استخدام المياه الناتجة عن معاصر الزيتون كمصدر للكربون العضوي في أوساط تنمية فطر خميرة الخبز

نديم المهنا[1]

تاريخ الإيداع 2014/07/06

قبل للنشر في 2014/08/18

الملخص

دُرستْ في هذا البحث إمكانية استخدام المياه العادمة لمعاصر الزيتون، كمصدر للكربون العضوي رخيص الثمن، بدلاً عن المولاس المستخدم كوسط لتنمية فطر خميرة الخبز Saccharomyces cerevisiae، المهم اقتصادياً وعلمياً.

بيّنت النتائج التي تم التوصل إليها أن فطر خميرة الخبز قد نما في وسط من المياه الناتجة عن معاصر الزيتون نمواً جيداً جداً، باستخدامه الكربون العضوي اللا كربوهيدراتي (غير السكري) الموجود في المركبات الفنولية المتوافرة بتراكيز مرتفعة في هذه المياه بفاعلية لا تقل عن استخدامه للكربون الكربوهيدراتي (السكري) في نموه. وقد زاد استخدام عدد من الإضافات غير العضوية إلى وسط التنمية مردود نمو خلايا خميرة الخبز.

الكلمات المفتاحية: مخلفات معاصر الزيتون السائلة، خميرة الخبز، المولاس.

[1] أستاذ، قسم الكيمياء، كلية العلوم، جامعة دمشق، سورية.

Olive Mill waste water as a resource of Organic Carbon in fungi medium cultures of Saccharomyces cerevisiae

N. Al-Mohanna[(1)]

Received 06/07/2014
Accepted 18/08/2014

ABSTRACT

Present study domenstrate the possibility of using olive mill waste water (OMWW) as a resource of Organic Carbon, instead of molasses in fungi growth medium of Saccharomyces cerevisiae.

Results showed that Saccharomyces cerevisiae cells that which are rich in proteins had been grown and geminated more rapidly using uncarbohydrate organic carbon in phenolic compounds which are contained in high concentrations in these waste waters and revealed that adding inorganic salts to the growth medium have increased the fungi growth which are rich in proteins.

Key words: Olive mill waste water, Molasses, Saccharomyces cerevisiae

[(1)]Professor, Department of Chemistry, Faculty of Sciences, Damascus University, Syria.

المقدمة

تعدُّ شجرة الزيتون واحدة من المصادر الأكثر أهمية بين المحاصيل الزراعية في سورية. وقد ازداد الاهتمام بهذه الشجرة المُميِّزة لإقليم البحر الأبيض المتوسط، إذْ بدأت زراعتها تنتقل إلى المناطق الزراعية جميعها. وقد بلغ إجمالي المساحات المزروعة بأشجار الزيتون في سورية 616229 هكتاراً وعدد أشجار الزيتون نحو (78) مليون شجرة زيتون منها (57) مليون شجرة مثمرة تنتج نحو (1،3) مليون طن من ثمار الزيتون، ونحو (200) ألف طن من زيت الزيتون [مكتب الزيتون، 2008، وزارة الزراعة، إدلب، سورية]، ووفق إحصائيات عام 2010 لمكتب الزيتون في وزارة الزراعة تحتل سورية المرتبة الرابعة عالمياً من حيث المساحة وعدد الأشجار بعد كل من اسبانيا وايطاليا واليونان، لذا ازداد الاهتمام بصناعة استخراج زيت الزيتون؛ ممَّا أدّى إلى ازدياد عدد المعاصر وانتشارها بشكل واسع، إذْ يوجد في سورية نحو 1000 معصرة لإنتاج زيت الزيتون، منها المعاصر التقليدية ذات المكابس القديمة والمعاصر ذات المكابس الحديثة والمعاصر التي تعتمد على مبدأ الطرد المركزي. وكلها تصرف هذه المياه العادمة إلى البيئة المحيطة من دون أية معالجة نظراً إلى أنَّ معالجة مياه معاصر الزيتون (مياه الجفت)، قبل طرحها، مكلف لأصحاب هذه المعاصر، علماً أن حجم هذه المياه يصل إلى 400-500 ليتر لكل طن من الزيتون [فائز البيطار، تلوث من معاصر الزيتون، تشرين الثاني، 2002، االعدد 56]، وقد بلغ إنتاج الزيتون في العام 2010 مليون و50 ألف طن [مكتب الزيتون، 2010، وزارة الزراعة، إدلب، سورية].

تشكل هذه الكمية الضخمة من مياه الجفت مشكلة بيئية كبيرة في بلد يعاني أصلاً من شح الموارد المائية، فضلاً عن أن هذه المياه تلوث المياه الجوفية وتجعلها غير صالحة للشرب ويجب التخلص منها (Fountoulakis M. S., 2002; Laila M. 2009)، مع أن هناك محاولات لاستعمالها في الزراعة بإضافتها إلى مياه الري [أنور الإبراهيم وحسام النائب ومحمد عامر غادري. 2008، أثر استخدام مياه معاصر الزيتون في الأراضي الزراعية المزروعة بالقمح على خواص التربة والإنتاج، مركز البحوث الزراعية، حلب]. ونظراً إلى غنى مياه الجفت بالمركبات الفنولية، التي تعدُّ مركبات مهمة جداً من وجهة نظر طبية (كمضادات أكسدة)، يرى بعضهم أن من الممكن استخلاص بعض هذه المركبات من مياه الجفت ومحاولة الافادة منها اقتصادياً، كما يمكن استخدام هذه المياه مصدراً للكربون العضوي لتنمية بعض الفطريات المفيدة. فقد أدت ملاحظة نمو طبقة فطرية على سطح الأوساط المائية المستعملة لتحلية ثمار الزيتون للمائدة، التي لا تؤثر في صلاحية الثمار للأكل إلى التفكير بإمكانية استغلال هذه الفطريات بما تحويه من مركبات غذائية كالبروتينات وغيرها كمصدر للحصول على مركبات حيوية ذات قيمة غذائية

[غسان حمادة الخياط. 2004. الصناعات المكروبيولوجية، الجزء النظري، الطبعة الثانية، مديرية الكتب والمطبوعات، جامعة دمشق].

يعرف أكثر من 1500 نوع من الخمائر [Kurtzman & Fell 2006]، وتعدُّ خميرة الخبز Saccharomyces cerevisiae واحدة منها، وهي تتكون من خلايا أحادية كروية الشكل حقيقية النوى Eukaryoticcells ذات خواص فريدة وإمكانيات كيميائية كبيرة، وتميزت منذ قديم الزمان بارتباطها المباشر بالإنسان إذْ استخدمها الإنسان في صناعة الخبز ومنتجات غذائية متخمرة كثيرة لأنّ الخبز سيد الموائد الغنية والفقيرة، وغذاء استراتيجي لإنسان العصور المختلفة، وقيمة اقتصادية منذ اكتشافه، وعلى ذلك فإن هذه الخميرة هي أكثر الخمائر التي تم فهمها ودراستها. وخميرة الخبز تنمو على عدد كبير من المواد الأولية ذات التركيب العضوي، ويمكنها أن تتأقلم بشدة مع مختلف الظروف الفيزيائية والكيميائية ويمكن تداولها بسهولة في الصناعة والحياة المنزلية. وأهم الميزات المعروفة عن خميرة الخبز هي دورها في صناعة الرغيف، واستخدامها في إنتاج الإيتانول والمشروبات الروحية، كما أن للخميرة أدواراً أخرى لا تقل أهمية عما هو معروف عنها تنبع من الصفات العلاجية لها (غناها بمجموعة فيتامينات -B) فضلاً عن قيمتها الغذائية.

التركيب الكيميائي لخلايا خميرة الخبز Saccharomyces cerevisiae

بين ولكر عام 1998 (Walker 1998) التركيب الكيميائي لفطر الخبز من الكربوهيدرات والبروتينات البنيوية والإنزيمية والشحوم.

وتشمل الكربوهيدرات نوعين من المركبات:

- كربوهيدرات بنيوية مثل أنواع الهيمي سلولوز (كالغلوكان والمنان) والكيتين، وهي من مكونات الجدار الخلوي.
- كربوهيدرات ادخارية كالغليكوجين.

نوعية المركبات البروتينية وكميتها:

تبيّن وجود بروتينات بسيطة بنيوية كالأكتين والتيوبيولين والهستونات والريبوسومات، وكذلك وجود بروتينات معقدة تتوضع في جدار الخلية كالبروتين السكري – المانوبروتين. كما تبين أن خلايا السكرومايسيس فضلاً عن الإنزيمات المسؤولة عن حياة الخلية الطبيعية، تتميز باحتوائها على عدد من الإنزيمات الأخرى مثل: الإنفرتاز الذي يحلمه السكروز، إلى مزيج من الغلوكوز والفركتوز، وإنزيم المالتاز الذي يحلمه سكر المالتوز إلى الغلوكوز مع العلم أن خلايا الخميرة تعجز عن تخمير هذين السكرين الثنائيين مباشرة. ويقوم الزايماز، وهو إنزيم خاص في الخميرة، بتخمير كل من الفروكتوز والغلوكوز الناتجين عن فعالية الإنفرتاز والمالتاز السابقين، ويحولهما إلى

الغول الإتيلي وغاز ثنائي أكسيد الكربون، فضلاً عن منتجات أخرى تتشكل بكميات صغيرة كالغليسيرين، والسوكسينات، وبعض الأغوال العليا. أمَّا البروتيآز فيُحلمه البروتينات إلى حموض أمينية حرة، ويكون تأثيره في الغلوتين ضعيفاً. وذلك فضلاً عن وجود العديد من الإنزيمات الأخرى في الخميرة، ويسهم كل منها، بلا شك، في المجموع الكلي للتغيرات الناتجة عن الفعالية الوظيفية للخميرة.

المركبات الشحمية:

وهي إما شحوم بسيطة تقوم بدور ادخاري كثلاثيات أسيل الغليسيرين، أو شحوم تحقق وظائف بنيوية ووظيفية كالستيرولات ومشتقات الشحوم الفسفورية والحموض الدسمة الحرة.

المركبات الغذائية اللازمة لنمو خلايا خميرة الخبز Saccharomyces cerevisiae

نظراً إلى افتقار خلايا خميرة الخبز Saccharomyces cerevisiae للكلوروفيل كونها غيرية التغذية Heterogenous وتنتمي إلى مملكة الفطريات فإن هذا الفطر يعتمد على مصدر لعنصر الكربون ذي منشأ عضوي، فضلاً عن المركبات اللاعضوية.

تؤمن خلايا الخميرة عنصر الكربون بشكل أساسي من السكاكر المختلفة مثل الغلوكوز والفركتوز، أو السكروز أو المالتوز، كما يمكن لبعض الأنواع أن تستقلب السكاكر الخماسية (البنتوزات)، كالريبوز، والأغوال والحموض الأمينية [Barnett 1975].

تُنمّى خلايا خميرة الخبز على نطاق واسع بهدف استخدامها في صناعة الخبز، وهناك في سورية العديد من معامل إنتاج هذه الخميرة منتشرة في المحافظات جميعها، وهي تستخدم المولاس كمصدر للكربون العضوي في هذه التنمية كما تُنمّى خميرة الخبز مخبرياً، على أوساط صلبة أو سائلة محددة التركيب، يُستخدم فيها المولاس أو غيره من مصادر الكربون العضوي كالسكريات الأحادية والثنائية، وأحياناً مركبات عضوية لاكربوهيدراتية كالحموض الأمينية.

أمَّا مصادر النتروجين فقد تكون عضوية المنشأ أو لاعضوية، إذْ يمكن لخلايا الخميرة أن تستخدم الأمونيا وكبريتات الأمونيوم وفسفات الأمونيوم وعدداً من البروتينات المنحلة والببتون الموجودة في مولاس الشوندر. ويمكن زيادة كمية الخميرة النامية بخفض كمية السكر في وسط النمو واستعمال مركبات الآزوت بكميات أكبر وضمن حدود معينة. ومن الجدير بالذكر أن استخدام الأمونيا واليوريا كمصدر للآزوت يكون عاماً بالنسبة إلى الأنواع المختلفة من الخميرة، ولكن استخدام أملاح النتريت يقتصر على أنواع محددة منها هي تلك القادرة على إرجاع شوارد النتريت إلى شوارد الأمونيوم، ويمكن استخدام بعض أنواع الحموض الأمينية والببتيدات الصغيرة والأسس الآزوتية كمصدر للآزوت.

وتستخدم عادة الفسفات ثنائية الأمونيوم أحادية الهيدروجين كمصدر للفسفور، وهو عنصر أساسي في تركيب خلايا خميرة الخبز، ومن دونه لا يمكن الحصول على الخميرة بالكميات المطلوبة.

فضلاً عمّا سبق من الضروري أن يوجد في أوساط نمو الخميرة عدد من الشوارد اللاعضوية الأخرى، ومنها شوارد الزنك والمغنيزيوم والحديد والكالسيوم...الخ، وهي عناصر مهمة للنمو الجيد لخلية الخميرة لأنها تدخل في تكوين الإنزيمات. فالمغنزيوم، يساعد على زيادة كميات خميرة الخبز، ويضاف إلى أحواض التنمية على شكل كبريتات المغنيزيوم. كما تحقق الأملاح المعدنية المضافة الشروط اللازمة لتأمين التوازن الحلولي، كما تحتاج الخميرة عنصر الكبريت ومصدره شوارد الكبريتات أوالحمضين الأمينيين: الميثيونين methionine والسيستئين cysteine.

وتحتاج خميرة الخبز في نموها كذلك إلى ضرورة توافر بعض الكوإنزيمات التي تقدم أحياناً على شكل إضافات فيتامينية (بيوتين وB1 وB6، ..)، وكذلك دلت التجارب العلمية على أن لوجود بعض الفيتامينات بتراكيز ميكروئية تأثيراً كبيراً في إنتاج خلايا الخميرة الخبز كالبيوتين والبانتوثين والإينوسيتول [Hala´sz& La´sztity, 1991] و[Yamada *et al*., 2003].

ونظراً إلى أنَّ هذه الخلايا تتميز باحتوائها على تراكيز مرتفعة من البروتينات ومن ثمَّ على قيمة غذائية عالية، [Rumsey *et al.*, 1991] [Caballero-&Sgarbieri 2000 Co´rdoba] فإن ذلك يجعل منها مصدراً غذائياً مهماً لتغذية الحيوانات فيما لو أمكن تنميتها بشروط سهلة ورخيصة التكاليف.

تُستخدم خلايا خميرة الخبز في البحوث الكيميائية الحيوية والبيولوجية بوصفها من الخلايا حقيقيات النوى فضلاً عن أنها غير ممرضة وسريعة النمو، وهي من ثمَّ توفر حقلاً واسعاً من الدراسات في مجال الوراثة genetics والبيولوجيا الجزيئية Molecular biology. [Demain *et al.*, 2007].

تستخدم الخمائر في إنتاج العديد من المركبات الحيوية الوسطية الاستقلابية intermediate metabolites مثل الإنزيمات والفيتامينات والسكاكر المتعددة والكاروتينات والشحوم والأغوال متعددة الهيدروكسيل وحمض الليمون. ويشير [Horst. 2005] في كتابه "البيولوجيا الجزيئية للخمائر" إلى استخدامات خلايا الخميرة في التكنولوجيا الحيوية، إذ يجري باستخدام طريقة الاستنساخ، الحصول على العديد من المركبات ذات الأهمية العلاجية من الخمائر ومنها: منتجات طلائعيات النوى ومضادات فيروسية Malaria antigen ومنتجات حيوانية وهرمونات بشرية وعوامل نمو بشرية وبروتينات الدم البشري وإنزيمات بشرية متنوعة [Horst. 2005].

من الطرائق الممكنة لتنمية خلايا فطر الخبز Saccharomyces cerevisiae استخدام المياه الناتجة عن معاصر الزيتون Olive Mill Waste Water (O.M.W.W) التي تعدُّ محلولاً مائياً يصل حجم إنتاجه السنوي في مناطق البحر المتوسط المنتجة للزيتون إلى أكثر من 3. 10^7 $م^3$ وتعدُّ هذه المياه ملوثات خطيرة للتربة والمياه الجوفية على حد سواء [D'Annibale A *et al.*, 2004] .

وبحسب [Roig *et al.*, 2005] يخضع التركيب الكيميائي لمياه معاصر الزيتون التي تطرحها معاصر الزيتون إلى مجموعة من العوامل المتعددة تتعلق بنوعية الزيتون ودرجة نضجه، ونوع التربة التي ينمو عليها، ونظام الزراعة، وشروط المناخ، كما تؤثر العمليات التقنية للإنتاج في نوعية هذه المياه وكميتها.

وتبين دراسات كل من [Papanikolaou *et al.*, 2008] و[Hamdi, 1993] أن التركيب الكيميائي للمياه العادمة لمعاصر الزيتونO.M.W.W يشمل مركبات عديدة جداً منحلة في الماء، وهي موجودة في ثمار الزيتون، بعضها عضوي وبعضها الآخر لا عضوي، تتضمن ما يأتي:

1- الماء وتصل كميته إلى 83-94 % وزناً.

2- الأملاح المعدنية (أملاح الصوديوم والحديد والبوتاسيوم والكالسيوم والمغنيزيوم) وتوجد بكميات قليلة جداً ويراوح تركيزها 0.4-2.5% وزناً

3- مركبات عضوية تراوح كميتها بين 4- 16% وزناً، وبحسب Hamdi و Papanikolaou تتكون من الكربوهيدرات [Halvadakis & Niaounakis, 2006] (الفروكتوز والمانوز والغلوكوز والسكروز وبعض البنتوزات)؛ والتانينات. والفينولات، ومتعددات الفينول، ومتعددات الغول Polyalcohols، والبكتينات، وبقايا زيتية.

هدف البحث

1- استخدام مياه معاصر الزيتون في تنمية فطر خميرة الخبز ذي الأهمية الاقتصادية والعلمية الكبيرة جداً.
2- التخلص من الآثار السلبية التي تسببها مركبات بيئية سامة موجودة في مياه معاصر الزيتون.
3- دراسة تغيرات معدل النمو لخميرة الخبز علاقتها بالتركيب الكيميائي لأوساط النمو المكونة من مياه معاصر الزيتون، والمولاس، وإضافات آزوتية أخرى.

مواد البحث وطرائقه

المواد:

- خلايا خميرة الخبز المستخدمة في الأفران بمدينة دمشق التي تنتجها المعامل المحلية.
- مياه معاصر الزيتون من معاصر الزيتون المحلية.

-المولاس من إنتاج معامل السكر المحلية.
- الإضافات الكيميائية المستخدمة في العمل من الأنواع التجارية الرخيصة الثمن.

الأدوات:

-جهاز pH- ORION– أمريكا.
-هزاز GFL 3031- ألمانيا.
-حاضنة حرارية PHILIP HARRIS– إنكلترا.
-مثقلة مبَرَّدة BOECO –ألمانيا.

طرائق العمل ومناقشة النتائج:

حُدّدتْ نسبة نمو مستحضر خميرة الخبز في المياه الناتجة عن معاصر الزيتون بعد تعقيم هذه المياه حرارياً بالغليان مدة 30 دقيقة، ثم أضيفت إليها مركبات كيميائية أخرى: سكرية من المولاس أو من محاليل سكرية نقية كعينات مقارنة ومحاليل ملحية آزوتية بتراكيز مختلفة وبتراكيب متعددة، وذلك لتحديد تأثير الإضافات العضوية واللاعضوية في الوسط الحاوي على الكربون العضوي من مياه معاصر الزيتون في مردود تكاثر هذه الخلايا.

العلاقة بين نمو خلايا خميرة الخبز والتركيب العضوي لوسط النمو:

أُجريتْ دراسة مقارنة بين نسبة نمو خلايا خميرة الخبز في مياه معاصر الزيتون O.M.W.W مع نموها في وسط من السكروز النقي ودون أية إضافات أخرى، وذلك بتنمية 10غ من الخميرة في أوساط مختلفة من الماء والسكروز ومن مياه معاصر الزيتون، وذلك وفق الخطوات الآتية:

1- تسخين مياه معاصر الزيتون إلى درجة الغليان وغليها مدة نصف ساعة، وذلك للتخلص من البكتريا الموجودة.
2- ترشيح مياه المعاصر، بعد تبريدها، بواسطة قطعة قماش لإزالة المواد الصلبة العالقة بها قبل الاستخدام.
3- تحضير محاليل ممددة من مياه معاصر الزيتون بحجم 100 سم^3 وفق التراكيز الآتية: 10% و25% و50%.
4- تحضير محلول من السكروز تركيزه 10% (محلول مقارنة).
5- إضافة 10غ من خميرة الخبز إلى كلٍ من المحاليل السابقة.
6- حضنت المزارع الناتجة، مع التحريك في هزازة آلية، عند درجة حرارة 37 س° مدة 8 أيام، مع تهوية المستنبتات دورياً.
7- فصل مكونات كتلة الخميرة النامية من وسط النمو بالترشيح، ثم بالتثفيل، وتجفيفها عند الدرجة 105س° حتى ثبات الوزن، ثم تعيين وزن الكتلة الحية النامية في وسط النمو.
8- حُسبت النسبة المئوية للنمو مقارنة بالوسط المائي ويبيّن كل من الجدول (1) والشكل (1) نتائج القياسات التي تم التوصل إليها.

مقارنة بين تأثير الكربون العضوي اللاسكري من مياه المعاصر والكربون العضوي من مصدر سكري:

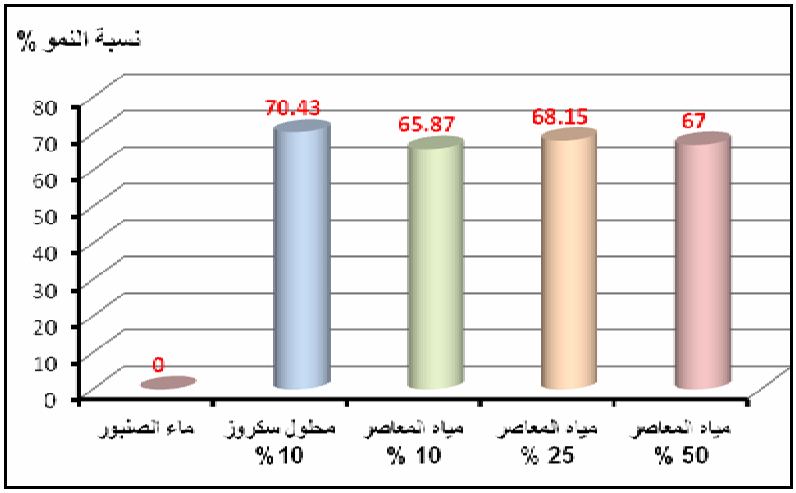
في مجموعة التجارب الأولى أُجريتْ تنمية 10 غرامات من خلايا خميرة الخبز الرطبة في دراسة مقارنة لتأثير أوساط النمو، أُجريتِ التنمية في أوساط متعددة التراكيب حجم الواحد منها 100 سم^3 على الشكل الآتي :

1. الماء النقي العادي؛
2. محلول السكروز 10%؛
3. مياه معاصر الزيتون O.M.W.W بتراكيز متدرجة بين 10 و25 و50%.

وحضنت العينات، كما أسلفنا، مدة 8 أيام في هزازة آلية بالدرجة 37 س° وفق الخطوات المذكورة أعلاه، ويبيّن كل من الجدول (1) والشكل (1) نتائج القياسات التي تم التوصل إليها.

الجدول (1) النسبة المئوية لنمو الخميرة الرطبة على مياه الصنبور ومحلول السكروز ومياه معاصر الزيتون بعد 8 أيام من الزراعة.

شروط الحضن	1	2	3	4	5
	ماء الصنبور	محلول سكروز 10%	مياه المعاصر 10 %	مياه المعاصر 25 %	مياه المعاصر 50 %
وزن الفطر الأولي	10 غ	10 غ	10 غ	10 غ	10 غ
وزن الفطر النامي	10.2	17.38	17.15	17.151	17.03
نسبة النمو%	0	70.43	65.87	68.15	67



الشكل (1) االنسبة المئوية لنمو خلايا الخميرة في وسط من ماء الصنبور ووسط من محلول السكروز وأوساط مياه معاصر الزيتون.

يتضح من الأرقام التي تم الحصول عليها أن نمو الخميرة في الوسط المائي ضعيف جداً أو يمكن عدُّه معدوماً، وأن نمو خلايا الخميرة في الوسط السكري وأوساط مياه معاصر الزيتون بالتراكيز المأخوذة للتجربة متقارب بشكل كبير، وهذا يدل على أنه من الممكن استخدام المصادر الكربونية العضوية في مياه معاصر الزيتون على شكل مركبات فينولية بتراكيز عالية بديلاً للكربون العضوي الذي تحتويه السكاكر في المولاس، الذي يستخدم عادة في تنمية الفطر.

تأثير الشوارد الملحية في نمو الخميرة

أجريت التجارب لتحديد تأثير وجود عدد من الإضافات اللاعضوية الملحية في نمو نوعين من أنواع الخميرة المتوافرة في السوق المحلية، وهي:

أولاً- الخميرة الجافة التي تستخدم في المنازل وفي معامل صناعة المعجنات المشتقة من الطحين.

ثانياً– الخميرة الرطبة التي تنتجها المعامل المحلية لتوزعها على الأفران لصناعة الخبز.

استخدم في هذه المجموعة من التجارب عدد من محاليل الأملاح اللاعضوية التي أضيفت إلى وسط النمو المكون من مياه المعاصر والمولاس العضويين، وذلك في مجموعتين تجريبيتين، تشمل ثلاثة من أوساط التنمية:

(وسط التنمية-1) يتكون هذا الوسط من مياه معاصر الزيتون والمولاس فقط بالنسب الآتية:

500 مل مياه معاصر الزيتون 150 مل مولاساً

(وسط التنمية -2) يتكون هذا الوسط من مياه معاصر الزيتون والمولاس وبعض المحاليل الملحية بتراكيز منخفضة بالنسب الآتية:

500 مل مياه معاصر الزيتون. 0,5 غ فسفات بوتاسيوم ثنائية الهيدروجين.
150 مل مولاساً. 0.2غ كبريتات مغنيزيوم.
0,5 غ نترات الصوديوم. 0.1 غ كبريتات الحديد $Fe_2(SO_4)_3$.

يمدد الحجم النهائي بالماء حتى 1 ليتر.

(وسط التنمية -3) يتكون هذا الوسط من مياه معاصر الزيتون والمولاس وبعض المحاليل الملحية بتراكيز مرتفعة بالنسب الآتية:

500 مل من مياه معاصر الزيتون. 1,0 غ فوسفات بوتاسيوم ثنائية الهيدروجين.
150 مل من المولاس. 0.4 غ كبريتات مغنيزيوم.
1,0 غ فسفات الصوديوم. 0.2 غ كبريتات الحديد $Fe_2(SO_4)_3$.

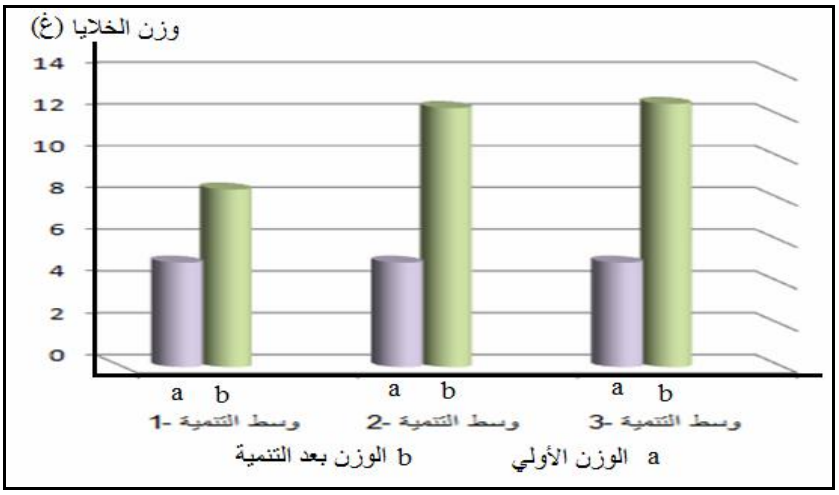
يكمل الحجم النهائي بالماء إلى 1 ليتر.

أولاً- تأثير الشوارد الملحية في نمو الخميرة الجافة

أُجريتْ تنمية خلايا الخميرة في هذا الوسط بوزن 5 غرامات من الفطور الجافة، حيث حضنت العينات مدة 8 أيام في هزازة آلية بالدرجة 37 سْ° مع تهوية المستنبتات دورياً، وفي نهاية التجربة فُصلت الخلايا بالترشيح والتثفيل وجُفّفتْ حتى ثبات الوزن ثم قيستْ أوزانها. وحسبت النسبة المئوية للنمو مقارنة بالوسط المائي. ويعرض الجدول (2) والشكل (2) النتائج التي تم التوصل إليها في دراسة نمو الخميرة الجافة في شروط التجربة.

الجدول (2) النسبة المئوية لنمو خلايا خميرة الخبز الجافة في أوساط التنمية الثلاثة.

	وسط التنمية -1	وسط التنمية -2	وسط التنمية -3
الوزن الأولي للفطر	5 (غ)	5 (غ)	5 (غ)
وزن الفطر النامي(غ)	8.5 (غ)	12.4 (غ)	12.6 (غ)
نسبة النمو%	100	146	148



الشكل (2) نمو خلايا خميرة الخبز الجافة في مياه معاصر الزيتون والمولاس (الوسط-1) وبوجود المحاليل الملحية الممددة (الوسط -2) والمركزة (الوسط -3).

يتضح من المعطيات في الجدول (2) والشكل (2) أن زيادة تركيز أملاح شرجبات الصوديوم والبوتاسيوم والمغنيزيوم والحديد الثلاثي وكذلك شرسبات الآزوت والفسفور لم ترفع من درجة نمو خلايا الخميرة فقد كانت التراكيز االمنخفضة كافية لزيادة النمو بنسبة 50% على ما هي عليه في الوسط المكون من مياه المعاصر والمولاس من دون إضافات.

ثانياً - تأثير الشوارد الملحية في نمو الخميرة الرطبة

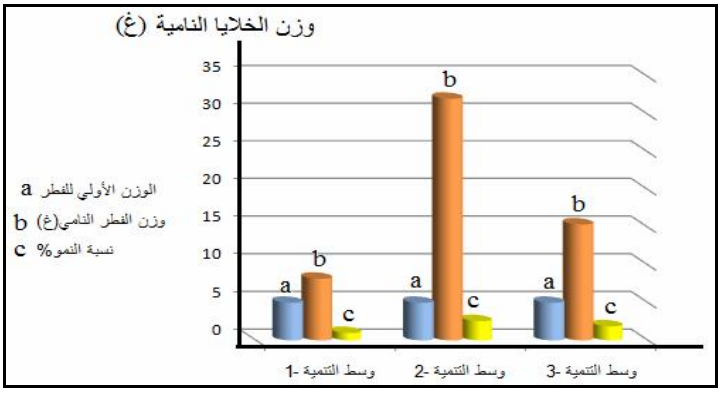
في هذه المجموعة من التجارب أعيدت التجارب باستخدام خلايا الخميرة الرطبة المستخدمة في المخابز المحلية والمستحصلة مباشرة من مزارع التنمية المحلية. وأُجريتْ تنميتها في أوساط الزراعة الثلاثة (وسط التنمية-1 ووسط التنمية-2 ووسط التنمية-3). المذكورة أعلاه:

أُجريتْ في هذه الأوساط كذلك تنمية 5 غرامات من الفطور الرطبة، إذْ حضنت العينات مدة 8 أيام في هزازة آلية بالدرجة 37 س° مع تهوية المستنبتات دورياً، وفي نهاية التجربة فُصلت الخلايا بالترشيح والتثقيل وجُففت حتى ثبات الوزن ثم قيست أوزانها. وحسبت النسَبة المئوية للنمو مقارنة بالوسط المائي (وسط التنمية-1).

يعرض الجدول (3) والشكل (3) النتائج التي تم التوصل إليها في نمو الخميرة الرطبة في هذه الشروط.

الجدول (3) النسبة المئوية لنمو خلايا خميرة الخبز الرطبة في أوساط التنمية الثلاثة

	وسط التنمية -1	وسط التنمية -2	وسط التنمية -3
الوزن الأولي للفطر	5 (غ)	5 (غ)	5 (غ)
وزن الفطر النامي(غ)	8.2 (غ)	32.1 (غ)	15.4 (غ)
نسبة النمو%	100	257	188.4



الشكل (3) نمو خلايا خميرة الخبز الرطبة في أوساط التنمية الثلاثة

تبيّن النتائج التي تم التوصل إليها أن خلايا الخميرة الرطبة أكثر استجابة للإضافات الملحية في وسط النمو من خلايا الخميرة الجافة، فقد اقتربت نسبة نموها بوجود الأملاح مضاعفة التركيز من ضعفي نموها تقريباً في الوسط الذي لايحوي على الأملاح، في حين تجاوزت نسبة نموها بوجود الأملاح الممددة أكثر من الثلاثة أضعاف مقارنة بالنمو في الوسط الذي لايحوي على الأملاح.

وقد يكون السبب في كون نمو خلايا الخميرة في الأوساط الملحية الممددة أعلى من نموها في أوساط المحاليل المركزة ناتجاً عن الضغط الحلولي المرتفع لمحاليل الأملاح المركزة الذي يعيق امتصاص الخلايا للمركبات المنحلة.

وفي التجارب اللاحقة استُخدمتْ خلايا الخميرة الرطبة نظراً إلى الاستجابة العليا التي تميزت بها لعوامل النمو المَضافة

نمو خلايا الخميرة الرطبة عند إضافة شوارد كبريتات المغنيزيوم إلى أوساط التنمية

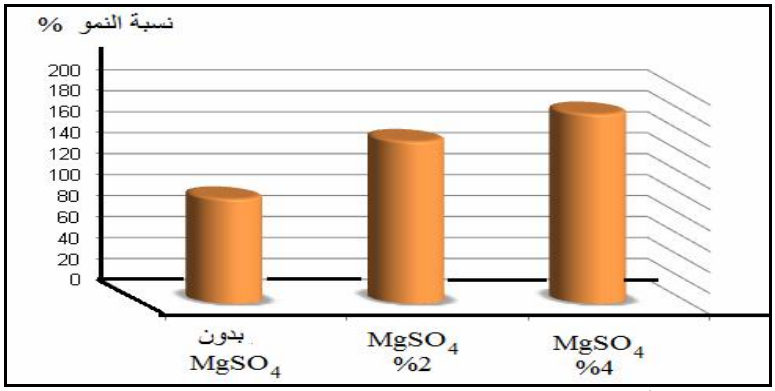
في المجموعة الرابعة من التجارب استخدم في تنمية خلايا الفطر وسط التنمية -2 الذي نمت فيه الخلايا بأعلى درجة والذي يتكون من مياه معاصر الزيتون الحاوية على المولاس والشوارد اللاعضوية في التراكيز الممددة وفق ماورد أعلاه، بعد أن أضيفت إليه شوارد كبريتات المغنيزيوم بتركيزين مختلفين: 0.2% و0.4%.

أُجريتْ في هذه الأوساط تنمية 5 غرامات من الفطور الرطبة، إذْ حضنت العينات مدة 8 أيام في هزازة آلية بالدرجة 37 س° مع تهوية المستنبتات دورياً، وفي نهاية التجربة فُصلت الخلايا بالترشيح والتثفيل وجُففتْ حتى ثبات الوزن ثم قيستْ أوزانها. وحسبت النسبةَ المئوية للنمو مقارنة بنمو هذه الخلايا في وسط التنمية-1.

يعرض الجدول (4) والشكل (4) النتائج التي تم التوصل إليها في نمو الخميرة الرطبة في هذه الشروط.

الجدول (4) تأثير زيادة تركيز كبريتات المغنيزيوم على سرعة نمو خلايا الخميرة الرطبة

	النمو من دون $MgSO_4$	%0.2 $MgSO_4$	%0.4 $MgSO_4$
الوزن الأولي للفطر	5 (غ)	5 (غ)	5 (غ)
وزن الفطر النامي(غ)	6.8 (غ)	10.5 (غ)	12.3(غ)
نسبة النمو%	%100	154.9	181.0



الشكل (4) تأثير وجود كبريتات المغنيزيوم على سرعة نمو خلايا الخميرة الرطبة

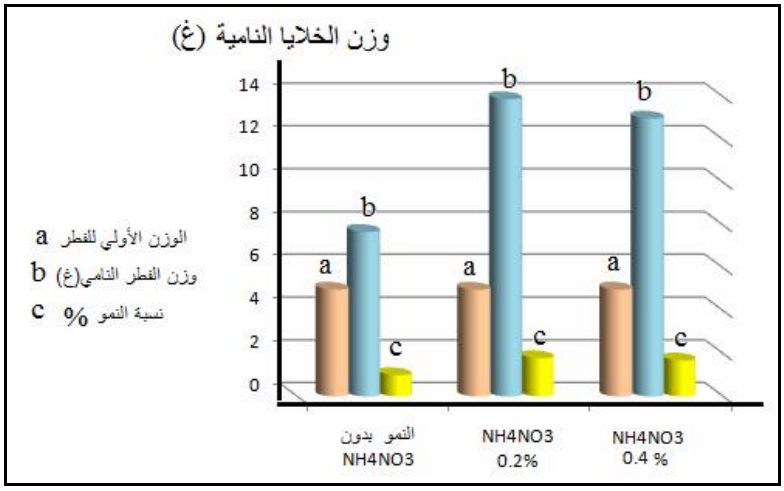
في المجموعة الخامسة من التجارب أُجريتْ تنمية خلايا الفطر في وسط الزراعة الأول من مياه معاصر الزيتون الحاوي على الإضافات السكرية وأخرى من الشوارد اللاعضوية، كما ورد في الوسط الأول أعلاه بعد أن أضيف إليه كميات أخرى من نترات الأمونيوم.

أجريت في هذه الأوساط تنمية 5 غرامات من الفطور الرطبة، إذْ حضنت العينات مدة 8 أيام في هزازة آلية بالدرجة 37 سْ° مع تهوية المستنبتات دورياً، وفي نهاية التجربة فُصلت الخلايا بالترشيح والتثفيل وجُفّفتْ حتى ثبات الوزن ثم قيستْ أوزانها. وحسبت النسبةَ المئوية للنمو مقارنة بالوسط المائي.

يعرض الجدول (5) والشكل (5) النتائج التي تم التوصل إليها لنمو الخميرة الرطبة في هذه الشروط .

الجدول (5) نمو خلايا الخميرة الرطبة بوجود ملح نترات الأمونيوم

	النمو من دون NH_4NO_3	%0.2 NH_4NO_3	%0.4 NH_4NO_3
الوزن الأولي للفطر	5 (غ)	5 (غ)	5 (غ)
وزن الفطر النامي(غ)	7.7 (غ)	13.9 (غ)	13.0 (غ)
نسبة النمو	%100	%180	%169



الشكل (5) نمو خلايا الخميرة الرطبة بزيادة تركيز نترات الأمونيوم

الاستنتاجات

1- استخدمت خلايا خميرة الخبز، عند تنميتها في مياه معاصر الزيتون O.M.W.W، الكربون العضوي اللاكربوهيدراتي الموجود في تركيب هذه المياه على شكل مركبات فينولية بتراكيز مرتفعة، بفاعلية لا تقل عن استخدامها للكربون العضوي الكربوهيدراتي (السكري) في نموها.
2- يعطي تمديد مياه معاصر الزيتون بنسب مختلفة نتائج جيدة أيضاً.
3- أدت الإضافات اللاعضوية الملحية بتراكيز معينة إلى زيادة واضحة في نمو خلايا الفطر.
4- ازدياد تراكيز الأملاح اللاعضوية المضافة يخفض من الفعالية الإيجابية لنمو خلايا الفطر، وقد يعود ذلك إلى ارتفاع تراكيز المركبات العضوية واللاعضوية المنحلة في وسط النمو وتأثيرها السلبي في الضغط الحلولي في وسط النمو.
5- تبيّن النتائج إمكانية تنقية مياه معاصر الزيتون، المصنفة كفضلات حيوية وضارة بالبيئة والزراعة، باستخدام الطريقة المقترحة وتحويلها إلى مياه صالحة للري.
6- من الضروري إجراء المزيد من البحوث مستقبلاً للحصول على نتائج مجدية اقتصادياً.

References المراجع

Asses, N., Ayed, L. Bouallagui, H., Ben Rejeb, I., Gargouri M., Hamdi M. 2008. Use of Geotrichum candidum for olive mill wastewater treatment in submerged and static culture. Tunis, Tunisia Received.

Barnett, J. A., 1975. The entry of D-ribose into some yeasts of the genus Pichia, *Journal of General Microbiology,* 90(1),1–12.

Balasubramanian, M., Bi. E., Glotzer, M., 2004. Comparative analysis of cytokinesis in budding yeast,fission yeast and animal cells, *CurrBiol,* 18(14), 806-818.

Blake, D. M. 1994. Bibiograph of work on photocatalyticremoval of hazardous compounds from water,*National Renewable Energy lab.Golden,Co.USA*,430-6048.

Caballero-Córdoba, G. M., Sgarbieri, V. C. 2000. Nutritional and toxicological evaluation of yeast (Saccharomyces CereVisiae) biomass and a yeast proteinconcentrate, *J. Sci. Food Agric*,80,341–351.

Fountoulakis, M. S., Dokianakis, S. N. Kornaros, M. E. Aggelis G. G. and Lyberatos. G. Removal of phenolics in olive mill wastewaters using the white-rot fungus *Pleurotus ostreatus*; Received 10 July 2001; revised 15 February 2002; accepted 22 March 2002. Available online 4 June 2002.

Halász, A., Lásztity. R. 1991. Use of Yeast Biomass in Food Production, *CRCPress: BocaRaton,FL,*p3120.

Kurtzman, C. P., Fell, J. W. 2005. Biodiversity and Ecophysiology of Yeasts, *Springer*, 11–30.

Kurtzman, C. P., Piškur, J. 2006. Taxonomy and phylogenetic diversity among the yeasts, *Springer*, 29–46.

Kurtzman, C. P., Fell, J. W. 2006. Yeast Systematics and Phylogeny—Implications of Molecular Identification Methods for Studies in Ecology, Biodiversity and Ecophysiology of Yeasts, *Springer*, 34-65.

Laila Mandi, Mounia Achak, Abdellatif Hafidi, Naaila Ouazzani. 2009. Low cost bio-sorbent for the removal of phenolic compounds from olive mill wastewater.

Man, A. M. 2005. Ascospore formation in the yeast Saccharomyces cerevisiae, *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 69 (4)565–84.

Rumsey, G. L., Hughes, S. G., Smith, R. R., Kinsella, J. E., Shetty, K. J. 1991. Digestibility and energy values of intact, disrupted and extracts from brewer's dried yeast fed to rainbow trout,*Anim.FeedSci.Technol*,33,185–193.

Schulze, U. 1995. Anaerobic physiology of Saccharomyces cerevisiae. Ph. d. thesis, Technical University of Denmark.

Walker, G. M. 1998. Yeast Physiology and Biotechnology,*John Wiley & Sons, Chichester.*

Yamada, E. A., Sgarbieri, V. C., Cipolli, K. M., Harada, M. M. 2003. Physical, chemical and sensorial evaluation of meats ausage containing auto lysate extract and phosphorylated protein concentrate from alcohol distillery yeast (Saccharomyces sp.),*In Proceedings of the 49th International Congress of Meat Science and Technology;Campinas, Brazil*,1,397–398.

Yeong, F. M. 2005. Severing all ties between mother and daughter: cell separation in budding yeast,*Molecular Microbiology*,55(5),1325–31.

أنور الإبراهيم وحسام النائب ومحمد عامر غادري. 2008. أثر استخدام مياه عصر الزيتون في الأراضي الزراعية المزروعة بالقمح على خواص التربة والإنتاج، مركز البحوث الزراعية، حلب.

غسان حمادة الخياط. 2004. الصناعات المكروبيولوجيا، الجزء النظري، الطبعة الثانية، مديرية الكتب والمطبوعات، جامعة دمشق..

فائز البيطار. 2002. تلوث من معاصر الزيتون-تشرين الثاني، العدد 56.

مكتب الزيتون، 2008. وزارة الزراعة، إدلب، سورية.

مكتب الزيتون، 2010. وزارة الزراعة، إدلب، سورية.