المعالجة الحيوية للأضرار البيئية لماء الجفت باستخدام الفطر أسبيرجيلوس الأسود *Aspergillus niger*

Bioremediation of Environmental Hazards in Olive Oil Mill Wastewater by Using Fungi (*Aspergillus niger*)

Received 15 June 2011 / Accepted 14 August 2011

م. أماني حامد

كلية الزراعة- جامعة دمشق- سورية.

المُلخَّص

تُعد مشكلات البيئة محور الاهتمام في معظم دول العالم، و من هذه المشكلات في سورية مشكلة المخلفات الناتجة عن عصر ثمار الزيتون، حيث يتم التخلص من مخلفاتها السائلة أو ما يدعى ماء الجفت مباشرةً دون أية معالجة، الأمر الذي يؤدي إلى تلوث التربة والمياه الجوفية و البحيرات والأنهار، إضافة لتأثيرات سلبية في مكونات النظم البيئية، كذلك مشكلة التلوث الناجمة عن الصرف الصحي، لذلك فإن معالجة هذه المخلفات أصبح أمراً ضرورياً وملحاً، فالمساحات المزروعة بأشجار الزيتون تزداد سنوياً في سورية، مما يزيد من معدل إنتاج زيت الزيتون، وبالتالي زيادة معدل المخلفات الرئيسة الناتجة عن عصر ثمار الزيتون (ماء الجفت). لقد أثبت هذا البحث إمكانية المعالجة الحيوية للأضرار البيئية لماء الجفت في سورية باستخدام الفطر أسبيرجيلوس *Aspergillus niger* الأسود من خلال التحطيم الحيوي للمركبات البولي فينولية الكلية ذات التأثيرات السيئة في البيئة المائية إلى نسبة 85 %.

الكلمات المفتاحية: عصر الزيتون، ماء الجفت، معالجة حيوية، فطر أسبيرجيلوس الأسود *Aspergillus niger*.

Abstarct

The environmental problems are considered the major interest in most countries around the world. Some of these problems in Syria is the wastes come from milling the olive fruits. The liquid wastes, which are called the Olive Mill Wastewater (OMW), are disposed directly without any treatment. This causes a pollution of soil, groundwater, lakes, rivers and seas; it makes negative consequences on the elements of the ecological systems besides the pollution caused by sanitation. Therefore, treating these wastes and the ability to reuse them are urgent and necessary. The areas planted with olive trees yearly increase in Syria, this means that the annual average of olive oil production increases too. This causes the increasing of the main wastes average

©2013 The Arab Center for the Studies of Arid Zones and Dry Lands, All rights reserved - ISSN 2305- 5243.

that comes from milling the olive fruits (OMW). This investigation has established the possibility of bioremediation of environmental hazards in olive oil mill wastewater by using Fungi *Aspergillus* niger, which can biodegrade the total polyphenol compounds in olive oil mill wastewater, which have bad effects on aquatic environment to 85%.

Keywords: Olive milling, Olive Mill Wastewater (OMW), Bioremediation, Fungi *Aspergillus niger*.

المقدمة

تُعد سورية من أهم الدول المنتجة للزيتون في العالم حيث بلغ الإنتاج الكلي 860000 طناً في عام 2007 (المجموعة الإحصائية، 2006) حيث ذهب منها نحو 80 إلى 85 % إلى صناعة عصر الزيتون نتج عنها حوالي 800000 م^3 من مخلف ماء الجفت (CFC/IOOC، 2007)، وهو محلول مائي ملوث للتربة والمياه الجوفية. ازداد الاهتمام بصناعة استخراج زيت الزيتون مما أدى إلى ازدياد عدد المعاصر وانتشارها بشكل غير منتظم ، فيوجد في سورية أكثر من 800 معصرة لإنتاج زيت الزيتون وحوالي 24 معملاً لاستخلاص زيت العرجوم، حيث يتم صرف ماء الجفت الناتج عن هذه الصناعة بشكل مباشر ودون أية معالجة الأمر الذي يسبب أضراراً كبيرة للمياه الجوفية والسطحية والتربة والنبات، وتُعد الأنهار طرقاً جيدة لنقل هذه الملوثات إلى البحر مما يؤثر سلباً في حياة الكائنات الحية. إن احتواء ماء الجفت على المركبات الفينولية وعلى نسبة عالية من الزيت، يجعله مصدراً رئيساً للتلوث عند صرف هذه المياه دون معالجتها، لأن هذه المركبات صعبة التفكك البيولوجي وتثبط عمل البكتيريا مما يعيق عملية المعالجة البيولوجية بهدف تخفيض الـ BOD (كمية الأكسجين اللازمة للبكتريا من أجل معدنة المواد العضوية الموجودة في ليتر واحد من الماء الملوث). ولذلك فإن الأثر السلبي للصرف غير المتحكم به للمياه الناتجة عن معاصر الزيتون يشكل خطراً على البيئة. يحتوي ماء الجفت على نسبة عالية من مركبات بولي فينولات (الأصبغة الفينولية) التي تسبب اللون الداكن لهذه المياه (ناصر وزملاؤه، 2009)، مع العلم أن صرف 300 م^3 من ماء الجفت في البحر يحول ما مقداره 3600000 م^3 من حياة البحر قاحلاً لا حياة فيه، وهي كمية تعادل (1 × 1.6كم) من البحر بعمق مترين، وبما أن النتيجة هي تحولها إلى هيدروجين مفسفر وهو مادة شديدة السمية وذات رائحة كريهة فمن الأهمية معالجة هذه المواد لتجنب النتائج السلبية المستقبلية (بيطار ، 2003). وبالمقابل إذا لم تصل هذه النفايات إلى البحر وتم التخلص منها في الحقول، تصبح المشكلة عندها أكثر خطورة وتتحول تلك المنطقة من الأرض إلى أرض عقيم، إضافة إلى قدرة هذه الملوثات على إتلاف كل ما قد نما من النباتات. كما أن الهطل المطري الغزير سيمكن هذه المواد من الوصول إلى مخزون المياه الجوفي في التربة وهو المخزون الأكثر أهمية في الحياة والذي من دونه تصبح الحياة في خطر داهم.

إن االدراسات التي تناولت كيفية معالجة ماء الجفت كمخلف رئيس لصناعة عصر الزيتون قليلة، وقد تركزت أغلب الدراسات على المخلفات الثانوية لهذه الصناعة (Marsilio وزملاؤه، 1990؛ Anac وزملاؤه، 1993؛ قندل و صمام، 1994؛ Abo Omar، 1996 ؛ الديري و معروف، 2002؛ حميد، 2005؛ الإبراهيم وزملاؤه، 2009؛ الجردي، 2009)، مع وجود بعض الدراسات التي اهتمت بمعالجة ماء الجفت كمخلف رئيس لصناعة عصر الزيتون فقد بحث النائب وزملاؤه (2009) إمكانية استخدامه كسماد في حقول الكرمة، كذلك وضعت جمعة (2009) طريقة جديدة و متكاملة لإدارة صرف مياه الجفت. علماً أن موضوع معالجة ماء الجفت بيولوجياً باستخدام بعض أنواع الفطريات لا يزال غير مدروس، وبناءً على ذلك تبرز أهمية هذا البحث والذي يهدف إلى دراسة إمكانية إزالة التلوث البيئي الناجم عن ماء الجفت عن طريق معالجته بيولوجياً باستخدام الفطر *Aspergillus niger*.

مواد البحث و طرائقه

نُفذ البحث في مخبر أمراض النبات في قسم وقاية النبات ومخبر أبحاث الأخشاب في قسم الموارد الطبيعية المتجددة والبيئة في كلية الزراعة في جامعة دمشق /سورية، وفقاً للخطوات الآتية :

1 - الاختبارات الحيوية :

- تم الحصول على ثلاثة أجناس فطرية قادرة على النمو بشكل رمي هي: *Alternaria* sp. و *Aspergillus niger* و *Penicillum* sp. من مخبر أمراض النبات في قسم وقاية النبات.

-تم تحضير بيئة مكونة من 600 مل من ماء الجفت و 20غ بطاطا دكستروز- آجار (PDA) في دورق سعة 1ليتر، ثم وُضعت البيئة المحضرة في الأوتوكلاف لمدة 30 دقيقة للتعقيم.

- وزعت البيئة المحضرة على أطباق بتري معقمة بقطر 9 سم، وتُركت

لتأخذ الشكل الصلب.

- زُرعت الأجناس الفطرية الثلاثة سابقة الذكر على البيئة المحضرة مسبقاً (Riker و Ricker، 1936) بمعدل 10 أطباق بتري لكل جنس فطري، ثم وُضعت الأطباق في الحاضنة على درجة 25 م° لمدة 7 أيام.

- تبين بعد مراقبة العزلات الفطرية، أن الفطر الوحيد الذي نما وبشكل كبير هو فطر *Aspergillus niger* (الشكل 1)، حيث تم استخدام هذا الفطر في الدراسة التالية:

- زُرع الفطر *Aspergillus niger* الذي تم الحصول عليه من البيئة السابقة من خلال عزله بشكل نقي على بيئة PDA جديدة، وتم وضعه في الحاضنة لمدة خمسة أيام.

- بعد نمو الفطر المذكور بشكل كبير وتشكيله للأبواغ، تم تحضير معلق بوغي في 100 مل ماء مقطر. ثم تمت دراسة الأبواغ تحت المجهر بهدف إحصاء عددها باستخدام شريحة العد، مُدد بعدها المعلق البوغي للوصول إلى تركيز الأبواغ (3×10^{-5}) بوغة في 1مل.

- بعد حساب الأبواغ تم تحضير أربعة دوارق سعة 25مل وضع فيها 15مل بيئة سائلة من ماء الجفت وعُقمت لمدة 30 دقيقة بالأوتوكلاف. بعد ذلك تم وضع 1 مل من المعلق البوغي السابق تحضيره ، وزرع في الدوارق الثلاثة التي تحوي البيئة السائلة (ماء الجفت) في ظروف معقمة، ثم أغلقت الدوارق بوساطة سدادات قطنية ووضعت في حاضنة على درجة 25 م° (يُعد كل دورق مكرراً)، في حين تم وضع الدورق الرابع في الظروف نفسها دون زراعة الفطر (شاهد) .

* القراءات:

- تم أخذ قراءات عدد الأبواغ بعد فترات من التحضين في ظروف معقمة كالتالي:

عند بداية التجربة ، وبعد 3 ، و5 ، و 10 ، و 15، و 20 يوماً من التحضين.

- تم قياس تركيز مركبات البولي فينولات قبل الزراعة مباشرة وبعد مرور 20 يوماً من الزراعة، وظهور نمو الفطر في البيئة الحاوية على ماء الجفت، إضافة إلى دورق الشاهد (الذي لم يُزرع فيه الفطر).

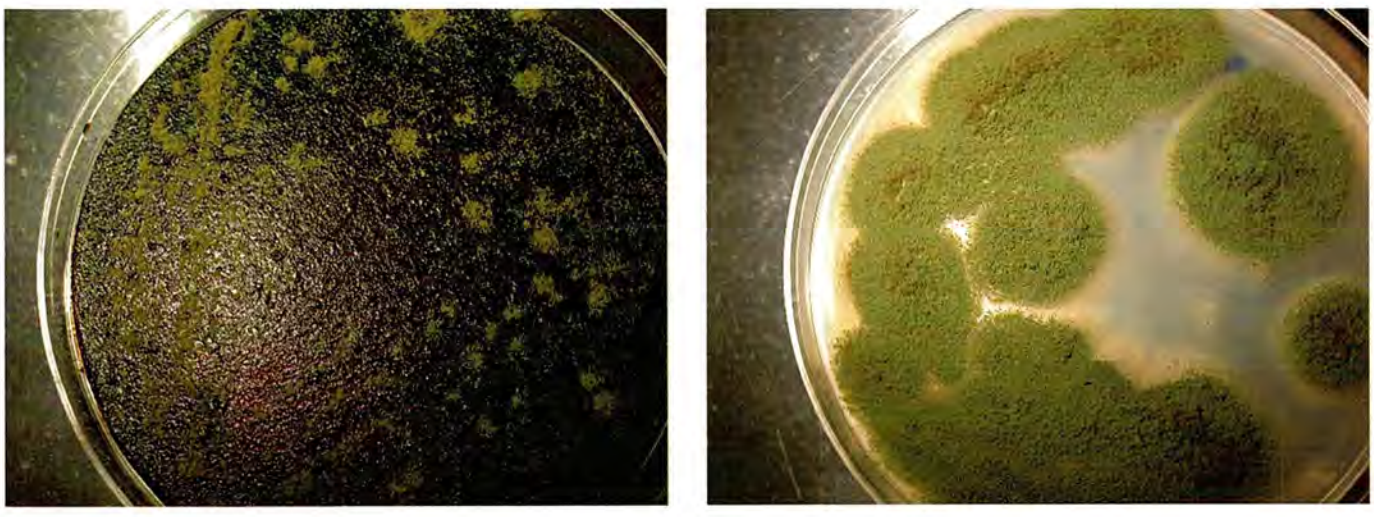
2 - الاختبارات البيئية :

- تم تحليل مركبات البولي فينولات في ماء الجفت قبل وبعد المعالجة الحيوية بالفطر وفقاً لطريقة Stiasny (Lelis، 1995).

حُللت النتائج وفق برنامج Exel وذلك بحساب كل من المتوسط الحسابي (Mean) والانحراف المعياري (Standard Deviation) و معامل التباين (Coefficient of Variation) للعوامل المدروسة وتحديد مدى معنوياتها باستخدام اختبار t-test عند مستوى معنوية 0.05.

النتائج و المناقشة

لم يتمكن من النمو على ماء الجفت من الفطريات المدروسة سوى النوع *Aspergillus niger*، حيث يظهر الجدول 1 أن عدد الأبواغ في الدوارق المزروعة بأبواغ الفطر زاد بشكل طردي مع زيادة فترة التحضين، وكان العدد الأولي للأبواغ في بداية التحضين 2×10^4 / 1 مل. بينما كان عدد الابواغ 70×10^5 و 82×10^5 و 100×10^5 بعد 10 و15 و25 يوماً من التحضين على التوالي.



الشكل 1. نمو الفطر *Aspergillus niger* على البيئة المحضرة.

الجدول 1. عدد الأبواغ بعد فترات مختلفة من التحضين.

الأيام بعد التحضين	عدد الأبواغ في 1مل
قبل زراعة الفطر	$10^4 \times 2$
3	$10^4 \times 32$
5	$10^4 \times 56$
10	$10^5 \times 70$
15	$10^5 \times 82$
25	$10^5 \times 100$

الأرقام في الجدول تمثل ثلاثة مكررات.

كما يبين الجدول 2 أن متوسط تركيز مركبات البولي فينولات في ماء الجفت قبل عملية الزراعة (قبل المعالجة الحيوية بالفطر) كانت 14 غ/ل وبلغت بعد عملية المعالجة بفطر *Aspergillus niger* 2.1 غ/ل، أي انخفض تركيز مركبات البولي فينولات في ماء الجفت بنسبة قدرها 85 %، وأبدت المتوسطات المدروسة فروقاً معنوية لدى استخدام اختبار t-test عند مستوى معنوية 0.05، بينما بقي تركيز مركبات البولي فينولات في ماء الجفت في الدورق الشاهد غير المزروع بالفطر دون تغيير (14 غ/ل).

الجدول 2. المتوسط الحسابي لقيم تركيز مركبات البولي فينولات في ماء الجفت قبل وبعد المعالجة الحيوية بالفطر *Aspergillus niger*.

تركيز مركبات البولي فينولات (غ/ل)	القيمة الوسطى	الانحراف المعياري	معامل التباين
قبل المعالجة	14*	1.9	14.7
بعد المعالجة	2.1*	0.012	1.3

* مستوى المعنوية عند 0.05 .

الأرقام بالجدول تمثل متوسط ثلاثة مكررات.

يُستنتج مما سبق:

- نجاح عملية تنمية فطر *Aspergillus niger* على ماء الجفت، حيث يؤدي هذا الفطر إلى تحطيم المركبات البولي فينولية التي تُعد السبب الرئيس في تثبيط نمو النبات و انعدام الحياة في التربة إذا ما صُرف ماء الجفت فيها.

- يساعد نمو الفطر على تحطيم مركبات البولي فينولات، الأمر الذي يؤدي إلى تحسين نشاط البكتيريا وإعادة الحياة إلى ماء الجفت، و بالتالي التخلص من أضراره البيئية.

مما سبق ينصح بإقامة أحواض سطحية لتجميع ماء الجفت مع تنمية الفطر المذكور بعد تمديده بالماء، من ثم استخدام ماء الجفت المعالج في عمليات السقاية وتخمير الكومبوست.

المراجع

الإبراهيم أنور .، النائب حسام و كبيبو عيسى .2009. تحضير السماد العضوي من المنتجات الثانوية لصناعة عصر الزيتون، وأثر استخدامه في خواص التربة و إنتاج شجيرات الكرمة. أسبوع العلم 49 مؤتمر إدارة النفايات الصلبة و السائلة في سورية الواقع و آفاق التطوير. مجلس التعليم العالي: 9-11 تشرين الثاني/ نوفمبر . 2009. كلية الهندسة المدنية بجامعة البعث.

بيطار فايز .2003. التلوث البيئي الناجم عن معاصر الزيتون، طرق المعالجة التجربة البيولوجية، أبحاث المؤتمر التعليمي الأول، المعهد العالي لبحوث البيئة، جامعة تشرين 2 - 4 كانون الأول/ ديسمبر2003.

الجردي محمد أحمد .2009. استخدام المخلفات الصلبة لعصر الزيتون كبديل للطاقة في تدفئة البيوت البلاستيكية في الساحل السوري. أسبوع العلم 49 مؤتمر إدارة النفايات الصلبة و السائلة في سورية الواقع و آفاق التطوير. مجلس التعليم العالي 9-11 تشرين الثاني/نوفمبر 2009. كلية الهندسة المدنية. جامعة البعث.

جمعة نوفا .2009. طريقة جديدة متكاملة لإدارة مياه صرف معاصر الزيتون (OMW). رسالة دكتوراة في جامعة البعث. أسبوع العلم 49 مؤتمر إدارة النفايات الصلبة و السائلة في سورية الواقع وآفاق التطوير. مجلس التعليم العالي 9-11 تشرين الثاني/نوفمبر ..2009 كلية الهندسة المدنية .جامعة البعث.

حميد أحمد محمود 2005. إمكانية الحصول على منتجات صديقة للبيئة من مخلفات صناعة عصر الزيتون : مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية .المجلد 21 (2) : 113 - 124.

-الديري ، نزال و معروف ، أحمد .2002. دراسة أولية للقيمة السمادية لبعض المخلفات العضوية الناتجة من تصنيع ثمار الزيتون والعنب لاستعمالها كأسمدة بديلة في مزارع الفاكهة . مجلة المهندس الزراعي العربي العدد (54) : 13 – 54.

قندل ، منتصر و صمام ، خالد .1994. دراسة قابلية قطور الخشب البيضاء في مهاجمة بقايا عصر ثمار الزيتون (البيرين). رسالة ماجستير، كلية الزراعة .جامعة حلب.

-المجموعة الإحصائية. 2006. مديرية الإحصاء و التخطيط، وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي في سورية، 290 صفحة.

النائب حسام ؛ كبيبو عيسى و الإبراهيم أنور .2009. دراسة الجدوى الآقتصادية

للري التسميدي بمياه عصر الزيتون على تربة حقول الكرمة. أسبوع العلم 49 مؤتمر إدارة النفايات الصلبة و السائلة في سورية الواقع وآفاق التطوير. مجلس التعليم العالي 9-11 تشرين الثاني/نوفمبر .2009. كلية الهندسة المدنية . جامعة البعث.

ناصر أميمة ؛ كبيبو عيسى و شاهين هيثم .2009. المعالجة البيولوجية للنفايات. رسالة دكتوراة في جامعة البعث. أسبوع العلم 49 مؤتمر إدارة النفايات الصلبة و السائلة في سورية الواقع وآفاق التطوير. مجلس التعليم العالي 9-11 تشرين الثاني/نوفمبر .2009 . كلية الهندسة المدنية . جامعة البعث.

Abo Omar, S.M.P. 1996. Utilisation du grignon dans des agneaux awassi. Nouvelles Scientifiques de France et du proche-orient. Juillet. 1996. Center de Documentation universitaire Scientifique et Technique, Damas.

Anac, D., H . Hakeeileilei and ME. Ingel .1993. The uses of industrial wastes as manures, land application to olive orchard. Ege-University Faculty of agriculture-Dergise. 1993.30: 3:625 -632.

CFC/IOOC. 2007. International Seminar: Olive by-products valorization for sustainable, environmentally friendly olive culture. 6th September, 2007 Damascus, Syria. Organised by: Project Executive Agency Olive Team, ENA-Meknes, Morocco and General Commission for Scientific Agricultural Research Department, Syria.

Lelis, R. C. C. 1995. Zur Bedeutung der Kerninhaltstoffe obligatorisch verkernter Nadelbaumarten bei der Herstellung von feuchtebestaendigen und biologisch resistenten Holzspanplatten. Am Beispiel der Douglasie. Dissertation an der Georg-August-Universität Göttingen.

Marsilio, V., L. Di-Giovacchino, M. Solinas, N. Lombardo and B.Bricholi. 1990. Observations on the disposal effects of vegetation waters released from oil mills on cultivated soil. Acta Hortic. Wageningen: Int. Soc. For. Horti. Sci. 286 : 493- 496.

Riker, A.J. and R. S. Riker. 1936. Introduction to Research on Plant Diseases. J.S. Swift Co., Inc.St. Louis,Chicago.117.