ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ

ΤΟΜΕΑΣ IV: ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΩΝ

Εργαστήριο Οργανικής Χημικής Τεχνολογίας

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Εξαγωγή φαινολικών ενώσεων από απόβλητα διφασικών ελαιοτριβείων

Δαβίδης Ιωσήφ

Επιβλέπων

Απόστολος Γ. Βλυσίδης

Καθηγητής Ε.Μ.Π.

Αθήνα, Σεπτέμβριος 2018

Αφιερωμένη στον πατέρα μου και την αδερφή μου

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο εργαστήριο Οργανικής & Περιβαλλοντικής Τεχνολογίας της σχολής Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείο. Θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές ευχαριστίες μου σε όλους εκείνους που συνέβαλλαν ουσιαστικά, άμεσα ή έμμεσα, στην ολοκλήρωση της παρούσας διπλωματικής εργασίας.

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον καθηγητή του Ε.Μ.Π κύριο Απόστολο Βλυσίδη, επιβλέποντα της διπλωματικής μου εργασίας, για την ευκαιρία που μου έδωσε να ασχοληθώ με ένα τόσο ενδιαφέρον θέμα. Η καθοδήγησή του καθ' όλη την εκπόνηση της διπλωματικής ήταν ιδιαίτερα χρήσιμη και ένα παράδειγμα προς μίμηση για οποιονδήποτε υπεύθυνο ακαδημαϊκό. Η παροιμιώδης εμπιστοσύνη την οποία επέδειξε προς το πρόσωπό μου αποτέλεσε για μένα πηγή έμπνευσης και εντατικοποίησης των προσπαθειών μου.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον μετάδιδακτορικό φοιτητή Ανέστη Βλυσίδη και τον υποψήφιο διδάκτορα του Ε.Μ.Π Κωνσταντίνο Τζάθα . Η άψογη συνεργασία μας καθώς και η συνεχής υποστήριξή τους ήταν καταλυτικής σημασίας για την εκπόνηση της παρούσας εργασίας. Τους ευχαριστώ για το σύνολο των γνώσεων που μου μετέδωσαν και το ειλικρινές ενδιαφέρον τους για την πρόοδο και τη βελτίωσή μου πάνω στο συγκεκριμένο θέμα. Οι λέξεις είναι φτωχές προκειμένου να εκφράσουν τις ευχαριστίες μου προς το πρόσωπό τους, μιας και ήταν πάντα διαθέσιμοι να μου προσφέρει τις γνώσεις, την επιστημονική τους εμπειρία και την βοήθειά τους.

Στη συνέχεια θα ήθελα να ευχαριστήσω όλη την ομάδα του εργαστηρίου Οργανικής & Περιβαλλοντικής Τεχνολογίας. Το υπέροχο κλίμα συνεργασίας που δημιούργησαν τόσο σε φιλικό όσο και σε επιστημονικό επίπεδο συντέλεσε στην ομαλή ολοκλήρωση της διπλωματικής μου εργασίας.

Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένειά μου και το κοντινό φιλικό μου περιβάλλον για την συμπαράστασή τους όλα αυτά τα χρόνια των σπουδών μου στο Ε.Μ.Π. .

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η βιομηχανία του ελαιόλαδου αποτελεί από τα αρχαία ακόμα χρόνια μια σημαντική βιομηχανία για τις χώρες της Μεσογείου. Η ελαιοπαραγωγή είναι άρρηκτα συνδεδεμένη ειδικότερα με την παράδοση και την ιστορία της Ελλάδας, η οποία σήμερα αποτελεί την τέταρτη μεγαλύτερη ελαιοπαραγωγό χώρα στον κόσμο, μετά από Ισπανία, Τυνησία και Ιταλία.

Κατά τη διαδικασία επεξεργασίας του ελαιόκαρπού για την παραγωγή ελαιόλαδου παράγονται μεγάλες ποσότητες παραπροϊόντων, τα οποία είναι επιβλαβή για το περιβάλλον. Ιδιαίτερα στις Μεσογειακές χώρες το πρόβλημα είναι ακόμα μεγαλύτερο δεδομένου ότι παράγονται μεγάλα ποσά αποβλήτων σε σύντομο χρονικό διάστημα κάθε χρόνο. Οι περιβαλλοντικές επιπτώσεις από τα απόβλητα των ελαιοτριβείων οφείλονται κυρίως στην χημική τους σύσταση και στο υψηλό οργανικό τους φορτίο. Τα απόβλητα αυτά είναι πλούσια σε φαινολικές ενώσεις, οι οποίες αποτελούν φυσικά αντιοξειδωτικά και παρουσιάζουν ευεργετικές ιδιότητες στην ανθρώπινη υγεία.

Ειδικότερα, σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η εφαρμογή μίας νέας μεθόδου εξαγωγής των φαινολικών ενώσεων από απόβλητο 2-φασικού ελαιοτριβείου η οποία περιλαμβάνει την οξίνιση και υδροθερμική εκχύλιση του αποβλήτου και πειραματικά επιτυγχάνεται ποσοστό εξαγωγής 90,8%. Επίσης γίνεται εφαρμογή παραγοντικού μοντέλου των τεσσάρων παραμέτρων (ποσότητα θειικού οξέος, αραίωση αποβλήτου, χρόνος εκχύλισης και θερμοκρασία) και εξετάζεται η προσαρμογή του στα πειραματικά δεδομένα. Επιπλέον πραγματοποιείται μελέτη της κινητικής της παραπάνω διεργασίας, καθώς και ποιοτική και ποσοτική ανάλυση του συμπυκνώματος των φαινολικών ενώσεων που προκύπτει. Τέλος ,ένα ακόμα αντικείμενο της εργασίας αποτελεί η παρουσίαση μίας ολοκληρωμένης και πρόσφατης βιβλιογραφικής ανασκόπησης σχετικά με άλλες μελέτες που έχουν πραγμαποιηθεί πάνω στο ίδιο αντικείμενο ώστε να υπάρξει άμεση αξιολόγηση των αποτελεσμάτων.

ABSTRACT

The olive oil industry has been an important industry for the Mediterranean countries since ancient times. Olive oil production is inseparably linked to the tradition and history of Greece, which is now the fourth largest producer in the world, after Spain, Tunisia and Italy.

During the process of olive fruits for the production of olive oil, large quantities of by-products are produced that are harmful to the environment. Particularly in the Mediterranean countries the problem is even greater as large amounts of waste are produced in a short period of time each year. The environmental impacts of olive mill waste are mainly due to their chemical composition and high organic load. These waste are rich in phenolic compounds, which are natural antioxidants and have beneficial properties in human health.

In particular, the purpose of this dissertation is to apply a new method of extracting phenolic compounds from 2-phase mill waste, which includes acidification and hydrothermal extraction of the waste and a 90.8% extract rate has been obtained experimentally. Also, a 4-parameter model (amount of sulfuric acid, waste dilution, extraction time and temperature) is applied and its adaptation to the experimental data is examined. In addition, a kinetic study of the above process is carried out as well as a qualitative and quantitative analysis of the condensation of the resulting phenolic compounds. Finally, another aspect of this dissertation is the conduction of a thorough literature review on similar studies that have been carried out on the same subject so that there is an immediate evaluation of the results.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Ενότητα **Σελίδα**

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ iv
ΠΕΡΙΛΗΨΗ v
ABSTRACT vi
Κατάλογος Πινάκων ix
Κατάλογος Γραφημάτων x
Κατάλογος Εικόνων xi
1.Θεωρητικό Μέρος 1
Εισαγωγή 1
1.1: Συλλογή ελιάς και παραγωγή ελαιόλαδου 5
1.1.2: Τύποι Ελαιοτριβείων 8
1.1.2.1: Παραδοσιακά συστήματα πίεσης 9
1.1.2.2: Φυγοκεντρικά συστήματα τριών φάσεων 10
1.1.2.3: Φυγοκεντρικά συστήματα δύο φάσεων 12
1.1.3 Θεσμικό πλαίσιο ελαιοπραγωγής 15
1.2: Χαρακτηριστικά Αποβλήτων Ελαιοτριβείων 18
1.2.1 Γενικά 18
1.2.2: Απόβλητα παραδοσιακών ελαιοτριβείων 18
1.2.3: Απόβλητα 3-φασικών ελαιοτριβείων 20
1.2.4: Απόβλητα 2-φασικών ελαιοτριβείων 21
1.3: Φαινολικά συστατικά και η σημασία τους 23
1.3.1 Φαινολικά συστατικά στο ελαιόλαδο 23
1.3.1.1 Ελευρωπαΐνη 24
1.3.1.2 Υδροξυτυροσόλη 31
1.3.1.3 Τυροσόλη 36
1.4: Μεθόδοι διαχωρισμού για ανάκτηση ουσιών υψηλής προστιθέμενης αξίας 38
1.4.1 Προσρόφηση 38
1.4.2 Κινητικά Μοντέλα 40
1.4.3 Folin-Ciocalteu 40
1.4.4 Προσδιορισμός COD 42
1.5: Βιβλιογραφική Ανασκόπηση 43
2. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ 46

2.1. Υλικά 46
2.1.1 Απόβλητο 2-φασικού ελαιοτριβείου 46
2.1.2 Ρητίνες προσρόφησης 46
2.1.3 Αντιδραστήρια 47
2.1.4 Συσκεύες 48
2.2 Πειραματική μεθοδολογία 49
2.3 Παραγοντικός Σχεδιασμός 51
2.4 Πειραματική διαδικασία απομάκρυνσης φαινολικών συστατικών με ρητίνες προσρόφησης 54
2.5 Πειράματα μελέτης κινητικής 54
2.6 Αναλύσεις 55
2.6.1 Προσδιορίσμός ολικού φαινολικού περιεχομένου (TPC)- Ανάλυση Folin-Ciocalteu 55
2.6.2 Προσδιορισμός COD 57
2.6.3 Ποσοτικοποίηση HPLC-DAD 58
2.6.4 Προσδιορισμός pH 58
3: Αποτελέσματα 59
3.1 Χαρακτηρισμός του αποβλήτου 59
3.2 Πειραματικά αποτελέσματα 2^4 59
3.3 Αποτελέσματα προσωμοίωσης πρώτου στατιστικού μοντέλου 61
3.4 Αποτελέσματα προσωμοίωσης δευτερού στατιστικού μοντέλου 63
3.5 Επικύρωση μοντέλου στις βέλτιστες συνθήκες 66
3.6 HPLC-DAD 66
3.7 Κινητική Εξαγωγής Φαινολικών Συστατικών 67
4. Συμπεράσματα 71
4.1 Προτάσεις Για Μελλοντική Εργασία 71
5. Βιβλιογραφία 73
5.1 Ξένη Βιβλιογραφία 73
5.2 Ελληνική Βιβλιογραφία 86

Κατάλογος Πινάκων

Πίνακας **Σελίδα**

Πίνακας 1: Καλλιεργούμενη έκταση και ετήσια παραγωγή ελαιόλαδου για τις υψηλότερες σε κατάταξη χώρες [Πηγή: internationaloliveoil.org] 3
Πίνακας 2: Χαρακτηριστικά αποβλήτων παραδοσιακού ελαιοτριβείου 19
Πίνακας 3: Χαρακτηριστικά αποβλήτων 3-φασικού ελαιοτριβείου 20
Πίνακας 4: Χαρακτηριστικά αποβλήτων 2-φασικού ελαιοτριβείου 22
Πίνακας 5: Βιβλιογραφική αναζήτηση μεθόδων ανάκτησης φαινολικών συστατικών από απόβλητα διαφασικού ελαιοτριβείου 44
Πίνακας 6: Αντιδραστήρια 47
Πίνακας 7: Συσκευές 48
Πίνακας 8: Ανάλυση 1^{ου} παραγοντικού σχεδιασμού 52
Πίνακας 9: Ελεγχός καλής προσαρμογής του 1^{ου} στατιστικού μοντέλου 52
Πίνακας 10: Ανάλυση 2ου παραγοντικού σχεδιασμού 53
Πίνακας 11: Ελεγχός καλής προσαρμογής του 2^{ου} στατιστικού μοντέλου 53
Πίνακας 12: Χαρακτηρισμός αποβλήτου 2-φασικού ελαιοτριβείου 59
Πίνακας 13: Πειραματικά αποτελέσματα 59
Πίνακας 14: Εκτίμηση παραμέτρων 1^{ου} στατιστικού μοντέλου 62
Πίνακας 15: Πειραματικά αποτελέσματα και αποτελέσματα μοντελοποίησης 62
Πίνακας 16: Πειραματικά αποτελέσματα και αποτελέσματα μοντελοποίησης 2^{ου} στατιστικού μοντέλου 64
Πίνακας 17: Εκτίμηση παραμέτρων 2ου στατιστικού μοντέλου για υδροξυτυροσόλη 64
Πίνακας 18: Εκτίμηση παραμέτρων 2ου στατιστικού μοντέλου για τυροσόλη 65
Πίνακας 19: Αποτελέσματα πειράματος στις βέλτιστες συνθήκες 66
Πίνακας 20: Μετρήσεις HPLC-DAD 66

Κατάλογος Γραφημάτων

Γράφημα **Σελίδα**

Γράφημα 1: Γραφική απεικόνιση της επιφάνειας του 1ου στατιστικού μοντέλου.....61
Γράφημα 2: Γραφική απεικόνιση της επιφάνειας του 2ου στατιστικύ μοντέλου.....65
Γράφημα 3: Γράφημα απορρόφησης φαινολικών συστατικών στη HPLC-DAD.....67
Γράφημα 4: Γράφημα ολικού φαινολικού περιεχομένου (g/kg ξηρής μάζας) σε συνάρτηση με το χρόνο.....68
Γράφημα 5: Γράφημα προσαρμογής σε μοντέλο κινητικής 1ης τάξης 68
Γράφημα 6: Γράφημα προσαρμογής σε μοντέλο κινητικής 2ης τάξης 69

Κατάλογος Εικόνων

Εικόνα **Σελίδα**

Εικόνα 1: Ελιά Μεγάρων, μεσόκαρπη με ωοειδές καρπό διπλής χρήσης, λαδοελιά και επιτραπέζια πράσινη ή μαύρη 1
Εικόνα 2: Ελαιώνας βιολογικού ελαιόλαδου, Ιερά Μονή Ευαγγελισμού της Θεοτόκου, Σκίαθος 3
Εικόνα 3: Συλλογή ελαιόκαρπου με πλαστικά κτένια 5
Εικόνα 4: Πλύσιμο ελαιόκαρπου 6
Εικόνα 5: Μάλαξη ελαιοζύμης 7
Εικόνα 6: Διαχωρισμός ελαιοζύμης με φυγοκεντρικό σύστημα 3-Φάσεων 7
Εικόνα 7: Παραλαβή του προς κατανάλωση ελαιόλαδου 8
Εικόνα 8: Παραδοσιακή μυλόπετρα για παραγωγή ελαιόλαδου 9
Εικόνα 9: Διάγραμμα ροής παραδοσιακού ελαιοτριβείου [Πηγή: prosodol.gr] 10
Εικόνα 10: Φυγοκεντρικός διαχωριστής 3-φάσεων [Πηγή: Alessandro Leone, et al., 2015] 11
Εικόνα 11: Διάγραμμα ροής ελαιοτριβείου με φυγοκεντρικό διαχωριστή 3-φάσεων. 12
Εικόνα 12: Φυγοκεντρικός διαχωριστής 2-φάσεων [Πηγή: Alessandro Leone, et al., 2015] 13
Εικόνα 13: Διάγραμμα ροής ελαιοτριβείου με φυγοκεντρικό διαχωριστή 2-φάσεων [Πηγή: prosodol.gr] 14
Εικόνα 14: Χημικός τύπος της ελευρωπαΐνης 25
Εικόνα 15: Χημικός τύπος της υδροξυτυροσόλης 31
Εικόνα 16: Χημικός τύπος της τυροσόλης 37
Εικόνα 17: Απόβλητο 2-φασικού ελαιοτριβείου 46
Εικόνα 18: Ρητίνες προσρόφησης 47
Εικόνα 19: Αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu 48
Εικόνα 20: Πειραματική διάταξη της υδροθερμικής επεξεργασίας 49
Εικόνα 21: Φυγόκεντρος 50
Εικόνα 22: Η υδατική φάση μετά την διαδικασία της φυγοκέντρισης που περιέχει τα φαινολικά συστατικά 51
Εικόνα 23: Φωτόμετρο διπλής δέσμης HITACHI U-2000 56
Εικόνα 24: α) Χωνευτήρας COD HACH (αριστερά) β) Φασματόμετρο HACH (δεξιά) 57
Εικόνα 25:Ηλεκτρονικό Πεχάμετρο Inolab 58
Εικόνα 26: Δείγματα για τον προσδιορισμό της κινητικής για την απομάκρυνση των φαινολικών συστατικών 67

1.Θεωρητικό Μέρος

Εισαγωγή

Η ιστορία του ελαιόλαδου και της ελιάς είναι άρρηκτα συνδεδεμένες με την ιστορία της ανθρωπότητας. Αρχαιολογικά ευρήματα στη βόρεια ακτή του Ισραήλ παρείχαν σημαντικές πληροφορίες σχετικά για την παραγωγή του ελαιόλαδου από τους νεολιθικούς κατοίκους της περιοχής αυτής πριν από 7.000 έως 8.000 χρόνια. Υπάρχουν ακόμα στοιχεία για καλλιέργεια ελαιόδεντρων και παραγωγή ελαιόλαδου στην Ελλάδα που χρονολογούνται πριν από 3.500 χρόνια, κάτι που μας αποδεικνύει ότι η καλλιέργεια της ελιάς ήταν αρκετά διαδεδομένη στη λεκάνη της Μεσογείου. Αξίζει να σημειωθεί ότι τα προϊόντα της ελιάς πέρα από ότι αποτελούσαν βασικό είδος της διατροφής των αρχαίων πληθυσμών, ένα μεγάλο μέρος αυτών τα χρησιμοποιούσαν και ως μέσο συναλλαγής κατά την περίοδο 3.000-1.100 π.Χ. (Loumou & Giourga,, 2003 ; Azbar et al., 2004).

Εικόνα 1: Ελιά Μεγάρων, μεσόκαρπη με ωοειδές καρπό διπλής χρήσης, λαδοελιά και επιτραπέζια πράσινη ή μαύρη

Το δέντρο της ελιάς ανήκει στην κατηγορία των αειθαλών δέντρων και φτάνει τα 3 έως 5 μέτρα ύψος κατά μέσο όρο. Η καλλιέργεια της ελιάς απαιτεί σημαντικό χρονικό

διάστημα καθώς για την πρώτη σημαντική συγκομιδή του ελαιόκαρπου απαιτούνται από 8 έως 10 χρόνια από την φύτευση των δενδρυλλίων. Ιδιαίτερο χαρακτηριστικό των δέντρων αποτελούν τα μικρά λευκά άνθη τους τον Μάιο καθώς και τα μικρά φύλλα με το ανοιχτό πράσινο χρώμα στο επάνω μέρος τους και το ασημί στο κάτω. Ο καρπός της ελιάς ωριμάζει την περίοδο του φθινοπώρου, όπου τον Οκτώβριο συλλέγονται οι ελιές που προορίζονται για βρώση, ενώ στη συνέχεια σκουραίνει το χρώμα του καρπού μέχρι το τέλος Νοεμβρίου όπου συλλέγεται για την παραγωγή ελαιόλαδου. Η απόδοση του δέντρου σε καρπό επηρεάζεται σημαντικά από έναν διετή κύκλο όπου το δέντρο τον ένα χρόνο φύεται και τον επόμενο δίνει περισσότερο καρπό. Ως εκ τούτου, επιτυγχάνεται μεγαλύτερη ποσότητα παραγωγής ελαιόλαδου κάθε δύο χρόνια. Μετά από αρκετές μελέτες οι ειδικοί έχουν καταλήξει στο συμπέρασμα ότι αυτή η παρατυπία στην παραγωγή του καρπού οφείλεται κυρίως σε βιολογικούς παράγοντες και σε πολύ μικρό βαθμό σε κλιματολογικές συνθήκες, ειδικότερα στις περιοχές της Μεσογείου (Azbar et al., 2004).

Σήμερα παγκοσμίως καλλιεργούνται περίπου 750 εκατομμύρια ελαιόδεντρα, των οποίων η ετήσια παραγωγή ελαιόκαρπου ανά δέντρο κυμαίνεται από 15 έως 40 κιλά. Το 97% της παγκόσμιας παραγωγής ελαιόλαδου προέρχεται από τις Μεσογειακές χώρες. Η Ελλάδα βρίσκεται στην τέταρτη θέση της παγκόσμιας κατάταξης παραγωγής ελαιόλαδου για την περίοδο 2017-2018 με μερίδιο 9,32% στην παγκόσμια παραγωγή, κάτω από την Ισπανία, την Τυνησία και την Ιταλία ενώ βρίσκεται πάνω από την Τουρκία. Οι χώρες αυτές αντιπροσωπεύουν το 80% της παγκόσμιας παραγωγής. Κατά τη περίοδο 2017-2018 παρήχθησαν περίπου 20 εκατομμύρια τόνοι ελαιόκαρπου, από τους οποίους το 12 % θα κατευθυνθεί για την παραγωγή επιτραπέζιας ελιάς και το υπόλοιπο 88% για την παραγωγή ελαιόλαδου [Πηγή: olivenews.gr]

Εικόνα 2: Ελαιώνας βιολογικού ελαιόλαδου, Ιερά Μονή Ευαγγελισμού της Θεοτόκου, Σκίαθος

Πίνακας 1: Καλλιεργούμενη έκταση και ετήσια παραγωγή ελαιόλαδου για τις υψηλότερες σε κατάταξη χώρες [Πηγή: internationaloliveoil.org]

Χώρα	**Έκταση-2017 (10^6 εκτάρια)**	**Παραγωγή 2016-2017 (10^6 τόνοι)**	**% 16/17 Συνολικής παραγωγής**	**Παραγωγή 2017-2018 (10^6 τόνοι)**	**% 17/18 Συνολικής παραγωγής**	**% Μεταβολή**
Ισπανία	2,623	1,285	47,49%	1,2	42,45%	-7,08%
Τυνησία	1,87	0,1	3,72 %	0,29	10,26 %	65,52 %
Ιταλία	1,23	0,183	6,81 %	0,28	9,90 %	34,64 %
Ελλάδα	1,125	0,180	6,69 %	0,265	9,37 %	32,08 %
Τουρκία	0,826	0,22	8,18 %	0,2	7,07 %	- 10,0 %
Συνολική παραγωγή	11,425	2,689	100 %	2,827	100%	4,89 %

Οι ευεργετικές επιδράσεις του ελαιόλαδου στην υγεία του ανθρώπου έχουν αναγνωριστεί και τεκμηριωθεί από πληθώρα μελετών, κάτι που έχει αναζωογονήσει το ενδιαφέρον για την ελαιοκαλλιέργεια. Την τελευταία δεκαετία αγροτικές περιοχές έχουν μετατραπεί σε σύγχρονους εντατικούς ελαιώνες, με στόχο την μεγιστοποίηση της απόδοσης των ελαιόδεντρων με εφαρμογή συγχρόνων μεθόδων και μέσων (λιπάσματα, φυτοφάρμακα). Το αποτέλεσμα της εντατικοποίησης είναι η αύξηση κατά

περίπου 45% της παραγωγής ελαιόλαδου, με ταυτόχρονο αποτέλεσμα την αύξηση της παραγωγής αποβλήτων ελαιοτριβείων (Ναυροζίδης, 2008).

Για τις Μεσογειακές χώρες έχει υπολογιστεί ότι η ετήσια παραγωγή αποβλήτων υπερβαίνει τα 30 εκατομμύρια κυβικά μέτρα, τα οποία αν δεν επεξεργαστούν, αποτελούν μεγάλη περιβαλλοντική απειλή. Έτσι καθίσταται η επεξεργασία των αποβλήτων όλο και πιο επιτακτική και συνιστάται να ληφθεί μέριμνα για την ολοκληρωμένη επεξεργασίας τους με τεχνολογικά ολοκληρωμένες, οικονομικά βιώσιμες και κοινωνικά αποδεκτές μεθόδους ώστε να καθίστανται ασφαλή για να διατεθούν στους φυσικούς αποδέκτες (λίμνες, ποτάμια, θάλασσες, υπέδαφος, έδαφος) (Τζαγκαράκη, 2007 ; Erguder et al., 2000).

1.1: Συλλογή ελιάς και παραγωγή ελαιόλαδου

Η μέθοδος που ακολουθείται για την συλλογή των ελαιόκαρπων και την εξαγωγή του ελαιόλαδου έχει εξελιχθεί από την αρχαιότητα έως σήμερα με σκοπό την πιο γρήγορη και πιο αποτελεσματική συγκομιδή, ωστόσο αποτελείται από τα ίδια στάδια.

Συλλογή ελαιόκαρπών: Παραδοσιακά η συγκομιδή των ελαιόκαρπών γίνεται ως επί το πλείστων με δύο τρόπους:

- Με το χέρι ή με χρήση πλαστικών κτενιών: Δίνει ανώτερη ποιότητα λαδιού, καθώς αποφεύγεται ο κίνδυνος τραυματισμού του καρπού και του δέντρου, έτσι εξασφαλίζεται η καθαρότητα του καρπού από φύλλα και χώμα.
- Με ραβδισμό: Αποτελεί παραδοσιακό τρόπο συλλογής από αρχαιοτάτων χρόνων για τη χώρα μας. Απαιτείται στρώσιμο ελαιόπανων γύρω από τις ρίζες των δέντρων και με την χρήση ευλύγιστων ραβδιών χτυπιούνται οι κλάδοι των δέντρων μέχρι να πέσει ο καρπός. Η τεχνική είναι ιδιαίτερα οικονομική έχει όμως σαν μειονέκτημα τον σοβαρό τραυματισμό του καρπού και των δέντρων που έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση του κινδύνου μολύνσεων από βακτήρια και μύκητες, ενώ το παραγόμενο ελαιόλαδο είναι αυξημένης οξύτητας και σχετικά χαμηλής ποιότητας (Τσαμανδούρας, Ν. & Ρεβενιώτης Δ., 2006).

Εικόνα 3: Συλλογή ελαιόκαρπου με πλαστικά κτένια

Το πλύσιμο των ελαιόκαρπων: ο ελαιόκαρπος τοποθετείται στη χοάνη παραλαβής και μεταφέρεται με χρήση ατέρμονα κοχλία ή μεταφορικής ταινίας στο

αποφυλλωτήριο, όπου πραγματοποιείται η απομάκρυνση των φύλλων και τυχόν άλλων ξένων σωμάτων και στη συνέχεια οδηγείται για πλύσιμο με σκοπό την απομάκρυνση του χώματος και της σκόνης.

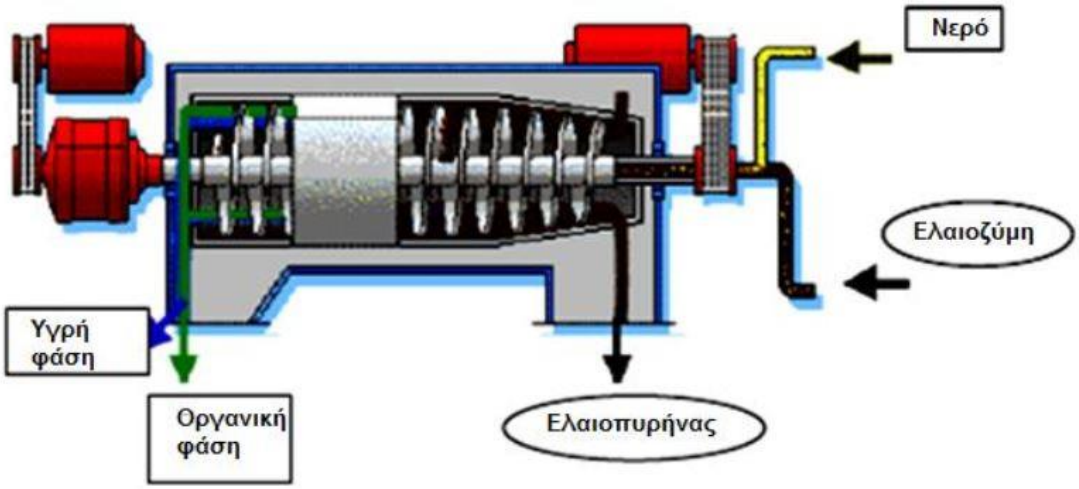
Εικόνα 4: Πλύσιμο ελαιόκαρπου

Σπάσιμο ελαιόκαρπων και δημιουργία ελαιοζύμης: Σε αυτό το στάδιο πραγματοποιείται η έκθλιψη του καρπού και ο σχηματισμός της ελαιοζύμης. Στα παραδοσιακά ελαιοτριβεία η άλεση του ελαιόκαρπου γίνεται με κυλινδρικές μυλόπετρες, ενώ στις πιο σύγχρονες μονάδες χρησιμοποιούνται μεταλλικοί σπαστήρες.

Μάλαξη ελαιοζύμης: Ανάμιξη της ελαιοζύμης σε μαλακτήρες για να επιτευχθεί η συνένωση των ελαιοσταγονιδίων σε μεγαλύτερες ελαιοσταγόνες.

Εικόνα 5: Μάλαξη ελαιοζύμης

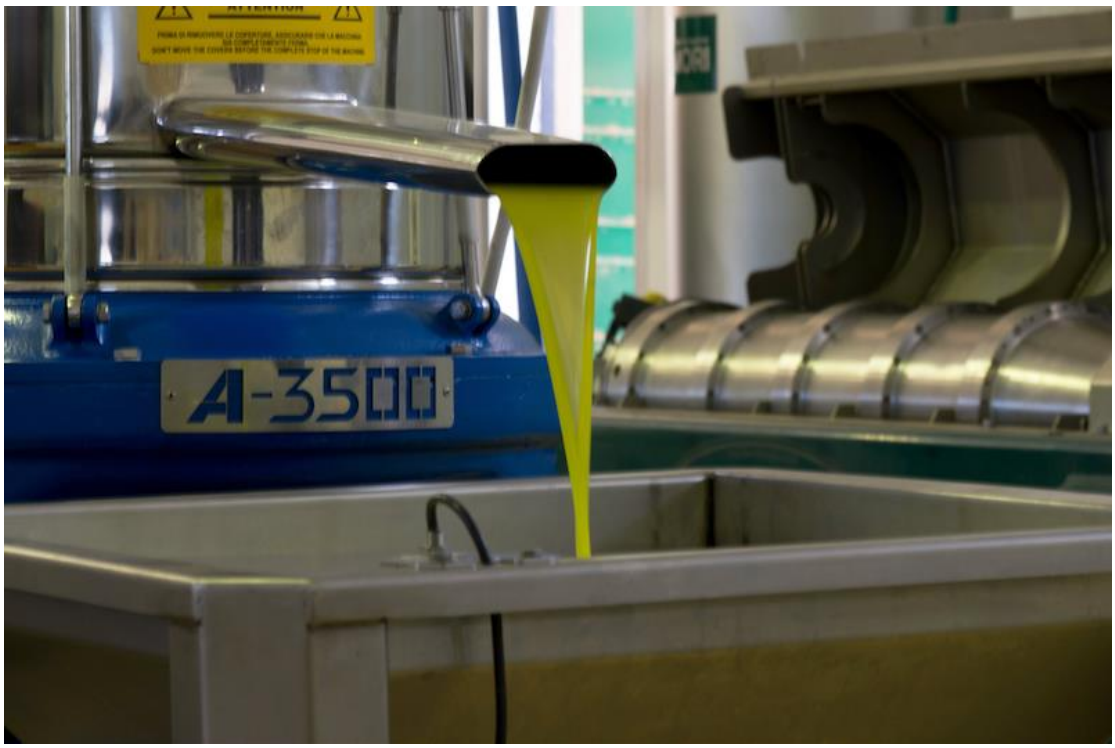
<u>Διαχωρισμός υγρών και στερεών συστατικών ελαιοζύμης:</u> Στα παραδοσιακά υδραυλικά πιεστήρια έχουμε την εξαγωγή σε πρώτη φάση ενός υγρού μίγματος νερού/λαδιού το οποίο κατευθύνεται για φυγοκέντριση ώστε να παραληφθεί το ελαιόλαδο. Στη μέθοδο 3-φάσεων η ελαιοζύμη τοποθετείται σε ένα τριφασικό διαχωριστήρα όπου διαχωρίζονται το ελαιόλαδου, ο ελαιοπυρήνας και τα απόνερα. Στη μέθοδο 2-φάσεων χρησιμοποιείται ένας διφασικός διαχωριστήρας με σκοπό τον διαχωρισμό του ελαιόλαδου από τον λασπώδη ελαιοπυρήνα (Τσαμανδούρας, Ν. & Ρεβενιώτης Δ. 2006).



Εικόνα 6: Διαχωρισμός ελαιοζύμης με φυγοκεντρικό σύστημα 3-Φάσεων

Παραλαβή του ελαιόλαδου και απόρριψη αποβλήτων.

Το ελαιόλαδο χωρίς καμία χημική επεξεργασία, είναι έτοιμο για χρήση αμέσως μετά την παραγωγή του, γι' αυτό χρειάζεται ιδιαίτερη φροντίδα.Ιδιαίτερα σημαντικές είναι οι συνθήκες καθαριότητας του ελαιοτριβείου, καθώς και οι θερμοκρασίες που είναι καθοριστικές για την ποιότητα και την διατήρηση των θρεπτικών και ποιοτικών χαρακτηριστικών του ελαιολάδου. Επίσης, οι δεξαμενές πρέπει να είναι ανοξείδωτες και να είναι εγκατεστημένες σε σκιερό χώρο, προκειμένου το ελαιόλαδο να μπορεί να φυλάσσεται με ασφάλεια για μεγάλο χρονικό διάστημα χωρίς να αλλοιωθεί ποιοτικά.



Εικόνα 7: Παραλαβή του προς κατανάλωση ελαιόλαδου

1.1.2: Τύποι Ελαιοτριβείων

Οι πιο ευρέως διαδεδομένες μέθοδοι παραγωγής ελαιόλαδου είναι αυτές της φυγοκέντρισης και η κλασσική παραδοσιακή μέθοδος της πίεσης. Τα 3-φασικά φυγοκεντρικά συστήματα και τα παραδοσιακά συστήματα πίεσης παράγουν υγρά και στερεά απόβλητα (ελαιοπυρήνα και κατσίγαρο), ενώ στα 2-φασικά συστήματα το απόβλητο που παράγεται είναι υγρή ελαιοπυρήνα.

1.1.2.1: Παραδοσιακά συστήματα πίεσης

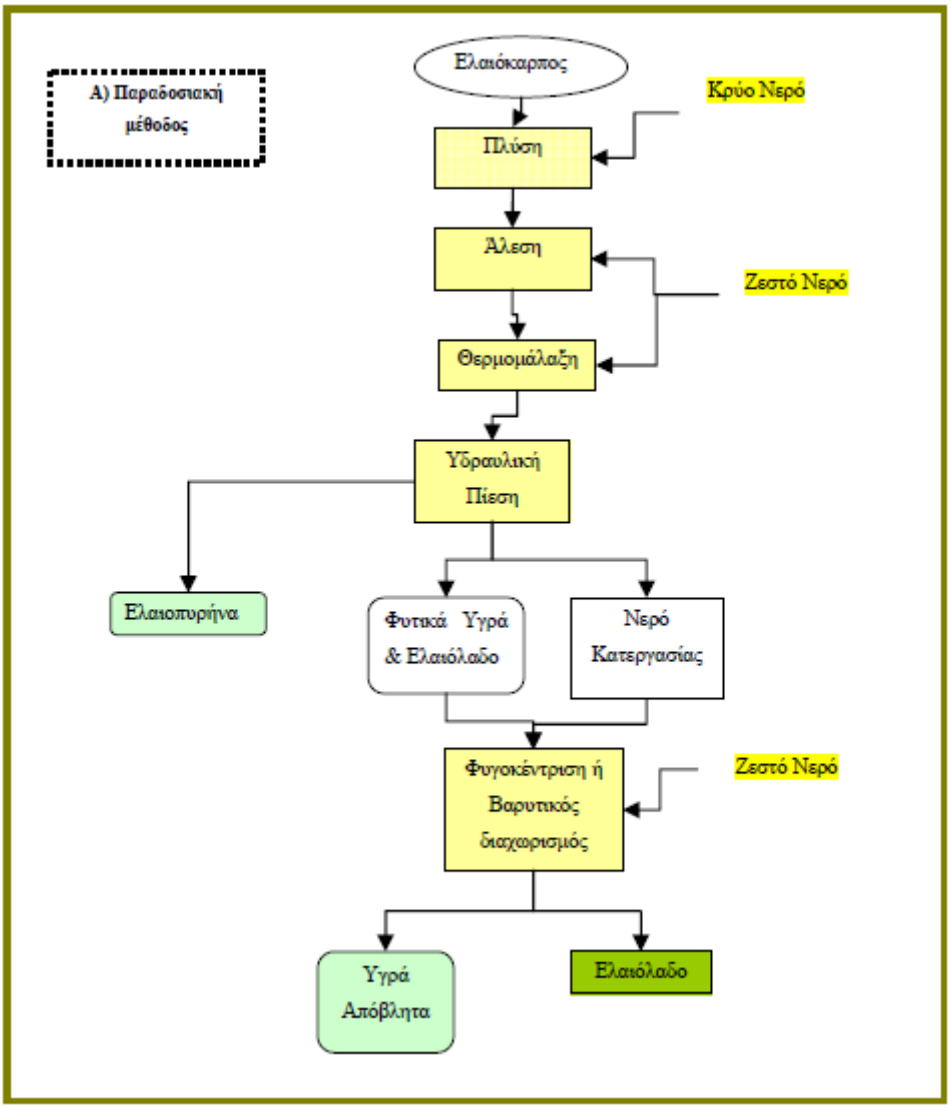
Αποτελεί μια ασυνεχής (Batch) διαδικασία επεξεργασίας ελαιόλαδου κατά την οποία παράγονται ελαιόλαδο, στερεά απόβλητα (ελαιοπυρήνας) και υγρά απόβλητα (κατσίγαρος). Ο καρπός υποβάλλεται σε υδραυλική πίεση που κυμαίνεται ανάμεσα στα 300-500 kg/cm^2 ανάλογα με τα χαρακτηριστικά του καρπού. Στη διαδικασία της συμπίεσης το παραγόμενο μίγμα νερού-ελαιόλαδου κυλάει προκειμένου να συλλεχθεί στο κέντρο των μύλων, με αυτό τον τρόπο επιτυγχάνεται ο διαχωρισμός από τα στερεά απόβλητα. Για τον διαχωρισμό του ελαιόλαδου από το μίγμα απαιτείται περαιτέρω επεξεργασία με την μέθοδο της καθίζησης και στη συνέχεια με φυγοκέντριση.

Στην Ελλάδα, τα παραδοσιακού τύπου ελαιοτριβεία αποτελούν περίπου το 20% του συνόλου των ελαιοτριβείων. Σημαντικό πλεονέκτημα της μεθόδου είναι η απαίτηση μικρών ποσοτήτων νερού στην ελαιοζύμη. Ωστόσο αν ο ελαιόκαρπος είναι πολύ ώριμος απαιτείται η προσθήκη μικρής ποσότητας νερού (3-5 l/100 kg καρπού) ώστε να διευκολύνεται ο διαχωρισμός της ελαιώδους φάσης κατά την διαδικασία παραγωγής του ελαιόλαδου.

Εικόνα 8: Παραδοσιακή μυλόπετρα για παραγωγή ελαιόλαδου

Ωστόσο η παραδοσιακή μέθοδος εξαγωγής του ελαιόλαδου μπορεί να χαρακτηριστεί η οικονομικότερη από πλευράς εξοπλισμού αλλά απαιτούνται εργατικά χέρια και μεγάλο κόστος συντήρησης, επιπλέον η ασυνεχής λειτουργεία της μεθόδου

αποτελεί μειονέκτημα για την σύγχρονη βιομηχανία. Στο παρακάτω διάγραμμα παρουσιάζεται συνοπτικά η παραδοσιακή μέθοδος εξαγωγής του ελαιόλαδου (Βολικάκη Χρυσή, 2008).



Εικόνα 9: Διάγραμμα ροής παραδοσιακού ελαιοτριβείου [Πηγή: prosodol.gr]

1.1.2.2: Φυγοκεντρικά συστήματα τριών φάσεων

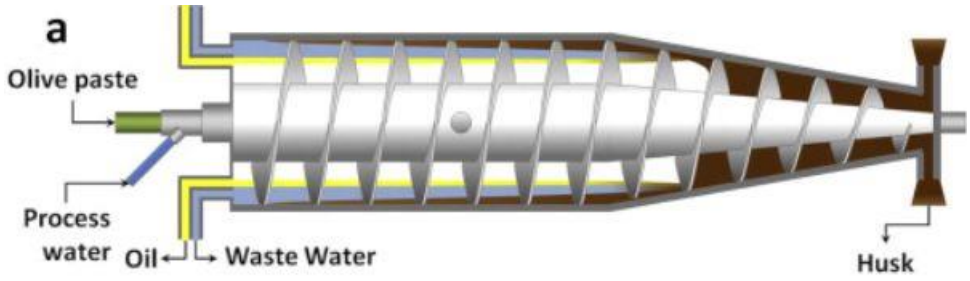
Από την δεκαετία του 1960-1970, άρχισε σταδιακά η αντικατάσταση της παραδοσιακής μεθόδου με την 3-φασική διαδικασία που χρησιμοποιείται ευρέως σήμερα, κλειδί της μεθόδου αποτελεί η διαφορά του ειδικού βάρος ανάμεσα στο λάδι και το νερό. Ένα τυπικό 3-φασικό ελαιοτριβείο αποτελείται από μια σειρά φυγοκεντρικών διαχωριστών οριζόντιού άξονα (decanter), όπου εισάγονται οι

αλεσμένοι ελαιόκαρποί προκειμένου να διαχωριστούν τα διάφορα κλάσματα. Η απόδοση των οριζόντιων φυγοκεντρικών διαχωριστών έχει άμεση σχέση με την παραγωγική ικανότητα του ελαιοτριβείου.

Ένας τυπικός φυγοκεντρικός διαχωριστής ελαιοζύμης αποτελείται από:

- Οριζόντιο άξονα περιστροφής και οριζόντιο τύμπανο
- Εξωθητικό κοχλία με φορά περιστροφής ίδια με του τύμπανου ώστε να μετατοπίζονται συνεχώς οι στερεές ύλες προς τα άκρα του τυμπάνου.

Ο φυγοκεντρικός διαχωριστής διαχωρίζει την ελαιοζύμη σε τρεις φάσεις, το ελαιόλαδο, τα φυτικά υγρά-νερά και την ελαιοπυρήνα. Το σύστημα είναι συνεχούς λειτουργίας και η ελαιοπυρήνα απομακρύνεται συνεχώς με την χρήση κοχλιών μεταφοράς.

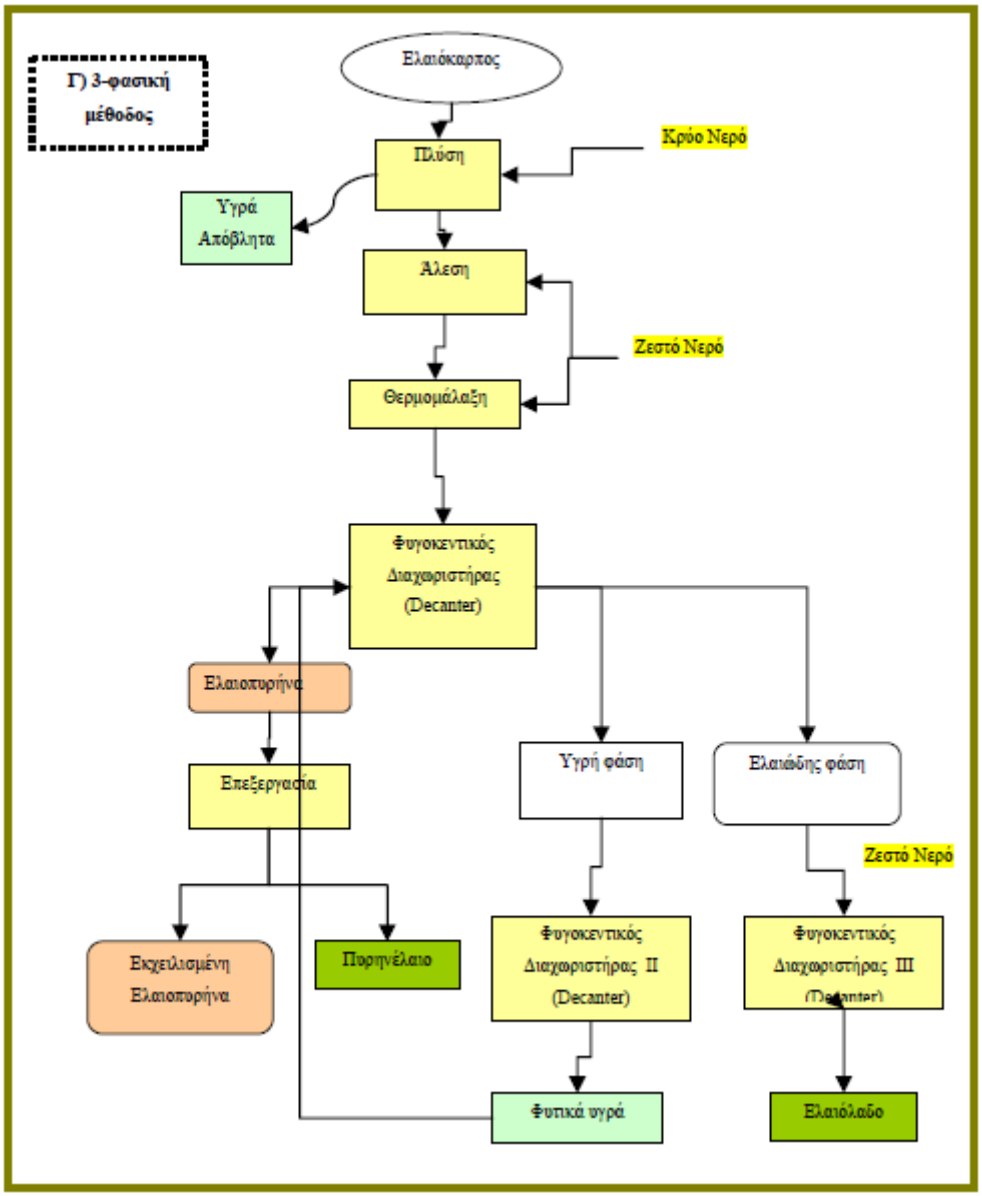


Εικόνα 10: Φυγοκεντρικός διαχωριστής 3-φάσεων [Πηγή: Alessandro Leone, et al., 2015]

Η ελαιοπυρήνα περιέχει περίπου 12% λάδι, κάτι που την καθιστά αξιοποιήσιμο παραπροϊόν. Έτσι οδηγείται στα πυρηνελαιουργεία προκειμένου με την μέθοδο της εκχύλισης να ληφθεί το πυρηνέλαιο και το κατάλοιπο της διεργασίας πυρηνόξυλο που βρίσκει εμπορική εφαρμογή ως καύσιμη ύλη σε λέβητες θέρμανσης.

Κατά την διάρκεια των προηγούμενων δεκαετιών έχουν γίνει διάφορες προσπάθειες για ανακύκλωση των παραγόμενων φυτικών υγρών που προέρχονται από τις διαδικασίες πλύσης του καρπού και του εξοπλισμού του ελαιοτριβείου κατά την διάρκεια της παραγωγής, παρόλα αυτά δεν βρήκε εφαρμογή καθώς αποδείχθηκε ότι η οξειδωτική φύση των φυτικών υγρών επηρεάζει σε μεγάλο βαθμό την ποιότητα του παραγόμενου ελαιόλαδου. Επιπλέον αξίζει να σημειωθεί ότι με την χρήση της 3-φασικής μεθόδου καταλήγουν στα υγρά απόβλητα πολύτιμα συστατικά του ελαιόκαρπου (φυσικά αντιοξειδωτικά).

Στο σχήμα που ακολουθεί παρουσιάζεται συνοπτικά η διαδικασία που πραγματοποιείται για την εξαγωγή του ελαιόλαδου με χρήση 3-φασικών φυγοκεντρικών διαχωριστών (Βολικάκη Χρυσή, 2008).



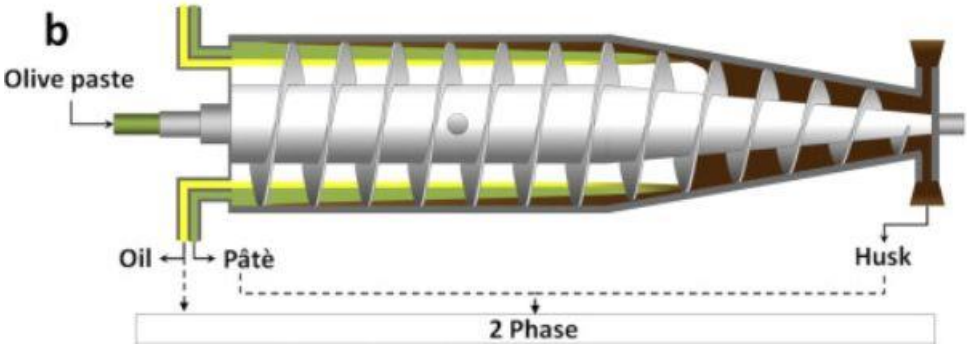
Εικόνα 11: Διάγραμμα ροής ελαιοτριβείου με φυγοκεντρικό διαχωριστή 3-φάσεων

[Πηγή: prosodol.gr]

1.1.2.3: Φυγοκεντρικά συστήματα δύο φάσεων

Τα φυγοκεντρικά συστήματα 2-φάσεων αποτελούν την πιο πρόσφατη εξέλιξη στην διαδικασία παραγωγής ελαιόλαδου καθώς πρωτοεμφανίστηκαν την δεκαετία του 1990-2000 από την εταιρεία Westfalia Separator A.G. Ένα σημαντικό πλεονέκτημα των 2-

φασικών φυγοκεντρικών συστημάτων είναι ότι δεν απαιτείται ποσότητα νερού για αραίωση της ελαιοζύμης προκειμένου να διαχωριστεί σε δύο μέρη. Στην διαδικασία της φυγοκέντρισης τα τελικά προϊόντα είναι το ελαιόλαδο και ο ελαιοπυρήνας στον οποίο ενσωματώνονται τα απόνερα, ωστόσο το πρόβλημα διαχείρισης των αποβλήτων μετατοπίζεται από τα υγρά στα στερεά απόβλητα. Έχει υπολογιστεί ότι για κάθε 1000 κιλά επεξεργασμένου καρπού παράγονται 800 κιλά υγρής ελαιοπυρήνας. Σοβαρό όμως μειονέκτημα της μεθόδου είναι ότι η ελαιοπυρήνα που προκύπτει (alperujo) έχει υψηλά ποσοστά υγρασίας κάτι που την καθιστά δύσκολη στη μεταφορά της και την περαιτέρω επεξεργασία της. Επιπλέον, έχει αργό ρυθμό ξήρανσης και υψηλό ρυπαντικό φορτίο.



Εικόνα 12: Φυγοκεντρικός διαχωριστής 2-φάσεων [Πηγή: Alessandro Leone, et al., 2015]

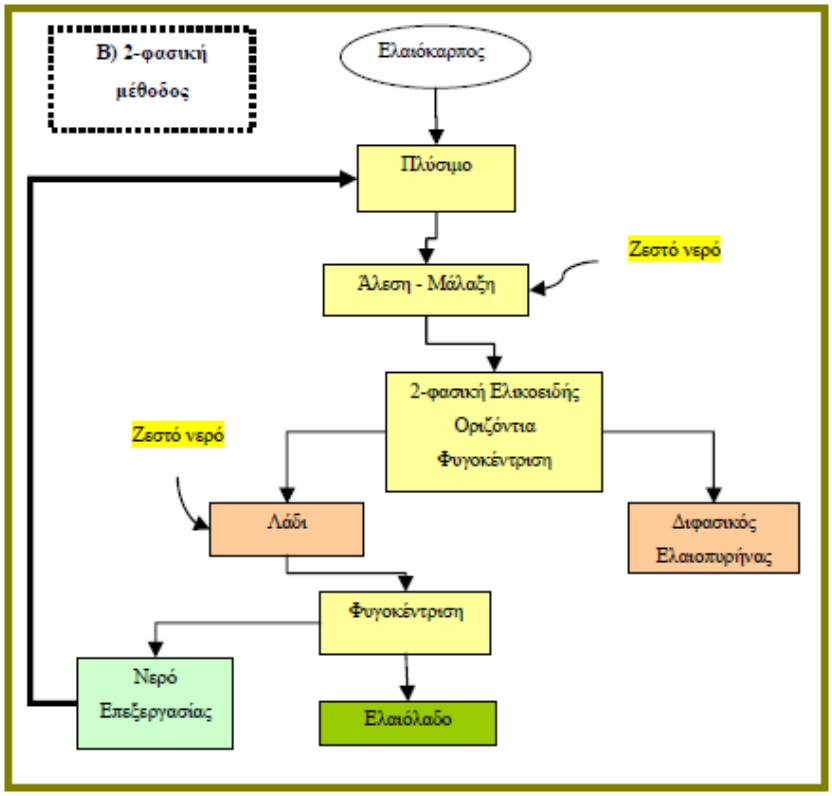
Συγκριτικά, τα 2-φασικά συστήματα επεξεργασίας παρουσιάζουν τα εξής πλεονεκτήματα σε σχέση με τα 3-φασικά συστήματα:

- Το ελαιόλαδο που παράγεται στα 2-φασικά ελαιοτριβεία είναι καλύτερης ποιότητας, έχει υψηλότερη οξειδωτική σταθερότητα και καλύτερα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά.
- Σημαντικά μειωμένο λειτουργικό κόστος καθώς δεν απαιτείται η προσθήκη ποσότητας νερού στην ελαιοζύμη.
- Στα 3-φασικά συστήματα επεξεργασίας πριν την διαδικασία του δεύτερου διαχωρισμού(φυγοκεντριση) απαιτείται η ανάμιξη ελαιόλαδου και φυτικών υγρών, όμως τα πτητικά συστατικά που περιέχονται στα φυτικά υγρά δύναται να δημιουργήσουν ένα κολλώδες ίζημα στον decanter.
- Η διαδικασία κατασκευής του 2-φασικού decanter είναι λιγότερο περίπλοκη, καθιστώντας το πιο αξιόπιστο και οικονομικότερο από τον 3-φασικό (Βολικάκη Χρυσή, 2008).

Παρόλα αυτά, τα 2-φασικά συστήματα παρουσιάζουν και κάποια μειονεκτήματα, τα κυριότερα είναι:

Η περαιτέρω επεξεργασία της υγρής ελαιοπυρήνας καθώς και η εξαγωγή του ελαιόλαδου που περιέχεται σε αυτή είναι

- αρκετά δαπανηρές σε ενέργεια και κόστος διαδικασίες.
- Η υγρή ελαιοπυρήνα έχει διαπιστωθεί ότι πρόκειται για απόβλητο με υψηλό COD, πλούσια σε λίπη, υψηλό δείκτη θολότητας, πλούσια σε φαινόλες και ξηρό περιεχόμενο.
- Σημαντικό μειονέκτημα αποτελεί το ποσοστό της υγρασίας της ελαιοπυρήνας που κυμαίνεται από 55-70%, ενώ το στερεό υπόλειμμα από τα 3- φασικά και παραδοσιακά πιεστήρια είναι σε ποσοστό 40-45% και 20-25% αντίστοιχα. Αυτή η ιδιαιτερότητα τα καθιστά ασταθή στον χειρισμό, την μεταφορά και την αποθήκευσή τους (Alburquerque, J.A., Gonzálvez, J., García, D., Cegarra, J., 2004).



Εικόνα 13: Διάγραμμα ροής ελαιοτριβείου με φυγοκεντρικό διαχωριστή 2-φάσεων [Πηγή: prosodol.gr]

1.1.3 Θεσμικό πλαίσιο ελαιοπραγωγής

Το θεσμικό πλαίσιο που διέπει την ελαιοπαραγωγή στην Ελλάδα αποτελείται από μια σειρά οδηγιών και υπουργικών αποφάσεων, οι οποίες καθορίζουν αυστηρά τις προδιαγραφές, την παραγωγή, τη διακίνηση, την αποθήκευση, την διασφάλιση της ποιότητας, τον ανταγωνισμό, την τιμολογιακή πολιτική, τις εξαγωγές σε τρίτες χώρες, τις εισαγωγές από αυτές και τις συνθήκες της εγχώριας αγοράς ελαιοπαραγωγής γενικότερα.

Αυτές οι Οδηγίες και Υπουργικές Αποφάσεις παρουσιάζονται στη συνέχεια με χρονολογική σειρά.

Κανονισμός (ΕΚ) 1019/2002: προδιαγραφές εμπορίας ελαιολάδου.

Κανονισμός (ΕΚ) 510/2006: για την προστασία των γεωγραφικών ενδείξεων και των ονομασιών προέλευσης των γεωργικών προϊόντων και των τροφίμων.

Κανονισμός (ΕΚ) 552/2007: για τη θέσπιση του ανώτατου ποσού της κοινοτικής συμμετοχής στη χρηματοδότηση των προγραμμάτων εργασίας στον τομέα του ελαιόλαδου και για τον καθορισμό, για το 2007, των ανώτατων δημοσιονομικών ορίων για τη μερική ή προαιρετική εφαρμογή του καθεστώτος ενιαίας ενίσχυσης και της ετήσιας συνολικής χρηματοδότησης για το καθεστώς ενιαίας στρεμματικής ενίσχυσης, το οποίο προβλέπεται στο κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 1782/2003 του Συμβουλίου, καθώς και για την τροποποίηση του εν λόγω Συμβουλίου, καθώς και για την τροποποίηση του εν λόγω κανονισμού (ΕΕ L 131 της 23.5.2007).

Κανονισμός (ΕΚ) 445/2007: για ορισμένες λεπτομέρειες εφαρμογής του κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 2991/94 του Συμβουλίου για τον καθορισμό των κανόνων για λιπαρές ουσίες για επάλειψη και του κανονισμού (ΕΟΚ) αριθ. 1898/87 του Συμβουλίου σχετικά με την προστασία της ονομασίας του ελαίου και των ελαιοκομικών προϊόντων κατά τη διάθεσή τους στο εμπόριο (ΕΕ L 106 της 24.4.2007).

Κανονισμός (ΕΚ) 182/2009: τροποποίηση του κανονισμού 1019/2002 για τις προδιαγραφές εμπορίας του ελαιόλαδου

Υ.Α. Αγρ. Αν. & Τροφίμων Αρ.263343 249378/28-1-2010: «Ενημέρωση του

Συστήματος Γεωγραφικών Πληροφοριών του Ελαιοκομικού Τομέα».

Κ.Υ.Α. 262345/22.3.2010 για την εφαρμογή των μέτρων ειδικής στήριξης του άρθρου 68 Καν. 73/2009. (βλέπε: ειδική στήριξη για ελαιοκομικά προϊόντα ΠΟΠ ή ΠΓΕ στα πλαίσια της Ολοκληρωμένης Διαχείρισης κατά AGRO 2.1 και 2.2 ή της βιολογικής γεωργίας).

Υ.Α. Αγρ. Αν. & Τροφίμων Αρ.263343, ΦΕΚ 772, 4-6-2010: Λεπτομέρειες εφαρμογής του Μέτρου 1: Βελτίωση της ποιότητας ελαιοκομικών προϊόντων του άρθρου 4 της αριθ. 262345/22.3.2010 απόφασης «Συμπληρωματικά μέτρα εφαρμογής των μέτρων ειδικής στήριξης σε εκτέλεση του άρθρου 68 του Κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 73/2009 του Συμβουλίου και του Κανονισμού1120/2009 της Επιτροπής» (ΦΕΚ323Β΄).

Κανονισμός (ΕΚ) 61/2011: για την τροποποίηση του κανονισμού (ΕΟΚ) αριθ. 2568/91 σχετικά με τον προσδιορισμό των χαρακτηριστικών των ελαιόλαδων και των πυρηνέλαιων καθώς και με τις μεθόδους προσδιορισμού.

Για τη διαχείριση των αποβλήτων από την ελαιοπαραγωγή, ωστόσο, δεν υπάρχει συγκεκριμένο θεσμικό πλαίσιο στην Ελλάδα, σε αντίθεση με την Ιταλία όπου η νομοθεσία καθορίζει τους όρους για την επαναχρησιμοποίηση των υγρών και των στερεών αποβλήτων των ελαιοτριβείων. Στην Ελλάδα, ως βάση για τη διαχείριση των αποβλήτων των ελαιοτριβείων χρησιμοποιείται ο Νόμος 1650/86 «Για την προστασία του περιβάλλοντος». Σύμφωνα με τον νόμο αυτό, οι ιδιοκτήτες ελαιοτριβείων υποχρεούνται να εκπονήσουν Μελέτη Εκτίμησης Περιβαλλοντικού Κινδύνου για τις περιοχές που προβλέπεται να γίνει διάθεση των αποβλήτων (Ντούλα κ.α. 2012).

Σε γενικές γραμμές όμως, οι εκάστοτε δήμοι ρυθμίζουν αυτόνομα τη διαχείριση των αποβλήτων, με βάση την εμπειρία τους από τα προηγούμενα χρόνια ή με βάση τη συμμετοχή τους σε κάποιο περιβαλλοντικό πρόγραμμα (Stamatakis, 2010).

Όσον αναφορά τις άδειες λειτουργίας των ελαιοτριβείων ,χορηγούνται υπό την προϋπόθεση εφαρμογής κατάλληλων μεθόδων διαχείρισης των υγρών αποβλήτων ελαιοτριβείων (ΥΑΕ) , όπως είναι η διάθεση σε κατάλληλα διαμορφωμένες εξατμισοδεξαμενές, η προ-επεξεργασία με υδράσβεστο πριν τη διάθεση και ο κλασματικός διαχωρισμός μέσω φυσικής καθίζησης όπου λαμβάνει χώρα περαιτέρω διαχείριση του κάθε κλάσματος ξεχωριστά. Ωστόσο, δεν υπάρχει μια και μόνο μέθοδος η οποία μπορεί να εξασφαλίσει αποδοτική επεξεργασία των ΥΑΕ και με χαμηλό κόστος εφαρμογής για μια ελαιοπαραγωγική μονάδα, δεδομένης της γεωγραφικής

διασποράς των ελαιοτριβείων και του μικρού μεγέθους των εγκαταστάσεων (Paraskeva and Diamadopoulos, 2006).

Στην περιοχή της Κρήτης, μέχρι το 1987 τα υγρά απόβλητα ελαιοτριβείων διαθέτοντας ανεξέλεγκτα στο περιβάλλον. Συγκεκριμένα, περίπου το 80-90% της συνολικής παραγωγής των ΥΑΕ διαθέτονταν σε εφήμερους ποταμούς (Voreadou, 1994). Στη συνέχεια, οι τοπικές αρχές απαγόρευσαν την ανεξέλεγκτη διάθεση σε υδατικούς αποδέκτες και ανάγκασαν τους ιδιοκτήτες των ελαιοτριβείων να κατασκευάσουν μονάδες επεξεργασίας (ανάμιξη των ΥΑΕ με $Ca(OH)_2$, καθίζηση και απομάκρυνση των λιπαρών ουσιών) και εξατμισοδεξαμενές με χαμηλό κόστος κατασκευής, λειτουργίας και συντήρησης. Επιπλέον, θα πρέπει να τοποθετείται στον πυθμένα των εξατμισοδεξαμενών ένα συμπαγές αργιλικό στρώμα ώστε να αποφεύγεται πιθανή διαρροή των παραγόμενων εκχυλισμάτων. Μετά την εξάτμιση ο υπολειμματικός πολτός μπορεί να διατεθεί σε κατάλληλα διαμορφωμένους χώρους ταφής απορριμμάτων (Kapellakis et al., 2002; Kapellakis et al., 2006).

1.2: Χαρακτηριστικά Αποβλήτων Ελαιοτριβείων

1.2.1 Γενικά

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, άμεση συνέπεια της αύξησης στην παραγωγή του ελαιόλαδου έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση του όγκου των αποβλήτων και παραπροϊόντων που παράγονται κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας του ελαιόκαρπου. Η διαχείριση αυτών των υποπροϊόντων και αποβλήτων κρίνεται απαραίτητη καθώς τα φυσικοχημικά τους χαρακτηριστικά δεν επιτρέπουν την απόρριψη τους στους φυσικούς αποδέκτες (Τζαγκαράκη, Ε.Β., 2007).

Τα ποσοτικά και ποιοτικά χαρακτηριστικά των αποβλήτων παρουσιάζουν μια μεγάλη διακύμανση τιμών, καθώς η ποσότητα, τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά και η σύστασή τους επηρεάζονται από πολλούς παράγοντες. Οι κυριότεροι παράγοντες είναι οι εξής (Χατζηπαυλίδης, Ι.Γ., 1999 ; Κοψαχείλης, Α.,2009).

- Η προσβολή του ελαιόκαρπου από ασθένειες
- Η ποικιλία των ελαιόκαρπών
- Η χρήση λιπασμάτων και φυτοφαρμάκων
- Το κλίμα και οι καιρικές συνθήκες
- Το στάδιο ωριμότητας και ο χρόνος συγκομιδής
- Το είδος του ελαιοτριβείου
- Το διαθέσιμο νερό

1.2.2: Απόβλητα παραδοσιακών ελαιοτριβείων

Σε γενικές γραμμές, κατά την διαδικασία της πίεσης για την εξαγωγή του ελαιόλαδου, παράγονται τα ισχυρότερα απόβλητα, με συγκεντρώσεις που κυμαίνονται στα 100-200 g COD/L. Από 1 τόνο ελαιόκαρπου παράγονται περίπου 330kg στερεών αποβλήτων, με περίπου 25% περιεκτικότητα σε νερό, και 600 lt υγρών αποβλήτων περίπου.

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται αναλυτικά τα χαρακτηριστικά των παραγόμενων υγρών αποβλήτων (Πέτρου Ι. Γεωργίου, 2010 ; Βολικάκη Χρυσή, 2008).

Πίνακας 2: Χαρακτηριστικά αποβλήτων παραδοσιακού ελαιοτριβείου

Μέγεθος	pH	4,5-5,5
Ρυπογόνο δυναμικό	COD (gr/L)	120-130
	BOD (gr/L)	90-100
	Αιωρούμενα Στερεά (%)	0,1
	Ολικά Στερεά (%) Ολικά οργανικά στερεά (%)	12 10,5
	Ολικά ανόργανα στερεά (%)	1,5
Οργανικές ουσίες (%)	Ολικά σάκχαρα	2-8
	Αζωτούχες ενώσεις	0,5-2
	Οργανικά οξέα	0,5-1
	Πολυαλκοόλες	1-1,5
	Πηκτίνες	1-1,5
	Πολυφαινόλες	2-2,4
	Λίπη	0,03-1
Ανόργανα στοιχεία (%)	Φώσφορος	0,11
	Κάλιο	0,72
	Ασβέστιο	0,07
	Μαγνήσιο	0,04
	Νάτριο	0,09

1.2.3: Απόβλητα 3-φασικών ελαιοτριβείων

Κατά την διαδικασία εξαγωγής του ελαιόλαδου με την μέθοδο της φυγοκέντρισης 3-φάσεων παράγονται περίπου 500 kg/tn ελαιόκαρπου στερεού υπολείμματος και 1200 L/t ελαιόκαρπου υγρών αποβλήτων.

Τα στερεά απόβλητα αποτελούνται κυρίως από τον ελαιοπυρήνα και τα φύλλα των ελαιόδεντρων, που παρέμειναν μετά την συγκομιδή. Ο ελαιοπυρήνας μεταφέρεται σε ειδικές εγκαταστάσεις (πυρηνελαιουργεία) όπου υπόκειται σε ξήρανση στους 60°C και στην συνέχεια επεξεργάζεται με διάλυμα εξανίου για την εξαγωγή του πυρηνέλαιου. Το πυρηνόξυλο που προκύπτει ως απόβλητο της παραπάνω διαδικασίας χρησιμοποιείται ως καύσιμο είτε ως εδαφοβελτιωτικό αφού κομποστοποιηθεί (Ναυροζίδης, Σ.Α., 2008).

Τα υγρά απόβλητα προέρχονται από την επεξεργασία του ελαιόκαρπου για την παραλαβή του ελαιόλαδου και το πλύσιμο του εξοπλισμού του ελαιοτριβείου. Στα φυγοκεντρικά συστήματα τριών φάσεων τα υγρά απόβλητα είναι προϊόν του υγρού κλάσματος του χυμού του ελαιόκαρπου και του νερού που προστίθενται κατά την διάρκεια της πλύσης του καρπού, κατά την μάλαξη και κατά τη διάρκεια της φυγοκέντρισης στον οριζόντιο φυγοκεντρικό διαχωριστήρα (Hatzinikolaou, D.G., 2007).

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται τα κύρια χαρακτηριστικά των παραγόμενων υγρών αποβλήτων:

Πίνακας 3: Χαρακτηριστικά αποβλήτων 3-φασικού ελαιοτριβείου

Μέγεθος	pH	4,7-5,2
Ρυπογόνο δυναμικό	COD (gr/L)	45-60
	BOD (gr/L)	35-48
	Αιωρούμενα Στερεά (%)	0,9
	Ολικά Στερεά (%)	6

	Ολικά οργανικά στερεά (%)	5.5
	Ολικά ανόργανα στερεά (%)	0,5
Οργανικές ουσίες (%)	Ολικά σάκχαρα	0,5-2,6
	Αζωτούχες ενώσεις	1,7-2,4
	Οργανικά οξέα	0,2-0,4
	Πολυαλκοόλες	0,3-0,5
	Πηκτίνες	0,2-0,5
	Πολυφαινόλες	0,3-0,8
	Λίπη	0,5-2,3
Ανόργανα στοιχεία (%)	Φώσφορος	0,03
	Κάλιο	0,27
	Ασβέστιο	0,02
	Μαγνήσιο	0,01
	Νάτριο	0,03

1.2.4: Απόβλητα 2-φασικών ελαιοτριβείων

Κατά την διαδικασία εξαγωγής του ελαιόλαδου με την μέθοδο της φυγοκέντρισης 2-φάσεων,παράγονται 800kg αποβλήτου/ tn ελαιόκαρπου. Το απόβλητο αυτό είναι υψηλής υγρασίας και ονομάζεται υγρή ελαιοπυρήνα. Στην περίπτωση αυτή τα υγρά απόβλητα περιλαμβάνονται στον πυρήνα υψηλής υγρασίας. Σημαντικό όμως, πρόβλημα στο σημείο αυτό προκύπτει από το γεγονός ότι πολλά πυρηνελαιουργεία αρνούνται να παραλάβουν τον πυρήνα υψηλής υγρασίας, καθώς δεν διαθέτουν τα ειδικά συστήματα προ επεξεργασίας που απαιτούνται. Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζεται η χημική σύνθεση του παραγόμενου απόβλητου.

Πίνακας 4: Χαρακτηριστικά αποβλήτων 2-φασικού ελαιοτριβείου

Παράμετροι	2-φασικό σύστημα
Υγρασία	56,8 %
Λίπη και Έλαια	4,65 %
Πρωτεΐνη	2,87 %
Ολικά Σάκχαρα	0,83 %
Κυτταρίνη	14,54 %
Ημικυτταρίνη	6,63 %
Τέφρα	1,42 %
Λιγνίνη	8,54 %
Φαινολικά στοιχεία	2,43 %
Φώσφορος(P)	0,04 %
Κάλιο (K)	0,32 %
Ασβέστιο (Ca)	0,37 %
Ολικός Άνθρακας	25,37 %
Αναλογία C/N	59,68
Αναλογία C/P	577,2

1.3: Φαινολικά συστατικά και η σημασία τους

1.3.1 Φαινολικά συστατικά στο ελαιόλαδο

Οι φαινολικές ενώσεις εντοπίζονται στα φυτά και αποτελούν μέρος του αμυντικού τους μηχανισμού καθώς τα προστατεύουν από παθογόνους μικροοργανισμούς και έντομα. Περιέχουν μία ή περισσότερες υδροξυλομάδες και συνδέονται με έναν ή περισσότερους βενζολικούς δακτυλίους. Στο ελαιόδεντρο και στο ελαιόκαρπό έχουν βρεθεί περισσότερες από 30 φαινολικές ενώσεις. Φαινολικά συστατικά όπως: διάφορες φλαβόνες, φλαβονόλες, το βανιλλικό οξύ και κιναμικά οξέα έχουν αναφερθεί ότι βρίσκονται στον ελαιόκαρπό. Τα φαινολικά οξέα δεν βρίσκονται ελεύθερα στον καρπό της ελιάς, αλλά είναι ενωμένα μέσω εσωτερικού τύπου δεσμών με άλλες ουσίες. Εμφανίζονται στα απόβλητα λόγω της υδρόλυσης αυτών των δεσμών κατά τη διαδικασία εξαγωγής του ελαιόλαδου. Ακόμα και η λιγνίνη που περιέχεται στον ελαιοπυρήνα μπορεί να υδρολυθεί από τα λιγνιλυτικά βακτήρια και να ελευθερώσει φαινολικά οξέα όπως: το βερατρικό, το βανιλλικό και το συρινγκικό (Ναυροζίδης, Σ.Α.,2008 ; Χατζηπαυλίδης, Ι.Γ., 1999 ; Κοψαχείλης, Α., 2009). Στα φαινολικά συστατικά οφείλεται η πικρή γεύση του ελαιόλαδου, η αντοχή του στην οξείδωση και η στυπτικότητά του. Η ελιά περιέχει ένα αριθμό χαρακτηριστικών συστατικών όπως η υδροξυτυροσόλη, η τυροσόλη και η ελευρωπαΐνη η οποία αποτελεί και το πιο σημαντικό φαινολικό συστατικό. Η περιεκτικότητα των αντιοξειδωτικών πολυφαινολών είναι περίπου 50 mg ανά 100 g ελαιόλαδου. Ωστόσο το περιεχόμενο του ελαιόκαρπου σε πολυφαινόλες εξαρτάται από παράγοντες όπως, την ποικιλία της ελιάς, τον χρόνο συγκομιδής, την διαδικασία παραγωγής και το χρονικό διάστημά που αποθηκεύεται. Οι ελιές που συλλέγονται στις αρχές του έτους έχουν μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε φαινόλες. Η συγκέντρωση των φαινολών αυξάνεται κατά την διάρκεια ανάπτυξης του καρπού μέχρι να μετατραπεί το χρώμα του από πράσινο σε πορφυρό (Μηνιώτη, 2004).

Οι φαινολικές ενώσεις αποτελούν ισχυρά αντιοξειδωτικά και παίζουν σημαντικό ρόλο στις χημικές, οργανοληπτικές και διατροφικές ιδιότητες του παρθένου ελαιόλαδου και των επιτραπέζιων ελιών. Η θετικές επιπτώσεις της ελιάς και των παραγωγών της στην ανθρώπινη υγεία έχει τεκμηριωθεί από πληθώρα μελετών (Owen et al., 2000; Pérez-Jiménez, et al., 2005), γεγονός που μπορεί να εξηγηθεί από τον αντιοξειδωτικό χαρακτήρα των φαινολικών ενώσεων. Ως εκ τούτου, είναι επιθυμητό

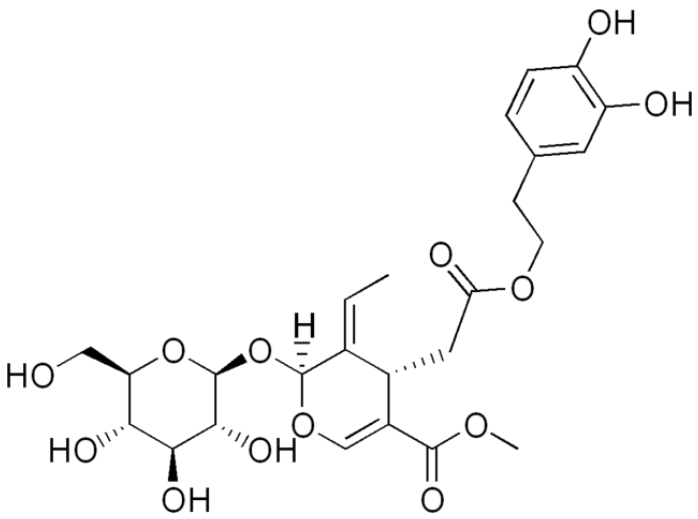
να υπάρξει μία διαδικασία για την εξαγωγή των φαινολικών ενώσεων από ελαιόλαδο και τα παραπροϊόντα του.

Κατά τη διάρκεια της μηχανικής επεξεργασίας της ελιάς, το μεγαλύτερο ποσοστό των φαινολικών ενώσεων βρίσκεται στην υδατική φάση, ενώ μόνο το 1% αυτών περνά στο ελαιόλαδο (Vierhuis et al., 2001). Αυτό εξηγεί γιατί καθίσταται ιδιαίτερα δύσκολη η αποτοξικοποίηαση των υγρών αποβλήτων που προέρχονται από τους φυγοκεντρικούς διαχωριστήρες 3-φάσεων. Αντίθετα, η χρήση φυγοκεντρικών διαχωριστήρων 2-φάσεων επιτρέπει περίπου στο 2% των φαινολικών ενώσεων να παραμένει στο ελαιόλαδο, ενώ το υπόλοιπο 98% καταλήγει στην υγρή ελαιοπυρήνα (alperujo) (Vierhuis et al., 2001).

Επομένως και τα δύο υπολείματα φαίνεται να αποτελούν πλούσια πηγή φυσικών αντιοξειδωτικών. Για την εξαγωγή των φαινολικών στοιχείων έχουν χρησιμοποιηθεί αρκετές ευρεσιτεχνίες όπως: εκχύλιση υγρού-υγρού (Calero et al., 1994), χρήση προσροφητικών ρητινών (Cuomo and Rabovskiy, 1999), εκχύλιση με υπερκρίσιμο ρευστό (Crea, 2002), ή υπερδιήθηση και προσρόφηση με μη ιοντικές ρητίνες (Brenes and Castro, 2003).

1.3.1.1 Ελευρωπαΐνη

Η Ελευρωπαΐνη είναι μια φαινολική σεκοϊριδοειδή γλυκοσίδη που αποτελείται από μια πολυφαινόλη την β-3,4-διυδροξυ-φαινυλαιθανόλη, ένα σεκοϊριδοειδή που ονομάζεται ελενολικό οξύ και ένα μόριο γλυκόζης. Αποτελεί ένα από τα πιο άφθονα βιοδραστικά συστατικά που βρίσκονται στις πράσινές ελιές και στα φύλλα του ελαιόδεντρου, και είναι ιδιαιτέρως γνωστή για τα ιατρικά οφέλη της. Αφορμή για μελέτες στάθηκε το μικρότερο ποσοστό εμφάνισης καρδιακών παθήσεων και καρκίνων στην ευρύτερη περιοχή της Μεσογείου. Οι επιστήμονες απέδωσαν αυτό το εύρημα στα στοιχεία της μεσογειακής διατροφής και συγκεκριμένα στο ελαιόλαδο που περιλαμβάνει το μεγαλύτερο μέρος της περιεκτικότητας σε λιπαρά μέσα.



Εικόνα 14: Χημικός τύπος της ελευρωπαΐνης

Πολλές μελέτες έχουν αναφέρει τις καταπληκτικές φυσιολογικές και φαρμακολογικές ιδιότητες της ελευρωπαΐνης . Συνεπώς, μελέτες *in vitro* και *in vivo* έχουν τεκμηριώσει τις αντιοξειδωτικές, αντιμικροβιακές, αντιμυκητιακές, αντι-νεοπλασματικές, υπολιπιδαιμικές και ιδιαίτερα υποτασικές, αντικαρκινικές και καρδιοπροστατευτικές ιδιότητες της ελευρωπαΐνης (Carrera-González et al., 2013; Fuentes & Palomo, 2014; Rubio et al., 2014; Sepporta et al., 2014).

<u>Αντιοξειδωτική δράση</u>

Μία από τις πιο σημαντικές ιδιότητες της ελευρωπαΐνης είναι η ισχυρή της αντιοξειδωτική δραστικότητα, ιδιαιτέρως ως κυνηγός ελευθέρων ριζών (Cicerale, Lucas, & Keast, 2012). Ύστερα από in vitro και in vivo δοκιμές, διαπιστώθηκε η ικανότητα της ελευρωπαΐνης και των εκχυλισμάτων πλούσια σε ελευρωπαΐνη να απορροφούν τη ρίζα DPPH σε μεγαλύτερο βαθμό από το συνθετικό αντιοξειδωτικό BHT (βουτυλ-υδροξυτολουόλιο) (Achat et al., 2012; Bouaziz,et al., 2008; Mancebo-Campos et al., 2014; Zbidi et al., 2009). Το αποτέλεσμα αυτό αποδόθηκε κυρίως στην ικανότητά της να δίνει ηλεκτρόνια (Lee et al., 2009). Η απορροφητική δράση της ελευρωπαΐνης ερευνήθηκε εκτεταμένα και η σχέση δομής-δραστικότητας έχει μελετηθεί από διαφορετικά πειραματικά μοντέλα. Η ισχυρή αντιοξειδωτική δράση της Ελευρωπαΐνης οφείλεται κυρίως στην παρουσία ομάδων υδροξυλίου (ιδιαιτέρως το τμήμα 1,2,-διυδροξυβενζόλιο) στη χημική του δομή. Αυτές οι ομάδες υδροξυλίου δρουν ως δότες υδρογόνου για να αποτρέψουν την οξείδωση.

Τόσο η δραστικότητα των ελεύθερων ριζών όσο και οι δραστηριότητες χηλικοποίησης των μετάλλων φαίνεται να είναι υπεύθυνες για την ικανότητα της ελευρωπαΐνης να προστατεύει τις μεμβράνες από την οξείδωση λιπιδίων που προκαλούν τα μέταλλα. Υποστηρικτής αυτής της υπόθεσης είναι ο Czerwinska, Kiss, and Naruszewicz (2012), ο οποίος αναφέρει ότι η ελευρωπαΐνη καταστέλλει την παραγωγή δραστικών μορίων οξυγόνου (ανιόν υπεροξειδίου O_2^-, υπεροξείδιο του υδρογόνου H_2O_2 και υποχλωριώδες οξύ HOCl) και ενώσεις αζώτου (νιτρικό οξείδιο NO και υπεροξυνιτρίτης $ONOO^-$).

Αντιφλεγμονώδης δράση

Η φλεγμονή είναι μια διαδικασία κατά την οποία τα λευκά κύτταρα του αίματος παράγουν ουσίες που σκοπό έχουν να προστατεύσουν τον οργανισμό από το τραυματισμό του ιστού ή από κάποια μόλυνση και από "ξένα σώματα", όπως βακτήρια και ιούς. Οι τραυματισμένοι ιστοί απελευθερώνουν φλεγμονώδεις κυτοκίνες ή μεσολαβητές. Σε μια σύνθετή οδό μεταγωγής του σήματος, ο πυρηνικός παράγοντας Kappa β (NF-kβ) καταλαμβάνει μιας ζωτικής σημασίας θέση, όπου ελέγχει την παραγωγή αμέτρητων προφλεγμινωδών μεσολαβητών (Giner et al., 2011; Killeen, Linder, Pontoniere). Κατά συνέπεια, η στόχευση και η αναστολή των δραστηριοτήτων των μεσολαβητών της φλεγμονής θεωρείται ως μια πολλά υποσχόμενη εναλλακτική λύση για την ανάπτυξη νέων αντιφλεγμονωδών παραγόντων. Σε αυτό το πλαίσιο, αποδείχθηκε ότι η ελευρωπαΐνη παρουσιάζει ένα αντιφλεγμονώδες αποτέλεσμα το οποίο μπορεί να σχετίζεται, τουλάχιστον εν μέρει, με τις αντιοξειδωτικές της ιδιότητες (Quiñones, Miguel, & Aleixandre, 2013).

Καρδιοπροστατευτική δράση

Η καρδιοπροστατευτική δράση της ελευρωπαΐνης σε in vivo πειραματικά μοντέλα αποδείχθηκε από βιοχημικές και παθολογικές αναλύσεις. Σε αρουραίους με καρδιακές παθήσεις ενδοφλέβιες ενέσεις ελευρωπαΐνης μείωσε το επίπεδο της κρεατινικής φωσφοκινάσης (CPK), της κρεατίνης φωσφοκινάσης-MB (CPK-MB), της γαλακτικής δεϋδρογενάσης (LDH), της αμινοτρανσφεράσης ασπαρτικού (AST) και της αμινοτρνσφεράσης αλανίνης (ALT).

Ταυτόχρονα η ιστοπαθολογία της καρδιάς έδειξε ότι η ελευρωπαΐνη μείωσε την κυτταροπλασματική κενοτοπία στα καρδιομυοκύτταρα που υποδεικνύουν τα προστατευτικά αποτελέσματά της έναντι της καρδιοτοξικότητας (Andreadou et al.,

2007). Σε μια περαιτέρω επέκταση του έργου τους, οι ερευνητές έχουν αποκαλύψει ότι η ελευρωπαΐνη μείωσε τα επίπεδα οξικού και ηλεκτρικού άλατος, ενώ παράλληλα αυξάνει τα επίπεδα των διακλαδισμένων αμινοξέων και αποκαθιστά τις μεταβολικές αλλαγές σε φυσιολογικά επίπεδα στο μυοκαρδιακό ιστό (Andreadou et al., 2009).

Ο βελτιστοποιημένος καρδιακός ενεργειακός μεταβολισμός επιβεβαιώθηκε ένα χρόνο αργότερα από τους Ebaid, et al.(2010), οι οποίοι αξιολόγησαν την επίδραση της ελευρωπαΐνης στις καρδιακές μεταβολικές αλλαγές που προκαλούνται από την παχυσαρκία σε αρουραίους. Η μελέτη έδειξε ότι η πρόσληψη ελευρωπαΐνης συνδέθηκε με αυξημένη κατανάλωση οξυγόνου, οξείδωση του λίπους ενώ μείωσε τα επίπεδα λιπιδίου-υπεροξείδιού του υδρογόνου και ενίσχυσε τις συνολικές αντιοξειδωτικές ουσίες CAT, SOD και GSH-Px στον ιστό του μυοκαρδίου επιβεβαιώνοντας τα προηγούμενα ευρήματα των Manna et al. (2004) σχετικά με το αντιοξειδωτικό δυναμικό και το καρδιοπροστατευτικό αποτέλεσμα της ελευρωπαΐνης σε περιπτώσεις με ισχαιμική μυοκαρδιοπάθεια.

Δεδομένα από πρόσφατη κλινική μελέτη που περιλάμβανε 232 ασθενείς με στάδιο 1-υπέρταση, αποκάλυψε ότι η πρόσληψη εκχυλίσματος φύλλων ελιάς πλούσιο σε ελευρωπαΐνη (500mg) δύο φορές ημερησίως για 8 εβδομάδες, συσχετίστηκε με σημαντική μείωση της συστολικής και διασταλτικής αρτηριακής πίεσης. Ακόμα, παρατηρήθηκε μείωση στα επίπεδα των τριγλυκεριδίων και της χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνων (LDL) χοληστερόλης (Covas et al.,2006; Susalit et al., 2011).

Νευροπροστατευτική δράση

Η ελευρωπαΐνη και οι πολυφαινόλες που περιέχονται στο ελαιόλαδο παρουσιάζουν σημαντικά νευροπροστατευτικά αποτελέσματα σε διάφορα πειραματικά μοντέλα και μπορούν να αποτελέσουν δραστική ουσία σε φάρμακά κατά νευροεκφυλιστικών ασθενειών, όπως η νόσος του Alzheimer. Σε ποντίκια που πραγματοποιήθηκε ενδοπεριτοναϊκή ένεση πολυφαινολών ελιάς πλούσια σε ελευρωπαΐνη παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση στα επίπεδα του νευρικού αυξητικού παράγοντα και του εγκεφαλικού νευροτροφικού παράγοντα, μιας πρωτεΐνης που υποστηρίζει την ανάπτυξη και λειτουργία των κυττάρων του εγκεφάλου. Επίσης ενίσχυσε την έκφραση των κύριων υποδοχέων τους (TrkA και TrkB) σε κρίσιμες περιοχές του μεταιχμιακού συστήματος και των οσφρητικών βολβών, που έχουν βασικό ρόλο στις διαδικασίες μάθησης και μνήμης (De Nicoló et al., 2013).

Σε μία άλλη *in vivo* μελέτη, ο Mohagheghi και οι συνεργάτες του απέδειξαν ότι η από στόματος χορήγηση εκχυλίσματος φύλλων ελιάς, πλούσιο σε ελευρωπαΐνη, μείωσε σημαντικά τον λόγο LDL/HDL(αθηρωματικός δείκτης), το εγκεφαλικό οίδημα, τον αιματο-εγκεφαλικό φραγμό και βελτιώνει τα αποτελέσματα νευρολογικού ελλείματος σε αρουραίους με βλάβες ισχαιμίας-επαναιμάτωσης (Mohagheghi, Bigdeli, Rasoulian, Hashemi, & Pour, 2011).

Όπως δηλώνεται από τους Demasi & Laurindo η ελευρωπαΐνη έχει αποτελέσματα και στη θεραπεία της ασθένειας του Πάρκισον, κάτι που κυρίως αποδίδεται στις αντιοξειδωτικές και αντι-αποπτωτικές ιδιότητές της (Demasi & Laurindo, 2012) Παρόλα αυτά, τα ευρήματα υποδεικνύουν ότι η ελευρωπαΐνη μπορεί να αποτελέσει δομικό παράγοντα για την θεραπεία της ασθένειας του Παρκισόν και άλλων νευροεκφυλιστικών ασθενειών, ωστόσο οι μηχανισμοί δράσεις και οι προστατευτικές δράσεις είναι ακόμα άγνωστες και απαιτούνται περαιτέρω μελέτες.

Αντικαρκινική Δράση

Μια σειρά μελετών επιβεβαίωσε τον αντικαρκινικό/αντινεοπλασματικό παράγοντα δραστηριότητας της ελευρωπαΐνης και διευκρινίστηκαν οι δυνατοί μηχανισμοί δράσης της. Η ολοκληρωμένη *in vitro* και *in vivo* μελέτη από τους Hamdi και Castellon (2005) αποκάλυψε ότι η ελευρωπαΐνη αναστέλλει την κυτταρική ανάπτυξη, κινητικότητα, διεισδυτικότητα και προκαλεί στρογγυλοποίηση των κυττάρων μέσω της διάσπασης του κυτταροσκελετού της ακτίνης σε πολλές καρκινικές σειρές κυττάρων όπως το γλοιοβλάστωμα (LN-18), ερυθρολευκίνη (TF-1a), αδενοκαρκίνωμα νεφρικών κυττάρων (786-O), αδενοκαρκίνωμα μαστικού αδένα και το κακοήθες μελάνωμα του λεμφικού κόμβου του δέρματος (RPMI-7951). Σε πρότυπη θεραπεία κατά του καρκίνου του μαστού (MCF-7) με ελευρωπαΐνη παρατηρήθηκε εξαρτηση από τη συγκέντρωση στην αναστολή πολλαπλασιασμού και προκαλούμενης απόπτωσης σε MCF-7. Αυτή η επίδραση είχε ως αποτέλεσμα την διακοπή εξέλιξης του κυτταρικού κύκλου (από το G1 στο S) και την αύξηση της κυτταρικής θνησιμότητας (Han, et al., 2009).

Χρησιμοποιώντας την ίδια κυτταρική γραμμή καρκινώματος (MCF-7) ο Elamin et al. (2013) και οι συνεργάτες του ανέφεραν ότι η δράση της ελευρωπαΐνης κατά του καρκίνου του μαστού πραγματοποιείται μέσω της απόπτωσης στο μιτοχονδριακό μονοπάτι, καθυστερώντας τον πολλαπλασιασμό του κυττάρου στη φάση S και

αναστέλλει τη προ-καρκιγονική πρωτεΐνη NF-kB. Ενδιαφέρον αποτελεί ότι η δραστηριότητα της ελευρωπαΐνης θεωρήθηκε ως επιλεκτική καθώς τα κανονικά κύτταρα MCF-10A παρέμειναν ανεπηρέαστα από την θεραπεία (Elamin et al., 2013).

Η αποτελεσματικότητα της Ελευρωπαΐνης έναντι των νευρικών καρκινικών κυττάρων αποδείχθηκε επίσης από την πρωτοποριακή μελέτη της Carrera-González et al. (2013). Οι συγγραφείς αξιολόγησαν τα ανασταλτικά αποτελέσματα της ελευρωπαΐνης στον πολλαπλασιασμό των κυττάρων του γλοιώματος C6. Η ελευρωπαΐνη έδειξε επίσης αντικαρκινικά αποτελέσματα ενάντια στο καρκίνωμα της ουροδόχου κύστης (Goulas et al., 2009), της λευχαιμίας (Casaburi et al., 2013; Fabiani et al., 2011), του καρκίνου του δέρματος (Mijatovic et al., 2011), ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα (Kyriakopoulou et al., 2012), μεταξύ άλλων.

Ηπατοπροστατευτικό αποτέλεσμα

Πολλές αναφορές υποδεικνύουν ότι η ελευρωπαΐνη έχει ηπατοπροστατευτική δράση. Αποδείχθηκε ότι η θεραπεία με ελευρωπαΐνη ήταν σημαντική καθώς παρατηρήθηκε μείωση της τρανσαμινάσης πλάσματος, κυρίως της αλανίνης αμιντρανσφεράσης (ALT) και ασπαρτικής αμινοτρανσφεράσης (AST) (Domitrovic´ et al., 2012; Kim et al., 2014). Αυτό το αποτέλεσμα συσχετίστηκε με μια σαφή υποχώρηση των νεκρωτικών περιοχών και αξιοσημείωτη αύξηση της ηπατικής δραστηριότητας.

Επιπλέον αποδείχθηκε ότι η ελευρωπαΐνη είναι υπεύθυνη για την μείωση των επιπέδων του αζώτου της ουρίας του αίματος (BUN), της πυροσταφυλικής τρανσαμινάσης ορού (sGPT), της αλκαλικής φωσφατάσης (sALP), γαλακτική αφυδρογονάση (LDH), τα τριγλυκερίδιια και η κρεατινίνη και τα TBARS του ήπατος των αρουραίων που υποβλήθηκαν σε αγωγή με BHT(Βουτυλ-υδροξυτολουόλιο) (Lin, Yen, Ng, & Lin, 2007).

Επιπροσθέτως, οι αναλύσεις ανοσοϊστοχημείας έδειξαν ότι η ελευρωπαΐνη μείωσε τη ίνωση του ήπατος και τη νέκρωση (Fang, Lai, & Lin, 2008; Kim et al., 2014). Συλλογικά, αυτές οι μελέτες υπογράμμισαν τη δυνατότητα χρήσης της ελευρωπαΐνης ως ασφαλή και αποτελεσματικό ηπατοπροστατευτικό μέσο.

Γαστρο-προστατευτική δράση

Πολυάριθμες μελέτες έχουν δείξει ότι η ελευρωπαΐνη και τα εκχυλίσματα φυτών ελαιόδενδρου που είναι πλούσια σε ελευρωπαΐνη έχουν γαστρο-προστατευτικά αποτελέσματα μέσω διαφορετικών μηχανισμών. Αυτές οι επιδράσεις θεωρούνται ότι σχετίζονται με τη αντιοξειδωτική και αντιφλεγμονώδη δράση, την ικανότητα της να διατηρεί την ακεραιότητα της κυτταρικής μεμβράνης και να ενισχύει το φράγμα βλεννογόνου, που θεωρείται η πρώτη γραμμή άμυνας κατά εξωγενών επιβλαβών παραγόντων. Για παράδειγμα, σε επαγόμενη από αιθανόλη γαστρική βλάβη σε αρουραίους, η θεραπεία με ελευρωπαΐνη μείωσε τις αλλοιώσεις του γαστρικού βλεννογόνου, ανέστειλε την υπεροξείδωση των λιπιδίων και ενίσχυσε τη δραστηριότητα των αντιοξειδωτικών ενζύμων (GPx, CAT, SOD) (Alirezaei et al., 2012; Dakanski, Ristic´, & Mitrovic´, 2009).

Η αναχαίτηση των προ-φλεγμονωδών μεσολαβητών και η επαγωγή των αποπτωτικών αποκρίσεων προτάθηκαν επίσης ως υποτιθέμενοι μηχανισμοί τονίζοντας τη γαστρο-προστατευτική ιδιότητα της ελευρωπαΐνης (Motilva, Sánchez-Fidalgo, Barranco, Herrerías, & de la Lastra,2008). Αυτοί οι συγγραφείς κατέδειξαν ότι η ελευρωπαΐνη μείωσε τις ελκωτικές αλλοιώσεις και την αιμορραγία με ταυτόχρονη βελτίωση της ιστολογικής δομής . Τέτοιο αποτέλεσμα συσχετίστηκε με την σημαντική μείωση της γαστρικής προ φλεγμονής, δείκτες που περιλαμβάνουν τη προσταγλανδίνη Ε2 (PGE2), την κυκλική μονοφωσφορική γουανοσίνη (cGMP), τη μυελοϋπεροξειδάση (MPO) (Motilva et al., 2008).

Αντιδιαβητική δράση

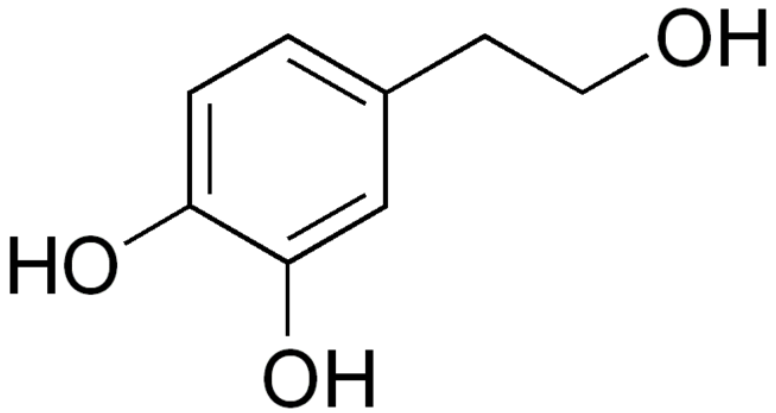
Είναι γνωστό ότι το εκχύλισμα των φύλλων της ελιάς χρησιμοποιείται για τη θεραπεία του διαβήτη (Achat et al., 2012; Mootoosamy & Mahomoodally, 2014). Η απόδειξη του αντιδιαβητικού αποτελέσματος εκχυλισμάτων ελιάς πλούσια σε ελευρωπαΐνη καθιερώθηκε μέσα από μία σειρά in vitro και in vivo πειραμάτων. Έχει αποδειχθεί ότι η επώαση του παγκρέατος, με υψηλή συγκέντρωση γλυκόζης (4 g/L) και εκχύλισμα ελιάς πλούσιο σε ελευρωπαΐνη από απόβλητα ελαιοτριβείων, αύξησε σημαντικά την έκκριση ινσουλίνης. Σε διαβητικούς αρουραίους και κουνέλια η χρήση ελευρωπαΐνης μείωσε σημαντικά τα επίπεδα της γλυκόζης στο αίμα και ενίσχυσε τη δραστηριότητα των αντιοξειδωτικών ενζύμων και πιο συγκεκριμένα τα SOD, CAT, GRx και GPx στο ήπαρ και τα νεφρά. Αυτά τα αποτελέσματα συσχετίστηκαν με

σημαντική μείωση της ηπατικής και νεφρικής λειτουργίας (Al-Azzawie &Alhamdani, 2006; Ben Salah, Abdelmelek, & Abderrabba, 2013; Hamden, Allouche, Damak, & Alkefi, 2009; Jemai, El Feki, & Sayadi, 2009).

Στοιχεία για την υπογλυκαιμική δράση του εκχυλίσματος πλούσιο σε ελευρωπαΐνη επιβεβαιώθηκε σε ανθρώπους μέσω μιας διπλής τυφλής μελέτης. Οι συγγραφείς επεσήμαναν ότι το εκχύλισμα πλούσιο σε ελευρωπαΐνη προκάλεσε μία τακτική μείωση της μεταγευματικής γλυκαιμίας που μπορεί να οφείλεται σε αυξημένη έκκριση ινσουλίνης και βελτιωμένη αντίσταση στην ινσουλίνη, γεγονός που υποδηλώνει άμεση δράση της ελευρωπαΐνης στα κύτταρα παγκρεατικών νησιδίων (Visen et al., 2009). Αργότερα οι Oliveras-López, et al., (2012) έδειξαν ότι μια μακροχρόνια ημερήσια πρόσληψη πλούσιου σε ελευρωπαΐνη αγνού παρθένου ελαιόλαδου μείωσε τα επίπεδα γλυκαιμίας ενώ αύξησε αυτά της χολιστερίνης HDL που δείχνει τον προληπτικό ρόλο του σε υγιείς ανθρώπους.

1.3.1.2 Υδροξυτυροσόλη

Η υδροξυτυροσόλη αποτελεί ένα φαινυλαιθανοϊκό, ένας τύπος φαινολικής φυτοχημικής ένωσης. Ονομάζεται επίσης 3,4-διϋδροξυφαινυλαιθανόλη (DOPET) ή 3,4- διυδροξυφαινολαιθανόλη (3,4-DHPEA) ή 4-(2-υδροξυαιθαλο)-1,2-βενζολοδιόλη σύμφωνα με την IUPAC. Στην φύση βρίσκεται στα φύλλα της ελιάς και στο ελαιόλαδο, ενώ σε καθαρή μορφή αποτελεί ένα άχρωμο και άοσμο υγρό. Η υδροξυτυροσόλη αναφέρεται από την επιστημονική επιτροπή της ευρωπαϊκής αρχής για την ασφάλεια των τροφίμων ως μία από τις πολυφαινόλες του ελαιόλαδου που αποτελεί αντιοξειδωτικό με πολλές βιολογικές δραστηριότητες.



Εικόνα 15: Χημικός τύπος της υδροξυτυροσόλης

Αντιμικροβιακή δράση

Τα εκχυλίσματα από ελαιόλαδο και φύλλα ελιάς έχουν χρησιμοποιηθεί ως σαπούνι για μεγάλο χρονικό διάστημα για να καταπραΰνει αρκετές σχετιζόμενες παθολογίες με μολύνσεις που προκαλούνται από μικροοργανισμούς (Medina et al., 2006). Είναι γνωστό ότι τόσο τα εκχυλίσματα της ελιάς όσο και η καθαρή υδροξυτυροσόλη έχουν ισχυρή αντιμικροβιακή δράση ενάντια σε ορισμένους μικροοργανισμούς όπως *Escherichia coli, Candida albicans, Clostridium perfringens, Streptococcus mutans ή Salmonella enterica*(Medina et al., 2006; Zoric et al., 2013). Επιπροσθέτως μερικές μελέτες έχουν δείξει σε in vitro μοντέλα το αποτέλεσμα της υδροξυτυροσόλης ενάντια των *Vibrio cholerae, Salmonella typhi, Haemophilus influenza ή Staphylococcus aureus*(Bisignano et al., 1999).

Μια πρόσφατη μελέτη κατέληξε στο συμπέρασμα ότι η υδροξυτυροσόλη έχει αντιμικροβιακό αποτελέσμα κατά του Σταφυλόκοκκου και σημαντικό ρόλο στην πρόληψη και θεραπεία λοιμώξεων που σχετίζονται με ιατροτεχνολογικά προϊόντα ή χρόνιες πληγές, χάρη στην ικανότητά της να μειώσει την παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS) από μικροβιακά βιοφίλμ, καθώς και για την ικανότητα της να αποφεύγει τα μικρόβια (Crisante et al., 2015) δείχνοντας τον πιθανό ρόλο της ώστε να αποφεύγονται οι ενδονοσοκομιακές λοιμώξεις(Medina-Martinez, et al., 2016).

Ο ρόλος της υδροξυτυροσόλης στο καρδιαγγειακό σύστημα

Χάρη στην αντιοξειδωτική της δράση η υδροξυτυροσόλη αποτρέπει την οξείδωση των λιποπρωτεϊνών χαμηλής πυκνότητας (LDL), με αποτέλεσμα να μειώνεται ο σχηματισμός αθηροσκληρωτικών πλακών (Gonzalez-Santiago et al., 2006; Granados-Principal et al., 2012; Warleta et al., 2011). Σύμφωνα με μελέτες ορισμένα εκχυλίσματα πλούσια σε υδροξυτυροσόλη έχουν μειώσει αποτελεσματικά τα επίπεδά της πλασματικής ολικής χοληστερόλης και των λιπιδίων (Jemai, Bouaziz,et al. 2008; Poudyal,et al., 2010) και την αρτηριακή πίεση (Khayyal et al., 2002) μειώνοντας τον κίνδυνο καρδιαγγειακών παθήσεων. Αυτός είναι και ο κύριος λόγος που η ΕΑΑΤ (Ευρωπαϊκή Αρχή για την Ασφάλεια των Τροφίμων) συνιστά καθημερινή πρόσληψη 5 mg υδρόξυτυροσόλης, συνήθως σε μορφή ελαιόλαδου.

Εκτός από αυτά, η υδροξυτυροσόλη μπορεί να θεωρηθεί ως αντιθρομβωτικό και αντιφλεγμονώδες μόριο (Cicerale, Conlan, Sinclair, & Keast, 2009) λόγω της ικανότητας της να παρεμποδίζει τη σύνθεση αιμοπεταλίων μέσω της cAMP- (κυκλική

μονοφωσφορική αδενοσίνη) και cGMP- (κυκλική μοοφωσφορική γουανοσίνη) αναστολείς της φωσφοδιεστεράσης (PDE) (Medina-Martinez et al., 2016). Η υδροξυτυροσόλη και οι μεταβολίτες της έχουν τη δυνατότητα να μειώσουν την έκκριση από διαφορετικά μόρια προσκόλλησης όπως Ε-σελεκτίνη, Ρ-σελεκτίνη, Δια κυτταρικό μόριο προσκόλλησης 1 (ICAM-1) και προσκόλληση αγγειακών κυττάρων μορίου 1 (VCAM-1) σε ενδοθηλιακά κύτταρα ανθρώπινης αορτής (HAEC) (Catalan et al., 2015) έχοντας ως αποτέλεσμα την προστασία από την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, μειώνοντας εν μέρει τον κίνδυνο στα αρχικά στάδια της αθηροσκλήρωσης.

Πολλές καρδιαγγειακές διαταραχές είναι συνέπεια της χορήγησης φαρμάκων όπως η δοξορουμπικίνη για τη θεραπεία του καρκίνου. Οι Granados-Principal et al. το 2014 έδειξαν για πρώτη φορά σε αρουραίο ότι η υδροξυτυροσόλη θα μπορούσε να βελτιώσει τις καρδιακές διαταραχές που δημιουργούνται από την παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου και την βλάβη των μιτοχονδρίων που προκαλούνται από την θεραπεία με δοξορουμπικίνη. Ως εκ τούτου, η υδρόξυτυροσόλη θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως πρόσθετο στις αντικαρκινικές θεραπείες που προκαλούν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών παθήσεων.

<u>Δράσεις στο μεταβολικό σύνδρομο</u>

Το μεταβολικό σύνδρομο περιγράφεται ως ένας συνδυασμός διαφορετικών ανωμαλιών που περιλαμβάνει την παχυσαρκία, τη δυσλιπιδαιμία, την μειωμένη ανοχή στη γλυκόζη, την αντίσταση στην ινσουλίνη, τον διαβήτη και την υπέρταση (Catalan et al., 2016; Cornier et al., 2008; Dandona, Aljada, Chaudhuri, Mohanty, & Garg, 2005). Από έρευνες έχει αποδειχθεί ότι σε μεσήλικες υπέρβαρούς άνδρες η πρόσληψη εκχυλίσματος υδροξυτυροσόλης για 12 εβδομάδες βελτιώνει τη ρύθμιση της γλυκόζης και την ικανότητα έκκρισης β-κυττάρων της ινσουλίνης (de Bock et al., 2013).

Επιπλέον είναι σαφές ότι ο διαβήτης προωθεί μια αύξηση στην υπεροξείδωση των λιπιδίων (Gumieniczek, 2005), μεταβολή στην κατάσταση οξειδοαναγωγής της γλουταθειόνης, μείωση των πλασματικών επίπεδων αντιοξειδωτικών και μείωση της δραστηριότητας των αντιοξειδωτικών ενζύμων. Όλες αυτές οι αλλαγές μπορούν να προκαλέσουν οξειδωτικό στρες από υπεργλυκαιμία (Chaudhry, Ghosh, Roy, & Chandra, 2007). Μερικές μελέτες έχουν αποδείξει ότι η πρόσληψη υδροξυτυροσόλης σε διαβητικούς αρουραίους προκάλεσε σημαντική μείωση σε παγκρεατική μαλτάση, εντερική λακτάση, σακχαρόζη και μία βελτίωση των SOD, CAT, GPx δραστηριοτήτων

καθώς και αύξηση στα μειωμένα επίπεδα της γλουταθειόνης που μειώθηκαν λόγο οξειδωτικού στρες (Hamden et al., 2010).

Άλλοι συγγραφείς (Hmimeda, Belarbia, & Visioli, 2016) παρατήρησαν ότι η υδροξυτυροσολη μπορεί να μειώσει τα υδροϋπεροξείδια του πλάσματος και να αυξήσει την αντιοξειδωτική κατάσταση σε αρουραίος με δίαιτα με υψηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά. Περαιτέρω μελέτες έδειξαν ότι η υδροξυτυροσόλη μπορεί να ομαλοποιήσει την παχυσαρκία, τον διαβήτη, την δυσλιπιδαιμία, το λιπώδες ήπαρ και την αντίσταση στην ινσουλίνη με δίαιτα με υψηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά σε ποντίκια C57BL/6 (Cao et al., 2014).

Συνολικά, αυτά τα ευρήματα υποδηλώνουν ότι η υδροξυτυροσόλη μπορεί να αποτελέσει αποτελεσματικό παράγοντα για την πρόληψη και τη θεραπεία του διαβήτη και του μεταβολικού συνδρόμου, αλλά θα πρέπει να πραγματοποιηθούν περισσότερες κλινικές δοκιμές για να καθοριστούν οι μηχανισμοί δράσης της υδροξυτυροσόλης κατά του μεταβολικού συνδρόμου.

Αντιφλεγμονώδη δράση της υδροξυτυροσόλης

Η υδροξυτυροσόλη είναι γνωστό ότι αποτελεί ένα ισχυρό φαινολικό αντιοξειδωτικό με ισχυρές αντί-αιμοπεταλιακές, αντιφλεγμονώδεις και αντι-αθηρογενετικές ιδιότητες (Granados-Principal et al., 2010). Μια θρεπτικογενετική μελέτη κατέληξε στο συμπέρασμα ότι μια υψηλή πρόσληψη ελαιόλαδου εμπλουτισμένο με υδροξυτυροσόλη μπορεί να καταστείλει την έκφραση πολλών προ-φλεγμονωδών και προ-αθηροσκληρωτικών γονιδίων, προωθώντας ένα χαμηλότερο φλεγμονώδες προφίλ σε μονοπύρηνα κύτταρα περιφερικού αίματος (Camargo et al., 2010). Μελέτες που πραγματοποιήθηκαν *in vitro* με ανθρώπινα μονοκύτταρά THP-1 που υποβάλλονται σε αγωγή με λιποπολυσακχαρίτες για την επαγωγή φλεγμονώδους απόκρισης, έδειξαν ότι η υδροξυτυροσόλη εμποδίζει τον σχηματισμό κυτοκινών, μονοξειδίου του αζώτου (NO), έκκριση παράγοντα νέκρωσης όγκου-άλφα (TNF-a) και έκφρασης mRNA (Zhang et al., 2009), που δείχνουν ένα σαφή αντιφλεγμονώδη χαρακτήρα της υδροξυτυροσόλης σε κυτταρικό επίπεδο.

Μερικές μελέτες *in vivo* (Procopio et al., 2009) έδειξαν την ικανότητα της υδροξυτυροσόλης να αναστέλλει την κυκλοοξυγενάση, COX-1 και COX-2, στο ίδιο επίπεδο σε σχέση με δημοφιλή φάρμακα όπως το ibuprofen και το celecoxib. Σε ασθενείς με σταθεροποιημένη στεφανιαία νόσο, η υδροξυτυροσόλη απέδειξε τη

μεγάλη ικανότητά της να προωθήσει ευεργετικές για την υγεία δραστηριότητες ως πρόσθετη παρέμβαση στην φαρμακευτική θεραπεία, το γεγονός αυτό επιτεύχθηκε με τη μείωση της IL6 και του C-δραστικού πρωτεϊνικού επιπέδου (Fito et al., 2008). Όλα αυτά τα ευρήματα υποδηλώνουν τη μεγάλη αντιφλεγμονώδη ικανότητα της υδροξυτυροσόλης και πως μία ημερήσια πρόσληψή της θα μπορούσε να επηρεάσει την φλεγμονώδη διαδικασία και να έχει οφέλη στην υγεία του ανθρώπου.

Η δράση της υδροξυτυροσόλης ενάντια στις ασθένειες του αναπνευστικού

Οι αναπνευστικές νόσοι είναι μια σύνθετη ομάδα διαφορετικών διαταραχών που εμφανίζονται σε διαφορετικά μέρη του συνόλου του αναπνευστικού συστήματος. Λόγω της πολυπλοκότητας του, οι αναπνευστικές διαταραχές μπορούν να προέλθουν από διάφορους παράγοντες όπως παθογόνοι μικροοργανισμοί, φλεγμονές, ατμοσφαιρικοί ρύποι ή γενετικές διαταραχές. Οι Visioli, Bellomo και Galli (1998) απέδειξαν ότι η υδροξυτυροσόλη μπορεί να μειώσει το οξειδωτικό στρες κάτι που σχετίζεται με τα ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρηνα (μεγαλύτερος πληθυσμός των λευκών αιμοσφαιρίων στα θηλαστικά). Ο Braga et al. (1997) παρατήρησε επίσης ότι η υδροξυτυροσόλη μπορούσε να μειώσει τα επίπεδα ανιόντων υπεροξειδίου σε *in vitro* και *in vivo* μοντέλα. Ακόμα ο O'Dowd et al. (2004) κατέληξε στο συμπέρασμα ότι η υδροξυτυροσόλη μπορεί να καθαρίσει το υπεροξείδιο του υδρογόνου με τρόπο εξαρτώμενο από τη δόση κατά τη διάρκεια της 'αναπνευστικής έκρηξης' όταν τα ανθρώπινα ουδετερόφιλα διεγέρθηκαν. Επιπλέον, η υδροξυτυροσόλη μπορεί να αναστείλει τη ανάπτυξη πολλών Gram-θετικών και Gram-αρνητικών βακτηρίων που σχετίζονται με λοιμώξεις τις αναπνευστικής οδού (Bisignano et al., 1999).

Αυτά τα ευρήματα συμβάλλουν στην εξέταση της υδρόξυτυροσόλης ως ένας, πολλά υποσχόμενος αντιμικροβιακός παράγοντας στην θεραπεία των λοιμώξεων του αναπνευστικού συστήματος. Μια πρόσφατη μελέτη των Liu, et al.,(2015) έδειξε ότι η υδροξυτυροσόλη έχει κάποιο αποτέλεσμα κατά της πνευμονικής ίνωσης σε ένα μοντέλο προκληθείσας ίνωσης σε αρουραίους. Η θνησιμότητα των αρουραίων που δέχτηκαν ως θεραπεία την υδροξυτυροσόλη ήταν μικρότερη σε σχέση με την θεραπεία με κορτικοστεροειδή. Εκτός από αυτό, η υδροξυτυροσόλη παρήγαγε μια αναστολή της πρωτεΐνης ACTN2 (δείκτης σχηματισμού μυοϊνοβλαστών) και προώθησε την έκφραση της πρωτεΐνης B (απαραίτητη για την πνευμονική λειτουργία). Όλα αυτά τα αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι η υδροξυτυροσόλη μπορεί να μειώσει τη φλεγμονή,

την ίνωση και το οξειδωτικό στρες που σχετίζεται με πνευμονική ίνωση με ωφέλιμες ιδιότητες έναντι αναπνευστικών παθολογιών.

Νευροπροστατευτική δράση υδροξυτυροσόλης

Είναι γνωστό ότι τα υψηλά επίπεδα οξειδωτικού και νιτροδωτικού στρες μπορούν να επηρεάσουν την λειτουργία του εγκεφαλικού ιστού. Είναι αξιοσημείωτο το γεγονός ότι η υδροξυτυροσόλη παρουσιάζει μια ισχυρή ικανότητα απομάκρυνσης των ελευθέρων ριζών (Goya, Mateos, & Bravo, 2007) και προκαλεί αντιοξειδωτικά ένζυμα (Martin et al., 2010) που μπορούν να θεραπεύσουν μερικώς κάποιες νευροεκφυλιστικές διαταραχές όπως η νόσος του Parkinson (Dexter & Jenner, 2013).

Με αυτή έννοια, ο Schaffer et al. το 2007 ανακάλυψε ότι τα εκχυλίσματα πλούσια σε υδρόξυτυροσόλη ήταν σε θέση να ελαττώσουν τις κυτταροτοξικές επιδράσεις των Fe^{2+} και NO στα εγκεφαλικά κύτταρα των αρουραίων. Επιπροσθέτως διαπίστωσε ότι η από στόματος πρόσληψη 100 mg υδροξυτυροσόλης για 12 ημέρες σε αρουραίους, βελτίωσε την αντίσταση των διαχωρισμένων εγκεφαλικών κυττάρων στο οξειδωτικό στρες κάτι που αποδείχθηκε μειώνοντας την προκαλούμενη από το στρες υπεροξείδωση λιπιδίων. Άλλες μελέτες σε μοντέλο υποξίας-επαναοξυγόνωσης σε φέτες εγκεφάλου αρουραίων, έδειξαν ότι η υδροξυτυροσόλη είχαν νευροπροστατευτική δράση (Gonzalez-Correa et al., 2008; Muñoz-Marin et al., 2012). Περαιτέρω μελέτες (Tasset, et al., 2011) έδειξαν ότι η στοματική χορήγηση παρθένου ελαιόλαδου και υδροξυτυροσόλης παρουσίασε σημαντικές επιδράσεις στο οξειδωτικό στρες του εγκεφάλου σε μια ασθένεια τύπου Huntington σε αρουραίους Wistar. Η υπεροξείδωση των λιπιδίων μειώθηκε σημαντικά και η κυτταρική GSH αυξήθηκε ως μηχανισμός προστασίας κατά της οξειδωτικής βλάβης, ενεργώντας ως αντιοξειδωτικό του εγκεφάλου.

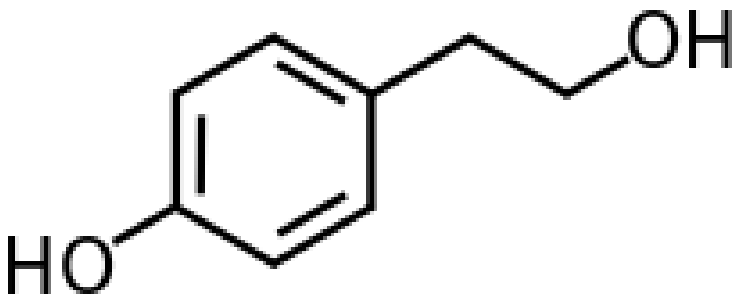
1.3.1.3 Τυροσόλη

Η Τυροσόλη αποτελεί ένα φυσικό αντιοξειδωτικό που υπάρχει σε τροφές όπως το κρασί, το κακάο και τις ελιές. Ωστόσο μεγαλύτερη περιεκτικότητα παρουσιάζεται στον ελαιόκαρπό. Η τυροσόλη θεωρείται σχεδόν ταυτόσημη και εναλλάξιμη με την υδροξυτυροσόλη, ωστόσο υπάρχουν κάποιες ελάχιστες διαφορές μεταξύ τους (Z. Charrouf and D. Guillaume, 2007)

Ως αντιοξειδωτικό, η τυροσόλη μπορεί να αποτρέψει τον τραυματισμό των κυττάρων λόγω οξείδωσης. Αν και δεν αποτελεί το ισχυρότερο αντιοξειδωτικό σε σύγκριση με τα υπόλοιπά αντιοξειδωτικά που περιέχονται στο ελαιόλαδο, η υψηλότερη συγκέντρωση του και η καλή βιοδιαθεσιμότητα συμβάλλουν θετικά στο να έχει σημαντικό συνολικό αποτέλεσμα. Αυτό το αποτέλεσμα συμβάλει σημαντικά στα οφέλη του ελαιόλαδου στην υγεία και γενικότερα στην μεσογειακή διατροφή (Giovannini C, et al., 1999).

Παρόλο που η τυροσόλη δεν έχει αποδειχθεί ακόμα ότι θεραπεύει τον καρκίνο, μπορεί να τον αποτρέψει. Σύμφωνα με πληθώρα μελετών έχει αποδειχθεί ότι όσοι καταναλώνουν τακτικά ελαιόλαδο εμφανίζουν μικρότερα ποσοστά ψυχικής δυσλειτουργίας, ενώ έχει τεκμηριωθεί ότι μειώνει σημαντικά τον κίνδυνο ανάπτυξης της νόσου Alzheimer και έχει αντιγηραντικές ιδιότητες για το δέρμα παρόμοιες με εκείνες της βιταμίνης Ε. Επιπλέον η τυροσόλη προκαλεί μυοκαρδιακή προστασία από το στρες που συσχετίζεται με την ισχαιμία, δημιουργώντας πρωτεΐνες μακροζωίας που θεωρούνται ως θεραπεία κατά της γήρανσης της καρδιάς (Miró-Casas E, et al., 2003).

Ωστόσο προκειμένου η τυροσόλη να θεραπεύσει αποτελεσματικά ή και να αποτρέψει οποιαδήποτε ασθένεια, πρέπει να καταναλώνεται για μεγάλο χρονικό διάστημα και κατά προτίμηση καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής του ανθρώπου (Samuel SM, et al., 2008).



Εικόνα 16: Χημικός τύπος της τυροσόλης

1.4: Μεθόδοι διαχωρισμού για ανάκτηση ουσιών υψηλής προστιθέμενης αξίας

1.4.1 Προσρόφηση

Η προσρόφηση είναι μια διαδικασία διαχωρισμού, η οποία συνίσταται στην εκλεκτική συγκέντρωση των μορίων της μίας φάσης (υγρής ή αέριας) πάνω σε στερεές επιφάνειες (δεύτερη φάση). Το φαινόμενο αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι όλες οι επιφάνειες των στερεών δεν είναι λείες σε μικροσκοπική κλίμακα αλλά ανώμαλες, με κοιλάδες και όρη να εναλλάσσονται σε όλη την επιφάνεια. Αυτές οι περιοχές των ανωμαλιών υπόκεινται σε ελλειμματικά πεδία δυνάμεων και εκεί έχουμε αυξημένη ελεύθερη επιφανειακή ενέργεια. Σε αυτές τις θέσεις τα επιφανειακά άτομα του στερεού μπορούν να ασκήσουν ελκτικές δυνάμεις σε άλλα άτομα ή μόρια από την περιβάλλουσα αέρια ή υγρή φάση. (Γκούμας Β., 2008)

Στερεά σώματα είναι καλύτερα προσροφητικά μέσα όσο πιο λεπτά καταμερισμένα είναι, δηλαδή όσο μεγαλύτερο ποσοστό κολλοειδών διαστάσεων έχουν, και όσο πιο μεγάλος είναι ο αριθμός των πόρων που διαθέτουν.

Ρητίνες προσροφήσεως

Οι ρητίνες προσροφήσεως είναι υψιμοριακές πολυμερείς οργανικές ενώσεις (συνήθως προϊόντα συμπολυμερισμού στυρολίου και διβινυλοβενζολίου), αδιάλυτες στο νερό και τους συνήθεις οργανικούς διαλύτες. Οι μακροδικτυωτές αυτές ρητίνες (macroreticular resins) είναι σκληρά, αδιάλυτα σφαιρίδια πορώδους πολυμερούς με κυμαινόμενες φυσικές ιδιότητες από αισθητά μη πολικές μέχρι πολύ πολικές. Είναι διαθέσιμες με διαφορετικές χημικές συγγένειες (affinities) και χωρητικότητες για την απομάκρυνση χημικών και φαρμακευτικών ουσιών από αραιά υγρά μίγματα.

Το μέγεθος των κόκκων της ρητίνης πρέπει να είναι αρκετά μικρό, ώστε η επιφάνεια επαφής να είναι μεγάλη, όχι όμως και πολύ μικρό, ώστε η ταχύτητα ροής, στην περίπτωση χρησιμοποιήσεως στήλης, να μην είναι πολύ μικρή. Οι διακλαδώσεις στο συμπολυμερές μόριο της ρητίνης συνήθως συνίστανται από διβινυλοβενζόλιο ή φορμαλδεΰδη. Ο αριθμός διακλαδώσεων (degree of cross-linkage) εκφράζεται ως εκατοστιαία περιεκτικότητα σε διβινυλοβενζόλιο και είναι συνήθως 8-10. Ο αριθμός διακλαδώσεων μιας ρητίνης επηρεάζει δραστικά την συμπεριφορά της. Αύξηση του αριθμού αυτού συνεπάγεται αύξηση της συνεκτικότητας της ρητίνης και συνεπώς

μείωση της διογκώσεώς της κατά την επαφή με νερό, μείωση του πορώδους και της διαλυτότητας, μείωση της ταχύτητας ροής δια μέσου της στήλης, αύξηση της ανταλλακτικής χωρητικότητας και μείωση της ταχύτητας προσροφήσεως. Ουσιώδες χαρακτηριστικό γνώρισμα των ρητινών είναι η αντιστρεπτότητα, εξαιτίας της οποίας είναι δυνατή η αναγέννηση και συνεπώς η επαναχρησιμοποίησή τους. (Γκούμας Β., 2008)

Η προσρόφηση σε ρητίνες είναι σήμερα η πλέον χρησιμοποιούμενη μέθοδος καθαρισμού των υγρών αποβλήτων βιομηχανιών που περιέχουν οργανικές ουσίες καθώς παρουσιάζουν πολύ μεγάλη προσροφητική ικανότητα και με αυτό τον τρόπο πλεονεκτούν σε σχέση με τα υπόλοιπα προσροφητικά μέσα (γέλη πυριτίου, αλουμίνα, ενεργός άνθρακας) (Li et al., 2001). Οι ρητίνες αυτές είναι μακροπορώδη πολυμερικοί προσροφητές και κάθε τύπος ρητίνης διαθέτει ξεχωριστά φυσικοχημικά χαρακτηριστικά με αποτέλεσμα να προσροφά και διαφορετικά συστατικά. Στην επιφάνεια της ρητίνης Macronet MN202 προσροφούνται τα φαινολικά συστατικά που προκύπτουν από την επεξεργασία του αποβλήτου.

Τεχνικές χρήσης ρητινών προσρόφησης

Οι συνήθεις τεχνικές χρήσης των ρητινών προσροφήσεως είναι η τεχνική λουτρού και η τεχνική στήλης. Κατά την τεχνική λουτρού, η ρητίνη τοποθετείται μαζί με το διάλυμα του δείγματος μέσα σε υποδοχέα και αναταράσσεται, μέχρις ότου αποκατασταθεί ισορροπία. Στη συνέχεια η ρητίνη απομακρύνεται με διήθηση, απόχυση ή φυγοκέντριση και αναγεννάτε για επαναχρησιμοποίηση. Πλεονέκτημα αυτής της τεχνικής αποτελεί η απλότητά της. (Γκούμας Β., 2008)

Κατά την τεχνική στήλης, η ρητίνη τοποθετείται σε κατακόρυφο σωλήνα με πορώδη πυθμένα και τα υγρά τροφοδοτήσεως και αναγεννήσεως της στήλης ρέουν από πάνω προς τα κάτω. Στην τεχνική στήλης συμβαίνουν πολυάριθμες τεχνικές λουτρού στα επάλληλα στρώματα της ρητίνης και έτσι η προσροφητική ικανότητα της ρητίνης μπορεί να καταστεί ποσοτική, αρκεί να μην υπερβούμε την προσροφητική χωρητικότητα της στήλης. Τα στάδια διαχωρισμού με την τεχνική στήλης είναι τα εξής (Γκούμας Β., 2008) :

- Διαβίβαση του διαλύματος μέσα από την στήλη, οπότε οι χημικές ουσίες προσροφούνται από την ρητίνη της στήλης ενώ οι ουσίες που δεν προσροφούνται διέρχονται από την στήλη,

- Έκλουση της στήλης με κατάλληλο διαλύτη για την σταδιακή εκτόπιση των προσροφημένων ουσιών και την έξοδό τους από την στήλη σε ξεχωριστά ατά το δυνατόν κλάσματα

1.4.2 Κινητικά Μοντέλα

Η εκχύλιση στερεού-υγρού μπορεί να θεωρηθεί ως μια αντίστροφη διεργασία απορρόφησης. Έτσι μπορούν να εφαρμοστούν οι βασικές κινητικές εξισώσεις απορρόφησης. Το κινητικό μοντέλο δεύτερης τάξης βρέθηκε ότι μπορεί να δώσει τα καλύτερα αποτελέσματα. Επομένως, οι εξισώσεις που μπορούν να χρησιμοποιηθούν είναι οι εξής (Pan et al., 2012):

$$\frac{dC_t}{dt} = k \cdot (C_e - C_t)^2$$

Όπου k είναι η σταθερά του ρυθμού εκχύλισης (L/g min), Ce η συγκέντρωση ισορροπίας των ολικών φαινολικών στο υγρό εκχύλισμα (g/L) (ικανότητα εκχύλισης) και C_t η συγκέντρωση των ολικών φαινολικών (g/L) στο υγρό εκχύλισης σε χρόνο εκχύλισης t. Με ολοκλήρωση της παραπάνω εξίσωσης για t = 0 έως t και $C_t = 0$ έως C_t, η εξίσωση παίρνει τη μορφή:

$$C_t = \frac{k \cdot t \cdot C_e^2}{1 + k \cdot t \cdot C_e}$$

Γραμμικοποιώντας την παραπάνω εξίσωση προκύπτει:

$$\frac{t}{C_t} = \frac{1}{k \cdot C_e^2} + \frac{t}{C_e} = \frac{1}{h} + \frac{t}{C_e}$$

όπου h είναι ο αρχικός ρυθμός εκχύλισης (g/L min): $h = k \cdot Ce^2$

1.4.3 Folin-Ciocalteu

Η μέθοδος Folin-Ciocalteu αρχικά προτάθηκε για την ανάλυση πρωτεϊνών, επωφελούμενη από την ιδιαίτερη δραστικότητα του αντιδραστηρίου που χρησιμοποιείται έναντι στο πρωτεϊνικό κατάλοιπο της τυροσίνης, στο οποίο περιέχεται μια φαινυλομάδα. Αργότερα χρησιμοποιήθηκε για την ανίχνευση των ολικών

φαινολών στο κρασί και στη συνέχεια έχει βρει διάφορες χρήσεις καθώς αποτελεί απλή μέθοδο με αναπαραγωγίσιμα αποτελέσματα (O.Folin and V.Ciocalteu, 1927).

Πρόκειται για μία φωτομετρική τεχνική που βασίζεται στην οξείδωση των φαινολών με ταυτόχρονη αναγωγή του φωσφορομολυβδενικού και φωσφοροβολφραμικού οξέος από τα οποία αποτελείται το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu. Το αντιδραστήριο παρασκευάζεται με βρασμό για 10 ώρες, του μίγματος μολυβδαινικού νατρίου ($Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$, 25 g), συμπυκνωμένου υδροχωρικού οξέος (100 ml), φωσφορικού οξέος 85% και νερού (700 ml). Μετά το βρασμό προστίθεται θειικό λίθιο ($Li_2SO_4 \cdot 4H_2O$,150g). Έτσι προκύπτει έντονό κίτρινο διάλυμα. Η επιμόλυνση των αναγωγικών ουσιών οδηγεί στην εμφάνιση πράσινου χρώματος, όπου με την προσθήκη οξειδωτικών επαναφέρεται το επιθυμητό κίτρινο χρώμα. Η χημική φύση του αντιδραστηρίου Folin-Ciocalteu δεν είναι επαρκώς γνωστή, αμφίδρομες αναγωγικές αντιδράσεις ενός ή δύο ηλεκτρονίων σχηματίζουν ενώσεις κυανού χρώματος, πιθανώς $(PMoW_{11}O_{40})^{4-}$. Το μολυβδαίνιο ανάγεται ευκολότερα σε σύμπλοκο και η αντίδραση μεταφοράς ηλεκτρονίου που λαμβάνει χώρα μεταξύ των αναγωγικών και του Mo(VI):

$$Mo(VI) + e \rightarrow Mo(V)$$

Το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu δεν είναι ειδικό στα φαινολικά συστατικά καθώς μπορεί να αναχθεί και από άλλα μη φαινολικά συστατικά όπως ο Cu(I) και η βιταμίνη C. Για να πραγματοποιηθεί η αντίδραση του αντιδραστήριού Folin-Ciocalteu με τα φαινολικά συστατικά απαιτούνται βασικές συνθήκες, η ρύθμιση του pH γίνεται με διάλυμα ανθρακικού νατρίου ώστε pH =10. Ο ιοντισμός ενός φαινολικού πρωτονίου οδηγεί στο σχηματισμό φαινολικού ανιόντος, το οποίο ανάγει το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu. Ο μηχανισμός μεταφορά ηλεκτρονίων υποστηρίζεται από την αντίδραση αυτή. Τα κυανού χρώματος συστατικά που σχηματίζονται, είναι ανεξάρτητα από τη δομή των φαινολικών συστατικών.

Η μέθοδος Folin-Ciocalteu έχει μερικά πλεονεκτήματα όπως:

1. Το αντιδραστήριο είναι εμπορικά διαθέσιμο και η διαδικασία τυποποιημένη.
2. Η απορρόφηση σε μεγάλο μήκος κύματος (765 nm) ελαχιστοποιεί την πιθανότητα εσφαλμένων αποτελεσμάτων λόγο της καταμέτρησης και των χρωστικών του δείγματος καθώς και πολλά οργανικά δείγματα περιέχουν χρωστικές.

3. Είναι μια γενικά αποδεκτή τεχνική που εφαρμόζεται για τα αντιοξειδωτικά τροφικής προελεύσεως παγκοσμίως.
4. Έχει παραχθεί μια μεγάλη βάση δεδομένων με συγκρίσιμα αποτελέσματα.

Η μέθοδος Folin-Ciocalteu εφαρμόζεται σε υδατικά διαλύματα (Huang D.,et al., 2005 ; Prior R.L.,et al., 2005).

1.4.4 Προσδιορισμός COD

Ορισμένες οργανικές ενώσεις όπως οι φαινόλες, οι πολυαρωματικοί υδρογονάνθρακες, η κυτταρίνη, το βενζόλιο, το ταννικό οξύ κ.α. είναι ανθεκτικές στη βιοαποικοδόμηση. Ακόμα πολλές ενώσεις που έχουν συντεθεί από τον άνθρωπο, π.χ. ζιζανιοκτόνα, δεν είναι βιοαποικοδομήσιμες διότι είναι τοξικές για τους μικροοργανισμούς.

Το COD αποτελεί μια μετρήσιμη ποσότητα η οποία δεν εξαρτάται ούτε από την ικανότητα βιοαποικοδόμησης των μικροοργανισμών ούτε από την γνώση της χημικής σύστασης και δομής των μορίων που υπάρχουν σε ένα απόβλητο. Κατά τη μέτρηση του COD, χρησιμοποιείται ένα ισχυρό οξειδωτικό αντιδραστήριο για να οξειδώσει ποσοτικά την οργανική ύλη. Η μέθοδος προσδιορισμού του COD πλεονεκτεί σε σχέση με τον προσδιορισμό του BOD καθώς είναι αρκετά γρήγορη αφού διαρκεί μόνο λίγες ώρες.

Το αποτέλεσμα που προκύπτει από τη μέτρηση του COD αναφέρεται στην συνολική απαίτηση του αποβλήτου σε οξυγόνο. Με το αποτέλεσμα αυτό δεν μπορεί να γίνει διάκριση μεταξύ των μη βιοαποικοδομήσιμων και βιοαποικοδομήσιμων ενώσεων που περιέχονται σε ένα απόβλητο ελαιοτριβείου. Η μέτρηση του COD δεν μας παρέχει πληροφορίες για την ταχύτητα οξείδωσης των οργανικών ενώσεων.

Η τιμή του COD ενός αποβλήτου είναι πάντα μεγαλύτερη από αυτήν του BOD. Στην περίπτωση που το σύνολο των ενώσεων του αποβλήτου είναι βιοαποικοδομήσιμες, το COD αντιπροσωπεύει την τελική απαίτηση του απόβλητου σε οξυγόνο και παρουσιάζει ελαφρά μεγαλύτερη τιμή από αυτήν που αντιστοιχεί στο BOD.

Το Χημικά Απαιτούμενο Οξυγόνο προσδιορίζεται, σε mg/L ως τα mg του καταναλισκόμενου οξυγόνου ανά λίτρο δείγματος, με την παρακάτω πρότυπη μέθοδο, η οποία περιλαμβάνει δύο στάδια:

- Την διαδικασία οξείδωσης της οργανικής ύλης.
- Την εκτέλεση του προσδιορισμού.

Οξείδωση της οργανικής ύλης

Για την πλήρη οξείδωση των οργανικών ουσιών που περιέχονται στο δείγμα χρησιμοποιείται ένα ισχυρό οξειδωτικό αντιδραστήριο: το διχρωμικό κάλιο. Τα οξειδώσιμα οργανικά συστατικά του δείγματος αντιδρούν, ανάγοντας το διχρωμικό ιόν ($Cr_2O_7^{2-}$) σε χρωμικό (Cr^{3+}). Η οξείδωση γίνεται υπό θέρμανση, σε φούρνο στους 150 ^oC για 2 ώρες, παρουσία θειικού οξέος.

Προσδιορισμός COD

Χρωματομετρική-φασματοφωτομετρική: Με αυτήν προσδιορίζεται η ποσότητα των ιόντων Cr^{6+} που απομένουν στο διάλυμα μετά την οξείδωση της οργανικής ύλης, φασματομετρικά σε μήκος κύματος 420 nm. Γνωρίζοντας την αρχική απορρόφηση του τυφλού δείγματος υπολογίζεται από την καμπύλη βαθμονόμησης το COD που αντιστοιχεί στο δείγμα σε mg/L. Η μέθοδος εφαρμόζεται συνήθως σε δείγματα που το αναμενόμενο COD δεν είναι πολύ υψηλό (0-150 mg/L) , για απόβλητο με μεγαλύτερες συγκεντρώσεις COD διεξάγεται αραίωση του ώστε να βρεθεί στον εύρος ασφαλούς μέτρησης της φασματομετρικής μεθόδου προσδιορισμού (Μαρίνα Γκότση, 2004).

1.5: Βιβλιογραφική Ανασκόπηση

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζεται μία βιβλιογραφική αναζήτηση μεθόδων εξαγωγής-ανάκτησης φαινολικών συστατικών από απόβλητα διφασικού ελαιοτριβείου. Σκοπός αυτής της αναζήτησης είναι η διερεύνηση των υπόλοιπων μεθόδων που εφαρμόζονται παγκοσμίως και η σύγκριση των αποτελεσμάτων με την υδροθερμική επεξεργασία που αποτελεί το αντικείμενο της παρούσας μελέτης.\

Πίνακας 5: Βιβλιογραφική αναζήτηση μεθόδων ανάκτησης φαινολικών συστατικών από απόβλητα διαφασικού ελαιοτριβείου

Διαδικασία Εξαγωγής	Ολικό Φαινολικό Περιεχόμενο (g φαινολικών συστατικών/kg αποβλήτου)	Ελευρωπαΐνη (mg/kg αποβλήτου)	Υδροξυτυροσόλη (mg/kg αποβλήτου)	Τυροσόλη (mg/kg αποβλήτου)	Ποσοστό Ανάκτησης Φαινολικών Συστατικών	Αναφορά
Εξαγωγή με 500 ml αιθανικού αιθυλεστέρα / 200 ml αποβλητου	7,1	-	-	-		Fátima Rubio-Senent, et al., 2013
60 % w/w αιθανόλη	16,92	225	187	165		Petra Albahari, et al., 2018
1:1 v/v με αιθανικό αιθυλεστέρα	10,1	-	-	-		Inass Leouifoudi, et al., 2014
Εξαγωγή με 500 ml αιθανικού αιθυλεστέρα / 200 ml αποβλητου pH = 4.5	15.67	-	-	-		Fátima Rubio-Senent, et al., 2017
Εξαγωγή με 500 ml αιθανικού αιθυλεστέρα / 200 ml αποβλητου pH = 2.5	30.92	-	-	-		
Απόσταξη μέσω μεμβρανών PTFE	-	-	-	-	100%	El-Abbassi A, et al., 2012
Νανό-διήθηση/ απόσταξη μεμβρανών υπό κενό	-	-	-	-	78%	Garcia-Castello E, et al,. 2010
Αμφοτερικές πολυμερικές ρητίνες	-	-	-	-	99%	He J, et al., 2012

Εξαγωγή Νέφους Σημείων (CPE)/ Genapol X-080	-	-	-	-	89.5%	Katsoyannos E, et al., 2006

2. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2.1. Υλικά

2.1.1 Απόβλητο 2-φασικού ελαιοτριβείου

Το πειραματικό μέρος πραγματοποιήθηκε με απόβλητο 2-φασικού ελαιοτριβείου που προέρχεται από ελαιοτριβείο 2-φάσεων βιομηχανικής κλίμακας στη Θάσο. Το απόβλητο αποθηκεύτηκε σε δοχεία των 5 κιλών σε κατάψυξη θερμοκρασίας -20°C, ώστε να μην υπάρξει αλλοίωση των χαρακτηριστικών ιδιοτήτων του.

Εικόνα 17: Απόβλητο 2-φασικού ελαιοτριβείου

2.1.2 Ρητίνες προσρόφησης

Οι ρητίνες προσρόφησης που χρησιμοποιήθηκαν κατά την πειραματική διαδικασία είναι της Purolite με κωδικό προϊόντος Macronet MN202. Είναι κατασκευασμένες από πολυστυρένιο διασταυρωμένο με διβινυλοβενζόλιο που παρασκευάζονται με πολυμερισμό αιωρήματος, οπότε και παράγονται σφαιρικά σωματίδια με μέση διάμετρο 585 ± 85 μm, εμβαδόν επιφάνειας 900 m²/g και ελάχιστο όγκο πόρων 0,2 mL/g.

Εικόνα 18: Ρητίνες προσρόφησης

Οι συγκεκριμένες ρητίνες επιλέχθηκαν καθώς εμφανίζουν πολύ αποτελεσματική προσρόφηση μορίων υψηλού μοριακού βάρος, υψηλή μηχανική αντοχή, υψηλότερο εμβαδόν επιφάνειας σε σύγκριση με ένα τυπικό προσροφητικό μέσο και αναγεννούνται εύκολα.

2.1.3 Αντιδραστήρια

Πίνακας 6: Αντιδραστήρια

Αντιδραστήρια
H_2SO_4 (θειικό οξύ) 99,999%
Αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu 2N
Na_2CO_3 (Ανθρακικό Νάτριο) >99%
NaOH (καυστικό νάτριο)
$K_2Cr_2O_7$ (διχρωμικό κάλλιο)
$C_7H_6O_5$ (Γαλλικό Οξύ)

MeOH (Μεθανόλη)
Na_2CO_3 (ανθρακικό νάτριο)
$C_2H_4O_2$ (Οξικό οξύ)
CH_3CN (Ακετονιτρίλιο)

Εικόνα 19: Αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu

2.1.4 Συσκεύες

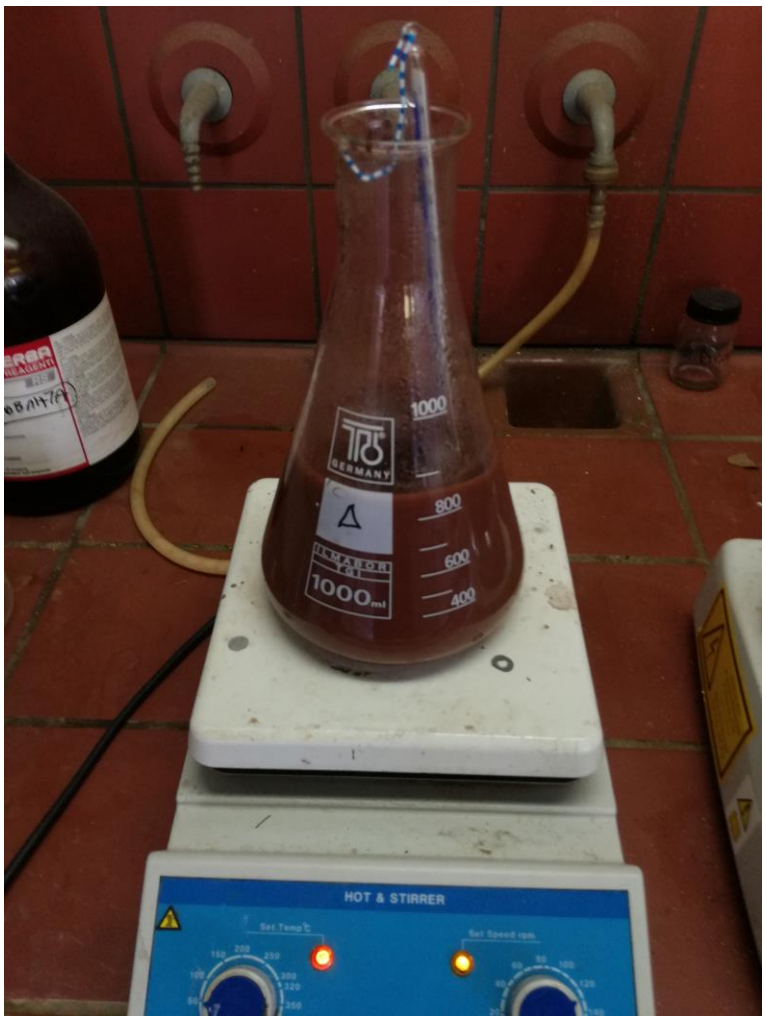
Πίνακας 7: Συσκευές

Συσκευές
Κωνικές φιάλες των 500 ml
Διαχωριστικές χοάνες των 500 ml
Φιάλη διήθησης κενού
Ποτήρια ζέσεως των 2 L και 5 l
Πιπέτες των 100 μl , 200 μl, 500 μl, 1000 μl και 5000 μl
Δοκιμαστικοί σωλήνες των 15 ml και στατό
Θερμόμετρο
Πουάρ
Σιφώνια των 2 ml, 5 ml, 10 ml

2.2 Πειραματική μεθοδολογία

Για την εξαγωγή των φαινολικών συστατικών από το απόβλητο 2-φασικού ελαιοτριβείου, με σκοπό την χρήση τους ως προϊόντα προστιθέμενης αξίας και την ταυτόχρονη αποτοξικοποίηση του αποβλήτου για περαιτέρω επεξεργασία-διαχείρισης τους, αναπτύχθηκε μία διαδικασία, η οποία περιλαμβάνει μια υδροθερμική επεξεργασία.

Η οξίνιση περιλαμβάνει συνεχής ανάδευση σε 300 rpm με την χρήση μαγνητικού αναδευτήρα επικαλυμμένου με αδρανές υλικό (Teflon) και θερμαντικής-αναδευτικής πλάκας (IKA, Model 9009300, Germany), ποσότητας 100 g αποβλήτου τοποθετημένο σε κωνική φιάλη των 500 ml με μέσο εξαγωγής το απιονισμένο νερό, σε όξινες συνθήκες με προσθήκη θειικού οξέος, με σταθερή θερμοκρασία και καθορισμένη χρονική διάρκεια (Εικόνα 20).



Εικόνα 20: Πειραματική διάταξη της υδροθερμικής επεξεργασίας

Η τιμή του pH κατά την διάρκεια της οξίνισης μεταβάλλεται από το 4.75 που έχει αρχικά το απόβλητο και κυμαίνεται στο εύρος 0,73-1,43 ανάλογα με την ποσότητα του θειικού οξέος που προστίθεται κατά την πειραματική διεργασία σύμφωνα με τον παραγοντικό σχεδιασμό που αναλύεται παρακάτω.

Έπειτα όλη η ποσοτήτα του κάθε πειράματος φυγοκεντρείται στις 4000 rpm για 10 λεπτά και αφήνεται να διαχωριστεί για 24 ώρες σε διαχωριστικές χοάνες των 500 ml, όπου διαχωρίζεται το υπολειπόμενο ελαιόλαδο (Εικόνα 21).

Από την διαδικασία του διαχωρισμού προκύπτουν τρία ρεύματα, η υδατική φάση, το υπολειπόμενο ελαιόλαδο και η στερεή φάση που αποτελείται από το επεξεργασμένο απόβλητο.

Εικόνα 21: Φυγόκεντρος

Από την διαδικασία του διαχωρισμού προκύπτουν τρία ρεύματα, η υδατική φάση, το υπολειπόμενο ελαιόλαδο και η στερεή φάση που αποτελείται από το επεξεργασμένο απόβλητο.

Η υδατική φάση που περιέχει τα φαινολικά συστατικά, διηθείται με την χρήση διηθητικού ηθμού, ώστε να απομακρυνθούν τυχόν στερεά υπολείμματα από την διαδικασία της φυγοκέντρισης. Τέλος το δείγμα φιλτράρεται μέσω 0,45 μm φίλτρων σύριγγας και φυλάσσεται σε σκιερό μέρος σε θερμοκρασία δωματίου μέχρι τον προσδιορισμό του.

Εικόνα 22: Η υδατική φάση μετά την διαδικασία της φυγοκέντρισης που περιέχει τα φαινολικά συστατικά

2.3 Παραγοντικός Σχεδιασμός

Για την έρευση των βέλτιστων συνθηκών επεξεργασίας κρίθηκε απαραίτητη η δημιουργία 2 παραγοντικών μοντέλων με μέθοδο απόκρισης επιφάνειας με μεταβλητές: τον χρόνο της επεξεργασίας, την ποσότητα σε ml του θειικού οξέος που απαιτείται, την ποσότητα σε ml του απιονισμένου νερού για την αραίωση του αποβλήτου και την θερμοκρασία.

Αρχικά επιλέχθηκε ένας 2^4 (4 παραμέτρων με 2 επίπεδα) για να αξιολογήσει το ευρύ φάσμα των τιμών των παραμετρων. Στην πρώτη σειρά παραγοντικών πειραμάτων εκτελέστηκαν 20 πειράματα με επίπεδα -1, +1 από τα οποία ερευνήθηκε ποιοι παράμετροι ήταν σημαντικοί Ο Πίνακας 8 δείχνει τις περιοχές των παραμέτρων που αξιολογήθηκαν. Με την χρήση της παρακάτω εξίσωσης πραγματοποιήθηκε η κωδικοποίηση των μεταβλητών που εξετάστηκαν:

$$x_i = \frac{X_i - X_i^{CP}}{\Delta X_i}$$

Όπου i είναι η ανεξάρτητη μεταβλητή, x_i είναι η κωδικοποιημένη τιμή, X_i είναι η πραγματική τιμή, X_i^{CP} είναι η πραμγατική τιμή στο κεντρικό σημείο και ΔX_i είναι η τιμή αλλαγής των βημάτων.

Πίνακας 8: Ανάλυση 1ου παραγοντικού σχεδιασμού

Επίπεδα	**Παράμετρος**			
	Αραίωση αποβλήτου (ml)	**H_2SO_4 (ml)**	**Χρόνος (min)**	**Θερμοκρασία (^oC)**
-1	300	3	60	70
0	200	2	45	60
1	100	1	30	50

Πίνακας 9: Ελεγχός καλής προσαρμογής του 1ου στατιστικού μοντέλου

Source	**DF**	**Sum of Squares**	**Mean Square**	**F Ratio**
Lack of Fit	6	5.8645500	0.977425	2.8904
Pure Error	3	1.0144750	0.338158	**Prob > F**
Total Error	9	6.8790250		0.2062

Οι πειραματικές αποκρίσεις προβλέφθηκαν χρησιμοποιώντας την γραμμικού τύπου εξίσωση:

Y_{TPC} = B0 + B1 X1 + B2 X2 + B3 X3 + B4 X4 + B5 X1 X2 + B6 X1 X3 + B7 X2 X3 + B8 X1 X4 + B9 X2 X4 + B10 X3 X4

Όπου το X(i) είναι ο φορέας των τεσσάρων μεταβλητών, B0 είναι το στοιχείο παρακολούθησης, B1-B4 είναι τα γραμμικά αποτελέσματα των τεσσάρων μεταβλητών και B5-B10 είναι οι παράμετροι αλλελεπίδρασης.

Μετά την ολοκλήρωση του 4^2 παραγοντικού σχεδιασμού και σύμφωνα με τα αποτελέσματα που προέκυψαν αναπτύχθηκε ένα πιο λεπτομερές Κεντρικό σύνθετο σχέδιο (CCD). Έτσι πραγματοποιήθηκε η δευτερή σειρά 10 παραγοντικών πειραμάτων εστιάζοντας στην επίδραση των 2 πιο σημαντικών παραμέτρων (ποσότητα θειικού

οξέος και αραίωση αποβλήτου) προσθέτωντας ένα επίπεδο παραπάνω. Τα επίπεδα καθώς και τα εύρη των μεταβλητών φαίνονται στον Πίνακα 10.

Πίνακας 10: Ανάλυση 2ου παραγοντικού σχεδιασμού

Επίπεδα	**Παράμετρος**	
	Αραίωση αποβλήτου (ml)	**H_2SO_4 (ml)**
-1,414	250	2,5
-1	264,64	2,65
0	300	3
1	335,36	3,35
1,414	350	3,5

Οι πειραματικές αποκρίσεις σε αυτή την περίπτωση προβλέφθηκαν χρησιμοποιώντας την 2^{ης} τάξης πολυωνυμική εξίσωση:

$$Y_2 = bb_1 + bb_2 * x_1 + bb_3 * x_2 + bb_4 * x_1 * x_2 + bb_5 * x_1^2 + bb_6 * x_2^2$$

Όπου bb1 είναι το στοιχείο παρακολούθησης, bb2-bb3 είναι τα γραμμικά αποτελέσματα των δύο παραμέτρων και bb5-bb6 είναι οι τετραγωνικές παράμετροι των δύο μεταβλητών.Όπως και στον παράγοντα σχεδιασμό, οι παράμετροι λήφθηκαν από γραμμική παλινδρόμηση ελαχιστοποιώντας τη διαφορά μεταξύ των προβλεπόμενων και πειραματικές τιμές. Χρησιμοποιήθηκε το λογισμικό Matlab (R2007b) υπολογίστε τους συντελεστές τόσο στον παράγοντα σχεδιασμό όσο και στο CCD.

Πίνακας 11: Ελεγχός καλής προσαρμογής του 2^{ου} στατιστικού μοντέλου

Source	**DF**	**Sum of Squares**	**Mean Square**	**F Ratio**
Lack of Fit	3	0.40050448	0.133501	20.5387
Pure Error	3	0.01950000	0.006500	**Prob > F**
Total Error	6	0.42000448		0.0167

2.4 Πειραματική διαδικασία απομάκρυνσης φαινολικών συστατικών με ρητίνες προσρόφησης

Αρχικά αραιώνουμε την υδατική φάση που προκύπτει από την φυγοκέντριση (170-320 ml) μέχρι τον όγκο των 2 L. Ακολουθεί διήθηση με ηθμό προκειμένου να απομακρυνθούν τυχόν στερεά που έχουν απομείνει στην υδατική φάση κατά την διάρκεια της φυγοκέντρισης. Στην συνέχεια το διήθημα οδηγείται σε συσκευή υπερδιήθησης,σε εφαπτομενική ροή με μεμβράνη Hydrosart οξικής κυτταρίνης με ονομαστικό μοριακό βάρος 30.000 da, από όπου παραλαμβάνεται περίπου 1,8 L διηθήματος. Σε κωνική φιάλη 2 L τοποθετούνται τα 1,8 L διηθήματος και 250grρητίνες Macronet MN202 και ακολουθεί ανάδευση για 60 min. Μετά το πέρας της ανάδευσης πραγματοποιείται έκχυση του υπερκείμενου υγρού χρώματος διαυγές. Στην συνέχεια οι ρητίνες με τα προσροφημένα φαινολικά συστατικά παραμένουν σε θερμοκρασία 60°C για 24 ώρες. Μετά την διεργασία της ξήρανσης οι ρητίνες τοποθετούνται ποτήρι ζέσεως των 5 L με 2L μεθανόλης προκείμενου να γίνει εξαγωγή των προσροφημένων φαινολικών συστατικών. Έπειτα το μείγμα τοποθετείται σε περιστροφικό εξατμηστήρα και αφήνεται μέχρι να εξατμιστεί η μεθανόλη και να προκύψει το τελικό συμπύκνωμα των φαινολικών συστατικών που είναι το επιθυμητό προϊόν. Για λόγους περιορισμούς του κόστους της διεργασίας οι ρητίνες αναγεννούνται με διάλυμα 2% w/v καυστικού νατρίου (NaOH). Σε ποτήρι ζέσεως των 2 L παρασκευάζεται διάλυμα 2 w/v καυστικού νατρίου όγκου 1 L και τοποθετούνται τα 250 g ρητινών προς αναγέννηση. Το συστήμα αφήνεται υπό ανάδευση για 1 ώρα. Στην συνέχεια πραγματοποιείται διαχωρισμός με διήθηση και η παραπάνω διαδικασία επαναλαμβάνεται μέχρις ότου το υπερκείμενο υγρό να είναι διαυγές και μηδενικού φαινολικού φορτίου.

2.5 Πειράματα μελέτης κινητικής

Για τον προσδιορισμό του μοντέλου της κινητικής που ακολουθεί η διεργασία της οξινης εκχύλισης των φαινολικών συστατικών από το απόβλητο 2-φασικού ελαιοτριβείου πραγματοποιήθηκαν 2 πειράματα στις βέλτιστες συνθήκες σύμφωνα με το παραγοντικό μοντέλο.

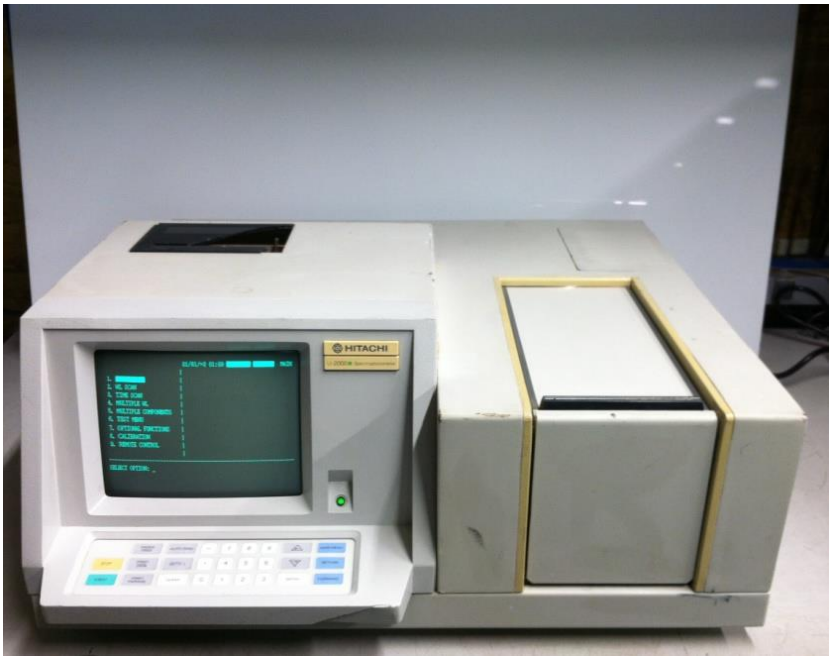
Για τις ανάγκες του πειράματος γινόταν λήψη δείγματος ποσότητας 15ml στους χρόνους των 0, 5, 10, 20, 30, 45, 60, 90, 120 λεπτών. Τα δείγματα οδηγήθηκαν στην φυγόκεντρο ώστε να διαχωριστούν οι δύο τους φάσεις και στην συνέχεια προσδιορίστηκε το TPC (ολικό φαινολικό περιεχόμενο).

2.6 Αναλύσεις

2.6.1 Προσδιορίσμός ολικού φαινολικού περιεχομένου (TPC)- Ανάλυση Folin-Ciocalteu

Για τον προσδιορισμό του ολικού φαινολικού περιεχομένου (TPC) απαιτείται ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων στο διάλυμα. Σε δοκιμαστικούς σωλήνες τοποθετούμε 0,1 ml δείγματος, 9,9 ml απιονισμένου νερού και 2 ml αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu 10%. Ακολουθεί ανάδευση στο Vortex για περίπου 3 min. Μετά την ανάδευση προστίθενται 2 ml Na_2CO_3 (ανθρακικού νατρίου 20%) για να ρυθμιστεί το pH περίπου στο 10. Τα προς μέτρηση δείγματα ξανά αναδεύονται στο Vortex για περίπου 3 min και τοποθετούνται σε σκοτεινό μέρος στους 40^oC για 30 min. Για την βαθμονόμηση του φωτόμετρου προετοιμάζονται διαλύματα γαλλικού οξέος συγκέντρωσης 0 g/L (τυφλό δείγμα-0,1ml απιονισμένο νερό), 0.125 g/L, 0.25 g/L, 0.5 g/L και 1 g/L τα οποία ακολουθούν και αυτά την παραπάνω πειραματική διαδικασία με μόνη διαφορά την αντικατάσταση του δείγματος με τα διαλύματα γαλλικού οξέος.

Στη συνέχεια αφήνουμε τα δείγματα να ψυχθούν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και τοποθετούνται σε φωτόμετρο διπλής δέσμης τύπου HITACHI U-2000, όπου φωτομετρούνται στα 765 nm.



Εικόνα 23: Φωτόμετρο διπλής δέσμης HITACHI U-2000

Η τιμή της απορρόφησης προκύπτει από την διαφορά απορρόφησης του προς μέτρηση δείγματός σε σύγκριση με το τυφλό δείγμα. Η συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων προκύπτει από την καμπύλη βαθμονόμησης του οργάνου που προκύπτει από την φωτομέτρηση των διαλυμάτων γαλλικού. Η συγκέντρωση των φαινολικών στοιχείων εκφράζεται σε ισοδύναμα g γαλλικού οξέος/L. Για να υπολογιστεί το ολικό φαινολικό περιεχόμενο κάνουμε χρήση της εξίσωσης:

$$\text{TPC(g/kg ξηρής μάζας)} = \frac{(67{,}5+\text{V})*\text{ABS}(765\text{nm})}{32{,}5}$$

όπου V: ο όγκος του νερού που προστίθεται κατά την διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας

ABS(765nm): η απορρόφηση του δείγματος στο φωτόμετρο διπλής δέσμης

Το 67,5 είναι το ποσοστό της υγρασίας του αποβλήτου και το 32,5 το ποσοστό ξηρής μάζας. Οι παραπάνω τιμές υγρασίας και ξηρής μάζας αναφέρονται αποκλειστικά σε πειραματική διαδικασία με χρήση 100 g αποβλήτου, σε κάθε άλλη περίπτωση απαιτούνται αναγωγές.

2.6.2 Προσδιορισμός COD

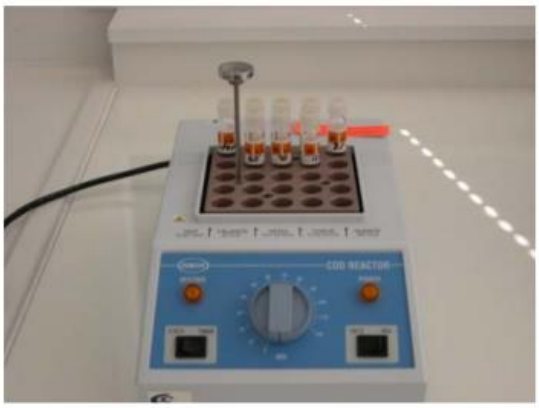
Για τον προσδιορισμό του Χημικά Απαιτούμενου Οξυγόνου (COD) απαιτείται 1:100 αραίωση του προς μέτρηση δείγματος, στην περίπτωση μας είναι το εκχύλισμα των φαινολικών συστατικών από το απόβλητο 2-φασικου ελαιοτριβείου.

Αρχικά παρασκευάζουμε το τυφλό δοκίμιο τοποθετώντας 2 ml απιονισμένο νερό σε γυάλινα φιαλίδια MN NANOCOLOR® Tube Test COD 1500 , στην συνέχεια για να παρασκευαστούν τα προς μέτρηση δοκίμια τοποθετούμε 0,02 ml του προς μέτρηση δείγματος και 1,98 ml απιονισμένο νερό. Έπειτα σε όλα τα δοκίμια προστίθενται 2,8 ml διαλύματος θειικού οξέος H_2SO_4 και 1,2 ml $K_2Cr_2O_7$ που λειτουργεί σαν οξειδωτικό στο όξινό περιβάλλον που προκύπτει από την χρήση του θειικού οξέος.

Τα φιαλίδια τοποθετούνται σε χωνευτήρα μάρκας COD Reactor HACH, Model 45600 όπου αφήνονται να αντιδράσουν για 2 ώρες στους 150 ^{o}C. Μετά το πέρας των 2 ωρών αφήνονται να ψυχθούν φυσικά σε σκιερό μέρος μέχρι να φτάσουν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Στη συνέχεια αφού καθαριστούν εξωτερικά πολύ καλά από τυχόν ακαθαρσίες φωτομετρούνται με την χρήση φασματόμετρου μάρκας Portable Datalogging Spectrophotometer της HACH, DR/2010 και καταγράφονται οι τιμές της απορρόφησης. Πειραματικά έχει βρεθεί ότι η εξίσωση που μας δίνει την τιμή του COD για το φασματόμετρο που χρησιμοποιήθηκε κατά την πειραματική διαδικασία είναι:

$$\mathrm{COD} = 2260.7 \ * \mathrm{ABS} - 5.5378 \ (\mathrm{mg/\ L})$$

Τέλος οι τιμές που προκύπτουν από την παραπάνω εξίσωση πρέπει να πολλαπλασιαστούν με το 100 καθώς έχει πραγματοποιηθεί αραίωση των δειγμάτων.



Εικόνα 24: α) Χωνευτήρας COD HACH (αριστερά) β) Φασματόμετρο HACH (δεξιά)

2.6.3 Ποσοτικοποίηση HPLC-DAD

Τα δείγματα που προκύπτουν οδηγούνται για ποσοτικοποίηση στην HPLC, Agilent 1290 Infinity II LC system, συνδεδεμένη με ανιχνευτή συστοιχίας διόδων (DAD), Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA και μία Agilent C18 Proshell 120 (4 μm, 4.6×100 mm) στήλη με ροή 1 ml/min. Η κινητή φάση αποτελείται από 0.2% οξικό οξύ σε νερό (A) και ακετονιτρίλιο (B). Χρησιμοποιήθηκε η ακόλουθη βαθμίδα έκλουσης: 2% B σε 0 λεπτά μέχρι 30% B στα 40 λεπτά έως 45 λεπτά και πίσω στο 2% B στα 45 έως 50 λεπτά. Ο όγκος έγχυσης ήταν 20 μL. Τα σήματα DAD καταγράφηκαν σε μια περιοχή από 210 nm έως 360 nm. Τα διαλύματα αποθέματος μεμονωμένων ενώσεων παρασκευάστηκαν σε μεθανόλη και χρησιμοποιήθηκαν για να δημιουργήσουν ένα πρότυπο μίγμα σε μεθανόλη Ελευρωπαΐνης, Υδροξυτυροσόλης και Τυροσόλης στα 1000 μg / mL. Με τη χρήση αυτού του μίγματος, έγινε μια γραμμική καμπύλη γραμμικής βαθμονόμησης σε μεθανόλη: νερό 1: 1 (ν / ν) με συγκέντρωση που κυμαίνεται από 125 μg / mL έως 1000 μg / mL. Τα πρότυπα αποθηκεύτηκαν στους -20 ° C.

2.6.4 Προσδιορισμός pH

Ο προσδιορισμός του pH πραγματοποιήθηκε με ηλεκτρονικό πεχάμετρο μάρκας Inolab pH Level 1.

Εικόνα 25:Ηλεκτρονικό Πεχάμετρο Inolab

3: Αποτελέσματα

3.1 Χαρακτηρισμός του αποβλήτου

Έπειτα από την παραλαβή του αποβλήτου, πραγματοποιήθηκε ο χαρακτηρισμός του αποβλήτου. Για τον σκοπό εκτελέστηκε μία σειρά μετρήσεων όπως ο προσδιορισμός της υγρασίας με την χρήση ζυγού προσδιορισμού υγρασίας, η μέτρηση του ολικού φαινολικού περιεχομένου, το Χημικά Απαιτούμενο Οξυγόνο (COD) και το υπολειπόμενο ελαιόλαδο που δεν διαχωρίστηκε κατά τη διαδικασία της φυγοκέντρισης. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα:

Πίνακας 12: Χαρακτηρισμός αποβλήτου 2-φασικού ελαιοτριβείου

Χαρακτηρισμός Αποβλήτου 2-Φασικού Ελαιοτριβείου	
Υγρασία	67.5 %
Χημικά Απαιτούμενο Οξυγόνο (COD)	89.5 kg/ m^3
Ολικό Φαινολικό Περιεχόμενο (TPC)	30.52 mg/ g ξηρής μάζας
Υπολειπόμενο Ελαιόλαδο	10 %

Για το υπολογισμό του ολικού φαινολικού περιεχομένου πραγματοποιήθηκαν τρεις διαδοχικές εκχυλίσεις του αποβλήτου με χρήση της υδροθερμικής διεργασίας, ως πρώτη ύλη στην δεύτερη και τρίτη εκχύλιση χρησιμοποιήθηκε η στερεή φάση που προκύπτει από την διαδικασία της πρώτης και δεύτερης εκχύλισης αντίστιχα.

3.2 Πειραματικά αποτελέσματα 2^4

Πίνακας 13: Πειραματικά αποτελέσματα

Run	X1	X2	X3	X4	HYDROXY -TYROSOL	TYROSOL	OLEUROPEIN	TPC	COD	Sum of Hydrox., Tyros. & oleurop.
	Dilution (mL)	Strong Acid (mL)	Time (min)	Temperature (oC)	mg/g Dry	mg/g Dry	mg/g Dry	mg/g Dry	mgO_2/g Dry	mg/g Dry
1	100 (-1)	1 (-1)	30 (-1)	50 (-1)	5.12	3.61	1.24	19.33	237,52	9,97
2	100 (-1)	1 (-1)	30 (-1)	70 (+1)	5.93	3.94	1.27	20.61	249,12	11,15
3	100 (-1)	1 (-1)	60 (+1)	50 (-1)	5.82	3.76	1.36	19.97	278,78	10,95
4	100 (-1)	1 (-1)	60 (+1)	70 (+1)	6.01	3.56	1.15	20.59	223,33	10,73

5	100 (-1)	3 (+1)	30 (-1)	50 (-1)	6.34	3.29	1.16	19.31	282,65	10,80
6	100 (-1)	3 (+1)	30 (-1)	70 (+1)	6.26	3.74	1.33	20.29	301,99	11,33
7	100 (-1)	3 (+1)	60 (+1)	50 (-1)	6.74	3.81	1.42	20.10	309,73	11,97
8	100 (-1)	3 (+1)	60 (+1)	70 (+1)	6.83	3.99	1.33	21.90	353,57	12,15
9	300 (+1)	1 (-1)	30 (-1)	50 (-1)	5.40	3.92	1.38	21.02	229,70	10,70
10	300 (+1)	1 (-1)	30 (-1)	70 (+1)	5.14	3.86	1.37	20.46	252,33	10,38
11	300 (+1)	1 (-1)	60 (+1)	50 (-1)	5.24	4.30	1.27	22.99	246,67	10,81
12	300 (+1)	1 (-1)	60 (+1)	70 (+1)	6.01	3.95	1.22	21.17	266,48	11,19
13	300 (+1)	3 (+1)	30 (-1)	50 (-1)	6.27	3.61	1.41	22.52	277,80	11,29
14	300 (+1)	3 (+1)	30 (-1)	70 (+1)	6.25	3.47	1.34	21.25	207,06	11,07
15	300 (+1)	3 (+1)	60 (+1)	50 (-1)	6.64	4.85	1.64	25.05	192,92	13,14
16	300 (+1)	3 (+1)	60 (+1)	70 (+1)	6.41	5.14	1.73	27.73	266,48	13,79
17	200 (0)	2 (0)	45 (0)	60 (0)	6.04	3.89	1.36	21.28	280,46	11,29
18	200 (0)	2 (0)	45 (0)	60 (0)	6.08	3.76	1.41	22.27	288,70	11,25
19	200 (0)	2 (0)	45 (0)	60 (0)	6.00	3.92	1.37	20.90	286,64	11,29
20	200 (0)	2 (0)	45 (0)	60 (0)	6.07	3.93	1.30	21.62	286,64	11,30

Ολικό φαινολικό περιεχόμενο

Όπως παρατηρείται από τον παραπάνω πίνακα των πειραματικών αποτελεσμάτων μεγαλύτερη ανάκτηση ολικού φαινολικού περιεχομένου επιτυγχάνεται στο πείραμα 16, όπου ανακτούνται 27,73 mg φαινολικών συστατικών / g ξηρού αποβλήτου και μικρότερη ανάκτηση ολικού φαινολικού περιεχομένου επιτυγχάνεται στο πείραμα 5, όπου ανακτούνται 19,31 mg φαινολικών συστατικών / g ξηρού αποβλήτου. Το συνολικό φαινολικό περιεχόμενο του αποβλήτου που προέκυψε μετά την διαδικασία των τρίων διαδοχικών εκχυλίσεων είναι 30,52 mg φαινολικών συστατικών / g ξηρού αποβλήτου. Κατά την εκτέλεση του πειράματος 16 επιτυγχάνθηκε ανάκτηση των φαινολικών συστατικών σε ποσοστό 90,8% . Τέλος παρατηρουμε ότι το επίπεδο +1 και στις 4 παραμετρους του παραγοντικού μοντέλου ενισχύει την ανάκτηση του ολικού φαινολικού περιεχομένου.

Ελευρωπαΐνη

Από τα πειραματικά αποτελέσματα παρατηρούμε ότι η ανάκτηση της ελευρωπαΐνης κυμαίνεται ανάμεσα στα 1,15-1,73 mg / g ξηρού αποβλήτου. Η μέγιστη ανάκτηση επιτυγχάνεται στο πείραμα 16 και η ελάχιστη στ πείραμα 4. Η ανάκτηση της ελευρωπαΐνης ευνοείται ιδιαίτερα στο επίπεδο +1 του παραγοντικού μοντέλου. Επομένως η συμπεριφορά της ελευρωπαΐνης ταυτίζεται με το ολικό φαινολικό περιεχόμενο.

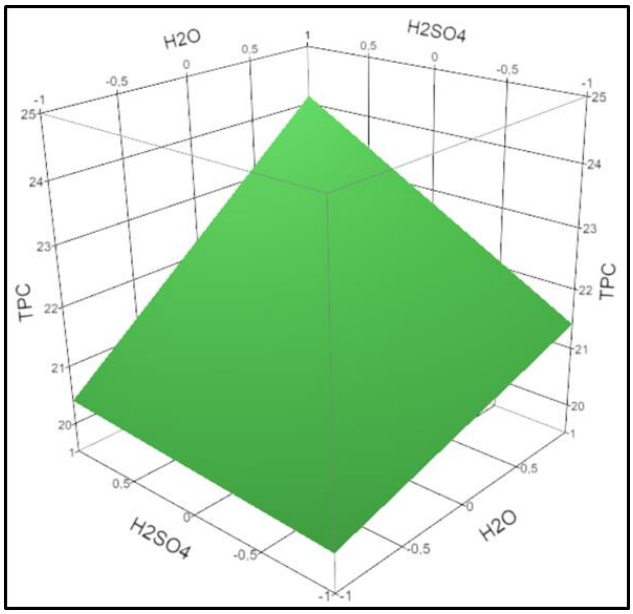
Τυροσόλη

Από τα πειραματικά αποτελέσματα παρατηρούμε ότι η ανάκτηση της τυροσόλης κυμαίνεται ανάμεσα στα 3,29-5,14 mg / g ξηρού αποβλήτου. Η μέγιστη ανάκτηση επιτυγχάνεται στο πείραμα 16 και η ελάχιστη στ πείραμα 5. Η ανάκτηση της τυροσόλης ευνοείται ιδιαίτερα στο επίπεδο +1 του παραγοντικού μοντέλου. Επομένως η συμπεριφορά τυροσόλης ταυτίζεται με τη συμπεριφορά της ελευρωπαΐνης.

Υδροξυτυροσολή

Από τα πειραματικά αποτελέσματα παρατηρούμε ότι η ανάκτηση της υδροξυτυροσόλης κυμαίνεται ανάμεσα στα 5,12-6,83 mg / g ξηρού αποβλήτου. Η μέγιστη ανάκτηση επιτυγχάνεται στο πείραμα 8 και η ελάχιστη στ πείραμα 1. Η ανάκτηση της υδροξυτυροσόλης ευνοείται ιδιαίτερα στο επίπεδο +1 του παραγοντικού μοντέλου στις παράμετρους του χρόνου, της θερμοκρασίας και της ποσότητας θειικού οξέος, ενώ ευνοείται στο επίπεδο -1 της αραίωσης του αποβλήτου.

3.3 Αποτελέσματα προσωμοίωσης πρώτου στατιστικού μοντέλου



Γράφημα 1: Γραφική απεικόνιση της επιφάνειας του 1ου στατιστικού μοντέλου

Όπως παρατηρούμε το μοντέλο δείχνει ότι σε μεγαλύτερες αραιώσεις και μεγαλύτερες ποσότητες θειικού οξέος ευνοείται η ανάκτηση των φαινολικών

συστατικών, οπότε το δεύτερο παραγοντικό μοντέλο εστίασε στην περιοχή που μας δίνει μεγαλύτερο φαινολικό περιεχόμενο.

Πίνακας 14: Εκτίμηση παραμέτρων 1ου στατιστικού μοντέλου

Παράμετρος	Εκτίμηση	t Ratio
B0	21.52	
B1	1.255	5.74
B2	0.75	3.43
B3	0.91875	4.2
B4	0.23125	1.06
B5	0.6125	2.8
B6	0.54125	2.48
B7	0.50625	2.32
B8	-0.35375	-1.62
B9	0,.9125	1.33
B10	0.1775	0.81

Σύμφωνα με τον παραπάνω πίνακα η γραμμική εξίξωση προσαρμογής του μοντέλου γίνεται :

$$Y_{TPC} = 21.52 + 1.255 * X_1 + 0.75 * X_2 + 0.91875 * X_3 + 0.23125 * X_4 + 0.6125 * X_1 * X_2 + 0.54125 * X_1 * X_3 + 0.50625 * X_2 * X_3 - 0.35375 * X_1 * X_4 + 0.9125 * X_2 * X_4 + 0.1775 * X_3 * X_4$$

Πίνακας 15: Πειραματικά αποτελέσματα και αποτελέσματα μοντελοποίησης

Run	X1	X2	X3	X4	TPC	Predicted TPC	Residual	HYDROXY-TYROSOL	Predicted HYDROXY-TYROSOL	Residual
	Dilution (mL)	Strong Acid (mL)	Time (min)	Temperature (oC)	mg/g Dry	mg/g Dry	mg/g Dry	mg/g Dry	mg/g Dry	mg/g Dry
1	100 (-1)	1 (-1)	30 (-1)	50 (-1)	19.33	20.1375	-	5.12	5.3845	-0.2645
2	100 (-1)	1 (-1)	30 (-1)	70 (+1)	20.61	20.37	0.24	5.93	5.6895	0.2505
3	100 (-1)	1 (-1)	60 (+1)	50 (-1)	19.97	19.525	0.445	5.82	5.6545	0.1755
4	100 (-1)	1 (-1)	60 (+1)	70 (+1)	20.59	20.4675	0.122	6.01	6.1745	-0.1545
5	100 (-1)	3 (+1)	30 (-1)	50 (-1)	19.31	18.8175	0.492	6.34	6.3045	0.0455

6	100 (-1)	3 (+1)	30 (-1)	70 (+1)	20.29	20.215	0.075	6.26	6.2945	-0.0245
7	100 (-1)	3 (+1)	60 (+1)	50 (-1)	20.10	20.23	-0.13	6.74	6.6995	0.0505
8	100 (-1)	3 (+1)	60 (+1)	70 (+1)	21.90	22.3375	-	6.83	6.9045	-0.0645
9	300 (+1)	1 (-1)	30 (-1)	50 (-1)	21.02	21.0475	-	5.40	5.1495	0.2605
10	300 (+1)	1 (-1)	30 (-1)	70 (+1)	20.46	19.865	0.595	5.14	5.3895	-0.2395
11	300 (+1)	1 (-1)	60 (+1)	50 (-1)	22.99	22.6	0.39	5.24	5.4145	-0.1645
12	300 (+1)	1 (-1)	60 (+1)	70 (+1)	21.17	22.1275	-	6.01	5.8695	0.1505
13	300 (+1)	3 (+1)	30 (-1)	50 (-1)	22.52	22.1775	0.342	6.27	6.3145	-0.0345
14	300 (+1)	3 (+1)	30 (-1)	70 (+1)	21.25	22.16	-0.91	6.25	6.2395	0.0205
15	300 (+1)	3 (+1)	60 (+1)	50 (-1)	25.05	25.755	-	6.64	6.7045	-0.0545
16	300 (+1)	3 (+1)	60 (+1)	70 (+1)	27.73	26.4475	1.272	6.41	6.8445	0.0755
17	200 (0)	2 (0)	45 (0)	60 (0)	21.28	21.5175	-	6.04	6.0645	-0.0145
18	200 (0)	2 (0)	45 (0)	60 (0)	22.27	21.5175	0.752	6.08	6.0645	0.0255
19	200 (0)	2 (0)	45 (0)	60 (0)	20.90	21.5175	-	6.00	6.0645	-0.0545
20	200 (0)	2 (0)	45 (0)	60 (0)	21.62	21.5175	0.102	6.07	6.0645	0.0155

Σύμφωνα με τα παραπάνω αποτελέσματα παρατηρούμε ότι η απόκλιση από τις προβλέψεις του στατιστικού μοντέλου από τις πειραματικές τιμές είναι μικρότερες από 5% , οπότε μπορούμε να θεωρήσουμε το μοντέλο αξιόπιστο.

3.4 Αποτελέσματα προσωμοίωσης δευτερού στατιστικού μοντέλου

Τέλος εφαρμόστηκε ένα κεντρικό σύνθετο σχέδιο (CCD) 3^2 που εξετάζει τις σημαντικότερες παραμέτρους του παραγοντικού σχεδιασμού, όπως αυτές προέκυψαν από τα πειραματικά αποτελέσματα του $1^{ου}$ στατιστικού μοντέλου. Οι σημαντικότεροι παράμετροι είναι:

- Αραίωση του αποβλήτου (X_1)
- Ποσότητα θειικού οξέος (X_2)
- Χρόνος εκχύλισης (X_3) :αποφασίστηκε να εξεταστεί ξεχωριστά σαν κινητική μελέτη
- Ο χρόνος εκχύλισης (X_3) και η θερμοκρασία (X_4) έμειναν σταθερά στο +1 επίπεδο του $1^{ου}$ στατιστικού μοντέλου.

Πίνακας 16: Πειραματικά αποτελέσματα και αποτελέσματα μοντελοποίησης 2ου στατιστικού μοντέλου

H2O (mL) X1	H2SO4 (mL) X2	TPC (mg/g)	OLEUROPEIN (mg/g)	HYDROXYTYROSOL (mg/g)	TYROSOL (mg/g)
1	1	15.8	1.12	5.55	3.67
1	-1	21.2	1.46	4.68	4.53
-1	1	22.3	1.27	5.8	4.52
-1	-1	17.81	1.04	6.1	2.99
1.4142	0	19	1.25	5.15	3.58
-1.4142	0	21.1	1.37	6.1	3.94
0	1.4142	24.3	1.64	6.7	4.71
0	-1.4142	23.33	1.46	5.4	4.19
0	0	21.22	1.22	5.98	3.51
0	0	20.74	1.24	5.86	3.58

Πίνακας 17: Εκτίμηση παραμέτρων 2ου στατιστικού μοντέλου για υδροξυτυροσόλη

Παράμετρος	Εκτίμηση	t Ratio
bb1	5.895	
bb2	-0.3767	-4.03
bb3	0.3011	3.22
bb4	0.2925	2.21
bb5	-0.2113	-2.02
bb6	0.00125	0.01

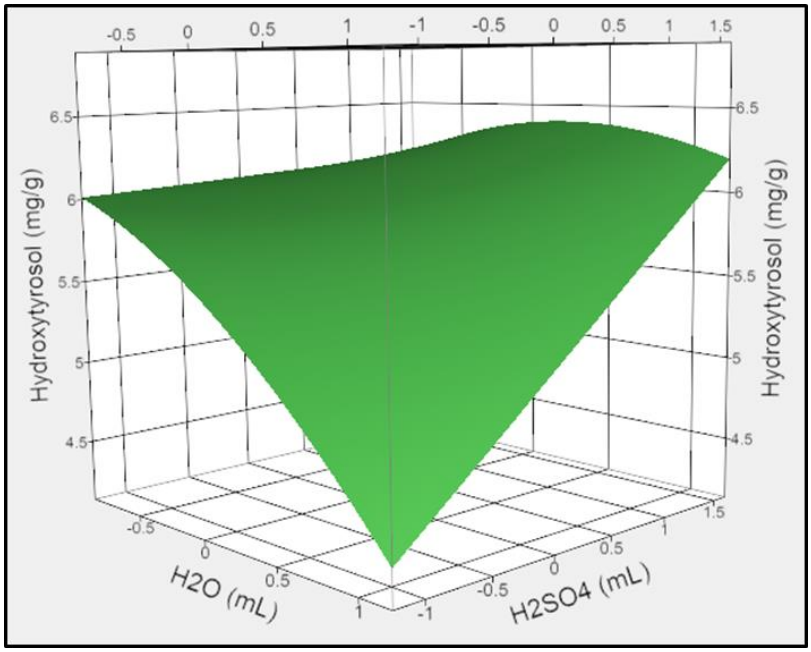
Σύμφωνα με τον παραπάνω πίνακα η πολυωνυμική 2ου βαθμού εξίξωση προσαρμογής του μοντέλου γίνεται :

$$Y_{hydrox.} = bb1 + bb2 * X_1 + bb3 * X_2 + bb4 * X_1 * X_2 + bb5 * X_1^2 + bb6 * X_2^2$$

Πίνακας 18: Εκτίμηση παραμέτρων 2ου στατιστικού μοντέλου για τυροσόλη

Παράμετρος	Εκτίμηση	t Ratio
bb1	3.5625	
bb2	0.02261	0.314
bb3	0.1757	2.44
bb4	-0.5975	-5.87
bb5	0.054375	0.6756
bb6	0.3994	4.962

Βέλτιστο σημείο για υδροξυτυροσόλη



Γράφημα 2: Γραφική απεικόνιση της επιφάνειας του 2ου στατιστικού μοντέλου

Από την εξίσωση του μοντέλου βρέθηκε ότι το βέλτιστο σημείο βρίσκεται στις τιμές X_1= 0,104 που αποκωδικοποιείται σε 304 ml απιονισμένου νερού για αραίωση και X_2= 1,414 που αποκωδικοποιείται σε 3,5 ml θειικού οξέος.

3.5 Επικύρωση μοντέλου στις βέλτιστες συνθήκες

Στις βέλτιστες συνθήκες η εξίσωση προσαρμογής του 2^{ου} στατιστικού μοντέλου θεωρητικά δίνει 6,4 mg υδροξυτυροσόλης / g ξηρής μάζας αποβλήτου. Τα αποτελέσματα του πειράματος της υδροθερμικής επεξεργασίας στις βέλτιστες συνθήκες παρουσιάζονται στον Πίνακα 19.

Πίνακας 19: Αποτελέσματα πειράματος στις βέλτιστες συνθήκες

HYDROXYTYROSOL	TYROSOL	OLEUROPEIN	TPC
mg/g Dry	mg/g Dry	mg/g Dry	mg/g Dry
6.51	4.93	1.40	24.82

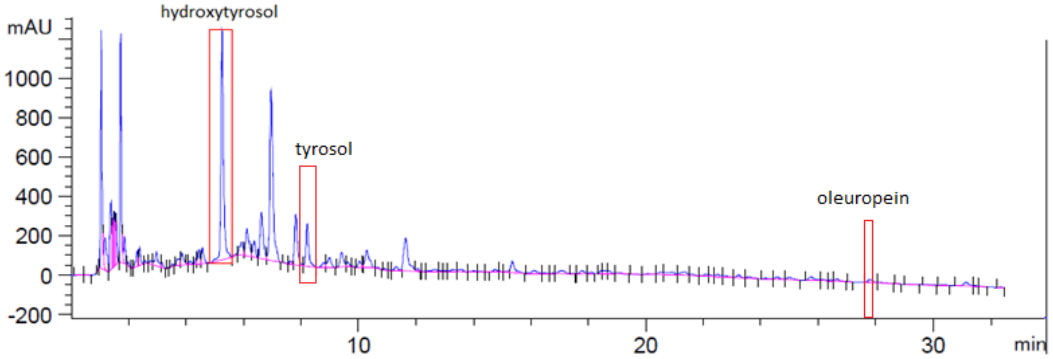
Παρατηρείται ότι η απόκλιση ανάμεσα στην πειραματική και θεωριτική τιμή είναι 0,11 mg υδροξυτυροσόλης / g ξηρού αποβλήτου. Η απόκλιση είναι μικρότερη του 5%, οπότε το στατιστικό μοντέλο θεωρείται αξιόπιστο.

3.6 HPLC-DAD

Το μήκος κύματος ποσοτικού προσδιορισμού, ο χρόνος κατακράτησης (RT) και το εύρος βαθμονόμησης για την Υδροξυτυροσόλη, την Τυροσόλη και την Ελευρωπαΐνη παρουσιάζονται στον Πίνακα 20.

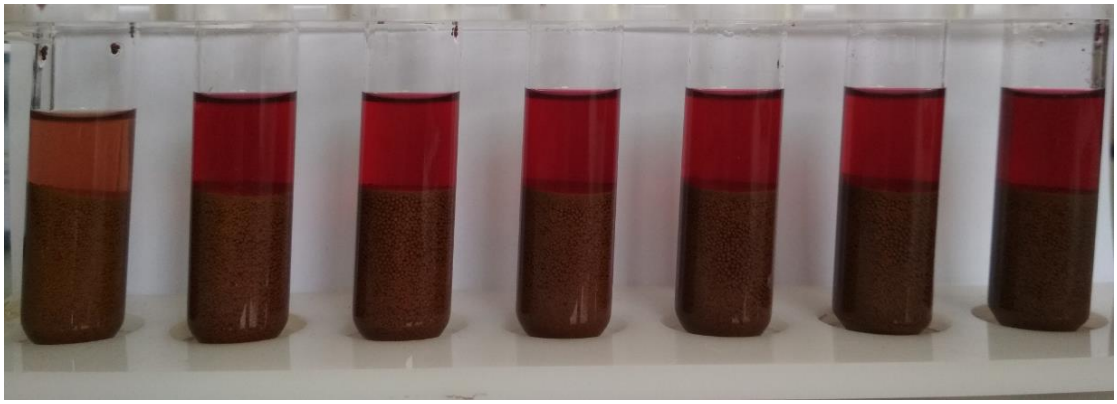
Πίνακας 20: Μετρήσεις HPLC-DAD

Κορυφή #	Συστατικό	Χρόνος Ανάσχεσης R_T (min)	Μήκος Κύματος Ποσοτικού Προσδιορισμού (nm)	Εύρος Βαθμονόμησης (mg/L)
1	Υδροξυτυροσόλη	5.2	214	0.125, 0.25, 0.5, 1
2	Τυροσόλη	7.9	214	0.125, 0.25, 0.5, 1
3	Ελευρωπαΐνη	28.4	280	0.125, 0.25, 0.5, 1



Γράφημα 3: Γράφημα απορρόφησης φαινολικών συστατικών στη HPLC-DAD

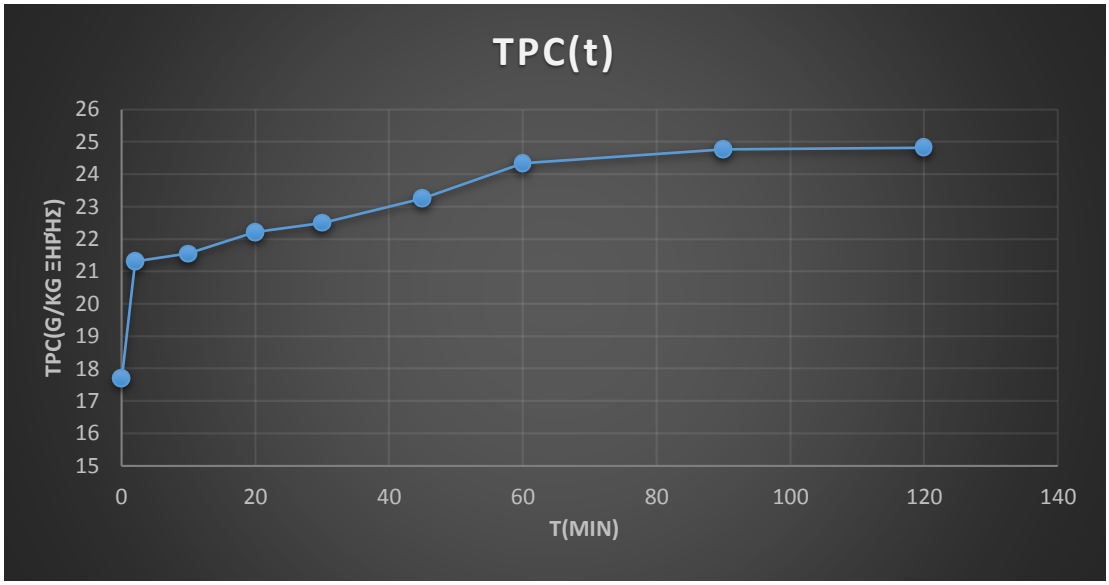
3.7 Κινητική Εξαγωγής Φαινολικών Συστατικών



Εικόνα 26: Δείγματα για τον προσδιορισμό της κινητικής για την απομάκρυνση των φαινολικών συστατικών

Σύγκριση Κινητικών Μοντέλων

Ο σκοπός είναι να εκτιμηθούν οι κινητικές παράμετροι γύρω από την διαδικασία εξαγωγής των φαινολικών ενώσεων. Παρατηρούμε ότι η συσχέτισή του ολικού φαινολικού περιεχομένου με το χρόνο [TPC(t)] είναι μη γραμμική.



Γράφημα 4: Γράφημα ολικού φαινολικού περιεχομένου (g/kg ξηρής μάζας) σε συνάρτηση με το χρόνο

- <u>Κινητική Πρώτης τάξης</u>

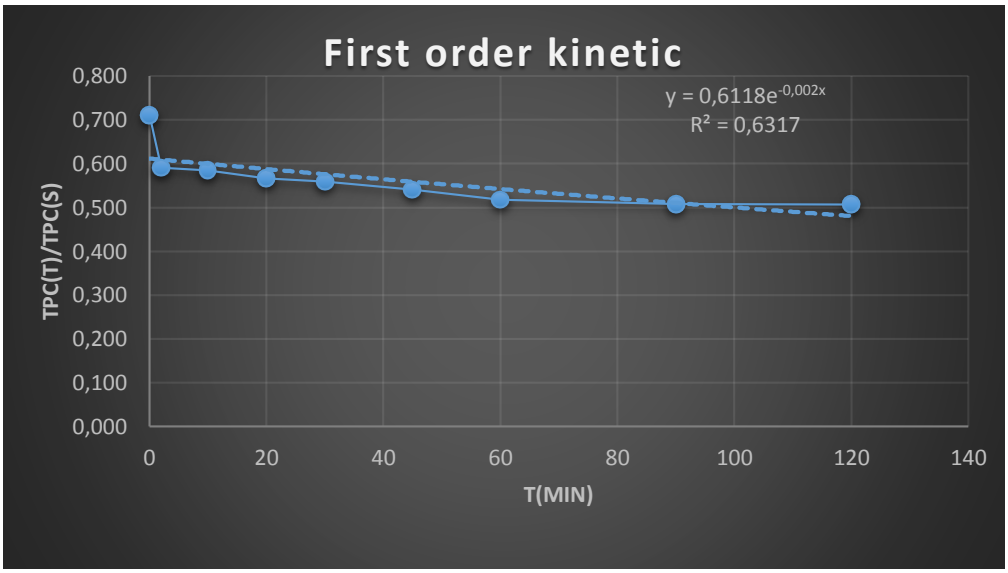
Η εξίσωση που περιγράφει το παρακάτω μοντέλο κινητικής πρώτης τάξης είναι :

$$\mathrm{TPC(t)} = \mathrm{TPC(s)} * \exp(-\mathrm{k} * \mathrm{t})$$

<u>όπου:</u> TPC(t): το ολικό φαινολικό περιεχόμενο την στιγμή t

TPC(s): το ολικό φαινολικό περιεχόμενο την χρονική στιγμή t=120 min

k: παράμετρος της κινητικής



Γράφημα 5: Γράφημα προσαρμογής σε μοντέλο κινητικής 1ης τάξης

Από την εκθετική εξίσωση προσαρμογής στην καμπύλη [TPC(t)/TPC(s)](t) προκύπτει η εξίσωση $y = 0.666 * \exp(-0.002 * x)$, που είναι της μορφής $y = \mathrm{a} * \exp(-\mathrm{k} * \mathrm{t})$. Ωστόσο ο συντελεστής προσαρμογής, R^2=0.6318 και ότι το a≠1, μας δείχνει ότι το μοντέλο δεν ανταποκρίνεται στην κινητική εξαγωγής των φαινολικών ενώσεων.

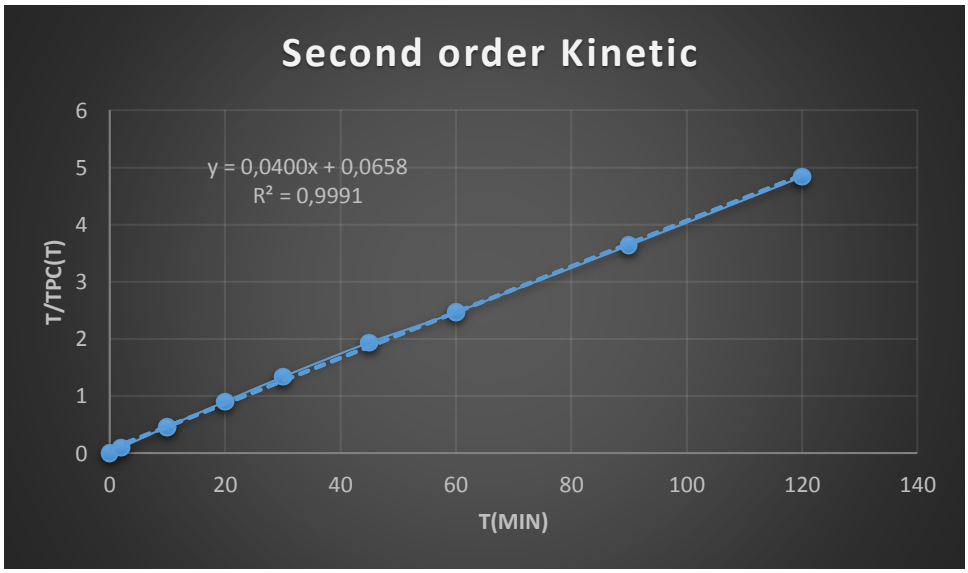
- <u>Κινητική Δεύτερης τάξης</u>

Η γραμμικοποιημένη εξίσωση που περιγράφει το παρακάτω μοντέλο κινητικής δεύτερης τάξης είναι : $\frac{\mathrm{t}}{\mathrm{TPC(t)}} = \frac{1}{\mathrm{TPC(s)}} * \mathrm{t} + \frac{1}{\mathrm{k} * \mathrm{TPC(s)}^2}$

όπου: TPC(t): το ολικό φαινολικό περιεχόμενο την στιγμή t

TPC(s): το ολικό φαινολικό περιεχόμενο την χρονική στιγμή t=120 min

k: παράμετρος της κινητικής



Γράφημα 6: Γράφημα προσαρμογής σε μοντέλο κινητικής 2ης τάξης

Από την γραμμική εξίσωση προσαρμογής στην καμπύλη [t/TPC(t)](t) προκύπτει η εξίσωση $y = 0.0435 * x + 0.0716$ που είναι της μορφής $y = \mathrm{a} * \mathrm{x} + \mathrm{b}$.

Η κινητική παράμετρος k είναι ίση με k=0.0264 g/(kg*min) και το TPC(s) = 22.99 g GAE/ kg dry weight olive waste. Ο συντελεστής προσαρμογής R^2>0.99 καθιστά αξιόπιστο τον καθορισμό των κινητικών παραμέτρων που περιγράφουν την διαδικασία εξαγωγής των φαινολικών ενώσεων από το απόβλητο του 2-φασικού ελαιοτριβείου.

Η προσαρμογή στο μοντέλο 2ης τάξης μπορεί να υποδεικνύει ότι υπήρχαν δύο φάσεις που εμπλέκονταν στην εκχύλιση πολυφαινολών από το απόβλητο του

ελαιοτριβείου. Στην αρχή, υπήρχε υψηλός ρυθμός εκχύλισης, πιθανώς οφειλόμενος στα πιο πολικά μόρια. Μετά, ο ρυθμός απομάκρυνσης επιβραδύνθηκε σημαντικά, υποδεικνύοντας την εξαγωγή λιγότερο πολικών ουσιών.

4. Συμπεράσματα

Από τα παραπάνω δεδομένα παρατηρούμε ότι η μέγιστη απομάκρυνση φαινολικού περιεχόμενου πραγματοποιήθηκε στο πείραμα 16, Το πείραμα 16 πραγματοποιήθηκε με 100 g Α΄Ύλης, αραίωση με 300 ml απιονισμένου νερού, προσθήκη 3 ml θειικού οξέος, υπό συνεχή ανάδευση στις 300 rpm στους 60 ^{o}C, για 60 λεπτά. Η απομάκρυνση που παρατηρήθηκε είναι 90,8% του φαινολικού περιεχομένου του αποβλήτου. Το τελικό προϊόν περιέχει 6,91 mg/g ξηρής βάσης αποβλήτου Υδρόξυτυροσόλη, 5,14 mg/g ξηρής βάσης αποβλήτου Τυροσόλη και 1,73 mg/g ξηρής βάσης αποβλήτου Ελευρωπαΐνη.

Το πρώτο παραγοντικό πείραμα που αναπτύχθηκε έδειξε ότι αυξάνοντας την αραίωση του αποβλήτου και την ποσότητα του θειικού οξέος κατά την διαδικασία της οξίνισης αυξάνεται η ανακτήση του TPC. Γι'αυτό το λόγο πραγματοποιήθηκε και δεύτερο παραγοντικό πείραμα όπου μελετήθηκαν μόνο αυτοί οι δύο παράγοντες σε πιο αυξημένες τιμές. Το τελικό στατιστικό μοντέλο που αναπτύχθηκε μπορεί να προσωμοιώσει επιτυχώς τόσο την εκχύλιση του TPC όσο και των ποσοτήτων της υδροξυτυροσόλης και τυροσόλης. Τέλος, η κινητική της εκχύλισης μελετήθηκε στις βέλτιστες συνθήκες.

4.1 Προτάσεις Για Μελλοντική Εργασία

Η έρευνα και η ανάλυση πρόσφατων εγγράφων σχετικά με τα διπλώματα ευρεσιτεχνίας για την ανάκτηση φαινολικών αντιοξειδωτικών από απόβλητα ελαιοτριβείου δείχνουν ότι οι εταιρείες επιδιώκουν μια απλή, αποτελεσματική και μη δαπανηρή διαδικασία που παρέχει ένα συμπύκνωμα πλούσιο σε αντιοξειδωτικά, ιδιαίτερα σε υδροξυτυροσόλη, με υψηλή απόδοση και καθαρότητα. Ωστόσο έχουν γίνει σημαντικές ερευνητικές προσπάθειες, , παρόλα αυτά ο αριθμός των πατενταρισμένων συστημάτων που είχε σημαντική απόδοση είναι περιορισμένος. Το σύστημα που κατοχυρώθηκε με δίπλωμα ευρεσιτεχνίας από τον Fernández-Bolaños et al, 2005 εμπορευματοποιήθηκε και τα τελικά προϊόντα του διατίθενται στο εμπόριο (Fernández-Bolaños et 2006). Μερικές από τις τεχνικές που χρησιμοποιήθηκαν ως επί το πλείστων για την ανάκτηση πολυφαινολών από τα απόβλητα ελαιοτριβείου στο πρώιμες μελέτες είναι η εκχύλιση με οργανικό διαλύτη, η διήθηση, η χρωματογραφία απορρόφησης και η φυγοκέντριση. Οι πρόσφατες αιτήσεις διπλωμάτων ευρεσιτεχνίας χρησιμοποιούν υπερκρίσιμα υγρά αντί για οργανικούς διαλύτες στην διαδικασία εκχύλισης και

εφαρμόζουν εφαπτομενική υπερδιήθηση και συστήματα αντίστροφης ώσμωσης αντί συμβατικών διαδικασιών διήθησης. Όλες οι διαδικασίες που αναπτύσσονται συνήθως χρησιμοποιούν προ-επεξεργασίες όπως αραίωση, όξινη ή ενζυματική υδρόλυση και φυγοκέντριση για την απομάκρυνση των ακαθαρσιών από τα απόβλητα. Είναι αναμφισβήτητο ότι αυτές οι μέθοδοι παρουσιάζουν κάποια πολυπλοκότητα που προκύπτει όχι μόνο από το κόστος και τα λειτουργικά χαρακτηριστικά τους, αλλά και από τα χημικά χαρακτηριστικά των αποβλήτων.

Παρόλο που αυτές οι τεχνικές ελαχιστοποιούν τα απόβλητα που παράγονται κατά τη διαδικασία ανάκτησης, οι απαιτήσεις τους σε εξοπλισμό υψηλής πίεσης ή ακριβών μεμβρανών τις εμποδίζουν από το να γίνουν οικονομικά εφικτές διεργασίες για την ανάκτηση αντιοξειδωτικών από απόβλητα ελαιοτριβείου. Το ενδιαφέρον για τεχνολογίες μεμβράνης στην επεξεργασία υποπροϊόντων ελαιόλαδου δείχνει ότι η μελλοντική κατεύθυνση των διεργασιών για την ανάκτηση αντιοξειδωτικών από τα απόβλητα ελαιοτριβείου είναι προφανώς προς τη χρήση μεμβρανών σε διαδοχικό σχεδιασμό. Οι περαιτέρω αναπτυγμένες διαδικασίες θα ενδέχεται να περιλαμβάνουν προηγμένες μεμβράνες, συσκευές νάνο-διήθησης, συσκευές υπερ.-διήθησης, αντίστροφη ώσμωση καθώς και ορισμένες ενζυματικές και υδροθερμικές προ-επεξεργασίες για την παροχή υψηλότερης καθαρότητας στο ανακτηθέν αντιοξειδωτικό, και πιθανότατα θα είναι σε θέση να χρησιμοποιήσουν και άλλα υποπροϊόντα. Η βελτίωση της αντιοξειδωτικής σταθερότητας κατά την διαδικασία ανάκτησης των φαινολικών συστατικών αποτελεί ένα άλλο θέμα που πρέπει να θεωρείται σημαντικό για τις περαιτέρω μελέτες

5. Βιβλιογραφία

5.1 Ξένη Βιβλιογραφία

Achat, S., Tomao, V., Madani, K., Chibane, M., Elmaataoui, M., Dangles, O., & Chemat, F. (2012). Direct enrichment of olive oil in oleuropein by ultrasound-assisted maceration at laboratory and pilot plant scale. Ultrasonics Sonochemistry, 19, 777–786.

Alburquerque, J.A., Gonzálvez, J., García, D., Cegarra, J., (2004), "Agrochemical characterisation of "alperujo": a solid by-product of the two-phasecentrifugation method for olive oil extraction", Bioresour. Technol., Vol. 91, pp. 195– 200.

Andreadou, I., Papaefthimiou, M., Zira, A., Constantino, M., Sigala, F., Skaltsounis, A.-L., Tsantili-Kakoulidou, A., Iliodromitis, E. K., Kremastinos, D. T., & Mikros, E. (2009). Metabonomic identification of novel biomarkers in doxorubicin cardiotoxicity and protective effect of the natural antioxidant oleuropein. NMR in Biomedicine, 22, 585–592.

Andreadou, I., Sigala, F., Iliodromitis, E. K., Papaefthimiou, M.,Sigalas, C., Aligiannis, N., Savvari, P., Gorgoulis, V., Papalabros, E., & Kremastinos, D. T. (2007). Acute doxorubicin cardiotoxicity is successfully treated with the phytochemical oleuropein through suppression of oxidative and nitrosative stress. Journal of Molecular and Cellular Cardiology, 42, 549–558.

Alirezaei, M., Dezfoulian, O., Neamati, S., Rashidipour, M., Tanideh, N., & Kheradmand, A. (2012). Oleuropein prevents ethanol-induced gastric ulcers via elevation of antioxidant enzyme activities in rats. Journal of Physiology and Biochemistry, 68, 583–592.

Antonio Serrano, Fernando G. Fermoso , Bernab_e Alonso-Fari~nas, Guillermo Rodríguez-Gutierrez, Juan Fernandez-Bola~nos. Rafael Borja, Journal of Cleaner Production 148 (2017) 314e323 Olive mill solid waste biorefinery: High-temperature thermal pretreatment for phenol recovery and biomethanization

Azbar, N., Bayram, A., Filibeli, A., Muezzinoglu, A., Sengul, F. & Ozer, A. (2004), A Review of Waste Management Options in Olive Oil Production, Critical Reviews in Environmental Science and Technology, Volume 34(3), pp 209 – 247.

Ben Salah, M., Abdelmelek, H., & Abderrabba, M. (2013). Effect of olive leaves extract on metabolic disorders and oxidative stress induced by 2.45 GHz WIFI signals. Environmental Toxicology and Pharmacology, 36, 826–834.

Bisignano, G., Tomaino, A., Lo Cascio, R., Crisafi, G., Uccella, N., & Saija, A. (1999). On the in-vitro antimicrobial activity of oleuropein and hydroxytyrosol. The Journal of Pharmacy and Pharmacology, 51(8), 971–974.

Bouaziz, M., Fki, I., Jemai, H., Ayadi, M., & Sayadi, S. (2008). Effect of storage on refined and husk olive oils composition: Stabilisation by addition of natural antioxidants from Chemlali olive leaves. Food Chemistry, 108, 253–262.

Braga, P. C., Mancini, L., Guffanti, E. E., Dal Sasso, M., Sala, M., & Reggio, S. (1997). Effects of nedocromil sodium on the oxidative burst of polymorphonuclear leukocytes: Comparison with salbutamol. Drugs Under Experimental and Clinical Research, 23(1), 33–38.

Brenes M, Castro A. Procedure is for obtaining phenolics extract with high concentration of anti-oxidants and involves ultra-filtration of solutions derived from preparation process of preserved table olives. Patent N° ES2186467 (01.05.2003).

Camargo, A., Ruano, J., Fernandez, J. M., Parnell, L. D., Jimenez, A., Santos-Gonzalez, M., ... Perez-Jimenez, F. (2010). Gene expression changes in mononuclear cells in patients with metabolic syndrome after acute intake of phenol-rich virgin olive oil. BMC Genomics, 11, 253.

Cao, K., Xu, J., Zou, X., Li, Y., Chen, C., Zheng, A., ... Feng, Z. (2014). Hydroxytyrosol prevents diet-induced metabolic syndrome and attenuates mitochondrial abnormalities in obese mice. Free Radical Biology & Medicine, 67, 396–407.

Calero J, Martinez L, Garcia-Granados A. Procedimiento de aprovechamiento del alpechin para la obtencion de acidos, fenoles, alcohols y derivados mediante extraccion en contracorriente. Patent N° ES2051238 (16.05.1994).

Carrera-González, M. P., Ramírez-Expósito, M. J., Mayas, M. D., & Martinez-Martos, J. M. (2013). Protective role of oleuropein and its metabolite hydroxytyrosol on cancer. Trends in Food Science & Technology, 31, 92–99.

Casaburi, I., Puoci, F., Chimento, A., Sirianni, R., Ruggiero, C., Avena, P., & Pezzi, V. (2013). Potential of olive oil polyphenols as chemopreventive and therapeutic agent against cancer: A review of in vitro studies. Molecular Nutrition and Food Research, 57, 71–83.

Cicerale, S., Conlan, X. A., Sinclair, A. J., & Keast, R. S. J. (2009). Chemistry and health of olive oil phenolics. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 49(3), 218–236.

Chaudhry, J., Ghosh, N. N., Roy, K., & Chandra, R. (2007). Antihyperglycemic effect of a new thiazolidinedione analogue and its role in ameliorating oxidative stress in alloxan-induced diabetic rats. Life Sciences, 80(12), 1135–1142.

Charrouf Z. and D. Guillaume, Phenols and Polyphenols from Argania spinosa. American Journal of Food Technology, 2007, 2, pages 679-683, doi:10.3923/ajft.2007.679.683

Cornier, M. A., Dabelea, D., Hernandez, T. L., Lindstrom, R. C., Steig, A. J., Stob, N. R., Eckel, R. H. (2008). The metabolic syndrome. Endocrine Reviews, 29(7), 777–822.

Covas, M.-I., Nyyssönen, K., Poulsen, H. E., Kaikkonen, J., Zunft, H.-J. F., Kiesewetter, H., Gaddi, A., de la Torre, R., Mursu, J., Bäumler, H., Nascetti, S., Salonen, J. T., Fitó, M., Virtanen, J., & Marrugat, J. (2006). The effect of virgin and refined olive oils on heart disease risk factors. Annals of Internal Medicine, 145, 333–341.

Crea R. Method of obtaining a hydroxytyrosol-rich composition from vegetation water. Patent n°: WO0218310. (9.08.2002).

Crisante, F., Taresco, V., Donelli, G., Vuotto, C., Martinelli, A., D'Ilario, L., ... Piozzi, A. (2015). Antioxidant Hydroxytyrosol-based Polyacrylate with antimicrobial and antiadhesive activity versus staphylococcus epidermidis. Advances in Experimental Medicine and Biology, 901, 25–36.

Cuomo J, Rabovskiy AB. Antioxidant compositions extracted from olives and olive by-products. Patent n°: WO0145514. (1999).

Czerwinska, M., Kiss, A. K., & Naruszewicz, M. (2012). A comparison of antioxidant activities of oleuropein and its dialdehydic derivative from olive oil, oleacin. Food Chemistry, 131, 940–947.

Dakanski, D., Ristic´ , S., & Mitrovic´ , D. M. (2009). Antioxidant effect of dry olive (Olea europaea L.) leaf extract on ethanol-induced gastric lesions in rats. Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism, 2, 205–211.

Dandona, P., Aljada, A., Chaudhuri, A., Mohanty, P., & Garg, R. (2005). Metabolic syndrome: A comprehensive perspective based on interactions between obesity diabetes and inflammation. Circulation, 111(11), 1448–1454.

De Bock, M., Thorstensen, E. B., Derraik, J. G. B., Henderson, H. V., Hofman, P. L., & Cutfield, W. S. (2013). Human absorption and metabolism of oleuropein and hydroxytyrosol ingested as olive (Olea Europaea L,) leaf extract. Molecular Nutrition & Food Research, 57(11), 2079–2085.

De Nicoló, S., Tarani, L., Ceccanti, M., Maldini, M., Natella, F., Vania, A., Chaldakov, G. N., & Fiore, M. (2013). Effects of olive polyphenols administration on nerve growth facto rand brain-derived neurotrophic factor in the mouse brain. Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.), 29, 681– 687.

Demasi, M., & Laurindo, F. R. M. (2012). Physiological and pathological role of the ubiquitin-proteasome system in the vascular smooth muscle cell. Cardiovascular Research, 95, 183– 193.

Dexter, D. T., & Jenner, P. (2013). Parkinson disease: From pathology to molecular disease mechanisms. Free Radical Biology and Medicine, 62, 132–144.

Domitrovic´ , R., Jakovac, H., Marchesi, V. V., Šain, I., Romic´ , Ž., & Rahelic´ , D. (2012). Preventive and therapeutic effects of oleuropein against carbon tetrachloride-induced liver damage in mice. Pharmacological Research, 65, 451–464.

Ebaid, G. M. X., Seiva, F. R. F., Rocha, K. K. H. R., Souza, G. A., & Novelli, E. L. B. (2010). Effects of olive oil and its minor phenolic constituents on obesity-induced cardiac metabolic changes. Nutrition Journal, 9, 46.

El-Abbassi A, Kiai H, Hafidi A, Garcı´a-Payo M, Khayet M (2012) Treatment of olive mill waste by membrane distillation using polytetrafluoroethylene membranes. Sep Purif Technol 98:55–61

Elamin, M. H., Daghestani, M. H., Omer, S. A., Elobeid, M. A., Virk, P., Al-Olayan, E. M., Hassan, Z. K., Mohammed, O. B., & Aboussekhra, A. (2013). Olive oil oleuropein has anti-breast cancer properties with higher efficiency on ER-negative cells. Food and Chemical Toxicology, 53, 310–316.

Erguder T.H., E.Guven, G.N. Demier (2000). Anaerobic treatment of olive mill wastes in batch reactors. Process Biochemistry,36, 243-348.

Fang, H.-L., Lai, J.-T., & Lin,W.-C. (2008). Inhibitory effect of olive oil on fibrosis induced by carbon tetrachloride in rat liver. Clinical Nutrition, 27, 900–907.

Fátima Rubio-Senent, Guillermo Rodríguez-Gutiérrez, Antonio Lama-Muñoz, Juan Fernández-Bolaños,(2013) Phenolic extract obtained from steam-treated olive oil waste: Characterization and antioxidant activity

Fátima Rubio-Senent, Juan Fernández-Bolaños, Aránzazu García-Borrego, Antonio Lama-Muñoz,Guillermo Rodríguez-Gutiérrez, Food Chemistry 219 (2017) 339–345 Influence of pH on the antioxidant phenols solubilised fromhydrothermally treated olive oil by-product (alperujo)

Fernández-Bolaños, J., Heredia, A., Rodrigues, G.G., Rodriguez, A.R., Jeminez, A.A., Guillen, B.R.: US20056849770 (**2005**).

Fernández-Bolaños J, Rodríguez G, Rodríguez R, Guillén R, Jiménez A. Extraction of interesting organic compounds from olive oil waste. Grasas y Aceites 2006; 57(1): 95-106

Fito, M., Cladellas, M., de la Torre, R., Marti, J., Munoz, D., Schroder, H., ... Covas, M. I. (2008). Anti-inflammatory effect of virgin olive oil in stable coronary disease

patients: A randomized crossover controlled trial. European Journal of Clinical Nutrition, 62(4), 570–574.

Fuentes, E., & Palomo, I. (2014). Antiplatelet effects of natural bioactive compounds by multiple targets: Food and drug interactions. Journal of Functional Foods, 6, 73–81.

Garcia-Castello E, Cassano A, Criscuoli A, Conidi C, Drioli E (2010) Recovery and concentration of polyphenols from olive mill waste by integrated membrane system. Water Res 44:3883–3892

Giovannini C, Straface E, Modesti D, Coni E, Cantafora A, De Vincenzi M, Malorni W, Masella R (1999). "Tyrosol, the major olive oil biophenol, protects against oxidized-LDL-induced injury in Caco-2 cells". J. Nutr. 129 (7): 1269–1277. PMID 10395586.

Giner, E., Andújar, I., Recio, M.-C., Ríos, J. L., Cerdá-Nicolás, J. M., & Giner, R. M. (2011). Oleuropein ameliorates acute colitis in mice. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 59, 12882–12892.

Gonzalez-Correa, J. A., Navas, M. D., Lopez-Villodres, J. A., Trujillo, M., Espartero, J. L., & De La Cruz, J. P. (2008). Neuroprotective effect of hydroxytyrosol and hydroxytyrosol acetate in rat brain slices subjected to hypoxia-reoxygenation. Neuroscience Letters, 446(2–3), 143–146.

Gonzalez-Santiago M, et al. One-month administration of hydroxytyrosol, a phenolic antioxidant present in olive oil, to hyperlipemic rabbits improves blood lipid profile, antioxidant status and reduces atherosclerosis development. Atherosclerosis. 2006 Sep;188(1):35-42.

Gonzalez-Santiago, M., Fonolla, J., & Lopez-Huertas, E. (2010). Human absorption of a supplement containing purified hydroxytyrosol a natural antioxidant from olive oil and evidence for its transient association with low-density lipoproteins. Pharmacological Research, 61(4), 364–370.

Goulas, V., Exarchou, V., Troganis, A. N., Psomiadou, E., Fotsis, T., Briasoulis, E., & Gerothanassis, I. P. (2009). Phytochemicals in olive-leaf extracts and their antiproliferative activity against cancer and endothelial cells. Molecular Nutrition and Food Research, 53, 600–608.

Goya, L., Mateos, R., & Bravo, L. (2007). Effect of the olive oil phenol hydroxytyrosol on human hepatoma HepG2 cells, protection against oxidative stress induced by tertbutylhydroperoxide. European Journal of Nutrition, 46(2), 70–78.

Granados-Principal, S., El-Azem, N., Pamplona, R., Ramirez-Tortosa, C., Pulido-Moran, M., Vera-Ramirez, L., & Ramirez-Tortosa, M. C. (2014). Hydroxytyrosol ameliorates oxidative stress and mitochondrial dysfunction in doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats with breast cancer. Biochemical Pharmacology, 90(1), 25–33.

Granados-Principal, S., Quiles, J. L., Ramirez-Tortosa, C. L., Sanchez-Rovira, P., & Ramirez-Tortosa, M. C. (2010). Hydroxytyrosol: From laboratory investigations to future clinical trials. Nutrition Reviews, 68(4), 191–206.

Gumieniczek, A. (2005). Effects of pioglitazone on hyperglycemia-induced alterations in antioxidative system in tissues of alloxan-treated diabetic animals. Experimental and Toxicologic Pathology, 56(4–5), 321–326.

Hagiwara K, et al. Olive polyphenol hydroxytyrosol prevents bone loss. Eur J Pharmacol. 2011 Jul 15;662(1-3):78-84.

Hamden, K., Allouche, N., Damak, M., & Alkefi, A. (2009). Hypoglycaemic and antioxidant effects of phenolic extracts and purified hydroxytyrosol from olive mill waste in vitro and in rats. Chemico-Biological Interactions, 180, 421–432.

Hamdi, H. K., & Castellon, R. (2005). Oleuropein, a non-toxic olive iridoid, is an anti-tumor agent and cytoskeleton disruptor. Biochemical and Biophysical Research Communications, 434, 769–778.

Han, J., Talorete, T. P. N., Yamada, P., & Isoda, H. (2009). Antiproliferative and apoptotic effects of oleuropein and hydroxytyrosol on human breast cancer MCF-7 cells. Cytotechnology, 59, 45–53.

Hao J, et al. Hydroxytyrosol promotes mitochondrial biogenesis and mitochondrial function in 3T3-L1 adipocytes. J Nutr Biochem. 2010 Jul;21(7):634-44.

Hatzinikolaou, D.G. (2007). Management and Explpoitation of Oil-Mill Wastes in the Area of the National Marine Park of Zakynthos. National and Kapodistrian University of Athens. Athens.

He J, Alister-Briggs M, Td Lyster, Jones GP (2012) Stability andantioxidant potential of purified olive mill waste extracts. Food Chem 131:1312–1321

Hmimeda, S., Belarbia, M., & Visioli, F. (2016). Hydroxytyrosol augments the redox status tyb of high fat diet-fed rats. PharmaNutrition, 4, 139–142.

Huang D., Ou B. and Prior RL. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53, pp. 1841-1856

Katsoyannos E, Chatzilazarou A, Gortzi O, Lalas S, Konteles S, Tataridis P (2006) Application of cloud point extraction using surfactants in the isolation of physical antioxidants (phenols) from olive mill waste. Fresenius Environ Bull 15:1122

Kim, S. W., Hur,W., Li, T. Z., Lee, Y. K., Choi, J. E., Hong, S. W., Lyoo, K.-S., You, C. R., Jung, E. S., Park, T., Um, S.-J., & Yoon, S. K. (2014). Oleuropein prevents the progression of steatohepatitis to hepatic fibrosis induced by high-fat diet in mice. Experimental and Molecular Medicine, 46, e92. doi:10.1038/ emm.2014.10.

Inass Leouifoudi, Abdelmajid Zyad, Ali Amechrouq, Moulay Ali Oukerrou, Hassan Ait Mouse, Mohamed Mbarki, Food Sci. Technol, Campinas, 34(2): 249-257, Apr.-June 2014 Identification and characterisation of phenolic compounds extracted from Moroccan olive mill wastewater

Jemai, H., Bouaziz, M., Fki, I., El Feki, A., & Sayadi, S. (2008). Hypolipidimic and antioxidant activities of oleuropein and its hydrolysis derivative-rich extracts from Chemlali olive leaves. Chemico-Biological Interactions, 176, 88–98.

Khayyal, M. T., el-Ghazaly, M. A., Abdallah, D. M., Nassar, N. N., Okpanyi, S. N., & Kreuter, M. H. (2002). Blood pressure lowering effect of an olive leaf extract (Olea europaea) in L-NAME induced hypertension in rats. Arzneimittel-Forschung, 52(11), 797–802.

Kyriakopoulou, K., Katsanou, E., Machera, K., & Charistou, A. (2012). Oleuropein protects HepG2 cells against oxidative stress-induced DNA damage. Toxicology Letters, 211(Suppl.), S106.

L. Lesage-Meessena,, D. Navarro, S. Maunier, J-C. Sigoillot, J. Lorquin M. Delattre, J-L. Simon, M. Asther, M. Labat, Food Chemistry 75 (2001) 501–507, Simple phenolic content in olive oil residuesas a function of extraction systems

Lin, H. M., Yen, F. L., Ng, L. T., & Lin, C. C. (2007). Protective effects of Ligustrum lucidum fruit extract on acute butylated hydroxytoluene-induced oxidative stress in rats. Journal of Ethnopharmacology, 111, 129–136.

Liu, Z. H., Fan, W., & Chen, R. C. (2015). 34-Dihydroxyphenylethanol suppresses irradiation-induced pulmonary fibrosis in adult rats. International Journal of Clinical and Experimental Pathology, 8(4), 3441–3450.

Loumou, A. & Giourga, C. (2003), Olive groves: The life and identity of the Mediterranean, Agriculture and Human Values, Volume 20, pp 87 – 95.

Mancebo-Campos, V., Salvador, M. D., & Fregapane, G. (2014). Antioxidant capacity of individual and combined virgin olive oil minor compounds evaluated at mild temperature (25 and40 °C) as compared to accelerated and antiradical assays. Food Chemistry, 150, 374–381.

Manna, C., Migliardi, V., Golino, P., Scognamiglio, A., Galletti, P., Chiariello, M., & Zappia, V. (2004). Oleuropein prevents oxidative myocardial injury induced by ischemia and reperfusion. Journal of Nutritional Biochemistry, 15, 461– 466.

Martin, M. A., Ramos, S., Granado-Serrano, A. B., Rodriguez-Ramiro, I., Trujillo, M., Bravo, L., & Goya, L. (2010). Hydroxytyrosol induces antioxidant/detoxificant enzymes and Nrf2 translocation via extracellular regulated kinases and phosphatidylinositol-3-kinase/protein kinase B pathways in HepG2 cells. Molecular Nutrition & Food Research, 54(7), 956–966.

Medina, E., de Castro, A., Romero, C., & Brenes, M. (2006). Comparison of the concentrations of phenolic compounds in olive oils and other plant oils: Correlation with antimicrobial activity. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54(14), 4954–4961.

Medina-Martinez, M. S., Truchado, P., Castro-Ibanez, I., & Allende, A. (2016). Antimicrobial activity of hydroxytyrosol: A current controversy. Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 80(4), 801–810.

Mijatovic, S. A., Timotijevic, G. S., Miljkovic, D. M., Radovic, J. M., Maksimovic-Ivanic, D. D., Dekanski, D. P., & Stosic-Grujicic, S. D. (2011). Multiple antimelanoma potential of dry olive leaf extract. International Journal of Cancer, 128, 1955–1965.

Miró-Casas E, Covas M, Fitó M, Farré-Albadalejo M, Marrugat J, de la Torre R (2003). "Tyrosol and hydroxytyrosol are absorbed from moderate and sustained doses of virgin olive oil in humans". European journal of clinical nutrition. 57 (1): 186–190. doi:10.1038/sj.ejcn.1601532. PMID 12548315

Mohagheghi, F., Bigdeli, M. R., Rasoulian, B., Hashemi, P., & Pour, M. R. (2011). The neuroprotective effect of olive leaf extract is related to improved blood–brain barrier permeability and brain edema in rat with experimental focal cerebral ischemia. Phytomedicine: International Journal of Phytotherapy and Phytopharmacology, 18, 170–175.

Mootoosamy, A., & Mahomoodally, M. F. (2014). Ethnomedicinal application of natives remedies used against diabetes and related complications in Mauritius. Journal of Ethnopharmacology, 151, 413–444.

Motilva, Y., Sánchez-Fidalgo, S., Barranco, M. D., Herrerías, J. M., & de la Lastra, C. A. (2008). Mechanisms of increased gastric protection after NSAID-administration in rat consuming virgin olive oil diets. E-SPEN, The European e-Journal of Clinical Nutrition and Metabolism, 3, e9–e16.

Muñoz-Marin, J., De La Cruz, J. P., Guerrero, A., Lopez-Leiva, I., Lopez-Villodres, J. A., Reyes, J. J., ... Gonzalez-Correa, J. A. (2012). Cytoprotective effect of hydroxytyrosyl alkyl ether derivatives after oral administration to rats in a model of glucose-oxygen deprivation in brain slices. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 60(31), 7659–7664.

O'Dowd, Y., Driss, F., Dang, P. M., Elbim, C., Gougerot-Pocidalo, M. A., Pasquier, C., & El- Benna, J. (2004). Antioxidant effect of hydroxytyrosol a polyphenol from olive oil: Scavenging of hydrogen peroxide but not superoxide anion produced by human neutrophils. Biochemical Pharmacology, 68(10), 2003–2008.

O.Folin and V.Ciocalteu, Journal of Biology and Chemistry,73,627,1927.

Oliveras-López, M.-J., Innocenti, M., Bermudo, F. M., de la Serrana, H. L.-G., & Mulinacci, N. (2012). Effect of extra virgin olive oil on glycaemia in healthy young subjects. European Journal of Lipid Science and Technology, 114, 999–1006.

Owen RW, Mier W, Giacosa A, Hull WE, Spiegelhalder B, Bartsch H. 2000. Phenolic compounds and squalene in olive oils: the concentration and antioxidant

potential of total phenols, single phenols, secoiridoids, lignans and squalene. Food and Chemical Toxicology 38, 647-659.

Pan, Z., Qu, W., Ma, H., Atungulu, G.G, McHugh, T.H., 2012, “Continuous and pulsed ultrasound-assisted extractions of antioxidants from pomegranate peel”, Ultrasonics Sonochemistry, 19: 365-372.

Perez-Jimenez F, Alvarez de Cienfuegos G, Badimon L, Barja et al. 2005. International conference on the healthy effect of virgin olive oil. Consensus report, Jaen (Spain) 2004. Eur. J. Clinical Investigation. 35, 421-424.

Petra Albahari, Mario Jug, Kristina Radić, Sanja Jurmanović, Mladen Brnčić, Suzana Rimac Brnčić, Dubravka Vitali Čepo, Food Science and Technology 92 (2018) 22–31 Characterization of olive pomace extract obtained by cyclodextrin-enhanced pulsed ultrasound assisted extraction

Poudyal, H., Campbell, F., & Brown, L. (2010). Olive leaf extract attenuates cardiac hepatic and metabolic changes in high carbohydrate- high fat-fed rats. The Journal of Nutrition, 140(5), 946–953.

Prior R.L., Wu X. and Schaich K. (2005). Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53, pp.4290-4302

Quiñones, M., Miguel, M., & Aleixandre, A. (2013). Beneficial effects of polyphenols on cardiovascular disease. Pharmacological Research, 68, 125–131.

Procopio, A., Alcaro, S., Nardi, M., Oliverio, M., Ortuso, F., Sacchetta, P., et al. (2009). Synthesis biological evaluation and molecular modeling of oleuropein and its semisynthetic derivatives as cyclooxygenase inhibitors. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 57(23), 11161–11167.

Rubió, L., Serra, A., Macià, A., Piñol, C., Romero, M.-P., & Motilva, M.-J. (2014). In vivo distribution and deconjugation of hydroxytyrosol phase II metabolites in red blood cells: A potential new target for hydroxytyrosol. Journal of Functional Foods, 10, 1–5.

Samuel SM, Thirunavukkarasu M, Penumathsa SV, Paul D, Maulik N (2008). "Akt/FOXO3a/SIRT1-Mediated Cardioprotection by n-Tyrosol against Ischemic Stress in Rat in Vivo Model of Myocardial Infarction: Switching Gears toward Survival and Longevity". Journal of Agricultural and Food Chemistry. 56 (20): 9692–8. doi:10.1021/jf802050h. PMC 2648870 . PMID 18826227.

Sanchez-Fidalgo S, et al. Influence of extra virgin olive oil diet enriched with hydroxytyrosol in a chronic DSS colitis model. Eur J Nutr. 2012 Jun;51(4):497-506.

Schaffer, S., Podstawa, M., Visioli, F., Bogani, P., Muller, W. E., & Eckert, G. P. (2007). Hydroxytyrosol-rich olive mill wastewater extract protects brain cells in vitro and ex vivo. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 55(13), 5043–5049.

Sepporta, M. V., Fucelli, R., Rosignoli, P., Ricci, G., Servili, M., Morozzi, G., & Fabiani, R. (2014). Oleuropein inhibits tumour growth and metastases dissemination in ovariectomised nude mice with MCF-7 human breast tumour xenograft. Journal of Functional Foods, 8, 269–273.

Susalit, E., Agus, N., Effendi, I., Tjandrawinata, R. R., Nofiarny, D., Perrinjaquet-Moccetti, T., & Verbruggen, M. (2011). Olive (Olea europaea) leaf extract effective in patients with stage 1-hypertension: Comparison with Captopril. Phytomedicine: International Journal of Phytotherapy and Phytopharmacology, 18, 251–258.

Tasset, I., Pontes, A. J., Hinojosa, A. J., de la Torre, R., & Tunez, I. (2011). Olive oil reduces oxidative damage in a 3-nitropropionic acid-induced Huntington's diseaselike rat model. Nutritional Neuroscience, 14(3), 106–111.

Torre, R., ... Sola, R. (2015). Protective effect of hydroxytyrosol and its predominant plasmatic human metabolites against endothelial dysfunction in human aortic endothelial cells. Molecular Nutrition & Food Research, 59, 2523–2536.

Vazquez-Velasco M, et al. Effects of hydroxytyrosol-enriched sunflower oil consumption on CVD risk factors. Br J Nutr. 2011 May;105(10):1448-52.

Vermerris, W., Nickolson, R., (2006). Phenolic Compound Biochemistry. Dordrecht, The Netherlands: Springer.

Vierhuis E, Servili M, Baldioli M, Schols HA, Voragen AGJ, Montedoro G. 2001 a. Effect of enzyme treatment during mechanical extraction of olive oil on phenolic compounds and polysaccharides J. Agric. Food Chem 49, 1218-1223.

Visen, P., Saraswat, B., Visen, A., Roller, M., Bily, A., Mermet, C., He, K., Bai, N., Lemaire, B., Lafay, S., & Ibarra, A. (2009). Acute effects of Fraxinus excelsior L. seed extract on postprandial glycemia and insulin secretion on healthy volunteers. Journal of Ethnopharmacology, 126, 226–232.

Visioli, F., Bellomo, G., & Galli, C. (1998). Free radical-scavenging properties of olive oil polyphenols. Biochemical and Biophysical Research Communications, 247(1), 60–64.

Vlyssides, A.G., Loizides, M., Karlis, P.K., 2004. Integrated strategic approach for reusing olive oil extraction by-products. Journal of Cleaner Production 12 (6), 603–611.

Warleta, F., Quesada, C. S., Campos, M., Allouche, Y., Beltran, G., & Gaforio, J. J. (2011). Hydroxytyrosol protects against oxidative DNA damage in human breast cells. Nutrients, 3(10), 839–857.

Zbidi, H., Salido, S., Altarejos, J., Perez-Bonilla, M., Bartegi, A., Rosado, J. A., & Salido, G. M. (2009). Olive tree wood phenolic compounds with human platelet antiaggregant properties. Blood Cells, Molecules and Diseases, 42, 279–285.

Zhang, X., Cao, J., & Zhong, L. (2009). Hydroxytyrosol inhibits pro-inflammatory cytokines iNOS and COX-2 expression in human monocytic cells. Naunyn Schmiedebergs Archives of Pharmacology, 379(6), 581–586.

Zhu L, et al. Hydroxytyrosol protects against oxidative damage by simultaneous activation of mitochondrial biogenesis and phase II detoxifying enzyme systems in retinal pigment epithelial cells. J Nutr Biochem. 2010 Nov;21(11):1089-98.

Zoric, N., Horvat, I., Kopjar, N., Vucemilovic, A., Kremer, D., Tomic, S., & Kosalec, I. (2013). Hydroxytyrosol expresses antifungal activity in vitro. Current Drug Targets, 14(9), 992–998.

5.2 Ελληνική Βιβλιογραφία

Α. Σ. Μηνιώτη, Ανάπτυξη νέων μεθόδων προσδιορισμού ολικής αντιοξειδωτικής ενργότητας και εφαρμογή στο ελαιόλαδο, Διδακτορική διατριβή, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα 2009.

Βολικάκη Χρυσή (2008), "Μέθοδοι επεξεργασίας υγρών και στερεών αποβλήτων ελαιοτριβείων", Μεταπτυχιακή εργασία, Πολυτεχνείο Κρήτης, Τμήμα Μηχανικών Περιβάλλοντος, Μεταπτυχιακό πρόγραμμα περιβαλλοντικής και υγειονομικής μηχανικής, Χανιά , Κρήτη

Γεωργίου Πέτρου Ι., "Διερεύνηση σεναρίων και ορίων εφαρμογής του παραγόμενου κατσίγαρου στα εδάφη του ελαιώνα Άμφισσας, με χρήση γεωγραφικών πληροφοριακών συστημάτων (Γ.Π.Σ.-GIS)",Μεταπτυχιακή διατριβή, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Αξιοποίησης Φυσικών Πόρων & Γεωργικής Μηχανικής, Εργαστήριο Γεωργικής Χημείας & Εδαφολογίας, Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών "Αξιοποίηση Φυσικών Πόρων & Γεωργική Μηχανική", Ειδίκευση : Εδαφολογία & Διαχείριση Εδαφικών Πόρων, Αθήνα 2010

Γκούμας Β. (2008) Επεξεργασία αποβλήτων ελαιοτριβείου και ο βιολογικός τους ρόλος, Διπλωματική εργασία, Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, Λάρισα

Κοψαχείλης, Α. (2009). Αναερόβια Χώνευση Υγρών Αποβλήτων Ελαιοτριβείου σε ένα περιοδικό αναερόβιο Αντιδραστήρα με Ανακλαστήρες (PABR) και Κλασματοποίηση των Εκροών. Αδημοσίευτη Μεταπτυχιακή Εργασία, Πανεπιστήμιο Πατρών, Πάτρα.

Μαρίνα Γκότση, 2004, Προεπεξεργασία υγρών αποβλήτων ελαιοτριβείου με ηλεκτροχημική οξείδωση, Πολυτεχνείο Κρήτης,Τμήμα Μηχανικών Περιβάλλοντος

Μ. Ε. Κωμαΐτης, Η σημασία της ποιότητας του ελαιολάδου και παράγοντες που την επηρεάζουν, Σημειώσεις για το μεταπτυχιακό πρόγραμμα ‘Χημική ανάλυση-έλεγχος ποιότητας’, Μάιος 2004.

Ναυροζίδης, Σ.Α. (2008). Αξιολόγηση των επιπτώσεων της επιφανειακής διάθεσης προεπεξεργασμένου κατσίγαρου σε καλλιέργειες καλαμποκίου. Αδημοσίευτη Διπλωματική Εργασία, Πολυτεχνείο Κρήτης, Χανία.

Τζαγκαράκη, Ε.Β.(2007). Συμβολή στη Διαχείρηση Υγρών Αποβλήτων Ελαιουργείων με χρήση Μεμβρανών Υπερδιήθισης. Αδημοσίευτη Μεταπτυχιακή διατριβή, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη.

Τσαμανδούρας, Ν. & Ρεβενιώτης Δ. (2006). Σχεδιασμός, Εγκατάσταση και λειτουργία πειραματικής μονάδας φυσικού συστήματος επεξεργασίας υγρών αποβλήτων ελαιοτριβείων με βραδεία εφαρμογή στο έδαφος. Αδημοσίευτη Πτυχιακή Εργασία, Ανώτατο Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Κρήτης, Κρήτη.

Χατζηπαυλίδης, Ι.Γ. (1999). Επιπτώσεις των υγρών αποβλήτων των ελαιοτριβείων στη δυναμική και τις δράσεις των μικροβιακών πληθυσμών εμπλουτισμού στο έδαφος. Αδημοσίευτη Διδακτορική Διατριβή, Γεωπονικό πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα.