

## TỐI ƯU HÓA ĐIỀU KIỆN TRANSESTER HÓA DẦU DỪA BẰNG ETHANOL XÚC TÁC ENZYME LIPASE TỪ *CANDIDA RUGOSA* VÀ *PORCINE PANCREAS*

Trần Thị Bé Lan<sup>1</sup>, Mai Thế Tình<sup>2</sup>, Trần Thị Nguyệt Minh<sup>2</sup> và Phan Ngọc Hòa<sup>2</sup>

### ABSTRACT

*This paper presents the research results of the condition for coconut oil's transesterification using ethanol and catalyzing Candida rugosa (LCR) and Porcine pancreas (LPP) enzymes. Using the optimal method of single-objective function of one-level Box-Wilson model, the optimal conditions of reactions for obtaining the highest yield were determined. The results show that the highest yield is 0.76% for LCR (ethanol concentration of 98°, stirring speed of 250 (ring/min) and the time of 6 h); and for LPP, the highest yield is 0.82% (ethanol concentration of 97°, stirring speed of 225 (ring/min) and the time of 5,2 h). In addition, when the two-level Box Behnken Design model is used, the conditions for LCR are found: ethanol concentration of 98,0178°, stirring speed of 214,085 (ring/min) and the time of 5,9999 h. Under these conditions, predicted the yield is 0.8582% (however, the highest yield obtained when experimental condition values are rounded is only 0,815%). Similar procedure was applied for LPP and the results show ethanol concentration of 98.3579°, stirring speed of 248,5 (ring/min), the time of 6,9999 h; and the highest predicted yield is 0.8516% (0,752%). The conclusions from this research is that: with one-level Box Wilson model, the three conditional factors are directly proportional to the yield for LCR; while stirring speed and the time are directly proportional to the yield and ethanol concentration is inversely proportional to the yield for LPP. With two-level Box Behnken Design, the three conditional factors are directly proportional to the yield for both LCR and LPP.*

**Keywords:** *Optimization, transesterification, Candida rugosa, Porcine pancreas*

**Title:** *Optimization of coconut oil's transesterification conditions with ethanol catalysed by Candida rugosa and Porcine pancreas enzymes*

### TÓM TẮT

*Bài báo này trình bày kết quả nghiên cứu điều kiện transester hóa dầu dừa bằng ethanol xúc tác enzyme Candida rugosa (LCR) và Porcine pancreas (LPP). Bằng phương pháp tối ưu hóa hàm đơn mục tiêu mô hình bậc một Box-Wilson, điều kiện tối ưu của phản ứng để thu được hiệu suất cao nhất đã được xác định. Kết quả cho thấy hiệu suất cao nhất tìm được là 0,76% (LCR) (nồng độ ethanol 98°, tốc độ khuấy 250 (vòng/phút), thời gian 6 h); và hiệu suất cao nhất đối với LPP là 0,82% (nồng độ ethanol 97°, tốc độ khuấy 225 (vòng/phút), thời gian 5,2 h). Ngoài ra, khi sử dụng mô hình bậc hai theo Box Behnken Design, các điều kiện cho xúc tác LCR tìm được là: nồng độ ethanol 98,0178°, tốc độ khuấy 214,085 (vòng/phút), thời gian 5,9999h. Dưới các điều kiện này thì hiệu suất phỏng đoán cao nhất là 0,8582% (nhưng thực tế chỉ là 0,815% khi các giá trị điều kiện thực nghiệm được làm tròn). Quy trình tương tự được áp dụng cho xúc tác LPP, kết quả tìm được là: nồng độ ethanol 98,3579°; tốc độ khuấy 248,5 (vòng/phút) và thời gian 6,9999 h; và hiệu suất phỏng đoán cao nhất là 0,8516% (thực tế là 0,752%). Kết luận rút ra thì nghiên cứu này là: với tối ưu bậc 1, cả 3 yếu tố khảo sát tỷ lệ thuận với hiệu suất*

<sup>1</sup> Trường Đại học Cần Thơ

<sup>2</sup> Đại học Bách Khoa TP HCM

đối với LCR; nhưng với LPP thì tốc độ khuấy và thời gian tỷ lệ thuận, còn nồng độ cồn tỷ lệ nghịch với hiệu suất. Với tối ưu hóa bậc hai, cả ba yếu tố đều tỷ lệ thuận với hiệu suất cho cả LCR và LPP.

**Từ khóa:** Tối ưu hóa, transester hóa, *Candida rugosa*, *Porcine pancreas*

## 1 ĐẶT VẤN ĐỀ

Dầu dừa là nguồn nguyên liệu khá dồi dào ở Việt Nam, và nó có nhiều công dụng trong đời sống, công nghiệp và y học. Mặc dù đã có nhiều công trình nghiên cứu transester hóa trên nhiều loại dầu thực vật như dầu olive, dầu cọ, dầu thải,... nhưng cho đến nay chưa có nghiên cứu nào được thực hiện trên dầu dừa. Bằng phương pháp transester hóa dầu dừa xúc tác lipase, sản phẩm biodiesel đã thu được với các hiệu suất khác nhau ở các điều kiện khảo sát cụ thể. Để hiệu suất đạt cao nhất ở điều kiện xác định thì biện pháp tối ưu hóa được chọn lựa trong nghiên cứu này.

## 2 NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1 Nguyên liệu, hóa chất và thiết bị

Enzyme lipase từ *Candida rugosa* Type VII ( $\geq 700$  unit/mg solid) ký hiệu L1754 (LCR). Enzyme lipase từ *Porcine pancreas*, Type II, ký hiệu L3126 (LPP). Cả hai enzyme đều do hãng Sigma-Aldrich (Mỹ) cung cấp.

Dầu dừa được mua từ công ty sản xuất dầu dừa Tin Vui. Độ acid  $\leq 0,24\%$ , nồng độ nước  $\leq 0,1\%$ , acid lauric 49-51%.

Ethanol 99,7°(Trung Quốc) và một số hóa chất do hãng Merck (Darmstadt, Germany) cung cấp.

Thiết bị: Máy khuấy từ gia nhiệt (Heidolph MRHei-Standard dùng cho xúc tác LCR và IKA®RH-KT/C dùng cho xúc tác LPP), microburet có vạch chia độ nhỏ nhất là 0,01 mL với thể tích tối đa là 2 mL và một số thiết bị thông thường khác.

### 2.2 Phương pháp nghiên cứu

Các bước thực hiện:

Xúc tác LCR: 8 g dầu dừa (chỉ số acid 5,9 (mg) KOH/g/dầu g; độ ẩm 0,47%) với 0,15 g bột LCR thêm 2 g dung dịch đệm phosphat pH 7,0.

Xúc tác LPP: 8,5 g dầu dừa như trên với 0,2 g LPP thêm 2,5 g dung dịch đệm borat pH 9,0.

Cả 2 đặt trong erlen 50 mL trên máy khuấy từ z (vòng/phút), ở áp suất khí quyển, nhiệt độ 35 (°C), thời gian t (h). Khi đó một lượng ethanol xác định được thêm từ từ vào với tốc độ 1 giọt/giây.

Sau phản ứng, sản phẩm được tách bằng cách ly tâm 3500 (vòng/phút), tách lấy lớp trên cùng là biodiesel thô (Wei et al., 2004). Khi khảo sát tìm 3 điều kiện cần tối ưu nồng độ EtOH, tốc độ khuấy và thời gian chọn tỷ lệ ethanol: dầu tốt nhất là 6:1. Hiệu suất thu hồi tính trên 2 g sản phẩm của phản ứng tỉ lệ với chỉ số ester của sản phẩm biodiesel được xác định dựa vào phương pháp đo như sau:

$$\text{Chỉ số ester} = \text{chỉ số xà phòng} - \text{chỉ số acid}$$

Chỉ số xà phòng tính được khi xà phòng 2 g sản phẩm biodiesel với 25 mL dung dịch KOH 0,5 N trong ethanol, ở 30 phút và chuẩn độ bằng dd HCl 0,5 N cho tới khi mất màu của chất chỉ thị màu phenolphthalein. Khi đó, 1 mL dung dịch KOH 0,5 N tương ứng 28,05 mg KOH và: chỉ số xà phòng hóa =  $[28,05 \times (a - b)]/c$  (Hà Duyên Tư, 2009).

Trong đó:

- a: số mL HCl 0,5 N đã dùng cho mẫu trắng
- b: số mL HCl 0,5 N đã dùng cho mẫu thử
- c: khối lượng chất thử tính bằng gram

Chỉ số acid tính được khi 2,5 g mẫu biodiesel hòa tan trong 50 mL hỗn hợp ethanol 95°: diethyl ether (1:1) được trung hòa bằng dung dịch KOH 0,1 N với chỉ thị phenolphthalein 0,1%. Khi đó, chỉ số acid =  $5,61 \times a/b$  (a số mL KOH 0,1N; b: khối lượng mẫu thử (g)) (Hà Duyên Tư, 2009).

Khi đó hiệu suất được tính là:  $\%H = m_{tt}/m_{tt}$  với  $m_{tt} = (0,5 \times (a-b) \times M_{tb(esterbio)})/10^3$ . Đối chiếu với chỉ số ester cao nhất để chọn hiệu suất cao nhất.

Sau khi tiến hành các thí nghiệm thăm dò và đã chọn vùng có chỉ số ester cao nhất tương ứng với hiệu suất cao nhất (xúc tác LCR là 7,03 và 0,81%; LPP là 6,01 và 0,73%) để làm tâm cho quy hoạch tối ưu, khi đó nồng độ EtOH, tốc độ khuấy và thời gian là: LCR (98°, 250 vòng/phút, 6 h), LPP (98°, 200 vòng/phút, 5 h).

Các số liệu được tính toán, xử lý bằng các hàm chuyên dùng tính ma trận và dò tìm trên phần mềm Microsoft Excel.

### 3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Để xác định điều kiện tối ưu cho quá trình transester hóa, thí nghiệm được tiến hành theo phương pháp leo dốc ứng với ba yếu tố được khảo sát là nồng độ ethanol, tốc độ khuấy và thời gian phản ứng. Hàm mục tiêu được chọn là hiệu suất phản ứng. Phương trình hồi quy có dạng như sau: (Nguyễn Minh Tuyên *et al.*, 2001).

Bậc 1:  $\hat{y} = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_3$

Bậc 2:  $\hat{y} = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_3 + b_{12}x_1x_2 + b_{13}x_1x_3 + b_{23}x_2x_3 + b_{11}x_1^2 + b_{22}x_2^2 + b_{33}x_3^2$

Với:  $x_1$  - biến số mã hóa của biến thực  $Z_1$ - nồng độ ethanol;  $x_2$  - biến số mã hóa của biến thực  $Z_2$  - tốc độ khuấy;  $x_3$  - biến số mã hóa của biến thực  $Z_3$ - thời gian phản ứng;  $y$  - hàm mục tiêu;  $b_0, b_1, b_2, b_3$  - các hệ số của phương trình hồi quy. Trong nghiên cứu này hàm mục tiêu được chọn khảo sát là hiệu suất  $y_{tb}$ .

#### 3.1 Phương trình hồi quy và tối ưu hóa bậc 1 theo Box Wilson

##### 3.1.1 Ma trận quy hoạch thực nghiệm và các hệ số của phương trình

Lượng thí nghiệm cần thiết N khi hoạch định theo yếu tố toàn phần được xác định bằng công thức:  $N = 2^k$  (k: số yếu tố). (Nguyễn Cảnh, 1993; Nguyễn Minh Tuyên *et al.*, 2001)

Với mục tiêu khảo sát ba yếu tố ảnh hưởng là nồng độ ethanol, tốc độ khuấy và thời gian phản ứng thì số thí nghiệm cần phải tiến hành  $N = 2^3 = 8$  thí nghiệm. Mỗi

thí nghiệm lặp lại 2 lần và lấy giá trị hiệu suất trung bình ( $y_{tb}$ ). Các giá trị các biến  $Z_1, Z_2$  và  $Z_3$ ; giá trị ở tâm và khoảng biến thiên được tính theo bảng 1 và 2.

**Bảng 1: Các mức nghiên cứu của tối ưu hóa bậc 1 phản ứng xúc tác LCR**

Biến nghiên cứu	Biến mã hóa	Đơn vị	Mức nghiên cứu				
			- $\alpha$	-1	0	+1	+ $\alpha$
Nồng độ cồn	x1	°	-2	96	98	100	+2
Tốc độ khuấy	x2	vòng/phút	-50	200	250	300	+50
Thời gian	x3	giờ	-1	5	6	7	+1

**Bảng 2: Các mức nghiên cứu của tối ưu hóa bậc 1 phản ứng xúc tác LPP**

Biến nghiên cứu	Biến mã hóa	Đơn vị	Mức nghiên cứu				
			- $\alpha$	-1	0	+1	+ $\alpha$
Nồng độ cồn	x1	°	-2	96	98	100	+2
Tốc độ khuấy	x2	vòng/phút	-50	150	200	250	+50
Thời gian	x3	giờ	-1	4	5	6	+1

Xem 99,7° ≈ 100°.

Ma trận mở rộng sau khi đưa thêm cột biến ảo  $x_0 = +1$ , hiệu suất mã ( $y^*$ ) tính theo phương trình hồi quy được thể hiện ở bảng 3.

Các hệ số phương trình hồi quy được xác định theo công thức:

$$b_j = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N x_{ij} y_i \quad (N=22 \text{ đối với } j=0, N=8 \text{ đối với } j=1 \div 3)$$

Trong excel dùng các hàm như: Transpose, mmult, minverse thiết lập và tính các hệ số  $b_j$ . (Trịnh Văn Dũng, 2008).

Suy ra giá trị các hệ số hồi quy đối với hàm mục tiêu là:

- LCR:  $b_0 = 0,7627$ ;  $b_1 = -0,0313$ ;  $b_2 = -0,0288$ ;  $b_3 = -0,0288$
- LPP:  $b_0 = 0,6834$ ;  $b_1 = -0,0313$ ;  $b_2 = 0,0463$ ;  $b_3 = 0,0388$

- Kiểm tra độ đồng nhất của ma trận theo chuẩn Cochoran:

Tra  $G_b (p=0,99; f=1, n=8) = 0,6798$ ; tính theo công thức:  $G_{tt} = \max S_j^2 / \sum S_j^2$  ( $S_j^2$  phương sai của 2 lần lặp lại ở mỗi thí nghiệm).

- $G_{tt} = 0,2963$  (LCR)
- $G_{tt} = 0,2759$  (LPP)

⇒  $G_b > G_{tt}$  nên các số liệu được đo cùng một độ chính xác như nhau (độ lặp lại tốt) và có thể chấp nhận được.

**Bảng 3: Ma trận mở rộng**

N	x <sub>0</sub>	x <sub>1</sub>	x <sub>2</sub>	x <sub>3</sub>	Xúc tác LCR				Xúc tác LPP			
					y <sub>tb</sub> (%)	y*	(y <sub>tb</sub> -y*) <sup>2</sup>	(y <sup>o</sup> <sub>u(tb)</sub> - y <sup>o</sup> ) <sup>2</sup>	y <sub>tb</sub> (%)	y*	(y <sub>tb</sub> -y*) <sup>2</sup>	(y <sup>o</sup> <sub>u(tb)</sub> - y <sup>o</sup> ) <sup>2</sup>
1	1	1	1	1	0,64	0,67	1,2.10 <sup>-3</sup>		0,68	0,74	3,3.10 <sup>-3</sup>	
2	1	1	1	-1	0,71	0,73	4,6.10 <sup>-4</sup>		0,67	0,66	1,1.10 <sup>-4</sup>	
3	1	1	-1	1	0,725	0,73	4,2.10 <sup>-5</sup>		0,6	0,64	2.10 <sup>-3</sup>	
4	1	1	-1	-1	0,73	0,79	3,5.10 <sup>-3</sup>		0,54	0,57	7,4.10 <sup>-4</sup>	
5	1	-1	1	1	0,67	0,74	4,4.10 <sup>-3</sup>		0,78	0,80	3,9.10 <sup>-4</sup>	
6	1	-1	1	-1	0,795	0,79	10 <sup>-6</sup>		0,67	0,72	2,7.10 <sup>-3</sup>	
7	1	-1	-1	1	0,78	0,79	2.10 <sup>-4</sup>		0,71	0,71	8.10 <sup>-6</sup>	
8	1	-1	-1	-1	0,81	0,85	1,7.10 <sup>-3</sup>		0,58	0,63	2,5.10 <sup>-3</sup>	
9	1	0	0	0	0,8	0,76	1,4.10 <sup>-3</sup>	4.10 <sup>-4</sup>	0,7	0,68	2,8.10 <sup>-4</sup>	1,310 <sup>-7</sup>
10	1	0	0	0	0,79	0,76	7,4.10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-4</sup>	0,72	0,68	1,3.10 <sup>-3</sup>	3,910 <sup>-4</sup>
11	1	0	0	0	0,8	0,76	1,4.10 <sup>-3</sup>	4.10 <sup>-4</sup>	0,74	0,68	3,2.10 <sup>-3</sup>	1,6.10 <sup>-3</sup>
12	1	0	0	0	0,78	0,76	3.10 <sup>-4</sup>	0	0,73	0,68	2,2.10 <sup>-3</sup>	8,8.10 <sup>-4</sup>
13	1	0	0	0	0,78	0,76	3.10 <sup>-4</sup>	0	0,7	0,68	2,8.10 <sup>-4</sup>	1,3.10 <sup>-7</sup>
14	1	0	0	0	0,81	0,76	2,2.10 <sup>-3</sup>	9.10 <sup>-4</sup>	0,75	0,68	4,4.10 <sup>-3</sup>	2,5.10 <sup>-3</sup>
15	1	0	0	0	0,8	0,76	1,4.10 <sup>-3</sup>	4.10 <sup>-4</sup>	0,7	0,68	2,8.10 <sup>-4</sup>	1,3.10 <sup>-7</sup>
16	1	0	0	0	0,79	0,76	7,4.10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-4</sup>	0,705	0,68	4,7.10 <sup>-4</sup>	2,2.10 <sup>-5</sup>
17	1	0	0	0	0,82	0,76	3,3.10 <sup>-3</sup>	16.10 <sup>-4</sup>	0,68	0,68	1,2.10 <sup>-5</sup>	4,1.10 <sup>-4</sup>
18	1	0	0	0	0,755	0,76	6.10 <sup>-5</sup>	6,3.10 <sup>-4</sup>	0,635	0,68	2,3.10 <sup>-3</sup>	4,3.10 <sup>-3</sup>
19	1	0	0	0	0,76	0,76	7.0 <sup>-6</sup>	4.10 <sup>-4</sup>	0,74	0,68	3,2.10 <sup>-3</sup>	1,6.10 <sup>-3</sup>
20	1	0	0	0	0,725	0,76	1,4.10 <sup>-3</sup>	3.10 <sup>-3</sup>	0,625	0,68	3,4.10 <sup>-3</sup>	5,7.10 <sup>-3</sup>
21	1	0	0	0	0,69	0,76	5,3.10 <sup>-3</sup>	8,1.10 <sup>-3</sup>	0,7	0,68	2,8.10 <sup>-4</sup>	1,3.10 <sup>-7</sup>
22	1	0	0	0	0,82	0,76	3,3.10 <sup>-3</sup>	1,6.10 <sup>-3</sup>	0,68	0,68	1,2.10 <sup>-5</sup>	4,1.10 <sup>-4</sup>

**3.1.2 Kiểm định sự có nghĩa các hệ số theo tiêu chuẩn Student**

Để kiểm định sự có ý nghĩa các hệ số theo tiêu chuẩn Student thực hiện thêm 14 thí nghiệm ở tâm thực nghiệm và thu được giá trị y<sub>tb</sub> trên bảng 3. (Nguyễn Cảnh, 1993; Nguyễn Minh Tuyên *et al.*, 2001)

Phương sai tái hiện: 
$$S_{th}^2 = \frac{\sum_{u=1}^m (y_{u(tb)}^o - \bar{y}^o)^2}{m-1}, u = 1 \div 14$$

Sai số tính cho b<sub>i</sub>: 
$$S_{b_i} = \frac{S_{th}}{\sqrt{N}} (N=8)$$

Trong đó  $y_{u (tb)}^0$ : giá trị trung bình của  $y_{tb}$  ở 14 thí nghiệm tại tâm;  $\bar{y}^0$ : giá trị trung bình của các lần đo giá trị  $y_u^0$ ;  $m$ : số thí nghiệm làm tại tâm thực nghiệm, ở đây  $m=14$ .

Các giá trị tính toán theo số liệu thực nghiệm của phân bố Student được tính theo công thức:

$$t_{bj} = \frac{|b_j|}{S_{b_j}}$$

Thay  $y_{u (tb)}^0, \bar{y}^0$  vào phương trình (2), ta được kết quả giá trị phương sai và phân bố theo Student như sau:

Giá trị bảng của tiêu chuẩn Student đối với mức ý nghĩa  $p = 0,05$ ; bậc tự do là  $f = 13$ . Tra bảng ta có  $t_{\alpha}(p;f) = t_{\alpha}(0,05;13)$ , hoặc dùng hàm Tinv tìm được  $t_{\alpha} = 2,16037$ .<sup>0</sup>

- LCR:  $S_{th}^2 = 0,001358, t_{b0} = 58,55; t_{b1} = 2,4; t_{b2} = 2,21; t_{b3} = 2,21$
- LPP:  $S_{th}^2 = 0,001359, t_{b0} = 52,43; t_{b1} = 2,4; t_{b2} = 3,55; t_{b3} = 2,97$

Đối chiếu với  $t_{\alpha}$  thấy tất cả các  $t_{bi}$  đều lớn hơn  $t_{\alpha}$ . Vì vậy, các hệ số  $b_i$  đều có nghĩa.

Phương trình hồi quy là:

- LCR:  $\hat{y} = 0,7627 - 0,0313x_1 - 0,0288x_2 - 0,0288x_3$
- LPP:  $\hat{y} = 0,6834 - 0,0313x_1 + 0,0463x_2 + 0,0388x_3$

### 3.1.3 Kiểm tra tính tương thích của các phương trình hồi quy

Kiểm tra sự tương thích của phương trình theo tiêu chuẩn Fisher. (Nguyễn Cảnh, 1993; Nguyễn Minh Tuyên *et al.*, 2001)

$$F = \frac{S_{du}^2}{S_{th}^2} \quad \text{với} \quad S_{du}^2 = \frac{\sum_{i=1}^N (y_{ib} - y^*)^2}{N - N'}$$

Trong đó:  $N=8$ : số thí nghiệm;  $N'=4$ : số hệ số có nghĩa trong phương trình;  $y_{ib}$ : giá trị đo được trong thực nghiệm;  $y^*$ : giá trị tính theo phương trình. Các giá trị thu được ở bảng 3.

#### Kiểm tra tính tương thích của phương trình hồi quy

Phương sai dư cho cả xúc tác LCR và LPP có giá trị là:  $S_{du}^2 = 0,0029$

Tiêu chuẩn Fisher:  $F = \frac{S_{du}^2}{S_{th}^2} = 2,1124$  (LCR) và  $F = \frac{S_{du}^2}{S_{th}^2} = 2,1492$  (LPP)

So sánh giá trị  $F$  với  $F_{\alpha} = F_{(1-p)(f_1, f_2)}$  trong đó  $p$ : mức ý nghĩa;  $f_1$ : bậc tự do của phương sai dư  $f_1 = N - N' = 8 - 4 = 4$ ;  $f_2$ : bậc tự do của phương tái hiện  $f_2 = 14 - 1 = 13$

Tra bảng hay dùng hàm Finv tìm được  $F_{\alpha (0,05;4;13)} = 3,1791$ , suy ra  $F_{\alpha} > F$ , các phương trình hồi quy phù hợp với các số liệu thực nghiệm.<sup>0</sup>

### 3.1.4 Tối ưu hóa thực nghiệm

Tối ưu tối hóa quá trình khảo sát các hàm mục tiêu bằng phương pháp leo dốc (phương pháp Box-Wilson), chọn bước nhảy của yếu tố  $Z_2$  là  $\delta_2 = 25$  làm cơ sở,

dựa vào  $\delta_2$  tính  $\delta_1$  và  $\delta_3$  của  $Z_1$  và  $Z_3$  theo công thức: (Nguyễn Cảnh, 1993; Nguyễn Minh Tuyên *et al.*, 2001)

$$\delta_i = \delta_2 \frac{b_i \Delta_i}{b_2 \Delta_2}$$

Trong đó  $\delta_i$  là bước nhảy của yếu tố thứ  $i$ ;  $b_i$ : là hệ số hồi quy của các yếu tố tương quan;  $\Delta_i$  là khoảng biến thiên của từng yếu tố tương ứng. Các giá trị tính toán thể hiện trên bảng 4.

**Bảng 4: Bảng thống kê các hệ số  $b_i$  và  $\delta_i$**

Xúc tác	n	Hệ số ( $b_i$ )	Khoảng biến thiên $\Delta_i$	$ b_i \Delta_i $	Bước nhảy $\delta_i$
LCR	1	-0,0313	2	0,0625	1
	2	-0,0288	50	1,4375	25
	3	-0,0288	1	0,0288	5
LPP	1	-0,0313	2	0,0625	-1
	2	0,0463	50	2,3125	25
	3	-0,0388	1	0,0388	4

Tiến hành thí nghiệm theo hướng gradient tìm được các giá trị hiệu suất ở bảng 5.

**Bảng 5: Quy hoạch thí nghiệm theo hướng gradient của hiệu suất**

Enzyme	LCR					LPP					
	N	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
$x_1$ (°)	96	97	98	99	99,7~100	99,7~100	99	98	97	96	
$x_2$ (vòng/phút)	200	225	250	275	300	150	175	200	225	250	
$x_3$ (h)	5,0	5,5	6,0	6,5	7,0	4,0	4,4	4,8	5,2	5,6	
y (%)	0,35	0,54	0,76	0,69	0,64	0,27	0,43	0,69	0,82	0,58	

\* Ghi chú: LCR: bắt đầu leo dốc từ mức dưới. LPP: nồng độ leo từ mốc trên, còn lại leo từ mốc dưới.

Kết quả trên bảng 5 cho thấy xúc tác LCR và LPP hiệu suất tốt nhất thu được ở thí nghiệm thứ 3 và thứ 4. Khi tiếp tục leo dốc thì hiệu suất bị giảm, vì vậy thí nghiệm thứ 3 (LCR) và 4 (LPP) cho kết quả tốt nhất theo hướng gradient đã chọn với hiệu suất lần lượt là 0,76% và 0,82%.

### 3.2 Phương trình hồi quy và tối ưu hóa bậc 2 theo Box Behnken Design

Các mức nghiên cứu tương tự như bậc 1. Tối ưu hóa theo mô hình bậc 2 của Box Behnken Design bằng phần mềm Modde 5 được chạy tự động cho kết quả tối ưu khi ta nhập khoảng thực nghiệm của các biến là tốt nhất, khi đó chúng tôi thu được kết quả như trong bảng 6.

**Bảng 6: Ma trận theo mô hình Box Behnken Design cho xúc tác LCR và LPP**

N	x <sub>1</sub>	x <sub>2</sub>	x <sub>3</sub>	Y <sub>LCR</sub> (%)	Y <sub>LPP</sub> (%)
1	-1	-1	0	0,32	0,26
2	1	-1	0	0,41	0,29
3	-1	1	0	0,35	0,42
4	1	1	0	0,56	0,54
5	-1	0	-1	0,48	0,65
6	1	0	-1	0,68	0,68
7	-1	0	1	0,6	0,66
8	1	0	1	0,68	0,76
9	0	-1	-1	0,56	0,43
10	0	1	-1	0,71	0,55
11	0	-1	1	0,73	0,41
12	0	1	1	0,68	0,71
13	0	0	0	0,78	0,74
14	0	0	0	0,75	0,77
15	0	0	0	0,80	0,75

Đối với xúc tác LCR: Nồng độ EtOH, tốc độ khuấy và thời gian tối ưu lần lượt là: 98,0178°; 214,085 (vòng/phút); 5,9999 h sẽ cho hiệu suất phỏng đoán là 0,8582%, nhưng thực tế là 0,815%.

Và phương trình hồi quy là:  $\hat{y} = 0,7767 + 0,0725x_1 + 0,0358x_2 + 0,0325x_3 + 0,03x_1x_2 - 0,03x_1x_3 - 0,05x_2x_3 - 0,2133x_1^2 - 0,1533x_2^2 + 0,0467x_3^2$

Theo Hình 1 và 2, hiệu suất đạt cao nhất khi nồng độ EtOH, tốc độ khuấy, thời gian tương tác tại những điểm màu đen của khối lập phương và màu đậm nhất tại vị trí uốn cong của bề mặt đáp ứng. Hiệu suất trung bình khi nồng độ EtOH, tốc độ khuấy, thời gian tương tác tại những điểm màu trắng và màu đen nhạt là hiệu suất thấp. Như vậy, hiệu suất cao nhất không nhất thiết là 3 yếu phải tương tác tại tâm của khối lập phương.

Đối với xúc tác LPP: Nồng độ EtOH, tốc độ khuấy và thời gian tối ưu lần lượt là: 98,3579°; 248,5 (vòng/phút); 6,9999 h sẽ cho hiệu suất phỏng đoán là 0,8516%, nhưng thực tế là 0,752%.

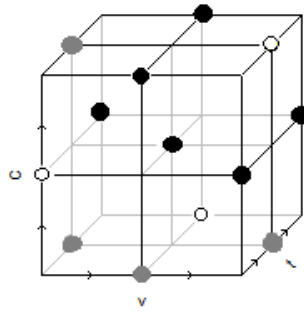
Và phương trình hồi quy là:  $\hat{y} = 0,7533 + 0,035x_1 + 0,1038x_2 + 0,0288x_3 + 0,0225x_1x_2 + 0,0175x_1x_3 + 0,045x_2x_3 - 0,1067x_1^2 - 0,2692x_2^2 + 0,0408x_3^2$

Hình 3 và 4 cũng mô tả tương tác của 3 yếu tố lên hiệu suất phản ứng xúc tác LPP tương tự như LCR được đề cập ở trên.

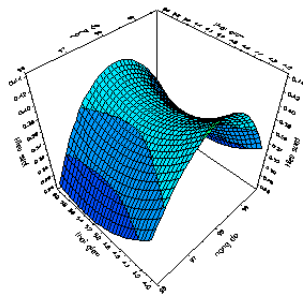
**Nhận xét:** Tối ưu đưa ra chỉ mang tính chất lý thuyết, có thể giải thích sự chênh lệch của hiệu suất phỏng đoán và thực tế là: thực tế khó có thể kiểm soát hoàn toàn chính xác các điều kiện nghiên cứu, vì có thể bị ảnh hưởng bởi sai số của dụng cụ -



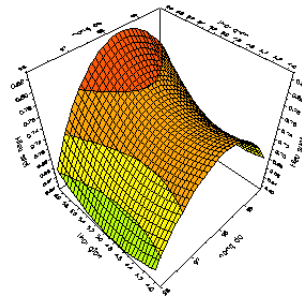
thiết bị đo, ảnh hưởng của nhiệt độ - ánh sáng môi trường, tốc độ bay hơi của ethanol khi pha,...



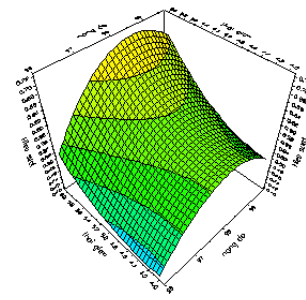
Hình 1: Khối lập phương thể hiện tương tác của 3 yếu tố nồng độ EtOH, tốc độ khuấy, thời gian lên hiệu suất phản ứng



Tốc độ khuấy = 150

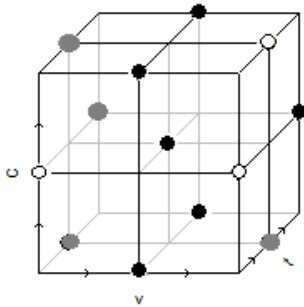


Tốc độ khuấy = 200

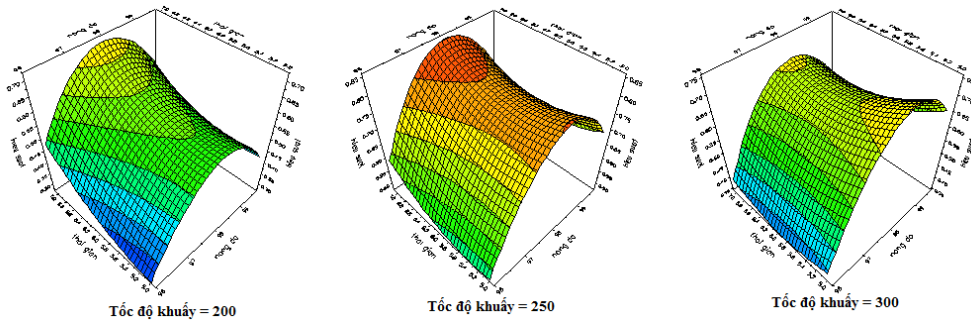


Tốc độ khuấy = 250

Hình 2: Mô hình bề mặt đáp ứng thể hiện sự tương tác của 3 yếu tố nồng độ EtOH, tốc độ khuấy, thời gian lên hiệu suất phản ứng



Hình 3: Khối lập phương thể hiện tương tác của 3 yếu tố nồng độ EtOH, tốc độ khuấy, thời gian lên hiệu suất phản ứng



**Hình 4: Mô hình bề mặt đáp ứng thể hiện sự tương tác của 3 yếu tố nồng độ EtOH, tốc độ khuấy, thời gian lên hiệu suất phản ứng**

#### 4 KẾT LUẬN

Từ kết quả của nghiên cứu này, một số kết luận được rút ra như sau:

- Đã xác định được phương trình hồi quy và tối ưu hóa theo mô hình bậc 1 theo Box Wilson và bậc 2 theo Box Behnken Design.
- Với tối ưu bậc 1, cả 3 yếu tố khảo sát tỷ lệ thuận với hiệu suất đối với LCR; nhưng với LPP thì tốc độ khuấy và thời gian tỷ lệ thuận, còn nồng độ cồn tỷ lệ nghịch với hiệu suất.
- Với tối ưu hóa bậc hai, cả ba yếu tố đều tỷ lệ thuận với hiệu suất cho cả LCR và LPP.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Hà Duyên Tư (2009), *Phân tích hóa học thực phẩm*, NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
- Nguyễn Cảnh (1993), *Quy hoạch thực nghiệm*, Nhà xuất bản Đại học Bách khoa TP. Hồ Chí Minh.
- Nguyễn Minh Tuyên và Phạm Văn Thiêm (2001), *Kỹ thuật hệ thống công nghệ hóa học*, Tập 1, NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
- Trịnh Văn Dũng (2008), *Ứng dụng tin học trong Công nghệ Hóa học – Thực phẩm*, NXB Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh, 160-169.
- Wei Du, Yuanyuan Xu, Dehua Liu and Jing Zeng (2004), *Comparative study on lipase-catalyzed transformation of soybean oil for biodiesel production with different acyl acceptors*, Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic, 30, 125–129.