مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (37) العدد (4) 2015
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (37) No. (4) 2015

استخدام بعض الأنواع الجرثومية لإنتاج الميتانول والايتانول من مياه الجفت

الدكتور أحمد قره علي*
الدكتور بدر العلي**
ميس زوان***

(تاريخ الإيداع 27 / 5 / 2015. قبل للنشر في 6 / 7 / 2015)

□ ملخّص □

يتناول هذا البحث إمكانية إنتاج كل من الميتانول والايتانول من مياه الجفت OMW (OMW: Olive Mill Wastewater)، وذلك خلال عملية معالجة حيوية لاهوائية (تخمر) باستخدام جراثيم ممرضة وأخرى معزولة بحرياً.

أظهرت النتائج أنه عند تخمر مياه الجفت باستخدام جراثيم الـ *Salmonella sp.* كان أعلى تركيز للميتانول (5658.308µg/l) عند تركيز مياه الجفت 7.5% في وسط التخمر، وأعلى تركيز للايتانول(49.132µg/l) عند تركيز 17.5% لمياه الجفت.في حين أعطت جراثيم الـ *Pseudomonas sp.* أعلى تركيز للميتانول (603.76µg/l) والايتانول (688.71µg/l) عند تركيز 17.5% لمياه الجفت.

بينت النتائج قدرة الجراثيم المعزولة من مياه البحر على إنتاج الميتانول و الايتانول؛ بالنسبة لجراثيم X3 تبين وجود علاقة طردية بين ارتفاع تراكيز مياه الجفت (15، 35، 50)% وارتفاع تراكيز الميتانول (UL، 130.406µg/l، 1353.244µg/l) على التوالي، على عكس الايتانول الذي كان تحت حدود الكشف (Under limited: UL).

الكلمات المفتاحية: مياه الجفت، المعالجة اللاهوائية، الميتانول، الايتانول

*أستاذ مساعد – قسم الكيمياء البحرية – المعهد العالي للبحوث البحرية – جامعة تشرين – اللاذقية – سورية.
**مدرس – قسم البيولوجيا البحرية – المعهد العالي للبحوث البحرية – جامعة تشرين – اللاذقية – سورية.
***طالبة ماجستير – قسم البيولوجيا البحرية – اختصاص زراعة بحرية– المعهد العالي للبحوث البحرية – جامعة تشرين – اللاذقية – سورية.

مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (37) العدد (4) 2015
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (37) No. (4) 2015

Utilization of some bacterial species to produce methanol and ethanol from Olive Mill Waste Water (OMW)

Dr. Ahmad Kara-Ali*
Dr. Badr Al Ali**
Mais Zwan***

(Received 27 / 5 / 2015. Accepted 6 / 7 /2015)

□ ABSTRACT □

In this study, we review the possibility of production both ethanol and methanol from OMW(OMW: Olive Mill Wastewater), fermented using pathogenic bacteria and isolated marine bacteria. The results showed that when using *Salmonella sp*. bacteria, the highest values of methanol (5658.308 µg /l) appear at 7.5% concentration of the OMW, and the higher concentration of ethanol (49.132 µg/l) at a concentration of 17.5% fermentation of OMW. While *Pseudomonas sp.* produced the highest concentration of methanol (603.76µ g/l) and ethanol (688.71µg /l) at 17.5% for OMW.

The results of this research showedthe ability of the bacteria isolated from sea water in producing the above mentioned alcohols; for example the X3 bacteria displayed a direct correlation between high concentrations of OMW (15 , 35 , 50)% and the high concentrations of produced methanol (UL, 130.406µg/l, 1353.244µg/l), apposite to ethanol which was under the detection limits (under limited: UL).

Key Words: OMW, anaerobic treatment, methanol , ethanol.

* **Associate Professor - Department of Marine Chemistry - Higher Institute of Marine Research - Tishreen University - Lattakia - Syria.**
****Assistant Professor - department of marine biology - Higher Institute of Marine Research - Tishreen University - Lattakia - Syria.**
*****Postgraduate Student- degree in marine biology department - Higher Institute of Marine Research- Tishreen University - Lattakia - Syria.**

مقدمة

تعد منطقة حوض البحر الأبيض المتوسط من أكثر المناطق انتشاراً لزراعة الزيتون في العالم[1]. قد تم تسجيل الإنتاج العالمي لزيت الزيتون للسنوات 2010/2009 بحوالي (3.024.000) طن [2]، حيث يبلغ إنتاج بلدان حوض البحر الأبيض المتوسط للزيت أكثر من 95% من الإنتاج العالمي.تعد إسبانيا أهم منتج للزيت، تليها إيطاليا، اليونان، تونس، تركيا وسورية [3]، وتحتل سورية المركز الثاني من حيث الإنتاج عربياً والمركز الخامس أو السادس عالمياً [13].

تتم عملية استخراج زيت الزيتون في وحدات زراعية–صناعية صغيرة (معاصر الزيتون) تعمل موسمياً [4]، وينتج عن هذه العملية نفايات صلبة وسائلة [5]. تقدر كمية النفايات السائلة الناتجة عن عمليات استخراج زيت الزيتون، أو ما تسمى بمياه الجفت (Olive Mill Wastewater: OMW)، بـm^3(0.5–1.5) لكل 1000kg من الزيتون [6]. حيث يبلغ إنتاج بلدان البحر الأبيض المتوسط (اسبانيا، ايطاليا، اليونان، تونس، تركيا، سورية، البرتغال، لبنان) أكثر من (30) مليون متر مكعب في العام منمياه الجفت [7].

تتميز مياه الجفت بلون بني غامق مائل إلى الأسود، مع رائحة مميزة لزيت الزيتون، تلوث عالي بمركبات عضوية (الطلب الكيميائي للأكسجين COD الذي يبلغ نحو g\l(40–220)، والطلب الحيوي للأكسجين BOD ويبلغ g\l(35–110)، درجة الحموضة تتراوح بين6–3، حيث يبلغ إجمالي المركبات العضوية g\l(25–45)، وتتميز بناقلية كهربائية عالية، و محتوى عالي من المركبات الفينولية المتعددة من g\l(0.5–24)، يصل محتوى السكريات إلى أكثر من (60%) من وزن المواد الجافة، والسكريات المتواجدة في مياه الجفت هي عبارة عن فركتوز، مانوز، غلوكوز، ساكروز، سكروز و بنتوز، بالإضافة إلى محتويات عالية من المواد الصلبة، و يُلاحظ سيطرة البوتاسيوم كمواد لا عضوية و تبلغ كميته g\l4 [1،5] .

عادة ما تطرح مياه الجفت إلى الأراضي أو المياه مباشرة مسببةً بذلك مشكلات بيئية خطيرة ومتعددة من خلال التأثيرات السلبية على التربة حيث تؤدي إلى حدوث تغيرات فيزيائية وميكروبية فيها [8,9] من جهة، وتؤثر سلباً على المياه حيث تؤدي إلى حدوث تغير في لون الجداول والأنهار، و تسبب سمية عند مستويات منخفضة على كل من القشريات والأسماك البحرية، وذلك بسبب محتواها المرتفع من الفينولات المتعددة ذات اللون الأسود من جهة ثانية. إلا أن مياه الجفت تحفز التنفس الميكروبي في الماء، مخفضةً بذلك نسبة الأوكسجين المنحل فيه، نتيجة ارتفاع تراكيز السكريات الموجودة فيها،في حين أن الفوسفور المرتفع في مياه الجفت يمكن أن يقود إلى ظاهرة الإثراء الغذائي (Eutrophication) [9,10].

وبهذا الشكل تعد مياه الجفت منتج ثانوي خطير على البيئة [9,11,12]، حيث تتجلى هذه المشكلة البيئية بشكل واضح في بعض المحافظات السورية (حلب–إدلب–اللاذقية–طرطوس) التي تحتل المرتبة الأولى في زراعة الزيتون في سورية [13] .

اهتمت دراسات عديدة بمياه الجفت، وكيفية التخلص منها، بعضها اعتمد على إعادة تدويرها، وذلك للتقليل من مخاطرها البيئية من جهة، و تحقيق مردود اقتصادي من خلال استعادة بعض المواد القيمة التي يمكن الحصول عليها نتيجة معالجة هذه النفايات من جهة أخرى [14,15]. فقد تم استخدام مياه الجفت في مجالات متنوعة كأغراض الزراعة [16,17, 18]، وأعلاف للحيوانات [18,19]، وكمواد صناعية وصيدلانية [17]، وفي مجال الطاقة حيث

أظهرت عدد من الدراسات إمكانية استخدام مياه الجفت في إنتاج الميتان [20,21]، و الكحولات [17] كالبوتانول [22] والايتانول [24,23].

اعتُمدَت عدة طرائق لمعالجة مياه الجفت (فيزيائية، كيميائية وحيوية)، ولكن تبين من خلال الدراسات أن أفضلها هي الطرائق الحيوية لأنها أقل تكلفة، ذات مردود اقتصادي و صديقة للبيئة [25, 26].

تشمل المعالجة الحيوية: المعالجة الهوائية [27] والمعالجة اللاهوائية [28]. فقد استخدمت العديد من الدراسات الحيوية المعالجة اللاهوائية كتقنية واعدة للتخلص من مياه الجفت [21,29–32] .

اهمية البحث واهدافه:

تأتي أهمية هذا البحث من خلال التوجه لمعالجة المشكلة التي تسببها مياه الجفت بما يضمن حماية البيئة ومنع تلوثها من جهة، وإمكانية الاستفادة من المواد التي تحويها لإنتاج مواد جديدة ذات قيمة عالية من جهة أخرى، وذلك بالمعالجة الحيوية اللاهوائية لمياه الجفت باستخدام بعض السلالات الجرثومية الممرضة والسلالات الجرثومية البحرية لتحويلها من مادة ملوثة إلى مواد أولية (ميتانول و ايتانول) يمكن الاستفادة منها في نواحي عديدة (صناعية، طبية، صيدلانية و وقود حيوي).

وتتلخص أهداف البحث فيما يلي:

1. عزل واستزراع بعض السلالات الميكروبية من المياه البحرية في المنطقة الشاطئية لمدينة اللاذقية واستخدامها في معالجة مياه الجفت.
2. استخدام بعض السلالات الجرثومية الممرضة في معالجة مياه الجفت.
3. تحديد السلالات الجرثومية الأعلى في انتاج الكحول.
4. تحديد كمية الكحولات الناتجة وتقييم الأهمية الاقتصادية والبيئية لهذه الدراسة.

طرائق البحث و مواده:

1-جمع العينات:

- عينات مياه الجفت:

تم جمع عينات مياه الجفت اللازمة لإجراء هذا البحث باستخدام عبوات زجاجية معقمة عاتمة لتجنب الأكسدة الضوئية من معصرة زيتون تعمل بالطريقة التقليدية (مكابس) لاستخراج الزيت تقع في قرية برنة في محافظة اللاذقية خلال موسم 2013–2012، وثم حفظها بدرجة حرارة $4^{o}C$ لحين استخدامها في التجارب بحيث لم تتجاوز المدة الفاصلة بين أخذ العينة واستخدامها أكثر من أسبوع.

- عينات المياه البحرية:

تم جمع عينات مياه بحرية بوساطة عبوات زجاجية عاتمة معقمة، من المنطقة الشاطئية لمدينة اللاذقية عند مصب ساقية موسى في البحر بعمق 30cm ثم نقلت مباشرةً إلى المخبر من أجل عزل سلالات جرثومية بحرية نقية قادرة على تفكيك مياه الجفت، ولدى وصولها إلى المخبر، أجريت التجارب التحضيرية لعزل بعض السلالات الجرثومية.

2- تنمية الجراثيم الممرضة:

تم استخدام سلالتين جرثوميتين *Salmonella sp* و *Pseudomonas sp.* في عمليات تخمر مياه الجفت. تم الحصول عليهما من مخابر كلية الصيدلة – جامعة تشرين- اللاذقية- سورية. أعيد تنشيط هذه السلالات الجرثومية باستنباتها في أنابيب تحتوي على وسط المرق المغذي (Nutrient broth)(الحاوي على بيبتون5g/l، مستخلص اللحم 3g/l، و كلوريد الصوديوم 3g/l) الذي حضر بإتمام المكونات السابقة بالماء المقطر إلى حجم الليتر، والمزج الجيد لها، وضبطت درجة الـpH عند الدرجة 7.2 ثم عقم بدرجة حرارة 121^oC لمدة 15 دقيقة في الأوتوكلاف، ثم حضن بدرجة حرارة 37^oC لمدة 24h، بعد ذلك أخذ بوساطة اللاقحة المعقمة من كل مزرعة، ثم تم التخطيط على سطح الآغار المغذي (Nutrient agar) بهدف عزل مستعمرات نقية وحضنت بدرجة حرارة 37^oC لمدة 24h، وبشروط معقمة أخذت كمية من المزرعة السابقة بوساطة ميكروبيبيت ونقلت إلى داخل أنابيب أبندروف محتوية على غليسيرول بتركيز نهائي 25%، ثم حفظت هذه السلالات بدرجة حرارة 20^oC- لحين استخدامها في التجارب المخبرية.

3-عزل الجراثيم من مياه البحر:

أخذت بوساطة ماصة ميكروبيبت كميات (200 µl) من عينات المياه البحرية ووضعت داخل أطباق بتري (الحاوية على مزيج من وسط الآغار المغذي مع مياه جفت معقمة بنسب (10، 20، 30، 40 و 50)% ثم نشرت على كامل سطح الوسط داخل الأطباق، وحضنت هذه الأطباق بدرجة حرارة 37^oC لمدة 5 أيام.بعد ذلك تم اختيار مستعمرتين مختلفتين حجماً وشكلاً من الطبق الحاوي على تركيز % 50 من مياه الجفت (باعتمادها كسلالات جرثومية قادرة على تحمل تراكيز مرتفعة من مياه الجفت وفي الوقت ذاته تبدي كفاءة عالية في عمليات التخمر المطبقة عليها)، أعطيت لكل مستعمرة رمز : رمزت الأولى بـ X3 والثانية بـ Z3، وباستخدام اللاقحة الجرثومية نقلت كل من هذه المستعمرات إلى وسط مغذي سائل كلٌ على حده، ثم حضنت بدرجة حرارة 37^oC لمدة 48h. بعد ذلك حفظت هاتين السلالتين بالغليسرول 25% وبدرجة حرارة 20^oC- لحين استخدامها في التجارب المخبرية.

❖ **التجارب المخبرية:**

أ- تجارب السلالات الممرضة :

تم تحضير حجم معين من المرق المغذي (Nutrient broth)، كما تم وضع 500 ml من عينة مياه الجفت الخام غير الممدة في أرلنماير سعة 1l، و تعقيم كلاً منهما بالأوتوكلاف بدرجة حرارة 121^oC لمدة 15min. عُقمت مياه الجفت بهدف القضاء على الأحياء الدقيقة الموجودة فيها، وبالتالي ضمان أن المعالجة الحيوية لن تتم إلا من قبل الجراثيم المضافة إليها في هذه الدراسة [33]. بعد انتهاء التعقيم وداخل غرفة الزرع الجرثومي تم القيام بالتجارب التالية:

أخذت 6 عبوات زجاجية عاتمة سعتها 110ml وغسلت جيداً بالماء والصابون ثم بحمض كلور الماء (10%) ثم بالماء المقطر وعقمت بالأوتوكلاف بدرجة حرارة 121^oC لمدة 15min، من اجل استخدامها في التخمر اللاهوائي ووزعت إلى مجموعتين كل مجموعة مؤلفة من ثلاث عبوات و هذه العبوات تحوي :

العبوة الأولى: مزيج (مياه جفت + وسط مغذي سائل) بتركيز 7.5% مياه جفت

العبوة الثانية: مزيج (مياه جفت + وسط مغذي سائل) بتركيز 12.5% مياه جفت

العبوة الثالثة: مزيج (مياه جفت + وسط مغذي سائل) بتركيز 17.5% مياه جفت

وبعد ذلك ضبطت قيم الـ pH في كل العبوات، عند قيمة تساوي 7.2 باستخدام محلول هيدروكسيد الصوديوم (NaOH)، ثم أضيفت إلى عبوات المجموعة الأولى كمية من مزرعة السلالة الجرثومية *Salmonella sp.* في مرحلة

نموها الأسي (المعروفة مسبقاً من خلال التجارب التحضيرية) في الوسط المغذي السائل وبتركيز % 10. في حين أن عبوات المجموعة الثانية تُركت كشاهد. ثم أُغلقت عبوات المجموعتين جميعها بعد ما مُلئت تماماً، و حُضِنَت عند الدرجة $37^{o}C$ لمدة 30 يوم.

تم اعتماد الطريقة السابقة ذاتها لكن مع استبدال السلالة الجرثومية *Salmonella sp.* بالسلالة *Pseudomonas sp.* مع تطبيق ذات الشروط.

ب- تجارب السلالات المعزولة من المياه البحرية:

تم استخدام سلالتين جرثوميتين (X3، Z3) بحريتين لمعالجة تراكيز مختلفة لمياه الجفت في التجارب اللاحقة (اعتماداً على ما ذكر سابقاً) علماً أن هاتين السلالتين تم عزلهما من وسط استنبات حاوي على مياه جفت بتركيز 50%، ولذلك اعتُمدت تراكيز مختلفة (15، 35 و 50)% من مياه الجفت لبيان مدى فعالية هذه الجراثيم في معالجة مياه الجفت عند التراكيز ذاتها.

لإجراء التجارب فقد تم تحضير حجم معين من الوسط المغذي السائل، ثم وضع 500ml من عينة مياه الجفت الخام غير الممدة في أرلنماير سعة 1l وتم تعقيم كلاً منهما بالأوتوكلاف، وداخل غرفة العزل تم القيام بالتجارب التالية:

كما هو الحال في التجربة الأولى أخذت 6 عبوات زجاجية عاتمة سعتها 110ml من أجل استخدامها في التخمر اللاهوائي على الشكل التالي:

حيث وزعت إلى مجموعتين كل مجموعة مؤلفة من ثلاث عبوات على النحو التالي:

العبوة الأولى: تحتوي مزيج (مياه جفت + وسط مغذي سائل) بتركيز 15% مياه جفت.

العبوة الثانية: تحتوي مزيج (مياه جفت + وسط مغذي سائل) بتركيز 35% مياه جفت.

العبوة الثالثة: تحتوي مزيج (مياه جفت + وسط مغذي سائل) بتركيز 50% مياه جفت.

وبعد ذلك ضبطت قيم الـ pH، في جميع عبوات المجموعتين، عند قيمة تساوي 7.2 ثم أضيفت إلى عبوات المجموعة الأولى كمية من مزرعة السلالة البكتيرية البحرية X3 في مرحلة نموها الأسي النامية في الوسط المغذي السائل وبتركيز % 10. في حين أن عبوات المجموعة الثانية تُركت، بدون إضافة جراثيم كشاهد. ثم أغلقت عبوات المجموعتين جميعها بعد ما مُلئت تماماً، و حُضِنَت عند الدرجة $37^{o}C$ لمدة 30 يوم.

و بنفس طريقة و شروط التجربة السابقة أجريت التجربة مع السلالة الجرثومية البحرية Z3 بدلاً من X3.

❖ **القسم الكيميائي :**

مرحلة الاستخلاص والتقطير :

1. أخذ حجم (50ml) من كل عينة من عينات التخمر في التجارب السابقة،بعد انتهاء فترة الحضن(30 يوماً)، و تقطيره عند درجة حرارة ($79^{o}C$).

2. حُفظت العينات الكحولية المستخلصة في عبوات بلاستيكية معقمة ومحكمة الإغلاق عند الدرجة $4^{o}C$ لحين التحليل.

مرحلة التحليل بالكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء :

(HPLC :High PerformanceLiquid chromatography)

تم تحليل الخلاصات الكحولية الناتجة للعينات المتخمرة باستخدام جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء نوع Jasco، المكشاف المستخدم: Jasco UV-290، المضخة رباعية القناة نوع Jasco UV-980.

تم اعتماد الشروط التحليلية التالية :

- الطور المتحرك : أسيتونتريل : ماء ثنائي التقطير(60:40v/v)
- طول الموجة: 240nm
- التدفق : 1m/min
- العمود : (25 x0.46)cm
- الطور الثابت : ODS
- درجة حرارة الفرن: $35^{o}C$
- نظام التحليل : مزيج الطور المتحرك ثابت خلال زمن التحليل

حقنت الستاندرات وهي محاليل عيارية للميتانول و ايتانول عالية النقاوة من شركة ميرك وبعدها حقنت الخلاصات الكحولية للعينات .

تم التحليل الكيفي بمقارنة أزمنة احتفاظ الميتانول و الايتانول بالعينة مع أزمنة احتفاظ هذين الكحولين في محاليلها العيارية، ومن ثم تم حساب تراكيز كل من الميتانول و الايتانول في الخلاصات الكحولية للعينات المتخمرة، الحاوية على مياه جفت بتراكيز مختلفة باستخدام جراثيم متنوعة ممرضة (*Salmonella sp.*، *Pseudomonas sp.*) وجراثيم بحرية (X3، Z3)، وذلك باستخدام العلاقة التالية:

$$C\ [\mu g/l] = Rf \times Area \times V_{ext} / V_{inj} \times V$$

Rf: عامل الاستجابة **Area**: مساحة قمة الكحول في العينة.

V_{ext}: حجم الخلاصة الكحولية النهائية. V_{inj}: حجم العينة المحقونة في جهاز HPLC (20µl)

V: حجم عينة مياه الجفت التي تم تخميرها (بـ l).

النتائج والمناقشة :

أظهرت نتائج معالجة مياه الجفت باستخدام سلالات جرثومية ممرضة *Salmonella sp.* و *Pseudomonas sp.* وسلالات جرثومية معزولة من مياه بحرية X3 و Z3 ، بعد إجراء التحاليل على جهاز الكروماتوغرافيا السائلة (HPLC)، وجود اختلاف وتباين في تراكيز الميتانول والايتانول الناتجين عن عملية التخمر، مع اختلاف نوع الجراثيم و تراكيز مياه الجفت المستخدمة في وسط التخمر، جدول (1).

بالنسبة لجراثيم *Salmonella sp.*، أظهرت نتائج تخمر تراكيز مختلفة لمياه الجفت، ارتفاع تركيز الميتانول (5658.308µg/l) مع انخفاض تركيز مياه الجفت في وسط التخمر (7.5%)، مقارنة مع الايتانول (UL: Under Limited). في حين أن ارتفاع تركيز مياه الجفت (17.5%) أدى إلى انخفاض تركيز الميتانول وارتفاع تركيز الايتانول (165.139µg/lو49.132µg/l) على التوالي،جدول (1).

أما بالنسبة لجراثيم *Pseudomonas sp.*، فقد أظهرت فعالية واضحة في إنتاج الميتانول و الايتانول عند تراكيز مختلفة لمياه الجفت، فعند تركيز (7.5%) لمياه الجفت أعطت هذه الجرثومة أدنى تركيز للكحولين (67.344µg/l، 18.855µg/l) على التوالي. في حين ارتفعت تراكيز كل من الميتانول والايتانول (603.765µg/l، 688.71µg/l) على التوالي مع ارتفاع تركيز مياه الجفت 17.5%.

بينت نتائج تخمر مياه الجفت باستخدام كل من جراثيم *Salmonella sp.* و *Pseudomonas sp.* ارتفاع تراكيز الايتانول عند التركيز 17.5%، وهذا ما يؤكد على فعالية هذه الجراثيم عند هذا التركيز.

في حين كان هناك اختلاف في تركيز الميتانول الناتج عن عمليات تخمر مياه الجفت باستخدام جراثيم *Salmonella sp.* و *Pseudomonas sp.* حيث انخفضت تراكيز الميتانول مع زيادة تركيز مياه الجفت في وسط التخمر باستخدام جراثيم الـ *Salmonella sp.*، بينما ارتفعت تراكيز الميتانول مع زيادة تراكيز مياه الجفت باستخدام جراثيم الـ*Pseudomonas sp.*.

الجدول (1): النسب المئوية وتراكيز كل من الميتانول و الايتانول الناتجة عن عمليات تخمر تراكيز مختلفة لمياه الجفت بوساطة الجراثيم *Salmonella sp.* و *Pseudomonas sp.*

نوع الجراثيم	المزيج	الميتانول%	تركيز الميتانول (µg/L)	الايتانول %	تركيز الايتانول (µg/L)
Salmonella sp.	مياه جفت معقمة : وسط مغذي سائل تركيز % 7.5	2.14	5658.308	7.04	UL
Salmonella sp.	مياه جفت معقمة : وسط مغذي سائل تركيز% 12.5	7.88	1401.044	–	UL
Salmonella sp.	مياه جفت معقمة : وسط مغذي سائل تركيز % 17.5	5.16	164.139	3.44	49.132
Pseudomonas sp.	مياه جفت معقمة : وسط مغذي سائل تركيز% 7.5	12.01	67.344	6.23	18.855
Pseudomonas sp.	مياه جفت معقمة : وسط مغذي سائل تركيز % 12.5	0.71	UL	1.79	UL
Pseudomonas sp.	مياه جفت معقمة : وسط مغذي سائل تركيز % 17.5	3.69	603.76	4.14	688.71

UL: under limited

كما بينت نتائج تجارب الجراثيم التي تم عزلها من مياه البحر عن وجود علاقة طردية بين ارتفاع تراكيز مياه الجفت في وسط التخمر (15 ,35 , 50) % مع ارتفاع تراكيز الميتانول بالنسبة للجرثومة X3 (UL، 130.406µg/l، 1353.244µg/l) على التوالي، على عكس الايتانول الذي كان تحت حدود الكشف (UL)، جدول (2).

أما بالنسبة للسلالة الجرثومية Z3 أبدت فعالية واضحة لإنتاج كل من الميتانول (872.333µg/l، 1776.852µg/l) والايتانول (660.334µg/l، 593.451µg/l) عندما كان تركيز مياه الجفت (15%، 35%) على التوالي جدول (2). أما عند تركيز 50% لمياه الجفت في وسط التخمر فقد تراجعت هذه الفعالية، وبلغ تركيز

الميتانول (330.417µg/l) والايتانول تحت حدود الكشف، الأمر الذي يبين التأثير السلبي للتراكيز المرتفعة لمياه الجفت على هذه الجرثومة.

الجدول (2): النسب المئوية و تراكيز كل من الميتانول و الايتانول الناتجة عن عمليات تخمر تراكيز مختلفة لمياه الجفت بوساطة الجراثيم البحرية X3 و Z3.

نوع الجراثيم	المزيج	الميتانول%	تركيز الميتانول (µg/L)	الايتانول %	تركيز الايتانول (µg/L)
مستعمرة جراثيم X3	مياه جفت معقمة: وسط مغذي سائل تركيز % 15	11.34	UL	6.43	UL
مستعمرة جراثيم X3	مياه جفت معقمة: وسط مغذي سائل تركيز% 35	7.27	130.406	2.84	UL
مستعمرة جراثيم X3	مياه جفت معقمة : وسط مغذي سائل تركيز % 50	1.41	1353.244	1.15	UL
مستعمرة جراثيم Z3	مياه جفت معقمة: وسط مغذي سائل تركيز % 15	14.23	872.333	11.98	660.334
مستعمرة جراثيم Z3	مياه جفت معقمة: وسط مغذي سائل تركيز % 35	18.31	1776.852	9.84	593.451
مستعمرة جراثيمZ3	مياه جفت معقمة: وسط مغذي سائل تركيز% 50	9.6	330.417	6.57	UL

UL: under limited

الاستنتاجات والتوصيات:

- ✓ سُجلت أعلى تراكيز للميتانول عند معالجة مياه الجفت بتركيز 7.5% باستخدام جراثيم الـ*Salmonellasp*، كما سجلت أعلى تراكيز لكل من الايتانول و الميتانول عند تركيز مياه الجفت 17.5% باستخدام جراثيم الـ*Pseudomonas sp*.
- ✓ سجلت أعلى تراكيز للميتانول والايتانول في عينات مياه الجفت عند التركيز 15% و 35% و المتخمرة باستخدام جراثيم بحرية (X3 و Z3).
- ✓ تغيرت تراكيز الميتانول والايتانول الناتجة بتغير نوع الجراثيم و تراكيز مياه الجفت المستخدمة في عملية التخمر.
- ✓ الاستمرار في مثل هذه الأبحاث لما لها من مساهمة فعالة في تخفيف العبء البيئي الذي تسببه مياه الجفت من جهة، وإنتاج مواد قيِّمة يمكن الاستفادة منها في نواحي مختلفة (صناعية، طبية، صيدلانية ووقود حيوي) من جهة أخرى.
- ✓ تركيز الأبحاث العلمية على عزل جراثيم من أوساط بيئية متنوعة قادرة على تحمل تراكيز مرتفعة من مياه الجفت، وتبدي في الوقت ذاته كفاءة عالية في عمليات المعالجة الحيوية (هوائية و لاهوائية) .

المراجع :

[1]- LA CARA, F., IONATA, E., MONACO, G., MARCOLONGO, L., GONCALVES,M. R., MARQUES,I.P. *Olive mill wastewater anaerobically digested : phenolic compounds with antiradical activity* .Chemical engineering transactions .Vol. 27, 2012 ,325-330

[2]- INTERNATIONAL OLIVE OIL COUNCIL (IOOC), Provisional data of Olive Oil production, November 2010.www.intrrnationaloliveoil.org, Accessed November 2011

[3]- TZIOTZIOS, G., MICHAILAKIS, S., VAVENAS, D.V.) *Aerobic biological treatment of olive mill wastewater by olive pulp bacteria*.IntBiodeter Biodegradation. Vol.60, 2007, 209–214

[4]- KILL, F. AND EROL,A.*Effects of the olive oil mill process on germination and early seedling growth of grasspea (Lathirussativus L.), common vetch (Vicia sativa L.) And hairy vetch (Viciavillosa Roth) seeds* .Journal of Environmental Biology India,Vol.27, N°.2, 2006, 207-210.

[5]- NIAOUNAKIS,M. AND HALVADAKIS, C.P. *Olive processing waste management* literature review and patent survey.2th.ed.,Elsevier:Waste Management Series, Amsterdam.Vol.5, 2006, 23-64

[6]- PARASKEVA, P., DIAMADOPOULOS,E. *Technologies for olive mill wastewater (OMW) treatment*, A review. Journal Chemistry Technology Biotechnology ,Vol. 81, 2006 , 475-1485 .

[7]- BECCARI, M.; BONEMAZZI, F.; MAJONE, M.; RICCARDI,C. *Interaction between acidogenesis and methanogensis in the anaerobic treatment of olive oil mill effluents* . Water Research. Vol. 30 , N°.1 , 1996 ,183-189

[8]- RAMOS-CORMENZANA, A.; JUÁREZ-JIMÉNEZ , B.; GARCIA-PAREJA , M.P. *Antimicrobial activity of olive mill waters (Alpechin) and biotransformedolive oil mill wastewater*. Elsevier Science Limited, International Biodeterioration& Biodegradation Great Britain , 1996, 283-290 .

[9]- ANASTASIOU,C.C.; CHRISTOU, P.; MICHAEL, A.; NICOLAIDES, D.; LAMBROU, T.P. *Approaches to olive mill wastewater and disposal in Cyprus*. Environmental Research Journal. Vol. 5, N°.2,2011,49-134.

[10]- CHRISTOPHER, J.; NAMARA, Mc.; ANASTASIOU, C.C.;O'FLAHERTY, V.; MITCHELL,R. *Bioremediation of olive mill wastewater*. Elsevier J., International Biodeterioration& Biodegradation .Vol. 61, 2008,127-134.

[11]- SIERRA, J., MARTI , E., MONTSERRAT ,G., CRUAAS ,R., GARAU ,M.A. *Characterization and evolution of a soil affected by olive oil mill wastewater disposal*. Sci Total Environ .Vol. 279, 2001 , 207-214 .

[12]- PIOTROWSKA, A., IAMARINO, G., RAO,M.A., GIANFREDA ,L. *Short-term effect of olive mill wastewater (OMW) on chemical and biochemical properties of a semiarid Mediterranean soil*. Soil BiolBiochem. Vol. 38 , 2006 ,600-610.

[13]- ABDINE, M., ALLAK, H., NUS, 1, B. E., NIGRO, F., CATALANO, L. AND DIGIARO, M. Phytosanitary Aspects and Nursery Production of Olive in Syria: pitfalls and perspectives Options MéditerranéennesSérieA n. 73 Syrian National Strategic Plan for Olive Oil Quality Final Report. 2007

[14]- HEGAZI,N.A.; ALI, M. S.; NOUR, E.; FAYEZ, M.; MONIB ,M. *The reuse of olive oil mill wastewater (alpechin) as a culture medium for bacterial growth and biomass production required for the preparation of biofertilizers*. 4th Conference on Recent Technologies in Agriculture, 2009 ,906-917

[15]- FERNANDEZ-BOLANOS, J., RODRIGUEZ, G., RODRIGUEZ, R., GUILLEN, R. &JIMENEZ, A. *Extraction of interesting organic compounds from olive oil waste*. Grasas y Aceites.Enero-marzo. VOL.57, NO.1, 2006,95-106

[16]- MARTILOTTI, F. *Use of olive by-products in animal feeding in Italy*. Animal production and health division, FAO, Rome**,** 1983.

[17]- RAMOS-CORMENZANA, A., MONTEOLIVA-SANCHEZ, M. &LOPEZ, M. J. *Bioremediation of Alpechin*. Elsevier Science Limited,1995, 249-268.

[18]–خولاني إباء و مالو أحمد. *استخدام مخلفات معاصر الزيتون في استحصال مصادر بروتينية غذائية* . مجلة جامعة دمشق للعلوم الأساسية ، المجلد (28) ، العدد الأول ، 2012؛ 345–360 .

[19]- NIAOUNAKIS,M. AND HALVADAKIS, C.P. *Olive-mill waste management* literature review and patent survey. Typothito-George Dardanos , Athens, 2004 , ISBN:960-402-123-0.

[20]- MARTIN, A., BORJA, R., GARCIA, J. & FIESTAS, J. A. *Kinetics of methane production from olive mill waste water*. Process Biochemical. N°. 26, 1991, 101-107.

[21]–ناصر أميمة ؛ كبيبو عيسى ؛ شاهين هيثم ؛ نصور عبد الله . *معالجة المخلفات الناتجة عن معاصر الزيتون باستخدام الجراثيم* . مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية ، المجلد(24) ، العدد(2) ، 2008، 269–287.

[22]- WAEHNER, R.S., MENDEZ, B.A., & GIOLIETTI, A. M. *Olive black water as raw material for butanol production*. Biological wastes.N°. 23, 1988 , 215-220.

[23]- BOMBALOV, G.; ISRAILIS, C. & TANCHEN, S. *Alcohol fermentation in olive extraction effluent*. Biological Wastes. N°. 27, 1989, 71-75.

[24]- MASSADEH, M. I., and MODALLAL, N. *Ethanol Production from Olive Mill Wastewater (OMW) Pleurotussajor-caju* . American Chemical Society , 2007,1-5.

[25]- MORILLO, J.A. ; ANTIZAR-LADISLAO, B. ; MONTEOLIVA-SÁNCHEZ, M.; RAMOS-CORMENZANA, A. ; RUSSELL, N. J. *Bioremediation and biovalorisation of olive-mill wastes*. ApplMicrobiolBiotechnol .Vol. 82 , 2009 ,25-39 .

[26]- MANTZAVINOS, D., KALOGERAKIS,N. *Treatment of olive mill effluents* . Part I. Organic matter degradation by chemical and biological processes-an overview. Environ In .Vol.31, 2005, 289-295.

[27]- MARTINEZ-GARCIA, G.; WILLIAMS, C.J.; BURGOYNE, A.; EDYVEAN, R.G.J. Aerobic treatment of Alpechin by Candidatropicalis,2003. http://www.expoliva.com/expoliva2003/simp osium/comunicaciones/Tec-18-Texto.pdf

[28]- BORJA, R.; GARRIDO, E.S.; MARTINEZ,L.; CORMENZANA, R.A. MARTIN, A. *Kinetic study of anaerobic digestion of olive mill wastewater previously fermented with Aspergillusterreus* . Process Biochemistry . Vol.28, 1993, 397-404.

[29]- MARQUES, I.P. *Valorisation of polluters resources by anaerobic digestion . Olive mill wastewater and piggery effluent*.(In Portuguese) ,PhD. Technical University, Instituto Superior Técnico, Lisbon. 2000,200 .

[30]- MARQUES, I.P. *Anaerobic digestion treatment of olive mill wastewater for effluent reuse in irrigation*. Desalination. Vol. 137,2001,233-239.

[31]- SAMPAIO, M.A.; GONÇALVES, M.R.; MARQUES, I.P..*Anaerobic digestion challenge of raw olive mill wastewater* .Bioresour. Technol. Vol. 102, N°.23,2011,10810-18[doi:10.1016/j.biortech.2011.09.001]

[32]- GONÇALVES, M.R.; FREITAS, P.;MARQUES, I.P. *Bioenergy recovery from olive mill effluent in a hybrid reactor* . Biomass and Bioenergy. Vol.39, 2012 , 253-260 .

[33]- PEIXOTO, F. ; MARTINS, F, ; AMARA, C. ; GOMES-LARANJO, J. ; ALMEIDA. J.; PALMEIRA, C.M. *Evaluation of olive oil mill wastewater toxicity on mitochondrial bioenergetics after treatment with Candida oleophila*.Ecotoxicology and Environment Safely. 70, 2008 , 266-175.