

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

KORINA KROG

PRIMJENA BLISKO INFRACRvene SPEKTROSKOPIJE U  
ANALIZI PROCESA KOMPOSTIRANJA POKOŽICE  
GROŽĐA

ZAGREB, 2023.

Ovaj rad izrađen je u Laboratoriju za mjerenje, regulaciju i automatizaciju, Zavoda za procesno inženjerstvo, Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, Sveučilišta u Zagrebu pod vodstvom izv.prof.dr.sc. Ane Jurinjak Tušek te uz pomoć Tee Sokač Cvetnić, mag.ing.oecoing. i predan je na natječaj za dodjelu Rektorove nagrade u akademskoj godini 2022./2023.



Projekt je sufinancirala Europska unija iz Europskog fonda za regionalni razvoj

Rad je izrađen u sklopu projekta „Održivo gospodarenje otpadom od proizvodnje vina (0-Vin0tpad)“ financiranog iz Europskog fonda za regionalni razvoj u Operativnom programu Konkurentnost i kohezija 2014.-2020., Jačanje kapaciteta za istraživanje, razvoj i inovacije KK.01.1.1.07.0007

|  |    |
|--|----|
| <b>1. UVOD</b> .....   | 1  |
| <b>1.1. Komina grožđa</b> .....  | 1  |
| <b>1.2. Kompostiranje</b> .....  | 3  |
| <b>1.2.1. Varijable koje utječu na proces kompostiranja</b> .....                            | 6  |
| <i>1.2.1.1. Mikroorganizmi</i> .....   | 6  |
| <i>1.2.1.2. Aeracija</i> .....   | 7  |
| <i>1.2.1.3. Udio vlage</i> .....   | 7  |
| <i>1.2.1.4. Omjer ugljika i dušika (C/N omjer)</i> .....                                     | 8  |
| <i>1.2.1.5. Temperatura</i> .....  | 8  |
| <i>1.2.1.6. pH vrijednost</i> .....  | 9  |
| <i>1.2.1.7. Veličina čestica materijala koji se kompostira</i> .....                         | 9  |
| <b>1.3. Blisko infracrvena spektroskopija (NIR)</b> .....                                    | 10 |
| <b>1.3.1. Osnovne karakteristike blisko infracrvene spektroskopije</b> .....                 | 10 |
| <b>1.3.2. NIR instrumenti</b> .....  | 11 |
| <b>1.3.3. Analiza podataka prikupljenih blisko infracrvenom spektroskopijom</b> .....        | 11 |
| <b>1.3.4. Primjena blisko infracrvene spektroskopije u analizi procesa kompostiranja</b> ... | 13 |
| <b>2. OPĆI I SPECIFIČNI CILJEVI RADA</b> .....   | 15 |
| <b>3.MATERIJALI I METODE</b> .....   | 14 |
| <b>3.1. Materijali</b> .....   | 16 |
| 3.1.1. Sirovina za kompostiranje .....   | 16 |
| 3.1.2. Kemikalije .....  | 16 |
| 3.1.3. Aparatura, pribor i programski paketi .....   | 17 |
| <i>3.1.3.1. Aparatura</i> .....  | 17 |
| <i>3.1.3.2. Pribor</i> .....   | 18 |
| <i>3.1.3.3. Programski paketi</i> .....  | 18 |
| <b>3.2. Metode</b> .....   | 19 |
| 3.2.1. Ekstrakcija biološki aktivnih molekula iz komine grožđa.....                          | 19 |
| 3.2.2. Analize fizikalno-kemijskih svojstava ekstrakata pokožice grožđa .....                | 19 |
| <i>3.2.2.1. pH vrijednost uzoraka ekstrakata pokožice grožđa</i> .....                       | 19 |
| <i>3.2.2.2. Vodljivost i ukupne otopljene tvari uzoraka ekstrakata pokožice grožđa</i> ..... | 19 |

|  |    |
|--|----|
| 3.3.2.3. <i>Određivanje suhe tvari uzoraka ekstrakata pokožice grožđa standardnom metodom sušenja</i> .....  | 19 |
| 3.3.2.4. <i>Određivanje boje uzoraka ekstrakata pokožice grožđa</i> .....  | 20 |
| 3.3.2.5. <i>Određivanje udjela ukupnih polifenola</i> .....  | 21 |
| 3.3.2.6. <i>Određivanje antioksidacijskog kapaciteta DPPH metodom</i> .....  | 21 |
| 3.3.2.7. <i>FRAP metoda za određivanje antioksidacijske aktivnosti</i> .....   | 22 |
| 3.2.3. <i>Provedba procesa kompostiranja</i> .....   | 22 |
| 3.2.4. <i>Fizikalno-kemijske i mikrobiološke analize</i> .....   | 24 |
| 3.2.4.1. <i>Udio suhe tvari i udio vlage uzoraka kompostu</i> .....  | 24 |
| 3.2.4.2. <i>pH vrijednost uzoraka komposta</i> .....   | 24 |
| 3.2.4.3. <i>Vodljivost i ukupne otopljene tvari uzoraka komposta</i> .....   | 24 |
| 3.2.4.4. <i>Udio ukupne organske tvari u uzorcima komposta</i> .....   | 24 |
| 3.2.4.5. <i>Udio pepela u uzorcima komposta</i> .....  | 25 |
| 3.2.4.6. <i>Udio ukupnog organskog ugljika u uzorcima komposta</i> .....   | 25 |
| 3.2.4.7. <i>Boja uzoraka komposta i boja ekstrakata uzoraka komposta</i> .....   | 25 |
| 3.2.4.8. <i>Nasipna gustoća uzoraka komposta</i> .....   | 26 |
| 3.2.4.9. <i>Određivanje ukupnog broja živih stanica bakterija i gljiva u uzorcima komposta</i> .....   | 26 |
| 3.2.4.10. <i>NIR spektroskopija uzoraka komposta i ekstrakata uzoraka komposta</i> .....   | 26 |
| 3.2.5. <i>Statistička analiza i modeliranje</i> .....  | 27 |
| 3.2.5.1. <i>Osnovna statistička analiza podataka prikupljenih tijekom provedbe procesa kompostiranja</i> .....   | 27 |
| 3.2.5.2. <i>Analiza glavnih komponenata NIR spektara</i> .....   | 27 |
| 3.2.5.3. <i>Modeli neuronskih mreža za predviđanje fizikalno-kemijskih svojstava komposta tijekom procesa kompostiranja na temelju NIR spektara</i> .....          | 28 |
| <b>4. REZULTATI</b> .....  | 30 |
| <b>4.1. Ekstrakcija biološki aktivnih molekula iz pokožice grožđa</b> .....  | 30 |
| <b>4.2. Fizikalno-kemijska svojstva komposta tijekom procesa kompostiranja</b> .....   | 36 |
| <b>4.3. NIR spektri uzoraka komposta i ekstrakata uzoraka komposta</b> .....   | 45 |
| <b>4.4. Analiza glavnih komponenata (engl. <i>Principal Component Analysis, PCA</i>) analiza NIR spektara uzoraka komposta i ekstrakata uzoraka komposta</b> ..... | 52 |
| <b>4.5. Modeli umjetnih neuronskih mreža za predviđanje svojstava komposta tijekom procesa kompostiranja na temelju NIR spektara</b> .....                         | 57 |
| <b>5. RASPRAVA</b> .....   | 63 |

|  |           |
|--|-----------|
| <b>5.1. Ekstrakcija biološki aktivnih molekula iz pokožice grožđa .....</b>  | <b>63</b> |
| <b>5.2. Fizikalno-kemijska svojstva komposta tijekom procesa kompostiranja .....</b>                                 | <b>66</b> |
| <b>5.3. NIR spektri uzoraka komposta i ekstrakata uzoraka komposta tijekom procesa kompostiranja.....</b>            | <b>69</b> |
| <b>5.4. Analiza glavnih komponenata (engl. <i>Principal Component Analysis</i>, PCA) NIR spektara.....</b>           | <b>71</b> |
| <b>5.5. ANN modeli za predviđanje svojstava komposta tijekom procesa kompostiranja na temelju NIR spektara .....</b> | <b>72</b> |
| <b>6. ZAKLJUČCI.....</b>   | <b>76</b> |
| <b>7. ZAHVALA .....</b>  | <b>77</b> |
| <b>8. POPIS LITERATURE .....</b>   | <b>71</b> |
| <b>Sažetak .....</b>   | <b>93</b> |
| <b>Abstract.....</b>   | <b>94</b> |

## **1. UVOD**

## 1.1. Komina grožđa

Komina grožđa je glavni nusproizvod koji se dobiva pri proizvodnji vina. Čini dobar izvor polifenola, metala i organskih kiselina (Perra i sur., 2022; Mendes i sur., 2012). Proučavanje njene biološke aktivnosti, kao i optimiranje ekstrakcije bioaktivnih komponenata, od velikog je značaja (Gerardi i sur., 2020) jer se može upotrijebiti kao supstrat za neki drugi tehnološki proces kojim se dobiva novi proizvod. Predstavlja 20-25 % ukupne mase procesiranog grožđa, a varira s obzirom na vrstu grožđa, stupanj zrelosti te vrstu preše koja se koristila prilikom obrade. Prema Spinei i Oroian (2021) 1 tona komine grožđa sastoji od 425 kg pokožice grožđa, 225 kg sjemenki, 249 kg peteljki (slika 1) i ostalih komponenti koje su prisutne u puno manjoj količini.



**Slika 1.** Sastav komine grožđa (prema Spinei i Oroian, 2021)

Uslijed povećane potražnje za proizvodima prirodnog podrijetla, komina je pronašla širok spektar moguće uporabe od prehrambene industrije (u obliku dijetalnih vlakana i polifenola), preko kozmetičke industrije (kao biosurfaktant) do farmaceutske industrije (kao izvor dodataka prehrani) (Beres i sur., 2017).



Prilikom proizvodnje vina, grožđe se gnječi i tiješti, što nema utjecaja na njegov kemijski sastav. Jedina iznimka je fermentacija crvenog vina pri čemu dolazi do promjena u sastavu ugljikohidrata, no radi se o vrlo malim promjenama. Smatra se da čak 70 % sadržaja polifenola ostaje sačuvano u komini (Gutiérrez-Escobar i sur., 2021). Polifenoli čine jednu od najbrojnijih, najvažnijih i široko rasprostranjenih komponenti u biljnom svijetu. Pripisuje im se nekoliko svojstava pozitivnih za ljudsko zdravlje, poput protuupalnog, antimikrobnog, antioksidativnog, antitrombotičnog, kardioprotektivnog i vazodilatatornog djelovanja. Polifenoli koji se nalaze u grožđu mogu se podijeliti u tri glavne skupine: fenolne kiseline, flavonoidi i tanini (Beres i sur., 2017). Nekoliko prekliničkih i kliničkih studija sugerira da kemijski sintetizirani ili pročišćeni polifenoli ne pružaju istu biološku aktivnost kao hrana bogata istim spojevima. No, s ciljem da se kao izvor spojeva koristi komina grožđa, proučena je ekstrakcija polifenola vodom. Polifenoli prisutni u vodenom ekstraktu brže se apsorbiraju, metaboliziraju, izlučuju te pokazuju nisku bioraspoloživost (Vamanu i sur., 2020; Brglez Mojzer i sur., 2016). Ovo čini još jedan dokaz da postoji potencijal iskorištavanja ovog nusproizvoda i mogućnost predlaganja novog proizvodnog lanca. Međutim, investicijski troškovi za nove proizvode prehrambenog lanca su često visoki i korištenje vrijednih proizvoda u funkcionalnoj hrani rezultira regulatornim problemima (Gerardi i sur., 2020).

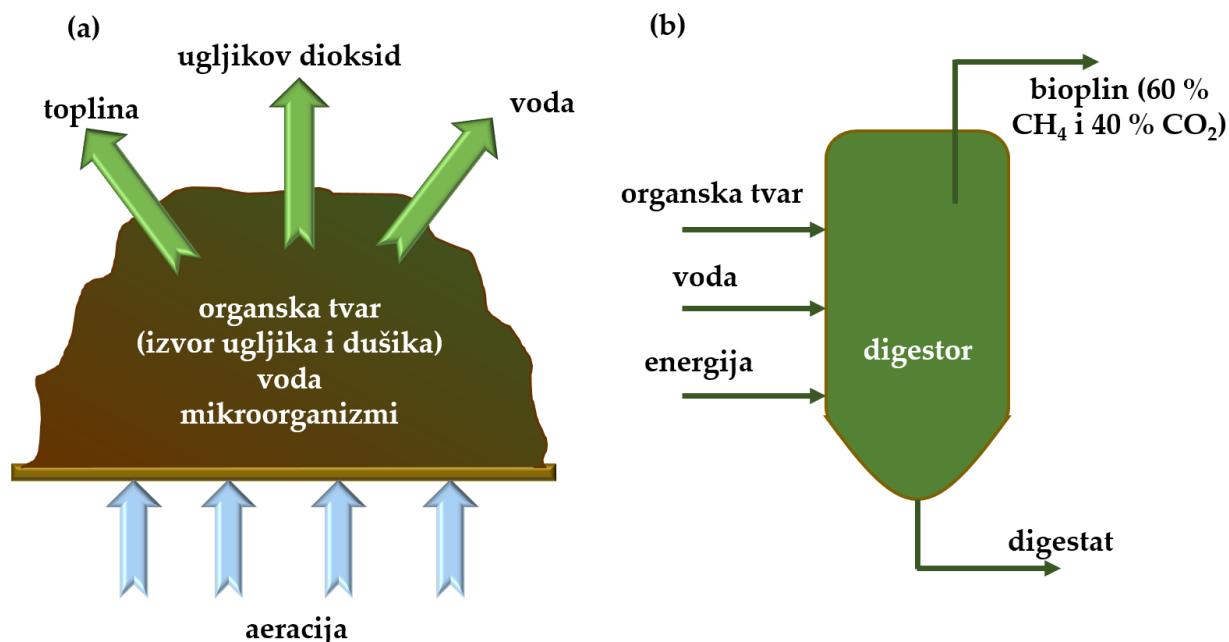
Komina grožđa ima relativno nizak sadržaj dušika i fosfora, aspekt koji bi mogao negativno utjecati na aerobne procese, dok je mnogo manje relevantan u anaerobnim procesima, jer je proizvodnja biomase po jedinici mase razgrađenog supstrata znatno niža. Osim polifenola, komina je bogata vlaknima (43-75 %), celulozom, hemicelulozom, ligninom i pektinom. Sjemenke grožđa su bogatije vlaknima od pokožice grožđa, a komina crvenog grožđa ima veći sadržaj vlakana u odnosu na bijelu sortu. Pokožica grožđa sadrži lignocelulozni kompleks koji sadrži znatnu količinu hemiceluloze i pektina (Spinei i Oroian, 2021).

Kao što je spomenuto, komina čini velik dio otpada pri proizvodnji vina pa bi korištenje komponenata poput pokožice, pulpe, peteljki i sjemenke uvelike utjecalo na smanjenje količine otpada u okolišu. Još jedna velika prednost bila bi što se proizvodnji dodaje vrijednost, a smanjuje količina troškova za zbrinjavanje tog otpada (Balli i sur., 2021). Uobičajena praksa u Europi je bila da se takva komina zakopa, no donesene su mjere protiv takvog postupanja zbog utjecaja komine na eroziju tla i na kvalitetu podzemnih voda (Antonić i sur., 2020).

## 1.2. Kompostiranje

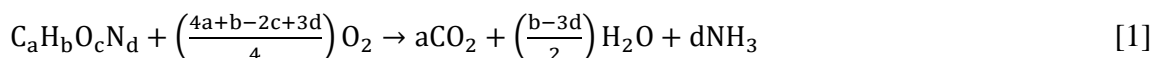
Suvremeni način života doveo je do potrebe suočavanja s problemom velike količine otpada koji se stvara na globalnoj razini. S obzirom na masu samog otpada, najveći problem je upravo biorazgradivi otpad koji se sastoji od ostataka voća i povrća upotrijebljenih u našem svakodnevnom životu iz kućanskih i industrijskih djelatnosti (Waqas i sur., 2023; Debrah i sur., 2021; Brunner i Fellner, 2007). Njegovo nepravilno odlaganje može predstavljati rizik za okoliš i ljudsko zdravlje budući da razgradnja takve vrste otpada na odlagalištima dovodi do proizvodnje metana što posljedično doprinosi pojavi efekta staklenika (Sokač i sur., 2022). Unatoč navedenoj činjenici, biorazgradivi otpad ima značajan potencijal za doprinos kružnom biogospodarstvu zbog mogućnosti njegova korištenja u procesu proizvodnje proizvoda poput gnojiva, nefosilnih goriva i poboljšivača tla (Spoann i sur., 2018; Zohoori i Ghani, 2017). Pristup otpadu kao resursu pokazao se kao vrlo privlačan način rješavanja svakodnevnog problema obrade i odlaganja istog. Jedan od procesa koji je razvijen upravo s ovim ciljem je kompostiranje (Sayara i sur., 2020). Smatra se ekološki prihvatljivim i isplativim postupkom za procesiranje organskog otpada. Tijekom procesa kompostiranja dolazi do razgradnje polimernih otpadnih materijala uzrokovane rastom različitih mikroorganizama poput gljiva i bakterija. Ovaj je postupak obrade, u mnogim aspektima, poprilično složen jer se radi o velikom broju procesa, od onih mikrobioloških do termodinamičkih, koji su međusobno u korelaciji (Fan i sur., 2021).

Razlikujemo dva glavna načina procesa kompostiranja; aerobno i anaerobno kompostiranje (Meena i sur., 2021) (slika 2).

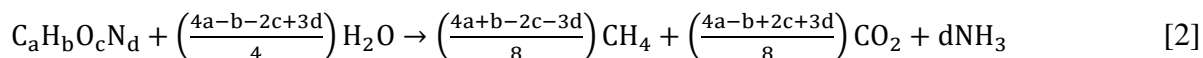


**Slika 2.** Shematski prikaz (a) aerobnog i (b) anaerobnog procesa kompostiranja (prema Lin i sur., 2019)

Aerobno kompostiranje predstavlja razgradnju organskog otpada u prisustvu kisika, a produkti takve reakcije su ugljikov dioksid, voda, toplina i amonijak (jednadžba 1).



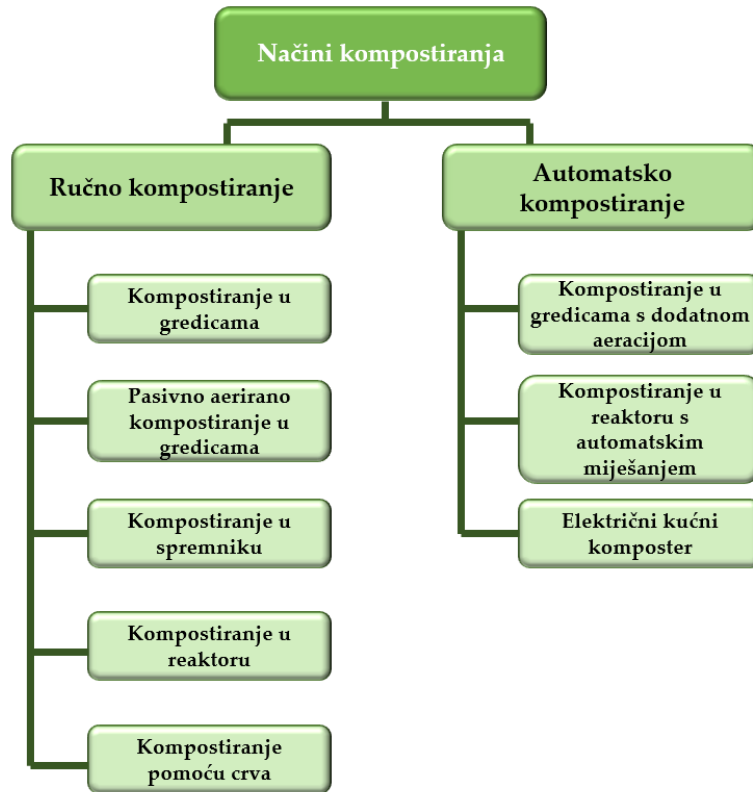
Kako bi postupak aerobnog kompostiranja bio učinkovitiji, ovaj se proces koristi ukoliko smjesa otpada koji se obrađuje ima vlažnost 40-60 % i C/N omjer 25-30:1 (El-mrini i sur., 2022; Guo i sur., 2012). Ukoliko se ova dva parametra značajno promjene, dolazi do inhibicije razgradnje. Najvažnije je osigurati kontinuiran dovod kisika (Ma i sur., 2020). Kod anaerobnog kompostiranja, razgradnja organskog otpada odvija se bez prisutnosti kisika pa su stoga produkti takve reakcije nešto drugačiji: metan, ugljikov dioksid, amonijak te ostali plinovi i organske kiseline koji se pojavljuju u tragovima (jednadžba 2) (Shah i sur., 2017).



Tradicionalno se anaerobno kompostiranje koristilo za kompostiranje životinjskog izmeta i mulja od otpadnih voda, no u današnje vrijeme sve više se koristi za kompostiranje komunalnog krutog otpada i zelenog otpada (Atalia i sur., 2015).

Loše izvedeno kompostiranje može rezultirati neadekvatno stabiliziranim produktom, odnosno nezrelim kompostom što zbog fitotoksičnosti može uzrokovati pojavu bolesti ili određenih oštećenja kod biljaka (Mahapatra i sur., 2022). Također se može odraziti na kvalitetu tla, a time i rast biljaka. Prvi parametar kojim se definira kvaliteta komposta je njegova stabilnost (Bazrafshan i Zarei, 2016). Temelji se na razini otpornosti produkta na razgradnju ili previsoku mikrobiološku aktivnost. Osim toga, kvalitetu možemo definirati i na temelju zrelosti koja je povezana s mogućnosti produkta da se učinkovito koristi na području agrokulture, a konkretno se odnosi na rast biljke i fitotoksičnost (Rashwan i sur., 2021; Raj i Antil, 2011).

Kompostiranje se može provesti u zatvorenim reaktorima ili otvorenim sustavima (Azis i sur., 2022; Ugak i sur., 2022). Ukoliko se ispravno izvodi, nema razlike u vremenu kompostiranja. Zatvoreni sustavi imaju prednost jer nude veću mogućnost manipuliranja uvjetima kompostiranja kao što su udio vlage u uzrocima i/ili protok zraka, za razliku od otvorenih sustava, no s ekonomskog stajališta nisu toliko privlačni. U praksi se više upotrebljavaju otvoreni sustavi zbog svoje svestranosti i lakše predvidljivih rezultata (Lim i sur., 2017). Uobičajeno, kompostiranje je pod utjecajem atmosferske temperature i vlažnosti i traje od 3 do 6 mjeseci. Kako bi se postiglo ubrzanje, a time i veća ekonomičnost, apliciraju se razvijene industrijske metode koje daju produkt veće kvalitete u kraćem vremenskom razdoblju koji je kompatibilniji s potrebama agrokulture. Najčešće korišteni načini kompostiranja prikazani su na slici 3.



**Slika 3.** Načini kompostiranja (prema Azis i sur., 2022)

### 1.2.1. Varijable koje utječu na proces kompostiranja

Učinkovitost kompostiranja pod utjecajem je okolišnih varijabli poput aeracije, temperature, vlažnosti i pH vrijednosti te supstratnih parametara koji podrazumijevaju C/N omjer (omjer ugljik/dušik) i sadržaj hranjivih tvari (Azis i sur., 2022; Sokač i sur., 2022). Radi postizanja što bolje bolje učinkovitosti procesa kod postavljanja procesa potrebno je u obzir uzeti sve nabrojane varijable i njihove interakcije.

#### 1.2.1.1. Mikroorganizmi

Kao što je već spomenuto, mikroorganizmi igraju veliku ulogu u procesu kompostiranja. Poznato je da se u biološkom materijalu nalaze različite vrste gljiva, bakterija, plijesni i ostalih organizama (Pan i sur., 2012). Otkriveno je da je veći broj organizama uključen u proces aerobne razgradnje nego u proces anaerobne razgradnje. U literaturi je također opisano da su glavne bakterijske

skupine na početku procesa kompostiranja mezofilne bakterije koje proizvode organsku kiselinu kao što su *Lactobacillus* spp. i *Acetobacter* spp (Rastogi i sur., 2020). Kasnije, u termofilnoj fazi, Gram-pozitivne bakterije poput *Bacillus* spp. i *Actinobacteria*, postaju dominantne (Partanen i sur., 2010). Međutim, uočeno je da se najučinkovitiji proces kompostiranja postiže miješanim zajednicama bakterija i gljiva.

#### *1.2.1.2. Aeracija*

Najmoderniji postupci kompostiranja nastoje održati aerobne uvjete tijekom trajanja procesa. Mikroorganizmi kisik koriste kao krajnji akceptor elektrona u aerobnoj respiraciji i oksidaciji nekoliko vrsta organskih spojeva. Količina zraka koji se dovodi mora se pravilno odrediti jer, iako prevelika količina nije štetna, može utjecati na ostale parametre (Vilela i sur., 2022; Gao i sur., 2010). Dovod zraka mora biti kontinuiran i precizno reguliran. Preintenzivna aeracija mogla bi dovesti do otežanog održavanja temperature sustava, a i do prekomjernog isparavanja što bi u konačnici učinilo vlagu ograničavajućim faktorom (Rasapoor i sur., 2009). Iz navedenih razloga pronađena je optimalna razina kisika koja iznosi 10-30 % (Atalia i sur., 2015; Kulcu i Yaldiz, 2004). Aeracija se najčešće provodi upuhivanjem ili koristeći vakuum. Upuhivanje je brže i omogućava bolju kontrolu varijabli procesa, a time rezultira i krajnjim proizvodom veće kvalitete (Barrington i sur., 2003).

#### *1.2.1.3. Udio vlage*

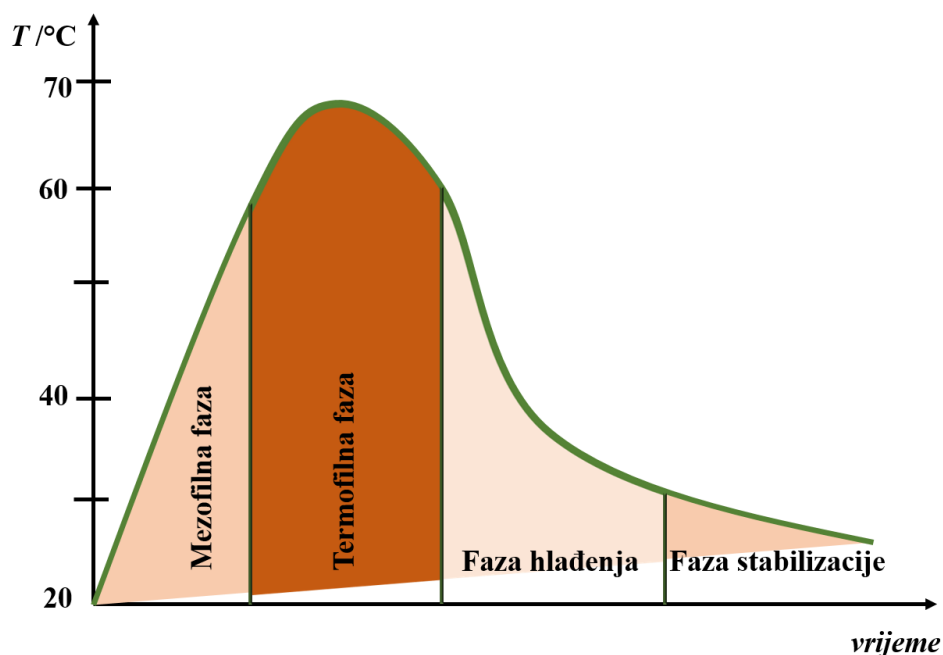
Udio vlage i aeracija su međusobno povezane varijable koje utječu na tijek procesa kompostiranja (Kim i sur., 2016; Liang i sur., 2003). Udio vlage također ima utjecaj i na temperaturu i mikrobiološku aktivnost (Jain i sur., 2019). Tijekom kompostiranja, udio vlage je važan za prijenos otopljenih hranjivih tvari potrebnih za fiziološke i metaboličke aktivnosti mikroorganizama (Nada, 2015). Povećanje vlažnosti dovodi do smanjenja difuzije plinova pa količina potrebnog kisika u tom slučaju možda neće biti dovoljna da zadovolji potrebe mikroorganizama (Liang i sur., 2003). U konačnici, proces prelazi u anaeroban zbog ograničene mikrobiološke aktivnosti. No, premala količina vlage također će naškoditi procesu. Osim toga premali udio vlage, može dovesti do dehidracije supstrata u ranim fazama procesa (Chen i sur., 2020). Prema literaturi, postotak vlage 40-60 % smatra se optimalnim za kompostiranje (Atalia i sur., 2015; Richard i sur., 2013). Nakon što je kompostiranje završeno, sušenje se razmatra kao opcija skladištenja i stavljanja na tržište dobivenog komposta.

#### 1.2.1.4. Omjer ugljika i dušika (C/N omjer)

Početni omjer C/N jedna je od najvažnijih varijabli koja utječu na kvalitetu komposta. Idealni raspon početnih omjera C/N za kompostiranje je 25 do 30 (Kumar i sur., 2010). Visok početni C/N omjer dovest će do sporijeg početka procesa i duljeg vremena kompostiranja nego inače, dok će nizak početni C/N omjer rezultirati nastajanjem amonijaka ( $\text{NH}_3$ ) (El-mrini i sur., 2022). Podešavanje početnog omjera C/N smjese za kompostiranje na optimalnu vrijednost poboljšava mikrobnu aktivnost uz smanjenje poteškoća povezanih s razgradnjom supstrata (Yang i sur., 2021). Na isti način, podešavanje omjera C/N potiče stupanj humifikacije i doprinosi zrelosti komposta.

#### 1.2.1.5. Temperatura

Temperatura se tijekom procesa kompostiranja mijenja i mogu se razlikovati četiri faze: mezofilna, termofilna, hlađenje i faza sazrijevanja (Papale i sur., 2021) (slika 4).



**Slika 4.** Promjena temperature tijekom procesa kompostiranja (prema Papale i sur., 2021)

Temperatura može određivati relativnu prednost jednog mikroorganizma nad drugim, odnosno potrebno ju je regulirati kako bi se uklonili patogeni, a zadržali korisni i poželjni mikroorganizmi (Awasthi i sur., 2014; Tang, 2007) što postizemo temperaturom iznad  $55^\circ\text{C}$ . No, to ne znači da je visoka temperatura uvijek poželjnija. Ukoliko se podigne iznad  $65^\circ\text{C}$  doći će do ugibanja gotovo svih mikroorganizama. Iz tog se razloga optimalnim rasponom smatra temperatura  $40\text{-}65^\circ\text{C}$

(Awasthi i sur., 2014). Dakle, mjerenjem temperature sustava u kojem se odvija kompostiranje možemo otkriti u kojoj se fazi proces nalazi, a također upućuje na uvjete mikrobiološke razgradnje (Chen i sur., 2020; Nakasaki i Hirai, 2017). Niske temperature u pravilu usporavaju proces, a mogu ga i u potpunosti zaustaviti. Niske temperature također upućuju na smanjenu mikrobiološku aktivnost, a samim time mogu se smatrati pokazateljem manjka kisika ili neodgovarajućeg udjela vlage (Atalia i sur., 2015).

#### *1.2.1.6. pH vrijednost*

Optimalni raspon pH vrijednosti za proces kompostiranja kreće se između 5,5 i 8,0. Bakterije preferiraju gotovo neutralan pH, a gljive se bolje razvijaju u kiseloj sredini (Pirsaheb i sur., 2019; Sundberg i sur., 2013). U prvoj fazi kompostiranja, pH se može smanjiti zbog organskih kiselina koje nastaju tijekom razgradnje organskih spojeva (Sayara i sur., 2020). Daljnja mineralizacija dovodi do porasta pH i na kraju procesa iznosi oko 8,0-8,5 (Pirsaheb i sur., 2019; Azim i sur., 2018). Otpad hrane može predstavljati izazov za primjenu metode kompostiranja zbog niskog pH što je posljedica prisutnosti kratkolančanih organskih kiselina. Istraživanja su proučavala upotrebu alkalnih materijala (natrijev acetat, natrijev hidroksid) za kontrolu pH kako bi se omogućio napredak procesa kompostiranja (Yu i sur., 2009).

#### *1.2.1.7. Veličina čestica materijala koji se kompostira*

Veličina čestica također je važan čimbenik za učinkovitu razgradnju biološkog materijala tijekom procesa kompostiranja. Veličina čestica materijala koji se razgrađuje utječe na protok zraka te mikrobiološki i enzimski pristup supstratu (Mishra i Yadav, 2022). Manje čestice su pogodnije jer se tako povećava površina na kojoj može doći do reakcije, no ako su čestice premale, bit će previše zbijene što će se negativno odraziti na protok te mikrobiološku i enzimsku aktivnost (Haynes i sur., 2015). U tom se slučaju česticama dodaje sredstvo za povećanje volumena. Prema Duong i sur. (2012), finiji komposti oslobađaju više dušika i fosfora u usporedbi s grubim kompostima, a mljevenje sirovine povećava stopu razgradnje za faktor dva. Također, preporučili su veličinu čestica koja varira između 1,3 i 7,6 cm promjera, pri čemu je sustav kontinuiranog miješanja predložen za manji raspon veličine čestica, a sustav kompostiranja s valjkom za veći raspon veličine čestica.



### 1.3. Blisko infracrvena spektroskopija (NIR)

#### 1.3.1. Osnovne karakteristike blisko infracrvene spektroskopije

Blisko infracrvena (eng. *Near Infrared, NIR*) spektroskopija je tehnika analiziranja uzorka koja se temelji na apsorpciji elektromagnetskog zračenja valne duljine u rasponu  $\lambda = 800 - 2500$  nm, odnosno od  $12,500$  do  $4000$   $\text{cm}^{-1}$  (Ozaki i sur., 2017). Spektar u NIR području valnih duljina posljedica je apsorpcije zračenja kojom se pobuđuju vibracijski prijelazi, a vrpce u spektrima odgovaraju vibracijama tijekom kojih se mijenja dipolni moment. Postoje dva osnovna načina vibriranja, a to su istezanje veza i deformacija kuteva (Beć i sur., 2022). Vibracije istezanja javljanju se pri kraćim valnim duljinama, a vibracije savijanja odnosno deformacije kuteva pri dužim valnim duljinama. Molekula može apsorbirati infracrveno zračenje ako tijekom vibracije dolazi do promjene dipolnog momenta. S obzirom da je najlakši, atom vodika je podložan najjačim vibracijama tako da glavne vrpce NIR spektra odgovaraju vezama koje sadrže vodik i druge lakše atome (prvenstveno C-H, N-H, O-H i S-H veze) (Blanco i Villarroya, 2002). NIR spektar čine kombinacije osnovnih (temeljnih) vibracija i viši tonovi (engl. *overtone*) (Beć i sur., 2019). Viši tonovi nastaju uslijed apsorpcije zračenja kojima se pobuđuju prijelazi iz osnovnog vibracijskog stanja u drugo, treće i svako više vibracijsko stanje, dok su kombinacijske vrpce posljedica istovremene apsorpcije zračenja tijekom dviju vibracija. Kombinacijske vrpce jačeg su intenziteta od vrpce viših tonova. Postojanje viših tonova uvjetovano je anharmoničnošću vibracije (Wu i sur., 2022).

NIR spektroskopija omogućuje beskontaktnu analizu i analizu pomoću sonde optičkih svjetlosnih vlakana, zbog čega se može koristiti u opasnoj okolini i daljinski manipulirati sondom. To je jedan od razloga zašto je NIR spektroskopija prikladna za on-line analizu (Ozaki i sur., 2017). NIR spektroskopija se uspješno primjenjuje za kvalitativnu i kvantitativnu analizu u različitim granama industrije. NIR-spektri odlikuju se velikim omjerom signala i šuma, a položaj i intenzitet vrpce može se vrlo točno odrediti što je vrlo bitno u kvantitativnoj analizi. Vrpce u NIR-spektrima manje su informativne, a u mnogim slučajevima može doći i do njihova preklapanja. Stoga je dobivene podatke potrebno obraditi multivarijantnim metodama (Jednačak i Novak, 2013).

### 1.3.2. NIR instrumenti

Osnovni dijelovi NIR spektrofotometara su općenito izvor zračenja, monokromator ili interferometar i detektor (Zareef i sur., 2020). Važan dio NIR spektrofotometra je sustav razdjelnika snopa zračenja zbog prevođenja višebojnosti u svjetlo jedne boje. Izbor detektora uzorka ovisi o vrsti uzoraka koje se analiziraju. Kvarcne kivete različitih volumena često se koriste za tekuće uzorke, dok se sonde koriste za čvrste uzorke. Kao izvor svjetlosti se zbog niske cijene koriste halogene žarulje sa žicom od volframa. No halogene žarulje sa žicom od volframa pokazuju razne nedostatke kao što je velika količina topline koja se stvara zbog izvora svjetlosti i ograničeni radni vijek koji može utjecati na upadni kut svjetlosti (Schwanninger i sur., 2011).

### 1.3.3. Analiza podataka prikupljenih blisko infracrvenom spektroskopijom

Zbog činjenice da su NIR spektri često složeni i imaju široke apsorpcijske vrpce koje se preklapaju, izdvajanje korisnih informacija iz NIR skupa podataka zahtijeva upotrebu kemometrije. Kemometrija je alat za definiranje odnosa između spektralnih informacija i svojstava uzorka (Reich, 2005). Predobrada podataka predstavlja prvi kemometrijski korak za pouzdanu analizu NIR spektara. Algoritmi kao što su korekcija bazne linije (engl. *Baseline Correction, BL*), Savitzky-Golay derivacija (SG), standardan normalna varijacija (engl. *Standard Normal Variate, SNV*), višestruka korekcija raspršenog zračenja (engl. *Multiplicative Scatter Corrections, MSC*), zaglađivanje (engl. *smoothing*) pomažu u uklanjanju nekorisnih informacija ispravljanjem odstupanja uzrokovanih čimbenicima kao što su pomak koji je izazvao instrument (engl. *shift*), raspršenje svjetlosti, interferencije, itd. kako bi se poboljšala kvaliteta spektralnih podataka (Ríos-Reina i sur., 2023; Kohler i sur., 2009). Budući da su NIR spektralni podaci multivarijatni i visokodimenzionalni, sljedeći korak je smanjenje dimenzionalnosti podataka, kako bi se pripremili za klasifikacijske analize (Hasbi i sur., 2022).

Analiza glavnih komponenata (engl. *Principal Component Analysis, PCA*) je vjerojatno najraširenija multivarijatna statistička metoda koja se koristi u kemometriji, a zbog važnosti multivarijatnih mjerenja u kemiji mnogi je smatraju tehnikom koja je najznačajnije promijenila pogled na analizu podataka (Brereton, 2007). Analiza glavnih komponenata omogućava kvalitativnu analizu i grupiranje podataka bez postavljenog fizičkog modela. Koristi se i za brzu procjenu strukture podataka prije detaljne analize ili kvantifikacije fizičkog ili kemijskog procesa

(Jednačak i Novak, 2013). PCA obrađuje serije podataka koji predstavljaju neke uzorke opisane s nekoliko zavisnih varijabli, koje su u većini slučajeva međusobno korelirane. Ova metoda temelji se na određivanju korelacija između pojedinih varijabli pri čemu grupira uzorke u glavne komponente i opisuje odnos između pojedinih varijabli te omogućuje vizualizaciju njihovog odnosa, tj. da li su one slične ili različite. Slični jedan drugome grupirat će se zajedno, dok će oni različiti biti udaljeniji (Abdi i Williams, 2010). Vizualizacija podataka se često izvodi pomoću tzv. faktorskih komponenata (engl. *score plots*). Vrijednosti faktorskih komponenata za spektre koji se razlikuju su odvojeni, dok se vrijednosti faktorskih komponenata za slične spektre nalaze vrlo blizu što omogućava i njihovo grupiranje (Jednačak i Novak, 2013).

Parcijalna regresija metodom najmanjih kvadrata (engl. *Partial Least Squares*, PLS) je multivarijatna tehnika koja se koristi za razvoj modela latentnih varijabli ili čimbenika (Djuris i sur., 2013). Podaci se PLS metodom opisuju pomoću modela u kojemu broj varijabli treba biti što manji. Za razliku od PCA gdje su glavne komponente određene samo varijancom mjerenih varijabli i neovisne su o njihovom slaganju s traženim svojstvom, u PLS metodom latentne varijable se odabiru tako da se dobije najbolje slaganje proučavanog svojstva i mjerene varijable. PLS se može smatrati regresijskim oblikom PCA koji linearnim multivarijantnim modelom povezuje podatke smještene u dvije matrice, X i Y (Jednačak i Novak, 2013). X i Y blokovi (skupovi podataka) su modelirani kako bi se pronašle varijable u X matrici koje će najbolje opisati Y matricu. Informacije u izvornim X podacima projiciraju na mali broj temeljnih ("latentnih") varijabli kako bi se osiguralo da su prve komponente one koje su najrelevantnije za predviđanje Y varijabli. Svrha PLS analize je opisati odnos između objekata u x-prostoru i njihovog položaja u odgovarajućem y-prostoru uz minimalna odstupanja (Jednačak i Novak, 2013; Héberger, 2008).

Umjetne neuronske mreže (engl. *Artificial Neural Networks*, ANNs) u širem su smislu riječi umjetna replika ljudskog mozga kojom se nastoji simulirati postupak učenja, uloga i funkcija samog mozga. Umjetne neuronske mreže sastoje se od skupina međusobno povezanih elemenata koji se nazivaju neuroni. Neuroni su organizirani u slojevima koji čine tzv. mrežnu "arhitekturu". Prvi sloj se naziva „ulazni sloj“ (engl. *input layer*), a svaki od njegovih neurona prima informacije izvana (općenito nezavisne varijable se koriste kao ulazi). Zadnji sloj je „izlazni sloj“ (engl. *output layer*) koji sadrži čvorove s odgovorom ili odgovorima - ovisno o tome je li jedan ili više parametara kvantificiran. Slojevi neurona između ulaznih i izlaznih slojeva nazivaju se skriveni

slojevi (engl. *hidden layers*). Ulazni i izlazni podaci (X i Y matrice) koriste se za treniranje mreža, npr. mijenjaju težinske koeficijente (engl. *weights*) za svaku vezu; zbroj svih ulaza za pojedini neuron prenosi informaciju pomoću odgovarajuće prijenosne funkcije (npr. sigmoidalna funkcija, tangens hiperbolni, itd.) i prosljeđuje rezultate naprijed (Héberger, 2008). Višeslojne perceptronske neuronske mreže (engl. *Multiple Layer Perceptron*, MLP) izgrađene su od neurona organiziranih u serijski povezane slojeve. Slojevi se najčešće opisuju brojevima od 0 do N, pri čemu nulti sloj samo prosljeđuje vektor ulaznih veličina u mrežu, dok je N-ti sloj ujedno i izlazni sloj mreže. Slojevi između nultog i N-tog nazivaju se unutarnjim ili skrivenim slojevima. Višeslojni perceptroni imaju sposobnost učenja algoritmom povratne propagacije (engl. *Back Propagation Algorithm*).

#### 1.3.4. Primjena blisko infracrvene spektroskopije u analizi procesa kompostiranja

Kao što je prethodno opisano, kvalitetu komposta određuju njegova stabilnost i zrelost stoga se oba kriterija moraju analizirati. Tijekom procesa kompostiranja provodi se veliki broj fizikalno-kemijskih analiza, mikrobioloških analiza i analiza enzimske aktivnosti. Spomenute metode vremenski su zahtjevne, što otežava točnu procjenu kvalitete komposta, pa postoji velika potreba i interes za razvojem novih i brzih metoda za analizu i kontrolu procesa kompostiranja. Spektroskopske metode smatraju se brzim mjernim sustavom za *online* mjerenja potrebnih za kontrolu kvalitete procesa kompostiranja.

U literaturi su dostupni brojni primjeri primjene NIR spektroskopije u analizi procesa kompostiranja. Kavdir i sur. (2020), koristili su Fourierovu transformaciju blisko infracrvene (FT-NIR) spektroskopije za praćenje procesa kompostiranja krutog otpada od maslina. Proces kompostiranja proveden je u obliku kompostnih hrpa koje su uključivale 70 % krutog otpada maslinovog ulja, 25 % kozjeg gnoja i 5 % lucerne tijekom 35 dana. PLS modeli temeljeni na FT-NIR spektrima razvijeni su za predviđanje omjera ugljika i dušika (C/N) u kompostu, ukupnog dušika, anorganskog dušika, ukupnog ugljika, pH i električne vodljivosti. Njihovi rezultati pokazuju da FT-NIR spektroskopija ima potencijal nedestruktivne analize parametara krutog otpada maslinovog ulja na temelju visokih koeficijenata determinacije za sve analizirane varijable. Huang i sur. (2020) opisali su uporabu prijenosnog ručnog NIR instrumenta za analizu sadržaja vlage, ukupnog dušika, ukupnog ugljika, omjera ugljik/dušik, organske tvari i električne vodljivosti tijekom procesa kompostiranja. Njihovi rezultati pokazali su da je NIR spektroskopija

opisala sadržaj vlage s najvećom točnošću, zatim ukupni dušik i organsku tvar. Slično, Malley i sur. (2005) istraživali su sposobnost prijenosnog NIR spektrofotometra da identificira sadržaj hranjivih tvari u neprerađenom, uskladištenom i kompostiranom stajnjaku s tovilišta goveda. Otkriveno je da su NIR uređaji korisni na dva različita načina. Primjenom statističke metode SIMCA (engl. *Soft Independent Modelling By Class Analogy*, SIMCA), u kombinaciji sa spektralnim podacima uočeno je da se skladištenje stajskog gnojiva nije značajno promijenilo, dok se kompost znatno razlikuje od sirovog ili uskladištenog stajnjaka. Drugo, razvijeni su kalibracijski modeli za ukupni C, organski C, ukupni N, omjer C:N, S, K i pH spajanjem spektralnih podataka i podataka o sastavu koji prikazuju sirovi, uskladišteni i kompostirani goveđi gnoj za obje godine. Ueno i sur. (2008) koristili su FT-NIR uređaj u rasponu valnih duljina od 1000-2500 nm i PLS modele za predviđanje ukupnog ugljika, ukupnog dušika i omjera C/N s ciljem praćenja procesa kompostiranja kravljeg gnoja. Kalibracijski modeli procijenili su sadržaj kalija, fosfora i drugih minerala u uzorcima komposta s visokom preciznošću. Grube i sur. (2006) koristili su Fourierovu transformaciju infracrvene spektroskopije (FT-IR) za istraživanje procesa kompostiranja otpadnih voda, fragmenata drva i zrelog komposta. Cilj njihove studije bio je odrediti karakteristične vrpce IR apsorpcije koje koreliraju sa zrelošću komposta/stupnjem razgradnje. Subhash Kumar i sur. (2015) koristili su FT-IR spektroskopiju za usporedbu kvalitete, zrelosti i nutritivnih razina vermikomposta i komposta proizvedenog primjenom *Eichhornia*.

## **2. OPĆI I SPECIFIČNI CILJEVI RADA**

Na temelju dostupnih literaturnih podataka postavljeni su opći i specifični ciljevi ovoga rada.

Opći cilj ovoga rada uključuje povećanje znanja o mogućoj primjeni blisko infracrvene (engl. *Near Infrared*, NIR) spektroskopije u analizi procesa kompostiranja pokožice grožđa. Kako bi se pridonijelo općem cilju u okviru ovoga rada postavljeni su sljedeći specifični ciljevi:

- ispitati utjecaj uvjeta ekstrakcije na učinkovitost ekstrakcije biološki aktivnih molekula iz pokožice grožđa,
- provesti proces kompostiranja pokožice grožđa u pet zasebnih eksperimenata kako bi se ispitaio utjecaj predtretmana pokožice na učinkovitost kompostiranja: (i) pokožica grožđa bez predtretmana, (ii) usitnjena pokožica grožđa bez predtretmana, (iii) pokožica grožđa ekstrahirana na 40 °C kroz 90 min, (iv) usitnjena pokožica grožđa ekstrahirana na 40 °C kroz 90 min i (v) smjesa pokožice bez predtretmana ( $w/w = 43,93\%$ ), usitnjene pokožice grožđa bez predtretmana ( $w/w = 8,11\%$ ), pokožice grožđa ekstrahirane na 40 °C kroz 90 min ( $w/w = 14,25\%$ ) i usitnjene pokožice grožđa ekstrahirane na 40 °C kroz 90 min ( $w/w = 33,66\%$ ),
- provesti analizu fizikalnih, kemijskih i mikrobioloških svojstava komposta tijekom procesa kompostiranja,
- snimiti NIR spektre uzoraka komposta i uzoraka ekstrakta komposta tijekom procesa kompostiranja primjenom četiri različita NIR spektrometra (NIR-128-1.7-USB/6.25/50  $\mu\text{m}$ , AvaSpec-NIR256-2.5-HSC-EVO, NIR-S-G1 i NIR-M-R2) i
- primijeniti metodologiju neuronskih mreža za modeliranje fizikalnih i kemijskih svojstava komposta tijekom procesa kompostiranja na temelju NIR spektara.

### **3.MATERIJALI I METODE**



### 3.1. Materijali

#### 3.1.1. Sirovina za kompostiranje

U radu je korištena pokožica komine bijele sorte grožđa *Vitis vinifera* cv. Graševina, ubranoga 2021. godine (Kutjevo, Hrvatska). Komina grožđa je prije provedbe eksperimenata čuvana u zamrzivaču na temperaturi -18 °C. Prije provedbe eksperimenata sjemenke su odvojene od pokožice sijanjem.

#### 3.1.2. Kemikalije

U eksperimentalnom radu korištene su sljedeće kemikalije:

- Natrijev klorid (Sigma-Aldrich, SAD)
- Natrijev karbonat (Gram-mol, Hrvatska)
- Natrijev hidrogenkarbonat (Kemika, Hrvatska)
- Urea (Gram-mol, Hrvatska)
- Kvarcni pijesak (Gram-mol, Hrvatska)
- Folin-Ciocalteu reagens (Kemika, Hrvatska)
- Galna kiselina (Acros organics, Belgija)
- Metanol (VWR chemicals BDH, Ujedinjeno Kraljevstvo)
- 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil, DPPH (Sigma-Aldrich, SAD)
- 6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilna kiselina, Trolox (Sigma-Aldrich, SAD)
- Octena kiselina (T.T.T. d.o.o., Hrvatska)
- Klorovodična kiselina (Fisher Chemical, Francuska)
- Željezov(III) klorid heksahidrat (Gram-mol, Hrvatska)
- Natrijev acetat trihidrat (Gram-mol, Hrvatska)
- Željezov(II) sulfat heptahidrat (Sigma-Aldrich, SAD)
- 2,4,6-Tris(2-piridil)-s-triazin, TPTZ (Sigma-Aldrich, SAD)

Hranjive podloge:

- Hranjiva podloga za određivanje kvasaca i plijesni Sabouraud Dextrose Agar (Liofilchem, Italija)

- Hranjiva podloga za određivanje ukupnog broja bakterija Tryptic Glucose Yeast Agar (Biolife Italiana, Italija)

### 3.1.3. Aparatura, pribor i programski paketi

#### 3.1.3.1. Aparatura

U provedbi istraživanja korištena je sljedeća aparatura:

- analitička vaga (Sartorius TE214-S0CE, Njemačka)
- eksikator (Normax, Portugal)
- kolorimetar (CM-A177, Konica Minolta Sensing, inc., Japan)
- konduktometar (SevenCompact, MettlerToledo, Švicarska)
- laboratorijski sušionik (InkoLab ST60T, Hrvatska)
- mufolna peć (B410, Nabertherm, Njemačka)
- pH metar (914, Metrohm, Švicarska)
- termometar (UNI-T UT33C digitalni multimetar, Poljska)
- uljna-vodena kupelj s integriranom mješalicom (HBR 4 digital, IKA-Werke, Njemačka)
- NIR spektrometar (NIR-128L-1.7-USB/6.25/50 µm, Control development inc., SAD)
- NIR spektrometar (Avaspec-NIR 256-2.5-HSC-EVO, Avantes, SAD)
- NIR spektrometar (NIR-S-G1, InnoSpectra, Tajvan)
- NIR spektrometar (NIR-M-R2, InnoSpectra, Tajvan)
- Spektrofotometar (Libra S11, Biochrom, SAD)
- Magnetska miješalica (SB 162-3, Stuart, Ujedinjeno Kraljevstvo)
- Termostat (561-08/2, InkoLab, Hrvatska)
- Vortex (MS2, Ika Works, Inc., SAD)
- Kupelj za podloge (WNB 14, Memmert, Njemačka)
- Autoklav (InkoLab, Hrvatska)
- Tresilica (685/2, Nahita,-Blue, Francuska)
- Mlin (TUBE MILL C S000, Ika Works, Inc., SAD)
- Bunsenovi plamenici (OMM laboratory equipment, Italija)
- Pumpe (APR-300 Plus, Aqual, Poljska)

### 3.1.3.2. Pribor

- aluminijske posudice
- celulozni filter papir (veličina pora 5-13  $\mu\text{m}$ ) (LLG Labware Meckenheim, Njemačka)
- menzure volumena 10 mL, 100 mL i 200 mL
- metalna špatulica za vaganje
- odmjerna tikvica volumena 50 mL
- plastične kivete za NIR
- staklene čaše volumena 50 mL, 100 mL, 200 mL i 250 mL
- staklene epruvete
- stakleni lijevak
- automatske pipete
- nastavci za automatske pipete
- sterilne Petrijeve zdjelice
- Schott boce za čuvanje podloga
- Erlenmeyerove tikvice volumena 250 mL
- falkon epruvete od 15 mL i 50 mL
- plastične posudice za vaganje
- Drehsel boce
- plastične cijevi
- porculanski lončići

### 3.1.3.3. Programski paketi

- Microsoft Excel 2016 (Microsoft Corporation, SAD)
- Unscrambler X 10.1 (CAMO AS, Oslo, Norveška)
- Statistica 14.0 (TIBCO® Statistica, Palo Alto, SAD)

## 3.2. Metode

### 3.2.1. Ekstrakcija biološki aktivnih molekula iz komine grožđa

Ekstrakcija biološki aktivnih komponenata temelji se na denaturaciji stanične membrane i otpuštanju molekula s biološkom aktivnošću. U staklenu čašu volumena  $V = 100$  mL odvaže se određena masa pokožice grožđa te se prelije s određenim volumenom destilirane vode prethodno zagrijane na unaprijed definiranu temperaturu. Pripremljena ekstrakcijska smjesa termostatira se na definiranoj temperaturi u uljnoj kupelji pri određenoj brzini miješanja tijekom zadanog vremena (Jurinjak Tušek i sur., 2018; Jurinjak Tušek i sur., 2016). Eksperimenti ekstrakcije provedeni su prema uvjetima definiranim Box-Behnkenovim planom pokusa. Ispitan je utjecaj vremena ekstrakcije ( $t = 60, 75$  i  $90$  min), temperature ekstrakcije ( $T = 40, 60$  i  $80$  °C), omjera krute i tekuće faze ( $S/L = 10, 20$  i  $30$  g/L) te brzine miješanja ( $rpm = 250, 500$  i  $750$  1/min) na udio polifenola u ekstraktima. Nakon isteka vremena ekstrakcije, uzorak se profiltrira kroz celulozni filter papir (veličina pora  $5-13$   $\mu\text{m}$ ) kako bi se odvojio vodeni ekstrakt od krute faze. Nakon provedene ekstrakcije ekstraktima su određena fizikalna i kemijska svojstva.

### 3.2.2. Analize fizikalno-kemijskih svojstava ekstrakata pokožice grožđa

#### 3.2.2.1. pH vrijednost uzoraka ekstrakata pokožice grožđa

pH vrijednosti pripremljenih vodenih ekstrakata izmjerene su pH metrom (pH metar, 914, Metrohm, Švicarska). Mjerenja su provedena s tri ponavljanja, a rezultati prikazani kao srednja vrijednost  $\pm$  standardna devijacija.

#### 3.2.2.2. Vodljivost i ukupne otopljene tvari uzoraka ekstrakata pokožice grožđa

Vodljivosti i ukupne otopljene tvari pripremljenih vodenih ekstrakata izmjerene su konduktometrom (SevenCompact, MettlerToledo, Švicarska). Mjerenja su provedena s tri ponavljanja, a rezultati prikazani kao srednja vrijednost  $\pm$  standardna devijacija.

#### 3.2.2.3. Određivanje suhe tvari uzoraka ekstrakata pokožice grožđa standardnom metodom sušenja

Ukupnu suhu tvar čini cjelokupna količina tvari iz sastava proizvoda koja ne isparava pod definiranim uvjetima. Standardnom metodom sušenja određuje se ostatak nakon sušenja na  $T = 105$  °C do konstantne mase (AOAC, 1995). U suhu i označenu posudicu stavi se kvarcni pijesak

(u količini dovoljnoj da prekrije dno posudice). Posudica se suši u sušioniku sa skinutim poklopcem na temperaturi  $T = 105\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Nakon sušenja od  $t = 1\text{ h}$  poklopci se stave na posudice, izvade iz sušionika i hlade oko pola sata u eksikatoru, a zatim se važu s točnošću  $\pm 0,0002\text{ g}$ . U ohlađene i izvagane aluminijske posudice zajedno s kvarcnim pijeskom otpipetira se volumen od  $V = 3\text{ mL}$  ekstrakta (dvije paralele za svaki uzorak). Sušenje uzoraka traje  $t = 4\text{ sata}$  pri temperaturi  $T = 105\text{ }^{\circ}\text{C}$  u sušioniku s automatskom regulacijom temperature, pri čemu posudice moraju biti otvorene. Kada je sušenje završeno, posudice se zatvore u sušioniku i prenesu u eksikator gdje se hlade na sobnoj temperaturi te se zabilježi konačna masa za izračun udjela suhe tvari, odnosno vode.

Izračun i izražavanje rezultata:

Udio vode u uzorcima izračuna se iz gubitka mase prema formuli (jednadžbe 3-4):

$$\% \text{ vode} = \frac{(A - B)}{m} \cdot 100\% \quad [3]$$

$$\% \text{ suhe tvari} = 100\% - \% \text{ vode} \quad [4]$$

gdje je  $A$  masa posudice s uzorkom prije sušenja (g),  $B$  masa posudice s uzorkom nakon sušenja (g), a  $m$  masa uzorka (g). Na istom ispitnom uzorku moraju se obaviti najmanje 2 određivanja, koja se ne smiju razlikovati više od 0,2 % s obzirom na udio vode odnosno udio suhe tvari.

#### 3.3.2.4. Određivanje boje uzoraka ekstrakata pokožice grožđa

Boja svih uzoraka određena je primjenom kolorimetra PCE-CSM3 (PCE Instruments, Njemačka). Primjenom Hunterovih koordinata za boje određuje se  $L^*$  što predstavlja svjetlost,  $a^*$  što predstavlja raspon od zelene do crvene boje te  $b^*$  što predstavlja raspon od plave do žute boje. Vrijednosti koordinata  $a^*$  i  $b^*$  koriste se za izračunavanje Hue kuta te kroma vrijednosti.

Hue kut računa se prema izrazu (jednadžba 5):

$$H = \arctan\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \quad [5]$$

Chroma vrijednosti računa se prema izrazu (jednadžba 6):

$$C = \sqrt{(a^{*2} + b^{*2})} \quad [6]$$

Mjerenja su provedena s tri ponavljanja, a rezultati prikazani kao srednja vrijednost  $\pm$  standardna devijacija.

### 3.3.2.5. *Određivanje udjela ukupnih polifenola*

Ukupni polifenoli određeni su spektrofotometrijski prema metodi koja se temelji na kolorimetrijskoj reakciji fenola s Folin-Ciocalteu reagensom. Folin-Ciocalteu reagens je smjesa fosfovolframove i fosfomolibden kiseline, koji reagira s fenoksid ionom iz uzorka, prilikom čega se fenoksid-ion oksidira, a Folin-Ciocalteu reagens reducira do plavo obojenog volframovog i molibdenovog oksida. Intenzitet nastalog plavog obojenja određuje se spektrofotometrijski pri  $\lambda = 765$  nm i proporcionalan je udjelu polifenolnih spojeva u uzorku (Pinelo i sur., 2005).

U epruvetu se otpipetira  $V = 7,9$  mL destilirane vode,  $V = 100$   $\mu$ L uzorka,  $V = 500$   $\mu$ L Folin-Ciocalteu reagensa i  $V = 1,5$  mL 20 %-tne otopine  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . Dodatkom 20 %-tne otopine  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  počinje reakcija te uzorci stoje 2 h na sobnoj temperaturi, nakon čega se mjeri apsorbancija razvijenog plavog obojenja pomoću spektrofotometra na  $\lambda = 765$  nm. Osim uzoraka priprema se i slijepa proba, na isti način kao i reakcijska smjesa za uzorke samo što umjesto uzorka sadrži  $V = 100$   $\mu$ L destilirane vode. Sadržaj ukupnih polifenola u pojedinim uzorcima određen je na osnovu jednadžbe baždarnog pravca galne kiseline ( $A = 0,0012 \cdot \gamma_{\text{GAE}}$ ,  $R^2 = 0,9995$ ;  $\gamma_{\text{GAE}} = 0 - 500$  mg/L), a rezultati se izražavaju kao mg ekvivalenta galne kiseline (GAE) po gramu suhe tvari uzorka. Mjerenja su provedena s tri ponavljanja, a rezultati prikazani kao srednja vrijednost  $\pm$  standardna devijacija.

### 3.3.2.6. *Određivanje antioksidacijskog kapaciteta DPPH metodom*

Ova metoda temelji se na redukciji 2,2-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) radikala u metanolnoj otopini. DPPH radikal radi nesparenog elektrona pokazuje jaku apsorpciju u vidljivom dijelu spektra (515 nm), dok u prisutnosti elektron donora - AH (antioksidans koji „gasi“ slobodne radikale) dolazi do stabilizacije DPPH radikala sparivanjem elektrona te do promjene ljubičaste boje (oksidirani oblik radikala) otopine u žutu (reducirani oblik radikala), što se mjeri promjenom apsorbancije reakcijske smjese u definiranom vremenu u odnosu na isti učinak koji se postiže s poznatim reducensom (Trolox) (Brand-Williams i sur., 1995).

Pripremi se otopina DPPH radikala u metanolu koncentracije  $c = 0,094$  mmol/L. U epruvetu se otpipetira  $V = 100$   $\mu$ L ispitivanog uzorka te se zatim doda  $V = 3,9$  mL pripremljene otopine DPPH radikala u metanolu. Sve zajedno se dobro homogenizira. Reakcija se odvija 30 min u mraku, nakon čega se mjeri apsorbancija pri  $\lambda = 515$  nm u odnosu na slijepu probu. Slijepa proba umjesto uzorka sadržava jednaki volumen metanola. Iz baždarnog pravca ovisnosti apsorbancije o vrijednosti poznatih koncentracija Trolox-a ( $A = 0,6461 \cdot c_{\text{Trolox}}$ ,  $R^2 = 0,9897$ ;  $c_{\text{Trolox}} = 0 - 1$  mmol/L), određuje se vrijednost antioksidacijskog kapaciteta ispitivanih uzoraka. Rezultati se izražavaju kao mmol ekvivalenta Trolox-a po gramu suhe tvari uzorka. Mjerenja su provedena s tri ponavljanja, a rezultati prikazani kao srednja vrijednost  $\pm$  standardna devijacija.

### 3.3.2.7. FRAP metoda za određivanje antioksidacijske aktivnosti

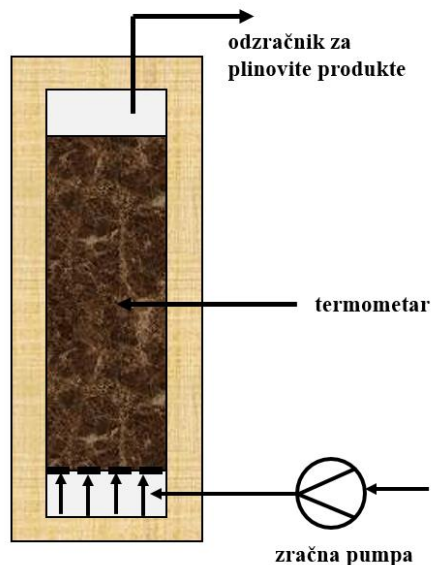
Princip određivanja antioksidacijske aktivnosti primjenom FRAP metode temelji se na redukciji bezbojnog kompleksa željezovog(III) tripiridiltriazina ( $\text{Fe}^{3+}$ -TPTZ) u fero formu ( $\text{Fe}^{2+}$ ) intenzivne plave boje (Benzie i Strain, 1996). Antioksidacijska aktivnost ispitivanih uzoraka određuje se spektrofotometrijski mjerenjem apsorbancije pri  $\lambda = 593$  nm.

Za pripremu FRAP reagensa potrebno je pripremiti acetatni pufer koncentracije  $c = 300$  mmol/L, otopinu TPTZ-a koncentracije  $c = 10$  mmol/L te vodenu otopinu željezovog(III) klorid-heksahidrata koncentracije  $c = 20$  mmol/L. FRAP reagens priprema se miješanjem  $V = 25$  mL acetatnog pufera,  $V = 2,5$  mL TPTZ-a i  $V = 2,5$  mL željezovog(III) klorida heksahidrata. U epruvetu se doda  $V = 50$   $\mu$ L ispitivanog uzorka i  $V = 950$   $\mu$ L FRAP reagensa te se izmjeri apsorbancija reakcijske smijese nakon  $t = 4$  minute. Slijepa proba umjesto uzorka sadržava jednaku količinu FRAP reagensa. Iz baždarnog pravca ovisnosti apsorbancije o vrijednosti poznatih koncentracija  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  ( $A = 0,6738 \cdot c_{\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}}$ ,  $R^2 = 0,9611$ ;  $c_{\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}} = 0 - 1$  mmol/L), određuje se vrijednost antioksidacijskog kapaciteta ispitivanih uzorka. Rezultati se izražavaju kao mmol ekvivalenta  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  po gramu suhe tvari uzorka. Mjerenja su provedena s tri ponavljanja, a rezultati prikazani kao srednja vrijednost  $\pm$  standardna devijacija.

### 3.2.3. Provedba procesa kompostiranja

Proces kompostiranja  $m = 1,9$  kg pokožice grožđa proveden je u laboratorijskim šaržnim reaktorima volumena  $V = 5$  L prema shemi na slici 5. Dimenzije reaktora bile su: promjer  $d = 16$  cm i visina  $L = 25$  cm. Reaktori su bili izolirani izolacijskim slojem debljine 5 cm. Kao bi se

osigurali aerobni uvjeti u reaktoru provodila se kontinuirana aeracija pri konstantnom protoku zraka od 2 L/min  $kg_{s.t.}$  za cijelo vrijeme trajanja procesa kroz 30 dana.



**Slika 5.** Shema procesa kompostiranja u laboratorijskom šaržnom reaktoru

Provedeno je 5 zasebnih eksperimenata kompostiranja u kojima je početni udio suhe tvari bio oko 35 %:

- 1) pokožica grožđa bez predtretmana
- 2) usitnjena pokožica grožđa bez predtretmana
- 3) pokožica grožđa ekstrahirana na 40 °C kroz 90 min
- 4) usitnjena pokožica grožđa ekstrahirana na 40 °C kroz 90 min
- 5) smjesa pokožice bez predtretmana ( $w/w = 43,93 \%$ ), pokožice komine grožđa bez predtretmana ( $w/w = 8,11 \%$ ), pokožice grožđa ekstrahirane na 40 °C kroz 90 min ( $w/w = 14,25 \%$ ) i usitnjene pokožice grožđa ekstrahirane na 40 °C kroz 90 min ( $w/w = 33,66 \%$ ).

Tijekom 30 dana provedbe procesa kompostiranja izuzimani su uzorci u vremenskim intervalima od 48 h te su provedene fizikalno-kemijske i mikrobiološke analize. Fizikalno-kemijske analize provedene su na svim uzorcima, dok su mikrobiološke analize provedene na uzorcima izuzimanim svakih 72 h.



### 3.2.4. Fizikalno-kemijske i mikrobiološke analize

#### 3.2.4.1. *Udio suhe tvari i udio vlage uzoraka kompostu*

Udio suhe tvari i udio vlage određuje se u svježim uzorcima komposta sušenjem u vremenu od  $t = 24$  h na  $T = 105$  °C (Chan i sur., 2016). U izvagane metalne posudice odvažuje se određena masa uzorka ( $m = 2 \text{ g} \pm 0,001 \text{ g}$ ). Kada je sušenje završeno, posudice se prenesu u eksikator gdje se hlade na sobnoj temperaturi te se zabilježi konačna masa za izračun udjela suhe tvari odnosno, udjela vlage. Udio suhe tvari i udio vlage u uzorcima izračuna prema formulama prikazanim jednadžbama 3 i 4. Na istom ispitnom uzorku moraju se obaviti najmanje 2 određivanja, koja se ne smiju razlikovati više od 0,2 % obzirom na udio vode odnosno udio suhe tvari.

#### 3.2.4.2. *pH vrijednost uzoraka komposta*

Svježi uzorak komposta pomiješa se s destiliranom vodom u omjeru 1:10 (w/v) te se provodi postupak ekstrakcije na magnetskoj miješalici pri 150 1/min kroz 1 h. Dobivena smjesa se centrifugira (10000 1/min) kroz 10 min te se nakon toga filtrira. U filtratu se određuje pH vrijednost (Nasreen i Qazi, 2012; Waqas i sur., 2017) primjenom pH metra (914, Metrohm, Švicarska). Mjerenja su provedena s tri ponavljanja, a rezultati prikazani kao srednja vrijednost  $\pm$  standardna devijacija.

#### 3.2.4.3. *Vodljivost i ukupne otopljene tvari uzoraka komposta*

Svježi uzorak komposta pomiješa se s destiliranom vodom u omjeru 1:10 (w/v) te se provodi postupak ekstrakcije na magnetskoj miješalici pri 150 1/min kroz  $t = 1$  h. Dobivena smjesa se centrifugira (10000 1/min) kroz 10 min te se nakon toga filtrira. U filtratu se određuje vodljivost i ukupne otopljene tvari (Nasreen i Qazi, 2012; Waqas i sur., 2017) konduktometrom (SevenCompact, MettlerToledo, Švicarska). Mjerenja su provedena s tri ponavljanja, a rezultati prikazani kao srednja vrijednost  $\pm$  standardna devijacija.

#### 3.2.4.4. *Udio ukupne organske tvari u uzorcima komposta*

Za određivanje ukupne organske tvari u uzorcima komposta, uzorci komposta posušeni na  $T = 105$  °C kroz  $t = 24$  h spale se na  $T = 500$  °C kroz  $t = 5$  h u mufolnoj peći (B410, Nabertherm, Njemačka). Postotak gubitka hlapivih tvari izražava se kao udio ukupne organske tvar (Diaz i sur., 2002).

Mjerenja su provedena s tri ponavljanja, a rezultati prikazani kao srednja vrijednost  $\pm$  standardna devijacija.

#### 3.2.4.5. Udio pepela u uzorcima komposta

Za određivanje udjela pepela u uzorcima komposta, uzorci komposta posušeni na  $T = 105$  °C kroz  $t = 24$  h spale se na  $T = 500$  °C kroz  $t = 5$  h u mufolnoj peći (B410, Nabertherm, Njemačka). Masa zaostala nakon spaljivanja izražava se kao udio pepela (Waqas i sur., 2017). Mjerenja su provedena s tri ponavljanja, a rezultati prikazani kao srednja vrijednost  $\pm$  standardna devijacija.

#### 3.2.4.6. Udio ukupnog organskog ugljika u uzorcima komposta

Udio ukupnog organskog ugljika u uzorcima komposta određuje se množenjem udjela ukupne organske tvari s faktorom 0,58 (Paradelo i sur., 2013). Mjerenja su provedena s tri ponavljanja, a rezultati prikazani kao srednja vrijednost  $\pm$  standardna devijacija.

#### 3.2.4.7. Boja uzoraka komposta i boja ekstrakata uzoraka komposta

Boja svih uzoraka komposta tijekom procesa kompostiranja te pripremljenih vodenih ekstrakata komposta određena je primjenom kolorimetra PCE-CSM3 (PCE Instruments, Njemačka). Primjenom Hunterovih koordinata za boje određuje se  $L^*$  što predstavlja svjetlost,  $a^*$  što predstavlja raspon od zelene do crvene boje, te  $b^*$  što predstavlja raspon od plave do žute boje. Vrijednosti koordinata  $a^*$  i  $b^*$  koriste se za izračunavanje Hue kuta te Chroma vrijednosti (Palechor-Tróchez i sur., 2018).

Ukupna promjena boje komposta i pripadajućih ekstrakata komposta ( $\Delta E$ ) određena je prema jednadžbi: (7):

$$\Delta E = \sqrt{(L^* - L_0^*)^2 + (a^* - a_0^*)^2 + (b^* - b_0^*)^2} \quad [7]$$

gdje su  $L_0$ ,  $a_0$ , i  $b_0$  vrijednosti Hunterovih koordinata uzoraka/ekstrakata uzoraka početnih supstrata, a,  $L$ ,  $a$ , i  $b$  vrijednosti Hunterovih koordinata komposta/ekstrakata komposta tijekom procesa kompostiranja. Mjerenja su provedena s tri ponavljanja, a rezultati prikazani kao srednja vrijednost  $\pm$  standardna devijacija.

#### 3.2.4.8. *Nasipna gustoća uzoraka komposta*

Uzorcima komposta nakon završetka procesa kompostiranja u trajanju od 30 dana određena je nasipna gustoća prema metodi Buljat i sur. (2019). Svježi uzorak komposta se nasipa u menzuru do ukupnog volumena 250 mL te se izvaže. Nakon očitavanja početne mase i volumena menzura se pričvršćuje na postolje vibracionog volumetra. Volumetar radi na principu sabijanja komposta vibracijama duž vertikalne osi koje uzrokuju istiskivanje zraka iz šupljina među česticama, što kao posljedicu ima smanjenje volumena komposta u menzuri, a time ujedno i povećanje vrijednosti nasipne gustoće. U prvom se ciklusu provodi 10 vibracija menzure s uzorkom, a u drugom 100 vibracija (20 s) i nakon svakog ciklusa zabilježi se volumen komposta. Mjerenja su provedena s tri ponavljanja, a rezultati prikazani kao srednja vrijednost  $\pm$  standardna devijacija.

#### 3.2.4.9. *Određivanje ukupnog broja živih stanica bakterija i gljiva u uzorcima komposta*

Svim uzorcima komposta tijekom procesa kompostiranja određen je ukupni broj živih stanica bakterija i gljiva. 5 g uzorka komposta suspendira se u 100 mL sterilne 0,9%-tne fiziološke otopine. Suspenzija se homogenizira na rotacijskoj tresilici 60 minuta i 100 rpm. Nakon homogenizacije, suspenzija se profiltrira te se filtrat koristi za pripremu odgovarajućih decimalnih razrjeđenja. Ukupan broj živih stanica bakterija i gljiva (engl. *Colony Forming Units, CFU*) određuje se naciepljivanjem po 1 mL homogeniziranog originalnog uzorka ili određenog decimalnog razrjeđenja na odgovarajuću hranjivu podlogu. Petrijeve zdjelice inkubiraju se na 37 °C, 24 - 48 h za bakterije, odnosno pri 28 °C, 3 - 5 dana za gljive, a broj mikroorganizama određuje se brojanjem izraslih kolonija te se rezultat izražava kao CFU/g suhe tvari (Sokač i sur., 2021).

#### 3.2.4.10. *NIR spektroskopija uzoraka komposta i ekstrakata uzoraka komposta*

Za sve uzorke komposta i pripadajuće uzorke ekstrakata komposta snimani su kontinuirani spektri u NIR valnom području primjenom četiri različita NIR instrumenta:

- 1) NIR spektrometar (NIR-128-1.7-USB/6.25/50  $\mu\text{m}$ , Control Development inc., SAD) povezan s računalom snima promjene apsorbancije pri valnim duljinama od  $\lambda = 904 - 1699$  nm za uzorke komposta i pripadajuće ekstrakte uzoraka komposta. Spektri se analiziraju primjenom programskog paketa Control Development Spec 32 (Control Development inc., SAD).

- 2) NIR spektrometar (AvaSpec-NIR256-2.5-HSC-EVO, Avantes, SAD) povezan s računalom snima promjene apsorbancije pri valnim duljinama od  $\lambda = 1000 - 2500$  nm za uzorke komposta i pripadajuće ekstrakte uzoraka komposta. Spektri se analiziraju primjenom programskog paketa AvaSoft (Avantes, SAD).
- 3) Prijenosni NIR spektrometar (NIR-S-G1, InnoSpectra, Tajvan) snima promjene apsorbancije pri valnim duljinama od  $\lambda = 900 - 1700$  nm za uzorke komposta. Spektri se analiziraju primjenom programskog paketa ISC-NIRScan (InnoSpectra, Tajvan).
- 4) Prijenosni NIR spektrometar (NIR-M-R2, InnoSpectra, Tajvan) snima promjene apsorbancije pri valnim duljinama od  $\lambda = 900 - 1700$  nm za uzorke ekstrakta komposta. Spektri se analiziraju primjenom programskog paketa ISC-NIRScan (InnoSpectra, Tajvan).

Za svaki uzorak komposta te pripadajući uzorak ekstrakta komposta snimljeni su kontinuirani NIR spektri korištenjem navedenih NIR instrumenta u 5 paralelnih mjerenja.

### 3.2.5. Statistička analiza i modeliranje

#### 3.2.5.1. Osnovna statistička analiza podataka prikupljenih tijekom provedbe procesa kompostiranja

Sva mjerenja u ovome radu provedena su u tri paralele te je za njih provedena osnovna statistička analiza (srednja vrijednost i standardna devijacija) u programskom paketu Statistica 14.0. (TIBCO® Statistica, Palo Alto, SAD). Međusobni odnosi ili povezanosti između fizikalno-kemijskih karakteristika uzoraka komposta tijekom procesa kompostiranja analizirani su na temelju korelacijske matrice u programskom paketu Statistica 14.0. Nadalje srednje vrijednosti rezultata fizikalno-kemijskih karakteristika uzoraka komposta na početku i na kraju svakog zasebnog procesa uspoređene su analizom varijance (ANOVA) u programskom paketu Statistica 14.0.

#### 3.2.5.2. Analiza glavnih komponenata NIR spektara

Prikupljeni NIR spektri (korištenjem svih navedenih NIR instrumenata) svih uzoraka komposta tijekom procesa kompostiranja te pripadajućih vodenih ekstrakata uzoraka kompostiranja analizirani su metodom glavnih komponenata (eng. *Principle Component Analysis*, PCA) u programskom paketu Statistica 14.0. Metoda glavnih komponenata je najjednostavnija metoda

multivarijatne statistike koju možemo definirati kao alat za pronalaženje sličnosti i različitosti među podacima. Cilj PCA analize je konstrukcija novog koordinatnog sustava s manjim brojem dimenzija od izvornog koji naglašava glavne uzroke varijacija podataka.

PCA se primjenjuje za:

- redukciju dimenzionalnosti podataka (reducira broj izvornih varijabli na mali broj indeksa koji su linearna kombinacija izvornih varijabli i zovu se glavne komponente te analizira korelacije unutar jednog skupa varijabli i pojedinačne redukcije dimenzionalnog prostora, kako bi se što veći broj varijabli objasnio pomoću što manjeg broja varijabli)
- interpretaciju podataka (glavne komponente objašnjavaju varijabilnost podataka na najkoncizniji način čime pokazuje skrivene povezanosti i međuodnose podataka; podaci se prikazuju na način koji nije uobičajen, ali sadrži mnogo bitnih informacija o skupu izvornih podataka).

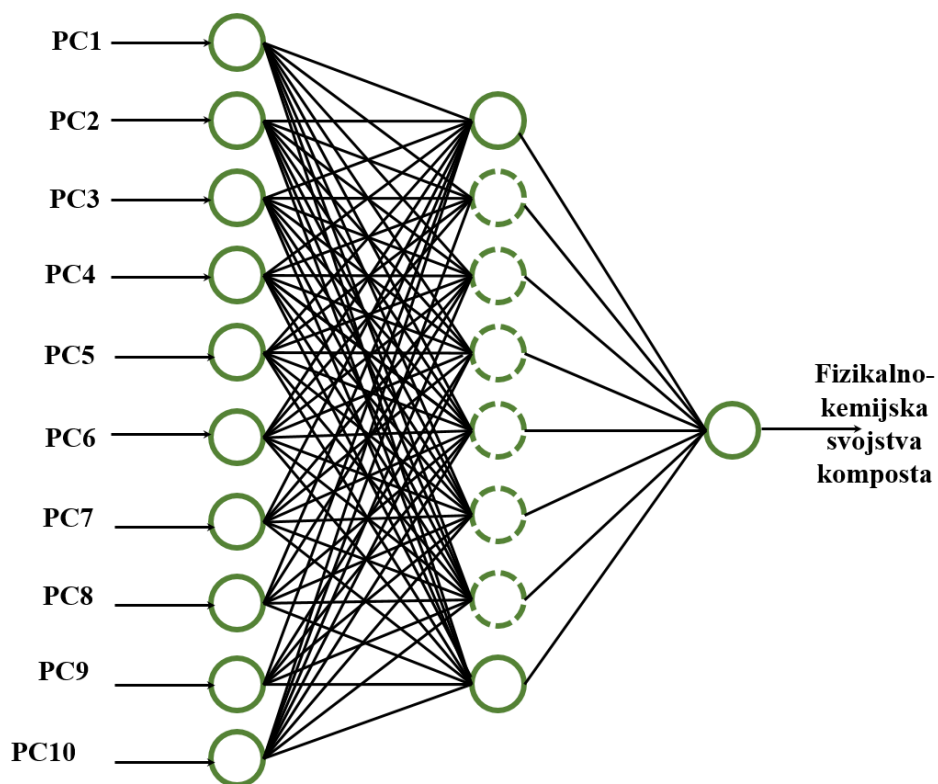
Ako su  $X_1, X_2, \dots, X_p$  svojstva varijabli mjerenih na  $n$  objekata (sva mjerenja se prikazuju  $n \times p$  matricom) tada primjenom PCA analize treba naći  $Y_1, Y_2, \dots, Y_p$  tako da su nekorelirani i da vrijedi  $\text{Var}(Y_1) \geq \text{Var}(Y_2) \geq \dots \geq \text{Var}(Y_p)$  gdje su  $Y_i$  glavne komponente (Jurinjak Tušek i sur., 2022).

### *3.2.5.3. Modeli neuronskih mreža za predviđanje fizikalno-kemijskih svojstava komposta tijekom procesa kompostiranja na temelju NIR spektara*

U svrhu predikcije fizikalno-kemijskih svojstava komposta tijekom procesa kompostiranja razvijene su višeslojne perceptronske neuronske mreže (eng. *Multiple Layer Perceptron*, MLP) u programskom paketu Statistica 14.0 (TIBCO® Statistica, Palo Alto, SAD). Višeslojne perceptronske neuronske mreže izgrađene su od perceptron neurona organiziranih u serijski povezane slojeve. Slojevi se najčešće opisuju brojevima od 0 do  $N$ , pri čemu nulti sloj samo prosljeđuje vektor ulaznih veličina u mrežu, dok je  $N$ -ti sloj ujedno i izlazni sloj mreže. Slojevi između nultog i  $N$ -tog nazivaju se unutarnjim ili skrivenim slojevima.

U ovom radu kao ulazne veličine za razvoj neuronskih mreža odabrane su koordinate prvih 10 faktora iz PCA analize NIR spektra uzoraka komposta i uzoraka ekstrakata komposta snimanim NIR spektroskopima navedenim u poglavlju 3.2.4.10., dok su izlazne veličine bile fizikalno-kemijska svojstva komposta (udio vlage, udio suhe tvari, udio organske tvari, udio pepela, udio ugljika, ukupna promjena boje komposta, pH, ukupne otopljene tvari (TDS), vodljivost i ukupna

promjena boje ekstrakta) (slika 6). Kod modeliranja podataka na temelju NIR spektra komposta dimenzija matrice podatak je bila 80 x 16; pri čemu redci opisuju broj uzoraka, a stupci broj varijabli (10 ulaznih varijabli i 6 prethodno nabrojanih izlaznih varijabli). Nadalje, kod modeliranja podataka na temelju NIR spektra ekstrakata komposta dimenzija matrice podatak je bila 80 x 14; pri čemu redci opisuju broj uzoraka, a stupci broj varijabli (10 ulaznih varijabli i 4 prethodno nabrojanih izlaznih varijabli). Eksperimentalni podaci su podijeljeni u omjeru 70:15:15 za učenje, testiranje i validaciju predloženog modela. Kao algoritam učenja upotrijebljen je algoritam povratne propagacije (engl. *Back - Propagation Algorithm*) implementiran u korištenom programskom paketu Statistica 14.0. Odabir optimalne neuronske mreže proveden je na temelju srednjeg kvadratnog odstupanja (engl. *Root Mean Squared Error*, RMSE) i linearnog korelacijskog koeficijenta ( $R^2$ ) određenih između eksperimentom izmjerenih vrijednosti te modelom predviđenih vrijednosti.



**Slika 6.** Struktura modela neuronskih mreža za predviđanje fizikalno-kemijskih svojstava komposta na temelju NIR spektara

## **4.   REZULTATI**

U ovom radu provedeno je istraživanje primjene blisko infracrvene (engl. *Near Infrared*, NIR) spektroskopije za analizu procesa kompostiranja pokožice grožđa u laboratorijskim reaktorima uz konstantnu aeraciju. U prvom dijelu istraživanja analizirane su najvažnije varijable koje utječu na ekstrakciju biološki aktivnih molekula iz pokožice grožđa primjenom klasične ekstrakcije kruto-tekuće i rezultati su prikazani u poglavlju 4.1. Nakon toga proveden je proces kompostiranja pokožice grožđa u pet reaktora s različitim početnim tretmanom komine (netretirana komina, usitnjena komina, ekstrahirana komina, usitnjena ekstrahirana komina i mješavina prethodno navedenih uzoraka prema definiranom omjeru). Rezultati fizikalno-kemijskih analiza te mikrobioloških analiza procesa kompostiranja prikazani su u poglavlju 4.2. Svi uzorci komposta i ekstrakata komposta tijekom procesa kompostiranja snimani su sa 4 NIR spektrometra i spektri su prikazani u poglavlju 4.3. Rezultati analize osnovnih komponenata NIR spektara prikazani su u poglavlju 4.4, dok su u poglavlju 4.5. prikazani rezultati modela umjetnih neuronskih mreža za predikciju fizikalno-kemijskih svojstava komposta tijekom procesa kompostiranja na temelju NIR spektara.

#### **4.1. Ekstrakcija biološki aktivnih molekula iz pokožice grožđa**

Provedena je ekstrakcija biološki aktivnih molekula iz pokožice grožđa. Rezultati analiza fizikalnih svojstava vodenih ekstrakata pokožice grožđa prikazani su u tablici 1. U tablici 2 prikazani su rezultati analize boje vodenih ekstrakata pokožice grožđa, dok su u tablici 3 prikazani rezultati kemijskih analiza vodenih ekstrakata pokožice grožđa. Nadalje u tablici 4 su prikazani rezultati korelacijske analize između analiziranih uvjeta ekstrakcije i fizikalno-kemijskih svojstva pripremljenih ekstrakata dok su u tablici 5 prikazani rezultati jednosmjerne analize varijance fizikalno-kemijskih svojstava vodenih ekstrakata pokožice grožđa.



**Tablica 1.** Fizikalna svojstva vodenih ekstrakata pokožice grožđa

| Br. | <i>t</i> (min) | <i>T</i> (°C) | <i>S/L</i> (g/L) | <i>rpm</i> (1/min) | pH          | <i>S</i> (μS/cm) | <i>TDS</i> (mg/L) | <i>Y</i> (%)  |
|-----|----------------|---------------|------------------|--------------------|-------------|------------------|-------------------|---------------|
| 1.  | 60             | 40            | 20               | 500                | 3,89 ± 0,01 | 313,33 ± 2,08    | 152,80 ± 2,52     | 0,2332 ± 0,03 |
| 2.  | 90             | 40            | 20               | 500                | 3,93 ± 0,01 | 254,33 ± 1,53    | 128,87 ± 1,71     | 0,2219 ± 0,04 |
| 3.  | 60             | 80            | 20               | 500                | 3,84 ± 0,01 | 379,33 ± 5,13    | 186,67 ± 0,90     | 0,4160 ± 0,07 |
| 4.  | 90             | 80            | 20               | 500                | 3,95 ± 0,01 | 335,33 ± 1,53    | 169,57 ± 1,10     | 0,3338 ± 0,02 |
| 5.  | 75             | 60            | 10               | 250                | 3,88 ± 0,02 | 219,00 ± 2,65    | 106,77 ± 1,62     | 0,1359 ± 0,03 |
| 6.  | 75             | 60            | 30               | 250                | 3,81 ± 0,01 | 329,00 ± 1,00    | 163,27 ± 0,91     | 0,4101 ± 0,04 |
| 7.  | 75             | 60            | 10               | 750                | 3,79 ± 0,01 | 230,33 ± 7,64    | 112,83 ± 2,63     | 0,2245 ± 0,01 |
| 8.  | 75             | 60            | 30               | 750                | 3,76 ± 0,01 | 379,67 ± 3,21    | 191,40 ± 0,26     | 0,5113 ± 0,01 |
| 9.  | 75             | 60            | 20               | 500                | 3,94 ± 0,01 | 239,67 ± 0,58    | 122,67 ± 3,76     | 0,2825 ± 0,04 |
| 10. | 60             | 60            | 20               | 250                | 3,87 ± 0,00 | 219,00 ± 1,73    | 108,67 ± 0,23     | 0,1923 ± 0,00 |
| 11. | 90             | 60            | 20               | 250                | 4,00 ± 0,01 | 197,93 ± 0,21    | 99,30 ± 0,44      | 0,2357 ± 0,04 |
| 12. | 60             | 60            | 20               | 750                | 3,90 ± 0,02 | 227,67 ± 0,58    | 113,67 ± 0,06     | 0,2193 ± 0,05 |
| 13. | 90             | 60            | 20               | 750                | 3,86 ± 0,01 | 311,33 ± 0,58    | 154,97 ± 0,51     | 0,4154 ± 0,01 |
| 14. | 75             | 40            | 10               | 500                | 4,07 ± 0,01 | 193,07 ± 9,48    | 93,73 ± 5,61      | 0,1610 ± 0,01 |
| 15. | 75             | 80            | 10               | 500                | 3,95 ± 0,00 | 218,33 ± 0,58    | 109,33 ± 0,21     | 0,2465 ± 0,08 |
| 16. | 75             | 40            | 30               | 500                | 3,76 ± 0,00 | 242,67 ± 1,15    | 121,33 ± 0,58     | 0,2338 ± 0,00 |
| 17. | 75             | 80            | 30               | 500                | 3,78 ± 0,01 | 378,00 ± 1,00    | 187,97 ± 2,66     | 0,4515 ± 0,01 |
| 18. | 75             | 60            | 20               | 500                | 3,85 ± 0,01 | 296,00 ± 3,61    | 141,93 ± 3,88     | 0,3330 ± 0,04 |
| 19. | 60             | 60            | 10               | 500                | 3,94 ± 0,03 | 162,00 ± 1,00    | 81,27 ± 0,93      | 0,1889 ± 0,00 |
| 20. | 90             | 60            | 10               | 500                | 4,03 ± 0,01 | 172,70 ± 0,10    | 86,47 ± 0,06      | 0,1740 ± 0,01 |
| 21. | 60             | 60            | 30               | 500                | 3,84 ± 0,02 | 280,33 ± 0,58    | 139,0 ± 1,00      | 0,2875 ± 0,08 |
| 22. | 90             | 60            | 30               | 500                | 3,82 ± 0,00 | 291,33 ± 0,58    | 145,93 ± 0,21     | 0,2944 ± 0,01 |
| 23. | 75             | 40            | 20               | 250                | 3,93 ± 0,01 | 152,27 ± 8,95    | 81,97 ± 0,70      | 0,2350 ± 0,17 |
| 24. | 75             | 80            | 20               | 250                | 3,79 ± 0,01 | 229,67 ± 0,58    | 114,67 ± 0,58     | 0,3160 ± 0,04 |
| 25. | 75             | 40            | 20               | 750                | 3,83 ± 0,01 | 208,00 ± 1,00    | 106,57 ± 1,80     | 0,2008 ± 0,04 |
| 26. | 75             | 80            | 20               | 750                | 3,69 ± 0,01 | 311,00 ± 5,57    | 158,47 ± 0,58     | 0,4133 ± 0,04 |
| 27. | 75             | 60            | 20               | 500                | 3,82 ± 0,01 | 225,00 ± 1,73    | 114,13 ± 0,81     | 0,1241 ± 0,05 |
| 28. | 75             | 60            | 20               | 500                | 3,77 ± 0,01 | 245,67 ± 0,58    | 123,57 ± 0,06     | 0,2882 ± 0,02 |
| 29. | 75             | 60            | 20               | 500                | 3,72 ± 0,00 | 242,33 ± 0,58    | 121,27 ± 0,64     | 0,2848 ± 0,02 |
| 30. | 75             | 60            | 20               | 500                | 3,73 ± 0,01 | 241,67 ± 0,58    | 121,33 ± 0,58     | 0,2755 ± 0,04 |

**Tablica 2.** Boja vodenih ekstrakata pokožice grožđa

| Br. | <i>t</i> (min) | <i>T</i> (°C) | <i>S/L</i> (g/L) | <i>rpm</i> (1/min) | <i>L</i>     | <i>a</i>     | <i>b</i>    | Chroma      | Hue           |
|-----|----------------|---------------|------------------|--------------------|--------------|--------------|-------------|-------------|---------------|
| 1.  | 60             | 40            | 20               | 500                | 42,77 ± 0,00 | 0,08 ± 0,01  | 0,70 ± 0,01 | 0,71 ± 0,01 | 83,38 ± 1,00  |
| 2.  | 90             | 40            | 20               | 500                | 42,07 ± 0,01 | 0,03 ± 0,01  | 0,68 ± 0,01 | 0,68 ± 0,01 | 87,77 ± 0,61  |
| 3.  | 60             | 80            | 20               | 500                | 40,81 ± 0,04 | 0,13 ± 0,01  | 0,58 ± 0,01 | 0,60 ± 0,01 | 77,32 ± 0,70  |
| 4.  | 90             | 80            | 20               | 500                | 42,64 ± 0,81 | 0,02 ± 0,06  | 0,90 ± 0,31 | 0,90 ± 0,31 | 87,63 ± 3,76  |
| 5.  | 75             | 60            | 10               | 250                | 44,13 ± 0,01 | -0,15 ± 0,00 | 1,02 ± 0,01 | 1,03 ± 0,01 | 98,50 ± 0,05  |
| 6.  | 75             | 60            | 30               | 250                | 43,95 ± 8,70 | -0,13 ± 0,00 | 1,15 ± 0,01 | 1,16 ± 0,01 | 96,46 ± 0,19  |
| 7.  | 75             | 60            | 10               | 750                | 43,75 ± 0,01 | -0,10 ± 0,01 | 1,11 ± 0,01 | 1,11 ± 0,01 | 95,10 ± 0,38  |
| 8.  | 75             | 60            | 30               | 750                | 46,81 ± 0,02 | -0,82 ± 0,02 | 0,82 ± 0,01 | 1,16 ± 0,02 | 134,81 ± 0,54 |
| 9.  | 75             | 60            | 20               | 500                | 43,80 ± 0,01 | -0,03 ± 0,01 | 1,13 ± 0,01 | 1,13 ± 0,01 | 91,27 ± 0,55  |
| 10. | 60             | 60            | 20               | 250                | 43,87 ± 0,01 | -0,12 ± 0,00 | 1,06 ± 0,01 | 1,07 ± 0,01 | 96,61 ± 0,03  |
| 11. | 90             | 60            | 20               | 250                | 44,28 ± 0,02 | -0,17 ± 0,01 | 0,95 ± 0,01 | 0,97 ± 0,01 | 100,03 ± 0,52 |
| 12. | 60             | 60            | 20               | 750                | 43,75 ± 0,07 | -0,09 ± 0,02 | 1,12 ± 0,01 | 1,13 ± 0,01 | 94,63 ± 0,66  |
| 13. | 90             | 60            | 20               | 750                | 43,86 ± 0,01 | -0,07 ± 0,01 | 1,13 ± 0,01 | 1,13 ± 0,01 | 93,61 ± 0,37  |
| 14. | 75             | 40            | 10               | 500                | 44,21 ± 0,01 | -0,17 ± 0,00 | 0,99 ± 0,01 | 1,01 ± 0,01 | 99,54 ± 0,22  |
| 15. | 75             | 80            | 10               | 500                | 43,98 ± 0,00 | -0,06 ± 0,01 | 1,16 ± 0,01 | 1,16 ± 0,01 | 92,93 ± 0,59  |
| 16. | 75             | 40            | 30               | 500                | 44,26 ± 0,03 | -0,13 ± 0,01 | 1,00 ± 0,01 | 1,01 ± 0,01 | 97,33 ± 0,51  |
| 17. | 75             | 80            | 30               | 500                | 43,38 ± 0,01 | -0,04 ± 0,01 | 1,27 ± 0,01 | 1,27 ± 0,01 | 91,75 ± 0,21  |
| 18. | 75             | 60            | 20               | 500                | 46,98 ± 0,01 | -0,78 ± 0,01 | 0,81 ± 0,01 | 1,12 ± 0,01 | 133,64 ± 0,23 |
| 19. | 60             | 60            | 10               | 500                | 47,15 ± 0,02 | -0,80 ± 0,01 | 0,66 ± 0,02 | 1,04 ± 0,02 | 140,69 ± 0,37 |
| 20. | 90             | 60            | 10               | 500                | 47,06 ± 0,01 | -0,81 ± 0,01 | 0,68 ± 0,00 | 1,06 ± 0,01 | 140,06 ± 0,52 |
| 21. | 60             | 60            | 30               | 500                | 47,00 ± 0,01 | -0,77 ± 0,01 | 0,82 ± 0,01 | 1,12 ± 0,00 | 133,07 ± 0,68 |
| 22. | 90             | 60            | 30               | 500                | 47,01 ± 0,01 | -0,82 ± 0,01 | 0,77 ± 0,01 | 1,12 ± 0,01 | 136,77 ± 0,02 |
| 23. | 75             | 40            | 20               | 250                | 47,27 ± 0,02 | -0,85 ± 0,01 | 0,63 ± 0,01 | 1,06 ± 0,01 | 143,73 ± 0,32 |
| 24. | 75             | 80            | 20               | 250                | 47,03 ± 0,02 | -0,77 ± 0,01 | 0,90 ± 0,01 | 1,19 ± 0,02 | 130,53 ± 0,07 |
| 25. | 75             | 40            | 20               | 750                | 47,20 ± 8,70 | -0,83 ± 0,01 | 0,63 ± 0,01 | 1,04 ± 0,01 | 142,59 ± 0,50 |
| 26. | 75             | 80            | 20               | 750                | 46,73 ± 0,00 | -0,63 ± 0,02 | 1,07 ± 0,01 | 1,24 ± 0,01 | 120,61 ± 0,63 |
| 27. | 75             | 60            | 20               | 500                | 46,55 ± 0,01 | -0,82 ± 0,01 | 0,74 ± 1,36 | 1,10 ± 0,01 | 137,85 ± 0,31 |
| 28. | 75             | 60            | 20               | 500                | 46,83 ± 0,02 | -0,71 ± 0,01 | 0,79 ± 0,02 | 1,05 ± 0,02 | 131,98 ± 0,49 |
| 29. | 75             | 60            | 20               | 500                | 46,76 ± 0,01 | -0,77 ± 0,00 | 0,83 ± 0,01 | 1,13 ± 0,01 | 132,79 ± 0,36 |
| 30. | 75             | 60            | 20               | 500                | 47,23 ± 0,01 | -0,25 ± 0,88 | 0,77 ± 0,01 | 1,09 ± 0,01 | 134,65 ± 0,62 |

**Tablica 3.** Kemijska svojstva vodenih ekstrakata pokožice grožđa

| <b>Br.</b> | <b><i>t</i> (min)</b> | <b><i>T</i> (°C)</b> | <b><i>S/L</i> (g/L)</b> | <b><i>rpm</i><br/>(1/min)</b> | <b><i>UF</i><br/>(mg<sub>GAE</sub>/g<sub>s.tv.</sub>)</b> | <b><i>DPPH</i><br/>(mmol<sub>Trolox</sub>/g<sub>s.tv.</sub>)</b> | <b><i>FRAP</i><br/>(mmol<sub>FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O</sub>/g<sub>s.tv.</sub>)</b> |
|------------|-----------------------|----------------------|-------------------------|-------------------------------|---|--|--|
| 1.         | 60                    | 40                   | 20                      | 500                           | 1,47 ± 0,00   | 0,0009 ± 0,0001  | 0,0082 ± 0,0002  |
| 2.         | 90                    | 40                   | 20                      | 500                           | 2,54 ± 0,32   | 0,0007 ± 0,0001  | 0,0098 ± 0,0021  |
| 3.         | 60                    | 80                   | 20                      | 500                           | 3,85 ± 0,06   | 0,0046 ± 0,0010  | 0,0295 ± 0,0002  |
| 4.         | 90                    | 80                   | 20                      | 500                           | 2,94 ± 0,16   | 0,0022 ± 0,0005  | 0,0287 ± 0,0006  |
| 5.         | 75                    | 60                   | 10                      | 250                           | 1,20 ± 0,06   | 0,0005 ± 0,0000  | 0,0059 ± 0,0002  |
| 6.         | 75                    | 60                   | 30                      | 250                           | 3,43 ± 0,06   | 0,0012 ± 0,0003  | 0,0192 ± 0,0005  |
| 7.         | 75                    | 60                   | 10                      | 750                           | 1,31 ± 0,01   | 0,0005 ± 0,0001  | 0,0050 ± 0,0001  |
| 8.         | 75                    | 60                   | 30                      | 750                           | 4,02 ± 0,06   | 0,0012 ± 0,0001  | 0,0431 ± 0,0013  |
| 9.         | 75                    | 60                   | 20                      | 500                           | 3,28 ± 0,16   | 0,0008 ± 0,0001  | 0,0088 ± 0,0006  |
| 10.        | 60                    | 60                   | 20                      | 250                           | 3,28 ± 0,04   | 0,0007 ± 0,0001  | 0,0155 ± 0,0012  |
| 11.        | 90                    | 60                   | 20                      | 250                           | 2,19 ± 0,06   | 0,0008 ± 0,0001  | 0,0133 ± 0,0026  |
| 12.        | 60                    | 60                   | 20                      | 750                           | 2,10 ± 0,02   | 0,0007 ± 0,0000  | 0,0200 ± 0,0005  |
| 13.        | 90                    | 60                   | 20                      | 750                           | 2,30 ± 0,34   | 0,0007 ± 0,0001  | 0,0264 ± 0,0001  |
| 14.        | 75                    | 40                   | 10                      | 500                           | 1,09 ± 0,04   | 0,0004 ± 0,0001  | 0,0028 ± 0,0002  |
| 15.        | 75                    | 80                   | 10                      | 500                           | 1,29 ± 0,03   | 0,0015 ± 0,0008  | 0,0129 ± 0,0004  |
| 16.        | 75                    | 40                   | 30                      | 500                           | 3,08 ± 0,03   | 0,0009 ± 0,0001  | 0,0253 ± 0,0014  |
| 17.        | 75                    | 80                   | 30                      | 500                           | 8,24 ± 0,21   | 0,0301 ± 0,0009  | 0,0483 ± 0,0001  |
| 18.        | 75                    | 60                   | 20                      | 500                           | 2,93 ± 0,24   | 0,0008 ± 0,0001  | 0,0105 ± 0,0001  |
| 19.        | 60                    | 60                   | 10                      | 500                           | 1,98 ± 0,05   | 0,0003 ± 0,0000  | 0,0030 ± 0,0003  |
| 20.        | 90                    | 60                   | 10                      | 500                           | 1,96 ± 0,14   | 0,0003 ± 0,0000  | 0,0037 ± 0,0002  |
| 21.        | 60                    | 60                   | 30                      | 500                           | 4,74 ± 0,06   | 0,0021 ± 0,0004  | 0,0297 ± 0,0016  |
| 22.        | 90                    | 60                   | 30                      | 500                           | 4,30 ± 0,03   | 0,0010 ± 0,0001  | 0,025 ± 0,0011   |
| 23.        | 75                    | 40                   | 20                      | 250                           | 4,04 ± 0,32   | 0,0007 ± 0,0000  | 0,0055 ± 0,0007  |
| 24.        | 75                    | 80                   | 20                      | 250                           | 5,05 ± 0,04   | 0,0046 ± 0,0024  | 0,0236 ± 0,0004  |
| 25.        | 75                    | 40                   | 20                      | 750                           | 4,00 ± 0,38   | 0,0010 ± 0,0000  | 0,0088 ± 0,0000  |
| 26.        | 75                    | 80                   | 20                      | 750                           | 5,96 ± 0,32   | 0,0273 ± 0,0015  | 0,0314 ± 0,0007  |
| 27.        | 75                    | 60                   | 20                      | 500                           | 2,47 ± 0,22   | 0,0012 ± 0,0005  | 0,0144 ± 0,0010  |
| 28.        | 75                    | 60                   | 20                      | 500                           | 2,20 ± 0,04   | 0,0008 ± 0,0003  | 0,0183 ± 0,0002  |
| 29.        | 75                    | 60                   | 20                      | 500                           | 2,67 ± 0,18   | 0,0008 ± 0,0000  | 0,0160 ± 0,0001  |
| 30.        | 75                    | 60                   | 20                      | 500                           | 2,57 ± 0,04   | 0,0008 ± 0,0000  | 0,0173 ± 0,0001  |

**Tablica 4.** Korelacijska matrica između fizikalnih i kemijskih karakteristika pripremljenih vodenih ekstrakata pokožice grožđa (korelacije signifikantne za  $p < 0,05$  označene su podebljano)

|               | <i>t</i> | <i>T</i>      | <i>S/L</i>    | <i>rpm</i>    | <i>pH</i>     | <i>S</i>      | <i>TDS</i>    | <i>Y</i>     | <i>L</i>      | <i>a</i>      | <i>b</i>      | <i>Chroma</i> | <i>Hue</i> | <i>UF</i>    | <i>DPPH</i>  | <i>FRAP</i> |
|---------------|----------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|--------------|---------------|---------------|---------------|---------------|------------|--------------|--------------|-------------|
| <i>t</i>      | 1,000    |               |               |               |               |               |               |              |               |               |               |               |            |              |              |             |
| <i>T</i>      | 0,000    | 1,000         |               |               |               |               |               |              |               |               |               |               |            |              |              |             |
| <i>S/L</i>    | 0,000    | 0,000         |               |               |               |               |               |              |               |               |               |               |            |              |              |             |
| <i>rpm</i>    | 0,000    | 0,000         | 0,000         | 1,000         |               |               |               |              |               |               |               |               |            |              |              |             |
| <i>pH</i>     | 0,139    | <b>-0,280</b> | <b>-0,522</b> | <b>-0,263</b> | 1,000         |               |               |              |               |               |               |               |            |              |              |             |
| <i>S</i>      | 0,005    | <b>0,419</b>  | <b>0,623</b>  | <b>0,284</b>  | <b>-0,497</b> | 1,000         |               |              |               |               |               |               |            |              |              |             |
| <i>TDS</i>    | -0,016   | <b>0,417</b>  | <b>0,602</b>  | <b>0,274</b>  | <b>-0,484</b> | <b>0,995</b>  | 1,000         |              |               |               |               |               |            |              |              |             |
| <i>Y</i>      | 0,070    | <b>0,452</b>  | <b>0,536</b>  | <b>0,233</b>  | <b>-0,464</b> | <b>0,781</b>  | <b>0,773</b>  | 1,000        |               |               |               |               |            |              |              |             |
| <i>L</i>      | 0,044    | -0,090        | 0,060         | 0,044         | <b>-0,263</b> | <b>-0,340</b> | <b>-0,356</b> | -0,080       | 1,000         |               |               |               |            |              |              |             |
| <i>a</i>      | -0,033   | 0,071         | -0,083        | -0,047        | 0,198         | <b>0,246</b>  | <b>0,261</b>  | 0,060        | <b>-0,875</b> | 1,000         |               |               |            |              |              |             |
| <i>b</i>      | 0,046    | <b>0,335</b>  | 0,057         | 0,044         | -0,075        | 0,157         | 0,166         | 0,200        | <b>-0,319</b> | <b>0,435</b>  | 1,000         |               |            |              |              |             |
| <i>Chroma</i> | 0,068    | <b>0,287</b>  | 0,144         | 0,112         | <b>-0,309</b> | -0,074        | -0,084        | 0,171        | <b>0,556</b>  | <b>-0,388</b> | <b>0,580</b>  | 1,000         |            |              |              |             |
| <i>Hue</i>    | 0,048    | -0,128        | 0,056         | 0,037         | <b>-0,223</b> | <b>-0,327</b> | <b>-0,345</b> | -0,105       | <b>0,970</b>  | <b>-0,903</b> | <b>-0,499</b> | <b>0,406</b>  | 1,000      |              |              |             |
| <i>UF</i>     | -0,041   | <b>0,384</b>  | <b>0,655</b>  | 0,017         | <b>-0,492</b> | <b>0,514</b>  | <b>0,486</b>  | <b>0,557</b> | 0,167         | -0,205        | 0,113         | <b>0,335</b>  | 0,161      | 1,000        |              |             |
| <i>DPPH</i>   | -0,027   | <b>0,492</b>  | <b>0,284</b>  | 0,171         | <b>-0,400</b> | <b>0,468</b>  | <b>0,453</b>  | <b>0,463</b> | -0,041        | 0,044         | <b>0,350</b>  | <b>0,315</b>  | -0,099     | <b>0,777</b> | 1,000        |             |
| <i>FRAP</i>   | 0,006    | <b>0,523</b>  | <b>0,730</b>  | <b>0,237</b>  | <b>-0,580</b> | <b>0,807</b>  | <b>0,789</b>  | <b>0,738</b> | -0,077        | 0,038         | <b>0,257</b>  | <b>0,234</b>  | -0,097     | <b>0,728</b> | <b>0,603</b> | 1,000       |

**Tablica 5.** Jednosmjerna analiza varijance (engl. *one – way ANOVA*) <sup>a-c</sup> Ista mala slova u stupcu označavaju da nema signifikantne razlike ( $p > 0,05$ ) između uzoraka na početku i kraju procesa kompostiranja prema analizi varijance i Tukey-evog post hoc testa.

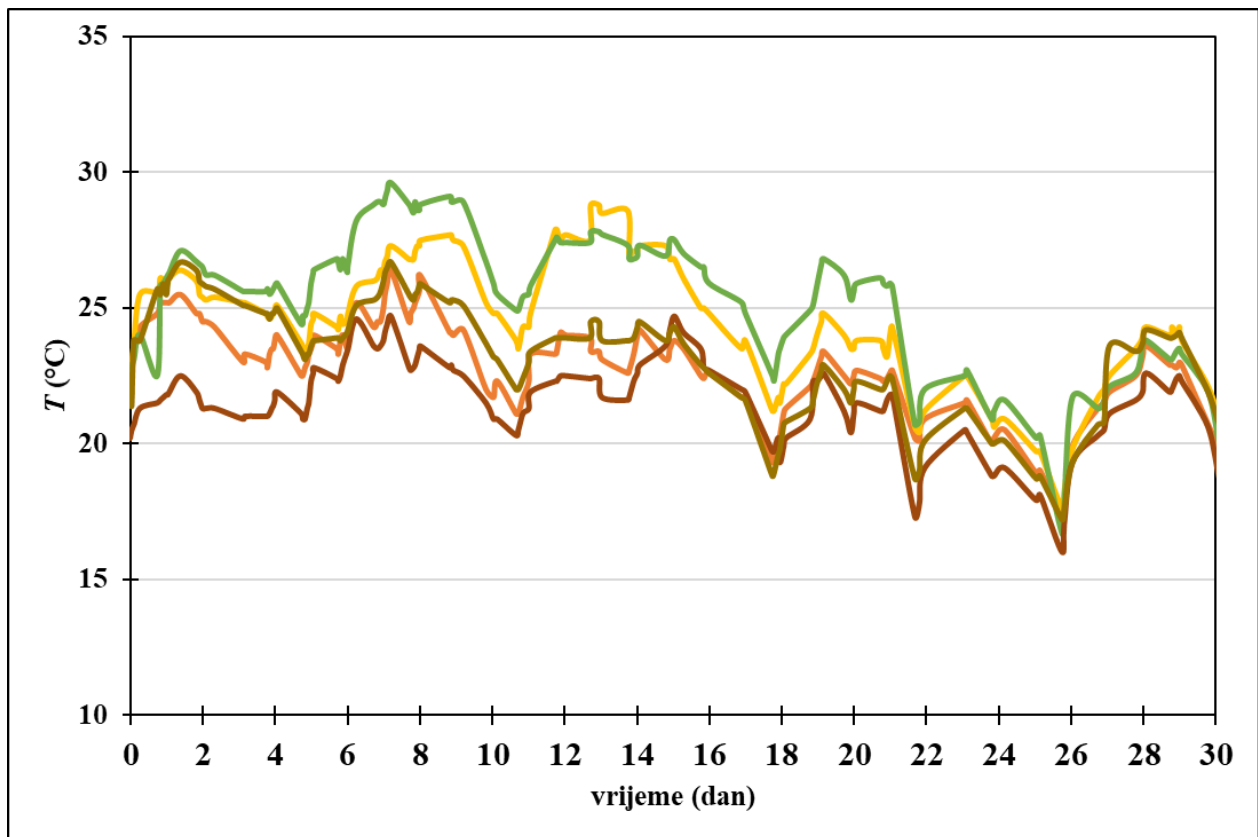
|                       |     | <i>pH</i>         | <i>S</i> ( $\mu\text{S/cm}$ ) | <i>TDS</i> (mg/L)    | <i>Y</i> (%)        | <i>UF</i><br>( $\text{mg}_{\text{GAE}}/\text{g}_{\text{s.tv.}}$ ) | <i>DPPH</i><br>( $\text{mmol}_{\text{Trolox}}/\text{g}_{\text{s.tv.}}$ ) | <i>FRAP</i><br>( $\text{mmol}_{\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}}/\text{g}_{\text{s.tv.}}$ ) |
|-----------------------|-----|-------------------|-------------------------------|----------------------|---------------------|---|--|--|
| <i>t</i> (min)        | 60  | $3,87 \pm 0,04^a$ | $263,61 \pm 72,48^a$          | $130,35 \pm 34,93^a$ | $0,256 \pm 0,085^a$ | $2,905 \pm 1,186^a$   | $0,0023 \pm 0,0016^a$  | $0,0179 \pm 0,0103^a$  |
|                       | 75  | $3,82 \pm 0,09^b$ | $254,51 \pm 59,89^a$          | $127,38 \pm 29,49^a$ | $0,284 \pm 0,116^a$ | $3,267 \pm 1,789^a$   | $0,0049 \pm 0,0009^a$  | $0,0179 \pm 0,0126^a$  |
|                       | 90  | $3,92 \pm 0,08^a$ | $260,49 \pm 60,59^a$          | $130,85 \pm 30,52^a$ | $0,279 \pm 0,083^a$ | $2,705 \pm 0,807^a$   | $0,0018 \pm 0,0007^a$  | $0,0181 \pm 0,0097^a$  |
| <i>T</i> (°C)         | 40  | $3,89 \pm 0,09^a$ | $227,28 \pm 52,57^b$          | $114,21 \pm 24,14^b$ | $0,214 \pm 0,051^b$ | $2,700 \pm 1,178^b$   | $0,0016 \pm 0,0004^a$  | $0,0103 \pm 0,0074^a$  |
|                       | 60  | $3,85 \pm 0,08^a$ | $250,59 \pm 54,12^b$          | $124,89 \pm 29,93^b$ | $0,271 \pm 0,101^b$ | $2,719 \pm 0,957^b$   | $0,0017 \pm 0,0006^a$  | $0,0168 \pm 0,0101^b$  |
|                       | 80  | $3,82 \pm 0,09^b$ | $308,61 \pm 66,37^a$          | $154,44 \pm 30,62^a$ | $0,363 \pm 0,105^a$ | $4,555 \pm 2,286^a$   | $0,0013 \pm 0,0012^b$  | $0,0293 \pm 0,0109^a$  |
| <i>S/L</i><br>(g/L)   | 10  | $3,94 \pm 0,09^a$ | $199,24 \pm 26,42^c$          | $98,40 \pm 12,49^c$  | $0,188 \pm 0,044^c$ | $1,472 \pm 0,374^c$   | $0,0010 \pm 0,0004^b$  | $0,0056 \pm 0,0036^c$  |
|                       | 20  | $3,84 \pm 0,08^b$ | $257,19 \pm 55,08^b$          | $128,93 \pm 26,22^b$ | $0,279 \pm 0,086^b$ | $3,102 \pm 1,108^b$   | $0,0036 \pm 0,0061^b$  | $0,0173 \pm 0,0079^b$  |
|                       | 30  | $3,79 \pm 0,03^c$ | $316,83 \pm 52,01^a$          | $158,16 \pm 26,22^a$ | $0,364 \pm 0,125^a$ | $4,634 \pm 1,752^a$   | $0,0073 \pm 0,0110^a$  | $0,0322 \pm 0,0107^a$  |
| <i>rpm</i><br>(1/min) | 250 | $3,87 \pm 0,07^a$ | $224,48 \pm 54,76^b$          | $112,43 \pm 25,68^b$ | $0,254 \pm 0,101^a$ | $3,198 \pm 1,279^a$   | $0,0022 \pm 0,0016^a$  | $0,0141 \pm 0,0068^a$  |
|                       | 500 | $3,86 \pm 0,09^a$ | $261,72 \pm 60,98^b$          | $130,42 \pm 29,88^b$ | $0,268 \pm 0,093^a$ | $2,977 \pm 1,606^a$   | $0,0036 \pm 0,0068^a$  | $0,0176 \pm 0,0117^a$  |
|                       | 750 | $3,80 \pm 0,07^b$ | $278,00 \pm 62,75^a$          | $139,65 \pm 31,89^a$ | $0,331 \pm 0,125^a$ | $3,282 \pm 1,606^a$   | $0,0060 \pm 0,0110^a$  | $0,0227 \pm 0,0134^a$  |

#### 4.2. Fizikalno-kemijska svojstva komposta tijekom procesa kompostiranja

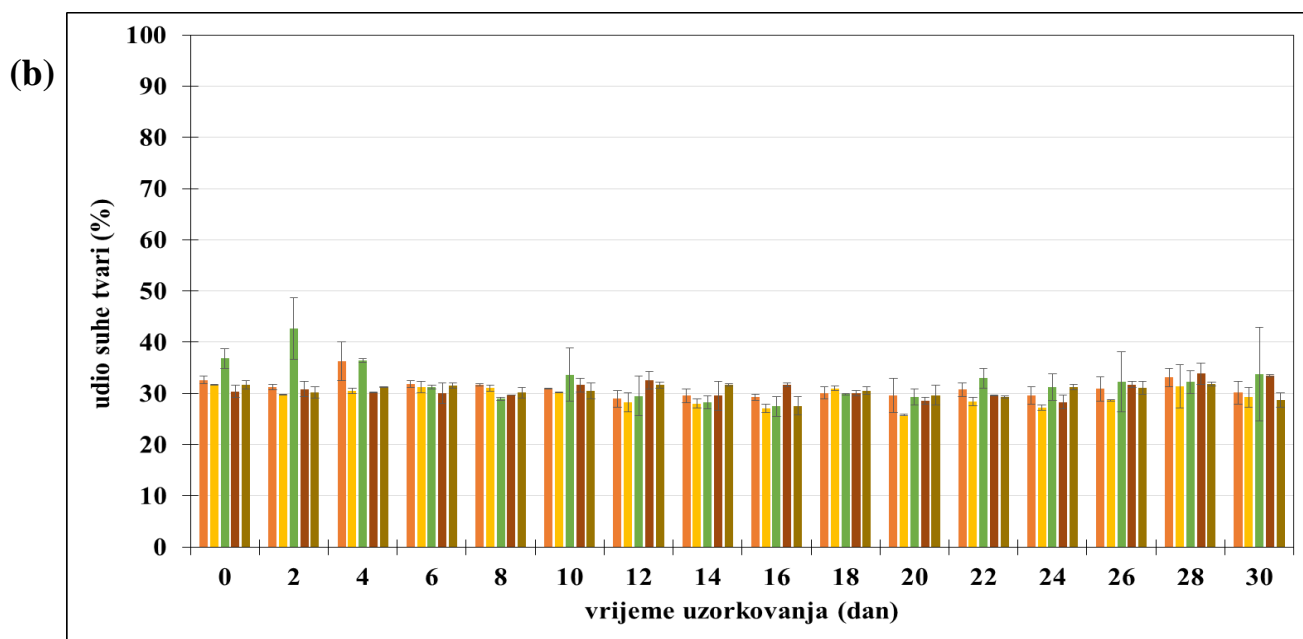
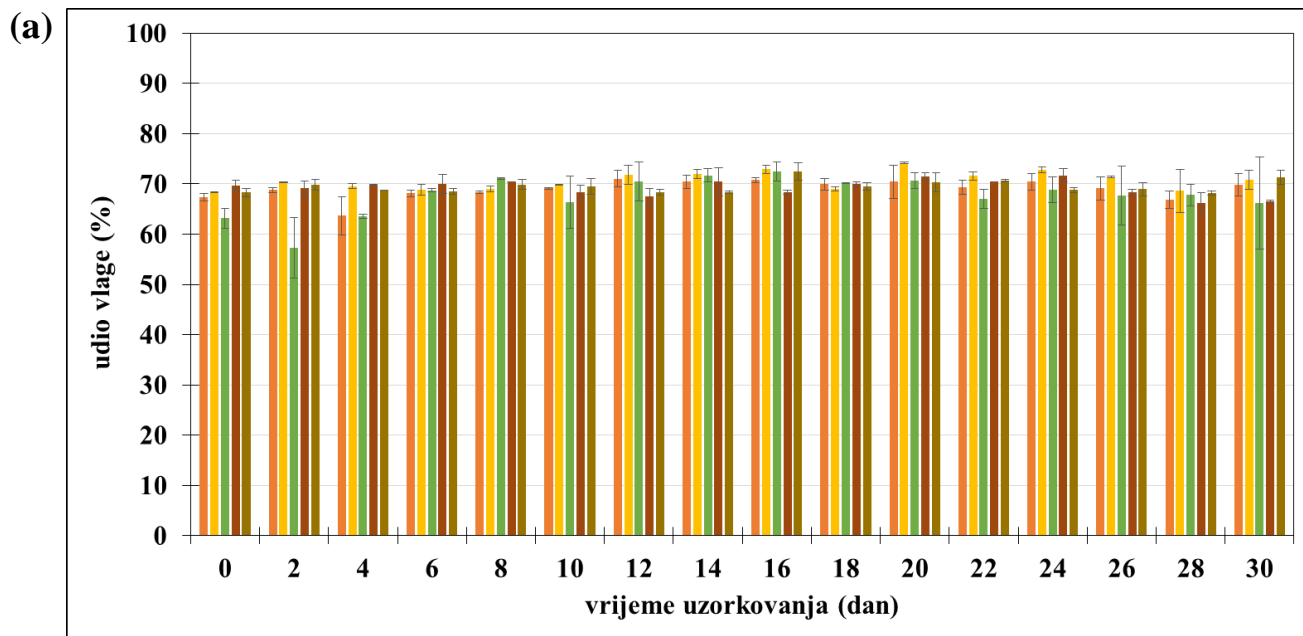
Tijekom procesa kompostiranja analizirane su promjene fizikalno-kemijskih i mikrobioloških svojstava uzoraka komposta. Izgled pokožice grožđa prije i nakon kompostiranja prikazan je na slici 7, a promjena temperature u svih 5 reaktora na slici 8. Rezultati fizikalno-kemijskih svojstava komposta prikazani su na slikama 9-12 dok su rezultati mikrobioloških analiza prikazani na slici 13, a rezultati nasipne gustoće na slici 14. Rezultati statističke analize fizikalno-kemijskih svojstava komposta prikazani su u tablici 6.



**Slika 7.** Fotografije pokožice grožđa prije i nakon procesa kompostiranja

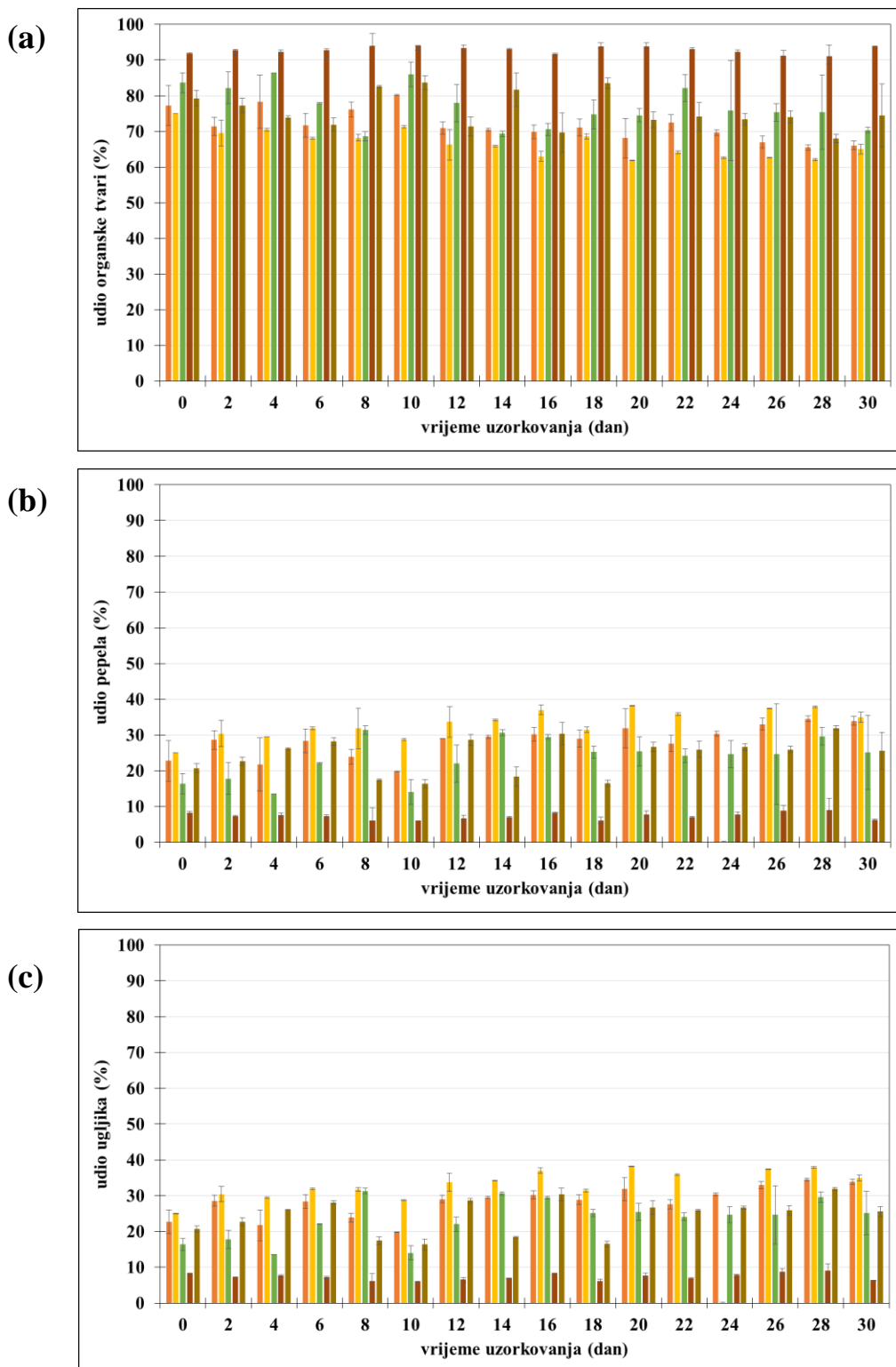


**Slika 8.** Promjene temperature tijekom procesa kompostiranja. □- reaktor 1; □- reaktor 2; □- reaktor 3; □- reaktor 4; □- reaktor 5

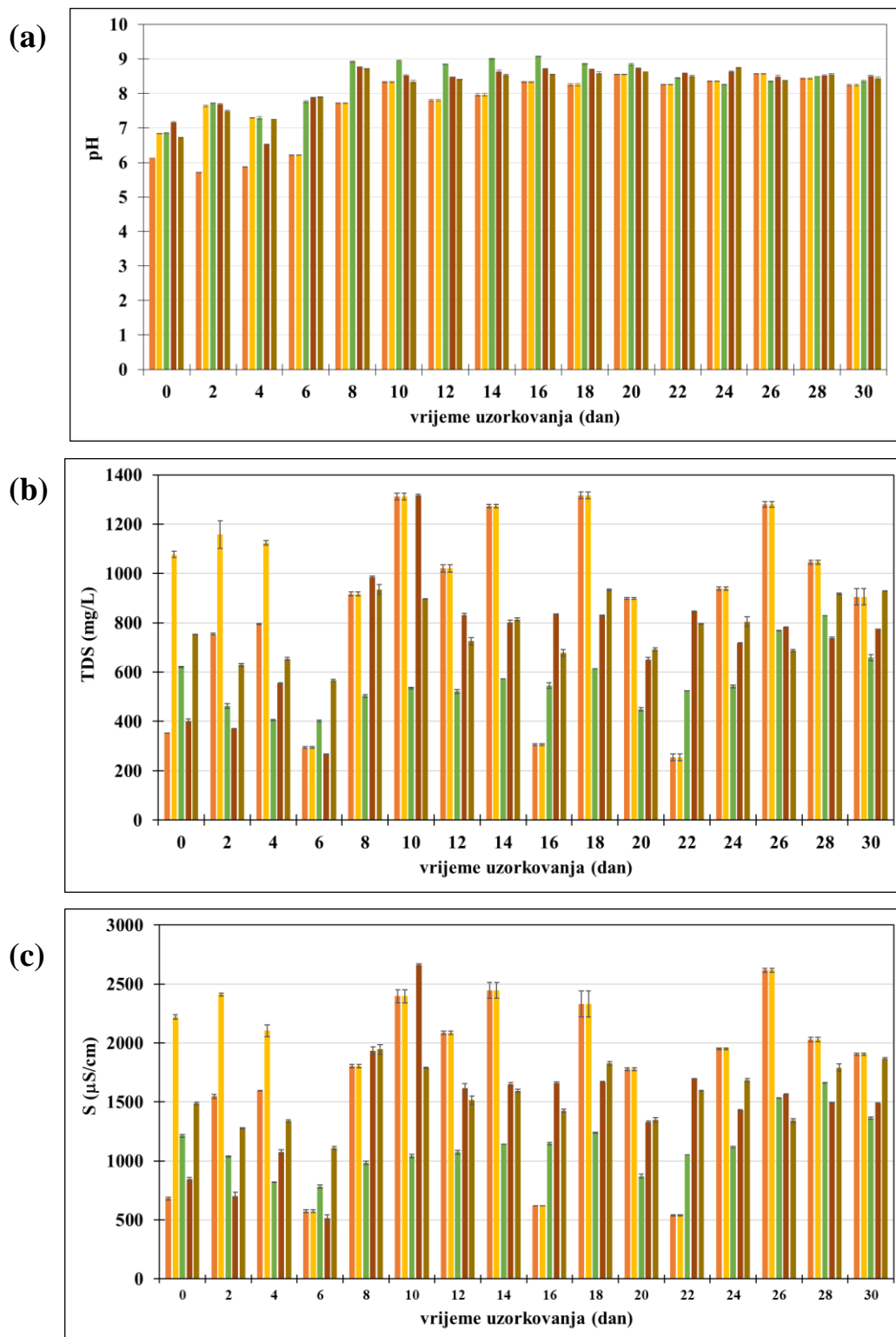


**Slika 9.** Promjena (a) udjela vlage i (b) udjela suhe tvari u uzorcima komposta tijekom procesa kompostiranja. □- reaktor 1; □- reaktor 2; □- reaktor 3; □- reaktor 4; □- reaktor 5





**Slika 10.** Promjena (a) udjela organske tvari, (b) udjela pepela i (c) udjela ugljika u uzorcima komposta tijekom procesa kompostiranja. □- reaktor 1; □- reaktor 2; □- reaktor 3; □- reaktor 4; □- reaktor 5

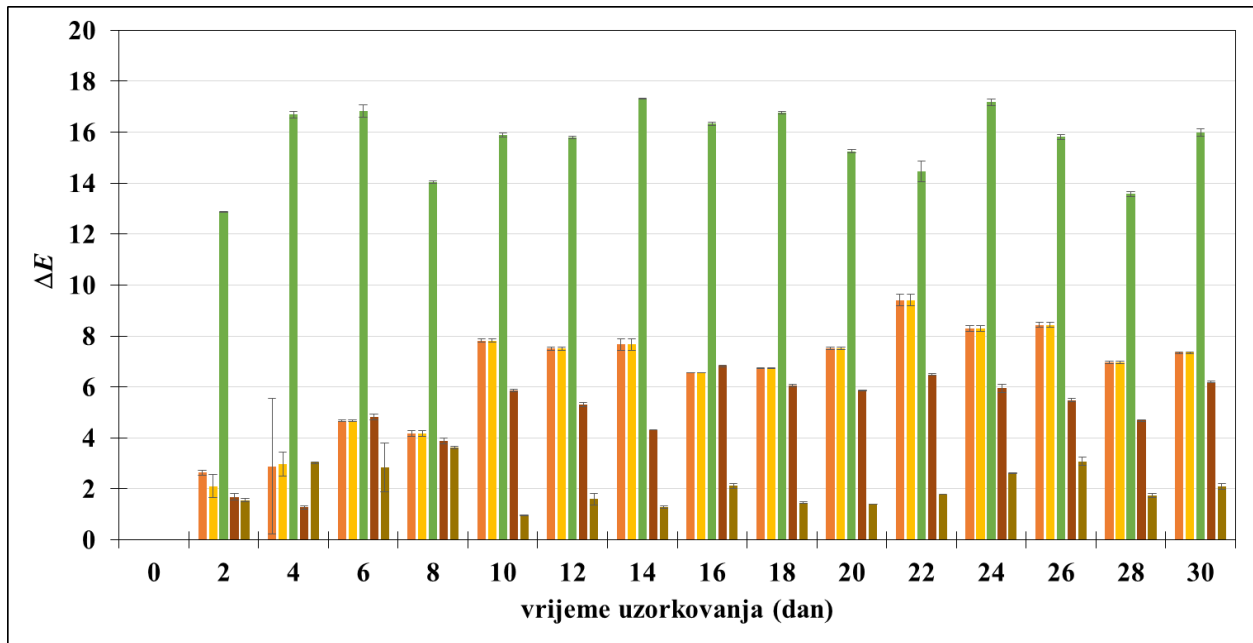


**Slika 11.** Promjena (a) pH, (b) koncentracije ukupnih otopljenih tvari (engl. *Total Dissolved Solids*, TDS) i (c) vodljivosti u uzorcima komposta tijekom procesa kompostiranja. □- reaktor 1; □- reaktor 2; □- reaktor 3; □- reaktor 4; □- reaktor 5

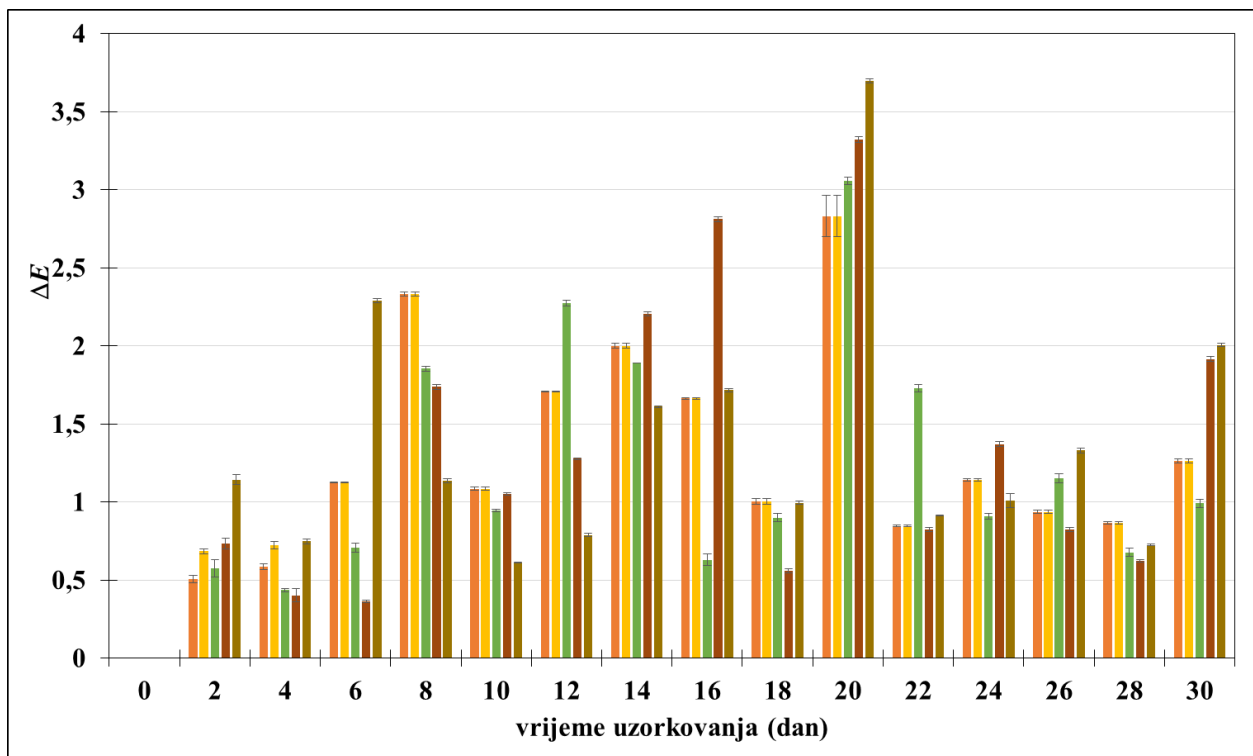
**Tablica 6.** Srednje vrijednosti fizikalno-kemijskih svojstva komposta na početku i kraju procesa kompostiranja. <sup>A-E</sup> Ista velika tiskana slova u retku označavaju da nema signifikantne razlike ( $p > 0,05$ ) između uzoraka u različitim reaktorima prema dvosmjernoj analizi varijance (engl. *two-way* ANOVA) i Tukey-evog post hoc testa. <sup>a-b</sup> Ista mala slova u stupcu označavaju da nema signifikantne razlike ( $p > 0,05$ ) između uzoraka na početku i kraju procesa kompostiranja prema dvosmjernoj analizi varijance i Tukey-evog post hoc testa.

| varijabla               | Dan komp. | Reaktor 1                       | Reaktor 2                        | Reaktor 3                        | Reaktor 4                       | Reaktor 5                       |
|-------------------------|-----------|---------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| Udio vlage (%)          | 0.        | 67,364 ± 0,809 <sup>A,a</sup>   | 68,340 ± 0,052 <sup>A,a</sup>    | 63,186 ± 1,963 <sup>A,a</sup>    | 69,606 ± 1,205 <sup>A,a</sup>   | 68,308 ± 0,793 <sup>A,a</sup>   |
|                         | 30.       | 69,868 ± 2,218 <sup>A,a</sup>   | 70,774 ± 1,914 <sup>A,a</sup>    | 66,245 ± 9,171 <sup>A,a</sup>    | 66,558 ± 0,282 <sup>A,a</sup>   | 71,303 ± 1,344 <sup>A,a</sup>   |
| Udio suhe tvari (%)     | 0.        | 32,636 ± 0,809 <sup>A,a</sup>   | 31,660 ± 0,052 <sup>A,a</sup>    | 36,814 ± 1,963 <sup>A,a</sup>    | 30,394 ± 1,205 <sup>A,a</sup>   | 31,692 ± 0,793 <sup>A,a</sup>   |
|                         | 30.       | 30,132 ± 2,218 <sup>A,a</sup>   | 29,226 ± 1,914 <sup>A,a</sup>    | 33,755 ± 9,171 <sup>A,a</sup>    | 66,557 ± 0,282 <sup>A,a</sup>   | 71,303 ± 1,344 <sup>A,a</sup>   |
| Udio organske tvari (%) | 0.        | 77,271 ± 5,645 <sup>B,a</sup>   | 74,996 ± 0,043 <sup>B,a</sup>    | 83,649 ± 2,809 <sup>B,a</sup>    | 91,790 ± 0,340 <sup>A,a</sup>   | 79,294 ± 2,124 <sup>B,a</sup>   |
|                         | 30.       | 66,086 ± 1,201 <sup>B,b</sup>   | 65,042 ± 1,415 <sup>B,a</sup>    | 70,394 ± 0,795 <sup>B,b</sup>    | 93,765 ± 0,162 <sup>A,a</sup>   | 74,444 ± 8,805 <sup>B,a</sup>   |
| Udio pepela (%)         | 0.        | 22,729 ± 5,645 <sup>B,b</sup>   | 25,004 ± 0,043 <sup>B,a</sup>    | 16,351 ± 2,809 <sup>B,a</sup>    | 8,210 ± 0,340 <sup>A,a</sup>    | 20,707 ± 2,124 <sup>B,a</sup>   |
|                         | 30.       | 33,914 ± 1,201 <sup>B,a</sup>   | 34,958 ± 1,415 <sup>B,a</sup>    | 25,128 ± 10,429 <sup>B,a</sup>   | 6,235 ± 0,162 <sup>A,a</sup>    | 25,557 ± 8,805 <sup>B,a</sup>   |
| Udio ugljika (%)        | 0.        | 44,817 ± 3,274 <sup>B,a</sup>   | 43,498 ± 0,025 <sup>B,a</sup>    | 48,516 ± 1,629 <sup>B,a</sup>    | 53,238 ± 0,197 <sup>A,b</sup>   | 45,990 ± 1,232 <sup>B,a</sup>   |
|                         | 30.       | 38,330 ± 0,696 <sup>A,b</sup>   | 37,724 ± 0,821 <sup>D,b</sup>    | 43,426 ± 6,049 <sup>B,b</sup>    | 54,384 ± 0,094 <sup>A,a</sup>   | 43,177 ± 5,107 <sup>C,b</sup>   |
| pH                      | 0.        | 6,123 ± 0,006 <sup>E,b</sup>    | 6,837 ± 0,006 <sup>C,b</sup>     | 6,847 ± 0,006 <sup>B,b</sup>     | 7,167 ± 0,012 <sup>A,b</sup>    | 6,723 ± 0,006 <sup>D,b</sup>    |
|                         | 30.       | 8,237 ± 0,023 <sup>D,a</sup>    | 8,237 ± 0,023 <sup>D,a</sup>     | 8,357 ± 0,025 <sup>C,a</sup>     | 8,507 ± 0,015 <sup>A,a</sup>    | 8,437 ± 0,038 <sup>B,a</sup>    |
| TDS (mg/L)              | 0.        | 353,000 ± 1,000 <sup>E,b</sup>  | 1076,670 ± 12,503 <sup>A,a</sup> | 620,333 ± 2,517 <sup>C,a</sup>   | 401,333 ± 9,019 <sup>D,b</sup>  | 752,667 ± 1,528 <sup>B,b</sup>  |
|                         | 30.       | 905,667 ± 34,020 <sup>A,a</sup> | 905,667 ± 34,020 <sup>A,b</sup>  | 659,333 ± 12,583 <sup>C,a</sup>  | 773,333 ± 0,577 <sup>B,a</sup>  | 929,667 ± 1,155 <sup>A,a</sup>  |
| Vodljivost (μS/cm)      | 0.        | 682,000 ± 12,000 <sup>E,b</sup> | 2220,000 ± 20,000 <sup>A,a</sup> | 1213,670 ± 11,676 <sup>C,b</sup> | 846,667 ± 10,408 <sup>D,b</sup> | 1486,670 ± 8,505 <sup>B,b</sup> |
|                         | 30.       | 1905,000 ± 9,539 <sup>A,a</sup> | 1906,000 ± 9,539 <sup>A,b</sup>  | 1363,330 ± 8,622 <sup>C,a</sup>  | 1489,000 ± 2,000 <sup>B,a</sup> | 1868,330 ± 4,933 <sup>A,a</sup> |

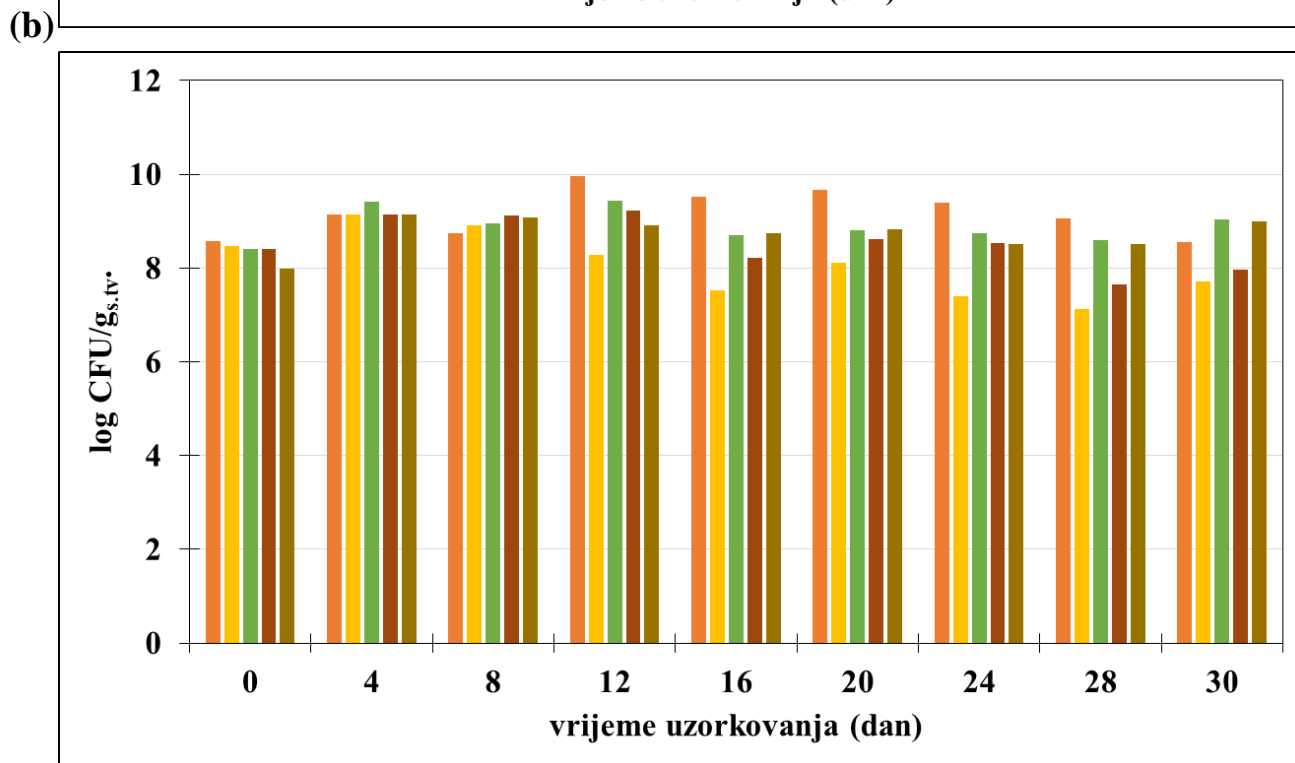
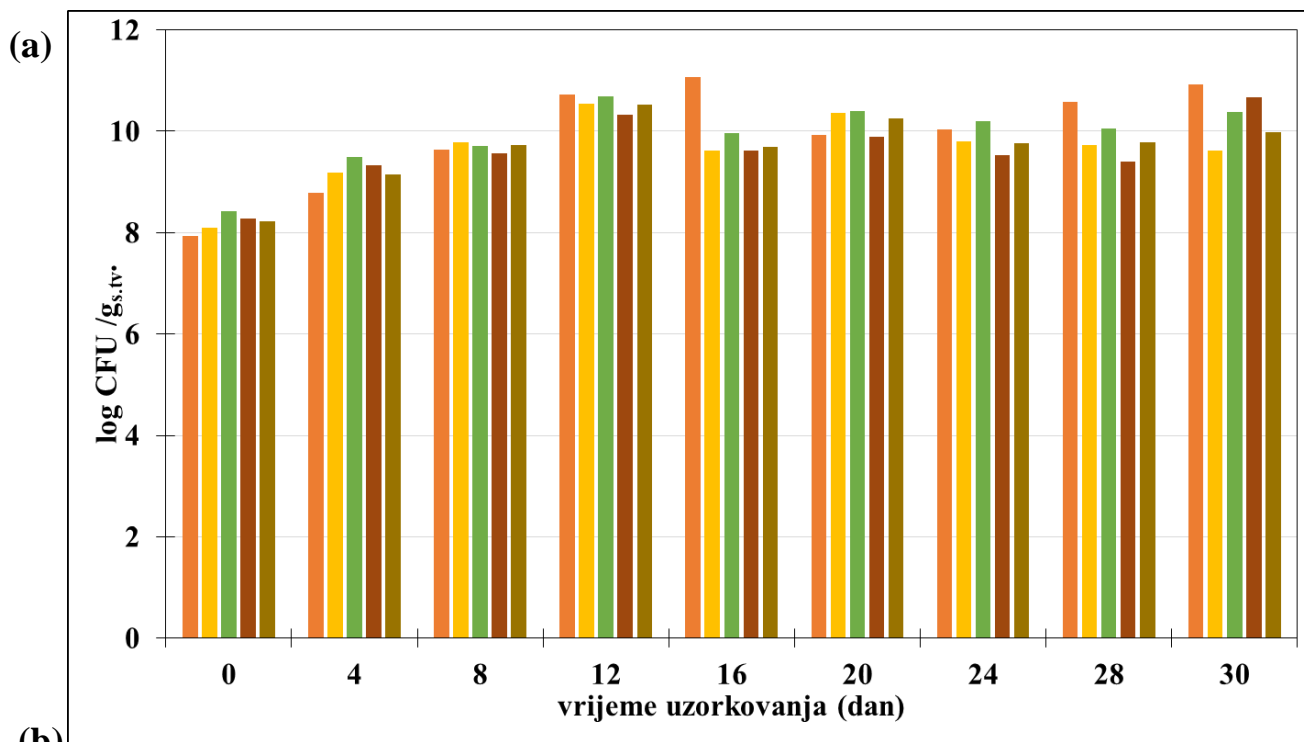
(a)



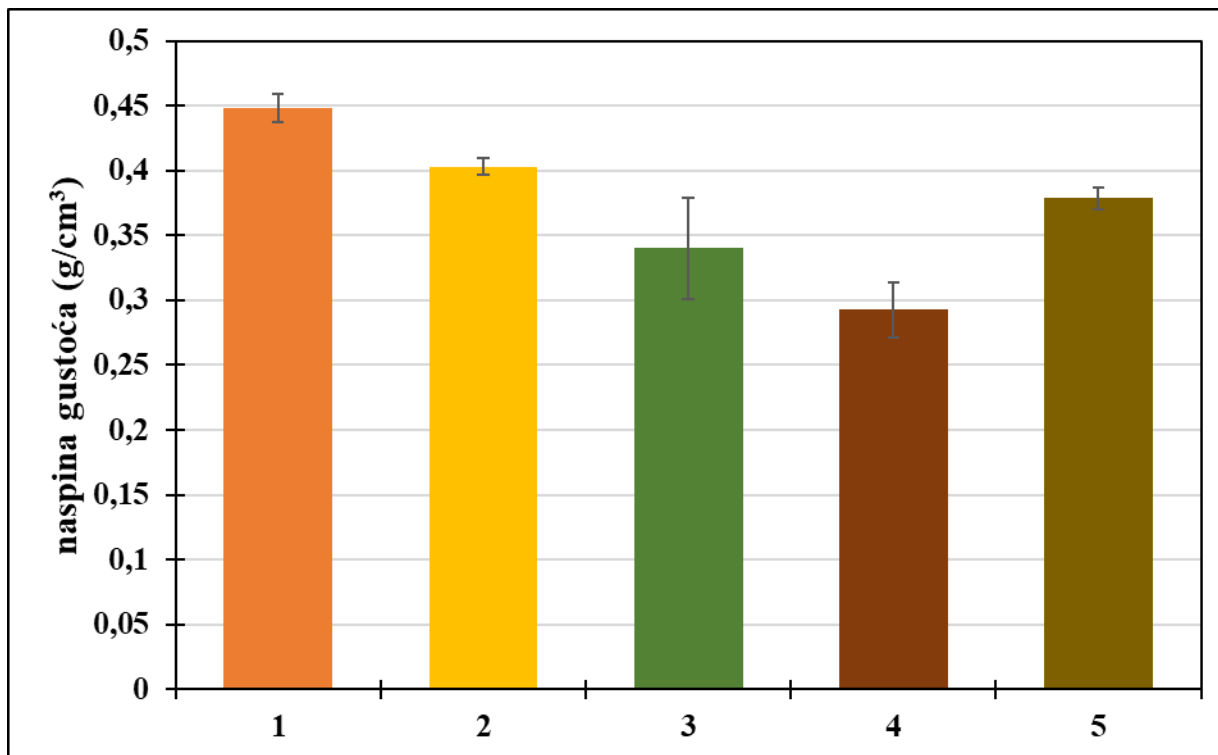
(b)



**Slika 12.** Ukupna promjena boje ( $\Delta E$ ) (a) komposta i (b) ekstrakata komposta tijekom procesa kompostiranja. □- reaktor 1; □- reaktor 2; □- reaktor 3; □- reaktor 4; □- reaktor 5



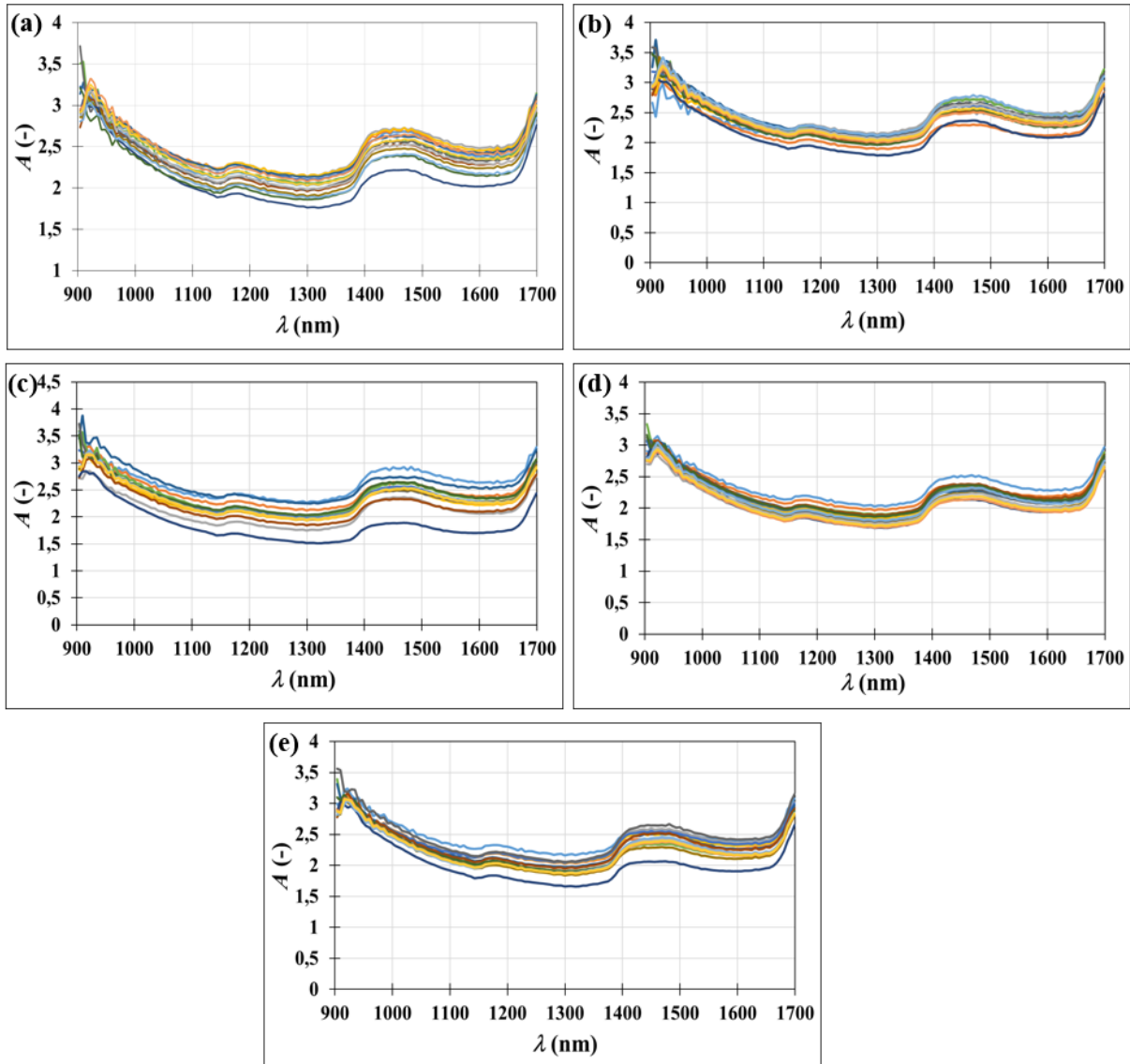
**Slika 13.** Promjena ukupnog broja (a) bakterija i (b) gljiva i pljesni u uzorcima komposta tijekom procesa kompostiranja. □- reaktor 1; □- reaktor 2; □- reaktor 3; □- reaktor 4; □- reaktor 5



**Slika 14.** Naspina gustoća komposta na kraju procesa kompostiranja. □- reaktor 1; □- reaktor 2; □- reaktor 3; □- reaktor 4; □- reaktor 5

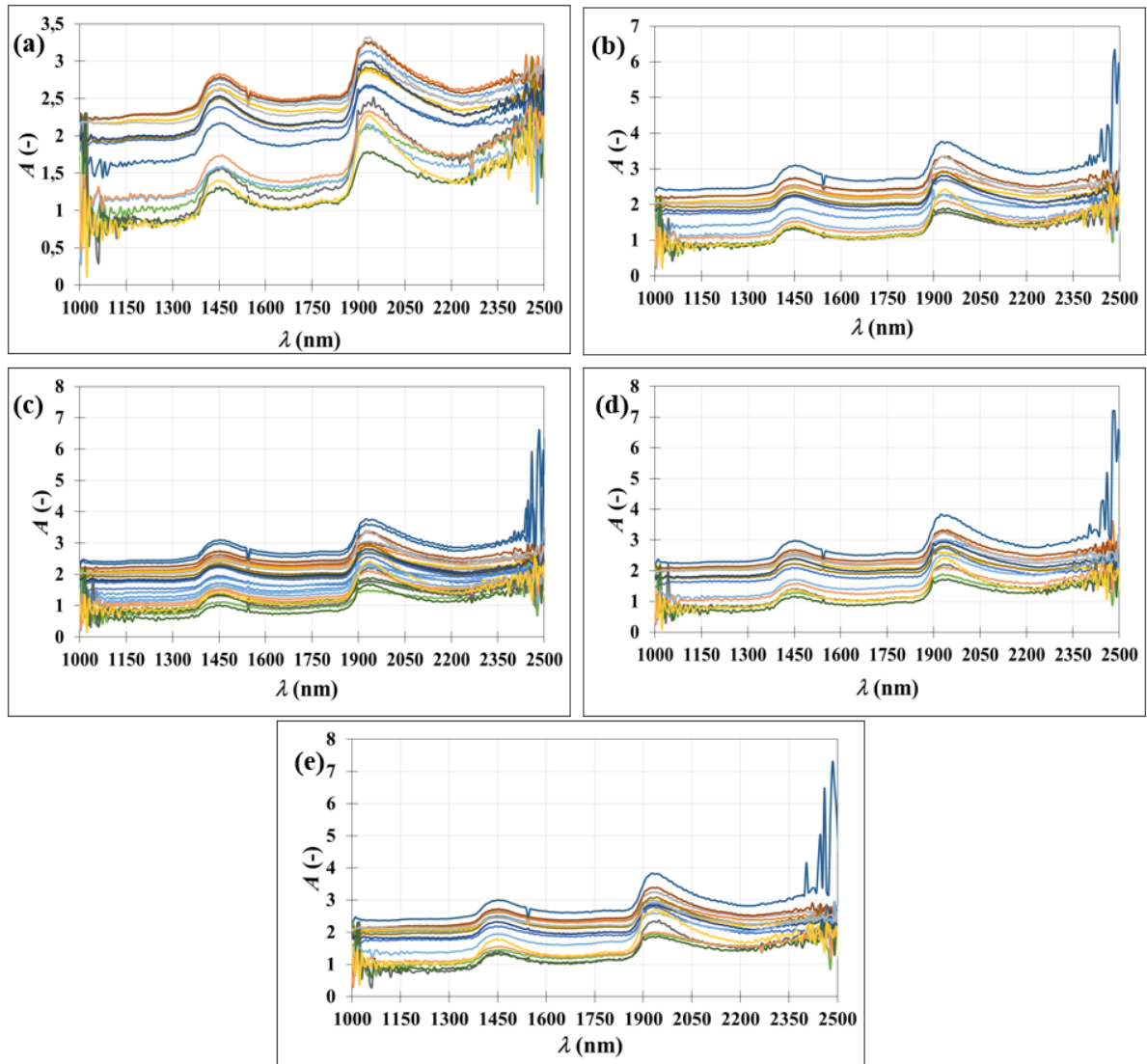
### **4.3. NIR spektri uzoraka komposta i ekstrakata uzoraka komposta**

Tijekom procesa kompostiranja za sve uzorke komposta i uzorke ekstrakata komposta snimani su NIR spektri. Srednje vrijednosti NIR spektara uzoraka komposta u 5 reaktora tijekom procesa kompostiranja snimljene sa tri različita NIR spektrometara prikazane su na slikama 15-17. Nadalje, srednje vrijednosti NIR spektara uzoraka ekstrakata komposta u 5 reaktora tijekom procesa kompostiranja snimljene sa tri različita NIR spektrometara prikazane su na slikama 18-20.

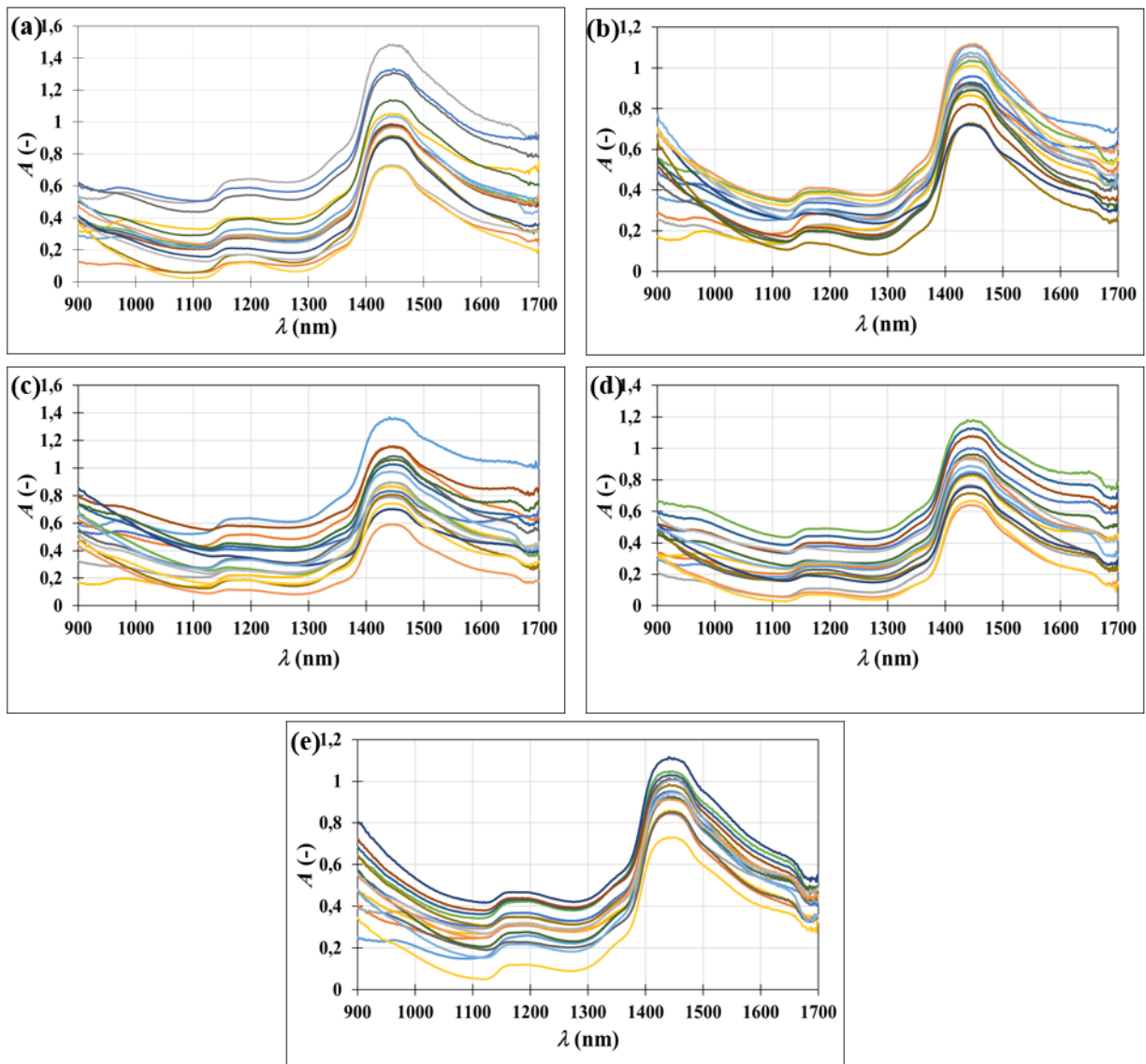


**Slika 15.** NIR spektri uzoraka komposta u reaktorima (a) 1, (b) 2, (c) 3, (d) 4 i (e) 5 snimljeni NIR spektrometrom (NIR-128-1.7-USB/6.25/50  $\mu\text{m}$ , Control Development inc., SAD) tijekom procesa kompostiranja. -- 0.dan, -- 2.dan, -- 4.dan, -- 6.dan, -- 8.dan, -- 10.dan, -- 12.dan, -- 14.dan, -- 16.dan, -- 18.dan, -- 20.dan, -- 22.dan, -- 24.dan, -- 26.dan, -- 28.dan, -- 30.dan.

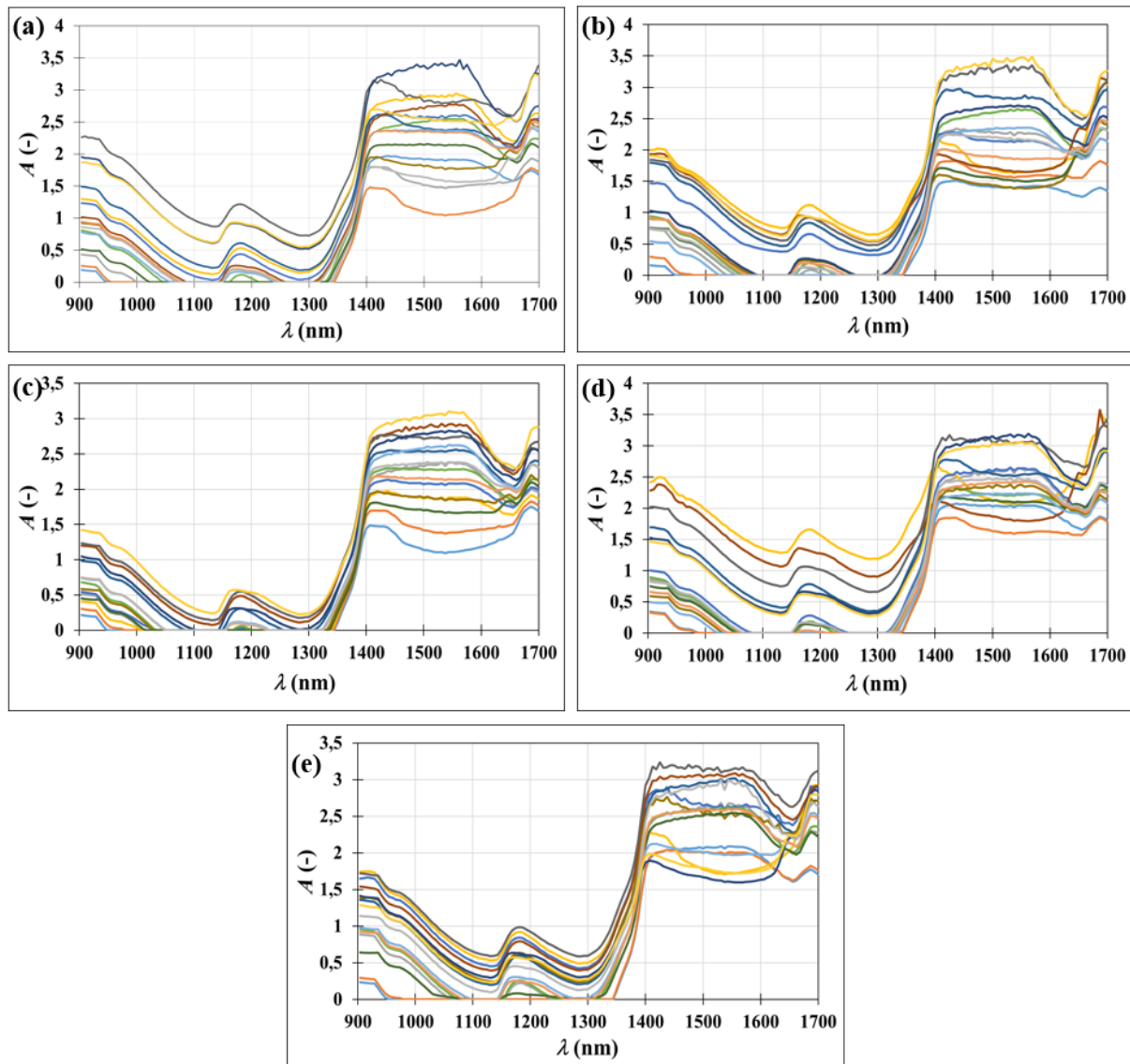




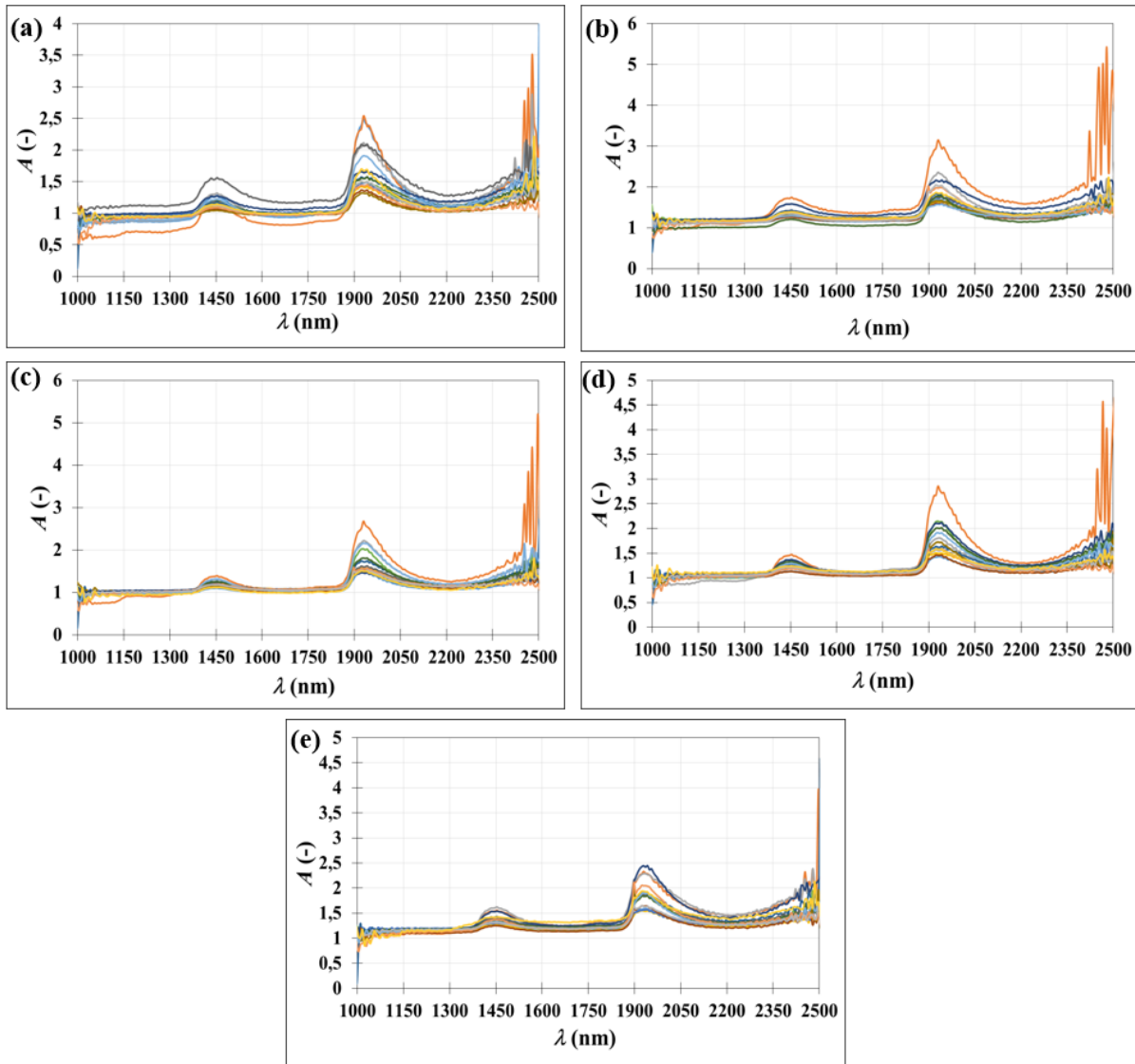
**Slika 16.** NIR spektri uzoraka komposta u reaktorima (a) 1, (b) 2, (c) 3, (d) 4 i (e) 5 snimljeni NIR spektrometrom (AvaSpec-NIR256-2.5-HSC-EVO, Avantes, SAD) tijekom procesa kompostiranja. -- 0.dan, -- 2.dan, -- 4.dan, -- 6.dan, -- 8.dan, -- 10.dan, -- 12.dan, -- 14.dan, -- 16.dan, -- 18.dan, -- 20.dan, -- 22.dan, -- 24.dan, -- 26.dan, -- 28.dan, -- 30.dan.



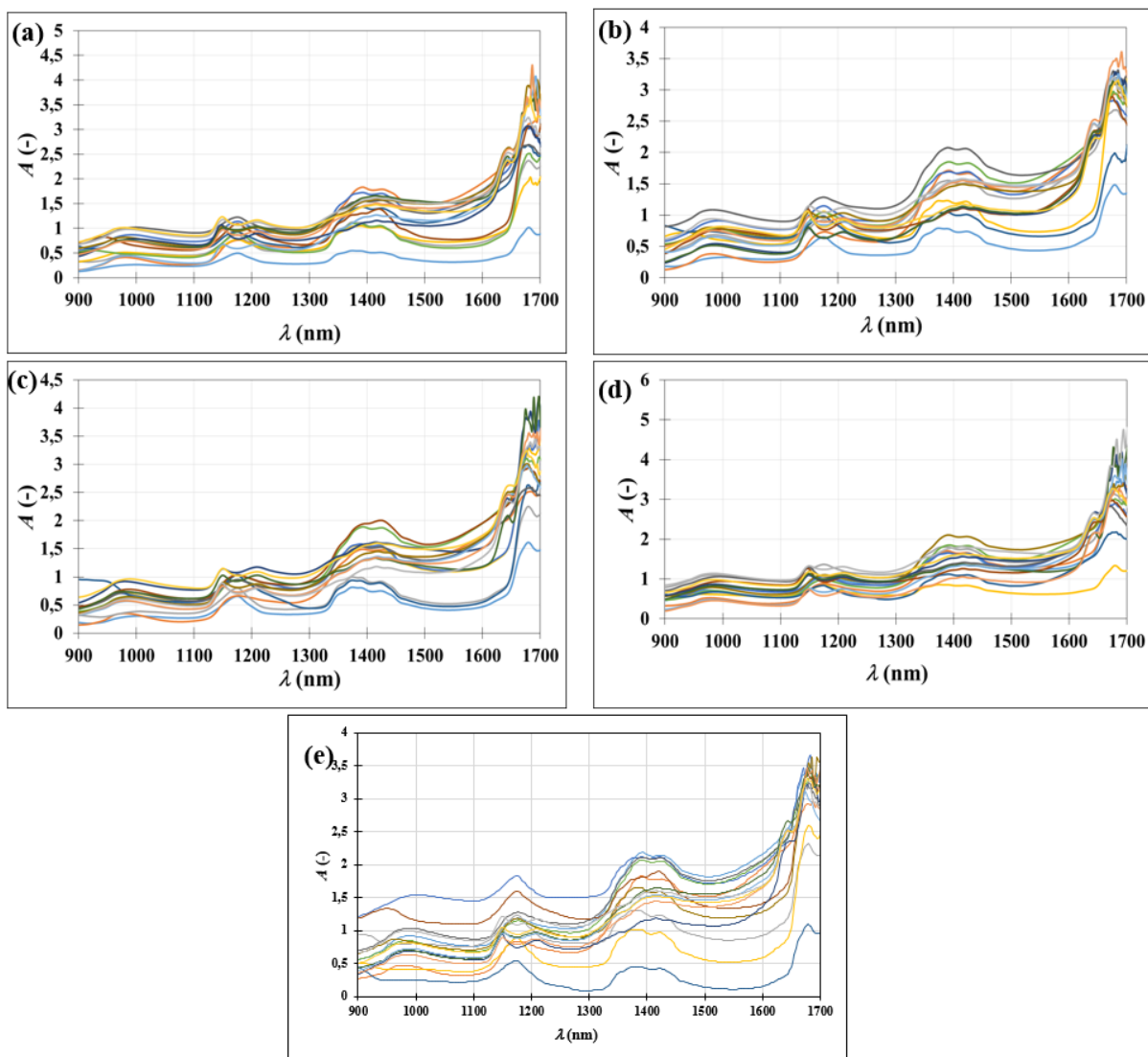
**Slika 17.** NIR spektri uzoraka komposta u reaktorima (a) 1, (b) 2, (c) 3, (d) 4 i (e) 5 snimljeni prijenosnim NIR spektrometrom (NIR-S-G1, InnoSpectra, Tajvan) tijekom procesa kompostiranja. -- 0.dan, -- 2.dan, -- 4.dan, -- 6.dan, -- 8.dan, -- 10.dan, -- 12.dan, -- 14.dan, -- 16.dan, -- 18.dan, -- 20.dan, -- 22.dan, -- 24.dan, -- 26.dan, -- 28.dan, -- 30.dan.



**Slika 18.** NIR spektri uzoraka ekstrakta komposta u reaktorima (a) 1, (b) 2, (c) 3, (d) 4 i (e) 5 snimljeni NIR spektrometrom (NIR-128-1.7-USB/6.25/50  $\mu\text{m}$ , Control Development inc., SAD) tijekom procesa kompostiranja. -- 0.dan, -- 2.dan, -- 4.dan, -- 6.dan, -- 8.dan, -- 10.dan, -- 12.dan, -- 14.dan, -- 16.dan, -- 18.dan, -- 20.dan, -- 22.dan, -- 24.dan, -- 26.dan, -- 28.dan, -- 30.dan.



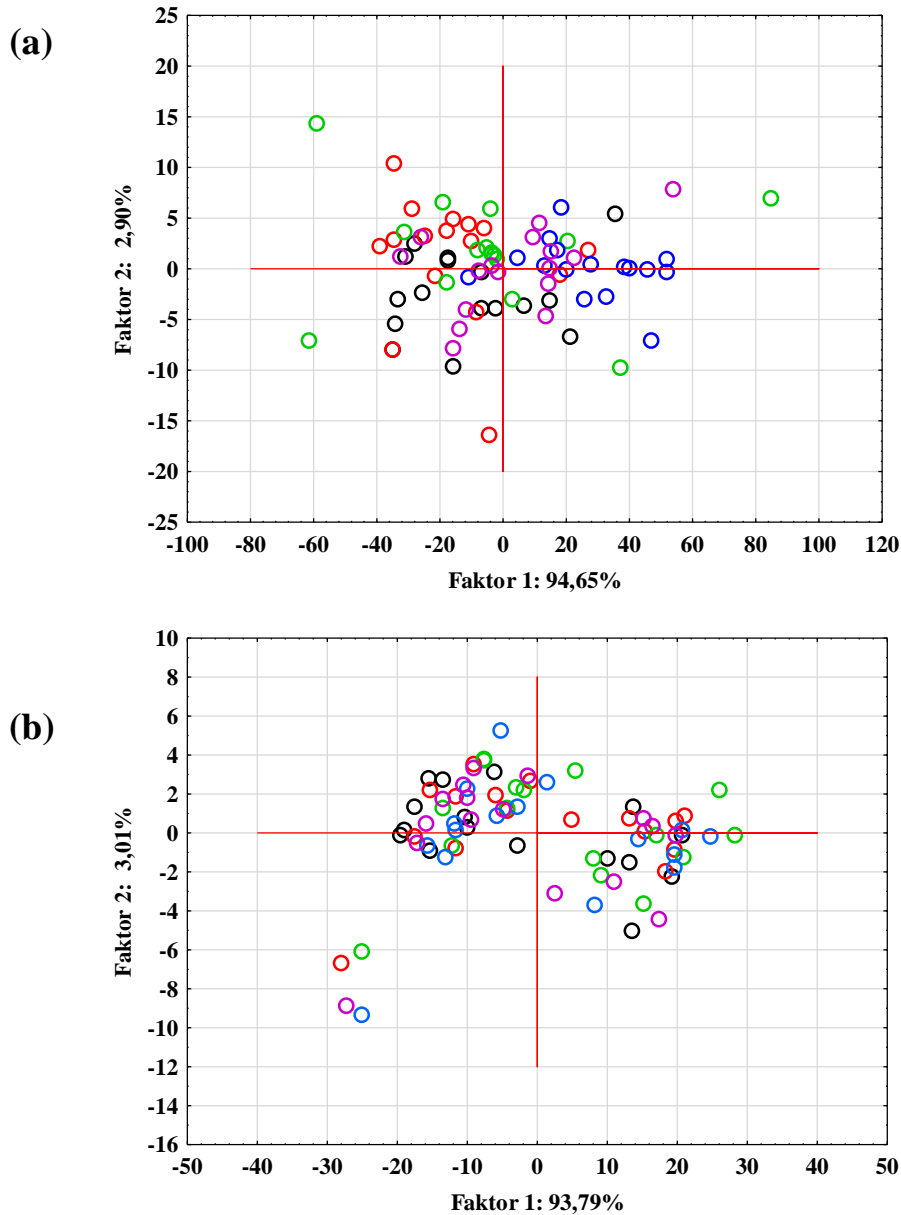
**Slika 19.** NIR spektri uzoraka ekstrakta komposta u reaktorima (a) 1, (b) 2, (c) 3, (d) 4 i (e) 5 snimljeni NIR spektrometrom (AvaSpec-NIR256-2.5-HSC-EVO, Avantes, SAD) tijekom procesa kompostiranja. -- 0.dan, -- 2.dan, -- 4.dan, -- 6.dan, -- 8.dan, -- 10.dan, -- 12.dan, -- 14.dan, -- 16.dan, -- 18.dan, -- 20.dan, -- 22.dan, -- 24.dan, -- 26.dan, -- 28.dan, -- 30.dan.



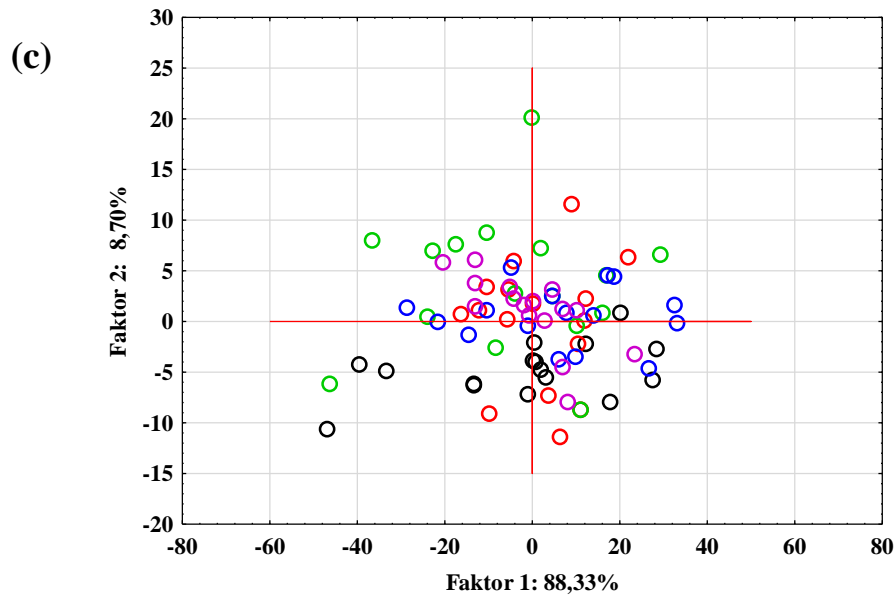
**Slika 20.** NIR spektri uzoraka ekstrakta komposta u reaktorima (a) 1, (b) 2, (c) 3, (d) 4 i (e) 5 snimljeni prijenosnim NIR spektrometrom (NIR-M-R2, InnoSpectra, Tajvan) tijekom procesa kompostiranja. -- 0.dan, -- 2.dan, -- 4.dan, -- 6.dan, -- 8.dan, -- 10.dan, -- 12.dan, -- 14.dan, -- 16.dan, -- 18.dan, -- 20.dan, -- 22.dan, -- 24.dan, -- 26.dan, -- 28.dan, -- 30.dan.

#### **4.4. Analiza glavnih komponenata (engl. *Principal Component Analysis*, PCA) analiza NIR spektara uzoraka komposta i ekstrakata uzoraka komposta**

Rezultati analize osnovnih komponenata srednjih vrijednosti NIR spektara uzoraka komposta u 5 reaktora tijekom procesa kompostiranja snimljene sa tri različita NIR spektrometara prikazani su na slici 21, dok su rezultati analize osnovnih komponenata srednjih vrijednosti NIR spektara uzoraka ekstrakata komposta u 5 reaktora tijekom procesa kompostiranja snimljene sa tri različita NIR spektrometara prikazani na slici 22.

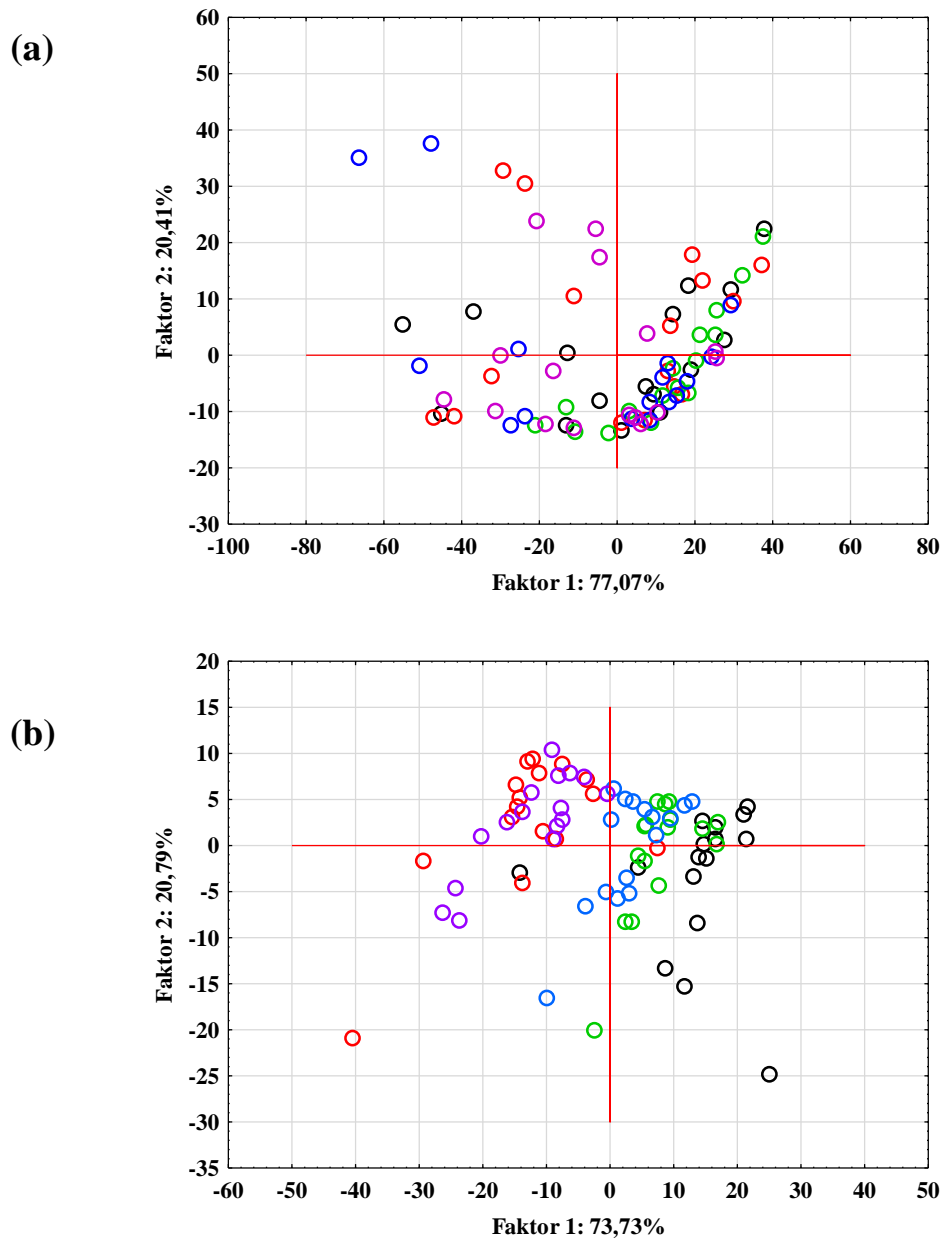


**Slika 21.** PCA analiza srednjih vrijednosti NIR spektara uzoraka komposta tijekom procesa kompostiranja (a) snimljenih NIR spektrometrom (NIR-128-1.7-USB/6.25/50  $\mu\text{m}$ , Control Development inc., SAD) (b) snimljenih NIR spektrometrom (AvaSpec-NIR256-2.5-HSC-EVO, Avantes, SAD) tijekom procesa kompostiranja, (c) snimljenih prijenosnim NIR spektrometrom (NIR-S-G1, InnoSpectra, Tajvan).  $\circ$  - reaktor 1,  $\circ$  - reaktor 2,  $\circ$  - reaktor 3,  $\circ$  - reaktor 4,  $\circ$  - reaktor 5.

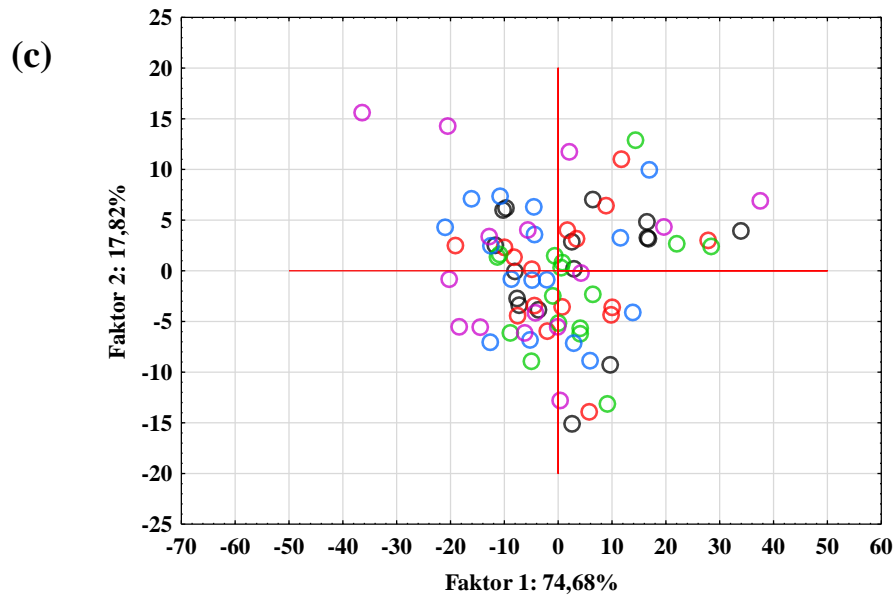


**Slika 21. (nastavak)** PCA analiza srednjih vrijednosti NIR spektara uzoraka komposta tijekom procesa kompostiranja (a) snimljenih NIR spektrometrom (NIR-128-1.7-USB/6.25/50  $\mu\text{m}$ , Control Development inc., SAD) (b) snimljenih NIR spektrometrom (AvaSpec-NIR256-2.5-HSC-EVO, Avantes, SAD) tijekom procesa kompostiranja, (c) snimljenih prijenosnim NIR spektrometrom (NIR-S-G1, InnoSpectra, Tajvan).  $\circ$  - reaktor 1,  $\circ$  - reaktor 2,  $\circ$  - reaktor 3,  $\circ$  - reaktor 4,  $\circ$  - reaktor 5.





**Slika 22.** PCA analiza srednjih vrijednosti NIR spektara uzoraka ekstrakta komposta tijekom procesa kompostiranja (a) snimljenih NIR spektrometrom (NIR-128-1.7-USB/6.25/50  $\mu\text{m}$ , Control Development inc., SAD) (b) snimljenih NIR spektrometrom (AvaSpec-NIR256-2.5-HSC-EVO, Avantes, SAD) tijekom procesa kompostiranja, (c) snimljenih prijenosnim NIR spektrometrom (NIR-M-R2, InnoSpectra, Tajvan).  $\circ$  - reaktor 1,  $\circ$  - reaktor 2,  $\circ$  - reaktor 3,  $\circ$  - reaktor 4,  $\circ$  - reaktor 5.



**Slika 22.** PCA analiza srednjih vrijednosti NIR spektara uzoraka ekstrakta komposta tijekom procesa kompostiranja (a) snimljenih NIR spektrometrom (NIR-128-1.7-USB/6.25/50  $\mu\text{m}$ , Control Development inc., SAD) (b) snimljenih NIR spektrometrom (AvaSpec-NIR256-2.5-HSC-EVO, Avantes, SAD) tijekom procesa kompostiranja, (c) snimljenih prijenosnim NIR spektrometrom (NIR- M-R2, InnoSpectra, Tajvan).  $\circ$  - reaktor 1,  $\circ$  - reaktor 2,  $\circ$  - reaktor 3,  $\circ$  - reaktor 4,  $\circ$  - reaktor 5.

#### **4.5. Modeli umjetnih neuronskih mreža za predviđanje svojstava komposta tijekom procesa kompostiranja na temelju NIR spektara**

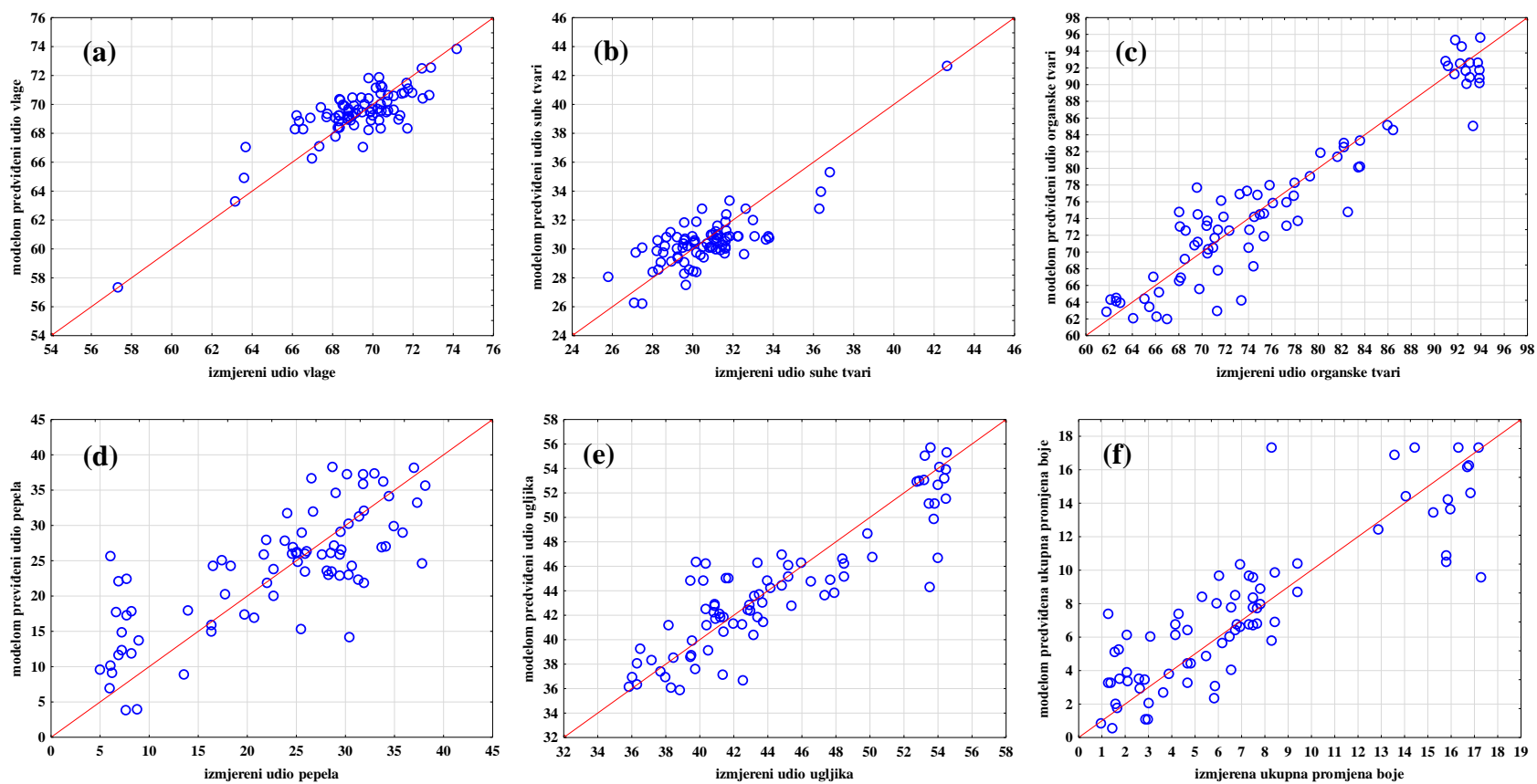
Strukture modela umjetnih neuronskih mreža (ANNs) razvijenih za analizu procesa kompostiranja pokožice grožđa na temelju NIR spektara komposta snimljenih različitim NIR spektrometrima prikazane su u tablici 7, dok su u tablici 8 prikazane strukture modela umjetnih neuronskih mreža razvijenih za analizu procesa kompostiranja pokožice grožđa na temelju NIR spektara ekstrakata komposta snimljenih različitim NIR spektrometrima. Na slikama 23 i 24 prikazana je usporedba eksperimentalnih vrijednosti i ANN modelom predviđenih vrijednosti fizikalno kemijskih svojstva komposta na temelju NIR spektra uzorka komposta i uzoraka ekstrakata komposta snimljenih NIR-128-1.7-USB/6.25/50  $\mu\text{m}$  spektrometrom.

**Tablica 7.** Struktura ANN modela odabranih za predikciju fizikalno-kemijskih svojstava komposta tijekom procesa kompostiranja na temelju NIR spektara uzoraka komposta

| <b>NIR spektrometar</b>    | <b>Izlazna varijabla</b> | <b>Oznaka mreže</b> | <b>R<sup>2</sup><sub>učenje</sub>/<br/>RMSE<sub>učenje</sub></b> | <b>R<sup>2</sup><sub>treniranje</sub>/<br/>RMSE<sub>treniranje</sub></b> | <b>R<sup>2</sup><sub>validacija</sub>/<br/>RMSE<sub>validacija</sub></b> | <b>Skrivena aktivacijska funkcija</b> | <b>Izlazna aktivacijska funkcija</b> |
|----------------------------|--------------------------|---------------------|--|--|--|---------------------------------------|--------------------------------------|
| NIR-128-1.7-USB/6.25/50 μm | Udio vlage               | MLP 10-11-1         | 0,8853<br>0,6193   | 0,8315<br>1,2917   | 0,7601<br>2,3497   | Tanges hiperbolni                     | Funkcija identiteta                  |
|                            | Udio suhe tvari          | MLP 10-8-1          | 0,8777<br>3,0885   | 0,8055<br>4,7393   | 0,6877<br>5,6650   | Logistička funkcija                   | Eksponecijalna funkcija              |
|                            | Udio organske tvari      | MLP 10-7-1          | 0,9729<br>3,5853   | 0,9552<br>4,0448   | 0,8873<br>16,9181  | Eksponecijalna funkcija               | Eksponecijalna funkcija              |
|                            | Udio pepela              | MLP 10-11-1         | 0,8926<br>19,4062  | 0,8306<br>19,4223  | 0,7744<br>24,1585  | Eksponecijalna funkcija               | Logistička funkcija                  |
|                            | Udio ugljika             | MLP 10-8-1          | 0,9459<br>1,9016   | 0,8965<br>3,0195   | 0,8191<br>9,3666   | Eksponecijalna funkcija               | Eksponecijalna funkcija              |
|                            | Promjena boje            | MLP 10-5-1          | 0,9007<br>1,6708   | 0,8597<br>2,6775   | 0,7866<br>3,4844   | Tanges hiperbolni                     | Tanges hiperbolni                    |
| AvaSpec-NIR256-2.5-HSC-EVO | Udio vlage               | MLP 10-5-1          | 0,6860<br>1,5229   | 0,5513<br>1,5396   | 0,5319<br>3,0954   | Tanges hiperbolni                     | Tanges hiperbolni                    |
|                            | Udio suhe tvari          | MLP 10-5-1          | 0,5156<br>116,6313   | 0,3487<br>173,8410   | 0,3176<br>243,8775   | Eksponecijalna funkcija               | Logistička funkcija                  |
|                            | Udio organske tvari      | MLP 10-5-1          | 0,9088<br>8,1238   | 0,8623<br>21,9057  | 0,8537<br>142,0272   | Tanges hiperbolni                     | Eksponecijalna funkcija              |
|                            | Udio pepela              | MLP 10-8-1          | 0,9148<br>14,8859  | 0,8316<br>30,5439  | 0,6904<br>55,6078  | Tanges hiperbolni                     | Tanges hiperbolni                    |
|                            | Udio ugljika             | MLP 10-7-1          | 0,8973<br>4,8878   | 0,8308<br>11,9621  | 0,6025<br>54,0344  | Eksponecijalna funkcija               | Eksponecijalna funkcija              |
|                            | Promjena boje            | MLP 10-5-1          | 0,8475<br>3,7083   | 0,7162<br>11,3650  | 0,5229<br>14,0459  | Funkcija identiteta                   | Funkcija identiteta                  |

**Tablica 7. (nastavak)** Struktura ANN modela odabranih za predikciju fizikalno-kemijskih svojstava komposta tijekom procesa kompostiranja na temelju NIR spektara uzoraka komposta

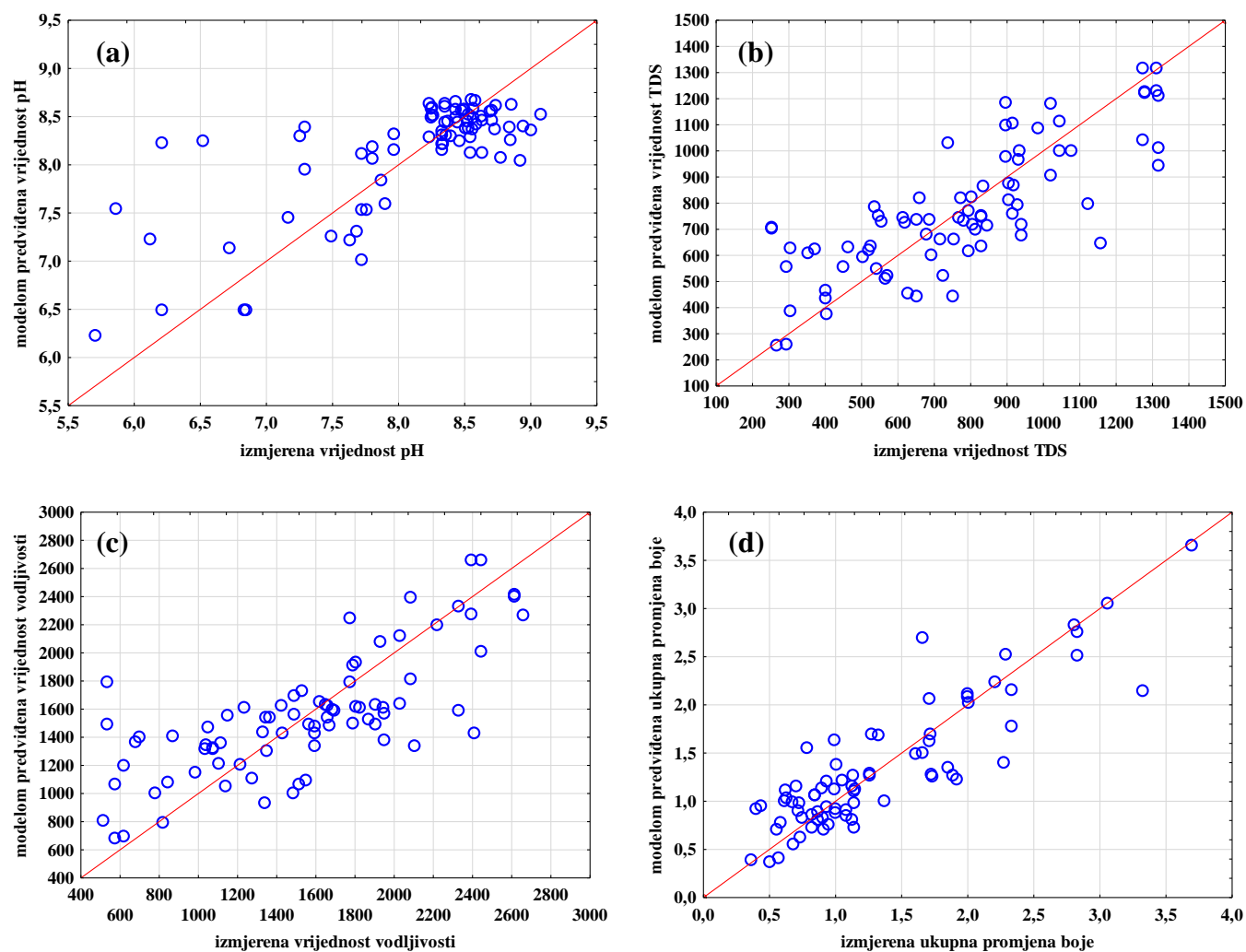
|          |                        |            |                   |                   |                    |                        |                             |
|----------|------------------------|------------|-------------------|-------------------|--------------------|------------------------|-----------------------------|
| NIR-S-G1 | Udio vlage             | MLP 10-4-1 | 0,8031<br>1,0166  | 0,7854<br>1,4154  | 0,651<br>2,1417    | Logistička<br>funkcija | Logistička<br>funkcija      |
|          | Udio suhe<br>tvari     | MLP 10-8-1 | 0,8795<br>43,9803 | 0,8516<br>57,4952 | 0,5014<br>109,2867 | Tanges<br>hiperbolni   | Eksponencijalna<br>funkcija |
|          | Udio organske<br>tvari | MLP 10-9-1 | 0,9295<br>5,9386  | 0,8272<br>16,3494 | 0,7485<br>23,9944  | Tanges<br>hiperbolni   | Funkcija<br>identiteta      |
|          | Udio pepela            | MLP 10-7-1 | 0,8437<br>14,3356 | 0,8362<br>15,9557 | 0,7844<br>24,5694  | Logistička<br>funkcija | Tanges<br>hiperbolni        |
|          | Udio ugljika           | MLP 10-7-1 | 0,8538<br>4,2094  | 0,8432<br>4,5275  | 0,8347<br>7,1685   | Tanges<br>hiperbolni   | Logistička<br>funkcija      |
|          | Promjena boje          | MLP 10-7-1 | 0,8754<br>3,0275  | 0,8242<br>6,4973  | 0,7666<br>16,2652  | Tanges<br>hiperbolni   | Eksponencijalna<br>funkcija |



**Slika 23.** Usporedba eksperimentalnih vrijednosti i ANN modelom predviđenih vrijednosti fizikalno kemijskih svojstva komposta na temelju NIR spektra uzorka komposta snimljenih NIR-128-1.7-USB/6.25/50  $\mu\text{m}$  spektrometrom. (a) udio vlage, (b) udio suhe tvari, (c) udio organske tvari, (d) udio pepela, (e) udio ugljika, (f) ukupna promjena boje komosta.

**Tablica 8.** Struktura ANN modela odabranih za predikciju fizikalno-kemijskih svojstava komposta tijekom procesa kompostiranja na temelju NIR spektara uzoraka ekstrakata komposta

| <b>NIR spektrometar</b>         | <b>Izlazna varijabla</b> | <b>Oznaka mreže</b> | <b>R<sup>2</sup><sub>učenje</sub>/RMSE<sub>učenje</sub></b> | <b>R<sup>2</sup><sub>treniranje</sub>/RMSE<sub>treniranje</sub></b> | <b>R<sup>2</sup><sub>validacija</sub>/RMSE<sub>validacija</sub></b> | <b>Skrivena aktivacijska funkcija</b> | <b>Izlazna aktivacijska funkcija</b> |
|---------------------------------|--------------------------|---------------------|---|---|---|---------------------------------------|--------------------------------------|
| NIR-128-1.7-USB/6.25/50 $\mu$ m | pH                       | MLP 10-7-1          | 0,8372<br>0,0528  | 0,8241<br>0,1596  | 0,8220<br>0,1185  | Funkcija identiteta                   | Tanges hiperbolni                    |
|                                 | TDS                      | MLP 10-7-1          | 0,8574<br>59,0333   | 0,8225<br>119,8281  | 0,7861<br>174,399   | Logistička funkcija                   | Logistička funkcija                  |
|                                 | Vodljivost               | MLP 10-7-1          | 0,8611<br>29,8052   | 0,7645<br>33,7799   | 0,7373<br>77,9842   | Tanges hiperbolni                     | Tanges hiperbolni                    |
|                                 | Promjena boje            | MLP 10-7-1          | 0,9835<br>0,0479  | 0,9825<br>0,2167  | 0,9019<br>0,2280  | Eksponecijelna funkcija               | Logistička funkcija                  |
| AvaSpec-NIR256-2.5-HSC-EVO      | pH                       | MLP 10-5-1          | 0,9330<br>0,0394  | 0,7938<br>0,1165  | 0,7051<br>0,2400  | Tanges hiperbolni                     | Tanges hiperbolni                    |
|                                 | TDS                      | MLP 10-12-1         | 0,6211<br>265,031   | 0,5588<br>280,2970  | 0,5014<br>528,4358  | Eksponecijelna funkcija               | Logistička funkcija                  |
|                                 | Vodljivost               | MLP 10-4-1          | 0,6921<br>88,9972   | 0,5644<br>93,3222   | 0,4038<br>209,6622  | Eksponecijelna funkcija               | Funkcija identiteta                  |
|                                 | Promjena boje            | MLP 10-7-1          | 0,8613<br>0,0542  | 0,8021<br>0,1642  | 0,6872<br>0,2637  | Eksponecijelna funkcija               | Tanges hiperbolni                    |
| NIR-S-M1                        | pH                       | MLP 10-5-1          | 0,9279<br>0,0564  | 0,9131<br>0,0608  | 0,9026<br>0,0938  | Tanges hiperbolni                     | Funkcija identiteta                  |
|                                 | TDS                      | MLP 10-4-1          | 0,7330<br>216,2962  | 0,6918<br>623,1560  | 0,6628<br>712,1273  | Eksponecijelna funkcija               | Logistička funkcija                  |
|                                 | Vodljivost               | MLP 10-11-1         | 0,8058<br>332,8913  | 0,8018<br>4343,9410   | 0,6188<br>618,8223  | Logistička funkcija                   | Tanges hiperbolni                    |
|                                 | Promjena boje            | MLP 10-5-1          | 0,9521<br>0,0206  | 0,8376<br>0,1552  | 0,8239<br>0,2153  | Tanges hiperbolni                     | Eksponecijelna funkcija              |



**Slika 24.** Usporedba eksperimentalnih vrijednosti i ANN modelom predviđenih vrijednosti fizikalno kemijskih svojstva komposta na temelju NIR spektra ekstrakata komposta snimljenih NIR-128-1.7-USB/6.25/50  $\mu\text{m}$  spektrometrom. (a) pH, (b) TDS, (c) udio vodljivost, (d) ukupna promjena boje ekstrakta komposta.



## **5. RASPRAVA**

## 5.1. Ekstrakcija biološki aktivnih molekula iz pokožice grožđa

U ovom je radu provedena klasična ekstrakcija kruto – tekuće biološki aktivnih komponenata iz pokožice grožđa. Polifenoli čine jednu od bioloških komponenti za koju postoji velik interes zbog brojnih pozitivnih i korisnih učinaka poput antioksidacijskog, protuupalnog i antibakterijskog učinka. Kao otapalo za ekstrakciju korištena je voda. Iako ekstrakcija vodom nema velik prinos polifenola u odnosu na druga otapala koja se koriste u praksi, pokazala se praktičnom zbog niske cijene, dostupnosti, lakoće rukovanja, a najbitnije od svega, ne smeta mikroorganizmima koji imaju vrlo važnu ulogu u procesu kompostiranja (Valinger i sur., 2022; Martiny i sur., 2021).

Kako bi se osigurali optimalni uvjeti za provedbu procesa ekstrakcije, provedeno je 30 eksperimenata pri različitim uvjetima. Provedene su analize fizikalno-kemijskih svojstava pripremljenih ekstrakata, a rezultati su prikazani u Tablicama 1-3. Analizom rezultata prikazanih u Tablici 1 uočljivo je da se najniža pH vrijednost od 3,69 pojavljuje u eksperimentu broj 26 ( $t = 75$  min,  $T = 80$  °C,  $S/L = 20$  g/L,  $rpm = 750$  l/min), a najviša od 4,07 u eksperimentu broj 14 ( $t = 75$  min,  $T = 40$  °C,  $S/L = 10$  g/L,  $rpm = 500$  l/min). Općenito može se uočiti da se pH vrijednost ekstrakata ne razlikuje puno ovisno o uvjetima provedbe ekstrakcije. Slične pH vrijednosti pokožice grožđa u rasponu od 3,3 do 3,54 prikazane su u radu Yeler i Nas (2021). Vodljivost i ukupne otopljene tvari pokazuju najnižu vrijednost u eksperimentu broj 19 ( $t = 60$  min,  $T = 60$  °C,  $S/L = 10$  g/L,  $rpm = 500$  l/min), a najvišu u eksperimentu broj 8 ( $t = 75$  min,  $T = 60$  °C,  $S/L = 30$  g/L,  $rpm = 750$  l/min), pa se može uočiti da porast udjela kruto/tekuće i brzina mješanja doprinose porastu udjela ukupnih otopljenih tvari (Beulah i sur., 2021; Cvetković i sur., 2018). Nadalje, najniža učinkovitost ekstrakcije postignuta je u uvjetima eksperimenta broj 5 ( $t = 75$  min,  $T = 60$  °C,  $S/L = 10$  g/L,  $rpm = 250$  l/min), a najviša u uvjetima eksperimenta broj 17 ( $t = 75$  min,  $T = 80$  °C,  $S/L = 30$  g/L,  $rpm = 500$  l/min), što se ponovno slaže s prethodnim zaključkom da porast udjela kruto/tekuće i brzina mješanja doprinose porastu učinkovitosti ekstrakcije (Jurinjak Tušek i sur., 2021).

Promjena uvjeta ekstrakcije ima također utjecaj na boju konačnog ekstrakta. Prilikom kolorimetrijske analize korišten je CIELab kolorimetrijski sustav.  $L^*$  vrijednost opisuje svjetlinu pojedinog piksela te se izražava brojčanim vrijednostima od 0 (crno, potpuno tamno) do 100 (bijelo, potpuno svjetlo).  $a^*$  vrijednost opisuje položaj uzorka na osi koja seže između zelene i

crvene boje, a  $b^*$  vrijednost položaj između plave i žute. Ni jedna ni druga os nemaju brojčano ograničenje, već se opisuju označavanjem negativnog ili pozitivnog predznaka. Ako  $a^*$  vrijednost ima manju vrijednost, odnosno što je broj više negativan, boja se kreće ka zelenoj, dok u slučaju vrijednosti  $b^*$  boja naginje ka plavoj. Kada vrijednosti nemaju negativan predznak,  $a^*$  će naginjati ka crvenoj, a  $b^*$  ka žutoj boji (Hernández i sur., 2016). Prema rezultatima u Tablici 2 može se zaključiti da su svi pripremljeni uzorci vrlo slični po  $L^*$  koordinati; minimalna izmjenjena vrijednost  $L^*$  koordinate iznosi 40,81 (eksperiment 3;  $t = 60$  min,  $T = 80$  °C,  $S/L = 20$  g/L,  $rpm = 500$  l/min), a maksimalna 47,79 (eksperiment 23;  $t = 75$  min,  $T = 40$  °C,  $S/L = 20$  g/L,  $rpm = 250$  l/min). Za ekstrakt pripremljen prema eksperimentalnim uvjetima 3 izmjerena je najniža vrijednost za  $a^*$  i  $b^*$  koordinatu što bi značilo da ekstrakt ima žuto-zelenkastu boju.

Također pri različitim uvjetima temperature, brzine miješanja, vremena ekstrakcije te omjerima kruto/tekuće ispitivani su i kemijski parametri: ukupna količina polifenola te antioksidacijska aktivnost prema DPPH i FRAP metodi ekstrakata pokožice grožđa. Iz tablice 3 može se uočiti da je najveća količina polifenola od 8,24 mg<sub>GAE/g<sub>s.tv.</sub></sub> ekstrahirana upravo u uvjetima eksperimenta broj 17 ( $t = 75$  min,  $T = 80$  °C,  $S/L = 30$  g/L,  $rpm = 500$  l/min) u kojima se i maseni udio suhe tvari pokazao najvišim, za razliku od eksperimenta broj 14 ( $t = 75$  min,  $T = 40$  °C,  $S/L = 10$  g/L,  $rpm = 500$  l/min) gdje je količina ekstrahiranih fenola manja čak 7,6 puta u iznosu od 1,09 mg<sub>GAE/g<sub>s.tv.</sub></sub>. Navedeni eksperimentalni uvjeti razlikuju se u temperaturi i omjeru kruto-tekuće i rezultati pokazuju da porast temperature i omjer kruto/tekuće ima pozitivan utjecaj na koncentraciju ekstrahiranih polifenola (Librán i sur., 2013). Ekstrahirana koncentracija polifenola u skladu je s dostupnom literaturom. Tako na primjer Librán i sur. (2013) navode učinkovitost ekstrakcije od 5 mg<sub>GAE/g<sub>s.tv.</sub></sub> također pokožice bijelog grožđa, Yammine i sur. (2020) navode učinkovitost ekstrakcije od 3,07 mg<sub>GAE/g<sub>s.tv.</sub></sub>, a Gegardi i sur. (2020) učinkovitost ekstrakcije polifenola od 1,2 - 3,07 mg<sub>GAE/g<sub>s.tv.</sub></sub>. Najmanju antioksidacijsku aktivnost prema DPPH metodi od samo 0,0003 mmol<sub>Trolox/g<sub>s.tv.</sub></sub> pokazali su ekstrakti pripremljeni prema eksperimentalnim uvjetima broj 19 ( $t = 60$  min,  $T = 60$  °C,  $S/L = 10$  g/L,  $rpm = 500$  l/min). Značajno viša vrijednosti DPPH postignute su prema eksperimentu broj 17 ( $t = 75$  min,  $T = 80$  °C,  $S/L = 30$  g/L,  $rpm = 500$  l/min). FRAP metoda također je pokazala najviše rezultate u eksperimentu broj 17, no najniže, za razliku od DPPH metode, u eksperimentu broj 14 ( $t = 75$  min,  $T = 40$  °C,  $S/L = 10$  g/L,  $rpm = 500$  l/min).

Kako bi međusobne ovisnosti ovih parametara i uvjeta bile bolje prikazane izrađena je i korelacijska matrica između fizikalnih i kemijskih karakteristika pripremljenih vodenih ekstrakata pokožice grožđa, prikazane u tablici broj 4, u kojoj su signifikantne korelacije ( $p < 0,05$ ) označene podebljano. Iz priloženog je vidljivo da za pH vrijednost nema signifikantnih pozitivnih korelacija, no da na pH najveći negativni utjecaj ima omjer kruto/tekuće, zatim temperatura i brzina miješanja. Za razliku od pH, vodljivost i ukupne otopljene tvari pozitivno su korelirane s omjerom kruto/tekuće, temperaturom i brzinom miješanja, dok će se s povećanjem pH vrijednosti vodljivosti i ukupnih otopljenih tvari smanjivati. Slijedom navedenog, povećanje vodljivosti rezultirat će povećanjem ukupnih otopljenih tvari. Nadalje, na koordinatu  $L$ , koja se mjerila kod određivanja boje uzorka, negativno utječu pH, vodljivost i ukupne otopljene tvari. S druge strane, koordinata  $a$  se pozitivno mijenja u odnosu na vodljivost i ukupne otopljene tvari, a negativno u odnosu na koordinatu  $L$ . Koordinata  $b$  povećava se s temperaturom i koordinatom  $a$ , a smanjuje povećanjem koordinate  $L$ . Chroma vrijednost povećava se s temperaturom,  $L$  i  $b$  koordinatom, a smanjuje povećanjem pH vrijednosti i  $a$  koordinate. Hue kut ovisi o većem broju parametara. Na njegovu vrijednost negativno utječu pH, vodljivost, ukupne otopljene tvari,  $a$  i  $b$  vrijednost, a pozitivno samo  $L$  koordinata i Chroma vrijednost. Na povećanje količine ekstrahiranih polifenola najveći utjecaj će imati povećanje omjera kruto/tekuće, a pozitivna korelacija vidljiva je kod masenog udjela suhe tvari, vodljivosti, ukupnih otopljenih tvari, temperature i Chroma vrijednosti, dok je jedina signifikantna negativna korelacija upravo kod pH vrijednosti. Antioksidacijska aktivnost i prema DPPH i FRAP metodi pozitivno je povezana s većinom parametara: temperatura, omjer kruto/tekuće, vodljivost, ukupne otopljene tvari, maseni udio suhe tvari,  $b$  koordinata, Chroma vrijednost te količina ukupnih polifenola. Jedina razlika u korelacijama između metoda pokazala se kod brzine miješanja koja nema bitnog utjecaja na antioksidacijsku aktivnost kad se ona određuje DPPH metodom, dok pokazuje signifikantnu pozitivnu korelaciju kada se određuje FRAP metodom.

U tablici 5 prikazana je jednosmjerna analiza varijance primjenjena za analizu fizikalno-kemijskih karakteristika uzoraka ekstrakata komine grožđa. Vidljivo je da vrijeme provođenja ekstrakcije jedino uzrokuje promjenu pH vrijednosti pri 75 minuta provođenja ekstrakcije u odnosu na 60 i 90 minuta, dok na nijedan drugi parametar nema bitnog utjecaja. Dalje se pokazalo da temperature od 40 i 60 °C imaju otprilike iste utjecaje na sve mjerene parametre, no ukoliko ju povećamo na 80

°C doći će do značajnijih promjena mjerenih vrijednosti. Promjena vrijednosti omjera kruto/tekuće ima signifikantan utjecaj na sve parametre, osim na antioksidacijsku aktivnost kada se mjeri DPPH metodom, gdje se pokazalo da omjeri od 10 i 20 g/L imaju otprilike isti utjecaj, no omjer od 30 g/L uzrokuje veće promjene DPPH vrijednosti. Međutim, promjena brzine miješanja pokazala se nevažnom za sve kemijske parametre i za maseni udio suhe tvari, a za pH, vodljivost i ukupne otopljene tvari uzrokuje značajnije promjene tek kod 750 l/min.

## **5.2.Fizikalno-kemijska svojstva komposta tijekom procesa kompostiranja**

U ovom radu proveden je proces kompostiranja pokožice u pet zasebnih eksperimenata kako bi se ispitaio utjecaj predtretmana pokožice na učinkovitost kompostiranja. Provedeno je kompostiranje (i) pokožica grožđa bez predtretmana, (ii) usitnjena pokožica grožđa bez predtretmana, (iii) pokožica grožđa ekstrahirana na 40 °C kroz 90 min, (iv) usitnjena pokožica grožđa ekstrahirana na 40 °C kroz 90 min i (v) smjesa pokožice bez predtretmana ( $w/w = 43,93\%$ ), usitnjene pokožice grožđa bez predtretmana ( $w/w = 8,11\%$ ), pokožice grožđa ekstrahirane na 40 °C kroz 90 min ( $w/w = 14,25\%$ ) i usitnjene pokožice grožđa ekstrahirane na 40 °C kroz 90 min ( $w/w = 33,66\%$ ). Proces kompostiranja praćen je putem nekoliko značajnih varijabli poput temperature, udjela vlage (suhe tvari), udjela organske tvari, pepela i organskog ugljika, pH vrijednosti, ukupnih otopljenih tvari, električne vodljivosti, boje komposta i ekstrakata te ukupnog broja mikroorganizama.

Na slici 8 prikazana je promjena temperature tijekom 30 dana provedbe procesa kompostiranja u svih 5 reaktora. U uvodnom djelu ovog rada navedena je izmjena četiri temperaturnih faza tijekom procesa kompostiranja, ali na prikazanoj slici one se ne mogu uočiti. Naime, u provedenim eksperimentima temperatura nije prelazila 30 °C odnosno tijekom svih 30 dana provedbe procesa temperatura supstrata je bila u mezofilnoj fazi. To ne mora nužno značiti da nije došlo do razgradnje, s obzirom da je vidljiva razlika između početnih i konačnih supstrata (slika 7) te nekih drugih varijabli koje će naknadno biti objašnjene. Paradelo i sur. (2013) su slično objasnili svoje rezultate, tj. proveli su učinkovit proces kompostiranja na temperaturama ispod 30 °C. Razlika između početnih i konačnih supstrata može se uočiti i na temelju ukupne promjene boje koja je prikazana na slici 12. Prema prikazanim slikama vidljiva je značajna razlika između početnih i konačnih uzoraka komposta i ekstrakata (ukupna promjena boja znatno viša od 4) što između ostaloga može potvrditi proces razgradnje istraživanih supstrata.

Udio vlage je jedana od bitnih varijabli povezanih sa mikrobiološkom aktivnošću. Mikroorganizmi putem vode transportiraju hranjive tvari do stanica. Udjeli vlage u svih pet reaktora su tijekom procesa kompostiranja u blagom porastu (slika 9), što je posljedica mikrobiološke razgradnje organskih tvari prilikom čega se otpušta voda (Azim i sur., 2018). Vrijednosti udjela vlage u reaktorima su u rasponu od 60-72 %, a udjeli suhe tvari su u rasponu od 28-36 %.

Na samom početku procesa kompostiranja, udjeli organske tvari u supstratima bili su od 72-91 %, a nakon 30 dana provedbe procesa iznosili su od 65-74 %. Udjeli organske tvari kao i organskog ugljika se tijekom procesa kompostiranja u svim reaktorima smanjuju (slika 10 a i c) što je i za očekivati zbog razgradnje organskog materijala. Tijekom procesa kompostiranja odvija se niz biokemijskih reakcija kojima se složeniji spojevi razlažu na one jednostavnije prilikom čega dolazi do smanjenja organske tvari (Waqas i sur., 2017). Također, tijekom provedbe procesa kompostiranja, udio pepela u reaktorima se povećava (slika 10 b). Općenito, udio organske tvari i udio pepela su u recipročnom odnosu. Nadalje, udio pepela je indikator razgradnje organske tvari – veći udio pepela, označuje i veći stupanj razgradnje (Waqas i sur., 2017).

Sljedeća važna varijabla je pH vrijednost koja također utječe na mikrobiološku aktivnost (Onwosi i sur., 2017). Početna pH vrijednost pokožice grožđa bila je 4,65 koja ulazi u kiselo područje te nije odgovarajuća vrijednost za proces kompostiranja jer smanjuje mikrobiološku aktivnost (Onwosi i sur., 2017). U ovom slučaju dodan je natrijev hidrogen karbonat te je pH vrijednost u reaktorima bila u blago kiselom te neutralnom području, odnosno vrijednosti su bile u rasponu od 6-7. Tijekom prvih dana provedbe procesa kompostiranja, ta vrijednost pada u blago kiselo područje kao posljedica mikrobiološke razgradnje i nastajanja organskih kiselina. Daljnjom provedbom procesa, mikrobiološka aktivnost se smanjuje, razgrađuju se organske kiseline, a pH vrijednost je u porastu (Hemidat i sur., 2018). Na kraju procesa, supstrat se stabilizira i pH iznosi 8-8,5.

Koncentracija ukupnih otopljenih tvari i električna vodljivost su međusobno povezane varijable, a to se može i uočiti na grafičkim prikazima. Porastom otopljenih tvari prisutnih u supstratu, raste i električna vodljivost. Nakon 6 dana provedbe procesa kompostiranja, dodana je urea kao izvor dušika, nakon čega su obe analizirane varijable u porastu (slika 11 b i c). Prema Hemidat i sur. (2018), vrijednosti električne vodljivosti za uzorke komposta kreću se u rasponu od 1–10 mS/cm što odgovara eksperimentalno dobivenim vrijednostima. Razlike između udjela vlage, udjela suhe

tvori, udjela organske tvari, udjela pepela, pH, TDS i vodljivosti između reaktora na početku i kraju procesa kompostiranja statistički su analizirane i rezultati su prikazani u tablici 6. Može se uočiti da nema signifikantni razlika između reaktora te između vrijednosti na početku i kraju procesa za udio vlage i udio suhe tvari. Nadalje vidljivo je da se udio organske tvari, pepela i ugljika u reaktoru 4 statistički razlikuje od udjela organske tvari, pepela i ugljika u ostalim reaktorima. Također za navedene varijable postoje signifikantne razlike između vrijednosti na početku i kraju procesa kompostiranja. Vrijednosti pH, TDS i vodljivosti statistički se razlikuju između pojedinih reaktora i također na početku i kraju procesa kompostiranja.

Glavnu ulogu u procesu kompostiranja imaju mikroorganizmi. Tijekom procesa kompostiranja broj mikroorganizama je u blagom porastu (slika 13). Rast mikroorganizama može se povezati sa pH vrijednosti supstrata, odnosno kada su tijekom procesa pH vrijednosti u kiselom području, veći je broj gljiva (kvasaca i plijesni), a kada su pH vrijednosti u lužnatom području veći je broj bakterija. Analiza rezultata nasipane gustoće (slika 14) pokazala je da na kraju procesa kompostiranja najviša nasipna gustoća izmjerena u reaktoru 1 ( $0,45 \text{ g/cm}^3$ ), a najniža u reaktoru 4 ( $0,29 \text{ g/cm}^3$ ) što je u skladu s dostupnom literaturom (Khater, 2015).

### **5.3. NIR spektri uzoraka komposta i ekstrakata uzoraka komposta tijekom procesa kompostiranja**

Tehnologija bliske infracrvene spektroskopije (NIRs) oslanja se na apsorpciju u rasponu valnih duljina od 780 nm do 2500 nm zbog molekularnih vibracija i rotacije veza unutar molekule. Tehnologija koristi tri osnovna načina mjerenja: propusnost, refleksiju (uključujući difuznu refleksiju) i međudjelovanje. Međutim, svi se oslanjaju na istu temeljnu tehnologiju, disperzivni spektrometar (Gonzales i sur.,) Zbog svojih mnogobrojnih prednosti kao što su minimalna ili potpuno nepotrebna priprema uzorka, signal proporcionalan koncentraciji i mogućnost mjerenja uzoraka u zatvorenoj ambalaži, NIR se sve više primjenjuje u raznim područjima, pa i u području kompostiranja (Manley i sur., 2014).

U okviru ovog rada primjenjena je NIR spektroskopija u analizi procesa kompostiranja. Za sve uzorke komposta i ekstrakata komposta tijekom procesa kompostiranja u svih pet reaktora snimani su NIR spektri sa četiri različita NIR spektrometra. Srednje vrijednosti od triju neprocesiranih spektara snimljenih različitim NIR spektrometrima po svakom pojedinom reaktoru tijekom procesa kompostiranja prikazane su na slikama 14-19. NIR-128-1.7-USB/6.25/50  $\mu\text{m}$  snima spektre u rasponu valnih duljina od 900 do 1699 nm, AvaSpec-NIR256-2.5-HSC-EVO  $\mu\text{m}$  snima spektre u rasponu valnih duljina od 990 do 2500 nm, NIR-S-G1, InnoSpectra u rasponu od 900 do 1700 nm. NIR spektri uzoraka komposta (slike 15-17) razlikuju se u profilu ovisno o spektrometru kojim se mjerilo. NIR spektri uzoraka komposta snimljeni NIR-128-1.7-USB/6.25/50  $\mu\text{m}$  (slika 15) ne pokazuju specifične šumove te slijede zajednički trend za sve uzorke: najveće razlike između spektara vidljive su u području valnih duljina od 1330 do 1500 nm koje je specifično za superpoziciju O-H veza. Nadalje razlike u ovom spektralnom području mogu se korelirati s vodom u uzorcima (Rambo i sur., 2020; Valinger i sur, 2018). Nadalje spektri uzoraka komposta snimanih NIR uređajem AvaSpec-NIR256-2.5-HSC-EVO  $\mu\text{m}$  u rasponu valnih duljina od 990 do 2500 nm (slika 15) pokazuju postojanje šumova u području valnih duljina iznad 2450 nm. Šum predstavlja nasumične fluktuacije oko signala koji mogu potjecati od instrumenta ili okolišnih laboratorijskih uvjeta (Henríquez i Ruz, 2019) i njihova pojava može negativno djelovati na rezultat. Također NIR spektri uzoraka komposta snimljeni NIR uređajem AvaSpec-NIR256-2.5-HSC-EVO  $\mu\text{m}$  pokazuju dva apsorpcijska maksimuma u području valnih duljina od 1350 do 1600 nm te u rasponu od 1500 do 2250 nm. Područje valnih duljina u rasponu od 1350 do 1600 nm odgovara drugom



overtonu  $\text{H}_2\text{O}$ , C-H i  $\text{CH}_2$  veza, dok područje valnih duljina između 1500 i 2250 nm odgovara području prvog overtona  $\text{H}_2\text{O}$ , C-H i  $\text{CH}_2$  veza (Okparanma i sur., 2018). Isto tako na spektrima je vidljiv pomak u apsorbancijskim maksimumima tijekom procesa kompostiranja, što upućuje na kemijske promjene koje se odvijaju tijekom procesa kompostiranja i također pokazuje promjenjivost NIR spektroskopije u analizi procesa kompostiranja. Nadalje NIR spektri uzoraka komposta snimljeni NIR-S-G1, InnoSpectra (slika 17) pokazuju apsorbancijski maksimum u području valnih duljina u rasponu od 1400 do 1500 nm koji odgovara prethodno spomenutom drugom overtonu  $\text{H}_2\text{O}$ , R-OH, R- $\text{NH}_2$ , C-H,  $\text{CH}_2$  i  $\text{CH}_3$  veza.

Osim uzoraka komposta, snimani su i NIR spektri uzoraka ekstrakata komposta s tri NIR spektrometra. NIR-128-1.7-USB/6.25/50  $\mu\text{m}$  snima spektre u rasponu valnih duljina od 900 do 1699 nm (slika 18), AvaSpec-NIR256-2.5-HSC-EVO  $\mu\text{m}$  snima spektre u rasponu valnih duljina od 990 do 2500 nm (slika 19), NIR-M-R2, InnoSpectra u rasponu od 900 do 1700 nm (slika 20). Kao i u slučaju spektara uzoraka komposta, profili spektara uzoraka ekstrakata razlikuju se ovisno o spektrometru kojim se mjerilo. NIR spektri snimani NIR-128-1.7-USB/6.25/50  $\mu\text{m}$  spektrometrom ekstrakata lišća masline ne pokazuju značajne razlike u rasponu od 904 do 1699 nm, na temelju apsorbancije. Međutim, u rasponima 904-928 i 1350-1699 nm vidljivi su blagi pomaci koji ukazuju na promjene u trećem i drugom overtonu C-H i O-H veza (Dou i sur., 2007) što je također povezano s hidroksilnom skupinom (-OH) vezanom izravno na aromatsku ugljikovodičnu skupinu (Belščak-Cvitanović i sur., 2018). Na spektrima snimanim NIR uređajem AvaSpec-NIR256-2.5-HSC-EVO  $\mu\text{m}$  najveće razlike među uzorcima uočljive u području valnih duljina od 1300 do 1600 nm (slika 19) te u području od 1800 do 2050 nm, dok spektri snimani prijenosnim NIR instrumentom (slika 20) pokazuju najveće razlike u području valnih duljina od 1100 do 1250 nm, od 1350 do 1500 nm te u području od 1600 do 1700 nm.

#### **5.4. Analiza glavnih komponenata (engl. *Principal Component Analysis*, PCA) NIR spektara**

NIR apsorpcijski spektri često su složeni i obično se preklapaju u velikom rasponu valnih duljina. Štoviše, kemijska, fizikalna i strukturna svojstva svih molekula prisutnih u uzorku utječu i na izmjerene spektre. Također, male razlike između uzoraka u seriji uzoraka mogu uzrokovati vrlo male spektralne razlike. To znači da dobiveni podaci u NIR apsorpciji (izmjereni spektri) ovise o više od jedne varijable istovremeno. U svrhu analize spektralnih podataka primjenjuju se kemometrijske metode. Kemometrija koristi matematičke i statističke postupke za multivarijatnu analizu podataka za filtriranje informacija koje se odnose na određeno svojstvo iz vrlo velike količine podataka (Gardana i sur., 2018). U ovom radu provedena je analiza osnovnih komponenata (engl. *Principal Component Analysis*, PCA) neprocesiranih srednjih vrijednosti NIR spektara svih uzoraka komposta i uzoraka ekstrakata komposta snimanih različitim NIR spektrometrima. Analiza glavnih komponenata (PCA) omogućuje sažimanje i vizualiziranje informacija u skupu podataka. Nadalje, analiza glavnih komponenata koristi se za izdvajanje važnih informacija iz tablice podataka s više varijacija i za izražavanje tih informacija kao skupa nekoliko novih varijabli koje se nazivaju glavnim komponentama. Ove nove varijable odgovaraju linearnoj kombinaciji izvornika. Broj glavnih komponenatamanji je ili jednak broju izvornih varijabli (Toscano i sur., 2017). Rezultati su prikazani na slikama 21 i 22. U slučaju NIR spektara uzoraka komposta (slika 21), može se uočiti da prva dva faktora analize osnovnih komponenata objašnjavaju više od 95 % varijabilnosti podataka (Adi i sur., 2020); za spektre snimane NIR-128-1.7-USB/6.25/50  $\mu\text{m}$  spektrometrom prva dva faktora objašnjavaju 97,50 % varijabilnosti, za spektre snimane AvaSpec-NIR256-2.5-HSC-EVO spektrometrom prva dva faktora objašnjavaju 96,80 % varijabilnosti dok za spektre snimane NIR-S-G1 spektrometrom prva dva faktora objašnjavaju 97,03 % varijabilnosti. Može se također uočiti da se uzorci komposta iz različitih reaktora na temelju NIR spektara nisu odvojili po reaktorima već postoji značajno preklapanje što upućuje na sličnosti među uzorcima. U slučaju uzoraka ekstrakata komposta (slika 22) može se uočiti da prva dva faktora analize osnovnih komponenata objašnjavaju više od 92 % varijabilnosti podataka što je nešto manje nego u slučaju uzoraka komposta. Vidljivo je također da je kod uzoraka ekstrakata komposta manji doprinos prvog faktora u analizi osnovnih komponenata, a veći doprinos drugog faktora. To se svakako može objasniti razlikom u načinu mjerenju spektara krutih i tekućih uzoraka. Na slici 22 je također vidljivo da su se prema reaktoru odvojili uzorci snimani AvaSpec-NIR256-2.5-HSC-EVO spektrometrom te da postoje poklapanja za ostale NIR spektrometre.

## 5.5. ANN modeli za predviđanje svojstava komposta tijekom procesa kompostiranja na temelju NIR spektara

Prema Lambert-Beerovom zakonu, apsorpcija svjetlosti u mediju proporcionalna je duljini puta i koncentraciji apsorbirajućeg sredstva. Odnosno, postoji linearni odnos između apsorpcije i koncentracije kada duljina puta svjetlosti ostaje konstantna, pa se spektralni podaci mogu analizirati linearnim modelima kao što su višestruka linearna regresija (engl. *multiple linear regression*, MLR), regresija glavnih komponenti (engl. *principal components regression*, PCR) i djelomična regresija metodom najmanjih kvadrata (engl. *partial least squares regression*, PLSR) (Henríquez i Ruz, 2019). Međutim, linearnost Lambert-Beerovog zakona ograničena je kemijskim i instrumentalnim čimbenicima, kao što su odstupanja u koeficijentima apsorpcije pri visokim koncentracijama, nesimetrična kemijska ravnoteža, međumolekularne reakcije, postojanje vlage, promjene temperature, ne-monokromatsko zračenje, raspršenje svjetlosti, fluorescencija ili fosforescencija uzorka, zalutalo svjetlo, nelinearni odziv detektora. Kada sustav pokazuje snažno nelinearno ponašanje, klasične linearne metode možda neće u potpunosti identificirati odnos između spektara i odgovarajućih koncentracija i stoga bi proizveli velike pogreške u problemima regresije i klasifikacije (Basile i sur., 2022; Valinger i sur., 2021). Razvijene su mnoge nelinearne tehnike, poput umjetne neuronske mreže (ANNs). Na temelju prethodno navedenog, u ovom radu preliminarno je analizirana primjena linearnih modela (djelomična regresija metodom najmanjih kvadrata) za predikciju fizikalno-kemijskih svojstva komposta tijekom procesa kompostiranja na temelju neprocesuiranih (sirovih) NIR spektara uzoraka komposta i uzoraka ekstrakata komposta. Primjena takovih modela pokazala se neučinkovitom (za razvijene modele dobivene su vrijednosti  $R^2 < 0,3$  i visoke vrijednosti RMSE), stoga je izabran pristup nelinearnog modeliranja primjenom modela umjetnih neuronskih mreža.

Razvijeni su ANNs modeli za predikciju fizikalno-kemijskih svojstava komposta na temelju neprocesiranih NIR spektara uzoraka komposta i uzoraka ekstrakata komposta (tablice 7 i 8; slike 23 i 24). Ulazne varijable svih ANNs modela bile su koordinate osnovnih komponenata na temelju analize osnovnih komponenata (PCA analize). Izabrano je prvih 10 osnovnih komponenata koje doprinose 99,9 % varijabilnosti podataka. Na temelju rezultata prikazanih u tablici 6 može se uočiti da ANN model razvijen na temelju NIR spektara uzoraka komposta snimljenih NIR-128-1.7-USB/6.25/50  $\mu\text{m}$  spektrometrom najbolje opisuje podatke za udio organske tvari tijekom procesa

kompostiranja. Za opis udjela organske tvari tijekom procesa kompostiranja razvijena je neuronska mreža MLP 10-7-1 koju karakterizira 10 neurona u ulaznom sloju, 7 neurona u skrivenom sloju i jedan u izlaznom sloju. Kao skrivenu aktivacijsku funkciju i izlaznu aktivacijsku funkciju model koristi eksponencijalnu funkciju. Za opisani model dobivene su sljedeće vrijednosti  $R^2$  za učenje, test i validaciju 0,9729, 0,9552 i 0,8873 i pripadajuće vrijednosti RMSE 3,5853, 4,0448 i 16,9181. S druge strane ANN model (MLP 10-8-1) razvijen za opis udjela suhe tvari opisuje eksperimentalne podatke s najmanjom preciznošću ( $R^2$  vrijednosti za učenje, test i validaciju su 0,8777, 0,8055 i 0,6877 i pripadajuće vrijednosti RMSE su 3,0885, 4,7392 i 15,6650). Na slici 23 vidljivo je da za sve analizirane izlazne varijabe modeli dobro opisuje izmjerene podatke. Isti trend uočen je za ANNs modele razvijene na temelju NIR spektara snimljenih AvaSpec-NIR256-2.5-HSC-EVO i NIR-S-G1 spektrometrom. Važno je također naglasiti da su općenito najviše vrijednosti  $R^2$  i najniže vrijednosti RMSE razvijenih modela dobiven za ANNs modele razvijene na temelju NIR spektara snimljenih NIR-128-1.7-USB/6.25/50  $\mu\text{m}$  što bi značilo da je navedeni uređaj najpouzdaniji za analizu procesa kompostiranja. Isto tako važno je naglasiti da visoke vrijednosti  $R^2$  i niske vrijednosti RMSE dobivene za ANNs modele razvijene na temelju NIR spektara snimljenih prijenosnim NIR-S-G1 spektrometrom pokazuju visoki potencijal prijenosnih NIR uređaja za on-line analizu procesa kompostiranja.

Nadalje, na temelju rezultata prikazanih u tablici 8 i slici 24 može se uočiti da ANN model razvijen na temelju NIR spektara uzoraka ekstrakata komposta snimljenih NIR-128-1.7-USB/6.25/50  $\mu\text{m}$  spektrometrom najbolje opisuje podatke za ukupnu promjenu boje tijekom procesa kompostiranja, nakon čega slijedi predikcija pH vrijednosti te predikcija TDS-a. Za opis ukupne promjene boje tijekom procesa kompostiranja razvijena je neuronska mreža MLP 10-7-1 koju karakterizira 10 neurona u ulaznom sloju, 7 neurona u skrivenom sloju i jedan u izlaznom sloju. Kao skrivenu aktivacijsku funkciju model koristi eksponencijalnu funkciju, a kao izlaznu aktivacijsku funkciju model koristi logističku funkciju. Za opisani model dobivene su sljedeće vrijednosti  $R^2$  za učenje, test i validaciju 0,9835, 0,9825 i 0,9019 i pripadajuće vrijednosti RMSE 0,0479, 0,2167 i 0,2280. S druge strane ANN model (MLP 10-7-1) razvijen za opis vodljivosti ekstrakata komposta opisuje eksperimentalne podatke s najmanjom preciznošću ( $R^2$  vrijednosti za učenje, test i validaciju su 0,8611, 0,7645 i 0,7373 i pripadajuće vrijednosti RMSE iznose 29,8052, 33,7799 i 77,9842). Zanimljivo je napomenuti da rezultati pokazuju da ANNs modeli razvijeni na temelju NIR spektara ekstrakata komposta snimljeni prijenosnim NIR-S-G1 spektrometrom pokazuju visoki koeficijent

determinacije za opis pH vrijednosti komposta. Dobiveni rezultat svakako ima praktičnu primjenu ako se uzme u obzir da je pH vrijednost jedna od ključnih varijabli za provedbu procesa kompostiranja. Rezultati također pokazuju da su najniže vrijednosti  $R^2$  za učenje, test i validaciju dobivene za ANNs modele razvijene na temelju NIR spektara snimanih AvaSpec-NIR256-2.5-HSC-EVO spektrometrom. Kako bi se naglasila važnost i primjenjivost dobivenih rezultata bitno je još jednom spomenuti da su svi modeli razvijeni na temelju neprocesiranih spektara u cijelom rasponu analiziranih valnih duljina te je za očekivati da bi se precizniji modeli mogli razviti primjenom prethodnog predprocesiranja snimljenih spektara.

Uspješna primjena NIR spektroskopije u kontroli procesa kompostiranja je prethodno opisana u literaturi. Tako su Kavdir i sur. (2020) primijenili FT-NIR za analizu procesa kompostiranja otpada od proizvodnje maslinovog ulja. Razvili su PLS model sa  $R^2$  od 0,86, 0,82, 0,81, 0,77, 0,75, 0,65 i 0,51 za opis udjela nitrata, pH, udjela amonijaka, udjela dušika, ukupnog omjer ugljika i dušika, ukupnog ugljik i vodljivost na temelju snimljenih spektara. Njihovi rezultati pokazuju da FT-NIR spektroskopija ima potencijal nedestruktivne analize procesa kompostiranja otpada iz proizvodnje maslinovog ulja na temelju visokih koeficijenata determinacije za sve analizirane varijable. Nadalje, Rueda i sur. (2023) također su primijenili FT-NIR i Fourierovu transformaciju srednjeg infracrvenog spektra (FT-MIR) za analizu kemijskih promjena koje se događaju tijekom torefikacije (na tri različite temperature 175, 225 i 275 °C, od 1 do 5 h) komposta komine masline i procijenili utjecaj tretmana na kompost u različitim fazama sazrijevanja. Kompostiranje je provedeno s hrpama visine 4 m i promjera 8 m koje su se sastojale od 68 % komine masline, 24 % kozjeg gnoja, 6 % otpada od rezidbe maslina i 2 % kokošjeg gnoja pomiješanog s piljevinom tijekom jedne godine. Rezultati su pokazali da je spajanje podataka dobivenih primjenom FT-NIR i FT-MIR posebno osjetljivo na molekularne promjene koje se odvijaju tijekom procesa kompostiranja i nakon zagrijavanja. Nadalje, PCA analiza spojenih spektara otkrila je da su promjene na 175 °C prvenstveno posljedica gubitka vode, dok zagrijavanje iznad 225 °C rezultira smanjenjem alifatskih skupina. Još jedan primjer učinkovite uporabe ručne bliske spektroskopije za praćenje procesa industrijskog kompostiranja predstavili su Huang i sur. (2020). Autori navode da korišteni ručni NIR instrument može točno detektirati sadržaj vlage, ukupni dušik, ukupni ugljik, omjer ugljik/dušik, organsku tvar i električnu vodljivost tijekom procesa kompostiranja što je u skladu s rezultatima dobivenim u ovom radu. Njihovi rezultati pokazali su da je NIR spektroskopija opisala sadržaj vlage s najvećom točnošću, a zatim ukupni dušik i organsku tvar.

Slično, Malley i sur. (2005) istraživali su sposobnost terenskog prijenosnog NIR spektrofotometra da identificira sadržaj hranjivih tvari u neprerađenom, uskladištenom i kompostiranom stajnjaku s tovišta goveda. Otkriveno je da su NIR instrumenti korisni na dva različita načina. Korištenjem samo spektralnih podataka, SIMCA analiza je pokazala kako se skladištenje stajskog gnoja nije značajno promijenilo, dok se kompost znatno razlikuje od sirovog ili uskladištenog stajnjaka. Drugo, modeli razvijanje za predviđanja ukupnog C, organskog C, ukupnog N, omjer C:N, S, K i pH mogu koristiti za predviđanje navedenih sastojaka u svježim uzorcima u stvarnom vremenu. Podaci dostupni u literaturi također pokazuju da se NIR spektroskopija može koristiti za procjenu dostupnog dušika u kompostu koje potječe od gnoja peradi (Fujiwara i sur., 2007). Druga derivacija spektara i višestruka regresijska analiza primijenjeni su kako bi se razvili visoko precizni kalibracijski modeli za ukupni dušik i dušik mokraćne kiseline u kompostu.

## **6. ZAKLJUČCI**

Na temelju navedenih rezultata može se zaključiti:

1. Najveća koncentracija polifenola od 8,24 mg<sub>GAE</sub>/g<sub>s.tv.</sub> ekstrahirana klasičnom ekstrakcijom kruto/tekuće je pri uvjetima eksperimenta broj 17 ( $t = 75$  min,  $T = 80$  °C,  $S/L = 30$  g/L,  $rpm = 500$  l/min). Statistička analiza fizikalno-kemijskih svojstva vodenih ekstrakata pokožice grožđa pokazala je da se povećana uspješnost ekstrakcije biološki aktivnih molekula iz pokožice grožđa postiže porastom udjela kruto/tekuće i temperature pri kojoj se izvodi ekstrakcija.
2. Proces kompostiranja pokožice grožđa učinkovito je proveden s pokožicom grožđa bez predtretmana, s usitnjenom pokožicom grožđa bez predtretmana, s pokožicom grožđa ekstrahiranom na 40 °C kroz 90 min, s usitnjenom pokožicom grožđa ekstrahirana na 40 °C kroz 90 min te smjesom pokožice bez predtretmana i tretirane pokožice. Učinkovitost procesa kompostiranja potvrđena je na temelju ukupne promjene komposta boje, porasta udjela vlage, smanjenja udjela organskih tvari i organskog ugljika, porasta pH vrijednosti, ukupnih otopljenih tvari, električne vodljivosti i broja mikroorganizama u kompostu.
3. Profili apsorpcijskih maksimuma NIR spektara uzoraka komposta i uzoraka ekstrakata komposta tijekom procesa kompostiranja razlikuju se ovisno o tome koji se instrument koristio za mjerenje, a pomaci u apsorpcijskim maksimumima ukazuju na promjene u kemijskom sastavu komposta tijekom procesa kompostiranja.
4. Analiza osnovnih komponenta neprocesiranih NIR spektara uzoraka komposta i uzoraka ekstrakata komposta pokazala je preklapanje uzoraka što upućuje na potrebu za dodatnim procesiranjem spektara.
5. Razvijeni modeli umjetnih neuronskih mreža za predviđanje fizikalno-kemijskih svojstva komposta na temelju ne procesiranih NIR spektra s viskom preciznošću ( $R^2_{\text{validacija}} > 0,75$ ) opisuju udio vlage, udio organske tvari, udio pepela, udio ugljika, ukupnu promjenu boje komposta, pH, TDS i ukupnu promjenu boje ekstrakta komposta što upućuje za značajan potencijal primjene NIR spektroskopije u analizi procesa kompostiranja.



## **7.ZAHVALA**

Posebnu zahvalnost dugujem svojoj mentorici izv.prof.dr.sc. Ani Jurinjak Tušek te Tei Sokač Cvetnić, mag.ing.oecoing. za veliku pomoć, potporu, strpljenje, mnogobrojne sugestije i nova iskustva koja su mi ustupljena prilikom izrade ovog rada. Zahvalnost upućujem i ostalim djelatnicima Laboratorija za mjerenje, regulaciju i automatizaciju koji su također uvijek bili spremni pomoći na svakom koraku te Laboratoriju za tehnologiju mlijeka za mogućnost izvođenja mikrobioloških ispitivanja.

## **8. POPIS LITERATURE**

- Abdi, H., Williams, L.J. (2010) Principal Component Analysis. *Wiley Interdiscip. Rev. Comput. Stat.* **2**, 433-459. <https://doi.org/10.1002/wics.101>
- Adi1, D. S., Hwang, S. W., Pramasari, D. A., Amin, Y., Cipta, H., Damayanti, R., Dwianto, W., Sugiyama, J. (2020) Anatomical properties and near infrared spectra characteristics of four shorea species from Indonesia. *Hayati J. Biosci.* **27**, 247-257. <https://doi.org/10.4308/hjb.27.3.24>
- Antonić, B., Jančíková, S., Dordević, D., Tremlová, B. (2020) Grape pomace valorization: A systematic review and meta-analysis. *Foods* **9**, 1627. <https://doi.org/10.3390/foods9111627>
- AOAC (1995) Official methods of analysis, Association of Official Analytical Chemists, 16. izd., Arlington VA, USA.
- Atalia, K. R., Buha, D. M., Bhavsar, K. A., Shah, N. K. (2015) A review on composting municipal solid waste. *IOSR j. environ. sci., toxicol. food technol.* **9**, 20-29. <https://doi.org/10.9790/2402-09512029>
- Awasthi, M. K., Pandey, A. K., Khan, J., Bundela, P. S., Wong, J. W. C., Selvam, A. (2014) Evaluation of thermophilic fungal consortium for organic municipal solid waste composting. *Bioresour. Technol.* **168**, 214-221.
- Azim, K., Souidi, B., Boukhari, S., Perissol, C., Roussos, S., Thami Alami, I. (2018) Composting parameters and compost quality: a literature review. *Org. Agric.* **8**, 141–158. <https://doi.org/10.1007/s13165-017-0180-z>
- Azis, F. A., Rijal, M., Suhaimi, H., Abas, E. (2022) Patent Landscape of Composting Technology: A Review. *Inventions* **7**, 38. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.01.048>
- Balli, D., Cecchi, L., Innocenti, M., Bellumori, M., Mulinacci, N. (2021) Food by-products valorisation: Grape pomace and olive pomace (pâté) as sources of phenolic compounds and fiber for enrichment of tagliatelle pasta. *Food Chem.* **355**, 129642. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129642>
- Barrington, S., Choinière, D., Trigui, M., Knight, W. (2003) Compost convective airflow under passive aeration. *Bioresour. Technol.* **86**, 259-266. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(02\)00155-4](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(02)00155-4)

Basile T, Marsico A. D., Perniola R (2022) Use of artificial neural networks and NIR spectroscopy for non-destructive grape texture prediction. *Foods* **11**, 281. <https://doi.org/10.3390/foods11030281>

Bazrafshan, E., Zarei, A. A. (2016) Maturity and stability evaluation of composted municipal solid wastes. *Health Scope* **5**, e33202. <https://doi.org/10.17795/jhealthscope-33202>

Beć, K.B, Grabska, J., Huck, C.W. (2022) In silico NIR spectroscopy – A review. Molecular fingerprint, interpretation of calibration models, understanding of matrix effects and instrumental difference. *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* **279**, 121438. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2022.121438>

Beć, K.B., Karczmit, D., Kwaśniewicz, M., Ozaki, Y., Czarnecki, M.A. (2019) Overtones of  $\nu_{C\equiv N}$  vibration as a probe of structure of liquid  $CH_3CN$ ,  $CD_3CN$ , and  $CCl_3CN$ : Combined infrared, near-infrared, and Raman spectroscopic studies with anharmonic density functional theory calculations. *J. Phys. Chem.* **123**, 4431–4442. <https://doi.org/10.1021/acs.jpca.9b02170>

Belščak-Cvitanović, A., Valinger, D., Benković, M., Jurinjak Tušek, A., Jurina, T., Komes, D., Gajdoš-Kljusurić, J. (2018) Integrated approach for bioactive quality evaluation of medicinal plant extracts using HPLC-DAD, spectrophotometric, near infrared spectroscopy and chemometric techniques. *Int. J. Food Prop.* **20**, 1094-2912. <https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1373122>

Benzie I. F., Strain J. J. (1996) The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Anal. Biochem.* **239**, 70-6. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>

Beres, C., Costa, G.N.S., Cabezudo, I., da Silva-James, N.K., Teles, A.S.C., Cruz, A.P.G., Mellinger-Silva, C., Tonon, R.V., Cabral, L.M.C., Freitas, S.P. (2017) Towards integral utilization of grape pomace from winemaking process: A review. *Waste Manage.* **68**, 581-594. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.07.017>

Beulah, G., Divya, D., Sampath Kumar, N. S., Sravya, M. V. N., Govinda Rao, K., Anjani Devi Chintagunta, Divya, G., Hari Chandana, Blessy, B.D., Simhachalam, G. (2021) Purification and characterization of bioactive compounds extracted from Suaeda maritima leaf and its impact on

pathogenicity of *Pseudomonas aeruginosa* in *Catla catla* fingerlings. *AMB Express* **11**, 135. <https://doi.org/10.1186/s13568-021-01295-5>

Blanco, M., Villarroya, I. (2002) NIR Spectroscopy: a rapid response analytical tool. *TrAC, Trends Anal. Chem.* **21**, 240-250. [https://doi.org/10.1016/S0165-9936\(02\)00404-1](https://doi.org/10.1016/S0165-9936(02)00404-1)

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C. (1995) Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Sci. Technol.* **28**, 25-30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)

Brereton, R.G., (2007) Applied chemometrics for scientists. John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, Engleska, 147.

Brglez Mojzer, E., Knez Hrnčić, M., Škerget, M., Knez, Ž., Bren, U. (2016) Polyphenols: extraction methods, antioxidative action, bioavailability and anticarcinogenic effects. *Molecules* **21**, 901. <https://doi.org/10.3390/molecules21070901>

Brunner, P. H., Fellner, J. (2007) Setting priorities for waste management strategies in developing countries. *Waste Manag. Res.* **25**, 234–240. <https://doi.org/10.1177/0734242X0707829>

Buljat, A. M., Jurina, T., Jurinjak Tušek, A., Valinger, D., Gajdoš Kljusurić, J., Benković, M. (2019) Applicability of foam mat drying process for production of instant cocoa powder enriched with lavender extract. *Food Technol. Biotechnol.* **57**, 159-170. <https://doi.org/10.17113/ftb.57.02.19.6064>

Chan, M. T., Selvam, A., Wong, J.W. (2016) Reducing nitrogen loss and salinity during “struvite” food waste composting by zeolite amendment. *Bioresour. Technol.* **200**, 838-844. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.10.093>

Chen, T., Zhang, S., Yuan, Z. (2020) Adoption of solid organic waste composting products: a critical review. *J. Clean. Prod.* **272**, 122712. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.122712>

Cvetković, A.-M., Jurina, T., Valinger, D., Jurinjak Tušek, A., Benković, M., Gajdoš Kljusurić, J. (2018) The estimation of kinetic parameters of the solid-liquid extraction process of the lavender flower (*Lavandula x hybrida* L.). *Croatian J. Food Sci. Technol.* **10**, 64–72. <https://doi.org/10.17508/CJFST.2018.10.1.12>

- Debrah, J. K., Vidal, D. G., Dinis, M. A. P. (2021) Raising awareness on solid waste management through formal education for sustainability: A developing countries evidence review. *Recycle* **6**, 6. <https://doi.org/10.3390/recycling6010006>
- Diaz, M. J., Madejón, E., López, F., López, R., Cabrera, F. (2002) Optimization of the rate vinasse/grape marc for co-composting process. *Process Biochem.* **37**, 1143-1150. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(01\)00327-2](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(01)00327-2)
- Djuris, J., Ibric, S., Djuric, Z., (2013) Chemometric methods application in pharmaceutical products and processes analysis and control. U: Djuric, J. (ured.) Computer-Aided Applications in Pharmaceutical Technology, Woodhead Publishing, Duxford/Cambridge/Kidlington str.57-90. <https://doi.org/10.1533/9781908818324.57>
- Dou, Y., Zou, T., Liu, T., Qu, N., Ren, Y. (2007) Calibration in non-linear NIR spectroscopy using principal component artificial neural networks. *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* **68**, 1201-1206. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2007.01.021>
- Duong, T.T.T., Penfold, C., Marschner, P. (2012) Differential effects of composts on properties of soils with different textures. *Biol. Fertil. Soils* **48**, 699–707. <https://doi.org/10.1007/s00374-012-0667-4>
- El-mrini, S., Aboutayeb, R., Zouhri, A. (2022) Effect of initial C/N ratio and turning frequency on quality of final compost of turkey manure and olive pomace. *J. Eng. Appl. Sci.* **69**, 1–20. <https://doi.org/10.1186/s44147-022-00092-6>
- Fan, S., Li, A., Heijne, A., Buismann, C.J.N., Chen, W.S. (2021) Heat potential, generation, recovery and utilization from composting: A review. *Resour. Conserv. Recycl.* **175**, 105850. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2021.105850>
- Fujiwara, T., Murakami, K. (2007) Application of near infrared spectroscopy for estimating available nitrogen in poultry manure compost. *Soil Sci. Plant Nutr.* **53**, 102-107. <https://doi.org/10.1111/j.1747-0765.2007.00109.x>
- Gao, M., Li, B., Yu, A., Liang, F., Yang, L., Sun, Y. (2010) The effect of aeration rate on forced-aeration composting of chicken manure and sawdust. *Bioresour. Technol.* **101**, 1899–1903. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.10.027>

- Gardana, C., Scialpi, A., Fachechi, C., Simonetti, P. (2018.) Near-infrared spectroscopy and chemometrics for the routine detection of bilberry extract adulteration and quantitative determination of the anthocyanins. *J. Spectrosc.* **2018**, 4751247. <https://doi.org/10.1155/2018/4751247>
- Gerardi, C., D'amico, L., Migoni, D., Santino A., Salomone, A., Carluccio, M.A., Giovinazzo, G. (2020) Strategies for reuse of skins separated from grape pomace as ingredient of functional beverages. *Front. Bioeng. Biotechnol.* **8**, 645. <https://doi.org.10.3389/fbioe.2020.00645>
- Gerardi, C., D'amico, L., Migoni, D., Santino, A., Salomone, A., Carluccio, M. A., Giovinazzo, G. (2020) Strategies for reuse of skins separated from grape pomace as ingredient of functional beverages. *Front. Bioeng. Biotechnol.* **8**, 645. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00645>
- Ghidossi, R., Yammine, S., Delsart, C., Xavier, V., Mietton-Peuchot, M. (2020) Characterisation of polyphenols and antioxidant potential of red and white pomace by-product extracts using subcritical water extraction. *OENO One* **54**, 263–278. <https://doi.org/10.20870/oeno-one.2020.54..2346>
- Grube, M., Lin, J. G., Lee, P. H., Kokorevicha, S. (2006) Evaluation of sewage sludge-based compost by FT-IR spectroscopy. *Geoderma* **130**, 324–333. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2005.02.005>
- Guo, R., Li, G., Jiang, T., Schuchardt, F., Chen, T., Zhao, Y., Shen, Y. (2012) Effect of aeration rate, C/N ratio and moisture content on the stability and maturity of compost. *Bioresour. Technol.* **112**, 171–178. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.02.099>
- Gutiérrez-Escobar, R., Aliaño-González, M. J., Cantos-Villar, E. (2021) Wine polyphenol content and its influence on wine quality and properties: A review. *Molecules* **26**, 718. <https://doi.org/10.3390/molecules26030718>
- Hasbi, N. H., Bade, A., Chee, F.P. (2022) Pattern recognition for ultraviolet and Fourier transform data: A walkthrough of techniques and direction. *J. Phys. Conf. Ser.* **2314**, 012012. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/2314/1/012012>



Haynes, R.J., Belyaeva, O.N., Zhou, Y.-F. (2015) Particle size fractionation as a method for characterizing the nutrient content of municipal green waste used for composting. *Waste Manage.* **35**, 48-54. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2014.10.002>

Héberger, K. (2008) Chemoinformatics—multivariate mathematical—statistical methods for data evaluation. U: Vékey, K., Telekes, A., Vertes, A. (ured.) *Medical Applications of Mass Spectrometry*, Elsevier Science, Amsterdam, Nizozemska str. 141-169. <https://doi.org/10.1016/B978-044451980-1.50009-4>

Hemidat, S., Jaar, M., Nassour, A., Nelles, M. (2018) Monitoring of composting process parameters: a case study in Jordan. *Waste Biomass Valorization* **9**, 2257-2274. <https://doi.org/10.1007/s12649-018-0197-x>

Henríquez, A. P., Ruz, A. G. (2019) Noise reduction for near-infrared spectroscopy data using extreme learning machines. *Eng. Appl. Artif. Intell.* **79**, 13-22. <https://doi.org/10.1016/j.engappai.2018.12.005>

Hernández, B., Sáenz, C., Alberdi, C., Diñeiro, J. M. (2016) CIELAB color coordinates versus relative proportions of myoglobin redox forms in the description of fresh meat appearance. *J. Food Sci. Technol.* **53**, 4159–4167. <https://doi.org/10.1007/s13197-016-2394-6>

Huang, Y., Sun, X., Liao, K., Han, L., Yang, Z. (2020) Real-time and field monitoring of the key parameters in industrial trough composting process using a handheld near infrared spectrometer. *J. Near Infrared Spectrosc.* **28**, 334–343. <https://doi.org/10.1177/0967033520939323>

Jain, M.S., Daga, M., Kalamdhad, A.S. (2019) Variation in the key indicators during composting of municipal solid organic wastes. *Sustain. Environ. Res.* **29**, 9 <https://doi.org/10.1186/s42834-019-0012-9>

Jednačak, T., Novak, P. (2013) Procesne analitičke tehnike temeljene na vibracijskoj spektroskopiji in-line i primjena u industriji. *Kemija u industriji* **62**, 71–80.

Jurinjak Tušek, A., Benković, M., Belščak Cvitanović, A., Valinger, D., Jurina, T., Gajdoš Kljusurić, J. (2016) Kinetics and thermodynamics of the solid-liquid extraction process of total polyphenols, antioxidants and extraction yield from Asteraceae plants. *Ind. Crops Prod.* **91**, 205-214. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.07.015>

- Jurinjak Tušek, A., Benković, M., Malešić, E., Marić, L., Jurina, T., Gajdoš Kljusurić, J., Valinger, D. (2021b) Rapid quantification of dissolved solids and bioactives in dried root vegetable extracts using near infrared spectroscopy. *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* **261**, 120074. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2021.120074>
- Jurinjak Tušek, A., Benković, M., Valinger, D., Jurina, T., Belščak-Cvitanović, A., Gajdoš Kljusurić, J. (2018) Optimizing bioactive compounds extraction from different medicinal plants and prediction through nonlinear and linear models. *Ind. Crops Prod.* **126**, 449–458. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.10.040>
- Jurinjak Tušek, A., Jurina, T., Čulo, I., Valinger, D., Gajdoš Kljusurić, J., Benković M. (2022) Application of NIRs coupled with PLS and ANN modelling to predict average droplet size in oil-in-water emulsions prepared with different microfluidic devices. *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* **270**, 120860. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2022.120860>
- Kavdir, Y., Ilay, R., Camci Cetin, S., Buyukcan, M. B., Kavdir, I. (2020) Monitoring composting process of olive oil solid waste using FT-NIR spectroscopy. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* **51**, 816–828. <https://doi.org/10.1080/00103624.2020.1729375>
- Khater, E.S.G. (2015) Some physical and chemical properties of compost. *Int. J. Waste Resources* **5**, 1000172. <https://doi.org/10.4172/2252-5211.1000172>
- Kim, E., Lee, D. H., Won, S., Ahn, H. (2016) Evaluation of optimum moisture content for composting of beef manure and bedding material mixtures using oxygen uptake measurement. *Asian-Australasian J. Anim. Sci.* **29**, 753–758. <https://doi.org/10.5713/ajas.15.0875>
- Kohler, A., Zimonja, M., Segtnan, V., Martens, H. (2009) Standard normal variate, multiplicative signal correction and extended multiplicative signal correction preprocessing in biospectroscopy. U: Brown, S., Tauler, R., Walczak, B. (ured.) *Comprehensive Chemometrics*, Elsevier, Amsterdam, Nizozemska, str. 139–162.
- Kulcu, R., Yaldiz, O. (2004) Determination of aeration rate and kinetics of composting some agricultural wastes. *Bioresour. Technol.* **93**, 49-57. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2003.10.007>
- Kumar M., Yan-Liang O., Lin J.-G. (2010) Co-composting of green waste and food waste at low C/N ratio. *Waste Manage.* **30**, 602–609. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2009.11.023>

- Liang, C., Das, K. C., McClendon, R. W. (2003) The influence of temperature and moisture contents regimes on the aerobic microbial activity of a biosolids composting blend. *Bioresour. Technol.* **86**, 131-137. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(02\)00153-0](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(02)00153-0)
- Librán, C. M., Mayor, L., Garcia-Castello, E. M., Vidal-Brotons, D. (2013) Polyphenol extraction from grape wastes: Solvent and pH effect. *Agric. Sci.* **4**, 56. <https://doi.org/10.4236/as.2013.49B010>
- Lim, L. Y., Bong, C. P. C., Lee, C. T., Klemes, J. J., Sarmidi, M.R., Lim, J. S. (2017) Review on the current composting practices and the potential of improvement using two-stage composting. *Chem. Eng. Trans.* **61**, 1051-1056. <https://doi.org/10.3303/CET1761173>
- Lin, L., Xu, F., Ge, X., Li, Y. (2019) Chapter four - Biological treatment of organic materials for energy and nutrients production—Anaerobic digestion and composting. *Adv. in Bioenerg.* **4**, 121-181. <https://doi.org/10.1016/bs.aibe.2019.04.002>
- Ma, S., Xiong, J., Cui, R., Sun, X., Han, L., Xu, Y., Kan, Z., Gong, X., Huang, G. (2020) Effects of intermittent aeration on greenhouse gas emissions and bacterial community succession during large-scale membrane-covered aerobic composting. *J. Clean. Prod.* **266**, 12155. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.121551>
- Mahapatra, S., Hibzur Ali, M., Samal, K. (2022) Assessment of compost maturity-stability indices and recent development of composting bin. *Energy Nexus* **6**, 100062. <https://doi.org/10.1016/j.nexus.2022.100062>
- Malley, D., McClure, C., Martin, P., Buckley, K., McCaughey, W. (2005) Compositional analysis of cattle manure during composting using a field-portable near infrared spectrometer. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* **36**, 455-475. <https://doi.org/10.1081/CSS-200043187>
- Manley M. (2014) Near-infrared spectroscopy and hyperspectral imaging: non-destructive analysis of biological materials. *Chem. Soc. Rev.* **43**, 8200-14. <https://doi.org/10.1039/C4CS00062E>

- Martiny, T. R., Dotto, G. L., Raghavan, V., de Moraes, C. C., da Rosa, G. S. (2021) Freezing effect on the oleuropein content of olive leaves extracts obtained from microwave-assisted extraction. *Int. J. Environ. Sci. Technol.* **19**, 10375–10380. <https://doi.org/10.1007/s13762-021-03732-1>
- Meena, A. L., Karwal, M., KJ, R., Narwal, E. (2021) Aerobic composting versus anaerobic composting: Comparison and differences. *Food Sci. Reports.* **2**, 23–26. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.21424.69125>
- Mendes J. A. S., Prozil, S. O., Evtuguina, D. V., Cruz Lopez, L. P. (2012) Towards comprehensive utilization of winemaking residues: Characterization of grape skins from red grape pomaces of variety Touriga Nacional. *Ind. Crops Prod.* **43**, 25-32. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.06.047>
- Mishra, K. S., Yadav, K. D. (2022) Assessment of the effect of particle size and selected physico-chemical and biological parameters on the efficiency and quality of composting of garden waste. *J. Environ. Chem. Eng.* **10**, 107925. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2022.107925>
- Nada, W.M. (2015) Stability and maturity of maize stalks compost as affected by aeration rate, C/N ratio and moisture content. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* **15**, 751-764. <http://doi.org/10.4067/S0718-95162015005000051>
- Nakasaki, K., Hirai, H. (2017) Temperature control strategy to enhance the activity of yeast inoculated into compost raw material for accelerated composting. *Waste Manage.* **65**, 29-36. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.04.019>
- Nasreen, Z., Qazi, J. I. (2012) Lab scale composting of fruits and vegetables waste at elevated temperatures and forced aeration. *Pakistan J. Zool.* **44**, 1285-129.
- Nikolai, B. M., Beullens, K., Bobelyn, E., Peirs, A., Saeys, W., Theron, K. I., Lammertyn, J. (2007) Nondestructive measurement of fruit and vegetable quality by means of NIR spectroscopy: A review. *Postharvest Biol. Technol.* **46**, 99-118. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.06.024>
- Okparanma, R., Araka, P., Ayotamuno, J., Mouazen, A. (2018) Towards enhancing sustainable reuse of pre-treated drill cuttings for construction purposes by near-infrared analysis: A review. *JCECT* **9**, 19-39. <https://doi.org/10.5897/JCECT2018.0482>

Onwosi, C.O., Igbokwe, V.C., Odimba, J. N., Eke, I. E., Nwankwoala, M.O., Iroh, I. N., Ezeogu, L.I. (2017) Composting technology in waste stabilization: On the methods challenges and future prospects. *J. Environ. Manage.* **190**, 140-157. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.12.051>

Ozaki, Y., Genkawa, T., Futami, Y. (2017) Near-Infrared Spectroscopy. U: Lindon, J., Tranter, G.E., Koppenaal, D. (ured.) *Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry*, Academic Press, Cambridge, Massachusetts, SAD, str. 40–49.

Palechor-Trochez, J. J., Ordoñez Santos , L.E., Villada-Castillo, H.S. (2018) Relationship between color and total organic carbon in compost. *Adv. Mater. Sci. Eng.* **2018**, 5474239, <https://doi.org/10.1155/2018/5474239>

Pan, I., Dam, B., Sen, S. K. (2012) Composting of common organic wastes using microbial inoculants. *3 Biotech.* **2**, 127–134. <https://doi.org/10.1007/s13205-011-0033-5>

Papale, M., Romano, I., Finore, I., Lo Giudice, A., Piccolo, A., Cangemi, S., Di Meo, V., Nicolaus, B.; Poli, A. (2021) Prokaryotic diversity of the composting thermophilic phase: The case of ground coffee compost. *Microorganisms* **9**, 218. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9020218>

Paradelo, R., Moldes, A. B., Barral, M. T. (2013) Evolution of organic matter during the mesophilic composting of lignocellulosic winery wastes. *J. Environ. Manage.* **116**, 18-26. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2012.12.001>

Partanen, P., Hultman, J., Paulin, L., Auvinen, P., Romantschuk, M. (2010) Bacterial diversity at different stages of the composting process. *BMC Microbiol.* **10**, 94. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-10-94>

Perra, M., Bacchetta, G., Muntoni, A., De Gioannis, G., Castangia, I., Rajha, H. N., Letizia Manca, M., Manconi, M. (2022) An outlook on modern and sustainable approaches to the management of grape pomace by integrating green processes, biotechnologies and advanced biomedical approaches. *JFF* **98**, 105276. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2022.105276>

Pinelo M., Rubilar M., Jerez M., Sineiro J., Núñez M. J. (2005) Effect of solvent, temperature, and solvent-to-solid ratio on the total phenolic content and antiradical activity of extracts from different components of grape pomace. *J. Agric. Food Chem.* **53**, 2111-2117. <https://doi.org/10.1021/jf0488110>

- Pirsaheb, M., Hossaini, H., Amini, J. (2019) An experimental study on the influence of zeolite on changes of pH and alkalinity in anaerobic treatment of compost leachate. *Environ. Technol. Innov.* **29**, 139–146. <https://doi.org/10.1002/tqem.21646>
- Raj, D., Antil R. S. (2011) Evaluation of maturity and stability parameters of composts prepared from agro-industrial wastes. *Bioresour. Technol.* **102**, 2868-2873. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.10.077>
- Rambo, M. K. D., Ferreira, M. M. C., de Melo, P. M., Santana Jurinior, C. C., Bertuol, D. A., Rambo, M. C. D. (2020) Prediction of quality parameters of food residues using NIR spectroscopy and PLS models based on proximate analysis. *Food Sci. Technol. Campinas* **40**, 444-450. <https://doi.org/10.1590/fst.02119>
- Rasapoor, M., Nasrabadi, T., Kamali, M., Hoveidi, H. (2009) The effects of aeration rate on generated compost quality, using aerated static pile method. *Waste Manage.* **29**, 570-573. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2008.04.012>
- Rashwan, M. A., Alkoaik, F. N., Abdel-Razzak Saleh, H., Blaqueza Fulleros, R., Nagy Ibrahim, M. (2021) Maturity and stability assessment of composted tomato residues and chicken manure using a rotary drum bioreactor. *J. Air Waste Manag. Assoc.* **71**, 529-539. <https://doi.org/10.1080/10962247.2020.1859416>
- Rastogi, M., Nandal, M., Khosla, B. (2020) Microbes as vital additives for solid waste composting. *Heliyon* **6**, e03343. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03343>
- Reich, G. (2005) Near-infrared spectroscopy and imaging: Basic principles and pharmaceutical applications. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **57**, 1109–1143. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2005.01.020>
- Richard, T. L., Hamelers, H.V.M. (Bert), Veeken, A., Silva, T. (2013) Moisture relationships in composting processes. *Compost Sci. Util.* **10**, 286-302. <https://doi.org/10.1080/1065657X.2002.10702093>
- Ríos-Reina, R., Azcarate, S. M. (2023) How chemometrics revives the UV-Vis spectroscopy applications as an analytical sensor for spectralprint (nontargeted) analysis. *Chemosensors* **11**, 8. <https://doi.org/10.3390/chemosensors11010008>

- Rueda, M., Comino, F., Aranda, V., José Ayora-Cañada, M., Domínguez-Vidal, A. (2023) Understanding the compositional changes of organic matter in torrefied olive mill pomace compost using infrared spectroscopy and chemometrics. *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* **293**, 122450. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2023.122450>
- Sayara, T., Basheer-Salimia, R., Hawamde, F., Sánchez, A. (2020) Recycling of organic wastes through composting: Process performance and compost application in agriculture. *Agron.* **10**, 1838. <https://doi.org/10.3390/agronomy10111838>
- Schwanninger M., Rodrigues J. C., Fackler K. (2011) A review of band assignments in near infrared spectra of wood and wood components. *J. Near Infrared Spectrosc.* **19**, 287-308. <https://doi.org/10.1255/jnirs.955>
- Shah, G. M., Tufail, N., Bakhat, H. F., Imran, M., Murtaza, B., Farooq, A. B. U., Saeed, F., Waqar, A., Rashid Imtiaz, M. (2017) Anaerobic degradation of municipal organic waste among others composting techniques improves N cycling through waste-soil-plant continuum. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* **17**, 529-542. <http://doi.org/10.4067/S0718-95162017005000038>
- Sokač, T., Šalić, A., Kučič Grgić, D., Šabić Runjavec, M., Vidaković, M., Jurinjak Tušek, A., Horvat, Đ., Juras Krnjak, J., Vuković Domanovac, M., Zelić, B. (2021) An enhanced composting process with bioaugmentation: Mathematical modelling and process optimization. *Waste Manag Res.* **40**, 745-753. <https://doi.org/10.1177/0734242X211033712>
- Sokač, T., Valinger, D., Benković, M., Jurina, T., Gajdoš Kljusurić, J., Radojčić Redovniković, I.; Jurinjak Tušek, A. (2022) Application of optimization and modeling for the enhancement of composting processes. *Processes* **10**, 229. <https://doi.org/10.3390/pr10020229>
- Spinei, M. Oroian, M. (2021) The potential of grape pomace varieties as a dietary source of pectic substances. *Foods* **10**, 867. <https://doi.org/10.3390/foods10040867>
- Spoann, V., Fujiwara, T., Seng, B., Lay, C. (2018) Municipal solid waste management: Constraints and opportunities to improve capacity of local government authorities of Phnom Penh Capital. *Waste Manage.* **36**, 985–992. <https://doi.org/10.1177/0734242X18785722>

- Subhash Kumar, M., Rajiv, P., Rajeshwari, S., Venckatesh, R. (2015) Spectroscopic analysis of vermicompost for determination of nutritional quality. *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* **135**, 252–255. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2014.07.011>
- Sundberg, C., Yu, D., Franke-Whittle, I., Kauppi, S., Smårs, S., Insam, H., Romantschuk, M., Jönsson, H. (2013) Effects of pH and microbial composition on odour in food waste composting. *Waste Manage.* **33**, 204–211. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2012.09.017>
- Tang, J.-C., Shibata, A., Zhou, Q., Katayama, A. (2007) Effect of temperature on reaction rate and microbial community in composting of cattle manure with rice straw. *J. Biosci. Bioeng.* **104**, 321-328. <https://doi.org/10.1263/jbb.104.321>
- Toscano, G., Rinnan, Å., Pizzi, A., Mancini, M. (2017) The use of near-infrared (NIR) spectroscopy and principal component analysis (PCA) to discriminate bark and wood of the most common species of the pellet sector. *Energ. Fuel.* **31**, 2814-2821. <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.6b02421>
- Ueno, M., Taira, E., Kawamitsu, Y., Komiya, Y., Kikuchi, K. (2008) Application of FT-NIR spectroscopy to the evaluation of compost quality. *Eng. Agric. Environ.* **1**, 51-56. [https://doi.org/10.1016/S1881-8366\(08\)80002-X](https://doi.org/10.1016/S1881-8366(08)80002-X)
- Ugak, M., Yaser, A. Z., Lamaming, J., Subin, E. K., Rajin, M., Saalah, S., Wong Hock Tze, F., Abang, S. (2022) Comparative study on passive aerated in-vessel composting of food wastes with the addition of Sabah ragi. *Carbon Resour. Convers.* **5**, 200-210. <https://doi.org/10.1016/j.crcon.2022.05.004>
- Valinger, D., Kušen, M., Benković, M., Jurina, T., Panić, M., Radojčić Redovniković, I., Gajdoš Kljusurić, J., Jurinjak Tušek, A. (2022) Enhancement of the green extraction of bioactive molecules from *Olea europaea* leaves. *Separations* **9**, 33. <https://doi.org/10.3390/separations9020033>
- Valinger, D., Kušen, M., Jurinjak Tušek, A., Panić, M., Jurina, T., Benković, M., Radojčić Redovniković, I., Gajdoš Kljusurić, J. (2018) Development of near infrared spectroscopy models for quantitative prediction of the content of bioactive compounds in olive leaves. *Chem. Biochem. Eng. Q.* **32**, 535-543. <https://doi.org/10.15255/CABEQ.2018.1396>



- Valinger, D., Longin, L., Grbeš, F., Benković, M., Jurina, T., Gajdoš Kljusurić, J., Jurinjak Tušek, A. (2021) Detection of honey adulteration – The potential of UV-VIS and NIR spectroscopy coupled with multivariate analysis. *LWT-food Sci. Technol.* **145**, 111316. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111316>
- Vamanu, E., Gatea, F., Pelinescu, D. R. (2020) Bioavailability and bioactivities of polyphenols eco extracts from coffee grounds after in vitro digestion. *Foods* **9**, 1281. <https://doi.org/10.3390/foods9091281>
- Vilela, R. N. da S., Orrico, A. C. A., Orrico Junior, M.A.P., Aspilcueta Borquis, R. R., Tomazi, M., Oliveira, J. D. de, Ávila, M. R. de, Santos, F. T. dos, Leite, B. K. V. (2022) Effects of aeration and season on the composting of slaughterhouse waste. *Environ. Technol. Innov.* **27**, 102505. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2022.102505>
- Villena Gonzales, W., Mobashsher A. T. , Abbosh A. (2019) The progress of glucose monitoring- A review of invasive to minimally and non-invasive techniques, devices and sensors. *Sensors* **19**, 800. <https://doi.org/10.3390/s19040800>
- Waqas, M., Hawkesford, M., Geilfus, C. M. (2023) Feeding the world sustainably: efficient nitrogen use. *Trends Plant Sci.* **28**, 505-508. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2023.02.010>
- Waqas, M., Nizami, A. S., Aburiazaiza, A. S., Barakat, M. A., Ismaili, Ismail, I.M.I. (2017) Optimization of food waste compost with the use of biochar. *J. Environ. Manage.* **216**, 70-81. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.06.015>
- Wu, S., He, M., Yang, M., Peng, B. (2022.) Near-infrared spectroscopic study of OH stretching modes in kaolinite and dickite. *Crystals* **12**, 907. <https://doi.org/10.3390/cryst12070907>
- Yang, H., Zhang, H., Qiu, H., Anning, D.K., Li, M., Wang, Y., Zhang, C. (2021) Effects of C/N ratio on lignocellulose degradation and enzyme activities in aerobic composting. *Sci. Hortic.* **7**, 482. <https://doi.org/10.3390/horticulturae7110482>
- Yeler, H., Nas, S. (2021) Optimization of extraction time and temperature for natural antioxidants of öküzgözü grape pomace using various solvent ratios. *Food Sci. Technol.* **41**, 127-135. <https://doi.org/10.1590/fst.38119>

Yu, H., Huang, G. H. (2009) Effects of sodium acetate as a pH control amendment on the composting of food waste. *Bioresour. Technol.* **100**, 2005–2011.  
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.10.007>

Zareef, M., Chen, Q., Hassan, M. M., Arslan, M., Hashim, M. M., Ahmad, W., Kutsanedzie, F. Y. H., Agyekum, A. A. (2020) An overview on the applications of typical non-linear algorithms coupled with NIR spectroscopy in food analysis. *Food Eng. Rev.* **12**, 173–190.  
<https://doi.org/10.1007/s12393-020-09210-7>

Zohoori, M., Ghani, A. (2017) Municipal solid waste management challenges and problems for cities in low-income and developing countries. *Int. J. Sci. Eng. Appl.* **6**, 39-48.  
<https://doi.org/10.7753/IJSEA0602.1002>

## Sažetak

### Primjena blisko infracrvene spektroskopije u analizi procesa kompostiranja pokožice grožđa

*Korina Krog*

U okviru ovog rada provedeno je istraživanje primjene NIR spektroskopije u analizi procesa kompostiranja pokožice grožđa. Suočavanje s problemom velike količine otpada koji se stvara na globalnoj razini dovodi nas do potrebe za razvijanjem procesa koji će nam omogućiti reduciranje nepotrebnog nakupljanja otpada, a jedan od takvih je kompostiranje. U ovom radu je provedeno je pet paralelnih eksperimenata sa različitim predtretmanima pokožice grožđa (pokožica grožđa bez predtretmana, usitnjena pokožicom grožđa bez predtretmana, pokožica grožđa ekstrahiranom na 40 °C kroz 90 min, usitnjena pokožicom grožđa ekstrahirana na 40 °C kroz 90 min i smjesa pokožice bez predtretmana i tretirane pokožice) kako bi se ispitaio utjecaj predtretmana na učinkovitost procesa kompostiranja. Provedbi procesa kompostiranja prethodila je analiza procesnih uvjeta (vrijeme ekstrakcije, temperatura ekstrakcije, omjer kruto/tekuće i brzina miješanje) na učinkovitost ekstrakcije biološki aktivnih molekula iz pokožice grožđa. Rezultati su pokazali da je najveća koncentracija polifenola od 8,24 mgGAE/g.s.tv. ekstrahirana klasičnom ekstrakcijom kruto/tekuće je pri slijedećim eksperimentalnim  $t = 75$  min,  $T = 80$  °C,  $S/L = 30$  g/L,  $rpm = 500$  l/min te da se povećana uspješnost ekstrakcije biološki aktivnih molekula iz pokožice grožđa postiže porastom udjela kruto/tekuće i temperature. Nadalje proces kompostiranja pokožice grožđa učinkovito je proveden u laboratorijskim reaktorima s pokožicom grožđa bez i sa predtretmanom, a učinkovitost procesa kompostiranja potvrđena je na temelju ukupne promjene komposta boje, porasta udjela vlage, smanjenja udjela organskih tvari i organskog ugljika, porasta pH vrijednosti, ukupnih otopljenih tvari, električne vodljivosti i broja mikroorganizama u kompostu. Tijekom provedbe procesa kompostiranja snimani su NIR spektri uzoraka komposta i uzoraka ekstrakata komposta sa ukupno 4 NIR instrumenta. Razvijeni modeli umjetnih neuronskih mreža za predviđanje fizikalno-kemijskih svojstva komposta na temelju ne procesiranih NIR spektra s viskom preciznošću ( $R^2_{\text{validacija}} > 0,75$ ) opisuju udio vlage, udio organske tvari, udio pepela, udio ugljika, ukupnu promjenu boje komposta, pH, TDS i ukupnu promjenu boje ekstrakta komposta, što upućuje za značajan potencijal primjene NIR spektroskopije u analizi procesa kompostiranja.

**Ključne riječi:** blisko infracrvena spektroskopija, kompostiranje, pokožica grožđa, kemometrija, modeli umjetnih neuronskih mreža

## Abstract

### Application of near infrared spectroscopy for analysis of grape skin composting process

*Korina Krog*

The use of NIR spectroscopy in the investigation of the grape skin composting process was investigated in this study. Faced with the problem of a big quantity of trash created on a worldwide scale, we need to design a technique that will allow us to decrease the wasteful buildup of waste, and composting is one of them. In this study, five independent experiments were carried out with different pretreatments of grape skins (grape skin without pretreatment, grounded grape skin without pretreatment, grape skin extracted at 40 °C for 90 minutes, grounded skin extracted at 40 °C for 90 minutes, and a mixture of skin without pretreatment and treated skin) to investigate the impact of pretreatment on the efficiency of the composting process. Prior to the composting process, the extraction process parameters of bioactive molecules (extraction time, extraction temperature, solid/liquid ratio, and mixing speed) were analyzed. The greatest polyphenol content extracted by conventional solid/liquid extraction was 8.24 mgGAE/g<sub>d.m.</sub> under the following experimental conditions:  $t = 75$  minutes,  $T = 80^{\circ}\text{C}$ ,  $S/L = 30$  g/L,  $rpm = 500$  l/min. Extraction efficiency can be enhanced by increasing the solid/liquid ratio and the extraction temperature. The composting of grape skins was successfully carried out in laboratory reactors with grape skins without and with prior treatment, and the effectiveness of the composting process was confirmed based on the total change in the color of the compost, the increase in moisture content, the decrease in organic substance and organic carbon content, the increase in pH value, total dissolved substances, electrical conductivity, and the number of microorganisms. During the composting process, the NIR spectra of compost samples and compost extract samples were acquired using a total of four NIR instruments. With high precision ( $R^2$  validation  $>0.75$ ), developed artificial neural network models for predicting compost physicochemical properties based on raw NIR spectra describe moisture content, organic matter content, ash content, carbon content, total compost color change, pH, TDS, and total color change of the compost extract what implies significant potential of NIR spectroscopy in composting process analysis.

**Keywords:** near infrared spectroscopy, composting process, grape skin, chemometrics, artificial neural network modelling