



SKLADIŠČENJE OLJČNIH TROPIN

POROČILO O
CILJNORAZISKOVALNEM PROJEKTU
CRP V4-2216

Ohranjanje in izboljšanje proizvodnega potenciala tal
za trajnostno pridelavo oljk
GO-TO S-OIL



Univerza v Ljubljani
Biotehniška fakulteta



Skladiščenje oljčnih tropin

POROČILO O CILJNORAZISKOVALNEM PROJEKTU CRP V4-2216:

Ohranjanje in izboljšanje proizvodnega potenciala tal za trajnostno pridelavo oljk
GO-TO S-OIL

Naročnika:

Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano
Dunajska 22
1000 Ljubljana

Javna agencija za znanstvenoraziskovalno in inovacijsko dejavnost Republike Slovenije
Bleiweisova cesta 30
1000 Ljubljana



Koper, 2026

SKLADIŠČENJE OLJČNIH TROPIN

Poročilo o ciljnoraziskovalnem projektu CRP V4-2216

Avtorji besedila, vsebin in rezultatov: Maja Podgornik, Gašper Kozlovič, Jakob Fantinič, Rok Babič, Milena Bučar-Miklavčič

Inštitut za oljkarstvo, Znanstveno-raziskovalno središče Koper, Garibaldijeva ulica 1, 6000 Koper, Slovenija

Naziv projekta: CRP V4-2216 Ohranjanje in izboljšanje proizvodnega potenciala tal za trajnostno pridelavo oljk (GO-TO S-OIL)

Delovni sklop 4: Proučevanje vplivov skladiščenja oljčnih tropin in rastlinske vode na okolje

Vodja projekta: Maja Podgornik

Glavni urednik založbe: Tilen Glavina

Tehnični urednici: Maja Podgornik, Alenka Obid

Lektura: Nina Novak Kerbler

Oblikovanje naslovnice: Peter Florjančič

Založnik: Znanstveno-raziskovalno središče Koper, Annales ZRS

Za založnika: Rado Pišot

Spletna izdaja, dostopna na: <https://doi.org/10.35469/978-961-7276-10-7>

pod licenco CC-BY-NC-ND



Koper, 2026

Za vsebino dokumenta je odgovorno Znanstveno-raziskovalno središče Koper in v nobenem pogledu ne izraža stališče financerja.

Poročilo vsebuje podatke, ki so nastali v času izvajanja raziskovalnega projekta CRP V4-2216 Ohranjanje in izboljšanje proizvodnega potenciala tal za trajnostno pridelavo oljk (GO-TO S-OIL) in ne gre za zakonsko ali podzakonsko urejanje področja.

Katalogni zapis o publikaciji (CIP) pripravili v Narodni in univerzitetni knjižnici v Ljubljani

[COBISS.SI](https://cobiss.si)-ID [272412419](https://cobiss.si/272412419)

ISBN 978-961-7276-10-7 (PDF)

Povzetek

V Sloveniji, kjer oljarski sektor zaznamujejo majhne kmetije, razdrobljenost površin, omejeni finančni viri in pomanjkanje ustrezne infrastrukture za nadaljnjo obdelavo tropin, je bila neposredna uporaba oljčnih tropin na kmetijskih zemljiščih prepoznana kot tehnološko preprosta in ekonomsko sprejemljiva rešitev. V podporo neposredni uporabi (neposreden nanos) oljčnih tropin na kmetijskih zemljiščih je Vlada RS sprejela Uredbo o uporabi oljčnih tropin in rastlinske vode za gnojenje (Uradni list RS, št.10/22), ki dovoljuje uporabo tropin in rastlinske vode kot gnojilo samo v omejenem časovnem okviru – v povprečju največ sedem dni od njihovega nastanka. Če se oljčne tropine v predpisanem času ne uporabijo na kmetijski površini, se po veljavnih predpisih (Uredba o odpadkih, Uradni list RS, št. 184/15) ponovno obravnavajo kot odpadki. V praksi pa pogoste padavine, neugodne vremenske razmere ter razmočeni in spolzki tereni onemogočajo pravočasno uporabo tropin na kmetijskih površinah, kar oljarja postavlja pred nove finančne in okoljske izzive.

Številne raziskave so pokazale, da je glavna fenolna spojina oljčnih tropin hidroksitirozol. Hidroksitirozol je antioksidant z dokazanimi pozitivnimi učinki na zdravje ljudi, vendar pa visoke koncentracije v oljčnih tropinah zaradi fitotoksičnih učinkov (zaviranje rasti rastlin) in protimikrobnega delovanja (negativen vpliv na mikroorganizme) omejujejo neposredno uporabo oljčnih tropin v kmetijstvu.

Rezultati raziskave so pokazali, da imajo tropine iz predelanih oljk v Sloveniji z dvofaznim tehnološkim postopkom primerljivo vsebnost skupnih fenolnih spojin (2–8 g/kg mokrih tropin) s podatki iz preteklih študij (2–8 g/kg). Pri tem je treba poudariti, da je bila ugotovljena velika medletna variabilnost v vsebnosti fenolnih spojin, ki je posledica vpliva sorte oljk, tehnologije predelave, vremenskih razmer in agrotehničnih ukrepov. Pomembna variabilnost v vsebnosti in sestavi fenolnih spojin je bila ugotovljena tudi med skladiščenjem. V svežih oljčnih tropinah, odvzetih takoj po ločevanju olja od trdnih delcev in vode, so prevladovala kompleksnejše fenolne spojine, kot sta oleacein in verbaskozid, medtem ko se je med skladiščenjem povečala vsebnost razgradnih produktov, predvsem enostavnejših fenolnih spojin z največjim deležem hidroksitirozola. Najizrazitejše spremembe so bile zabeležene že v prvih sedmih dneh skladiščenja, ko je vsebnost hidroksitirozola narasla z 0,94 na 5,82 g/kg s.s., medtem ko se je vsebnost oleaceina močno zmanjšala s 6,03 na 0,21 g/kg s.s.). Dejstvo je, da so oksidativni, encimski in mikrobiološki procesi v času skladiščenja vplivali na razgradnjo kompleksnejših sekoiroidnih spojin v enostavnejše aromatske alkohole.

Zaradi omenjenega tveganja, ki lahko nastane pri neposrednem nanosu oljčnih tropin na tla, so države članice EU vzpostavile različne zakonodajne mehanizme, ki opredeljujejo način ravnanja (skladiščenja) in uporabe ostankov oljarske industrije na kmetijskih tleh. Zakonodajni okviri in regulativni ukrepi, ki urejajo uporabo oljčnih tropin, so običajno prilagojeni specifičnim regionalnim okoljskim in gospodarskim razmeram ter usklajeni z nacionalnim okoljevarstvenimi strategijami in organiziranostjo javne uprave. Neposredna implementacija zakonodaje iz drugih držav ni smiselna. Zakonodajni okvir je treba oblikovati v skladu z lokalnimi ekološkimi, agronomskimi in prostorskimi dejavniki, ob hkratnem upoštevanju količine nastalih tropin, potrebnih vlaganj v obdelavo ter dolgoročnih učinkov na okolje in agroekosisteme.

Abstract

In Slovenia, the olive-growing sector is characterised by small farms, fragmented land parcels, limited financial resources, and inadequate infrastructure for further processing of olive pomace.

Consequently, the direct application of olive pomace to agricultural land has been recognised as a technologically simple and economically viable solution. To support this practice, the Government of the Republic of Slovenia adopted the Decree on the Use of Olive Pomace and Vegetation Water for Fertilisation (Official Gazette RS, No. 10/22), which permits the use of pomace and vegetation water as fertiliser only within a restricted time frame – on average, no more than seven days after their production. If olive pomace is not applied to agricultural land within the prescribed period, it is again classified as waste under the applicable regulations (Waste Management Decree, Official Gazette RS, No. 184/15). In practice, however, frequent rainfall, unfavourable weather conditions, and waterlogged or slippery terrain often prevent the timely application of pomace to agricultural land, creating additional financial and environmental challenges for olive mills.

Numerous studies have shown that the predominant phenolic compound in olive pomace is hydroxytyrosol. Although hydroxytyrosol is a potent antioxidant with well-documented health benefits, its high concentrations in olive pomace limit its direct agricultural use due to phytotoxic effects (inhibition of plant growth) and antimicrobial activity (negative effects on soil microorganisms).

The findings of this study indicate that pomace derived from Slovenian two-phase extraction systems contains levels of total phenolic compounds (2–8 g/kg fresh pomace) comparable to those reported in previous research. Substantial year-to-year variability in phenolic content was observed, arising from differences in olive variety, processing technology, climatic conditions, and agronomic practices. Significant variability in both the content and composition of phenolic compounds was also recorded during storage. In fresh olive pomace collected immediately after oil separation, more complex phenolic compounds – such as oleacein and verbascoside – predominated, whereas during storage the content of degradation products increased, particularly simpler phenolics dominated by hydroxytyrosol. The most pronounced changes occurred within the first seven days of storage, during which hydroxytyrosol content increased from 0.94 to 5.82 g/kg DM, while oleacein sharply declined from 6.03 to 0.21 g/kg DM. These changes reflect oxidative, enzymatic, and microbiological degradation processes leading to the breakdown of complex secoiridoid compounds into simpler aromatic alcohols.

Due to the risks associated with the direct application of olive pomace to soils, EU Member States have established various legislative mechanisms that define the handling (including storage) and use of olive-processing residues on agricultural land. Legislative frameworks and regulatory measures governing the use of olive pomace are typically adapted to specific regional environmental and economic conditions and aligned with national environmental policies and administrative structures. Therefore, the direct implementation of legislation from other countries is not appropriate. Instead, regulatory frameworks should be designed according to local ecological, agronomic, and spatial factors, while also considering the quantities of pomace produced, the required investments in processing, and the long-term effects on the environment and agro-ecosystems.

1 Uvod

Oljčne tropine nastanejo kot ostanek pri predelavi oljk v oljčno olje (Uradni list RS, št. 10/2022). Sestavljene so iz trdega dela (kožica – eksokarp, meso – mezokarp, koščica – leseni endokarp), olja in vode, delež katere je odvisen od tehnološkega postopka predelave oljk (Abbattista in sod., 2021). Pri tradicionalnem tehnološkem postopku predelave (preše) nastanejo suhe oljčne tropine z 25–30 % vode in rastlinska voda. V primeru sodobnejše kontinuirane pridelave, pri kateri se za ločevanje oljčnega olja od trdega dela in vode uporablja dekanter, nastanejo oljčne tropine z večjo vsebnostjo vode, in sicer pri uporabi trofaznega dekanterja nastajajo vlažne oljčne tropine s 55 % vode in rastlinska voda, pri uporabi dvofaznega dekanterja pa mokre tropine s približno 70 % vode (Podgornik in sod., 2019).

Zastopanost tehnoloških postopkov po posameznih državah je zelo različna. Tehnološki postopki so različni v posameznih državah. Medtem ko se v Italiji (55 %), Grčiji (82 %), Tuniziji (58 %) in Turčiji (71 %) za ekstrakcijo oljčnega olja uporablja pretežno tehnološki postopek s trofaznim dekanterjem, se v Španiji kot največji proizvajalki oljčnega olja na svetu v kar 99 % uporablja sistem predelave z dvofaznim dekanterjem (Gómez-Cruz in sod., 2024). Tudi v Sloveniji se za ekstrakcijo oljčnega olja v večini oljarn uporablja tehnološki postopek z dvofaznim dekanterjem (Podgornik in sod., 2022). Dvofazni sistem je bil uveden za zmanjšanje porabe vode v procesu predelave in s tem manjše količine odpadne vode, ki nastaja v postopku predelave (Gómez-Cruz in sod., 2024). Čeprav je tehnološki postopek pridobivanja oljčnega olja z dvofaznim dekanterjem okolju prijaznejši, so tropine zaradi sezonske narave (velike količine nastajajo v obdobju 3–4 mesecev) in visoke vsebnosti fenolnih spojin še vedno pomemben okoljski izziv. Dokazano je, da oljčne tropine, pridobljene v sistemu z dvofaznim dekanterjem, vsebujejo višje koncentracije fenolnih spojin v primerjavi z oljčnimi tropinami, pridobljenimi v sistemu s trifaznimi dekanterji (Fernández-Bolaños in sod., 2006; Leouifoudi in sod., 2015).

Številne raziskave (Fernández-Bolaños in sod., 2002a, Japón-Luján in Luque de Castro, 2007; Rubio-Senent in sod., 2012, Podgornik in sod. 2022) so pokazale, da je glavna fenolna spojina oljčnih tropin hidroksitirozol, ki je naravni antioksidant z dokazanimi pozitivnimi učinki na zdravje ljudi (Fernandez-Bolanos in sod., 2002 b). Na podlagi splošno sprejetih znanstvenih dokazov o pozitivnih učinkih oljčnih fenolnih spojin na zdravje je Evropska unija odobrila uporabo zdravstvene trditve. V skladu z Uredbo (EU) št. 432/2012 z dne 16. maja 2012 je dovoljeno navajati, da »polifenoli v oljčnem olju prispevajo k zaščiti lipidov v krvi pred oksidativnim stresom«, če oljčno olje vsebuje vsaj 5 mg hidroksitirozola in njegovih derivatov (npr. kompleks olevopeina in tirozola) na 20 gramov oljčnega olja. Fenolne spojine se zaradi antioksidativnega, protibakterijskega in protivnetnega delovanja s pridom uporabljajo v prehranski in kozmetični industriji. Kljub vsemu pa visoke koncentracije fenolnih spojin v oljčnih tropinah zaradi fitotoksičnih učinkov (zaviranje rasti rastlin) in antimikrobnega delovanja (negativen vpliv na mikroorganizme) omejujejo neposredno uporabo oljčnih tropin v kmetijstvu (Fiorentino in sod., 2003; Pinho in sod., 2017).

Zaradi velikih okoljskih tveganj, ki jih visoke koncentracije fenolnih spojin prinašajo za okolje in naravne ekosisteme, so bili kot mogoče rešitve za obdelavo oljčnih tropin iz sistemov z dvofaznimi dekanterji predlagani različni postopki obdelave (veliki odprti izparilni bazeni za začasno skladiščenje oljčnih tropin, toplotna obdelava oziroma sušenje in ekstrakcija preostalega olja s topilom, uporaba tropin kot naravni herbicid ali insekticid, ekstrakcija fenolnih spojin za nadaljnjo uporabo, uporaba tropin za pridobivanje bioetanola in bioplina, kompostiranje) (Skaltsounis in sod., 2015). Med navedenimi velja kompostiranje za eno izmed najbolj priporočenih bioloških metod za obdelavo oljčnih tropin, saj omogoča hitrejšo razgradnjo fenolnih spojin (García-Randez in sod., 2023). Pri tem

je treba poudariti, da učinkovito kompostiranje zahteva ustrezno infrastrukturo, prostorske zmogljivosti, tehnično znanje ter zadostne organizacijske in finančne vire ob hkratnem upoštevanju predpisov, ki urejajo predelavo biološko razgradljivih odpadkov in uporabo komposta ali digestata (Uradni list RS, št. 99/13, 56/15, 56/18 in 44/22 – ZVO-2). To pa je lahko za marsikatero mikro- in malo podjetje v oljarskem sektorju pomembna časovna in ekonomska ovira (García-Randez in sod., 2023). V sled temu so bile narejene številne raziskave (Nasini in sod., 2013; Proietti in sod., 2015; Podgornik in sod., 2022; García-Randez in sod., 2023), ki so pokazale, da lahko tudi neposredna uporaba (neposreden nanos) oljčnih tropin na kmetijskih zemljiščih pozitivno vpliva na rodovitnost tal, če so ob uporabi zagotovljeni ustrezni pogoji in upoštevane stroge količinske omejitve nanosa.

Zaradi okoljskih tveganj in količinskih omejitev uporabe oljčnih tropin na kmetijskih zemljiščih so bile države proizvajalke oljčnega olja primorane v okviru lastnih okoljskih politik oblikovati zakonodajne okvire za ravnanje z oljčnimi tropinami. Med državami članicami Evropske unije se zakonodajni okviri uporabe oljčnih tropin močno razlikujejo, saj so ti odvisni od nacionalnih praks, razpoložljivih tehnologij za predelavo oljk in proizvodnjo stranskih produktov, lokalnih agroekoloških razmer, prostorske porazdelitve oljarske dejavnosti ter institucionalnih zmogljivosti za nadzor in izvajanje okoljskih predpisov.

V Sloveniji, kjer oljarski sektor zaznamujejo majhna posestna struktura, razdrobljenost kmetijskih površin, omejeni investicijski viri in pomanjkanje ustrezne tehnične infrastrukture za nadaljnjo predelavo oljčnih tropin, je bila neposredna uporaba oljčnih tropin na kmetijskih zemljiščih prepoznana kot tehnološko preprosto in ekonomsko upravičen način ravnanja z ostanki predelave oljk. V podporo neposredni uporabi (neposreden nanos) oljčnih tropin na kmetijskih zemljiščih je vlada januarja 2022 sprejela Uredbo o uporabi oljčnih tropin in rastlinske vode za gnojenje (Uradni list RS, št.10/22), ki dovoljuje uporabo tropin in rastlinske vode kot gnojilo samo v omejenem časovnem okviru – v povprečju največ sedem dni od njihovega nastanka. Če se oljčne tropine v predpisanem času ne uporabijo na kmetijski površini, se po veljavnih predpisih (Uredba o odpadkih, Uradni list RS, št. 184/15) ponovno obravnavajo kot odpadki. V praksi pa je zaradi pogostih padavin, neugodnih vremenskih razmer ter razmočenih in spolzkih terenov pravočasna uporaba velikokrat onemogočena, kar postavlja oljarja pred nove finančne in okoljske izzive.

Zato je Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano v sodelovanju z Javno agencijo za znanstvenoraziskovalno in inovacijsko dejavnost Republike Slovenije (ARIS) novembra 2022 podprlo raziskovalni projekt CRP V4-2216 – Ohranjanje in izboljšanje proizvodnega potenciala tal za trajnostno pridelavo oljk (GO-TO S-OIL), v okviru katerega smo v delovnem sklopu 4 raziskovali vpliv skladiščenja na oljčne tropine in možnosti njihove uporabe tudi po daljšem obdobju shranjevanja.

2 Material in metode

2.1 Vpliv skladiščenja na vsebnost fenolnih spojin

2.1.1 Vzorčenje

Za proučevanje vpliva skladiščenja na vsebnost fenolnih spojin v oljčnih tropinah so bile v poskus skladiščenja vključene tri oljarne z območja slovenske Istre (Marezige, Krkavče, Šmarje), ki so po količinski predelavi med večjimi oljarnami. Za ločevanje oljčnega olja od trdega dela in vode uporabljajo oljarne tehnološki postopek kontinuirane pridelave oljk z dvofaznim dekanterjem, pri katerem nastajajo mokre oljčne tropine. Zaradi lažjega odvzema vzorcev je bil v vsaki izbrani oljarni nameščen 200-litrski nepropustni zabojnik z odzračevalniki, v katere so bili takoj po ločevanju olja od trdnih delcev in vode shranjene mokre oljčne tropine (slika 1).



Slika 1: Shranjevanje in vzorčenje oljčnih tropin 26. oktobra 2023

Spremljanje vsebnosti fenolnih spojin v shranjenih oljčnih tropinah je potekalo dve zaporedni leti. V letu 2022 so bile tropine v zabojnik shranjene 26. oktobra, v letu 2023 pa 6. novembra. Za določanje vsebnosti fenolnih spojin v mokrih oljčnih tropinah so bili vzorci odvzeti na sedem datumov (okvirno 0, 15, 45, 90, 180, 365 dni od začetka skladiščenja). V sezoni 2022/2023 so bila vzorčenja izvedena na te datume: 1. vzorčenje 26. 10. 2022; 2. vzorčenje 2. 11. 2022; 3. vzorčenje 10. 11. 2022; 4. vzorčenje 9. 12. 2022; 5. vzorčenje 30. 1. 2023; 6. vzorčenje 24. 4. 2023 in 7. vzorčenje 23. 10. 2023. V sezoni 2023/2024 pa so bila izvedena na te datume: 1. vzorčenje 6. 11. 2023; 2. vzorčenje 13. 11. 2023; 3. vzorčenje 21. 11. 2023; 4. vzorčenje 20. 12. 2023; 5. vzorčenje - 6. 2. 2024; 6. vzorčenje 7. 5. 2024; 7. vzorčenje 15. 11. 2024).

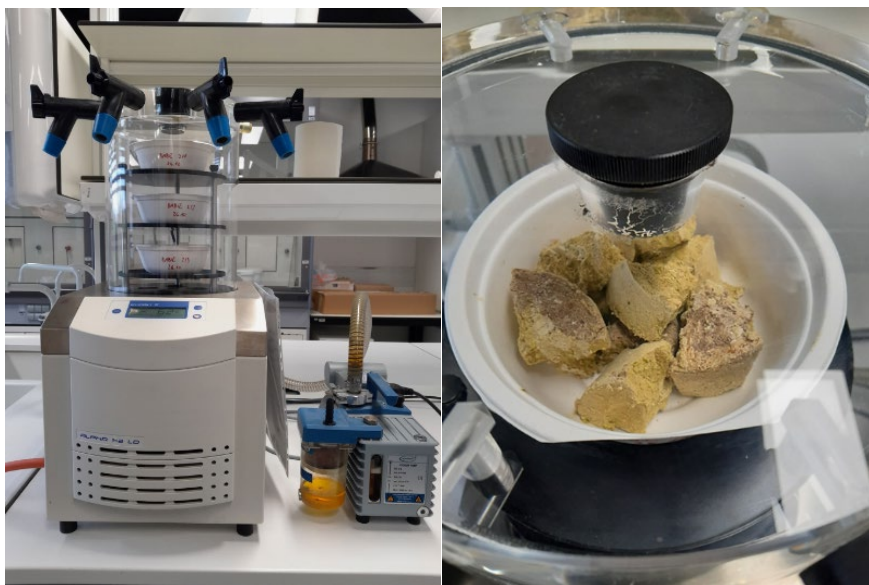
Pred vsakim izvedenim vzorčenjem so bile oljčne tropine premešane, da bi zagotovili čim večjo homogenost vzorčene mase. Homogenizaciji je sledil odvzem vzorca. V vsakem zabojniku smo na izbrane datume odvzeli 5 L vzorca oljčnih tropin (slika 2). Odvzeti vzorci (1 vzorec/oljarno) so bil nato v laboratoriju z mešalom ponovno homogenizirani. Za zagotovitev reprezentativnosti in ponovljivosti so bili iz vsakega osnovnega vzorca odvzeti trije podvzorci.



Slika 2: Odvzeti vzorci oljčnih tropin

2.1.2 Liofilizacija

Vzorci so bili nato do postopka liofilizacije shranjeni pri temperaturi $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ in pred postopkom liofilizacije zdrobljeni na manjše dele. Liofilizacija (slika 3) je potekala v laboratorijskem liofilizatorju Martin Christ ALPHA 1-2 LDplus. Liofilizacija je potekala kontinuirano vsaj 72 ur, dokler masa izbranega vzorca ni dosegla konstantne vrednosti. Po končani liofilizaciji so bile posušene tropine zdrobljene in do priprave ekstraktov hranjene v hladilniku pri temperaturi $6\text{ }^{\circ}\text{C}$.



Slika 3: Laboratorijski liofilizator Martin Christ ALPHA 1-2 LDplus in liofiliziran vzorec oljčnih tropin

2.1.3 Analiza vzorcev

Priprava standardov za umeritveno krivuljo

Osnovne kalibracijske raztopine tirozola, hidroksitirozola, luteolina, apigenina in olevropeina smo pripravili tako, da smo zatehtali približno 10 mg posameznega standarda z natančnostjo 0,01 mg v 10 mL merilno bučko in dopolnili do oznake z raztopino metanol/voda (80/20 v/v).

Osnovno kalibracijsko raztopino verbaskozida smo pripravili tako, da smo v 25-mililitrsko merilno bučko zatehtali 10 mg verbaskozida z natančnostjo 0,01 mg in dopolnili do oznake z raztopino metanol/voda (80/20 v/v).

Delovne kalibracijske raztopine smo pripravili z redčenjem osnovnih kalibracijskih raztopin. Za vsako kalibracijsko točko (KAL 1–KAL 5) smo v 10-mililitrsko merilno bučko odmerili ustrezen volumen osnovne kalibracijske raztopine in osnovne kalibracijske raztopine verbaskozida po spodnjem postopku:

- KAL 1: 0,1 mL osnovne kalibracijske raztopine + 0,25 mL osnovne kalibracijske raztopine verbaskozida,
- KAL 2: 0,5 mL osnovne kalibracijske raztopine + 1,25 mL osnovne kalibracijske raztopine verbaskozida,
- KAL 3: 1,0 mL osnovne kalibracijske raztopine + 2,5 mL osnovne kalibracijske raztopine verbaskozida,
- KAL 4: 2,0 mL osnovne kalibracijske raztopine + 5,0 mL osnovne kalibracijske raztopine verbaskozida,
- KAL 5: 5,0 mL osnovne kalibracijske raztopine.

Poleg kalibracijskih raztopin smo pripravili tudi kalibracijsko raztopino za hidroksitirozol z višjo koncentracijo. To smo pripravili tako, da smo v 10-mililitrsko merilno bučko zatehtali 20 -mg hidroksitirozola z natančnostjo 0,01 mg. Merilne bučke smo v vseh primerih dopolnili do 10 mL z raztopino metanol/voda (80/20, v/v). Za peto kalibracijsko točko verbaskozida smo uporabili kar osnovno kalibracijsko raztopino verbaskozida.

Na tekočinskem kromatografu smo injicirali po 20 µL posamezne kalibracijske raztopine.

Priprava vzorcev

V 100-mililitrsko erlenmajerico smo zatehtali 1 g uprašenega vzorca in ga 30 min ekstrahirali z 12 mL metanola na magnetnem mešalu pri 60 °C. Ohlajen vzorec smo prefiltrirali skozi filter papir modri trak v 100-mililitrsko bučko z okroglim dnom, erlenmajerico in filter pa smo spirali z metanolom. Prefiltriran ekstrakt v bučki smo do suhega posušili na rotavaporju (BÜCHI R-210 ali BÜCHI R-300) pri 40 °C. Posušen ostanek smo rekonstituirali z 2 mL raztopine metanol/voda (80/20 v/v). Ekstrakt vzorca smo prefiltrirali skozi Ø 13 mm ISO disc PVDF filter (0,45 µm) v 2-mililitrsko vialo.

HPLC-analiza

Za analizo fenolnih spojin smo uporabili visokotlačni tekočinski kromatograf Agilent 1260, opremljen z masnim spektrometrom s trojnim kvadrupolom Agilent 6420 (LC-MS/MS). V tropinah smo določili devet fenolnih spojin: hidroksitirozol glukozid, hidroksitirozol, salidrozd, tirozol, verbaskozid, luteolin-7-glukozid, oleacein, apigenin-7-glukozid, komselogozid, luteolin in apigenin. Določitev posameznih spojin je temeljila na primerjavi retencijskih časov in masnih fragmentov z ustreznimi standardi, če so bili ti na voljo.

Kvantifikacijo fenolnih spojin smo izvedli z uporabo zunanjih standardov. Za spojine, za katere standardi niso bili na voljo, in neassignirane fenolne spojine smo kvantifikacijo izvedli glede na hidroksitirozol.

Analize smo izvedli na tekočinskem kromatografu Agilent 1260 z diodnim detektorjem (DAD) na koloni Synergi 4u Hydro RP80A (H18-272538; KN18). Uporabljen elucijski gradient je bil voda/mravljična kislina (99,9:0,1, v/v) (A) in acetonitril/metanol/mravljična kislina (49,95:49,95:0,1, v/v) (B). Pretok je bil 1 mL/min. Uporabljena sta bila dva gradientna sistema, in sicer: 0 min 4 % B, 40 min 50 % B, 45 min 60 % B, 60 min 100 % B, 70 min 100 % B, 72 min 4 %. Po analizi je sledil 10-minutni postopek za uravnoteženje in izpiranje kolone. Temperatura kolone je bila nastavljena na 20 °C, vbrizgani volumen za vsak vzorec pa je znašal 5 µL.

3 Rezultati in diskusija

3.1 Sestava fenolnih spojin v oljčnih tropinah

Oljčno olje vsebuje 98-99 % triacilglicerolov (maščob) in 1-2 % minornih spojin. Zastopanost minornih sestavin v oljčnem olju je odvisna od števila biosintetičnih reakcij, ki so povezane s podnebjem, sorto, padavinami, tlemi, agrotehničnimi ukrepi, zrelostjo plodov, načinom predelave in skladiščenjem. Prav zaradi vseh naštetih dejavnikov minorne sestavine niso vedno enako zastopane (Bučar-Miklavčič in sod., 2016).

Pomembnejše minorne sestavine so: steroli (fitosteroli); vitamin E (alfa-tokoferol), hlapne in aromatske spojine in fenolne spojine (imenovane tudi biofenoli ali polifenoli) (Bučar-Miklavčič in sod., 2016 a; Obied in sod., 2007).

Med glavnimi fenolnimi spojinami, ki jih najdemo v plodovih oljk, so: fenolni alkoholi (hidroksitirozol, tirozol, salidrosid); sekoiridoidi (oleuropein, ligostrozid, oleokantal, oleacein, komselozid); flavonoidi v prosti ali glukoidni obliki (luteolin, apigenin); lignani (pinorezinol) in fenolne kisline (verbaskozid, kavna kislina, galna kislina) (Paz Otero in sod., 2021). Najpomembnejši med naštetimi so značilni samo za oljke, oljčne liste in oljčno olje.

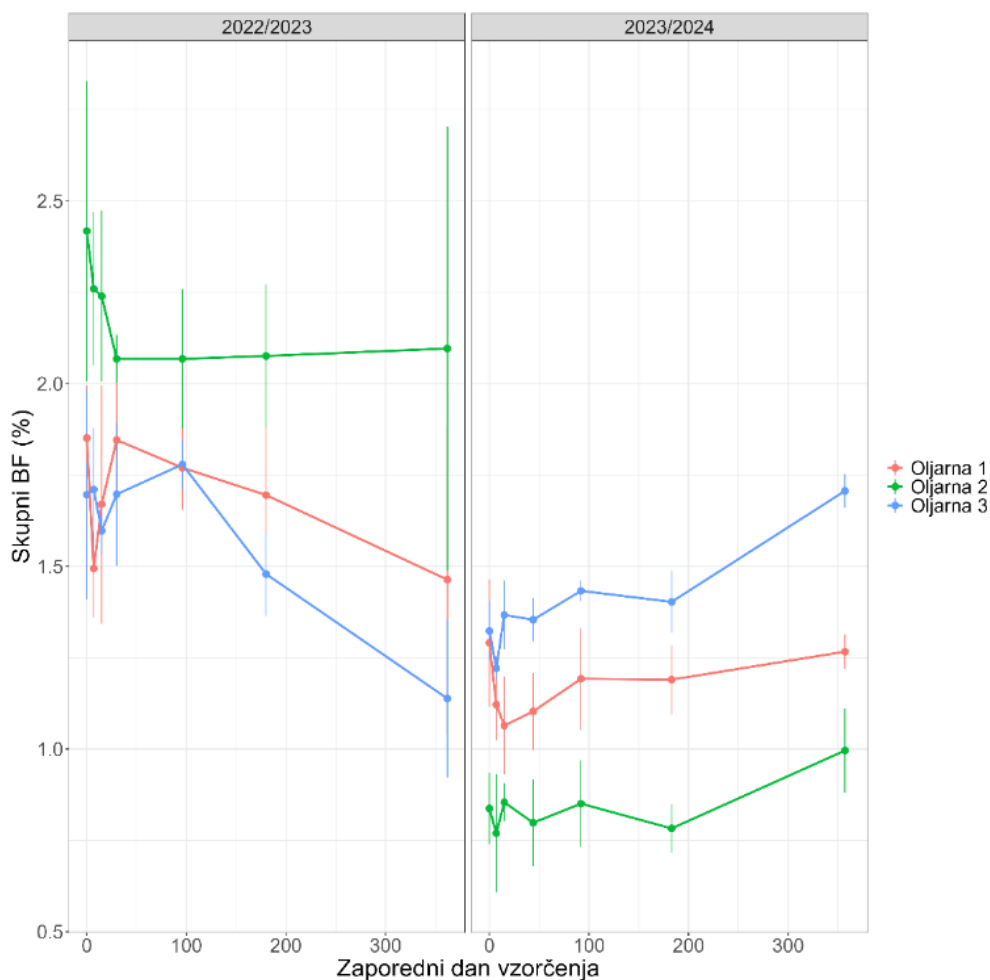
Pri mehanski predelavi oljk pride do poškodb plodov in celičnih struktur, kar sproži biokemično pretvorbo sekoiridoidnih spojin v derivate oleuropeina in ligstrozida. Ključno vlogo imajo pri tem endogeni encimi esterase in β -glukozidaze, ki pri optimalni temperaturi med 10 in 45 °C (odvisno od sorte oljk) katalizirajo hidrolizo sekoiridoidnih glikozidov (npr. oleuropeina in ligstrozida), kar vodi do nastanka njihovih aglikonskih oblik (oleuropein aglikona (O-Agl); ligstrozid aglikona (L-Agl)) (Romero-Segura in sod., 2009; Peres 2015). Nestabilni aglikoni se nato zaradi antioksidativnega razpada pretvorijo v stabilnejši obliki oleacein in oleokantal. Vse dokler sekoiridoidi ne zreagirajo do svojih končnih oblik, to je aromatskih alkoholov tirozola (nastane iz ligstrozida) in hidroksitirozola (nastane iz oleuropeina) (Bučar-Miklavčič in sod., 2016 a).

Skupni fenoli

Fenolne spojine so topne v vodi, zato se med ekstrakcijo oljčnega olja le manjši delež (1–2 %) prenese v oljno fazo, medtem ko večji (približno 98 %) ostane porazdeljen med vodno (53 %) in trdno (45 %) fazo (Rodis in sod., 2012). Delež fenolnih snovi in sestava sta močno odvisna od sorte oljk, porekla, podnebnih razmer, zorenja plodov, tehnologije pridelave in postopka predelave oljk (Obied in sod., 2008). Rezultati analize oljčnih tropin, odvzetih v treh izbranih oljarnah z območja slovenske Istre, kjer za ekstrakcijo olja uporabljajo tehnologijo z dvofaznimi dekanterji, so pokazali, da so se vrednosti vsebnosti skupnih fenolnih spojin v oljčnih tropinah, gibale med 6,77 g/kg s. s. (1,93 g/kg) in 26,55 g/kg s. s. (7,94 g/kg) (povprečje 14,62 g/kg s. s. oz. 3,72 g/kg) (preglednica 1). To je bilo ugotovljeno tudi v predhodni raziskavi, ki je bila na območju slovenske Istre izvedena leta 2018 v okviru projekta CRP V4-1621, kjer je bila analizirana fenolna sestava oljčnih tropin pri različnih tehnologijah predelave oljk (Podgornik in sod., 2019). Višje vsebnosti fenolnih spojin v oljčnih tropinah slovenske Istre je mogoče pripisati sorti 'Istrska Belica', saj je te sorte več kot 50 % vseh oljčnih dreves na tem območju (Register

kmetijskih gospodarstev, 2022) in ta slovi po visoki vsebnosti fenolnih spojin. V oljčnih oljih sorte 'Istrska belica' se vsebnost fenolnih spojin lahko giblje med 0,401 in 1,274 g/kg (Bučar-Miklavčič in sod., 2016 b; Podgornik in sod., 2023, Podgornik in sod., 2024). Na vsebnost fenolnih spojin v oljčnih tropinah pa gotovo vplivajo tudi tehnologija pridelave in vremenske razmere. To je razvidno tudi iz rezultatov, prikazanih na sliki 5, ki kažejo izrazito medletno nihanje vsebnosti fenolnih spojin v oljčnih tropinah. V letu 2022, ko smo beležili ekstremno sušo in je skupno padlo pol manj padavin (669 mm) kot v letu 2023 (1188 mm) so bile vsebnosti skupnih fenolov v oljčnih tropinah izrazito višje (Podgornik in sod., 2024). Sušni stres je v letu 2022 vplival na večjo dejavnost antioksidativnih encimov in kopičenje fenolnih spojin (Dias in sod., 2019; Tomažič, 2019). Zaradi tega so bile v oljčnih oljih sorte 'Istrska belica' v letu 2022 izmerjene izjemno visoke koncentracije skupnih biofenolov 0,784–1,274 g/kg, medtem ko so bile v letu 2023 te znatno nižje (0,431–0,902 g/kg) (Podgornik in sod., 2024).

Rezultati spremljanja dinamike fenolnih spojin v oljčnih tropinah so pokazali, da se skupna vsebnost fenolov med skladiščenjem spreminja (slika 4). Zmanjšanje vsebnosti skupnih fenolnih spojin je mogoče pripisati oksidativni in mikrobni razgradnji fenolnih spojin, ki je odvisna od vpliva svetlobe, temperature, kislin, baz in encimov (Johnson in Mitchell, 2018; Ramírez in sod., 2022 – hrvaška diploma), sicer pa lahko razgradnja celičnih struktur vpliva na povečano vsebnost fenolnih spojin v analiziranemu ekstraktu.



Slika 4: Dinamika vsebnosti skupnih fenolnih spojin v oljčnih tropinah v času skladiščenja

Preglednica 1: Primerjalna preglednica značilnosti oljčnih tropin takoj po predelavi in po 365 dneh skladiščenja (CS – potrjene na osnovi standarda, MS – potrjene na osnovi masnega spektra)

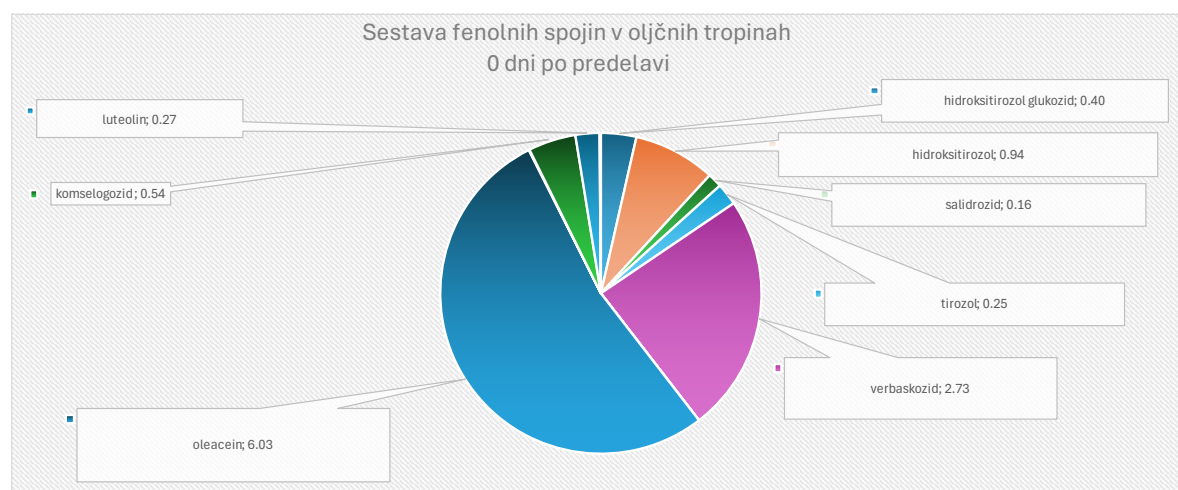
Parameter (na suho snov)			Sestava tropin – 2-fazni dekanterji (Podgornik in sod., 2022)		Sestava tropin – 2-fazni dekanterji – 0 dni po predelavi oljk		Sestava tropin – 2-fazni dekanterji – 365 dni po predelavi oljk	
			povprečje (g/kg)	interval (g/kg)	povprečje (g/kg)	interval (g/kg)	povprečje (g/kg)	interval (g/kg)
asignirane (znane) fenolne spojine)	fenilni alkoholi	hidroksitirozol glukozid (MS)	0,44	0,14–0,97	0,40	0,22–0,71	0,11	0,06–0,17
		hidroksitirozol	3,20	0,15–8,51	0,94	0,50–1,85	5,83	2,00–9,16
		salidrozyd			0,16	0,08–0,40	0,78	0,17–2,29
		tirozol	0,53	0,18–0,96	0,25	0,11–0,38	1,27	0,62–1,80
	feniletanoidni glukozidi	verbaskozid	2,43	0,08–8,37	2,73	0,23–3,62	0,31	0,01–1,08
	Flavonoidi	luteolin-7-glukozid	0,34	0,09–0,90	0,00	0,00–0,01	0,01	0,00–0,02
		oleacein			6,03	0,35–11,56	0,20	0,01–0,49
		apigenin-7-glukozid			0,01	0,00–0,03	0,03	0,01–0,04
		komselozozid			0,54	0,23–0,86	0,16	0,02–0,22
		luteolin	0,71	0,31–1,37	0,27	0,10–0,40	0,26	0,13–0,39
		apigenin	0,11	0,06–0,18	0,02	0,00–0,03	0,03	0,00–0,04
skupne asignirane (znane) fenolne spojine			6,77	1,39–0,01	11,36	3,33–17,77	8,99	4,36–13,47
skupne neasignirane (neidentificirane) fenolne spojine, izražene kot hidroksitrozol tirozol			12,52	3,33–25,39	6,57	4,48–8,78	6,80	4,31–10,28
skupne fenolne spojine			17,60	5,41–36,07	17,93	7,81–26,55	15,79	9,35–23,74

Sestava fenolnih spojin

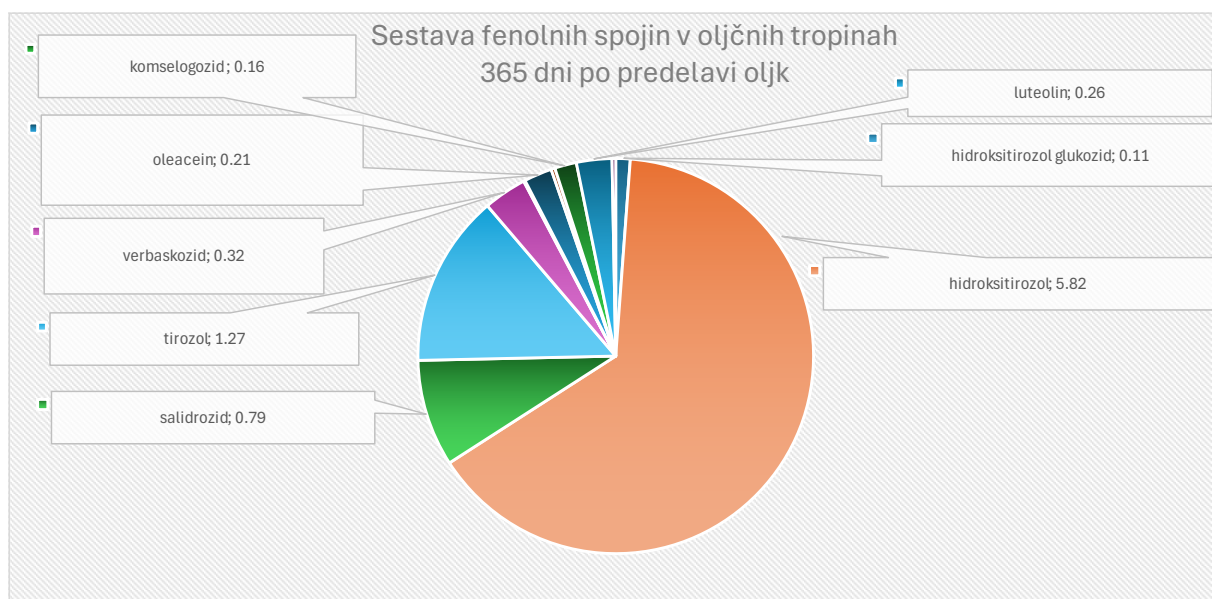
Pri predhodno izvedeni raziskavi v okviru projekta CRP V4-1621 (Podgornik in sod. 2022) je bilo ugotovljeno, da v oljčnih tropinah, pridobljenih s sistemom predelave z 2-faznim dekanterjem, med fenolnimi spojinami prevladujeta hidroksitirozol (0,148–8,505 g/kg s. s.) in verbaskozid (preglednica 1). V oljčnih tropinah iz sistema predelave z 2-faznim dekanterjem so bile ugotovljene tudi druge fenolne spojine, kot so hidroksitirozol glukozid, tirozol glukozid, tirozol, luteolin-7-O-glukozid, luteolin in apigenin, vendar v znatno manjših koncentracijah. Rezultati raziskave so delno primerljivi s številnimi drugimi raziskavami (Japón-Luján in Luque de Castro, 2007; Rubio-Senent in sod., 2012), v katerih je bilo ugotovljeno, da je hidroksitirozol (1,624 in 2,872 g/kg s. s.) glavna fenolna spojina oljčnih tropin. Oljčne tropine iz slovenske Istre se v primerjavi z oljčnimi tropinami iz drugih raziskav razlikujejo po višji vsebnosti verbaskozida, ki najverjetneje izhaja iz stopnje (ne)zrelosti predelanih oljk in različne vsebnosti rastlinske vode v oljčnih tropinah.

Pri tem je treba poudariti, da so imele oljčne tropine, vzorčene v sezoni 2022 in 2023 v treh izbranih oljarnah iz slovenske Istre, takoj po ločevanju olja od trdnih delcev in vode drugačno zastopanost fenolnih spojin. V sveže odvzetih vzorcih oljčnih tropin iz dvofaznega sistema sta količinsko prevladovala oleacein (53%) in verbaskozid (24 %) (sliki 5 in 6). Kljub vsemu pa se je po letu dni skladiščenja sestava fenolnih spojin v oljčnih tropin izrazito spremenila in se količinsko približala tisti, ki je bila ugotovljena v predhodni raziskavi projekta CRP V4-1621 (Podgornik in sod., 2019).

Analiza je pokazala, da se je vsebnost hidroksitirozola (z 0,94 na 5,82 g/kg s.s.), tirozola (z 0,25 na 1,27 g/kg s.s.) in salidrozida (z 0,16 na 0,79 g/kg s.s.) močno povečala, medtem ko se je vsebnost oleoceina (s 6,03 na 0,21 g/kg s.s.) in hidroksitirozol glukozida (s 0,40 na 0,11 g/kg s.s.) močno zmanjšala (sliki 6 in 7). S skladiščenjem se je zmanjšala tudi vsebnost verbaskozida in komselozozida. Izrazito zmanjšanje vsebnosti oleoceina in povečanje hidroksitirozola je najverjetneje posledica delovanja endogenih encimov esteraze in β -glukozidaze, ki so kompleksne fenolne spojin razgradili v enostavnejše produkte, kot je hidroksitirozol (sliki 6 in 7).

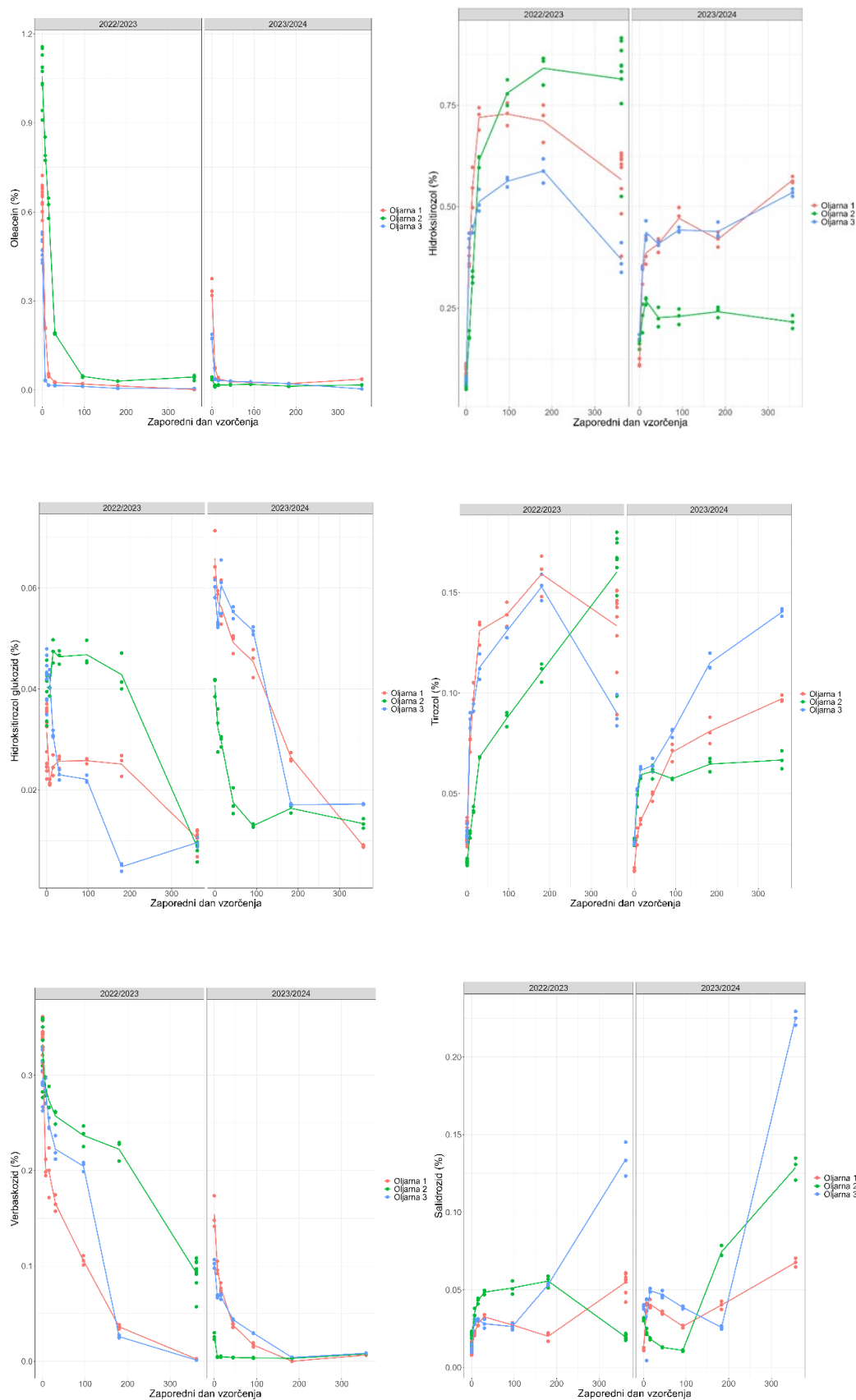


Slika 5: Sestava fenolnih spojin v oljčnih tropinah v mg/kg s.s. 0 dni po predelavi oljk



Slika 6: Sestava fenolnih spojin v oljčnih tropinah v mg/kg s.s. 365 dni po predelavi oljk

Najizrazitejše spremembe v koncentracijah prevladujočih fenolnih spojin (oleaceina v začetku skladiščenja in hidroksitirozola ob koncu skladiščenja) so bile ugotovljene v prvih sedmih dneh skladiščenja oljčnih tropin. Vsebnost oleaceina se je v prvem tednu skladiščenja v letu 2022 zmanjšala za 51,05 % in sicer s 7,13 na 3,49 g/kg s. s. Do konca 365-dnevnega skladiščenja se je koncentracija znižala na samo 0,203 g/kg s. s. Podoben trend zmanjševanja vsebnosti oleaceina smo zabeležili tudi v letu 2023, ko se je začetna koncentracija 1,86 g/kg s. s. po sedmih dneh skladiščenja zmanjšala na 0,414 g/kg s. s. oziroma za 77,74 % in po končanem skladiščenju dosegla vsebnosti, nižje od 0,191 g/kg s. s. (slika 7). Nasprotno pa se je koncentracija hidroksitirozola v času skladiščenja znatno povečala. V letu 2022 so je vsebnost hidroksitirozola z 0,79 g/kg s. s. po sedmih dneh skladiščenja povzpela na 3,20 g/kg s. s. in ob koncu skladiščenja dosegla vrednost 6,45 g/kg s. s. V letu 2023, ko smo zaradi velikega napada oljčne muhe in zaradi tega velike poškodovanosti plodov, ki je vplivala na aktivacijo β -glukozidaze in razgradnjo olevropeina (Peres, 2015) še pred predelavo oljk, beležili nekoliko višje začetne koncentracije hidroksitirozola (1,52 g/kg s. s.), pa so se po sedmih dneh skladiščenja vrednosti dvignile na 3,00 g/kg s. s. in ob koncu skladiščenja dosegle 4,38 g/kg s. s. (slika 7). Povečanje vsebnosti hidroksitirozola v času skladiščenjem so potrdili tudi Fekia in sod. (2006), ki so proučevali vpliv skladiščenja odpadne vode iz predelave oljk na vsebnost hidroksitirozola. Ugotovili so, da je vsebnost hidroksitirozola narasla z 0,98 na 3,5 g/L. Povečanje vsebnosti hidroksitirozola med skladiščenjem oljčnih tropin in odpadne vode lahko ob neposrednem nanosu na tla poveča okoljsko tveganje zaradi antimikrobnih in fitotoksičnih učinkov. Hkrati lahko negativno vpliva tudi na vodne organizme, saj je dokazano, da se riba gambuzija (*Gambusia affinis*) in vodna bolha (*Daphnia magna*) lahko zastrupita že po 15-minutni izpostavljenosti derivatom fenolnih spojin pri koncentraciji 0,04 g/L (Angus, 1983. Mekki in sod., 2007).



Slika 7: Dinamika vsebnosti oleaceina (%), hidroksitirozola (%), hidroksitirozol glukozida (%), tirozola (%), verbaskozida (%) in salidrozida (%) v oljnih tropinah v času enoletnega skladiščenja

Zakonodaja

Zaradi zgoraj omenjenih okolijskih tveganj in količinskih omejitev uporabe oljčnih tropin na kmetijskih zemljiščih so bile države proizvajalke oljčnega olja primorane v okviru svojih okoljskih politik oblikovati zakonodajne okvire za ravnanje z oljčnimi tropinami.

V Sloveniji je bila leta 2015 sprejeta Uredba o odpadkih (Uradni list RS, št. 184/15), s katero so bili med odpadke uvrščeni tudi stranski produkti oljkarstva. V letu 2022 je Vlada RS sprejela Uredbo o uporabi oljčnih tropin in rastlinske vode za gnojenje (Uradni list RS, št.10/22), v kateri je določeno, da so oljčne tropine in rastlinska voda organsko gnojilo, če se za gnojenje uporabijo najpozneje v 24 urah od njihovega nastanka oziroma če je od začetka polnjenja skladišča oziroma od vsakega predhodnega popolnega praznjenja skladišča preteklo največ štirinajst dni. Če se skladišče popolnoma ne izprazni v 14 dneh, te oljčne tropine in rastlinska voda postanejo odpadki, ki se mora predelati v skladu s predpisom, ki ureja predelavo biološko razgradljivih odpadkov in uporabo komposta ali digestata.

Na Hrvaškem je sistem obravnave oljčnih tropin urejen z zakonom o ravnanju z odpadki (Zakon o gospodarenju odpadom, Narodne novine, št. 84/21 in 142/23 – Odluka USRH) in pravilnikom o ravnanju z odpadki (Pravilnik o gospodarenju odpadom, Narodne novine, št. 106/22), ki določa da se oljčne tropine lahko vpišejo v register stranskih proizvodov. Za vpis oljčnih tropin v register stranskih proizvodov je treba predložiti:

- kopijo pogodbe ali drugega dokumenta, ki ureja poslovni odnos med imetnikom oljčnih tropin in lastnikom kmetijskega zemljišča, na katerem se bodo te uporabljale, ali izjavo proizvajalca tropin o nameri, da jih bo uporabljal na svojem zemljišču;
- dokazilo o razpolaganju s kmetijskim zemljiščem;
- fizikalno-kemično analizo tropin iz akreditiranega laboratorija, v kateri so razvrščene kot gnojilo ali sredstvo za izboljšanje tal, opis in shemo tehnološkega postopka proizvodnje oljčnega olja in dokazilo o uporabi oljčnih tropin kot gnojila ali sredstva za izboljšanje tal v skladu s posebnim predpisom s področja kmetijstva (Ministarstvo poljoprivrede Republike Hrvatske, 2025)

V Španiji, kjer prevladuje predelava oljk z uporabo dvofaznih dekanterjev, kraljevi odlok 506/2013 (BOE, 2013 – Real Decreto 506/2013) dovoljuje uporabo oljčnih tropin na kmetijskih tleh za izboljšanje fizikalno-kemičnih lastnosti tal, samo če so te pred nanosom posušene ali predelane v kompost z zahtevano vsebnostjo hranil, vlage (največ 40%) in skupnih fenolnih spojin (0,8 % ali 8 g/kg) (BOE, 2022 – Orden TED/92/2022; BOE, 2013 – Real Decreto 506/2013).

Popolnoma drugačen sistem obravnave oljčnih tropin in vegetacijske vode imajo v Italiji, kjer prevladuje predelava oljk z uporabo trofaznih dekanterjev. Tam se na podlagi zakona o kmetijski uporabi vegetacijske vode in vlažnih tropin (Utilizzazione agronomica delle acque di vegetazione e delle sanse umide, št. 574, 11. november 1996) rastlinska voda in vlažne oljčne tropine, ki nastanejo pri mehanski predelavi oljk brez dodatkov, lahko nadzorovano uporabljajo kot naravno gnojilo za izboljšanje rodovitnosti in strukture tal na kmetijskih zemljiščih. Zakon zahteva, da mora zainteresirana stranka vsaj 30 dni pred uporabo predložiti strokovno poročilo o pedoloških, geomorfoloških in hidroloških lastnostih tal, okoljski ustreznosti lokacije, predvidenem času nanosa in tehnologiji razporejanja, kar zagotavlja preprečevanje onesnaženja. Omejitve glede raztrosa tropin so določene na nivoju lokalnih skupnosti v odvisnosti od tveganj onesnaževanja z vodami in drugimi okoljskimi dejavniki. S skladiščenjem rastlinskih voda in tropin je v nekaterih primerih omejeno na največ 30 dni v ustreznih silosih, cisternah ali zbiralnikih (podzemnih ali nadzemnih), ki so lahko nameščeni v oljarni

ali na drugih primernih mestih, s čimer se zagotavlja varnost okolja in preprečuje nastanek neprijetnih vonjav ali drugih okoljskih tveganj (Regione FVG, 2018).

4. Zaključki

Rezultati raziskave so pokazali, da imajotropine slovenskega porekla podobno vsebnost skupnih fenolnih spojin (2–8 g/kg), kar je primerljivo s podatki iz preteklih študij. Pri tem je treba poudariti, da je bila ugotovljena velika medletna variabilnost v vsebnosti fenolnih spojin, ki je neverjetneje posledica vpliva sorte oljk, tehnologije predelave, vremenskih razmer in agrotehničnih ukrepov. Pomembna variabilnost v vsebnosti in sestavi fenolnih spojin je bila ugotovljena tudi med skladiščenjem. V svežih oljčnih tropinah, odvzetih takoj po ločevanju olja od trdnih delcev in vode, so prevladovali kompleksnejše fenolne spojine kot sta oleacein in verbaskozid, medtem ko se je med skladiščenjem količinsko izrazito povečala vsebnost enostavnejših fenolnih spojin, predvsem hidroksitirozola. Najizrazitejše spremembe so bile zabeležene že v prvih sedmih dneh skladiščenja, ko je vsebnost hidroksitirozola narasla z 0,94 na 5,82 g/kg s.s., tirozola z 0,25 na 1,27 g/kg s.s., salidrozi z 0,16 na 0,79 g/kg s.s., medtem ko sta se vsebnosti oleaceina (s 6,03 na 0,21 g/kg s.s.) in hidroksitirozol glukozida (s 0,40 na 0,11 g/kg s.s.) močno zmanjšali. Dejstvo je, da so oksidativni, encimski in mikrobiološki procesi v času skladiščenja vplivali na razgradnjo kompleksnejših sekoiridnih spojin v enostavnejše aromatske alkohole.

Čeprav derivati hidroksitirozol in hidroksitirozol dokazano pozitivno učinkuje na zdravje ljudi, lahko povišana vsebnost tega v skladiščenih tropinah pomembno prispeva k povečanju okoljskega tveganja ob neposrednem nanosu na kmetijska zemljišča. Skupni fenoli imajo namreč dokazano antimikrobno in fitotoksično delovanje, ki lahko ob povišanih koncentracijah v tleh inhibira rast rastlin ter negativno vpliva na talne in vodne (mikro)organizme. Zaradi velikih okoljskih tveganj, ki lahko nastanejo pri neposrednem nanosu oljčnih tropin na tla, so države članice EU vzpostavile različne zakonodajne mehanizme, ki opredeljujejo način uporabe ostankov oljarske industrije na kmetijskih tleh.

Zakonodajni okviri in regulativni ukrepi, ki urejajo uporabo oljčnih tropin, so običajno prilagojeni specifičnim regionalnim okoljskim in gospodarskim razmeram ter usklajeni z nacionalnimi okoljevarstvenimi strategijami in organiziranostjo javne uprave. Neposredna implementacija zakonodaje iz drugih držav ni smiselna. Zakonodajni okvir je treba oblikovati v skladu z lokalnimi ekološkimi, agronomskimi in prostorskimi dejavniki, ob hkratnem upoštevanju količine nastalih tropin, potrebnih vlaganj v obdelavo ter dolgoročnih učinkov na okolje in agroekosisteme.

Pomembno je omejiti količine raztrosa od vodnih virov, količine tropin za raztros pa ovrednotiti glede na okoljske razmere v odvisnosti od vsebnosti skupnih fenolov (tako kot je primer v Španiji).

5. Zahvala

Avtorji se zahvaljujejo financerjem projekta (Javni agenciji za raziskovalno dejavnost, Ministrstvu za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano), oljarjem slovenske Istre, sodelavcem Inštituta za oljkarstvo ZRS Koper in vsem, ki so med letoma 2022 in 2025 kakor koli sodelovali pri izvedbi raziskave.

6. Literatura

Abbattista, R., Ventura, G., Calvano, C. D., Cataldi, T. R. I., in Losito, I. (2021). Untargeted lipidomic analysis of olive pomace by high-resolution mass spectrometry reveals new compounds. *Foods*, 10(6), 1236. <https://doi.org/10.3390/foods10061236>.

Angus, R. A. (1983). Phenol tolerance in populations of mosquito fish from polluted and non-polluted water. *Transactions of the American Fisheries Society*, 112, 794–799. [https://doi.org/10.1577/1548-8659\(1983\)112<794:PTIPOM>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8659(1983)112<794:PTIPOM>2.0.CO;2).

Boletín Oficial del Estado (BOE) (2022). Orden TED/92/2022, de 8 de febrero, por la que se determina la consideración como subproducto de los orujos grasos procedentes de almazara, cuando son destinados a la extracción de aceite de orujo de oliva crudo. Disponible en: <https://www.boe.es/buscar/act.php?id=BOE-A-2022-2328> (pristupljeno 2025).

Boletín Oficial del Estado (BOE) (2013). Real Decreto 506/2013, de 28 de junio, sobre productos fertilizantes [«BOE» núm. 164, de 10/07/2013, entrada en vigor 11/07/2013]. Ministerio de la Presidencia. Disponible en: <https://www.boe.es/eli/es/rd/2013/06/28/506/con> (pristupljeno 2025).

Bučar-Miklavčič, M., Bešter, E., Butinar, B., Čalijs, D., Podgornik, M., in Valenčič, V. (2016a). Oljčno olje, oljke in senzorično ocenjevanje. *Univerzitetna založba Annales*.

Bučar-Miklavčič, M., Golob, T., Valenčič, V., Bešter, E., Butinar, B., in Miklavčič Višnjevec, A. (2016b). Variations of phenolic compounds and sensory properties of virgin olive oils from the variety “Istrska belica”. *Acta IMEKO*, 5(1), 22–31. <https://www.imeko.org/index.php/acta-imeko/article/view/IMEKO-ACTA-05%20%282016%29-01-04>.

Dias, M. C., Figueiredo, C., Pinto, D., Freitas, H., Santos, C., in Silva, A. M. S. (2019). Heat shock and UV-B episodes modulate olive leaves lipophilic and phenolic metabolite profiles. *Industrial Crops and Products*, 133, 269–275.

Fekia, M., Allouche, N., Bouaziz, M., Gargoubi, A., in Sayadi, S. (2006). Effect of storage of olive mill wastewaters on hydroxytyrosol concentration. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 108. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200500348>.

Fernández-Bolaños, J., Rodríguez, G., Rodríguez, R., Heredia, A., Guillén, R., in Jiménez, A. (2002a). Production in large quantities of highly purified hydroxytyrosol from liquid-solid waste of two-phase olive oil processing or “alperujo”. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 6804–6811.

Fernández-Bolaños, J., Heredia, A., Rodríguez, G., Rodríguez, R., Guillén, R., in Jiménez, A. (2002b). Method for obtaining purified hydroxytyrosol from products and byproducts derived from the olive tree (Patent No. WO/2002/064537). World Intellectual Property Organization.

Fernández-Bolaños, J., Rodríguez, G., Rodríguez, R., Guillén, R., in Jiménez, A. (2006). Extraction of interesting organic compounds from olive oil waste. *Grasas y Aceites*, 57, 95–106.

Florentino, A., Gentili, A., Isidori, M., Monaco, P., Nardelli, A., Parrella, A., in Temussi, F. (2003). Environmental effects caused by olive mill wastewaters: toxicity comparison of low-molecular-weight phenol components. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 1005–1009.

García-Randez, A., Marks, E. A. N., Pérez-Murcia, M. D., Orden, L., Andreu-Rodriguez, J., Martínez Sabater, E., Cháfer, M. T., in Moral, R. (2023). Is the direct soil application of two-phase olive mill waste (alperujo) compatible with soil quality protection? *Agronomy*, 13, 2585. <https://doi.org/10.3390/agronomy13102585>.

Gómez-Cruz, I., Contreras, M. del M., Romero, I., in Castro, E. (2024). Towards the integral valorization of olive pomace-derived biomasses through biorefinery strategies. *ChemBioEng Reviews*, 11(2), 253–277.

Japón-Luján, R., in Luque de Castro, M. D. (2007). Static-dynamic superheated liquid extraction of hydroxytyrosol and other biophenols from alperujo (a semisolid residue of the olive oil industry). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 3629–3634.

Johnson, R. L., in Mitchell, A. E. (2018). Reducing phenolics related to bitterness in table olives. *Journal of Food Quality*, 2018, 1–12. <https://doi.org/10.1155/2018/2481621>.

Leouifoudi, I., Harnafi, H., in Ziad, A. (2015). Olive mill waste extracts: polyphenols content, antioxidant, and antimicrobial activities. *Advances in Pharmacological Sciences*, 2015, 714138. <https://doi.org/10.1155/2015/714138>.

Mekki, A., Dhouib, A., in Sayadi, S. (2007). Polyphenols dynamics and phytotoxicity in a soil amended by olive mill wastewaters. *Journal of Environmental Management*, 84(2), 134–140. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2006.05.003>.

Ministarstvo poljoprivrede Republike Hrvatske (n. d.). Uputa proizvođačima u sektoru maslinovog ulja i stolnih maslina. Dostupno na: <https://poljoprivreda.gov.hr/istaknute-teme/poljoprivreda-173/poljoprivreda-175/maslinarstvo/uputa-proizvodjacima-u-sektoru-maslinovog-ulja-i-stolnih-maslina/4299> (1. 6. 2025).

Narodne novine Republike Hrvatske (2021/2023). Zakon o gospodarenju otpadom [br. 84/21 i 142/23 – Odluka USRH].

Narodne novine Republike Hrvatske (2022). Pravilnik o gospodarenju otpadom [br. 106/22].

Nasini, L., Gigliotti, G., Balduccini, M., Federici, E., Cenci, G., in Proietti, P. (2013). Effect of solid olive-mill waste amendment on soil fertility and olive (*Olea europaea* L.) tree activity. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 164, 292–297.

Obied, H. K., Bedgood, D. R., Prenzler, P. D., in Robards, K. (2007). Chemical screening of olive biophenol extracts by hyphenated liquid chromatography. *Analytica Chimica Acta*, 603, 176–189.

Obied, H. K., Bedgood, D., Mailer, R., Prenzler, P. D., in Robards, K. (2008). Impact of cultivar, harvesting time, and seasonal variation on the content of biophenols in olive mill waste. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(19), 8851–8858. <https://doi.org/10.1021/jf801802k>

Paz Otero, P., Garcia-Oliveira, M., Carpena, M., Barral-Martinez, F., Chamorro, J., Echave, P., Garcia-Perez, P., Cao, H., Xiao, J., Simal-Gandara, J., in Prieto, M. A. (2021). Applications of by-products from the olive oil processing: Revalorization strategies based on target molecules and green extraction technologies. *Trends in Food Science & Technology*, 116, 1084–1104. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.09.007>.

Peres, F., Martins, L. L., in Ferreira-Dias, S. (2015). Influence of enzymes and technology on virgin olive oil composition. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(14), 3104–3126.

Pinho, I. A., Lopes, D. V., Martins, R. C., in Quina, M. J. (2017). Phytotoxicity assessment of olive mill solid wastes and the influence of phenolic compounds. *Chemosphere*, 185, 258–267.

Podgornik, M., Bučar-Miklavčič, M., Levart, A., Salobir, J., Rezar, V., Poklar Ulrih, N., in sod. (2019). Možnosti uporabe ostankov proizvodnje v oljarstvu: poročilo o ciljnoraziskovalnem projektu CRP V4-1621. Znanstveno-raziskovalno središče Koper.

Podgornik, M., Bučar-Miklavčič, M., Levart, A., Salobir, J., Rezar, V., in Butinar, B. (2022). Chemical characteristics of two-phase olive-mill waste and evaluation of their direct soil application in humid Mediterranean regions. *Agronomy*, 12(7), 1621. <https://doi.org/10.3390/agronomy12071621>.

Podgornik, M., Vesel, V., Bandelj, D., Butinar, B., Bešter, E., Bonin, E., in sod. (2024). Poročilo 2023 o izvajanju letnega programa dela javnih služb v oljkarstvu. Znanstveno-raziskovalno središče Koper. <https://doi.org/10.35469/978-961-7195-53-8>.

Proietti, P., Federici, E., Fidati, L., Scargetta, S., Massaccesi, L., Nasini, L., in sod. (2015). Effects of amendment with oil mill waste and its derived-compost on soil chemical and microbiological characteristics and olive (*Olea europaea* L.) productivity. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 207, 51–60.

Ramírez, E. M., Brenes, M., Romero, C., in Medina, E. (2022). Chemical and enzymatic characterization of leaves from Spanish table olive cultivars. *Foods*, 11(23), 3879. <https://doi.org/10.3390/foods11233879>.

Regione Autonoma Friuli Venezia Giulia, *Allegato 1 al DPR 0198-2018*, 2018, dostopno na: https://decreti.regione.fvg.it/Storage/2018_198/Allegato1%20al%20DPR%200198-2018.pdf.

Register kmetijskih gospodarstev (2022). Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano. <https://podatki.gov.si/dataset>.

Rodis, P. S., Karathanos, V. T., in Mantzavinou, A. (2012). Partitioning of olive oil antioxidants between oil and water phases. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 596–601.

Romero, C., Medina, E., Mateo, M. A., in Brenes, M. (2018). New by-products rich in bioactive substances from the olive oil mill processing. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98, 225–230.

Romero-Segura, C., Sanz, C., in Perez, A. G. (2009). Purification and characterization of an olive fruit β -glucosidase involved in the biosynthesis of virgin olive oil phenolics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(17), 7983–7988.

Rubio-Senent, F., Rodríguez-Gutiérrez, G., Lama-Muñoz, A., in Fernández-Bolaños, J. (2012). New phenolic compounds hydrothermally extracted from the olive oil byproduct alperujo and their antioxidative activities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 1175–1186.

Skaltsounis, A.-L., Argyropoulou, A., Aligiannis, N., in Xynos, N. (2015). Recovery of high added value compounds from olive tree products and olive processing byproducts. V D. Boskou (ur.), *Olive and olive oil bioactive constituents* (pp. 333–356). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-1-63067-041-2.50017-3>.

Uradni list Republike Slovenije (2002). Uredba o uporabi oljčnih tropin in rastlinske vode za gnojenje, 10, 339 (21. 1. 2002).

Uradni list Evropske unije (2012). Uredba (EU) št. 432/2012 z dne 16. maja 2012 o določitvi pozitivnega seznama zdravju koristnih prehranskih trditev na področju prehrane in zdravja, L 136, 25.5.2012, str. 1–40.

Uradni list Republike Slovenije (2013). Uredba o predelavi biološko razgradljivih odpadkov in uporabi komposta ali digestata, št. 99/13, 56/15, 56/18 in 44/22 – ZVO-2.

Tomažič, K. (2019). Vpliv postopkov ekstrakcije na vsebnost aktivnih učinkovin v ekstraktu iz oljčnih listov [diplomsko delo univerzitetnega študijskega programa I. stopnje]. Maribor. XI, 49 str., ilustr. Dostopno na: <https://dk.um.si/IzpisGradiva.php?lang=slv&id=74157>.

Zakon o novih pravilih za kmetijsko uporabo vegetacijske vode in vlažnih tropin iz oljarn – Utilizzazione agronomica delle acque di vegetazione e delle sanse umide (št. 574, 11. november 1996, veljavnost od 7. 7. 2019). Republika Italija.

