

TỐI ƯU HÓA QUY TRÌNH TỔNG HỢP BIODIESEL TỪ DẦU HẠT CAO SU BẰNG PHƯƠNG PHÁP BỀ MẶT ĐÁP ỨNG

Phạm Cảnh Em¹, Lê Thị Tường Vi¹, Mai Trung Khôi², Ông Thị Mỹ Hiền³ và Nguyễn Văn Đạt⁴

¹ Lớp Hóa Dược K37, Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ

² Lớp Hóa học K37, Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ

³ Lớp Công nghệ Sinh học Tiên tiến K39, Viện CNSH, Trường Đại học Cần Thơ

⁴ Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ

Thông tin chung:

Ngày nhận: 10/06/2014

Ngày chấp nhận: 30/10/2014

Title:

Optimization of biodiesel production from rubber seed oil using response surface methodology

Từ khóa:

Biodiesel, dầu hạt cao su, phương pháp bề mặt đáp ứng

Keywords:

Biodiesel, rubber seed oil, RSM

ABSTRACT

The present work examines the production of biodiesel from non-edible, highly acidic rubber seed oil. For this purpose, a two step procedure was employed including an acid-catalyzed pretreatment of rubber seed oil ($AV = 61.55 \text{ mg KOH/g}$) followed by a transesterification procedure with methanol and potassium methoxide as a catalyst. The optimum reaction conditions were obtained by using response surface methodology (RSM) coupled with central composite design (CCD). The results showed that an optimum biodiesel yield of 74% could be obtained under the following reaction conditions: methanol content of 29.86% (by weight with respect to the oil), catalyst concentration of 0.69% (by weight with respect to the oil), and the reaction time of 150 minutes.

TÓM TẮT

Nghiên cứu này hướng đến tổng hợp biodiesel từ một loại dầu không ăn được là dầu hạt cao su. Để đạt được mục tiêu này, một quá trình hai giai đoạn gồm ester hóa xúc tác acid và tiếp theo là transester hóa với methanol xúc tác KOH đã được sử dụng để tổng hợp biodiesel từ dầu hạt cao su ($AV = 61.55 \text{ mg KOH/g}$). Điều kiện tối ưu của phản ứng đạt được bằng cách sử dụng phương pháp bề mặt đáp ứng (RSM) kết hợp với mô hình tâm phức hợp (CCD). Kết quả cho thấy quá trình transester hóa đạt được hiệu suất tối ưu là 74% tương ứng với các điều kiện sau: hàm lượng methanol và chất xúc tác lần lượt là 29.86% và 0.69% so với khối lượng dầu và thời gian phản ứng là 150 phút.

1 ĐẶT VẤN ĐỀ

Bên cạnh các dạng năng lượng như năng lượng mặt trời, năng lượng gió và địa nhiệt thì năng lượng từ các nguồn biomass như methane, ethanol và biodiesel được quan tâm nhiều nhất vì chúng đóng vai trò như một dạng năng lượng xanh để làm giảm nguy cơ ấm lên toàn cầu (Le Tu Thanh và ctv., 2012).

Trong số các nguồn năng lượng sản xuất từ biomass thì biodiesel được quan tâm nhiều nhất vì quá trình tổng hợp nhanh và đơn giản hơn so với việc sản xuất ethanol và methane. Biodiesel có nhiều ưu điểm hơn so với diesel có nguồn gốc dầu hóa như dễ phân hủy sinh học, không độc và thân thiện với môi trường.

Cây cao su (*Hevea brasiliensis*) có nguồn gốc từ vùng rừng nhiệt đới Amazon (Brazil). Ngày nay, cây cao su hiện diện ở nhiều nơi trên thế giới, trong đó, nhiều nhất là vùng Đông Nam Á và một số vùng có khí hậu nhiệt đới ở Phi Châu. Hàm lượng dầu có trong hạt tùy thuộc vào vùng khí hậu, thổ nhưỡng của từng nơi mà chúng sống, tuy nhiên, trung bình hạt chứa khoảng 40% dầu (Hilditch T. P, 1951). Theo tập đoàn cao su Việt Nam, nước ta hiện có hơn 500.000 hecta diện tích trồng cây cao su. Nếu tính cả diện tích đất mà tập đoàn này thuê cho việc trồng cây cao su tại Lào và Campuchia thì tổng diện tích trồng cây cao su có thể hơn một triệu hecta, tương ứng mỗi năm tập đoàn này có thể có 17.600–330.000 tấn dầu hạt cao su.

Quá trình transester hóa tổng hợp biodiesel hầu hết được thực hiện trên cơ sở thay đổi một yếu tố và cố định các yếu tố còn lại. Tuy nhiên, cách tiếp cận này bộc lộ nhiều hạn chế bởi vì phản ứng transester hóa bị ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố như hàm lượng methanol, thời gian phản ứng và xúc tác (Xingzhong Yuan và *ctv.*, 2008). Một giải pháp cho vấn đề này là sử dụng phương pháp RSM kết hợp với mô hình CCD để tối ưu hóa quá trình tổng hợp (Silva và *ctv.*, 2006; Jeong và *ctv.*, 2009; Vicente và *ctv.*, 1998; Shaw và *ctv.*, 2003; Huong L. T. T., 2011).

Trong nghiên cứu này, các thí nghiệm được thực hiện theo mô hình CCD và RSM với năm mức và ba yếu tố để tối ưu hóa quá trình transester hóa tổng hợp biodiesel từ dầu hạt cao su, một loại dầu không dùng làm thực phẩm.

2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Vật liệu

Dầu hạt cao su được mua từ khu công nghiệp Biên Hòa, Đồng Nai. Dầu hạt cao su có màu nâu sậm, độ nhớt động học ở 40°C là 31.53 mm²/s, chỉ số acid khoảng 61.55 mg KOH/g.

Tất cả các hóa chất được sử dụng là các hóa chất tinh khiết thương mại có xuất xứ Đức hoặc Trung Quốc.

2.2 Phương pháp nghiên cứu

2.2.1 Ester hóa xúc tác acid

Giai đoạn này, các điều kiện phản ứng được cố định như sau: nhiệt độ 65°C, thời gian phản ứng là 3 giờ, phần trăm thể tích methanol so với dầu là 60%, phần trăm khối lượng acid sulfuric so với dầu là 1%, tốc độ khuấy là 600 vòng/phút và khối lượng dầu hạt cao su (AV = 61.55 mg KOH/g) ở

mỗi thí nghiệm được dùng không đổi là 100g.

2.2.2 Transester hóa xúc tác base

Trong giai đoạn transester hóa, khối lượng của dầu hạt cao su thu được sau giai đoạn ester hóa ở mỗi thí nghiệm được dùng không đổi là 100g, khối lượng methanol từ 13.18 đến 46.82% (tính theo khối lượng dầu), hàm lượng xúc tác thay đổi từ 0.16 đến 1.84% (tính theo khối lượng dầu), thời gian khảo sát từ 69.55 đến 170.45 phút. Xúc tác KOH hòa tan trong methanol bằng máy khuấy từ trước khi cho vào bình phản ứng chứa hỗn hợp dầu và acetone (lượng acetone được lấy không đổi là 10% so với khối lượng dầu) tại nhiệt độ phòng.

Hỗn hợp sau phản ứng được để ổn định trong bể chiết và tách lớp. Tách lấy lớp trên, cho thêm petroleum ether vào lắc mạnh, sau đó cho tiếp một lượng vừa đủ methanol vào. Lúc này biodiesel sẽ tan trong methanol, còn dầu thừa sẽ tan trong petroleum ether. Tách lấy phần tan trong methanol thu được biodiesel. Rửa hỗn hợp với 30% thể tích nước ấm khoảng 60°C và làm khan bằng cách đun 110°C khoảng 20 phút. Cân sản phẩm và xác định hiệu suất phản ứng.

Dựa vào kết quả phân tích thành phần tính được

$$\overline{M}_{\text{RBDF}} = \frac{\sum M_i m_i}{\sum m_i} \text{ trong đó, } M_i: \text{ khối lượng phân}$$

tử trung bình của hỗn hợp methyl ester; m_i : phần trăm khối lượng methyl ester. Từ đó, tính được hiệu suất tổng hợp biodiesel. Hiệu suất phản ứng (kí hiệu H_{RBDF}) được tính theo công thức sau:

$$H_{\text{RBDF}} = \frac{m_{\text{TT}}}{m_{\text{LT}}} \times 100, \text{ với } m_{\text{LT}} = \overline{M}_{\text{RBDF}} \times 3n_{\text{dầu}}$$

(RBDF: biodiesel tổng hợp từ dầu hạt cao su)

2.2.3 Xác định độ nhớt động học tại 40°C và chỉ số acid

Độ nhớt động học (mm²/s) được xác định ở 40°C bằng cách đo thời gian để một thể tích chất lỏng xác định chảy qua một mao quản thủy tinh dưới tác dụng của trọng lực. Trong nghiên cứu này, thiết bị đo độ nhớt Viscosity Measuring unit ViscoClock (Schott Instrument) có chế độ tự động hiển thị thời gian được sử dụng để xác định độ nhớt động học của dầu hạt cao su cũng như biodiesel điều chế từ dầu hạt cao su (RBDF). Độ nhớt động học là kết quả tính được từ thời gian chảy và hằng số tương ứng của nhớt kế Ostwald.

Chỉ số acid của dầu nguyên liệu cũng như biodiesel được xác định bằng phương pháp chuẩn độ thể tích.

2.2.4 Xác định thành phần hỗn hợp methyl ester

Thành phần methyl ester của acid béo được phân tích bằng GC/MS (Thermo scientific), với cột TG-SQC GC (15m×0.25mm×0.25um). He được sử dụng làm khí mang với tốc độ dòng 1.2 mL/min. Chương trình nhiệt độ như sau: Nhiệt độ đầu 60°C, tốc độ gia nhiệt 10°C/min đến 260°C và giữ 1 phút. Thành phần acid béo được xác định thông qua các đỉnh của phổ đồ tương ứng với khối lượng phân tử có trong dữ liệu đi kèm với hệ thống GC/MS.

2.2.5 Các bước thực hiện bài toán quy hoạch theo RSM kết hợp với mô hình CCD

Lựa chọn nhân tố độc lập ảnh hưởng đến hàm mục tiêu Y (hiệu suất tổng hợp biodiesel)

Bảng 1: Xác định giới hạn phạm vi và mức biến đổi của các nhân tố

Biến thực	Biến mã hóa	Đơn vị	Mức nghiên cứu				
			-1,68(-α)	-1	0	+1	+1,68(+α)
Hàm lượng methanol/dầu	X ₁	%	13.18	20	30	40	46.82
Hàm lượng xúc tác/dầu	X ₂	%	0.16	0.5	1	1.5	1.84
Thời gian phản ứng	X ₃	phút	69.55	90	120	150	170.45

Trong nghiên cứu này, miền khảo sát như sau: hàm lượng methanol/dầu (13.18–46.82), hàm lượng xúc tác/dầu (0.16–1.84) và thời gian phản ứng (69.55–170.45).

Phân tích thống kê

Mô hình thống kê biểu diễn sự phụ thuộc của hiệu suất biodiesel vào các nhân tố được mã hóa là một phương trình đa thức bậc hai có dạng:

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

Y hiệu suất dự đoán tạo thành biodiesel (%).

b₀ hệ số hồi quy bậc 0.

X_i nhân tố độc lập thứ i ảnh hưởng đến hàm mục tiêu Y.

b_i hệ số hồi quy bậc 1 mô tả ảnh hưởng của nhân tố X_i với Y.

Bảng 2: Thành phần methyl ester của acid béo chính của RBDF, %

Tên thông thường	Tên theo IUPAC	Cấu trúc*	Phần trăm
Methyl palmitate	Methyl hexadecanoate	16:0	14.71
Methyl stearate	Methyl octadecanoate	18:0	14.64
Methyl oleate	Methyl 9Z-octadecenoate	18:1	33.86
Methyl linoleate	Methyl 9Z,12Z-octadecadienoate	18:2	34.89
Methyl eicosanoate		20:0	0.31
Acid béo bão hòa			29.66
Acid béo chứa một nối đôi C=C			33.86
Acid béo chứa nhiều nối đôi C=C			34.89
Thành phần khác			1.59

* xx:y tương ứng với xx carbon trong acid béo và y là số liên kết đôi

Phần trăm khối lượng methanol so với dầu (X₁), Phần trăm khối lượng xúc tác so với dầu (X₂) và thời gian phản ứng (X₃).

Số thí nghiệm

Số thí nghiệm $N = 2^k + 2k + 6$ ($N = 20$ với $k = 3$). Trong đó, k là số biến số độc lập và $2k$ số thí nghiệm bổ sung tại điểm sao. Khoảng cách từ tâm đến điểm sao $\alpha = 2^{k/4}$ ($\alpha = 1,68$ với $k = 3$). Tất cả các nghiên cứu được thực hiện ở năm mức ($-\alpha, -1, 0, +1, +\alpha$). Như vậy, trong nghiên cứu này 20 thí nghiệm sẽ được thực hiện với 2³ số thí nghiệm của quy hoạch toàn phần, 6 thí nghiệm lặp lại tại tâm để đánh giá sai số và 6 thí nghiệm bổ sung tại điểm sao nằm cách vị trí tâm thực nghiệm một khoảng $\pm\alpha$.

b_{ii} hệ số hồi quy tương tác mô tả ảnh hưởng của yếu tố X_i với Y.

b_{ij} hệ số hồi quy tương tác mô tả ảnh hưởng đồng thời X_i và X_j với Y.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Thành phần methyl ester của biodiesel tổng hợp từ dầu hạt cao su (RBDF)

Thành phần acid béo chính của RBDF được phân tích bằng GC/MS. Kết quả phân tích thành phần được tóm tắt trong Bảng 2. Thành phần C18:1 và C18:2 chiếm nhiều nhất (khoảng 34%). Hàm lượng của đa nối đôi chiếm khoảng 68%. Thành phần RBDF trong nghiên cứu này cũng tương tự như kết quả đã được công bố của hai tác giả Abdullah and Salimon (Abdullah and Salimon, 2010).

3.2 Xác định điều kiện tối ưu của phản ứng tranester hóa dầu hạt cao su bằng phương pháp quy hoạch thực nghiệm theo phương pháp RSM kết hợp với mô hình CCD

Bài toán tối ưu được lập dựa trên phương trình hồi quy xác định bằng phương pháp quy hoạch thực nghiệm là hàm mô tả sự phụ thuộc của hiệu

suất biodiesel vào các nhân tố hàm lượng methanol, hàm lượng xúc tác và thời gian phản ứng của phản ứng tranester hóa. Điều kiện ràng buộc là giới hạn của vùng nghiên cứu. Phần mềm Design-Expert 6.0.8 được sử dụng để phân tích, xây dựng phương trình hồi quy và giải bài toán tối ưu.

Bảng 3: Ma trận kế hoạch thực nghiệm và kết quả thực nghiệm

STT	Giá trị thực			Hàm mục tiêu (Y)	
	X ₁ , Methanol	X ₂ , Xúc tác	X ₃ , Thời gian	Thực nghiệm	Tính toán
1	30.00	1.00	120.00	69.44	69.03
2	30.00	1.00	120.00	68.26	69.03
3	30.00	1.00	120.00	70.10	69.03
4	30.00	1.00	120.00	69.26	69.03
5	30.00	1.00	120.00	69.26	69.03
6	30.00	1.00	120.00	69.26	69.03
7	20.00	0.50	90.00	70.10	65.43
8	40.00	0.50	90.00	69.48	69.38
9	20.00	1.50	90.00	69.20	63.90
10	40.00	1.50	90.00	67.58	64.91
11	20.00	0.50	150.00	73.00	70.43
12	40.00	0.50	150.00	70.80	70.86
13	20.00	1.50	150.00	64.66	59.52
14	40.00	1.50	150.00	57.60	57.02
15	13.18	1.00	120.00	56.20	64.16
16	46.82	1.00	120.00	66.02	65.37
17	30.00	0.16	120.00	59.84	61.59
18	30.00	1.84	120.00	43.12	48.67
19	30.00	1.00	69.55	72.50	77.52
20	30.00	1.00	170.45	72.80	75.09

Mô hình toán học mô tả mối quan hệ giữa hiệu suất phản ứng tổng hợp biodiesel với các biến mã hóa như sau:

$$Y = 69.05 + 0.37 \cdot X_1 - 3.84 \cdot X_2 - 0.72 \cdot X_3 - 1.51 \cdot X_1^2 - 4.91 \cdot X_2^2 + 2.57 \cdot X_3^2 - 0.73 \cdot X_1 \cdot X_2 - 0.88 \cdot X_1 \cdot X_3 - 2.34 \cdot X_2 \cdot X_3 \quad (2)$$

Kết quả so sánh hiệu suất biodiesel thu được từ

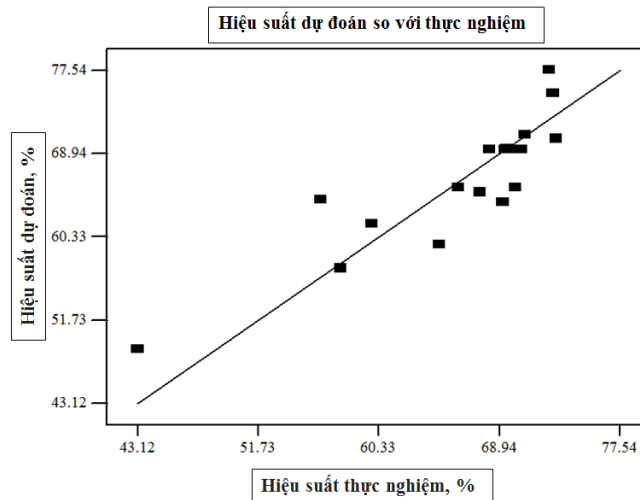
thực nghiệm với giá trị dự đoán dựa trên mô hình vừa xây dựng thể hiện ở Hình 1.

Hệ số tương quan (coefficient of correlation) r cao cho thấy có thể sử dụng mô hình để tiên đoán thực nghiệm và ngược lại. Điều này cho thấy phương trình hồi quy đã mô tả chính xác các số liệu thực nghiệm.

Bảng 4: Kết quả phân tích phương sai cho mô hình đa thức bậc hai

Nguồn biến thiên	Tổng bình phương	Bậc tự do	Trung bình bình phương	Giá trị F	Giá trị P
Mô hình	773.53	9.00	85.95	3.90	0.0226
Phần dư	220.53	10.00	22.05		
Sai số của mô hình	218.80	5.00	43.76	125.89	< 0.0001
Sai số ngẫu nhiên	1.74	5.00	0.35		
Tổng số	994.06	19.00			

$CV = 7.07\%, R^2 = 0.7781$



Hình 1: So sánh hiệu suất biodiesel từ thực nghiệm và từ mô hình được xây dựng

$r = 0.88$

Giá trị P liên quan đến kiểm định F của mô hình (F-test hay kiểm định Fisher) ở Bảng 4 có giá trị nhỏ hơn 0.05 ($P = 0.0226$) cho thấy độ tương thích của phương trình hồi quy với thực nghiệm từ đó cho thấy độ tin cậy thống kê. Hệ số xác định R^2 (coefficient of determination) cho biết 77.81% sự biến đổi của hiệu suất biodiesel là do ảnh hưởng của các biến độc lập như hàm lượng methanol, hàm lượng xúc tác và thời gian phản ứng, chỉ có 22.19% sự thay đổi là do các yếu tố không xác định được gây ra (sai số ngẫu nhiên). Bên cạnh đó, hệ số biến thiên CV (coefficient of variation) thấp chứng tỏ rằng các thí nghiệm được thực hiện chính xác và độ lặp lại cao (Box GEP và *ctv.*, 1978).

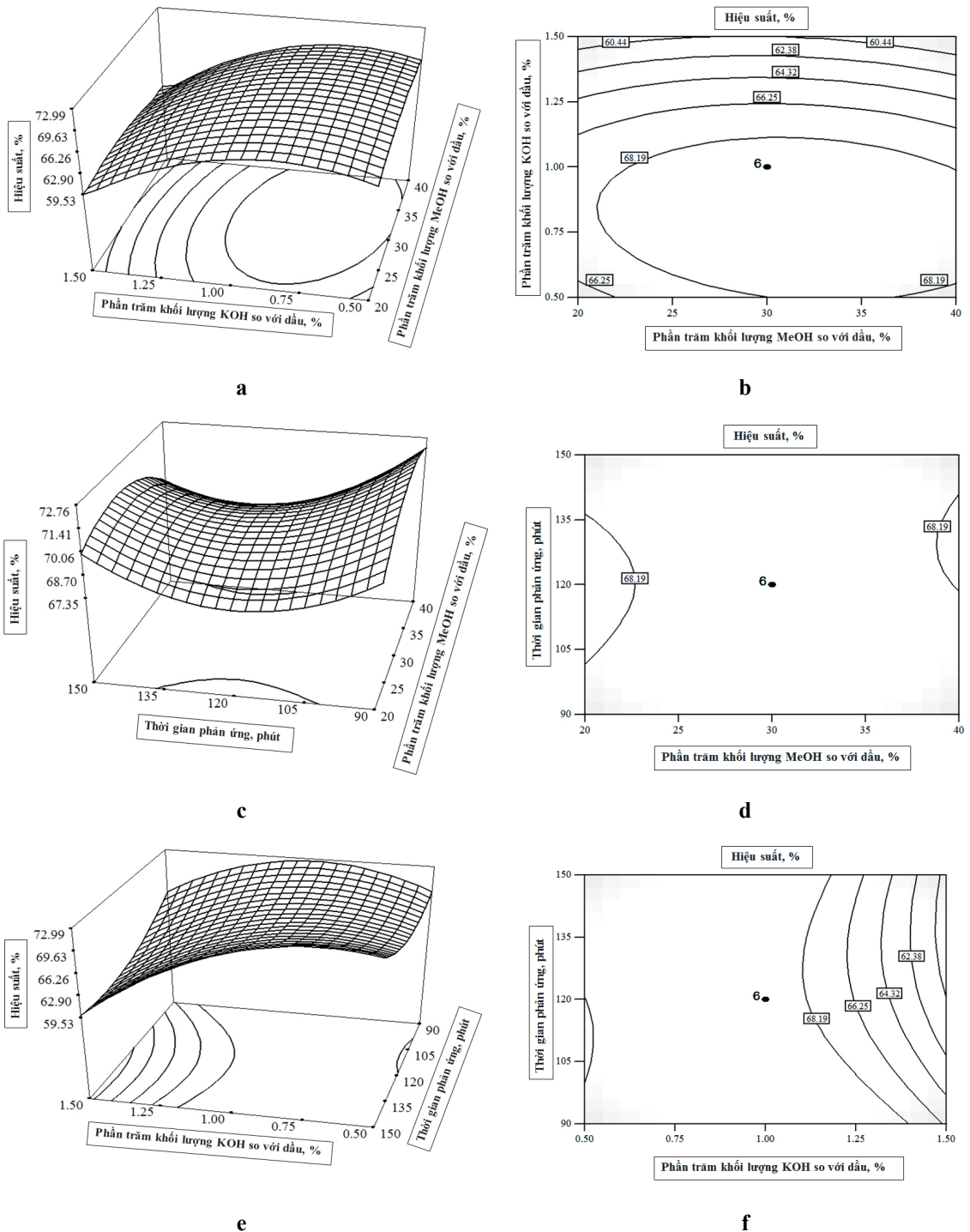
Trong vùng khảo sát, phương trình hồi quy cho thấy hiệu suất biodiesel chịu ảnh hưởng bậc 1, bậc 2 của cả ba nhân tố nghiên cứu X_1 , X_2 , X_3 và chịu ảnh hưởng đồng thời của các cặp nhân tố hàm lượng methanol – hàm lượng xúc tác ($X_1 * X_2$), hàm lượng methanol – thời gian phản ứng ($X_1 * X_3$), hàm lượng xúc tác – thời gian phản ứng ($X_2 * X_3$).

Ảnh hưởng của các yếu tố độc lập có thể được giải thích dựa vào phương trình hồi quy (2). Hàm lượng xúc tác có ảnh hưởng tiêu cực lớn nhất đối với hiệu suất phản ứng tổng hợp biodiesel cả bậc một và bậc hai. Điều này có thể được giải thích là do khi tăng hàm lượng KOH, phản ứng xà phòng

hóa xảy ra mạnh làm tăng độ nhớt của hỗn hợp phản ứng và làm giảm hiệu suất. Thời gian phản ứng ảnh hưởng tích cực bậc hai đến hiệu suất phản ứng. Điều này cũng có thể được giải thích là do phản ứng được thực hiện ở nhiệt độ phòng, nên để phản ứng hoàn tất, tăng hiệu suất phản ứng thì thời gian phản ứng cần được kéo dài, thời gian phản ứng còn phụ thuộc vào mức độ phản ứng (lượng các chất ban đầu càng nhiều thời gian phản ứng càng lâu). Hàm lượng methanol có mức độ ảnh hưởng thấp nhất trong ba yếu tố kể cả bậc một và bậc hai. Theo (2) và các đồ thị Hình 2a–2f thì cặp yếu tố hàm lượng methanol – hàm lượng xúc tác ($X_1 * X_2$), hàm lượng methanol – thời gian phản ứng ($X_1 * X_3$), hàm lượng xúc tác – thời gian phản ứng ($X_2 * X_3$) đều ảnh hưởng tiêu cực đến hiệu suất tạo biodiesel trong đó cặp hàm lượng KOH – thời gian phản ứng ($X_1 * X_3$) ảnh hưởng tiêu cực lớn nhất.

Vậy điều kiện tối ưu cho phản ứng transester hóa dầu hạt cao su như sau:

- Hàm lượng methanol: 29.86% (so với khối lượng dầu)
- Hàm lượng xúc tác KOH: 1% (so với khối lượng dầu)
- Thời gian phản ứng: 150 phút
- Hiệu suất phản ứng: 74%



Hình 2: Đồ thị dạng 3D (a), (c), (e) (3D response surface) và các đường đồng mức (b), (d), (f) (2D contour) cho biết ảnh hưởng của các cặp yếu tố đến hiệu suất biodiesel khi yếu tố còn lại được giữ cố định ở mức không: (a) và (b) hàm lượng methanol – hàm lượng xúc tác; (c) và (d) hàm lượng methanol – thời gian phản ứng, (e) và (f) hàm lượng xúc tác – thời gian phản ứng

3.3 Những tính chất hóa lý của RBDF

Theo tiêu chuẩn ASTM, giới hạn thấp nhất của hàm lượng ester (tỷ lệ với hiệu suất biodiesel) của biodiesel là 96.5%, từ kết quả ở Bảng 5, hàm lượng ester của RBDF là 98.41%, điều này cho thấy hầu như toàn bộ dầu hạt cao su đã chuyển hóa thành

ester. Tuy nhiên, hiệu suất vẫn có thể đạt cao hơn nếu dầu thô ban đầu được tinh chế, khử màu, khử mùi (O'Brien, R.D., W.E., Farr and P.J. Wan, 2000). Ngoài ra, các thông số như: độ nhớt động học ở 40°C, chỉ số acid cũng đạt được chuẩn ASTM.

Bảng 5: Những tính chất hóa-lý của RBDF

Các thông số phân tích	ASTM	Dầu Diesel	RBDF
Hàm lượng methyl ester tổng (%)	96.5	-	98.41
Chỉ số acid (mg KOH/g)	0.5 max.	-	0.06
Độ nhớt động học ở 40 °C (mm ² /s)	1.9–5.0	3.2	4.75

ASTM: American Society for Testing and Materials

4 KẾT LUẬN

Một quá trình gồm hai bước gồm (1) ester hóa xúc tác acid và (2) transester hóa xúc tác base đã được thực hiện trong nghiên cứu này để tổng hợp biodiesel từ dầu hạt cao su. Những yếu tố ảnh hưởng đến quá trình transester hóa như hàm lượng methanol, hàm lượng xúc tác và thời gian phản ứng đã được phân tích thống kê theo mô hình tâm phức hợp (CCD) và phương pháp bề mặt đáp ứng (RSM). Hiệu suất tối ưu đạt được 74% tương ứng với các điều kiện sau: hàm lượng methanol 29.86% so với lượng dầu, nồng độ xúc tác 0.69% so với khối lượng dầu, sau 150 phút thực hiện phản ứng. Các chỉ tiêu về chất lượng như hàm lượng methyl ester, chỉ số acid và độ nhớt động học ở 40°C của sản phẩm biodiesel tổng hợp được đều đạt yêu cầu theo tiêu chuẩn ASTM.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi YARI (Yanmar Agriculture Research Institute) tại Cần Thơ và đề tài nghiên cứu cấp Trường 2014 (Mã số: T2014-12).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Abdullah B. M. and Salimon J., 2010. Toxicity Study of Malaysian Rubber (*Hevea brasiliensis*) Seed Oil as Rats and Shrimps Tests. *Asian Journal of Biochemistry*, 5: 33-39.
2. Box G. E. P, Hunter W.G., Hunter J.S., *Statistics for experimenters*, 1978. New York: Wiley; p. 291–334.
3. Hilditch T. P., 1951. Variations in composition of some linolenic-rich seed oil. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 2, 543–547.

4. Huong L. T. T, 2011. Nghiên cứu tổng hợp biodiesel bằng phản ứng ancol phân tử mỡ cá da trơn ở Đồng bằng sông Cửu Long trên xúc tác acid và base, 2011. Luận án tiến sĩ, Thành phố Hồ Chí Minh.
5. Jeong, G. T., Yang, H. S., & Park, D. H., 2009. *Bioresource Technology*, 100, 25–30. doi: 10.1016/j. biortech.05.011.
6. O'Brien, R.D., W.E., Farr and P.J. Wan, 2000. *Introduction to fats and oils technology*. AOCS Press, Champaign, IL, USA.
7. Shaw, J. F., Wu, H. Z., & Shieh, C. J., 2003. *Food Chemistry*, 81, 91–96. doi:10.1016/S0308-8146(02) 00383-7.
8. Silva, N. D. L. D., Maciel, M. R. W. M., Batistella, C. B., & Filho, R. M., 2006. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 129–132, 405–414. doi:10.1385/ABAB:130:1:405.
9. Thanh L. T., Kenji Okitsu, Luu Van Boi, and Yasuaki Maeda, 2012. *Catalytic Technologies for Biodiesel Fuel Production and Utilization of Glycerol: A Review. Catalysts* 2012, 2, 191-222; doi:10.3390/catal2010191.
10. Vicente, G., Coteron, M., Martinez, M., & Aracil, J., 1998. *Industrial Crops and Products*, 8, 29–35. doi:10.1016/S0926-6690(97)10003-6.
11. Xingzhong Yuan, Jia Liu, Guangming Zeng, Jingang Shi, Jingyi Tong, Guohe Huang. Optimization of conversion of waste rapeseed oil with high FFA to biodiesel using response surface methodology, 2008. *Renewable Energy* 33, 1678–1684.