

# Bioaktivni sastojci otpadne vode iz prerade maslina u ulje

---

Šumera, Maja

Undergraduate thesis / Završni rad

2023

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Split, Faculty of Chemistry and Technology / Sveučilište u Splitu, Kemijsko-tehnološki fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:167:538295>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-10**

*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of chemistry and technology - University of Split](#)



**SVEUČILIŠTE U SPLITU**  
**KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET**

**BIOAKTIVNI SASTOJCI OTPADNE VODE IZ PRERADE MASLINA**  
**U ULJE**

**ZAVRŠNI RAD**

**MAJA ŠUMERA**  
**MATIČNI BROJ: 210**

**Split, rujan 2023.**

**SVEUČILIŠTE U SPLITU**  
**KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET**  
**PREDDIPLOMSKI STUDIJ**  
**PREHRAMBENA TEHNOLOGIJA**

**BIOAKTIVNI SASTOJCI OTPADNE VODE IZ PRERADE MASLINA**  
**U ULJE**

**ZAVRŠNI RAD**

**MAJA ŠUMERA**

**MATIČNI BROJ: 210**

**Split, rujan 2023.**

**UNIVERSITY OF SPLIT**  
**FACULTY OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY**  
**UNDERGRADUATE STUDY**  
**FOOD TECHNOLOGY**

**BIOACTIVE COMPOUNDS OF OLIVE OIL MILL WASTEWATER**

**BACHELOR THESIS**

**MAJA ŠUMERA**

**Parent number:210**

**Split, September 2023.**

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

ZAVRŠNI RAD

Sveučilište u Splitu  
Kemijsko-tehnološki fakultet  
Preddiplomski studij prehrambene tehnologije

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti  
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Mentor: doc. dr. sc. Mladenka Šarolić

### BIOAKTIVNI SASTOJCI OTPADNE VODE IZ PRERADE MASLINA U ULJE

Maja Šumera, 210

#### Sažetak:

Otpadna voda koja nastaje u uljarama tijekom prerade maslina u ulje je tekućina tamno smeđe boje koju karakterizira visoki sadržaj organskih tvari među kojima treba istaknuti organske kiseline, šećere, pektine te visoki udio fenolnih spojeva. Još uvijek je u većini maslinarskih zemalja uobičajeni način zbrinjavanja ovih voda direktno odlaganje u okoliš čime se povećava negativan utjecaj na sve sastavnice okoliša. U cilju smanjenja negativnog učinka na okoliš razvijene su brojne fizikalne, kemijske, biološke te kombinirane metode obrade ovih otpadnih voda. S druge strane, ukoliko se pristupi ozbiljnoj valorizaciji ovih voda moguće ih je pretvoriti u vrlo vrijedni nusproizvod. Osobit je interes u posljednje vrijeme usmjeren na ekstrakciju bioaktivnih tvari poput fenolnih spojeva zbog njihovih antioksidativnih, antikancerogenih, protuupalnih, kardioprotektivnih i drugih pozitivnih učinaka. Upravo su zbog toga u fokusu pažnje znanstvenika radi njihove potencijalne primjene u prehrambenoj, farmaceutskoj i kozmetičkoj industriji.

**Ključne riječi:** prerada maslina, otpadna voda, bioaktivni sastojci, potencijalna primjena

**Rad sadrži:** 44 stranica, 10 slika, 2 tablica, 95 literaturnih referenci

**Jezik izvornika:** hrvatski

#### Sastav Povjerenstva za ocjenu i obranu diplomskog rada:

1. Izv. prof. dr. sc. Ivana Generalić Mekinić	predsjednik
2. Izv. prof. dr. sc. Zvonimir Marijanović	član
3. Doc. dr. sc. Mladenka Šarolić	mentor

#### Datum obrane:

Rad je u tiskanom i elektroničkom (PDF) obliku pohranjen u Knjižnici Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu, Ruđera Boškovića 35, u javnoj internetskoj bazi Sveučilišne knjižnice u Splitu te u javnoj internetskoj bazi diplomskih radova Nacionalne i sveučilišne knjižnice.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

BACHELOR THESIS

University of Split  
Faculty of Chemistry and Tehnology  
Graduate study of Food Tehnology

**Scientific area:** Biotechnical Sciences  
**Scientific field:** Food Tehnology  
**Supervisor:** Mladenka Šarolić, PhD, Asst. Prof.

### BIOACTIVE COMPOUNDS OF OLIVE OIL MILL WASTEWATER

Maja Šumera, 210

#### Abstract:

The wastewater produced in oil mills during the processing of olives into olive oil is a dark brown liquid characterized by a high content of organic substances, among which organic acids, sugars, pectins and a high proportion of phenolic compounds should be highlighted. In the most olive-growing countries, the usual way of disposing of this water is to discharge it directly into the environment, which increases the negative impact on all components of the environment. In order to reduce the negative impact on the environment, numerous physical, chemical, biological and combined methods of treating these wastewaters have been developed. On the other hand, if serious valorization of these waters is undertaken, it is possible to turn them into a very valuable by-product. Recently, special interest has been focused on the extraction of bioactive compounds such as phenolic compounds due to their antioxidant, anticancer, anti-inflammatory, cardioprotective and other positive effects. This is precisely why they are in the focus of scientists' attention due to their potential application in the food, pharmaceutical and cosmetic industries.

**Keywords:** processing olives, wastewater, bioactive compounds, potential application

**Thesis contains:** 44 pages, 10 figures, 2 tables, 95 references

**Original in:** Croatian

#### Defence committee for evaluation and defense of diploma thesis:

- |   |              |
|---|--------------|
| 1. Ivana Generalić Mekinić, PhD, Assoc. Prof. | chair person |
| 2. Zvonimir Marijanović, PhD, Assoc. Prof.    | member       |
| 3. Mladenka Šarolić, PhD, Asst. Prof.         | supervisor   |

#### Defence date:

**Printed and electronic (PDF) form of thesis is deposited in** Library of Faculty of Chemistry and Technology in Split, Ruđera Boškovića 35, in the public library database of the University of Split Library and in the digital academic archives and repositories of the National and University Library.

*Završni rad je izrađen u Zavodu za prehrambenu tehnologiju i biotehnologiju  
Kemijско-tehnološkog fakulteta Sveučilišta u Splitu, pod mentorstvom doc.dr.sc.  
Mladenke Šarolić, u razdoblju od srpnja do rujna 2023. godine.*

## ZAHVALA

*Od srca zahvaljujem svojoj mentorici, doc.dr.sc. Mladenki Šarolić, na ukazanom povjerenju, izdvojenom vremenu, strpljenju, uloženom trudu i savjetima prilikom pisanja ovog rada. Zahvaljujem se, također, i na svim onim „životnim“ savjetima i dobronamjernim kritikama koje mi je uputila tijekom studiranja.*

*Ne postoje riječi kojima bih se na svemu zahvalila svojoj obitelji!*

*Posebnu zahvalu pripisujem svojim prijateljima koji su mi na razne načine bili velika podrška i koji su ove godine učinili „svjetlijima“.*

*Na kraju, zahvaljujem se dragom Bogu na uslišanim molitvama i neprestanoj snazi koju mi je pružio kako bih se suočila sa svim izazovima studentskog života.*



## **ZADATAK ZAVRŠNOG RADA**

Zadatak završnog rada je prikazati mjesta nastanka otpadne vode u procesu prerade maslina u ulje, kemijski sastav i obilježja ovih voda, postupke obrade te posebice mogućnosti ekstrakcije i potencijalne primjene bioaktivnih sastojaka ovih voda.

## SAŽETAK

Otpadna voda koja nastaje u uljarama tijekom prerade maslina u ulje je tekućina tamno smeđe boje koju karakterizira visoki sadržaj organskih tvari među kojima treba istaknuti organske kiseline, šećere, pektine te visoki udio fenolnih spojeva. Još uvijek je u većini maslinarskih zemalja uobičajeni način zbrinjavanja ovih voda direktno odlaganje u okoliš čime se povećava negativan utjecaj na sve sastavnice okoliša. U cilju smanjenja negativnog učinka na okoliš razvijene su brojne fizikalne, kemijske, biološke te kombinirane metode obrade ovih otpadnih voda. S druge strane, ukoliko se pristupi ozbiljnoj valorizaciji ovih voda moguće ih je pretvoriti u vrlo vrijedni nusproizvod. Osobit je interes u posljednje vrijeme usmjeren na ekstrakciju bioaktivnih tvari poput fenolnih spojeva zbog njihovih antioksidativnih, antikancerogenih, protuupalnih, kardioprotektivnih i drugih pozitivnih učinaka. Upravo su zbog toga u fokusu pažnje znanstvenika radi njihove potencijalne primjene u prehrambenoj, farmaceutskoj i kozmetičkoj industriji.

**Ključne riječi:** prerada maslina, otpadna voda, bioaktivni sastojci, potencijalna primjena

## **ABSTRACT**

The wastewater produced in oil mills during the processing of olives into olive oil is a dark brown liquid characterized by a high content of organic substances, among which organic acids, sugars, pectins and a high proportion of phenolic compounds should be highlighted. In the most olive-growing countries, the usual way of disposing of this water is to discharge it directly into the environment, which increases the negative impact on all components of the environment. In order to reduce the negative impact on the environment, numerous physical, chemical, biological and combined methods of treating these wastewaters have been developed. On the other hand, if serious valorization of these waters is undertaken, it is possible to turn them into a very valuable by-product. Recently, special interest has been focused on the extraction of bioactive compounds such as phenolic compounds due to their antioxidant, anticancer, anti-inflammatory, cardioprotective and other positive effects. This is precisely why they are in the focus of scientists' attention due to their potential application in the food, pharmaceutical and cosmetic industries.

**Keywords:** processing olives, wastewater, bioactive compounds, potential application

.

# SADRŽAJ

1. MASLINA .....	1
1.1. Plod masline .....	1
1.2. Tehnološki procesi prerade maslina u ulje .....	2
2. OTPADNA VODA PRI PRERADI MASLINA U ULJE.....	7
2.1. Količine i mjesto nastanka te utjecaj na okoliš .....	7
2.2. Kemijski sastav .....	9
2.3. Bioaktivni sastojci i njihovo djelovanje .....	10
2.4. Najčešće metode obrade otpadnih voda iz prerade maslina u ulje.....	14
3. VALORIZACIJA OTPADNE VODE .....	17
3.1. Izdvajanje korisnih sastojaka .....	18
3.1.1. Metode ekstrakcije .....	19
3.2. Biokonverzija u korisne produkte .....	21
4. POTENCIJALNA PRIMJENA EKSTRAKATA OTPADNE VODE U PREHRAMBENOJ INDUSTRIJI .....	24
4.1. Meso i mesne prerađevine.....	25
4.2. Mlijeko i mliječni proizvodi.....	26
4.3. Pekarski proizvodi.....	27
4.4. Funkcionalna i fermentirana pića .....	27
4.5. Ostali vrijedni sastojci.....	28
4.6. Mikrobnih proizvodi dodane vrijednost.....	29
4.7. Stabilnost ulja/masti/emulzije .....	30
4. ZAKLJUČAK.....	32
5. POPIS KRATICA I SIMBOLA .....	33
6. LITERATURA .....	34

## UVOD

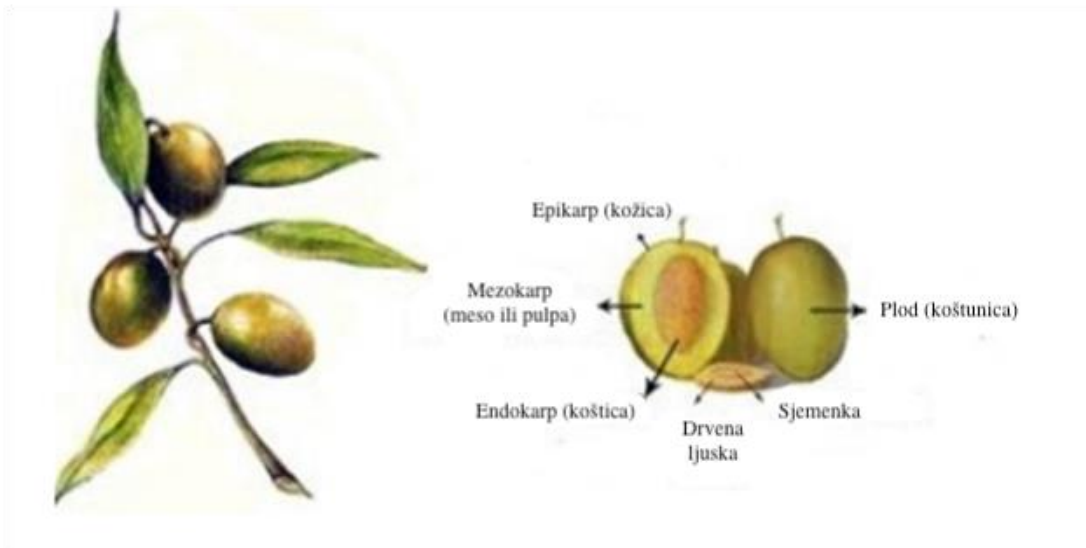
Otpadne vode koje nastaju u tehnološkom procesu prerade maslina u ulje predstavljaju velik ekološki i ekonomski problem u svim maslinarskim zemljama prvenstveno jer se stvaraju u velikim količinama i relativno kratkom periodu godine. Količine ovih voda ovise o brojnim čimbenicima među kojima vrijedi posebno istaknuti sorte maslina, zrelost ploda, agroekološke uvjete uzgoja te posebice odabrane tehnološke procese prerade. Ove vode uglavnom se sastoje od biljne vode iz ploda masline te dodane vode koja se koristi u različitim fazama tehnološkog procesa (ispiranje plodova, mijesenje maslinovog tijesta, separacija krute i tekuće faze i sl.). Glavna karakteristika ovih voda je prisutnost velike količine organskih spojeva, kao što su organske kiseline, lipidi, alkoholi, fenolni spojevi i dr. Zbog svog kemijskog sastava, ove vode su posljednjih godina predmet brojnih studija koja imaju za cilj istražiti učinkovitu valorizaciju u smislu maksimalnog iskorištavanja kako u energetske tako i druge svrhe. Naime, ove vode su vrlo vrijedan izvor prirodnih bioaktivnih spojeva, koji se mogu iskoristiti u brojnim industrijama. Izdvajanje bioaktivnih spojeva iz otpadne vode nastale preradom maslina u ulje atraktivan je i svestran način ponovne uporabe ovog otpada, posebno važan s ekonomskog i ekološkog aspekta. Ekstrakcija bioaktivnih spojeva ima dvostruki učinak, smanjenje toksičnosti otpada te njihova potencijalna upotreba kao funkcionalnih spojeva u prehrambenoj, farmaceutskoj i kozmetičkoj industriji. Iz navedenog se može zaključiti kako je otpadna voda zaostala nakon prerade maslina u ulje vrlo vrijedan nusproizvod. U ovom radu prikazan je njen nastanak, utjecaj na okoliš, metode obrade, mogućnost ekstrakcije bioaktivnih spojeva i njihova potencijalna primjena u prehrambenoj industriji.

# 1. MASLINA

Maslina (*Olea europea* L.) je jedno od najstarijih kultiviranih stabala na svijetu. To je biljna vrsta porijeklom iz mediteranskog podneblja.<sup>1</sup> Područje uzgoja masline uvjetovano je mediteranskim tipom klime koju karakteriziraju blage zime te duga i vruća ljeta. Vrlo je vrijedna voćna vrsta, koja daje plodove izvrsne kakvoće. Masline i maslinovo ulje proizvodi su poznati po svojoj prehrambenoj i gospodarskoj vrijednosti. Osim ulja, plodovi masline koriste se i za konzerviranje. U zemljama Mediterana proizvodi se oko 97 % od ukupne svjetske proizvodnje maslina, dok na zemlje EU otpada oko 80-84 %. Najveći proizvođači su Španjolska, Grčka, Italija i Turska, a slijede Tunis, Maroko i Alžir. Masline se uzgajaju i na Bliskom istoku, u SAD-u, Argentini i Australiji.<sup>2</sup> Što se tiče proizvodnje maslinovog ulja kao vodećeg proizvoda masline, među kontinentima Europa je najveći proizvođač sa oko 80 % svjetske proizvodnje, zatim slijedi Afrika s nešto manje od 10%, Azija oko 10% te Južna Amerika oko 0,7%. U Hrvatskoj se maslinici prostiru na svega oko 25 000 hektara.<sup>3</sup> Prosječna godišnja količina proizvedenog maslinovog ulja u Republici Hrvatskoj, kreće se od 1,5 do 5,5 milijuna litara, dok je godišnja prosječna potrošnja po stanovniku 1,5 litra.

## 1.1. Plod masline

Plodovi masline su duguljasti ili okrugli, slični plodovima drugog koštuničavog voća, koji se sastoje pokožice, pulpe i koštice unutar koje je smještena sjemenka. Oblik, veličina, boja i sadržaj ulja u plodu ovise o sorti masline. Plod masline je izvana prekriven pokožicom ili epikarpom na kojemu jevoštana ovojnica.<sup>4</sup> Tijekom prerade maslina u ulje, masna voštana ovojnica dolazi u dodir s uljem u kojem se otapaju trigliceridi, triterpenske kiseline, alkoholi i dr. Pokožica sadrži pigmente poput klorofila, ksantofila i karotena.<sup>5</sup>



**Slika 1.** Građa ploda masline<sup>6</sup>

Mezokarp ili pulpa ploda čini oko 85% ukupne težine ploda. Najveći dio mezokarpa čini voda, ostatak je ulje (15-30 %), dušični i nedušični spojevi.<sup>7</sup> Vodeni dio citoplazme sadrži ugljikohidrate (glukoza, fruktoza) te male količine saharoze i manitola. Od organskih kiselina najviše su zastupljena jabučna, limunska i oksalna, čija je uloga održavanje pH vrijednosti mezokarpa u rasponu od 4,5-5. Plod masline, također sadrži drvenastu košticu, endokarp, unutar koje se nalazi sjemenka. Sjemenke sadrže samo 1,0-1,5% ulja što nije značajno u usporedbi s količinom ulja u mezokarpu.<sup>4</sup> Kemijski sastav ploda masline ovisi o genetskim osnovama te o klimatskim, agrotehničkim i pedološkim čimbenicima uzgojnog područja.<sup>8</sup>

## **1.2. Tehnološki procesi prerade maslina u ulje**

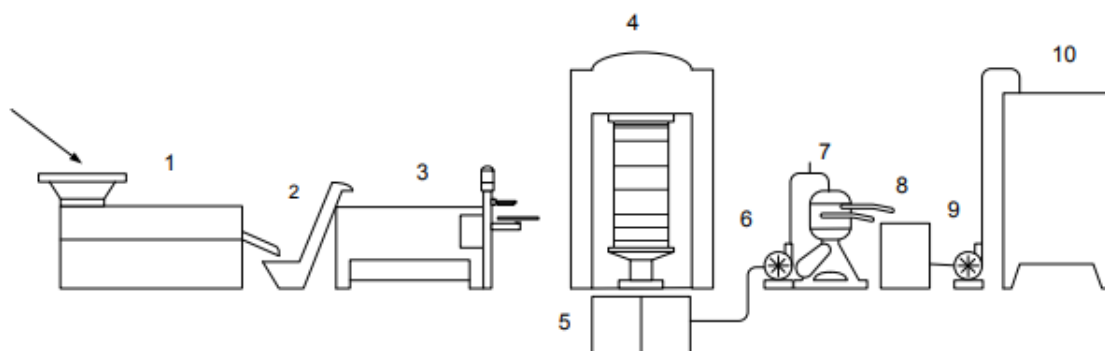
Visokokvalitetno djevičansko maslinovo ulje može se dobiti samo od svježih, zdravih i optimalno zrelih plodova maslina. Operacije koje se provode pri preradi maslina u ulje su vaganje, odstranjivanje lišća, pranje, ispiranje, odvajanje koštice, mljevenje, mijesenje, doziranje, odvajanje tekuće i krute faze te separacija ulja iz tekuće faze.

Nakon dolaska u uljaru, zdravi i zreli plodovi odlaze na čišćenje i pranje, nakon čega se usitnjavaju na mlinu s ciljem oslobađanja ulja iz vakuala stanica. Poželjno je da kapljice ulja, koje se oslobađaju, budu što veće, jer se tako ulje lakše i brže ekstrahira.

Mijesenje tijesta se provodi, kako bi se male kapljice ulja ujedinile u veće. Nakon mijesenja slijedi ekstrakcija ulja, koja se provodi jednim od sljedećih postupaka: prešanje, centrifugiranje ili perkolacija.<sup>9</sup>

## Prešanje

Najstariji način izdvajanja ulja iz tijesta maslina je proces prešanja. Zbog diskontinuiranog načina rada, visokih troškova te otežanog i zahtjevnog čišćenja i održavanja, u posljednje vrijeme diskontinuirani sustavi prešanja zamijenjeni su kontinuiranim sustavima, zajedno s razvojem centrifuga.<sup>10</sup> Tijekom prešanja nije potreban dodatak vode (rezultira smanjenom količinom otpadne vode), a komina masline je suša nego li u ostalim načinima prerade. Kod ovog procesa prvo se plodovi maslina usitnjavaju (melju) kamenim mlinovima, a zatim se dobiveno maslinovo tijesto nanosi na slojnice od prirodnih ili sintetskih materijala te se odvodi na prešanje (tiještenje), odnosno podvrgava sili pritiska u hidrauličkim prešama. Na kraju procesa prešanja dobiju se dvije frakcije: uljni mošt, koji predstavlja smjesu ulja i vode te komina (pogača ili kolač). Završna faza u ovom načinu prerade plodova maslina u ulje je separacija uljnog mošta u vertikalnim centrifugalnim separatorima prilikom čega se ulje odvaja od vegetabilne vode.<sup>11</sup>



1 - Uređaj za pranje maslina, 2 - Kosi transporter, 3 - Uređaj za drobljenje, mljevenje i doziranje tijesta, 4 - Hidraulička preša, 5 - Prihvatni spremnik, 6 - Pumpa za ulje, 7 - Centrifugalni separator, 8 - Prihvatni spremnik za maslinovo ulje, 9 - Pumpa za ulje, 10 - Spremnik za skladištenje ulja.

**Slika 2.** Tehnološka shema proizvodnje maslinovog ulja procesom prešanja<sup>9</sup>

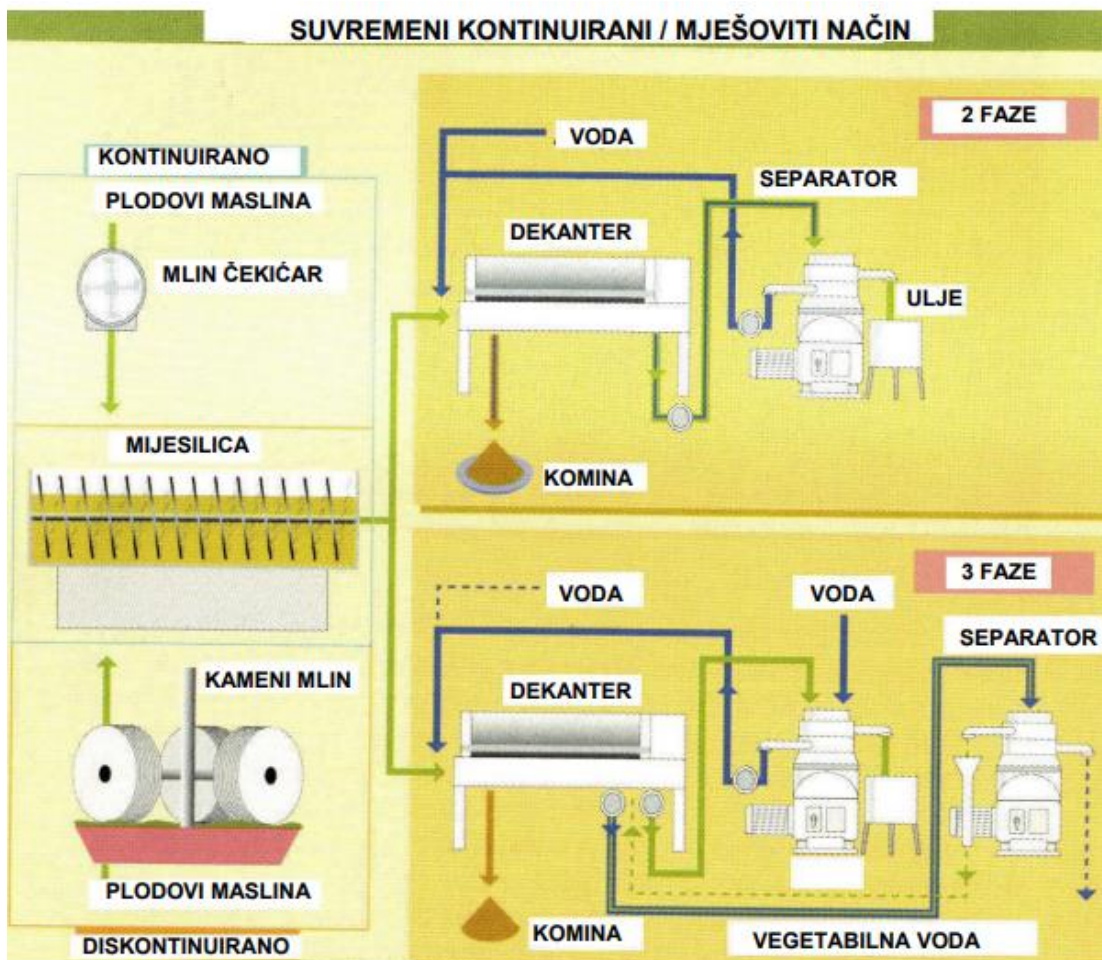


## **Centrifugalna ekstrakcija**

Kontinuirana centrifugalna ekstrakcija je način razdvajanja tekućeg od čvrstog dijela maslinovog tijesta djelovanjem centrifugalne sile u horizontalnim centrifugalnim separatorima (dekanterima). Ovo razdvajanje se temelji na razlici u specifičnoj težini između komine, vode i ulja. Dekanteri mogu raditi u dvije ili tri separativne faze.

U dvofaznom sustavu centrifugalne ekstrakcije jedna faza je komina (sa zaostalom vodom), a druga faza je ulje (sa zaostalom vodom). Kod trofaznog sustava ekstrakcije dobivamo tri faze, a to su: mokra komina, ulje s vodom i voda s uljem. U trofaznom sustavu pripremljeno maslinovo tijesto se pomoću posebne pumpe, uz dodavanje određene količine tople vode, dovodi u dekanter, koji razdvaja tijesto na tri dijela (voda, komina, ulje). Komina se transporterom odvozi izvan uljare, a ulje i vegetabilna voda se dalje razdvajaju pomoću vertikalnih centrifugalnih separatora.<sup>12</sup>

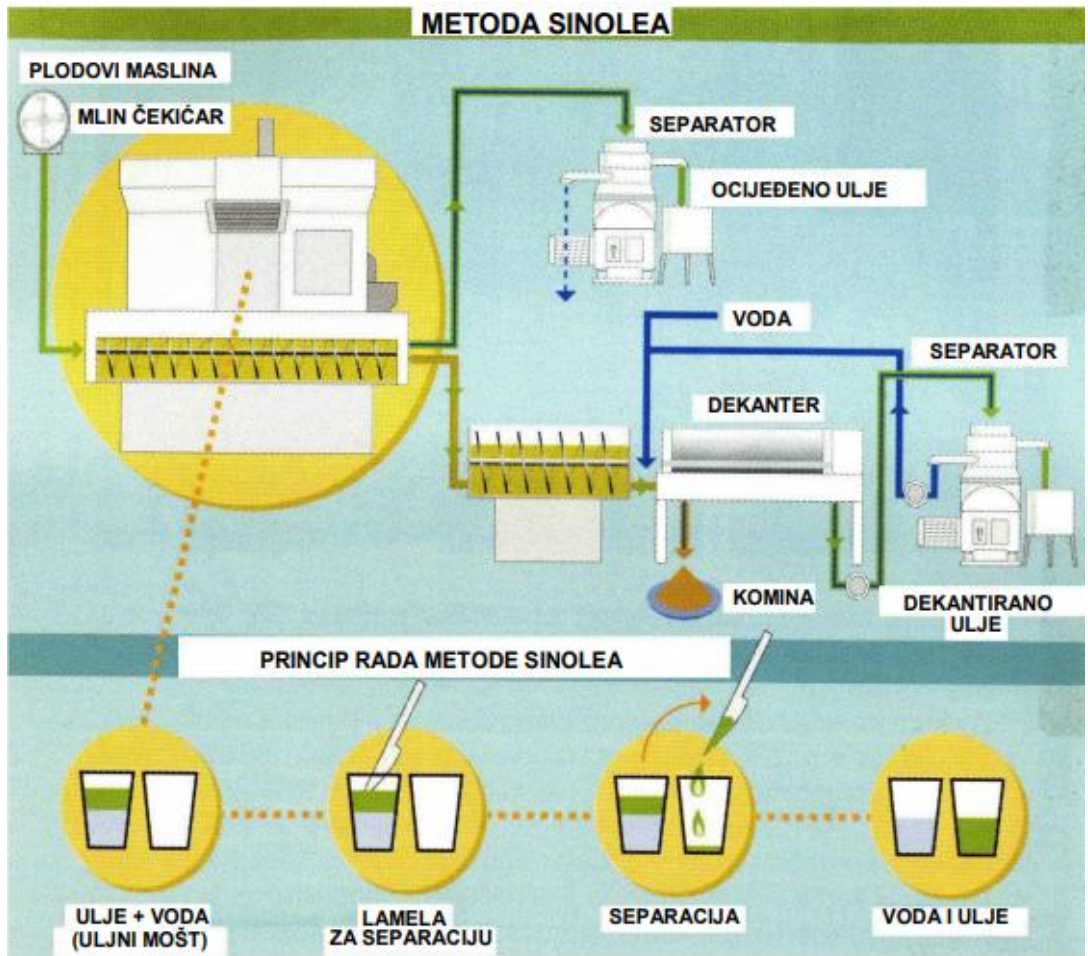
U trofaznom sustavu prerade dodaje se određena količina tople vode kako bi se razrijedilo maslinovo tijesto u cilju izdvajanja veće količine ulja. Optimalna količina vode za razrjeđivanje tijesta ovisi o svojstvima ploda masline i konstruktivnim svojstvima dekantera. Ovaj proces ima za posljedicu stvaranje većih količina otpadne vode koju je potrebno naknadno zbrinuti. U dvofaznom sustavu centrifugalne ekstrakcije u pravilu se ne dodaje voda što je svakako prednost jer nastaju manje količine otpadne vode pa se time smanjuje negativan utjecaj na okoliš.<sup>12</sup>



Slika 3. Način prerade plodova maslina u ulje<sup>9</sup>

### Perkolacija

Postupak prerade maslina u ulje perkolacijom, temelji se na razlici površinske napetosti između ulja i vode. U ovom postupku se ulje iz pripremljenog maslinovog tijesta izdvaja pomoću metalnih lamela. Ovim načinom može se izdvojiti oko 65% ulja iz tijesta. Ostatak od 35% ulja ostalog u tijestu izdvaja se jednim od prethodno opisanih načina, a u praksi se najčešće koristi trofazni centrifugalni postupak.<sup>9</sup>



**Slika 4.** Odvajanje tekućeg od čvrstog dijela perkolacijom<sup>9</sup>

## 2. OTPADNA VODA PRI PRERADI MASLINA U ULJE

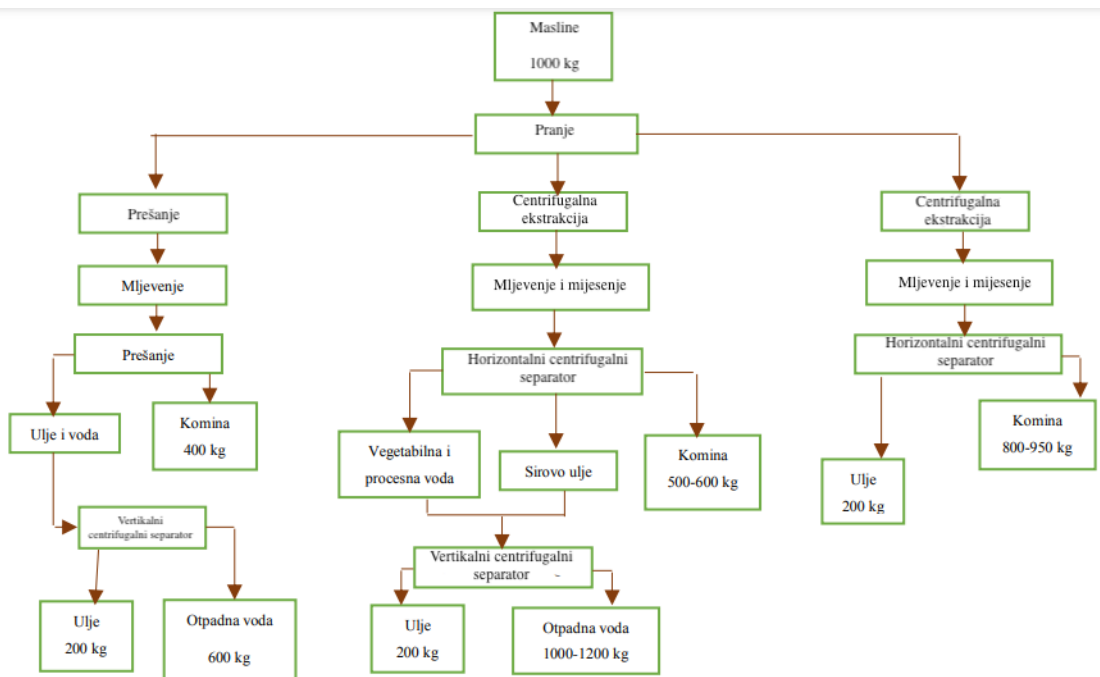
Preradom maslina u ulje nastaje otprilike oko 20-30% maslinovog ulja, 30% polučvrstog otpada te 40 - 50% otpadne vode, čija količina ovisi o samom načinu prerade. Iz navedenog je vidljivo kako procesi prerade maslina u ulje generiraju velike količine otpadne vode (engl. *Olive mill wastewater* - OMWW). U ove vode spadaju vode od pranja maslina, vegetativna voda, voda dodana tijekom procesa centrifugiranja i filtracije te voda korištena za potrebe pranja i čišćenja.<sup>13</sup>

OMWW predstavlja veliki ekološki problem, zbog svog kemijskog sastava. Na njen kemijski sastav utječu način prerade, tehnologija ekstrakcije i proces obrade. Ograničenje njezine izravne upotrebe posljedica je velike raznolikosti u kemijskoj strukturi (velika količina organskih spojeva, mikroorganizma i drugih štetnih spojeva).<sup>14</sup> Sastojci koje je potrebno naglasiti kao najproblematičniji su fenolni spojevi, uključujući spojeve nisko molekularne i visoko molekularne težine. U prvu skupinu spada kafeinska kiselina, tirozol, hidroksitirozol, a u drugu skupinu tanini i antocijani. Razine kemijske potrošnje kisika (KPK) i biološke potrošnje kisika (BPK) kreću se od 40 - 220 09 g L<sup>-1</sup>, odnosno 35 - 110 g L<sup>-1</sup>, što ukazuje na značajno organsko onečišćenje.<sup>15</sup>

Izdvajanje bioaktivnih tvari sadržanih u OMWW-u je pobudilo sve veći interes, budući da posjeduju visok potencijal za upotrebu u prehrambene, farmaceutske i kozmetičke svrhe.<sup>16</sup>

### 2.1. Količine i mjesto nastanka te utjecaj na okoliš

Kod ekstrakcije ulja količina nastale otpadne vode na svakih 1000 kilograma prerađenih plodova masline iznosi od 400 do 600 litara kod tradicionalnog diskontinuiranog procesa te od 800 do 1000 litara kod kontinuiranog trofaznog procesa. Iznimka je kontinuirani dvofazni proces u kojem kao nusprodukt nastaje otpadna voda, ali istovremeno i jako velike količine polučvrstog otpada (60% vode, 3% ulja).<sup>8</sup>



**Slika 5.** Shema prerade maslina u ulje te prikaz nastalih nusproizvoda<sup>17</sup>

Otpadne vode karakterizira tamnosmeđa boja, koja ovisi o načinu prerade i o stupnju razgradivosti fenolnih spojeva. Ove vode imaju specifično neugodan miris, visoku električnu vodljivost, nisku pH vrijednost, visoku kemijsku i biokemijsku potrošnju kisika te sadrže visoku koncentraciju fenolnih spojeva.<sup>18</sup> Mali dio fenolnih spojeva prisutnih u plodu prijeđe u ulje, dok veći dio, više od 98%, se gubi kroz tekući ili čvrsti otpad (vodu ili kominu).<sup>8</sup>

Što se tiče zbrinjavanja ovih voda, još uvijek je najčešća praksa ispuštanje u jezera, more, vodotoke, u sustave javne odvodnje, koncentriranje u otvorenim bazenima te upotreba kao zamjena za prirodno gnojivo u poljoprivredi.

U Europskoj Uniji ne postoje propisi o obaveznom zbrinjavanju otpadnih voda koje zaostaju nakon proizvodnje maslinova ulja, niti postoji stroga zakonska regulativa.<sup>19</sup> Svake se godine za proizvodnju maslinovog ulja, tj. za preradu maslina u ulje, troši oko 20 milijuna tona svježih vode, pri čemu nastaje oko 12 milijuna tona otpadne vode. 1 m<sup>3</sup> otpadne vode, otprilike je jednak po onečišćujućem učinku kao 100 - 200 m<sup>3</sup> kućanske otpadne vode.<sup>8</sup>

Sastav otpadnih voda uvelike utječu na prirodne vode, a estetska degradacija okoliša u koji se iste ispuštaju je najočitiiji pokazatelj onečišćenja.

Miris koji širi otpadna voda iz otvorenih bazena ili prirodnih voda, može imati negativan utjecaj na okolne organizme te ostale djelatnosti. Otpadna voda sadrži i velike količine glukoze i fruktoze, koje mikroorganizmi koriste kao hranu. Povećavanjem supstrata, dolazi do povećanja količine mikroorganizama, što zapravo dovodi do smanjenja sadržaja kisika u vodi, koji je potreban drugim živim organizmima. OMWW s velikom količinom nutrijenata, pogodan je medij za razmnožavanje patogena i onečišćenje prirodnih voda, što može imati jako veliki i nepovoljan utjecaj na ljude i vodeni svijet.<sup>20</sup>

Rast biljnih vrsta, također, se može inhibirati pomoću lipida prisutnih u otpadnoj vodi, odnosno njihovog nepropusnog sloja na površinama, koji smanjuje prolaz sunčeve svjetlosti i apsorpciju kisika.<sup>21</sup>

Neadekvatno i neumjereno korištenje otpadne vode za navodnjavanje poljoprivrednih površina, negativno utječe i na fizikalno - kemijske karakteristike tla (npr. povećanje saliniteta, ispiranje nutrijenata) što utječe rast raznih poljoprivrednih kultura.<sup>22</sup> Jedan od najvećih problema uzrokovan je visokom koncentracijom fenolnih spojeva te pojedinih organskih kiselina (octena, mravlja).<sup>8</sup>

## **2.2. Kemijski sastav**

Otpadnu vodu koja nastaje u uljarama tijekom prerade maslina u ulje karakterizira visoki sadržaj organskih tvari među kojima treba istaknuti organske kiseline, šećere, pektine te visoki udio fenolnih spojeva.<sup>13</sup> Među vrijednim sastojcima otpadnih voda svakako treba istaknuti dijetalna vlakna. Ostale bioaktivne tvari su karotenoidi, fitoestrogeni, fenolni spojevi i drugi funkcionalni spojevi. Sastav fenola ovisi stupnju zrelosti ploda, sorti masline i tehnološkom sustavu ekstrakcije.<sup>25</sup>

Fenolni i flavonoidni spojevi su jako dobri antioksidansi i pokazuju različita fiziološka djelovanja, kao što su protuupalna, antimikrobna, antialergijska, antikarcinogena, antihipertenzivna aktivnost i dr..

Također, nezaobilazna skupina spojeva su i mono-, di- i oligosaharidi, kao i neprobavljivi oligosaharidi, koji se smatraju prebioticima, jer neprobavljeni dopiru u debelo crijevo, gdje ih uglavnom fermentiraju bifidobakterije i bakterije mliječne kiseline.<sup>23</sup>

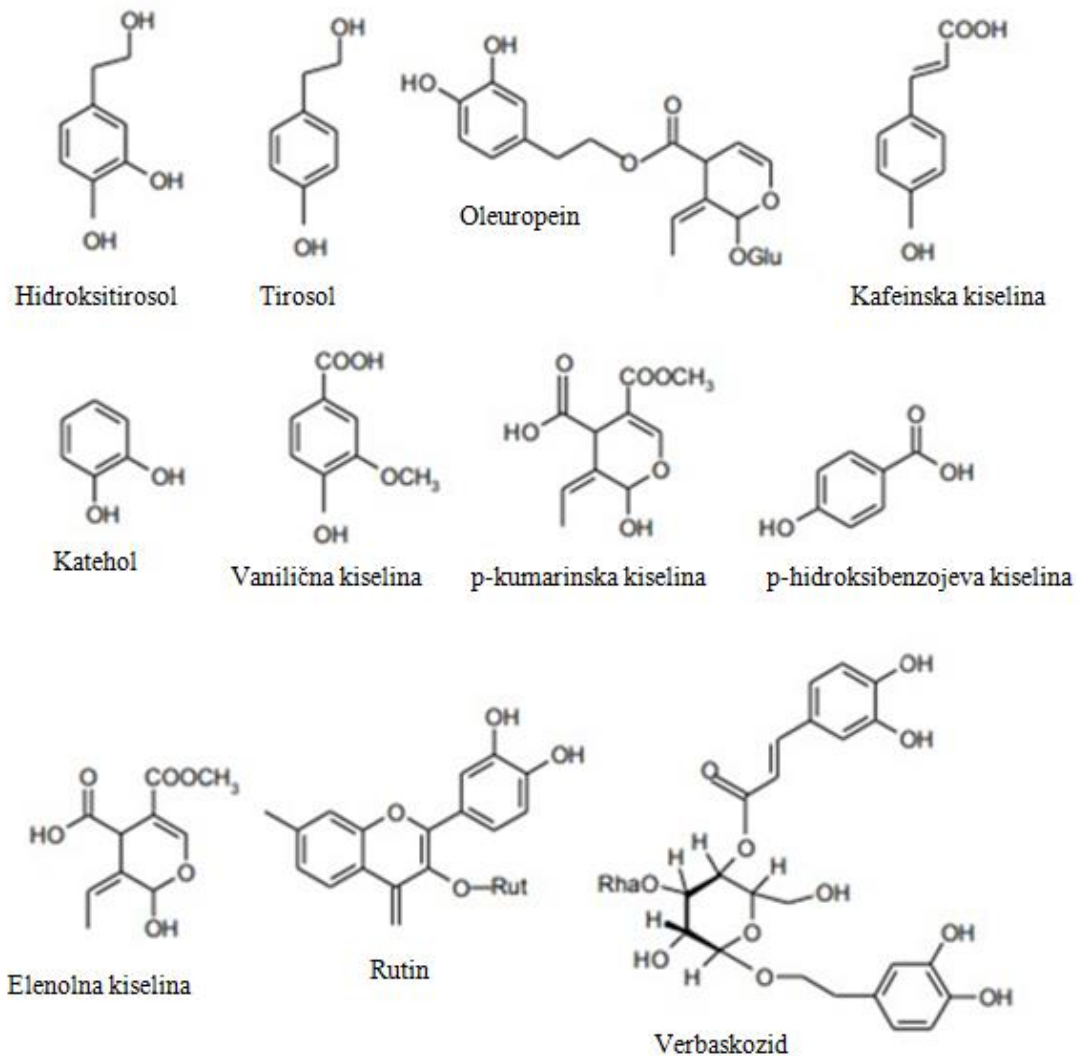
**Tablica 1.** Utjecaj tradicionalnog i kontinuiranog trofaznog procesa prerade maslina na fizikalno-kemijske značajke otpadne vode<sup>8</sup>

Parametar procesa	Tradicionalni proces	Kontinuirani trofazni proces
pH	4,7 – 5,7	4,5 – 5,9
Suha tvar (g dm <sup>-3</sup> )	15 – 266	10 – 161
Ulje (g dm <sup>-3</sup> )	0,12 – 11,5	0,41 – 29,8
Reducirani šećer (g dm <sup>-3</sup> )	9,7 – 67,1	1,6 – 34,7
Ukupni polifenoli (g dm <sup>-3</sup> )	1,4 – 14,3	0,4 – 7,1
o-difenoli (g dm <sup>-3</sup> )	0,9 – 13,3	0,3 – 6,0
Hidroksitirosol (mg dm <sup>-3</sup> )	71 – 937	43 – 426
Toksičnost	3GD	-
Pepeo (g dm <sup>-3</sup> )	4,0 – 42,6	0,4 – 12,5
KPK (g dm <sup>-3</sup> )	42,1 – 389,5	15,2 – 199,2
BPK <sub>5</sub> (g dm <sup>-3</sup> )	90 – 100	30 – 50
Organski dušik (mg dm <sup>-3</sup> )	154 – 1106	140 – 966
Ukupni fosfor (mg dm <sup>-3</sup> )	157 - 915	42 – 495
Na (mg dm <sup>-3</sup> )	38 - 285	18 – 124
K (mg dm <sup>-3</sup> )	1500 - 5000	630 – 2500
Ca (mg dm <sup>-3</sup> )	58 – 408	47 – 200
Mg (mg dm <sup>-3</sup> )	90 – 337	60 – 180
Fe (mg dm <sup>-3</sup> )	16,4 – 86,4	8,8 – 31,5
Cu (mg dm <sup>-3</sup> )	1,10 – 4,75	1,16 – 3,42
Zn (mg dm <sup>-3</sup> )	1,6 – 6,5	1,42 – 4,48
Mn (mg dm <sup>-3</sup> )	2,16 – 8,90	0,87 – 5,20
Ni (mg dm <sup>-3</sup> )	0,44 – 1,58	0,29 – 1,44
Co (mg dm <sup>-3</sup> )	0,18 – 0,96	0,12 – 0,48
Pb (mg dm <sup>-3</sup> )	0,40 – 1,85	0,35 – 0,72

### 2.3. Bioaktivni sastojci i njihovo djelovanje

Već je ranije navedeno kako se plod masline odlikuje visokim sadržajem fenolnih spojeva. Od ukupnog sadržaja fenola u plodu masline, samo oko 2% prelazi u uljnu fazu, dok se najveći dio nalazi u otpadnoj vodi. Količina fenolnih spojeva u OMWW-u ovisi o

stupnju zrelosti ploda masline, okolišnim karakteristikama uzgojnog područja, vremenu skladištenja, načinu prerađivanja te načinu ekstrakcije maslinovog ulja. U otpadnoj vodi dominiraju derivati hidroksicimetne kiseline (ferulinska, kafeinska kiselina) i sekoiridoidni derivati (tirozol i hidroksitirozol, vanilinska, 4-hidroksibenzojeva, protokatehuinska kiselina).



**Slika 6.** Fenolni spojevi u otpadnoj vodi iz prerađivanja maslina u ulje<sup>25</sup>



Hidroksitirozol je jedan od najviše istraženih bioaktivnih fenolnih spojeva u maslini, zbog njegove biološke aktivnosti, u vidu antioksidativnog, kardioprotektivnog, kemopreventivnog i protuupalnog djelovanja.<sup>24</sup>

Unutar skupine fenolnih spojeva značajno mjesto pripada tirozolu, koji ima nekoliko poznatih funkcionalnih djelovanja, poput antioksidativnog, protuupalnog i kardioprotektivnog djelovanja. Nadalje, vrijedno je istaknuti oleuropein, kojem se pripisuje antioksidativna, antivirusna, citostatička, protuupalna, antihipertenzivna, kardioprotektivna, antiaterogena, antimikrobna, hipoglikemijska, hipolipidemijska te hipokolesterolemijska aktivnost.<sup>25</sup>

Među fenolnim spojevima važno mjesto imaju i fenolne kiseline čiji je pozitivan učinak vezan za pojedinu kiselinu. Na primjer, kafeinska kiselina je povezana s pozitivnim učinkom protiv starenja, antifungalnim, protuupalnim te antiaterogenim djelovanjem, dok se elenolnoj kiselini pripisuje antioksidativno, antivirusno i antimikrobno djelovanje.

Verbaskozid, rutin i katekol, također, su bioaktivni sastojci otpadne vode, među kojima se ističe verbaskozid koji ima kardioprotektivno, antihipertenzivno i protuupalno djelovanje. Rutinu se pripisuje antiaterogeno, antioksidativno, kemoprotektivno i protuupalno djelovanje, dok se katehol odlikuje antimikrobnim, antikancerogenim i antioksidativnim djelovanjem.<sup>25</sup>

Osim velike raznolikosti bioaktivnih spojeva prethodno opisanih, prisutni su još tanini, antocijanini i flavonoidi, koji su važni zbog svoje iznimne antioksidativne aktivnosti.<sup>27</sup>

Zbog svojih antioksidativnih, antialergijskih, protuupalnih, antikancerogenih i antihipertenzivnih učinaka, Europska agencija za sigurnost hrane (EFSA) je dozvolila isticanje zdravstvene tvrdnje na deklaraciji djevičanskih maslinovih ulja: „Polifenoli maslinovog ulja doprinose zaštiti lipida u krvi od oksidativnog stresa.”

Fenolni spojevi inhibiraju indukciju oksidacije metalima, hvataju slobodne radikale, djeluju kao redukcijaska sredstva i čuvaju okus hrane (djevičansko maslinovo ulje). Fenolima maslinovog ulja pripisuje se i iznimna antimikrobna aktivnost, zbog čega se smatraju potencijalno korisnim prirodnim konzervansima za produljenje roka trajnosti hrane.<sup>28</sup>

Proces izdvajanja fenola iz otpadne vode vrlo je težak, jer su fenoli reaktivne kemijske vrste, osjetljive na oksidaciju, konjugaciju, hidrolizu, polimerizaciju i skloni su stvaranju kompleksa. Fenolni spojevi koji su teško biorazgradivi i toksični čine otpadne vode velikom prijetnjom ekosustavima.<sup>29</sup>

Toksičnost fenolnih spojeva potvrđena je brojnim testovima direktno na organizmima. Jedno od njih je dokazalo da 15 minutni boravak slatkovodne ribe (*Gambusia affinis*) ili vodenbuhe (*Daphnia magna*) u otpadnoj vodi koja sadrži 40 mgdm<sup>-3</sup> fenolnih spojeva (koncentracija je postignuta dodatkom 1 litre OOMW-a u 100.000 litara vode) rezultira njihovim brzim ugibanjem.<sup>30</sup>

Pojedina istraživanja su pokazala in vitro i in vivo antimikrobnu aktivnost fenolnih spojeva iz OMWW prema nekoliko fitopatogenih bakterija i gljivica. Visioli i suradnici (2011.) potvrdili su da fenolni ekstrakti OMWW-a mogu usporiti oksidaciju LDL-a (proces uključen u patogenezu ateroskleroze) i uklanjati superoksidne anione i hipokloridnu kiselinu te inhibirati proizvodnju leukotriena od strane ljudskih neutrofila.<sup>25</sup>

**Tablica 2.** Zdravstveni učinci povezani s fenolnim spojevima iz OMWW<sup>31</sup>

Bioaktivno djelovanje	Bolest	Odgovorni spojevi/ Ekstrakti
antiapoptotsko djelovanje hidroksitirozola i hidroksitirozol laurata	rak	hidroksitirozol i hidroksitirozol laurat
određivanje apsorpcije verbaskozida u tkivima debelog crijeva	oksidativni stres	verbaskozid
biološka aktivnost fenola visoke molekularne mase iz OMWW	oksidativni stres	ekstrakti iz OMWW
kemijski i stanično antioksidativno djelovanje fitokemikalija ekstrahiranih iz OMWW	oksidativni stres	hidroksitirozol, tirozol i dialdehidni oblik dekarboksimetilelenolne kiseline
ekstrakt OMWW bogat hidroksitirozolom štiti moždane stanice in vitro i ex vitro	oksidativni stres	hidroksitirozol

glavni fenolni spojevi u maslinovom ulju moduliraju gubitak koštane mase u eksperimentalnom modelu upale	osteopenija	tirozol i hidroksitirozol
modulacija ekspresije proinflamatornog gena IL-8 u stanicama cistične fibroze ekstraktima dobivenim iz OMWW	cistična fibroza	ekstrakti iz OMWW
hidroksitirozol sprječava oksidativni stres izazvan pasivnim pušenjem	oksidativni stres	hidroksitirozol
fenoli masline povećavaju razinu glutationa	oksidativni stres	hidroksitirozol i oleuropein
postprandijalni upalni odgovor nakon uzimanja zagrijanih ulja kod pretilih osoba smanjen je prisutnošću fenolnih spojeva	oksidativni stres	hidroksitirozol, tirozol, oleuropein aglikon, luteolin, apigenin, <i>p</i> -kumarinska kiselina, vanilinska kiselina, ferulinska kiselina
verbaskozidi iz OMWW: određivanje njihove bioraspoloživosti i unosa korištenjem in vitro digestije/ Caco-2 model sustava	oksidativni stres	izoverbaskozid, verbaskozid
tromboksan učinak ekstrakta OMWW bogatog hidroksitirozolum u bolesnika s dijabetesom tipa 1	trombotički i mikrotrombotički procesi	hidroksitirozol
smanjenje proizvodnje superoksidnog aniona u ljudskim stanicama zahvaljujući mješavini fenolnih spojeva iz OMWW	oksidativni stres	ekstrakti iz OMWW

#### 2.4. Najčešće metode obrade otpadnih voda iz prerade maslina u ulje

Najčešće metode obrade OMWW uključuju primjenu različitih fizikalnih, kemijskih, fizikalno-kemijskih, bioloških te kombiniranih postupaka.<sup>2</sup>

## **Fizikalno – kemijska obrada**

Za obradu otpadnih voda iz uljara od fizikalno – kemijskih metoda najčešće se primjenjuje taloženje pomoću vapna, koagulacija primjenom željezovih i aluminijevih soli, flokulacija pomoću različitih polielektrolita te adsorpcija na komercijalne (aktivni ugljen) ili alternativne adsorbense. Prethodno navedene metode spadaju u relativno jeftine i manje zahtjevne procese.<sup>32</sup>

Navedeni procesi se najčešće upotrebljavaju kao stupanj predobrade prije određene membranske ili biološke obrade jer količina zaostalih štetnih tvari ne zadovoljava uvjete da se ove vode ispuste u okoliš, tj, granične vrijednosti nisu zadovoljavajuće. Dodavanjem određene količine reagensa smanjuje se koncentracija onečišćujućih tvari.<sup>32</sup>

## **Biološka obrada**

Anaerobni i aerobni procesi spadaju u procese biološke obrade. Aerobni biološki procesi koriste se kao jedna od faza u toku obrade u više stupnjeva, a temelje se na mikrobnjoj aktivnosti koja transformira razgradivu organsku tvar u netoksične mineralne i hranjive tvari. Nakon ove vrste obrade toksičnost otpadne vode uvelike se smanjuje prvenstveno sniženjem koncentracije fenolnih spojeva. U procesu se koriste različite vrste mikroorganizama (bakterije, gljivice i alge).<sup>33</sup> Anaerobna razgradnja smatra se najučinkovitijom metodom za obradu otpadnih voda iz prerade maslina u ulje. Metoda se smatra nisko energetska i proizvodi manje mulja u odnosu na aerobnu razgradnju. Povrat energije omogućava se kroz iskorištavanje metana, koji nastaje kao nusprodukt anaerobne razgradnje organske tvari.<sup>34</sup>

Glavni stupnjevi anaerobne obrade su hidroliza, acidogeneza i metanogeneza (najznačajniji stupanj). Anaerobna razgradnja često zahtijeva razrjeđivanje efluenta, dodatak hranjiva i prilagodbu pH vrijednosti efluenta.<sup>35</sup>

## **Kemijska oksidacija**

Svrha oksidacijskih procesa je oksidacija organske tvari do završnih produkata ( $\text{CO}_2$  i  $\text{H}_2\text{O}$ ). Prije biološke obrade kemijska oksidacija se koristi za povećanje biorazgradivosti teško razgradive organske tvari. Najčešće se upotrebljava ozon ( $\text{O}_3$ ), Fentonov reagens, kombinacija UV zračenja i vodikovog peroksida ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), UV ozračivanje uz primjenu katalizatora (fotokatalizatori, mikrovalovi).<sup>36</sup>

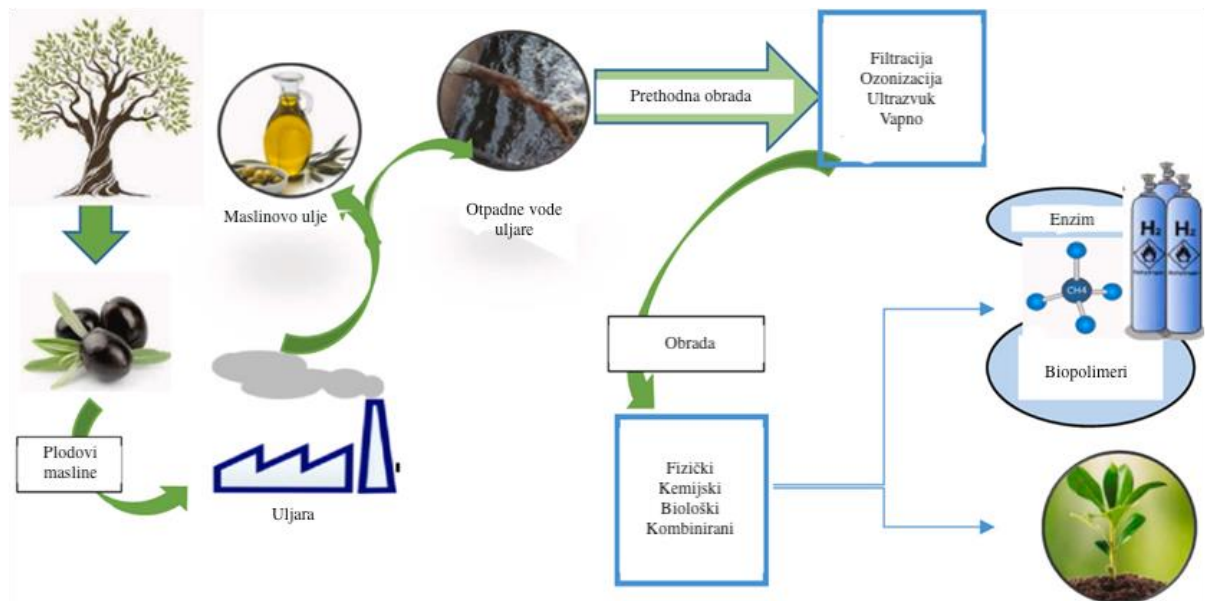
## Elektrokemijska obrada

Među elektrokemijskim metodama obrade otpadne vode iz prerade maslina u ulje najčešće se primjenjuju elektrokoagulacija i elektrooksidacija. Elektrokoagulacija je proces kojim se uklanjaju organske tvari visoke molekulske mase i suspendirane tvari (uklanjanje boje i mutnoće).<sup>35</sup>

Elektrokemijske metode mogu biti jako dobar i učinkovit odabir za obradu otpadne vode s velikom količinom organskog onečišćenja. Velika prednost ove metode je činjenica da ne ovisi o promjenama temperature ulaznog efluenta te da im nije nužno razrjeđivanje efluenta kao ni dodavanje dodatnih kemikalija. Kombinacijom s fizikalno - kemijskom predobradom može se postići ubrzanje i financijski prihvatljivija elektrokemijska obrada (npr. taloženje uz pomoć vapna).<sup>35</sup>

## Kombinirana obrada

Ni jedna od ranije navedenih metoda obrade primjenjena samostalno ne daje u potpunosti zadovoljavajuće rezultate kojima bi se osigurali potrebni kriteriji za direktno ispuštanje otpadne vode u okoliš. Zbrinjavanje ovih voda vrlo je specifično i složeno, stoga je potrebno koristiti kombinaciju različitih metoda u cilju učinkovitije i okolišno prihvatljive obrade.<sup>35</sup>

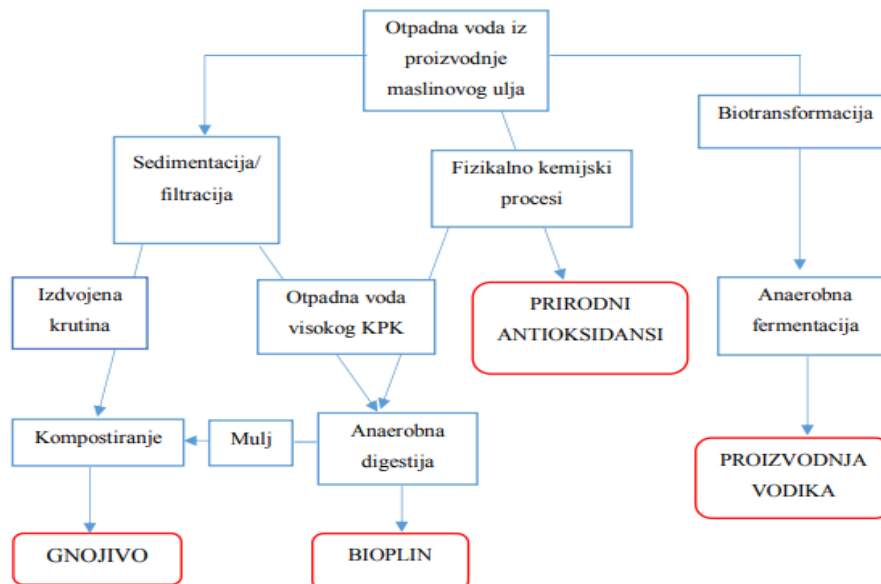


Slika 7. Tehnologije pročišćavanja otpadnih voda nastale preradom maslina u ulje<sup>37</sup>

### 3. VALORIZACIJA OTPADNE VODE

Valorizacija je koncept koji promovira načelo održivosti i razvoja, u području gospodarenja industrijskim otpadom i/ili ostacima. Obzirom na povećanu svijest o potrebi očuvanja okoliša, pretvorba nusproizvoda (otpada) u nove korisne proizvode s potencijalnom primjenom u raznim industrijama je od osobitog značaja. Iz otpadnih voda od prerade maslina u ulje moguće je dobiti proizvode visoko dodane vrijednosti uz odgovarajuću tehnologiju obrade.<sup>38</sup>

Dva su glavna pristupa valorizaciji otpadne vode i to: izdvajanje biološki aktivnih spojeva iz OOMW-a te procesi biokonverzije tvari prisutnih u otpadnoj vodi u visokovrijedne spojeve.<sup>8</sup>



Slika 8. Mogućnosti valorizacije otpadne vode pri preradi maslina u ulje (OMWW)<sup>17</sup>

### 3.1. Izdvajanje korisnih sastojaka

Već je i ranije navedeno kako tijekom prerade maslina u ulje većina fenolnih spojeva ploda masline završi u otpadnoj vodi zbog čega ona može biti jeftin izvor prirodnih antioksidativnih tvari.

Fenolni spojevi su detaljnije obrađeni u prethodnom poglavlju, ali zbog iznimne važnosti i ogromnog broja pozitivnih učinaka, ukratko će se ponoviti važnost njihovog izdvajanja. Zbog svoje antioksidativne aktivnosti, sposobnosti „hvatanja“ slobodnih radikala, inhibiranja štetnih enzima, aktiviranja antioksidacijskih enzima, smanjenja rizika od kroničnih bolesti i različitih vrsta tumora fenoli spojevi su od posebnog interesa. Također, pripisuje im se i širok spektar terapijskih djelovanja. U organizmu snižavaju krvni tlak, smanjuju oksidaciju LDL kolesterola, djeluju antikancerogeno, antialergijski i protuupalno. Pokazuju različite biološke učinke kojima štite organizam čovjeka od nastanka i razvoja različitih bolesti.<sup>8</sup> Tvrtka CreAgri's lansirala je na tržište formulaciju fenolnog ekstrakta pod nazivom Olivenol 2002 godine. Jedna kapsula Olivenola sadrži količinu fenolnih spojeva ekvivalentnu sadržaju u 113 - 170 g ekstra djevičanskog maslinovog ulja.<sup>39</sup>



**Slika 9.** Kapsule fenolnog ekstrakta – Olivenol<sup>40</sup>

U otpadnoj vodi, prisutni su i biološki aktivni lipidi (glikolipidi), čija se važnost ističe kod upalnih procesa u organizmu, kao i pektin, koji je važan za smanjenje kolesterola u krvi, liječenje pretilosti te za reguliranje šećera u krvi.<sup>8</sup>

Još uvijek su oskudni podaci o postupcima izdvajanja korisnih sastojaka iz otpadnih voda dobivenih preradom maslina u ulje. Među najčešće korištenim postupcima su adsorpcija te ekstrakcija otapalom. No, ovi postupci zahtijevaju odgovarajuću predobradu poput selektivnog koncentriranja primjenom membranskih ili drugih procesa. Za izdvajanje i pročišćavanje izdvojenih spojeva ekstrahiranih iz otpadnih voda najčešće se koriste kromatografske metode.<sup>41</sup>

### *3.1.1. Metode ekstrakcije*

Posljednjih godina brojna su istraživanja usmjerena na ekstrakciju vrijednih bioaktivnih sastojaka otpadne vode uljara u cilju dobivanja sastojaka dodane vrijednosti, poput primjerice fenolnih spojeva korištenjem različitih metoda uključujući enzimatske i kromatografske tehnike, ekstrakcije otapalima, membranske procese, ekstrakcije sa superkritičnim fluidima, ultrazvukom i druge.<sup>42</sup>

#### **Konvencionalne tehnike ekstrakcije**

Postupci ekstrakcije fenolnih spojeva obično uključuju korak koncentriranja (toplinsku koncentraciju, ultrafiltraciju ili liofilizaciju) prije izvođenja uzastopnih koraka ekstrakcije s organskim otapalima.<sup>43</sup> Među različitim metodama ekstrakcije, maceracija s različitim otapalima najčešća je i najjednostavnija tehnika, ali zahtijeva dugo vrijeme ekstrakcije (približno 48 sati). Fenoli se općenito otapaju lakše u polarnim medijima, poput alkohola (etanol i metanol), dok galnoj, cimetnoj i kumarinskoj kiselini više odgovaraju voda, diklorometan i aceton. Ekstrakcija tekuće-tekuće najraširenija je zbog svoje jednostavnosti i praktičnosti.<sup>44</sup> Ovom metodom se mogu izdvojiti fenoli iz otpadne vode, no potrebne su velike količine organskih otapala, koja mogu biti toksična i zapaljiva. Kako bi ekstrakcija bila djelotvorna, moraju se optimizirati procesni parametri kao što su vrijeme ekstrakcije, priroda otapala, pH otpadne vode, omjer između otapala i otpadne vode te broj ekstrakcijskih stupnjeva.<sup>45</sup>



Korištenjem etanola, butanola i etilnog acetata umjesto heksana, kloroforma i vode, ukupne količine izdvojenih fenola i flavonoida su veće.<sup>46</sup>

Ekstrakcija etil acetatom je najčešće korištena tehnika za ekstrakciju fenolnih spojeva iz komine ili otpadne vode. Upotreba etil acetata kao otapala ima najmanji negativan utjecaj na okoliš i rezultira najvećim iskorištenjem, stoga je najbolje rješenje kako s ekološkog tako i s tehničkog stajališta. Etil acetat smatra se najselektivnijim otapalom prema fenolnim spojevima niske i srednje molekulske mase. Prema pojedinim autorima vodena otapala omogućuju bolju ekstrakciju fenolne frakcije, jer voda povećava difuziju ekstrahiranih fenolnih spojeva kroz biljna tkiva.<sup>42</sup>

### **Novije tehnike ekstrakcije**

U posljednje vrijeme u fokusu znanstvenih istraživanja su nove tehnike ekstrakcije, primjerice ekstrakcija potpomognuta mikrovalovima, superkritičnim CO<sub>2</sub> i primjenom ultrazvuka. Ovim metodama ekstrakcije dodatno se doprinosi smanjenju troškova, uz istovremeno povećanje ekološke prihvatljivosti procesa.<sup>8</sup>

*Superkritična fluidna ekstrakcija (SFE)* je tehnologija koja koristi otapalo u superkritičnom stanju. Poznato je da superkritična otapala imaju svojstva koja se nalaze u tekućinama s viskoznošću usporedivom s plinovima. Karakteristike otapala/topljivosti superkritične tekućine mogu se prilagoditi promjenom vanjskih uvjeta tlaka i temperature ekstrakcije. Prednosti SFE su ubrzanje, automatizam i zaštita okoliša, uglavnom zbog smanjene upotrebe organskih otapala (sigurni ekstrakti bez toksičnih tvari). Posebno se ističe superkritični CO<sub>2</sub> kao najpoželjnije otapalo za odvajanje uglavnom apolarnih ili lipofilnih prirodnih spojeva, zbog inertnosti, netoksičnosti, niske cijene i visoke hlapljivosti.<sup>47</sup>

*Ultrazvuk* je alternativni oblik energije koji pogoduje procesima ekstrakcije. Intenzivne gradijente tlaka i temperature unutar materijala, proizvode ultrazvučni valovi, čime se povećava prijenos mase (induciranjem kavitacije). Ultrazvuk omogućuje bolje prodiranje otapala u stanične materijale, čime se poboljšava brzina transporta mase unutar tkiva i olakšava prijenos tvari iz stanice u otapalo, čime se povećava učinkovitost ekstrakcije.<sup>48</sup>

*Ekstrakcija potpomognuta mikrovalovima (MAE)* je proces kojim se mikrovalna energija koristi za zagrijavanje otapala u kontaktu s krutim uzorcima i za raspodjelu spojeva između uzorka i otapala. MAE može smanjiti i vrijeme ekstrakcije i potrošnju otapala u usporedbi s konvencionalnim metodama. Mikrovalovi su se pokazali kao izvrsna pomoć pri ekstrakciji polarnih spojeva polarnim ekstraktantom. Ekstrakti dobiveni MAE su dovoljno čisti da se mogu izravno ubrizgati u tekućinski kromatograf, čime se dodatno smanjuje ukupno vrijeme analize.<sup>49</sup>

Korištenje membranskih tehnologija za odvajanje, pročišćavanje i koncentriranje bioaktivnih fenolnih spojeva iz vodenih medija, također je novitet na ovom području. Membranske metode izbjegavaju korištenje otapala i aditiva, zahtijevaju nisku energiju i blage radne uvjete. Postupci mikrofiltracije (MF), ultrafiltracije (UF), nanofiltracije (NF) i reverzne osmoze (RO) su procesi koji uspješno ispunjavaju zahtjeve za oporabu, pročišćavanje i koncentraciju fenola iz nusproizvoda prerade maslina.<sup>42</sup>

Kristalizacija hlađenjem predstavljena je, također, kao zanimljiva alternativna metoda za izdvajanje sastojaka iz OMWW. Njome je moguće odvojiti različite komponente prema njihovim točkama smrzavanja. Koncentracija ciljanih spojeva i prisutnost drugih spojeva s istim točkama ledišta mogu utjecati na proces. Kristalizacija hlađenjem do sada je uspješno primijenjena za izolaciju *trans*-cimetne i ferulinske kiseline iz OMWW. Razvoj novih, bržih, učinkovitijih metoda ekstrakcije, koje bi mogle naći industrijsku primjenu jako je važan.<sup>50</sup>

### **3.2. Biokonverzija u korisne produkte**

Mikroorganizmi imaju mogućnost konvertiranja organske tvari u korisne produkte dodane vrijednosti pri čemu im je za uspješan rast potreban dovoljan sadržaj nutrijenata. Upravo otpadne vode iz prerade maslina u ulje sadrže brojne nutrijente poput lipida, proteina i polisaharida. No, zbog visokog sadržaja fenolnih sastojaka koji mogu inhibirati mikrobiološku aktivnost potrebno je provesti odgovarajuću predobradu ovih voda.<sup>8</sup>

## **OMWW u proizvodnji bioplina**

Tehnologije koje omogućavaju proizvodnju energije u obliku bioplina dobivenog iz OMWW predstavljaju izniman ekološki i ekonomski potencijal. Jedan od značajnijih postupka u proizvodnji bioplina je anaerobna digestija, kojom se djelovanjem različitih bakterija razgrađuju organski spojevi. Prema literaturi, moguće je dobiti 37 m<sup>3</sup> metana (CH<sub>4</sub>) iz 1 m<sup>3</sup> otpadne vode. Na proces negativno utječu parametri poput visokog KPK, BPK, kiselost vode te mali udio dušika.<sup>51</sup>

Različiti procesi koji bi uz ove probleme povećali proizvodnju bioplina su primjerice, toplinski postupak za razgradnju organskih sastojaka, uklanjanje fenola pomoću pješčanog filtra ili aktivnog ugljena, razrjeđivanje otpadne vode, elektro-Fentonova metoda, predtretman ultrazvukom, primjena koagulacije/flokulacije, uklanjanje fenolnih spojeva pomoću enzima te njihova mikrobna razgradnja pomoću gljivica ili algi.

Koliko god je uspješnost ovih procesa visoka, prisutni su i određeni nedostaci kao što je manja proizvodnja CH<sub>4</sub> (smanjenje KPK), složenost procesa, nastajanje međuprodukata veće toksičnosti od polaznih fenolnih spojeva te visoki dodatni troškovi.<sup>8</sup>

## **OMWW kao gnojivo**

Mogućnosti iskorištavanja otpadne vode nastale u procesu prerade maslina u ulje mogu naći i svoju primjenu u poljoprivrednoj proizvodnji. Ukoliko se provede pravilna obrada ovih voda, njihova primjena kroz navodnjavanje može imati pozitivan učinak na rast biljaka zahvaljujući visokom sadržaju organske tvari i mineralnom sastavu. Zbog visoke koncentracije nutrijenata, OMWW se može smatrati dobrim poboljšivačem tla. Negativni učinci su povezani s visokim udjelom mineralnih soli, niskom razinom pH i prisutnih fenola. Kako bi se smanjili neželjeni fitotoksični učinci kompostiranje vegetabilne vode zajedno s drugim poljoprivrednim i industrijskim nusproizvodima se pokazalo kao dobro rješenje.<sup>52</sup>

Kompostiranje je jedan od najprimjenjenijih procesa za recikliranje i pretvorbu OMWW u gnojivo visoke vrijednosti. Odnos ugljika i dušika, aeracija, vlaga, kiselost i temperatura su parametri koji su vrlo važni za tijek procesa, čime se omogućava rast i aktivnost mikroorganizama. Bakterije, gljive, protozoe i aktinomicete su najvećim dijelom odgovorni za razgradnju organskog otpada bogatog hranjivim tvarima.<sup>53</sup>

Na ovaj način dobiveni materijal se može koristiti kao dobra zamjena za mineralna gnojiva. Uzastopnim zasićenjem materijalima, kao što su grančice, lišće ili komina masline (održavanjem razine vlage) moguće je, također, stabilizirati otpadnu vodu kroz postupak kompostiranja.<sup>52</sup>

### **OMWW u proizvodnji biopolimera**

Za razliku od druge plastike, biopolimere karakterizira brža biorazgradivost, manja toksičnost te svojstva slična konvencionalnoj plastici. Za njihovu proizvodnju se koriste materijali biološkog podrijetla. Ovakva proizvodnja je ekološki prihvatljivija jer ne ovisi o nafti, a prilikom razgradnje količina oslobođenog ugljičnog dioksida može biti i do 70 % niža u odnosu na plastiku proizvedenu iz nafte. Kad se govori o proizvodnji biopolimera iz OMWW, uglavnom je pažnja usmjerena na dvije glavne kategorije ovih spojeva: polihidroksialkanoate (PHA) i eksopolisaharide (EPS), kod kojih se OMWW koristi kao jeftin izvor ugljika. OMWW se koristi i u proizvodnji ksantana koji se primjenjuje kao vezivno sredstvo u prehrambenoj, farmaceutskoj, kozmetičkoj industriji, u industriji papira, boja, tekstila itd.<sup>8</sup>

### **OMWW kao izvor antioksidansa i enzima**

OMWW je jako dobar izvor antioksidativnih tvari zbog čega je mogućnost njihove izolacije i ponovne upotrebe od iznimne važnosti. Tijekom ekstrakcije ulja mehaničkim putem, zbog svog hidrofilnog karaktera većina fenolnih tvari završi u vegetabilnoj, odnosno otpadnoj vodi. Fenolni spojevi estrahirani iz otpadne vode, mogu zbog svog antioksidativnog djelovanja imati višestruku primjenu u terapijske svrhe.

OMWW sadrži brojne spojeve sa snažnim antioksidativnim, antimikrobnim i antifungalnim svojstvima zbog čega imaju potencijalnu primjenu u farmaceutskoj, prehrambenoj i kozmetičkoj industriji. OMWW se, također, koristi kao supstrat u proizvodnji enzima, peroksidaza, fenoloksidaza i industrijske biomase.<sup>54</sup>

#### 4. POTENCIJALNA PRIMJENA EKSTRAKATA OTPADNE VODE U PREHRAMBENOJ INDUSTRIJI

OMWW bi se trebala tretirati kao potencijalna jeftina polazna sirovina za ekstrakciju vrijednih antioksidativnih sastojaka koji bi mogli naći svoju primjenu i u nekoliko različitih industrija, s osobitim naglaskom na prehrambenu industriju gdje se mogu dodavati u svrhu obogaćivanja proizvoda kao i produljenja trajnosti hrane.<sup>55</sup>

Zbog sadržaja zaostalog ulja, šećera, proteina, minerala, vlakana i fenola, postoji širok raspon mogućnosti recikliranja i primjene. Ekstrakti iz ovih voda se u prehrambenoj industriji mogu primijeniti kao vrijedni sastojci, prirodni antioksidansi u hrani, antimikrobna i antifungalna sredstva, oksidativni stabilizatori itd.<sup>56,57</sup> Od svih prisutnih bioaktivnih komponenti, fenolni spojevi su najatraktivniji spojevi sa širokim spektrom, dokazanih bioloških aktivnosti i blagotvornih učinaka.<sup>58</sup>

Kroz nekoliko sljedećih primjera prikazano je kako pojedini sastojci iz otpadne vode mogu doprinjeti funkcionalnoj vrijednosti pojedinih prehrambenih proizvoda.



**Slika 10.** Potencijalna primjena ekstrakata otpadne vode (OMWW) u prehrambenoj industriji<sup>59</sup>

#### 4.1. Meso i mesne preradevine

U novije vrijeme prisutna su istraživanja o dodacima različitih ekstrakata iz OMWW u brojne mesne proizvode, a sve s ciljem očuvanja kvalitete i povećanja nutritivne vrijednosti proizvoda.<sup>60</sup>

U današnje vrijeme promjena životnog stila i užurbani način života, doprinijeli su većoj konzumaciji mljevenog mesa. Mljeveno meso se lako kuha, ukusno je i visoke je nutritivne vrijednosti. Zbog veće površine koja je izložena mikroorganizmima, zraku i svjetlu, sklonije je oksidaciji lipida i kvarenju. Dodavanjem fenolnog ekstrakta u mljeveno meso smanjuju se oksidacijski procesi, zadržava se crvena boja mesa i usporava tamnjenje tijekom skladištenja.<sup>61</sup>

U istraživanju Galanakis i sur., (2010.) utvrđeno je kako se dijetalna vlakna ekstrahirana iz OMWW mogu uspješno koristiti kao zamjena za masti u proizvodnji mesnih okruglica sa sniženim sadržajem masti.<sup>59</sup>

Svježe kobasice su podložene mikrobiološkom kvarenju zbog visoke pH vrijednosti te visokog aktiviteta vode. Dodatak fenolnih ekstrakata u svježe kobasice inhibira rast mikroorganizama kvarenja čime se povećava rok trajnosti ovih proizvoda.<sup>62,63</sup>

Karakteristična otpornost mikroorganizama, da stvaraju biofilm oko sebe, koji ih štiti od nepovoljnih okolišnih uvjeta, ugrožava sigurnost i kvalitetu proizvoda.<sup>64,65</sup> Dodatak fenolnog ekstrakta može usporiti rast *Campylobacter coli* i *Campylobacter jejuni*, koji su povezani sa konzumacijom nehigijenskog, kontaminiranog i nekuhanog mesa.<sup>66</sup> Ovo pokazuje kako antimikrobni učinak fenolnog ekstrakta može biti dobra alternativa kemijskim aditivima i konzervansima.

Od morskih organizama koji se koriste u prehrani, uz ribe, značajno su zastupljeni rakovi i škampi. Škampi su vrlo traženi među potrošačima, zbog izvrsne konzistencije mesa, nutritivne vrijednosti i vrlo ugodnog okusa. Nedostatak im je vrlo kratak rok trajanja, koji je posljedica fizikalno-kemijskih svojstava (visoki pH, visoki sadržaj vode, loš kolagen i neproteinski dušik).<sup>67</sup>

Prema istraživanju Miraglia i sur. (2021.), dodatak fenolnog ekstrakta u škampe pokazao je iznimno baktericidno i antioksidativno djelovanje bez promjene karakterističnih senzorskih svojstava.<sup>68</sup>

Nadalje, prisutna su i istraživanja o dodatku fenolnih ekstrakata stočnoj hrani pri čemu je proučeno djelovanje na rast, kvalitetu, rok trajnosti, peroksidaciju lipida i crijevni sastav.<sup>69</sup> Obogaćivanje piletine fenolima nije utjecalo na rast životinja, već na kemijski sastav mesa. U mesu pilića koji su konzumirali hranu s dodanim fenolima, uočeno je povećanje razine hidroksitirozola u mišićnom tkivu. Potrebna su daljnja istraživanja kako bi se bolje razumjela distribucija hidroksitirozola u staničnim i izvanstaničnim dijelovima, jer se oksidativni procesi uglavnom odvijaju u strukturi membrane mišićnih stanica. Primjena fenolnih ekstrakata u stočnoj hrani u budućnosti bi se mogla koristiti s ciljem produljenja trajnosti i očuvanja kvalitete svježeg mesa.<sup>70</sup>

#### **4.2. Mlijeko i mliječni proizvodi**

Različite dobne skupine ljudi konzumiraju širok raspon mliječnih proizvoda, od mlijeka pa do raznolikog izbora mliječnih proizvoda (sir, jogurt). Glavna svrha prerade mlijeka je deaktivirati patogene ili njihove inducirane toksine te poboljšati probavljivost, bioraspoloživost i rok trajanja gotovih proizvoda. Toplinske obrade produljuju rok trajanja, međutim pri tom dolazi do promjene boje i teksture, gubitka nekih esencijalnih tvari te postoji mogućnost od toksičnog učinka.<sup>74,75</sup> Maillardovom reakcijom dolazi do pojave smeđih obojenih spojeva (reakcija između šećera i amino skupine), koji nisu poželjni s nutritivnog i senzorskog aspekta.<sup>73</sup> Glavni produkti Maillardove reakcije u mlijeku su Amadorijevi spojevi, izvedeni iz laktoze. Uslijed termičkog tretmana dolazi do degradacije Amadorijevih spojeva pri čemu se javlja polimerizacija proteina te pojava smeđe boje uslijed nastanka melanoidina. Dodatak ekstrakta otpadne vode obrađene prethodno ultrafiltracijom te potom osušen raspršivanjem u mlijeko, pokazao se vrlo učinkovit u usporavanju Millardove reakcije.<sup>74</sup>

Istraživanje Servili i sur. (2011.) u proizvodnji fermentiranog mliječnog napitka (sličnog jogurtu) s dodatkom fenolnog ekstrakta iz OMWW u koncentraciji od 100-200 mg/L, pokazalo je kako je konzumacija 100 mL ovog napitka dnevno slična konzumaciji oko

20 g ekstra djevičanskog maslinovog ulja u kojemu je sadržaj fenolnih spojeva oko 500 mg/kg. Upravo je ovo i optimalna koncentracija za postizanje određenih zdravstvenih benefita.<sup>75</sup>

### **4.3. Pekarski proizvodi**

Pekarski proizvodi su važan izvor energije i hranjivih tvari poput ugljikohidrata, bjelancevina, vitamina i minerala. To je skupina proizvoda jako zastupljenih u prehrani, lako dostupnih i cjenovno prihvatljivih potrošačima. U cilju poboljšanja njihove nutritivne vrijednosti i roka trajnosti predmet su brojnih istraživanja. Tako je i jedna od mogućnosti i primjena ekstrakata nusproizvoda prerade maslina.

Bioraspoloživost mjeri količinu unijetih fenolnih spojeva koje ljudsko tijelo učinkovito apsorbira i iskorištava.<sup>76</sup> U slučaju pekarskih proizvoda obogaćenih fenolnim ekstraktima nusproizvoda prerade maslina, bioraspoloživost fenola je uvjetovana i vrstom dodanog ekstrakta kao i uvjetima pečenja.<sup>77</sup> Doista, različiti fenoli mogu djelovati sinergistički ili antagonistički jedni s drugima, dok proces fermentacije i temperature pečenja mogu modificirati biodostupnost fenolnih spojeva.<sup>78</sup>

Pekarski su proizvodi kao i ostali prehrambeni proizvodi podložni kvarenju. Dodatak fenolnog ekstrakta u sprječavanju kvarenja pekarskih proizvoda, posebice sprječavanju oksidacije lipida i pojave užeglosti te usporavanja mikrobiološkog kvarenja, pokazao se jako uspješnim. Conte i sur. (2021.) istraživali su dodatak fenolnih ekstrakata lista masline i otpadne vode u bezglutenske štapiće te ukazali na mogućnost razvoja nutritivno bogatijeg i zdravijeg proizvoda produljene trajnosti.<sup>79</sup>

### **4.4. Funkcionalna i fermentirana pića**

U novije vrijeme velika pažnja je usmjerena na proizvodnju funkcionalnih pića obogaćenih vitaminima, mineralima, proteinima i drugim bioaktivnim sastojcima. U proizvodnji ovih pića askorbinska kiselina je čest dodatak zbog svog izraženog antioksidativnog



djelovanja. No, ukoliko se ova pića obogaćuju fenolnim ekstraktima postiže se isti antioksidativni učinak te nije potreban dodatak askorbinske kiseline.<sup>80,81</sup>

Yao i sur. (2016.) proveli su fermentaciju otpadne vode uljara te proizveli maslinovo vino u kojemu su utvrdili visoki sadržaj antioksidativnih sastojaka (hidroksitirozola, ukupnih fenola i flavonoida) što upućuje na obećavajući potencijal upotrebe ovog proizvoda kao funkcionalnog napitka u terapiji bolesti uzrokovanih oksidativnim stresom.<sup>82</sup>

De Leonardis i sur. (2019.) u okviru svog istraživanja proučavali su potencijalnu mogućnost iskorištavanja otpadne vode iz prerade maslina u proizvodnji octa od maslina s visokim sadržajem vrijednih bioaktivnih tvari.<sup>83</sup>

#### **4.5. Ostali vrijedni sastojci**

Ekstrakti otpadne vode su potencijalni izvor dijetalnih vlakana. Pektinske tvari, ekstrahirane iz otpadne vode uljara, karakterizira visoka molekulska masa i nizak stupanj metil-esterifikacije te pokazuju antioksidativnu aktivnost veću od citrusnog pektina.<sup>84</sup>

Istraživanje Galanakis i sur. (2010a) ukazuje kako topljiva dijetalna vlakna izdvojena iz otpadne vode uljara povećavaju mogućnost upotrebe ovog materijala kao izvrsnog sredstva za zgušnjavanje.<sup>52</sup>

Dijetalna vlakna ekstrahirana iz OMWW mogu se koristiti kao aditivi za poboljšanje sposobnosti zadržavanja vode u mesnim okruglicama. Osim toga, mogu naći svoju primjenu u poboljšanju okusa te kao zamjena za razne masnoće.<sup>52</sup>

Sintetski polimeri, koji se najviše upotrebljavaju kao materijali za pakiranje hrane, kao ambalažni materijal predstavljaju jako velike ekološke probleme, iako su ekonomski i tehnološki prihvatljivi. Razvoj biorazgradivih biopolimera, koji sadrže bioaktivne spojeve, koji se mogu dobiti iz jeftinih materijala (npr. otpad) u velikom su porastu. Fenolni ekstrakt pokazao je, također, dobar potencijal kao komponenta aktivnog filma i premaza.<sup>85</sup>

#### 4.6. Mikrobní proizvodi dodane vrijednost

OMWW sadrži različite izvore ugljika, organske i mineralne tvari koji bi se trebali valorizirati kao vrijedan supstrat u različitim biotehnoškim procesima.

Prema dostupnim istraživanjima dokazana je sposobnost rasta nekolicine mikroorganizama u ovom supstratu čijom aktivnošću nastaju različiti visoko vrijedni produkti (organske kiseline, enzimi, ekopolisaharidi i dr.).<sup>86</sup>

Dourou i sur. (2016). su koristili otpadnu vodu kao supstrat različitim kvascima u proizvodnji etanola, limunske kiseline i manitola. Kako bi uklonili inhibirajući učinak fenolnih spojeva proveli su razrijeđivanje ove vode te obogaćivanje izvorom ugljika dodatkom glicerola i glukoze. Ovim pristupom ne samo što se smanjuje toksičnost otpada već se postiže i dodana vrijednost proizvodnjom navedenih proizvoda.

Zbog visokog sadržaja šećera u otpadu koji nastaje preradom maslina u ulje, Bambalov i sur. (1989). ukazuju na mogućnost proizvodnje etanola alkoholnom fermentacijom šećera. Inhibicijski učinak fenola na rast mikroorganizama mogao bi se riješiti jednostavnim razrijeđivanjem ili odgovarajućim kemijskim, fizikalnim ili biološkim prethodnim tretmanima OMWW-a. Zbog svestranosti upotrebe (energetika, hrana, farmacija), etanol je jedan od najtraženijih spojeva u biotehnoškoj obradi otpadnih voda.<sup>87</sup>

Rezultati istraživanja Lopez i Ramos-Cormenzana (1997). ukazuju na efikasno korištenje otpadne vode uljara kao supstrata bakteriji *Xanthomonas campestris* u proizvodnji heteropolisaharida ksantana. Zbog svojih iznimnih reoloških svojstava, ksantan ima široku primjenu u prehrambenoj, farmaceutskoj, kozmetičkoj, tekstilnoj i drugim industrijama. Ovime, OMWW predstavlja jeftin supstrat u proizvodnji ksantana, a što je još važnije ostvaruje se dodatna okolišna korist.<sup>88</sup>

Gharsallah (1993.) je proveo istraživanje u kojemu je koristio otpadnu vodu uljare kao medij za rast kvasaca *Candida krusei*, *Saccharomyces chevalerie* and *Saccharomyces rouxi*. Na temelju dobivenih rezultata utvrdio je kako korištenje navedenih kvasaca osigurava smanjenje organske tvari za 40-50 % te ujedno predstavlja izvor jednostaničnih proteina prikladnih za obogaćivanje stočne hrane.<sup>89</sup>

D'Annibale i sur., (2006).su istraživali mogućnosti valorizacije OMWW koristeći je kao fermentacijski medij različitim gljivicama u proizvodnji ekstracelularnih lipaza. Najbolje rezultate su dobili korištenjem otpadnih voda s niskim sadržajem šećera i ostatkom ulja uz dodatak dušika.<sup>90</sup>

#### **4.7. Stabilnost ulja/masti/emulzije**

Otpadna voda se zajedno s ostalim nusproizvodima iz proizvodnje maslinovog ulja, smatra bogatim izvorom antioksidativnih tvari, koje poboljšavaju oksidacijsku stabilnost biljnih ulja i životinjskih masti. Günal-Köroçglu i sur. (2019.) su istraživali oksidacijsku stabilnost suncokretovog ulja dodajući mu različite koncentracije fenolnih ekstrakata iz otpadne vode i komine maslina. Utvrdili su kako dodatak ovih ekstrakata inhibira formiranje hidroperoksida te uzorci obogaćeni ovim ekstraktima imaju viši sadržaj tokoferola, viši udio fenolnih sastojaka te veću oksidativnu stabilnost nego dodatkom sintetskih antioksidanasa (BHT). Romeo i sur. (2020.) su ispitivali utjecaj dodatka fenolnog ekstrakta iz OMWW na oksidativnu stabilnost suncokretovog ulja tijekom skladištenja te utvrdili kako je dodatak ekstrakta od 50 mg/L rezultirao povećanjem oksidativne stabilnosti ulja za 50%.<sup>91</sup>

Esposito i sur. (2015.) istraživali su utjecaj dodatka fenolnog ekstrakta na kvalitetu rafiniranog maslinovog ulja tijekom prženja te utvrdili kako dodatak ekstrakta u koncentraciji od 400 mg/L smanjuje oksidaciju tokoferola te nastanak niskomolekularnih aldehida bolje nego dodatak sintetskih antioksidanasa. Slične rezultate su dobili uspoređujući prženje na ekstra djevičanskom maslinovom ulju s visokim sadržajem fenolnih spojeva.<sup>92</sup>

Fenolni spojevi ekstrahirani iz OMWW, unatoč tome što su hidrofilne prirode, pokazali su se učinkovitijima u kontroli svih stupnjeva oksidacije u usporedbi s liposolubilnim tokoferolima.

Također, u usporedbi s askorbinskom kiselinom, fenolni ekstrakt ima izvanrednu sposobnost inhibicije prve peroksidacije lipida. Stoga, kako bi se povećala učinkovitost u prvoj fazi oksidacije, askorbinska kiselina i fenolni ekstrakt mogu se koristiti u procesu emulgiranja između vodene i uljne faze.<sup>93,94</sup>

Riblje ulje je izvrstan izvor dugolančanih polinezasićenih masnih kiselina koje imaju pozitivan utjecaj na ljudsko zdravlje. Kako bi se povećala konzumacija navednih masnih kiselina raste interes u proizvodnji hrane obogaćene ribljim uljem. No, nedostatak mu je mala oksidativna stabilnost. Jimenez-Alvarez i sur. (2008.) su istraživali utjecaj dodataka ekstrakta origana, peršina te fenolnog ekstrakta iz OMWW na oksidativnu stabilnost ribljeg ulja i uljno-vodenih emulzija. Prema dobivenim rezultatima razvidno je kako je OMWW jako dobar i obećavajući izvor antioksidativnih tvari kojima se može usporiti oksidacija lipida u prehrambenim proizvodima obogaćenim ribljim uljem.<sup>95</sup>

## 4. ZAKLJUČAK

Mogućnosti ponovnog iskorištavanja nusproizvoda prehrambene industrije već su dugi niz godina u fokusu pažnje znanstvenika. Maslinarstvo kao važna gospodarska djelatnost osobito u zemljama mediteranskog područja karakterizirano je nastankom velike količine različitih nusproizvoda. Preradom maslina u ulje, komina i otpadna voda uljara vodeći su nusproizvodi. No, činjenica da su proizvođači obvezni izdvojiti ogromne količine novca za zbrinjavanje nastalih nusproizvoda usmjerava ih ka pronalaženju održivih metoda njihova pročišćavanja te učinkovitog izdvajanja visokovrijednih sastojaka.

Posljednjih godina istraživanja su posebice usmjerena na mogućnosti valorizacije otpadnih voda uljara kako bi se smanjili pritisci na okoliš te na razvoj učinkovitih i ekonomski prihvatljivih metoda ekstrakcije bioaktivnih sastojaka, te iznalaženje mogućnosti njihove daljnje primjene u primjerice prehrambenoj, farmaceutskoj i kozmetičkoj industriji.

Među bioaktivnim sastojcima najznačajnije mjesto pripada fenolnim spojevima kojima se pripisuju antioksidativno, protuupalno, kardioprotektivno te niz drugih pozitivnih učinaka na ljudsko zdravlje. Među fenolnim sastojcima osobito se ističu oleuropein i hidroksitirozol jer su prisutni u visokim koncentracijama u gotovo svim nusproizvodima prerade maslina. Recentna istraživanja nekolicine autora ukazuju na visoki potencijal primjene ekstrakata OMWW u brojnim prehrambenim proizvodima. Dodatak ovih ekstrakata uglavnom povećava funkcionalnu vrijednost, oksidativnu stabilnost i produljenje roka trajnosti hrane. Ovakvo gospodarenje nusproizvodima, u ovom slučaju otpadnim vodama uljara ne samo što je od iznimnog interesa s okolišnog aspekta, već otvara mogućnosti razvoja funkcionalne hrane. Ovime se promiče održivost lanca proizvodnje maslinovog ulja te ostvaruju načela kružnog gospodarstva.

## **5. POPIS KRATICA I SIMBOLA**

OMWW – otpadna voda nastala preradom maslina u ulje

IOOC – Međunarodno vijeće za masline

SAD – Sjedinjene Američke Države

EFSA – Europska agencija za sigurnost hrane

LDL - lipoprotein niske gustoće

UV zračenje – ultraljubičasto zračenje

SFE – superkrična fluidna ekstrakcija

MAE – mikrofiltracija

UF – ultrafiltracija

NF – nanofiltracija

RO – reverzna osmoza

KPK – kemijska potrošnja kisika

BPK – biološka potrošnja kisika

PHA – polihidroksialkanoat

EPS – eksopolisaharid

BHT - 2,6-ditertbutil-4-metilfenol

## 6. LITERATURA

1. *O. Koprivnjak.*, Kvaliteta, sigurnost i konzerviranje hrane, Udžbenik iz kolegija "Uvod u prehrambene tehnologije" za studente sanitarnog inženjerstva, Medicinski fakultet Rijeka, (2014.)
2. *C.M. Galanakis*, Olive Mill Waste, Galanakis Laboratories, Chania, Greece, (2017.)doi:[10.1016/B978-0-12-805314-0.00005-4](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805314-0.00005-4)
3. IOOC (International Olive Oil Council), Table olive processing., Technical Handbooks
4. *A. Škarica, I. Žužić, M. Bonifačić*, Maslina i maslinovo ulje visoke kakvoće u Hrvatskoj, Tipograf d.d., Rijeka (1996.)
5. *O.Koprivnjak*,Djevičansko maslinovo ulje: Od masline do stola, MIH d.o.o., Poreč (2006.)
6. URL: <https://www.sciencedirect.com/topics/pharmacology-toxicology-and-pharmaceutical-science/olive-tree> (10.7.2023.)
7. *I. Miljković, Lj. Gašparec-Skočić, V. Milat*,Maslina i maslinovo ulje: Božji dar u Hrvata, Mavi d.o.o., Hrvatski centar za poljoprivredu, hranu i selo, Zagreb, (2011.)
8. *S. Zrnčević*, Valorizacija otpadnih voda prerade maslina, Hrvatske vode 26 (2018) 104, 75-90
9. *M.Gugić, M. Šarolić, Z. Marijanović, I. Ordulj*: Maslina-Kemija i tehnologija prerade, interna skripta, Veleučilište „Marko Marulić“ Knin, (2009.)
10. *E. Domingues, E. Fernandes, J. Gomes, S. Castro-Silva, R.C. Martins*, Olive oil extraction industry wastewater treatment by coagulation and Fenton's process, Journal of Water Process Engineering Vol. 29,(2021.) doi:<https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2020.101818>
11. *S.M. Hocaoglu, H. Gursoy, I. Basturk, P. Talazan, C. Aydoner*, Assessment of technology modification for olive oil sector through mass balance, Journal of Cleaner Production Vol. 188, (2018.) doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.04.020>

12. *M. Gugić, M. Šarolić, F. Strikić, I. Grgić, M. Katalinić, I. Vlatković*, Maslina i proizvodi, Matica Hrvatska, Split, (2017.)
13. *S. Shabir, N. Ilyas, M. Saeed, F. Bibi, R.Z. Sayyed, W. Almalki*, Treatment technologies for olive mill wastewater with impacts on plants, *Environmental Research*, Vol. 216, Part 3, (2023.), doi: <https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.114399>
14. *K. Chartzoulakis, G. Psarras, M. Moutsopoulou, E. Stefanoudaki*, Application of OMW to a Cretan olive orchard: effects on soil properties, plant performance and the environment, *Agriculture Ecosystems & Environment* 138(3-4):293-298, (2010.) doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.agee.2010.05.014>
15. *L. Cecchi, M. Bellumori, C. Cipriani, A. Mocali, M. Innocenti, N. Mulinacci, L. Giovannelli*, A two-phase olive mill by-product (pate) as a convenient source of phenolic compounds: content, stability and antiaging properties in cultured red human fibroblasts, *Journal of Functional Food*, Vol. 40, 751 – 759, (2018.) doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2017.12.018>
16. *F. Visioli, A. Romani, N. Mulinacci, S. Zarini, D. Conte, F.F. Vincieri, C. Galli*, Antioxidant and other biological activities of olive oil mill waste water, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 3397-3401., (1999.) doi: <https://doi.org/10.1021/jf9900534>
17. *I. Šetka*, Simulacija dobivanja i analiza procjedne vode komine masline, Sveučilište u Splitu, Kemijsko-tehnološki fakultet u Splitu, (2019.)
18. *C. Di Bene, E. Pellegrino, M. Debolini, N. Silvestri, E. Bonari*, Short- and long-term effects of olive mill wastewater land spreading on soil chemical and biological properties, *Soil Biology and Biochemistry*, 56, 21-30, (2013.) doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2012.02.019>
19. *V.J. Inglezakis, J.L. Moreno, M. Doula*, Olive oil waste management EU legislation: Current situation and policy recommendations, *International Journal of Chemical and Environmental Engineering Systems*, Vol 3(2):65-77, (2012.)
20. *M.J.M. Rusan, A.A. Albalasmeh, I. Hanan, H.I. Malkawi*, Treated olive mill wastewater effects on soil properties and plant growth, *Water Air and Soil Pollution*, 227, 135-145 (2016.) doi: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11270-016-2837-8>



21. R. Salomone, G.M. Cappelletti, O. Malandrino, M. Mistretta, E. Neri, G.M. Nicoletti, B. Notarnicola, C. Pattara, C. Russo, G. Saija, Life cycle assessment in the olive oil sector in *In Life Cycle Assessment in the Agri-food Sector* (Eds. Notarnicola B.; Salomone R.; Petti L.; Renzulli P.; Roma R.; Cerutti A.K.), Springer, New York, pp. 57-123. (2015.)
22. C. Rousidou, K. Papadopoulou, G. Zervakis, B.K. Singh, C. Ehaliotis, D.G. Karpouzias, Repeated application of diluted olive mill wastewater induces changes in the structure of the soil microbial community, *European Journal of Soil Biology*, 46, 34–40 (2010.)
23. M.B. Roberfroid, J. Slavin, Non digestible oligosaccharides, *Crit Rev Food Sci Nutr* 40:461–480, (2000). doi: <https://doi.org/10.1080/10408690091189239>
24. R. Garcia, N. Martins, M. J. Cabrita, Recovery of polyphenols from olive oil mill wastes: A selective approach anchored to molecularly imprinting technology, ICAAM, Universidade de Évora, Évora, Portugal In *Virgin Olive Oil*, A. De Leonardis, Nova Science Publishers, (2014.)
25. A. De Leonardis, *Virgin olive oil production, composition, uses and benefits for man*, by Nova Science Publishers, New York(2014.)
26. F. Driss, V. Duranthon, V. Viard, Effects biologique des composé's polyphenoliques de l'olivier. *Corps Gras, Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 3, 448-451., (1996.)
27. F. Visioli, A. Romani, N. Mulinacci, S. Zarini, D. Conte, F.F. Vincieri, C. Galli, Antioxidant and other biological activities of olive oil mill waste water, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 3397-3401 (1999.) doi: <https://doi.org/10.1021/jf9900534>
28. A. Genovese, N. Caporaso, V. Villani, A. Paduano, R. Sacchi, Olive oil phenolic compounds affect the release of aroma compounds. *Food Chemistry*, 181, 284--294. (2015.) doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.02.097>
29. L. Chaari, N. Elloumi, S. Mseddi, K. Gargouri, B.B. Rouina, T. Mechichi, M. Kallel, Changes in soil macronutrients after a long-term application of olive mill wastewater, *Journal of Agricultural Chemistry and Environment*, 4, 1-13, (2015.) doi: <http://dx.doi.org/10.4236/jacen.2015.41001>

30. *G.Stamatakis*, Energy and geo-environmental applications for olive mill wastes, A review Hellenic Journal of Geosciences, Laboratory of Biochemistry, Faculty of Chemistry, National and Kapodistrian University of Athens, Panepistimiopolis, 15784 Athens, Greece,45, 269-282, (2010.)
- 31.*A.M. Gómez-Caravaca, L. Cerretani, A. Segura-Carretero, A. Fernández-Gutiérrez, G. Lercker, T. Gallina Toschi*, Qualitative phenolic profile (HPLC-DADMS) from olive oil mill waste waters at different states of storage and evaluation of hydrolysis process as a pretreatment to recover their antioxidants, Progress in Nutrition, 13, 22-30. (2011.)
- 32.*E.S.Aktas, S. Imre, L. Ersoy*, Characterization and lime treatment of olive mill wastewater, Water Research, 35, 2336–2340, (2001.) doi: [https://doi.org/10.1016/s0043-1354\(00\)00490-5](https://doi.org/10.1016/s0043-1354(00)00490-5)
33. *M. Hamdi, R. Ellouz*, Use of *Aspergillus niger* to improve filtration of olive mill wastewaters, Journal of Chemical Technology and Biotechnology, 53, 195–200, (1992.)
34. *P. Paraskeva, E. Diamadopoulou*, Technologies for olive mill wastewater (OMW) treatment: a review. Journal of Chemical Technology and Biotechnology, 81,1475–1485, (2006.) doi: <http://dx.doi.org/10.1002/jctb.1553>
35. *V. Oreščanin*, Otpadne vode od prerade maslina – porijeklo, kemijski sastav, toksični učinci i metode pročišćavanja, Hrvatske vode 23(2015.) 92, 111-122
36. *V. Oreščanin, V.*, Procjedne vode odlagališta otpada – kemijski sastav, toksični učinci i metode pročišćavanja, Hrvatske vode, 22(87), 1-12, (2014.)
37. URL: <https://www.mdpi.com/2071-1050/15/4/3360> (10.7.2023.)
38. *G. Laufenberg, B. Kunz, M. Nystroem*, Transformation of vegetable waste into value added products: (A) the upgrading concept; (B) practical implementations, Biores Technol 87:167–198 (2003.)
- 39.*N. Sturzenberger*, Olive Processing Waste Management: Summary, UC Davis Olive Oil, University of California, Davis, 2007.
40. URL: [olivenol plus essence 30 capsule bugiardino cod: 922299387 \(fogliettoillustrativo.net\)](https://www.fogliettoillustrativo.net) (25.7.2023.)

41. *S. Takaç, A. Karakaya*, Recovery of Phenolic Antioxidants from Olive Mill Wastewater. *Recent Patents on Chemical Engineering*, 2, 230-237, (2009.) doi: <http://dx.doi.org/10.2174/1874478810902030230>
42. *D. Boskou*, Olive and Olive Oil Bioactive Constituents, AOCS Press, Urbana, IL 61802, (2005.)
43. *N. Rahmanian, S.M. Jafari, C. M. Galanakis*, Recovery and Removal of Phenolic Compounds from Olive Mill Wastewater, *Journal of the American Oil Chemists Society*, 91, 1–18, (2014.) doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s11746-013-2350-9>
44. *E. De Marco, M. Savarese, A. Paduano, R. Sacchi*, Characterization and Fractionation of Phenolic Compounds Extracted from Olive Oil Mill Wastewaters. *Food Chem.*, 104, 858–867, (2007.)
45. *T-I. Lafka, A. Lazou, V. Sinanoglou, E.S. Lazos*, Phenolic and antioxidant potential of olive oil mill wastes, *Food Chemistry*, 125, 92-98. (2011.) doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.08.041>
46. *O.H. Lee, B.Y. Lee, J. Lee, H.B. Lee, J.Y. Son, C.S. Park, K. Shetty, Y.C. Kim*, Assessment of Phenolics-Enriched Extract and Fractions of Olive Leaves and Their Antioxidant Activities, *Bioresour. Technol.*, 100, 6107–6113, (2009.) doi: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.06.059>
47. *S. Stavroulias, C. Panayiotou*, Determination of Optimum Conditions for the Extraction of Squalene from Olive Pomace with Supercritical CO<sub>2</sub>, *Chem. Biochem. Eng. Q.*, 19, 373–381., (2005.)
48. *S. Dermeche, M. Nadour, C. Larroche, F. Moulti-Mati, P. Michaud*, Olive Mill Wastes: Biochemical Characterizations and Valorization Strategies. *Process Biochem.*, 48, 1532–1552., (2013.) doi: <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2013.07.010>
49. *R. Japón-Luján, J.M. Luque-Rodríguez, M.D. Luque De Castro*, Multivariate Optimisation of the Microwave-Assisted Extraction of Oleuropein and Related Biophenols from Olive Leaves. *Anal. Bioanal. Chem.*, 385, 753–759., (2006.) doi: <https://doi.org/10.1007/s00216-006-0419-0>

50. A-L. Skaltsounis, A. Argyropoulou, N. Aligiannis, N. Xynos, Recovery of High Added Value Compounds from Olive Tree Products and Olive Processing Byproduct, Department of Pharmacognosy and Natural Products Chemistry, University of Athens, Panepistimiopolis Zografou, Athens, (2015.) in Olive and Olive Oil Bioactive Constituents, Dimitrios Boskou
51. S. Azabou, W. Najjar, M. Bouaziz, A. Ghorbel, S. Sayadi, A compact process for the treatment of olive mill wastewater by combining wet hydrogen peroxide catalytic oxidation and biological techniques, *Journal of Hazardous Materials*, 183, 62-69., (2010.) doi: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.06.104>
52. C.M. Galanakis, E. Tornberg, V. Gekas, A study of the recovery of the dietary fibres from olive mill wastewater and the gelling ability of the soluble fibre fraction. *LWT Food Science and Technology*, 43, 1009-1017., (2010.a)
53. A. Roig, M.L. Cayuela, M.A. Sanchez-Monedro, An overview on olive mill wastes and their valorisation methods, *Waste Management*, 26, 960-969, (2006.) doi: <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2005.07.024>
54. N. Sturzenberger, Olive Processing Waste Management: Summary, UC Davis Olive Oil, University of California, Davis, 2007.
55. H.K. Obied, D.R. Jr Bedgood, P.D. Prenzler, K. Robards, Bioscreening of Australian olive mill waste extracts: biophenol content antioxidant antimicrobial and molluscicidal activities, *Food Chem Tox* 45:1238–1248, (2007.) doi: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.01.004>
56. A. Mekki, A. Dhouib, F. Aloui, S. Sayadi, Olive wastewater as an ecological fertilizer, *Agron Sustain Dev* 26(1):61–67, (2006.)
57. J.M. Silvan, M.A. Pinto-Bustillos, P. Vásquez-Ponce, M. Prodanov, A.J. Martinez-Rodriguez, Olive mill wastewater as a potential source of antibacterial and antiinflammatory compounds against the food-borne pathogen *Campylobacter*, *Inn Food Sci Emerg Technol* 51:177–185, (2019.) doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2018.05.013>

58. A. ElMekawy, L. Diels, L. Bertin, H. De Wever, D. Pant, Potential biovalorization techniques for olive mill biorefinery wastewater. *Biofuels Bioprod Bioref* 8(2):283–293, (2014.) doi: <http://dx.doi.org/10.1002/bbb.1450>
- 59.A. De Leonardis, V. Macciola, A. Iftikhar, Present and Future Perspectives on the Use of Olive-Oil Mill Wastewater in Food Applications, (2023.) doi: [http://dx.doi.org/10.1007/978-3-031-23449-1\\_4](http://dx.doi.org/10.1007/978-3-031-23449-1_4)
60. S. Balzan, B. Cardazzo, E. Novelli, L. Carraro, F. Fontana, S. Currò, L. Fasolato, Employment of phenolic compounds from olive vegetation water in broiler chickens: effects on gut microbiota and on the shelf life of breast fillets. *Molecules* 26(14):4307, (2021.) doi: <https://doi.org/10.3390/molecules26144307>
61. S. Barbieri, D. Mercatante, S. Balzan, S. Esposto, V. Cardenia, M. Servili, M.T. Rodriguez-Estrada, Improved oxidative stability and sensory quality of beef hamburgers enriched with a phenolic extract from olive vegetation water, *Antioxidants* 10(12):1969, (2021.) doi: <https://doi.org/10.3390/antiox10121969>
62. L. Cocolin, K. Rantsiou, L. Iacumin, R. Urso, C. Cantoni, G. Comi, Study of the ecology of fresh sausages and characterization of populations of lactic acid bacteria by molecular methods. *Appl Environ Microbiol* 70(4):1883–1894, (2004.) doi: <https://doi.org/10.1128/AEM.70.4.1883-1894.2004>
63. L. Fasolato, L. Carraro, P. Facco, B. Cardazzo, S. Balzan, A. Taticchi, E. Novelli, Agricultural by-products with bioactive effects: a multivariate approach to evaluate microbial and physicochemical changes in a fresh pork sausage enriched with phenolic compounds from olive vegetation water. *Int J Food Microbiol* 228:34–43, (2016.) doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.04.003>
64. C.M. Buswell, Y.M. Herlihy, L.M. Lawrence, J.T. McGuiggan, P.D. Marsh, C.W. Keevil, S.A. Leach, Tended survival and persistence of *Campylobacter* spp. in water and aquatic biofilms and their detection by immunofluorescent antibody and rRNA staining. *Appl Environ Microbiol* 64(2):733–741, (1998.)
65. X. Shi, X. Zhu, Biofilm formation and food safety in food industries. *Trends Food Sci Technol* 20(9):407–413, (2009.) doi: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2009.01.054>

66. *J.E.L.Corry, H.I. Atabay*, Poultry as a source of *Campylobacter* and related organisms. *J Appl Microbiol* 90(6):96–114, (2001.)
67. *M.E. López-Caballero, O. Martínez-Álvarez, M.C. Gómez-Guillén, P. Montero*, Several melanosis inhibiting formulas to enhance the quality of deepwater pink shrimp (*Parapenaeus longirostris*). *Innov Food Sci Emerg Technol* 51:91–99, (2019.) doi: <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.07.008>
68. *D. Miraglia, M. Castrica, S. Esposto, R. Roila, R. Selvaggini, S. Urbani, M. Servili*, Quality evaluation of shrimp (*Parapenaeus longirostris*) treated with phenolic extract from olive vegetation water during shelf life, before and after cooking, *Foods* 10(9):2116, (2021.) doi: <https://doi.org/10.3390/2Ffoods10092116>
69. *M.H. Farahat, F.M. Abdallah, H.A. Ali, A. Hernandez-Santana*, Effect of dietary supplementation of grape seed extract on the growth performance, lipid profile, antioxidant status and immune response of broiler chickens. *Animal* 11(5):771–777, (2017.) doi:<https://doi.org/10.1017/S1751731116002251>
70. *E. Novelli, L. Fasolato, B. Cardazzo, L. Carraro, A. Taticchi, S. Balzan*, Addition of phenols compounds to meat dough intended for salami manufacture and its antioxidant effect, (2014) doi: <https://doi.org/10.4081/2Fijfs.2014.1704>
71. *G.B. Awuah, H.S. Ramaswamy, A. Economides*, Thermal processing and quality: principles and overview. *Chem Eng Process* 46(6):584–602, (2007.)
72. *M. Van Boekel, V. Fogliano, N. Pellegrini, C. Stanton, G. Scholz, S. Lalljie, V. Somoza, D. Knorr, P. Rao Jasti, G. Eisenbrand*, A review on the beneficial aspects of food processing. *Mol Nutr Food Res* 54(9):1215–1247, (2010.) doi: <https://doi.org/10.1002/mnfr.200900608>
73. *M.A.J.S. Van Boekel*, Effect of heating on Maillard reactions in milk, *Food Chemistry*, 62(4):403–414, (1998.) doi: [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00075-2](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00075-2)
74. *A.D. Troise, A. Fiore, A. Colantuono, S. Kokkinidou, D.G. Peterson, V. Fogliano*, Effect of olive mill wastewater phenol compounds on reactive carbonyl species and Maillard reaction end-products in ultra high-temperature-treated milk. *J Agric Food Chem* 62(41):10092–10100, (2014.) doi: <https://doi.org/10.1021/jf503329d>

75. M. Servili, C.G. Rizzello, A. Taticchi, S. Esposto, S. Urbani, F. Mazzacane, F. Di Maio, R. Selvaggini, M. Gobbetti, R. Di Cagno, Functional milk beverage fortified with phenolic compounds extracted from olive vegetation water and fermented with functional lactic acid bacteria. *Int J Food Microbiol* 147(1):45–52, (2011.) doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.03.006>
76. D. Angelino, M. Cossu, A. Marti, M. Zanoletti, L. Chiavaroli, F. Brighenti, D. Del Rio, D. Martini, Bioaccessibility and bioavailability of phenolic compounds in bread: a review. *Food Funct* 8:2368–2393, (2017.) doi: <https://doi.org/10.1039/c7fo00574a>
77. M. Di Nunzio, G. Picone, F. Pasini, E. Chiarello, M.F. Caboni, F. Capozzi, A. Gianotti, A. Bordoni, Olive oil by-product as functional ingredient in bakery products. Influence of processing and evaluation of biological effects. *Food Res Int* 131:108940, (2020.) doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108940>
78. K. Katina, R. Juvonen, A. Laitila, L. Flander, E. Nordlund, S. Kariluoto, K. Poutanen, Fermented wheat bran as a functional ingredient in baking. *Cereal Chem* 89:126–134, (2012.) doi: <http://dx.doi.org/10.1094/CCHEM-08-11-0106>
79. P. Conte, S. Pulina, A. Del Caro, C. Fadda, P.P. Urgeghe, A. De Bruno, G. Difonzo, F. Caponio, R. Romeo, A. Piga, Gluten free breadsticks fortified with phenolic-rich extracts from olive leaves and olive mill wastewater. *Foods* 10(5):923, (2021.) doi: <https://doi.org/10.3390/foods10050923>
80. A. El Asli, A.I. Qatibi, Ethanol production from olive cake biomass sub-strate. *Bioprocess Biosyst Eng* 14(1):118–122, (2009.) doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s12257-008-0071-y>
81. H.A. Tayeh, N. Najami, C. Dosoretz, A. Tafesh, H. Azaizeh, Potential of bioethanol production from olive mill solid wastes. *Bioresour Technol* 152:24–30 (2014.) doi: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.10.102>
82. Q. Yao, G. He, X. Guo, Y. Hu, Y. Shen, X. Gou, Antioxidant activity of olive wine a by-product of olive mill wastewater. *Pharm Biol* 54(10):2276–2281, (2016.) doi: <https://doi.org/10.3109/13880209.2016.1153661>
83. A. De Leonardis, F. Masino, V. Macciola, G. Montevicchi, A. Antonelli, E. Marconi, A study on acetification process to produce olive vinegar from oil mill wastewaters. *Eur*

Food Res Technol 245(10):2123–2131, (2019.) doi:  
<https://link.springer.com/article/10.1007/s00217-019-03323-y>

84. *F. Rubio-Senent, G. Rodríguez-Gutiérrez, A. Lama-Muñoz, A. García, J. Fernán-dez-Bolaños*, Novel pectin present in new olive mill wastewater with similar emulsifying and better biological properties than citrus pectin. *Food Hydrocoll* 50:237–246, (2015.) doi:  
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.03.030>

85. *A. Apicella, G. Adiletta, M. Di Matteo, L. Incarnato*, Valorization of olive industry waste products for development of new eco sustainable, multilayer antioxidant packaging for food preservation, *Chem Eng Trans* 75:85–90, (2019.) doi:  
<https://doi.org/10.3303/CET1975015>

86. *M. Dourou, A. Kancelista, P. Juszczak, D. Sarris, S. Bellou, I.E. Triantaphyllidou, A. Rywinska, S. Papanikolaou, G. Aggelis*, Bioconversion of olive mill wastewater into high-added value products. *J Clean Prod* 139:957–969, (2016.)

87. *G. Bambalov, C. Israilides, S. Tanchev*, Alcohol fermentation in olive oil extraction effluents. *Biol Wastes* 27(1):71–75, (1989.) doi: [https://doi.org/10.1016/0269-7483\(89\)90032-3](https://doi.org/10.1016/0269-7483(89)90032-3)

88. *M.J. López, A. Ramos-Cormenzana*, Xanthan production from olive mill wastewaters. *Int Biodeterior Biodegradation* 38(3–4):263–270, (1996.) doi:  
[https://doi.org/10.1016/S0964-8305\(96\)00059-5](https://doi.org/10.1016/S0964-8305(96)00059-5)

89. *N. Gharsallah*, Production of single cell protein from olive mill waste water by yeasts. *Environ Technol* 14(4):391–395, (1993.)

90. *A. D'Annibale, G.G. Sermanni, F. Federici, M. Petruccioli*, Olive-mill wastewaters: a promising substrate for microbial lipase production. *Bioresour Technol* 97(15):1828–1833, (2006.)

91. *R. Romeo, A. De Bruno, V. Imeneo, A. Piscopo, M. Poiana*, Impact of stability of enriched oil with phenolic extract from olive mill wastewaters, *Foods* 9(7):856, (2020.) doi: <https://doi.org/10.3390/foods9070856>



92. S. *Esposito*, A. *Taticchi*, I. *Di Maio*, S. *Urbani*, G. *Veneziani*, R. *Selvaggini*, M. *Servili*, Effect of an olive phenolic extract on the quality of vegetable oils during frying, *Food Chem* 176:184–192, (2015.) doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.12.036>
93. C.M. *Galanakis*, P. *Tsatalas*, Z. *Charalambous*, I.M. *Galanakis*, Control of microbial growth in bakery products fortified with polyphenols recovered from olive mill wastewater, *Environ Technol Innov* 10:1–15, (2018.a)
94. C.M. *Galanakis*, P. *Tsatalas*, Z. *Charalambous*, I.M. *Galanakis*, Polyphenols recovered from olive mill wastewater as natural preservatives in extra virgin olive oils and refined olive kernel oils, *Environ Technol Innov* 10:62–70, (2018.b)
95. D. *Jimenez-Alvarez*, F. *Giuffrida*, P.A. *Golay*, C. *Cotting*, A. *Lardeau*, B.J. *Keely*, Antioxidant activity of oregano, parsley, and olive mill wastewaters in bulk oils and oil in water emulsions enriched in fish oil. *J Agric Food Chem* 56(16):7151–7159, (2008.) doi : <https://doi.org/10.1021/jf801154r>