

Review of Technologies for Recovery and Removal of Phenolic Compounds from Olive Mill Wastewater

E. Asgarani^{1*}, F. Barati²

1,2- Associate Professor & M.Sc. Student of Microbial Biotechnology, Department of Biotechnology, Faculty of Biological Sciences, Alzahra University, Tehran, Iran.

*(Corresponding author Email: asgarani@gmail.com)

Received: 09-12-2017
Accepted: 02-09-2018

مروری بر روش‌های بازیابی و حذف ترکیبات فنولی از پساب واحدهای استحصال روغن زیتون

عزت عسگرانی^{۱*}، فرزانه براتی^۲

۲۰۱- به ترتیب دانشیار و دانشجوی کارشناسی‌ارشد بیوتکنولوژی میکروبی، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهرا، تهران.

*(نویسنده مسئول، (E-Mail: asgarani@gmail.com)

تاریخ دریافت: ۹۶/۰۹/۱۸

تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۶/۱۱

Abstract

Phenolic compounds are known to be environmentally dangerous pollutants. It is demonstrated that discharging them into environment causes an inhibitory effect on plant seed germination, plant growth, and microbial division. However, antioxidant properties of phenols, has persuaded researchers to recover these compounds from industrial wastes in the recent years. Olive mill wastewater is a rich source of phenolic compounds and its treatment for recovering these compounds is inevitable. It has been investigated that coupling these treatments with recovery of valuable reagents can compensate a large amount of costs. Nowadays, recovery of phenolic compounds from olive mill wastewater has attracted much attention due to its high added-value. Degradation of phenolic compounds can also produce high added-value materials. Biogas and compost are products from biological degradation processes. In this study physicochemical, biological, and combined processes for recovery and removal of phenolic compounds from olive mill wastewater are reviewed.

Keywords: Wastewater, Olive oil, Phenolic compounds, Recovery.

چکیده

رهایش ترکیبات فنولی در محیط زیست، با مهار جوانه‌زنی بذر و ممانعت از رویش گیاهان، همچنین جلوگیری از رشد میکروب‌ها، زندگی آن‌ها را با تهدید مواجه می‌کند. از طرفی ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی فنول‌ها سبب توجه هرچه بیشتر پژوهشگران به بازیابی این ترکیبات از پسماندهای صنعتی در سال‌های اخیر شده است. پساب واحدهای استحصال روغن زیتون یکی از منابع غنی از ترکیبات فنولی است و پاک‌سازی آن از این ترکیبات امری گریزناپذیر است. در صورتی که تصفیه پساب‌ها همراه با بازیابی و یا تولید مواد با ارزش باشد، بخشی مهمی از هزینه‌های تیمار پساب، قابل جبران است. امروزه بازیابی ترکیبات فنولی از فاضلاب واحدهای استحصال روغن زیتون به دلیل ارزش افزوده بالا، بسیار مورد توجه قرار گرفته است. تخریب ترکیبات فنولی نیز می‌تواند با ارزش افزوده همراه باشد. زیست‌گاز و کمپوست از جمله محصولات سودمند تولید شده طی فرایندهای تخریبی زیستی هستند. این مطالعه به مرور روش‌های فیزیکیوشیمیایی، زیستی و همچنین روش‌های ترکیبی مورد استفاده در تصفیه پساب واحدهای استحصال روغن زیتون از ترکیبات فنولی پرداخته است.

واژه‌های کلیدی: پساب، روغن زیتون، ترکیبات فنولی، بازیابی.

ترکیبات فنولی مسئول عملکردهای ساختمانی و حفاظتی در گیاهان هستند و در رنگ، سختی و تلخی میوه‌ها یا سبزیجات نقش دارند. در فرایند استحصال روغن زیتون این ترکیبات به دلیل تخریب ساختمان فیزیکی زیتون آزاد می‌شوند. همچنین برخی از فنول‌ها نیز حین فرایندهای استخراج تولید شده و وارد پساب این واحدها می‌شوند. غلظت ترکیبات فنولی در فاضلاب روغن زیتون در بازه ۰/۵ تا ۲۴ گرم بر لیتر تغییر می‌کند. از جمله ترکیبات فنولی موجود در فاضلاب ذکر شده می‌توان الکل‌های فنولی (مانند تایروزول و هیدروکسی‌تایروزول) و پلی‌فنول‌هایی مانند اسیدهای فنولی، لیگنین‌ها، فلاونوئیدها و تانن‌ها را نام برد (Paraskeva و Diamadopoulos، ۲۰۰۶؛ Rahmanian و همکاران، ۲۰۱۴؛ Soto و همکاران، ۲۰۱۱).

ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی فنول‌های موجود در پساب روغن زیتون، استفاده مجدد آن‌ها در صنایع دارویی، غذایی و آرایشی را مورد توجه قرار داده است. یکی از فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی این ترکیبات، توانایی آن‌ها برای گرفتن رادیکال‌های آزاد است. مطالعات درون‌جاندار^۱ نشان داده است این ترکیبات می‌توانند از اکسید شدن لیپوپروتئین‌های انسانی LDL که با بیماری سختی سرخرگ‌ها^۱ مرتبط است جلوگیری و همچنین تخریب اکسایشی DNA را محدود کنند. هیدروکسی‌تایروزول یکی از معدود مواد غذایی است که به‌خاطر توانایی آنتی‌اکسیدانی بالای خود، مورد تایید سازمان ایمنی مواد غذایی اروپا است (Rahmanian و همکاران، ۲۰۱۴). توانایی آنتی‌اکسیدانی هیدروکسی‌تایروزول در پلاسما و کبد رت‌ها و همچنین اثر محافظتی آن برای قلب به‌طور موفقیت‌آمیزی روی سلول‌های انسانی اثبات شده است (Casalino و همکاران، ۲۰۰۲؛ Leger و همکاران، ۲۰۰۰؛ Visioli و همکاران، ۲۰۰۱). این ویژگی‌ها محققان را به تلاش برای بازیابی ترکیبات ارزشمند فنولی از پساب روغن زیتون وادار ساخته است. با این وجود، ترکیبات فنولی به دلیل اثرات سمی برای گیاهان و میکروارگانیسم‌ها، در فهرست مواد سمی خطرناک اولویت‌دار سازمان حفاظت از محیط‌زیست قرار دارند. غلظت بالای ترکیبات فنولی در فاضلاب واحدهای استحصال روغن زیتون سبب تغییر رنگ نهرها و رودخانه‌ها، مهار جوانه‌زنی بذر، ممانعت از رویش گیاهان و جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌ها می‌شود بنابراین حذف فنول‌ها از این فاضلاب ضروری است (Sridevi و Lakshmi، ۲۰۰۹؛ Ntougias و همکاران، ۲۰۱۳؛ Rahmanian و همکاران، ۲۰۱۴). به‌منظور بازیابی یا حذف ترکیبات فنولی از این پساب، روش‌های فیزیکوشیمیایی، زیستی و همچنین روش‌های ترکیبی به‌کار گرفته شده است.

بازیابی و حذف فنول‌ها از پساب روغن زیتون

۱- روش‌های فیزیکوشیمیایی

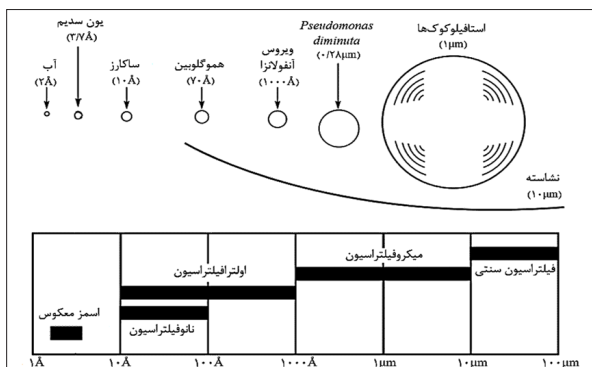
فرایندهای فیزیکی ساده‌مانند رقیق‌سازی، تبخیر، ته‌نشینی، فیلتراسیون و سانتریفیوژ برای تیمار پساب روغن زیتون مورد استفاده قرار گرفته

روغن زیتون به دلیل ارزش غذایی بالا، خواص دارویی و قابلیت استفاده در صنایع آرایشی و بهداشتی، از جمله محصولات است که روزبه‌روز بر تقاضای آن در بازار جهانی افزوده می‌شود. در پانزده سال گذشته، نزدیک به ۳۰ درصد رشد، در تولید جهانی روغن زیتون گزارش شده است. کشورهای حوزه مدیترانه به‌تنهایی ۹۷ درصد از کل تولید روغن زیتون جهان را به خود اختصاص داده‌اند. بزرگترین کشورهای تولیدکننده روغن زیتون به ترتیب اسپانیا، ایتالیا، یونان، ترکیه، تونس، پرتغال، مراکش و الجزایر هستند. علاوه بر این نواحی زیتون در خاورمیانه، ایالات متحده آمریکا، آرژانتین و استرالیا نیز کشت می‌شود. تولید روغن زیتون یک فعالیت اقتصادی بسیار مهم، به‌ویژه برای سه کشور اسپانیا، ایتالیا و یونان به حساب می‌آید (Morillo و همکاران، ۲۰۰۹؛ Paraskeva و Diamadopoulos، ۲۰۰۶).

سه سامانه شامل فشردن غیرپیوسته سنتی^۱، سانتریفیوژی دو فازی^۲ و سانتریفیوژی سه فازی^۳ برای استخراج روغن زیتون در مقیاس صنعتی استفاده می‌شود که امروزه اغلب دو روش آخر به‌کار گرفته می‌شود. فاز آبی خروجی از سامانه‌های سانتریفیوژی، پساب کارخانجات روغن زیتون^۴ نامیده می‌شود. فازهای تولید شده در سامانه سه فازی شامل روغن زیتون، پساب و کیک جامد^۵ می‌باشد. کیک جامد ترکیبی از پالپ و هسته‌های زیتون است که جهت استخراج روغن باقی‌مانده و روغن هسته به بخش‌های دیگر منتقل می‌شود. خروجی سامانه دو فازی، روغن زیتون و ضایعات نیمه‌جامد (آبکی) است که تحت عنوان ضایعات دو فازی^۶ شناخته می‌شود. فرایند غیرپیوسته، فاضلاب کمتر اما غلیظتر (به ازای هر ۱۰۰۰ kg زیتون ۱۰۰/۵ مترمکعب) نسبت به فرایندهای سانتریفیوژی (به ازای هر ۱۰۰۰ kg زیتون ۱/۵-۱ مترمکعب) تولید می‌کند. تولید سالانه پساب کارخانجات روغن زیتون جهان ۱۰ تا ۳۰ میلیون مترمکعب برآورد شده است که به دلیل مصرف آب بیشتر در مرحله تهیه خمیر زیتون در فرایند سه فازی، مایع خروجی این سامانه نسبت به دو فازی بیشتر است.

بسته به عوامل بسیاری از جمله نوع، بلوغ و خاستگاه زیتون، شرایط آب‌وهوایی، شیوه‌های کشت یا پردازش و روش استخراج روغن زیتون، ویژگی‌ها و درصد ترکیبات پساب کارخانجات روغن زیتون متغیر است. این پساب حاوی ۸۳-۹۴٪ آب، ۴-۱۸٪ مواد آلی (شامل کربوهیدرات، لیپید، ترکیبات فنولی، پروتئین‌ها و ...) ۰/۴-۲/۵٪ مواد غیرآلی می‌باشد. مقادیر اکسیژن مورد نیاز بیوشیمیایی (BOD)^۷ و شیمیایی (COD)^۸ و مواد جامد معلق به ترتیب در محدوده‌های ۳۵-۱۱۰، ۴۵-۱۷۰، ۱-۹ گرم بر لیتر می‌باشد. پساب روغن زیتون دارای محتوای آلی و نسبت کربن به نیتروژن بالا است. درصد بالایی از ترکیبات آلی موجود در این پساب را ترکیبات فنولی تشکیل می‌دهند (Hamdi، ۱۹۹۶؛ Morillo و همکاران، ۲۰۰۹؛ Ntougias و همکاران، ۲۰۱۳؛ Paraskeva و Diamadopoulos، ۲۰۰۶؛ Rahmanian و همکاران، ۲۰۱۴).

تکنیک‌های غشایی با سایر تکنیک‌ها باعث بهبود در مصرف انرژی، کاهش هزینه و اندازه تجهیزات، کاهش آلودگی محیط زیست و سهولت جداسازی مواد می‌شود (Gebreyohannes و همکاران، ۲۰۱۶) که در روش‌های ترکیبی نیز می‌گنجد.



شکل ۱- متوسط قطر منافذ غشایی و اندازه نسبی حل‌شونده‌های مختلف (Baker, ۲۰۰۴).

با استفاده از یک طرح پیوسته شامل میکروفیلتراسیون، نانوفیلتراسیون، تقطیر اسمزی^{۱۳} و تقطیر غشایی تحت خلا^{۱۴} به منظور بازیافت، تخلیص و تغلیظ پلی‌فنول‌ها از فاضلاب کارخانجات روغن زیتون، ۷۸٪ از محتوای اولیه پلی‌فنول‌ها بازیابی شده است (Garcia-Castello و همکاران، ۲۰۱۰). مطالعه دیگری با استفاده از اولترافیلتراسیون تشدید می‌سلی^{۱۵} در حضور یک ماده فعال سطحی^{۱۶} آبیونی (نمک سدیم دودسیل سولفات با $\text{pH} < 2$) و یک غشا آب‌گریز پلی‌وینیلیدین‌فلوراید منجر به کاهش ۸۸ درصدی تیرگی پساب روغن زیتون از طریق خارج ساختن ۷۴٪ از پلی‌فنول‌ها شده است (El-Abbassi و همکاران، ۲۰۱۱). تاکنون درباره استفاده از فرایندهای غشایی برای بازیابی ترکیبات پلی‌فنولی در مقیاس‌های نیمه‌صنعتی یا آزمایشگاهی اطلاعات زیادی منتشر شده است. در یک تلاش صنعتی، کارخانه Rapanelli S.p.A بر روی بازیابی ترکیبات پلی‌فنولی از پساب روغن زیتون و افزودن ترکیبات آنتی‌اکسیدان به روغن زیتون و به منظور غنی‌سازی آن هدف‌گذاری کرده است. این کارخانه پس از تیمار آنزیمی، یک طرح پیوسته از غشاها شامل میکروفیلتراسیون، اولترافیلتراسیون و اسمز معکوس به کار گرفته است. این طرح غشایی سه مرحله‌ای کاهش ۲۰-۲۵ درصدی حجم پساب و حذف ۹۸ درصدی COD را در پی داشته است. پلی‌فنل‌های بازیابی شده ۲۷-۴۴٪ محتوای فنولی بالاتر به روغن زیتون بخشیده است (Servili و همکاران، ۲۰۱۱).

۲-۱-۲ جذب سطحی

فرایند جذب سطحی قادر به جداسازی گزینش‌پذیر ترکیبات از محلول‌ها است. در مقایسه با فناوری‌های دیگر، جذب سطحی به دلیل سادگی طراحی، اجرا و افزایش مقیاس، همچنین ظرفیت بالا، سرعت مناسب، سهولت بازسازی جاذب و هزینه کم مورد توجه است. این

است. هیچ‌یک از این فرایندها به تنهایی قادر به کاهش محتوای آلی و سمیت این پساب به حد قابل قبول نیست. رقیق‌سازی، معمولاً پیش از تیمار زیستی به منظور کاهش سمیت برای میکروارگانیسم‌های مسئول تجزیه مواد آلی استفاده می‌شود. تبخیر و ته‌نشینی عمدتاً شامل جداسازی فاز یا آب‌گیری است و تجزیه مواد آلی به مقدار زیاد در این مرحله رخ نمی‌دهد. ماده غلیظ‌شده، رومانند^{۱۱} و عصاره، پس از تبخیر و ته‌نشینی نیاز به تیمار دارد. به طور مشابه سانتریفیوژ نیز یک فرایند جداسازی فاز است که رومانند و ماده غلیظ‌شده حاصل از آن نیاز به تصفیه دارد (Malpei و Rozzi, ۱۹۹۶). روش‌های حرارتی برگشت‌ناپذیر مانند احتراق و پیرولیز به عنوان ابزاری برای بازیابی انرژی به منظور سوخت‌رسانی به کارخانه استخراج روغن زیتون مورد آزمایش قرار گرفته است. احتراق و پیرولیز فوایدی مانند کاهش حجم ضایعات و امکان بازیابی انرژی دارند اما به امکانات گران قیمت نیز نیاز دارند و باعث انتشار مواد سمی به جو می‌شوند (Caputo و همکاران، ۲۰۰۳؛ Niaounakis و Halvadakis, ۲۰۰۴).

۱-۱-۱ فرایندهای غشایی (فیلتراسیون)

فرایندهای غشایی به عنوان یک روش معتبر برای بازیابی پلی‌فنول‌ها از پساب کارخانجات روغن زیتون مطرح هستند. معمول‌ترین عملیات غشایی مورد استفاده در تیمار این پساب میکروفیلتراسیون، اولترافیلتراسیون، نانوفیلتراسیون و اسمز معکوس هستند. باتوجه به قطر منافذ هر دسته از غشاها (شکل ۱) نانوفیلتراسیون و اسمز معکوس اغلب به منظور تغلیظ پلی‌فنول‌ها و در مراحل آخر فرایند بازیابی استفاده می‌شوند (Gebreyohannes و همکاران، ۲۰۱۶). کارخانه‌های صنعتی برای انجام جداسازی در مقیاس تجاری اغلب به صدها تا هزارها مترمربع غشا نیاز دارند. با روش‌های اقتصادی و کارآمد مقدار غشا مورد نیاز صنعت در فضای کوچک‌تری تامین شده است. این سامانه‌های فشرده که اغلب در شکل‌های مختلف صفحه‌ای، لوله‌ای و مارپیچی تولید شده است، اتاقک‌های غشایی^{۱۲} نامیده می‌شوند. توسعه فناوری تولید اتاقک‌های غشایی ارزان منجر به فرایندهای غشایی تجاری در دهه‌های ۱۹۶۰ و ۱۹۷۰ شد (Baker, ۲۰۰۴).

روش‌های غشایی ایمن و ارزان هستند و به طور گسترده در صنایع غذایی مختلف و بخش‌های آب آشامیدنی استفاده می‌شوند. مهم‌ترین مشکل در فرایند تیمار پساب روغن زیتون با استفاده از عملیات غشایی، غلظت بالای مواد جامد معلق موجود در این پساب است که منجر به رسوب این ذرات بر روی غشا می‌شود و تمیز کردن غشا را هزینه‌بر می‌کند (Rahmanian و همکاران، ۲۰۱۴). برای حل این مشکل راه‌حل‌های مختلف از جمله پیش‌تیمارهایی مانند سانتریفیوژ کردن برای کاهش مقدار مواد معلق موجود در پساب روغن زیتون و حل مشکل رسوب به کار گرفته شده است. در بسیاری از مطالعات از غشاها در یک طرح پیوسته به منظور حصول و یا تغلیظ ترکیبات پلی‌فنولی از این پساب استفاده شده است. در این حالت، مرحله (های) اول این طرح متوالی نیازمند کنترل رسوب است. همراهی یا جایگزینی

روش یک راه موثر و کم‌هزینه برای بازیابی و حذف ترکیبات فنولی از پساب روغن زیتون است. از جمله جاذب‌های مورد استفاده در فرایند جذب سطحی می‌تواند شامل کربن فعال، جاذب‌های معدنی، رزین‌ها و جاذب‌های زیستی باشد (Soto و همکاران، ۲۰۱۱).

کربن فعال از لایه‌های گرافیتی هیدروفوب کوچکی که دارای سطوح ناهمگون و گروه‌های عملکردی هیدروفیل هستند ساخته شده است. اصلاحات سطحی^{۱۷} به منظور افزایش کارایی، امکان‌پذیر است. دیگر ویژگی‌های کربن‌های فعال، منابع پایدار و قابل تجدید، ظرفیت بالا، کم‌هزینه و قابل اجرا بودن است. زغال و محصولات جانبی کشاورزی از منابع مرسوم کربن فعال هستند. Soto و همکاران (۲۰۱۱) تعدادی از ضایعات کشاورزی از جمله هسته و پوست میوه‌ها، چوب، چوب‌پنبه، زغال نیشکر، چوب ذرت، کلزا و کناف برای تولید جاذب‌های کربنی پیشنهاد کرده‌اند.

جاذب‌های معدنی شامل مواد سیلیسی، رس و ژئولیت‌های طبیعی هستند که توانایی تبادل یونی نشان می‌دهند. اصلاحات شیمیایی^{۱۸} می‌تواند تمایل مواد معدنی را به جذب ترکیبات فنولی افزایش دهد (Soto و همکاران، ۲۰۱۱). Hazirbulan و Ugurlu (۲۰۰۷) جذب کارا و موثر فنول و لیگنین از پساب روغن زیتون بر روی سپیولیت را گزارش کردند. ضایعات برخی صنایع نیز می‌توانند به‌عنوان منبع ارزانی برای برخی جاذب‌های معدنی باشند. به‌عنوان مثال خاکستر بادی^{۱۹} محصول جانبی نیروگاه‌های زغال سنگ است و دفع آن روی زمین به دلیل احتمال آزاد شدن مقادیری از فلزات سنگین نگرانی‌های زیست‌محیطی ایجاد کرده است. بنابراین تثبیت و تبدیل به ژئولیت و استفاده از آن به‌عنوان یک جاذب ارزان قیمت پیشنهاد شده است (Querol و همکاران، ۲۰۰۲).

رزین‌ها، جاذب‌های پلیمری مصنوعی شامل مواد با طبیعت هیدروفیل یا هیدروفوب مانند هم‌بسپارهای^{۲۰} پلی‌استیرن-دی‌وینیل‌بنزن، پلی‌متاکریلات و هم‌بسپارهای دی‌وینیل‌بنزن-اتیل‌وینیل‌بنزن هستند. جاذب‌های بسپاری^{۲۱} بادوام، بی‌اثر^{۲۲} و دارای ظرفیت جذب، کارایی و گزینش‌پذیری بالایی هستند. همچنین سمیت محدود داشته و به‌راحتی و با هزینه نسبتاً کم احیا می‌شوند. اما این جاذب‌ها سطح موثر کوچک‌تری نسبت به کربن‌های فعال داشته و نسبت به سایر جاذب‌ها گران هستند (Soto و همکاران، ۲۰۱۱).

اصطلاح جذب زیستی^{۲۳}، تعدادی از فرایندهای مستقل از متابولیسم را توصیف می‌کند که در آن‌ها جذب جسم حل شده از محلول آبی به‌وسیله مواد با منشا زیستی رخ می‌دهد. تنها مکانیسمی که در آن دخالت دارد جذب روی دیواره ارگانسیم و یا مواد با منشا آن ارگانسیم است. بنابراین مانند سایر فرایندهای جذب، مقدار و نوع گروه‌های عاملی موجود در سطح، مقدار جذب زیستی را تعیین می‌کند. جاذب‌های زیستی فاضلاب تخمیر (ضایعات تخمیر و لجن‌های فعال) و ضایعات کشاورزی، فراوان و مقرون به‌صرفه هستند. لجن باقی‌مانده از تصفیه فاضلاب خانگی یا صنعتی به‌تنهایی یا در ترکیب با دیگر جاذب‌ها می‌تواند به‌عنوان یک جاذب زیستی ارزان برای

ترکیبات فنولی استفاده شود. Cherifi و همکاران (۲۰۰۹) و Rao و Viraraghavan (۲۰۰۲) و Rubin و همکاران (۲۰۰۶) جذب ترکیبات فنولی مدل را بر روی ماکروجلبک، چارچ، اسفنج و ترکیبات فنولی پساب روغن زیتون را روی سلول‌های باکتریایی گزارش کردند.

ظرفیت جذب یک سامانه به‌سادگی قابل پیش‌بینی نیست. زیرا به عواملی مانند ویژگی‌های جاذب (تخلخل و مساحت سطح)، ویژگی‌های ماده جذب شده (ساختار، حلالیت، بار، گروه‌های عاملی، pK_a ، قطبیت، وزن مولکولی و اندازه)، شرایط محلول (حلال، pH، دما، قدرت یونی، غلظت جسم حل شده، رقابت بین حل‌شونده‌ها) و نوع راه‌اندازی آن سامانه وابسته می‌باشد (Soto و همکاران، ۲۰۱۱). اگرچه اغلب اطلاعات گزارش شده مربوط به تجربه‌هایی در مقیاس آزمایشگاهی است، اما این نتایج در بسیاری از موارد برای مقیاس بزرگتر نیز مفید هستند. Sabbah و همکاران (۲۰۰۴) در فیلتراسیون شنی و تیمار بعدی با پودر کربن فعال، ۹۵٪ ترکیبات فنولی موجود در پساب روغن زیتون را بازیابی کردند. بازده بازیافت با به‌کارگرفتن رزین آمبرلیت XAD۱۶ به‌عنوان جاذب و اتانول به‌عنوان یک فاز زیست‌سازگار برای جداسازی ماده جذب‌شونده از جاذب کمتر (۶۰٪) بوده است (Scoma و همکاران، ۲۰۱۱). بررسی دیگری نشان داده است که گرانول‌های کربن فعال می‌توانند از نظر جذب و دفع سطحی فنول از آزولا (که یک ماتریس گیاهی است) بسیار موثرتر باشند. هیدروکسی‌تایروزل به‌دست‌آمده از جاذب کربنی، ۳/۵ برابر غلظت بیشتری نسبت به آزولا داشته است (Ena و همکاران، ۲۰۱۲). همچنین پوست موز به‌عنوان یک جاذب زیستی ارزان قیمت برای حذف ترکیبات فنولی از پساب استفاده شده است. با افزایش مقدار پوست موز از ۱۰ به 30 g.L^{-1} ، جذب ترکیبات فنولی به‌طور معناداری از ۶۰ به ۸۸٪ افزایش یافته است. مطالعات روی دفع سطحی نشان داده است که مقادیر پایین pH برای دفع ترکیبات فنولی از سطح موثر می‌باشد (Achak و همکاران، ۲۰۰۹).

۱-۳- استخراج با حلال

فنول‌ها شامل یک یا تعداد بیش‌تری گروه‌های هیدروکسیل (بخش قطبی) هستند که به حلقه (های) آروماتیک (بخش غیرقطبی) متصل شده‌اند و در یک محیط پروتون‌دار قطبی مانند الکل‌ها (اتانول و متانول) به‌راحتی حل می‌شوند. اما گالیک، سینامیک و کوماریک اسیدها به‌ترتیب آب، دی‌کلرومتان و استون را ترجیح می‌دهند. به‌این دلیل پیشنهاد می‌شود که برای جداکردن ترکیبات معین قبل از انجام مراحل پی‌درپی با حلال‌هایی که قطبیت آن‌ها کاهش می‌یابد، ابتدا استخراج با یک حلال پروتون‌دار قطبی (مخلوط آبی-الکلی) انجام شود (Rahmanian و همکاران، ۲۰۱۴).

یکی از معایب روش استخراج با حلال، باقی‌ماندن بخشی از حلال همراه محصول است. به‌خصوص اگر این محصول در صنعت غذا یا دارو استفاده شود، می‌تواند اثرات خطرناکی بر سلامت انسان داشته باشد. برای رفع این مشکل نیاز به مراحل خالص‌سازی بیشتر است که روی زمان و هزینه فرایند اثرگذار

است. مخلوط‌های آبی الکلی به‌دلیل درجه^{۲۴} غذایی به‌عنوان مناسب‌ترین حلال‌ها برای استخراج ترکیبات فنولی از پساب روغن زیتون مطرح شده‌اند. مطالعات نشان داده است شرایط استخراج (pH، زمان، دما، نوع حلال و غلظت) می‌تواند بر بازده، نرخ استخراج و فعالیت عصاره فنولی به‌دست‌آمده بسیار موثر باشد (Brunner، ۲۰۱۳؛ Rahmanian و همکاران، ۲۰۱۴).

یک مخلوط آبی-الکلی منجر به بازیابی ۸۵٪ ترکیبات فنولی پساب روغن زیتون شده و عصاره حاصل فعالیت آنتی‌اکسیدانی خود را به مدت ۱۸ هفته حفظ کرده است (Galanakis و همکاران، ۲۰۱۰). Karakaya و Takac (۲۰۰۹) از اتانول (تا ۷۰٪) و یک اسید آلی (۰/۵-۰/۳٪) برای استخراج پلی‌فنول‌ها از فاضلاب کارخانجات روغن زیتون استفاده کردند. Bouaziz و همکاران (۲۰۰۸)، DeLeonardis و همکاران (۲۰۰۷) و De Marco و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند اتیل‌استات به‌عنوان مناسب‌ترین حلال برای استخراج مونومرهای فنولی دارای وزن مولکولی کم و متوسط می‌باشد که درصد بازیافت آن در شرایط مربوطه بیش از ۹۰٪ است. بازده بالای بازیابی هیدروکسی تایروزل (۸۵/۴۶٪) از فاضلاب روغن زیتون با استفاده از استخراج سه مرحله‌ای پیوسته مایع-مایع به‌روش ناهمسو به‌دست‌آمده است. به‌طوری‌که به‌ازای هر یک لیتر پساب، ۱/۲۲۵ گرم هیدروکسی تایروزول استخراج شده است (Allouche و همکاران، ۲۰۰۴).

۴-۱- اکسید کردن

ترکیبات سمی و مواد دارای ساختار شیمیایی مقاوم می‌توانند توسط یک عامل اکسیدکننده قوی تجزیه شوند. در سال‌های اخیر فرایندهای اکسید کردن و اکسید کردن پیشرفته برای تیمار ضایعات صنعتی و به‌ویژه پساب روغن زیتون بسیار مورد توجه قرار گرفته است. اوزون (O_3) یک عامل اکسیدکننده قوی است که به‌صورت انتخابی به ترکیبات حاوی حلقه‌های آروماتیک و پیوندهای دوگانه حمله می‌کند (Paraskeva و Diamadopoulou، ۲۰۰۶). اوزون‌زنی^{۲۵} حوضچه‌های تبخیری حاوی فاضلاب روغن زیتون، منجر به حذف ۹۰٪ ترکیبات فنولی شده است (Karageorgos و همکاران، ۲۰۰۶). فرایندهای اکسید کردن پیشرفته با ایجاد و عمل‌رادی‌کال‌های هیدروکسیل‌سروکار دارند. این گونه‌های ناپایدار و واکنش‌پذیر توسط یک منبع اکسیژن و یک منبع انرژی تولید می‌شوند. منبع اکسیژن معمولاً اوزون یا هیدروژن پراکسید (H_2O_2) و منبع انرژی پرتو فرابنفش (UV) یا انرژی خورشیدی است. به‌منظور افزایش مقیاس فرایندهای اکسید کردن باید هزینه‌های انرژی تنظیم و حفظ و همچنین pH ارزیابی شود (Diamadopoulou و Paraskeva، ۲۰۰۶).

مقایسه دو فرایند اکسید کردن پیشرفته برای تیمار پساب روغن زیتون با نام‌های O_3/UV و H_2O_2/UV در pH بهینه به ترتیب هفت و دو حذف ۹۹ درصدی COD و فنول را در پی داشته است. غلظت H_2O_2 در بازه ۷۵۰-۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر زمان بهینه اوزون‌زنی پنج ساعت و غلظت اوزون ۵۳۵ میلی‌گرم در لیتر بوده است (Aktas و همکاران، ۲۰۰۱). اکسید کردن الکتروشیمیایی با آند Ir/ Pt/ Ta

Ti قادر به حذف تقریباً تمام محتوای فنولی از فاضلاب کارخانجات روغن زیتون بوده است. افزایش ولتاژ و شوری سبب بهبود عملکرد این پیل الکتروشیمیایی شده است (Gotsi و همکاران، ۲۰۰۵).

۵-۱- انعقاد-لخته‌سازی^{۲۶}

در این تحقیق منظور از انعقاد، تجمع پراکندگی‌های کلوئیدی است. این فرایند برای حذف جامدات معلق از محلول‌های آبی استفاده می‌شود. ذرات معلق در منشأ، بار، اندازه، شکل و چگالی متفاوت هستند. مواد جامد معلق موجود در آب بار سطحی منفی دارند بنابراین به‌دلیل نیروی دافعه به یکدیگر نمی‌پیوندند و از آب جدا نمی‌شوند. در فرایند انعقاد از یک عامل منعقدکننده که معمولاً نمک فلزات سه ظرفیتی مثل آهن و آلومینیوم است استفاده می‌شود. این نمک‌ها به‌صورت مایع یا خشک به محلول آبی اضافه می‌شوند. پس از آن به مخلوط‌سازی سریع و با انرژی زیاد برای پراکنده ساختن مواد شیمیایی در سراسر محلول نیاز است. تفکیک عامل منعقدکننده به یون‌های با بار مثبت منجر به خنثی‌سازی بخشی از بار سطحی ذرات معلق و در نتیجه پیوستن آن‌ها به یکدیگر می‌شود این ذرات کمی بزرگتر، میکروفلاک^{۲۷} نامیده می‌شوند و با چشم غیرمسلح قابل مشاهده نیستند. مخلوط شدن بیش از اندازه بر فرایند انعقاد اثرگذار نیست اما اختلاط ناکافی این مرحله را ناقص می‌کند (Bratby، ۲۰۰۶؛ O'Melia، ۱۹۷۸).

فرایند انعقاد با لخته‌سازی دنبال می‌شود. لخته‌سازی یک مرحله مخلوط شدن ملایم است که طی آن میکروفلاک‌ها با یکدیگر برخورد کرده و موجب ایجاد ساختارهای بزرگتر و قابل‌رویت به‌نام پینفلاک‌ها^{۲۸} می‌شوند. اندازه این ساختارها به‌طور پیوسته با برخوردها و واکنش یون‌های فلزی با یون‌های هیدروکسید و سایر یون‌های موجود در محلول و با پلی‌مرهای آلی و معدنی اضافه شده (عوامل کمک‌انعقادی) افزایش یافته است و ماکروفلاک‌ها تشکیل می‌شوند (Bratby، ۲۰۰۶). از جمله عوامل کمک‌انعقادی مورد استفاده در این مرحله می‌توان سیلیس فعال و پلی‌الکترولیت‌های طبیعی و مصنوعی را نام برد. پلی‌الکترولیت‌ها به‌طور کلی در اتصال با عوامل انعقادی فلزی برای تحریک تشکیل، افزایش مقاومت، زیاد شدن وزن و بهبود سرعت ته‌نشینی فلاک‌ها استفاده می‌شوند. هنگامی که فلاک به حداکثر اندازه و مقاومت رسید محلول آبی برای ته‌نشینی آماده است (O'Melia، ۱۹۷۸).

پایین بودن قیمت مواد منعقدکننده معدنی و دسترسی آسان به آن‌ها، مؤثر بودن بسیارها در دوزهای پایین و در دامنه وسیع pH از نقاط مثبت فرایند انعقاد-لخته‌سازی است. اما از آنجایی که این فرایند زمان نگهداری دارد کارخانه به حوضچه‌های بزرگ و زمین زیاد نیاز پیدا می‌کند. از طرفی عوامل انعقادی معدنی می‌توانند pH آب را تغییر دهند و در نتیجه برای تنظیم pH از موادی مانند آهک استفاده می‌شود که نیاز به ذخیره و تجهیزات مقاوم به خوردگی دارد. از سوی دیگر بسیارها چند برابر گران‌تر از عوامل انعقادی معدنی هستند و به‌علت سمیت احتمالی قبل از مقیاس کارخانه باید

در مقیاس آزمایشگاهی و پایلوت ارزیابی شوند. معمولاً همراه شدن سایر فرایندها با انعقاد-لخته‌سازی (تکنیک‌های ترکیبی) سبب بالا رفتن کارایی حذف مواد آلی می‌شود (Bratby, 2006; Paraskeva و Diamadopoulos, 2006).

انعقاد الکتروشیمیایی^{۲۹} روشی است که اخیراً به تیمار پساب روغن زیتون و دیگر پساب‌های صنعتی توجه کرده است. در پی انعقاد الکتروشیمیایی عامل انعقادی از یک آند مانند آلومینیوم یا آهن در محلول تولید می‌شود. یون‌های فلزی حاصل بارهای مخالف روی سطح ذرات معلق را خنثی کرده و در نتیجه این ذرات به یکدیگر می‌پیوندند. به‌طور هم‌زمان آزادسازی حباب‌های هیدروژن در کاتد، حذف آلاینده‌ها را از طریق شناور شدن^{۳۰} ممکن می‌سازد. برخی پارامترها مانند pH، مدت زمان انجام کار، چگالی جریان، غلظت اولیه فنول و اضافه کردن کلرید سدیم نقش مهم و معناداری دارد. این فرایند حجم لجن کمتری در مقایسه با روش انعقاد سنتی تولید می‌کند (Paraskeva و Diamadopoulos, 2006; Rahmanian, 2006) همکاران، (2014).

در طول فرایند انعقاد الکتروشیمیایی با الکترودهای آلومینیوم، 76٪ کاهش COD، 91٪ حذف فنول و 95٪ کاهش تیرگی فاضلاب روغن زیتون پس از 25 دقیقه تیمار به‌دست آمده است. محدوده pH بهینه 6-4 (pH معمول فاضلاب روغن زیتون) و چگالی جریان بهینه و اقتصادی، 75 mA.cm^{-2} بوده است (Monser و Adhoum, 2004). Hanafi و همکاران (2010) بیان کردند بیشترین حذف پس از پانزده دقیقه تیمار، اضافه کردن کلرید سدیم با غلظت 2 g.L^{-1} به پساب فوق و استفاده از چگالی جریان 250 A.m^{-2} به‌دست آمده است. همچنین حذف قابل‌توجه فنول (97٪) از فاضلاب یک پالایشگاه نفت بعد از دو ساعت تیمار، با غلظت اولیه 30 میلی‌گرم در لیتر فنول، pH محلول 7 و افزایش چگالی جریان گزارش شده است (Abdelwahab و همکاران، 2009).

۲- فرایندهای زیستی

فرایندهای زیستی قادر به حذف مواد آلی و معدنی مغذی هستند و در سراسر جهان برای تیمار فاضلاب‌ها استفاده می‌شوند. این فرایندها اغلب دوست‌دار محیط‌زیست و در بیشتر موارد مقرون به‌صرفه هستند. در انتخاب میکروارگانیسم و سازگار کردن آن برای تیمار پساب روغن زیتون توجه و دقت نیاز است زیرا ترکیبات فنولی موجود در این پساب مهارکننده رشد میکروارگانیسم‌ها هستند. جدول (۱) تعدادی از جنس‌ها و گونه‌های مختلف میکروارگانیسم‌هایی را نشان می‌دهد که توانایی آن‌ها در تخریب فنول‌ها به اثبات رسیده است. ترکیبات فنولی توسط باکتری‌ها تحت شرایط هوازی به دی‌اکسیدکربن و تحت شرایط بی‌هوازی به دی‌اکسیدکربن یا متان تبدیل می‌شوند (Sridevi و Lakshmi, 2009; Paraskeva و Diamadopoulos, 2006). روش‌های زیستی تخریب ترکیبات فنولی در زیر شرح داده شده است.

۲-۱- هضم بی‌هوازی

هضم بی‌هوازی در غیاب اکسیژن مولکولی توسط میکروارگانیسم‌های بی‌هوازی عمدتاً باکتری‌ها، که دارای نرخ رشد پایین‌تری نسبت به میکروارگانیسم‌های هوازی هستند انجام می‌شود. مراحل اصلی این فرایند هیدرولیز، اسیدوژن و متانوژن هستند که آخرین مرحله به‌دلیل تولید گاز متان به‌عنوان مهم‌ترین مرحله شناخته می‌شود. هضم بی‌هوازی یکی از روش‌های زیستی مورد استفاده برای تیمار فاضلاب روغن زیتون می‌باشد. این روش دارای نیازهای انرژی پایین است، لجن کمتری تولید کرده و امکان حصول انرژی را فراهم می‌کند (Paraskeva و Diamadopoulos, 2006; Rahmanian و همکاران، 2014).

به‌دلیل عدم توازن مواد مغذی پساب کارخانجات روغن زیتون به‌طور عمده ناشی از نرخ بالای نسبت کربن به نیتروژن (50 ~)، pH پایین (5 ~)، قلیابیت^{۳۱} کم (به‌ازای هر لیتر پساب، gCaCO_3 0/6 ~) و حضور مواد مهار کننده مانند ترکیبات فنولی و اسیدهای چرب بلند زنجیر، این پساب قبل از تیمار بی‌هوازی، ممکن است به هر کدام از مراحل رقیق‌سازی، افزودن مواد مغذی، تنظیم قلیابیت، سازگاری سوبیه با پساب و پیش‌تیمار (مانند پیش‌تیمارهای فیزیکیوشیمیایی و هوازی) نیاز داشته باشد. روش دیگر که توسط محققان برای به حداقل رساندن مشکلات هضم بی‌هوازی پساب روغن زیتون اتخاذ شده است، هم‌هضمی^{۳۲} این پساب با دیگر سوبستراها می‌باشد (Morillo و همکاران، 2009).

یک پیش‌تیمار فیزیکیوشیمیایی مانند استفاده از نمک‌های کلسیمی محلول، لیپیدها را به‌صورت نمک‌های نامحلول رسوب می‌دهد. دیگر روش‌های فیزیکیوشیمیایی مثل فیلتراسیون، سانتریفیوژ، رسوب‌دهی، جذب سطحی، اوزون‌زنی و... نیز می‌توانند بخشی از محتوای آلی پساب را حذف کنند. پیش‌تیمار هوازی عبارت‌است از استفاده از سوبیه‌های هوازی سازگار شده به‌منظور تخریب بخشی از ترکیبات فنولی و اسیدهای چرب بلند زنجیر. به‌این‌ترتیب سمیت پساب روغن زیتون کاهش یافته و می‌تواند هدف تیمار بی‌هوازی قرار گیرد. پیش‌تیمارها می‌توانند نرخ حذف را در تیمار بی‌هوازی بعدی، بالا ببرند که این تغییر با افزایش در سه مؤلفه سرعت ویژه رشد، ثابت سینتیکی و راندمان تولید متان نشان داده می‌شود. هم‌هضمی فاضلاب روغن زیتون به معنی همراه کردن آن با دیگر ضایعات به‌منظور تأمین نیازهای pH، قلیابیت و در بسیاری از موارد غذایی ضروری برای هضم بی‌هوازی است. همچنین امید است که این فرایند از تیمار هر پساب به‌طور جداگانه مقرون به‌صرفه‌تر باشد (Paraskeva و Diamadopoulos, 2006). به‌عنوان مثال هم‌هضمی با سوبستراهای غنی از نیتروژن مثل کود حیوانی، مقادیر پایین نیتروژن پساب را جبران می‌کند (Angelidaki و Ahring, 1997). در یک مطالعه، هم‌هضمی پساب روغن زیتون با فاضلاب کشتارگاه منجر به یک مرحله ته‌نشینی آغازی توسط

پروتئین‌های موجود در فاضلاب کشتارگاه و کاهش COD، حذف بخشی از مواد معلق و همچنین کاهش فنول شده است (Ganoun و همکاران، ۲۰۰۵).

چند مطالعه در مقیاس آزمایشگاهی با استفاده از راکتورهای لجن بی‌هوای، به کاهش ۷۰-۸۰٪ COD پساب روغن زیتون منجر شده است. زمان ماند هیدرولیکی^{۳۳} در این مطالعات دو تا پنج روز بوده است. رقیق‌سازی پساب در ابتدای عملیات، افزودن مواد مغذی و تنظیم قلیابیت نیز انجام شده است. با افزایش زمان ماند به ۲۵ روز، ۸۹٪ کاهش COD مشاهده شده است. همچنین نرخ تولید زیست‌گاز ۰/۳-۰/۳۵ مترمکعب متان به ازای کیلوگرم COD حذف شده است (Raposo و همکاران، ۲۰۰۴؛ Öztürk و Ubay، ۱۹۹۷). استفاده از یک راکتور بسته متوالی^{۳۴} بی‌هوای، با زمان ماند هیدرولیکی سه روز، تا ۸۰٪ کاهش COD پساب نام برده را نشان داده است. ماده مغذی، اضافه نشده اما محلول از COD ابتدایی ۹۷ g.L⁻¹ به ۱۶ g.L⁻¹ رقیق شده است. تنظیم قلیابیت و حفظ pH حدود ۷ ضروری بوده است (Ammary، ۲۰۰۵). دو راکتور بی‌هوای که یکی دارای گرانول‌های کربن فعال و دیگری حاوی دانه‌های سیلیکا بوده است، بهبود قابل توجهی در حذف مواد آلی نسبت به تیمار بی‌هوای معمولی داشته‌اند. استفاده از راکتورهای دارای کربن فعال و سیلیکا به ترتیب ۷۸/۴ و ۴۸/۳٪ کاهش COD، ۹۰ و ۵۰/۶٪ حذف فنول و ۰/۸ و ۰/۱۸ مترمکعب متان تولید شده به ازای کیلوگرم COD حذف شده را نشان داده است (Bertin و همکاران، ۲۰۰۴).

۲-۲- تیمار هوای

تیمار هوای فناوری معمول در تیمار پساب‌ها است. برای تیمار فاضلاب روغن زیتون، یک دوره سازگاری میکروارگانیسم (به دلیل حضور عوامل مهارکننده) مورد نیاز است. Benitez و همکاران (۱۹۹۷)؛ (۱۹۹۹) تخریب هوای پساب روغن زیتون را در راکتور لجن فعال بسته مخلوط‌شونده^{۳۵} پس از سازگاری اولیه بررسی کردند. در این مطالعات حذف COD در محدوده ۵۸-۶۸٪ برای COD اولیه ۶۵-۹۸ گرم بر لیتر، ۸۱-۸۴٪ برای COD آغازی ۲۲ گرم بر لیتر و حذف فنول در هر دو مطالعه ۹۰٪ به دست آمد. مخمر *Candida tropicalis* و باکتری *Lactobacillus paracasei* طی هضم هوای پساب روغن زیتون همراه با آب پنیر به عنوان کوسوبسترا، فنول‌ها را به ترتیب نزدیک ۴۵ و ۲۳٪ تخریب کرده‌اند (Aouidi و همکاران، ۲۰۰۹)؛ Martinez-Garcia و همکاران (۲۰۰۷). Borja و همکاران (۱۹۹۵) در مقایسه‌ای *Aspergillus terreus*، *Azotobacter chroococcum* و *Geotrichum candidum* را به عنوان پیش‌تیمارهای هوای برای فاضلاب ذکر شده به کار گرفتند. کاهش COD توسط این سویه‌ها به ترتیب ۶۳/۳، ۷۴/۳ و ۷۰٪ محاسبه شد. تجزیه فنول‌ها نیز روند مشابهی داشته و به ترتیب ۶۵/۶، ۹۰ و ۹۴/۳٪ گزارش شده است. حذف برخی از گونه‌های معین ترکیبات فنولی توسط *Aspergillus*

terreus ۱۰۰٪ بوده است (Borja و همکاران، ۱۹۹۵). در بررسی دیگری از سویه سازگار شده *Ralstonia eutropha* به عنوان یک تیمار هوای برای پساب روغن زیتون استفاده شده است. سلول‌های آزاد، فنول کل و COD پساب رقیق‌شده را به ترتیب ۵۶ و ۴۲٪ کاهش داده است. همچنین با استفاده از یک راکتور بستر پرشده، کارایی *Ralstonia eutropha* تثبیت شده بر لوفاف بررسی شده است به طوری که کاهش فنول کل و COD به ترتیب ۷۳ و ۶۴٪ محاسبه شده است (Jalilnejad و همکاران، ۲۰۱۱).

کمپوست‌کردن^{۳۶} نیز یک فرایند تجزیه هوای است. در این فرایند طی یک دوره چند هفته‌ای، مواد آلی تجزیه گشته و یک محصول گرانولی شبیه هوموس (گیاه‌خاک) تولید شده که به عنوان کود یا تهویه‌کننده خاک استفاده می‌شود (Paraskeva و Diamadopoulos، ۲۰۰۶). می‌توان از پساب روغن زیتون کمپوست با کیفیت بالا تولید کرد و در نتیجه نیاز به کودهای شیمیایی را کاهش داد (Tomati و همکاران، ۱۹۹۶).

۳-۲- تیمار آنزیمی

به طور کلی اطلاعات علمی در دسترس نشان می‌دهند که در تخریب فنول‌های ساده و بسیار پیچیده موجود در فاضلاب روغن زیتون، قارچ‌ها از باکتری‌ها بسیار کارا تر هستند. قارچ‌های راسته *Basidiomycota* از ابزارهای برجسته برای تخریب آلودگی‌های مقاوم به تجزیه مثل فنول‌ها، نفتول‌ها، بیس فنول‌ها، ترکیبات آروماتیک هالوژن‌دار، هیدروکربن‌های پلی‌آروماتیک و... می‌باشند. این قارچ‌ها به دلیل تولید فنول‌اکسیدازها و پراکسیدازها پتانسیل بالایی برای تخریب ترکیبات فنولی دارند. به عنوان مثال برخی گونه‌های جنس *Pleurotus* در تخریب ترکیبات فنولی موجود در پساب روغن زیتون بسیار موثر هستند (Martínková و همکاران، ۲۰۱۶؛ Morillo و همکاران، ۲۰۰۹).

آنزیم لاکاز (EC 1.10.3.2) یک فنول‌اکسیداز است که در دهه‌های اخیر بسیار مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است. طی فعالیت این آنزیم، احیا اکسیژن مولکولی به آب معمولاً با اکسیداسیون یک سوبسترای فنولی همراه است. واکنش‌های اکسیداسیون شیمیایی در صنایع مختلف به دلیل استفاده از مواد شیمیایی خطرناک سلامت محیط زیست را به خطر می‌اندازد. بنابراین تحقیقات به سمت تکنولوژی‌های اکسیداسیون جدید بر اساس فرایندهای زیستی مثل اکسیداسیون آنزیمی پیش رفت. مزیت دیگر آنزیم‌ها نسبت به اکسیداسیون‌های شیمیایی این است که واکنش‌های آنزیمی در شرایط ملایم انجام می‌شوند. لاکاز، اکسیداسیون ارتو و پارا دی فنول‌ها، آمینوفنل‌ها، پلی‌فنل‌ها، پلی‌آمین‌ها، لیگنین‌ها و آریل دی آمین‌ها را کاتالیز می‌کند (Herrera و Couto، ۲۰۰۶).

فعالیت بالای لاکاز برخی گونه‌های جنس *Pleurotus* سبب کاهش

حدود ۷۰٪ فنول‌ها از پساب روغن زیتون شده است (Tsioulpas و همکاران، ۲۰۰۲) همچنین *Trametes versicolor* به‌عنوان یک مخرب خوب با کاهش ۸۷٪ فنول‌ها ظاهر شده است (Cerrone و همکاران، ۲۰۱۱). D'Annibale و همکاران (۱۹۹۹؛ ۲۰۰۰) تأثیر لاکازهای تثبیت‌شده مربوط به *Lentinul edodes* در تجزیه ترکیبات فنولی فاضلاب ذکر شده مورد بررسی قرار دادند. کارایی حذف فنول و پایداری آنزیمی برای آنزیم‌های تثبیت‌شده نسبت به آنزیم‌های آزاد بیشتر بوده است. جذب ذرات موجود در پساب روی سطح آنزیم که می‌تواند سبب پوشاندن جایگاه فعال آنزیم شود و همچنین رادیکال‌های آزاد تشکیل شده طی واکنش اکسیداسیون می‌تواند فعالیت لاکازهای تثبیت‌شده را مختل کند. با این وجود می‌توان از طریق حذف محصولات غیرمحلول از آب تیمار شده به‌عنوان مثال به‌وسیله فیلتراسیون، فعالیت آنزیم را حفظ کرد (D'Annibale و همکاران، ۱۹۹۹؛ D'Annibale و همکاران، ۲۰۰۰). تیمار پساب روغن زیتون با لاکاز تثبیت‌شده قارچ *Lentinula edodes* منجر به کاهش معنادار پلی‌فنول‌ها (۹۰٪) شده است (D'Annibale و همکاران، ۱۹۹۹). همچنین تیمار این پساب با فنول‌اکسیداز خالص‌سازی‌شده *Pleurotus ostreatus*، محتوای فنولی را ۹۰٪ کاهش داده است (Martirani و همکاران، ۱۹۹۶). انتظار می‌رود کاهش سمیت پساب روغن زیتون تیمار شده با لاکاز لزوماً با کاهش ترکیبات فنولی آن متناسب نباشد. در تعدادی از مطالعات کاهش ترکیبات فنولی بدون کاهش سمیت فاضلاب روغن زیتون تیمار شده گزارش شده است. سمیت پساب تیمار شده می‌تواند به حضور ترکیبات فنولی باقی‌مانده مثل اورتوبنوزوکوئینون‌ها، کوئینونوئیدها و پلیمرهای حاصل از فرایند اکسیداسیون که بسیار سمی‌تر از ترکیبات مادری هستند مربوط باشد. با این وجود برخی از دیگر مطالعات به کاهش قابل توجه سمیت این پساب همراه با کاهش ترکیبات فنولی اشاره داشته‌اند. اختلاف در نتایج سمیت آزمایش‌های مختلف باید به دقت بررسی شود زیرا تفاوت در نتایج می‌تواند به دلیل ترکیب متغیر پساب روغن زیتون و حساسیت متفاوت ارگانسیم مورد استفاده در تست‌های سمیت باشد (Catherine و همکاران، ۲۰۱۶).

۳- روش‌های ترکیبی

روش‌های ترکیبی برای به حداکثر رساندن حذف فنول‌ها از پساب روغن زیتون استفاده می‌شوند اما ممکن است افزایش تعداد مراحل به‌طور چشم‌گیری هزینه کل فرایند را افزایش دهد. یک روش ترکیبی اکسیدکردن فنتون نام دارد که اکسید کردن شیمیایی و انعقاد را ترکیب کرده و یکی دیگر از فناوری‌های امیدبخش است (Paraskeva و Diamadopoulou، ۲۰۰۶). اکسید کردن فنتون از واکنش بین H_2O_2 و یک نمک فروس (Fe^{2+}) تحت شرایط اسیدی طبق واکنش زیر به‌دست می‌آید (Rahmanian و همکاران، ۲۰۱۴).

$$Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH^- + OH^{\cdot}$$

واکنش‌های فنتون می‌توانند مواد آلی مقاوم به تخریب را تیمار کنند. یک فرایند فنتون پیشرفته با نور خورشید یا UV (فنتون نوری)^{۳۷}، توانایی قابل توجهی برای کاهش محتوای فنولی پساب روغن زیتون یا دیگر پساب‌های صنعت کشاورزی دارد. با توجه به pH اسیدی فاضلاب روغن زیتون و کارایی رضایت‌بخش در حذف فنول‌ها فرایندهای فنتون و فنتون نوری به‌عنوان فناوری‌های مناسب برای تیمار پساب ذکر شده در نظر گرفته شده‌اند. اگر فرایند فنتون در یک پیل الکتروشیمیایی انجام شود الکتروفنتون نام دارد (Paraskeva و Diamadopoulou، ۲۰۰۶؛ Rahmanian و همکاران، ۲۰۱۴).

ترکیبی از ته‌نشینی، سانتریفیوژ، فیلتراسیون و جذب بوسیله کربن فعال منجر به حذف حداکثری فنول (۹۴٪) و مواد آلی (۸۳٪) از فاضلاب روغن زیتون شده است (Paraskeva و Diamadopoulou، ۲۰۰۶). سامانه ترکیبی دیگری متشکل از الکتروفنتون، هضم بی‌هوازی و اولترافیلتراسیون در مقیاس آزمایشگاهی برای تیمار این پساب به‌کار گرفته شده است. الکتروفنتون منجر به حذف بالای ترکیبات مونوفنولی (۹۵٪) شده و اولترافیلتراسیون به‌عنوان یک پساتیمار^{۳۸}، فنول‌های باقی‌مانده با جرم مولکولی بالا را حذف کرده است. یک محاسبه اقتصادی از این تیمار نشان داده است که ۷۳/۵ KWh انرژی به‌ازای تیمار هر متر-مکعب پساب به‌دست آمده است (Jaouani و همکاران، ۲۰۰۳). تیمار فاضلاب روغن زیتون به‌وسیله فرایند ترکیبی انعقاد-لخته‌سازی-ته‌نشینی و یا فیلتراسیون بسته به سامانه مورد استفاده در استخراج روغن زیتون ۶۲-۷۳٪ ترکیبات فنولی را حذف کرده و COD را بیش از ۴۰٪ کاهش داده است (Paraskeva و Diamadopoulou، ۲۰۰۶). همچنین Papaphilippou و همکاران (۲۰۱۳)، در فرایندی شامل انعقاد-لخته‌سازی-استخراج با حلال-اکسید کردن فنتون نوری برای ارزشمند کردن و تیمار پساب مورد نظر استفاده کردند. پیش‌تیمار انعقاد-لخته‌سازی به‌وسیله $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ به‌عنوان عامل انعقادی و یک پلی‌الکترولیت آنیونی (FLOCAN23) انجام و منجر به حداکثر حذف مواد جامد معلق کل ($97 \pm 1/3\%$)، COD ($72 \pm 1/5\%$) و محتوای فنولی کل ($40 \pm 1/3\%$) شده است. استخراج با حلال برای بازیابی ترکیبات فنولی باقی‌مانده به‌مدت ۱۵ دقیقه با اتیل‌استات به‌عنوان حلال در نسبت دو به یک (v/v) حلال به نمونه انجام شده است. این فرایند، بازیابی ۳۶٪ محتوای فنولی باقی‌مانده پس از انعقاد-لخته‌سازی را در پی داشته و در پایان فنتون نوری به‌عنوان یک پساتیمار استفاده شده است. اکسید کردن به مدت ۲۴ دقیقه در pH سه و با $0/2 \text{ g.L}^{-1} Fe^{2+}$ و $5 \text{ g.L}^{-1} H_2O_2$ انجام شده و COD و فنول باقی‌مانده را به ترتیب $73 \pm 2/3\%$ و $87 \pm 3/1\%$ کاهش داده است (Papaphilippou و همکاران، ۲۰۱۳). یک تیمار سه مرحله‌ای هوازی-بی‌هوازی-هوازی که *A.niger*-فیلتر بی‌هوازی-لجن فعال را به‌کار گرفته است قادر به حذف بیش از ۹۰٪ COD کل شده که حذف در هرکدام از مراحل به ترتیب ۵۸، ۶۰ و ۴۵٪ به‌دست آمده است (Hamdi و همکاران، ۱۹۹۲).

میکروارگانیسم	
باکتری	<i>Pseudomonas stutzeri</i> strain SPC2 <i>Pseudomonas testosteroni</i> CPW301 <i>Pseudomonas</i> sp. STI <i>Ralstonia eutropha</i> <i>Rhodococcus</i> sp. DCB-p0610 <i>R. erthropolis</i> UPV-I <i>Sphingomonas bisphenolicum</i> AO1 Sulfate-reducing bacteria
<i>Acinetobacter</i> sp. <i>Acinetobacter</i> sp. W-17 <i>Agrobacterium radiobacter</i> <i>Alcaligenes faecalis</i> <i>Alcaligenes</i> sp. E2 <i>Alcaligenes</i> sp. R5 <i>Alcaligenes</i> strain P5 <i>Arthrobacter</i> sp. <i>Azoarcus</i> sp. <i>Azospirillum brasilense</i> <i>Bacillus brevis</i> <i>B. thermoleovorans</i> A2 <i>Burkholderia cepacia</i> G4 <i>Burkholderia</i> species <i>Comamonas testosterone</i> P15 <i>Comamonas testosterone</i> E23 <i>Halomonas</i> sp. <i>Halophilic bacteria</i> CA00, CA08, SL03, SL08, SP04 Iron reducing organism GS-15 <i>Magnetospirillum</i> sp. <i>Micorbacterium phyllosphaerae</i> <i>Micrococcus</i> sp. <i>Nocardia</i> sp. <i>Pseudomonas</i> sp. <i>Pseudomonas cepacia</i> <i>Pseudomonas putida</i> BH <i>Pseudomonas putida</i> DSM 548 <i>Pseudomonas putida</i> EKII <i>Pseudomonas putida</i> MTCC 1194 <i>Pseudomonas putida</i> Q5 <i>Pseudomonas putida</i> NRRL- β -14875 <i>Pseudomonas putida</i> CCRC 14365 <i>Pseudomonas pictorum</i> NCIM 2077 <i>Pseudomonas putida</i> ATCC 11172 <i>Pseudomonas putida</i> ATCC 12633 <i>Pseudomonas putida</i> ATCC 1748 <i>Pseudomonas putida</i> ATCC 21812 <i>Pseudomonas putida</i> ATCC 4945 <i>Pseudomonas putida</i> F1 <i>Pseudomonas putida</i> F1 ATCC 700007 <i>Pseudomonas putida</i> ATCC 31800 <i>Pseudomonas putida</i> NICM 2174 <i>Pseudomonas putida</i> JS6	قارچ
	<i>Aspergillus niger</i> <i>Aspergillus terreus</i> <i>Coprinus</i> sp. <i>Coprinus cinereus</i> <i>C. cinereus</i> <i>C. micaceus</i> <i>Coriolus versicolor</i> <i>Fusarium</i> <i>Graphium</i> LE6, LE11, LA1, LE9, LA5, FIB4, AE2 <i>Geotrichum candidum</i> <i>Mycelia sterilia</i> <i>Penicillium</i> AF2, AF4, F1B9 <i>Pleurotus ostreatus</i> <i>Phanerochaete chrysosporium</i> <i>Rhizobium</i> sp., CCNWTB 701
	مخمر
	<i>Candida maltose</i> <i>Candida tropicalis</i> <i>Candida tropicalis</i> CHP4 <i>Candida tropicalis</i> Ct2 <i>Candida tropicalis</i> H15 <i>Candida tropicalis</i> NCYC 1503 <i>Candida tropicalis</i> 708 <i>Candida tropicalis</i> YMEC 14 <i>Dabaromyces subglobosus</i> <i>Rhodotorula glutinis</i> ATCC 28052 <i>Rhizobium</i> sp., CCNWTB 701 <i>Trichosporon cutaneum</i> R57
	جلبک
	<i>Ankistrodesmus braunii</i> <i>Ochromonas danica</i> <i>Scenedesmus quadricauda</i>

1- Traditional discontinuous press process; 2- Two-phase centrifugal system; 3- Three-phase centrifugal system; 4- Olive mill waste water; 5- Olive cake; 6- Two-phase olive mill waste; 7- Biochemical oxygen demand; 8- Chemical oxygen demand; 9- In vivo; 10- Atherosclerosis; 11- Supernatant; 12- Membrane modules; 13- Osmotic distillation; 14- Vacuum membrane distillation; 15- Micellar Enhanced Ultrafiltration; 16- Surfactant; 17- Surface modification; 18- Chemical modification; 19- Fly ash; 20- Copolymers; 21- Polymeric adsorbents; 22- Chemically inert; 23- Biosorption; 24- Grade; 25- Ozonation; 26- Coagulation- Flocculation; 27- Microfloc; 28- Pinflocs; 29- Electrocoagulation; 30- Flotation; 31- Alkalinity; 32- Co-digestion; 33- Hydraulic retention time; 34- Sequencing batch reactor; 35- Completely mixed batch activated sludge reactor; 36- Composting; 37- Photo-fenton; 38- Post- treatment.

منابع

- Abdelwahab O., Amin, N.K. and El-Ashtoukhy E.Z. 2009. Electrochemical removal of phenol from oil refinery wastewater. *Journal of hazardous materials*, 163(2): 711-716.
- Achak M., Hafidi A., Ouazzani N., Sayadi S. and Mandi L. 2009. Low cost biosorbent "banana peel" for the removal of phenolic compounds from olive mill wastewater: Kinetic and equilibrium studies. *Journal of hazardous materials*, 166(1): 117-125.
- Adhoum N. and Monser L. 2004. Decolourization and removal of phenolic compounds from olive mill wastewater by electrocoagulation. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 43(10): 1281-1287.
- Aktas E.S., Imre S. and Ersoy L. 2001. Characterization and lime treatment of olive mill wastewater. *Water Research*, 35(9): 2336-2340.
- Allouche N., Fki I. and Sayadi S. 2004. Toward a high yield recovery of antioxidants and purified hydroxytyrosol from olive mill wastewaters. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(2): 267-273.
- Ammary B.Y. 2005. Treatment of olive mill wastewater using an anaerobic sequencing batch reactor. *Desalination*, 177(1-3):157-165.
- Angelidaki I. and Ahring B.K. 1997. Codigestion of olive oil mill wastewaters with manure, household waste or sewage sludge. *Biodegradation*, 8(4): 221-226.
- Aouidi F., Gannoun H., Othman N.B., Ayed L. and Hamdi M. 2009. Improvement of fermentative decolorization of olive mill wastewater by *Lactobacillus paracasei* by cheese whey's addition. *Process Biochemistry*, 44(5): 597-601.
- Baker R.W. 2004. *Membrane technology and applications*. John Wiley & Sons, Ltd, 154-158, 207, 253, 303.

روش‌های تصفیه پساب کارخانجات روغن زیتون از ترکیبات فنولی را می‌توان در سه گروه دسته‌بندی کرد. گروه اول روش‌هایی که منجر به بازیابی ترکیبات ارزشمند فنولی می‌شوند. گروه دوم فرایندهای تخریب‌کننده این ساختارها و گروه سوم شامل روش‌هایی است که ترکیبات فنولی را از پساب جداسازی کرده بدون آن‌که آن‌ها را در ادامه بازیابی کنند.

فرایندهای غشایی و استخراج با حلال در گروه اول قرار دارند که عملیات غشایی ساده، ارزان و سازگار با محیط‌زیست هستند. اغلب این عملیات به‌منظور بازیابی پلی‌فنول‌ها از فاضلاب روغن زیتون استفاده می‌شوند. بنابراین پس از به‌کارگیری این تکنیک پساب همچنان نیازمند تیمار است. روش استخراج با حلال معایبی از جمله باقی‌ماندن حلال همراه محصول را دارد که حل این مشکل مستلزم زمان و هزینه اضافی برای انجام خالص‌سازی‌های بیشتر است. عملیات جذب سطحی به گروه اول و سوم تعلق دارد اما به‌دلیل پرهزینه بودن اغلب این روش با استفاده از جاذب‌های ارزان‌قیمت برای جداسازی ترکیبات فنولی از فاضلاب نام برده شده بدون بازیابی این ترکیبات استفاده می‌شود. فرایند انعقاد-لخته‌سازی نیز در گروه سوم قرار می‌گیرد. پساب تصفیه‌شده با این روش هنوز حاوی مقادیر قابل‌توجهی از ترکیبات فنولی است و نیاز به تیمار بیشتر دارد. به‌علاوه مشکل بزرگ روش‌های گروه سوم مسائل مربوط به دفع ترکیبات جداسازی شده می‌باشد. عملیات اکسید کردن و فرایندهای زیستی هوازی و بی‌هوازی در گروه دوم قرار دارند. تخریب ترکیبات فنولی طی فرایندهای زیستی هوازی و بی‌هوازی، به تخریب در طی اکسید کردن ارجحیت دارد. دلیل اهمیت این فرایند ۱- روش‌های زیستی اغلب ارزان و دوستدار محیط‌زیست هستند، ۲- می‌توانند ارزش افزوده‌ای مانند کود یا زیست‌گاز تولید کنند. از طرفی سمیت و اثر مہاری ترکیبات فنولی فاضلاب روغن زیتون، تیمارهای زیستی این پساب را محدود می‌کند. بنابراین ترکیب روش‌های زیستی با مراحل فیزیکیوشیمیایی ضروری است. همچنین تخریب ترکیبات فنولی طی فرایند زیستی هم‌هضمی می‌تواند ضمن جبران برخی ویژگی‌ها و ترکیب نامتعادل فاضلاب روغن زیتون، از تیمار جداگانه هر پساب مقرون به‌صرفه‌تر باشد. با توجه به مطالعات انجام شده، پیش‌تیمار پساب واحدهای استحصال روغن زیتون با عملیات غشایی و سپس تیمار آن با فرایندهای زیستی هوازی و بی‌هوازی راهکار مناسبی به‌نظر می‌رسد. تلفیق این دو روش منجر به بازیابی ترکیبات پلی‌فنولی و تولید کود و زیست‌گاز می‌شود. به‌این ترتیب با روش‌های ساده و ارزان می‌توان علاوه بر پاک‌سازی سازگار با محیط‌زیست این پساب از ترکیبات فنولی، بیشترین ارزش افزوده به‌منظور جبران هزینه‌ها را به‌دست آورد. با این وجود عملیاتی شدن هر کدام از روش‌های تصفیه این فاضلاب یا ترکیبی از این روش‌ها، نیازمند بررسی جنبه‌هایی مانند بهینه‌سازی شرایط و امکان‌سنجی‌های اقتصادی است.

- treatment. *Process Biochemistry*, 34(6):697-706.
- D'Annibale A., Stazi S.R., Vinciguerra V. and Sermanni G.G. 2000. Oxirane-immobilized *Lentinula edodes* laccase: stability and phenolics removal efficiency in olive mill wastewater. *Journal of biotechnology*, 77(2): 265-273.
- De Leonardis A., Macciola V., Lembo G., Aretini A. and Nag A. 2007. Studies on oxidative stabilisation of lard by natural antioxidants recovered from olive-oil mill wastewater. *Food Chemistry*, 100(3): 998-1004.
- De Marco E., Savarese M., Paduano A. and Sacchi R. 2007. Characterization and fractionation of phenolic compounds extracted from olive oil mill wastewaters. *Food Chemistry*, 104(2): 858-867.
- El-Abbassi A., Khayet M. and Hafidi A. 2011. Micellar enhanced ultrafiltration process for the treatment of olive mill wastewater. *Water research*, 45(15): 4522-4530.
- Ena A., Pintucci C. and Carlozzi P. 2012. The recovery of polyphenols from olive mill waste using two adsorbing vegetable matrices. *Journal of biotechnology*, 157(4): 573-577.
- Galanakis C.M., Tornberg E. and Gekas V. 2010. Recovery and preservation of phenols from olive waste in ethanolic extracts. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 85(8): 1148-1155.
- Ganoun H., Othman B., Bouallagui H. and Hamdi M. 2005. Anaerobic co-digestion of olive mill wastewaters and abattoir wastewaters. In *Proc 3rd Eur Bioremediation Conf.*
- Garcia-Castello E., Cassano A., Crisculi A., Conidi C. and Drioli, E. 2010. Recovery and concentration of polyphenols from olive mill wastewaters by integrated membrane system. *Water research*, 44(13): 3883-3892.
- Gebreyohannes A.Y., Mazze R. and Giorn L. 2016. Trends and current practices of olive mill wastewater treatment: Application of integrated membrane process and its future perspective. *Separation and Purification Technology*, 162: 45-60.
- Gotsi M., Kalogerakis N., Psillakis E., Samaras P. and Mantzavinos D. 2005. Electrochemical oxidation of olive oil mill wastewaters. *Water Research*, 39(17): 4177-4187.
- Hamdi M., Garcia J.L. and Ellouz R. 1992. Integrated biological process for olive mill wastewater treatment. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 8(1): 79-84.
- Hamdi M. 1996. Anaerobic digestion of olive mill wastewaters. *Process Biochemistry*, 31(2): 105-110.
- Hanafi F., Assobhei O. and Mountadar, M. 2010. Detoxification and discoloration of Moroccan olive mill wastewater by electrocoagulation. *Journal of hazardous materials*, 174(1): 807-812.
- Jalilnejad E., Mogharei A. and Vahabzadeh F. 2011. Aerobic pretreatment of olive oil mill wastewater using *Ralstonia eutropha*. *Environmental technology*, 32(10): 1085-1093.
- Jaouani A., Sayadi S., Vanthourhout M. and Penninckx M.J. 2003. Potent fungi for decolourisation of olive oil mill wastewaters. Benitez J., Beltran-Heredia J., Torregrosa J., Acero J.L. and Cercas V. 1997. Aerobic degradation of olive mill wastewaters. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 47(2): 185-188.
- Benitez F.J., Beltran Heredia J., Torregrosa J. and Acero J.L. 1999. Treatment of olive mill wastewaters by ozonation, aerobic degradation and the combination of both treatments. *Journal of chemical technology and biotechnology*, 74(7): 639-646.
- Bertin L., Berselli S., Fava F., Petrangeli-Papini M. and Marchetti L. 2004. Anaerobic digestion of olive mill wastewaters in biofilm reactors packed with granular activated carbon and "Manville" silica beads. *Water research*, 38(14): 3167-3178.
- Borja R., Alba J., Garrido S.E., Martinez L., Garcia M.P., Incerti C. and Ramos-Cormenzana A. 1995. Comparative study of anaerobic digestion of olive mill wastewater (OMW) and OMW previously fermented with *Aspergillus terreus*. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 13(6): 317-322.
- Bouaziz M., Hammami H., Bouallagui Z., Jemai H. and Sayadi S. 2008. Production of antioxidants from olive processing by-products. *EJEAFChE*, 7(8): 3231-3236.
- Bratby J. 2006. *Coagulation and flocculation in water and wastewater treatment*. IWA publishing.
- Brunner G. 2013. *Gas extraction: an introduction to fundamentals of supercritical fluids and the application to separation processes* (Vol. 4). Springer Science & Business Media.
- Caputo A.C., Scacchia F. and Pelagagge P.M. 2003. Disposal of by-products in olive oil industry: waste-to-energy solutions. *Applied Thermal Engineering*, 23(2): 197-214.
- Casalino E., Calzaretto G., Sblano C., Landriscina V., Tecce M.F. and Landriscina C. 2002. Antioxidant effect of hydroxytyrosol (DPE) and Mn²⁺ in liver of cadmium-intoxicated rats. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 133(4): 625-632.
- Catherine H., Penninckx, M. and Frédéric D. 2016. Product formation from phenolic compounds removal by laccases: A review. *Environmental Technology & Innovation*, 5: 250-266.
- Cerrone F., Barghini P., Pesciaroli C. and Fenice M. 2011. Efficient removal of pollutants from olive washing wastewater in bubble-column bioreactor by *Trametes versicolor*. *Chemosphere*, 84(2): 254-259.
- Cherifi H., Hanini S. and Bentahar F. 2009. Adsorption of phenol from wastewater using vegetal cords as a new adsorbent. *Desalination*, 244(1-3): 177-187.
- Couto S.R. and Herrera J.L.T. 2006. Industrial and biotechnological applications of laccases: a review. *Biotechnology advances*, 24(5): 500-513.
- D'Annibale A., Stazi S.R., Vinciguerra V., Di Mattia E. and Sermanni G.G. 1999. Characterization of immobilized laccase from *Lentinula edodes* and its use in olive-mill wastewater

- Rao J.R. and Viraraghavan, T. 2002. Biosorption of phenol from an aqueous solution by *Aspergillus niger* biomass. *Bioresource Technology*, 85(2): 165-171.
- Raposo F., Borja R., Sanchez E., Martín M.A. and Martín A. 2004. Performance and kinetic evaluation of the anaerobic digestion of two-phase olive mill effluents in reactors with suspended and immobilized biomass. *Water Research*, 38(8): 2017-2026.
- Rozzi A. and Malpei F. 1996. Treatment and disposal of olive mill effluents. *International biodeterioration & biodegradation*, 38(3-4): 135-144.
- Rubín E., Rodríguez P., Herrero R., de Vicente S. and Manuel E. 2006. Biosorption of phenolic compounds by the brown alga *Sargassum muticum*. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 81(7): 1093-1099.
- Sabbah I., Marsook T. and Basheer S. 2004. The effect of pretreatment on anaerobic activity of olive mill wastewater using batch and continuous systems. *Process Biochemistry*, 39(12):1947-1951.
- Scoma A., Bertin L., Zanaroli G., Fraraccio S. and Fava F. 2011. A physicochemical-biotechnological approach for an integrated valorization of olive mill wastewater. *Bioresource technology*, 102(22): 10273-10279.
- Servili M., Esposto S., Veneziani G., Urbani S., Taticchi A., Di Maio I., Selvaggini R., Sordini B. and Montedoro G. 2011. Improvement of bioactive phenol content in virgin olive oil with an olive-vegetation water concentrate produced by membrane treatment. *Food Chemistry*, 124(4): 1308-1315.
- Soto M.L., Moure A., Dominguez H. and Parajó J.C. 2011. Recovery, concentration and purification of phenolic compounds by adsorption: a review. *Journal of Food Engineering*, 105(1): 1-27.
- Takaç S. and Karakaya A. 2009. Recovery of phenolic antioxidants from olive mill wastewater. *Recent Patents on Chemical Engineering*, 2(3): 230-237.
- Tomati U., Galli E., Fiorelli F. and Pasetti L. 1996. Fertilizers from composting of olive-mill wastewaters. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 38(3-4): 155-162.
- Tsioulpas A., Dimou D., Iconomou D. and Aggelis G. 2002. Phenolic removal in olive oil mill wastewater by strains of *Pleurotus* spp. in respect to their phenol oxidase (laccase) activity. *Bioresource Technology*, 84(3): 251-257.
- Ubay G. and Öztürk I. 1997. Anaerobic treatment of olive mill effluents. *Water science and technology*, 36(2-3): 287-294.
- Ugurlu M. and Hazirbulan S. 2007. Removal of some organic compounds from pre-treated olive mill wastewater by sepiolite. *Fresenius Environmental Bulletin*, 16(8): 887-895.
- Visioli F., Caruso D., Plasmati E., Patelli R., Mulinacci N., Romani A., Galli G. and Galli C. 2001. Hydroxytyrosol, as a component of olive mill waste water, is dose-dependently absorbed and increases the antioxidant capacity of rat plasma. *Free Radical Research*, 34(3): 301-305.
- Enzyme and Microbial Technology, 33(6):802-809.
- Karageorgos P., Coz A., Charalabaki M., Kalogerakis N., Xekoukoulotakis N.P. and Mantzavinos D. 2006. Ozonation of weathered olive mill wastewaters. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 81(9): 1570-1576.
- Lakshmi M.C. and Sridevi V. 2009. A review on biodegradation of phenol from industrial effluents. *Industrial Pollution Control*, 25(1): 13-27.
- Léger C.L., Kadiri-Hassani N. and Descomps B. 2000. Decreased superoxide anion production in cultured human promonocyte cells (THP-1) due to polyphenol mixtures from olive oil processing wastewaters. *Journal of agricultural and food chemistry*, 48(10): 5061-5067.
- Martinez-Garcia G., Johnson A.C., Bachmann R.T., Williams C.J., Burgoyne A. and Edyvean R.G.J. 2007. Two-stage biological treatment of olive mill wastewater with whey as co-substrate. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 59(4): 273-282.
- Martínková L., Kotik M., Marková E. and Homolka L. 2016. Biodegradation of phenolic compounds by Basidiomycota and its phenol oxidases: a review. *Chemosphere*, 149: 373-382.
- Martirani L., Giardina P., Marzullo L. and Sannia G. 1996. Reduction of phenol content and toxicity in olive oil mill wastewaters with the ligninolytic fungus *Pleurotus ostreatus*. *Water Research*, 30(8): 1914-1918.
- Morillo J.A., Antizar-Ladislao B., Monteoliva-Sánchez M., Ramos-Cormenzana A. and Russell N.J. 2009. Bioremediation and biovalorisation of olive-mill wastes. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 82(1): 25.
- Niaounakis M. and Halvadakis C.P. 2004. Olive-mill waste management: literature review and patent survey, *Typothito*.
- Ntougias S., Bourtzis K. and Tsiamis G. 2013. The microbiology of olive mill wastes. *BioMed research international*, 2013.
- O'Melia C.R. 1978. Coagulation in wastewater treatment. In *The Scientific Basis of Flocculation*, 219-268.
- Papaphilippou P.C., Yiannapas C., Politi M., Daskalaki V.M., Michael C., Kalogerakis N., Mantzavinos D. and Fatta-Kassinos D. 2013. Sequential coagulation-flocculation, solvent extraction and photo-Fenton oxidation for the valorization and treatment of olive mill effluent. *Chemical Engineering Journal*, 224: 82-88.
- Paraskeva P. and Diamadopoulos E. 2006. Technologies for olive mill wastewater (OMW) treatment: a review. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 81(9): 1475-1485.
- Querol X., Moreno N., Umaña J.T., Alastuey A., Hernández E., Lopez-Soler A. and Plana F. 2002. Synthesis of zeolites from coal fly ash: an overview. *International Journal of coal geology*, 50(1): 413-423.
- Rahmanian N., Jafari S.M. and Galanakis C.M. 2014. Recovery and removal of phenolic compounds from olive mill wastewater. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 91:1-18.