

# TỔNG HỢP CHẤT HOẠT ĐỘNG BỀ MẶT CATION TỪ MỠ CÁ BASA

Nguyễn Võ Duy<sup>1</sup>, Nguyễn Trương Việt Thu<sup>1</sup>, Lê Thị Kiều Loan<sup>1</sup> và Bùi Thị Bửu Huệ<sup>1</sup>

## ABSTRACT

*The reaction of catfish fat based methyl esters with triethanolamine in the presence of sodium methoxide as a catalyst resulted in the formation of a mixture of di- and triesteramines. Quaternization of the formed tertiary amines was accomplished using dimethyl sulfate as the methylating agent to give the corresponding esterquat. This type of cationic surfactant proved to possess good emulsifying properties. Epoxidation of the C=C positions in hydrocarbon chains of unsaturated fatty acid using HCOOH/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> system led to a clear improvement in the surface activity of the produced surfactant, mostly due to the change in the product water solubility. The structures of the synthesised cationic surfactants have been fully characterized based on modern spectrometry methods.*

**Keywords:** surfactants, biodegradability, fatty acid, vegetable oils, esterquat

**Title:** Synthesis of cationic surfactants from catfish fat

## TÓM TẮT

*Phản ứng giữa methyl ester của các acid béo có trong mỡ cá basa với triethanolamine sử dụng CH<sub>3</sub>ONa làm chất xúc tác tạo ra hỗn hợp gồm mono- và diesteramine. Methyl hóa hỗn hợp esteramine sử dụng tác nhân methyl hóa là (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> tạo ra sản phẩm esterquat. Loại chất hoạt động bề mặt cation này thể hiện khả năng tạo nhũ rất tốt. Bằng phương pháp epoxy hóa các vị trí C=C trên khung sườn carbon của các acid béo chưa no có trong mỡ cá, khả năng tạo nhũ của sản phẩm chất hoạt động bề mặt được cải thiện rõ rệt, chủ yếu do sự thay đổi độ tan trong nước của sản phẩm. Cấu trúc các chất hoạt động bề mặt được xác nhận dựa vào các phương pháp phổ nghiệm hiện đại.*

**Từ khóa:** chất hoạt động bề mặt, tính phân hủy sinh học, acid béo, dầu thực vật, esterquat

## 1 ĐẶT VẤN ĐỀ

Các sản phẩm sinh học đang thu hút sự quan tâm của thế giới, đặc biệt trong bối cảnh thế giới đang phải đối đầu với tình trạng cạn kiệt cũng như vấn nạn về ô nhiễm môi trường liên quan đến các nguồn nguyên liệu hóa thạch như dầu mỏ, than đá.

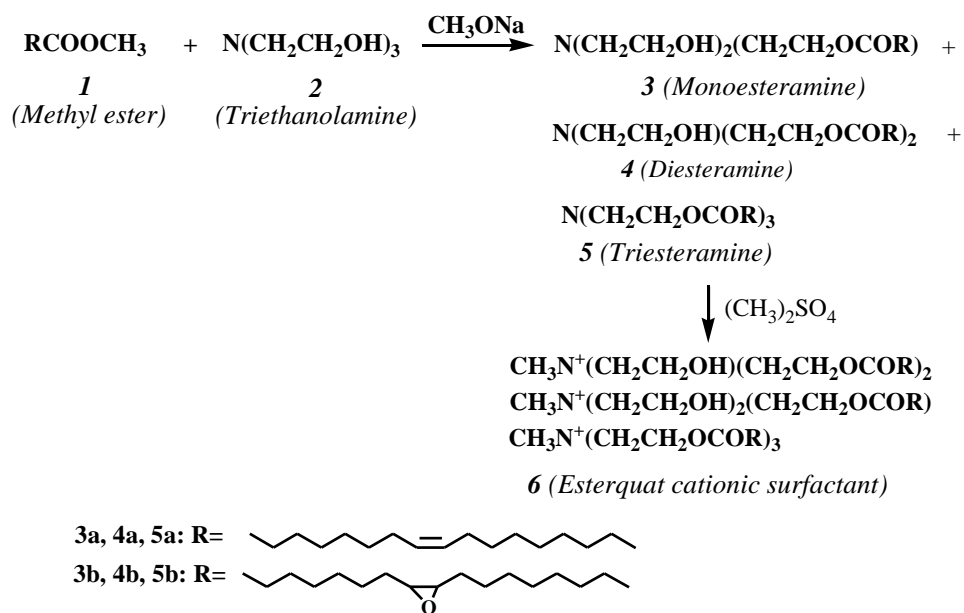
Một trong những sản phẩm sinh học được đặc biệt quan tâm hiện nay là chất hoạt động bề mặt (HĐBM) do những ứng dụng rộng rãi của chúng trong nhiều lĩnh vực đời sống như chất tạo nhũ, chất phân tán, chất diệt khuẩn, chất tẩy rửa, chất tạo bọt (Reinaldo *et al.*, 2001),... Chất HĐBM sinh học (biosurfactant) có thể được tổng hợp từ dầu thực vật, mỡ động vật, có khả năng phân hủy sinh học cao và có thể sử dụng thay thế cho các loại chất hoạt động bề mặt tổng hợp từ dầu mỏ.

<sup>1</sup> Trường Đại học Cần Thơ

Việt Nam có nhiều vùng nuôi cá tra, cá basa, đặc biệt là ở đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL). Mỗi năm khu vực này sản xuất ra khoảng 800 ngàn tấn cá tra và cá basa nguyên liệu, lượng mỡ cá khoảng 20 ngàn tấn. Việc giải quyết nguồn mỡ phế thải này đang là mối quan ngại lớn về vấn đề môi sinh. Hướng ứng dụng chủ yếu hiện nay của mỡ cá tra, cá basa là điều chế dầu diesel sinh học. Tuy nhiên, khả năng ứng dụng nguồn mỡ phế thải này để tổng hợp chất HDBM sinh học vẫn còn mới mẻ và chưa được nghiên cứu rộng rãi trong nước.

## 2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Esterquat, một loại chất HDBM cation thế hệ mới đang thu hút sự quan tâm trên thế giới do khả năng làm mềm vải sợi cũng như khả năng phân hủy sinh học cao của chúng (Zainab *et al.*, 1995; Shilpi *et al.*, 2008). Trong nghiên cứu này, esterquat được tổng hợp qua hai giai đoạn. Giai đoạn thứ nhất là sự transester hóa methyl ester của các acid béo có trong mỡ cá với triethanolamine, xúc tác  $\text{CH}_3\text{ONa}$ . Kế tiếp là giai đoạn ammonium hóa (quaternization) sản phẩm amine bởi tác nhân alkyl hóa  $(\text{CH}_3)_2\text{SO}_4$ . Quá trình tổng hợp chất hoạt động bề mặt cation từ methyl ester được tóm tắt trong Sơ đồ 1.



3c, 4c, 5c: R=gốc hydrocarbon của các acid béo có trong mỡ cá đã được epoxy hóa

### Sơ đồ 1: Tổng hợp chất HDBM esterquat

Do thành phần mỡ cá basa bao gồm hỗn hợp các acid béo khác nhau nên để sơ bộ khảo sát các điều kiện tổng hợp cũng như xác định cấu trúc hóa học của các sản phẩm tạo thành chúng tôi tiến hành khảo sát trên nguồn nguyên liệu ban đầu là acid oleic, một trong những loại acid béo chiếm tỉ lệ cao nhất trong mỡ cá basa. Các yếu tố khảo sát bao gồm tỉ lệ mol tác chất phản ứng, nhiệt độ phản ứng, thời gian phản ứng và lượng chất xúc tác.

Nhằm làm thay đổi tính phân cực của sản phẩm chất HDBM, các vị trí C=C trên khung sườn hydrocarbon của các acid béo chưa no có trong mỡ cá được epoxy hóa

sử dụng hệ HCOOH/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Ngô Thị Ngọc Hân, 2010). Tiến trình các phản ứng được theo dõi bằng sắc ký bản mỏng (TLC). Sản phẩm được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel. Cấu trúc sản phẩm được xác định bằng các phương pháp phổ nghiệm hiện đại như IR, <sup>1</sup>H-NMR và <sup>13</sup>C-NMR. Sản phẩm chất HDBM tổng hợp được được đánh giá chất lượng qua khả năng tạo nhũ, trị số HLB và CMC.

### 3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Mỡ cá basa thu mua ở khu công nghiệp Trà Nóc, quận Ô Môn, thành phố Cần Thơ. Các dữ liệu phổ <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, DEPT được ghi trên máy Bruker Advance 500 MHz (Viện Công Nghệ, 18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội). Độ dịch chuyển hóa học, δ, được tính bằng ppm; hằng số ghép cặp, J, tính bằng Hz. Silica gel 60 F<sub>254</sub> (0.04-0.06), bản mỏng TLC, acid HCOOH, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub>ONa, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> tinh khiết xuất xứ Merck, Đức. Các hóa chất tinh khiết khác có xuất xứ Trung Quốc.

Quy trình tổng quát điều chế chất hoạt động bề mặt cation như sau: hỗn hợp methyl ester của các acid béo (methyl oleate hoặc epoxy methyl oleate hoặc methyl ester tổng hợp từ mỡ cá trong trường hợp có hoặc không có biến đổi cấu trúc bằng phương pháp epoxy hóa) được khuấy trộn với triethanolamine (tỉ lệ mol methyl ester: triethanolamine = 2:1) và CH<sub>3</sub>ONa (3% khối lượng hỗn hợp phản ứng) ở 150°C, 60 cmHg trong thời gian 150 phút. Hỗn hợp phản ứng sau đó được làm nguội đến nhiệt độ phòng và được pha loãng bằng ethyl acetate (EtOAc). Pha hữu cơ được rửa lần lượt với nước, dung dịch NaCl bão hòa, làm khô bằng Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> khan, lọc và cô đuổi dung môi thu được chất lỏng màu vàng nâu. Hỗn hợp esteramine thô được tiếp tục pha loãng với isopropanol (15% so với tổng khối lượng hỗn hợp). Dung dịch thu được được methyl hóa bằng dimethylsulfate (tỉ lệ mol 1:1) ở 55°C trong khoảng thời gian 3 giờ. Kết thúc phản ứng lượng dimethylsulfate dư được cho phản ứng với dung dịch NH<sub>3</sub> 25% (sử dụng khoảng 5% dung dịch NH<sub>3</sub> so với khối lượng hỗn hợp), sau đó hỗn hợp được pha loãng bằng EtOAc. Pha hữu cơ được rửa lần lượt với nước, dung dịch NaCl bão hòa, làm khô bằng Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> khan, lọc và cô đuổi dung môi thu được sản phẩm chất hoạt động bề mặt cation.

Tiến hành sắc ký cột hỗn hợp esteramine thu được trong trường hợp sử dụng tác chất ban đầu là methyl oleate thu được 2 cấu tử có R<sub>f</sub> = 0.162 và R<sub>f</sub> = 0.595 (petroleum ether, PE : EtOAc = 4:1). Kết quả phân tích phổ IR cho thấy cấu tử có R<sub>f</sub> = 0.595 có sự hiện diện của một mũi ở 1738 cm<sup>-1</sup> đặc trưng của nhóm carbonyl của ester. Phổ <sup>1</sup>H-NMR cho thấy có sự hiện diện của một mũi đa trong khoảng 5.37-5.32 ppm đặc trưng cho 2 proton của hệ **CH=CH**, hai mũi ba ở 4.11 ppm và 2.83 ppm có hằng số ghép cặp bằng nhau (*J* = 6 Hz) đặc trưng cho hệ -**OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N**-. Phổ <sup>13</sup>C-NMR cho thấy có tín hiệu cộng hưởng ở 173.67 ppm đặc trưng của nhóm carbonyl và ở 130.02 ppm và 129.75 ppm đặc trưng của hệ -**CH=CH**-. Tổng hợp các kết quả có được có thể dự đoán cấu tử này là triesteramine **5a**. Các dữ liệu phổ đầy đủ như sau:

**Triesteramine 5a:** IR:  $\text{cm}^{-1}$  3427, 2932, 2862, 1738, 1461, 1172.  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  5.37-5.32 (m, 6H, 3- $\text{CH}=\text{CH}$ -), 4.11 (t,  $J=6$  Hz, 6H, 3- $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 2.83 (t,  $J=5$  Hz, 6H, 3- $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$ -), 2.28 (t,  $J=8$  Hz, 6H, 3- $\text{CH}_2\text{COO}$ -), 2.04-1.95 (m, 12H, 3- $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2$ -), 1.61-1.57 (m, 6H), 1.30-1.25 (m, 60H), 0.88 (t,  $J=6.5$  Hz, 9H).  $^{13}\text{C-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  173.67 ( $\text{C}=\text{O}$ ), 130.02 ( $-\text{CH}=\text{CH}$ -), 129.75 ( $-\text{CH}=\text{CH}$ -), 62.45, 53.38, 34.28, 31.91, 29.78, 29.73, 29.67, 29.53, 29.34, 29.32, 29.21, 29.16, 28.99, 27.24, 27.20, 24.94, 22.68, 14.09 ( $-\text{CH}_3$ ).

Các dữ liệu phổ  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$  và DEPT của cấu tử tương ứng với  $R_f=0,162$  cho thấy đây là hỗn hợp của 2 sản phẩm monoesteramine **3a** và diesteramine **4a**.

Như vậy có thể kết luận, sản phẩm thu được sau phản ứng transester hóa giữa methyl oleate và triethanolamine là một hỗn hợp gồm mono-, di- và triesteramine.

Nhằm làm thay đổi tính phân cực của phân tử từ đó thay đổi hoạt tính bề mặt của sản phẩm chất hoạt động bề mặt chúng tôi tiến hành thực hiện quá trình epoxy hóa vị trí  $\text{C}=\text{C}$  trên khung sườn carbon của methyl oleate (Ngô Thị Ngọc Hân, 2010). Sản phẩm epoxy methyl oleate sau đó tiếp tục được cho phản ứng với triethanolamine thu được hỗn hợp gồm triesteramine **5b** ( $R_f = 0.461$ , PE : EtOAc = 3:1) và diesteramine **4b** ( $R_f = 0.096$ , PE : EtOAc = 3:1). Các dữ liệu phổ của hai sản phẩm này như sau:

**Diesteramine 4b:**  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  4.14 (t,  $J=5.5$  Hz, 4H, 2- $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 3.54 (t,  $J=5$  Hz, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ ), 2.89-2.88 (br, 4H, oxirane), 2.83 (t,  $J=5.5$  Hz, 4H, 2- $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 2.73 (t,  $J=5$  Hz, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ ), 2.31 (t,  $J=7.5$  Hz, 4H, 2- $\text{CH}_2\text{COO}$ ), 1.62 (br, 4H, 2- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COO}$ ), 1.63-1.28 (m, 48H), 0.88 (t,  $J=7$  Hz, 6H, 2 $\text{CH}_3$ ).  $^{13}\text{C-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  173.73 ( $\text{C}=\text{O}$ ), 62.11, 58.93, 57.23 ( $-\text{CH}$ -oxirane), 57.18 ( $-\text{CH}$ -oxirane), 56.63, 53.03, 34.19, 31.85, 29.55, 29.35, 29.21, 29.05, 27.84, 27.81, 26.61, 24.84, 22.65, 14.08 ( $-\text{CH}_3$ ).

**Triesteramine 5b:**  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  4.14 (t,  $J=6$  Hz, 2H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 2.91-2.88 (br, 2H, oxirane), 2.83 (t,  $J=6$  Hz, 2H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$ ), 2.29 (t,  $J=7.5$  Hz, 2H, 2- $\text{CH}_2\text{COO}$ ), 1.78-1.60 (br, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COO}$ ), 1.49-1.28 (m, 24H), 0.89-0.85 (m, 3H).  $^{13}\text{C-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 173.63 ( $\text{C}=\text{O}$ ), 62.45, 57.21 ( $-\text{CH}$ -oxirane), 57.16 ( $-\text{CH}$ -oxirane), 53.38, 34.24, 31.86, 29.56, 29.54, 29.38, 29.22, 29.08, 27.86, 27.84, 26.61, 24.90, 22.66, 14.08 ( $-\text{CH}_3$ ).

Hỗn hợp esteramine thu được từ methyl oleate trong cả hai trường hợp không được epoxy hóa (**4a**, **5a**) và được epoxy hóa (**4b**, **5b**) lần lượt được tiến hành methyl hóa bởi dimethyl sulfate tạo thành các sản phẩm **6a** và **6b** tương ứng. Phổ  $^1\text{H-NMR}$  của **6b** cho thấy sự methyl hóa đã xảy ra tạo ra sản phẩm esterquat bởi có sự xuất hiện của 2 mũi đơn ở 3.62 ppm và 3.59 ppm đặc trưng của 2 nhóm methyl gắn vào 2 tâm amine tứ cấp. Trong cả hai trường hợp, sản phẩm đều có dạng chất lỏng sánh, màu vàng nâu. Các sản phẩm này đều tạo thành hệ nhũ tương bền vững (không tách lớp sau hơn 2 tuần khảo sát) khi phối trộn với nước và paraffin theo tỉ lệ 5% CHĐBM + 20% nước + 75% paraffin.

Trên cơ sở những kết quả thu được dựa trên nguồn nguyên liệu acid oleic, chúng tôi đã tiến hành tổng hợp CHĐBM cation từ mỡ cá basa trong hai trường hợp có và không có biến đổi cấu trúc bằng phương pháp epoxy hóa. Điều kiện tổng hợp tương tự như trường hợp acid oleic. Trong trường hợp có biến đổi cấu trúc bằng quá trình epoxy hóa, phổ  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$  và DEPT cũng xác nhận có sự hiện diện của các nhóm methyl gắn trên các tâm amine tứ cấp. Sản phẩm chất HĐBM trong hai trường hợp cũng được đánh giá hoạt tính bề mặt qua khả năng tạo nhũ. Kết quả nghiên cứu cho thấy các chất HĐBM cation tổng hợp được có khả năng tạo nhũ tốt tương tự như chất HĐBM cation đang được sử dụng trên thị trường là *N*-cetyl-*N,N,N*-trimethylamonium bromide (Hà Giữ Quốc, 2008). Thành phần phối trộn các hệ nhũ tương như sau: 5% chất HĐBM cation + 20% nước + 75% paraffin. Tất cả các hệ nhũ tương trên đều thuộc loại hệ nhũ tương nước trong dầu (W/O). Tuy đều có khả năng tạo nhũ bền nhưng hệ nhũ tương tổng hợp từ mỡ cá đã qua giai đoạn epoxy hóa tốt hơn hẳn hai hệ nhũ tương còn lại, thể hiện qua ảnh hệ nhũ tương bền của ba chất HĐBM nhìn dưới kính hiển vi (Hình 1). Sự tăng thành phần ưa nước (vòng oxirane) và giảm thành phần kỵ nước (hệ  $-\text{CH}=\text{CH}-$ ) rõ ràng đã góp phần cải thiện khả năng hòa tan trong nước của chất HĐBM, từ đó nhũ tạo thành mịn màng và bền vững hơn rất nhiều so với 2 hệ nhũ tạo bởi 2 chất HĐBM còn lại. Ngoài tác dụng thay đổi tính phân cực, sự thay thế các vị trí  $\text{C}=\text{C}$  bằng các vòng oxirane có thể cũng góp phần cải thiện độ bền của cấu trúc phân tử chất HĐBM, từ đó góp phần bền vững hóa hệ nhũ tương tạo thành. Chúng tôi cũng đã thử sốc nhiệt các hệ nhũ tương bằng cách thay đổi đột ngột nhiệt độ từ  $70^\circ\text{C}$  đến  $4^\circ\text{C}$ . Kết quả cho thấy hiện tượng tách lớp của các hệ nhũ tương xảy ra không đáng kể, đặc biệt là hệ nhũ tương phối trộn từ chất HĐBM tổng hợp từ mỡ cá basa đã qua epoxy hóa hầu như không biến đổi.



(a) Chất HĐBM cation từ nguồn nguyên liệu acid oleic  
 (b) Chất HĐBM cation từ nguồn nguyên liệu mỡ cá basa  
 (c) Chất HĐBM cation từ nguồn nguyên liệu mỡ cá basa đã qua epoxy hóa

**Hình 1: Hệ nhũ tương nhìn dưới kính hiển vi điện tử (phóng đại 100 lần)**

Chỉ số HLB (cân bằng ưa nước-kỵ nước) của sản phẩm cũng được sơ bộ xác định theo biểu thức sau:

$$\text{HLB} = 7 + (\text{giá trị HLB các nhóm háo nước}) - (\text{HLB của nhóm kỵ nước})$$

Đối với sản phẩm chất HĐBM tổng hợp từ nguyên liệu acid oleic, kết quả phân lập hai sản phẩm esteramine bằng sắc ký cột cho thấy thành phần diesteramine chiếm 52.5% và thành phần triesteramine chiếm 47.5% so với tổng khối lượng hỗn hợp sản phẩm. Hỗn hợp 2 cấu tử này tiếp tục phản ứng với  $(\text{CH}_3)_2\text{SO}_4$  theo tỷ lệ mol

là 1:1. Nếu xem như toàn bộ hỗn hợp triesteramine và diesteramine đã chuyển hóa thành sản phẩm **6a** (Sơ đồ 1) thì chỉ số HLB của sản phẩm **6a** được xác định khoảng 2. Với giá trị HLB này chất HDBM sẽ có khả năng phân tán trong nước rất ít. Điều này phù hợp với kết quả về loại nhũ W/O của các hệ nhũ tương tạo thành. Đối với sản phẩm chất HDBM tổng hợp từ nguyên liệu mỡ cá tra, cá basa, do nguyên liệu ban đầu chứa hỗn hợp các acid béo khác nhau nên chúng tôi chưa thể xác định cấu trúc của sản phẩm một cách chính xác, nhưng có thể dự đoán rằng giá trị HLB của sản phẩm chất HDBM cation từ mỡ cá (sản phẩm **6c**) là tương tự như trường hợp tổng hợp từ acid oleic, là thành phần acid béo chiếm tỉ lệ cao nhất trong mỡ cá tra, cá basa.

Giá trị sức căng bề mặt của dung dịch nước của chất HDBM **6c** theo nồng độ xác định được như sau (Bảng 1). Từ đây có thể kết luận nồng độ micelle tới hạn (CMC) của sản phẩm **6c** là 0.035g/L.

**Bảng 1: Biến thiên sức căng bề mặt theo nồng độ**

Nồng độ (g/L)	0	0.02	0.025	0.03	0.035	0.04	0.045	0.05
Sức căng bề mặt (N/m)	0.0439	0.0411	0.0384	0.0375	0.037	0.037	0.037	0.037

Các nghiên cứu vẫn đang được tiếp tục nhằm hoàn chỉnh quy trình tổng hợp cũng như đánh giá khả năng phân hủy sinh học, độc tính đối với tế bào của các sản phẩm chất HDBM cation tổng hợp được.

#### 4 KẾT LUẬN

Bằng phương pháp transester hóa methyl ester của acid béo với triethanolamine, chất hoạt động bề mặt cation loại esterquat đã được tổng hợp thành công từ mỡ cá basa. Đánh giá bước đầu cho thấy sản phẩm chất hoạt động bề mặt này có khả năng tạo hệ nhũ tương loại W/O bền vững. Hoạt tính bề mặt của sản phẩm được cải thiện rõ rệt khi thay thế các nhóm kỵ nước C=C bởi các nhóm oxirane ưa nước bằng phương pháp epoxy hóa sử dụng hệ HCOOH/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Những kết quả nghiên cứu này cho thấy mỡ cá basa là một nguồn nguyên liệu đầy tiềm năng để tổng hợp chất hoạt động bề mặt cation nói riêng và các loại chất hoạt động bề mặt khác nói chung.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Hà Giữ Quốc (2008), luận văn tốt nghiệp đại học “*Điều chế hệ nhũ tương bền vững với chất hoạt động bề mặt cation*”, Trường đại học Cần Thơ.
- Ngô Thị Ngọc Hân, Bùi Thị Bửu Huê, *Tap Chí Khoa Học*, Đại học Cần Thơ, **2010**:13 50-58.
- Reinaldo C. Bazito and Omar A. El Seoud, *Journal of Surfactants and Detergents*, **2001**, Vol. 4, No. 4, 395-400.
- Shilpi Mishra & V. K. Tyagi, *J. Surfact Deterg.*, **2008**, DOI 10.1007/s11743-008-1067-5.
- Trần Kiều Oanh và Bùi Thị Bửu Huê, *Tap Chí Khoa Học*, Trường Đại Học Cần Thơ, **2008**, 10, 1-5.
- Zainab, I; Salmiah, A. and Nakasato, S. (1995); *Elaeis*, Vol. 7, No. 2, 1995, 135-145.