



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ
(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN) (11) CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ
(51)^{2020.01} C11B 1/10; C11B 3/12; B01D 3/10; (13) B
C07J 9/00



1-0047788

(21) 1-2020-05101 (22) 16/01/2019
(86) PCT/IB2019/050362 16/01/2019 (87) WO2019/159020 22/08/2019
(30) 15/896,263 14/02/2018 US
(45) 25/06/2025 447 (43) 25/12/2020 393A
(76) 1. MARKOVITS ROJAS, Alejandro (CL)
Avenida Eduardo Frei Montalva 6000, Quilicura, Santiago, 8700548, Chile
2. HÄRTING GLADE, Thomas Francis (CL)
Avenida Eduardo Frei Montalva 6000, Quilicura, Santiago, 8700548, Chile
3. HÄRTING ECKMAN, Steven Lee (CL)
Avenida Eduardo Frei Montalva 6000, Quilicura, Santiago, 8700548, Chile
(74) Công ty Luật TNHH T&G (TGVN)

(54) QUY TRÌNH SẢN XUẤT CHOLESTEROL TỪ DẦU CÁ

(21) 1-2020-05101

(57) Sáng chế đề cập đến quy trình sản xuất cholesterol từ dầu cá, bao gồm các bước sau: (a) chưng cất dầu cá trong cột chưng cất chân không để thu được phần cặn thứ nhất và phần cất thứ nhất, (b) chưng cất phần cất thứ nhất trong cột chưng cất chân không để thu được phần cất thứ hai và phần cặn thứ hai, (c) cho phần cặn thứ hai tiếp xúc với kiềm để tạo ra hỗn hợp được xà phòng hóa, (d) cho hỗn hợp được xà phòng hóa tiếp xúc với dung môi hữu cơ không phân cực hoặc hỗn hợp gồm các dung môi hữu cơ không phân cực để tạo ra pha hữu cơ và pha chứa nước, (e) tách pha hữu cơ ra khỏi pha chứa nước, (f) làm lạnh pha hữu cơ để tạo thành pha rắn và pha lỏng, và (g) tách pha rắn ra khỏi pha hữu cơ, trong đó pha rắn được tách ra bao gồm cholesterol.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến quy trình sản xuất cholesterol từ dầu cá.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Hiện nay, có nhu cầu ngày càng tăng về cholesterol cấp dược phẩm có hàm lượng cholesterol là 95% hoặc lớn hơn để sản xuất vitamin D₂, D₃, hormon và nhũ tương nước trong dầu (W/O) trong mỹ phẩm.

Hiện nay, cholesterol ở quy mô công nghiệp chủ yếu được sản xuất từ cồn béo từ mỡ lông cừu, tức là phần không thể xà phòng hóa của mỡ lông cừu, phần này chứa từ khoảng 25% đến khoảng 32% cholesterol. Hầu hết các quá trình phổ biến để sản xuất cholesterol bao gồm việc tạo thành sản phẩm cộng không hòa tan bằng cách cho cholesterol phản ứng với muối kim loại, sau đó là phân hủy sản phẩm cộng và thu hồi cholesterol. Các quy trình như vậy có thể đáp ứng các yêu cầu về độ tinh khiết cho các ứng dụng dược của cholesterol. Ví dụ, US 2,536,753 mô tả quy trình, trong đó muối kim loại là kẽm clorua.

Tuy nhiên, quy trình đã biết này tạo ra các lượng lớn chất thải công nghiệp lỏng (liquid industrial waste-LIW), việc quản lý chúng có thể làm tăng đáng kể chi phí sản xuất. Ngoài ra, nhu cầu về len trên toàn thế giới đã giảm mạnh trong những thập kỷ qua, dẫn đến lượng cừu dự trữ ít hơn nhiều và lượng mỡ lông cừu sẵn có thấp hơn, do đó cần phải xem xét các nguồn cung cấp cholesterol khác.

Spiric A. et al: “Statistical evaluation of fatty acid profile and cholesterol content in fish (common carp) lipids obtained by different sample preparation procedures” *Analytical Chimica Acta*, vol. 672, no. 1-2 July 2010, pp. 67-71 mô tả quy trình chiết cholesterol từ mô cá bằng cách xà phòng hóa ở 80°C, tiếp theo là chiết bằng hexan và dietyl etc.

GB 526951 mô tả quy trình chiết cholesterol từ các mô động vật như não, tủy sống, v.v. bằng cách xà phòng hóa và chiết bằng dung môi không trộn lẫn với nước.

GB 489623 mô tả quy trình thu được cholesterol từ dầu động vật biển bằng cách cất phân đoạn dầu bằng nhiều lần chưng cất dầu liên tiếp trong chân không ở các nhiệt độ và áp suất khác nhau, trong đó một trong số phần cất chứa cholesterol, cả ở dạng tự do và dạng este hóa. Phần cất này bao gồm cholesterol, nếu muốn, có thể được tinh chế thêm bằng cách xà phòng hóa phần cất này, sau đó chiết chất không xà phòng hóa được, cô đặc và kết tinh.

Trong ví dụ 1 của GB 489623, dầu cá voi đã làm trong được chưng cất phân tử ở nhiệt độ từ 90°C đến 220°C và áp suất từ 0,001 đến 0,003 mmHg. Khi áp suất được giảm và nhiệt độ được tăng, các phần cất liên tiếp với lượng từ 0,2 đến 2% được rút ra, các phần cất này bao gồm hầu hết các axit béo tự do, squalen và các chất bay hơi khác. Nhiều phần cất với tỷ lệ nằm trong khoảng từ 0,5 đến 10% được rút ra trong khoảng 120°C đến 160°C, các phần cất này bao gồm cholesterol tự do và cholesterol được este hóa. Rõ ràng là không ít hơn bốn lần chưng cất liên tiếp, mỗi lần ở một số nhiệt độ và áp suất cụ thể, được yêu cầu để thu được phần cất giàu cholesterol bằng cách sử dụng quy trình này.

Có một số nhược điểm khác của quy trình cũng được mô tả bởi GB 489623. Hiện nay, dầu cá là mặt hàng có giá trị do hàm lượng axit eicosapentaenoic (EPA) và docosahexaenoic (DHA) của nó. Việc chưng cất nhiều lần dầu cá làm tăng hàm lượng axit béo đồng phân trans của dầu, và thúc đẩy quá trình polyme hóa axit béo không bão hòa, do đó làm giảm hàm lượng EPA và DHA. Do đó, việc chưng cất nhiều lần khiến dầu cá không thích hợp cho người hoặc động vật tiêu thụ.

Mặt khác, dầu cá ngày nay chứa rất nhiều chất gây ô nhiễm độc hại và/hoặc có hại do tác động của con người như biphenyl polyclo hóa (polychlorinated biphenyl-PCB), diclodiphenyltricloetan

(dichlorodiphenyltrichloroethane-DDT) và các chất chuyển hóa của nó, dibenzo-dioxin (PCDD) và dibenzo-furan (PCDF), hydrocacbon đa thơm (PAH), thuốc trừ sâu và các sản phẩm thoái biến của chúng, còn được gọi là các chất ô nhiễm hữu cơ khó phân hủy hoặc POP, các chất này có khả năng chống lại sự thoái biến do môi trường và do đó tích lũy sinh học. Do đó, các phân cắt bao gồm cholesterol cũng sẽ bao gồm một hoặc nhiều chất gây ô nhiễm như vậy. Hàm lượng các chất gây ô nhiễm như vậy trong các phân cắt thậm chí sẽ cao hơn trong dầu cá. Thực tế này, mặc dù hiển nhiên, có thể được thấy trong giải pháp kỹ thuật đã biết.

US 7,678,930 mô tả quy trình thu được dầu cá đã khử cholesterol tự do bằng cách hút chân không dầu. Mặt khác, US 7,718,698 mô tả quy trình làm giảm lượng chất gây ô nhiễm môi trường trong dầu cá, cũng bằng cách hút chân không dầu. Hai bằng sáng chế này có những mô tả tương tự nhau. Do đó, trong các điều kiện chưng cất chân không, trong đó các chất gây ô nhiễm môi trường được loại bỏ, cholesterol tự do cũng được loại bỏ và ngược lại.

Sản phẩm chưng cất của quy trình trong US 7,678,930 có mức chất gây ô nhiễm độc hại và/hoặc có hại do tác động của con người cao hơn so với dầu cá và hàm lượng cholesterol của nó không lớn hơn 10%, do đó nó không thích hợp làm nguồn cholesterol trong thức ăn công thức cho tôm. Điều tương tự cũng có thể được nêu ra đối với các chất cô đặc cholesterol thu được bằng quy trình được mô tả trong GB 489623. Vì cholesterol thu được từ các chất cô đặc như vậy trong GB 489623 bằng các phương pháp như xà phòng hóa, sau đó chiết chất không xà phòng hóa được (bao gồm tất cả các POP) bằng dung môi không trộn lẫn với nước, cô đặc và kết tinh, cholesterol rắn kết tinh cũng sẽ chứa các chất gây ô nhiễm, mà tự nó đã đủ để ngăn cản việc sử dụng nó cho mục đích được phẩm.

US 4,104,286 mô tả quy trình tách cholesterol từ trứng nguyên quả sấy khô.

US 2011/0207952 mô tả quy trình chiết cholesterol từ chất thải xử lý tảo mô tả quy trình xà phòng hóa chất béo hoặc dầu, chiết bằng dung môi hỗn hợp xà phòng hóa và chiết cholesterol từ dòng dung dịch.

JPS 63174997 với cacbon dioxit siêu tới hạn.

Đơn quốc tế WO2016/096989 mô tả phương pháp chiết cholesterol từ cặn thải dầu cá, cặn của quy trình tiêu chuẩn để sản xuất chất cô đặc EPA và DHA từ dầu cá, chứa tới 15% cholesterol. Người có hiểu biết trung bình biết rằng lượng cặn như vậy tương ứng với khoảng 1% dầu cá ban đầu, là tương đương với ít hơn 10% cholesterol có trong dầu cá ban đầu.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến quy trình sản xuất cholesterol từ dầu cá, bao gồm các bước sau: (a) chung cất dầu cá trong cột chung cất chân không để thu được phần cặn thứ nhất và phần cất thứ nhất, (b) chung cất phần cất thứ nhất trong cột chung cất chân không để thu được phần cất thứ hai và phần cặn thứ hai, (c) cho phần cặn thứ hai tiếp xúc với kiềm để tạo ra hỗn hợp được xà phòng hóa, (d) cho hỗn hợp được xà phòng hóa tiếp xúc với dung môi hữu cơ không phân cực hoặc hỗn hợp gồm các dung môi hữu cơ không phân cực để tạo ra pha hữu cơ và pha chứa nước, (e) tách pha hữu cơ ra khỏi pha chứa nước, (f) làm lạnh pha hữu cơ để tạo thành pha rắn và pha lỏng, và (g) tách pha rắn ra khỏi pha hữu cơ, trong đó pha rắn được tách ra bao gồm cholesterol.

Theo một phương án, trong bước (a), dầu cá được chung cất trong hỗn hợp với chất lỏng hỗ trợ. Theo một phương án khác, cột chung cất chân không là cột chung cất dòng ngắn. Theo một phương án khác, dầu cá được đưa vào cột chung cất chân không ở bước (a) với tốc độ từ 1 đến 150 kg/giờ trên một m² diện tích thiết bị bay hơi. Theo một phương án khác, tỷ lệ khối lượng của chất lỏng hỗ trợ trên dầu cá trong hỗn hợp là khoảng 1:100 đến 10:100. Theo một phương án khác, hỗn hợp được đưa vào cột chung cất chân không với tốc

độ từ 1 đến 150 kg/giờ trên một m² diện tích thiết bị bay hơi. Theo một phương án khác, bước (a) được tiến hành ở nhiệt độ bay hơi từ 150 đến 300°C và áp suất cột từ 0,0001 đến 0,5 mbar. Theo một phương án khác, phần cất thứ nhất được đưa vào cột chưng cất chân không ở bước (b) với tốc độ từ 10 đến 350 kg/giờ trên một m² diện tích thiết bị bay hơi. Theo một phương án khác, bước (b) được tiến hành ở nhiệt độ bay hơi từ 100 đến 250°C và áp suất cột từ 0,0001 đến 0,5 mbar. Theo một phương án khác, kiềm ở bước (c) là NaOH hoặc KOH. Theo một phương án khác, dung môi hữu cơ không phân cực hoặc hỗn hợp gồm các dung môi hữu cơ không phân cực ở bước (d) bao gồm dung môi hydrocacbon béo. Theo một phương án khác, pha hữu cơ và pha chứa nước được tách bằng cách lắng gạn hoặc ly tâm. Theo một phương án khác, pha hữu cơ đã tách được giữ ở nhiệt độ nhỏ hơn 30°C để tạo ra pha rắn và pha lỏng. Theo một phương án khác, ở bước (g), pha rắn được tách ra chứa ít nhất 95% cholesterol.

Mục đích của sáng chế là đề xuất quy trình thu được cholesterol cấp được phẩm có ít nhất 95% cholesterol và mức chất gây ô nhiễm độc hại và/hoặc có hại do tác động của con người (POP) thấp hơn so với trong dầu cá, từ dầu cá với hiệu suất ít nhất 50% trên cơ sở dầu cá, và đồng thời tạo ra dầu cá còn sót lại hoặc đã qua xử lý có chất lượng cao phù hợp cho động vật hoặc người tiêu thụ hoặc để tạo ra chất cô đặc EPA và DHA.

Sản phẩm theo sáng chế ngoài việc sử dụng trong các quy trình sản xuất vitamin D₂, D₃, hormon và nhũ tương nước trong dầu (W/O) trong mỹ phẩm, còn có thể được sử dụng làm thành phần thức ăn trong thức ăn công thức cho tôm.

Mô tả chi tiết sáng chế

Một hoặc nhiều mục đích của sáng chế đạt được bằng quy trình sau:

a) chưng cất dầu cá trong cột chưng cất chân không để thu được cạn thứ nhất và phần cất thứ nhất,

- b) chung cất phần cất thứ nhất trong cột chung cất chân không để thu được phần cất thứ hai và cặn thứ hai,
- c) cho cặn thứ hai tiếp xúc với kiềm để tạo ra hỗn hợp xà phòng hóa,
- d) cho hỗn hợp xà phòng hóa tiếp xúc với dung môi hữu cơ không trộn lẫn với nước hoặc hỗn hợp gồm các dung môi hữu cơ không trộn lẫn với nước để tạo ra pha hữu cơ và pha chứa nước,
- e) tách pha hữu cơ ra khỏi pha chứa nước,
- f) làm lạnh pha hữu cơ để tạo ra pha rắn và pha lỏng và
- g) tách pha rắn ra khỏi pha hữu cơ.

Dầu cá

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “dầu cá” dùng để chỉ các loại dầu thu được từ cá tự nhiên và cá nuôi, động vật giáp xác và các động vật biển khác. Các loại dầu này được lấy từ toàn bộ cơ thể của cá hoặc từ các sản phẩm phụ của nó như gan, đầu, v.v.. Ví dụ về các loại dầu này bao gồm dầu cá cơm, dầu cá mòi, dầu cá hồi, dầu cá sòng, dầu cá mòi dầu, dầu cá ngừ, dầu nhuyễn thể, dầu mực ống, dầu cá minh thái, dầu cá trích, dầu cá trứng, dầu gan cá tuyết và dầu mực ống. Dầu cá có thể được chiết xuất từ một loài hoặc hỗn hợp các loại dầu cá.

Dầu cá còn dùng để chỉ dầu cá bất kỳ từ các nhà máy sản xuất dầu cá/bột cá, bao gồm cả dầu cá đã tinh luyện hoặc được tẩy trắng hoặc dầu cá đã được trung hòa. Các loại dầu như vậy, ngoài triglyxerit, thành phần chính của chúng, thường chứa từ 0,01 đến 10% axit béo tự do và khoảng 2% hoặc ít hơn chất không xà phòng hóa được, chủ yếu gồm cholesterol, glyxeryl ete, rượu béo, squalen và hydrocacbon no. (Young, F.V.K. "The Chemical & Physical Properties of Crude Fish Oils for Refiners & Hydrogenators" Fish Oil Bulletin No.18, 1986). Hàm lượng cholesterol trung bình của dầu cá là khoảng 1%.

Theo sáng chế, cột chung cất chân không có thể là cột chung cất dòng ngắn có thiết bị ngưng tụ bên trong ở gần bề mặt được gia nhiệt hoặc thiết bị

bay hơi. Cột chưng cất dòng ngắn còn được gọi là cột chưng cất phân tử khi khoảng cách giữa thiết bị bay hơi và thiết bị ngưng tụ có thể so sánh với dòng tự do trung bình của các phân tử chưng cất trong các điều kiện vận hành. Do đó, theo sáng chế, cột chưng cất chân không có thể là cột chưng cất dòng ngắn, cột chưng cất phân tử hoặc loại tương đương của chúng.

a) Chưng cất dầu cá

Dầu cá được đưa vào cột chưng cất chân không, thường với tốc độ nằm trong khoảng từ 1 đến 150 kg/giờ trên mỗi m² diện tích thiết bị bay hơi, tốt hơn là với tốc độ nằm trong khoảng từ 10 đến 100 kg/giờ trên mỗi m² diện tích thiết bị bay hơi.

Theo một phương án, nhiệt độ bay hơi là từ 150°C đến 300°C, tốt hơn là từ 180°C đến 280°C. Theo một phương án, áp suất cột nằm trong khoảng từ 0,0001 mbar đến 0,5 mbar, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 0,001 đến 0,1 mbar. Theo một phương án, nhiệt độ bay hơi nằm trong khoảng từ 150°C đến 300°C, tốt hơn là từ 180°C đến 280°C, và áp suất cột nằm trong khoảng từ 0,0001 mbar đến 0,5 mbar, tốt hơn là từ 0,001 đến 0,1 mbar.

Quá trình chưng cất dẫn đến việc phân tách phần cất thứ nhất bao gồm cholesterol, chất không xà phòng hóa khác của dầu cá, các axit béo tự do và các chất gây ô nhiễm do tác động của con người, và phần cặn thứ nhất bao gồm dầu cá với hàm lượng giảm của cholesterol, chất không xà phòng hóa và các chất gây ô nhiễm do tác động của con người. Phần cất thứ nhất ngưng tụ ở bình ngưng tụ bên trong. Phần cất thứ nhất và phần cặn thứ nhất rời khỏi cột một cách riêng biệt và được thu gom ở cửa ra của cột. Phần cặn thứ nhất là dầu cá chất lượng cao thích hợp cho người hoặc động vật tiêu thụ hoặc để sản xuất các chất cô đặc EPA và DHA.

Trong trường hợp hàm lượng axit béo tự do của dầu cá nhỏ hơn khoảng 6%, axit béo tự do này luôn xuất hiện trong dầu cá đã được trung hòa, thì phần cất thứ nhất giàu cholesterol, ở nhiệt độ của thiết bị ngưng tốt hơn là thấp hơn

60°C, có thể tạo thành màng chảy chậm rất nhớt ở thiết bị ngưng tụ hoặc thậm chí có thể hóa rắn, do đó làm tắc thiết bị ngưng tụ. Điều này là do điểm nóng chảy của cholesterol cao (136°C). Có hai giải pháp được đề xuất cho vấn đề này trong phân tình trạng kỹ thuật của sáng chế, cả hai giải pháp đều sử dụng một số chất lỏng hỗ trợ (auxiliary fluid-AF). Theo một giải pháp, AF được cho tiếp xúc với dầu cá để tạo thành hỗn hợp và hỗn hợp này được chưng cất ở các điều kiện nhiệt độ và áp suất như được mô tả ở trên. Giải pháp thứ hai bao gồm cung cấp AF trực tiếp trên bề mặt của thiết bị ngưng tụ.

Chất lỏng hỗ trợ (AF) khi được sử dụng trong hỗn hợp với dầu cá, bao gồm chất lỏng bất kỳ hoặc hỗn hợp các chất lỏng mà chưng cất ở điều kiện chưng cất chân không được mô tả ở trên, và cũng ở trạng thái lỏng ở nhiệt độ của thiết bị ngưng tụ và hòa tan hoặc trộn lẫn với cholesterol, do đó làm giảm nồng độ của nó trong màng ngưng tụ, do đó tạo thành hỗn hợp chất lỏng chảy xuống tự do ở thiết bị ngưng tụ, và ngăn ngừa sự đóng cặn hoặc tắc nghẽn thiết bị ngưng tụ. Chất lỏng hoặc hỗn hợp chất lỏng bất kỳ đáp ứng các yêu cầu nêu trên đều có thể được sử dụng làm chất lỏng hỗ trợ, mặc dù chất lỏng hỗ trợ được ưu tiên cho sáng chế bao gồm este etyl của axit béo không no hoặc hỗn hợp este etyl của axit béo chủ yếu bao gồm axit béo không no, vì chất lỏng hỗ trợ như vậy cho phép sử dụng nhiệt độ thiết bị ngưng tụ thấp hơn, do đó cải thiện hiệu suất của hệ thống chân không và làm giảm tốc độ bay hơi lại của chất ngưng tụ, do đó cải thiện hiệu suất loại bỏ tổng thể phần cất mong muốn.

Nếu AF được sử dụng trong hỗn hợp với dầu cá, tỷ lệ chất lỏng hỗ trợ so với dầu cá trong hỗn hợp nằm trong khoảng từ 1 đến 10%, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 2 đến 8%. Hỗn hợp, trên cơ sở không có chất lỏng hỗ trợ, được đưa vào cột chưng cất chân không, với tốc độ được mô tả ở trên và các điều kiện chưng cất giống như được mô tả ở trên mà không có chất lỏng hỗ trợ, nhưng phần cất thứ nhất bao gồm thêm chất lỏng hỗ trợ cũng được.

b) Chưng cất phần cất thứ nhất.

Phần cất thứ nhất được đưa vào cột chưng cất chân không với tốc độ từ 10 đến 350 kg/giờ trên mỗi m^2 bề mặt bay hơi, tốt hơn là từ 50 đến 200 kg/giờ trên mỗi m^2 .

Theo một phương án, nhiệt độ bay hơi là từ 100°C đến 250°C , tốt hơn là từ 140°C đến 220°C . Theo một phương án, áp suất cột nằm trong khoảng từ 0,0001 mbar đến 0,5 mbar, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 0,001 đến 0,1 mbar. Theo một phương án, nhiệt độ bay hơi nằm trong khoảng từ 100°C đến 250°C , tốt hơn là từ 140°C đến 220°C , và áp suất cột nằm trong khoảng từ 0,0001 mbar đến 0,5 mbar, tốt hơn là từ 0,001 đến 0,1 mbar.

Quá trình chưng cất phần cất thứ nhất dẫn đến việc tạo ra phần cất thứ hai, phần cất thứ hai này ngưng tụ ở thiết bị ngưng tụ bên trong, và phần cặn thứ hai bao gồm cholesterol.

Phần cất thứ hai và phần cặn thứ hai rời khỏi cột chưng cất chân không một cách riêng biệt và được thu gom ở cửa ra của cột.

c) Xà phòng hóa phần cặn thứ hai.

Tiếp theo, phần cặn thứ hai được xà phòng hóa. Cuối cùng, phần cặn thứ hai được cho tiếp xúc với kiềm như NaOH hoặc KOH trong nước để tạo thành hỗn hợp xà phòng hóa. Tỷ lệ khối lượng của phần cặn thứ hai trên nước là từ 1:0,1 đến 1:10, tốt hơn là từ 1:0,1 đến 1:1. Theo cách khác, phần cặn thứ hai được cho tiếp xúc với kiềm như NaOH hoặc KOH trong dung dịch chứa nước và dung môi phân cực như metanol hoặc etanol hoặc hỗn hợp bất kỳ của các dung môi nói trên để tạo thành hỗn hợp xà phòng hóa. Tỷ lệ khối lượng của phần cặn thứ hai trên dung dịch là từ 1:0,1 đến 1:10, tốt hơn là từ 1:0,1 đến 1:1.

Lượng kiềm trong nước hoặc dung dịch bằng chỉ số xà phòng hóa của phần cặn thứ hai, tốt hơn là gấp từ 1,01 đến 1,20 lần chỉ số xà phòng hóa của phần cặn thứ hai.

Hỗn hợp xà phòng hóa được đưa vào bình kín và gia nhiệt ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 30 đến 150°C từ 5 đến 120 phút, tốt hơn là từ 10 đến 30 phút, để tạo thành hỗn hợp đã được xà phòng hóa.

Tiếp theo, hỗn hợp đã được xà phòng hóa được cho tiếp xúc với một hoặc nhiều dung môi hữu cơ không phân cực, như hydrocacbon béo như hexan, heptan, octan, ete dầu mỏ, xyclohexan, xycloheptan, benzen hoặc toluen, dẫn đến sự phân tách hai pha không trộn lẫn, pha hữu cơ bao gồm cholesterol và pha chứa nước bao gồm xà phòng axit béo. Tỷ lệ khối lượng của hỗn hợp đã được xà phòng hóa trên dung môi hữu cơ là từ 1:0,5 đến 1:10, tốt hơn là từ 1:1 đến 1:5.

Trong trường hợp quá trình xà phòng hóa phần cận thứ hai được thực hiện bằng NaOH hoặc KOH trong một mình nước, để tạo điều kiện thuận lợi cho việc phân tách pha, có thể thêm một hoặc nhiều dung môi phân cực như nước, etanol, metanol hoặc axeton vào hỗn hợp đã được xà phòng hóa được cho tiếp xúc với một hoặc nhiều dung môi hữu cơ không phân cực, như hydrocacbon béo, benzen hoặc toluen.

Việc tiếp xúc của hỗn hợp đã được xà phòng hóa với dung môi hoặc các dung môi được thực hiện trong bình kín có khuấy ở nhiệt độ từ 10 đến 180°C, tốt hơn là từ 20 đến 120°C trong khoảng thời gian từ 1 đến 60 phút, tốt hơn là từ 2 đến 15 phút, sau đó pha hữu cơ và pha chứa nước được tách ra khỏi nhau bằng cách lắng hoặc ly tâm chẳng hạn. Nếu cần, pha chứa nước đã tách có thể được cho tiếp xúc với một hoặc nhiều dung môi không phân cực để tạo thành hai pha không trộn lẫn bổ sung.

Nồng độ chất rắn trong pha hữu cơ đã tách có thể được tăng bằng cách làm bay hơi một phần dung môi cho đến khi đạt được hàm lượng chất rắn từ 1 đến 40%, tốt hơn là từ 5 đến 30%. Pha hữu cơ đã cô đặc được giữ ở nhiệt độ nhỏ hơn 30°C, tốt hơn là nhỏ hơn 20°C, cho đến khi tạo thành hỗn hợp rắn - lỏng. Các chất rắn được tách ra khỏi hỗn hợp, ví dụ, bằng cách lọc hoặc ly tâm.

Chất rắn đã tách có mức chất gây ô nhiễm do tác động của con người thấp hơn so với dầu cá chứa ít nhất 95% cholesterol.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sáng chế có thể được hiểu rõ hơn nhờ các ví dụ sau đây, các ví dụ này được thiết lập chỉ nhằm mục đích minh họa mà không nhằm giới hạn sáng chế.

Ví dụ so sánh

Cholesterol từ dầu cá com theo quy trình trong bằng sáng chế GB 489623.

Dầu cá com được chế biến theo quy trình được mô tả trong bằng sáng chế GB 489623, như được thể hiện trong ví dụ 1 của GB 489623 đối với dầu cá voi.

100 kg dầu cá com có tổng hàm lượng cholesterol là 7,4 mg/g được đưa vào cột chưng cất dòng ngắn VK 83 và chưng cất ở nhiệt độ 90°C và áp suất 0,003 mbar. Nhiệt độ thiết bị ngưng tụ được đặt ở 50°C. Phần cất D1 với lượng 1,6kg thu được cùng với phần cặn R1, dầu cá com còn lại của lần chưng cất thứ nhất. Hàm lượng cholesterol của D1 là thấp hơn 0,1%.

Tiếp theo, R1 được đưa vào cột chưng cất dòng ngắn VK 83 và được chưng cất ở nhiệt độ 130°C và áp suất 0,002 mbar. Nhiệt độ thiết bị ngưng tụ được đặt ở 50°C. Phần cất D2 với lượng 1,1 kg thu được cùng với phần cặn R2, dầu cá com còn lại của lần chưng cất thứ hai. Hàm lượng cholesterol của D2 là 0,8%.

Vì sự phân tách D2 là thấp, khoảng 1%, nên các lần chưng cất sau được thực hiện bằng cách sử dụng chất lỏng hỗ trợ có thành phần được thể hiện trong Bảng 1 dưới đây. Cần lưu ý rằng trong những trường hợp tương tự, việc sử dụng chất lỏng hỗ trợ có thể giúp ngăn ngừa sự tắc nghẽn của thiết bị ngưng tụ, như được mô tả trong US 2,126,467.

R2 được trộn với 5 kg chất lỏng hỗ trợ có thành phần được thể hiện trong Bảng 1 và hỗn hợp này được đưa vào cột chưng cất dòng ngắn VK 83 và được chưng cất ở nhiệt độ 180°C và áp suất 0,002 mbar. Nhiệt độ thiết bị ngưng tụ được đặt ở 20°C. Phần cất D3 với lượng 5,8 kg thu được cùng với phần cặn R3, dầu cá com còn lại của lần chưng cất thứ ba. Hàm lượng cholesterol trong D3 là 6,6 %.

Tiếp theo, R3 được trộn với 5 kg chất lỏng hỗ trợ có thành phần được thể hiện trong Bảng 1 và hỗn hợp này được đưa vào cột chưng cất dòng ngắn VK 83 và được chưng cất ở nhiệt độ 220°C và áp suất 0,002 mbar. Nhiệt độ thiết bị ngưng tụ được đặt ở 20°C. Phần cất D4 với lượng 5,3 kg thu được cùng với phần cặn R4, dầu cá com còn lại của lần chưng cất thứ tư. Hàm lượng cholesterol trong D3 là 6,2 %.

Bảng 1. Thành phần chất lỏng hỗ trợ trong ví dụ so sánh.

Este etyl của axit béo	Nồng độ thành phần, %
Este etyl của axit myristic (C14:0).	6,6
Este etyl của axit palmitic (C16:0)	8,2
Este etyl của axit palmitoleic (C16:1)	46,4
Este etyl của axit stearic (C18:0)	1,9
Este etyl của axit oleic (C18:1)	29,3
Este etyl của axit linoleic (C18:2)	4,1
Este etyl của axit alpha-linolenic (18:3)	3,5

Tiếp theo, 580 g D3 và 530 g D4 được kết hợp và được xà phòng hóa. Quá trình chiết được thực hiện hai lần với 5 kg etyl ete. Dịch chiết etyl ete được làm bay hơi thu hồi 94 g cặn. Phần cặn được hòa tan với 250 g etyl axetat và làm lạnh trong tủ lạnh qua đêm. Các tinh thể rắn được tạo ra. Chất rắn được tách ra bằng cách lọc và sau đó sấy khô trong tủ chân không để thu được 62 g chất rắn khô có nồng độ cholesterol là 90,4%. Tổng lượng hydrocacbon đa thơm (poly aromatic hydrocarbon-PAH) của chất rắn là 31,5 ppb, cao hơn so với trong dầu cá cơm ban đầu.

Liên quan đến dầu cá còn lại của mỗi lần chưng cất, Bảng 2 thể hiện hàm lượng EPA và DHA được kết hợp, hàm lượng axit béo dạng đồng phân trans và chỉ số axit của mỗi cặn.

Bảng 2.

Hàm lượng EPA và DHA được kết hợp, hàm lượng axit béo dạng đồng phân trans và chỉ số axit

	Dầu cá cơm	R1	R2	R3	R4
EPA + DHA, %	26,7	26,8	26,2	25,1	24,3
Axit béo dạng đồng phân trans, %	0,3 %	0,3 %	0,4 %	0,6 %	0,7 %
Chỉ số axit, mg KOH/g	6,3	0,3	0,1	<0,05	<0,05

Như có thể được thấy trong Bảng 2, việc thu được các phân đoạn cholesterol bằng cách cất phân đoạn dầu cá như được mô tả trong bằng sáng chế GB 489623, dẫn đến sự tăng hàm lượng axit béo dạng đồng phân trans và làm giảm (EPA + DHA), có thể là do quá trình polyme hóa trong dầu cá còn lại. Sau bốn lần chưng cất liên tiếp, hàm lượng axit béo dạng đồng phân trans tăng khoảng 130% và hàm lượng EPA + DHA giảm khoảng 9%.

Ví dụ so sánh cho thấy rằng cholesterol thu được theo quy trình trong GB 489623 không phải là cholesterol cấp được phẩm, chứa một lượng tạp chất có thể phát hiện được từ dầu cá, và do đó dầu cá còn lại hoặc đã qua xử lý không thích hợp cho người hoặc động vật tiêu thụ.

Ví dụ 1.

Cholesterol từ dầu cá com đã được trung hòa.

Dầu cá com (nguyên liệu thô giống như trong Ví dụ 1) được trung hòa bằng natri hydroxit và rửa bằng nước nóng để thu được dầu cá com được trung hòa với chỉ số axit là 0,2 mg KOH/g.

250 kg dầu cá com đã được trung hòa được trộn với 15 kg chất lỏng hỗ trợ được nêu trong Bảng 1.

Hỗn hợp được đưa vào cột chưng cất dòng ngắn VK 83 và được chưng cất ở nhiệt độ 253°C và áp suất 0,008 mbar. Nhiệt độ thiết bị ngưng tụ được đặt ở 20°C. Phần cất D1 với lượng 18 kg thu được cùng với phần cặn chứa dầu cá com R1.

Tiếp theo, 15 kg phần cất D1 được đưa vào cột chưng cất dòng ngắn VK 83 ở nhiệt độ 155°C và áp suất 0,007 mbar. Nhiệt độ thiết bị ngưng tụ được đặt ở 20°C. Phần cặn R2 với lượng 3,5 kg thu được.

Tiếp theo, 1 kg R2 được cho tiếp xúc với 2 kg nước, 1 kg etanol (nồng độ 190) và 110 g NaOH (99%) trong thiết bị phản ứng có khuấy để tạo thành hỗn hợp thứ nhất, được khuấy và gia nhiệt đến 77°C trong khoảng thời gian 2 giờ. Sau đó, hỗn hợp được làm nguội xuống 35°C và được cho tiếp xúc với 5 kg hexan trong cùng một thiết bị phản ứng để tạo thành hỗn hợp thứ hai được khuấy trong 5 phút, sau đó để yên cho đến khi tạo thành hai pha không trộn lẫn: pha chứa nước thứ nhất và pha hữu cơ thứ nhất. Sau khi tách hai pha, pha chứa nước thứ nhất được cho tiếp xúc với 5 kg hexan mới để tạo thành hỗn hợp thứ hai, hỗn hợp này được khuấy trong 5 phút và sau đó để lắng để tạo thành pha

hữu cơ thứ hai và pha chứa nước thứ hai. Sau khi tách các pha này, kết hợp pha hữu cơ thứ nhất và pha hữu cơ thứ hai và cho hỗn hợp này tiếp xúc với 500 g nước và 500 g etanol, khuấy và sau đó để yên cho đến khi tạo thành pha hữu cơ thứ ba và pha chứa nước thứ ba. Pha hữu cơ thứ ba được tách ra khỏi pha chứa nước thứ ba và sau đó làm bay hơi một phần để thu được 1752 g phần cặn R3.

Tiếp theo, phần cặn R3 được làm lạnh qua đêm trong tủ lạnh ở 5°C. Tinh thể rắn được tạo thành. Chất rắn được tách ra bằng cách lọc và sau đó sấy khô trong tủ chân không để thu được 261 g chất rắn khô.

Bảng 3 dưới đây thể hiện các kết quả phân tích cho Ví dụ 1.

Bảng 3. Các kết quả phân tích cho Ví dụ 1.

	Dầu cá com được trung hòa	Phần cất D1	Chất rắn khô
Cholesterol tự do, mg/g	7,0	92,7	971,5
Tổng lượng cholesterol, mg/g	7,4	93,0	971,5
Cholesterol este ¹ , mg/g	0,8	0,5	<LOQ
Chất không xà phòng hóa được, %	1,38	13,40	100
Chỉ số axit, mg KOH/g	0,2	2,6	<LOQ
Dioxin, Furan và Dioxin như PCB, TEQ ppt (giới hạn dưới)	1,41	12,83	<LOQ
PCB 209, ppb (giới hạn dưới)	18,53	225,27	<LOQ

Tổng PAH, ppb	14,11	133,6	<LOQ
Thuốc trừ sâu, ppb	18,4	241,3	<LOQ

¹ ở dạng mg cholesteryl oleat/g mẫu.

LOQ: Giới hạn định lượng

Trong R1, không có sự khác biệt giữa hàm lượng axit béo dạng đồng phân trans và EPA + DHA đối với dầu cá cơm, và nồng độ các chất gây ô nhiễm độc hại và/hoặc có hại do tác động của con người thấp hơn giới hạn định lượng.

Ví dụ 2.

Cholesterol từ dầu cá mòi

240 kg dầu cá mòi được đưa vào cột chưng cất dòng ngắn VK 83 và được chưng cất ở nhiệt độ 253°C và áp suất 0,03 mbar. Nhiệt độ thiết bị ngưng tụ được đặt ở 50°C. Phần cất D1 với lượng 18,6 kg thu được cùng với phần cặn chứa dầu cá mòi R1.

Tiếp theo, 10 kg phần cất D1 được đưa vào cột chưng cất dòng ngắn VK 83 ở nhiệt độ 170°C và áp suất 0,01 mbar. Nhiệt độ thiết bị ngưng tụ được đặt ở 40°C. Phần cặn R2 với lượng 3,3 kg thu được.

Tiếp theo, 1 kg R2 được cho tiếp xúc với 1,5 kg nước, 1 kg etanol (nồng độ 190) và 105 g NaOH (99%) trong thiết bị phản ứng có khuấy để tạo thành hỗn hợp thứ nhất, được khuấy và gia nhiệt đến 78 °C trong khoảng thời gian 2 giờ. Sau đó, hỗn hợp được làm nguội xuống 35°C và được cho tiếp xúc với 5 kg ete dầu mỏ trong cùng một thiết bị phản ứng để tạo thành hỗn hợp thứ hai được khuấy trong 5 phút, sau đó để yên cho đến khi tạo thành hai pha không trộn lẫn: pha chứa nước thứ nhất và pha hữu cơ thứ nhất. Sau khi tách hai pha, pha chứa nước thứ nhất được cho tiếp xúc với 5 kg hexan mới để tạo thành hỗn hợp thứ hai, hỗn hợp này được khuấy trong 5 phút và sau đó để lắng để tạo thành pha hữu cơ thứ hai và pha chứa nước thứ hai. Sau khi tách các pha này, kết hợp pha hữu cơ thứ nhất và pha hữu cơ thứ hai và cho hỗn hợp này tiếp xúc

với 500 g nước và 500 g etanol, khuấy và sau đó để yên cho đến khi tạo thành pha hữu cơ thứ ba và pha chứa nước thứ ba. Pha hữu cơ thứ ba được tách ra khỏi pha chứa nước thứ ba và sau đó làm bay hơi một phần để thu được 1600 g phần cặn R3.

Tiếp theo, R3 được cho tiếp xúc với 200 g etanol (nồng độ 190) và được làm lạnh trong tủ lạnh ở 5°C trong 8 giờ. Các tinh thể rắn được tạo ra. Chất rắn được tách ra bằng cách lọc và sau đó sấy khô trong tủ chân không để thu được 252 g chất rắn khô.

Bảng 4 dưới đây thể hiện các kết quả phân tích cho Ví dụ 2.

Bảng 4. Các kết quả phân tích cho Ví dụ 2.

	Dầu cá mòi	Phần cất D1	Chất rắn khô
Cholesterol tự do, mg/g	9,3	118,6	964,9
Tổng lượng cholesterol, mg/g	9,6	118,9	964,9
Cholesterol este ¹ , mg/g	0,5	0,5	<LOQ
Chất không xà phòng hóa được, %	1,47	16,01	100
Chỉ số axit, mg KOH/g	14,4	171,3	<LOQ
(EPA + DHA) tự do %	0,5	6,8	<LOQ
Dioxin, Furan và Dioxin như PCB, TEQ ppt (giới hạn dưới)	1,61	16,96	<LOQ
PCB 209, ppb (giới hạn dưới)	17,21	218,12	<LOQ
Tổng PAH, ppb	28,15	328,63	<LOQ
Thuốc trừ sâu, ppb	21,0	248,5	<LOQ
As vô cơ, ppm	2,2	<LOQ	<LOQ

Các kim loại nặng, ppm	0,06	<LOQ	<LOQ
------------------------	------	------	------

¹ ở dạng mg cholesteryl oleat/g mẫu.

LOQ: Giới hạn định lượng

Trong R1, không có sự khác biệt giữa hàm lượng axit béo dạng đồng phân trans và EPA + DHA đối với dầu cá còm, và nồng độ các chất gây ô nhiễm độc hại và/hoặc có hại do tác động của con người thấp hơn giới hạn định lượng.

Ví dụ 3:

Cholesterol từ dầu cá mòi được tẩy trắng

250 kg dầu cá mòi với 2 kg đất sét tẩy trắng được gia nhiệt ở 70°C và ở chân không 50 mbar trong bình có khuấy trong 30 phút. Sau khi tách đất sét bằng cách lọc, thu được 245 kg dầu cá mòi đã tẩy trắng.

240 kg dầu cá mòi đã tẩy trắng được trộn với 10 kg chất lỏng hỗ trợ có thành phần được thể hiện trong Bảng 2 nêu trên và hỗn hợp này được đưa vào cột chưng cất dòng ngắn VK 83 và được chưng cất ở nhiệt độ 245°C và áp suất 0,008 mbar. Nhiệt độ thiết bị ngưng tụ được đặt ở 20°C. Phần cất D1 với lượng 21,3 kg thu được cùng với phần cặn dầu cá mòi đã tẩy trắng R1.

Tiếp theo, 15 kg phần cất D1 được đưa vào cột chưng cất dòng ngắn VK 83 ở nhiệt độ 167°C và áp suất 0,004 mbar. Nhiệt độ thiết bị ngưng tụ được đặt ở 20°C. Phần cặn R2 với lượng 4,4 kg thu được.

Tiếp theo, 1 kg R2 được cho tiếp xúc với 2 kg nước, 2 kg etanol (nồng độ 190) và 130 g NaOH (99%) trong thiết bị phản ứng có khuấy để tạo thành hỗn hợp thứ nhất, được khuấy và gia nhiệt đến 78°C trong khoảng thời gian 1 giờ. Sau đó, hỗn hợp được làm nguội xuống 40°C và được cho tiếp xúc với 5 kg xyclohexan trong cùng một thiết bị phản ứng để tạo thành hỗn hợp thứ hai được khuấy trong 5 phút, sau đó để yên cho đến khi tạo thành hai pha không trộn lẫn: pha chứa nước thứ nhất và pha hữu cơ thứ nhất. Sau khi tách hai pha, pha chứa nước thứ nhất được cho tiếp xúc với 5 kg xyclohexan mới để tạo thành

hỗn hợp thứ hai, hỗn hợp này được khuấy trong 5 phút và sau đó để lắng để tạo thành pha hữu cơ thứ hai và pha chứa nước thứ hai. Sau khi tách các pha này, kết hợp pha hữu cơ thứ nhất và pha hữu cơ thứ hai và cho hỗn hợp này tiếp xúc với 500 g nước và 500 g etanol, khuấy và sau đó để yên cho đến khi tạo thành pha hữu cơ thứ ba và pha chứa nước thứ ba. Pha hữu cơ thứ ba được tách ra khỏi pha chứa nước thứ ba, và sau đó làm bay hơi đến khô để thu được 251 g phần cặn R3.

Tiếp theo, phần cặn R3 được hòa tan trong 1,2 kg axeton ở 55°C, làm lạnh trong tủ lạnh ở 5°C trong 24 giờ. Các tinh thể rắn được tạo ra. Chất rắn được tách ra bằng cách lọc và sau đó sấy khô trong tủ chân không để thu được 189 g chất rắn khô. Bảng 5 thể hiện các kết quả phân tích cho Ví dụ 3.

Bảng 5. Các kết quả phân tích cho Ví dụ 3

	Dầu cá mòi	Phần cất D1	Chất rắn khô
Cholesterol tự do, mg/g	7,5	82,5	975,1
Tổng lượng cholesterol, mg/g	8,2	83,9	975,1
Cholesterol este ¹ , mg/g	1,2	2,4	<LOQ
Chất không xà phòng hóa được, %	1,66	13,04	100
Chỉ số axit, mg KOH/g	7,3	171,0	<LOQ
(EPA + DHA) tự do %	0,7	7,6	<LOQ
Dioxin, Furan và Dioxin như PCB, TEQ ppt (giới hạn dưới)	3,61	17,08	<LOQ
PCB 209, ppb (giới hạn dưới)	17,45	247,49	<LOQ
Tổng PAH, ppb	22,1	256,4	<LOQ

Thuốc trừ sâu, ppb	12,9	142,7	<LOQ
As vô cơ, ppm	5,2	<LOQ	<LOQ
Các kim loại nặng, ppm	0,04	<LOQ	<LOQ

¹ ở dạng mg cholesteryl oleat/g mẫu.

LOQ: Giới hạn định lượng

Trong R1, không có sự khác biệt giữa hàm lượng axit béo dạng đồng phân trans và EPA + DHA đối với dầu cá cơm, và nồng độ các chất gây ô nhiễm độc hại và/hoặc có hại do tác động của con người thấp hơn giới hạn định lượng.

Ví dụ 4

Phân tích chất rắn khô của chất gây ô nhiễm từ Ví dụ 2

Phân tích toàn diện về chất gây ô nhiễm được thực hiện trên sản phẩm cholesterol của Ví dụ 2. Các kết quả được thể hiện trong Bảng 6:

Bảng 6

		Chất rắn khô của ví dụ 2
Dioxin và Furan (17 PCDD/F)	WHO(2005)-PCDD/F TEQ (giới hạn dưới), pg/g	< LOQ
Biphenyl được polyclo hóa (12 WHO PCB)	WHO(2005)-PCB TEQ (giới hạn dưới), pg/g	< LOQ
Biphenyl được polyclo hóa (6 ICES PCB)	Tổng 6 ndl-PCB (giới hạn dưới), ng/g	< LOQ

TEQ-Tổng WHO-PCDD/F và PCB	WHO(2005)-PCDD/F + PCB TEQ (giới hạn dưới), pg/g	< LOQ
PCB 209, biphenyl được polyclo hóa 209 tổng cộng	Tổng Mono- đến DecaCB (giới hạn dưới), ng/g	< LOQ
Biphenyl ete được polybrom hóa (24 PBDE)	Tổng 24 BDE (không bao gồm LOQ), ng/g	< LOQ
2-clopropan-1,3-diol được liên kết este (este 2-MCPD)	Tổng 2-MCPD (tự do và được liên kết), µg/kg	< LOQ
3-clopropan-1,2-diol được liên kết este (este 3-MCPD)	Tổng 3-MCPD (tự do và được liên kết), µg/kg	< LOQ
3-clopropan-1,2-diol được liên kết este (este 3-MCPD) và glyxidol (este glyxidyl)	Tổng 3-MCPD (tự do và được liên kết), µg/kg	< LOQ
Asen (As)	Asen (As), mg/kg	< LOQ
13 PAH (EPA) ¹	Tổng của tất cả PAH được xác định dương tính, µg/kg	< LOQ
Benzo(a)pyren	Benzo(a)pyren, µg/kg	< LOQ
Thuốc trừ sâu clo hữu cơ và pyrethroid	DDT (tổng), mg/kg	< LOQ

Thuốc trừ sâu clo hữu cơ và pyrethroid	DDE, p,p', mg/kg	< LOQ
PBDE metoxyl hóa (MeO-)	2-MeO-PBDE-68, ng/g	< LOQ
PBDE metoxyl hóa (MeO-)	2-MeO-PBDE-47, ng/g	< LOQ

¹Cơ quan bảo vệ môi trường

LOQ: Giới hạn định lượng

2-MeO-PBDE-68 và 2-MeO-PBDE-47 là các PBDE được metoxyl hóa tồn tại trong tự nhiên mà tích tụ trong dầu cá qua mạng lưới thức ăn biển nhưng cũng có thể bắt nguồn từ quá trình biến đổi sinh học của PBDE.

Các ví dụ cho thấy rằng cholesterol thu được theo sáng chế là cholesterol cấp được phẩm, không chứa lượng tạp chất có thể phát hiện được từ dầu cá, và do đó dầu cá còn lại hoặc đã qua xử lý là thích hợp cho người hoặc động vật tiêu thụ.

Tất cả các tài liệu tham khảo được trích dẫn và/hoặc được thảo luận trong bản mô tả này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn toàn bộ và ở mức độ tương tự như thể mỗi tài liệu tham khảo được đưa vào một cách riêng lẻ bằng cách viện dẫn.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Quy trình sản xuất cholesterol từ dầu cá, quy trình này bao gồm các bước sau:
 - (a) chưng cất dầu cá trong cột chưng cất chân không để thu được phần cận thứ nhất và phần cất thứ nhất, trong đó dầu cá được chưng cất trong hỗn hợp với chất lỏng hỗ trợ bao gồm este etyl của axit béo,
 - (b) chưng cất phần cất thứ nhất trong cột chưng cất chân không để thu được phần cất thứ hai và phần cận thứ hai,
 - (c) cho phần cận thứ hai tiếp xúc với hydroxit kim loại kiềm để tạo ra hỗn hợp được xà phòng hóa,
 - (d) cho hỗn hợp được xà phòng hóa tiếp xúc với dung môi hữu cơ không phân cực hoặc hỗn hợp gồm các dung môi hữu cơ không phân cực để tạo ra pha hữu cơ và pha chứa nước,
 - (e) tách pha hữu cơ ra khỏi pha chứa nước,
 - (f) làm lạnh pha hữu cơ để tạo thành pha rắn và pha lỏng, và
 - (g) tách pha rắn ra khỏi pha hữu cơ, trong đó pha rắn được tách ra bao gồm cholesterol chứa ít nhất 95% khối lượng là cholesterol và có hàm lượng chất gây ô nhiễm do tác động của con người thấp hơn so với dầu cá, trong đó cholesterol được tạo ra trong một bước chiết-kết tinh duy nhất.
2. Quy trình theo điểm 1, trong đó cột chưng cất chân không là cột chưng cất dòng ngắn.
3. Quy trình theo điểm 1, trong đó dầu cá được đưa vào cột chưng cất chân không ở bước (a) với tốc độ từ 1 đến 150 kg/giờ trên một m² diện tích thiết bị bay hơi.
4. Quy trình theo điểm 1, trong đó tỷ lệ khối lượng của chất lỏng hỗ trợ trên dầu cá trong hỗn hợp là khoảng 1:100 đến 10:100.

5. Quy trình theo điểm 1, trong đó hỗn hợp được đưa vào cột chưng cất chân không với tốc độ từ 1 đến 150 kg/giờ trên một m² diện tích thiết bị bay hơi.
6. Quy trình theo điểm 1, trong đó bước (a) được tiến hành ở nhiệt độ bay hơi từ 150 đến 300°C và áp suất cột từ 0,0001 đến 0,5 mbar.
7. Quy trình theo điểm 1, trong đó phần cất thứ nhất được đưa vào cột chưng cất chân không ở bước (b) với tốc độ từ 10 đến 350 kg/giờ trên một m² diện tích thiết bị bay hơi.
8. Quy trình theo điểm 1, trong đó bước (b) được tiến hành ở nhiệt độ bay hơi từ 100 đến 250°C và áp suất cột từ 0,0001 đến 0,5 mbar.
9. Quy trình theo điểm 1, trong đó hydroxit kim loại kiềm trong bước (c) là NaOH hoặc KOH.
10. Quy trình theo điểm 1, trong đó dung môi hữu cơ không phân cực hoặc hỗn hợp gồm các dung môi hữu cơ không phân cực trong bước (d) bao gồm dung môi hydrocacbon béo.
11. Quy trình theo điểm 1, trong đó pha hữu cơ và pha chứa nước được phân tách bằng cách lắng gạn hoặc ly tâm.
12. Quy trình theo điểm 1, trong đó pha hữu cơ đã tách được giữ ở nhiệt độ nhỏ hơn 30°C để tạo thành pha rắn và pha lỏng.
13. Quy trình theo điểm 1, trong đó este etyl của axit béo là este etyl của axit béo có từ 10 đến 22 nguyên tử C.