

تأثير بعض الأنزيمات في الهضم اللاهوائي لتفل الزيتون ضمن ظروف الحرارة العالية

رأفت العفيف⁽¹⁾

الملخص

تعد إدارة مخلفات معاصر الزيتون إحدى المشكلات البيئية المهمة التي تواجه البلدان المطلة على حوض البحر الأبيض المتوسط. تم في هذا البحث تحري المعالجة اللاهوائية لتفل الزيتون (المخلفات الصلبة الناتجة من عصر الزيتون) ضمن ظروف الحرارة العالية، وتأثير إضافة خلاط أنزيمات (Cellulase; PectinaseL; Amylase S; Lipase) في إنتاج الميثان، وذلك للحصول على بيانات لحركية تحلل المادة العضوية وزيادة إنتاج الميثان. أجريت التجارب في وحدات هضم لاهوائية مخبرية، سعة كل منها 2000 مل ضمن درجة حرارة 55°C مدة 60 يوماً. بلغ حجم الغاز الحيوي والميثان الناتجين من الهضم اللاهوائي لتفل الزيتون (280 I_N kg⁻¹ VS) و(153 I_N kg⁻¹ VS) على التوالي. وأدى الهضم اللاهوائي لتفل الزيتون في ظروف الحرارة العالية 55°C إلى زيادة في معدل إنتاج الميثان والغاز الحيوي بنسبة 10% و17% على التوالي، وذلك مقارنةً بمثله في ظروف الحرارة المتوسطة 37.5°C. زادت إضافة خلاط الأنزيمات إلى تفل الزيتون من تركيز الميثان في الغاز الحيوي بمعدل تراوح بين 0.35-2.5%، دون أن يؤدي ذلك إلى زيادة معنوية كبيرة (P<0.05) في إنتاجه. كان أفضل معدل لإنتاج الميثان (155 I_N kg⁻¹ VS) عند إضافة خليط الأنزيمات Metha Plus; Cellulase إلى تفل الزيتون. وتراوح تركيز CH₄ في الغاز الحيوي بين 59-60.5% أما النسبة المتبقية فكانت بأغلبها CO₂. لاعمت بيانات التجارب المخبرية النموذج الحركي لإنتاج الغاز الحيوي الذي تم وضعه، وتبين وجود معدلين مختلفين لثوابت التفاعل k1 = 0.130 d⁻¹ خلال 3-17 يوماً الأولى من زمن التخمر و k2 = 0.034 d⁻¹ من اليوم 20 إلى 40 من زمن التخمر.

الكلمات المفتاحية: الهضم اللاهوائي، الأنزيمات، تفل الزيتون.

⁽¹⁾ قسم الهندسة الريفية، كلية الزراعة، ص. ب. 30621، جامعة دمشق، سورية.

Influence of Some Enzymes on the Anaerobic Digestion of Olive Pulp under Thermophilic Conditions

Rafat Al Afif⁽¹⁾

ABSTRACT

One major environmental concern in the Mediterranean countries is the management of olive mill waste from the olive-oil producing mills. In this study the anaerobic treatment of olive pulp (olive mill solid waste) and the impact of addition of mixtures of enzymes (MethaPlus; Cellulase; PectinaseL; Amylase S and Lipase) to olive pulp on methane production was investigated in order to get kinetic data for degradation and increase the methane yield. Lab-scale batch digesters of 2000 ml capacity were used and the temperature was set at 55 °C. Hydraulic retention time was 60 days. Biogas and methane yields result to 280 and 153 IN kg-1 VS, respectively, Comparing these results with the yields under mesophilic temperature 37.5°C during the same digested time, confirmed that there were a significant differences between mesophilic and thermophilic conditions, with the latter achieving a better performance, with increases of methane and biogas compared to the mesophilic condition of 10% and 17%, respectively. Addition of enzymes to olive pulp increased the methane concentration in the biogas ranged from 0.35-2.5% compared with untreated mixture, and there was no so significant increase ($P<0.05$) in the methane production. The best methane production was about 155 IN kg-1 VS obtained from the mixture of Metha Plus and Cellulase digested with olive pulp. The methane content of the biogas was of 59-60.5%, the remaining being principally CO₂. When modelling the biogas production, a first order kinetic was adequate to fit the experimental data obtained with two different reaction rate constants $K1= 0.130 \text{ d}^{-1}$ during days 3–17. The magnitude results to $K2= 0.034 \text{ d}^{-1}$ during days 20 to 40.

Keywords: Anaerobic digestion; Enzymes; Olive pulp.

⁽¹⁾ Department of Rural Engineering, Faculty of Agriculture, P.O. Box: 30621, Damascus University, Syria.

المقدمة

تؤدي الطاقات المتجددة دوراً متنامياً في التزود بالطاقة والتنمية المستدامة في المستقبل. وتعدُّ الكتلة الحيوية مصدراً من مصادر للطاقة المتجددة (European Commission, 2006). إن إنتاج الميثان خلال الهضم اللاهوائي سوف يعود بالفائدة على المجتمع كونه أحد مصادر الطاقات النظيفة التي تسهم في الحد من مشكلة ارتفاع حرارة الكون والمطر الحامضي (Chynoweth, 2004). تعدُّ إدارة مخلفات معاصر الزيتون إحدى المشكلات البيئية المهمة التي تواجه البلدان المطلة على حوض البحر الأبيض المتوسط. في سورية، وقد وضعت رئاسة مجلس الوزراء ومراكز البحث العلمي مشاريع إنتاج الطاقة المتجددة ضمن أولوياتها إذ إن سورية بلد زراعي ينتج أنواعاً مختلفة من المحاصيل الزراعية فهي تحتل المركز السادس عالمياً في عدد أشجار الزيتون وإنتاج زيت الزيتون حيث يصل إنتاجها إلى 177000 طن سنوياً، ينتج عنها كمية مخلفات تصل إلى 559000 طن سنوياً (IOOC statistics for World Olive Oil Production, 2004).

تملك المخلفات السائلة لمعاصر الزيتون القدرة على التسبب بشكل كبير في تلوث الهواء والمياه الجوفية بما تحتويه من معدل مرتفع من الكربوهيدرات والبروتين والدهون (*lipids*) وعدد آخر من المركبات الطيارة (Capasso, 1995). كانت المعالجة الكيميائية أو الحيوية للمخلفات السائلة لمعاصر الزيتون موضوعاً للعديد من البحوث التي توصلت إلى إزالة المواد العضوية الملوثة بنسبة تراوحت بين 65 إلى 95% (Benitez *et al.*, 1999; Erguder *et al.*, 2000; Demirer *et al.*, 2000; Gharsallah *et al.*, 1994 and Fezzani *et al.*, 2007). إن نقل الزيتون (OP) (المخلفات الصلبة الناتجة من عصر الزيتون) غنية بالكربوهيدرات وبعض المواد العضوية، لذلك فهي تملك المقدرة على إنتاج الطاقة من الهيدروجين والميثان (Sanchez *et al.*, 2007; Borja *et al.*, 2005 a,b). أكد مؤخرًا أن نقل الزيتون مناسب جداً لإنتاج غاز الميثان، بمعدل إنتاج (139 I_N kg-1 VS/60 d) (Al Afif *et al.*, 2007). أكد الباحثان العفيف و أمون إمكانية الحصول على المزيد من غاز الميثان من الهضم اللاهوائي لعينات تفل الزيتون، إذ كان معامل تحول الطاقة 22.6%. وعليه من الضروري إجراء تجارب إضافية لتحسين إنتاج الميثان من تفل الزيتون. سيكون الهضم اللاهوائي خياراً مفضلاً لتحسين إنتاج الميثان آخذين بالحسبان محدودية معدل تحلل المادة الصلبة (Eastman and Ferguson, 1981; Andreozzi, *et al.*, 1998).

لذلك، ومن أجل الحصول على الإنتاج الأعظمي للميثان من المواد العضوية الصلبة يتطلب الأمر أمثلة عمليات التحلل وإنتاج الغاز الحيوي، باستخدام المعالجة الفيزيائية أو

الحيوية التي تحطم السلاسل الطويلة لجزيئات المادة العضوية الصلبة. وكان ذلك موضوعاً للعديد من البحوث التي تضمنت: التجزئة الميكانيكية (Muller *et al.*, 1998; Lehne *et al.*, 2001)، والمعالجة بالبخر (Fernández, *et al.*, 2001)، والمعالجة بالصدود الكاوي (Chiu *et al.*, 1997)، وبالطاقة الحرارية (Stuckey and McCarty, 1984)، كما أن الأنزيمات محفزات ممتازة قادرة على التأثير في مجموعة واسعة من الجزيئات المعقدة، ويمكن أن تحقق فوائد عديدة من استخدامها بشكل تكميلي في عملية التحلل الحيوي (Schmid *et al.*, 2001).

هدف هذا البحث إلى تحري المعالجة اللاهوائية لتفل الزيتون وتأثير إضافة الأنزيمات وخلاتها في إنتاج الميثان، ضمن ظروف الحرارة العالية 55°C في وحدات تخمير لاهوائية مخبرية، وذلك للحصول على بيانات لحركية تحلل المادة العضوية وزيادة إنتاج الميثان.

مواد البحث وطرقه

العينات والباديء

جُمعت عينات تفل الزيتون المجففة جزئياً تحت أشعة الشمس من عدة معاصر زيتون آلية في سورية. وقبل وضعها في المخمرات أجريت عليها عملية نقتيت 0.1-0.3cm لإعطائها خواص مزج جيدة. وكذلك أجريت لهامجموعة من التحاليل الكيميائية (الجدول 1). استخدمت في إجراء هذه التحاليل الطرائق المطورة من قبل الباحثان لينكييركن وتسيميرمان (Lengerken and Zimmermann, 1991).

الجدول (1) نتائج التحاليل الكيميائية التي أجريت على تفل الزيتون والباديء قبل بدء التجارب

نوع التحليل	الباديء	تفل الزيتون
مادة جافة في المادة الطازجة g kg-1	32.8	941
مادة عضوية في المادة الجافة %	60.6	97.9
درجة الحموضة	8.02	5.28
مجمل كمية النيتروجين في المادة العضوية g kg-1	2.71	8.65
فيبر خام g kg-1	n	485
النشاء g kg-1	n	26.6
دهن خام g kg ⁻¹	n	59.0

n = غير مقيس.

الباديء هو الرواسب الناتجة عن الهضم اللاهوائي في وحدة التخمير، والباديء المستخدم في التجارب ناتج عن عملية تخمير لاهوائي لمخلفات الماشية وسيلاج الذرة في وحدة هضم لاهوائية مخبرية، حيث جمع عند المرحلة الأخيرة لعملية التخمير عند انخفاض إنتاج الغاز الحيوي إلى أدنى حدوده. وفقاً للمواصفات القياسية الألمانية لإنتاج الغاز الحيوي VDI 4630 فإن الغاز الحيوي الناتج من الباديء يجب ألا يتجاوز 20%

من مجمل الغاز الناتج عن العينة المختبرة. ولمنع إعاقة عملية التخمر يجب أن لا تتجاوز نسبة المادة العضوية في المادة الجافة للعينة إلى مثيلتها للبادئ 0.5 (VDI 4630, 2006).

أنواع الأنزيمات المستخدمة

جُهزت الأنزيمات في مخابر الشركة الألمانية (Biopract GmbH, 2007). يبين الجدول (2) أنواع الأنزيمات المستخدمة في التجارب وخواص كل منها. اختيرت الأنزيمات المستخدمة في التجارب بحسب قدرتها على تحفيز إنتاج الميثان ضمن ظروف الحرارة العالية، وهذه الأنزيمات هي: MethaPlus ينتمي إلى مجموعة أنزيمات السيليلوز المستخلصة من *Trichoderma reesei*، يسرع الميثان بلاس عملية تحطيم السيليلوز إلى ذرات السكر البسيط. أنزيم Cellulase هو مستخلص من *Aspergillus niger* يملك القدرة على تحليل الألياف النباتية ويحطم الهيميسيليلوز. أشار الباحث ساها (Saha et al., 2003) إلى أن تلك الأنزيمات التي تحلل أو تساعد على تحلل الهيميسيليلوز لها فوائد كبيرة، كون المواد الهيميسيليلوزية واليجينية يمكن الاستفادة منها في إنتاج الوقود الحيوي، كما أن استخدام هذه الأنزيمات يزيد من فعالية عملية التخمر. أنزيم Pectinase L له أثر بالغ في عملية تحلل البكتيين. Amylase S وهو مستخلص من *Bacillus amyloliquefaciens* يحلل النشاء. أنزيم Lipase هو أنزيم فطري من *Fusarium oxysporum* له تأثير قوي في الأحماض الدهنية.

الجدول (2) خواص الأنزيمات المختبرة في عمليات التحلل الحيوي وإنتاج الميثان (Biopract GmbH 2007)

نوع الأنزيم	تأثيره	ظروف عمله
Metha Plus	يحطم السيليلوز إلى ذرات السكر البسيط	درجة الحموضة: 3.5-7.5 حتى 60 °C مثالي عند 55 °C
cellulase	يحطم الهيميسيليلوز إلى هيكسوس	درجة الحموضة: حامضي إلى معتدل درجة الحرارة: حتى 70 °C مثالي عند 40 °C
PectinaseL	يحلل البكتيين	درجة الحموضة: حامضي إلى معتدل درجة الحرارة: 40 - 45 °C يستقر نشاطه عند درجات أعلى
Amylase S	يحطم الأميلوس ويحلل النشاء	درجة الحموضة: 4.5-8.5 مثالي عند 6.5 درجة الحرارة: 25 - 70 °C مثالي عند 55 °C
Lipase	له تأثير قوي في الحامض الدهني	درجة الحموضة: حامضي إلى معتدل يستقر نشاطه عند درجات حرارة أعلى من 60 °C

أشار كناوف (Knauf, 2004) إلى أن هندسة الأنزيمات الخاصة بمعالجة الكتلة

الحيوية تواجه عديداً من التحديات، ليس فقط في تحسين أداء الأنزيمات مثل درجة استقرارها وزيادة نشاطها النوعي، إنما يجب أن تكون فعالة في البيئات القاسية التي تسببها المعالجة الأولية للكتلة الحيوية.

اختبارات الهضم اللاهوائي

أنجزت التجارب في مخابر قسم الهندسة الحيوية التابعة لمعهد بوتسدام للهندسة الزراعية- بوتسدام بورنيم، ألمانيا. أجريت هذه التجارب في مجموعة هواضم لاهوائية على أنواع مختلفة من الأنزيمات وخلاتها مع نفل الزيتون والباديء، وكان إجمالي كمية الأنزيمات في كل عينة يساوي 7.5 ملغ مقسمة بالتساوي على الأنزيمات المختبرة. كما هو مبين في الجدول (3).

الجدول (3) خلطات العينات وكمياتها التجريبية.

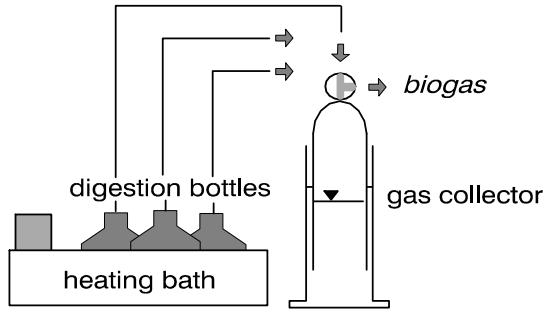
IM	OP	خلائط العينات المختبرة		كمية الأنزيمات	
		g	mg g ⁻¹ OP		
1500	16	0.469		Metha Plus+Cellulase+OP+IM	1
1500	16	0.469		Metha Plus+Lipase+OP+IM	2
1500	16	0.469		Metha Plus+Pektinase	3
1500	16	0.469		Metha Plus+Pektinase+Lipase+Amylase+OP+IM	4
1500	16	0.469		Metha Plus+Pektinase+Lipase+Amylase+Cellulase +OP+IM	5
1500	0	-		Metha Plus+Pektinase+Lipase+Amylase+Cellulase+IM	6
1500	16	-		OP+IM	7
1500	-	-		IM	8

OP =نقل الزيتون؛ IM=الباديء؛

الأنزيمات المختبرة= Metha Plus+Pektinase+Lipase+Amylase+Cellulase

تتألف كل وحدة تخمير لاهوائي من ثلاثة هواضم توضع ضمن حمام مائي بدرجة حرارة 55 درجة مئوية، سعة كل هاضم 2000 مل موصولة بأوعية توازن، كل هاضم مزود بمخرج لجمع الغاز الناتج عن عملية التخمر. يُجمع الغاز في أوعية توازن وتراقب المخمرات بشكل يومي (الشكل 1). أجريت عملية جمع الغاز الحيوي في الشروط النظامية وذلك لإمكانية مقارنة هذه النتائج لاحقاً. قيس حجم الغاز الحيوي الناتج من الباديء بشكل مستقل، وطرحت كميته من كمية الغاز الحيوي الناتج من تخمر العينات مع الباديء، وذلك للوقوف على الكمية الفعلية للغاز الناتج من العينات. كررت عملية قياس ناتج الغاز الحيوي مرتين لكل عينة. تم تحري نوعية الغاز الحيوي إحدى عشرة مرة خلال مدة 60 يوماً، وقيس حجمه في الشروط النظامية درجة الحرارة 0°C وضغط جوي 1013mbar. حُلل غاز الميثان باستخدام جهاز Dragger X-am 7000 NDIR analyzer ارتياب القراءة $\pm 1-3\%$ (Dragger syfety AG and CO.KGaA).

أُعطِيَ الغاز الحيوي والميثان في ليتر نظامي لكل كيلو غرام من الماد الصلبة القابلة للتطهير ($I_N \text{ kg}^{-1} \text{ VS}$). خُمِّر كل مزيج من العينات مع 1500 g (FM) من البادئ كما هو موضح في الجدول (3).



الشكل (1) وحدة هضم لاهوائية مخبرية.

حللت المعطيات إحصائياً باستخدام البرنامج الإحصائي SPSS, version 11.5 (SPSS Inc., 2005). لخصت البيانات بواسطة الإحصاء الوصفي. واستخدم الانحراف المعياري والتوزيع التكراري للبيانات في بناء المنحنيات التراكمية. قورنت النتائج باستخدام أقل فرق معنوي عند مستوى احتمال 0.05.

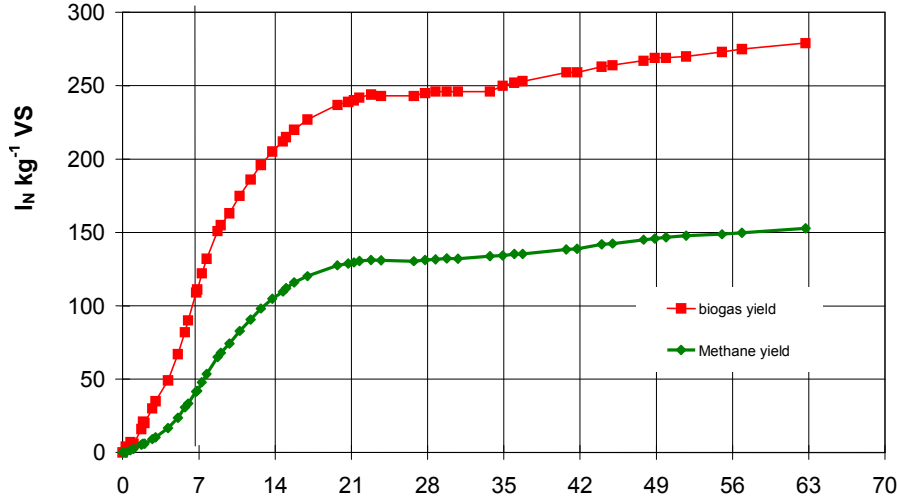
النتائج والمناقشة

إنتاج الغاز الحيوي والميثان من تفل الزيتون

بعد وضع عينات تفل الزيتون والبادئ في وحدات التخمر المخبرية، عند درجة حرارة 55°C ، بدأ إنتاج الغاز الحيوي دون إعاقة؛ وذلك بسبب زيادة تشكل الحموض الدهنية الطيارة. أظهرت المنحنيات التراكمية الموضحة بالشكل (2) أن ناتج الغاز الحيوي والميثان بلغ بعد ستين يوماً من زمن الهضم اللاهوائي ($280 I_N \text{ kg}^{-1} \text{ VS}$) و ($153 I_N$) $\text{kg}^{-1} \text{ VS}$ على التوالي.

أشار العفيف وآمون (Afif et al., 2007) إلى أن حجم الغاز الحيوي والميثان الناتجين من الهضم اللاهوائي لتفل الزيتون ضمن درجة حرارة 37.5°C بلغ ($139 I_N \text{ kg}^{-1} \text{ VS}$) و ($239 I_N \text{ kg}^{-1} \text{ VS}$) على التوالي. أكدت مقارنة هذه النتائج بنتائج الهضم اللاهوائي لتفل الزيتون في ظروف الحرارة العالية وجود فروقات معنوية في إنتاج الغاز الحيوي والميثان بين ظروف الحرارة العالية 55°C وظروف الحرارة العادية 37.5°C ، إذ إن الهضم اللاهوائي في ظروف الحرارة العالية أدى إلى زيادة في معدل إنتاج الميثان و الغاز الحيوي 10% و 17% على التوالي. وربما يعود ذلك إلى الدور

الإيجابي للحرارة العالية في عملية التحلل الحيوي عن طريق المساهمة في تحطم السلاسل الطويلة لجزيئات المادة العضوية الصلبة الموجودة في تفل الزيتون. وقد أشارت الدراسة التي قام بها الباحث يلمز ورفاقه إلى أن قيمة درجة الحموضة كانت أكثر ملاءمة للهضم اللاهوائي للمخلفات العضوية في أثناء درجات الحرارة العالية منها في أثناء درجات الحرارة المعتدلة (Yilmaz *et al.*, 2008). وبما يتفق ونتائج التجارب، أشارت بعض الدراسات التي أجريت على أنواع مختلفة من المخلفات العضوية إلى أن الهضم اللاهوائي في ظروف الحرارة العالية أعطى نتائج إيجابية واضحة بالمقارنة بظروف الحرارة المتوسطة (Kim *et al.*, 2002; Yilmaz *et al.*, 2008; Harris and Dague, 1993).



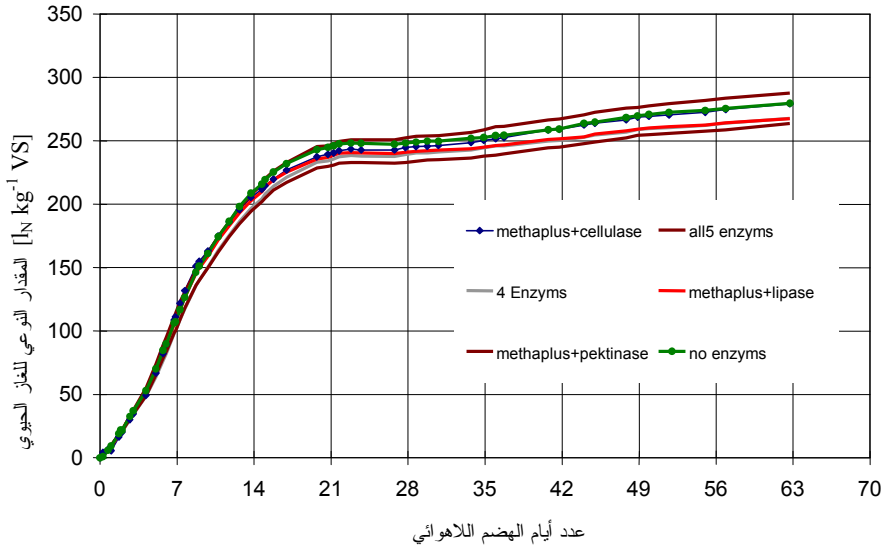
عدد أيام الهضم اللاهوائي

الشكل (2) المنحنيات التراكمية للغاز الحيوي والميثان الناتج من الهضم اللاهوائي لتفل الزيتون ضمن ظروف الحرارة العالية 55°C.

تأثير إضافة الأنزيمات في إنتاج الغاز الحيوي

يبين الشكل (3) المنحنيات التراكمية للغاز الحيوي المنتج من عملية الهضم اللاهوائي لخلائط الأنزيمات مع تفل الزيتون ضمن ظروف الحرارة العالية. وقد تراوح حجم الغاز الحيوي الناتج بعد 60 يوماً من زمن التخمير بين (264-288 I_N kg⁻¹ VS). ولم يلاحظ تأثير معنوي كبير في إنتاج الغاز الحيوي نتيجة لإضافة الأنزيمات المختلفة إلى عينات تفل الزيتون. حيث تم الحصول على أعلى معدل لإنتاج الغاز الحيوي من خليط الأنزيمات الخمسة المختبرة مع تفل الزيتون (288 I_N kg⁻¹ VS)، وثاني أعلى معدل (280 I_N kg⁻¹ VS) كان من تخمير عينات تفل الزيتون مع البادئ ونتيجة مماثلة شوهدت من إضافة أنزيمات

Cellulase و Metha Plus. وكان أقل معدل لإنتاج للغاز الحيوي ($267 \text{ l}_N \text{ kg}^{-1} \text{ VS}$) عند إضافة Metha Plus و Lipase، وكذلك عند إضافة Metha Plus و Pectinase ($264 \text{ l}_N \text{ kg}^{-1} \text{ VS}$).



الشكل (3) المنحنيات التراكمية للغاز الحيوي الناتج من الهضم اللاهوائي لتفل الزيتون و خلاط الأتزييمات.

دلت النتائج أن 86-88% من مجمل الغاز الحيوي الناتج خلال زمن التخمر (60 يوماً) حصلنا عليه خلال مدة 21 يوماً الأولى، وبلغ متوسط معدل إنتاج الغاز الحيوي اليومي خلال هذه المدة ($11 \text{ l}_N \text{ kg}^{-1} \text{ VS d}$)، ثم دخل إنتاج الغاز الحيوي من اليوم 21 حتى 35 طور الاستقرار بمعدل ($0.5 \text{ l}_N \text{ kg}^{-1} \text{ VS d}$). إن تمديد زمن الهضم اللاهوائي بعد 35 يوماً أدى إلى زيادة طفيفة في معدل إنتاج الغاز الحيوي ($1 \text{ l}_N \text{ kg}^{-1} \text{ VS d}$).

ويمكن أن تعود هذه الزيادة الطفيفة إلى الدور الإيجابي للأنزيمات والحرارة العالية في هضم مركبات تفل الزيتون الصعبة التحلل عند تمديد زمن الهضم اللاهوائي. ومن ثم تؤكد هذه النتائج إمكانية الحصول على المزيد من الغاز الحيوي عند زيادة زمن الهضم اللاهوائي. لذلك فإن إجراء تجارب إضافية مخبرية لزمن تخمر طويل الأمد ضرورية لتحسين إنتاج الميثان الكامن في تفل الزيتون. وقد أشار الباحثان تيكن ودالكن (Tekin and Dalgic., 2000) إلى أن تحديد زمن الهضم اللاهوائي يعتمد على نوع العينات وطريقة معالجتها. يمكن التنبؤ بالقيمة العظمى للغاز الحيوي y_{\max} في زمن

التخمير النهائي، من المنحنى الذي بُني بحسب Hill-kinetic (Jandel scientific software,1996) وفق المعادلة التالية:

$$y(t) = y_{\max} \cdot \frac{t^b}{c^b + t^b}$$

إذ:

$y(t)$ ناتج الغاز الحيوي خلال زمن التخمير
 y_{\max} ناتج الغاز الحيوي الأعظم
 t زمن التخمير
 b, c معاملات المعادلة

إن تطبيق معادلة Hill-kinetic الأنفة الذكر من أجل عملية التحلل اللاهوائي لتقل الزيتون والأنزيمات المضافة، لاعمت المرحلة النهائية للتخمير بشكل مرضٍ.

تركيز الميثان في الغاز الحيوي

يبين الجدول (4) تراكيز الميثان في الغاز الحيوي الناتج عن الهضم اللاهوائي لتقل الزيتون وخليط الأنزيمات المضافة. فقد تراوح تركيز CH_4 في الغاز الحيوي بين 59-60.5% أما النسبة المتبقية فكانت بأغلبيتها غاز CO_2 ، تم الحصول على أعلى تركيز للميثان (60.5 Vol. %) عند إضافة خليط الأنزيمات Metha Plus و Lipase. وكانت أخفض نسبة تركيز للميثان (59 Vol. %) ناتجة من الهضم اللاهوائي لتقل الزيتون دون إضافات. إن إضافة خليط الأنزيمات إلى تقل الزيتون زاد من نسبة تركيز الميثان في الغاز الحيوي بين 0.35-2.5%، دون أن يؤدي إلى زيادة معنوية كبيرة ($P < 0.05$) في إنتاجه. ويمكن أن تفسر الزيادة في تركيز الميثان بالأثر الإيجابي للأنزيمات المساعد على التحلل البيولوجي لمركبات للسيليلوز واللغنيين والدهون والبروتين.

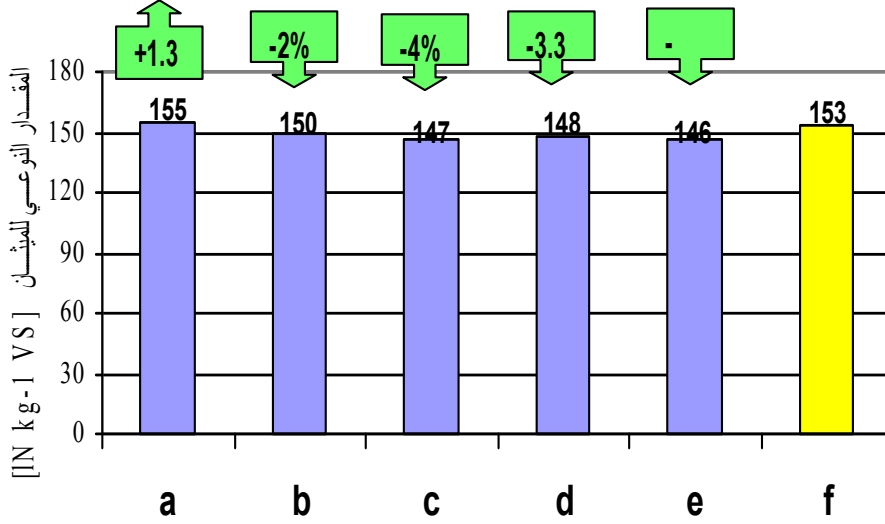
الجدول (4) محتوى الميثان في الغاز الحيوي

العينات المختبرة	CH ₄ [Vol. %]		
	Mean	n	S.D
OP +Metha Plus + Cellulase	59.5	11	3.2
OP +Metha Plus+ Lipase	60.5	11	2.6
OP +Metha Plus+ Pektinase	59.5	11	2.5
OP+Metha Plus+ Pektinase + Lipase+ Amylase	59.4	11	1.3
OP+Metha Plus+ Pektinase + Lipase+ Amylase+ Cellulase	59.2	11	2.2
OP	59.0	11	3.7

S.D = الإنحراف المعياري؛ n = عدد المكررات؛ OP = تقل الزيتون

تأثير الأنزيمات في إنتاج الميثان

يبين الشكل (4) الميثان الناتج من الهضم اللاهوائي لتفل الزيتون وخلائط الأنزيمات المضافة، إذ إن إضافة خليط الأنزيمات Metha Plus و Cellulase أدت إلى زيادة ليست ذات قيمة معنوية ($P < 0.05$) في إنتاج غاز الميثان بنسبة 1.3% بالمقارنة مع إنتاج الميثان من تفل الزيتون دون إضافة الأنزيمات ($153 \text{ l}_N \text{ kg}^{-1} \text{ VS}$). في حين أدت إضافة خلائط باقي الأنزيمات إلى تفل الزيتون إلى انخفاض غير معنوي في إنتاج الميثان بنسبة تراوحت بين 2 إلى 5.6%.



العينات المختبرة

a = تفل زيتون + Metha Plus + Cellulase + Amylas + تفل زيتون
 b = تفل زيتون + Metha Plus + Pectinase + Lipase + Amylas + تفل زيتون
 c = تفل الزيتون + Cellulase + Metha Plus + Pektinase + Lipase + Amylase + تفل الزيتون
 d = تفل زيتون + Metha Plus + Lipase + تفل زيتون + Metha Plus + Pektinase + تفل زيتون
 e = تفل زيتون + Metha Plus + Lipase + تفل زيتون + Metha Plus + Pektinase + تفل زيتون
 f = تفل زيتون + Metha Plus + Pektinase + تفل زيتون + Metha Plus + Lipase + تفل زيتون

الشكل (4) الميثان الناتج من الهضم اللاهوائي لتفل الزيتون وخلائط الأنزيمات المضافة

النموذج الحركي لإنتاج الغاز الحيوي

يترافق إنتاج الغاز الحيوي خلال الهضم اللاهوائي للمادة العضوية مع الإزالة البيولوجية لمركباتها (الطلب الحركي الأول) (Grau *et al.*, 1975; Li *et al.*, 2005; linke, 2006). ويمكن أن يُعبر عن تركيز العينات في أي زمن من الهضم اللاهوائي كالاتي:

$$-\frac{dS}{dt} = r(S) = k \cdot S(t) \quad (1)$$

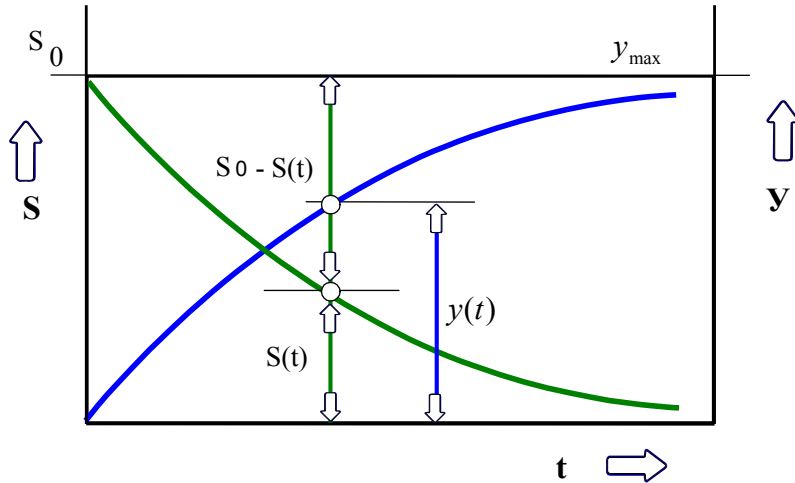
إن تغير تركيز العينة dS مع تغير الزمن dt يعتمد على التركيز الحقيقي للعينة في الزمن t . ومعدل ثابت التفاعل k . بعد تكامل المعادلة (1) نحصل على المعادلة (2):

$$-\frac{dS}{S} = k \cdot dt \quad - \int_{S_0}^S \frac{dS}{S} = k \int_0^t dt \quad \ln \frac{S(t)}{S_0} = -k \cdot t \quad (2)$$

إذ S_0 و $S(t)$ هما على التوالي تراكيز العينات المحللة بيولوجياً خلال أي زمن t من عملية التخمر، وفي بدايتها. k هو ثابت معدل التفاعل (d-1). t هو زمن التخمر (d). يبين الشكل (6) العلاقة بين تركيز العينة S ونتاج الغاز الحيوي y خلال زمن التخمر اللاهوائي t . إذ إن التحلل البكتيري لمركبات المادة العضوية يتناسب مع إنتاج الغاز الحيوي وفقاً للمعادلة (3).

$$\frac{S_0 - S(t)}{S_0} = \frac{y(t)}{y_{\max}} \quad (3)$$

$$\frac{S(t)}{S_0} = \frac{y_{\max} - y(t)}{y_{\max}} \quad (4)$$



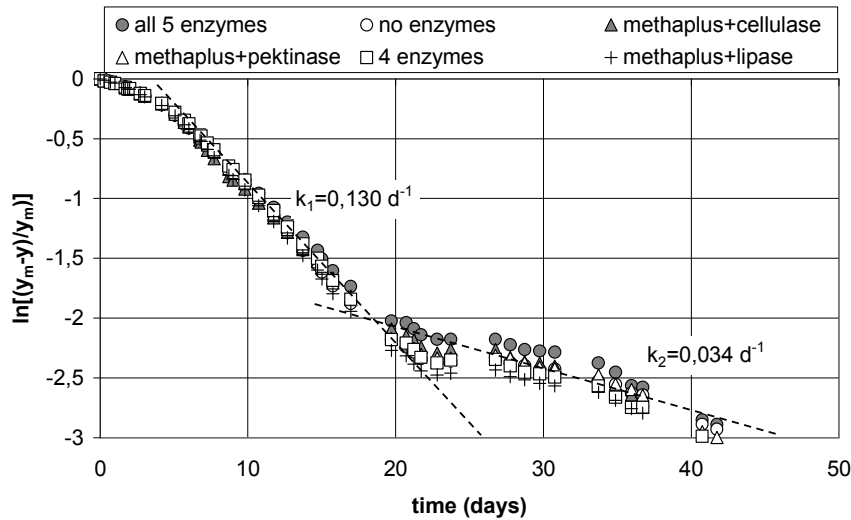
الشكل (6) العلاقة بين تحلل المادة العضوية وإنتاج الغاز الحيوي بالنسبة لزمن الهضم اللاهوائي.

وبدمج المعادلة (2) مع المعادلة (4) نحصل على المعادلة (5) التي من خلالها يمكن حساب ثابت معدل التفاعل k . وكذلك يمكننا حساب إنتاج الغاز الحيوي خلال أي زمن t من خلال المعادلة (6) كالآتي:

$$\ln \frac{y_{\max} - y(t)}{y_{\max}} = -k \cdot t \quad (5)$$

$$y(t) = y_{\max} (1 - e^{-k \cdot t}) \quad (6)$$

للتحقق من النموذج الحركي الأولي وتعيين ثوابت معدل التفاعل k ، أنشئ مخطط بياني للوغاريتم النسبة $y_{\max} - y(t) / y_{\max}$ بالنسبة إلى الزمن t . يوضح الشكل (7) هذا المخطط البياني لعينات ثقل الزيتون المعالجة بالأنزيمات وغير المعالجة. تم الحصول على ثابت معدل التفاعل كقيمة تكافئ ميل الخطوط البيانية كما هو موضح بالشكل (4)، فإن المنحنيات التراكمية للغاز الحيوي الناتج من الهضم اللاهوائي لنقل الزيتون وخلات الأنزيمات كانت تقريباً متماثلة. لذلك لا يمكن أن نتوقع اختلافات كبيرة في معدلات التفاعل. على كل حال، أظهرت النتائج وجود اختلاف في ثوابت معدل التفاعل في أثناء الهضم اللاهوائي للعينات حيث بلغ 0.130 d^{-1} خلال 3-17 يوماً الأولى، في حين بلغ 0.034 d^{-1} خلال الأيام من 20 إلى 40 من زمن التجارب. كما دلت النتائج المخبرية على ازدياد نسبة تركيز الميثان في الغاز الحيوي مع زيادة زمن التخمر، وقد تراوحت خلال 3-17 يوماً الأولى بين 53-53.6 %، ومن اليوم 20 إلى 40 بين 66-66.6 %.



الشكل (7) المخطط البياني للغاز الحيوي الناتج من العينات المختبرة بحسب النموذج الحركي

الاستنتاجات

1. يعدُّ تقل الزيتون مادة مناسبة لإنتاج الغاز الحيوي والميثان ضمن ظروف الحرارة العالية مع معدل إنتاج وصل إلى $(280 \text{ l}_N \text{ kg}^{-1} \text{ VS}/60\text{d})$ و $(153 \text{ l}_N \text{ kg}^{-1} \text{ VS}/60\text{d})$ على التوالي.
2. أدى الهضم اللاهوائي لتقل الزيتون في ظروف الحرارة العالية 55°C إلى زيادة في معدل إنتاج الميثان والغاز الحيوي بنسبة 10% و 17% على التوالي، وذلك مقارنةً بمثيله في ظروف الحرارة العادية 37.5°C .
3. أدت إضافة خلطات الأنزيمات (MethaPlus; Cellulase; PectinaseL; AmylaseS; Lipase) إلى تقل الزيتون إلى زيادة في تركيز الميثان في الغاز الحيوي بمعدل تراوح بين 0.35-2.5%، دون أن يؤدي إلى زيادة معنوية كبيرة ($P<0.05$) في إنتاجه. وقد أعطى خليط تقل الزيتون مع أنزيمات Metha Plus و Cellulase أفضل نتيجة مقارنةً بباقي الخلطات المختبرة مع معدل إنتاج الميثان $(155 \text{ l}_N \text{ kg}^{-1} \text{ VS})$.
4. لاءمت بيانات التجارب المخبرية النموذج الحركي لإنتاج الغاز الحيوي الذي تم وضعه، وتبين وجود معدلين مختلفين لثوابت التفاعل $k_1 = 0.130 \text{ d}^{-1}$ خلال 3-17 يوماً الأولى من زمن التخمر و $k_2 = 0.034 \text{ d}^{-1}$ من اليوم 20 إلى 40 من زمن التخمر.
5. تراوح تركيز الميثان في الغاز الحيوي بين 59-60.5% أما النسبة المتبقية فكانت بأغلبيتها غاز CO_2 . وقد تزايدت نسبة تركيز الميثان مع زيادة زمن التخمر، حيث تراوحت خلال 3-17 يوماً الأولى بين 53-53.6%، ومن اليوم 20 إلى 40 بين 66-66.6%.

Acknowledgements

I thank Deutscher Akademischer Austausch Dienst, the Department of Bioengineering, Leibniz-Institute of Agricultural Engineering Potsdam-Borni, and Biopract GmbH, Germany for the financial support of this work.

المراجع REFERENCES

1. Al Afif, R., Amon T., 2007. Biogas production from olive pulp and cattle manure – Effect of co-fermentation and enzymes on methane productivity, Damascus University journal for the Agricultural sciences (in press).
2. Andrezzi, R., Longo, G., Majone, M., Modesti, G., 1998. Integrated treatment of olive mill effluents (OME): study of ozonation coupled with anaerobic digestion. *Water Res*, Volume 32, Issue 8, Pages 2357-2364.
3. Benitez, F.J., Beltran-Heredia, J., Torregrosa, J., Acero, J.L., 1999. Treatment of olive mill wastewater by ozonation, aerobic degradation and the combination of both treatments. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 74, 639–646.
4. Biopract GmbH, 2007. Product sheet, www.biopract.de
5. Borja, R., Mart´n, A., Sa´nchez, E., Rinco´n, B., Raposo, F., 2005. Kinetic modelling of the hydrolysis, acidogenic and methanogenic steps in the anaerobic digestion of two-phase olive pomace (TPOP). *Process Biochemistry* 40, 1841–1847.
6. Capasso R., et. al., 1995. Antibacterial polyphenols from olive oil mill waste waters. *J. Appl. Bacteriol.* 79.
7. Chiu, Y., C.-N. Chang, J.-G. Lin and S.-J. Huang, Alkaline and ultrasonic pretreatment of sludge before anaerobic digestion. *Water Sci. Technol.* 36 11, pp. 155–162. Abstract | View Record in Scopus | Cited By in Scopus.
8. Chynoweth, D. P., 2004. Biomethane from energy crops and organic wastes, 1, 525-530.
9. Demirer, G. N., Erguder, T.H., Guven, E., 2000. Anaerobic treatment of olive mill wastes in batch digester. *Process Biochemistry* 36, 243–248.
10. Dragger syfety AG and CO.KGaA. <http://www.dragger-syfety.com>.
11. Eastman J.A. and Ferguson J.F., 1981. Solubilization of particulate organic carbon during the acid phase of anaerobic digestion. *J. Water Pollut. Control Fed.* 53, pp. 352–366. View Record in Scopus | Cited By in Scopus.
12. Erguder, T.H., Guven, E. and Demirer, G.N., 2000. Anaerobic treatment of olive mill wastes in batch reactors. *Process Biochemistry*, 36, 243-248.
13. European Commission, 2006, Biomass, G, Green Energy for Europe, Directorate General for Research, Information and Communication Unit, Brussels
14. Fernández-Bolaños, J., Felizón, B., Heredia, A., Rodríguez, R., Guillén, R., Jiménez A., 2001. Steam-explosion of olive stones: hemicellulose solubilization and enhancement of enzymatic hydrolysis of cellulose, *Bioresource Technology*, Volume 79, Issue 1, Pages 53-61
15. Fezzani B., Ben Cheikh R., 2007, Anaerobic co-digestion of olive mill wastewater with olive mill solid waste in a tubular digester at mesophilic temperature, *Bioresource Technology*, 98, 769-774.
16. Gharsallah, N., 1994. Influence of dilution and phase separation on the anaerobic digestion of olive mill wastewaters. *Bioprocess Engineering*, 10, 29-34.
17. Grau, P., Doha`nyos, M., Chudoba, J., 1975. Kinetics of multicomponent substrate removal by activated sludge. *Water Research* 9, 637–642.
18. Harris W.L. and Dague R.R., Comparative performance of anaerobic filters at mesophilic and thermophilic temperatures, *Water Environ Res* 65 (1993), pp. 764–771.
19. IOOC statistics for World Olive Oil Production, 2004.

19. Jandel scientific software, 1996. Sigmaplot, scientific graphing software, version 3 for windows 95, nt, and 3.1: Jandel Scientific Software GmbH, Schimmelbuschstr. 25, D-40699, Erkrath, Germany. Carbohydrate Polymers, Volume 31, Issue 4, Pages 296-297.
20. Kim M., Ahn Y. and Speece R.E., Comparative process stability and efficiency of anaerobic digestion: mesophilic vs. thermophilic, Water Res 36 (2002), pp. 4369–4385
21. Knauf M., 2004. Lignocellulosic biomass processing: A perspective. "International sugar journal" Vol.106, No 1263.
22. Lehne *et al.*, 2001. G. Lehne, A. Muller and J. Schwedes, Mechanical disintegration of sewage sludge. Water Sci. Technol. 43 1, pp. 19–26. View Record in Scopus | Cited By in Scopus.
23. Lengerken L and Zimmermann K, 1991. Handbuch Futtermittelprüfung. Deutscher Landwirtschaftsverlag, Berlin. pp. 31-54.
24. Li, F., Yuasa, A., Obara, A., Matheus, A.P., 2005. Aerobic batch degradation of 17- β estradiol (E2) by activated sludge: effect of spiking E2 concentrations, MLVSS and temperatures. Water Research 39, 2065–2075
25. Linke B., 2006. Kinetic study of thermophilic anaerobic digestion of solid wastes from potato processing. Biomass and Bioenergy 30 (2006) 892–896.
26. Muller *et al.*, 1998. J. Muller, G. Lehne, J. Schwedes, S. Battenberg, R. Naveke, J. Kopp, N. Dichtl, A. Scheminski, R. Krull and D.C. Hempel, Disintegration of sewage sludges and influence on anaerobic digestion. Water Sci. Technol. 38 8–9 (1998), pp. 425–433.
27. Saha B. C., 2003, J. Ind. Microbiol. Technol. (Review paper), 179-291.
28. Sanchez, E., Rincon, B., Borja, R., Travieso, L., Raposo, F., Colmenarejo, M.F., 2007, Aerobic degradation kinetic of the effluent derived from the anaerobic digestion of two-phase olive mill solid residue, International Biodeterioration & Biodegradation 60 (2007) 60–67.
29. Schmid, A., Doordick, J.S., Kiener, B., Wubbolts, M., Witholt, B., 2001, Industrial biocatalysts today and tomorrow, Nature 409, pp. 258-268.
30. SPSS Inc., 2005. SPSS software, Release 11.5, SPSS Inc. Chicago (Ed.). Chicago, Illinois.
31. Stuckey D.C. and McCarty P.L., 1984, The effect of thermal pretreatment on the anaerobic biodegradability and toxicity of waste activated sludge. Water Res. 18 (1984), pp. 1343–1353.
32. Tekin, A. R. and Dalgic, A. C., 2000. Biogas production from olive pomace, Resources, Conservation and Recycling, 30, 301-313. Elsevier Science (Ed.).
33. VDI 4630, 2006, Fermentation of organic materials, Characterisation of the substrate, sampling, collection of material data, fermentation tests. VDI Richtlinien 4630. Düsseldorf, 200.
34. Yilmaz T., Yuceer A. and Basibuyuk M., comparison of the performance of mesophilic and thermophilic anaerobic filters treating papermill wastewater, Bioresour Technol 99 (2008), pp. 156–163.

Received	2008/06/15	إيداع البحث
Accepted for Publ.	2008/11/30	قبول البحث للنشر