مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (33) العدد (2) 2011
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (33) No. (2) 2011

دراسة أولية لمعالجة المخلفات السائلة لمعاصر الزيتون (ماء الجفت) باستخدام بعض الأحياء الدقيقة

الدكتور عيسى كبيبو*
الدكتور تميم عليا**

(تاريخ الإيداع 11 / 11 / 2010. قبل للنشر في 2 / 5 / 2011)

□ ملخّص □

هدف هذا البحث إلى عزل سلالات من الأحياء الدقيقة المحلية القادرة على تفكيك المركبات الفينولية الموجودة في ماء الجفت. تم عزل الأحياء الدقيقة اللاهوائية من كل من ماء الجفت والتربة المشبعة بماء الجفت. اختبرت قدرة الأحياء الدقيقة المعزولة على تفكيك المركبات الفينولية، وذلك من خلال زرعها في أوساط زرعية تحتوي مركبات فينولية توجد بشكل شائع في ماء الجفت.

حضرت أوساط زرع جرثومية تحتوي على 300mg/l من حمض الكافيك وحمض البروتوكاتيويك كل بمفرده وعند قيمتين لـpH 5.5 و7.0، وتمت عملية الحضن لمدة 24 ساعة عند درجتي حرارة 25°C و35°C. أظهرت النتائج أن الأحياء الدقيقة المعزولة قادرة على خفض المركبات الفينولية من التركيز الابتدائي 300mg/l إلى تراكيز منخفضة. تم اختيار أربع عزلات تميزت بقدرتها الكبيرة على تفكيك المركبات الفينولية وتم اختبار قدرتها على تفكيك كل من المركبات الفينولية الثمانية المدروسة بشكل منفرد (Caffeic acid, Protocatechuic acid, Feruulic acid, Vanilic acid, Cinnamic acid, Syringic acid, Syring aldehyde, Gallic acid) في أوساط مائية. تم تحديد كمية المركبات الفينولية المتبقية في أوساط الزرع بعد يوم وبعد ثلاثة وخمسة أيام من بدء الحضن. أظهرت النتائج أنه يمكن للأحياء الدقيقة المعزولة أن تخفض المركبات الفينولية بعد خمسة أيام من الحضن بنسبة تتراوح بين 60–93% وهذه النسبة تختلف تبعاً لنوع العزلة ونوع المركب الفينولي.

الكلمات المفتاحية: ماء الجفت، التقانة الحيوية، الجراثيم اللاهوائية، المركبات الفينولية.

* أستاذ – قسم علوم التربة والمياه – كلية الزراعة – جامعة تشرين – اللاذقية – سورية.
** أستاذ مساعد – قسم الكيمياء البيئية – المعهد العالي لبحوث البيئة – جامعة تشرين – اللاذقية – سورية.

مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (33) العدد (2) 2011
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (33) No. (2) 2011

Primary study for treatment of olive mills waste water (OMWW) by using some microorganisms

Dr. Issa Kbaybu[*]
Dr. Tamim Alia[**]

(Received 11 / 11 / 2010. Accepted 2 / 5 /2011)

□ ABSTRACT □

This study aims to isolate local strain of microorganisms that can degrade the phenolic compounds existent in the olive mills waste water (OMWW). The anaerobic microorganisms are isolated from (OMWW) and from soil saturated with (OMWW). The isolated microorganism are assayed for its ability to degrade the phenol compounds by incubation in cultures. Each one contains one of the main two phenolic compounds (Caffeic acid and Protocatechuic acid) commonly found in (OMWW). The pH of culture is 5.5 (pH of OMWW) and 7.0, and the incubation is carried out at 25°C and 35°C. The results indicate that in 24 hrs of incubation the microorganisms are able to reduce the phenol concentration from 300 mg/l to low limits. Four strains of higher ability to degrade the phenolic compounds are selected to assay its ability to degrade eight phenolic componds (Caffeic acid, Protocatechuic acid, Feruulic acid, Vanilic acid, Cinnamic acid, Syringic acid, Syring aldehyde, Gallic acid) in liquid medium with the phenolic compounds as single substrates. The residual phenolic compounds in the culture are determined after 1, 3 and 5 days of incubation. The results indicate that in 5 days of incubation the isolated microorganisms are able to degrade 60-93% of phenolic compounds according to the microorganisms strains and phenol compounds respectively.

Keywords: Olive Mills Waste Water (OMWW), Biotechnology, Anaerobic bacteria, phenolic compounds.

[*] **Professor, Soil and Water Science Department, Agriculture Faculty, Tishreen University, Lattakia, Syria.**
[**] **Associate Professor, Environmental Chemistry, Higher Institute for Environmental Researches, Tishreen University, Lattakia, Syria.**

مقدمة:

يُعدّ إنتاج زيت الزيتون من أقدم الصناعات الزراعية، حيث ارتبط استخلاص واستخدام زيت الزيتون بحضارات منطقة البحر المتوسط منذ أكثر من 6000 سنة. ما تزال هذه الصناعة حتى يومنا هذا هامة اقتصادياً للعديد من البلدان المتوسطية. الإنتاج العالمي السنوي لزيت الزيتون هو حوالي 1.5–1.9 مليون طن/عام. 95% من أشجار الزيتون في العالم موجودة في منطقة البحر الأبيض المتوسط التي تمثل 97% من المساحات المزروعة عالمياً [1]. تحتل سورية المركز الخامس في إنتاج زيت الزيتون بعد كل من إسبانيا، إيطاليا، اليونان، وتونس. وتعد شجرة الزيتون مورداً متجدداً وخياراً زراعياً واستراتيجياً لجزء كبير من الأراضي في المناطق الجافة وشبه الجافة في سورية. وينتج حالياً أكثر من 30 مليون متر مكعب من المخلفات الصلبة والسائلة الناتجة عن عصر الزيتون، تختلف نوع ونسب مكوناتها وفق عوامل مختلفة مثل طبيعة عمليات المعالجة، ونوع الزيتون، والمنطقة بحسب عمليات الفلاحة والزراعة، وزمن الحصاد ومرحلة النضج....الخ [1].

يتميز ماء الجفت بمجموعة من المواصفات التي تجعله ملوثاً للبيئة في حال وصوله إلى الأوساط البيئية المختلفة بشكل غير مدروس، من هذه المواصفات كونه حمضي حيث تتراوح قيمة pH بين 3 – 5.9، إضافةً إلى احتوائه على نسبة عالية من الملوثات الصلبة والملوثات العضوية حيث تصل قيمة COD* إلى 220 g/l، إضافة إلى كونه صعب التحلل حيث تتراوح النسبة COD/BOD_5§ بين 2.5– 5 [2]. ويُعدّ احتواء ماء الجفت على نسبة عالية من الفينولات التي تتميز بسميتها للأحياء الدقيقة من أهم المشاكل البيئية المتعلقة بمعالجة هذه المخلفات السائلة واستخدامها في المجالات المختلفة [3، 4، 5، 6].

على الرغم من تعدد التقنيات المستخدمة لمعالجة ماء الجفت مثل التجفيف والمعالجات الحرارية والترشيح والأكسدة والمعالجات الحيوية وغيرها من المعالجات إلا أنه ما يزال يشكل مشكلة بيئية تعاني منها العديد من دول حوض البحر المتوسط [1، 6، 7، 8، 9، 10]. وتناولت العديد من الأبحاث إمكانية الاستفادة من دمج هذه التقنيات في معالجة ماء الجفت مثل عمليات الأكسدة بالأوزون والأشعة فوق البنفسجية إضافة إلى التحلل بوساطة الأحياء الدقيقة، وتبين أن استخدام الأحياء الدقيقة هو الأكثر فاعلية في عمليات التفكيك [9، 11، 12، 13]. بالمقابل تركزت العديد من الدراسات الحديثة على استخدام الأحياء الدقيقة في معالجة ماء الجفت وخاصة الأحياء الدقيقة التي لها قدرة على تفكيك المركبات الفينولية الموجودة في ماء الجفت والتي يمكن أن تؤثر سلباً في الأحياء الدقيقة الموجودة في التربة عند استخدام ماء الجفت للري دون معالجة [9، 14، 15، 16، 17، 18، 19].

توصلت الدراسات المختلفة إلى الاستفادة من العديد من الأحياء الدقيقة التي تنمو في ماء الجفت مثل بعض أجناس *Acinetobacter, Pseudomonas and Enterobacter* و *Phanerochaete Chrysosporium* وبعض الخمائر مثل *Candida lypolitica* و*Candida tropicalis* من خلال استخدامها كمرحلة أولى تفيد في تحضير ماء الجفت للهضم اللاهوائي [20، 21، 22، 23]. كما أجريت دراسة لتحديد قدرة بعض الخمائر على تفكيك المركبات العضوية الموجودة في ماء الجفت وخاصة المركبات الفينولية حيث استخدمت خمائر *Candida rugosa, Yarrowia Candida cylindracea and lipolytica.* وتوصلت الدراسة إلى أن النوع *Candida*

* الاحتياج الكيميائي للأكسجين COD: Chemical Oxygen Demand

§ الاحتياج البيولوجي للأكسجين خلال خمسة أيام BOD_5: Five days Biochemical Oxygen Demand

cylindracea هو الأفضل من ناحية خفض قيمة COD وكمية المركبات الفينولية في ماء الجفت. كما أظهرت الدراسة أن تفكيك المركبات الفينولية يكون أصعب عند وجود مركبات عضوية أخرى أكثر قابلية للتفكك [24].

فقد تم دراسة تأثير المعالجة الهوائية لماء الجفت بفطر *Aspergillus terreus* كمعالجة أولية تسبق المعالجة اللاهوائية، وتم مقارنة نتائج التحلل اللاهوائي لماء الجفت الذي خضع لهذه المعالجة الأولية مقارنة بتحلل ماء الجفت لاهوائياً دون استخدام الفطر المذكور، وتبين أن استخدام المعالجة الأولية بالفطر المذكور يزيد من إنتاج الغاز الحيوي كما يزيد من فاعلية السماد الناتج عند استخدامه في تسميد النباتات [25، 26].

كما اختبرت قدرة سلالات عديدة من الأحياء الدقيقة (الفطور، الخمائر والجراثيم) على تفكيك المركبات الفينولية في ماء الجفت وخفض سميته، شملت عدداً من الجراثيم (كانت *Bacillus pumilus* هي السلالة الأكثر ظهوراً تلقائياً في الوسط) وعدداً من الخمائر المختلفة وكان من أهمها جنس *Candida*. إضافة إلى بعض الفطريات مثل *Aspergillus sp* و*Penicillium sp.* و*Lentinula edodes* [9، 18، 19، 27، 28].

بينت إحدى الدراسات التي اهتمت باستخدام الفطور في تحلل المركبات الفينولية الموجودة في ماء الجفت بشكل مباشر، أو بعد فصلها بواسطة نشارة الخشب، تبين أنه يمكن خفض كمية الطلب الكيميائي للأكسجين COD بنسبة وصلت إلى 70% كما يمكن خفض الفينولات بنسبة وصلت إلى 62% [29]. كما بينت دراسات مختلفة أنه يمكن باستخدام فطور *Geotrichum candidum Aspergillus niger; Aspergillus awamori* خفض المواد الملونة والمحتوى العضوي من المواد المختلفة بنسب مختلفة تبعاً لكل دراسة. فقد تراوحت نسبة خفض المواد الملونة في ماء الجفت ضمن المجال 50 - 69% بينما تراوح خفض كمية الأكسجين المطلوب كيميائياً COD بنسبة تراوحت ضمن المجال 60–78% [30، 31، 32، 33].

في دراسة على معالجة المخلفات التي يمكن الحصول عليها عند استخلاص زيت الزيتون بطريقة استخلاص ثنائية الطور، تم عزل وتطوير أجناس جراثيم من جنس *Azotobacter* تنمو بشكل جيد في الماء الناتج عن عصر الزيتون، وقادرة على تحويل المخلفات إلى سماد عضوي ومادة مفيدة للتربة [1، 34].

أهمية البحث وأهدافه:

إن ظهور مشكلة التلوث بماء الجفت التي طرحت في السنوات الأخيرة كمشكلة بيئية ملحة دفع وزارة الزراعة لإصدار تشريع يسمح باستخدام هذه المياه في الري على الرغم من المشاكل التي يمكن أن تنتج عن مثل هذا التشريع عند تطبيقه بشكل غير مدروس بسبب التأثير السمي لماء الجفت على الأحياء الدقيقة في الترب الزراعية [4، 5]. وعلى الرغم من النتائج التي تم التوصل إليها على المدى القصير من التأثير الإيجابي لماء الجفت في نمو بعض الأشجار المروية به [35]. إلا أن ذلك لا ينفي التأثير السمي لتراكم المركبات السامة الموجودة في ماء الجفت في التربة عند استخدام هذا الماء مباشرة دون معالجته لتخليصه من المركبات الفينولية السامة. ومن هنا كان الهدف من هذا البحث دراسة إمكانية تخليص ماء الجفت من المركبات الفينولية التي تلعب دوراً سلبياً في التربة والمسطحات المائية التي تصل إليها المخلفات الثانوية السائلة لمعاصر الزيتون (ماء الجفت). من خلال عزل بعض أنواع الأحياء الدقيقة القادرة على تفكيك المركبات الفينولية للوصول إلى تراكيز غير ملوثة للمسطحات المائية والتربة.

من الأهداف الرئيسية للبحث عزل عدد من السلالات المحلية القادرة على تفكيك المركبات الفينولية الموجودة في مياه الجفت وتصنيف هذه السلالات ليصار إلى إكثارها واستخدامها في تفكيك المركبات الفينولية الموجودة في المياه قبل استخدام هذه المياه في ري التربة الزراعية.

طرائق البحث ومواده:

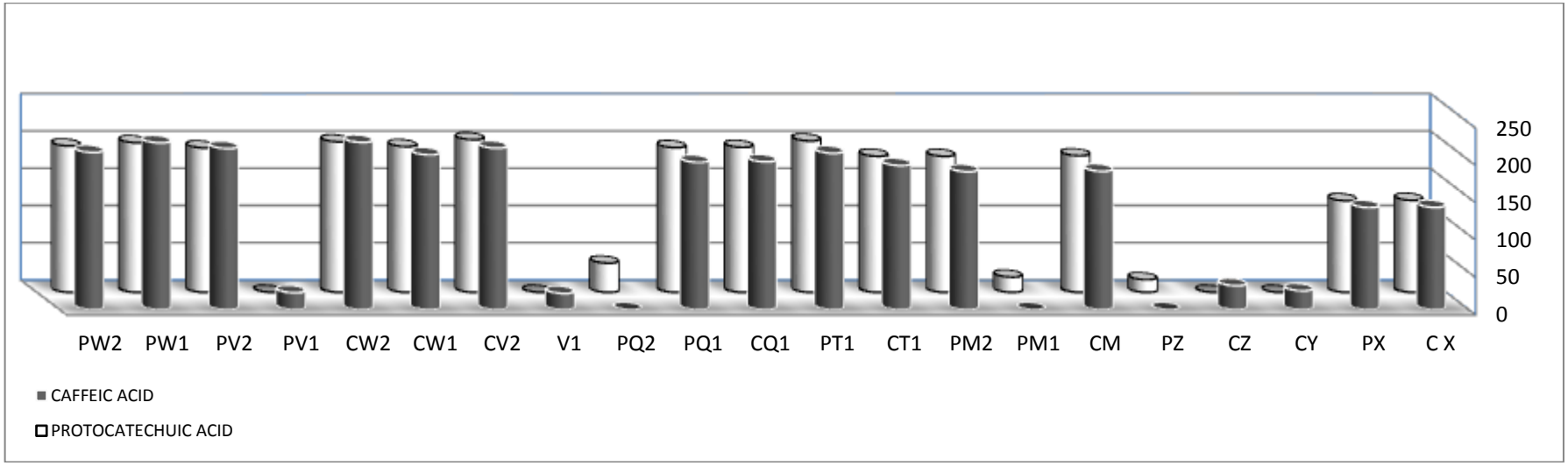
- تم تقدير الفينولات الكلية في الأوساط المغذية قبل مرحلة التحضين وخلالها باستخدام جهاز السبيكتروفوتومتري [36].
- للحصول على العزلات الجرثومية اللاهوائية من مياه الجفت مباشرة، وكذلك من تربة مضاف إليها مياه الجفت لسنوات عديدة تم الحصول عليها من تربة معاصر الزيتون، تم في تجربة مستقلة تحضين كل من مياه الجفت والتربة المعاملة بمياه الجفت عند درجتي حرارة 25 و 37 درجة مئوية، وكذلك تم عند قيمتين pH الأولى 5.5 وهي نفسها لمياه الجفت والثانية قيمة pH المتعادلة 7 واستخدمت كربونات الكالسيوم لتعديل قيمة pH.
- العزلات الجرثومية التي تم الحصول عليها في الخطوات السابقة زرعت على أوساط مغذية عامة للجراثيم اللاهوائية مضافاً إليها أحد المركبين الفينوليين الرئيسيين الموجودين في مياه الجفت وهما حمض الكافيك caffeic acid وحمض البروتوكاتيويك Protocatechuic acid معدل 300 ملغ/ل كمصدر وحيد للكربون. تم التحضين عند درجة حرارة 35 درجة مئوية، كما أنه تم ضبط قيمة pH للأوساط المغذية عند 7±0.1. في نهاية التجربة أختيرت أربع أفضل سلالات لاختبارها في المرحلة التالية (الجدول 1)
- في المرحلة الثانية تم تحضير بيئات مغذية سائلة بحيث يكون مصدر الكربون الوحيد في هذه البيئات أحد المركبات النقية من الفينولات الثمانية الأساسية الموجودة في ماء الجفت وهي حمض الكافيك Caffeic acid، حمض البروتوكاتيويك Protocatechuic acid، وحمض الفيروليك Feruulic acid، وحمض الفانيليك Vanilic acid، وحمض السينناميك Cinnamic acid ، وحمض السيرينجيك Syringic acid، والسيرينجيك الدهيد Syring aldehyde، وحمض الغاليك Gallic acid [37].
- تمت تنمية المستعمرات المعزولة على البيئات المغذية المحضرة في المرحلة السابقة (pH = 7 وعند درجة حرارة 35 رجة مئوية)، وبالتالي تم تحديد مقدرة هذه الكائنات على تفكيك الفينولات المستخدمة (الجدول 2).

النتائج والمناقشة:

يوضح الجدول 1 كمية الفينولات المتفككة مع كل من العزلات الـ 21 والتي عزلت من مياه الجفت مباشرة أو من تربة مضاف إليها ماء جفت لسنوات عديدة. تظهر النتائج المبينة في الجدول تباين في مقدرة العزلات على تفكيك الحمضين الفينوليين الكافيك Caffeic والبروتوكاتيويك Protocatechuic حيث تراوحت بين 7 و75% للأول و 6-68% للثاني (الشكل رقم 1).

الجدول (1) كمية الفينول المتفككة مع كل عزلة جرثومية على حدة مقدرة بـ مغ/ ل خلال فترة التحضين (–) تعني موت العزلة.

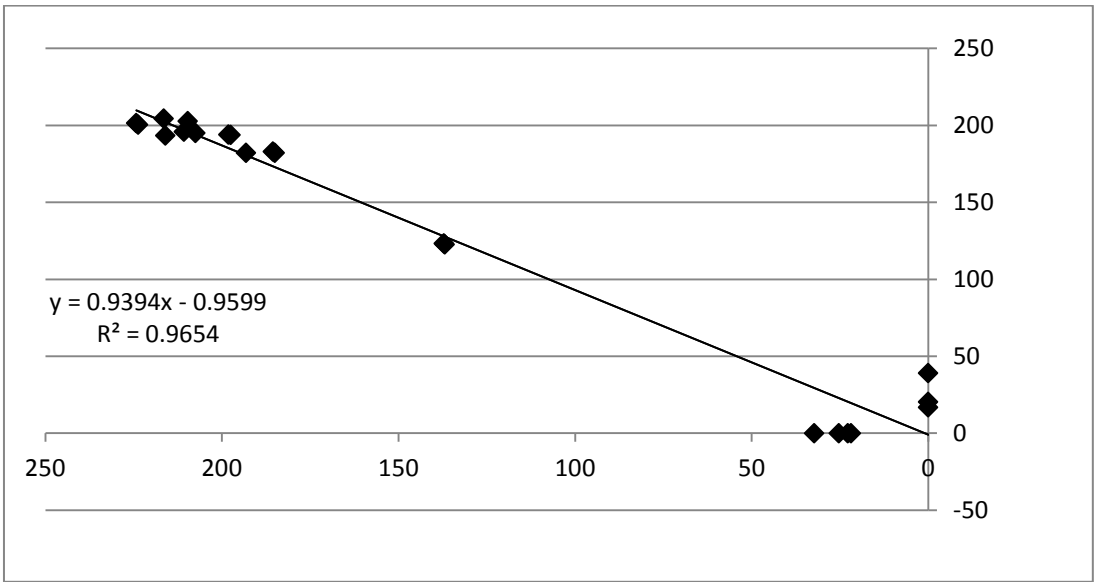
الأحياء الدقيقة المعزولة																				المركبات الفينولية	
PW2	PW1	PV2	PV1	CW2	CW1	CV2	V1	PQ2	PQ1	CQ1	PT1	CT1	PM2	PM1	CM	PZ	CZ	CY	PX	C X		
210.7	223.6	215.9	22.7	224.2	207.4	216.4	21.8	-	197.4	198.1	209.6	193.1	184.9	-	185.5	-	32.2	25.3	136.8	137.1	mg/l	Caffeic acid
70	75	72	8	75	69	72	7	-	66	66	70	64	62	-	62	-	11	8	46	46	%	
195.9	200.4	193.3	-	201.5	195.1	204.3	-	39.1	193.7	194.1	202.8	182.2	182.1	20.3	182.9	16.8	-	-	122.6	123.2	mg/l	Protocatechuic acid
65	67	64	-	67	65	68	-	13	65	65	68	61	61	7	61	6	-	-	41	41	%	



الشكل (1) كمية الفينول المتفككة مع كل عزلة جرثومية على حدة مقدرة بـ مغ/ ل خلال فترة التحضين

من خلال النتائج التي تم الحصول عليها والموضحة في الجدول رقم 1 تم اختيار أربع عزلات ميكروبية (CW2, PT_1, CM, CX) تميزت بقدرتها الكبيرة على تفكيك كل من حمضي الكافيك Caffeic والبروتوكاتيويك Protocatechuic مقارنة بالعزلات الأخرى لاستخدامها في المرحلة الثانية. تم تنمية هذه العزلات المختارة كل على حدة على بيئات صلبة ولمدة عشرة أيام، ومن ثم تم اختبار قدرة هذه العزلات على تفكيك المركبات الفينولية الثمانية الرئيسة الموجودة في مياه الجفت. تم إضافة البادئ لكل محلول مستقل بحد ذاته (بمعدل 2 مل وبكثافة وسطية 7 كائن حي /مل حاوٍ على فينول واحد فقط من الفينولات الثمانية المدروسة كمصدر وحيد للكربون.

كما يلاحظ وجود ارتباط قوي بين قدرة الأحياء الدقيقة على تفكيك أحد المركبين الفينوليين المضافين إلى الأوساط المغذية وقدرتها على تفكيك المركب الفينولي الآخر (R^2=0.9654) (الشكل 2) ويشكل هذا الارتباط إلى حد بعيد مؤشراً على التشابه في آلية تفكيك هذه الأحياء الدقيقة للمركبات الفينولية الموجودة في ماء الجفت.



الشكل (2) العلاقة بين قدرة الأحياء الدقيقة على تفكيك الكافيك أسيد وقدرتها على تفكيك البرتوكاتيويك أسيد.

من خلال النتائج التي تم الحصول عليها في المرحلة الأولى تم اختيار أربع عزلات جرثومية (CW2, PT1, CM, CX) تميزت بقدرتها الكبيرة على تفكيك كل من حمضي الكافيك Caffeic والبروتوكاتيويك Protocatechuic مقارنة بالعزلات الأخرى لاستخدامها في المرحلة الثانية من هذا البحث. تم تنمية هذه العزلات كل على حدة على بيئات صلبة ولمدة (10) أيام، ومن ثم تم اختبار قدرة هذه العزلات على تفكيك المركبات الفينولية الثمانية الرئيسة الموجودة في مياه الجفت، حيث تم إضافة البادئ لكل محلول مستقل بحد ذاته حاوٍ على فينول واحد فقط من الفينولات الثمانية المدروسة كمصدر وحيد للكربون.

تمت دراسة قدرة كل عزلة جرثومية مختارة على تفكيك الفينولات الرئيسة الثمانية الموجودة في مياه الجفت، حسبت كمية الفينول المستهلكة بعد تحضينها لمدة يوم واحد وثلاثة أيام وخمسة أيام. وتم الحصول على النتائج المبينة في الجدول (2).

الجدول (2) كمية الفينولات المتفككة مقدرة (مغ/ل) خلال فترة الحضن للعزلات الجرثومية المختارة

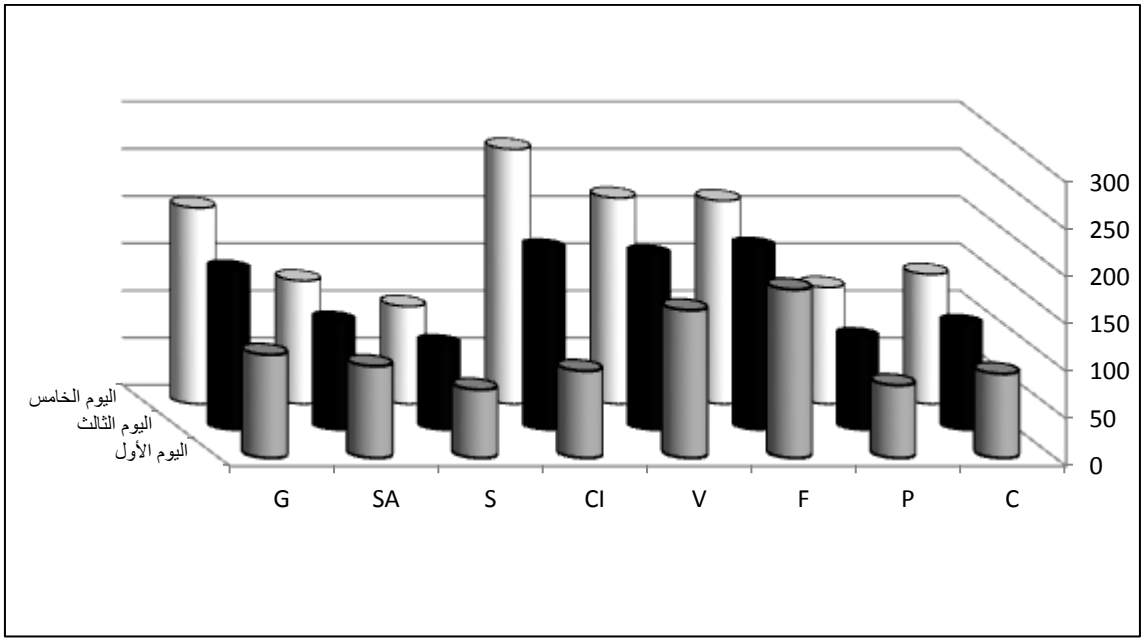
المركبات الفينولية	العزلات الجرثومية المدروسة											
	CX			CH			PT1			CW2		
	اليوم الأول	اليوم الثالث	اليوم الخامس	اليوم الأول	اليوم الثالث	اليوم الخامس	اليوم الأول	اليوم الثالث	اليوم الخامس	اليوم الأول	اليوم الثالث	اليوم الخامس
C=Caffeic acid	89.1	112.8	137.1	115	175.3	158.5	175.1	193.8	209.6	183	205.4	224.2
P= Protocatechuic acid	76.9	98.8	123.2	104.2	160.4	182.9	156.4	182.6	202.8	171.1	189.3	201.5
F= Feruulic acid	178.2	194.6	215	58.5	115.2	242.6	199.7	213.8	243.7	200.3	235.1	272.1
V=Vanilic acid	156.4	186.5	217.8	56.2	96.4	130.8	198.1	210.3	242.4	198.8	211.7	256
CI=Cinnamic acid	92.1	192.8	269.5	80.5	187.7	254.6	171.9	193.8	213.8	185.9	205.6	223.5
S=Syringic acid	72.3	91.6	103.1	72.2	96.8	119.3	175.9	192.2	215.8	192.1	254.7	278
SA=Syring aldehyde	97.2	116.3	130.2	120.4	156.1	257.2	168.2	195.4	217	173.4	233.1	242.4
G=Gallic acid	109.2	170.3	207.4	115	182.1	210.3	186.8	211.3	226.6	199	224.5	236.1

يبدو واضحاً من الجدول (2) أن تفكك جميع المركبات الفينولية يزداد مع تقدم زمن الحضن من يوم إلى خمسة أيام والزيادة النسبية لهذا التفكك مع الزمن متقاربة بغض النظر عن نوع المركب الفينولي ونوع الأحياء الدقيقة التي تقوم بهذا التفكيك. بالمقابل يلاحظ أنه في نهاية مدة الحضن وجود تباين في مقدرة العزلات المختارة على تفكيك كل فينول بمفرده، فيلاحظ أن قدرة العزلة CX على تفكيك المركبات الفينولية تراوحت بين 35% لحمض السيرنجيك Syringic acid و90% لحمض السيناميك Cinnamic acid (الشكل 3). كما تشير النتائج إلى تراوح قدرة العزلة CH على تفكيك المركبات الفينولية بين 43% لحمض السيرنجيك Syringic acid و90% لحمض السيناميك Cinnamic acid (الشكل 4). أما العزلة PT1 فقد تميزت بقدرتها على تفكيك نسب متقاربة من المركبات الفينولية تراوحت بين 67% لحمض البروتوكاتيويك Protocatechuic acid و80% لحمض الفيروليك Feruulic acid (الشكل 5). أما العزلة CW2 فقد تميزت بقدرة أكبر على تفكيك المركبات الفينولية مقارنة ببقية العزلات حيث تراوحت نسبة المركبات الفينولية المفككة بين 67% لحمض البروتوكاتيويك Protocatechuic acid و93% لحمض الفيروليك Feruulic acid (الشكل 6).

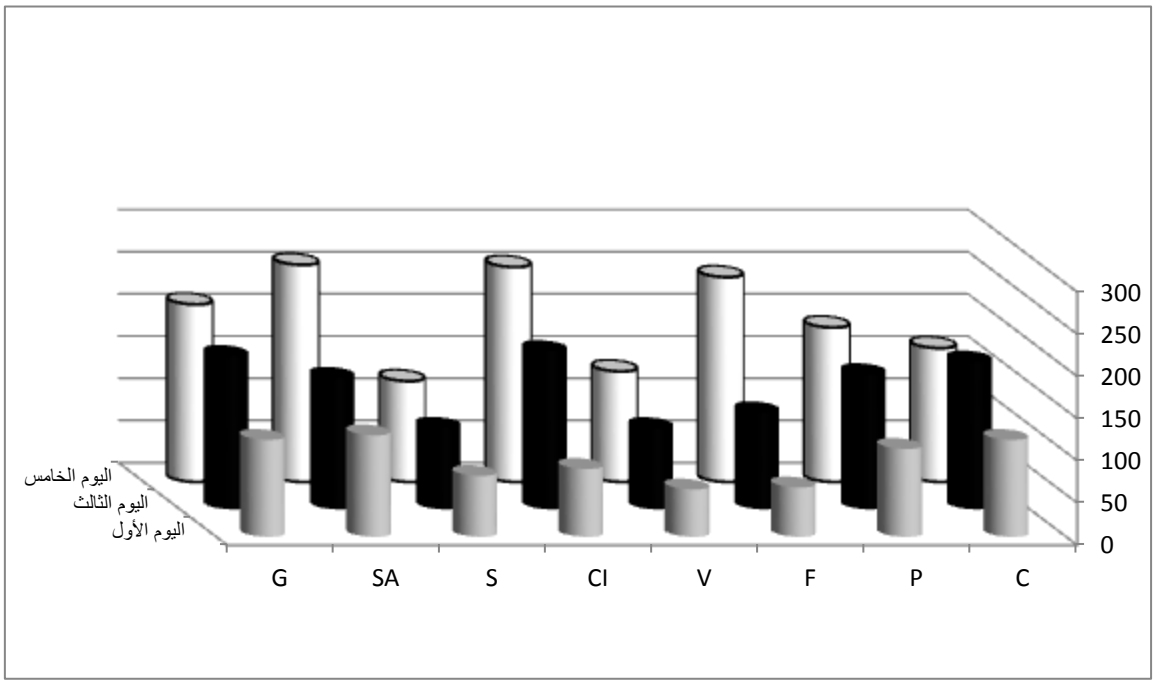
كما أشارت نتائج التحليل الإحصائي إلى وجود ارتباط بين قدرة العزلة PT1 على تفكيك المركبات الفينولية المختلفة وقدرة كل من العزلة CX (R=60%) والعزلة CW1 (R=68%). وبالوقت نفسه كان الارتباط بين قدرة العزلة CX على تفكيك المركبات الفينولية وقدرة العزلة CW1 على تفكيكها ضعيفاً (R=22%). ويمكن أن يعود ذلك إلى طبيعة هذه العزلات المعزولة وتقاربها أو تباعدها في آليات تفكيك هذه المركبات الفينولية [37].

عند مقارنة مقدرة عزلات الأحياء الدقيقة المعزولة على تفكيك المركبات الفينولية التي توجد بشكل أساسي في ماء الجفت نجد أن متوسط مقدرة العزلة CW2 على تفكيك هذه المركبات الفينولية هو الأكبر حيث تجاوز متوسط نسبة المركبات الفينولية المتفككة في نهاية اليوم الثالث 80% تليها العزلة PT1 ومن ثم العزلتان CH وCX اللتان فككتا المركبات الفينولية بنسبة متوسطة حوالي 60%. كما نجد أن نسبة هذه المركبات الفينولية المتفككة ازدادت مع زيادة زمن التجربة إلى ثلاثة أيام بشكل متقارب نسبياً (الشكل 7).

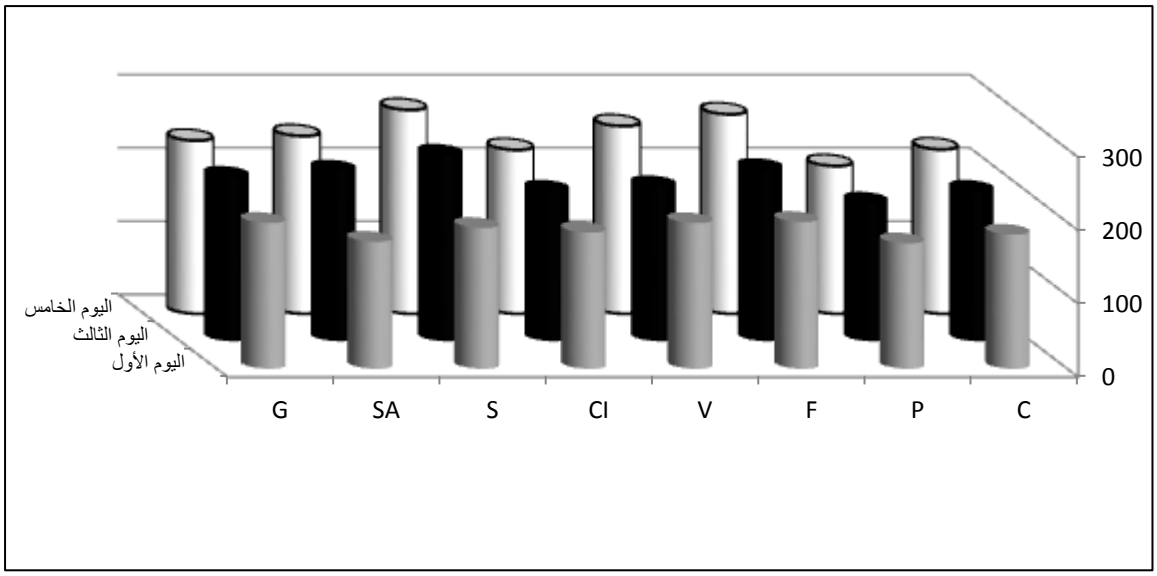
نخلص مما تقدم إلى القول بأن هناك تبايناً واضحاً في مقدرة العزلات الجرثومية المعزولة من مياه الجفت ومن التربة المضاف إليها مياه الجفت لسنوات عديدة على تفكيك فينولات مياه الجفت، فخلال خمسة أيام فقط من الحضن تراوحت نسبة الفينولات المفككة بين (60–93) % من الفينولات الكلية، من جهة أخرى فإن العزلات الجرثومية التي تم عزلها من مياه الجفت والتي تمت الإشارة إليها بالرموز الآتية (CW2, PT1, CM, CX) قد تفاوتت في قدرتها على تفكيك الفينولات تبعاً لنوع الفينول المدروس ونسبته في ماء الجفت.



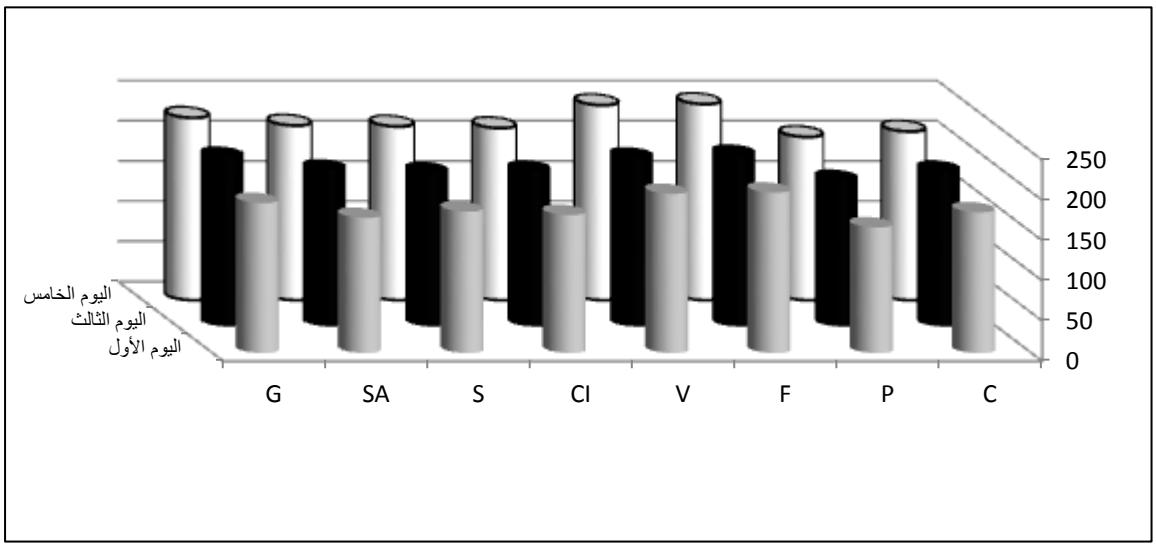
الشكل (3) كمية الفينولات المتفككة مقدرة (مغ/ل) خلال فترة تحضين العزلة CX



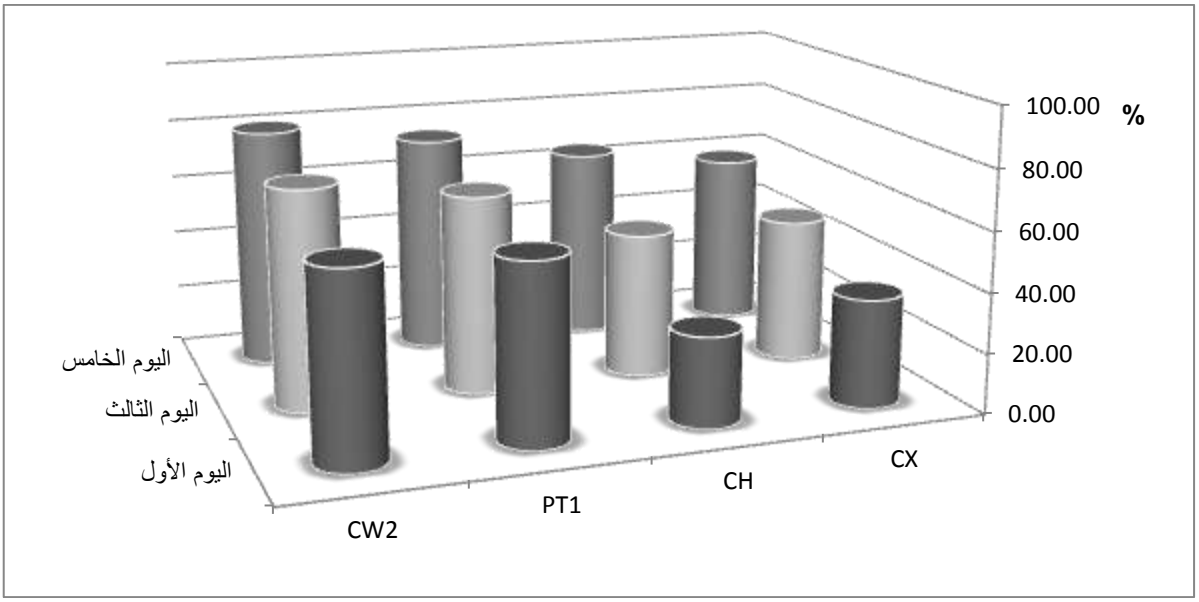
الشكل (4) كمية الفينولات المتفككة مقدرة (مغ/ل) خلال فترة تحضين العزلة CH



الشكل (5) كمية الفينولات المتفككة مقدرة (مغ/ل) خلال فترة تحضين العزلة PT1



الشكل (6) كمية الفينولات المتفككة مقدرة (مغ/ل) خلال فترة تحضين العزلة CW2



الشكل (7) متوسط كمية الفينولات المتفككة مقدرة (مغ/ل) خلال فترة تحضين العزلات الأربع

كان من الأهمية بمكان تصنيف العزلات الأربع التي تم عزلها من مياه الجفت في سورية وتسجيلها رسمياً، وبعد مراسلات عديدة لمخابر التصنيف العالمية، تم تصنيفها في مركز دراسة وتصنيف الأحياء الدقيقة في جامعة دويسون في ألمانيا. حيث تبين أن هذه العزلات الأربع تنتمي إلى مجموعة الأحياء الدقيقة اللاهوائية وإلى جنس *Clostridium* وفق الجدول (3).

الجدول (3): نتائج تصنيف العزلات المدروسة.

المجموعة الجرثومية المعزولة	الجنس	النوع	تحت النوع
CW2	*Clostridium*	*xylanolyticum*	S.T1
PT1	*Clostridium*	*xylanolyticum*	S.T1
CX	*Clostridium*	*xylanovorans*	S.T2
CH	*Clostridium*	*xylanovorans*	S.T2

الاستنتاجات والتوصيات:

من خلال النتائج التي تم التوصل إليها نخلص إلى ما يأتي:

- ضرورة استخدام بعض الأحياء الدقيقة المحلية كأحياء دقيقة انتقائية لتفكيك المركبات الفينولية الموجودة في ماء الجفت. حيث استطاعت العزلات المعزولة والمدروسة تخفيض المركبات الفينولية بنسب تتراوح بين 60–93% خلال خمسة أيام من التحضين.
- يمكن لهذه الأحياء الدقيقة خفض المركبات الفينولية الموجودة في ماء الجفت إلى نسب منخفضة.
- تختلف قدرة الأحياء الدقيقة على خفض المركبات الفينولية في ماء الجفت تبعاً لنوع هذه الأحياء الدقيقة ونوع المركبات الفينولية الموجودة في ماء الجفت.
- يجب متابعة الدراسة لتحديد نوع المركبات الفينولية الموجودة في ماء الجفت المحلي ونسبتها لاختيار الأحياء الدقيقة الأكثر فاعلية في خفض هذه المركبات الفينولية.

- دراسة إمكانية استخدام هذه الأحياء الدقيقة في مكان تجميع مياه الجفت قبل استخدامه في الري، وذلك لخفض وصول المركبات الفينولية إلى الأراضي الزراعية نظراً لصعوبة تفككها، ولتأثيرها السمي على الأحياء الدقيقة الموجودة في التربة من جهة ولخفض COD من جهة أخرى.

المراجع:

1. ANON, *Improvements of Treatments and Validation of the Liquid-Solid Waste from the Two-Phase Olive Oil Extraction*. Project Improlive (FAIR CT96-1420) - Final Report - Annex A2. 2000, 72.
2. LOPEZ, R. *Land Treatment of Liquid Wastes from the Olive Oil Industry (Alpechin)*. Fresenius Envir Bull. Vol. 1, 1992, 129–134.
3. LACINA, C.; GERMAIN, G and SPIROS, A. N. *Utilization of Fungi for Biotreatment of Raw Wastewaters*. African Journal of Biotechnology Vol. 2, No. 12, 2003, 620–630.
4. MEKKI, A.; DHOUIB, A.; FEKI, F. and SAYADI, S. *Assessment of Toxicity of the Untreated and Treated Olive Mill Wastewaters and Soil Irrigated by Using Microbiotests*. Ecotoxicology and Environmental Safety Vol. 69, 2008, 488–495.
5. MEKKI, A.; DHOUIB, A. and SAYADI, S. *Polyphenols Dynamics and Phytotoxicity in a Soil Amended by Olive Mill Wastewaters.* Journal of Environmental Management Vol. 84, 2007, 134–140.
6. KALLEL, M.; BELAID. C.; MECHICHI, T.; KSIBI, M. and ELLEUCH, B. *Removal of Organic Load and Phenolic Compounds from Olive Mill Wastewater by Fenton Oxidation with Zero-Valent Iron.* Chemical Engineering Journal Vol. 150, 2009, 391–395.
7. SERVILI, M.; ESPOSTO, S.; VENEZIANI, G.; URBANI, S.;TATICCHI, A.; DI MAIO, I.; SELVAGGINI, R.; SORDINI, B. and MONTEDORO G. F. *Improvement of Bioactive Phenol Content in Virgin Olive Oil With an Olive-Vegetation Water Concentrate Produced by Membrane Treatment.* Food Chemistry Vol. 124, No. 4, 2011, Pages 1308–1315 .
8. LONGHI, P.; VODOPIVEC, B. and FIORI, G. *Electrochemical Treatment of Olive Oil Mill Wastewater*. Ann Chim. Vol. 91 No. 3 - 4, 2001, 169–74.
9. CHEDEVILLE, O.; DEBACQ, M. and PORTE, C. *Removal of Phenolic Compounds Present in Olive Mill Wastewaters by Ozonation*. Desalination Vol. 249, 2009, 865–869.
10. JUSTINO, C. I.; DUARTE, K.; LOUREIRO, F.; PEREIRA, R.; ANTUNES, S. C.; MARQUES, S. M.; GONCALVES, F.; TERESA A. P.; ROCHA-SANTOS T. A. P. and FREITAS, A. C. *Toxicity and Organic Content Characterization of Olive Oil Mill Wastewater Undergoing a Sequential Treatment With Fungi and Photo-Fenton Oxidation.* Journal of Hazardous Materials Vol. 172, 2009, 1560–1572.
11. LAFI, W. K.; SHANNAK, B.; AL-SHANNAG, M.; AL-ANBER, Z. and AL-HASAN, M. *Treatment of Olive Mill Wastewater by Combined Advanced Oxidation and Biodegradation.* Separation and Purification Technology Vol. 70, 2009, 141–146.
12. HAMDI, M. *Anaerobic Digestion of Olive Mill Wastewaters*. Process Biochemistry Vol. 31, No. 2, 1996, 105–110
13. CHAKCHOUK, M.; HAMDI, M.; FOUSSARD, J. N. and DEBELLEFONTAINE, H. *Complete Treatment of Olive Mill Wastewaters by a Wet Air Oxidation Process*

Coupled with a Biological Step. Environ. Technol. Lett. Vol. 15 No. 4, 1994, 323–332.

14. ASSES, N.; AYED, L.; BOUALLAGUI, H.; SAYADI, S. and HAMDI, M. *Biodegradation of Different Molecular-mass Polyphenols Derived from Olive Mill Wastewaters by Geotrichum candidum.* International Biodeterioration & Biodegradation Vol. 63, 2009, 407–413.
15. AGUILERA, M.; QUESADA, M. T.; AGUILA, V. G.; MORILLO, J. A.; RIVADENEYRA, M. A.; CORMENZANA, A. R. and SANCHEZ, M. M. *Characterisation of Paenibacillus Jamilae Strains that Produce Exopolysaccharide During Growth on and Detoxification of Olive Mill Wastewaters*. Bioresource Technology Vol. 99, 2008, 5640–5644.
16. FEZZANI, B. and BEN CHEIKH, R. *Extension of the Anaerobic Digestion Model No. 1 (ADM1) to Include Phenol Compounds Biodegradation Processes for Simulating the Anaerobic Co-digestion of Olive Mill Wastes at Mesophilic Temperature.* Journal of Hazardous Materials Vol. 172, 2009, 1430–1438.
17. ERGUL, F. E.; SARGIN, S.; ONGEN, G. and SUKAN, F. V. *Dephenolisation of Olive Mill Wastewater Using Adapted Trametes Versicolor*. International Biodeterioration & Biodegradation Vol. 63, 2009, 1–6.
18. LAKHTAR, H.; ALAOUI, M. I.; PHILIPPOUSSIS, A.; GAIME, I. P. and ROUSSOS, S. *Screening of Strains of Lentinula Edodes Grown on Model Olive Mill Wastewater in Solid and Liquid State Culture for Polyphenol Biodegradation.* International Biodeterioration & Biodegradation Vol. 64, 2010, 167–172.
19. Fezzani, B. and Ben Cheikh, R. *Extension of the Anaerobic Digestion Model No. 1 (ADM1) to Include Phenolic Compounds Biodegradation Processes for the Simulation of Anaerobic Co-digestion of Olive Mill Wastes at Thermophilic Temperature.* Journal of Hazardous Materials Vol. 162, 2009, 1563–1570.
20. COULIBALY, L.; GOURENE, G. and AGATHOS, N. S. *Utilization of Fungi for Biotreatment of Raw Wastewaters*. African Journal of Biotechnology Vol. 2 No.12, 2003, 620–630.
21. DAVIES, L. C.; NOVAIS, J. M. and MARTINS-DIAS, S. *Detoxification of Olive Mill Wastewater Using Superabsorbent Polymers.* Environ Technol. Vol. 25 No. 1, 2004, 89–100.
22. BLEVE, G.; LEZZI, C.; CHIRIATTI, M. A.; D'OSTUNI, I.; TRISTEZZA, M.; DI VENERE, D.; SERGIO, L.; MITA, G. and F. GRIECO. *Selection of Non-Conventional Yeasts and Their Use in Immobilized Form for the Bioremediation of Olive Oil Mill Wastewaters*. Bioresource Technology xxx, 2010, xxx–xxx
23. DHOUIB, A.; ALOUI, F.; HAMAD, N. and SAYADI, S. *Pilot-plant Treatment of Olive Mill Wastewaters by Phanerochaete chrysosporium Coupled to Anaerobic Digestion and Ultrafiltration.* Process Biochemistry Vol. 41, 2006, 159–167.
24. GONÇALVES, C.; LOPES, M.; FERREIRA, J. P. and BELO I. *Biological Treatment of Olive Mill Wastewater by Non-conventional Yeasts.* Bioresource Technology Vol. 100, 2009, 3759–3763
25. BORJA, R.; ALBA, J.; GARRIDO, S. E.; MARTINEZ, L.; GARCIA, M. P.; MONTEOLIVA, M. and RAMOS C. A. *Effect of Aerobic Pretreatment With Aspergillus Terreus on the Anaerobic Digestion of Olive Mill Wastewater*. Biotechnol. Appl. Biochem. Vol. 22, 1995, 233–246.
26. BORJA, R.; ALBA, J.; GARRIDO, S. E.; MARTINEZ, L.; GARCIA M. P.; INCERTI, C. and RAMOS, C. A. *Comparative Study of Anaerobic Digestion of*

Olive Mill Wastewater (OMW) and OMW Previously Fermented with Aspergillus terreus. Bioprocess Eng. Vol. 13, 1995, 317–322.

27. PEIXOTO, F.; MARTINSA, F.; AMARAL, C.; GOMES-LARANJO, J.; ALMEIDA, J. and PALMEIRA, C. M. *Evaluation of Olive Oil Mill Wastewater Toxicity on the Mitochondrial Bioenergetics After Treatment With Candida oleophila*. Ecotoxicology and Environmental Safety Vol. 70, 2008, 266–275.
28. GARCIA, G. M.; JOHNSON, A. C.; BACHMANN, R. T.; WILLIAMS, C .J.; BURGOYNE, A. and EDYVEAN, R. G. *Anaerobic Treatment of Olive Mill Wastewater and Piggery Effluents Fermented With Candida tropicalis*. Journal of Hazardous Materials Vol. 164, 2009, 1398–1405.
29. MEBIROUK1, M.; SBAI1, L.; LOPEZ, M. and GONZALEZ, J. *The Absorption of Polyphenols from Olive Oil Mill Wastewaters by Sawdust and Biodegradation by the Fungus Phanerochaetae chrysosporium.* Grasas Y Aceites, Vol. 58, No. 4, 2007, 366–371.
30. ASSES, N.; AYED, L.; BOUALLAGUI, H.; SAYADI, S. and HAMDI, M. *Biodegradation of Different Molecular-mass Polyphenols Derived from Olive Mill Wastewaters by Geotrichum candidum.,* International Biodeterioration & Biodegradation Vol. 63, 2009, 407–413.
31. MIRANDA, M. P.; BENITO, G. G.; SAN CRISTOBAL, N. and NIETO, C. H. *Color Elimination from Molasses Wastewater by Aspergillus niger*. Bioresource Technol. Vol. 57, 1996, 229–235.
32. ناصر، أميمة. *معالجة المخلفات الناتجة عن معاصر الزيتون* ;كبيبو، عيسى؛ شاهين، هيثم؛ نصور، عبد الله *باستخدام الجراثيم*. مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية. المجلد 34، العدد 2،2008، 269−287.
33. ASSES, N.; AYED, L.; BOUALLAGUI, H.; BEN REJEB, I.; GARGOURI, M. and HAMDI M. *Use of Geotrichum candidum for Olive Mill Wastewater Treatment in Submerged and Static Culture*. Bioresource Technology Vol. 100, 2009, 2182–2188.
34. PIPERIDOU, C. I.; CHAIDOU, C. I.; STALIKAS, C. D.; SOULTI, K.; PILIDIS, G. A. and BALIS, C. *Bioremediation of Olive Oil Mill Wastewater: Chemical Alterations Induced by Azotobacter vinelandii*. Journal of Agriculture and food Chemistry Vol. 48 No. 5, 2000, 1941–1948.
35. MECHRI, B.; ECHBILI, A.; ISSAOUI, M.; BRAHAM, M.; BEN ELHADJ, S. and HAMMAMI, M. *Short-term Effects in Soil Microbial Community Following Agronomic Application of Olive Mill Wastewaters in a Field of Olive Trees*. Applied Soil Ecology Vol. 36, 2007, 216–223.
36. SINGLETON, V., L. AND ROSSI, J. *Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents*. American Journal of Enology and Viticulture Vol. 16, 1965, 144–158.
37. NIAOUNAKIS, M., AND HALVADAKIS, C. P., *Olive Processing Waste Management- Literature Review And Patent Survey* (Second Edition), ELSEVIER, 2006, 498p.