(12) **BẢN MÔ TẢ GIẢI PHÁP HỮU ÍCH THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN GIẢI PHÁP HỮU ÍCH**

(19) **Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)**
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11) **2-0002067**

(51)[7] **C11C 1/08**

(13) **Y**

(21) 2-2016-00193
(22) 30.05.2016
(45) 25.07.2019 376
(43) 25.12.2017 357
(73) VIỆN HÓA HỌC CÁC HỢP CHẤT THIÊN NHIÊN - VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM (VN)
Nhà 1H, số 18 Hoàng Quốc Việt, quận Cầu Giấy, thành phố Hà Nội
(72) Đoàn Lan Phương (VN), Phạm Quốc Long (VN), Hoàng Thân Hoài Thu (VN), Đào Văn Hoằng (VN), Vũ Thị Thu Hà (VN), Phạm Thị Hồng Minh (VN)

(54) QUY TRÌNH SẢN XUẤT AXIT OLEIC TỪ HẠT CÂY SỞ (CAMELLIA SASANQUA THUNB.)

(57) Giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình sản xuất axit oleic (axit (9Z)-octadec-9- enoic) từ hạt cây Sở *(Camellia sasanqua* Thunb.), trong đó quy trình này bao gồm các bước: a) thu được dầu hạt cây Sở; b) thu hỗn hợp axit béo; c) thu dung dịch chứa axit béo không no; và d) tinh chế axit oleic. Quy trình theo giải pháp hữu ích cho phép sản xuất axit oleic có hàm lượng trên 98% nên thích hợp sử dụng làm thực phẩm hoặc dùng trong y tế.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình tách chiết và tinh chế axit oleic ((9Z)-Octadec-9-enoic axit) từ hạt cây Sở *Camellia sasanqua* Thunb.

Tình trạng kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Cây Sở có tên khoa học là *Camellia sasanqua* Thunb. (Syn. *Camellia drupifera* Lour.,*C. oleifera* C.Abel, *Thea sasanqua* (Thunb.) Pierre, *T. drupifera* (Lour.) Pierre) đã được đưa vào trồng để lấy dầu từ rất lâu đời ở nước ta tại các tỉnh Lạng Sơn, Cao Bằng, Quảng Ninh, Hà Giang, Tuyên Quang, Yên Bái, Lai Châu, Phú Thọ và Nghệ An. Theo Hoàng Nghĩa (1990) thành phần và hàm lượng các chất có trong nhân hạt cây Sở ở Lạng Sơn chứa nước 8,65-10,50%; chất béo 35-40%; đạm thô 8,3-8,66%; saponin 8,55%; xenluloza 3,3-4,9%; tro 2,29-2,6%. Nhân hạt cây Sở cho dầu béo với hàm lượng khá cao và thường được sử dụng làm dầu ăn sau khi tinh chế. Dầu sở không chỉ dùng để ăn mà còn là nguồn nguyên liệu, nguồn năng lượng cho nhiều ngành công nghiệp chế biến sơn, sơn dầu, dầu bôi máy, dầu thắp sáng, mực in, sản xuất xà phòng và các chất tẩy rửa.

Trong dầu của hạt cây Sở có chứa nhiều thành phần axit béo không no, chủ yếu là axit oleic (axit (9Z)-octadec-9-enoic). Đã có nhiều nghiên cứu liên quan đến việc chiết axit oleic từ nguyên liệu thực vật, ví dụ axit oleic đã được chiết từ dầu oliu với hiệu suất thu được 35,6% và hàm lượng axit oleic đạt 99,2% (Masao Suzuki, 1986). Wilk và các cộng sự chiết axit oleic từ dầu hướng dương bằng cách sử dụng enzym để thủy phân, kết quả thu được axit oleic với hàm lượng 80,8% sau 24 giờ với tốc độ thủy phân đạt 98%. Năm 2012, nhóm tác giả Prakhar Prakash đã tiến hành tách oleic từ hỗn hợp axit oleic và linoleic tỉ lệ 70/30 bằng phương pháp sử dụng chất lỏng ion. Kết quả thu được axit oleic với hàm lượng 85%.

Nhìn chung, các nghiên cứu trên đều nhằm chiết axit oleic từ nguồn nguyên liệu có giá trị cao là dầu oliu, dầu hướng dương hoặc sử dụng chất lỏng ion làm dung môi, đồng thời quy trình chiết phức tạp, sử dụng thiết bị chuyên dụng, ví dụ như thiết bị metyl hóa, và sử dụng các hóa chất độc hại để chiết. Ngoài ra, mặc dù đã biết trong

dầu hạt cây Sở có hàm lượng axit oleic cao nhưng hiện vẫn chưa có nghiên cứu nào nhằm thu được axit oleic với hiệu quả và chất lượng.

Do đó, cần có một quy trình chiết axit oleic để có thể ứng dụng để sản xuất axit oleic từ dầu hạt cây Sở vừa nhằm khai thác một cách hiệu quả nguồn nguyên liệu dầu cây Sở vừa đơn giản, hiệu quả, có khả năng áp dụng được trong thực tiễn.

Bản chất kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Để giải quyết vấn đề nêu trên, giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình sản xuất axit oleic (axit (9Z)-octadec-9-enoic) từ hạt cây Sở (*Camellia sasanqua* Thunb.), quy trình này bao gồm các bước:

a) thu được dầu hạt cây Sở bằng cách xay nhỏ hạt cây Sở khô và trích ly bằng *n*-hexan theo tỷ lệ bột hạt cây Sở/n-hexan là 1/10 (w/v) ở nhiệt độ 60° trong thời gian 6 giờ, sau đó lọc bỏ bã, cất loại dung môi trên máy cất chân không ở nhiệt độ 40°C và áp suất 3,3 kPa thu được dầu hạt cây Sở;

b) thu hỗn hợp axit béo bằng cách hòa tan dầu hạt cây Sở thu được từ bước a) trong dung môi etanol kiềm có nồng độ từ 10 đến 15% với tỷ lệ thể tích dầu hạt cây Sở/etanol kiềm là 2/5, gia nhiệt hỗn dịch đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 65 đến 70°C trong thời gian 2 giờ, sau đó axit hóa bằng dung dịch H_2SO_4 10% đến độ pH có giá trị từ 2 đến 3, hỗn dịch được rửa bằng nước nóng và làm khan bằng Na_2SO_4 thu được hỗn hợp axit béo;

c) thu dung dịch chứa axit béo không no bằng cách hòa tan hỗn hợp axit béo thu được ở bước b) trong dung môi ure/etanol có nồng độ từ 20 đến 50% theo tỷ lệ từ 1/2 đến 1/5 thể tích ở nhiệt độ từ 50 đến 65°C, sau đó đưa hỗn dịch về nhiệt độ từ 0 đến 10°C trong khoảng thời gian từ 2 đến 4 giờ, sau đó ly tâm ở tốc độ 3000 vòng/phút trong thời gian 5 phút, loại bỏ phần kết tủa thu được dung dịch chứa axit béo không no; và

d) tinh chế axit oleic bằng cách bổ sung dung dịch NaOH 10% vào dung dịch chứa axit béo không no thu được ở bước c) theo tỷ lệ từ 1/1 đến 2/3 (w/w) và giữ dung dịch ở nhiệt độ từ -5°C đến 0°C, sau khi loại bỏ phần dịch, axit hóa phần muối kết tủa đến độ pH có giá trị từ 2 đến 3, sau đó trích ly bằng một thể tích n-hexan tương đương và rửa phần axit béo bằng nước nóng đến độ pH=7, loại bỏ nước bằng Na_2SO_4 khan thu được axit oleic có hàm lượng trên 98%.

Theo một phương án ưu tiên, trong đó dung môi etanol kiềm là dung môi etanol với hydroxit của kim loại kiềm được chọn từ nhóm bao gồm NaOH hoặc KOH với nồng độ từ 10 đến 15% và sử dụng dung môi ure/etanol để kết tủa axit béo no.

Theo một phương án ưu tiên, trong đó dung dịch axit được sử dụng trong bước axit hóa phần muối kết tủa là dung dịch axit HCl, H_2SO_4 hoặc H_3PO_4 nồng độ 10% và trích ly axit oleic bằng n-hexan để loại bỏ tạp chất.

Mô tả chi tiết giải pháp hữu ích

Sau đây, giải pháp hữu ích sẽ được mô tả chi tiết với các phương án thực hiện cụ thể, tuy nhiên, các phương án này chỉ nhằm mục đích mô tả giải pháp hữu ích chứ không nhằm làm hạn chế phạm vi yêu cầu bảo hộ của giải pháp hữu ích.

Theo giải pháp hữu ích, khi đề cập đến thành phần tỷ lệ được xác định là thành phần tỷ lệ trọng lượng/thể tích, trọng lượng/trọng lượng hoặc trọng lượng/thể tích tùy theo ngữ cảnh tương ứng và được sử dụng cùng hệ đo lường, ví dụ hệ SI. Các ký hiệu w/v nghĩa là tỷ lệ trọng lượng/thể tích, w/w nghĩa là trọng lượng/trọng lượng và w/v nghĩa là trọng lượng/thể tích tương ứng.

Giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình sản xuất axit oleic (axit (9Z)-octadec-9-enoic) từ hạt cây Sở (*Camellia sasanqua* Thunb.), trong đó quy trình này bao gồm các bước: a) thu được dầu hạt cây Sở; b) thu hỗn hợp axit béo; c) thu dung dịch chứa axit béo không no; và d) tinh chế axit oleic.

Trong bước thu được dầu hạt cây Sở, hạt cây Sở được thu gom, làm sạch tạp chất và xay nhỏ thành dạng bột mịn. Sau đó phần bột này được trích ly bằng *n*-hexan bằng cách bổ sung phần bột này theo tỷ lệ bột hạt cây Sở/n-hexan là 1/10 (w/v) ở 60^o trong 6 giờ. Trong quá trình trích ly, tùy ý, có thể khuấy trộn để quá trình trích ly xảy ra nhanh hơn. Sau khi trích ly, tiến hành lọc bỏ phần bã thu hồi phần dịch. Phần dịch này được cất loại dung môi trên máy cất chân không ở 40^oC và áp suất 3,3 kPa thu được dầu hạt cây Sở.

Trong bước thu hỗn hợp axit béo, phần dầu hạt cây Sở trên được hòa tan trong dung môi etanol kiềm nồng độ từ 10 đến 15%. Theo một phương án ưu tiên, dung môi etanol kiềm là dung môi etanol với hydroxit của kim loại kiềm được chọn từ nhóm bao gồm NaOH hoặc KOH với nồng độ từ 10 đến 15%. Tỷ lệ hòa tan thể tích dầu hạt cây

Sở/etanol kiềm là 2/5. Sau đó, hỗn dịch này được gia nhiệt đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 65 đến 70°C trong 2 giờ để phản ứn xảy ra hoàn toàn. Sau khi axit hóa bằng dung dịch H_2SO_4 10% đến độ pH từ 2 đến 3, hỗn dịch được rửa bằng nước nóng, sau đó loại phân đoạn nước, thu phân đoạn không tan trong nước và làm khan bằng Na_2SO_4 thu được hỗn hợp axit béo.

Trong bước thu dung dịch chứa axit béo không no, phần hỗn hợp axit béo thu được ở trên được hòa tan trong dung môi ure/etanol có nồng độ từ 20 đến 50%. Tỷ lệ hòa giữa phần axit béo/dung môi ure/etanol là từ 1/2 đến 1/5 (v/v). Nhiệt độ hòa tan nằm trong khoảng từ 50 đến 65°C. Tiếp đó làm nguội từ từ và đưa hỗn dịch về nhiệt độ nằm trong khoảng từ 0 đến 10°C trong khoảng từ 2 đến 4 giờ để phần axit béo no kết tủa với ure. Sau đó ly tâm ở tốc độ 3000 vòng/phút trong 5 phút để loại bỏ phần kết tủa. Phần dung dịch thu được chứa axit béo không no.

Trong bước tinh chế axit oleic, phần dung dịch chứa axit béo không no được bổ sung vào dung dịch NaOH 10% theo tỷ lệ từ 1/1 đến 2/3 (w/w). Sau đó giữ dung dịch này ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ -5°C đến 0°C để kết tủa phần muối axit oleic. Sau đó loại bỏ phần dịch và axit hóa phần muối kết tủa đến độ pH từ 2 đến 3. Theo một phương án ưu tiên, dung dịch axit được sử dụng trong bước axit hóa phần muối kết tủa là dung dịch axit HCl, H_2SO_4 hoặc H_3PO_4 nồng độ 10%. Sau đó phần muối này được trích ly bằng một thể tích n-hexan tương đương và rửa phần axit béo bằng nước nóng đến pH=7 để trung hòa và loại bỏ axit dư. Sau đó thu phân đoạn axit béo và loại bỏ nước bằng Na_2SO_4 khan thu được axit oleic.

Hàm lượng axit oleic được phân tích chất lượng theo TCVN 6127 : 2010 để xác định hàm lượng hợp chất axit oleic. Kết quả cho thấy sản phẩm thu được có hàm lượng axit oleic là trên 98%.

Ví dụ thực hiện giải pháp hữu ích

Ví dụ 1. Quy trình sản xuất axit oleic *từ* hạt cây Sở (*Camellia sasanqua* Thunb.)

Xay nhỏ 520 g nhân hạt Sở đã được làm sạch và phơi khô, sau đó bổ sung phần bột thu được vào 5,2 lít dung môi. Tiến hành chiết bằng phương pháp chiết Shoxlet 6 giờ ở 60°C. Sau đó lọc bỏ phần bã thu phần dịch và chuyển lên cất quay trên mày cất chân không ở 40°C và áp suất 3,3 kPa thu được 347 g dầu hạt cây Sở.

Hòa tan 347 g dầu thu được ở trên với 867,5 ml etanol 70% đã được hòa tan 90g NaOH ở nhiệt độ 70°C và giữ hỗn dịch phản ứng trong 2 giờ, Sau đó bổ sung từ từ dung dịch H_2SO_4 10% để axit hóa đến pH=3. Hỗn dịch được rửa bằng nước nóng (khoảng 70°C) và làm khan bằng Na_2SO_4 thu được 190 g hỗn hợp axit béo với chỉ số axit là 201.

Hòa tan 190 g hỗn hợp axit béo thu được ở trên với 850 ml etanol 70% đã hòa tan 425 g ure, sau đó đưa hỗn dịch về 10°C trong 4 giờ để ure kết tinh với axit béo no. Tiếp đó tiến hành ly tâm hỗn dịch trên thiết bị ly tâm ở tốc độ 300 vòng/phút trong thời gian 5 phút. Loại bỏ phần kết tủa, thu được 473,2 g dịch chứa axit béo không no. Hiệu suất thu được trung bình 77,3% trong đó hàm lượng axit béo oleic trong sản phẩm chiếm 90% theo kết quả phân tích trên sắc ký khí ghép khối phổ.

Bổ sung vào 56,75 g dung dịch NaOH (chứa 5,67 g NaOH) và làm lạnh đến -5°C trong 6 giờ. Sau đó lọc thu được muối của axit béo ở dạng kết tủa. Axit hóa phần kết tủa bằng dung dịch H_2SO_4 đến khi pH =2, có khuấy trong 30 phút. Axit béo oleic được trích ly bằng một thể tích n-hexan tương đương và sau đó rửa sạch phần axit béo bằng nước nóng và làm khan bằng Na_2SO_4 khan. Kết quả thu được 47,5 g axit oleic.

Kết quả thành phần axit béo oleic (axit béo C18:1n-9) thu được trong ví dụ 1 được thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1: Hàm lượng và thành phần axit béo trong dầu hạt cây Sở trước và sau khi kết tinh

Axit béo (%)	Thành phần axit béo trong dầu hạt cây Sở (%)	Thành phần axit béo sau giai đoạn 1 (%)	Thành phần axit béo sau giai đoạn 2 (%)
C16:0	8,36	0,73	0
C18:2n-6	9,77	5,83	1,64
C18:1n-9	78,45	90,46	98,36
C18:1n-7	1,03	0,92	00
C18:0	2,4	1,03	0

Ví dụ 2. Tinh chế axit oleic bằng dung môi etanol chứa ure

Hòa tan 124 g ure trong 500ml etanol ở nhiệt độ 50°C trong thời gian 30 phút. Bổ sung 100 g hỗn hợp axit béo của dầu hạt cây Sở thu được ở bước 1 trong ví dụ 1 được đun nóng ở nhiệt độ 50°C và hòa tan hoàn toàn vào dung dịch trên. Tiếp theo, dung dịch thu được làm lạnh từ 50°C về 10°C trong 4 giờ có khuấy. Loại bỏ tinh thể kết tinh bằng ly tâm thu được 250 g dịch lọc. Dịch lọc được thêm vào 30 g dung dịch NaOH (chứa 2,16 g NaOH) ở 40°C và làm lạnh đến 0°C trong 6 giờ. Sau đó lọc thu muối của axit béo ở dạng kết tủa. Kết tủa thu này được axit hóa bằng dung dịch H_2SO_4 10% trong n–hexan, có khuấy trong 30 phút. Axit béo oleic được tách lớp và rửa sạch với nước nóng và làm khan bằng Na_2SO_4 khan. Kết quả thu được 25,5 g axit oleic.

Kết quả thành phần axit béo thu được được trong ví dụ 2 được thể hiện ở bảng 2, hàm lượng axit oleic được thể hiện qua hàm lượng của axit C18:1n-9.

Bảng 2: Hàm lượng và thành phần axit béo trong dầu hạt cây Sở trước và sau khi kết tinh

Axit béo (%)	Thành phần axit béo trong dầu hạt cây Sở (%)	Thành phần axit béo sau giai đoạn 1 (%)	Thành phần axit béo sau giai đoạn 2 (%)
C16:0	8,36	0,85	0
C18:2n-6	9,77	6,7	1,8
C18:1n-9	78,45	90,13	98,03
C18:1n-7	1,03	0,22	0,17
C18:0	2,4	2,1	0

Ví dụ 3. Tinh chế axit oleic bằng dung môi etanol chứa ure

Hòa tan 186 g ure trong 750 ml etanol 90% ở nhiệt độ 50°C trong thời gian 30 phút. Bổ sung 150 g hỗn hợp axit béo của dầu hạt cây Sở thu được ở bước 1 trong Ví dụ 1 được đun nóng ở nhiệt độ 50°C và hòa tan hoàn toàn vào dung dịch trên. Tiếp theo, dung dịch thu được làm lạnh từ 50°C về 10°C trong 4 giờ có khuấy. Loại bỏ tinh thể kết tinh bằng ly tâm thu được 370 g dịch lọc. Dịch lọc được thêm vào 45,5 g dung dịch NaOH (chứa 3,24 g NaOH) ở 40°C và làm lạnh đến -20°C trong 6 giờ. Sau đó lọc thu muối của axit béo ở dạng kết tủa. Kết tủa này được bổ sung vào dung dịch H_2SO_4 10% trong n-hexan, kết hợp khuấy trong 30 phút. Axit béo oleic được tách lớp và rửa

sạch với nước nóng và làm khan bằng Na_2SO_4 khan. Kết quả thu được 36,7 g axit oleic.

Kết quả thành phần axit béo thu được được trong ví dụ 3 được thể hiện ở bảng 3, hàm lượng axit oleic được thể hiện qua hàm lượng của axit C18:1n-9.

Bảng 3: Hàm lượng và thành phần axit béo trong dầu hạt cây Sở trước và sau khi kết tinh

Axit béo (%)	Thành phần axit béo trong dầu hạt cây Sở (%)	Thành phần axit béo sau giai đoạn 1 (%)	Thành phần axit béo sau giai đoạn 2 (%)
C16:0	8,36	2,1	0,01
C18:2n-6	9,77	5,23	1,12
C18:1n-9	78,45	90,16	98,87
C18:1n-7	1,03	1,92	0
C18:0	2,4	0,59	0

Hiệu quả đạt được của giải pháp hữu ích

Quy trình sản xuất axit oleic theo giải pháp hữu ích có khả năng thu được axit oleic với hàm lượng từ trên 98% từ hạt cây Sở, quy trình đơn giản, không cần sử dụng thiết bị chuyên dụng như thiết bị metyl hóa như một số quy trình hiện áp dụng đối với các nguồn nguyên liệu khác như dầu oliu hoặc dầu hướng dương.

Quy trình sản xuất axit oleic theo giải pháp hữu ích có khả năng áp dụng được đối với nguồn nguyên liệu là hạt cây Sở hoặc dầu từ hạt cây này để sản xuất ra axit oleic thích hợp sử dụng trong lĩnh vực thực phẩm hoặc y tế.

Quy trình theo giải pháp hữu ích cho phép tận dụng được nguồn nguyên liệu là hạt cây Sở, từ đó có thể phát triển được nguồn nguyên liệu theo hướng bền vững, kết hợp trồng rừng và khai thác có hiệu quả, nên còn có hiệu quả lâu dài về mặt kinh tế, xã hội.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Quy trình sản xuất axit oleic (axit (9Z)-octadec-9-enoic) từ hạt cây Sở (*Camellia sasanqua* Thunb.), trong đó quy trình này bao gồm các bước:

a) thu được dầu hạt cây Sở bằng cách xay nhỏ hạt cây Sở khô và trích ly bằng *n*-hexan theo tỷ lệ bột hạt cây Sở/n-hexan là 1/10 (w/v) ở nhiệt độ 60° trong thời gian 6 giờ, sau đó lọc bỏ bã, cất loại dung môi trên máy cất chân không ở nhiệt độ 40°C và áp suất 3,3 kPa thu được dầu hạt cây Sở;

b) thu hỗn hợp axit béo bằng cách hòa tan dầu hạt cây Sở thu được từ bước a) trong dung môi etanol kiềm có nồng độ từ 10 đến 15% với tỷ lệ thể tích dầu hạt cây Sở/etanol kiềm là 2/5, gia nhiệt hỗn dịch đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 65 đến 70°C trong thời gian 2 giờ, sau đó axit hóa bằng dung dịch H_2SO_4 10% đến độ pH có giá trị từ 2 đến 3, hỗn dịch được rửa bằng nước nóng và làm khan bằng Na_2SO_4 thu được hỗn hợp axit béo;

c) thu dung dịch chứa axit béo không no bằng cách hòa tan hỗn hợp axit béo thu được ở bước b) trong dung môi ure/etanol có nồng độ từ 20 đến 50% theo tỷ lệ từ 1/2 đến 1/5 thể tích ở nhiệt độ từ 50 đến 65°C, sau đó đưa hỗn dịch về nhiệt độ từ 0 đến 10°C trong khoảng thời gian từ 2 đến 4 giờ, sau đó ly tâm ở tốc độ 3000 vòng/phút trong thời gian 5 phút, loại bỏ phần kết tủa thu được dung dịch chứa axit béo không no; và

d) tinh chế axit oleic bằng cách bổ sung dung dịch NaOH 10% vào dung dịch chứa axit béo không no thu được ở bước c) theo tỷ lệ từ 1/1 đến 2/3 (w/w) và giữ dung dịch ở nhiệt độ từ -5°C đến 0°C, sau khi loại bỏ phần dịch, axit hóa phần muối kết tủa đến độ pH có giá trị từ 2 đến 3, sau đó trích ly bằng một thể tích n-hexan tương đương và rửa phần axit béo bằng nước nóng đến độ pH=7, loại bỏ nước bằng Na_2SO_4 khan thu được axit oleic có hàm lượng trên 98%.

2. Quy trình theo điểm 1, trong đó dung môi etanol kiềm là dung môi etanol với hydroxit của kim loại kiềm được chọn từ nhóm bao gồm NaOH hoặc KOH với nồng độ từ 10 đến 15% và sử dụng dung môi ure/etanol để kết tủa axit béo no.

3. Quy trình theo điểm 1 hoặc 2, trong đó dung dịch axit được sử dụng trong bước axit hóa phần muối kết tủa là dung dịch axit HCl, H_2SO_4 hoặc H_3PO_4 nồng độ 10% và trích ly axit oleic bằng n-hexan để loại bỏ tạp chất.