

دراسة بعض الخصائص الفيزيائية والكيميائية للديزل الحيوي من طحلب *S. fluviatilis*

فردوس مصطفى كورجك¹ سيراؤوس يوسف محمد²

^{1*}طالبة دكتوراه، جامعة دمشق، علم الحياة النباتية، frdous.korjak@damascusuniversity.edu.sy

² أستاذ مساعد، جامعة دمشق، ميكروبيولوجيا تطبيقية،
seraous.mohamad@damascusuniversity.edu.sy

الملخص

جُمعت الكتلة الحيوية لطحلب *S. fluviatilis* من غوطة دمشق في محافظة ريف دمشق، وأجري الاستخلاص بمذيب الهكسان وأجريت الأسترة الحمضية والأسترة التبادلية للحصول على الديزل الحيوي ودرست بعض الخصائص الفيزيائية والكيميائية للديزل الحيوي، إذ بلغت قيمة الحموضة 0.13 ± 0.914 غ⁻¹ KOH، قيمة التصبن 8.3 ± 176.35 غ⁻¹ KOH. قيمة الأستر 174.106 غ⁻¹ KOH وقيمة اليود 0.97 ± 69.31 غ⁻¹ I₂. 100 غ⁻¹، بينت نتائج الكراموتوغرافيا الغازية GC-MS أن خلاصة النوع *S. fluviatilis* تتكون من الحموض الدسمة الآتية: حمض Tetradecanoic (Myristic)، حمض النخيل Hexadecanoic (Palmitic)، حمض Heptadecenoic (Margaric)، حمض الزيت cis-9-Octadecenoic (Oleic)، حمض Eicosenoic (Arachidic)، حمض Docosanoic (Behenic) وحمض Tetracosanoic (Lignoceric)، إذ كان تركيز حمض النخيل 34.28% وهو الأعلى من بين الحموض الأخرى، يليه حمض ألفا اللينوليك 23.03% وحمض اللينوليك 16.37% ومن ثم حمض الزيت 12.29%.

تاريخ الإيداع: 2024/05/08

تاريخ القبول: 2024/07/01



حقوق النشر: جامعة دمشق –

سورية، يحتفظ المؤلفون بحقوق

النشر بموجب الترخيص

CC BY-NC-SA 04

الكلمات المفتاحية: GC-MS – الأسترة التبادلية – الأسترة الحمضية. *Spirogyra*

Study of some physical and chemical properties of biodiesel from *S. fluviatilis*

Frdous Mustafa Korjak¹ Serarous Yosef Mohammad²

¹* PhD Student, University of Damascus, Plant Biology
,frdous.korjak@damascusuniversity.edu.sy

² Assistant Professor, Damascus University, Applied Microbiology,
seraooos.mohamad@damascusuniversity.edu.sy

Abstract

The biomass of *S. fluviatilis* was collected from Ghouta Damascus in the Damascus countryside governorate. Extraction was carried out with hexane solvent, acid esterification and transesterification were carried out to obtain biodiesel. Some physical and chemical properties of biodiesel were studied, as the acidity value reached 0.914 ± 0.13 mg KOH. g⁻¹, saponification value 176.35 ± 8.3 mg KOH. g⁻¹, ester value 174.106 mg KOH. g⁻¹ and iodine value 69.31 ± 0.97 g I₂. 100 g⁻¹, the results of gas chromatography GC-MS showed that the extract of *S. fluviatilis* consists of the following fatty acids: Tetradecanoic acid (Myristic), Hexadecanoic acid (Palmitic), Heptadecenoic acid (Margaric), cis-9-Octadecenoic acid (Oleic acid), Eicosenoic (Arachidic) acid, Docosanoic (Behenic) acid and Tetracosanoic (Lignoceric) acid, as the concentration of palmitic acid was 34.28%, which is the highest among other acids, followed by alpha-linoleic acid 23.03%, linoleic acid 16.37%, and then oleic acid 12.29%.

Keywords: *Spirogyra* – GC-MS - Transesterification –Esterification.

Received: 08/05/2024
Accepted: 01/07/2024



Copyright: Damascus University- Syria, The authors retain the copyright under a CC BY- NC-SA

المقدمة

تعد الطحالب الدقيقة مادة خام للكتلة الحيوية من الجيل الثالث لإنتاج الأيثانول الحيوي والديزل الحيوي لأنها تمتاز بإنتاجية عالية، دورة نمو قصيرة وانخفاض مساحة الأراضي المستعملة وتحملها للظروف البيئية القاسية (Liu et al., 2017)، كما يشمل وقود الديزل الحيوي للطحالب إمكانية معالجة مياه الصرف الصحي وعزل ثنائي أكسيد الكربون الحيوي، وإنتاج مستقلبات ثانوية فعالة حيوياً تستعمل في تركيب الدواء، المواد الغذائية ومستحضرات التجميل (Anto et al., 2020., Chamkalani et al., 2020., Khan et al., 2018).

يمكن للطحالب إنتاج كميات كبيرة من الدهون التي تشكل أساس إنتاج وقود الديزل الحيوي (Alaswad et al., 2015)، تنتج الطحالب بشكل أساسي دهوناً غير قطبية مثل ثلاثي الغلسرين/الدهون الثلاثية والدهون القطبية مثل الدهون الفوسفاتية، تعتبر هذه الدهون مصادر جيدة لإنتاج الوقود الحيوي؛ يمكن تحويل أشكال الدهون غير القطبية مثل الغلسرين الأحادي والثنائي وثلاثي الغلسرين والحموض الدهنية الحرة إلى وقود الديزل الحيوي أي إستيرات ميثيل الحموض الدهنية من خلال عملية الأسترة (Ranjbar et al., 2015)، حيث يساهم إنتاج الدهون بنسبة 75% من إجمالي تكاليف وقود الديزل الحيوي (Canakci and Sanli, 2008)، لذا من المحتمل الحصول على وقود مستدام من الطحالب لاستبدال الوقود المشتق من النفط (Saad et al., 2019).

وينتمي طحلب *Spirogyra* إلى صف الطحالب الازدواجية *Zygnematophyceae*، رتبة *Zygnematales*، فصيلة *Zygnemataceae* وهو من الطحالب الخضراء الخيطية *Filamentous*، يكون بشكل خيوط خضراء غير متفرعة مقسمة إلى خلايا تحتوي صناعات خضراء *Chloroplasts* حلزونية وهي الصفة الأساسية للتسمية (Wongsawad and Peerapornpisal, 2015).

الأهمية والأهداف:

يعد وقود الديزل الحيوي بديلاً مطلوباً للوقود الأحفوري، ويتم إنتاجه عن طريق أسترة الدهون التي يتم الحصول عليها من الطحالب لتكوين إستيرات الميثيل للحموض الدهنية طويلة السلسلة، يعتمد طول السلسلة على مصدر الدهون، تشكل الزيوت المستخرجة من النخيل وفول الصويا وزيت الكانولا وعباد الشمس وبنور اللفت وغيرها مصادر وقود الديزل الحيوي وهي أعلى من الوقود الأحفوري (Demirbas and Demirbas, 2011)، كما أن هذه المصادر تؤدي إلى صراع الوقود مقابل الغذاء، وتحتاج لمساحات كبيرة للأراضي الصالحة للزراعة وتضعف الاقتصاد، وهذا يجعل الطحالب أحد المصادر الأكثر جدوى حيث ينتج عنه انبعاثات أقل لثنائي أكسيد الكربون، أكاسيد النيتروجين والغازات الدفيئة الأخرى (Scott et al., 2010)، وبذلك فإن البحث يهدف إلى:

1. استخلاص الزيت من طحلب *Spirogyra fluviatilis* وتحويله إلى الديزل الحيوي.
2. دراسة بعض الخصائص الفيزيائية والكيميائية للديزل الحيوي من طحلب *Spirogyra fluviatilis*.
3. الكشف عن الحموض الدسمة في زيت طحلب *Spirogyra fluviatilis* بتقانة GC-MS.

الدراسة المرجعية:

أجريت العديد من الدراسات لمعرفة إمكانية استعمال كل من الطحالب الدقيقة والطحالب الكبيرة لإنتاج الدهون وتحويلها إلى الديزل الحيوي ومنها دراسة Hossain وآخرون عام (2008) التي قارنت كمية الديزل الحيوي من طحلب *Oedogonium sp.* وطحلب *Spirogyra sp.*، كما بينت الدراسة الخصائص الفيزيائية للديزل وكمية الكتلة الحيوية المستخرجة وكذلك كمية الأصبغة والجليسرين الناتج (Hossain et al., 2008)، ودراسة مماثلة على طحلب *Cladophora fracta* وطحلب *Chlorella protothecoides* إذ بينت الدراسة أن الطحالب الدقيقة أفضل إنتاجاً للوقود الحيوي وذلك لنموها السريع وكمية الكتلة الحيوية الناتجة (Demirbaş, 2008). كما بينت دراسة لـ Haq وآخرون عام (2014) تم فيها استخلاص زيوت الطحالب من الكتلة الحيوية المزروعة لأنواع *Cladophora sp.*، *Spirogyra sp.* و *Oedogonium sp.* ومن ثم الحصول على الحموض الدهنية بوساطة الليباز، تم الحصول على الحد الأقصى لتحويلات وقود الديزل الحيوي من *Cladophora* (75.0%)، *Spirogyra* (87.5%) من *Spirogyra* و(92.0%) من *Oedogonium* (Haq et al., 2014).

وحدد Sohail وآخرون في دراسة عام (2020) الخصائص الفيزيائية والكيميائية؛ قيمة الحموضة، الكثافة، قيمة التصبن، قيمة اليود والزوجة للزيت المستخلص من النوع *S. crassa*، أثبتت نتائج الدراسة أن زيت *Spirogyra* مناسب لإنتاج وقود الديزل الحيوي، كما بينت الدراسة وجود عدة حموض دهنية كحمض الزيت (30.5%)، حمض الغار (29.9%)، الميريستيك (17.0%) وحمض النخيل (14.2%)، وأجريت عملية تحويل إلى إستيرات ميثيل الحموض الدهنية باستعمال المحفزات الأساسية (KOH) والحمضية (HCl)، كان العائد باستعمال المحفزات الحمضية (54.6%) و(99.9%) باستعمال (KOH) (Sohail et al., 2020).

المواد والطرائق:

1. جمع العينة واستخلاص الزيت:

جُمعت العينات في شهري تموز وأب من عام 2022 حيث أخذ طحلب *S. fluviatile* من أحواض مفتوحة خاصة بالتنمية في غوطة دمشق - ريف دمشق، غسلت الأنواع بالماء المقطر لإزالة الملوثات الكبيرة والمجهرية.

جُففت العينة ضمن فرن عند درجة حرارة 50 م° في مختبر الدراسات العليا في قسم علم الحياة النباتية، كلية العلوم، جامعة دمشق ثم طُحنت إلى مسحوق ناعم وتم الحصول على كمية 1 كغ مسحوق جاف. وضع 10 غ جاف من مسحوق الطحلب في جهاز سوكسيليه في كل مرة من الاستخلاص، واستخلصت الحموض الدسمة بمقدار 150 مل من مذيب نظامي الهكسان في درجة حرارة 60 م°، مدة 6 ساعات (Agarry et al., 2013). رُشَّح المستخلص للتخلص من ذرات الغبار الدقيقة الموجودة فيه بواسطة قمع بوخنر، ومرشحة 0.2 مايكرو متر. وضع المستخلص الزيتي في المبخر الدوار في الدرجة 60 - 63 م° وتحت الضغط ليمت تبخير المذيب. نُقل الزيت إلى وعاء زجاجي (25 مل)، وضع في الحاضنة الهزازة في الدرجة 60 م° مع التحريك حتى ثبات الوزن نسبياً. حُفظ الزيت في البراد بدرجة حرارة 4 م°، وأضيف القليل من المذيب إلى الوعاء الزجاجي ليمنع أكسدة الزيت نسبياً. ثم وضع ضمن أوعية زجاجية ذات غطاء محكمة الإغلاق لحين الاستعمال (Christie, 1982). وحُسب مردود الاستخلاص من العلاقة:

المردود = وزن الزيت الناتج من الاستخلاص \times 100 / وزن العينة المستخلص منها.

2. تعيين الخصائص الفيزيائية والكيميائية للزيت الثابت لـ *S. fluviatilis*

جرى قياس الخصائص الفيزيائية والكيميائية في مختبرات قسم الكيمياء - كلية العلوم - جامعة دمشق.

2.1. الخصائص الفيزيائية

الكتلة الحجمية (الكثافة Density)، جرى القياس بواسطة ماصة ميلي مترية؛ بوزنها فارغاً، ثم سحب حجم معين من الزيت، ثم الانتظار حتى تتوازن الماصة مع الزيت حرارياً لتصل لدرجة حرارة 15 م°، ثم حساب وزن حجم الزيت الموجود ضمنها (Andriyevsky et al., 2010)، طُرحت قيمة وزن الماصة فارغة من وزنها بعد أخذ الزيت.

اللزوجة Viscosity، قيست اللزوجة الحركية بواسطة جهاز مقياس اللزوجة الزجاجي، ضمن منظم حراري لموازنة الحرارة خلال عملية القياس، وُضع الجهاز فترة من الزمن ضمن المنظم على نحو شاقولي قبل القياس ليتوازن حرارياً في الدرجة 50 م°، ثم وُضع الزيت ضمنه والانتظار فترة قبل القياس كي يتوازن حرارياً، ثم قيس الزمن اللازم لحركة الزيت ضمن المجال المحدد من الجهاز وحُسبت اللزوجة من القانون:

اللزوجة = الزمن (ثانية) \times 0.008 (ثابت الجهاز) (DIN-51562-1 1999).

2.2. الخصائص الكيميائية

قيمة الحموضة Acid Value، يضاف إلى 0.025 غ من العينة المدروسة 3 مل إتانول نقي، وتُضاف عدة قطرات من مشعر الفينول فتالين، يعاير المحلول بهيدروكسيد البوتاسيوم 0.01 N (المقيس بحمض الحماض 0.01 N)، حتى الوصول إلى نقطة التعادل، يجرى اختبار عينة الشاهد في الشروط نفسها (بدون العينة المدروسة)، تنتهي المعايرة عند انقلاب اللون إلى اللون الأحمر أو البني المحمر (وذلك بسبب أصبغة اليخضور) وثباته لمدة 10 ثوان (IUPAC, 1992)، وتحسب من القانون:

$$AV = (V_1 - V_2) \times N \times 56.1 / W$$

إذ إن V_1 : حجم هيدروكسيد البوتاسيوم المستعمل في معايرة العينة، V_2 : حجم هيدروكسيد البوتاسيوم المستعمل في معايرة الشاهد، N : نظامية هيدروكسيد البوتاسيوم، W : وزن العينة المدروسة وتحسب النسبة المئوية للحموض الحرة نسبة للوزن الجزيئي للحمض الأكثر وجوداً (حمض الزيت Oleic Acid) من القانون:

$$FFA\% = V \times N \times 28.2 / W$$

V حجم هيدروكسيد البوتاسيوم المستعمل في المعايرة، N : نظامية هيدروكسيد البوتاسيوم، W : وزن العينة المدروسة. قيمة التصبن **Saponification Value** يضاف 20 مل هيدروكسيد البوتاسيوم الغولي 0.5 N إلى 0.1 غ من العينة المدروسة، يربط مكثف مرتد إلى دورق التفاعل، يغلي المزيج مدة ساعة حتى يحدث التصبن، يبرد المزيج، تُضاف عدة نقط من الفينول فتالئين ويعاير بوساطة حمض كلور الماء المقيس 0.5N، جرى اختبار عينة الشاهد في الشروط نفسها (بدون العينة المدروسة)، تنتهي المعايرة عند انقلاب اللون من البني المحمر إلى الأخضر الداكن (وذلك بسبب أصبغة اليخضور) وثباته مدة 10 ثوان (IUPAC 1992)، وتحسب من القانون:

$$SV = (V_1 - V_2) \times N \times 56.1 / W$$

حيث V_1 : حجم حمض كلور الماء المستعمل في معايرة الشاهد، V_2 : حجم حمض كلور الماء المستعمل في معايرة العينة، N : نظامية حمض كلور الماء، W : وزن العينة المدروسة.

ومن هنا يحسب التصبن المكافئ Saponification Equivalent من القانون: $SE = 56108/SV$

قيمة الإستر **Ester Value** حُسبت من ناتج طرح قيمة الحموضة من قيمة التصبن، وتعبّر عن كمية مليغرامات KOH اللازمة لتتفاعل مع الغليسرول بعد تصبن 1 غ من الدهون، وتدل على نسبة الحموض المؤسّرة مع الغليسرول، وتحسب من القانون: $EV = SV - AV$ (IUPAC, 1992)، حُسب وزن الغليسرول الناتج عن عملية الأسترة التبادلية بعد تبخير الميثانول المنحل فيه.

قيمة اليود **Iodine Value** تحسب قيمة اليود عادةً بطريقة ويجس $Wij's$ ، يُحل 0.1 غ من الزيت بوساطة 10 مل من رباعي كلور الكربون CCl_4 في أرلينة سعة 250 مل ويضاف إليها 10 مل من محلول ويجس (محلول ICI في حمض الخل الثلجي)، تُغلق الأرلينة بالسدادة وتترك في الظلام مدة 30 دقيقة، يضاف لها بعد ذلك 15 مل من يود البوتاسيوم (10%) و100 مل ماء مقطر، تُمزج جيداً وتعاير بثيوكبريتات الصوديوم (0.1N)، يجري اختبار عينة الشاهد في الشروط نفسها (بدون العينة المدروسة)، تنتهي المعايرة عند انقلاب اللون من البني القاتم (بدلاً من الأحمر القاتم لوجود أصبغة اليخضور) إلى اللون الأخضر وثباته مدة 10 ثوان (IUPAC, 1992)، وتحسب من القانون:

$$IV = (V_2 - V_1) \times N \times 126.9 \times 100 / W \times 1000$$

حيث V_1 : حجم ثيو كبريتات الصوديوم المستعمل في معايرة العينة، V_2 : حجم ثيو كبريتات الصوديوم المستعمل في معايرة الشاهد، N : نظامية ثيو كبريتات الصوديوم، 126.9: الوزن الذري لليود، W : وزن العينة المدروسة.

4. تحويل الزيوت إلى الديزل الحيوي

أُجريت أسترة الدهون بعد حساب نسبة الحموض الدسمة الحرة FFA على مرحلتين:

4.1. الأسترة الحمضية

أُجريت الأسترة الحمضية التي تعد ك معالجة أولية للزيت Pretreatment وفق النسبة: كل 1مول من الحموض الدسمة الحرة FFA أُضيف إليها 40 مول من الميثانول النقي وحمض الكبريت 98% بنسبة 10% من وزن الحموض الدسمة الحرة الموجودة في الزيت، تعادل هذه النسبة 282 غ من حمض الزيت (الأكثر وجوداً) و1280 غ ميثانول، و28.2 غ حمض الكبريت، تجدر الإشارة إلى أن طريقة الحساب تكون بالطريقة الآتية:

1- كل 100 غ من زيت مسحوق الطحالب تحتوي 20.2 غ حمض حر (حسب FFA%).

2- كل 7 غ من الزيت الداخل في التفاعل يحتوي على 1.417 غ حمض حر.

3- كل 282 غ حمض حر يحتاج 1280 غ ميثانول (النسبة المولية للتفاعل 1:40).

4- كل 1.417 غ حمض حر يحتاج 6.43 غ ميثانول + 0.141 غ حمض الكبريت.

5- تحول النسبة الوزنية للميثانول وحمض الكبريت إلى نسبة حجمية لتسهيل الإضافة إلى الزيت بتقسيم الوزن على الكثافة التي تكون للميثانول 0.791 غ. مل⁻¹، ولحمض الكبريت 1.83 غ. مل⁻¹.

وضع الزيت ومحلول (الميثانول-حمض الكبريت)، كلاً على حدة، في زجاجية (25 مل) محكمة الإغلاق، وسُخن كل منهما بشكل أولي، ثم أُضيف المحلول إلى الزيت في الزجاجية المغلقة وأجري التفاعل في درجة الحرارة 60 م°، والزمن 1 ساعة مع التحريك ضمن الحاضنة الهزازة، وبعد انتهاء التفاعل، غُسل الزيت بالماء والهكسان لتسهيل فصل الدهون المؤسّرة عن بقية المكونات، نُقل المزيج وسُحب الطور العلوي (الماء والميثانول الزائد عن التفاعل وحمض الكبريت) وتم التخلص منه، وأُخذ الطور السفلي (المذيب اللاقطبي والدهون المنحلة فيه) وبُخر منه المذيب حتى ثبات الوزن ثم أُجري عليه تفاعل الأسترة التبادلية، حُسبت نسبة FFA% بعد انتهاء الأسترة الحمضية للتأكد من انخفاض قيمتها إلى الحد المطلوب (Chai *et al.*, 2014). حُسب مردود الأسترة من العلاقة الآتية:

$$\text{المردود} = (\text{وزن الزيت الناتج عن الأسترة} / \text{وزن الزيت قبل الأسترة}) \times 100$$

4. 2. الأسترة التبادلية

أُجريت الأسترة التبادلية وفق النسبة: كل 1 مول من الزيت أُضيف إليه 12 مول من الميثانول و 1 غ من هيدروكسيد الصوديوم، وتعادل هذه النسبة 885 غ من الزيت (الجليسيريدات الثلاثية المؤسّرة مع حمض الزيت الأكثر وجوداً) و 384 غ ميثانول (485.46 مل)، و 1 غ هيدروكسيد الصوديوم، وضع الزيت ومحلول (الميثانول-هيدروكسيد الصوديوم)، كلاً على حدة، في زجاجية (25 مل) محكمة الإغلاق، سُخن كل منهما بشكل أولي، ثم أُضيف المحلول إلى الزيت في الزجاجية المغلقة وأجري التفاعل في الدرجة 60 م°، مدة 1 ساعة، مع التحريك ضمن الحاضنة الهزازة (Radha and Manikandan, 2011).

تُخرج الزجاجيات من الحاضنة وتوضع مدة ساعة في حرارة الغرفة بدون تحريك لكي يُفصل الديزل الحيوي عن الغليسرول، يسحب الديزل الحيوي لتنتقيته (كعملية الغسيل Washing) بعملية الفصل العضوي من الغليسرول وهيدروكسيد الصوديوم والميثانول والصابون، بإضافة 1 مل محلول كلوريد الصوديوم المشبع، و 0.1 مل حمض كلور الماء 32%، و 1 مل نظامي الهكسان إلى كل 3 مل من الديزل الحيوي، التحريك مدة 3 دقائق، والتثقيل بسرعة 5000 دورة/دقيقة ومدة 5 دقائق، يصبح الطور العضوي (المثيل استر ونظامي الهكسان) في الأعلى، والطور المائي في الأسفل، يُسحب الطور العضوي بوساطة ماصة مليمتريه، ثم تكرر العملية ثلاث مرات للمزيج الناتج نفسه (مع الأخذ في الحسبان النواتج المتبقية في كل أنبوب؛ وللحفاظ على المردود يُضاف 2 مل من نظامي الهكسان إلى الأنبوب المأخوذ منه الطور العضوي لضمان عدم بقاء أجزاء من الديزل الحيوي ونقلها إلى الأنبوب التابع للمرة الآتية من الفصل العضوي)، ويجمع الطور العضوي من كل المراحل في الوعاء الزجاجي نفسه، يُبخر نظامي الهكسان حرارياً لتجفيف الديزل الناتج وبذلك يُستحصل على المثيل استر النقي (Christie, 2009)، مع العلم أنه يمكن غسل الديزل الحيوي فقط بالماء الدافئ. تجري تنقية الغليسرول بإضافة حمض الفسفور لتعديل القلوية الناتجة عن هيدروكسيد الصوديوم، وبُخر الميثانول والماء بوساطة فرن حراري. حسب المردود من العلاقة الآتية:

$$\text{المردود} = (\text{وزن الزيت الناتج عن الأسترة} / \text{وزن الزيت قبل الأسترة}) \times 100$$

5. تعيين الخصائص الفيزيائية والكيميائية للديزل الحيوي

حسبت الكثافة واللزوجة الحركية وقيمة الحموضة بالطريقة نفسها التي حسبت للزيت، درجة الاحتراق (المعادلة 1) (Demirbas, 1998)، ورقم سيتان (المعادلة 2) (Bose, 2009)، وقورنت النتائج بالمعايير العالمية الأمريكية (American Society for Testing and Materials ASTM D6751) والأوروبية (European Committee for Standardization (EN 14214) للديزل الحيوي. المعادلة 1: درجة الاحتراق (ميغا جول. كغ⁻¹) = 49.34 - 0.041 × قيمة التصبن + 0.015 × قيمة اليود.

المعادلة 2: رقم سيتان = 46.3 + (5458 ÷ قيمة التصين) + 0.225 × قيمة اليود.

6. تحديد الحموض الدسمة في خلاصة الهكسان باستعمال تقانة GC-MS

حددت الحموض الدسمة في خلاصة الهكسان للنوع *S. fluviatilis* باستعمال تقانة GC-MS وفق الآتي:

حقن 1 ميكرو ليتر من العينة في جهاز الكروموتوغرافيا الغازية المتصلة بمطياف الكتلة طراز Agilent Technologies 7890A GC system وفق المواصفات الآتية:

العمود: Capillary HP-5ms (5%- Phenyl)-methylpolysiloxane (30 m × 250 μm × 0.25 μm)

• الغاز الحامل: الهيليوم.

• سرعة التدفق: 1.2 mL/min.

• حجم الحقنة: 1 μL.

• نسبة التجزئة (Split ratio): 20:1.

• درجة حرارة منبع الأيونات ذي الطاقة 70e/v: 230 °م.

وفق البرنامج الحراري الآتي: ثبتت درجة حرارة الفرن عند 100 °م لمدة دقيقة، ثم رفعت درجة الحرارة على عدة مراحل وفق الآتي:

رفعت درجة الحرارة إلى درجة الحرارة 160 °م بمعدل 40 درجة. دقيقة⁻¹، ثم رفعت درجة الحرارة مباشرة إلى 180 °م بمعدل 2.5

درجة. دقيقة⁻¹، ثم رفعت درجة الحرارة مباشرة إلى 185 °م بمعدل 2 درجة. دقيقة⁻¹، ثبتت درجة الحرارة عند الدرجة 185 °م

مدة 8 دقائق، ثم رفعت درجة الحرارة إلى 195 °م بمعدل 5 درجة. دقيقة⁻¹، رفعت درجة الحرارة مباشرة إلى 235 °م بمعدل 10

درجة. دقيقة⁻¹، رفعت درجة الحرارة مباشرة إلى 300 °م بمعدل 20 درجة. دقيقة⁻¹، ثم ثبتت الحرارة عند هذه الدرجة مدة دقيقة

واحدة. وبذلك يكون زمن التحليل الكلي 31.25 دقيقة.

حددت هوية المركبات من خلال مكتبة الجهاز ومقارنتها بالمكتبات المرجعية. تم تحديد القمم وتقدير مساحتها (كل قمة تمثل حمض

دسم)، ثم قُدرت نسبة وجود كل حمض دسم بالنسبة إلى المجموع الكلي للحموض الدسمة.

النتائج والمناقشة

1. مردود الزيت

بلغ مردود الاستخلاص للزيت 52.01 ± 1.17 ملغ. غ⁻¹ ويشكل نسبة 5.2% من الوزن الجاف لدى طحلب *S. fluviatilis*، واتفقت

نتائج دراستنا مع نتائج دراسة Sitthiwong (2019) فقد كانت الدهون 5.51% (Sitthiwong, 2019)، واختلفت مع نتائج دراسة

Tipeen وآخرين (2015) إذ تراوحت نسبة من 14.8% إلى 21.0% لطحلب *Spirogyra sp.* (Tipeen et al., 2015).

تؤثر العوامل البيئية، وخاصة الضوء، درجة الحرارة، نسبة المغذيات ومرحلة النمو على مسار ونشاط التركيب الغذائي الخلوي، وكذلك

على تكوين الخلية (Teoh et al., 2010)، إذ إن لدرجة حرارة النمو تأثير قوي على التغيرات في التركيب الكيميائي الحيوي في

الطحالب فارتفاع درجة حرارة النمو قد يترافق بارتفاع في نسبة الدهون والسكريات وانخفاض في نسبة البروتين، وتختلف استجابة

التغيير في التركيب الكيميائي باختلاف الأنواع والنمط الوراثي لكل نوع (Machu et al., 2015).

2. الخصائص الفيزيائية للزيت

بلغت كثافة Density الزيت 0.904 مل. غ⁻¹ وهي قريبة من نتائج (Kalyani et al., 2023) فقد كانت 0.898 مل. غ⁻¹، ولم

تتفق مع (Konga et al., 2017) فقد كانت 0.864 مل. غ⁻¹، وبلغت اللزوجة Viscosity في الزيت 35.7 مم². ثا⁻¹ وهي مرتفعة

مقارنة مع زيت الطحالب الخضراء الأخرى (Batista et al., 2018) إذ تراوحت بين 3.5 - 5 مم². ثا⁻¹ واختلفت عن نتيجة

(Kalyani et al., 2023) فقد كانت اللزوجة 19.20 مم². ثا⁻¹ في النوع *Spirogyra sp.*، واختلفت عن نتائج (Saeed et al.,

2021) حيث كانت 5.8 مم². ثا⁻¹ في زيت النوع *S. elongate*.

يؤدي الحجم الكبير لجزيئات الدهون الثلاثية الموجودة في الزيوت إلى لزوجة أعلى وكثافة أعلى وتطاير أقل مقارنة بوقود الديزل التقليدي، مما يسبب بعض المشاكل في اشتعال المحرك (Esteban *et al.*, 2012)، ومع ذلك فإن الوقود ذو اللزوجة العالية له تأثير تشحيم أكبر، مما يساهم في إطالة عمر المحرك (Nwafor, 2003).

3. الخصائص الكيميائية للزيت

كانت قيمة الحموضة Acidity Value للزيت (ومنها نسبة الحموض الحرة %FFA) 18.96 ملغ KOH. غ⁻¹ أعلى من قيمة الحموضة لدى زيت الطحالب الخضراء الأخرى والتي تتراوح بين 0.37 – 2.142 ملغ KOH. غ⁻¹ (Aravind *et al.*, 2022)، كانت قيمة الحموضة قريبة نسبياً من نتائج بحث (Sohail *et al.*, 2020) فقد كانت 16.67 ملغ KOH. غ⁻¹ وأعلى من نتائج (Bharathiraja *et al.*, 2016) إذ كانت 12.21 ملغ KOH. غ⁻¹، ولم تتفق مع نتيجة بحث (Konga *et al.*, 2017) حيث كانت قيمة الحموضة 2.037 ملغ KOH. غ⁻¹. بلغت نسبة الحموض الحرة 9.15 % وهي تتفق مع نتائج بحث (Sohail *et al.*, 2020) حيث بلغت 8.36 %، كانت قيمة التصبن Saponification Value 176.35 ملغ KOH. غ⁻¹ وهي أعلى من قيمة التصبن لزيت *Spirogyra* في أبحاث (Aravind *et al.*, 2022)، (Sohail *et al.*, 2020) إذ بلغت 173.56 و 165.33 ملغ KOH. غ⁻¹ على الترتيب لزيت طحلب *Spirogyra*. كانت قيمة الإستر Ester Value 156.152 ملغ KOH. غ⁻¹، وحُسبت نسبة الغليسرول (9.62 %) من خلال الأسترة التبادلية لأن قيمتها أدق من حسابها بالعلاقة مع قيمة الإستر؛ لأنه في حال حسابها من قيمة الإستر، فإن الإسترات تكون في الغليسيريدات جميعها ثلاثية، أي لا يؤخذ في الحسبان الغليسيريدات الأحادية أو الثنائية؛ مما يخفف من نسبة الغليسرول، أما حسابها من خلال الأسترة التبادلية فإنها تعطي رقماً أكثر دقة لأن النسبة الكبرى من الغليسرول تنتج عن هذا التفاعل. كان التصبن المكافئ Saponification Equivalent 318.162 مول KOH. غ⁻¹. كانت قيمة اليود Iodine Value 69.31 غ 100. I₂. غ⁻¹ وهي أعلى من قيمة اليود لدى (Aravind *et al.*, 2022) فقد كانت 67 غ 100. I₂. غ⁻¹ وأقل من قيمة اليود في أبحاث (Sohail *et al.*, 2020، Kumar and Souza 2022) فقد كانت 117.67 و 110 غ 100. I₂. غ⁻¹ على التوالي. يعود الاختلاف في خصائص الزيت مع النتائج في الدراسات المرجعية إلى اختلاف أنواع طحلب *Spirogyra* واختلاف العوامل البيئية التي ينمو فيها، إضافة إلى اختلاف محتوى الزيت من الحموض الدسمة.

4. الأسترة التبادلية (تحضير الديزل الحيوي)

أظهرت نتائج عملية الأسترة الحمضية أن قيمة الحموضة للزيت أصبحت ضمن الحدود المسموح بها للقيام بعملية الأسترة التبادلية (القلوية)، إذ بلغت قيمة الحموضة بعد الأسترة الحمضية 2.144 ملغ KOH. غ⁻¹ أي انخفضت بمعدل 91.39 %.

يبين الشكل (1) نتيجة الأسترة الحمضية، يكون في الطبقة العليا زيت ذو قيمة حموضة منخفضة، وفي الطبقة السفلى الماء والميثانول والفائض وحمض الكبريت (وقد يكون العكس في حال كانت الميثانول كثيرة)، أما الأسترة التبادلية فينتج عنها في الطبقة العليا الديزل الحيوي، وفي الطبقة السفلى الغليسرول والميثانول والفائض وهيدروكسيد الصوديوم والصابون، وقد يتوضع الصابون بين الطبقتين، وقد يكون ترتيب الطبقتين على نحو متعاكس في حال كان هناك فائض من الميثانول.



الشكل 1. الأسترة الحمضية.

كان مردود الأسترة الحمضية 93.5% ومردود الأسترة التبادلية 90.4%، وبلغ محتوى الغليسرول 9.62%، تشير جميع الدراسات المرجعية في مجال الديزل الحيوي بأنه لا يمكن الحصول على نسبة 100% في تفاعل الأسترة الحمضية لكونه عكوس إضافة إلى بقاء قسم من الحموض الدسمة بصفقتها الحرة، وكذلك الأمر فيما يتعلق بالأسترة التبادلية لا يتم فصل الغليسرول بنسبة 100%، أي هناك قسم منه يبقى موجوداً ضمن الزيت وتكون الحموض الدسمة مؤسّرة به.

5. الخصائص الفيزيائية للديزل الحيوي

بلغت كثافة الديزل الحيوي الناتج 0.881 غ. مل⁻¹ وهي ضمن حدود المعايير العالمية الأمريكية والأوروبية للديزل الحيوي، وأيضاً في حدود الديزل الأحفوري، يتفق ذلك مع نتائج الأبحاث التي أشارت إلى أنها نحو 0.88-0.888 غ. مل⁻¹ (Kalyani et al., 2023) ولم تتفق نسبياً مع أبحاث (Aravind et al., 2022., Sohail et al., 2020) إذ بلغت 0.86 - 0.858 غ. مل⁻¹، علماً أن الكثافة من المواصفات المهمة في مجال الوقود إذ أنها ترتبط بمؤشرات أداء الوقود كقيمة الاحتراق Heating value ورقم سيتان Cetane number (Ajav and Akingbehin 2002., Alamu et al., 2007). انخفضت اللزوجة بعد عملية الأسترة التبادلية وأصبحت 18.8 مم². ثا⁻¹ ومع ذلك فهي مرتفعة وخارج نطاق المعايير العالمية وبذلك يكون الوقود غير ملائم للاستعمال على نحو مطلق؛ إذ إن اللزوجة من أهم مواصفات الوقود الأحفوري والحيوي، واللزوجة المرتفعة تسبب مشاكل متعلقة في نظام حقن الوقود (Xiao and Gao, 2011) The system of fuel injection؛ لذلك يجب أن تكون ملائمة لنظام عمل المحركات، وفي حال استعمل يجب مزجه مع كمية من الديزل الأحفوري للتخفيف من هذه اللزوجة المرتفعة، ولم تتوافق نتائج اللزوجة في الديزل الحيوي مع نتائج (Aravind et al., 2022., Kalyani et al., 2023) حيث كانت القيم 3.72، 4.24 مم². ثا⁻¹ على التوالي في طحلب *Spirogyra* sp. لذا يصعب استعمال الديزل الناتج عن زيت *Spirogyra* على نحو مطلق فيجب مزجه مع كمية من الديزل أيضاً للتخفيف من لزوجته وتخفيض نقطة تجمده، مع العلم أنه في حال كانت نقطة التجمد بحدود 4 - 5 م يمكن استعماله في البلدان الاستوائية أو شبه الاستوائية أي التي لا تتخفض فيها درجة الحرارة دون 5 م ليلاً كي لا يتجمد الوقود في المحرك.

6. الخصائص الكيميائية للديزل الحيوي

كانت قيمة الحموضة 0.914 ملغ KOH. غ⁻¹ لم تتفق مع نتائج (Kumar and Souza, 2022) كانت 0.57 ملغ KOH. غ⁻¹، ومن الملاحظ أنه بعد الأسترة القلوية تنخفض قيمة الحموضة بسبب تحول بعض الحموض الحرة إلى صابون نتيجة لوجود الحفاز القلوي (Agarry et al., 2013). أما قيمة التصبن وقيمة الإستر التي ليس لها أهمية في مجال الديزل الحيوي فقد كانت القيمة 176.35 ملغ KOH. غ⁻¹ وهي أعلى قليلاً من نتائج كل من (Aravind and Ashok, 2022) حيث بلغت 174.65 ملغ KOH. غ⁻¹، وكانت أقل بكثير من نتائج (Saeed et al., 2021) إذ تراوحت القيمة بين 232 - 258 ملغ KOH. غ⁻¹ في النوع S. elongate. كانت قيمة اليود 69.31 غ I₂. غ⁻¹ (الجدول 1) ضمن حدود المواصفات العالمية وقريبة من نتائج (Aravind and Ashok, 2022) فقد كانت 67 غ I₂. غ⁻¹، ولم تتفق مع ما جاء عند (Sohail et al., 2020) فقد كانت 117.67، 110 غ I₂. غ⁻¹ على التوالي. تدل قيمة اليود على عدم التشبع في الزيوت (Saydut et al., 2010). أما قيمة الاحتراق فهي تدل على قيمة الطاقة (أو الحرارة) الموجودة في العينة، أو المنتجة عند احتراقها (Song et al., 2000)، وكانت 43.32 ميغا جول. كغ⁻¹ وهي متوافقة مع المعايير الأمريكية، ومتوافقة مع قيمة احتراق الديزل الأحفوري، وكذلك مع ما جاء عند (Kalyani et al., 2023) حيث كانت 42.1 ميغا جول. كغ⁻¹. تميز الديزل الحيوي برقم سيتان 61.2 دقيقة وتتفق النتائج مع المعايير العالمية الأمريكية (الجدول 22)، ولم تتفق مع نتائج دراسة Aravind and Ashok ودراسة Kalyani وآخرين (Aravind and Ashok, 2022., Kalyani et al., 2023) حيث كان رقم سيتان 53.86، 32.7 دقيقة على التوالي. ويعد رقم سيتان مؤشراً مهماً على نوعية وقود الديزل، ويمثل جودة اشتعال الوقود، وهو قياس الزمن بين حقن الوقود في غرفة الاحتراق

وبدء الاشتعال الذاتي بعد الوصول للضغط المناسب (Rashid et al., 2008)، ومن المهم في ذلك ألا يكون هناك بطء أو سرعة في احتراق الوقود ضمن المحرك وأن يكون ذلك الاحتراق منتظماً، ويعود سبب ارتفاع قيمة رقم سيتان إلى درجة التشبع أو طول استيرات ميثيل الأحماض الدهنية ويتراوح قيمة رقم سيتان الأمثل بين 41-56 دقيقة ويجب ألا يكون أعلى من 65 دقيقة (Fan et al., 2009).

الجدول 1. الخصائص الفيزيائية والكيميائية المدروسة للديزل الحيوي من طحلب *S. fluviatilis* وبعض الدراسات المرجعية.

المعايير العالمية		الديزل (Kalyani et al., 2023)	ديزل <i>S. fluviatilis</i>	الخصائص
EN 14214	ASTM D6751			
0.90-0.86	0.89-0.87	0.850	0.16 ± 0.881	الكثافة غ. مل ⁻¹
6.0 – 1.9	5.0 – 3.5	2.60	1.8 ± 18.8	اللزوجة مم ² . ثا ⁻¹
<0.50	<0.50	-	0.13 ± 0.914	قيمة الحموضة ملغ KOH. غ ⁻¹
1.73	0.72	-	0.458	محتوى الحموض الحرة FFA %
-	-	-	8.3 ± 176.35	قيمة التصبن ملغ KOH. غ ⁻¹
-	-	-	174.106	قيمة الأستر ملغ KOH. غ ⁻¹
-	-	-	318.162	التصبن المكافئ مول KOH. غ ⁻¹
120 الأعلى	135 - 60	-	0.97 ± 69.31	قيمة اليود غ I ₂ . 100 غ ⁻¹
-	44	42	43.23	قيمة الاحتراق ميغا جول. كغ ⁻¹
51	70 - 46	46	61.2	رقم سيتان دقيقة

7. نسبة الحموض الدسمة الحرة ونتائج الأسترة

بلغت نسبة الحموض الدسمة الحرة FFA % في الدهون المستخلصة من الكتل الحيوية المستزرعة في الوسط المفتوح 10.15% وبعد إجراء تفاعل الأسترة الحمضية انخفضت هذه النسبة إلى 2.14% (نسبة مقبولة لإجراء الأسترة التبادلية). كان مردود الأسترة الحمضية 93.5% ومردود الأسترة التبادلية 90.4%، ولوحظ بعد الأسترة التبادلية للدهون انخفاض في لزوجة الديزل الناتج مقارنة بالدهون قبل الأسترة التبادلية عند درجة حرارة الغرفة، وذلك بسبب انفصال جزيئات الغليسرول ذات اللزوجة العالية.

بين Leung وآخرون (2010) أن تفاعل الأسترة التبادلية يمكن أن يتوقف عند ازدياد نسبة الحموض الحرة عن 3% بسبب استهلاك الحفاز من قبل جزيئات الحموض الدسمة الحرة، وأنه يمكن أن تصل نسبة الحموض الحرة في الزيت المستخلص من الطحالب إلى 70% وهي أعلى بكثير من الحدود المسموح بها (Leung et al., 2010)، كما أن الزيت المستخلص من الطحالب يحتوي نسبة عالية من الحموض الدسمة الحرة، بذلك يجب القيام بالأسترة الحمضية قبل الأسترة التبادلية (Javidialesaadi and Raecissi, 2013).

إن ارتفاع نسبة FFA % يعود إلى أن زيوت الطحالب تحتوي كميات كبيرة من الدهون الفوسفاتية (Amoah et al., 2015)، والتي تعد مكونات أساسية لجدران الخلايا؛ إذ تحتوي على سلسلتين فقط من الأحماض الدهنية وذرة الكربون الثالثة مرتبطة بمجموعة من الذرات التي تشمل الفوسفور، وكذلك تؤدي بعض العوامل كشروط التفاعل من درجة حرارة، ونسبة الكحول، كمية الحفاز ونوعه، زمن التفاعل وسرعة التحريك أثناء التفاعل إلى تفكك الغليسيريدات الثلاثية الموجودة في الدهون، فينتج عنها غليسيريدات الثنائية وأحادية وحموض دسمة حرة (Chen et al. 2012). ربما يعود الاختلاف أيضاً لاختلاف الأنواع وراثياً واختلاف عوامل النمو للطحلب.

8. إسترات الحموض الدسمة المكونة للديزل الحيوي

تؤكد نتائج GC-MS تحوّل الحموض الدسمة إلى إستر الحموض بعد تفاعلات الأسترة السابقة، وهو المكون الأساسي للديزل الحيوي، إذ يبين (الجدول 2) الحموض المكونة للديزل الحيوي الناتج عن الدهون المستخلصة من الكتلة الحيوية للنوع *S. fluviatilis*، كما يبين (الشكل 2) الكروماتوغرام الخاص بالعينة حيث يظهر فيها القمم الخاصة بكل حمض مع زمن الاحتجاز.

نلاحظ أن خلاصة النوع *S. fluviatilis* تتكون من الحموض الدسمة الآتية: حمض (Myristic) Tetradecanoic، حمض النخيل Hexadecanoic (Palmitic)، حمض (Margaric) Heptadecenoic، حمض الزيت (Oleic) cis-9-Octadecenoic، حمض

النخيل الأعلى من بين الحموض الأخرى، يليه حمض ألفا اللينولييك وحمض اللينولييك ومن ثم حمض الزيت. بيّنت الدراسات السابقة أن حمض النخيل ($C_{16:0}$) من الحموض الدسمة الأساسية الداخلة في تركيب الدهون في الطحالب الخضراء (Ahlgren *et al.*, 1992)، ويُعد مع حمض الزيت ($C_{18:1}$) أساساً للدهون المشكّلة للأغشية الخلوية (glycerolipids)، كذلك يوجد كل من حمض الشمع ($C_{18:0}$) وحمض اللينولييك ($C_{18:2}$ ω6) وألفا-لينولينيك ($C_{18:3}$ ω3) بنسب مرتفعة في دهون الطحالب الخضراء مقارنة بباقي الحموض الدسمة (Hempel *et al.*, 2012). لقد تنوعت الحموض الدسمة المكونة للمواد الدهنية من حيث عدد الروابط المضاعفة (الإشباع)، بين الحموض المشبعة (Saturated Fatty Acids) مثل 24:0-23:0-20:0-18:0-17:0-16:0-14:0-12:0 ووحيدة عدم الإشباع (Mono Unsaturated Fatty Acids) مثل 18:1 وعديدة عدم الإشباع (Poly Unsaturated Fatty Acids) مثل 22:4-21:2-20:4-18:3-18:2-16:3-16:2 (الجدول 3)، كانت نسبة الحموض الدسمة المشبعة تساوي تقريباً نسبة الحموض غير المشبعة، فمثلاً بلغ تركيز الحموض المشبعة 47% من نسبة الحموض الكلية.

الجدول 2. يمثل إستر الحموض الدسمة في الديزل الحيوي للنوع *S. fluviatilis*.

نسبة الحمض %	زمن احتجاز	إستر الحمض الدسم FAME
1.30	8.14	Tetradecanoic acid, methyl ester
1.31	11.7	7,10-Hexadecadienoic acid, methyl ester
3.70	11.89	7,10,13-Hexadecatrienoic acid, methyl ester
34.28	12.57	Hexadecanoic acid, methyl ester
0.88	15.09	Heptadecanoic acid, methyl ester
0.32	17.53	cis-6,9,12-octadecatrienoic acid, methyl ester
16.37	18.26	9,12-Octadecadienoic acid, methyl ester
23.03	18.65	9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)
2.45	18.85	Octadecanoic acid, methyl ester
12.29	19.78	cis-9-Octadecenoic acid, methyl ester
0.68	25.01	5,8,11,14-Eicosatetraenoic acid, methyl ester, (all-Z)
0.38	25.84	11,13-Eicosadienoic acid, methyl ester
0.98	26.03	9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)
0.30	26.48	Eicosanoic Acid, Methyl Ester
0.56	27.57	Hexanedioic acid, bis(2-ethylhexyl) ester
0.58	28.85	Docosanoic Acid, Methyl Ester
0.52	30.11	Tetradecanoic acid, methyl ester

الجدول 3. أنواع الحموض الدسمة الموجودة في الدهون في النوع *S. fluviatilis* (Pubchem.Ncbi. Nlm.Nih. Gov)

الحموض الدسمة المشبعة Saturated fatty acids		
14:0	Myristic Acid	Tetradecanoic
16:0	Palmitic Acid	Hexadecanoic
17:0	Margaric acid	Heptadecenoic
18:0	Stearic Acid	Octadecanoic
20:0	Arachidic acid	Eicosanoic
23:0	Behenic Acid	Docosanoic Acid
24:0	Lignoceric acid	Tetradecanoic acid

الحموض الدسمة وحيدة عدم الإشباع Mono Unsaturated Fatty Acids MUFA		
9c-18:1	Oleic Acid	cis-9-Octadecenoic acid
الحموض الدسمة عديدة عدم الإشباع Poly Unsaturated Fatty Acids PUFA		
16:2	-	7,1 Hexadecadienoic
16:3	-	7,10,13 Hexadecatrienoic
18:3	γ -Linolenic Acid	cis-6,9,12-octadecatrienoic acid
18:2	Linoleic Acid	9,12 Octadecadienoic
18:3	α -Linolenic Acid	9,12,15 Octadecatrienoic
20:4	Eicosatetraenoic acid	5,8,11,14-Eicosatetraenoic acid
21:2	-	11,13-Eicosadienoic acid
22:4	Diethylhexyl adipate	Hexanedioic acid, bis(2-ethylhexyl)

تكمن أهمية دراسة نوعية الحموض الدسمة (من حيث طول السلسلة الكربونية وعدد الروابط المضاعفة فيها وتفرعها) لتأثيرها في الخصائص الفيزيائية والكيميائية للديزل الحيوي بشكل كبير كدرجة التجمد، والثباتية التأكسدية، واللزوجة (Knothe *et al.*, 2015)، إذ أن الديزل المنتج من دهون غنية بالحموض المشبعة يتحول إلى هلام في درجة حرارة الغرفة، أما الديزل المنتج من الدهون الغنية بالحموض الدسمة عديدة عدم الإشباع يكون سائلاً، إلا أن هذه الحموض الدسمة حساسة للتأكسد إذ إن الديزل يواجه مشكلات في الثباتية خلال التخزين لفترات طويلة (Islam *et al.*, 2013).

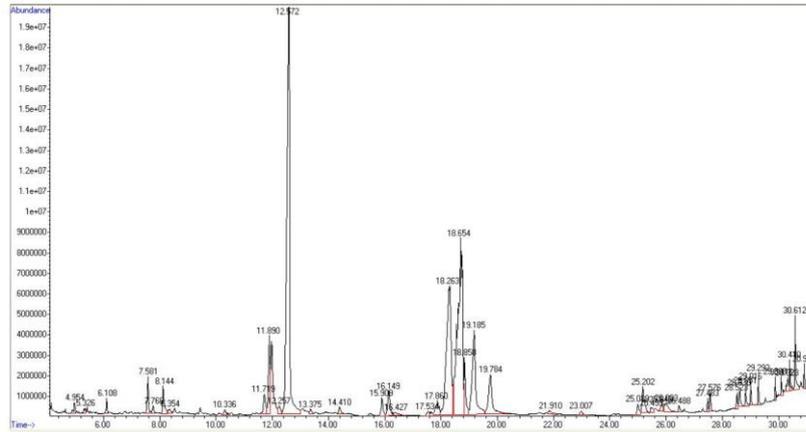
أظهرت دراسات سابقة (الجدول 4) أن وقود الديزل الحيوي المعتمد على زيت *Spirogyra* يتكون من حمض الغار (C12:0)، حمض النخيل (C16:0)، حمض الشمع (C18:0)، حمض الزيت (C18:1)، حمض الكتان (C18:2) linoleic، وحمض Arachidi (C20:0) Myristic (C17:0) وحمض Behenic (C23:0) كحموض دهنية رئيسية، كما بيّنت دراسة Saeed وآخرين عام (2021) أن الحموض الدهنية الرئيسية التي تم تحديدها في زيت *S. elongate* هي: حمض الزيت (30.5%)، والغار (29.9%)، حمض الميرستيك (17.0%)، وحمض النخيل (14.2%)، وبيّنت دراسة Shah وآخرون عام (2022) أن الحموض الدهنية الرئيسية في زيت *S. crassa* هي: حمض النخيل (49.69%)، حمض الكتان (26.95%)، حمض الميرستيك (4.95%) وحمض الشمع (4.77%) (Shah *et al.*, 2022)، لا تعتمد الاختلافات في تكوين الحموض الدهنية على الظروف البيئية فحسب، بل تعتمد أيضاً على الطريقة المتبعة لاستخلاص الزيت من الكتلة الحيوية (Saeed *et al.*, 2021). ونظراً لاحتواء زيت *Spirogyra* على نسبة جيدة من حمض الزيت وحمض الكتان فإنه مناسب جداً لاستعماله في الوقود الحيوي (Cvengros and Cvengrosova, 2004) إذ يتحكم في خصائص الديزل الحيوي: طول السلاسل الكربونية، ومحتواها من الروابط غير المشبعة، كما أن لمحتوى الغليسول في الزيوت، وطريقة توضع الحموض الدسمة المؤسّرة في الغليسول، وتوضع الغليسريدات بعضها إلى بعض دور مهم في خصائص الزيوت، والديزل الناتج من زيت *Spirogyra* يمتلك محتوى مرتفع نسبياً من الروابط غير المشبعة وهذا ما جعله أكثر سيولة Fluidity من الزيوت الأخرى.

الجدول 4. النسبة المئوية لمتيل إستر الحموض الدسمة في الديزل الحيوي لطحلب *S. fluviatilis* وبعض الدراسات المرجعية.

الدراسة الحالية (%)	Richmond, 2004	Chozhavendhan <i>et al.</i> , 2020	Kalyani <i>et al.</i> , 2023	
الحموض الدسمة المشبعة				
1.3	15.29	17.0	13.05	Myristic Acid
34.28	28.63	14.2	24.84	Palmitic Acid
0.88	-	-	-	Margaric acid
2.45	4.86	3.0	3.21	Stearic Acid
0.30	1.28	0.3	2.1	Arachidic acid
0.58	1.39	0.2	1.55	Behenic Acid

22.68	29.9	21.9	-	Lauric Acid
الحموض الدسمة غير المشبعة				
26.12	30.5	21.62	12.92	Oleic Acid
-	-	-	0.32	γ -Linolenic Acid
3.18	2.5	2.5	16.37	Linoleic Acid
-	-	-	23.03	α -Linolenic Acid
2.3	1.8	1.2	3.78	حموض دسمة أخرى

ومن الجدير بالذكر أن الحموض الدسمة غير المشبعة وخصوصاً أوميغا-3 (3- ω) وأوميغا-6 (6- ω) تعد من المركبات الضرورية لصحة جسم الإنسان، ولاسيما تطور الدماغ إذ تُعد أساسية لتركيب الفوسفوليبيدات في الدماغ. كما تحمي من أمراض القلب والأوعية الدموية وتعد مضادات تأكسد ومضادات سرطان، وهذه الحموض لا تتشكل في جسم الإنسان، لذا لا بد من الحصول عليها من مصادرها الطبيعية (Morowvat and Ghasemi, 2016). لوحظ بالإضافة للحموض الدسمة وجود مركبات هيدروكربونية في الخلاصة مثل: Octadecane ($C_{18}H_{38}$)، Hexadecane ($C_{16}H_{34}$)، Heptadecane ($C_{17}H_{36}$)، Eicosane ($C_{20}H_{42}$)، Henicosane ($C_{21}H_{44}$)، و Tricosane ($C_{23}H_{48}$) وهي هيدروكربونات من الألكانات اللاحقية، فالهيدروكربونات تُعد من أصناف الدهون التي تنتجها الطحالب الدقيقة (Chia et al., 2013., Sharma, 2012)، والتي تستعمل لإنتاج الوقود السائل (كالديزل أو البترول) (Matsunaga et al., 2009).



الشكل 2. كروماتوغرام تحليل الحموض الدسمة للدهون المستخلصة من الكتلة الحيوية لطحلب *S. fluviatilis*.

الاستنتاجات

1. وجود حموض دسمة حرة FFA في طحلب *S. fluviatilis* بنسب مرتفعة.
2. يصعب استعمال الديزل الناتج عن زيت *S. fluviatilis* على نحو مطلق ويجب مزجه مع كمية من الديزل الأحفوري لتخفيف من لزوجته إذ لا يمكن استعمال ديزل الطحلب لوحده بدلاً عن الديزل الأحفوري.
3. تميز الديزل الحيوي من طحلب *S. fluviatilis* بوجود الحموض الدسمة التي يتميز بها الديزل الحيوي من مصادر نباتية مختلفة كحمض النخيل وحمض الشمع وحمض الزيت وحمض اللينولينيك.

التوصيات

1. دراسة خصائص الديزل الحيوي من أنواع أخرى تابعة لجنس *Spirogyra*.
2. دراسة إمكان الحصول على الغاز الحيوي من طحلب *S. fluviatilis*.
3. دراسة إمكان استعمال زيت طحلب *Spirogyra* كمصدر للحموض الدسمة غير المشبعة وخصوصاً أوميغا-3 وأوميغا-6.

المراجع :

1. Agarry, S, E., Aremu, M, O., Ajani, A, O., Aworanti, O, A., (2013). Alkali – Catalysed Production of Biodiesel Fuel from Nigerian Citrus Seeds Oil, International Journal of Engineering Science and Technology. 5 (9): 1682-1687.
2. Alamu, O, J., Waheed, M, A., Jekayinfa, S, O., (2007). Alkali catalysed laboratory production and testing of biodiesel from Nigerian palm kernel oil, Agric. Eng. Int: CIGR Ejournal Manuscript Number, EE07009. 4: 1–10.
3. Alaswad, A., Dassisti, M., Prescott, T., & Olabi, A. G. (2015). Technologies and developments of third generation biofuel production. Renewable and Sustainable Energy Reviews. 51: 1446-1460.
4. Amoah, J., Ho, S. H., Hama, S., Yoshida, A., Nakanishi, A., Hasunuma, T., ... & Kondo, A. (2016). Converting oils high in phospholipids to biodiesel using immobilized *Aspergillus oryzae* whole-cell biocatalysts expressing *Fusarium heterosporum* lipase. Biochemical engineering journal. 105: 10-15.
5. Andriyevsky, B., Andriyevska, L., Picuch, T., (2010). Intermolecular Interaction in Plant Oils from Refractive and Density Measurements, Optics and Spectroscopy.6 (109): 932–937.
6. Anto, S., Mukherjee, S. S., Muthappa, R., Mathimani, T., Deviram, G., Kumar, S. S., & Pugazhendhi, A. (2020). Algae as green energy reserve: Technological outlook on biofuel production. Chemosphere. 242: 125079.
7. Aravind, S., Barik, D., & Ashok, N. (2022). Optimization of Oil Yield from the Macro Algae *Spirogyra* by Solvent Extraction Process Using RSM and ANN. International Journal of Photoenergy.
8. Aravind, S., Barik, D., & Ashok, N. (2022). Optimization of Oil Yield from the Macro Algae *Spirogyra* by Solvent Extraction Process Using RSM and ANN. International Journal of Photoenergy.
9. Batista, F. R. M., Lucchesi, K. W., Carareto, N. D. D., Costa, M. C. D., & Meirelles, A. J. A. (2018). Properties of microalgae oil from the species *Chlorella protothecoides* and its ethylic biodiesel. Brazilian Journal of Chemical Engineering. 35: 1383-1394.
10. Bharathiraja, B., Sudharsana, T., Bhargavi, A., Jayamuthunagai, J., & Praveenkumar, R. (2016). Biohydrogen and Biogas—An overview on feedstocks and enhancement process. Fuel. 185: 810-828.
11. Canakci, M., & Sanli, H. (2008). Biodiesel production from various feedstocks and their effects on the fuel properties. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology. 35(5): 431-441.
12. Chai, M., Qingshi, Tu., Mingming, Lu., Yang, Y., J., (2014). Esterification pretreatment of free fatty acid in biodiesel production, from laboratory to industry, Fuel Processing Technology. 125: 106–113.
13. Chamkalani, A., Zendehboudi, S., Rezaei, N., & Hawboldt, K. (2020). A critical review on life cycle analysis of algae biodiesel: current challenges and future prospects. Renewable and Sustainable Energy Reviews. 134: 110143.
14. Chen, L., Liu, T., Zhang, W., Chen, X., & Wang, J. (2012). Biodiesel Production from Algae Oil High in Free Fatty Acids By Two-Step Catalytic Conversion. Bioresource Technology. 111: 208-214.
15. Chia, M. A., Lombardi, A. T., & Melão, M. D. (2013). Growth And Biochemical Composition Of *Chlorella Vulgaris* In Different Growth Media. Anais Da Academia Brasileira De Ciências. 85(4): 1427-1438.
16. Chozhavendhan, S., Singh, M. V. P., Fransila, B., Kumar, R. P., & Devi, G. K. (2020). A review on influencing parameters of biodiesel production and purification processes. Current Research in Green and Sustainable Chemistry. 1: 1-6.
17. Chozhavendhan, S., Singh, M. V. P., Fransila, B., Kumar, R. P., & Devi, G. K. (2020). A review on influencing parameters of biodiesel production and purification processes. **Current Research in Green and Sustainable Chemistry**. 1: 1-6.
18. Christie, W, W., (2009). Lipid Library at <http://lipidlibrary.aocs.org/>
19. Christie, William W. (1982). Lipid analysis. Oxford: Pergamon press.207.
20. Cvenegros, J., Cvenegrosova, Z., (2004). Used frying oils and fats and their utilization in the production of methyl esters of higher fatty acids, Biomass and Bioenergy, 27: 173-181.
21. Demirbas, A., & Demirbas, M. F. (2011). Importance of algae oil as a source of biodiesel. Energy conversion and management. 52(1): 163-170.
22. Esteban, B., Riba, J. R., Baquero, G., Rius, A., & Puig, R. (2012). Temperature dependence of density and viscosity of vegetable oils. Biomass and bioenergy. 42: 164-171.
23. Fan, X., Burton, R., & Austic, G. (2009). Preparation and characterization of biodiesel produced from recycled canola oil. The Open Fuels & Energy Science Journal. 2(1).

24. Haq, I., Muhammad, A., & Hameed, U. (2014). Comparative assessment of Cladophora, Spirogyra and Oedogonium biomass for the production of fatty acid methyl esters. *Applied biochemistry and microbiology*. 50: 69-72.
25. Hossain, A. S., Salleh, A., Boyce, A. N., Chowdhury, P., & Naquiuddin, M. (2008). Biodiesel fuel production from algae as renewable energy. *American journal of biochemistry and biotechnology*. 4(3): 250-254.
26. Islam, M. A., Ayoko, G. A., Brown, R., Stuart, D., & Heimann, K. (2013). Influence Of Fatty Acid Structure On Fuel Properties Of Algae Derived Biodiesel. *Procedia Engineering*. 56: 591-596.
27. IUPAC (1992). *Standard Methods for the Analysis of Oils, Fats and Derivates*, Blackwell Scientific Publications, Oxford, UK, 7th edition.
28. Javidialesaadi, A., & Raeissi, S. (2013). Biodiesel production from high free fatty acid-content oils: experimental investigation of the pretreatment step. *APCBEE procedia*. 5: 474-478.
29. Kalyani, T., Prasad, L. S. V., & Kolakoti, A. (2023). Biodiesel Production from a Naturally Grown Green Algae Spirogyra Using Heterogeneous Catalyst: An Approach to RSM Optimization Technique. *International Journal of Renewable Energy Development*. 12(2).
30. Kalyani, T., Prasad, L. S. V., & Kolakoti, A. (2023). Biodiesel Production from a Naturally Grown Green Algae Spirogyra Using Heterogeneous Catalyst: An Approach to RSM Optimization Technique. *International Journal of Renewable Energy Development*. 12(2).
31. Khan, M. I., Shin, J. H., & Kim, J. D. (2018). The promising future of microalgae: current status, challenges, and optimization of a sustainable and renewable industry for biofuels, feed, and other products. *Microbial cell factories*. 17(1): 1-21.
32. Knothe, G., Krahl, J., & Van Gerpen, J. (Eds.). (2015). *The biodiesel handbook*. Elsevier.
33. Konga, A. K., Muchandi, A. S., & Ponnaiah, G. P. (2017). Soxhlet extraction of Spirogyra sp. algae: an alternative fuel. *Biofuels*. 8(1): 29-35.
34. Kumar, R., & D'Souza, P. M. (2022). Soxhlet Extraction of Spirogyra sp. as an Energy Source and Physicochemical Characterization of Produced Biodiesel. *International Journal of Environment and Climate Change*. 12(12): 1346-1352.
35. Kumar, R., & D'Souza, P. M. (2022). Soxhlet Extraction of Spirogyra sp. as an Energy Source and Physicochemical Characterization of Produced Biodiesel. *International Journal of Environment and Climate Change*. 12(12): 1346-1352.
36. Leung, D. Y., Wu, X., & Leung, M. K. H. (2010). A review on biodiesel production using catalyzed transesterification. *Applied energy*. 87(4): 1083-1095.
37. Liu, X., Ying, K., Chen, G., Zhou, C., Zhang, W., Zhang, X., ... & Tao, Y. (2017). Growth of *Chlorella vulgaris* and nutrient removal in the wastewater in response to intermittent carbon dioxide. *Chemosphere*. 186: 977-985.
38. Machu L, Misurcova L, Ambrozova JV, Orsavova J, Mlcek J, Sochor J (2015). Phenolic content and antioxidant capacity in algal food products. *Molecules*. 20(1):1118-1133.
39. Matsunaga, T., Matsumoto, M., Maeda, Y., Sugiyama, H., Sato, R., & Tanaka, T. (2009). Characterization Of Marine Microalga, *Scenedesmus* Sp. Strain Jpcc Ga0024 Toward Biofuel Production. *Biotechnology Letters*. 31(9): 1367-1372.
40. Morowvat, M. H., & Ghasemi, Y. (2016). Screening of some naturally isolated microalgal strains for polyunsaturated fatty acids production. *Asian Journal of Pharmaceutical Research and Health Care*. 122-130.
41. Nwafor, O. M. I. (2003). The effect of elevated fuel inlet temperature on performance of diesel engine running on neat vegetable oil at constant speed conditions. *Renewable energy*. 28(2): 171-181.
42. Radha, K. V., Manikandan, G., (2011). Novel Production Of Biofuels From Neem Oil, World Renewable Energy Congress, 8-13 May, Linkoping, Sweden.
43. Ranjbar, S., Quaranta, J. D., Tehrani, R., & Van Aken, B. (2015). Algae-based treatment of hydraulic fracturing produced water: Metal removal and biodiesel production by the halophilic microalgae *Dunaliella salina*. In *Bioremediation and Sustainable Environmental Technologies*. In Proceedings of the Third International Symposium on Bioremediation and Sustainable Environmental Technologies, Miami, FL, USA. 14: 18-21
44. Rashid, U., Anwar, F., Moser, B. R., & Knothe, G. (2008). *Moringa oleifera* oil: A possible source of biodiesel. *Bioresource technology*. 99(17): 8175-8179.

45. Richmond, A. (Ed.). (2004). Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology (Vol. 577). Oxford: Blackwell science.
46. Richmond, A. (Ed.). (2004). *Handbook of microalgal culture: **biotechnology and applied phycology*** (Vol. 577). Oxford: Blackwell science.
47. Saad, M. G., Dosoky, N. S., Zoromba, M. S., & Shafik, H. M. (2019). Algal biofuels: current status and key challenges. *Energies*. 12(10): 1920.
48. Saeed, A., Hanif, M. A., Hanif, A., Rashid, U., Iqbal, J., Majeed, M. I., & Alsalmeh, A. (2021). Production of biodiesel from *Spirogyra elongata*, a common freshwater green alga with high oil content. *Sustainability*. 13(22): 12737.
49. Saydut, A., Kafadar, A. B., Tonbul, Y., Kaya, C., Aydin, F., & Hamamci, C. (2010). Comparison of the biodiesel quality produced from refined sunflower (*Helianthus annuus* L) oil and waste cooking oil. *Energy exploration & exploitation*. 28(6): 499-512.
50. Scott, S. A., Davey, M. P., Dennis, J. S., Horst, I., Howe, C. J., Lea-Smith, D. J., & Smith, A. G. (2010). Biodiesel from algae: challenges and prospects. *Current opinion in biotechnology*. 21(3): 277-286.
51. Shah, Z., Badshah, S., Iqbal, A., Emwas, A. H., & Jaremko, M. (2022). GC-MS based metabolomics and lipidomics analyses of selected freshwater green macroalgae. *Research Square*. 2(8): 1-25.
52. Sharma, K. K., Schuhmann, H., & Schenk, P. M. (2012). High Lipid Induction In Microalgae For Biodiesel Production. *Energies*. 5(5): 1532-1553.
53. Sitthiwong, N. (2019). Pigment and Nutritional Value of *Spirogyra* spp. in Sakon Nakhon, Nakhon Phanom and Mukdahan Provinces. *Progress in **Applied Science and Technology***. 9(1): 10-21.
54. Sohail, S., Mumtaz, M. W., Mukhtar, H., Touqeer, T., Anjum, M. K., Rashid, U., & Choong, T. S. Y. (2020). *Spirogyra* oil-based biodiesel: Response surface optimization of chemical and enzymatic transesterification and exhaust emission behavior. *Catalysts*. 10(10): 1214.
55. Teoh, M. L., Chu, W. L., & Phang, S. M. (2010). Effect of temperature change on physiology and biochemistry of algae: a review. *Malaysian Journal of Science*. 29(2): 82-97.
56. Tipnee, S., Ramaraj, R. and Unparom, Y. (2015) Nutritional evaluation of edible freshwater green macroalga *Spirogyra varians*. *Emer. Life Sci. Res*. 1(2): 1-7.
57. Wongsawad, P., & Peerapornpisal, Y. (2015). Morphological and molecular profiling of *Spirogyra* from northeastern and northern Thailand using inter simple sequence repeat (ISSR) markers. *Saudi journal of biological sciences*. 22(4): 382-389.
58. Xiao, G., and Gao, L. (2011). First generation biodiesel. *Biofuel Production-Recent Developments and Prospects*.