

بررسی کیفیت بیودیزل حاصل از چربی مغز استخوان گاو و اجزاء آن

زهرة دیدار*

گروه علوم و صنایع غذایی، واحد نیشابور، دانشگاه آزاد اسلامی، نیشابور، ایران.

تاریخ پذیرش: 1393/2/29

تاریخ دریافت: 1392/7/25

چکیده

محدودیت سوخت‌های فسیلی همراه با مشکلات زیست محیطی، دانشمندان را به مطالعه بر روی سایر منابع تولید انرژی از جمله بیودیزل‌ها واداشته است. هدف از این تحقیق بررسی امکان تولید بیودیزل از چربی مغز استخوان گاو و اجزاء مختلف آن است. به منظور جزء به جزء کردن از حلال استن در دماهای 5، 15 و 25 درجه سانتی گراد استفاده شد. برای شناسایی اسیدهای چرب تشکیل دهنده چربی مغز استخوان از روش کروماتوگرافی گازی استفاده شد. برای تهیه بیودیزل از چربی و اجزاء حاصل از آن از روش دو مرحله ای با استفاده از اسید سولفوریک و هیدروکسید در دمای 55°C استفاده شد. نتایج نشان داد که اسیدهای چرب اولئیک، پالمیتیک و استئاریک به ترتیب بیشترین اسیدهای چرب تشکیل دهنده چربی مغز استخوان گاو هستند. ویژگی های چربی مغز استخوان و اجزای آن نظیر نقطه ذوب، ویسکوزیته سینماتیک و دانسیته مورد ارزیابی قرار گرفته، نتایج نشان داد که در سطح آماری 1 درصد اختلاف معنی دار داشتند. با تهیه بیودیزل از چربی و اجزاء آن کاهش قابل توجه در میزان ویسکوزیته سینماتیک، دانسیته و وزن مخصوص آنها ایجاد شد. بررسی نقطه ابری شدن، وزن مخصوص، دانسیته و ویسکوزیته سینماتیک بیودیزل حاصل از چربی اولیه و اجزاء حاصل از آن نشان داد، با جزء به جزء کردن به طور قابل ملاحظه ای این خصوصیات کاهش یافت به طوری که بیشترین میزان تمامی صفات مذکور مربوط به بیودیزل حاصل از چربی مغز استخوان بود. جزء به جزء کردن چربی مغز استخوان سبب کاهش پایداری اکسایشی در اجزاء آن شد.

واژه های کلیدی: چربی مغز استخوان گاو، جزء به جزء کردن، بیودیزل

1- مقدمه

استفاده بی رویه از سوختهای فسیلی، همچنین مشکلات زیست محیطی (افزایش میزان دی اکسید کربن در اتمسفر و در نتیجه پدیده گرم شدن گلخانه ای) در اثر استفاده از سوختهای فسیلی، دانشمندان را به مطالعه بر روی سایر منابع تولید انرژی واداشته است. متیل استرها، اسیدهای چرب آزاد، ترکیباتی هستند که بیشتر در این زمینه مورد توجه قرار گرفته اند. این ترکیبات، توسط استریفیکاسیون تری گلیسریدها (روغنهای گیاهی، چربی حیوانی) با متانول تولید شده و می توانند جایگزین مناسبی برای سوختهای فسیلی باشند. این ترکیبات بیودیزل نامیده می شوند (25). چالش اصلی تولید بیودیزل از روغنها و چربی های خوراکی، هزینه بالا و دسترسی محدود به این منابع است به طوری که هزینه مواد خام روغن ها و چربی های خوراکی 60 تا 75 درصد هزینه کل بیودیزل را شامل می شود (15). ضایعات روغن پخت، پسماند روغن رستوران ها و چربی های حیوانی می توانند مواد خام ارزان قیمت برای تولید بیودیزل باشند. چربی ها و روغن های طبیعی همیشه خصوصیات مورد نیاز برای اهداف کاربردی خاص را دارا نمی باشند بدین منظور، از فرآیندهای اصلاح کننده استفاده می شود که سبب تولید روغن ها و چربی هایی با خصوصیات مورد نظر می گردند. عملیات جزء به جزء کردن از جمله فرآیندهای اصلاح کننده ویژگی های روغن ها و چربی ها است (7).

سه تکنیک مختلف برای انجام عملیات جزء به جزء کردن وجود دارد که شامل کریستالیزاسیون چربی ذوب شده (جزء به جزء کردن خشک)، کریستالیزاسیون چربی حل شده در حلال (جزء به جزء کردن با حلال) و کریستالیزاسیون چربی در حضور دترجنت (جزء به جزء کردن با دترجنت) می باشند (14). تحقیقاتی بر روی جزء به جزء کردن چربی های حیوانی مانند چربی مرغ (17)، چربی گاو (8، 13، 20) انجام شده است.

مطابق گزارش مرکل¹ (1995) جزء به جزء کردن چربی گاو توسط دی اکسید کربن فوق بحرانی سبب ایجاد اجزاء با خصوصیات عملکردی خاص می گردد (21). سینتیا² (1981) روش جزء به جزء کردن در مورد چربی پیه گاو با استفاده از

دترجنت سدیم دو دلیل سولفات را بررسی نموده است. مطابق این تحقیق عملیات جزء به جزء کردن سبب بهبود خصوصیات چربی حاصله و افزایش کاربرد آن در صنایع غذایی از جمله فرایند سرخ کردن عمیق می گردد (8). جزء به جزء کردن چربی خوک با روش حلال استن روش مناسبی جهت بهبود خصوصیات این منبع چربی توسط لی³ (2002) معرفی شده است (18). تحقیقاتی در زمینه جزء به جزء کردن چربی و تهیه بیودیزل از اجزاء حاصله نیز صورت گرفته است از جمله بنیدس⁴ (2008) اثر جزء به جزء کردن روغن پالم بر بهبود خصوصیات بیودیزل حاصل از آن را گزارش نموده است (6). ونگ⁵ (2011) نیز در گزارش خود به بهبود ویژگیهای بیودیزل حاصل از روغن های پخت ضایعاتی اشاره نموده است (26). چربی مغز استخوان گاو از جمله ضایعات صنایع تولید ژلاتین است. در این تحقیق ویژگیهای این منبع چربی، جزء به جزء کردن آن و خصوصیات بیودیزل حاصل از اجزاء آن بررسی شده است.

2- مواد و روش ها

2-1- تهیه نمونه چربی مغز استخوان گاو

برای انجام این تحقیق ابتدا استخوان ران گاو از بازار خریداری گردید. سپس با آب شسته شدند و ضایعات آن مانند خون جدا گردید. سپس چربی از داخل مغز استخوان بیرون کشیده و پس از بسته بندی در فریزر نگهداری شد.

2-2- استخراج چربی از مغز استخوان گاو

استخراج چربی از مغز استخوان به روش ذوب کردن خشک و تحت خلأ انجام شد. برای انجام این فرآیند از دستگاه تبخیر کننده دوار استفاده شد و حدود 200 گرم چربی در بالن قرار گرفته و به دستگاه متصل شد. مدت گداختن، 2 ساعت در دمای 80°C و با سرعت چرخش 60 دور در دقیقه بود. در انتهای فرآیند 400 میلی لیتر پترولیوم اتر (60-40°C) داخل بالن ریخته شده و این مخلوط با استفاده از قیف و ارلن بوخنر و کاغذ صافی واتمن 41، تحت خلأ صاف شد. حضور پترولیوم اتر سبب رقیق شدن مخلوط و تسهیل فرآیند صاف کردن و استخراج بهتر چربی

³ - Lee

⁴ - Benavides

⁵ - Wang

¹ - Merkle

² - Cynthia

2-4- تهیه بیودیزل

تهیه بیودیزل مطابق روش انورمادو¹ (2010) انجام شد (10). یک لیتر از چربی اولیه و یا هر یک از اجزاء چربی تا دمای 55°C حرارت داده شده و سپس با 400 میلی لیتر متانول مخلوط گردید. برای مدت 5 دقیقه با همزن مغناطیسی هم زده شد. سپس 1 میلی لیتر اسید سولفوریک 95% به آن اضافه گردید و در دمای 55°C با سرعت همزدن 500-600 دور در دقیقه برای یک ساعت قرار داده شد. سپس بدون حرارت دادن دو ساعت دیگر همزده شد. جهت استریفیکاسیون قلیایی از مخلوط 600 میلی لیتر متانول با 4/9 گرم هیدروکسید پتاسیم و دمای 55 درجه سانتی گراد همراه با همزدن به مدت یک ساعت استفاده شد. سپس نمونه جهت جداسازی بیودیزل حاصله از گلیسرول، به یک قیف جداکننده منتقل شد و برای 18-24 ساعت به حال خود رها گردید. در آخر جهت شستشو از 2 میلی لیتر اسید فسفریک 10% استفاده شد.

2-5- آزمون های فیزیکی و شیمیایی

آزمونهایی که در ادامه ذکر می شود برای ارزیابی کیفیت چربی و اجزاء حاصل از آن در سه تکرار انجام شد.

2-5-1- ترکیب اسیدهای چرب آزاد

آماده سازی نمونه به روش مشتق متیل استر (11، 12) انجام شد. جهت تعیین ترکیب اسید چرب از دستگاه گاز کروماتوگراف مدل YOUNG LIN Acme 6000 مجهز به آشکار کننده شعله ای (FID) و ستون موئین Varian با طول ستون 100 متر و قطر 0/25 میلی متر و ضخامت 0/2 میکرومتر استفاده شد.

2-5-2- اندازه گیری نقطه ذوب

به روش لوله موئین بر اساس استاندارد AOAC به شماره 920.157 اندازه گیری شد (11).

2-5-3- اندازه گیری ویسکوزیته سینماتیک در دمای 40°C

با استفاده از ویسکومتر کتن- فنسک² مطابق استاندارد ASTM D445 انجام شد (4).

از بافت گداخته شده می شود. محلول صاف شده که شامل چربی و پترولیوم اتر بود به دکانتور منتقل شد و با جدا کردن فاز زیرین، آب موجود در آن جدا شد و سپس برای جداسازی کامل آب مقداری سولفات سدیم بدون آب به آن اضافه شد. بعد از 15 دقیقه، محلول تحت خلأ و با استفاده از کاغذ صافی واتمن 41 صاف شد تا سولفات سدیم از آن جدا شود. جداسازی حلال از چربی در دمای 80-60°C بوسیله روتاری و تحت خلأ انجام شد و چربی حاصل در فریزر نگهداری شد.

2-3- جزء به جزء کردن چربی

برای جزء به جزء کردن چربی، از حلال استن در طی 3 مرحله استفاده شد. بدین منظور چربی استخراج شده بصورت جامد در دمای محیط به نسبت 1 به 10 با استن خالص مخلوط و خوب همزده شد تا چربی کاملاً در استن حل شود. سپس محلول چربی و استن به مدت 22 ساعت در انکوباتور در دمای 25°C قرار داده شد. پس از این مدت کریستال های چربی در ته ظرف مشاهده گردید جهت جداسازی فاز رسوب از فاز مایع، فیلتراسیون نمونه تحت خلأ و در دمای 25°C انجام شد و فاز چربی به دست آمده (جزء اول) به ظرف شیشه ای تمیزی منتقل گردید. در مرحله دوم عملیات جزء به جزء کردن، فاز مایع بدست آمده از مرحله اول (چربی و استن) به مدت 22 ساعت در انکوباتور با دمای 15°C قرار داده شد. در انتهای این مرحله نیز کریستال های جدیدی در فاز مایع مشاهده شد که جداسازی این کریستالها از طریق فیلتراسیون تحت خلأ در دمای 15°C انجام شد و چربی جامد بدست آمده (جزء دوم) به ظرف شیشه ای تمیزی منتقل گردید. در مرحله سوم، فاز مایع به دست آمده از مرحله دوم (چربی و استن) به مدت 22 ساعت در انکوباتور با دمای 5°C قرار داده شد. در انتهای این مرحله نیز کریستالهای جدیدی در فاز مایع مشاهده گردید و جداسازی این کریستالها از طریق فیلتراسیون تحت خلأ و در دمای 5°C انجام شد و چربی نیمه جامد به دست آمده (جزء سوم) به ظرف شیشه ای تمیزی منتقل گردید (1). فاز مایع حاصل از فیلتراسیون در مرحله سوم جزء به جزء کردن با استفاده از دستگاه تبخیر کننده دوار و تحت خلأ حلال گیری شد و جزء چهارم به دست آمد. جزء سوم به علت بسیار ناچیز بودن در این تحقیق صرف نظر شد.

¹ - Enweremadu

² - Cannon-Fenske

4-5-2- اندازه گیری وزن مخصوص و دانسیته در دمای 15°C

با استفاده از هیدرومتر مطابق استاندارد ASTM D1298 صورت پذیرفت (2).

5-5-2- اندازه گیری نقطه ابری شدن

مطابق استاندارد ASTM D2500-11 روش استاندارد برای فرآورده های نفتی با استفاده از ترمومتر انجام شد (3).

6-5-2- پایداری اکسایشی چربی و اجزاء حاصل از آن

جهت تعیین پایداری اکسایش از روش اکسیژن فعال¹ (AOCS Cd 12-57) (23) استفاده شد. 20 گرم نمونه چربی در لوله آزمایش در دمای 98 درجه سانتی گراد قرار داده شد. هوای خشک با سرعت 140 میلی لیتر در دقیقه به طور مداوم به داخل نمونه تزریق گردید. یک گرم نمونه چربی هر دو ساعت برداشت شده و اندیس پراکسید آن مطابق روش AOCS Cd 8-53 (22) سنجیده شد تا زمانی که اندیس پراکسید به بیش از 20 میلی اکی والان در کیلوگرم برسد (19).

8-5-2- پایداری اکسایشی بیودیزل

مطابق تحقیق روی - لیان² (24) برای تعیین پایداری اکسایشی بیودیزلها روش اکسیژن فعال مناسب است. مطابق این گزارش انحراف استاندارد در این روش 0/152 و ضریب تغییرات 2/76% تعیین شده است و با مقایسه با روش رنسیمت³ اختلاف مطلق بین این دو روش 0/12 تا 0/63 ساعت تعیین شد. لذا در تحقیق حاضر از روش اکسیژن فعال برای تعیین پایداری اکسایشی بیودیزل استفاده شد.

6-2- روش تجزیه و تحلیل آماری

جهت انجام آزمون های آماری از تجزیه و تحلیل واریانس در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. مقایسه میانگین به روش دانکن انجام شد. جهت آنالیز آماری از نرم افزار SPSS استفاده گردید. جهت مقایسه بین دو گروه چربیها و بیودیزل حاصل از آنها از آزمون t استفاده شد.

3- نتایج و بحث

در نتیجه انجام عملیات جزء به جزء کردن سه مرحله ای چربی مغز استخوان گاو، مقدار جزء اولیه به دست آمده از چربی مورد آزمایش معادل 75 درصد بود این ترکیب در دمای محیط نیمه جامد بود و رنگ شیری داشت. مقدار جزء دوم، 30% از چربی اولیه بود و در دمای محیط نیمه جامد بود و رنگ شیری داشت. مقدار جزء سوم 7/5 درصد از چربی اولیه مورد آزمایش بود و در دمای محیط حالت مایع و رنگ زرد داشت. عملیات جزء به جزء کردن سبب کاهش میزان اسیدهای چرب اشباع نسبت به چربی اولیه می شود همانطور که لی و همکاران (2002) کاهش نقطه ذوب اجزا حاصل از جزء به جزء کردن توسط حلال در چربی خوک گزارش نموده اند و دلیل این کاهش را نقطه ذوب بالای اسیدهای چرب تشکیل دهنده چربی خوک ذکر نموده اند که با عملیات جزء به جزء کردن میزان اسیدهای چرب غیر اشباع در اجزاء حاصله به طور قابل توجهی افزایش می یابد (18).

3-1- ترکیب اسیدهای چرب چربی مغز استخوان گاو

مطابق آزمون کروماتوگرافی گازی، چربی مغز استخوان گاو حاوی 41/32 درصد اسید اولئیک، 21/68 درصد اسید پالمیتیک و 13/21 درصد اسید استئاریک است. ترکیب اسیدهای چرب تشکیل دهنده چربی مغز استخوان گاو در جدول 1 نشان داده شده است.

3-2- بررسی ویژگیهای مختلف چربی مغز استخوان گاو و اجزاء آن

نقطه ذوب، وزن مخصوص و دانسیته چربی مغز استخوان با جزء به جزء کردن کاهش می یابد (بخصوص در مورد جزء دوم و سوم). البته بین وزن مخصوص و نقطه ذوب جزء اول و چربی اولیه تفاوت معنی دار وجود ندارد ($p < 1\%$). (جدول 2). مطابق تحقیق گرامپونه⁴ (1982) جزء به جزء کردن سبب تفاوت قابل توجه در نقطه ذوب در چربی پیه گاو و اجزاء حاصل از آن می شود و دلیل آن تغییر در میزان اسیدهای چرب اشباع و غیر اشباع در اجزاء حاصله ذکر شده است (13). ویسکوزیته سینماتیک با جزء به جزء کردن به شدت کاهش یافت.

¹ - AOM

² - Rui-lian

³ - Rancimat

⁴ - Grompone

جدول 1- ترکیب اسیدهای چرب (درصد وزنی) مغز استخوان گاو

اسید چرب	درصد وزنی	اسید چرب	درصد وزنی
اسید لوریک	0/1267	اسید اولئیک	41/3217
اسید میرستیک	2/3834	اسید آلانیدیک	3/7212
اسید پالمیتیک	21/6859	اسید لینولئیک	2/8027
اسید استئاریک	13/2188	اسید آراشیدیک	0/1843

جدول 2- ویژگیهای مختلف چربی مغز استخوان گاو و اجزاء آن

تیمار	نقطه ذوب (°C)	وزن مخصوص (g/ml)	دانسیتته در 15°C (kg/m ³)
ربی مغز استخوان گاو	24/66 ^a	0/935 ^a	945/38 ^a
جزء اول	24/33 ^a	0/933 ^b	939/81 ^a
جزء دوم	17/66 ^b	0/92 ^c	918/14 ^b
جزء سوم	12/66 ^c	0/91 ^d	917 ^b

(اعداد با حروف یکسان دارای تفاوت معنی داری در سطح $p < 1\%$ نیستند)

جدول 3- ویژگیهای بیودیزل چربی مغز استخوان و اجزاء آن

بیودیزل	پایداری اکسایشی (ساعت)	وزن مخصوص (گرم در میلی لیتر)	دانسیتته 15°C (کیلوگرم در متر مکعب)	نقطه ابری شدن (°C)
چربی مغز استخوان گاو	3/35 ^a	0/922 ^a	926/61 ^a	25/33 ^a
جزء اول	3/31 ^a	0/919 ^{ab}	921/84 ^b	25 ^a
جزء دوم	2/9 ^b	0/916 ^b	914/72 ^c	15/16 ^b
جزء سوم	2/56 ^c	0/883 ^c	908/7 ^d	10 ^c

(اعداد با حروف یکسان دارای تفاوت معنی داری در سطح $p < 0.01$ نیستند)

3-4- بررسی اثر ترانس استریفیکاسیون بر ویژگیهای چربی مغز استخوان گاو و اجزاء آن

با انجام آزمون t، مشخص شد ترانس استریفیکاسیون سبب تغییر در میزان ویسکوزیته، دانسیته و وزن مخصوص چربی و بیودیزل حاصل از اجزاء مختلف آن شده است. واریانس در دو جامعه با هم مقایسه گردید و پس از محاسبه میزان F مورد نظر با درجه آزادی 22، مشخص گردید اختلاف معنی دار بین دو جامعه در صفات ویسکوزیته، دانسیته و وزن مخصوص در سطح آماری 1 درصد وجود دارد. این تغییرات با تحقیقات دیگر مطابقت دارد از جمله لانگ²(2001) نشان داد ویژگیهای روغنهای مختلف از جمله روغن بذرك، کانولا، آفتابگردان و کلزا از نظر دانسیته، وزن مخصوص و نقطه ابری شدن با ترانس استریفیکاسیون کاهش می یابد(16).

4- نتیجه گیری

چربی مغز استخوان گاو، چربی اشباعی است و در صورت تهیه بیودیزل از این منبع چربی بیشتر ویژگیهای استاندارد بیودیزل تأمین نمی گردد. با جزء به جزء کردن این منبع چربی، بیودیزل حاصله از آن از نظر ویژگیهای دانسیته و وزن مخصوص کاهش یافته در نتیجه به ویژگیهای استاندارد بیودیزل نزدیک تر می شوند. همچنین جزء به جزء کردن سبب مطابقت میزان ویسکوزیته سینماتیک در بیودیزل حاصل از اجزاء چربی اولیه با استاندارد ASTM D6751 می گردد. گرچه، جزء به جزء کردن سبب کاهش پایداری اکسایشی اجزاء آن می شود.

5- منابع

- 1- سیمان پور، م. قراچورلو، م. فهیم دانش، م. 1391. مجله علوم غذایی و تغذیه. سال نهم، شماره 3، 21-30.
- 2- ASTM D1298-99. 2005. Standard test method for density, relative density (specific gravity), or API gravity of crude petroleum and Liquid Products by hydrometer method.
- 3- ASTM D2500-11. 2009. Standard test method for cloud point of petroleum products.
- 4- ASTM D445-11a. 2011. Standard test method for kinematic viscosity of transparent and opaque liquids (and calculation of dynamic viscosity).

میانگین پایداری اکسایشی، وزن مخصوص، دانسیته و نقطه ابری شدن چربی مغز استخوان گاو و اجزاء حاصل از چربی در جدول 3 آورده شده و مقایسات بین آنها در سطح $p < 1\%$ انجام شده است. نتایج نشان می دهد اختلافات بین تیمارها برای صفت پایداری اکسایشی بین بیودیزل چربی مغز استخوان گاو و اجزاء دوم و سوم معنی دار بوده است. ولی تفاوت معنی داری در این صفت بین بیودیزل چربی مغز استخوان و بیودیزل جزء اول وجود ندارد. همچنین در صفات وزن مخصوص و نقطه ابری شدن نیز اختلاف معنی داری بین بیودیزل چربی مغز استخوان گاو و بیودیزل اجزاء مختلف آن وجود دارد. در تمام این صفات بیشترین مقدار مربوط به بیودیزل چربی مغز استخوان و کمترین مقدار مربوط به بیودیزل حاصل از جزء سوم این نوع چربی است. لازم به ذکر است در صفات وزن مخصوص و نقطه ابری شدن، تفاوت معنی داری بین بیودیزل چربی مغز استخوان و بیودیزل حاصل از جزء اول این نوع چربی مشاهده نشد. مطابق این تحقیق جز به جز کردن سبب بهبود خصوصیات نقطه ابری شدن، دانسیته، وزن مخصوص و ویسکوزیته سینماتیک بیودیزل حاصل از اجزاء نسبت به بیودیزل چربی اولیه می گردد که این نتیجه در سایر تحقیقات نیز حاصل شده است از جمله مطابق بررسی بنیدس (2008) نقطه ابری شدن بیودیزل حاصل از جزء به جزء کردن روغن پالم، 6 درجه سانتی گراد نسبت به روغن اولیه کاهش می یابد. علت این پدیده افزایش میزان متیل استرهای غیر اشباع و کاهش میزان متیل استرهای اسید پالمیتیک گزارش شده است(6). استفاده از روش جزء به جزء کردن توسط دترجنت سدیم دو دیسیل سولفات به منظور بهبود خصوصیات جریان سرد¹ بیودیزل حاصل از روغن های ضایعاتی پخت توسط ونگ (2011) بررسی و بهبود خصوصیات جریان سرد بیودیزل گزارش شده است. از جمله خصوصیات جریان سرد بیودیزل شامل نقطه ابری شدن، نقطه ریزش بیودیزل است(26). ویسکوزیته سینماتیک بیودیزل چربی اولیه و اجزاء حاصله تفاوت معنی داری دارند. ویسکوزیته سینماتیک چربی اولیه $7773 \text{ mm}^2/\text{s}$ است که بیش از دامنه استاندارد تعیین شده می باشد ولی در اجزاء چربی همگی میزان ویسکوزیته سینماتیک در دامنه استاندارد قرار دارد(شکل 2).

² - Lang

¹ - Cold Flow Properties

- fractionated lard and restaurant grease. *Journal of the American Oil Chemists' Society*.79(2):191-195.
- 18- Liang, C., Schwarzer, K., 1998. Comparison of four accelerated stability methods for lard and tallow with and without antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists' Society*.75(10): 1441-1443.
- 19- Merkle JA, Larick DK .1993. Triglyceride content of supercritical carbon dioxide extracted fractions of beef fat. *Journal of Food Science* . 58(6):1237-1240.
- 20- Merkle JA, Larick DK. Fatty acid content of supercritical carbon dioxide extracted fractions of beef fat. *Journal of Food Science*. 60(5): 959-962.
- 21- Official methods and recommended practices of American oil chemists' Society, edited by David Firestone, Vol. 1., American Oil Chemists' Society, Champaign, 1980, Method Cd 8-53.
- 22- Official methods and recommended practices of the American oil chemists' society, edited by David Firestone, Vol. 1. American Oil Chemists' Society, Champaign, 1980, Method Cd 12-57.
- 23- Rui-lian, L. 2010. Determination of oxidation stability for biodiesel. Available at: en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-FJHG201006068.htm
- 24- Singh, A., B. He, J. Thompson, and J. Van Gerpen. 2006. Process optimization of biodiesel production using alkaline catalysts. *Applied Engineering in Agriculture* 22: 597-600.
- 25- Wang, Y., Ma, S., Zhao, M., Kuang, L., Nie, J., Riley, W.W. 2011. Improving the cold flow properties of biodiesel from waste cooking oil by surfactants and detergent fractionation. *Fuel* : 90(3): 1036-1040.
- 5- ASTM D6751 - 11b.2011. Standard specification for biodiesel fuel blend stock (B100) for middle distillate fuels.
- 6- Benavides, A.Y., Benjumea, P.N., Agudelo, J.R.2008. Crystallization fractionation of palm oil biodiesel as an alternative for improving its cold flow properties. Available at: www.redalyc.org/pdf/430/43004302.pdf
- 7- Bockicsh, M. 1998. Fats and Oils. Handbook. AOCS Press, Champaign Illinois ,USA, pp. 446.
- 8- Cynthia, L., Defouw,C., Zabik, M., Gray, J.I.1981. Fractionated edible beef tallow as a deep-fat frying medium for french fries. *Journal of Food Science*. 46(2): 452-456.
- 9- Dunn, R. O. (1998). Effect of winterization on fuel properties of methyl soyate, proceedings of the commercialization of biodiesel: Producing a quality fuel, pp. 164-186, Boise (ID), July 1997, Peterson, C. L. (Ed.), University of Idaho, Moscow (ID). Pp: 164-186.
- 10- Enweremadu CC, Alamu O. J. 2010. Development and characterization of biodiesel from Nigerian shea butter (*Vitellaria paradoxa*). *International Agro Physics*. 24(1): 29-34.
- 11- Firestone, D. 1990. Official methods of analysis of the association of official analytical chemists, 15th ed. Arlington. USA
- 12- Firestone, D. 1994. Official methods and recommended practices of the american oil chemist's society, 4th ed. AOCS Press,Champaign, IL.
- 13- Grompone, M.A. 1989. Physicochemical properties of fractionated beef Tallow. *Journal of the American Oil Chemists Society* .66(2): 235-255.
- 14- Hamm, W. & Hamilton, R. J. 2000. Edible oil processing. Sheffield Academic Press, UK, pp. 156,163,164.
- 15- Krawczyk, T. 1996. Biodiesel. *INFORM* 7: 801-822.
- 15- Lang, X., A.K. Dalai, N.N. Bakhshi, M.J. Reaney, and P.B. Hertz. 2001. Preparation and characterization of bio- diesels from various bio-oils. *Bioresource Technology*. 80: 53-62.
- 16- Lee , K.T., Foglia, T.A. 2000. Fractionation of chicken fat triacylglycerols: synthesis of structured lipids with immobilized lipases. *Journal of Food Science*. 65(5): 826-831.
- 17- Lee,K-T., Foglia, T.A., Chang, K-S. 2002. Production of alkyl ester as biodiesel from