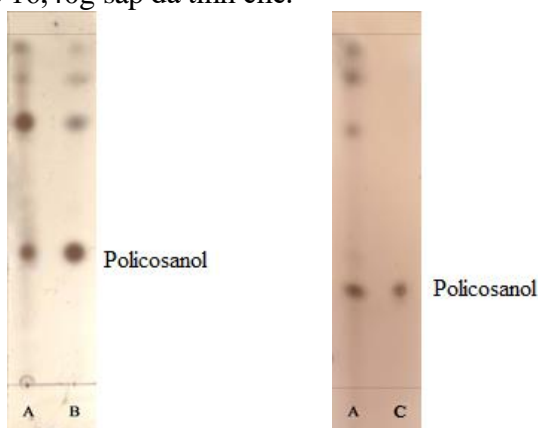
Bảng 1. Khảo sát dung môi hòa tan sáp thô

Khối lượng ban đầu (g)	Dung môi	Nhiệt độ (°C)	Thể tích (ml)	Lượng cặn không tan trong dung môi (g)
1,00	Ethanol tuyệt đối	30	100	0,920
1,00	Ethyl acetat	30	100	0,868
1,00	Cloroform	30	100	0,471
1,00	Hexan	30	100	0,804

Nhận xét: Với cùng một lượng dung môi, cloroform cho thấy khả năng hòa tan sáp thô tốt nên được chọn làm dung môi hòa tan dùng trong phương pháp chiết pha rắn.

Làm sạch sáp thô từ vỏ Mía bằng phương pháp chiết pha rắn

20g sáp thô thu từ vỏ Mía được loại tạp sơ bộ bằng phương pháp chiết pha rắn thu được 16,40g sáp đã tinh chế.



Ghi chú:

A: Sáp thô

B: Sáp đã tinh chế

C: Policosanol đối chiếu

Hình 1: Sắc ký đồ sáp thô, sáp đã tinh chế và policosanol đối chiếu với hệ dung môi n-hexan - EA - CH₃COOH (90 : 9 : 1)

Dựa vào sắc ký đồ so sánh sáp đã tinh chế và policosanol đối chiếu thì sáp đã tinh chế có chứa policosanol.

3.2. Khảo sát điều kiện chiết xuất và tinh chế policosanol từ sáp

Khảo sát thời gian thủy phân sáp đã tinh chế



Ghi chú:

A: Sáp đã tinh chế

B: Sản phẩm thủy phân sau 1 giờ

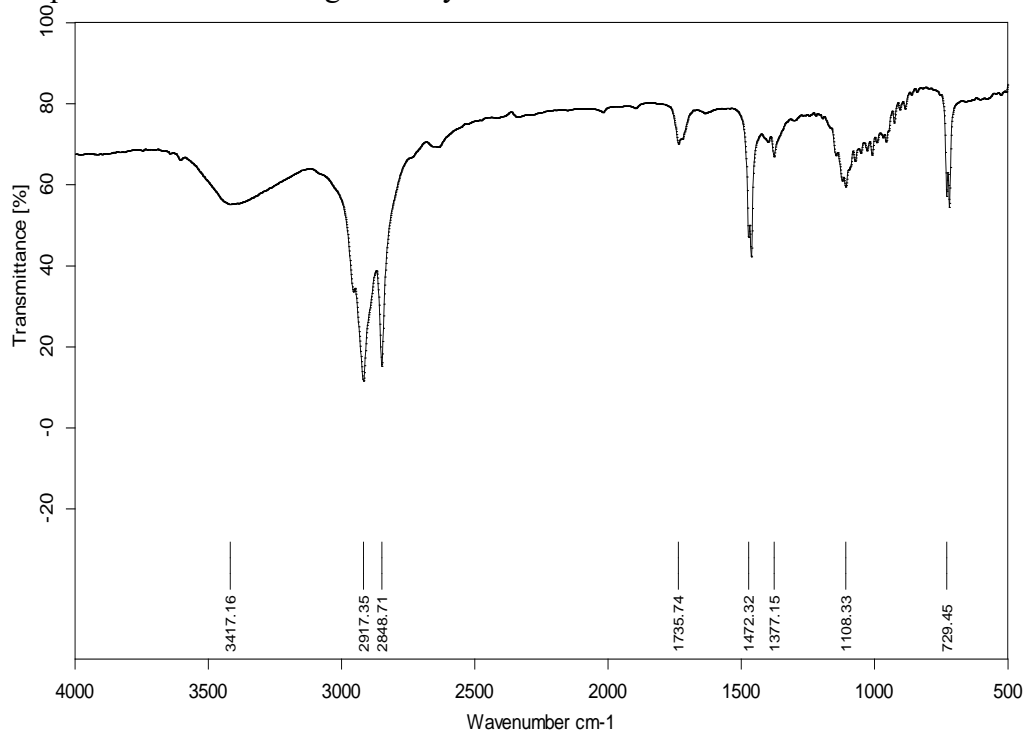
C: Sản phẩm thủy phân sau 2 giờ

D: Sản phẩm thủy phân sau 3 giờ

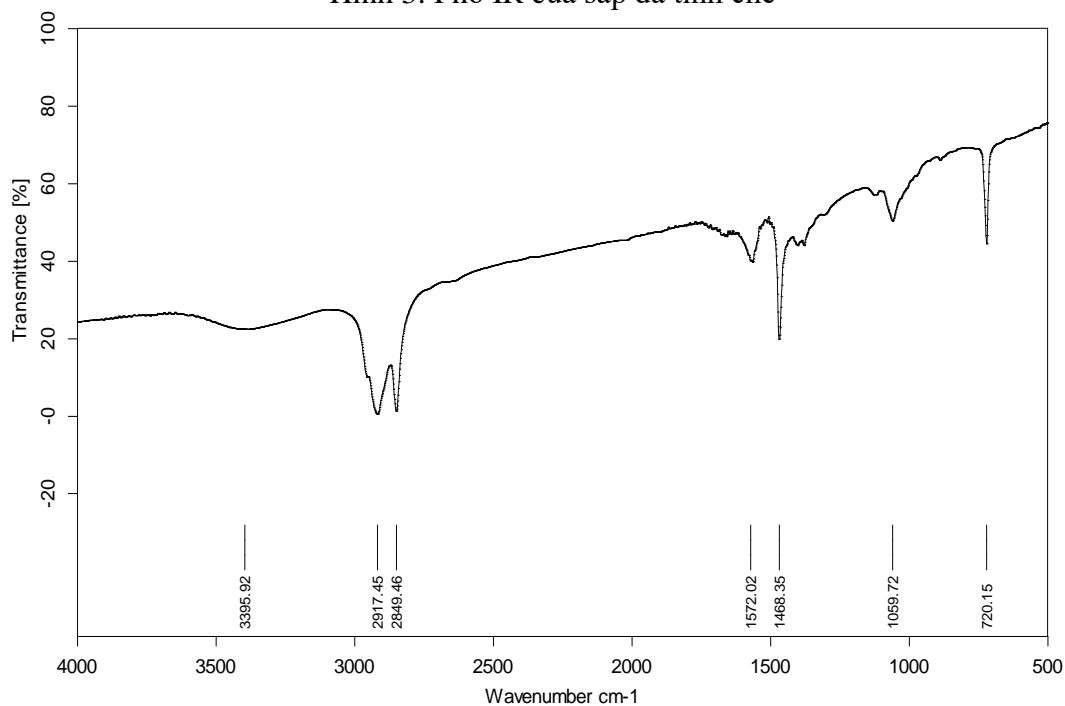
E: Policosanol đối chiếu

Hình 2: Sắc ký đồ sáp đã tinh chế, sản phẩm thủy phân và policosanol đối chiếu với hệ dung môi n-hexan - EA - CH₃COOH (90 : 9 : 1)

Nhận xét: Dựa vào sắc ký đồ so sánh mẫu sáp đã tinh chế, mẫu sản phẩm thủy phân và policosanol đối chiếu thì sản phẩm thủy phân sau 3 giờ có độ đậm vết policosanol lớn hơn sáp đã tinh chế và không còn thấy vết este.



Hình 3: Phổ IR của sáp đã tinh chế



Hình 4: Phổ IR của sản phẩm sau thủy phân 3 giờ

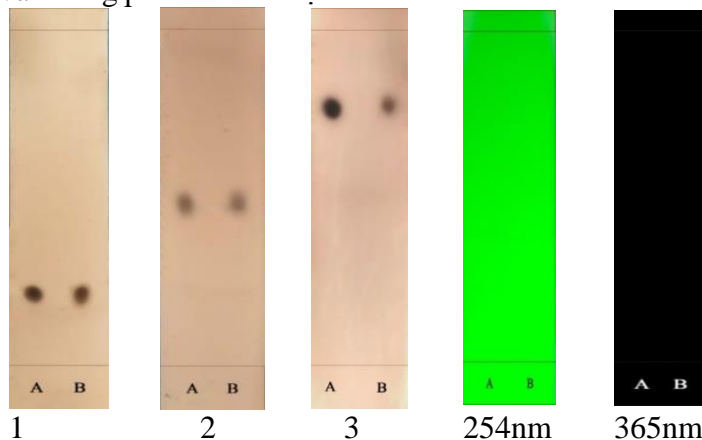
Nhận xét: Phổ IR của sản phẩm sau thủy phân 3 giờ không còn thấy đỉnh trong vùng

từ 1.600 đến 2.000 (C=O) so với phổ IR của sáp cho thấy mẫu policosanol sau thủy phân không lẫn sáp (este), acid béo tự do hay muối xà phòng.

Tiến hành thủy phân 3 g sáp với điều kiện thủy phân và xử lý mẫu như đã mô tả thu được 2,826g policosanol thô.

Tinh chế policosanol từ policosanol thô bằng phương pháp kết tinh/ kết tủa phân đoạn

Tinh chế 3 g policosanol thô thu được 53,49 mg policosanol sạch (policosanol loại I) và 14 mg policosanol loại II.



Ghi chú:

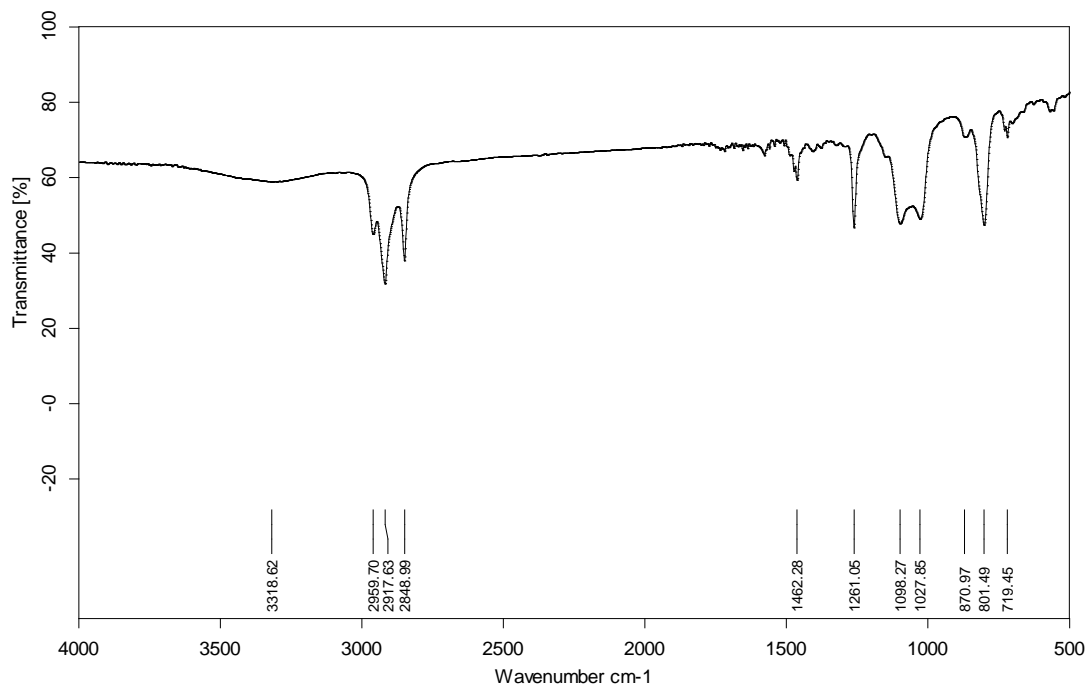
A: Policosanol loại I

B: Policosanol đối chiếu

Hình 5: Sắc ký đồ policosanol sạch và policosanol đối chiếu với hệ dung môi 1: n-hexan - EA - CH₃COOH (90 : 9 : 1) và trên UV 254nm, 365nm; hệ dung môi 2: Cf - CH₃COOH (10 : 0,1); hệ dung môi 3: Cf - EA - CH₃COOH (30 : 70 : 0,1)

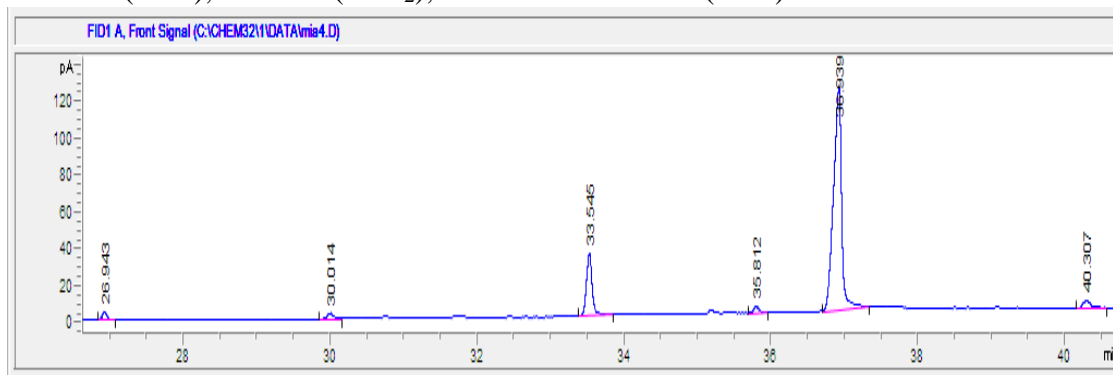
Nhận xét: Dựa vào sắc ký đồ so sánh policosanol loại I và policosanol đối chiếu ở 3 hệ dung môi khác nhau thì không thấy xuất hiện tạp ngoài policosanol trên thuốc thử. Các policosanol là các ancol mạch dài, thẳng, no nên không có hấp thụ (254nm) hay phát huỳnh quang (365nm) nên không hiện vết trên UV 254nm và 365nm cho thấy không có vết tạp phát quang (ở 365nm) hay tắt quang (ở 254nm).

3.2. Xác định thành phần policosanol sau khi tinh chế



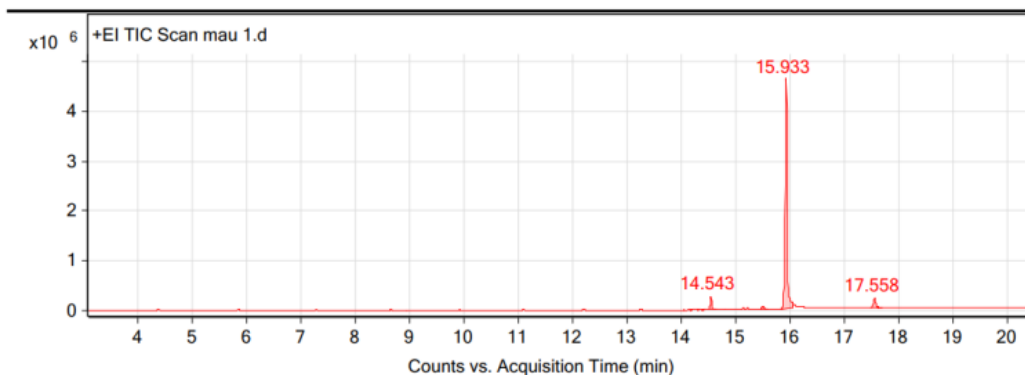
Hình 6: Phổ IR của policosanol loại I

Nhận xét: Policosanol loại I có các nhóm chức 3318.62 (–OH), 2959.40, 2917.63 và 2849.99 (–CH), 1462.28 (–CH₂), 1098.27 và 1027.85 (–CO).



Hình 7: Phổ GC-FID của policosanol loại I

Nhận xét: Kết quả GC-FID cho thấy có 6 đỉnh. Đỉnh có thời gian lưu 36,939 phút có cường độ lớn nhất với diện tích đỉnh chiếm 74,70% (920,3/1232).

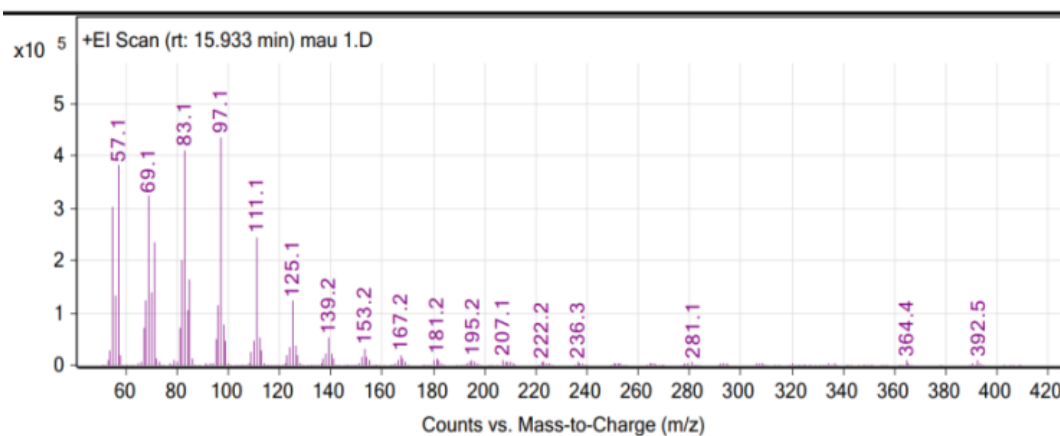


Bảng 2. Bảng phân tích kết quả các đỉnh (phút)

Đỉnh	Thời gian lưu (phút)	Chiều cao	Diện tích đỉnh	Diện tích đỉnh (%)
1	14,543	249052,78	521321,38	4,72
2	15,493	63026,27	150695,25	1,36
3	15,933	4625986,26	11050473,55	100
4	17,558	188417,52	712963,8	6,45

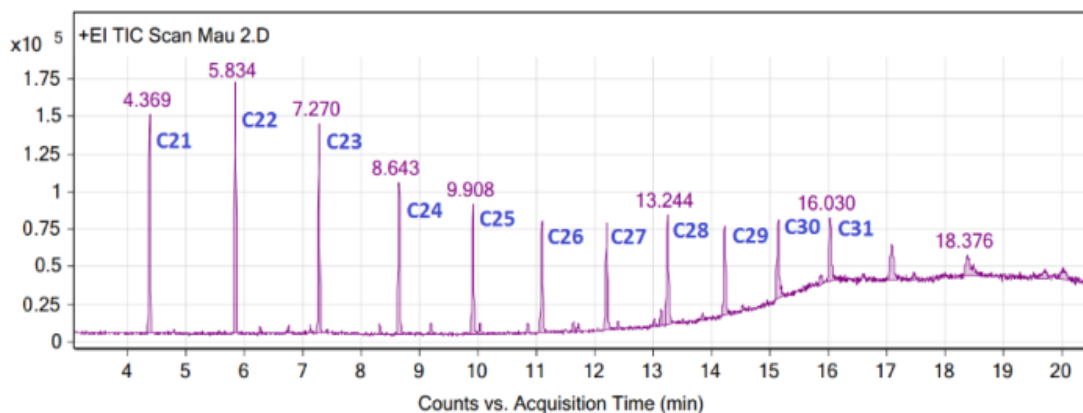
Hình 8. Sắc ký đồ GC-MS của policosanol loại I

Nhận xét: Đỉnh có thời gian lưu 15,933 phút (Đỉnh của chất Z) có cường độ lớn nhất với diện tích đỉnh chiếm 88,65% (100/112,53).



Hình 9. Phổ MS của chất Z

Nhận xét: Phổ MS của chất Z không xuất hiện đỉnh ion phân tử của octacosanol nhưng có hai đỉnh quan trọng tương ứng với octacosanol (m/z 392 và 364).



Hình 10. Phổ GC-MS của ankan chuẩn có số cacbon từ 21-40

Nhận xét: Các đỉnh ankan tách nhau rõ từ C21-C31 và dựa vào thời gian lưu của các ankan chuẩn được phân tích trong cùng điều kiện với hỗn hợp chất trong mẫu, ta tính được chỉ số lưu (KI) của chất Z dựa trên công thức tính chỉ số lưu Kovats (Kovats Index) dành cho thiết lập chạy chương trình nhiệt trên GC:

$$KI = 30 \times 100 + 100 \times \frac{15,933 - 15,14}{16,03 - 15,14} \approx 3089$$

IV. BÀN LUẬN

4.1. Chiết xuất và làm sạch sáp thô từ vỏ Mía

Dựa vào kết quả khảo sát khả năng hòa tan sáp thô của các dung môi khác nhau thể hiện ở bảng 1, cho thấy cloroform có khả năng hòa tan sáp thô tốt hơn các dung môi khác, phù hợp với tài liệu đã công bố [3]. Vì vậy, có thể dùng cloroform làm dung môi hòa tan ứng dụng trong tinh chế sáp bằng phương pháp chiết pha rắn.

Do sáp thô thu được bằng cách chiết vỏ mía với nước nóng nên trong sáp thô chứa nhiều tạp phân cực trong khi sáp và policosanol đều là những chất có độ phân cực thấp do có chuỗi hydrocacbon mạch thẳng dài. Do vậy, silica gel (một pha tĩnh phân cực) được dùng làm pha tĩnh chiết pha rắn do có thể giữ lại các thành phần tạp phân cực, riêng sáp và policosanol đều là các chất kém phân cực nên được rửa giải nhanh. Dựa vào hình 1 so sánh sáp đã tinh chế và policosanol đối chiếu, nhận thấy quá trình loại tạp giúp làm sạch được sáp khỏi các tạp phân cực.

4.2. Khảo sát điều kiện chiết xuất và tinh chế policosanol từ sáp

Dựa vào kết quả khảo sát thời gian thủy phân sáp được thể hiện ở hình 2 và hình ảnh sản phẩm thủy phân sau 3 giờ ở hình 4, cho thấy thủy phân sáp với KOH trong 3 giờ cho kết quả phản ứng tốt. Quá trình thủy phân và tách policosanol từ sản phẩm thủy phân cho thấy policosanol thu được không còn tín hiệu của gốc carbonyl. Việc này chứng tỏ trong policosanol thu được không còn lẫn sáp (este) hay muối xà phòng (một sản phẩm của quá trình thủy phân).

Sau khi thực hiện quá trình tinh chế thu được policosanol loại I và II bằng phương pháp kết tinh/ kết tủa phân đoạn. Kết quả so sánh policosanol loại I và policosanol đối chiếu ở 3 hệ dung môi khác nhau (hình 5) cho thấy policosanol cho một vết duy nhất trên 3 hệ dung môi sắc ký lớp mỏng. Quan sát các bản mỏng ở các bước sóng 254nm và 365nm không ghi nhận được bất kỳ vết nào. Điều này là phù hợp vì policosanol là các ancol no (không chứa

nổi đôi) mạch dài nên không có hấp thu hay phát xạ huỳnh quang trong điều kiện khảo sát. Các kết quả trên cho thấy policosanol phân lập được có độ tinh khiết cao.

4.3. Xác định thành phần policosanol sau khi tinh chế

Dựa vào phổ IR hình 6, xét thấy policosanol loại I có các nhóm chức đặc trưng của ancol no mạch dài. Thực hiện khảo sát điều kiện sắc ký policosanol loại I bằng GC-FID, dựa vào hình 7 cho thấy các đỉnh tách nhau rõ ràng. Tiếp tục thực hiện xác định thành phần của policosanol loại I bằng GC-MS, đồng thời rút ngắn thời gian trong chương trình nhiệt vì các đỉnh tách nhau khá xa và rõ rệt. Kết quả phổ GC-MS hình 8 cho thấy đỉnh của chất Z có cường độ lớn nhất chiếm 88,65 % diện tích đỉnh so với tổng diện tích đỉnh của toàn phổ. Phổ MS của chất Z hình 9 cho thấy có những đỉnh quan trọng tương ứng với octacosanol (m/z 392 và 364) phù hợp với kết quả công bố của Wang và cộng sự năm 2007 [4]. Đồng thời, trong phổ MS cũng cho thấy một chuỗi các đỉnh lệch nhau 14 đơn vị có m/z 57, 69, 83, 97, 111, 125, 139, 153, 181, 195 đặc trưng cho chuỗi hydrocacbon mạch dài và sự suy giảm nhanh và khá đều đặn cường độ tín hiệu của các đỉnh có m/z từ 111 đến 195 cho thấy mạch hydrocacbon không có sự phân nhánh. Chỉ số lưu của đỉnh octacosanol tính được là 3089, tương đối phù hợp với kết quả đối chiếu từ cơ sở dữ liệu của Viện tiêu chuẩn và kỹ thuật quốc gia Hoa Kỳ (NIST - National Institute of Standards and Technology) [5].

V. KẾT LUẬN

Từ 30 kg vỏ Mía thu được 20g sáp thô và tinh chế thu được 16,4g sáp sau tinh chế. Với lượng 4,5g sáp sau tinh chế thực hiện thủy phân thu được 4,239g sản phẩm thủy phân. Lấy 3g sản phẩm thủy phân thực hiện kết tinh và kết tủa phân đoạn thu được 53,49mg policosanol loại I và 14mg policosanol loại II. Policosanol loại I thu được đạt độ tinh khiết cao trên SKLM và GC-FID. Trong sản phẩm policosanol thu được, octacosanol là thành phần chính chiếm 88,65 % trên GC-MS.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hồ Quốc Phong (2015), Nghiên cứu ứng dụng bã mía chế tạo vật liệu biocomposite. Hội thảo KHCN các trường đại học kỹ thuật lần thứ 46: “Các trường đại học kỹ thuật với sự phát triển bền vững của tỉnh Hải Dương”: 149 - 160
2. Van Tang Nguyen (2017), *Recovering Bioactive Compounds from Agricultural Wastes*. John Wiley & Sons (1): 165 - 170
3. Uribarri, E., Laguna, A., Sierra, R., and Ricardo, Y. (2002), Physico-mechanical characterization of policosanol, a novel hypocholesterolemic drug. *Drug Dev Ind Pharm* 28(1): 89 - 93
4. Mei - Fei Wang (2007), Comparison of Various Extraction Methods for Policosanol from Rice Bran Wax and Establishment of Chromatographic Fingerprint of Policosanol. *Journal of Agricultural and Food chemistry*: 5552 - 5558
5. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1-Octacosanol>: Kovats Retention Index (3.2.5), truy cập ngày 01/7/2020

(Ngày nhận bài: 03/4/2020 - Ngày duyệt đăng: 06/8/2020)