



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ
ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Μελέτη παραλαβής βιοδραστικών συστατικών από παραπροϊόντα της βιομηχανίας τροφίμων με υποβοηθούμενη από μικροκύματα εκχύλιση



Θωμάς Τσακνάκης

Επιβλέπων καθηγητής: Πέτρος Ταούκης

Αθήνα, Φεβρουάριος 2023

Ευχαριστώ τον καθηγητή κ. Πέτρο Ταούκη για την εμπιστοσύνη και την καθοδήγησή του ως επιβλέποντα, τις ερευνήτριες Δρ. Μαρία Κατσούλη και Δρ. Αθηνά Ντζιμάνη για τη μέριμνα και τη βοήθειά τους, τους ΕΔΙΠ Δρ. Δημήτρη Τσιμογιάννη για τις συμβουλές του, και τη Δρ. Βιργινία Γιάννου, τον ερευνητή Δρ. Γιώργο Δημόπουλο, καθώς επίσης τους υποψήφιους διδάκτορες, Θανάση Λημναίο, Ιωάννα Σεμένογλου και Αλέξανδρο Κατσιμίχα, οι οποίοι έκαναν την εμπειρία μου στο εργαστήριο ευχάριστη.

Περίληψη

Ο αγροτικός και ο βιομηχανικός κλάδος αποτελούν κεντρικούς πυλώνες της Ελληνικής οικονομίας, ταυτόχρονα όμως χαρακτηρίζονται από την παραγωγή μεγάλων ποσοτήτων οργανικών αποβλήτων, τόσο από τη συντήρηση αγροκτημάτων και καλλιεργειών (αγροτικά απόβλητα) όσο και από την βιομηχανική επεξεργασία των προϊόντων (απόβλητα βιομηχανίας τροφίμων), αντίστοιχα. Τα απόβλητα αυτά δεν αξιοποιούνται σε νέες εφαρμογές, ωστόσο είναι πλούσια σε βιοδραστικές ενώσεις (bioactive compounds, BACs), όπως πολυφαινόλες και καροτενοειδή, οι οποίες χαρακτηρίζονται από αντιμικροβιακές, αντιοξειδωτικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες. Ως εκ τούτου, η ανάπτυξη νέων μεθόδων για την αξιοποίηση αυτών των αποβλήτων είναι ιδιαίτερα σημαντική και μπορεί να οδηγήσει στην επαναχρησιμοποίησή τους με χαμηλότερο οικολογικό αποτύπωμα. Η ανάκτηση αυτών των ενώσεων μπορεί να πραγματοποιηθεί μέσω διεργασίας εκχύλισης, ενώ μεγάλη σημασία έχει και η επιλογή της μεθόδου εκχύλισης που θα εφαρμοστεί. Η εκχύλιση με τη βοήθεια μικροκυμάτων (Microwave Assisted Extraction, MAE) μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως εναλλακτική πράσινη μέθοδος για την ανάκτηση βιοδραστικών συστατικών από παραπροϊόντα της βιομηχανίας τροφίμων.

Στο πλαίσιο της παρούσας διπλωματικής εργασίας πραγματοποιήθηκε η μελέτη της παραλαβής βιοδραστικών συστατικών από παραπροϊόντα της βιομηχανικής επεξεργασίας της ελιάς και της τομάτας, μέσω εκχύλισης υποβοηθούμενης με μικροκύματα (MAE). Συγκεκριμένα, μελετήθηκαν ο ελαιοπυρήνας, το παραπροϊόν της επεξεργασίας της ελιάς (olive pomace), το οποίο αποτελείται από φλούδα, πυρήνα και σάρκα ελιάς, καθώς επίσης το τσίπουρο τομάτας, το παραπροϊόν της επεξεργασίας της τομάτας το οποίο αποτελείται από φλούδα και σπόρους. Τα παραπροϊόντα αυτά κατόπιν ξήρανσης και άλεσης, υποβλήθηκαν σε διεργασία εκχύλισης στερεού-υγρού υποβοηθούμενη από μικροκύματα, για την παραλαβή φαινολικών συστατικών και καροτενοειδών, από την ελιά και την τομάτα, αντίστοιχα. Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η μελέτη της επίδρασης των εξής παραμέτρων: χρόνου και θερμοκρασίας εκχύλισης, αναλογίας στερεού:υγρού, συγκέντρωσης διαλύτη και ισχύος μικροκυμάτων στα ποιοτικά χαρακτηριστικά των εκχυλισμάτων και την απόδοση της εκχύλισης.

Πιο συγκεκριμένα για τον ελαιοπυρήνα οι χρόνοι εκχύλισης που μελετήθηκαν ήταν τα 5, 10 και 30 min, η αναλογία στερεού:υγρού 1:10 και 1:30 g/mL, η θερμοκρασία στους 30 και 50 °C και η ισχύς μικροκυμάτων στα 300, 500 και 600 W. Επίσης, μελετήθηκε η επίδραση του διαλύτη και συγκεκριμένα μίγματα μεθανόλης-νερού, σε συγκέντρωσεις 20, 40, 60 και 100% v/v μεθανόλης. Στα εκχυλίσματα ελαιοπυρήνα πραγματοποιήθηκε προσδιορισμός του ολικού φαινολικού (Total Phenolic Content, TPC) περιεχομένου με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu, της αντιοξειδωτικής τους ικανότητας με τη μέθοδο DPPH, της εκλεκτικότητας της εκχύλισης, καθώς και ταυτοποίηση των επιμέρους συστατικών με υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης (HPLC).

Για τα εκχυλίσματα τσίπουρου τομάτας οι παράμετροι που μελετήθηκαν ήταν: χρόνος εκχύλισης 5, 10, 20 και 30 min, αναλογία στερεού:υγρού 1:10 και 1:30 g/mL, θερμοκρασία εκχύλισης 30, 40 και 50 °C και ισχύς μικροκυμάτων στα 150, 300 και 500 W. Ο διαλύτης που χρησιμοποιήθηκε ήταν οξικός αιθυλεστέρας (100% ethyl acetate). Μελετήθηκε η επίδραση των παραπάνω παραμέτρων στην απόδοση ολικών καροτενοειδών, η οποία μετρήθηκε μέσω φασματομετρικής μεθόδου ανάλυσης, εξετάστηκε η εκλεκτικότητα της εκχύλισης και πραγματοποιήθηκε ταυτοποίηση των καροτενοειδών με υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης (HPLC).

Όσον αφορά την επίδραση των παραμέτρων της εκχύλισης στο ολικό φαινολικό περιεχόμενο (TPC) των εκχυλισμάτων ελαιοπυρήνα, βρέθηκε ότι η αναλογία στερεού:υγρού, ο χρόνος εκχύλισης, η ισχύς των μικροκυμάτων και η συγκέντρωση του διαλύτη επηρεάζουν σημαντικά το ολικό φαινολικό περιεχόμενο των εκχυλισμάτων. Συγκεκριμένα η αναλογία 1:10 g/mL οδήγησε σε υψηλότερες τιμές TPC συγκριτικά με την αναλογία 1:30 g/mL. Επίσης, η εκχύλιση στον μικρότερο χρόνο των 5 min είχε σαν αποτέλεσμα την υψηλότερη ανάκτηση σε ολικές φαινόλες, ενώ για μεγαλύτερους χρόνους (30 min) καταγράφηκαν χαμηλότερες τιμές TPC. Η συγκέντρωση του διαλύτη με τις μεγαλύτερες τιμές TPC ήταν το 60% (v/v) μεθανόλη, με την συγκέντρωση 40% (v/v) να παρουσιάζει εξίσου υψηλές τιμές, ενώ το 100% μεθανόλη έδωσε τις χαμηλότερες τιμές. Οι εκχυλίσεις στα 300 και 500 W οδήγησαν σε εκχυλίσματα με υψηλές τιμές TPC, χωρίς στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ τους, ενώ η MAE στη μεγαλύτερη ισχύ των 600 W, οδήγησε σε μείωση του ολικού φαινολικού περιεχομένου των εκχυλισμάτων. Αντιθέτως, παρατηρήθηκε σημαντική επίδραση της ισχύος των μικροκυμάτων στην εκλεκτικότητα των εκχυλισμάτων, με τα 300 W να δίνουν τις υψηλότερες τιμές, συγκριτικά με τα 500 και 600W. Τέλος, όσον αφορά την επίδραση της θερμοκρασίας εκχύλισης (30 και 50 °C) στο ολικό φαινολικό περιεχόμενο επίσης δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές μεταβολές στις τιμές TPC. Το εκχύλισμα με την υψηλότερη τιμή ολικού φαινολικού περιεχομένου, 11.7 mg GAE/g ξβ, παραλήφθηκε κατά την MAE με χρήση συγκέντρωσης 60% (v/v) μεθανόλη, ισχύος μικροκυμάτων 500 W, στους 30 °C για 5 min με αναλογία στερεού:υγρού 1:10 g/mL. Επίσης, υψηλή τιμή TPC (11.21 mg GAE/g ξβ) έδωσαν οι συνθήκες 40% (v/v) μεθανόλη, ισχύς μικροκυμάτων 300 W, στους 50 °C για 5 min, 1:10 g/mL.. Επειδή στόχος είναι η διεξαγωγή αποτελεσματικών εκχυλίσεων με όσο το δυνατόν χαμηλότερη θερμοκρασία και κατανάλωση ενέργειας, οι 30 °C και τα 300 W προέκυψαν ως βέλτιστες συνθήκες.

Επίσης, τα εκχυλίσματα με τη μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα παραλήφθηκαν από την εκχύλιση με αναλογία στερεού:υγρού 1:10 g/mL. Οι χρόνοι εκχύλισης που έδωσαν την υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα ήταν 5 και 10 min και χαμηλότερες τιμές έδωσαν τα 30 min. Υψηλότερες τιμές αντιοξειδωτικής ικανότητας καταγράφηκαν κατά τη χρήση διαλύτη μίγματος μεθανόλης-νερού σε συγκέντρωση 60% (v/v) και 40% (v/v) μεθανόλη, ενώ ο διαλύτης 100% (v/v) μεθανόλη έδωσε τις χαμηλότερες τιμές αντιοξειδωτικής ικανότητας των εκχυλισμάτων. Η εκχύλιση στα 500 W οδήγησε σε εκχυλίσματα με τις υψηλότερες τιμές αντιοξειδωτικής ικανότητας, τα 300 W ήταν εξίσου αποτελεσματικά, ενώ η μεγαλύτερη ισχύς των 600 W ήταν

λιγότερο αποτελεσματική. Η επίδραση της θερμοκρασίας (30 και 50°C) αντιοξειδωτικής ικανότητας των εκχυλισμάτων δεν ήταν στατιστικά σημαντική. Η υψηλότερη τιμή αντιοξειδωτικής ικανότητας που καταγράφηκε ήταν τα 11.8 mg Trolox/g ξβ για τις εξής συνθήκες: συγκέντρωση διαλύτη 60% (v/v) μεθανόλη, ισχύς μικροκυμάτων 500 W, στους 50 °C, για χρόνο εκχύλισης 10 min και αναλογία στερεού:υγρού 1:10 g/mL. Επίσης, υψηλή τιμή, 11.15 mg Trolox/g ξβ, παρατηρήθηκε στις συνθήκες 40% (v/v) μεθανόλη, 300 W, 50 °C, 5 min, 1:10 g/mL.

Αξίζει να αναφερθεί ότι τα εκχυλίσματα ελαιοπυρήνα με υψηλές τιμές ολικού φαινολικού περιεχομένου παρουσίασαν ταυτόχρονα, υψηλές τιμές αντιοξειδωτικής ικανότητας και υψηλές τιμές εκλεκτικότητας. Για παράδειγμα, το εκχύλισμα που προέκυψε από την MAE με 60% v/v μεθανόλη, με 1:10 g/mL αναλογία στερεού:υγρού, στα 500 W, στους 30 °C και για 5 min, εμφάνισε υψηλή τιμή ολικού φαινολικού περιεχομένου, 11.7 mg GAE/g ξβ, αντιοξειδωτική ικανότητα 10.80 mg Trolox/g ξβ, και υψηλή εκλεκτικότητα, 81.1 mg GAE/g στερεού εκχυλίσματος. Επίσης, πραγματοποιήθηκε σύγκριση των εκχυλισμάτων της διεργασίας MAE με εκχυλίσματα που προέκυψαν από εξαντλητική εκχύλιση σταθερής κλίνης. Παρατηρήθηκε ότι τα εκχυλίσματα της διεργασίας MAE είχαν παρόμοιες τιμές ολικού φαινολικού περιεχομένου και αντιοξειδωτικής ικανότητας με αυτές της εξαντλητικής εκχύλισης (13.63, 10.19 και 10.41 mg GAE/g ξβ με διαλύτες συγκέντρωσης 20, 40 και 60% MeOH αντίστοιχα) σε πολύ πιο σύντομο χρόνο εκχύλισης MAE, 5 min, έναντι χρόνου 3 h που διήρκεσε η εξαντλητική.

Όσον αφορά την εκχύλιση ολικών καροτενοειδών από τσίπουρο τομάτας, παρατηρήθηκε ότι η αναλογία στερεού:υγρού δεν επηρέασε σημαντικά την απόδοση της εκχύλισης (mg λυκοπενίου/ 100 g ξβ). Για χρόνους εκχύλισης 20 και 30 min παρατηρήθηκαν υψηλότερες τιμές απόδοσης σε αντίθεση με τους μικρότερους χρόνους των 5 και 10 min. Η εφαρμογή ισχύος μικροκυμάτων στα 150 W οδήγησε σε υψηλότερες τιμές απόδοσης, ενώ επεξεργασία σε μεγαλύτερη ισχύ, στα 300 W και 500 W, οδήγησε σε μείωση της περιεκτικότητας των εκχυλισμάτων σε ολικά καροτενοειδή. Επιπλέον, παρατηρήθηκε ότι η αύξηση της θερμοκρασίας εκχύλισης (30, 40 και 50 °C), οδήγησε σε αύξηση της απόδοσης. Η υψηλότερη τιμή απόδοσης, 59.3 mg λυκοπενίου/100g ξβ, καταγράφηκε κατά την MAE με 100% οξικό αιθυλεστέρα (ethyl acetate), στα 150 W, στους 50°C, με αναλογία στερεού:υγρού 1:30 g/mL, για 30 min. Εξίσου υψηλή τιμή απόδοσης (55.8 mg λυκοπενίου/100g ξβ) καταγράφηκε κατά την MAE με 100% οξικό αιθυλεστέρα, στα 150 W, στους 30°C για 20 min σε αναλογία στερεού:υγρού 1:30 g/mL. Παρατηρήθηκε ότι η εκχύλιση MAE στις παραπάνω συνθήκες έδωσε εκχυλίσματα με τιμή εκλεκτικότητας 4.88 και 4.70 mg λυκοπενίου/g στερεού εκχυλίσματος, αντίστοιχα. Επίσης, από τη σύγκριση των αποτελεσμάτων της διεργασίας MAE με αυτά από την εξαντλητική εκχύλιση σταθερής κλίνης, παρατηρήθηκε ότι τα εκχυλίσματα της διεργασίας MAE είχαν παρόμοιες τιμές απόδοσης (58.53 mg λυκοπενίου/100 g ξβ για την εξαντλητική), σε συντομότερο χρόνο εκχύλισης 20 min, έναντι των 2 h που διήρκεσε η εξαντλητική εκχύλιση.

Συμπερασματικά, η εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα, MAE, αποδείχθηκε αποτελεσματική για την ανάκτηση τόσο φαινολικών ενώσεων από ελαιοπυρήνα όσο και καροτενοειδών από τσίπουρο τομάτας. Οι αποδόσεις των εκχυλίσεων των βιοδραστικών αυτών συστατικών ήταν υψηλές και η αντιοξειδωτική τους ικανότητα σημαντική. Τα πλεονεκτήματα της MAE ως εναλλακτική μέθοδο εκχύλισης βιοδραστικών συστατικών από παραπροϊόντα της βιομηχανίας τροφίμων, συγκριτικά με τις συμβατικές μεθόδους εκχύλισης, ήταν ο μικρότερος χρόνος εκχύλισης, η χρήση μικρής ποσότητα διαλύτη και ως εκ τούτου η εξοικονόμηση αυτού, η χαμηλή θερμοκρασία εκχύλισης που συμβάλλει στην προστασία των θερμοευαίσθητων εκχυλιζόμενων συστατικών και η χαμηλή ισχύς μικροκυμάτων που έχει ως αποτέλεσμα η διεργασία να συνοδεύεται από χαμηλή κατανάλωση ενέργειας, καθιστώντας τη διεργασία της MAE πιο οικονομική και φιλική προς το περιβάλλον.

Microwave-Assisted-Extraction (MAE) of bioactive compounds from agro-food by-products

Abstract

Currently, agricultural production generates large amounts of organic waste, both from the maintenance of farms and crops (agricultural wastes) and the industrialization of the product (food industry waste), which have no value or utilization in new applications. These wastes are rich with bioactive compounds (BACs), such as polyphenols and carotenoids, characterized by antimicrobial, antioxidant, and anti-inflammatory properties. Therefore, new methods for the valorization of these wastes are essential and have been developed to allow their reutilization with the lowest ecological footprint. The extraction of these compounds is essential and the method applied is of great importance. Microwave-Assisted Extraction (MAE) can be used as an alternative green method for the recovery of BACs from agro-food by-products, complying with environmental and economic requirements.

The aim of the present study was the implementation of MAE in order to extract bioactive compounds from olive and tomato pomace and additionally increase the recovery of the aforementioned compounds. The samples studied was olive pomace, which is the solid by-product resulting from the olive oil production by the continuous centrifugation process, performed through a three-phase or a two-phase system. This by-product consists of olive skin, core and flesh. Tomato pomace, which consists of tomato skins and seeds, was also studied. These by-products, after drying and grinding, were subjected to a solid-liquid extraction process with the use of Microwave-Assisted-Extraction (MAE). The parameters of the extraction process examined were: the extraction time, the temperature, the solid:liquid ratio (mass product:solvent ratio), the solvent concentration and the microwave power. For the olive pomace extracts, their total phenolic content (TPC) using the Folin-Ciocalteu method, their antioxidant activity using the DPPH method, the selectivity of the extracted samples, were determined. Moreover, the analysis of the phenolic components was performed by high pressure liquid chromatography (HPLC). As far as the tomato pomace is concerned, the study of the total carotenoid yield by spectrometric method, the selectivity of the extracted samples, and the analysis of the carotenoids by high pressure liquid chromatography (HPLC) were carried out.

During MAE of olive pomace, the extraction was carried out for 5, 10 and 30 min, the solid:liquid ratio were 1:10 and 1:30 g/mL, the extraction temperature was set at 30 and 50 °C and the microwave power at 300, 500 and 600 W. The effect of methanol-water solvent concentrations (20, 40, 60 and 100% (v/v)) was also examined. The effect of the above parameters on the total phenolic content (TPC), the antioxidant activity and the selectivity of the extraction for the olive pomace extracts were studied. Extractions for tomato pomace were carried out for 5, 10, 20 and 30 min, the

ratio of solid:liquid was 1:10 and 1:30 g/mL, the temperature was set at 30, 40 and 50°C and the microwave power at 150, 300 and 500 W. The solvent used for the extractions of carotenoids from tomato pomace was 100% ethyl acetate. The effect of the abovementioned parameters on the extraction yield (mg lycopene/ 100g dry weight) was determined.

The highest values of total phenolic content (TPC) of olive pomace extracts, were recorded when a 1:10 g/mL ratio of solid:liquid was used. As far as the effect of the extraction time on the TPC content is concerned, the highest values were observed when the extraction was carried out for 5 min, followed by extraction for 10 min, whereas the lowest TPC values were recorded at 30 min. The methanol-water mixture solvent concentration with the highest TPC values was 60% (v/v) methanol, with 40% (v/v) methanol showing relatively similar high values, while the use of 100% methanol solvent resulted in the lowest values of TPC. The extract with the highest value of total phenolic content, ca. 11.7 mg GAE/g dw, was obtained under the following conditions: solvent concentration of 60% v/v methanol, microwave power at 500 W, at 30 °C for 5 min with a solid:liquid ratio of 1:10 g/mL. Additionally, a high TPC value (11.21 mg GAE/g dw) was recorded after MAE with 1:10 g/mL, 40% v/v methanol, at 300 W and 50°C for 5 min. Microwave power values of 300 and 500 W resulted in the highest TPC values with no statistically significant differences, while treatment at a higher power, 600 W, led to a decrease in the total phenolic content of the extracts. Additionally, setting power at 300 W led to higher values of selectivity, therefore the lowest microwave power was selected as the optimum. As far as the temperature of MAE is concerned, no statistical differences of the TPC values were recorded, neither at 30 nor 50°C. Since the goal is to perform efficient extractions with as low temperature and energy consumption as possible, 30°C and 300 W were chosen as optimal conditions.

The highest values of antioxidant activity of olive pomace extracts, were recorded when a 1:10 g/mL ratio of solid:liquid was used. The extraction times that offered the highest antioxidant activity were 5 and 10 min and the lowest values were recorded at 30 min. The methanol-water mixture solvent concentration with the highest values was 60% (v/v) methanol, with 40% (v/v) methanol showing equally high values, while the 100% methanol solvent showed the lowest antioxidant activity values. Microwave power values of 300 and 500 W resulted in the highest antioxidant activity values, with values at 500 W being slightly higher, while treatment at a higher power, 600 W, did not lead to a further increase in the measurable antioxidant activity of the extracts. Similar values of antioxidant activity, with no statistically significant differences, were obtained after MAE at either 30 or 50 °C. The highest antioxidant activity value recorded was 11.8 mg Trolox/g dw and was obtained under the conditions of: solvent concentration 60% methanol, microwave power 500 W, extraction temperature 50 °C, extraction time 10 min and solid:liquid ratio 1:10 g/mL. High value of 11.15 mg Trolox/g dw was also reached under the conditions of: 40% methanol, 300 W, 50 °C, 5 min, 1:10 g/mL.

It is worth mentioning that the olive pomace extracts with high values of total phenolic content were also characterized by high values of selectivity and antioxidant activity. For example, the extract recovered under extraction conditions of: 60% v/v methanol, at 500 W, at 30°C, for 5 min and 1:10 g/mL achieved a high value of total phenolic content, 11.7 mg GAE/g dw, high antioxidant activity 10.80 mg Trolox/g dw and 81.1 mg GAE/g solid extract. A comparison of the MAE process extracts with extracts obtained by exhaustive fixed-bed extraction was also carried out. It was observed that the extracts of the MAE process had similar values of total phenolic content and antioxidant activity to those of the exhaustive extraction (13.63, 10.19 and 10.41 mg GAE/g dw for solvent concentration of 20, 40 και 60% MeOH, respectively), in shorter MAE extraction time of approximately 5 min, compared 3 h needed for the exhaustive extraction.

As far as the extraction of carotenoids is concerned, it was observed that the ratio of solid:liquid does not significant effect on the extraction yield. However, regarding the time of extraction, it was observed that the highest total carotenoid yield was recorded at 20 and 30 min, with no statistical differences, whereas the lowest yield values were recorded at 5 and 10 min. MAE at 150 W resulted in extracts with the highest yield values, while treatment at higher power, 300 and 500 W, did not lead to a further increase in the total carotenoid content of the extracts. With the increase in the extraction temperature (30, 40 and 50°C), an increase in the yield of total carotenoids was also observed. The highest total carotenoid yield value recorded was 59.3 mg lycopene/100g dw when extracts were recovered at the following conditions: solvent 100% ethyl acetate, microwave power 150 W, extraction temperature 50°C, extraction time 30 min and solid:liquid ratio 1:30 g/mL. A high value of 55.8 mg lycopene/100g dw is also recorded under conditions of: solvent 100% ethyl acetate, 150 W, 30 °C, 20 min, 1:30 g/mL. The extracts with the highest total carotenoid yield also presented high selectivity value, sa. 4.88 and 4.70 mg lycopene/g solid extract, respectively. Furthermore, by comparing the extracts of the MAE process with extracts obtained from exhaustive fixed bed extraction, it was observed that the extracts of the MAE process had similar total carotenoid yield values to the exhaustive extraction yield value (58.53 mg lycopene/100g dw), at a shorter MAE extraction time of 20 min, as opposed to 2 h of exhaustive extraction time.

In conclusion, Microwave Assisted Extraction (MAE) was proved to be an effective method for the recovery of phenolic compounds from olive pomace and carotenoids from tomato pomace. The yields of the extractions in the components were high and the extracts were characterized by high antioxidant activity. The main advantages of MAE were: the shorter extraction time compared to other time-consuming extraction methods, the use of a small amount of solvent reducing solvent consumption, the low extraction temperature which contributes to the protection of the heat-sensitive extracted components and the low microwave power that results in the process being accompanied by low energy consumption, making it more economical and environmentally friendly.

Περιεχόμενα

1. Προϊόντα και παραπροϊόντα της βιομηχανίας της ελιάς	13
Εισαγωγή.....	13
1.1 Ελαιοπυρήνας.....	15
1.1.1 Ελαιοπυρήνας ως παραπροϊόν διαφορετικών μεθόδων παραλαβής ελαιόλαδου	15
1.1.2 Σύσταση του ελαιοπυρήνα	18
1.1.3 Αξιοποίηση του ελαιοπυρήνα	19
1.1.4 Διαχείριση ελαιοπυρήνα για την παραλαβή βιοδραστικών συστατικών.....	20
1.2 Βιοδραστικά συστατικά ελαιοπυρήνα	22
2. Προϊόντα και παραπροϊόντα της βιομηχανίας της τομάτας.....	27
Εισαγωγή.....	27
2.1 Προϊόντα βιομηχανικής επεξεργασίας τομάτας.....	28
2.2 Διαδικασία παραγωγής προϊόντων τομάτας.....	28
2.3 Παραπροϊόντα βιομηχανικής επεξεργασίας τομάτας.....	33
2.3.1 Σύσταση παραπροϊόντων τομάτας.....	34
2.3.2 Αξιοποίηση παραπροϊόντων επεξεργασίας τομάτας.....	35
2.4 Καροτενοειδή	36
2.4.1 Χημική δομή καροτενοειδών.....	37
2.4.2 Φυσικές ιδιότητες καροτενοειδών	38
2.4.3 Λειτουργικές ιδιότητες καροτενοειδών	39
2.4.4 Τα καροτενοειδή της τομάτας	41
2.4.5 Χρήσεις καροτενοειδών	42
3. Εκχύλιση στερεού-υγρού	43
Εισαγωγή.....	43
3.1 Η αρχή της μεθόδου εκχύλισης στερεού-υγρού	44
3.2 Μεταφορά μάζας σε διεργασίες εκχύλισης στερεού-υγρού	45
3.3 Μέθοδοι εκχύλισης και ανάκτησης των βιοδραστικών συστατικών.....	47
3.3.1 Εκχύλιση υποβοηθούμενη με υπερήχους.....	48
3.3.2 Εκχύλιση υποβοηθούμενη από Παλμικά Ηλεκτρικά Πεδία.....	48
3.3.3 Εκχύλιση υποβοηθούμενη από Υπερυψηλή Πίεση	49
3.3.4 Εκχύλιση υποβοηθούμενη με ένζυμα	49
3.3.5 Εκχύλιση με υπερκρίσιμα ρευστά	49

3.3.6 Εκχύλιση υποβοηθούμενη με χρήση ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας	50
3.3.8 Εκχύλιση με νέους αναδυόμενους ευτηκτικούς διαλύτες (Natural Deep Eutectic Solvents – NADES)	50
3.4 Εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα (Microwave-assisted extraction, MAE) ...	51
3.4.1 Μηχανισμός της εκχύλισης υποβοηθούμενης με μικροκύματα.....	52
3.4.2 Παράγοντες που επηρεάζουν την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα....	54
3.4.3 Φούρνοι μικροκυμάτων.....	56
3.4.4 Εφαρμογές της εκχύλισης υποβοηθούμενης με μικροκύματα.....	59
4. Σχεδιασμός πειραμάτων	60
4.1 Σκοπός.....	60
4.2 Υλικά και συσκευές	61
4.2.1 Πρώτες ύλες.....	61
4.2.2 Χημικά αντιδραστήρια.....	62
4.2.3 Συσκευές	62
4.3 Πειραματική διαδικασία.....	65
4.3.1 Εκχύλιση φαινολικών συστατικών από ελαιοπυρήνα με διεργασία MAE	65
4.3.2 Εκχύλιση καροτενοειδών από τσίπουρο τομάτας με διεργασία MAE	66
4.3.3 Εξαντλητική εκχύλιση φαινολικών συστατικών από ελαιοπυρήνα με διεργασία εκχύλισης σταθερής κλίνης.....	67
4.3.4 Εξαντλητική εκχύλιση καροτενοειδών από τσίπουρο τομάτας με διεργασία εκχύλισης σταθερής κλίνης.....	67
4.4 Αναλύσεις – Μετρήσεις – Υπολογισμοί.....	69
4.4.1 Προσδιορισμός ολικού φαινολικού περιεχομένου (Total phenolic content – TPC) για τα εκχυλίσματα από ελαιοπυρήνα	69
4.4.2 Προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής ικανότητας των εκχυλισμάτων από ελαιοπυρήνα.....	70
4.4.3 Προσδιορισμός εκλεκτικότητας της εκχύλισης στα εκχυλίσματα από ελαιοπυρήνα	71
4.4.4 Προσδιορισμός φαινολικών ενώσεων με τη μέθοδο της υγρής χρωματογραφίας (HPLC) για τα εκχυλίσματα από ελαιοπυρήνα.....	72
4.4.5 Προσδιορισμός περιεκτικότητας σε ολικά καροτενοειδή των εκχυλισμάτων από τσίπουρου τομάτας	73
4.4.6 Προσδιορισμός εκλεκτικότητας της εκχύλισης στα εκχυλίσματα από τσίπουρου τομάτας	74
4.4.7 Προσδιορισμός καροτενοειδών με HPLC – DAD για τα εκχυλίσματα από τσίπουρου τομάτας	75
4.5 Στατιστική επεξεργασία αποτελεσμάτων	76
5. Αποτελέσματα και Σχολιασμός.....	77

5.1 Μελέτη παραλαβής φαινολικών συστατικών από ελαιοπυρήνα μέσω εκχύλισης υποβοηθούμενη με μικροκύματα (ΜΑΕ)	77
5.1.1 Προσδιορισμός ολικού φαινολικού περιεχομένου (Total phenolic content – TPC)	77
5.1.1.1 Επίδραση της αναλογίας στερεού : υγρού.....	77
5.1.1.2 Επίδραση του χρόνου εκχύλισης.....	80
5.1.1.3 Επίδραση της συγκέντρωσης του διαλύτη	81
5.1.1.4 Επίδραση της ισχύος των μικροκυμάτων	84
5.1.1.5 Επίδραση της θερμοκρασίας εκχύλισης	85
5.1.2.1 Επίδραση της αναλογίας στερεού : υγρού.....	87
5.1.2.2 Επίδραση του χρόνου εκχύλισης.....	89
5.1.2.3 Επίδραση της συγκέντρωσης του διαλύτη	90
5.1.2.4 Επίδραση της ισχύος των μικροκυμάτων	91
5.1.2.5 Επίδραση της θερμοκρασίας εκχύλισης	93
5.1.3.1 Επίδραση της αναλογίας στερεού : υγρού.....	94
5.1.3.2 Επίδραση του χρόνου εκχύλισης.....	96
5.1.3.3 Επίδραση της συγκέντρωσης του διαλύτη	97
5.1.3.4 Επίδραση της ισχύος των μικροκυμάτων	98
5.1.3.5 Επίδραση της θερμοκρασίας εκχύλισης	99
5.1.4 Συγκέντρωση αποτελεσμάτων και σύγκριση με άλλα πειραματικά και βιβλιογραφικά δεδομένα	101
5.1.5 Ανάλυση εκχυλισμάτων ελαιοπυρήνα με τη μέθοδο της υγρής χρωματογραφίας (HPLC)	103
5.2 Μελέτη παραλαβής καροτενοειδών από τσίπουρο τομάτας μέσω εκχύλισης υποβοηθούμενη με μικροκύματα	108
5.2.1 Προσδιορισμός περιεκτικότητας σε ολικά καροτενοειδή των εκχυλισμάτων από τσίπουρου τομάτας	109
5.2.1.1 Επίδραση της αναλογίας στερεού : υγρού.....	109
5.2.1.2 Επίδραση του χρόνου εκχύλισης.....	112
5.2.1.4 Επίδραση της θερμοκρασίας εκχύλισης	116
5.2.2 Προσδιορισμός της εκλεκτικότητας της εκχύλισης.....	118
5.2.3 Συγκέντρωση αποτελεσμάτων και σύγκριση με άλλα πειραματικά και βιβλιογραφικά δεδομένα	119
5.2.4 Ανάλυση εκχυλισμάτων τσίπουρου τομάτας με τη μέθοδο της υγρής χρωματογραφίας (HPLC).....	121
6. Συμπεράσματα.....	123
7. Βιβλιογραφία	126

1. Προϊόντα και παραπροϊόντα της βιομηχανίας της ελιάς

Εισαγωγή

Το δέντρο της ελιάς, ή αλλιώς ελαιόδεντρο (*Olea europaea L.*) είναι γένος καρποφόρων δέντρων της οικογένειας των Ελαιοειδών (*Oleaceae*) και αποτελεί μία από τις σημαντικότερες καλλιέργειες στην περιοχή της Μεσογείου. Το κύριο προϊόν του ελαιόδεντρου είναι το ελαιόλαδο, το οποίο προέρχεται από τον καρπό της ελιάς, ενώ παράλληλα ο ίδιος ο καρπός προσφέρεται προς κατανάλωση (επιτραπέζια ελιά). Από τα δεδομένα του Διεθνούς Ελαιοκομικού Συμβουλίου προκύπτει ότι η μεγαλύτερη καλλιέργεια ελαιόδεντρων και παραγωγή ελαιόλαδου πραγματοποιείται, κατά σειρά προτεραιότητας, στις χώρες Ισπανία, Ιταλία και Ελλάδα, οι οποίες μάλιστα παράγουν πάνω από το 97% της συνολικής ποσότητας ελαιόλαδου σε όλον τον πλανήτη (International Olive Council, 2020). Η παραγωγή του ελαιόλαδου πραγματοποιείται αποκλειστικά με φυσικές μεθόδους (μηχανικός τρόπος εξαγωγής) και μπορεί να καταναλωθεί άμεσα, χωρίς να απαιτείται κάποια παραπάνω επεξεργασία/εξευγενισμός, γεγονός που επιτρέπει την διατήρηση του αρώματος, της γεύσης και των ευεργετικών του ιδιοτήτων.

Όσον αφορά τις ευεργετικές του ιδιότητες, είναι γνωστό ότι το ελαιόλαδο αποτελεί το καλύτερο βρώσιμο φυτικό έλαιο καθώς η κατανάλωσή του έχει συνδεθεί με χαμηλότερη συχνότητα εμφάνισης διαφόρων παθήσεων, όπως είναι ορισμένες μορφές καρκίνου, η αθηροσκληρωτική καρδιοπάθεια, αλλά και άλλες καρδιαγγειακές ασθένειες και ασθένειες εκφυλισμού του νευρικού συστήματος (Cicerale, Conlan, Sinclair & Keast, 2009, Bullo, Lamuela & Salas, 2011). Αυτή η δράση του οφείλεται κυρίως στην υψηλή περιεκτικότητά του σε μονοακόρεστα λιπαρά οξέα, όπως είναι το ελαϊκό οξύ, το οποίο ανήκει στο σαπωνοποιήσιμο κλάσμα του ελαιόλαδου, αλλά επίσης και στην περιεκτικότητά του σε φαινολικά συστατικά, όπως είναι η ελευρωπαΐνη και η ελαιοκανθάλη, που ανήκουν στο ασαπωνοποίητο κλάσμα του ελαιόλαδου (Aragon & Palancar, 2001). Αυτά τα βιοδραστικά συστατικά προσδίδουν στο ελαιόλαδο την υψηλή του οξειδωτική σταθερότητα, τις μοναδικές οργανοληπτικές του ιδιότητες (ιδιαίτερη γεύση και άρωμα) και την υψηλή διατροφική του αξία, λόγοι στους οποίους οφείλεται η ευρεία αύξηση της ζήτησής του παγκοσμίως (Murkovic et al, 2004).

Στο παρελθόν, η διαδικασία παραγωγής του ελαιόλαδου περιελάμβανε την εξαγωγή του μέσω μηχανικής συμπίεσης στα ελαιοτριβεία. Ωστόσο, σήμερα η πιο συνηθισμένη μέθοδος διαχωρισμού είναι η φυγοκέντρηση δύο ή τριών φάσεων, κατά την οποία η ελαιόμαζα μετά από άλεση και μάλαξη οδηγείται στους φυγοκεντρικούς διαχωριστήρες (decanters), οι οποίοι διαχωρίζουν το έλαιο από τα στερεά και το νερό. Έτσι, προκύπτει ως κύριο προϊόν το ελαιόλαδο και ως δευτερεύοντα προϊόντα, τα προϊόντα της πρώτης ύλης που παραμένουν μετά το

διαχωρισμό του λαδιού, δηλαδή τα φυτικά υγρά (λιοζούμια ή κασίγαρος) και ο ελαιοπυρήνας (στερεό απόβλητο ή λιοκόκκι) (Chanioti, 2019). Το ελαιόλαδο αποτελεί περίπου το 25% κατά βάρος της επεξεργαζόμενης ελαιόμαζας, ενώ ο ελαιοπυρήνας μπορεί να φτάσει και σε ποσότητα μεγαλύτερη από το 30%. Αναλυτικότερα, ο ελαιοπυρήνας είναι ένα μείγμα φλοιού, κουκουτσιού (πυρήνα) και σάρκας της ελιάς και ανάλογα με τη μέθοδο εξαγωγής του ελαιόλαδου από την ελαιόμαζα, μπορεί να περιέχει υγρασία σε ποσοστό 30, 45 και 70% κ.β. για σύστημα μηχανικής συμπίεσης, τριφασικό και διφασικό σύστημα φυγοκέντρωσης αντίστοιχα. Επίσης από άποψη σύστασης, ο ελαιοπυρήνας περιέχει έλαιο, γνωστό ως πυρηνέλαιο και η ποσότητα του μπορεί να ξεπερνάει το 8-12% της συνολικής μάζας του ελαιοπυρήνα (Sánchez Moral & Ruiz Méndez, 2006). Η συνηθέστερη πρακτική αξιοποίησης του ελαιοπυρήνα έγκειται στην παραλαβή του πυρηνέλαιου που εμπεριέχεται σε αυτόν μέσω διαδικασίας εκχύλισης με οργανικούς διαλύτες. Σύμφωνα με το Διεθνές Ελαιοκομικό Συμβούλιο, η ετήσια παραγωγή ελαιόλαδου στην Ελλάδα ανέρχεται στους 300,000 τόνους κατά μέσο όρο, ενώ παράλληλα η ποσότητα του ελαιοπυρήνα που προκύπτει ως στερεό απόβλητο φτάνει τους 400,000 τόνους κάθε χρόνο (International Olive Council, 2020). Προκύπτει λοιπόν ότι η παραγωγή ελαιόλαδου αποτελεί αναμφίβολα μία οικονομικά και κοινωνικά σημαντική βιομηχανική δραστηριότητα για την Ελλάδα, ωστόσο υψίστης σημασίας φαίνεται πως είναι και η αξιοποίηση των στερεών αποβλήτων (ελαιοπυρήνας) ή, πιο σωστά, των παραπροϊόντων που προκύπτουν από αυτή τη βιομηχανία. Τα παραπροϊόντα αυτά έχουν υψηλό οργανικό φορτίο με αποτέλεσμα να συμβάλουν στην ρύπανση που δημιουργούν τα υπόλοιπα αστικά, βιομηχανικά και λοιπά γεωργικά απόβλητα. Έχουν ιδιαίτερως υψηλή ρυπογόνο δύναμη και συγκαταλέγονται (μαζί με τα απόβλητα των οينوπνευματοποιείων) στα ιδιαίτερα τοξικά αγροτοβιομηχανικά απόβλητα. Η ανάγκη για την προστασία του περιβάλλοντος και τη διατήρηση των φυσικών ισορροπιών, κάνει αναγκαία την αναζήτηση λύσης για την διαχείριση και ασφαλή διάθεση των παραπροϊόντων των ελαιοτριβείων. Επιπλέον, τα προαναφερθέντα προϊόντα είναι πλούσια σε βιοδραστικά συστατικά τα οποία θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για τον εμπλουτισμό προϊόντων τροφίμων με ενισχυμένη βιολογική δράση.

Τα βιοδραστικά αυτά συστατικά βρίσκονται στον ελαιοπυρήνα, ο οποίος εμφανίζει πολύ υψηλή περιεκτικότητα σε φαινολικές ενώσεις, στον οποίο μάλιστα συγκεντρώνεται το 98% της συνολικής ποσότητας των φαινολικών συστατικών του καρπού της ελιάς. Οι φαινολικές αυτές ενώσεις, για τις οποίες θα γίνει εκτενής λόγος στη συνέχεια της παρούσας διπλωματικής, είναι φαινολικά οξέα και φαινολικές αλκοόλες, φλαβόνες, λιγνάτες, γλυκοζίτες και παράγωγα αυτών. Τα τελευταία χρόνια, το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας έχει στραφεί στην ανάκτηση αυτών των ενώσεων από τον ελαιοπυρήνα καθώς εμφανίζουν πολλά πλεονεκτήματα για την ανθρώπινη υγεία. Αποδεδειγμένα εμφανίζουν μία πληθώρα βιοδραστικών ιδιοτήτων, οι οποίες εντοπίζονται στις αντιοξειδωτικές, αντιφλεγμονώδεις, αντιικές, αντιμικροβιακές και αντικαρκινικές δράσεις τους (Fernández-Bolanos et al, 2006, Chanioti, Siamandoyra & Tzia, 2016). Είναι φανερό επομένως πως η παραλαβή και η

αξιοποίηση αυτών των φαινολικών ενώσεων προτάσσεται ως ένα ιδιαίτερα σημαντικό εγχείρημα.

1.1 Ελαιοπυρήνας

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, ελαιοπυρήνας ονομάζεται το παραπροϊόν σε στερεά μορφή που προκύπτει από την επεξεργασία του καρπού της ελιάς για την ανάκτηση του ελαιόλαδου (κύριο προϊόν). Ο ελαιοπυρήνας (Εικόνα 1.1) συνίσταται από το κουκούτσι, ή αλλιώς πυρήνα της ελιάς, το φλοιό και τη σάρκα της, ενώ ταυτόχρονα περιέχει σε σημαντικό ποσοστό πυρηνέλαιο αλλά και βιοδραστικά συστατικά. Τα βιοδραστικά συστατικά μπορούν να απομονωθούν μέσω εκχύλισης με οργανικούς διαλύτες από το πυρηνέλαιο ή τον ελαιοπυρήνα κατευθείαν. Η σύσταση και το ποσοστό περιεκτικότητας αυτών των συστατικών διαφέρει ανάλογα με την προέλευση του ελαιοπυρήνα και την τεχνολογία (μέθοδο εξαγωγής) που εφαρμόζεται στους διαφορετικούς τύπους ελαιοτριβείων για την ανάκτηση του ελαιόλαδου (Chanioti, 2019).



Εικόνα 1.1 Ελαιοπυρήνας (olive pomace)

1.1.1 Ελαιοπυρήνας ως παραπροϊόν διαφορετικών μεθόδων παραλαβής ελαιόλαδου

Η σύσταση του ελαιοπυρήνα διαφοροποιείται και εξαρτάται από την επιλεγόμενη διαδικασία παραγωγής του ελαιόλαδου που εφαρμόζεται στους καρπούς της ελιάς. Έτσι, τόσο η ποιότητα όσο και η σύσταση του ελαιοπυρήνα (και του ελαιόλαδου) επηρεάζεται από παράγοντες και στάδια που προηγούνται της εξαγωγής του ελαιόλαδου, και τα οποία είναι: η περίοδος συγκομιδής των καρπών της ελιάς, ο βαθμός ωρίμανσης τους, ο τρόπος συγκομιδής (χειρωνακτικά, με δίχτυα κτλ.), η αποθήκευση των καρπών πριν υποβληθούν σε επεξεργασία, η αποφύλλωση τους και οποιαδήποτε μέθοδος προκατεργασίας. Όσον αφορά το χρησιμοποιούμενο σύστημα εξαγωγής, τα κύρια στάδια αυτής της διαδικασίας είναι τρία:

- 1) η άλεση ή σύνθλιψη των καρπών, κατά την οποία προκύπτει η ελαιόμαζα, σε μορφή ομοιογενούς πάστας,
- 2) η μάλαξη της ελαιόμαζας, στη περίπτωση που εφαρμόζεται η μέθοδος της φυγοκέντρωσης για τον διαχωρισμό του ελαιόλαδου. Η μάλαξη συμβάλει στην αύξηση του ποσοστού του ελαίου που θα απελευθερωθεί, προκαλώντας την συνένωση μικρών σταγονιδίων ελαίου και διευκολύνοντας έτσι στη συνέχεια τον διαχωρισμό της ελαιώδους από την υδατική φάση.
- 3) η προσθήκη νερού για τον διαχωρισμό της ελαιώδους φάσης. Στην περίπτωση εφαρμογής της παραδοσιακής μεθόδου πίεσης, η οποία σήμερα τείνει να εγκαταλειφθεί, η προσθήκη νερού γίνεται μέσω υδραυλικής πίεσης και αποτελεί μία ασυνεχή μέθοδο, ενώ στην περίπτωση των φυγοκεντρικών διαχωρισμών γίνεται κατά το στάδιο της φυγοκέντρωσης, η μέθοδος είναι συνεχής και επιφέρει καλύτερο διαχωρισμό ελαίου.

Μέθοδος πίεσης

Η μέθοδος του συστήματος πίεσης είναι η παλαιότερη τεχνολογία εξαγωγής του ελαιόλαδου και περιλαμβάνει τη χρήση υδραυλικής πρέσας, ή αλλιώς ένα υδραυλικό πιεστήριο. Η ελαιόμαζα που έχει σχηματιστεί από το προηγούμενο στάδιο της άλεσης απλώνεται ομοιόμορφα και σχηματίζει ένα στρώμα πάνω σε ειδικό φίλτρο (filter mat). Τα φίλτρα με την ελαιόμαζα στοιχίζονται το ένα πάνω στο άλλο ενώ ανάμεσα τους τοποθετούνται μεταλλικοί δίσκοι (Vossen, 2007). Εφαρμόζεται πίεση σε αυτή τη συστοιχία, συμπιέζεται η στερεή φάση της ελαιόμαζας και απομακρύνεται η υγρή φάση (ελαιόλαδο, νερό, αιωρούμενα συστατικά). Στη συνέχεια, ακολουθεί διήθηση της υγρής φάσης για την παραλαβή του ελαιόλαδου (Boskou, 2011). Το κύριο προϊόν είναι το ελαιόλαδο, όμως πλην αυτού παραλαμβάνεται το στερεό παραπροϊόν, ο ελαιοπυρήνας, συν υγρά απόβλητα. Η μέθοδος αυτή μπορεί να προσφέρει υψηλή ποιότητα ελαιόλαδου, λόγω της απουσίας υψηλών θερμοκρασιών κατά την εφαρμογή της, είναι όμως ασυνεχής, χρονοβόρα και δαπανηρή διαδικασία. Γι' αυτό με την πάροδο των χρόνων έχει αντικατασταθεί, αρχικά από τη μέθοδο φυγοκέντρωσης του τριφασικού συστήματος και πιο πρόσφατα του διφασικού (Boskou, 2011).

Μέθοδος φυγοκέντρωσης τριών φάσεων

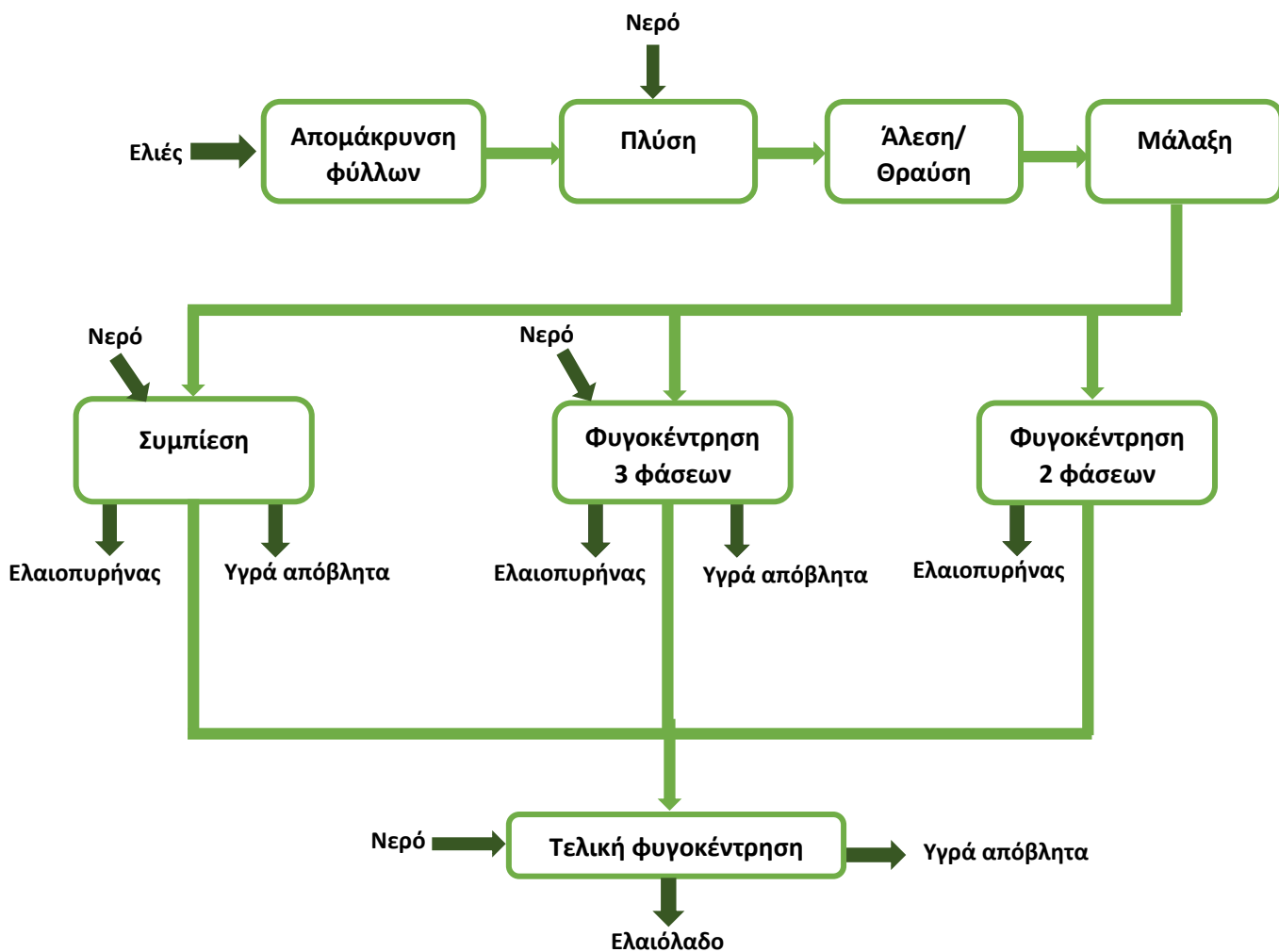
Η παραδοσιακή μέθοδος της πίεσης αντικαταστάθηκε από την φυγοκέντρωση τριών φάσεων, η οποία είναι μία συνεχής διαδικασία. Στην ελαιόμαζα που σχηματίζεται από τα στάδια της άλεσης και της μάλαξης, προστίθεται (πόσιμο) νερό ώστε η προς επεξεργασία μάζα να ρέει καλύτερα στον φυγοκεντρικό διαχωριστήρα στον οποίο θα εισαχθεί. Πραγματοποιείται η εισαγωγή της ελαιόμαζας στον τριφασικό φυγοκεντρικό διαχωριστήρα (decanter) και με την εφαρμογή φυγόκεντρης δύναμης, τα βαρύτερα στερεά υλικά κινούνται προς τα έξω και το ελαφρύτερο στρώμα νερού μένει στη μέση, ενώ στο εσωτερικού του βρίσκεται το ακόμα ελαφρύτερο στρώμα

ελαίου. Από τη διαδικασία αυτή το προϊόν που προκύπτει είναι το ελαιόλαδο και ως παραπροϊόν ο ελαιοπυρήνας, ο οποίος περιέχει χαμηλό ποσοστό υγρασίας (45-55%), γεγονός που αυξάνει την εμπορική του αξία. Ωστόσο προκύπτει και μεγάλη ποσότητα υγρών αποβλήτων, τα οποία απορρίπτονται και ρυπαίνουν το περιβάλλον, ενώ παράλληλα μαζί με την τεράστια κατανάλωση πόσιμου νερού, απομακρύνονται στα απόβλητα σημαντικά βιοδραστικά συστατικά, όπως οι φαινόλες που είναι κυρίως υδατοδιαλυτές (Roig et al., 2006, Rahmanian et al., 2014).

Μέθοδος φυγοκέντρησης δύο φάσεων

Η μέθοδος φυγοκέντρησης δύο φάσεων χρησιμοποιεί επίσης την τεχνολογία του φυγοκεντρικού διαχωρισμού και από την ελαιόμαζα που εισάγεται (κατόπιν άλεσης και μάλαξης) προκύπτει το ελαιόλαδο ως κύριο προϊόν και ο ελαιοπυρήνας ως παραπροϊόν. Στη διεργασία του διφασικού συστήματος, η οποία είναι συνεχής, δεν προστίθεται επιπλέον ποσότητα νερού. Έτσι, οι πολυφαινολικές ενώσεις παραμένουν στο ελαιόλαδο (και στον ελαιοπυρήνα), η περιβαλλοντική ζημία δεν είναι τόσο μεγάλη, αλλά ο ελαιοπυρήνας που παράγεται είναι χαμηλότερης εμπορικής αξίας λόγω του αυξημένου ποσοστού υγρασίας (65-75%) (Zbakh, El Abbassi, 2012). Η υψηλή υγρασία καθιστά τον ελαιοπυρήνα υποδεέστερο εμπορικά καθώς αυξάνει το κόστος στα επόμενα στάδια επεξεργασίας του (παραλαβή πυρηνέλαιου στα πυρηνελαιουργεία).

Και οι τρεις διεργασίες που αναφέρθηκαν παραπάνω έχουν ως τελικό στάδιο τον καθαρισμό του ελαιόλαδου από στερεά και αιωρούμενα σωματίδια και την απομάκρυνση όσου νερού έχει παραμείνει από προηγούμενα στάδια. Αυτός ο τελικός διαχωρισμός, ονομάζεται στάδιο της διαύγασης και πραγματοποιείται χρησιμοποιώντας φυγοκέντρηση. Από τις τρεις διεργασίες, η φυγοκέντρηση τριών φάσεων είναι αυτή που εξακολουθεί να εφαρμόζεται κυρίως στις χώρες που παράγουν ελιές, παρά τις περιβαλλοντικές επιπτώσεις (Dermeche et al, 2013). Στο Σχήμα 1.1 που ακολουθεί παρουσιάζονται οι τρεις μέθοδοι εξαγωγής ελαιόλαδου και ανάκτησης ελαιοπυρήνα (Chanioti, 2019, Andreou, 2020).



Σχήμα 1.1 Οι τρεις μέθοδοι εξαγωγής ελαιόλαδου.

1.1.2 Σύσταση του ελαιοπυρήνα

Ο ελαιοπυρήνας προκύπτει από τους καρπούς της ελιάς, αφού γίνουν ελαιόμαζα και εξαχθεί από αυτούς το ελαιόλαδο, μέσω του συστήματος πίεσης ή φυγοκέντρησης (τριφασική, διφασική). Επομένως, αυτό το στερεό παραπροϊόν περιλαμβάνει τις σάρκες, τα κουκούτσια (πυρήνες) και τους φλοιούς των επεξεργαζόμενων ελιών που απομένουν (αλλιώς λιοκόκκι). Αναφορικά με τη σύστασή του, περιέχει έλαιο, υγρασία, σε διαφορετικά ποσοστά ανάλογα με τη διεργασία στην οποία έχουν υποβληθεί οι καρποί για την εξαγωγή του ελαιόλαδου, πρωτεΐνες, υδατάνθρακες, τέφρα, κυτταρίνη, ημικυτταρίνη, λιγνίνη, λίπη και έλαια, ανόργανες ουσίες και φαινολικά συστατικά. Στον Πίνακα 1.1 παρουσιάζονται τα συστατικά του ελαιοπυρήνα σε περιεκτικότητα % κ.β., η οποία μπορεί να διαφέρει ωστόσο ανάλογα με την προέλευση και την επεξεργασία των ελιών.

Πίνακας 1.1 Σύσταση ελαιοπυρήνα για τα διαφορετικά συστήματα επεξεργασίας
(Dermeche et al, 2013, Chanioti, 2019)

Χαρακτηριστικό	Σύστημα Πίεσης	Σύστημα φυγοκέντρησης 3 φάσεων	Σύστημα φυγοκέντρησης 2 φάσεων
Σύνθεση			
Σάρκα και φλοιός (%)	11-25	12-35	10-15
Κουκούτσια (%)	40-65	15-45	12-18
Χημική σύσταση (%)			
Υγρασία	25-30	40-50	65-75
Λίπη και έλαια	6-9	3-7	2-5
Ολικές πρωτεΐνες	4.77-6.85	3.43-7.26	2.87-7.2
Ολικό άζωτο	0.71	0.2-0.3	0.25-1.85
Ολικοί Υδατάνθρακες	1.38-2.12	0.99-1.38	0.83-1.93
Κυτταρίνη	24.1	17.37-24.14	14.54
Ημικυτταρίνη	11.1	7.92-11.00	6.63
Λιγνίνη	14.1	0.21-10.21	8.54
Τέφρα	2.36	1.7-4	1.42-4
Ολικός άνθρακας	42.9-43.2	29.03-42.9	25.37
Ασβεστιο ως CaO	0.61	0.44	0.37
Φώσφορος ως P ₂ O ₅	0.07	0.05	0.04
Κάλιο ως K ₂ O	0.54	0.39	0.32
Ολικές φαινόλες	0.63-1.14	0.2-1.146	0.4-2.43

1.1.3 Αξιοποίηση του ελαιοπυρήνα

Η διαχείριση των παραπροϊόντων που προκύπτουν ως απόβλητα (στερεά απόβλητα, δηλαδή ελαιοπυρήνας και υγρά απόβλητα) από την εξαγωγή του ελαιόλαδου, είναι μέχρι σήμερα ιδιαίτερα περιορισμένη. Οι μοναδικές πρακτικές αξιοποίησης είναι η κομποστοποίηση, η επεξεργασία με σκοπό τη σύνθεση ζωοτροφής και η μετατροπή σε λίπασμα, οι οποίες μάλιστα δεν συμβάλουν στη βιωσιμότητα της βιομηχανίας. Στόχος για την πιο αποτελεσματική διαχείριση είναι να ελαττωθεί το ρυπαντικό φορτίο των αποβλήτων, έτσι ώστε η εναπόθεση τους να μην επιφέρει βλαβερές

επιπτώσεις στο περιβάλλον. Τα απόβλητα αυτά διαθέτουν μεγάλη περιεκτικότητα ανόργανων και οργανικών ουσιών, οι οποίες παρουσιάζουν βιοδραστική και αντιοξειδωτική δράση. Η αξιοποίηση τους λοιπόν κρίνεται σκόπιμο να μελετηθεί και να απόκτηση πρακτική εφαρμογή.

Η απευθείας απόθεση των αποβλήτων σε υδάτινους αποδέκτες, δηλαδή σε θάλασσες, λίμνες και ποτάμια, αποτελεί δυστυχώς την πιο συνήθη πρακτική διαχείρισης που εφαρμόζεται. Η πρακτική αυτή ωστόσο είναι και ιδιαίτερα καταστροφική, καθώς στα σημεία απόρριψης των αποβλήτων αναπτύσσονται μικροοργανισμοί, οι οποίοι με τη σειρά τους δεσμεύουν το υπάρχον οξυγόνο για την οξείδωση οργανικών ουσιών. Αυτό το φαινόμενο διαταράσσει το ισοζύγιο του οξυγόνου στο υδάτινο περιβάλλον, απειλώντας έτσι την χλωρίδα και την πανίδα (Dilis et al 2009). Δεύτερη πρακτική διαχείρισης συνιστά η απόθεση των αποβλήτων στο έδαφος. Αυτή η κίνηση όμως επιφέρει μία σειρά προβλημάτων στο περιβάλλον. Προβλήματα φυτοτοξικότητας στις αγροτικές καλλιέργειες εξαιτίας της υψηλής συγκέντρωσης σε άλατα και φαινολικά συστατικά, μείωση της διαπερατότητας του νερού στο έδαφος, θάνατος μικροοργανισμών του εδάφους λόγω της αντιμικροβιακής δράσης των ουσιών των αποβλήτων είναι κάποια από αυτά. Η ρύπανση του περιβάλλοντος που προκαλείται από τις παραπάνω πρακτικές έχει άμεση επίπτωση και στην ποιότητα της ανθρώπινης ζωής (Dilis et al, 2009).

Η μείωση του ρυπαντικού φορτίου των στερεών αποβλήτων, δηλαδή του ελαιοπυρήνα, μπορεί να λειτουργήσει παράλληλα με την αξιοποίησή του και να επιτευχθεί με την ανάκτηση των βιοδραστικών συστατικών που περιέχονται σε αυτόν. Όπως ήδη έχει αναφερθεί, ο ελαιοπυρήνας παρουσιάζει μία εξαιρετικά πλούσια σύσταση και μάλιστα οι συγκεντρώσεις των βιοδραστικών και αντιοξειδωτικών συστατικών είναι πολύ υψηλές (600mg/kg ελαιοπυρήνα) (Andreou, 2020). Αφού ανακτηθούν μπορεί να πραγματοποιηθεί η προσθήκη τους σε τρόφιμα, αναβαθμίζοντάς την θρεπτική τους αξία, καλλυντικά και φάρμακα. Επομένως, κρίνεται αναγκαίο να αναπτυχθούν νέες βελτιωμένες πρακτικές διαχείρισης των παραπροϊόντων αυτών.

1.1.4 Διαχείριση ελαιοπυρήνα για την παραλαβή βιοδραστικών συστατικών

Η παραλαβή των βιοδραστικών συστατικών από τον ελαιοπυρήνα πραγματοποιείται μέσω εκχύλισης με οργανικούς διαλύτες. Πριν όμως από το στάδιο της εκχύλισης, προηγούνται κάποια άλλα στάδια προετοιμασίας του ελαιοπυρήνα. Τα στάδια αυτά είναι η αποθήκευση, η ξήρανση και η άλεση. Σημειώνεται ότι η εκχύλιση ως στάδιο αναπτύσσεται στο Κεφάλαιο 3 της παρούσας διπλωματικής εργασίας.

Αποθήκευση

Η αποθήκευση πραγματοποιείται είτε κατά την παραλαβή του ελαιοπυρήνα από τα ελαιοτριβεία είτε μετά τα στάδια της ξήρανσης και της άλεσης και έχει ως στόχο τη

διατήρηση της ποιότητας, της σύστασης και των βιοδραστικών συστατικών μέχρι την στιγμή που θα εκχυλιστούν. Η εκχύλιση μπορεί να πραγματοποιηθεί μετά από ορισμένο χρονικό διάστημα, επομένως οι συνθήκες αποθήκευσης θα πρέπει να εξασφαλίζουν την αποφυγή μεταβολών στον ελαιοπυρήνα από ενζυμικούς, μικροβιακούς ή χημικούς παράγοντες (Sánchez Moral et al 2006).

Ξήρανση

Η διεργασία της ξήρανσης είναι απαραίτητη για την εξασφάλιση της υψηλής ποιότητας και της βιολογικής σταθερότητας του ελαιοπυρήνα. Επιτυγχάνεται η μείωση του ποσοστού υγρασίας και κατά συνέπεια παρεμποδίζεται η ανάπτυξη παθογόνων μικροοργανισμών και η πραγματοποίηση ενζυμικών και χημικών δράσεων, που εξαρτώνται άμεσα από την περιεκτικότητα του προϊόντος σε νερό. Ο ελαιοπυρήνας που προκύπτει από τις διαφορετικές μεθόδους εξαγωγής ελαιόλαδου διαφέρει κυρίως ως προς το ποσοστό υγρασίας που περιέχει. Αυτό δημιουργεί την ανάγκη και για εφαρμογή διαφορετικών διαδικασιών ξήρανσης. Έτσι υπάρχουν τρία είδη ξήρανσης που χρησιμοποιούνται:

- 1) η άμεση ξήρανση ενός σταδίου (για ξήρανση ελαιοπυρήνα που προκύπτει από φυγοκέντρηση τριών ή δύο φάσεων)
- 2) η άμεση ξήρανση δύο σταδίων (για ξήρανση ελαιοπυρήνα που προκύπτει από φυγοκέντρηση τριών φάσεων, όπου ο έλαιοπυρήνας ήδη χαμηλής υγρασίας ξηραίνεται σε χαμηλές θερμοκρασίες)
- 3) η άμεση ξήρανση ενός σταδίου με επανακυκλοφορία (για ξήρανση ελαιοπυρήνα που προκύπτει από φυγοκέντρηση δύο φάσεων, όπου μέρος του αποξηραμένου ελαιοπυρήνα οδηγείται σε ανακύκλωση και ανάμιξη με τον υγρό).

Ιδανικά η όποια διαδικασία ξήρανσης εφαρμόζεται θα πρέπει να γίνεται υπό έλεγχο και σε χαμηλά επίπεδα θερμοκρασίας, ώστε να αποφεύγεται η υποβάθμιση του ελαιοπυρήνα και των βιοδραστικών συστατικών του. Παρ' όλα αυτά, για να ξηραθεί ο ελαιοπυρήνας αποτελεσματικά σε χαμηλή θερμοκρασία απαιτείται μεγάλο χρονικό διάστημα, στη διάρκεια του οποίου θα έχει επέλθει η διάσπαση των βιοδραστικών ενώσεων. Επομένως, η εφαρμογή της ξήρανσης για σύντομο χρονικό διάστημα και σε υψηλότερες θερμοκρασίες κρίνεται από ορισμένους μελετητές ως πιο αποδοτική, ενώ η υποβάθμιση που επιφέρει στα βιοδραστικά και αντιοξειδωτικά συστατικά είναι μικρότερης κλίμακας (Gogus & Maskan, 2006). Παράδειγμα υποδειγματικών συνθηκών ξήρανσης είναι χρόνος μέχρι 30 λεπτά και θερμοκρασία μέχρι 70 °C (Ahmad-qasem et al, 2013).

Άλεση

Ο ξηρός ελαιοπυρήνας (dried olive pomace) προτού υποβληθεί σε εκχύλιση περνάει από το στάδιο της άλεσης, κατά το οποίο συνθλίβεται και αλέθεται η στερεή μάζα του και μετατρέπεται σε μικρούς κόκκους. Η μορφή αυτή της μικρής κοκκομετρίας μεγιστοποιεί την απόδοση της εκχύλισης, καθώς επιφέρει καλύτερη διείσδυση του

διαλύτη στο στερεό υλικό και αποτελεσματικότερη εκχύλιση των βιοδραστικών συστατικών από αυτό (Ahmad-qasem et al, 2013).

1.2 Βιοδραστικά συστατικά ελαιοπυρήνα

Ο ελαιοπυρήνας είναι πλούσιος σε βιοδραστικά συστατικά, τα οποία ανήκουν στο ασαπωνοποίητο κλάσμα. Η περιεκτικότητά του μάλιστα σε αυτά τα συστατικά είναι υψηλότερη από αυτή του ελαιόλαδου. Οι ουσίες με βιοδραστική δράση που εμφανίζονται στον ελαιοπυρήνα είναι οι στερόλες, το σκουαλένιο, οι τοκοφερόλες, οι αλειφατικές αλκοόλες, οι τριτερπενικές διαλκοόλες και οι φαινολικές ενώσεις. Οι τελευταίες αποτελούν το κεντρικό σημείο έρευνας της παρούσας διπλωματικής εργασίας και γι' αυτό θα παρουσιαστούν πιο εκτενώς.

Στερόλες

Οι στερόλες είναι λιπίδια και έχουν τη δομή μονοσθενών δευτεροταγών αλκοολών μεγάλου μοριακού βάρους. Οι κύριες φυτικές στερόλες είναι η καμπεστερόλη, η στιγματοστερόλη και η β-σιτοστερόλη, ενώ η πιο γνωστή ζωική στερόλη είναι η χοληστερόλη. Έχουν άμεση συσχέτιση με την ποιότητα του ελαίου και χρησιμοποιούνται για να ελεγχθεί η γνησιότητα και η νοθεία των ελαίων, καθώς είναι συγκεκριμένες για κάθε έλαιο και αποτελούν χαρακτηριστικό της ταυτότητας του. Η υψηλή χημική σταθερότητα που εμφανίζουν και η αντοχή τους σε φαινόμενα οξειδωσης τις καθιστά πολύτιμες και άξιες ανάκτησης από τα παραπροϊόντα της ελαιουργείας (Rastrelli et al, 2002).

Σκουαλένιο

Το σκουαλένιο είναι ένας φυσικός τερπενοειδής υδρογονάνθρακας ($C_{30}H_{50}$). Μπορεί να φτάσει και σε ποσοστό 40-50% του συνολικού ασαπωνοποίητου κλάσματος. Είναι άχρωμο και άοσμο και εμφανίζει αντιοξειδωτική και ιδιαίτερα αντικαρκινική δράση (Lu et al, 2004).

Τοκοφερόλες

Οι τοκοφερόλες είναι λιποδιαλυτές χημικές ενώσεις που εμφανίζουν παρόμοια χημική δομή (χαρακτηριστική ομάδα υδροξύλιου του χρωμανίου και ουρά φυτυλίου). Είναι γνωστές με το όνομα Βιταμίνη E και χωρίζονται σε τέσσερις ομάδες, α-, β-, γ- και δ-τοκοφερόλες. Εμφανίζουν αντιοξειδωτική δράση (χάρη στην ομάδα χρωμανίου που φέρει υδροξύλιο) και ιδιαίτερα η α-τοκοφερόλη συνδέεται με αντιφλεγμονώδη, αντικαρκινική και αντιγυραντική δράση (Temeli et al, 2005).

Αλειφατικές αλκοόλες

Οι πιο σημαντικές αλειφατικές αλκοόλες είναι οι λιπαρές αλκοόλες (εξακοσανόλη, οκτακοσανόλη, τριακοντανόλη), που παρουσιάζουν ισχυρή αντιφλεγμονώδη δράση και οι διτερπενικές αλκοόλες (Rodríguez-Gutiérrez et al, 2012).

Τριτερπενικές αλκοόλες

Οι τριτερπενικές αλκοόλες που απαντώνται κυρίως στο ελαιόλαδο και στο πυρηνέλαιο είναι η ερυθροδιόλη και η ουβανόλη. Παρουσιάζουν ομοίως αντιοξειδωτική και αντιφλεγμονώδη δράση, ενώ χρησιμοποιούνται επίσης στην πρόληψη και θεραπεία καρκινικών εγκεφαλικών όγκων και άλλων μορφών καρκίνου (Rodríguez-Gutiérrez et al, 2012).

Φαινολικά συστατικά

Μία από τις σημαντικότερες κατηγορίες βιοδραστικών συστατικών είναι τα φαινολικά συστατικά, τα οποία βρίσκονται στον καρπό της ελιάς σε μεγάλες συγκεντρώσεις και μετά την επεξεργασία για την εξαγωγή του ελαιόλαδου, παραμένουν στον ελαιοπυρήνα που προκύπτει ως στερεό προϊόν. Τα συστατικά αυτά χαρακτηρίζονται αλλιώς και ως «πολυφαινόλες» και είναι ενώσεις που η μοριακή τους δομή περιλαμβάνει τουλάχιστον ένα βενζολικό δακτύλιο στον οποίο βρίσκονται συνδεδεμένα ένα ή περισσότερα υδροξύλια. Ανήκουν στο ασαπωνοποίητο και πολικό κλάσμα του ελαιοπυρήνα και εκχυλίζονται από αυτόν με τη χρήση οργανικού διαλύτη μεθανόλης συχνά σε μείγμα με νερό.

Τα φαινολικά συστατικά που εμπεριέχονται στον ελαιοπυρήνα είναι (Paiva-Martins & Kiritsakis, 2017):

Φαινολικά οξέα παράγωγα του υδροξυβενζοϊκού οξέος. Τα παράγωγα του υδροξυβενζοϊκού οξέος έχουν μία γενική δομή ατόμων άνθρακα τύπου C6-C1 και προέρχονται από το βενζοϊκό οξύ. Οι διαφορετικές δομές οφείλονται στην υδροξυλίωση και τη μεθοξυλίωση του αρωματικού δακτυλίου. Τα κυριότερα παράγωγα του υδροξυβενζοϊκού οξέος που απαντώνται στο ελαιόλαδο είναι το βανιλλικό οξύ, το γαλλικό οξύ, το συριγγικό οξύ και το p-υδροξυβενζοϊκό οξύ. Στον ελαιοπυρήνα βρίσκεται κυρίως το βανιλλικό οξύ.

Φαινολικά οξέα παράγωγα του υδροξυκινναμικού οξέος. Τα φαινολικά οξέα που ανήκουν σε αυτή την κατηγορία έχουν βασική δομή ατόμων άνθρακα τύπου C6-C3 (κινναμικό οξύ) και είναι κυρίως το καφεϊκό οξύ, το κουμαρικό οξύ, το συναπικό οξύ και το φερουλικό οξύ.

Φλαβονοειδή. Η ρουτίνη, η οποία ανήκει στις φλαβονόλες, και η λουτεολίνη και η απιγενίνη, οι οποίες ανήκουν στις φλαβόνες είναι τα κύρια φλαβονοειδή που συναντώνται στο ελαιόλαδο και στον ελαιοπυρήνα. Πολλές φορές συναντάται και η κερσετίνη.

Φαινυλικές αλκοόλες. Οι ενώσεις αυτές περιλαμβάνουν μόρια που περιέχουν τη δομή C6-C2 και αντιστοιχούν είτε στη 2-(4-υδροξυφαινυλ)αιθανόλη (τυροσόλη) είτε στη 2-(3,4-διυδροξυφαινυλ)αιθανόλη (υδροξυτυροσόλη) και τα παράγωγά τους με την αλδεϋδική και διαλδεϋδική μορφή του ελενολικού οξέος. Τόσο η τυροσόλη όσο και η υδροξυτυροσόλη πιστεύεται ότι προέρχονται από την υδρόλυση διαφόρων σεκοϊριδοειδών όπως είναι η ελευρωπαΐνη και ο γλυκοζίτης της.

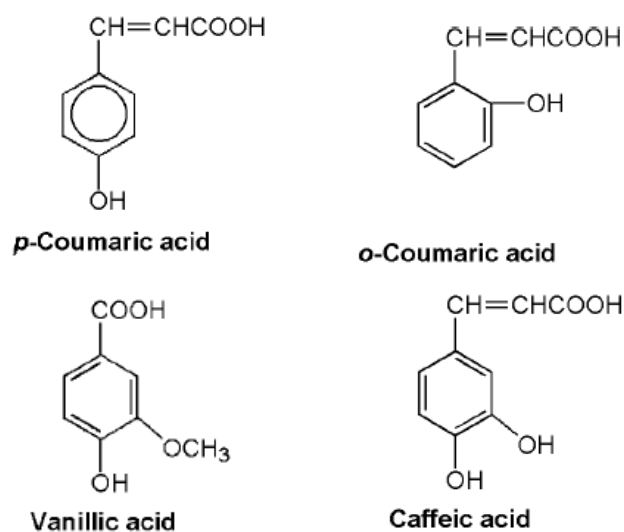
Σεκοϊροειδή. Τα σεκοϊροειδή από δομικής άποψης είναι δικυκλικά συντηγμένα κυκλοπεντανο-πυράνια. Δημιουργούνται από τη διάσπαση ενός δεσμού στο δακτύλιο του κυκλοπεντανίου. Κύριες ενώσεις της κατηγορίας αυτής είναι η ελευρωπαΐνη και οι γλυκοζίτες της. Η ελευρωπαΐνη είναι εστέρας του ελενολικού οξέος. Είναι ένα φαινολικό συστατικό που προσδίδει πικρή γεύση στις ελιές, είναι ένα από τα σημαντικότερα αντιμικροβιακά συστατικά του πολυφαινολικού κλάσματος του ελαιόλαδου και του ελαιοπυρήνα.

Λιγνάνες. Οι ενώσεις αυτές είναι προϊόντα του διμερισμού δύο φαινυλοπροπενίων ή πρόδρομων φαινυλοπροπενίων (C6-C3 διμερή). Οι λιγνάνες πινορεζινόλη και 1-ακετοξυπινορεζινόλη απαντώνται στο ελαιόλαδο και στον ελαιοπυρήνα.

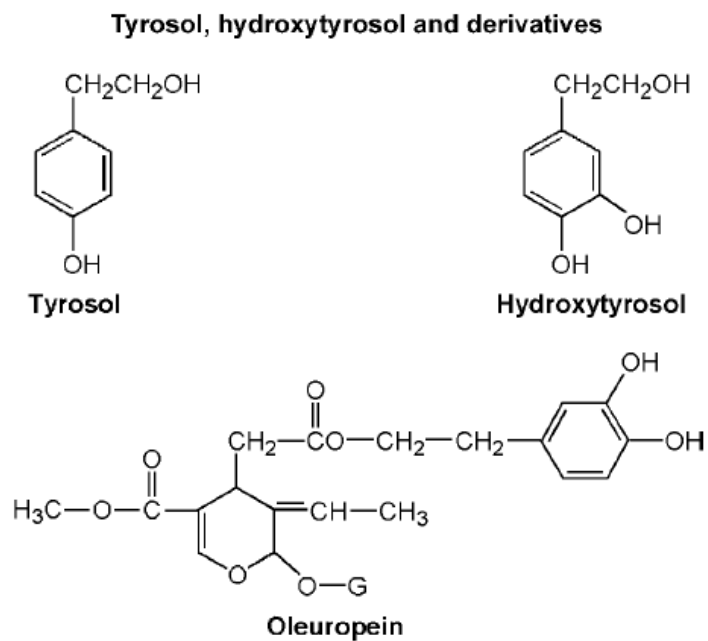
Υδροξυ-ισοχρωμάνες. Πρόκειται για ενώσεις που προέρχονται από την αντίδραση μεταξύ της υδροξυτυροσόλης και των αρωματικών αλδεϋδών (όπως η βανιλίνη) και συνήθως χρησιμοποιείται το ελαϊκό οξύ ως καταλύτης. Η 1-φαινυλ-6,7-διυδροξυισοχρωμάνη και η 1-(3'-μεθοξυ-4'-υδροξυ)φαινυλ-6,7-διυδροξυισοχρωμάνη βρίσκονται στο ελαιόλαδο και στον ελαιοπυρήνα σε πολύ μικρές ποσότητες.

Στα επόμενα σχήματα (Σχήμα 1.2, 1.3, και 1.4) απεικονίζονται οι δομές των κυριότερων φαινολικών ενώσεων που εντοπίζονται στον ελαιοπυρήνα.

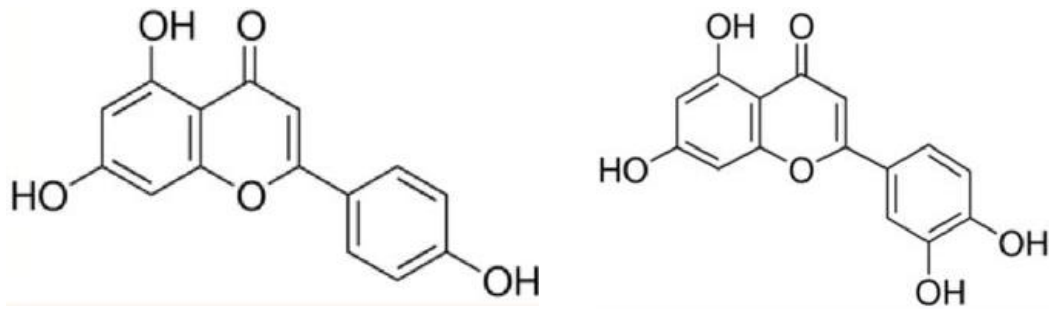
Το ποσοστό περιεκτικότητας των διαφόρων φαινολικών συστατικών στον ελαιοπυρήνα και στο ελαιόλαδο διαφέρει και εξαρτάται από παράγοντες όπως το είδος του καρπού («ποικιλία»), την προέλευση, τον χρόνο ωρίμανσης, την προκατεργασία και τη βασική επεξεργασία για την εξαγωγή ελαιόλαδου. Όσον αφορά τη μέθοδο εξαγωγής ελαιόλαδου σημειώνεται ότι η μέθοδος πίεσης και διφασικής φυγοκέντρησης επιτυγχάνει υψηλότερη περιεκτικότητα φαινολικών στον ελαιοπυρήνα και στο ελαιόλαδο, σε αντίθεση με την τριφασική φυγοκέντρηση, κατά την οποία εξαιτίας της εκτεταμένης έκπλησης με νερό της ελαιόμαζας, παρατηρείται η έκλυση και απομάκρυνση των φαινολικών από το νερό (Chanioti, 2019).



Σχήμα 1.2. Μοριακές δομές φαινολικών οξέων που περιέχονται στον ελαιοπυρήνα



Σχήμα 1.3 Μοριακές δομές τυροσόλης, υδροxyτυσοόλης, ελευρωπαΐνης που περιέχονται στον ελαιοπυρήνα.



Σχήμα 1.4 Μοριακές δομές απιγενίνης (αριστερά) και λουτεολίνης (δεξιά) που περιέχονται στον ελαιοπυρήνα.

Κατά την επεξεργασία των καρπών της ελιάς για εξαγωγή ελαιόλαδου, η κύρια ποσότητα των φαινολικών συστατικών παραμένει στον ελαιοπυρήνα και δε μεταβιβάζεται στον ελαιόλαδο. Μόνο το 1-2% περνάει στο ελαιόλαδο, ενώ το 45% βρίσκεται στον ελαιοπυρήνα. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι το υπόλοιπο και μεγαλύτερο ποσοστό των φαινολικών, 53% διοχετεύεται στα υγρά απόβλητα (Takas & Karakaya, 2012). Το ολικό φαινολικό περιεχόμενο (total phenolic content, TPC) του ελαιοπυρήνα κυμαίνεται από 10 έως 40 mg γαλλικού οξέος (mg GAE)/g ξηρής πρώτης ύλης (Secmeler et al, 2018). Στη συνέχεια ακολουθεί ο Πίνακας 1.2 στον οποίο παρουσιάζονται οι συγκεντρώσεις των κυριότερων φαινολικών συστατικών που εντοπίζονται στον ελαιοπυρήνα.

Πίνακας 1.2. Συγκεντρώσεις κυριότερων φαινολικών συστατικών του ελαιοπυρήνα (Chanioti, 2019)

Φαινολικό συστατικό (mg/g dw)	
Υδροξυτυροσόλη	0.6-8.7
Καφεϊκό οξύ	0.002-0.03
Ελευρωπαΐνη	1.2-13.5
Φερουλικό οξύ	0.05-0.71
Βανιλλικό οξύ	0.07-1.01
Βανιλίνη	0.9-3.6
Κουμαρικό οξύ	0.09-0.49
Απιγενίνη	0.4-0.6
Ρουτίνη	0.2-1.7
Λουτεολίνη	0.02-0.14

2. Προϊόντα και παραπροϊόντα της βιομηχανίας της τομάτας

Εισαγωγή

Η τομάτα, της οποίας το επιστημονικό όνομα είναι *Solanum lycopersicum* L., είναι ένα πολύ διαδεδομένο και δημοφιλές λαχανικό, που καλλιεργείται ως μονοετές φυτό και ανήκει στο γένος *Solanum* της οικογένειας *Solanaceae* (Σολανωδών). Ο καρπός του φυτού έχει χαρακτηριστικό κόκκινο χρώμα, το οποίο οφείλεται στη χρωστική λυκοπένιο που περιέχει, και από βοτανικής άποψης χαρακτηρίζεται ως ράγα. Η δομή του καρπού περιλαμβάνει τη φλούδα (εξωτερικός φλοιός, εξωκάρπιο), τη σάρκα ή αλλιώς πούλπα (περικάρπιο) και τους σπόρους, οι οποίοι περικλείονται από μία ουσία ζελατινώδους μορφής. Κατά την ωρίμανση των καρπών της τομάτας πραγματοποιείται η αλλαγή του χρώματος από πράσινο σε κόκκινο, γεγονός που οφείλεται στην απομάκρυνση της χλωροφύλλης (πράσινο χρώμα) και στη σύνθεση των καροτενοειδών (πορτοκαλί και κόκκινο χρώμα) (Davies & Hobson, 1981).

Από το 1920 και μετά εξελίχθηκε βιομηχανική δραστηριότητα γύρω από τον καρπό της τομάτας που συνεχίζεται μέχρι σήμερα. Η βιομηχανική επεξεργασία μέσα στο πέρασμα των χρόνων έχει αλλάξει μορφές, μεθόδους και τεχνολογίες και έχει αλλάξει και την ίδια την τομάτα, δημιουργώντας νέες ποικιλίες και υβρίδια με βελτιωμένα χαρακτηριστικά και ιδιότητες. Σκοπός είναι η διατήρηση αλλά συχνά και η αναβάθμιση της διατροφικής αξίας της τομάτας, ενώ παράλληλα σημασία δίνεται και στην ανθεκτικότητα του καρπού, την αντοχή του στη μηχανική καταπόνηση κατά τη μεταφορά, τη διατηρησιμότητα, τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, καθώς επίσης την αντοχή σε ασθένειες και επιμολύνσεις.

Σε ετήσια βάση στην Ελλάδα παράγονται μεγάλες ποσότητες τομάτας, 400,000 τόνοι σύμφωνα με το Παγκόσμιο Συμβούλιο Επεξεργασίας Τομάτας (The World Processing Tomato Council, 2020), ενώ παράλληλα μέσω αυτής της διαδικασίας παραγωγής, προκύπτουν και σημαντικές ποσότητες παραπροϊόντων. Το παραπροϊόν της τομάτας, που καλείται αλλιώς και τσίπουρο, αποτελείται κυρίως από τον φλοιό και τα σπόρια της τομάτας, ποσοτικά αντιστοιχεί στο 5-10% του φρούτου και αυτό το ποσοστό μεταφράζεται σε 20-40x10⁶ κιλά παραπροϊόντος ετησίως. Η συνηθέστερη πρακτική διαχείρισης του παραπροϊόντος αυτού είναι η διάθεσή του ως λίπασμα σε κοντινούς αγρούς ή ως ζωοτροφή μετά από ξήρανση.

Η περιβαλλοντική αυτή διαχείριση του τσίπουρου τομάτας θεωρείται πρόβλημα για τη βιομηχανία τομάτας, καθώς δεν έχει εμπορική αξία και, στις περισσότερες περιπτώσεις, το παραπροϊόν παραμένει ανεπαρκώς αξιοποιημένο, απορρίπτεται ως απόβλητο ή χρησιμοποιείται σε περιορισμένη έκταση (ζωοτροφή, λίπασμα). Ωστόσο, ο πυρήνας τομάτας, εάν υποβληθεί σε κατάλληλη επεξεργασία, μπορεί να είναι μια πλούσια πηγή θρεπτικών ουσιών, βιοδραστικών ενώσεων και πολύτιμων φυτοχημικών ουσιών, όπως καροτενοειδή, φαινολικές ενώσεις και λυκοπένιο (Liadakis et al, 2022).

2.1 Προϊόντα βιομηχανικής επεξεργασίας τομάτας

Εκτός από την χρήση και κατανάλωση του καρπού της τομάτας στην ολόκληρη και νωπή μορφή του, μεγάλο ποσοστό της καλλιεργήσιμης τομάτας χρησιμοποιείται για την παραγωγή διαφόρων βιομηχανικών προϊόντων (,Porretta et al, 2019, Gould, 1992, Denny, 1997). Αυτό οφείλεται στην ευκολία στην επεξεργασία, δηλαδή στη σύνθλιψη και τη συμπύκνωση που παρουσιάζει ο καρπός αυτός. Τα προϊόντα που προκύπτουν έχουν διαφορετικά και ποικίλα χαρακτηριστικά, που εξαρτώνται από τον τρόπο επεξεργασία της τομάτας κατά την παρασκευή τους. Ορισμένα από αυτά τα προϊόντα αποτελούν αναπόσπαστο κομμάτι των διατροφικών συνηθειών των ανθρώπων και η εμπορική τους αξίας είναι πλέον αναμφισβήτητη. Τα κυριότερα προϊόντα που προκύπτουν από την βιομηχανική επεξεργασία της τομάτας είναι:

- Φυσικός χυμός τομάτας
- Συμπυκνωμένος χυμός τομάτας
- Τοματοπολτός (διαφόρων βαθμών συμπύκνωσης)
- Αποφλοιωμένες τομάτες (ολόκληρες ή τεμαχισμένες)
- Κέτσαπ
- Αφυδατωμένες τομάτες
- Σκόνη τομάτας

2.2 Διαδικασία παραγωγής προϊόντων τομάτας

Η διαδικασία παραγωγής των προϊόντων της τομάτας (Liadakis et al, 2022, Porretta et al, 2019) περιλαμβάνει τα στάδια επεξεργασίας που αναφέρονται παρακάτω και παρουσιάζονται στο διάγραμμα ροής στο Σχήμα 2.1.

Συγκομιδή και μεταφορά

Πρώτο στάδιο της διαδικασία παραγωγής των προϊόντων από τους καρπούς της τομάτας είναι η συγκομιδή αυτών από τους αγρούς ή τα θερμοκήπια. Η συγκομιδή πραγματοποιείται όταν έχει επέλθει η ωρίμανση της τομάτας, όταν έχει αποκτήσει δηλαδή το χαρακτηριστικό κόκκινο χρώμα της και εμφανίζει χαμηλό επίπεδο οξύτητας και υψηλό επίπεδο περιεκτικότητας σε σάκχαρα και στερεό υπόλειμμα. Η συγκομιδή των καρπών από το φυτό γίνεται με τα χέρια ή με ειδικά μηχανήματα και η τομάτα πρέπει να είναι ανθεκτική ώστε να αντέχει αυτή τη μηχανική καταπόνηση. Κατά το στάδιο αυτό πραγματοποιείται και η απομάκρυνση των άγουρων, άρρωστων, μouxλιασμένων ή κατεστραμμένων τοματών. Η μεταφορά στο χώρο του εργοστασίου, όπου θα λάβει χώρα η επεξεργασία, πραγματοποιείται την ίδια μέρα με τη συγκομιδή και το στάδιο της ενδιάμεσης αποθήκευσης παραλείπεται.

Παραλαβή

Το στάδιο της παραλαβής περιλαμβάνει την προσωρινή τοποθέτηση των τοματών σε μέρος όπου πληρούνται οι απαραίτητες συνθήκες για τη διατήρησή τους, μέχρι να υποβληθούν σε επεξεργασία. Η μεταφορά τους γίνεται με τη βοήθεια της χρήσης νερού με σκοπό την αποφυγή φθορών και καταπόνησης των καρπών. Επίσης, πραγματοποιείται ποιοτικός έλεγχος των καρπών πριν την κύρια φάση της επεξεργασίας τους.

Πλύσιμο

Το στάδιο του πλυσίματος πραγματοποιείται πριν τη βασική επεξεργασία της τομάτας έτσι ώστε ξένες ουσίες, ξένα σώματα και ακαθαρσίες να μη συνεχίσουν στη γραμμή παραγωγής. Αποτελεσματικό πλύσιμο γίνεται στα πλυντήρια, τα οποία είναι μεγάλες δεξαμενές γεμάτες με νερό στον πυθμένα των οποίων πραγματοποιείται η είσοδος αέρα υπό πίεση, για καλύτερη ανάδευση και πλύση. Οι τομάτες υποβάλλονται και σε επόμενο στάδιο πλυσίματος, μέσω εκτόξευσης νερού από μπεκ, όσο μεταφέρονται πάνω σε ειδική μεταφορική επιφάνεια (κυλιόμενη επιτραπέζια ταινία).

Διαλογή

Η διαλογή είναι ένα πολύ σημαντικό στάδιο διότι εξασφαλίζει την καλή ποιότητα της πρώτης ύλης και κατά συνέπεια την καλή ποιότητα των προϊόντων που θα παραχθούν με βάση αυτήν. Πραγματοποιείται αφού πλυθούν οι τομάτες και γίνεται από το προσωπικό χειρωνακτικά, όσο οι τομάτες βρίσκονται πάνω σε μία μεταφορική επιφάνεια (ταινία), η οποία ταυτόχρονα τις περιστρέφει. Με αυτό τον τρόπο απομακρύνονται καρποί που κρίνονται ακατάλληλοι να συνεχίσουν στα επόμενα στάδια. Οι καρποί αυτοί δε χαρακτηρίζονται ως απόβλητα και επομένως δεν απορρίπτονται. Συλλέγονται ως παραπροϊόντα, συγκεντρώνονται και στη συνέχεια αξιοποιούνται σε ζωοτροφές ή λιπάσματα.

Αποφλοιώση

Η αποφλοιώση περιλαμβάνει την αφαίρεση ολόκληρου του εξωτερικού φλοιού (φλούδα) της τομάτας και πραγματοποιείται σαν στάδιο μόνο εφόσον απαιτείται από τη διαδικασία για την παραγωγή του αντίστοιχου τελικού προϊόντος (πχ αποφλοιωμένες τομάτες σε κονσέρβα). Η αποφλοιώση μπορεί να συμβεί με πληθώρα μεθόδων. Κάποιες από αυτές είναι: αποφλοιώση με ζεστό νερό ή ατμό, με χρήση ισχυρών βάσεων (lye reeling), με κατάψυξη, με χρήση ενζύμων, με παλμικά ηλεκτρικά πεδία. Από το στάδιο της αποφλοιώσης συλλέγεται το παραπροϊόν των φλοιών.

Θραύση

Για να συμβεί η θραύση οι τομάτες πρώτα πρέπει να αποφλοιωθούν (προηγούμενο στάδιο), να προθερμαθούν και να τεμαχισθούν σε ακανόνιστο σχήμα. Μέσω της προθέρμανσης επιτυγχάνεται η διάσπαση πηκτινολυτικών ενζύμων (πηκτινομεθυλεστεράσης και πολυγαλακτουρονάσης), η απελευθέρωση κολλοειδών ουσιών που περικλείουν τα σπόρια, και κατ' επέκταση ο μετέπειτα ευκολότερος διαχωρισμός του χυμού και η ευκολότερη διήθηση. Η θραύση που ακολουθεί μπορεί να είναι δύο ειδών: ψυχρή θραύση (cold break) και θερμή θραύση (hot break). Η ψυχρή θραύση επιλέγεται όταν το υπό παρασκευή τρόφιμο απαιτείται να έχει ανώτερα χαρακτηριστικά ποιότητας, όπως είναι το έντονο χρώμα, αναλλοίωτη γεύση και θρεπτική αξία. Η χαμηλή θερμοκρασία επεξεργασίας διασφαλίζει τη διατήρηση αυτών των χαρακτηριστικών και το κύριο προϊόν που προκύπτει είναι ο τοματοπολτός (διαφόρων βαθμών συμπύκνωσης). Η θερμή θραύση (με θερμοκρασία μεγαλύτερη των 90°C) οδηγεί σε προϊόντα υψηλού ιξώδους και υποβαθμισμένα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά (χρώμα, γεύση). Η μέθοδος της θερμής θραύσης επιλέγεται για τα συμπυκνωμένα προϊόντα τομάτας, με κυριότερο το κέτσαπ.

Αποχύμωση

Κατά την αποχύμωση οι τομάτες οδηγούνται στους διαχωριστήρες, ή αλλιώς ραφινέζες για να απομακρυνθεί από αυτές ο υγρός χυμός τους. Εκεί συμβαίνει η ολοκλήρωση της κατάτμησης των καρπών, ο διαχωρισμός της σάρκας από το φλοιό και τους σπόρους και η απομάκρυνση των δύο τελευταίων. Τα χαρακτηριστικά του χυμού που παραλαμβάνεται εξαρτώνται από τον τύπο του διαχωριστήρα (κατασκευή κόσκινων που περιέχονται), την προέλευση (είδος/ποικιλία) και την ωρίμανση της τομάτας, με την απόδοση σε χυμό να φθάνει έως 85-87% της μάζας της τομάτας. Μετά από διαδοχικές αποχυμώσεις, ακολουθεί το φιλτράρισμα και η συγκέντρωση του χυμού σε δεξαμενές ανοξειδωτού χάλυβα. Τέλος, εφαρμόζεται η απαέρωση κατά την οποία πραγματοποιείται η αφαίρεση του περιεχόμενου οξυγόνου στον χυμό, το οποίο διαφορετικά θα προκαλούσε υποβάθμιση της γεύσης, του χρώματος, του άρωματος και της θρεπτικής αξίας του χυμού. Από το στάδιο της αποχύμωσης προκύπτουν ως παραπροϊόντα φλοιοί, σπόροι και μέρος της σάρκας της τομάτας.

Συμπύκνωση

Η συμπύκνωση του χυμού τομάτας επιτυγχάνεται με την απομάκρυνση του νερού μέσω εξάτμισης και προκύπτει τοματοπολτός με διαλυτά στερεά στο επιθυμητό ποσοστό περιεκτικότητας. Η συμπύκνωση γίνεται στη χαμηλή θερμοκρασία, σε ένα εύρος 55-85°C, και για να εξατμιστεί το νερό σε αυτές τις θερμοκρασίες, πραγματοποιείται η ταπείνωση του σημείου ζέσης του εφαρμόζοντας τη συνθήκη του κενού. Με την επεξεργασία σε χαμηλή θερμοκρασία, διατηρείται το χρώμα, η γεύση, το άρωμα και η θρεπτική αξία του προϊόντος σε υψηλό επίπεδο. Η διεργασία

της συμπύκνωσης μπορεί να περιλαμβάνει από ένα έως τέσσερα στάδια (διαδοχικές συμπυκνώσεις).

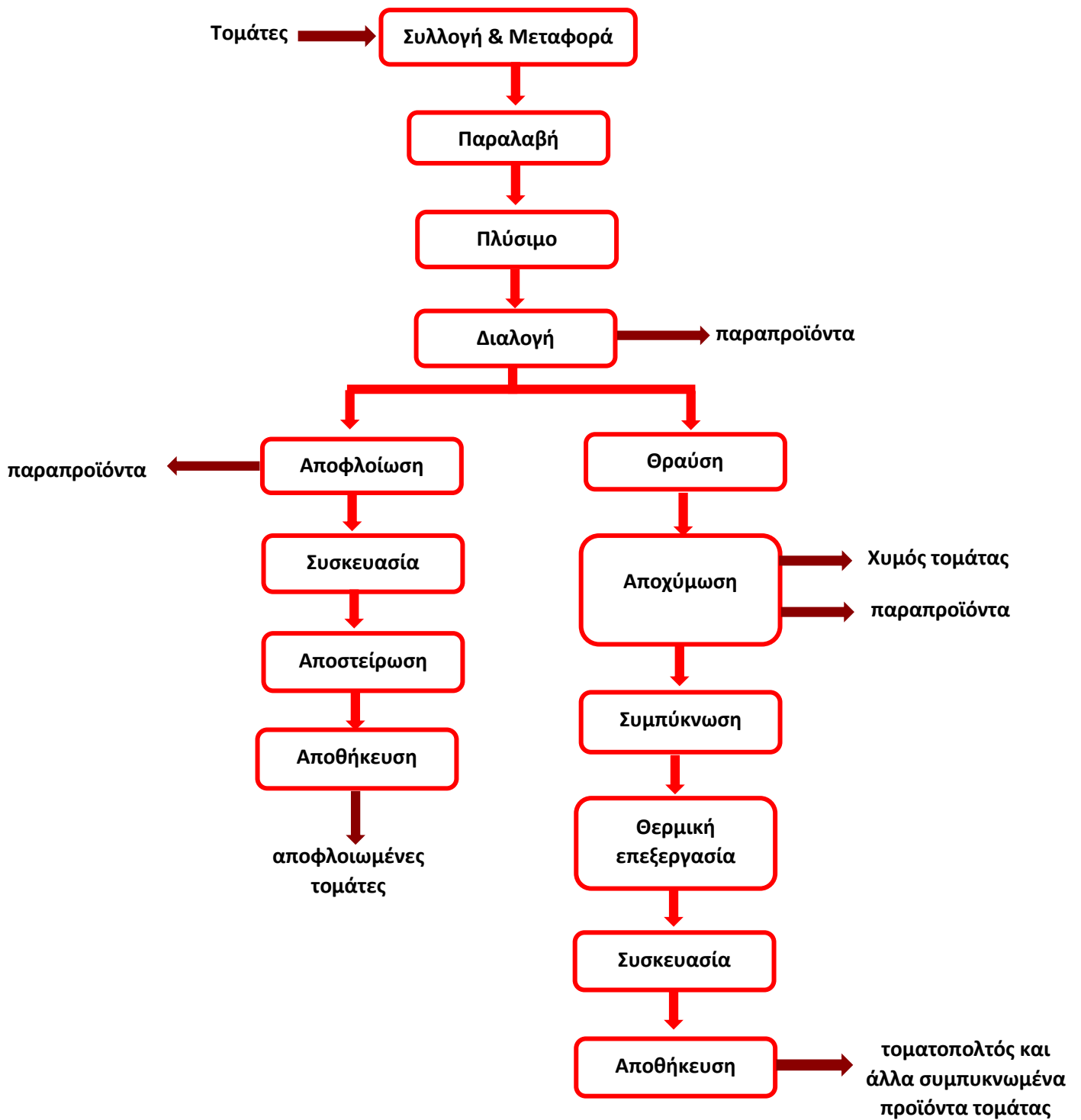
Θερμική επεξεργασία

Η θερμική επεξεργασία που διαδέχεται τη συμπύκνωση, μπορεί να είναι είτε παστερίωση είτε αποστείρωση, ανάλογα με το τελικό προϊόν που θα παραχθεί. Όσον αφορά την παστερίωση, ο τοματοπολτός εισέρχεται σε παστεριωτή, πραγματοποιείται θέρμανση στους 95°C για τη θανάτωση αλλοιογόνων μικροοργανισμών, στη συνέχεια το θερμό προϊόν τοποθετείται στους περιέκτες του, οι οποίοι με τη σειρά τους σφραγίζονται και ψύχονται σταδιακά σε κατάλληλους ψύκτες. Η διεργασία της αποστείρωσης γίνεται σε πιο ψηλές θερμοκρασίες, της τάξης των 105-110°C, μέσα σε σωληνωτούς εναλλάκτες θερμότητας, όπου το θερμαντικό μέσο είναι το υπέρθερμο νερό.

Αποθήκευση

Αποτελεί το τελικό στάδιο της διαδικασίας κατά το οποίο τα προϊόντα που έχουν παρασκευαστεί και συσκευαστεί καταλλήλως, αποθηκεύονται στις απαιτούμενες συνθήκες (θερμοκρασία, υγρασία κλπ.), μέχρι να έρθει η στιγμή της διανομής και κατανάλωσης τους.

Ακολουθεί διάγραμμα ροής (Σχήμα 2.1) στο οποίο αποτυπώνονται τα στάδια παραγωγής των προϊόντων της τομάτας (Strati, 2014, Andreou, 2020).



Σχήμα 2.1. Διάγραμμα ροής παραγωγής προϊόντων και παραπροϊόντων τομάτας

2.3 Παραπροϊόντα βιομηχανικής επεξεργασίας τομάτας

Σε όλα τα στάδια της επεξεργασίας της τομάτας παράγεται μια σημαντική ποσότητα αποβλήτων και παραπροϊόντων. Τα τελευταία είναι πλούσια σε ενώσεις προστιθέμενης αξίας, όπως είναι τα καροτενοειδή και τα φλαβονοειδή, τα οποία δύναται να χρησιμοποιηθούν τόσο για τις διατροφικές τους ιδιότητες όσο και την αντιοξειδωτική τους ικανότητα. Τα παραπροϊόντα από την επεξεργασία τομάτας χρησιμοποιούνται κυρίως ως ζωοτροφές ή λιπάσματα. Όσον αφορά τα απόβλητα, αυτά χωρίζονται σε υγρά και στερεά. Τα υγρά δημιουργούνται από τα στάδια πλυσίματος των καρπών της τομάτας, από τη χρήση των διαφόρων διαλυμάτων χημικών ουσιών και από τα νερά καθαρισμού. Τα στερεά δημιουργούνται από το χώμα, τη λάσπη, τα φύλλα και διάφορα ξένα σώματα που βρίσκονται προσκολλημένα στον καρπό κατά τη συγκομιδή. Οι σπόροι, οι φλοιοί και οι ελαττωματικοί καρποί δεν χαρακτηρίζονται ως απόβλητα, αλλά ως παραπροϊόντα καθώς μπορούν να αποτελέσουν την πρώτη ύλη από την οποία θα απομονωθούν συστατικά με έντονη βιοδραστικότητα, θρεπτική αξία και αντιοξειδωτική δράση. Τα συστατικά αυτά, όσον αφορά τη τομάτα, είναι κυρίως τα καροτενοειδή, αλλά και τοκοφερόλες και πολυφαινόλες. Τα στερεά παραπροϊόντα είναι πλούσια σε αυτά και δεδομένου του ότι οι ελαττωματικοί καρποί αποτελούν ποσοστό 5-25 % των προς επεξεργασία τοματών και οι φλοιοί και οι σπόροι (Εικόνα 2.1) (ή αλλιώς τσίπουρο τομάτας όπως ονομάζονται) αποτελούν ποσοστό 2-3% αντίστοιχα, η ανεκμετάλλευτη απόθεση τους ως απόβλητα στο περιβάλλον θα πρέπει να δώσει τη θέση της στην ουσιαστικότερη αξιοποίηση τους μέσω της παραλαβής αυτών των βιοδραστικών συστατικών.



Εικόνα 2.1 Φλοιοί και σπόροι τομάτας (tomato pomace)

2.3.1 Σύσταση παραπροϊόντων τομάτας

Μεγαλύτερο ενδιαφέρον από τα παραπροϊόντα που παράγονται κατά την επεξεργασία της τομάτας παρουσιάζουν τα στερεά παραπροϊόντα και συγκεκριμένα οι σπόροι και οι φλοιοί που προκύπτουν από την επεξεργασία των καρπών. Το παραπροϊόν των φλοιών έχει υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες (100.8 g/kg), τέφρα (299.4 g/kg) και ίνες, ενώ εμφανίζει μέτρια περιεκτικότητα σε λιπαρά. Όσο αφορά τα καροτενοειδή, οι φλοιοί συγκεντρώνουν σημαντικές ποσότητες αυτών, με την περιεκτικότητα του λυκοπενίου να έχει την ενδεικτική τιμή των 734 mg/g ξ.β. (Knoblich et al, 2005). Το παραπροϊόν των σπόρων έχει υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες και λιπαρά. Η περιεκτικότητα των σπόρων σε λυκοπένιο είναι ενδεικτικά 130 μg/kg ξβ. Όπως φαίνεται και στον Πίνακα 2.1 που ακολουθεί, τα παραπροϊόντα της τομάτας διαθέτουν σημαντικό φορτίο βιοδραστικών συστατικών. Τα βιοδραστικά συστατικά αντέχουν παρά τα διάφορα στάδια επεξεργασίας των καρπών (προσθήκη θερμότητας κλπ.) και παραμένουν στα παραπροϊόντα (Knoblich et al, 2005).

Πίνακας 2.1 Σύσταση φλοιών τομάτας ως προς τα κυριότερα συστατικά (Knoblich et al, 2005, Kalogeropoulos et al, 2012)

Περιεκτικότητα (%)	
Υγρασία	10.1
Περιεχόμενο έλαιο	1.7
Πρωτεΐνες	20.0
Φυτικές ίνες	46.1
Υδατάνθρακες	26.6
Τέφρα	5.6
Μέταλλα (mg /100g)	
Κάλιο	1270.0
Ασβέστιο	217.4
Μαγνήσιο	121.7
Καροτενοειδή (mg/kg)	
Λυκοπένιο	413.7
Β-καροτένιο	149.8

Τοκοφερόλες (mg/kg)	177.93
Στερόλες (mg/kg)	833.5
Φαινολικά συστατικά (mg/kg)	645.6
Φλαβονοειδή (mg/kg)	378.7

2.3.2 Αξιοποίηση παραπροϊόντων επεξεργασίας τομάτας

Η βιομηχανική επεξεργασία της τομάτας εκτός από τα πολλά και διαφορετικά προϊόντα που παράγει, οδηγεί και σε έναν τεράστιο όγκο αποβλήτων και παραπροϊόντων. Στην κατηγορία των αποβλήτων ανήκουν υγρά και στερεά απόβλητα, ενώ στα παραπροϊόντα κυρίως στερεά και είναι οι ελλαττωματικοί καρποί, οι φλοιοί και οι σπόροι της τομάτας.

Τα υγρά απόβλητα, αποτέλεσμα των διάφορων διαδικασιών έκπλυσης που εφαρμόζονται, οδηγούνται σε ειδικές δεξαμενές στις οποίες τα διάφορα αιωρούμενα στερεά που περιέχουν καταβυθίζονται και κατόπιν υποβάλλονται σε μια σειρά από διεργασίες βιολογικού καθαρισμού. Οι διεργασίες αυτές είναι διήθηση με τη βοήθεια ειδικών βιολογικών φίλτρων, χλωρίωση, επεξεργασία σε δεξαμενές ενεργού ιλύος και έχουν ως αποτέλεσμα τον καθαρισμό και ανακύκλωση του νερού που περιέχεται σε αυτά τα υγρά απόβλητα. Ανακύκλωση του νερού πραγματοποιείται επίσης από τα στάδια της συσκευασίας και της ψύξης των προϊόντων, καθώς το νερό που χρησιμοποιείται στα στάδια αυτά έχει το πιο μικρό επίπεδο ρύπανσης. Μετά από τις διάφορες διαδικασίες βιολογικής επεξεργασίας, το ρυπαντικό φορτίο του νερού μειώνεται κατά 85% σε δείκτη BOD₅ (Biological Oxygen Demand) (Strati, 2014). Η πιο συνηθισμένη πρακτική αξιοποίησης του ανακυκλωμένου νερού των υγρών αποβλήτων είναι η χρήση του για άρδευση κοντινών αγρών.

Τα στερεά απόβλητα, τα οποία περιλαμβάνουν το χώμα, τη λάσπη, ξένα σώματα, κλαδιά, φύλλα και διάφορες στερεές προσμίξεις απομακρύνονται από τους καρπούς της τομάτας κατά το πλύσιμο στις δεξαμενές, τον καθαρισμό των επιφανειών (σχάρες) μεταφοράς/επεξεργασίας και από τα υγρά απόβλητα κατά τη διήθησή τους. Η διαδικασία απόθεσής τους αποτελείται από την ξήρανση και στη συνέχεια την επιστροφή τους στους αγρούς, όπου κατανέμονται ομοιόμορφα στο έδαφος ή χρησιμοποιούνται ως λίπασμα πάνω στις ρίζες των φυτών.

Οι ελλαττωματικοί καρποί, οι οποίοι δεν αποτελούν απόβλητα αλλά παραπροϊόντα της βιομηχανίας, χρησιμοποιούνται κατά κύριο λόγο ως ζωοτροφές και λίπασμα. Αφού υποστούν μια διεργασία αποχύμωσης που περιλαμβάνει πίεση και αφαίρεση του χυμού, η πίτα που απομένει συνδυάζεται με τον χυμό, ο οποίος στο μεταξύ έχει συμπυκνωθεί μερικώς και το τελικό μίγμα οδηγείται σε ξήρανση. Η ξηρή πούλπα που

δημιουργείται (dried tomato pulp) χρησιμοποιείται ως ζωοτροφή για κοτόπουλα και μηρυκαστικά (Knoblich et al., 2005, Strati & Oreopoulou, 2014).

Ως ζωοτροφή χρησιμοποιούνται και τα παραπροϊόντα των σπόρων και των φλοιών, που ονομάζονται αλλιώς και τσίπουρο τομάτας (tomato pomace) και προκύπτουν από τα στάδια της αποχύμωσης και της αποφλοιώσης της τομάτας. Μετά από ξήρανση επεξεργάζονται για τη δημιουργία κατάλληλων προς κατανάλωση ζωοτροφών και σπανιότερα τα παραπροϊόντα αυτά μπορεί να λειτουργήσουν και ως λίπασμα. Συχνό είναι ωστόσο και το φαινόμενο της απόθεσής τους στο έδαφος ή σε χωματερές ως απόβλητα, όταν δεν υπάρχουν γεωργικές εγκαταστάσεις στην κοντινή περιοχή που θα μπορούσαν να τα εκμεταλλευτούν (Rossini et al., 2013).

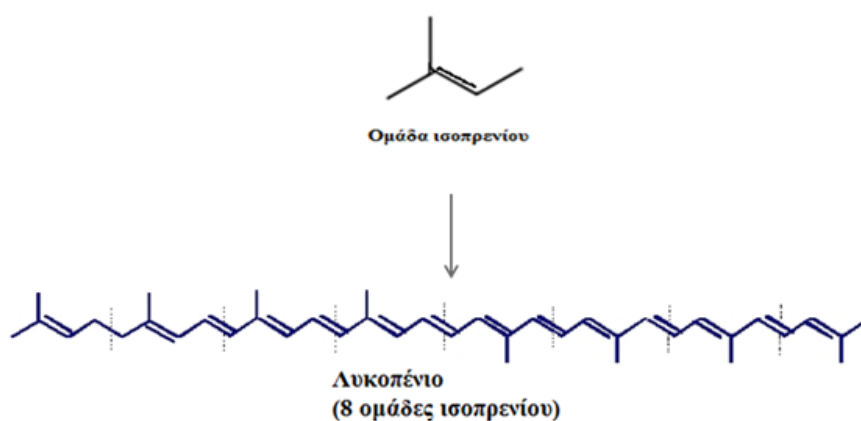
Τόσο οι χρήσεις χαμηλής προστιθέμενης αξίας ως ζωοτροφές και λιπάσματα, όσο και η απευθείας απόθεση στους χώρους υγειονομικής ταφής, συνιστούν πρακτικές οι οποίες δεν αξιοποιούν πλήρως τα παραπροϊόντα της τομάτας. Τα παραπροϊόντα αυτά εμφανίζουν υψηλή περιεκτικότητα σε θρεπτικά συστατικά, όπως πρωτεΐνες, ίνες, υδατάνθρακες και λιπίδια και είναι πολύ βασική πηγή διαφόρων καροτενοειδών (Strati & Oreopoulou, 2014). Έτσι, η ανάκτηση αυτών των ουσιών είναι συμφέρουσα τόσο από οικονομικής και περιβαλλοντικής άποψης, και ταυτοχρόνως προάγει τη βελτίωση της ανθρώπινης υγείας. Τα καροτενοειδή είναι ενώσεις με έντονη αντιοξειδωτική δράση και μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως φυτικά αντιοξειδωτικά για την παρασκευή λειτουργικών τροφίμων, καθώς επίσης και ως πρόσθετες ύλες για την αύξηση της διάρκειας ζωής των τροφίμων. Το λυκοπένιο και το β-καροτένιο, που αποτελούν καροτενοειδείς ουσίες έχουν συνδεθεί με έντονη αντικαρκινική δράση (Strati & Oreopoulou, 2014).

2.4 Καροτενοειδή

Τα καροτενοειδή είναι οι πλέον διαδεδομένες χρωστικές των ζώντων οργανισμών στη φύση. Πρόκειται για κίτρινες, πορτοκαλί και κόκκινες χρωστικές. Απαντώνται σε όλη την έκταση του φυτικού βασιλείου, σε φωτοσυνθετικούς και μη φωτοσυνθετικούς ιστούς, στα βακτήρια, στους μύκητες και στα ζώα που δεν μπορούν να τα συνθέσουν μόνα τους και τα παραλαμβάνουν από τα φυτά με τη διατροφή τους. Η ετήσια παραγωγή των καροτενοειδών στη φύση εκτιμάται ότι ανέρχεται στην ποσότητα των 10^8 τόνων (Strati, 2014). Ο καρπός της τομάτας, καθώς και τα παραπροϊόντα των φλοιών και σπόρων της εμφανίζουν υψηλή περιεκτικότητα στις καροτενοειδείς ενώσεις. Ο κόκκινος χρωματισμός του καρπού οφείλεται στο κυριότερο καροτενοειδές της τομάτας, το λυκοπένιο. Δεδομένης της βιοδραστικότητας των ενώσεων αυτών, και του γεγονότος ότι αποτελούν φυσικά αντιοξειδωτικά, η παραλαβή τους από τα παραπροϊόντα της τομάτας παρουσιάζει ιδιαίτερη αξία.

2.4.1 Χημική δομή καροτενοειδών

Τα καροτενοειδή, η αλλιώς τετρατερπένια όπως ονομάζονται, είναι παράγωγα πολυακόρεστων υδρογονανθράκων που περιέχουν στο μόριο τους σαράντα (40) άτομα άνθρακα (C) κατανομημένα σε οκτώ ομάδες ισοπρενίου (Σχήμα 2.2). Ο σκελετός των περισσότερων καροτενοειδών που απαντώνται σε φρούτα και σε λαχανικά αποτελείται από δύο μόρια διφωσφορικού γερανυλογερανυλίου, το οποίο είναι ένα ενδιάμεσο παράγωγο με 20 μόρια άνθρακα στη δομή του. Τα καροτενοειδή που συναντώνται στη φύση εμφανίζουν ένα ευρύ πλήθος δομών, το οποίο όμως ουσιαστικά δημιουργείται από τις διάφορες δομικές αλλαγές (κυκλοποίηση, υδροξυλίωση, εισαγωγή οξυγονούχων ομάδων) πάνω στο βασικό μόριο της ανθρακικής αλυσίδας.



Σχήμα 2.2 Βασική μοριακή δομή καροτενοειδών (Goodwin, 1980)

Υπάρχουν καροτενοειδή με λιγότερα από 40 άτομα άνθρακα τα οποία προκύπτουν αφαιρώντας από τη βασική δομή της ανθρακικής αλυσίδας μεθυλομάδες ή/και αιθυλομάδες ομάδες (CH_3 - ή $-\text{CH}_2$ -). Τα καροτενοειδή αυτά ονομάζονται αποκαροτενοειδή. Μπορούν επίσης να προκύψουν από καταλυόμενη οξειδωτική διάσπαση των καροτενοειδών. Υπάρχουν ακόμη καροτενοειδή με μεγαλύτερη των 40 ανθράκων αλυσίδα (45-50 C), συναντώνται σε βακτήρια και καλούνται ομοκαροτενοειδή.

Από άποψη χημικής δομής τα καροτενοειδή κατατάσσονται σε καροτένια, τα οποία είναι κατά αποκλειστικότητα πολυακόρεστοι υδρογονάνθρακες και σε ξανθοφύλλες, οι οποίες είναι οξυγονούχα παράγωγα πολυακόρεστων υδρογονανθράκων με υποκατεστημένες υδρόξυ-, όξο ή επόξυ- ομάδες. Παραδείγματα καροτένιων είναι το α - και β -καροτένιο και η κρυπτοξανθίνη, ενώ παραδείγματα ξανθοφύλλων είναι η λουτεΐνη, η ζεαξανθίνη, η βιολαξανθίνη, η νεοξανθίνη και η φουκοξανθίνη.

Από λειτουργικής άποψης κατατάσσονται σε πρωτογενή καροτενοειδή, τα οποία απαιτούνται για τη διαδικασία της φωτοσύνθεσης και δευτερογενή καροτενοειδή,

των οποίων η παρουσία δε συνδέεται άμεσα με την επιβίωση των φυτών. Παραδείγματα πρωτογενών καροτενοειδών είναι το β-καροτένιο, η βιολαξανθίνη, η νεοξανθίνη και η λουτεΐνη, ενώ δευτεροταγών το α-καροτένιο, το λυκοπένιο, η καψανθίνη, η ασταξανθίνη και η κανθαξανθίνη. Τα διάφορα ονόματα που δόθηκαν στα καροτενοειδή προέκυψαν κυρίως από τα φυτά από τα οποία αυτά απομονώθηκαν.

Στο μόριο των καροτενοειδών παρατηρείται η ύπαρξη πολλών διπλών δεσμών. Το γεγονός αυτό έχει αποτέλεσμα την εμφάνιση πολλών γεωμετρικών ισομερών, cis- και trans-ισομερών. Η πιο συνηθισμένη διαμόρφωση των καροτενοειδών που απαντώνται στη φύση είναι η all-trans διαμόρφωση. Η ύπαρξη της cis- διαμόρφωσης είναι σπανιότερη και εντοπίζεται στους σπόρους του αννάτο που διαθέτουν το καροτενοειδές μπιξίνη και σε ορισμένες ποικιλίες τομάτας, του διαθέτουν προλυκοπένιο.

2.4.2 Φυσικές ιδιότητες καροτενοειδών

Τα καροτενοειδή είναι κυρίως λιπόφιλες ενώσεις και αδιάλυτες σε υδατικά διαλύματα. Ανάλογα με την πολική λειτουργική ομάδα που περιέχουν στο μόριο τους τα καροτενοειδή, παρουσιάζουν διαφορετικά χαρακτηριστικά και ιδιότητες.

Το πιο διακριτό χαρακτηριστικό των καροτενοειδών είναι η απορρόφηση του φωτός, που οφείλεται στην ύπαρξη εκτεταμένου συστήματος συζυγών διπλών δεσμών στην ανθρακική αλυσίδα. Η ομάδα, η οποία διαθέτει επτά ή περισσότερους διπλούς δεσμούς καλείται χρωματοφόρος, καθώς είναι υπεύθυνη για την απορρόφηση φωτός στην ορατή περιοχή του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος. Τα χρώματα που αντανακλώνται είναι διαβαθμισμένες αποχρώσεις στην περιοχή του κίτρινου έως του κόκκινου χρώματος.

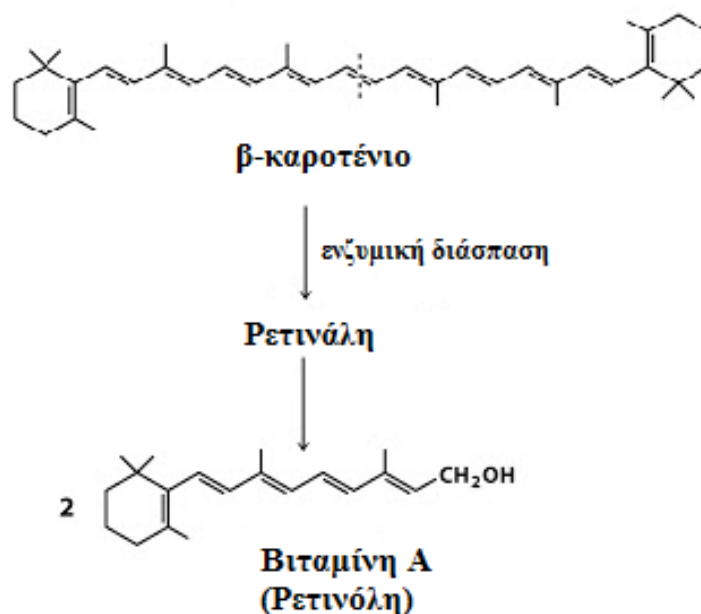
Ένα ακόμη φυσικό χαρακτηριστικό των καροτενοειδών είναι η ευαισθησία τους στην αυτοοξείδωση, η οποία αποτελεί την κυριότερη αντίδραση υποβάθμισης τους και οφείλεται στην ύπαρξη της αλυσίδας πολυενίου. Όπως αναφέρθηκε, η συνηθέστερη διαμόρφωση των καροτενοειδών στη φύση είναι αυτή των trans-ισομερών. Η ισομερίωση τους επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες με επικρατέστερους τη θερμοκρασία, το φως και τις δομικές διαφορές τους. Επίσης, οι φυσικές ιδιότητες της διαλυτότητας και της ικανότητας απορρόφησης επηρεάζονται άμεσα από την ισομερή διαμόρφωση των μορίων των καροτενοειδών. Συγκρίνοντας μεταξύ τους τις trans- και cis- διαμορφώσεις παρατηρείται ότι οι πρώτες εμφανίζουν μικρότερη ικανότητα κάμψης και μεγαλύτερη τάση κρυστάλλωσης και συσσωμάτωσης από τις δεύτερες. Έτσι, προκύπτει ότι οι cis διαμορφώσεις εμφανίζουν μεγαλύτερη δυνατότητα απορρόφησης και μεταφοράς στον ανθρώπινο οργανισμό. Κατά τη διαδικασία απομόνωσης και ταυτοποίησης των καροτενοειδών στο εργαστήριο (in vitro) πρέπει να τηρούνται κατάλληλες προφυλάξεις και να υπάρχει ο κατάλληλος χειρισμός, έτσι ώστε να διασφαλίζεται η διατήρηση της δομικής σταθερότητας των

μορίων των καροτενοειδών και κατά συνέπεια οι ιδιότητες που αυτή προσφέρει. Παράλληλα αξίζει να μελετηθούν οι διαφορές στη λειτουργικότητα και τη δράση των καροτενοειδών όταν αυτά περιέχονται σε τρόφιμα (in vino), των οποίων το φυσικοχημικό περιβάλλον περιλαμβάνει και άλλες ουσίες όπως πρωτεΐνες και λιπίδια.

2.4.3 Λειτουργικές ιδιότητες καροτενοειδών

Δράση προβιταμίνης A

Η δυνατότητα των καροτενοειδών να δρουν ως πρόδρομες ενώσεις της βιταμίνης A αποτελεί μία πολύ σημαντική ιδιότητα. Προϋπόθεση για την εμφάνιση αυτής της δράσης είναι το καροτενοειδές να περιέχει στο μόριο του τουλάχιστον ένα μη υποκατεστημένο β-δακτύλιο. Τη μέγιστη δράση παρουσιάζει το β-καροτένιο καθώς η μορφή του μορίου του είναι τέτοια που με ενζυμική της διάσπαση αποδίδει 2 μόρια βιταμίνης A (Σχήμα 2.3). Η δομή της βιταμίνης A, η αλλιώς ρετινόλη, πραγματοποιείται στο βλεννογόνο του εντέρου με τη βοήθεια της δράσης εξειδικευμένου ενζύμου, το οποίο διασπά το β-καροτένιο σε δύο μόρια ρετινόλης, τα οποία κατόπιν ανάγονται σε δύο μόρια ρετινόλης. Η συστηματική και αυξημένη κατανάλωση φρούτων και λαχανικών που περιέχουν καροτενοειδή με δράση προβιταμίνης A είναι απαραίτητη για να καλύψει τις ανάγκες του οργανισμού σε αυτή τη βιταμίνη.



Σχήμα 2.3 Ενζυμική διάσπαση στο κέντρο του μορίου του β-καροτενίου και παραγωγή 2 μορίων βιταμίνης A (ρετινόλη) (Andreou, 2014).

Αντιοξειδωτική δράση

Η αντιοξειδωτική δράση των καρτενοειδών μπορεί να καταταχθεί σε πρωτογενή, στην οποία πραγματοποιείται η δέσμευση των ελεύθερων ριζών και σε δευτερογενή στην οποία πραγματοποιείται το φαινόμενο της αποδιέγερσης του οξυγόνου απλής διεγερμένης κατάστασης. Τα καρτενοειδή που περιέχονται στα τρόφιμα συμπεριφέρονται κυρίως ως δευτεροταγή αντιοξειδωτικά. Στις περιπτώσεις όμως που επικρατεί χαμηλή μερική πίεση του οξυγόνου, μπορούν να δράσουν και ως πρωτογενή, να δεσμεύσουν τις ελεύθερες ρίζες και να διασπάσουν την ανθρακική αλυσίδα, αναστέλλοντας έτσι την οξείδωση.

Τα καρτενοειδή με εννέα ή περισσότερους διπλούς δεσμούς, όπως είναι το β-καροτένιο και η λουτεΐνη, είναι ιδιαίτερα αποτελεσματικά στην αποδιέγερση του οξυγόνου απλής διεγερμένης κατάστασης. Αντίθετα, οι ξανθοφύλλες δεν εμφανίζουν την ίδια αποτελεσματικότητα εξαιτίας των υδρόξυ-, όξο ή επόξυ- ομάδων που διαθέτουν στο μόριο τους. Όσον αφορά την πρωτογενή αντιοξειδωτική δράση των καρτενοειδών, με τη δέσμευση των ελεύθερων ριζών, αυτή πραγματοποιείται καλύτερα υπό χαμηλή πίεση οξυγόνου (μικρότερη των 150 mmHg) Σε υψηλότερη μερική πίεση οξυγόνου παρατηρήθηκε από ερευνητές ότι το β-καροτένιο έχασε την αντιοξειδωτική του δράση και μάλιστα εμφάνισε προοξειδωτική δράση λόγω του φαινομένου της αυτοοξείδωσης (Britton et al, 2008).

Η μερική πίεση οξυγόνου (P_{O_2}) διαφέρει ως προς την κατανομή που παρουσιάζει στα διάφορα όργανα και τους ιστούς του ανθρώπινου σώματος. Κατά συνέπεια, ο πιθανός διαφορετικός τρόπος λειτουργίας των καρτενοειδών στα διάφορα σημεία του σώματος είναι κάτι αναμενόμενο. Για παράδειγμα ενδέχεται να εμφανίζουν μικρότερη οξειδωτική ικανότητα στους πνεύμονες που είναι ένα περιβάλλον υψηλής μερικής πίεσης οξυγόνου. Ωστόσο, αυτό δε συνεπάγεται απαραίτητα την εμφάνιση της προοξειδωτικής δράσης των καρτενοειδών. Έτσι η περεταίρω μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης των καρτενοειδών και η προσπάθεια παραλαβής και αξιοποίησης του σε λειτουργικά τρόφιμα κρίνεται ιδιαίτερα σημαντική.

Βιολογική δράση

Η βιολογική δράση των καρτενοειδών εντοπίζεται στον ευεργετικό ρόλο που παίζουν υπέρ της πρόληψης και της θεραπείας σοβαρών ασθενειών, όπως είναι ορισμένες μορφές καρκίνου, καρδιαγγειακές νόσοι και οφθαλμικές παθήσεις (καταρράκτης και εκφυλισμός της ωχράς κηλίδας). Ο ευεργετικός τους ρόλος οφείλεται στην αντιοξειδωτική τους δράση (Britton et al, 2008). Παράλληλα, όσο πρόκειται για τον καρκίνο, τα καρτενοειδή, εκτός από την αντιοξειδωτική δράση, τα καρτενοειδή εμφανίζουν και ανασταλτική επίδραση στον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των καρκινικών κυττάρων. Ακόμη, επιστημονικές έρευνες αναφέρουν ότι τα καρτενοειδή παρουσιάζουν και άλλες μορφές βιολογικής δράσης όπως η ρυθμιστική δράση στο ανοσοποιητικό σύστημα και η τροποποίηση του κυτοχρωμικού ενζυμικού συστήματος P-450 (Hongli Cui et al, 2019).

Όσον αφορά το καροτενοειδές λυκοπένιο, η πρόσληψη σημαντικών ποσοτήτων του μέσω της διατροφής έχει συνδεθεί θετικά με την μείωση της πιθανότητας εμφάνισης καρκίνου του προστάτη (Johnson, 2000, Gann et al, 1999, Stahl & Sies, 1996). Επίσης, έρευνα πάνω στα αποκαροτενοειδή, που προκύπτουν από τον μεταβολισμό των καροτενοειδών, έδειξε ότι και αυτές οι ουσίες εμφανίζουν βιολογική δράση κατά του καρκίνου (Sharoni et al, 2011).

2.4.4 Τα καροτενοειδή της τομάτας

Το κύριο καροτενοειδές που περιέχεται στον καρπό του φυτού της τομάτας είναι το λυκοπένιο. Αποτελεί περίπου το 80-90% της συνολικής ποσότητας καροτενοειδών και σε αυτό οφείλεται το χαρακτηριστικό κόκκινο χρώμα των καρπών (Shi & Le Maguer, 2000). Στον καρπό περιέχονται επίσης ξανθοφύλλες (6%), και καροτένια, όπως το β-, γ-, ζ-, α- και δ-καροτένιο, που απαντώνται σε μικρότερες ποσότητες. Συγκεκριμένα η ποσότητα του β-καροτενίου είναι περίπου το ένα δέκατο αυτής του λυκοπενίου (Strati, 2014). Η συνολική ποσότητα καροτενοειδών του καρπού της τομάτας κυμαίνεται μεταξύ 7-19 mg/100g νωπού βάρους (Gross, 1991).

Η κατανομή των καροτενοειδών στον καρπό της τομάτας δεν είναι ομοιόμορφη. Το μεγαλύτερο ποσοστό των καροτενοειδών (και του λυκοπενίου) συγκεντρώνεται στο εξωτερικό περικάρπιο, δηλαδή στον φλοιό. Ο φλοιός της τομάτας θεωρείται μια πολύ πλούσια και σημαντική πηγή λυκοπενίου, με την ποσότητα του να είναι περίπου 3 έως 6 φορές υψηλότερη απ' ό τι στον υπόλοιπο καρπό (Sharma & Le Maguer, 1996). Το κοίλο μέρος του καρπού περιέχει σε μεγάλη αναλογία καροτένια. Οι σπόροι της τομάτας περιέχουν κυρίως β-καροτένιο (50%), λυκοπένιο (35%) και σε μικρότερο ποσοστό άλλα καροτενοειδή (Sharma & Le Maguer, 1996) . Βέβαια, οι διάφορες αναλογίες που καταγράφονται εξαρτώνται άμεσα από την ποικιλία και το χρώμα της τομάτας.

Σημαντικό είναι κατά τη διαδικασία επεξεργασίας της τομάτας για την παραγωγή των διαφόρων προϊόντων αλλά και της αποθήκευσής τους, οι συνθήκες που επικρατούν (θερμοκρασία, υγρασία, φως, ατμόσφαιρα) να είναι κατάλληλα ορισμένες έτσι ώστε να αποφεύγεται όσο είναι δυνατόν η υποβάθμιση των καροτενοειδών και η αδρανοποίηση της βιολογικής και αντιοξειδωτικής τους δράσης. Μελέτες έχουν δείξει ότι όσο υψηλότερη είναι η θερμοκρασία αποθήκευσης των προϊόντων, τόσο ταχύτερος είναι ο ρυθμός αποικοδόμησης των καροτενοειδών που περιέχονται σε αυτά (Lin & Chen, 2005). Οι απώλειες καροτενοειδών μπορούν να ελαχιστοποιηθούν με κατεργασία των προϊόντων τομάτας με οσμωτικό διάλυμα (σακχαρόζη ή μαλτοδεξτρίνη υψηλού ισοδύναμου δεξτρόζης) κάτω από βελτιστοποιημένες συνθήκες πριν από την επεξεργασία ή την αποθήκευση (Dermesonliouoglou et al., 2007). Επιπροσθέτως, η επεξεργασία δείγματος τομάτας με υψηλή υδροστατική πίεση πριν από την αποθήκευση αδρανοποιεί τα ένζυμα και μειώνει την αποικοδόμηση των καροτενοειδών (Qiu et al., 2006). Η πλήρης αδρανοποίηση των

φυσικών ενζύμων της τομάτας με ζεμάτισμα μπορεί να εμποδίσει την αποικοδόμηση των καροτενοειδών στην τομάτα υπό συνθήκες κατάψυξης (Fellows, 2000).

2.4.5 Χρήσεις καροτενοειδών

Χρωστικές τροφίμων

Τα καροτενοειδή βρίσκονται σε υψηλά επίπεδα περιεκτικότητας στα φρούτα και αυτό έχει ως αποτέλεσμα να δίνουν στους καρπούς αυτούς ενδιαφέροντα χαρακτηριστικά χρώματα. Η βιομηχανία επεξεργασίας φυτικών χρωστικών χρησιμοποιώντας αυτά τα φρούτα ως πρώτη ύλη, μπορεί να παραλάβει αυτές τις φυσικές χρωστικές ουσίες και να τις αξιοποιήσει προσθέτοντας τις σε άλλα τρόφιμα με σκοπό την ενίσχυση, τη βελτίωση και την απόδοση του χρώματος τους. Το χρώμα ενός τροφίμου είναι ένα ιδιαίτερα σημαντικό καταναλωτικό κριτήριο, ενώ παράλληλα αποτελεί και δείκτη ποιότητας του προϊόντος (Strati, 2014).

Φαρμακευτική χρήση

Η φαρμακευτική χρήση των καροτενοειδών εντοπίζεται στην ενσωμάτωση τους σε φαρμακευτικά σκευάσματα για τη ρύθμιση της ποσότητας της βιταμίνης Α, που χορηγούνται σε ασθενείς που παρουσιάζουν υποβιταμίνωση ή γενικότερη βιταμινική έλλειψη. Επιπρόσθετα, χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία της ερυθροποιητικής πρωτοπορφυρίας, μιας δερματικής ασθένειας που σχετίζεται με τον μεταβολισμό των πορφυρινών, καθώς επίσης και σε ακτινοθεραπείες για τον καρκίνο (Strati, 2014).

Χρήση σε καλλυντικά

Τα καροτενοειδή χρησιμοποιούνται σε καλλυντικά προϊόντα με μορφή αιωρημάτων ή γαλακτωμάτων. Έχει αποδειχθεί ότι είναι κατάλληλα για την ενίσχυση και την αντίσταση του δέρματος έναντι του ερυθήματος που προκαλείται από την UVB ακτινοβολία και γι' αυτό το λόγο ενσωματώνονται σε αντιηλιακά προϊόντα (Noelia Castillejo, et al, 2017).

3. Εκχύλιση στερεού-υγρού

Εισαγωγή

Εκχύλιση καλείται η διεργασία διάλυσης/διαλυτοποίησης ορισμένων ουσιών από ένα στερεό ή υγρό μίγμα με τη χρήση υγρού διαλύτη. Η ουσία (το συστατικό) που παρουσιάζει ενδιαφέρον και εκχυλίζεται καλείται εκχυλιζόμενη ή διαλυμένη ουσία (extrate, solute), ενώ το καινούριο διάλυμα που προκύπτει και αποτελείται από τον διαλύτη με τις ουσίες που έχουν μεταφερθεί σε αυτόν από την πρώτη ύλη (στερεό ή υγρό μίγμα) καλείται εκχύλισμα (extract). Για την απομόνωση και παραλαβή των εκχυλιζόμενων ουσιών απαιτείται πρώτα η απομάκρυνση του υγρού διαλύτη (Sancey, 2002, Aguilera, 2003).

Η εκχύλιση στερεού-υγρού πρόκειται για μια διεργασία διαχωρισμού κατά την οποία πραγματοποιείται η απομάκρυνση ορισμένων ουσιών από την στερεή μήτρα μέσω διαλυτοποίησης με τη χρήση υγρού διαλύτη. Ο διαλύτης που χρησιμοποιείται για την εκχύλιση είναι απαραίτητο να παρουσιάζει ορισμένα επιθυμητά χαρακτηριστικά/ιδιότητες που θα τον καθιστούν ικανό να διαλύσει τις ουσίες-στόχους από την αδιάλυτη μήτρα. Η απομάκρυνση των ουσιών καθώς και η απόδοση της μεθόδου εξαρτώνται άμεσα από την ικανότητα εκχύλισης αυτών των ουσιών από τον διαλύτη. Επιπλέον, απαραίτητο είναι ο διαλύτης που θα χρησιμοποιηθεί να μπορεί εύκολα να απομακρυνθεί και να ανακυκλωθεί, δηλαδή να χρησιμοποιηθεί εκ νέου στην εκχύλιση.

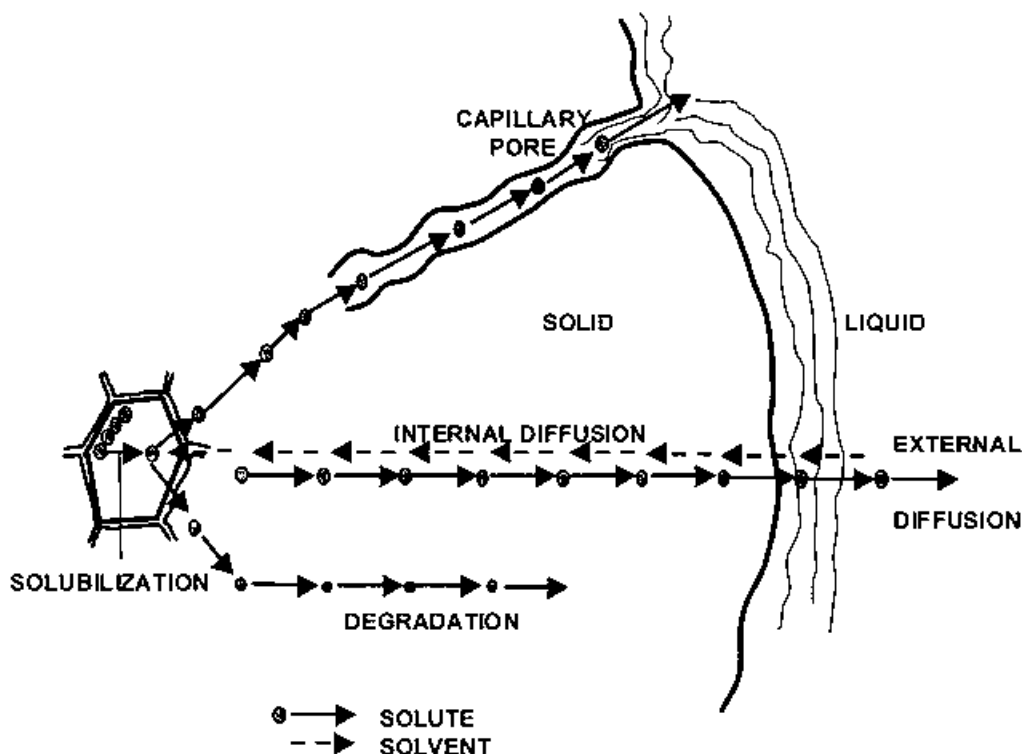
Στη βιομηχανία τροφίμων, η εκχύλιση στερεού-υγρού βρίσκει εφαρμογή στην επεξεργασία προϊόντων τροφίμων, όπως είναι η ζάχαρη και τα εδώδιμα έλαια, αλλά είναι και ιδιαίτερα χρήσιμη στην παραλαβή βιοδραστικών συστατικών από πρώτες ύλες συνήθως φυτικής προέλευσης. Μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί για την απομάκρυνση ανεπιθύμητων ουσιών και προσμίξεων. Τα τελευταία χρόνια, η εκχύλιση στερεού-υγρού έχει αρχίσει να χρησιμοποιείται σε εργαστηριακές έρευνες για την παραλαβή ελαίου από τον ελαιοπυρήνα και ανάκτηση καρροτενοειδών από παραπροϊόντα τομάτας, καθώς και άλλων βιοδραστικών συστατικών από κυρίως φυτικές πρώτες ύλες.

Η προετοιμασία για εκχύλιση των διαφόρων τροφίμων περιλαμβάνει κατά κύριο λόγο την ξήρανση της πρώτης ύλης, στη συνέχεια την άλεση και τέλος την εκχύλιση, η οποία έχει σχεδιαστεί κατά τον βέλτιστο τρόπο και έχουν οριστεί οι παράμετροι της για την αποτελεσματικότερη παραλαβή των ουσιών. Τα εκχυλίσματα στα οποία περιέχονται οι ουσίες, μετά το πέρας της εκχύλισης υποβάλλονται σε απομάκρυνση του διαλύτη με σκοπό τη δημιουργία ενός τελικού προϊόντος εμπλουτισμένο με τις επιθυμητές βιοδραστικές ενώσεις (Shofinita et al, 2015).

3.1 Η αρχή της μεθόδου εκχύλισης στερεού-υγρού

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, η εκχύλιση στερεού-υγρού είναι μια διεργασία κατά την οποία πραγματοποιείται διαχωρισμός συγκεκριμένων ουσιών από ένα στερεό υλικό (πρώτη ύλη) μέσω διαλυτοποίησης των ουσιών αυτών σε έναν υγρό διαλύτη. Από μηχανικής άποψης, η συγκεκριμένη διεργασία εκχύλισης αποτελεί μια διαδικασία μεταφοράς μάζας, που εμφανίζει ιδιαίτερη πολυπλοκότητα, πολλά στάδια και φάσεις. Κάποια από τα στάδια αυτά συμβαίνουν ταυτόχρονα και κάποια διαδέχονται το ένα το άλλο. Τα κυριότερα από αυτά, κατά σειρά με την οποία λαμβάνουν χώρα, είναι (Σχήμα 3.1):

- η διείσδυση του διαλύτη στη στερεή μάζα (μήτρα)
- η διαλυτοποίηση των επιθυμητών ουσιών, και ενδεχομένως άλλων ουσιών
- η κίνηση του διαλύτη, που περιέχει τις διαλυμένες ουσίες από το εσωτερικό της στερεής μήτρας προς την επιφάνεια της
- η μεταφορά των ουσιών από την εξωτερική επιφάνεια του στερεού προς τον κύριο όγκο του υγρού
- η παραλαβή του εκχυλίσματος και η απομάκρυνση του διαλύτη για διαχωρισμό του από τις ουσίες-στόχους (Aguilera, 2003).



Σχήμα 3.1 Τα κύρια στάδια της εκχύλισης στερεού-υγρού (Chanioti, 2019).

Μια σημαντική παράμετρος της διεργασίας της εκχύλισης στερεού-υγρού είναι ο χρόνος που χρειάζεται έτσι ώστε ο διαλύτης να αλληλοεπιδράσει με τη στερεά πρώτη ύλη και να ανακτηθούν από αυτήν τα βιοδραστικά συστατικά. Ο χρόνος αυτός

εξαρτάται από τη διαλυτότητα των βιοδραστικών συστατικών στον διαλύτη, τη θερμοκρασία στην οποία πραγματοποιείται η εκχύλιση, τη συνολική επιφάνεια (εμβαδό) της στερεής πρώτης ύλης, το ιξώδες και τη ροή (αν υπάρχει) του διαλύτη (Takeuchi, 2009). Όταν το υλικό από το οποίο γίνεται η εκχύλιση είναι πολυσύνθετο, οι διαφορετικές χημικές ενώσεις που περιέχει, εκχυλίζονται και απομακρύνονται από αυτό με διαφορετικό ρυθμό η καθεμία. Συνεπώς, ο συνολικός ρυθμός της διαδικασίας εκχύλισης καθορίζεται από το βήμα που έχει τον αργότερο ρυθμό (στάδιο ελέγχου ταχύτητας). Όσον αφορά τις εκχυλίσεις σε τρόφιμα, το στάδιο ελέγχου του ρυθμού συνήθως είναι η μεταφορά του διαλύτη από τον κύριο όγκο του διαλύματος στην επιφάνεια και στο εσωτερικό της στερεής μήτρας (Takeuchi et al, 2009, Aguilera, 2003, Chanioti, 2019). Η αποτελεσματική και επιτυχημένη παραλαβή των επιθυμητών ουσιών εξαρτάται από παραμέτρους όπως η διαλυτότητα των ουσιών αυτών στον επιλεγόμενο διαλύτη, η αλληλεπίδραση τους με τον διαλύτη, η επίδραση επί του πορώδους του στερεού μίγματος και η αρχική θέση των ουσιών μέσα στη μάζα του στερεού. Είναι επομένως φανερό πως ιδιαίτερα σημαντικό ρόλο σε μία διαδικασία εκχύλισης έχουν η επιλογή του κατάλληλου διαλύτη και τα δομικά χαρακτηριστικά του φυτικού ιστού από τον οποίο εκχυλίζονται οι εκάστοτε ουσίες.

3.2 Μεταφορά μάζας σε διεργασίες εκχύλισης στερεού-υγρού

Η χρήση του όρου «μεταφορά μάζας» στη συγκεκριμένη διεργασία εκχύλισης αναφέρεται στη μετανάστευση των ουσιών/συστατικών της στερεής πρώτης ύλης προς τον κύριο όγκο του διαλύτη. Η μετανάστευση αυτή συμβαίνει λόγω μεταβολών στη φυσική ισορροπία του συστήματος (στερεή πρώτη ύλη και διαλύτη) που προκαλείται από τη διαφορά συγκέντρωσης. Η βαθμίδα, όπως αλλιώς καλείται η διαφορά/διαβάθμιση, της συγκέντρωσης στη διεπιφάνεια στερεού-υγρού είναι αυτή στην οποία οφείλεται η μεταφορά της διαλυμένης ουσίας (solute) από το εσωτερικό της στερεής μήτρας (περιοχή με υψηλή συγκέντρωση διαλυμένης ουσίας) προς τον όγκο του υγρού διαλύτη (περιοχή με χαμηλή συγκέντρωση της διαλυμένης ουσίας). Η εξίσωση που περιγράφει μαθηματικά αυτό το φαινόμενο είναι η εξίσωση της διάχυσης (Εξ. 3.1) και διέπεται από τον νόμο του Fick (Takeuchi et al, 2009, Chanioti, 2019):

$$\frac{N_C}{A_T} = -D \frac{dC_C}{dz} \quad (\text{Εξ. 3.1})$$

όπου N_C ο ρυθμός διάλυσης της διαλυμένης ουσίας C στο διάλυμα (kg/s)

A_T , το εμβαδό της διεπιφάνειας στερεού-υγρού (m²)

C_C , η συγκέντρωση της διαλυμένης ουσίας C στο διάλυμα (kg/m³)

z , η απόσταση μέσα στο πορώδες της στερεής μήτρας (m)

D , ο συντελεστής διάχυσης (m^2/s)

Στο δεύτερο μέλος της εξίσωσης η διαφορά συγκέντρωσης της διαλυμένης ουσίας C είναι αρνητική (αρνητική κλίση), καθώς η ροή πραγματοποιείται από την υψηλότερη στη χαμηλότερη συγκέντρωση. Έτσι για την σωστή έκφραση της ισότητας στην εξίσωση τοποθετείται ένα αρνητικό πρόσημο στο δεύτερο μέλος, εξασφαλίζοντας θετικό όρο ροής.

Ο συντελεστής διάχυσης (D) αποτελεί μια σημαντική παράμετρο στην εξίσωση της διάχυσης. Η τιμή του για τα στερεά κυμαίνεται μεταξύ 10^{-9} - 10^{-10} m^2/s . Αξίζει να σημειωθεί ότι για τα στερεά τρόφιμα η μεταφορά μάζας εξαρτάται σημαντικά από τη γεωμετρία (μέγεθος και σχήμα) και τον αριθμό των πόρων. Στην περίπτωση των στερεών τροφίμων η διάχυση εκφράζεται ως αποτελεσματική διάχυση D_{eff} και η τιμή της υπολογίζεται από τον τύπο (Takeuchi et al, 2009, Aguilera, 2003, Chanioti, 2019):

$$D_{eff} = \frac{\varepsilon}{\tau} D \quad (\text{Εξ. 3.2})$$

όπου ε , το πορώδες του στερεού υλικού

τ , ο συντελεστής δαιδαλώδους ή στρεβλότητα των πόρων.

Για τα στερεά, το τ παίρνει τιμές από 2 έως 6 και το πορώδες ε από 0.3 έως 0.8. Από την παραπάνω εξίσωση προκύπτει επομένως ότι η αποτελεσματική διάχυση D_{eff} , μπορεί να είναι 6 έως 15 φορές μικρότερη της διάχυσης D .

Στην περίπτωση μιας ασυνεχούς λειτουργίας που πραγματοποιείται σε παρτίδες, με τον συνολικό όγκο V να παραμένει θεωρητικά σταθερός, η μεταφορά μάζας της διαλυμένης ουσίας από την επιφάνεια του στερεού σωματιδίου πραγματοποιείται ταυτόχρονα με μοριακά και τυρβώδη φαινόμενα μεταφοράς. Επομένως, ο ρυθμός μεταφοράς μάζας περιγράφεται βάσει της εξίσωσης 3.3 (Takeuchi et al, 2009, Chanioti, 2019):

$$N_C = \frac{V dC_C}{dt} = A_T k_L (C_{CS} - C_C) \quad (\text{Εξ. 3.3})$$

όπου k_L , ο συντελεστής μεταφοράς μάζας (m/s)

C_{CS} , η συγκέντρωση αναφοράς της διαλυμένης ουσίας C στο διάλυμα (kg/m^3)

C_C , η συγκέντρωση της διαλυμένης ουσίας Ψ στο διάλυμα κατά τη χρονική στιγμή t (kg/m^3).

Για τον υπολογισμό του χρόνου t που χρειάζεται για την αύξηση της συγκέντρωσης του διαλύματος από μία αρχική τιμή C_{C0} στην τιμή C_C πραγματοποιείται ολοκλήρωση της Εξίσωσης 3.3, θεωρώντας το εμβαδόν A της διεπιφάνειας παραμένει σταθερό (Chanioti, 2019):

$$\int_{C_0}^C \frac{dC_C}{C_{CS} - C_C} = \frac{Ak_L}{V} \int_{t=0}^t dt \quad (\text{Εξ. 3.4})$$

$$\frac{C_{CS} - C_C}{C_{CS} - C_{C0}} = e^{-\left(\frac{k_L A}{V}\right)t} \quad (\text{Εξ. 3.5})$$

Για χρήση καθαρού διαλύτη στην αρχή της εκχύλισης ισχύει $C_{C0}=0$, οπότε:

$$1 - \frac{C_C}{C_{CS}} = e^{-\left(\frac{k_L A}{V}\right)t} \quad (\text{Εξ. 3.6})$$

$$C_C = C_{CS} \left(1 - e^{-\left(\frac{k_L A}{V}\right)t}\right) \quad (\text{Εξ. 3.7})$$

3.3 Μέθοδοι εκχύλισης και ανάκτησης των βιοδραστικών συστατικών

Η επιλογή της κατάλληλης μεθόδου εκχύλισης καθορίζεται από τον τύπο και τα χαρακτηριστικά των συστατικών που θα εκχυλιστούν αλλά και από τα χαρακτηριστικά του υλικού που θα αποτελέσει την πρώτη ύλη. Μια ιδιαίτερα διαδεδομένη μέθοδος είναι η μέθοδος Soxhlet, η οποία χρησιμοποιείται κυρίως σε εργαστηριακή κλίμακα και εμφανίζει υψηλές αποδόσεις συγκριτικά με άλλες συμβατικές τεχνικές εκχύλισης (πχ. απλή ανάδευση με θέρμανση). Ωστόσο αυτή η μέθοδος απαιτεί μεγάλο όγκο διαλύτη και μεγάλους χρόνους εκχύλισης που σε συνδυασμό με την εφαρμογή υψηλής θερμοκρασίας επιφέρουν την υποβάθμιση των βιοδραστικών συστατικών που εκχυλίζονται (Luque de Castro et al, 1998).

Τα τελευταία χρόνια χρησιμοποιούνται όλο και περισσότερο καινοτόμες μέθοδοι εκχύλισης, ως αντικαταστάτες των παλαιών συμβατικών μεθόδων. Χαρακτηριστικά παραδείγματα εναλλακτικών μεθόδων εκχύλισης είναι η εκχύλιση υποβοηθούμενη με υπερήχους, με παλμικά πεδία, με υπερυψηλή πίεση, με ένζυμα, με υπερκρίσιμα ρευστά, με χρήση ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας, με ευτηκτικούς πράσινους διαλύτες και με μικροκύματα. Οι εναλλακτικές αυτές μέθοδοι πλεονεκτούν των συμβατικών μεθόδων καθώς χαρακτηρίζονται από χαμηλούς χρόνους εκχύλισης, απαιτούν μικρή ποσότητα χρησιμοποιούμενου διαλύτη και χαμηλή κατανάλωση ενέργειας και γενικότερα θεωρούνται πιο οικονομικές και περιβαλλοντικά φιλικές διεργασίες εκχύλισης (Chanioti, 2019, Andreou, 2020). Η εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα περιγράφεται εκτενώς στη συνέχεια του παρόντος κεφαλαίου (Υποκεφάλαιο 3.4) καθώς αποτελεί την εφαρμοζόμενη μέθοδο εκχύλισης φαινολών από ελαιοπυρήνα και καρτενοειδών από τσίπουρο τομάτας της παρούσας διπλωματικής εργασίας.

3.3.1 Εκχύλιση υποβοηθούμενη με υπερήχους

Η αρχή της εκχύλισης με υπερήχους περιλαμβάνει τη διάδοση μηχανικών κυμάτων μέσα στο προς εκχύλιση στερεό υλικό (Takeuchi et al, 2009). Δύο χαρακτηριστικά μεγέθη των υπερήχων είναι η συχνότητα και το μήκος κύματός τους, τα οποία επηρεάζουν την ταχύτητα διάδοσης του κύματος μέσα στο μέσο. Επίσης σημαντική παράμετρος είναι το πλάτος ή αλλιώς η ένταση των κυμάτων. Η αποτελεσματικότητα και η υψηλή απόδοση της εκχύλισης με τη χρήση υπερήχων οφείλεται στη διάδοση των ωστικών κυμάτων των υπερήχων μέσα από το σώμα του διαλύτη και στα φαινόμενα σπηλαιώσης που ακολουθούν, δηλαδή στη δημιουργία φυσαλίδων και στην κατάρρευση αυτών με συνοδεία υψηλής πίεσης και θερμοκρασίας που έχουν ως αποτέλεσμα τη διάρρηξη των κυτταρικών τοιχωμάτων και την υποβοήθηση της μεταφοράς μάζας μέσω των κυτταρικών μεμβρανών (Takeuchi, 2009). Τα πλεονεκτήματα της μεθόδου έναντι των συμβατικών μεθόδων εκχύλισης είναι ο μειωμένος χρόνος εκχύλισης, η χαμηλή κατανάλωση ενέργειας και οικονομία στη χρήση διαλύτη, ενώ έχει βρεθεί ότι μπορεί να υποβαθμίσει τα παραλαμβανόμενα βιοδραστικά συστατικά, κυρίως λόγω των υψηλών θερμοκρασιών που αναπτύσσονται.

3.3.2 Εκχύλιση υποβοηθούμενη από Παλμικά Ηλεκτρικά Πεδία

Η αξιοποίηση της ηλεκτροτεχνολογίας των παλμικών πεδίων συνίσταται στη χρήση τους για την προκατεργασία των υλικών που στη συνέχεια θα υποβληθούν σε συμβατική εκχύλιση. Η έκθεση των κυττάρων του φυτικού ιστού στο ηλεκτρικό πεδίο επιφέρει την ηλεκτροδιάτρησή τους, δηλαδή τη δημιουργία πόρων στην κυτταρική μεμβράνη εξαιτίας της πολωμένης κίνησης των ιόντων που αυτή διαθέτει. Η ηλεκτροδιάτρηση που προκαλείται είναι μη αντιστρεπτή, δηλαδή οι πόροι που δημιουργούνται δε μπορούν να ξανακλείσουν και έτσι αυξάνεται δραστικά η διαπερατότητα της κυτταρικής μεμβράνης. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση του φαινομένου μεταφοράς μάζας κατά την εκχύλιση και τη βελτίωση της απόδοσης της συνολικής διαδικασίας απομάκρυνσης των συστατικών από τη στερεή μήτρα. Ο χρόνος εκχύλισης μειώνεται, ενώ παράλληλα δεν αυξάνεται πολύ η θερμοκρασία, δεν υποβαθμίζονται τα θερμοευαίσθητα συστατικά και η διεργασία είναι συμφέρουσα οικονομικά και περιβαλλοντικά (Luengo, 2015).

3.3.3 Εκχύλιση υποβοηθούμενη από Υπερυψηλή Πίεση

Η εκχύλιση υποβοηθούμενη από Υπερυψηλή Πίεση (ΥΠ) βασίζεται στην εφαρμογή υψηλής πίεσης, κατά κύριο λόγο πάνω από 100-600 MPa, για την αύξηση της εκχυλισιμότητας των βιοδραστικών συστατικών από το στερεό υλικό στο οποίο περιέχονται. Η αυξημένη πίεση μεταβάλλει τον συντελεστή διάχυσης καθώς αυξάνει τη διαπερατότητα των φυτικών κυτταρικών μεμβρανών. Η μεταβολή του συντελεστή διάχυσης συνδέεται με την αύξηση του ρυθμού μεταφοράς μάζας των ουσιών-στόχων από την πρώτη ύλη στον διαλύτη. Ο διαλύτης εισχωρεί πιο εύκολα στο εσωτερικό των κυττάρων και μεταβιβάζονται σε αυτόν οι ουσίες. Ένα ιδιαίτερο χαρακτηριστικό της ΥΠ είναι ότι κατά τη διάρκεια της εκχύλισης δύναται να μειωθεί το pH του διαλύτη και κατά αυτόν τον τρόπο να αυξηθεί η ποσότητα των συστατικών που μεταφέρεται σε αυτόν, μιας και η πλειοψηφία των βιοδραστικών συστατικών εμφανίζουν μεγαλύτερη σταθερότητα σε $\text{pH} < 4$ (Corrales et al, 2008).

3.3.4 Εκχύλιση υποβοηθούμενη με ένζυμα

Η αξιοποίηση των ενζύμων στη διαδικασία της εκχύλισης εντοπίζεται στη χρήση τους για ενζυματική προεπεξεργασία του υλικού που πρόκειται στη συνέχεια να υποβληθεί σε συμβατική εκχύλιση. Η εκχύλιση υποβοηθούμενη από κάποιο συγκεκριμένο ένζυμο βασίζεται στην ικανότητα του ενζύμου να προκαλέσει αποικοδόμηση των κυτταρικών τοιχωμάτων και των μεμβρανών που έχουν τα φυτικά κύτταρα, υπό ήπιες συνθήκες διεργασίας και έτσι να οδηγήσουν στην απελευθέρωση των ουσιών από τη στερεή μήτρα και στην αποτελεσματικότερη εκχύλισή τους. Παραδείγματα τέτοιων ενζύμων, που διαταράσσουν τη δομική ακεραιότητα των τοιχωμάτων των κυττάρων υδρολύοντας τα συστατικά που τα απαρτίζουν είναι οι κυτταρινάσες, οι ημικυτταρινάσες και οι πηκτινάσες. Η γνώση του τρόπου δράσης του κάθε ενζύμου, οι βέλτιστες συνθήκες λειτουργίας του και ο συνδυασμός του κατάλληλου ενζύμου με την κατάλληλη φυτική ύλη που θα εκχυλιστεί, είναι παράγοντες που πρέπει να ληφθούν υπόψη με σκοπό την αύξηση της αποτελεσματικότητας της εκχύλισης (Puri et al, 2012).

3.3.5 Εκχύλιση με υπερκρίσιμα ρευστά

Η εκχύλιση με υπερκρίσιμα ρευστά έχει ως βάση της το γεγονός ότι ορισμένα ρευστά όπως το αιθυλένιο, το άζωτο, το μεθάνιο, οι φθοράνθρακες, παρουσιάζουν δυνατότητα μεταβολής των φυσικών ιδιοτήτων τους όταν μεταβάλλεται η πίεση και η θερμοκρασία. Με την εφαρμογή κατάλληλων συνθηκών πίεσης και θερμοκρασίας, τα υπερκρίσιμα ρευστά μπορούν να βρεθούν σε μία ενδιάμεση κατάσταση αερίου-υγρού, λόγω του ότι εμφανίζουν ιδιότητες παρόμοιες με αυτές του αερίου και πυκνότητα

παρόμοια με του υγρού. Η πυκνότητά τους ρυθμίζεται με τη μεταβολή της θερμοκρασίας και της πίεσης και αυτό έχει ως αποτέλεσμα η μεταφορά μάζας να ευνοείται περισσότερο σε σχέση με τα υγρά. Το διοξείδιο του άνθρακα χρησιμοποιείται ιδιαίτερα σε αυτή τη μέθοδο εκχύλισης. Τα πλεονεκτήματα της χρήσης του συνίστανται στο ότι είναι αποδεδειγμένα μη τοξικό, έχει χαμηλό κόστος, μπορεί να ανακτηθεί εύκολα και έχει την ικανότητα να διαλυτοποιήσει λιπόφιλες ενώσεις. Ωστόσο έχει χαμηλή πολικότητα και αυτό αποτρέπει τη διάλυση πολλών συστατικών σε αυτό. Για την αύξηση της διαλυτότητας αναμιγνύεται με άλλους διαλύτες (συνδιαλύτες) πιο πολικούς, όπως το εξάνιο, η μεθανόλη και η αιθανόλη (Sihvonen et al, 1999).

3.3.6 Εκχύλιση υποβοηθούμενη με χρήση ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας

Η εκχύλιση με χρήση ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας είναι μία εναλλακτική μέθοδος η οποία μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ανάκτηση βιοδραστικών συστατικών από φυτικά υλικά, όπου η εφαρμογή μηχανικής διάτμησης πολύ υψηλής ταχύτητας έχει ως αποτέλεσμα την ανάμιξη του φυτικού υλικού με το διαλύτη και τη συντριβή χωρίς πίεση των κυτταρικών τοιχωμάτων του υλικού (Guo et al., 2017). Η αρχή της μεθόδου βασίζεται σε έναν περιστρεφόμενο εσωτερικό κόπτη που οδηγείται από έναν κινητήρα υψηλής ταχύτητας, ο οποίος μέσω της παραγωγής μίας ισχυρής δύναμης διάτμησης μεταξύ των εσωτερικών και εξωτερικών κοπτικών, διαταράσσει τα κυτταρικά τοιχώματα και αναμιγνύει το στερεό υλικό με τον διαλύτη. Η μεταφορά μάζας μεταξύ της διαλυμένης ουσίας και του διαλύτη συμβαίνει λόγω των διαφορετικών πιέσεων μεταξύ των εσωτερικών και εξωτερικών κοιλοτήτων που προκαλούνται από την υψηλή ταχύτητα περιστροφής (Guo et al., 2017).

3.3.8 Εκχύλιση με νέους αναδυόμενους ευτηκτικούς διαλύτες (Natural Deep Eutectic Solvents – NADES)

Οι ευτηκτικοί διαλύτες είναι μια κατηγορία νέων πράσινων διαλυτών οι οποίοι δημιουργούνται με την απλή ανάμιξη δύο ουσιών που έχουν χαμηλό κόστος και είναι ιδιαίτερα φιλικές προς το περιβάλλον. Οι ουσίες αυτές σχηματίζουν ένα ευτηκτικό μίγμα το οποίο περιλαμβάνει έναν δέκτη δεσμού υδρογόνου, όπως ένα τεταρτοταγές άλας, και έναν δότη δεσμού υδρογόνου, όπως αμίνες, καρβοξυλικά οξέα, αλκοόλες και υδατάνθρακες. Ένα από τα πιο διαδεδομένα συστατικά που χρησιμοποιούνται για το σχηματισμό ευτηκτικών διαλυτών, και το οποίο χρησιμεύει ως δέκτης δεσμού υδρογόνου, είναι το χλωρίδιο της χολίνης (ChCl). Το χλωρίδιο της χολίνης είναι ένα βιοαποικοδομήσιμο και μη τοξικό τεταρτοταγές αμμωνιακό άλας το οποίο είτε προέρχεται απευθείας από βιομάζα, είτε παρασκευάζεται με απλές και οικονομικές μεθόδους από ορυκτά υλικά. Το χλωρίδιο της χολίνης σε συνδυασμό με δότες δεσμού υδρογόνου όπως οργανικά οξέα, πολυόλες ή υδατάνθρακες κ.α., μπορεί να

σχηματίζει ευτηκτικά μίγματα. Η χρήση των ευτηκτικών διαλυτών συγκεντρώνει αρκετά πλεονεκτήματα τα οποία εντοπίζονται στο ότι οι διαλύτες αυτοί έχουν χαμηλή τοξικότητα, χαμηλό κόστος, δεν είναι ιδιαίτερα πτητικοί, είναι βιοαποικοδομήσιμοι και δεν αντιδρούν με το νερό, ενώ η προετοιμασία τους είναι εύκολη (Dai et al, 2013).

3.4 Εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα (Microwave-assisted extraction, MAE)

Η εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα (MAE) είναι μια εκχυλιστική μέθοδος της οποίας η αξία αρχίζει όλο και περισσότερο να αναγνωρίζεται τα τελευταία έτη. Η αξία αυτή εντοπίζεται στη συμβολή της μεθόδου στον διαχωρισμό και την παραλαβή συστατικών από υλικά φυτικής προέλευσης. Τα μικροκύματα είναι μη ιονίζουσα ηλεκτρομαγνητική ενέργεια, η οποία μεταδίδεται με τη μορφή κυμάτων συχνότητας μεταξύ 0.3 και 300 GHz. Τα μικροκύματα εμφανίζουν την ικανότητα διείσδυσης εντός ορισμένων υλικών και αλληλεπιδρούν με τα πολικά συστατικά, για παράδειγμα το νερό, μέσα στα υλικά αυτά. Η μέθοδος αυτή για εκχυλίσεις στερεού-υγρού, παρουσιάζει πλήθος πλεονεκτημάτων όπως ο ιδιαίτερα χαμηλός χρόνος εκχύλισης, η περιορισμένη χρήση διαλύτη, η επιλεκτικότητα και η ελεγχόμενη διαδικασία θέρμανσης. Στη MAE πραγματοποιούνται παράλληλα και συνεργατικά, προς την ίδια κατεύθυνση, δύο φαινόμενα μεταφοράς: μεταφορά θερμότητας και μεταφορά μάζας. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα η συνολική διαδικασία να επιταχύνεται και ταυτόχρονα να επιτυγχάνεται υψηλότερη απόδοση εκχύλισης. Με τη συμβολή των μικροκυμάτων η θερμότητα που δημιουργείται διασκορπίζεται σε όλο τον όγκο του ακτινοβολούμενου υλικού, σε αντίθεση με τις συμβατικές μεθόδους κατά τις οποίες η μεταφορά θερμότητας πραγματοποιείται από το εξωτερικό προς το εσωτερικό του υλικού και η μεταφορά μάζας συμβαίνει κατά την αντίθετη κατεύθυνση, από το εσωτερικό της στερεής ύλης προς το εξωτερικό (Destandau et al, 2013, Leonelli et al, 2013, Azmir et al, 2013).

Η φυσική αρχή της MAE βασίζεται στην άμεση επίδραση που έχει η ενέργεια των μικροκυμάτων στα μόρια των υλικών. Η ενέργεια των μικροκυμάτων απορροφάται από τις πολικές ενώσεις που περιέχονται σε ένα υλικό και ανάλογα με τη διηλεκτρική σταθερά του το υλικό θα θερμανθεί. Η ενέργεια που απορροφάται είναι ανάλογη της διηλεκτρικής σταθεράς του μέσου και προκαλεί τον σχηματισμό περιστροφικών διπόλων και ιοντικής μετανάστευσης μέσα στο ηλεκτρικό πεδίο που δημιουργείται. Τόσο οι κινήσεις περιστροφής των διπόλων που προσπαθούν να ευθυγραμμιστούν με το ηλεκτρικό πεδίο, όσο και η ιοντική μετανάστευση κατά την οποία πραγματοποιείται ροή ιόντων στο μέσο, έχουν ως αποτέλεσμα αλληπάλληλες συγκρούσεις μεταξύ των μορίων οι οποίες οδηγούν σε παραγωγή ενέργειας και αύξηση της θερμοκρασίας του μέσου (Takeuchi et al, 2009, Destandau et al, 2013, Veggi et al, 2013).

Τα κύρια στάδια μιας διεργασίας εκχύλισης υποβοηθούμενη με μικροκύματα είναι (Takeuchi et al, 2009, Veggi et al, 2013):

- Η διείσδυση του υγρού διαλύτη στη στερεή μήτρα.
- Η διαλυτοποίηση των συστατικών.
- Η απομάκρυνση της διαλυμένης ουσίας μέσω του διαλύτη από το εσωτερικό της στερεής μήτρας.
- Η μεταφορά διαλυμένης ουσίας από την εξωτερική επιφάνεια του στερεού στον όγκο του κυρίως διαλύματος.
- Ο διαχωρισμός του εκχυλίσματος και του στερεού.
- Η απομάκρυνση του διαλύτη για την παραλαβή των συστατικών.

3.4.1 Μηχανισμός της εκχύλισης υποβοηθούμενης με μικροκύματα

Η υποβοήθηση της εκχύλισης του προσφέρουν τα μικροκύματα εντοπίζεται στη μοριακή κίνηση που προκαλούν, η οποία συμβαίνει με τη μετανάστευση ιόντων και περιστροφή διπόλων, όσο επίσης και στη θέρμανση του διαλύτη, και έχει ως αποτέλεσμα τη βελτίωση της διείσδυσης του διαλύτη στο υλικό της στερεής μήτρας. Με την εφαρμογή ενός ηλεκτρικού πεδίου σε ένα διάλυμα πραγματοποιείται ηλεκτροφορητική μετανάστευση ιόντων του διαλύματος. Το φαινόμενο αυτό ορίζει το μέγεθος της ιοντικής αγωγιμότητας για το διάλυμα. Η αντίσταση του διαλύματος σε αυτή τη ροή ιόντων οδηγεί στη θέρμανση του διαλύματος λόγω τριβής. Από φυσικής άποψης, τα κατιόντα κινούνται και επιταχύνονται σύμφωνα με τη φορά του ηλεκτρικού πεδίου και τα ανιόντα κινούνται αντίθετα. Η φορά της κίνησης των θετικών και των αρνητικών ανιόντων αντιστρέφεται, καθώς αλλάζει και η φορά του ηλεκτρικού πεδίου σύμφωνα με τη συχνότητα. Επίσης, η περιστροφή των διπόλων, δηλαδή ο προσανατολισμός και η αναδιάταξη των πολικών μορίων οφείλεται ομοίως στο εναλλασσόμενο ηλεκτρικό πεδίο (Veggi et al, 2013).

Το εναλλασσόμενο ηλεκτρικό πεδίο των μικροκυμάτων είναι το μοναδικό υπεύθυνο για τη θέρμανση του διαλύτη και του στερεού υλικού. Το μαγνητικό πεδίο που συνυπάρχει με το ηλεκτρικό πεδίο δε συνεισφέρει στη θέρμανση, καθώς οι διαλύτες και τα φυτικά υλικά, αλλά και γενικότερα τα τρόφιμα, δεν αλληλεπιδρούν με τα μαγνητικά πεδία.

Το ιδιαίτερο χαρακτηριστικό της θέρμανσης με μικροκύματα είναι ο τρόπος που πραγματοποιείται η μεταφορά ενέργειας. Σε μία διαδικασία συμβατικής εκχύλισης η μεταφορά της ενέργειας πραγματοποιείται μέσω φαινομένων μεταφοράς, συναγωγής και ακτινοβολίας από την εξωτερική επιφάνεια προς το εσωτερικό των υλικών (διαλύτη, στερεό) και με πηγή ένα θερμαντικό στοιχείο. Από την άλλη, στη ΜΑΕ η ενέργεια που φέρουν τα μικροκύματα μεταφέρεται αμέσως στα υλικά εξαιτίας της επίδρασης του ηλεκτρομαγνητικού πεδίου στα μόρια αυτών, επίδραση που

μετατρέπει την ηλεκτρομαγνητική ενέργεια σε κίνηση (μετανάστευση, περιστροφή) και θερμότητα (Veggi et al, 2013).

Η ένταση του ηλεκτρικού πεδίου μέσα στην τρισδιάστατη κοιλότητα του οργάνου στο οποίο πραγματοποιείται η εκχύλιση (ειδικά διαμορφωμένος φούρνος μικροκυμάτων) μεταβάλλεται χρονικά και από σημείο σε σημείο, ενώ παράλληλα επηρεάζεται από τις ανακλάσεις στα τοιχώματα του οργάνου και από την παρουσία του διαλύτη και του στερεού υλικού. Η συμβολή προσπιπτόντων και ανακλώμενων κυμάτων έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία στάσιμων κυμάτων. Οι πολλαπλές ανακλάσεις στις τρεις διαστάσεις της κοιλότητας του οργάνου δημιουργούν διάφορες πιθανές διατάξεις των στάσιμων κυμάτων. Κάθε πιθανή διάταξη ονομάζεται mode. Σε έναν τυπικό φούρνο μικροκυμάτων το πεδίο μπορεί να περιγραφεί ως μείξη περίπου 20 με 30 modes και για τον λόγο αυτό οι φούρνοι αναφέρονται ως κοιλότητες πολλαπλών modes (Veggi et al, 2012, Chan et al, 2011).

Για την ποσοτική περιγραφή των αλληλεπιδράσεων των μικροκυμάτων με τα διάφορα υλικά (διαλύτες και στερεές πρώτες ύλες) της εκχύλισης είναι απαραίτητη η γνώση των διηλεκτρικών ιδιοτήτων των υλικών αυτών. Οι διηλεκτρικές ιδιότητες, μαζί με τις θερμικές και άλλες φυσικές ιδιότητες, καθορίζουν τη θερμική συμπεριφορά των υλικών στο περιβάλλον εφαρμογής των μικροκυμάτων. Οι διηλεκτρικές ιδιότητες είναι (Destandau et al, 2013):

- Η διηλεκτρική σταθερά, ϵ' . Η διηλεκτρική σταθερά ενός υλικού ορίζεται ως τον λόγο της χωρητικότητας ενός πυκνωτή με επίπεδους και παράλληλους οπλισμούς που έχει αυτό το υλικό μεταξύ των οπλισμών του. Εκφράζει την ικανότητα του διηλεκτρικού υλικού (μονωτικού υλικού, δηλαδή του τροφίμου) να αποθηκεύσει ηλεκτρική ενέργεια και επίσης δείχνει το μέτρο της ταχύτητας με την οποία διέρχεται από το υλικό το ηλεκτρομαγνητικό κύμα, το οποίο έχει τη μέγιστη ταχύτητά του στο κενό και όταν εισέρχεται σε ένα υλικό επιβραδύνεται. Όσο μεγαλύτερη είναι η ϵ' τόσο μικρότερη είναι η ταχύτητα.
- Ο σχετικός διηλεκτρικός παράγοντας απώλειας ϵ'' , που είναι το μέτρο της ικανότητας του υλικού να μετατρέπει την ηλεκτρική ενέργεια σε θερμότητα. Αναφέρεται στην απώλεια ηλεκτρομαγνητικής ενέργειας και όσο αυξάνεται ο ϵ'' τόσο αυξάνεται το ποσό ενέργειας που απορροφάται από το υλικό μετατρέπόμενο σε θερμότητα. Υλικό με μεγάλο παράγοντα απώλειας (lossy υλικό) θερμαίνεται πολύ εύκολα με μικροκύματα, ενώ ένα άλλο με μικρό παράγοντα απώλειας δεν είναι κατάλληλο για θέρμανση με μικροκύματα.
- Η σχετική εφαιπτομένη απώλεια ή συντελεστής διασποράς, $\tan\delta$, που ορίζεται ως ο λόγος του σχετικού διηλεκτρικού παράγοντα απώλειας ϵ'' προς τη διηλεκτρική σταθερά ϵ' .

Σημαντικό μέγεθος είναι και η διπολική ροπή, η οποία αποτελεί το μέτρο της πόλωσης ενός συστήματος ηλεκτρικών φορτίων, για παράδειγμα ενός διαλύτη (ή τροφίμου). Στον Πίνακα 3.1 που ακολουθεί συγκεντρώνονται ορισμένες φυσικές σταθερές διαλυτών που χρησιμοποιούνται σε εκχυλίσεις υποβοηθούμενες με μικροκύματα.

Πίνακας 3.1 Φυσικές ιδιότητες διαλυτών της ΜΑΕ (Chanioti, 2019)

Διαλύτης	Διηλεκτρική σταθερά ε' (20 °C)	Διπολική ροπή (Debye)(25 °C)	Συντελεστής διασποράς $\tan\delta$ ($\times 10^{-4}$)	Σημείο ζέσεως (°C)(101.4 kPa)
Νερό	78.3	2.3	1570	100
Μεθανόλη	32.6	2.87	6400	65
Αιθανόλη	24.3	1.96	2500	78
Ακετόνη	20.7	2.69	5555	56
Εξάνιο	1.89	0.1	0.10	69
Οξικός αιθυλεστέρας	6.02	1.88	5316	77
Ισοπροπανόλη	19.9	1.66	6700	82

Η επιλογή του κατάλληλου διαλύτη, με την αντίστοιχη διηλεκτρική σταθερά, έχει μεγάλη σημασία. Κατά κύριο λόγο, όσο μεγαλύτερη τιμή έχει η διηλεκτρική σταθερά του διαλύτη τόσο υψηλότερη είναι και η απορρόφηση της ενέργειας των μικροκυμάτων από τα μόρια του διαλύτη, στα οποία υφίσταται πόλωση. Η υψηλότερη απορρόφηση οδηγεί σε ταχύτερο ρυθμό θέρμανσης του διαλύτη και ως επακόλουθο σε γρηγορότερη θέρμανση και της στερεής ύλης. Τα πολικά μόρια και τα ιοντικά διαλύματα απορροφούν έντονα την ενέργεια μικροκυμάτων λόγω της μόνιμης διπολικής ροπής και του θετικού και αρνητικού φορτίου που διαθέτουν αντίστοιχα. Όταν ωστόσο ένας διαλύτης είναι μη πολικός, η επίδραση των μικροκυμάτων πάνω του δεν οδηγεί σε θέρμανση (Veggi et al, 2013).

3.4.2 Παράγοντες που επηρεάζουν την εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα

Παράγοντες που παίζουν σημαντικό ρόλο στην αποτελεσματικότητα μιας εκχύλισης υποβοηθούμενης από μικροκύματα και πρέπει να ρυθμιστούν κατάλληλα κατά τον σχεδιασμό μιας τέτοια διεργασίας είναι η θερμοκρασία, η πίεση, ο διαλύτης, ο χρόνος εκχύλισης, η ισχύς των μικροκυμάτων, η αναλογία στερεού : υγρού, το μέγεθος και η περιεχόμενη υγρασία της στερεής πρώτης ύλης.

Θερμοκρασία

Μια γενική παρατήρηση για την παράμετρο της θερμοκρασίας είναι ότι η αυξημένη θερμοκρασία ευνοεί την απόδοση της εκχύλισης. Με την εφαρμογή υψηλής θερμοκρασίας κατά τη διάρκεια της ΜΑΕ, μειώνεται το ιξώδες και η επιφανειακή

τάση του χρησιμοποιούμενου διαλύτη με αποτέλεσμα την αύξηση της ικανότητάς του να διεισδύσει στο εσωτερικό της στερεής μήτρας αλλά και να διαλυτοποιήσει πιο εύκολα τα συστατικά. Στην εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα που πραγματοποιείται σε κλειστό δοχείο, ο διαλύτης μπορεί να θερμανθεί και να φτάσει σε θερμοκρασία πάνω από το σημείο ζέσεως του και η εκχύλιση να είναι ιδιαίτερα αποτελεσματική. Όταν όμως η τιμή της θερμοκρασίας ξεπεράσει μία οριακή τιμή, κατά την οποία παρατηρείται βέλτιστη τιμή απόδοσης, η παραπάνω αύξησή της επιφέρει υποβάθμιση των εκχυλιζόμενων συστατικών και συνεπώς μείωση της απόδοσης (Takeuchi et al, 2009, Veggi et al 2013).

Πίεση

Όταν η εκχύλιση με τη βοήθεια μικροκυμάτων πραγματοποιείται σε κλειστό σύστημα, ο παράγοντας της πίεσης, σε άμεση σχέση με τη θερμοκρασία που εφαρμόζεται, επηρεάζει την αλληλεπίδραση του υγρού διαλύτη με τη στερεή μήτρα, με αποτέλεσμα τη μείωση του χρόνου εκχύλισης και την αύξηση της απόδοσης (Takeuchi et al, 2009).

Διαλύτης

Ένας από τους σημαντικότερους παράγοντες σε μια διεργασία MAE είναι ο υγρός διαλύτης που χρησιμοποιείται για την ανάκτηση των επιθυμητών βιοδραστικών συστατικών από τη στερεή μήτρα και η επιλογή του επηρεάζει καθοριστικά την εκχύλιση. Η επιλογή του κατάλληλου διαλύτη εξαρτάται από τη διηλεκτρική σταθερά του, τη διαλυτότητα των προς εκχύλιση συστατικών σε αυτόν, την εκλεκτικότητα στην παραλαβή ενώσεων που παρουσιάζει, την ικανότητα διείσδυσης και αλληλεπίδρασης με το στερεό υλικό. Επιπλέον, παράμετροι που πρέπει να ληφθούν υπόψη είναι η τοξικότητά, το κόστος και η ευκολία ανάκτησής του. Στη MAE μπορούν να χρησιμοποιηθούν πολικοί αλλά και μη πολικοί διαλύτες. Με την προσθήκη νερού σε έναν μη πολικό διαλύτη αυξάνεται η πολικότητα, απορροφάται αποτελεσματικότερα η ενέργεια των μικροκυμάτων, διευκολύνεται η διάλυση των συστατικών και μεγαλώνει η απόδοση (Takeuchi et al, 2009, Veggi et al 2013).

Χρόνος

Σημαντικό πλεονέκτημα των εκχυλίσεων υποβοηθούμενων με μικροκύματα είναι ο πολύ μικρός χρόνος εκχύλισης που απαιτείται συγκριτικά με άλλες τεχνικές εκχύλισης. Ο χρόνος εκχύλισης για τα τρόφιμα κυμαίνεται από 3 μέχρι 40 λεπτά και καθορίζεται από το υλικό της στερεής μήτρας και τα συστατικά τα οποία εκχυλίζονται. Κατά κύριο λόγο, με εφαρμογή υψηλότερων χρόνων εκχύλισης επιτυγχάνεται υψηλότερη απόδοση εκχύλισης. Ωστόσο, η επιμήκυνση του χρόνου εκχύλισης όταν χρησιμοποιούνται διαλύτες με μεγάλη διηλεκτρική σταθερά, όπως νερό, αιθανόλη, μεθανόλη, οδηγεί σε έντονη θέρμανση λόγω της παρατεταμένης έκθεσης στην ακτινοβολία των μικροκυμάτων και έχει ως συνέπεια την υποβάθμιση ευαίσθητων σε υψηλές θερμοκρασίες συστατικών. Όταν όμως η διεργασία της εκχύλισης απαιτεί μεγαλύτερο χρόνο, τα στερεά υλικά εκχυλίζονται σε πολλαπλά στάδια χρησιμοποιώντας διαδοχικούς κύκλους εκχύλισης με φρέσκο διαλύτη. Έτσι

επιτυγχάνεται η επιθυμητή υψηλή απόδοση, χωρίς υψηλή θερμοκρασία και υποβάθμιση του υλικού (Takeuchi et al, 2009, Veggi et al 2013).

Ισχύς μικροκυμάτων

Η ισχύς της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας των μικροκυμάτων (microwave power) μετριέται σε Watts και ρυθμίζεται στο όργανο (φούρνο) μικροκυμάτων. Όσο μεγαλύτερη είναι η ισχύς τόσο περισσότερη ενέργεια μεταδίδεται και απορροφάται από τα μόρια του διαλύτη και της στερεής ύλης, και τόσο περισσότερο αυξάνεται η θερμοκρασία. Αυτό ευνοεί την απόδοση της εκχύλισης, μέχρι όμως ένα βέλτιστο όριο. Ξεπερνώντας αυτό το όριο και ρυθμίζοντας μεγαλύτερη ισχύ προκαλείται απότομη και υψηλή αύξηση της θερμοκρασίας συνοδευόμενη με υποβάθμιση των συστατικών του στερεού υλικού (Takeuchi et al, 2009, Veggi et al 2013).

Αναλογία στερεού:υγρού

Η αναλογία μάζας της στερεής πρώτης ύλης που θα υποβληθεί σε εκχύλιση προς τον όγκο του χρησιμοποιούμενου διαλύτη επηρεάζει την απόδοση της ΜΑΕ. Συνήθεις αναλογίες κυμαίνονται από 1:10 έως και 1:60, g πρώτης ύλης/mL διαλύτη. Στόχος είναι η εκχύλιση όσο το δυνατόν μεγαλύτερης ποσότητας συστατικών με τη χρήση μικρότερου όγκου διαλύτη. Ωστόσο, μικρός όγκος διαλύτη μπορεί να οδηγήσει στον κορεσμό του κατά την εκχύλιση και στη μη περαιτέρω διαλυτοποίηση παραπάνω συστατικών, το οποίο μπορεί παρόλα αυτά να αποφευχθεί με την επιλογή κατάλληλης αναλογίας μάζας στερεής ύλης - διαλύτη (Takeuchi et al, 2009, Veggi et al 2013).

Περιεκτικότητα του τροφίμου σε νερό

Η περιεκτικότητα σε υγρασία της στερεής μήτρας έχει ιδιαίτερη σημασία καθώς το νερό εντός της μήτρας θερμαίνεται απορροφώντας την ενέργεια των μικροκυμάτων, εξατμίζεται και προκαλεί εσωτερική πίεση στο κύτταρο, με συνέπεια τη ρήξη των κυττάρων και τη βελτίωση κατά αυτόν τον τρόπο της απόδοσης της εκχύλισης. Μεγαλύτερο ποσοστό εσωτερικής υγρασίας συνεπάγεται ταχύτερη και αποτελεσματικότερη θέρμανση με τα μικροκύματα, λόγω περιστροφής των διπολικών μορίων του νερού. Επιπρόσθετα, το στερεό υλικό μπορεί να έχει υποβληθεί σε ξήρανση πριν την εκχύλιση, ώστε να είναι πιο σταθερό μικροβιολογικά κατά την αποθήκευση του πριν εκχυλιστεί (Takeuchi et al., 2009).

3.4.3 Φούρνοι μικροκυμάτων

Οι εκχυλιστήρες υποβοηθούμενης εκχύλισης με μικροκύματα, όπως πιο σωστά καλούνται οι συσκευές στις οποίες συμβαίνει η εκχύλιση με ταυτόχρονη ακτινοβολία με μικροκύματα, έναντι της απλής ονομασίας του φούρνου μικροκυμάτων, χωρίζονται σε δύο τύπους ανάλογα με τον τρόπο εφαρμογής της ενέργειας των μικροκυμάτων πάνω στο δείγμα του τροφίμου. Οι τύποι αυτοί είναι:

- συστήματα πολλαπλών λειτουργιών
- συστήματα απλής ή εστιασμένης λειτουργίας

Τα συστήματα πολλαπλών λειτουργιών είναι κατασκευασμένα έτσι ώστε η ακτινοβολία των μικροκυμάτων να διαχέεται κατά τυχαίο τρόπο σε όλη την κοιλότητα που πραγματοποιείται η εκχύλιση και με αυτόν τον τρόπο να δέχονται ακτινοβολία όλες οι περιοχές του εκχυλιζόμενου δείγματος και της κοιλότητας. Στα συστήματα απλής ή εστιασμένης λειτουργίας η ακτινοβολία των μικροκυμάτων εστιάζεται σε μία συγκεκριμένη περιοχή, η οποία περιλαμβάνει το τρόφιμο και το ηλεκτρομαγνητικό πεδίο που εφαρμόζεται είναι πιο ισχυρό (Chan et al, 2011, Destandau et al, 2013).

Τα συστήματα πολλαπλών λειτουργιών είναι κατά κύριο λόγο κλειστά συστήματα στα οποία η διεργασία της εκχύλισης πραγματοποιείται σε ελεγχόμενες συνθήκες πίεσης και θερμοκρασίας. Από την άλλη τα συστήματα απλής ή εστιασμένης λειτουργίας είναι ανοικτά συστήματα και η εκχύλιση συνοδεία της ακτινοβολίας πραγματοποιείται σε συνθήκες ατμοσφαιρικής πίεσης (Chanioti, 2019).

Τα κύρια τμήματα ενός τέτοιου εκχυλιστήρα, ανεξαρτήτως τύπου είναι (Chan et al, 2011, Destandau et al, 2013):

- Η γεννήτρια μικροκυμάτων, που περιέχει το μάγνητρο όπου παράγονται τα μικροκύματα. Στο μάγνητρο η υψηλή AC τάση μετατρέπεται σε ακόμα μεγαλύτερη DC τάση, η οποία στη συνέχεια μετατρέπεται σε μικροκύματα, με σταθερή συχνότητα.
- Ο κυματοδηγός η χρήση του οποίου έγκειται στη μετάδοση των μικροκυμάτων από την πηγή στην κοιλότητα. Η κεραία του μάγνητρου παράγει τα μικροκύματα μέσα στον κυματοδηγό. Οι κυματοδηγοί είναι συνήθως σωλήνες αλουμινίου με ορθογώνιες ή κυκλικές διατομές. Τα μικροκύματα ανακλώνται στις εσωτερικές επιφάνειες των κυματοδηγών και με μια τεθλασμένη (ζιγκ ζαγκ) πορεία οδηγούνται στην κοιλότητα όπου βρίσκεται το προς εκχύλιση δείγμα.
- Ο αναδευτήρας πεδίου ή κυκλοφορητής μοιάζει με μικρό ανεμιστήρα και είναι τοποθετημένος στο σημείο που τελειώνει ο κυματοδηγός και αρχίζει η κοιλότητα. Τα πτερύγια αυτού του ανεμιστήρα βρίσκονται υπό γωνία και είναι κατασκευασμένα από μέταλλο ώστε να ανακλούν τα μικροκύματα, τα οποία στη συνέχεια ανακλώνται στα τοιχώματα και το δάπεδο της κοιλότητας. Το αποτέλεσμα είναι ένα πιο ομοιόμορφο πεδίο μέσα στο φούρνο.
- Ο θάλαμος, όπου τοποθετείται το δείγμα. Μπορεί να είναι μία κοιλότητα όπου τα μικροκύματα διασκορπίζονται τυχαία ή ο ίδιος ο κυματοδηγός.

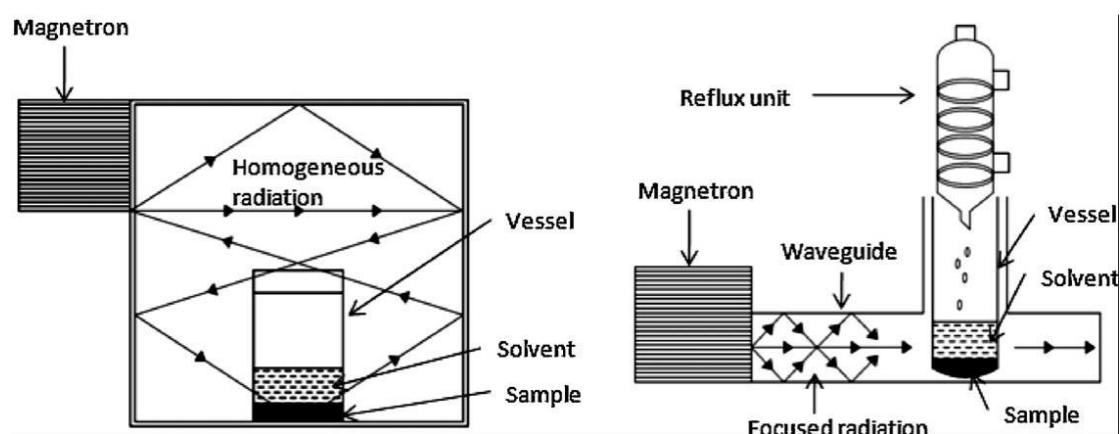
Συστήματα μικροκυμάτων κλειστού τύπου

Η διεργασία της εκχύλισης με τη βοήθεια μικροκυμάτων σε ένα σύστημα κλειστού τύπου πραγματοποιείται μέσα σε ένα σφραγισμένο δοχείο και σε συνθήκες υψηλής θερμοκρασίας και πίεσης. Δύο χαρακτηριστικά αυτής της διάταξης είναι ότι η πίεση μέσα στο δοχείο είναι ελεγχόμενη και δεν ξεπερνάει την πίεση λειτουργίας του

δοχείου και ότι η θερμοκρασία έχει τη δυνατότητα να υπερβεί το σημείο ζέσεως του χρησιμοποιούμενου διαλύτη. Υπό τις συνθήκες αυτές μπορεί να διεξαχθεί με αποτελεσματικότητα μια εκχύλιση, ωστόσο υπάρχει πιθανότητα απώλειας πτητικών συστατικών που περιέχονται στο δείγμα (Σχήμα 3.2) (Chan et al, 2011, Destandau et al, 2013).

Συστήματα μικροκυμάτων ανοικτού τύπου

Όταν το σύστημα διεξαγωγής της ΜΑΕ είναι ανοικτού τύπου, η διεργασία πραγματοποιείται σε ατμοσφαιρική πίεση και επειδή είναι ταυτόχρονα σύστημα εστιασμένης λειτουργίας (FMAE), η ακτινοβολία των μικροκυμάτων προσπίπτει μόνο πάνω στο δείγμα. Η θερμοκρασία που εφαρμόζεται είναι πάντα χαμηλότερη του σημείου ζέσεως του διαλύτη. Το σύστημα ανοικτού τύπου είναι καταλληλότερο για την εκχύλιση συστατικών ευαίσθητων στη υψηλή θερμοκρασία. Ένα ακόμη πλεονέκτημα του ανοικτού συστήματος είναι η δυνατότητα για εκχύλιση μεγαλύτερης ποσότητας δείγματος (στερεή πρώτη ύλη) και η χρήση μεγαλύτερου όγκου διαλύτη, ο οποίος μάλιστα μπορεί να προστεθεί στο δοχείο εκχύλισης και μετά την έναρξη της διαδικασίας. Επιπλέον, η συγκεκριμένη διάταξη περιλαμβάνει ένα κάθετο σύστημα ψύξης (κατακόρυφος ψυκτήρας) πάνω από το δοχείο εκχύλισης μέσα στο οποίο συμπυκνώνεται ο διαλύτης που έχει εξατμιστεί και οδηγείται ξανά στο δοχείο, ώστε να αποφεύγεται η απώλεια διαλύτη (Σχήμα 3.2) (Chan et al, 2011, Destandau et al, 2013).



Σχήμα 3.2 Συστήματα ΜΑΕ κλειστού (αριστερά) και ανοικτού (δεξιά) τύπου (Chanioti, 2019).

3.4.4 Εφαρμογές της εκχύλισης υποβοηθούμενης με μικροκύματα

Η εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα έχει χρησιμοποιηθεί κυρίως για την παραλαβή ελαίου και βιοδραστικών συστατικών από πρώτες ύλες φυτικής προέλευσης. Κάποια παραδείγματα από τη βιβλιογραφία είναι (Chanioti, 2019):

- Παραλαβή ελαίου από κίτρινη κύπερη με παραμέτρους μέγιστης απόδοσης: διαλύτης ακετόνη-πετρελαϊκός αιθέρας 1:2, ισχύς μικροκυμάτων 420 W, θερμοκρασία εκχύλισης 75 °C, αναλογία στερεού:υγρού 1:7 g/mL και χρόνος 55 min (Hu et al, 2018).
- Παραλαβή βαμβακέλαιου από βαμβακόσπορο με παραμέτρους μέγιστης απόδοσης: διαλύτη εξάνιο, 900 W, αναλογία στερεού:υγρού 1:4 g/mL, 3.57 min (Taghvaei et al, 2014).
- Παραλαβή ελαίου από σπόρους οξιάς με παραμέτρους μέγιστης απόδοσης: διαλύτη εξάνιο, 600 W, 14 min (Kumar et al, 2018).
- Παραλαβή ελαίου από σπόρους του φυτού *Moringa oleifera* με παραμέτρους μέγιστης απόδοσης: διαλύτη πετρελαϊκό αιθέρα, 300 W, αναλογία στερεού:υγρού 1:10 g/mL, 7 min (Zhong et al, 2018).
- Παραλαβή καστορέλαιου από ρίκινο με παραμέτρους μέγιστης απόδοσης: διαλύτη αιθανόλη εξάνιο 1:19, 300 W, αναλογία στερεού:υγρού 1:20 g/mL, 20 min (Ibrahim et al, 2018).
- Παραλαβή πολυφαινόλων από φύλλα ελιάς με παραμέτρους μέγιστης απόδοσης: διαλύτη 50% αιθανόλη, 200 W, αναλογία στερεού:υγρού 1:12 g/mL, 15 min (Taamalli et al, 2012).
- Παραλαβή πολυφαινόλων από τομάτα με παραμέτρους μέγιστης απόδοσης: διαλύτη μεθανόλη, 100 W, αναλογία στερεού:υγρού 1:50 g/mL, 45 min (H. Li et al, 2012).
- Παραλαβή πυρηνέλαιου από ελαιοπυρήνα με παραμέτρους μέγιστης απόδοσης: διαλύτη εξάνιο, 287 W, αναλογία στερεού:υγρού 1:10 g/mL, 16 min (Yanik et al, 2017).
- Παραλαβή πολυφαινόλων από αρόνια με παραμέτρους μέγιστης απόδοσης: διαλύτη 25-75% αιθανόλη, 300-600 W, 5-15 min (Simić et al, 2016).
- Παραλαβή πολυφαινόλων από μαύρο τσάι με παραμέτρους μέγιστης απόδοσης: διαλύτη 60% αιθανόλη, 600 W, αναλογία στερεού:υγρού 1:12 g/mL, 10 min (L. Wang et al, 2010).

4. Σχεδιασμός πειραμάτων

4.1 Σκοπός

Από την ελαιουργική βιομηχανία και τη βιομηχανία επεξεργασίας της τομάτας προκύπτουν μεγάλες ποσότητες στερεών παραπροϊόντων. Το κύριο στερεό παραπροϊόν από την επεξεργασία του καρπού της ελιάς για εξαγωγή ελαιόλαδου είναι ο ελαιοπυρήνας ο οποίος είναι πλούσιος σε βιοδραστικά συστατικά, με κυριότερα τις πολυφαινόλες. Το κύριο στερεό παραπροϊόν από την επεξεργασία τομάτας για παραγωγή βιομηχανικών προϊόντων είναι το τσίπουρο τομάτας, το οποίο συνίσταται από τα σπόρια και τους φλοιούς της τομάτας και περιέχει σημαντική ποσότητα καροτενοειδών ενώσεων με ισχυρή αντιοξειδωτική δράση. Παρόλα αυτά, τα προαναφερθέντα παραπροϊόντα δεν αξιοποιούνται όπως θα έπρεπε και είτε χρησιμοποιούνται ως ζωοτροφή και λίπασμα είτε εναποτίθενται ως απόβλητα στο περιβάλλον, προκαλώντας ταυτόχρονα σημαντικά περιβαλλοντικά προβλήματα. Ως εκ τούτου η καλύτερη αξιοποίησή τους μέσω της παραλαβής των βιοδραστικών ενώσεων που διαθέτουν και η περαιτέρω ενσωμάτωση αυτών των ενώσεων σε τρόφιμα, φάρμακα ή καλλυντικά προϊόντα εμφανίζει ιδιαίτερο οικονομικό και περιβαλλοντικό ενδιαφέρον.

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η μελέτη της παραλαβής των βιοδραστικών συστατικών του ελαιοπυρήνα και του τσίπουρου τομάτας μέσω της διεργασίας εκχύλισης υποβοηθούμενης με μικροκύματα. Η μέθοδος της εκχύλισης που επιλέγεται αποτελεί μία καινοτόμο μέθοδο, η οποία αξιοποιεί την τεχνολογία των μικροκυμάτων για να πετύχει μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα και απόδοση στην εκχύλιση των βιοδραστικών συστατικών σε σχέση με τις συμβατικές μεθόδους εκχύλισης.

Ο βασικός άξονας και σχεδιασμός των πειραμάτων στηρίχθηκε σε εκτεταμένη βιβλιογραφική ανασκόπηση με βάση την οποία καθορίστηκαν οι προς μελέτη παράμετροι της παρούσας διπλωματικής εργασίας. Συγκεκριμένα, οι παράμετροι της εκχύλισης που μελετήθηκαν ήταν: ο χρόνος της εκχύλισης, η θερμοκρασία, η σύσταση του διαλύτη, η αναλογία στερεού: υγρού και η ισχύς των μικροκυμάτων, ως προς την επίδραση στα ποσοτικά και ποιοτικά χαρακτηριστικά των βιοδραστικών συστατικών που εκχυλίζονται. Προσδιορίστηκε το ολικό φαινολικό περιεχόμενο των εκχυλισμάτων του ελαιοπυρήνα που προέκυψαν από εκχυλίσεις με συνδυασμό των παραπάνω παραμέτρων. Επίσης, μελετήθηκε η αντιοξειδωτική δράση και η εκλεκτικότητα των εκχυλισμάτων των φαινολικών συστατικών του ελαιοπυρήνα. Όσον αφορά τις εκχυλίσεις του τσίπουρου τομάτας ελέγχθηκε η επίδραση των παραμέτρων στη συγκέντρωση καροτενοειδών που περιέχουν τα εκχυλίσματα. Τα αποτελέσματα των εκχυλίσεων συγκρίθηκαν με εξαντλητικές εκχυλίσεις σταθερής κλίσης για τις ίδιες πρώτες ύλες.

Σκοπός των πειραμάτων αποτελεί ο προσδιορισμός των βέλτιστων συνθηκών της μεθόδου εκχύλισης υποβοηθούμενης με μικροκύματα και τη σύγκρισή της με τις συμβατικές εκχυλίσεις οι οποίες χαρακτηρίζονται από αρκετά μειονεκτήματα, όπως είναι ο αυξημένος χρόνος, η υψηλή κατανάλωση ενέργειας και η υποβάθμιση των βιοδραστικών συστατικών. Η επιλογή των βέλτιστων συνθηκών θα γίνει επίσης στην περίπτωση του ελαιοπυρήνα, με βάση το φαινολικό περιεχόμενο του εκχυλίσματος, την αντιοξειδωτική δράση των βιοδραστικών συστατικών και την εκλεκτικότητα της εκχύλισης στην παραλαβή των πολυφαινολών. Στην περίπτωση του τσίπουρου τομάτας, η επιλογή των βέλτιστων συνθηκών θα γίνει με βάση την απόδοση και την εκλεκτικότητα των εκχυλισμάτων σε ολικά καροτενοειδή .

Η εκπόνηση των πειραμάτων της παρούσας διπλωματικής εργασίας πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων και στο Εργαστήριο Σχεδιασμού Διεργασιών της Σχολής Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου.

4.2 Υλικά και συσκευές

4.2.1 Πρώτες ύλες

Οι πρώτες ύλες που χρησιμοποιήθηκαν ήταν:

- **ελαιοπυρήνας**, από ελιές ποικιλίας Μανάκι, συλλέχθηκε από ελαιοτριβείο της Καλαμάτας (Μεσσηνία). Αποτελείται από σάρκα, πυρήνα (κουκούτσι) και φλοιό του καρπού της ελιάς. Μετά την παραλαβή του ελαιοπυρήνα ακολούθησε ξήρανση με αέρα για 24 ώρες στους 40°C. Κατόπιν το υλικό χωρίστηκε σε μερίδες, συσκευάστηκε υπό κενό σε πλαστικούς περιέκτες, και αποθηκεύτηκε σε θερμοκρασία 4°C, απουσία φωτός , μέχρι τη χρήση του, ώστε να αποφευχθεί υποβάθμιση του υλικού και των περιεχόμενων συστατικών του.
- **τσίπουρο τομάτας** που προέκυψε ως στερεό παραπροϊόν από την επεξεργασία τομάτας για παραγωγή βιομηχανικών προϊόντων, και πάρθηκε από την εταιρεία Δ. Νομικός Α.Ε., Αλιάρτος, Βιωτία. Μετά την παραλαβή του τσίπουρου, το οποίο αποτελείτο από σπόρους και φλοιούς τομάτας, ακολούθησε ομοίως ξήρανση με αέρα για 24 ώρες στους 40°C, συσκευασία υπό κενό σε πλαστικούς περιέκτες, και αποθήκευση των προς ανάλυση δειγμάτων σε θερμοκρασία -18°C απουσία φωτός , μέχρι τη χρήση του, ώστε να αποφευχθεί υποβάθμιση του υλικού και των περιεχόμενων συστατικών του.

Πριν τη χρήση των προς ανάλυση υλικών, προηγήθηκε άλεση των πρώτων υλών (ελαιοπυρήνας και τσίπουρο τομάτας) με τη χρήση μύλου (FRITSCH, cutting mill, pulverisette 15).

4.2.2 Χημικά αντιδραστήρια

Οι διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν για τις εκχυλίσεις ήταν: μεθανόλη και νερό καθαρότητας HPLC για τον ελαιοπυρήνα και οξικός αιθυλεστέρας αναλυτικής καθαρότητας για την τομάτα, αντίστοιχα, του εμπορικού οίκου Sigma-Aldrich Chemical Co (St. Louis, MO, USA). Οι διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν για την ανάλυση υγρής χρωματογραφίας υψηλής πίεσης (HPLC) ήταν: νερό, ακετονιτρίλιο και μεθανόλη βαθμού καθαρότητας HPLC του εμπορικού οίκου Merck (Darmstadt, Germany). Οι καθαροί διαλύτες αποθηκεύτηκαν σε συνθήκες περιβάλλοντος, ενώ τα μίγματα διαλυτών μεθανόλης-νερού μετά την παρασκευή τους αποθηκεύτηκαν στους 4°C για διάστημα λίγων ημερών μέχρι τη χρήση τους.

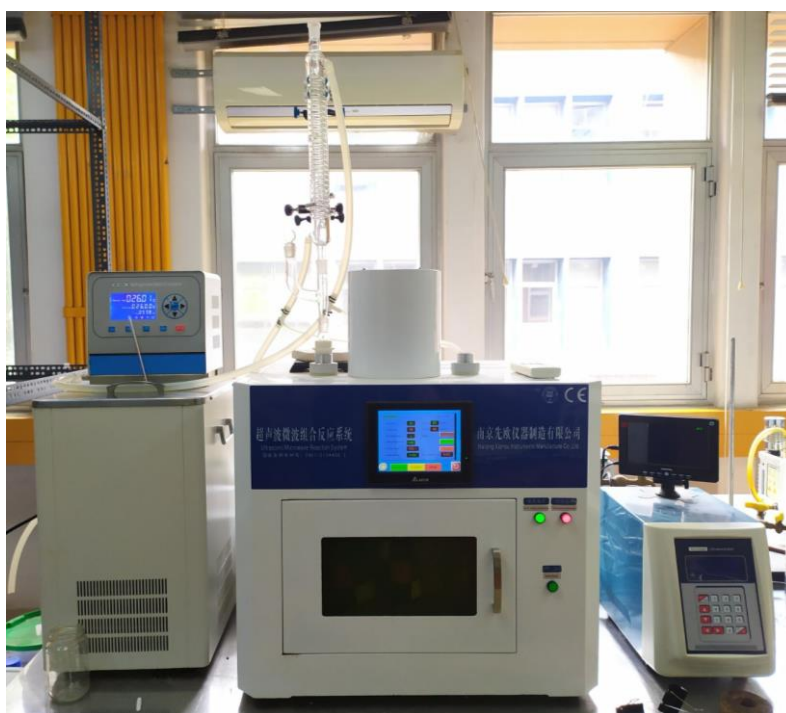
Επιπλέον, για τις χημικές αναλύσεις χρησιμοποιήθηκαν τα αντιδραστήρια Folin-Ciocalteu, 2,2-diphenyl-picrylhydrazyl (DPPH) και ανθρακικό νάτριο (Na_2CO_3), τα οποία αγοράστηκαν από την εταιρεία Sigma-Aldrich Co (St. Louis, MO, USA).

Οι πρότυπες ουσίες των φαινολικών συστατικών: υδροξυτυροσόλη, βανιλικό οξύ και ρουτίνη που χρησιμοποιήθηκαν για την κατασκευή πρότυπων καμπυλών αναφοράς για την ανάλυση των φαινολικών συστατικών των εκχυλισμάτων ήταν του εμπορικού οίκου Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA), ενώ η πρότυπη ουσία της ελευρωπαΐνης ήταν του εμπορικού οίκου Extrasynthese (Genay. France).

4.2.3 Συσκευές

Οι εκχυλίσεις των βιοδραστικών συστατικών με μικροκύματα πραγματοποιήθηκαν με τη χρήση της συσκευής Ultrasonic Microwave Reaction System, μοντέλο XO-SM50 (Nanjing Xianou Instruments Manufacture Co. Ltd, Nanjing City, China), (Σχήμα 4.1). Ο παραπάνω εκχυλιστήρας ανήκει στην κατηγορία συστημάτων εστιασμένης λειτουργίας με την ακτινοβολία των μικροκυμάτων να είναι κατευθυνόμενη και περιορισμένη πάνω στο δοχείο εκχύλισης (beaker) (Εικόνα 4.2) όπου περιέχεται το δείγμα. Πρόκειται για ένα σύστημα ανοικτού τύπου στο οποίο οι εκχυλίσεις πραγματοποιούνται σε συνθήκες ατμοσφαιρικής πίεσης. Η συσκευή διαθέτει μια κύρια κοιλότητα, τον θάλαμο εκχύλισης, (Εικόνα 4.3) όπου τοποθετείται το δοχείο (beaker) που περιέχει την αλεσμένη πρώτη ύλη και τον διαλύτη και εφαρμόζεται πάνω στο δοχείο η ακτινοβολία των μικροκυμάτων κατά τη διάρκεια λειτουργίας της συσκευής. Το δοχείο (extraction beaker) διαθέτει δυο ειδικές θέσεις, μια για την εισαγωγή θερμόμετρου μέσα στο δείγμα και δεύτερη θέση για την εισαγωγή του σωλήνα ανακύκλωσης του εξατμιζόμενου διαλύτη, επιπλέον στα εξωτερικά τοιχώματα του δοχείου κυκλοφορεί ψυκτικό υγρό. Ο διαλύτης που εξατμίζεται κατά τη διάρκεια της εκχύλισης, στις περιπτώσεις που η θερμοκρασία που εφαρμόζεται είναι υψηλότερη του σημείου ζέσεως του, οδηγείται μέσω σωλήνα σε κατακόρυφο ψυκτήρα που βρίσκεται πάνω και έξω από την κοιλότητα εφαρμογής των μικροκυμάτων. Μετά την ψύξη και συμπύκνωσή του ο διαλύτης οδηγείται πάλι μέσω

του ίδιου σωλήνα στο δείγμα μέσα στο δοχείο εκχύλισης. Το δοχείο εκχύλισης έχει επίσης επιπλέον ένα μεγάλο και δύο μικρότερα στόμια τα οποία κλείνονται με τάπες κατά τις εκχυλίσεις που εφαρμόζονται στα πειράματα της συγκεκριμένης μελέτης. Η συσκευή διαθέτει τη δυνατότητα μαγνητικής ανάδευσης μέσα στην κοιλότητα εκχύλισης. Μαγνητικός αναδευτήρας τοποθετείται μέσα στο δοχείο με την πρώτη ύλη και τον διαλύτη και χάρις στην μαγνητική επιφάνεια της κοιλότητας περιστρέφεται. Η ψύξη του δείγματος που εφαρμόζεται κατά την εκχύλιση για έλεγχο της θερμοκρασίας και διατήρησής της στη ρυθμισμένη τιμή πραγματοποιείται με ψυκτικό υγρό, μίγμα απιονισμένου νερού και γλυκερίνης, το οποίο κυκλοφορεί με τη βοήθεια αντλίας περιφερειακά του δοχείου εκχύλισης αλλά και στον κατακόρυφο ψυκτήρα. Η συσκευή ψύξης (Εικόνα 4.1) αποτελείται από ένα μεγάλο δοχείο στο οποίο συμπληρώνεται και ψύχεται το ψυκτικό υγρό, διαθέτει ηλεκτρονικό πίνακα ρύθμισης της λειτουργίας της αντλίας και της θερμοκρασίας του υγρού και βρίσκεται τοποθετημένο δίπλα στην κύρια συσκευή εκχύλισης, όπου πλαστικά σωληνάκια μεταφέρουν το ψυκτικό υγρό από και προς το δοχείο εκχύλισης. Στην κοιλότητα εκχύλισης της κύριας συσκευής υπάρχει και μεταλλικό στέλεχος υπερήχων με δυνατότητα καταβύθισης του μέσα στο δοχείο εκχύλισης. Τέλος, η συσκευή εκχύλισης περιλαμβάνει ηλεκτρονικό πίνακα αφής για τη ρύθμιση των παραμέτρων της εκχύλισης, όπως ο χρόνος της εκχύλισης, η θερμοκρασία, η ταχύτητα ανάδευσης και η ισχύς των μικροκυμάτων. Κατά τη διάρκεια μιας διαδικασίας εκχύλισης στον πίνακα αυτό εκτός από τις ρυθμισμένες τιμές των παραμέτρων παρουσιάζονται και ο τρέχον χρόνος, η πραγματική θερμοκρασία του δείγματος κάθε στιγμή και η εφαρμοζόμενη ισχύς των μικροκυμάτων μέσα στον θάλαμο κάθε στιγμή.



Εικόνα 4.1 Πειραματική διάταξη με κύρια συσκευή εκχύλισης με μικροκύματα (κέντρο), συσκευή ψύξης (αριστερά), συσκευή υπερήχων (δεξιά).



Εικόνα 4.2 Δοχείο εκχύλισης (beaker) άδειο (πάνω αριστερά), με στερεή πρώτη ύλη αλεσμένο ελαιοπυρήνα (πάνω δεξιά), με ελαιοπυρήνα και διαλύτη πριν την εκχύλιση (κάτω αριστερά), με ελαιοπυρήνα και διαλύτη μετά την εκχύλιση (κάτω δεξιά).



Εικόνα 4.3 Δοχείο εκχύλισης με ελαιοπυρήνα και διαλύτη μέσα στο θάλαμο εκχύλισης με μικροκύματα. Διακρίνονται τα πράσινα σωληνάκια κυκλοφορίας του ψυκτικού υγρού, το θερμόμετρο (αριστερά), ο σωλήνας προς τον εξωτερικό ψυκτήρα για ανακύκλωση του εξατμιζόμενου διαλύτη (δεξιά), οι τάπες στα υπόλοιπα στόμια του δοχείου και το μεταλλικό στέλεχος των υπερήχων το οποίο διαθέτει η συσκευή, που ωστόσο δε χρησιμοποιήθηκε στα πειράματα τις παρούσας διπλωματικής εργασίας.

4.3 Πειραματική διαδικασία

4.3.1 Εκχύλιση φαινολικών συστατικών από ελαιοπυρήνα με διεργασία MAE

Για τη μελέτη παραλαβής φαινολικών συστατικών από ελαιοπυρήνα πραγματοποιήθηκαν εκχυλίσεις στερεού υγρού, υποβοηθούμενες με μικροκύματα, με τη στερεά πρώτη ύλη να είναι ο ελαιοπυρήνας και ο διαλύτης μεθανόλη και μίγματα μεθανόλης-νερού. Προζυγισμένη ποσότητα μεταφέρθηκε στο δοχείο εκχύλισης (extraction beaker). Συμπληρώθηκε καθορισμένος όγκος διαλύτη και το δοχείο τοποθετήθηκε στη συσκευή εκχύλισης. Ενεργοποιήθηκε η αντλία του ψυκτικού υγρού το οποίο ρυθμίστηκε σε θερμοκρασία 2 °C και ρυθμίστηκαν ο χρόνος και η θερμοκρασία εκχύλισης, η ισχύς των μικροκυμάτων και η ανάδευση, η οποία για όλες τις εκχυλίσεις πραγματοποιείται στα 300 rpm. Μετά το πέρας της εκχύλισης, το δοχείο εξήλθε από τη συσκευή. Πραγματοποιήθηκε ο διαχωρισμός του υγρού εκχυλίσματος και της στερεής μήτρας με τη βοήθεια σύριγγας. Το εκχύλισμα διηθήθηκε με φίλτρα σύριγγας (0.45 μm, φίλτρα σύριγγας PVDF, Teknokroma,

Βαρκελώνη, Ισπανία), ογκομετρήθηκε με ογκομετρικό κύλινδρο και αποθηκεύτηκε σε γυάλινο βαζάκι.

Αναλυτικότερα οι παράμετροι που μελετήθηκαν στις εκχυλίσεις είναι οι εξής:

- Η συγκέντρωση του διαλύτη: σε μίγματα μεθανόλης-νερού σε αναλογίες 20, 40 και 60% v/v μεθανόλη, καθώς επίσης και καθαρή μεθανόλη (100% v/v).
- Ο χρόνος εκχύλισης: 5, 10 και 30 λεπτά.
- Η θερμοκρασία εκχύλισης: 30 και 50 °C.
- Η ισχύς των μικροκυμάτων: 300, 500 και 600 Watt.
- Η αναλογία στερεής πρώτης ύλης - υγρού διαλύτη, με τιμές 1:10 και 1:30 g/mL. Για την αναλογία 1:10 g/mL τοποθετούνται στο δοχείο εκχύλισης 2 g στερεού αλεσμένου ελαιοπυρήνα και 20 mL του εκάστοτε διαλύτη. Για την αναλογία 1:30 g/mL τοποθετούνται στο δοχείο εκχύλισης 1 g στερεού αλεσμένου ελαιοπυρήνα και 30 mL του εκάστοτε διαλύτη.

Σχεδιάστηκαν και πραγματοποιήθηκαν εκχυλίσεις με πολλούς διαφορετικούς συνδυασμούς των παραπάνω παραμέτρων, έτσι ώστε να βρεθεί ξεχωριστά η βέλτιστη τιμή για την κάθε παράμετρο αλλά και ο βέλτιστος συνδυασμός αυτών που θα οδηγήσει σε πιο αποτελεσματική εκχύλιση.

4.3.2 Εκχύλιση καροτενοειδών από τσίπουρο τομάτας με διεργασία MAE

Για τη μελέτη παραλαβής καροτενοειδών από τσίπουρο τομάτας πραγματοποιήθηκαν εκχυλίσεις στερεού υγρού, υποβοηθούμενες με μικροκύματα με τη στερεά πρώτη ύλη να είναι το τσίπουρο τομάτας και ο διαλύτης οξικός αιθυλεστέρας. Προζυγισμένη ποσότητα μεταφέρθηκε στο δοχείο εκχύλισης (extraction beaker). Συμπληρώνεται καθορισμένος όγκος διαλύτη και το δοχείο τοποθετείται στη συσκευή εκχύλισης. Η διαδικασία που ακολουθήθηκε στη συνέχεια ήταν αυτή που περιγράφηκε στην ενότητα 4.3.1. για τον ελαιοπυρήνα. Πραγματοποιήθηκε ο διαχωρισμός του υγρού εκχυλίσματος και της στερεής μήτρας με τη βοήθεια σύριγγας. Το εκχύλισμα διηθήθηκε με φίλτρα (0.22 μm, φίλτρα σύριγγας PVDF, Teknokroma, Βαρκελώνη, Ισπανία), ογκομετρήθηκε με ογκομετρικό κύλινδρο και τοποθετήθηκε σε γυάλινο βαζάκι, τυλιγμένο με αλουμινόχαρτο, για την προστασία των φωτοευαίσθητων καροτενοειδών.

Αναλυτικότερα οι παράμετροι που μελετήθηκαν στις εκχυλίσεις είναι οι εξής:

- Ο χρόνος εκχύλισης: 5, 10, 20 και 30 λεπτά.
- Η θερμοκρασία εκχύλισης: 30, 40 και 50 °C.
- Η ισχύς των μικροκυμάτων: 150, 300 και 500 Watt.
- Η αναλογία στερεής πρώτης ύλης - υγρού διαλύτη: 1:10 και 1:30 g/mL. Για την αναλογία 1:10 g/mL τοποθετούνται στο δοχείο εκχύλισης 2 g στερεού αλεσμένου

τσίπουρου τομάτας και 20 mL οξικού αιθυλεστέρα. Για την αναλογία 1:30 g/mL τοποθετούνται στο δοχείο εκχύλισης 1 g στερεού αλεσμένου τσίπουρου τομάτας και 30 mL οξικού αιθυλεστέρα.

Ομοίως με την παραπάνω σειρά εκχυλίσεων, σχεδιάστηκαν και πραγματοποιήθηκαν εκχυλίσεις με πολλούς διαφορετικούς συνδυασμούς των παραπάνω παραμέτρων, έτσι ώστε να βρεθεί ξεχωριστά η βέλτιστη τιμή για την κάθε παράμετρο αλλά και ο βέλτιστος συνδυασμός αυτών που θα οδηγήσει σε πιο αποτελεσματική εκχύλιση.

4.3.3 Εξαντλητική εκχύλιση φαινολικών συστατικών από ελαιοπυρήνα με διεργασία εκχύλισης σταθερής κλίνης

Η εκχύλιση σταθερής κλίνης (fixed bed extraction) πραγματοποιήθηκε με την τοποθέτηση ορισμένης μάζας πρώτης ύλης ελαιοπυρήνα σε κατακόρυφη στήλη συγκεκριμένου όγκου, μέχρι να πραγματοποιηθεί πλήρωση όλου του όγκου της στήλης με τη στερεή μήτρα. Ρυθμίστηκε η ροή του εκάστοτε διαλύτη, με τη βοήθεια αντλίας, και αυτός εισέρχονταν στη στήλη από τον πυθμένα και εξέρχονταν από την κορυφή της, από όπου συλλεγόταν το εκχύλισμα. Η εκχύλιση αυτής της μορφής είναι εκχύλιση στερεού-υγρού και καλείται εξαντλητική γιατί ο διαλύτης που βρίσκεται σε συνεχή ροή παραλαμβάνει όλη την ποσότητα φαινολικών ουσιών που βρίσκονται στη συγκεκριμένη μάζα στις στερεής μήτρας, η οποία βρίσκεται μέσα στην στήλη.

Αναλυτικότερα οι παράμετροι που εφαρμόστηκαν στις εκχυλίσεις είναι οι εξής:

- Η συγκέντρωση του διαλύτη: σε μίγματα μεθανόλης-νερού σε αναλογίες 20, 40 και 60% v/v μεθανόλη, καθώς επίσης καθαρή μεθανόλη (100% v/v) και νερό (100% v/v H₂O)
- Ο χρόνος εκχύλισης: 4 ώρες
- Η θερμοκρασία εκχύλισης: 25 °C.
- Μάζα πρώτης ύλης: 30 g (για τις εκχυλίσεις με 20,40 και 60% MeOH), 25 g (για 100% MeOH) και 18.06 g (για 100% H₂O)
- Όγκος διαλύτη: 300 mL (για τις εκχυλίσεις με 20,40 και 60% MeOH), 500 mL (για 100% MeOH) και 350 mL (για 100% H₂O)

4.3.4 Εξαντλητική εκχύλιση καρτενοειδών από τσίπουρο τομάτας με διεργασία εκχύλισης σταθερής κλίνης

Η εκχύλιση σταθερής κλίνης (fixed bed extraction) πραγματοποιήθηκε με την τοποθέτηση μάζας 25 g πρώτης ύλης τσίπουρου τομάτας σε κατακόρυφη στήλη συγκεκριμένου όγκου, μέχρι να πραγματοποιηθεί πλήρωση όλου του όγκου της στήλης με τη στερεή μήτρα. Ο διαλύτης οξικός αιθυλεστέρας τοποθετήθηκε γυάλινη χοάνη σε υψηλότερο σημείο από την κορυφή της στήλης. Ρυθμίστηκε η ροή του

διαλύτη, με τη βοήθεια της υδροστατικής πίεσης και αυτός εισέρχονταν στη στήλη από τον πυθμένα και εξέρχονταν από την κορυφή της, από όπου συλλεγόταν το εκχύλισμα. Ο χρόνος εκχύλισης ήταν 2 ώρες, σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και ο όγκος διαλύτη που χρησιμοποιήθηκε 1088 mL. Η εκχύλιση αυτής της μορφής είναι εκχύλιση στερεού-υγρού και καλείται εξαντλητική γιατί ο διαλύτης που βρίσκεται σε συνεχή ροή παραλαμβάνει όλη την ποσότητα καροτενοειδών που βρίσκονται στη συγκεκριμένη μάζα στην στερεής μήτρας, η οποία βρίσκεται μέσα στην στήλη (Εικόνα 4.4).



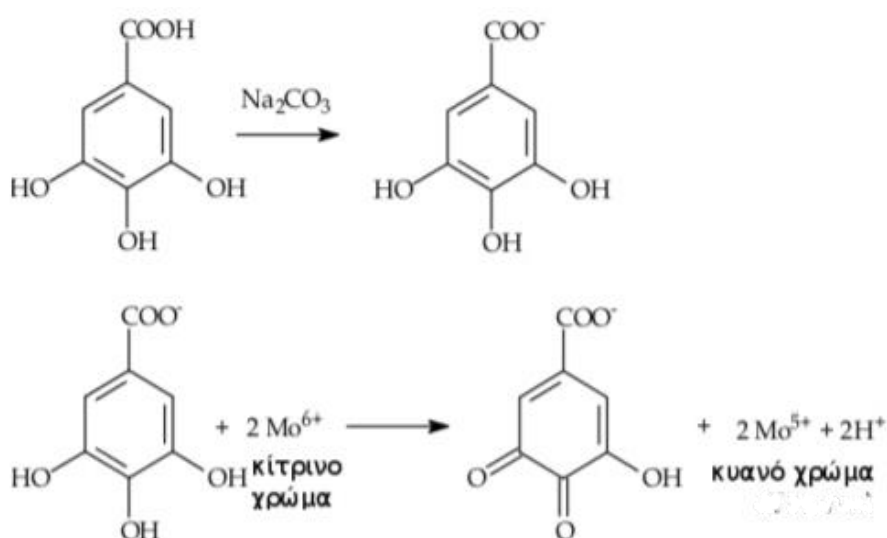
Εικόνα 4.4 Πειραματική διάταξη εξαντλητικής εκχύλισης σταθερής κλίσης σε παραπροϊόν τσίπουρο τομάτας για παραλαβή καροτενοειδών, με διαλύτη οξικό αιθυλεστέρα.

4.4 Αναλύσεις – Μετρήσεις – Υπολογισμοί

Οι αναλυτικές μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα εργασία καθώς και οι μετρήσεις - αναλύσεις που διεξήχθησαν κατά τη διάρκεια των πειραμάτων περιγράφονται παρακάτω.

4.4.1 Προσδιορισμός ολικού φαινολικού περιεχομένου (Total phenolic content – TPC) για τα εκχυλίσματα από ελαιοπυρήνα

Ο προσδιορισμός του ολικού φαινολικού περιεχομένου των εκχυλισμάτων από ελαιοπυρήνα πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu (Waterhouse, 2002) Η μέθοδος Folin-Ciocalteu χρησιμοποιείται για την ποσοτικοποίηση των ολικών φαινολών στα εκχυλίσματα, ως ισοδύναμα γαλλικού οξέος (GAE). Το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu είναι διάλυμα σύνθετων πολυμερών ιόντων που σχηματίζονται από φωσφομολυβδαινικά ($H_3PMo_{12}O_{40}$) και φωσφο-βολφραμικά ($H_3PW_{12}O_{40}$) ετεροπολυμερή οξέα. Σε αλκαλικό περιβάλλον, οι φαινολικές ενώσεις οξειδώνονται με ταυτόχρονη αναγωγή των ετεροπολυμερών οξέων. Συγκεκριμένα το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu ανάγεται προς μείγμα κυανών οξειδίων του βολφραμίου (W_8O_{23}) και του μολυβδαινίου (Mo_8O_{23}). Το σχηματιζόμενο κυανό χρώμα παρουσιάζει μέγιστη απορρόφηση περίπου στα 765 nm και η ένταση του χρώματος είναι ανάλογη με τη συγκέντρωση των φαινολικών ενώσεων (Bancuta et al, 2016).



Σχήμα 4.1 Αντίδραση του γαλλικού οξέος με το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu μέσω μηχανισμού μεταφοράς ενός e^- (Bancuta et al, 2016).

Αναλυτικότερα το πρωτόκολλο της μεθόδου που εκτελέστηκε περιλαμβάνει τα εξής βήματα:

- Σε δοκιμαστικούς σωλήνες προστίθενται 7.9 mL απιονισμένο νερό, 0.1 mL από κατάλληλα αραιωμένο δείγμα που έχει παρασκευαστεί με τον διαλύτη που χρησιμοποιείται στην εκάστοτε εκχύλιση και 0.5 mL από το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu. Οι δοκιμαστικοί σωλήνες αναδεύονται με χρήση vortex.
- Μετά από χρονικό διάστημα επώασης 30 sec- 8 min προστίθεται 1.5 mL κορεσμένου διαλύματος Na_2CO_3 και πραγματοποιείται ξανά ανάδευση των δειγμάτων στους δοκιμαστικούς σωλήνες με vortex.
- Παρασκευάζεται με τον ίδιο τρόπο ένα τυφλό δείγμα στο οποίο αντί για 0.1 mL αραιωμένου δείγματος τοποθετούνται 0.1 mL απιονισμένου νερού.
- Τα δείγματα επώζονται για 30 min στους 40°C απουσία φωτός, καθώς το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu θεωρείται φωτοευαίσθητο και στη συνέχεια αναδεύονται με χρήση vortex. Για την επώαση χρησιμοποιήθηκε υδατόλουτρο.
- Ακολουθεί φωτομέτρηση στα 765 nm με φωτόμετρο (Helios Unicam, USA).

Για την ποσοτικοποίηση του ολικού φαινολικού περιεχομένου των εκχυλισμάτων κατασκευάστηκε μια πρότυπη καμπύλη αναφοράς με την χρήση γαλλικού οξέος ως φαινολικό υπόστρωμα. Από την πρότυπη καμπύλη αναφοράς προέκυψε η εξίσωση της γραμμής τάσης για την επώαση στους 40°C για 30 λεπτά: $y=0.9302x+0.0745$ με $R^2=0.9967$. Αντικαθιστώντας τη μεταβλητή y με την τιμή της απορρόφησης που μετρείται στα 765 nm και λύνοντας την εξίσωση ως προς τη μεταβλητή x υπολογίστηκε η συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών εκφρασμένη σε mg GAE/mL.

Με χρήση των όγκων των εκχυλισμάτων, 20 και 30 mL, για αναλογία στερεού:υγρού 1:10 και 1:30 g/mL αντίστοιχα, υπολογίστηκε η συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών εκφρασμένη σε mg GAE/20 mL εκχυλίσματος και mg GAE/30 mL εκχυλίσματος. Στη συνέχεια με χρήση των μαζών της πρώτης ύλης που εκχυλίστηκε, 2 και 1 g, για αναλογία στερεού:υγρού 1:10 και 1:30 g/mL αντίστοιχα, υπολογίστηκε η συγκέντρωση των φαινολικών συστατικών εκφρασμένη σε **mg GAE/g ξηρού βάρους** (ξβ). Η έκφραση αυτή φανερώνει την ποσότητα των φαινολικών συστατικών, εκφρασμένη σε χιλιοστόγραμμα (mg) γαλλικού οξέος (GAE), που περιέχεται σε 1 g ξηρής στερεής πρώτης ύλης, ελαιοπυρήνα.

4.4.2 Προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής ικανότητας των εκχυλισμάτων από ελαιοπυρήνα

Για τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής ικανότητας των εκχυλισμάτων φαινολικών συστατικών από τον ελαιοπυρήνα εφαρμόστηκε το πρωτόκολλο της μεθόδου DPPH

(2,2 -διφαινυλ-1-πικρυλυδραζίλιο) των Brand-Williams, Cuvelier, & Berset, (1995). Το DPPH είναι μία από τις λίγες σταθερές και εμπορικά διαθέσιμες οργανικές ρίζες αζώτου με έντονο ιώδες χρώμα. Τα αντιοξειδωτικά συστατικά του προς ανάλυση δείγματος δεσμεύουν αυτή τη ρίζα, οδηγώντας στον αποχρωματισμό του διαλύματος από έντονο ιώδες σε υποκίτρινο. Η ελάττωση της απορρόφησης μετρήθηκε στα 515 nm.

Σε δοκιμαστικούς σωλήνες μεταφέρθηκαν 3.9 mL διαλύματος DPPH και στην συνέχεια 0.1 mL κατάλληλα αραιωμένου δείγματος. Με τον ίδιο τρόπο παρασκευάστηκε και ένα τυφλό διάλυμα που αντί για δείγμα έχει 0.1 mL από τον διαλύτη του δείγματος. Τα δείγματα αφέθηκαν να αντιδράσουν για 30 min απουσία φωτός. Μετά από τα 30 min μετρήθηκε η απορρόφηση των δειγμάτων στα 515 nm, με την χρήση φωτόμετρου (Helios Unicam, USA). Ο μηδενισμός του φωτόμετρου έγινε με καθαρή μεθανόλη και όχι με το τυφλό δείγμα.

Ο υπολογισμός της αντιοξειδωτικής δράσης προέκυψε από την διαφορά της απορρόφησης κάθε δείγματος από την απορρόφηση του τυφλού ($\Delta A = A_{\text{blank}} - A_{\text{sample}}$), και την χρήση της καμπύλης αναφοράς, η οποία συσχετίζει τη διαφορά αυτή με ισοδύναμα Trolox (Trolox Equivalent Antioxidant Activity). Από την πρότυπη καμπύλη αναφοράς προέκυψε η εξίσωση της γραμμής τάσης: $y=2.3956x+0.0016$ με $R^2=0.9982$. Αντικαθιστώντας τη μεταβλητή y με την τιμή της διαφοράς της απορρόφησης κάθε δείγματος από την απορρόφηση του τυφλού ($\Delta A = A_{\text{blank}} - A_{\text{sample}}$) και λύνοντας την εξίσωση ως προς τη μεταβλητή x υπολογίστηκε η αντιοξειδωτική ικανότητα των εκχυλισμάτων εκφρασμένη σε συγκέντρωση Trolox, (mg Trolox/mL).

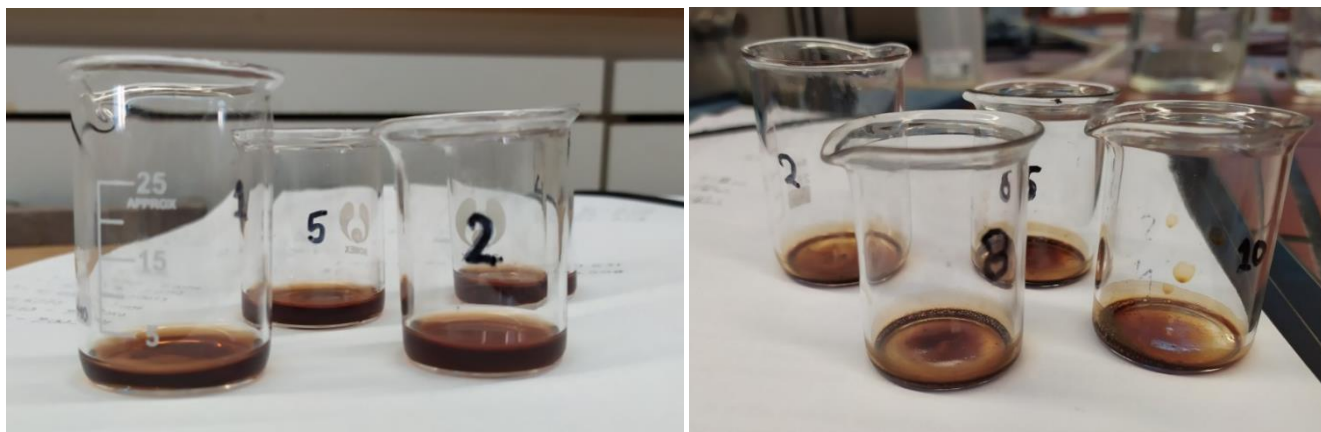
Με χρήση των όγκων των εκχυλισμάτων, 20 και 30 mL, για αναλογία στερεού: υγρού 1:10 και 1:30 g/mL αντίστοιχα, υπολογίστηκε αντιοξειδωτική ικανότητα των φαινολικών συστατικών εκφρασμένη σε mg Trolox/20 mL εκχυλίσματος και mg Trolox/30 mL εκχυλίσματος. Στη συνέχεια με χρήση των μαζών της πρώτης ύλης που εκχυλίστηκε, 2 και 1 g, για αναλογία στερεού:υγρού 1:10 και 1:30 g/mL αντίστοιχα, υπολογίστηκε η αντιοξειδωτική ικανότητα των φαινολικών συστατικών εκφρασμένη σε **mg Trolox/g ξηρού βάρους** (ξβ). Η έκφραση αυτή φανερώνει την αντιοξειδωτική ικανότητα των φαινολικών συστατικών, εκφρασμένη σε χιλιοστόγραμμα (mg) Trolox, που περιέχονται σε 1 g ξηρής στερεής πρώτης ύλης, ελαιοπυρήνα.

4.4.3 Προσδιορισμός εκλεκτικότητας της εκχύλισης στα εκχυλίσματα από ελαιοπυρήνα

Για τον προσδιορισμό της εκλεκτικότητας της εκχύλισης πραγματοποιήθηκε ο υπολογισμός του στερεού υπολείμματος με απομάκρυνση του διαλύτη των εκχυλισμάτων. Αρχικά μεταφέρθηκαν σε προζυγισμένα ποτηράκια ζέσεως 3 mL εκχυλίσματος από ελαιοπυρήνα. Τα ποτηράκια τοποθετήθηκαν σε φούρνο στους 100°C για εξάτμιση του διαλύτη. Όταν ο διαλύτης απομακρύνθηκε, τα ποτηράκια ζυγίστηκαν ξανά και από τη διαφορά μάζας προέκυψε η καθαρή μάζα εκχυλίσματος

(Εικόνα 4.5). Υπολογίστηκε το στερεό υπόλειμμα (ξηρό εκχύλισμα) ως ο λόγος της καθαρής μάζας εκχυλίσματος μετά την απομάκρυνση του διαλύτη προς τον όγκο των 3 mL που τοποθετήθηκαν αρχικά στο φούρνο (g/mL).

Με χρήση της συγκέντρωσης των εκχυλισμάτων σε ολικές φαινόλες, mg GAE/mL, υπολογίστηκε η εκλεκτικότητα της εκχύλισης ως η ποσότητα μάζας (σε mg) ολικών φαινολών εκφρασμένες ως γαλλικό οξύ (GAE) που περιέχονται σε 1 g στερεού εκχυλίσματος. Σύντομα συμβολίζεται **mg GAE/g στερεού εκχυλίσματος**.



Εικόνα 4.5 Εκχυλίσματα ελαιοπυρήνα πριν την ξήρανση (αριστερά) και μετά (δεξιά) την απομάκρυνση του διαλύτη.

4.4.4 Προσδιορισμός φαινολικών ενώσεων με τη μέθοδο της υγρής χρωματογραφίας (HPLC) για τα εκχυλίσματα από ελαιοπυρήνα

Ο προσδιορισμός των φαινολικών ενώσεων που ανακτήθηκαν από τον ελαιοπυρήνα πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο της υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (high-performance liquid chromatography, HPLC), όπως τροποποιήθηκε από τους Τσιμογιάννη, Σταυρακάκη & Ωραιπούλου (2006). Το όργανο που χρησιμοποιήθηκε είναι εξοπλισμένο με αντλία βαθμωτής έκλουσης, HP 1100, ανιχνευτή παράταξης φωτοδιόδων (Diode Array Detector, DAD) (Hewlett-Packard, Waldbronn, Germany) και στήλη ανάστροφης φάσης ZORBAX Eclipse Hypersil XDB-C18 (ODS 5 μm , 250x4.6 mm, AZ Analysentechnik, Mainz, Germany). Η μέθοδος που εφαρμόστηκε ήταν η Flan, η οποία μας επιτρέπει κυρίως τον διαχωρισμό και την ταυτοποίηση των φαινολικών οξέων και των φλαβονοειδών. Η ταχύτητα ροής του διαλύτη μέσα στην στήλη ήταν 1 mL/min. Ο διαλύτης A ήταν νερό ποιότητας HPLC με 0,2% TFA, ο διαλύτης B ήταν μεθανόλη ποιότητας HPLC με 0,2% TFA και ο διαλύτης C ήταν ακετονιτρίλιο ποιότητας HPLC με 0,2% TFA. Η αρχική σύνθεση της κινητής φάσης ήταν 90% A, 6% B και 4% C και με γραμμικές κλίσεις άλλαξε σε 71% A, 17,4% B και 11,6% C σε διάστημα 30 λεπτών και σε 0% A, 85% B και 15% C σε διάστημα 70 λεπτών. Ο όγκος έγχυσης

ήταν 10 και 20 μL για μεγαλύτερες και μικρότερες συγκεντρώσεις εκχυλίσματος αντίστοιχα. Η έκλυση των ενώσεων (ανίχνευση DAD) παρακολουθήθηκε στα 230, 280, 320 και 360 nm. Τα χρωματογραφικά δεδομένα επεξεργάστηκαν με το λογισμικό Chem Station for LC 3DSoftware (Agilent Technologies, Waldbronn, Germany).

4.4.5 Προσδιορισμός περιεκτικότητας σε ολικά καροτενοειδή των εκχυλισμάτων από τσίπουρου τομάτας

Η περιεκτικότητα σε ολικά καροτενοειδή προσδιορίστηκε με φασματοφωτομετρική μέθοδο σε ψηφιακό φασματοφωτόμετρο (Helios Unicam, USA) στο βέλτιστο μήκος κύματος λ_{max} (μήκος κύματος που παρουσιάζει την μέγιστη απορρόφηση) του λυκοπενίου σε διαλύτη οξικό αιθυλεστέρα έναντι καθαρού οξικού αιθυλεστέρα ως τυφλό δείγμα. Το βέλτιστο μήκος κύματος λ_{max} του λυκοπενίου σε διαλύτη οξικό αιθυλεστέρα βρέθηκε βιβλιογραφικά και είναι 473 nm (Strati, 2014). Επομένως οι φασματοφωτομετρικές μετρήσεις των εκχυλισμάτων τσίπουρου τομάτας στη συγκεκριμένη διπλωματική εργασία πραγματοποιήθηκαν στα 473 nm. Πριν τη φωτομέτρηση τα εκχυλίσματα αραιώθηκαν κατάλληλα με προσθήκη διαλύτη οξικού αιθυλεστέρα, ώστε η τιμή της απορρόφησης που μετρείται να είναι εντός της περιοχής σφάλματος του οργάνου. Ο ποσοτικός προσδιορισμός των ολικών καροτενοειδών στον οξικό αιθυλεστέρα πραγματοποιήθηκε με χρήση καμπύλης βαθμονόμησης, η οποία κατασκευάστηκε από διαφορετικά πρότυπα διαλύματα εργασίας (εύρος συγκέντρωσης 5-50 mg/L προτύπου REDIVIVO Lycoperene 10 % FS σε διαλύτη οξικό αιθυλεστέρα (Strati, 2014).

Για τον υπολογισμό της συγκέντρωσης των καροτενοειδών, C (mg/L), στα εκχυλίσματα, χρησιμοποιήθηκε η εξίσωση:

$$C = \frac{A_{\lambda_{max}} \cdot 10^4}{A_{1cm}^{1\%}} \quad (\text{Εξ. 4.1})$$

όπου: $A_{\lambda_{max}}$ είναι η απορρόφηση στο λ_{max} για τον οξικό αιθυλεστέρα

$A_{1cm}^{1\%}$ ο συντελεστής απορρόφησης του λυκοπενίου (απορρόφηση στο μέγιστο μήκος κύματος διαλύματος 1% της ουσίας σε κυψελίδα φασματοφωτόμετρου διαδρομής 1 cm) στο διαλύτη οξικό αιθυλεστέρα, με τιμή $A_{1cm}^{1\%}=2963$. Η τιμή του συντελεστή απορρόφησης προσδιορίστηκε βιβλιογραφικά από την καμπύλη βαθμονόμησης προτύπων διαλυμάτων λυκοπενίου σε διαλύτη οξικό αιθυλεστέρα.

Η απόδοση σε ολικά καροτενοειδή CY (mg λυκοπενίου/kg ξηρού βάρους), εκφραζόμενη ως λυκοπένιο, υπολογίστηκε από την εξίσωση:

$$CY = \frac{C \cdot V}{W} \quad (\text{Εξ. 4.2})$$

όπου C η συγκέντρωση (mg/L) των καροτενοειδών σε διαλύτη οξικό αιθυλεστέρα, υπολογισμένη από την Εξίσωση 4.1,

V ο όγκος του εκχυλίσματος (L), που είναι 0.018 και 0.028 L, για αναλογία στερεού:υγρού 1:10 και 1:30 g/mL αντίστοιχα. Εξαιτίας απωλειών του ιδιαίτερα πτητικού οξικού αιθυλεστέρα κατά την εκχύλιση και το διαχωρισμό εκχυλίσματος και στερεής μήτρας, οι όγκοι των εκχυλισμάτων δεν ισούνται με τους όγκους 20 και 30 mL διαλύτη που χρησιμοποιήθηκε για την εκχύλιση.

W το ξηρό βάρος του στερεού τσίπουρου τομάτας που χρησιμοποιήθηκε στην εκχύλιση (kg). Χρησιμοποιήθηκαν 1 και 2 g στερεής πρώτης ύλης, για αναλογία στερεού:υγρού 1:30 και 1:10 g/mL αντίστοιχα.

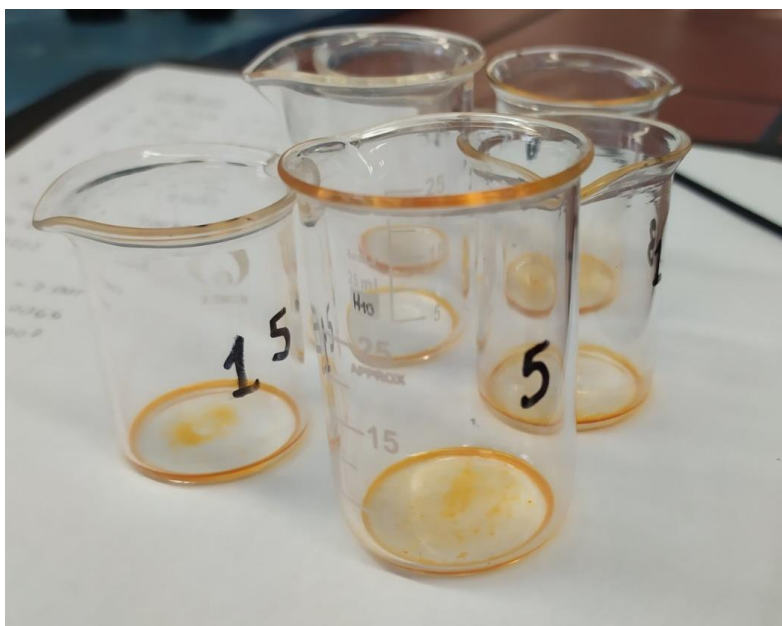
Η έκφραση της απόδοσης CY σε ολικά καροτενοειδή που θα χρησιμοποιηθεί στη συνέχεια στο κεφάλαιο των αποτελεσμάτων (Κεφάλαιο 5) είναι mg λυκοπενίου που περιέχονται σε 100 g ξηρού βάρους πρώτης ύλης (mg λυκοπενίου/100 g ξβ).

4.4.6 Προσδιορισμός εκλεκτικότητας της εκχύλισης στα εκχυλίσματα από τσίπουρου τομάτας

Για τον προσδιορισμό της εκλεκτικότητας της εκχύλισης πραγματοποιήθηκε ο υπολογισμός του στερεού υπολείμματος με απομάκρυνση του διαλύτη των εκχυλισμάτων. Αρχικά μεταφέρθηκαν σε προζυγισμένα ποτηράκια ζέσεως 3 mL εκχυλίσματος από τσίπουρο τομάτας. Τα ποτηράκια τοποθετήθηκαν σε φούρνο με αντλία κενού για εξάτμιση του διαλύτη. Η απομάκρυνση του οξικού αιθυλεστέρα πραγματοποιήθηκε σε θερμοκρασία περιβάλλοντος σε πίεση 100 mbar. Όταν ο διαλύτης απομακρύνθηκε, τα ποτηράκια ζυγίστηκαν ξανά και από τη διαφορά μάζας προέκυψε η καθαρή μάζα εκχυλίσματος (Εικόνα 4.6). Υπολογίστηκε το στερεό υπόλειμμα (ξηρό εκχύλισμα) ως ο λόγος της καθαρής μάζας εκχυλίσματος μετά την απομάκρυνση του διαλύτη προς τον όγκο των 3 mL που τοποθετήθηκαν αρχικά στο φούρνο (g/mL).

Με χρήση της συγκέντρωσης των εκχυλισμάτων σε ολικά καροτενοειδή (Εξ. 4.1), υπολογίστηκε η εκλεκτικότητα της εκχύλισης ως η ποσότητα μάζας (σε mg) ολικών

καροτενοειδών εκφρασμένα ως λυκοπένιο που περιέχονται σε 1 g στερεού εκχυλίσματος. Σύντομα συμβολίζεται **mg λυκοπενίου/g στερεού εκχυλίσματος**.



Εικόνα 4.6 Στερεό εκχύλισμα τσίπουρου μετά την απομάκρυνση του διαλύτη.

4.4.7 Προσδιορισμός καροτενοειδών με HPLC – DAD για τα εκχυλίσματα από τσίπουρου τομάτας

Ο προσδιορισμός των καροτενοειδών που ανακτήθηκαν από το τσίπουρο τομάτας πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο της υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (high-performance liquid chromatography, HPLC), όπως τροποποιήθηκε από τους Τσιμογιάννη, Σταυρακάκη & Ωραιοπούλου (2006). Το όργανο που χρησιμοποιήθηκε είναι εξοπλισμένο με αντλία βαθμωτής έκλουσης, HP 1100, ανιχνευτή παράταξης φωτοδιόδων (Diode Array Detector, DAD) (Hewlett-Packard, Waldbronn, Germany) και στήλη ανάστροφης φάσης ZORBAX Eclipse Hypersil XDB-C18 (ODS 5 μm , 250x4.6 mm, AZ Analysentechnik, Mainz, Germany). Η μέθοδος που εφαρμόστηκε ήταν η Fluo-Nonpolar-Tocoph, η οποία μας επιτρέπει κυρίως τον διαχωρισμό και την ταυτοποίηση μεμονωμένων καροτενοειδών, όπως το λυκοπένιο. Η ταχύτητα ροής του διαλύτη μέσα στην στήλη ήταν 1 mL/min. Ο διαλύτης Α ήταν νερό ποιότητας HPLC με 0,2% TFA, ο διαλύτης Β ήταν μεθανόλη ποιότητας HPLC με 0,2% TFA και ο διαλύτης C ήταν ακετονιτρίλιο ποιότητας HPLC με 0,2% TFA. Η αρχική σύνθεση της κινητής φάσης ήταν 90% Α, 6% Β και 4% C και με γραμμικές κλίσεις άλλαξε σε 71% Α, 17,4% Β και 11,6% C σε διάστημα 30 λεπτών και σε 0% Α, 85% Β και 15% C σε διάστημα 70 λεπτών. Ο όγκος έγχυσης ήταν 10 και 20 μL για μεγαλύτερες και μικρότερες συγκεντρώσεις εκχυλίσματος αντίστοιχα. Η έκλυση των ενώσεων (ανίχνευση DAD) παρακολούθηθηκε στα 475 nm. Η επεξεργασία των χρωματογραφικών δεδομένων έγινε με το λογισμικό HPChemStation (Agilent Technologies, Waldbronn, Germany).

4.5 Στατιστική επεξεργασία αποτελεσμάτων

Η επεξεργασία των αποτελεσμάτων που προέκυψαν από τα πειράματα πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του λογισμικού STATISTICA (StatSoft. Inc, Chicago, IL, USA). Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν εις διπλούν και παρουσιάζεται ο μέσος όρος και η διακύμανση αυτών. Χρησιμοποιήθηκε η τεχνική της ανάλυσης διακύμανσης (ANOVA) και η χρήση του κριτηρίου διαφοράς Duncan's test με βαθμό εμπιστοσύνης 95% ($P < 0.05$) για την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων που αναφέρονται στην εκχύλιση φαινολικών συστατικών από τον ελαιοπυρήνα και καρτενοειδών από το τσίπουρο τομάτας.

5. Αποτελέσματα και Σχολιασμός

5.1 Μελέτη παραλαβής φαινολικών συστατικών από ελαιοπυρήνα μέσω εκχύλισης υποβοηθούμενη με μικροκύματα (ΜΑΕ)

Η μελέτη εκχύλισης των φαινολικών συστατικών από τον ελαιοπυρήνα περιλαμβάνει τον προσδιορισμό του ολικού φαινολικού περιεχομένου των εκχυλισμάτων, τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής τους δράσης, τον προσδιορισμό της εκλεκτικότητας της εκχύλισης, τον διαχωρισμό και την ταυτοποίηση των φαινολικών συστατικών με τη μέθοδο της υγρής χρωματογραφίας (HPLC).

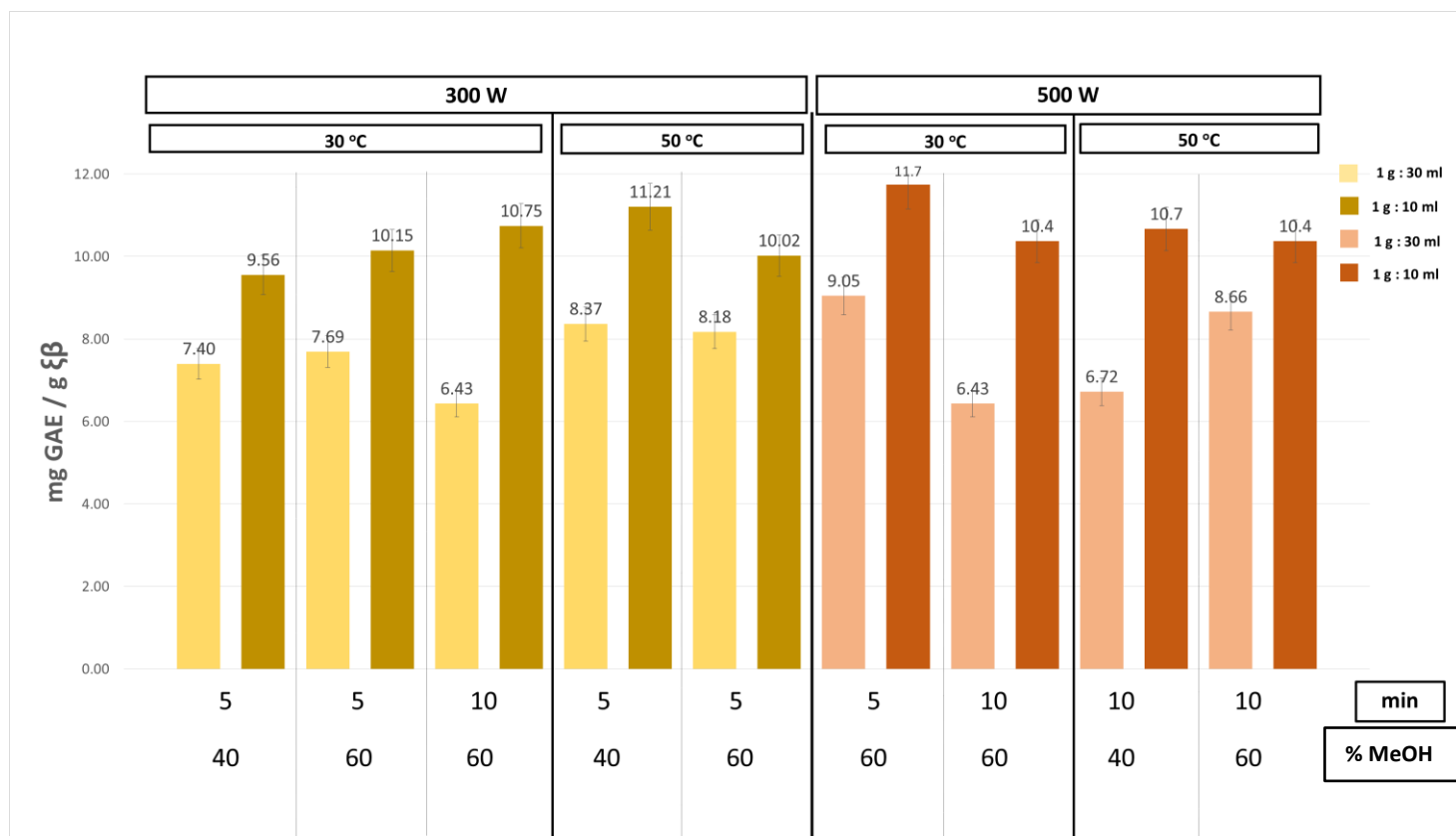
5.1.1 Προσδιορισμός ολικού φαινολικού περιεχομένου (Total phenolic content – TPC)

Ο προσδιορισμός του ολικού φαινολικού περιεχομένου των εκχυλισμάτων πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο Folin-Ciocalteu. Ο τρόπος έκφρασης της ποσότητας των ολικών φαινολών που επιλέχθηκε είναι σε mg γαλλικού οξέος ανά g ξηρής πρώτης ύλης (ελαιοπυρήνας) πριν την εκχύλιση και γράφεται **mg GAE / g ξβ**. Η έκφραση αυτή βοηθάει στην ποσοτικοποίηση των εκχυλίσεων, δηλώνοντας την ποσότητα (σε mg) των φαινολικών ουσιών που βρίσκονται σε ορισμένη μάζα (1 g) του στερεού παραπροϊόντος ελαιοπυρήνα και στόχος ήταν η παραλαβή εκχυλισμάτων με όσο το δυνατόν πιο μεγάλη τιμή mg GAE / g ξβ.

Εξετάστηκε η επίδραση των παραμέτρων: αναλογία στερεού-υγρού, χρόνος, συγκέντρωση διαλύτη, ισχύς μικροκυμάτων και θερμοκρασία εκχύλισης πάνω στο ολικό φαινολικό περιεχόμενο των εκχυλισμάτων.

5.1.1.1 Επίδραση της αναλογίας στερεού : υγρού

Οι αναλογίες στερεού : υγρού που μελετήθηκαν είναι 1:10 και 1:30 (g ελαιοπυρήνα / mL διαλύτη). Η στερεή πρώτη ύλη στη συγκεκριμένη ομάδα εκχυλίσεων ήταν ο ελαιοπυρήνας, σε στερεή μορφή, μετά από ξήρανση και άλεση. Ο διαλύτης ήταν μίγμα νερού-μεθανόλης (% MeOH) σε συγκεντρώσεις 40% και 60% μεθανόλη. Στο Διάγραμμα 5.1 που ακολουθεί παρουσιάζονται οι αναλογίες 1:10 και 1:30 g/mL συναρτήσει των υπόλοιπων παραμέτρων του χρόνου, της θερμοκρασίας, της ισχύος των μικροκυμάτων και της συγκέντρωσης διαλύτη.



Διάγραμμα 5.1 Ολικό φαινολικό περιεχόμενο εκχυλισμάτων ελαιοπυρήνα εκφρασμένο σε mg GAE / g ξβ για αναλογίες στερεού : υγρού 1:10 και 1:30 g/mL συναρτήσει της ισχύος των μικροκυμάτων (300 και 500 W), της θερμοκρασίας (30°C και 50°C), του χρόνου (5-10 min) και της συγκέντρωσης του διαλύτη (40%-60% μεθανόλη (MeOH)) σε διεργασία MAE.

Με βάση τα αποτελέσματα που φαίνονται στο Διάγραμμα 5.1, παρατηρήθηκε ότι για όλους τους συνδυασμούς των επιμέρους παραμέτρων (Watt, °C, min, %MeOH) η αναλογία στερεού : υγρού 1:10 παρουσιάζει πάντα μεγαλύτερη τιμή mg GAE/g ξβ από την αντίστοιχη τιμή της αναλογίας 1:30. Από τη στατιστική ανάλυση (ANOVA analysis) προέκυψε επίσης ότι η αναλογία στερεού : υγρού έχει σημαντική συνεισφορά στο ολικό φαινολικό περιεχόμενο των εκχυλισμάτων του ελαιοπυρήνα ($P < 0.05$). Προκύπτει ότι η αναλογία 1:10 έχει θετικότερη επίδραση στην εκχύλιση των φαινολικών ενώσεων από τον ελαιοπυρήνα, καθώς επίσης είναι θετικό ότι μικροί όγκοι διαλύτη είναι ικανοί να παραλάβουν μεγάλες ποσότητες φαινολικών συστατικών χωρίς να επέλθει κορεσμός του διαλύτη. Σημειώνεται ότι οι μέγιστες τιμές TPC είναι 11.7 και 11.21 mg GAE/g ξβ, παρατηρήθηκαν σε αναλογία 1:10 g/mL και οι άλλες συνθήκες τους είναι 30 °C, 500 W, 5 min, 60% MeOH και 50 °C, 300 W, 5 min, 40% MeOH αντίστοιχα. Η χαμηλότερη τιμή παρατηρήθηκε στην αναλογία 1:30 g/mL και είναι 6.43 mg GAE/g ξβ για συνθήκες 30 °C, 300 W, 10 min, 60% MeOH και 30 °C, 500 W, 10 min, 60% MeOH ομοίως.

Τα αποτελέσματα που σχολιάστηκαν παραπάνω παρατηρήθηκαν και μακροσκοπικά καθώς τα εκχυλίσματα με αναλογία 1:10 g/mL (και συγκέντρωση διαλύτη 40 και 60% MeOH) παρουσίασαν πιο πυκνό και σκούρο καφέ χρώμα, ενώ αυτά με αναλογία 1:30 g/mL είχαν πιο ανοιχτό και διαυγές καφέ χρώμα (Εικόνα 5.1).

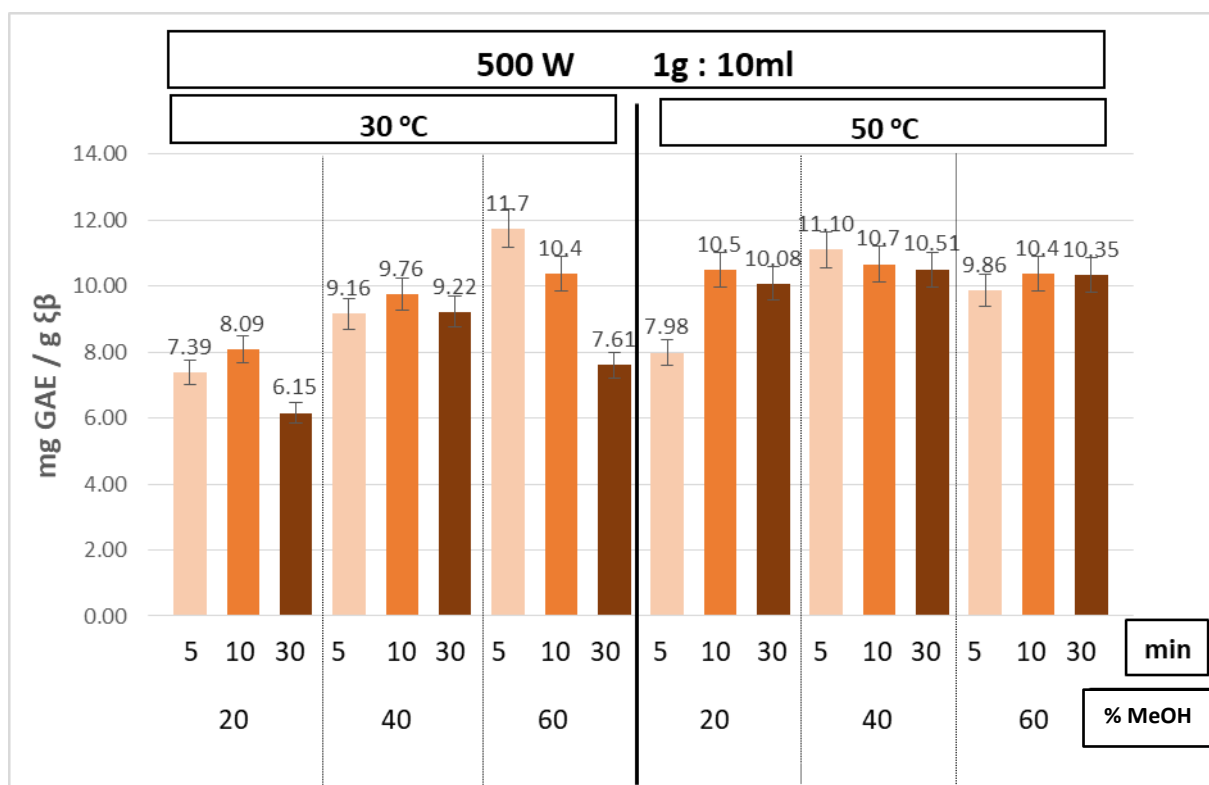


Εικόνα 5.1 Εκχυλίσματα ελαιοπυρήνα σε αναλογία στερεού : υγρού 1:10 g/mL (αριστερά) και 1:30 g/mL (δεξιά) μετά από τη εκχύλιση με ΜΑΕ.

Η χρήση μικρότερου όγκου διαλύτη είναι οικονομικά και περιβαλλοντικά συμφέρουσα. Η μελέτη της επίδρασης της αναλογίας στερεού : υγρού πραγματοποιήθηκε στην αρχή των πειραμάτων της παρούσας διπλωματικής και δεδομένων των αποτελεσμάτων, έγινε επιλογή της αναλογίας 1:10 g/mL στα πειράματα που ακολούθησαν. Η επιλογή αυτή προσφέρει εξοικονόμηση του διαλύτη και καλύτερες αποδόσεις στις εκχυλίσεις, το οποίο θα αναλυθεί στη συνέχεια.

5.1.1.2 Επίδραση του χρόνου εκχύλισης

Ο χρόνος είναι μια σημαντική παράμετρος στον σχεδιασμό της διεργασίας εκχύλισης. Ειδικότερα, ένα σημαντικό πλεονέκτημα που προσφέρει η εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα είναι η δυνατότητα εκχύλισης των ουσιών-στόχων σε μικρούς χρόνους. Έτσι και σε συμφωνία με βιβλιογραφικά δεδομένα (Chanioti, 2019, Chanioti & Tzia, 2019, Bonacci et al, 2020, Macedo et al, 2021) επιλέχθηκαν σύντομοι χρόνοι εκχύλισης. Οι χρόνοι εκχύλισης που μελετήθηκαν είναι 5, 10 και 30 min. Ακολουθεί το Διάγραμμα 5.2 στο οποίο παρουσιάζεται η επίδραση του χρόνου εκχύλισης συναρτήσει των υπόλοιπων παραμέτρων της εκχύλισης. Η μελέτη του χρόνου πραγματοποιήθηκε σε αναλογία στερεού : υγρού 1:10 g/mL και ισχύ μικροκυμάτων 500 W, για χρόνους εκχύλισης 5-10-30 min και μίγματα νερού-μεθανόλης: 20%-40% και 60% μεθανόλη (%MeOH) στους 30°C και 50°C.



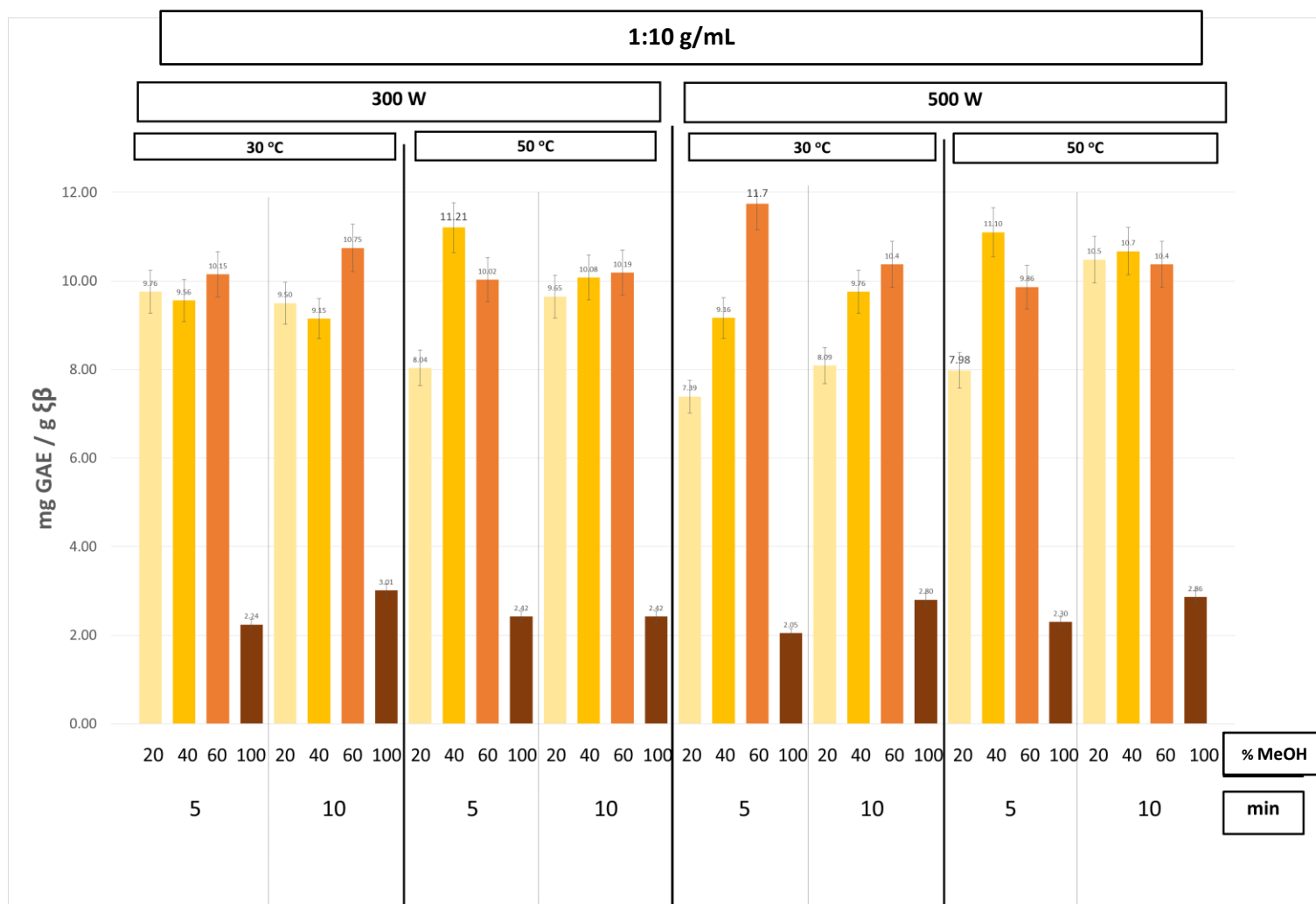
Διάγραμμα 5.2 Ολικό φαινολικό περιεχόμενο εκχυλισμάτων ελαιοπυρήνα εκφρασμένο σε mg GAE / g ξβ για χρόνους 5, 10 και 30 min σε ισχύ των μικροκυμάτων 500 W, αναλογία στερεού : υγρού 1:10 g/mL και συναρτήσει της θερμοκρασίας 30°C και 50°C, και της συγκέντρωσης του διαλύτη (20-40-60% MeOH) σε διεργασία MAE.

Από το Διάγραμμα 5.2 παρατηρείται ότι η ποσότητα εκχύλισης των φαινολικών συστατικών δεν επηρεάζεται τόσο από το χρόνο εκχύλισης ($P > 0.05$) καθώς όλοι οι χρόνοι εκχύλισης που εξετάστηκαν δώσανε εκχυλίσματα με παρόμοιο ολικό φαινολικό περιεχόμενο, εκτός από την περίπτωση των 30 °C για συγκέντρωση διαλύτη 60% MeOH όπου η επίδραση του χρόνου οδήγησε σε μεγαλύτερη

διαφοροποίηση των τιμών TPC. Συγκεκριμένα παρατηρείται αύξηση του ολικού φαινολικού περιεχομένου με τη μείωση του χρόνου εκχύλισης. Γενικότερα, μια μικρή αύξηση στο ολικό φαινολικό περιεχόμενο παρατηρείται στους χρόνους εκχύλισης 5 και 10 min, κατά κύριο λόγο στο σύνολο των εκχυλίσεων που πραγματοποιήθηκαν. Για συνθήκες 30 °C, σε διαλύτη 60% MeOH παρατηρείται σε χρόνο 5 min τιμή 11.7 mg GAE/g ξβ έναντι της τιμής 7.61 mg GAE/g ξβ σε χρόνο 30 min. Σε σύντομο χρόνο 5-10 λεπτών ο διαλύτης με τη βοήθεια της δράσης της ακτινοβολίας των μικροκυμάτων, έχει καταφέρει να παραλάβει το μεγαλύτερο ποσοστό των φαινολικών ουσιών. Παράταση της εκχύλισης σε μεγαλύτερους χρόνους μπορεί ενδεχομένως να επιφέρει την υποβάθμιση και καταστροφή των επιθυμητών συστατικών, κυρίως λόγω της παραμονής τους σε αυξημένη θερμοκρασία. Η εξοικονόμηση χρόνου είναι ένα σημαντικό πλεονέκτημα της εκχύλισης με μικροκύματα και δεδομένης της επιβεβαίωσης του πειραματικά, η μελέτη των υπολοίπων παραμέτρων της MAE πραγματοποιήθηκε σε χρόνους 5 και 10 min.

5.1.1.3 Επίδραση της συγκέντρωσης του διαλύτη

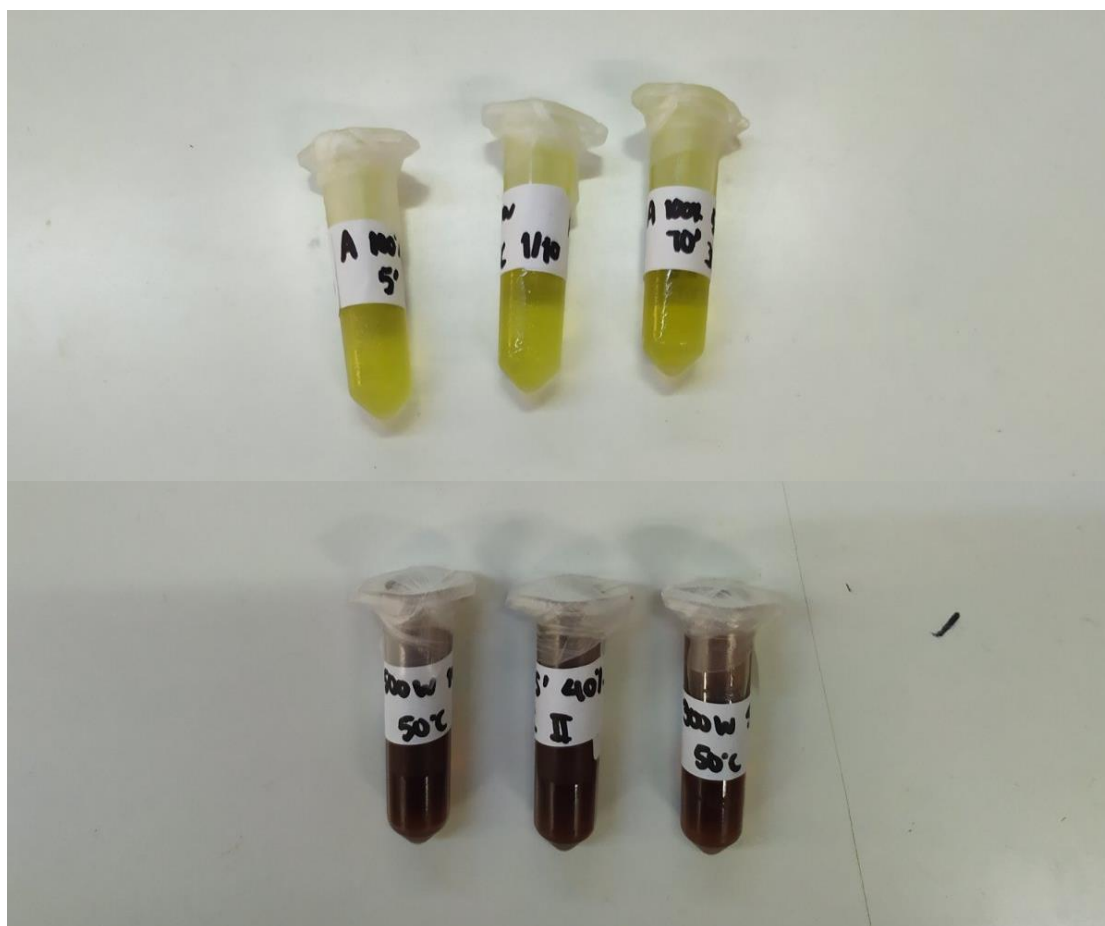
Ο πιο σημαντικός παράγοντας σε μια διεργασία εκχύλισης είναι ο διαλύτης και η επιλογή του είναι υψίστης σημασίας. Με βάση τα βιβλιογραφικά δεδομένα όσον αφορά στη μελέτη της MAE για την παραλαβή βιοδραστικών συστατικών από διάφορα προϊόντα φυτικής προέλευσης (Chanioti, 2019, Chanioti & Tzia, 2019, Bonacci et al, 2020, Macedo et al, 2021) ο διαλύτης που επιλέχθηκε για την εκχύλιση των φαινολικών ουσιών από τον στερεό ελαιοπυρήνα είναι η μεθανόλη καθώς παρουσιάζει υψηλή ικανότητα διάλυσης των φαινολικών ουσιών, εκλεκτικότητα, χαμηλό κόστος και ικανότητα εύκολης απομάκρυνσης της από το εκχύλισμα. Επίσης το νερό είναι ένας πολύ καλός διαλύτης, καθώς είναι πολικός, μπορεί να απορροφήσει την ενέργεια των μικροκυμάτων, να θερμανθεί και να εισχωρήσει στη στερεά μήτρα διαλυτοποιώντας και παραλαμβάνοντας τα φαινολικά συστατικά. Έτσι χρησιμοποιήθηκαν υδατικά διαλύματα μεθανόλης σε αναλογίες 20%, 40%, 60% και 100% MeOH ως διαλύτης της MAE. Στο Διάγραμμα 5.3 που ακολουθεί παρουσιάζεται η επίδραση της συγκέντρωσης της μεθανόλης στην ποσότητα φαινολικών συστατικών που εκχυλίστηκαν από ελαιοπυρήνα συναρτήσει των υπόλοιπων παραγόντων της εκχύλισης.



Διάγραμμα 5.3 Ολικό φαινολικό περιεχόμενο εκχυλισμάτων ελαιοπυρήνα εκφρασμένο σε mg GAE / g ξβ για συγκεντρώσεις διαλύτη 20,40, 60 και 100% MeOH, αναλογία στερεού : υγρού 1:10 g/mL, συναρτήσε της θερμοκρασίας 30 και 50 °C , του χρόνου (5 και 10 min) και της ισχύος των μικροκυμάτων (300 και 500 W) σε διεργασία MAE.

Με βάση τα αποτελέσματα που φαίνονται στο Διάγραμμα 5.3 παρατηρείται ότι η συγκέντρωση 100% MeOH εμφανίζει ιδιαίτερα χαμηλή τιμή ποσότητας φαινολικών ενώσεων σε σχέση με τις άλλες συγκεντρώσεις. Επίσης, παρατηρείται ότι οι τιμές φαινολικού περιεχομένου είναι υψηλότερες ($P < 0.05$) όταν οι εκχυλίσεις πραγματοποιήθηκαν με τις συγκεντρώσεις 40 και 60% MeOH. Η στατιστική ανάλυση έδειξε ότι η επίδραση της συγκέντρωσης διαλύτη επηρεάζει σημαντικά την εκχύλιση ($P < 0.05$) και επιβεβαιώνει ότι οι συγκεντρώσεις 40 και 60% μεθανόλης στο μίγμα του διαλύτη, οδηγούν σε εκχυλίσματα με το υψηλότερο φαινολικό περιεχόμενο. Ακολουθούν τα εκχυλίσματα που προήλθαν από διαλύτη 20% μεθανόλη και τέλος εκείνα από 100% μεθανόλη. Αναλυτικότερα, στο Διάγραμμα 5.3 διακρίνεται ότι η συγκέντρωση 60% μεθανόλης παρουσιάζει την ανώτατη τιμή 11.7 mg GAE/g ξβ σε συνθήκες 500 W, 30 °C, 5 min, 1:10 g/mL, ενώ ιδιαίτερα υψηλές είναι και οι τιμές

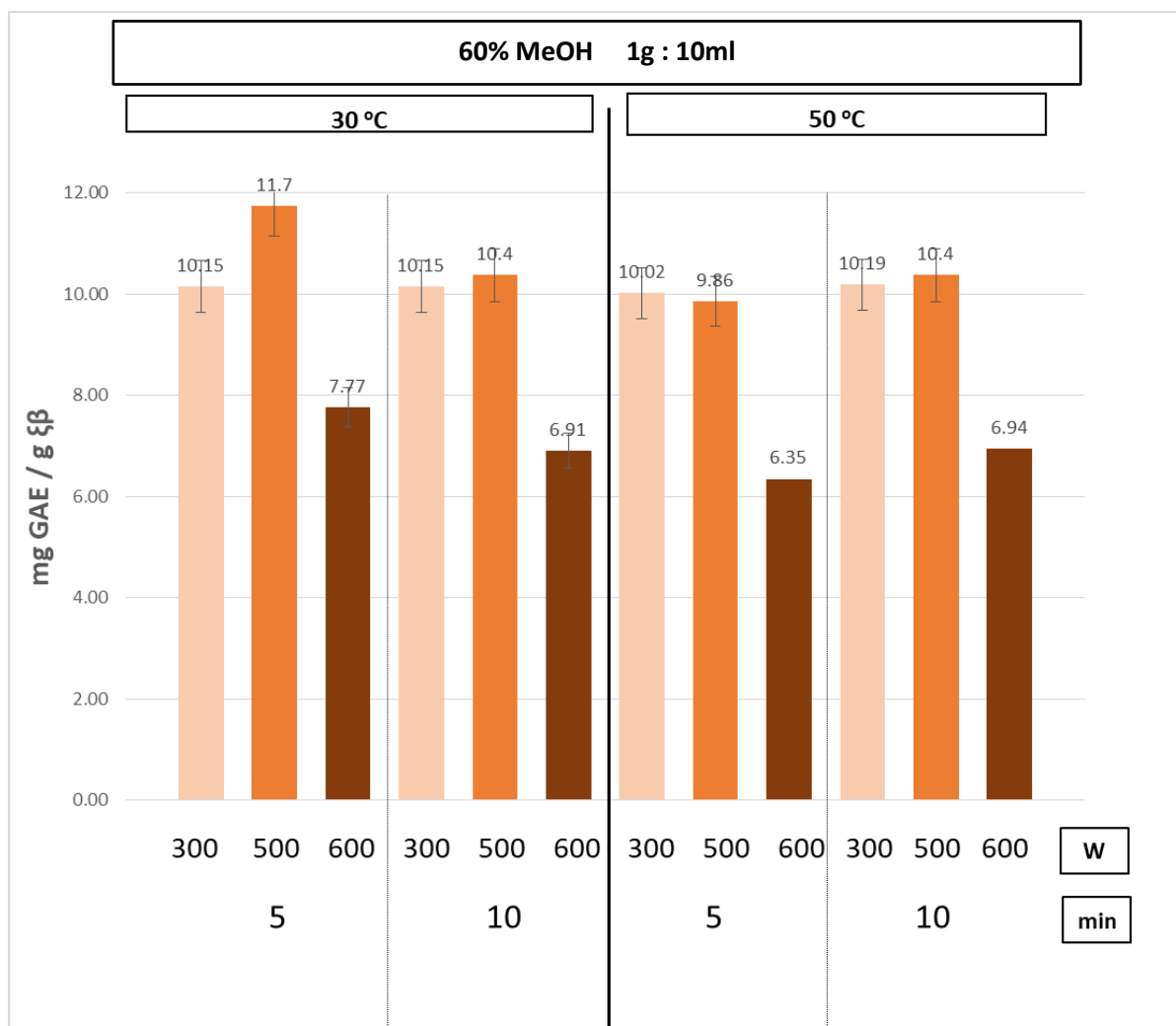
11.21 και 11.10 mg GAE/g ξβ της συγκέντρωσης 40% Meth, σε συνθήκες 300 W, 50 °C, 5 min, 1:10 g/mL και 500 W, 50 °C, 5 min, 1:10 g/mL αντίστοιχα. Οι συγκεντρώσεις 40 και 60% εμφανίζουν τις μεγαλύτερες τιμές φαινολικού περιεχομένου διότι είναι διαλύτες μίγματα με παραπλήσια όγκους μεθανόλης-νερού στο μίγμα τους (40:60 και 60:40, Meth:H₂O αντίστοιχα) και έτσι συνδυάζουν την ικανότητα της μεθανόλης να διαλυτοποιεί φαινολικά συστατικά και την υψηλή πολικότητα του νερού, που συνεπάγεται ταχύτερη θέρμανση με μικροκύματα και διείσδυση στη στερεή μήτρα, δίνοντας έτσι αποτελεσματικότερες εκχυλίσεις (Takeuchi et al, 2009, Veggi et al 2013). Αξίζει να σημειωθεί πως τα εκχυλίσματα με συγκεντρώσεις 20, 40 και 60% μεθανόλη είχαν πυκνό και σκούρο καφέ χρώμα, ενώ τα εκχυλίσματα 100% Meth διαυγές και ανοιχτό πρασινοκίτρινο χρώμα, λόγω χαμηλότερης ικανότητας της καθαρής μεθανόλης να παραλάβει φαινολικά και άλλα συστατικά από τον ελαιοπυρήνα (Εικόνα 5.2).



Εικόνα 5.2 Εκχυλίσματα από ελαιοπυρήνα με χρήση διαλύτη συγκέντρωσης 100% μεθανόλη (πάνω) και 40% μεθανόλη (κάτω) μετά την εκχύλιση MAE

5.1.1.4 Επίδραση της ισχύος των μικροκυμάτων

Η ισχύς των μικροκυμάτων που ακτινοβολούνται πάνω στο δείγμα κατά τη διεργασία της εκχύλισης επηρεάζει την αποτελεσματικότητα της εκχύλισης των επιθυμητών βιοδραστικών συστατικών από τη στερεή μήτρα. Όσο μεγαλύτερη είναι η ρυθμιζόμενη ισχύς των μικροκυμάτων τόσο περισσότερη ακτινοβολία προσπίπτει στο εκχυλιζόμενο δείγμα, τόσο πιο έντονη είναι η περιστροφή των διπολικών μορίων και η μετανάστευση των ιόντων, με αποτέλεσμα εντονότερη θέρμανση του δείγματος (Takeuchi et al, 2009, Veggi et al 2013). Οι τιμές ισχύος μικροκυμάτων που μελετήθηκαν είναι 300, 500 και 600 W. Ακολουθεί το Διάγραμμα 5.4 στο οποίο παρουσιάζεται η επίδραση της ισχύος των μικροκυμάτων στην ποσότητα φαινολικών συστατικών που εκχυλίστηκαν από ελαιοπυρήνα συναρτήσει των υπόλοιπων παραγόντων της εκχύλισης.

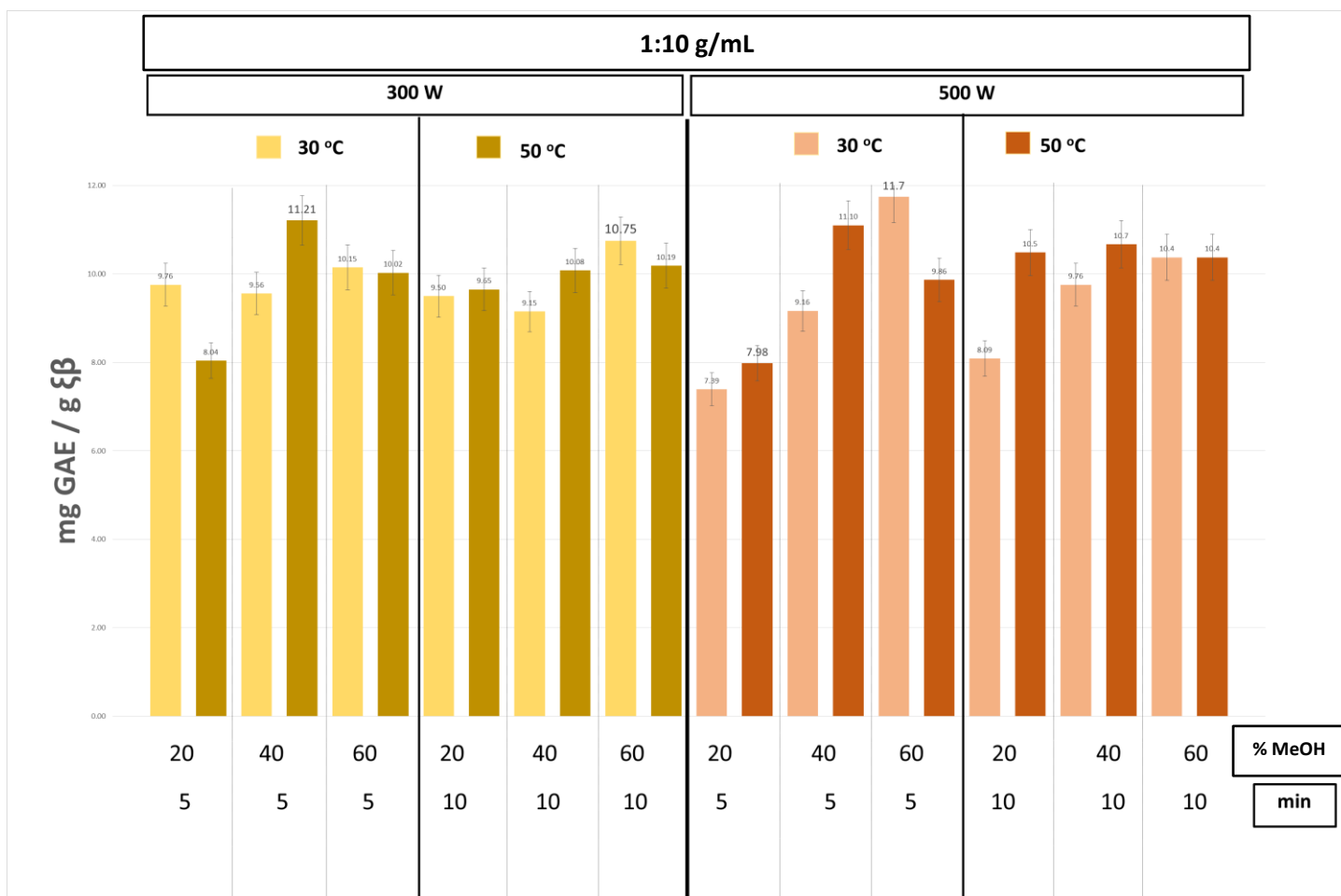


Διάγραμμα 5.4 Ολικό φαινολικό περιεχόμενο εκχυλισμάτων ελαιοπυρήνα εκφρασμένο σε mg GAE / g ξβ για ισχύ μικροκυμάτων 300, 500 και 600 W, αναλογία στερεού : υγρού 1:10 g/mL, συγκέντρωση διαλύτη 60% MeOH, συναρτήσει της θερμοκρασίας 30 και 50 °C και του χρόνου 5-10 min, σε διεργασία MAE.

Όσον αφορά τα αποτελέσματα της επίδρασης της ισχύος των μικροκυμάτων στο συνολικό περιεχόμενο σε φαινολικά συστατικά των εκχυλισμάτων από ελαιοπυρήνα με ΜΑΕ, όπως παρουσιάζονται στο Διάγραμμα 5.4, παρατηρήθηκε ότι η εφαρμογή ισχύος 300 και 500 W οδήγησε σε παραλαβή παρόμοιων ποσοτήτων φαινολικών συστατικών για τους διάφορους συνδυασμούς των άλλων παραμέτρων, ενώ η ισχύς των 600 W έδωσε χαμηλότερη ποσότητα φαινολικών συστατικών. Αυτό ενδεχομένως οφείλεται στην απότομη θέρμανση του δείγματος που συμβαίνει με την εφαρμογή των 600 W που έχει ως αποτέλεσμα την υποβάθμιση των φαινολικών συστατικών. Σημειώνεται στα 500 W παρατηρείται η υψηλότερη τιμή 11.7 mg GAE / g ξβ, σε συνθήκες 30 °C, 5 min, 60% MeOH και 1:10 g/mL. Δεδομένου του ότι η ισχύς των 300 και 500 W δεν παρουσιάζουν στατιστική διαφορά μεταξύ τους ($P > 0.05$) ως προς την επίδραση τους στην εκχύλιση φαινολικών ουσιών, η ισχύς των 300 W μπορεί να επιλεγεί για εξοικονόμηση ενέργειας και τον σχεδιασμό μιας πιο περιβαλλοντικά φιλικής διεργασίας εκχύλισης με μικροκύματα.

5.1.1.5 Επίδραση της θερμοκρασίας εκχύλισης

Με την αύξηση της θερμοκρασίας εκχύλισης μειώνεται το ιξώδες και η επιφανειακή τάση του χρησιμοποιούμενου διαλύτη με αποτέλεσμα την αύξηση της ικανότητας του να διεισδύσει στο εσωτερικό της στερεής μήτρας και να διαλυτοποιήσει πιο εύκολα τα συστατικά-στόχους. Ωστόσο η πολύ υψηλή τιμή της θερμοκρασίας επιφέρει υποβάθμιση των θερμοευαίσθητων συστατικών (Aguilera, 2003, Veggi et al 2013). Οι τιμές της θερμοκρασίας που μελετώνται είναι 30 και 50 °C, θερμοκρασίες χαμηλότερες του σημείου ζέσεως της καθαρής μεθανόλης (65 °C σε ατμοσφαιρική πίεση). Στο Διάγραμμα 5.5 που ακολουθεί παρουσιάζεται η επίδραση της θερμοκρασίας στην ποσότητα φαινολικών συστατικών που εκχυλίζονται από ελαιοπυρήνα συναρτήσει των υπόλοιπων παραγόντων της εκχύλισης



Διάγραμμα 5.5 Ολικό φαινολικό περιεχόμενο εκχυλισμάτων ελαιοπυρήνα εκφρασμένο σε mg GAE / g ξβ για θερμοκρασίες εκχύλισης 30 και 50 °C, αναλογία στερεού : υγρού 1:10 g/mL, συναρτήσεως της ισχύος μικροκυμάτων 300 και 500 W, της συγκέντρωσης διαλύτη 20-40-60% MeOH και του χρόνου 5 και 10 min, σε διεργασία MAE.

Από το Διάγραμμα 5.5 ως προς την επίδραση της θερμοκρασίας και κατόπιν στατιστικής ανάλυσης διαπιστώνεται ότι η διαφορά στη ποσότητα των φαινολικών συστατικών που εκχυλίζονται στους 30 και 50 °C δεν είναι σημαντική ($P > 0.05$). Οι θερμοκρασίες 30 και 50 °C αποδίδουν παραπλήσιες τιμές φαινολικού περιεχομένου, με την ανώτατη τιμή ωστόσο να επιτυγχάνεται στους 30 °C και να είναι 11.7 mg GAE/g ξβ για συνθήκες 500 W, 5 min, 60% MeOH και 1:10 g/mL, ενώ η δεύτερη μεγαλύτερη τιμή επιτυγχάνεται στους 50 °C και είναι 11.21 mg GAE/g ξβ για συνθήκες 300 W, 5 min, 40% MeOH και 1:10 g/mL. Οι τιμές θερμοκρασίας που χρησιμοποιήθηκαν για τη μελέτη των εκχυλίσεων δεν ήταν πολύ υψηλές και έτσι δεν παρατηρήθηκε υποβάθμιση των φαινολικών συστατικών και παραλαβή μικρότερης ποσότητας αυτών στην πιο υψηλή θερμοκρασία των 50 °C. Δεδομένου του ότι οι θερμοκρασίες των 30 και 50 °C δεν παρουσιάζουν στατιστική διαφορά μεταξύ τους ($P > 0.05$) ως προς την επίδραση τους στην εκχύλιση φαινολικών ουσιών, η θερμοκρασία των 30 °C μπορεί να επιλεγεί καθώς επιτυγχάνεται εξοικονόμηση ενέργειας κατά τη θέρμανση σε χαμηλότερη θερμοκρασία.

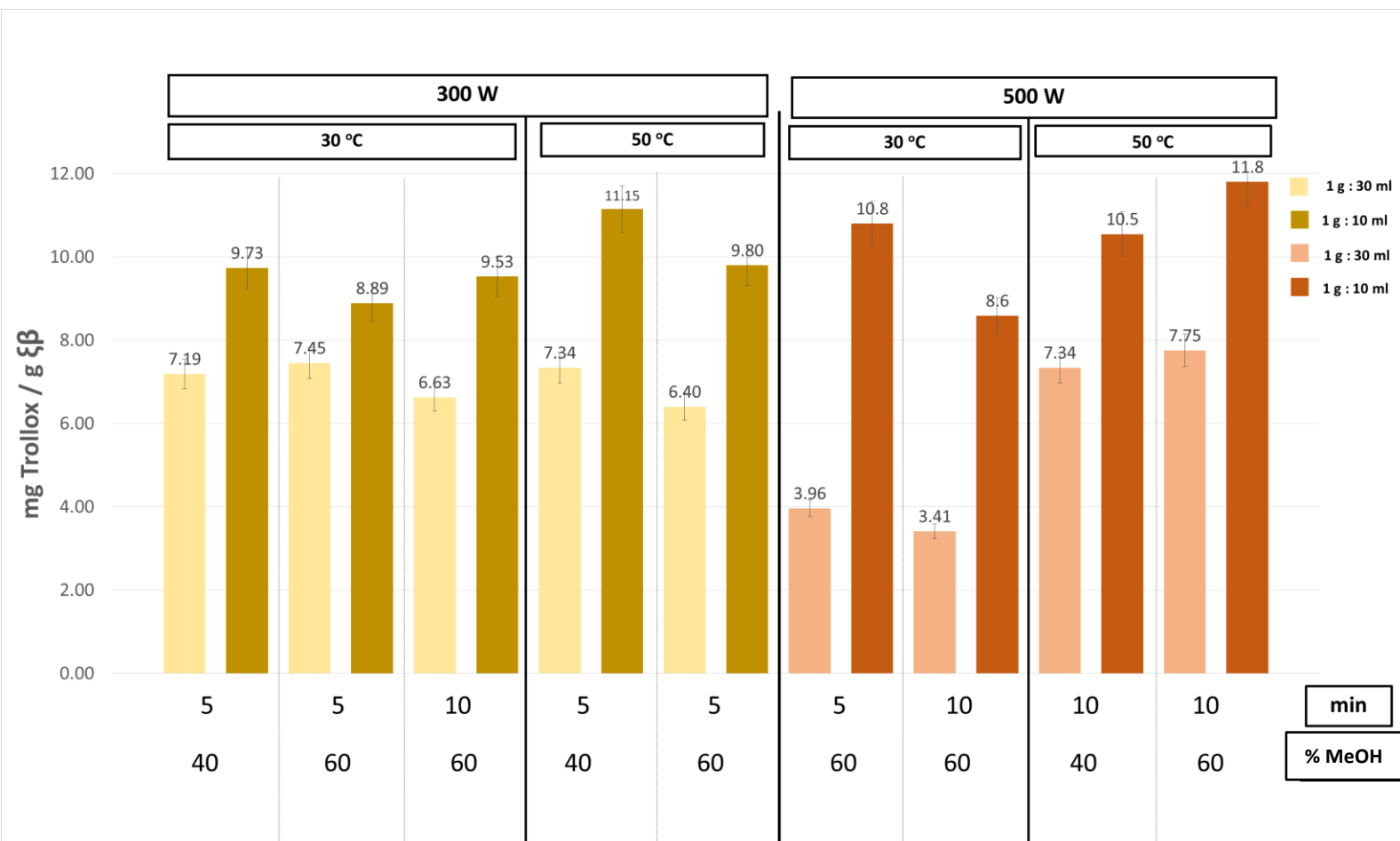
5.1.2 Προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής ικανότητας των εκχυλισμάτων ελαιοπυρήνα (μέθοδος DPPH)

Ο προσδιορισμός της αντιοξειδωτικής ικανότητας των εκχυλισμάτων πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο DPPH (2,2 –διφαινυλ-1-πικρυλυδραζίλιο) των Brand-Williams, Cuvelier, & Berset, (1995). Ο τρόπος έκφρασης της ποσότητας των ολικών φαινολών που επιλέγεται είναι σε mg Trolox ανά g ξηρής πρώτης ύλης (ελαιοπυρήνας) πριν την εκχύλιση και γράφεται **mg Trolox / g ξβ**. Η έκφραση αυτή βοηθάει στην ποσοτικοποίηση και σύγκριση της αντιοξειδωτικής ικανότητας των εκχυλισμάτων, δηλώνοντας την ποσότητα (σε mg) ισοδύναμων Trolox που βρίσκονται σε ορισμένη μάζα του στερεού παραπροϊόντος ελαιοπυρήνα και στόχος ήταν η παραλαβή εκχυλισμάτων με όσο το δυνατόν πιο μεγάλη τιμή mg Trolox / g ξβ.

Εξετάζεται η επίδραση των παραμέτρων: αναλογία στερεού-υγρού, χρόνος, συγκέντρωση διαλύτη, ισχύς μικροκυμάτων και θερμοκρασία εκχύλισης πάνω στην αντιοξειδωτική ικανότητα των εκχυλισμάτων.

5.1.2.1 Επίδραση της αναλογίας στερεού : υγρού

Στο Διάγραμμα 5.6 που ακολουθεί παρουσιάζονται οι αναλογίες 1:10 και 1:30 g/mL συναρτήσει των υπόλοιπων παραμέτρων του χρόνου, της θερμοκρασίας, της ισχύος μικροκυμάτων και της συγκέντρωσης διαλύτη.

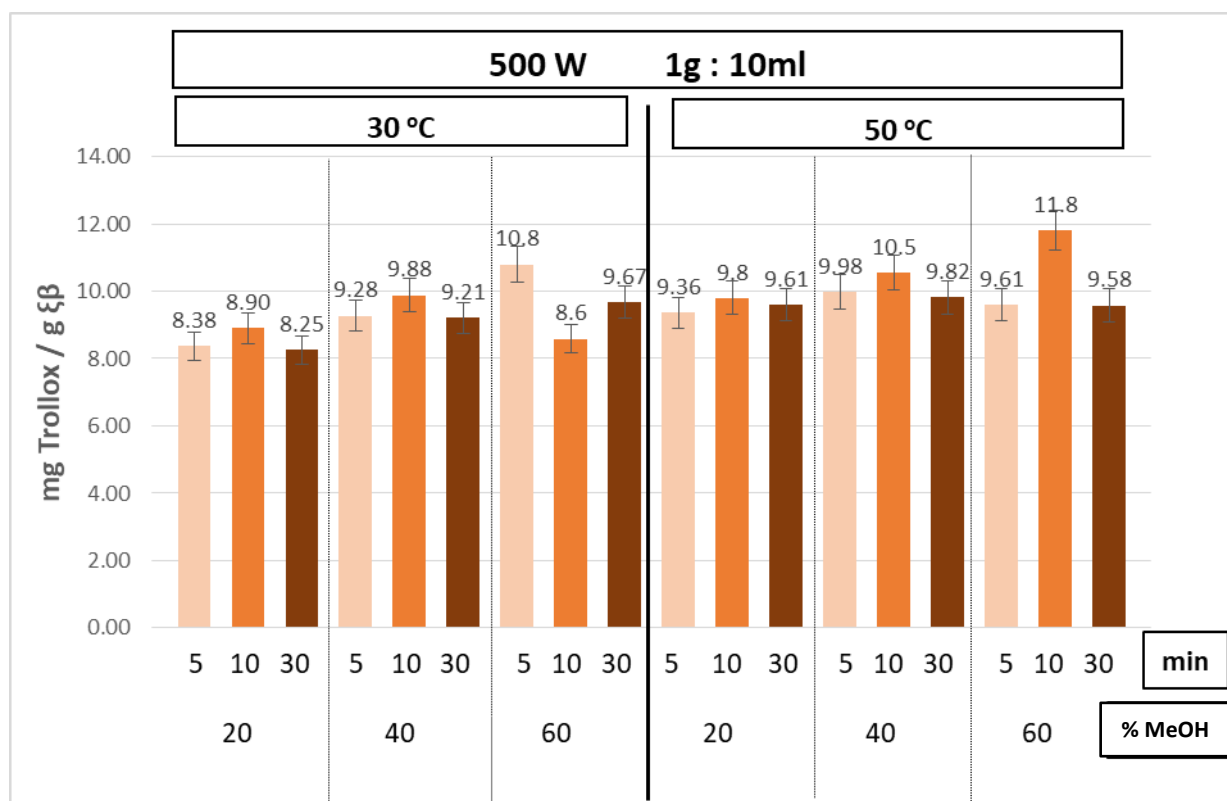


Διάγραμμα 5.6 Αντιοξειδωτική ικανότητα εκχυλισμάτων ελαιοπυρήνα εκφρασμένη σε mg Trolox / g ξβ για αναλογίες στερεού : υγρού 1:10 και 1:30 g/mL συναρτήσει της ισχύος των μικροκυμάτων 300 και 500 W, της θερμοκρασίας 30 και 50 °C, του χρόνου 5 και 10 min και της συγκέντρωσης του διαλύτη 40 και 60% MeOH, σε διεργασία MAE.

Από τα αποτελέσματα που παρατίθενται στο Διάγραμμα 5.6 ως προς την αναλογία στερεού : υγρού, παρατηρήθηκε ότι για όλους τους συνδυασμούς των επιμέρους παραμέτρων (Watt, °C, min, %MeOH) η αναλογία στερεού : υγρού 1:10 παρουσιάζει πάντα μεγαλύτερη τιμή mg Trolox/g ξβ από την αντίστοιχη τιμή της αναλογίας 1:30. Από τη στατιστική ανάλυση προκύπτει επίσης πως η διαφορά των δύο αναλογιών είναι σημαντική ($P < 0.05$). Με τη χρήση μικρότερου όγκου διαλύτη επιτυγχάνεται πιο αποτελεσματική εκχύλιση βιοδραστικών συστατικών των οποίων η αντιοξειδωτική ικανότητα προσδιορίστηκε. Έτσι, οι υψηλότερες τιμές αντιοξειδωτικής ικανότητας σημειώθηκαν σε αναλογία 1:10 g/mL, είναι 11.8 και 1.15 mg Trolox/g ξβ και έχουν συνθήκες 500 W, 50 °C, 10 min, 60% MeOH και 300 W, 50 °C, 5 min, 40% MeOH αντίστοιχα. Οι χαμηλότερες τιμές αντιοξειδωτικής ικανότητας σημειώθηκαν σε αναλογία 1:30 g/mL, είναι 3.41 και 3.96 mg Trolox/g ξβ και έχουν συνθήκες 500 W, 30 °C, 10 min, 60% MeOH και 500 W, 30 °C, 5 min, 60% MeOH αντίστοιχα.

5.1.2.2 Επίδραση του χρόνου εκχύλισης

Οι χρόνοι εκχύλισης που μελετήθηκαν είναι 5, 10 και 30 min. Ακολουθεί το Διάγραμμα 5.7 στο οποίο παρουσιάζεται η επίδραση του χρόνου εκχύλισης στην αντιοξειδωτική ικανότητα των εκχυλισμάτων, συναρτήσει των υπόλοιπων παραμέτρων της εκχύλισης. Η μελέτη του χρόνου πραγματοποιήθηκε σε αναλογία στερεού : υγρού 1:10 g/mL και ισχύ μικροκυμάτων 500 W.



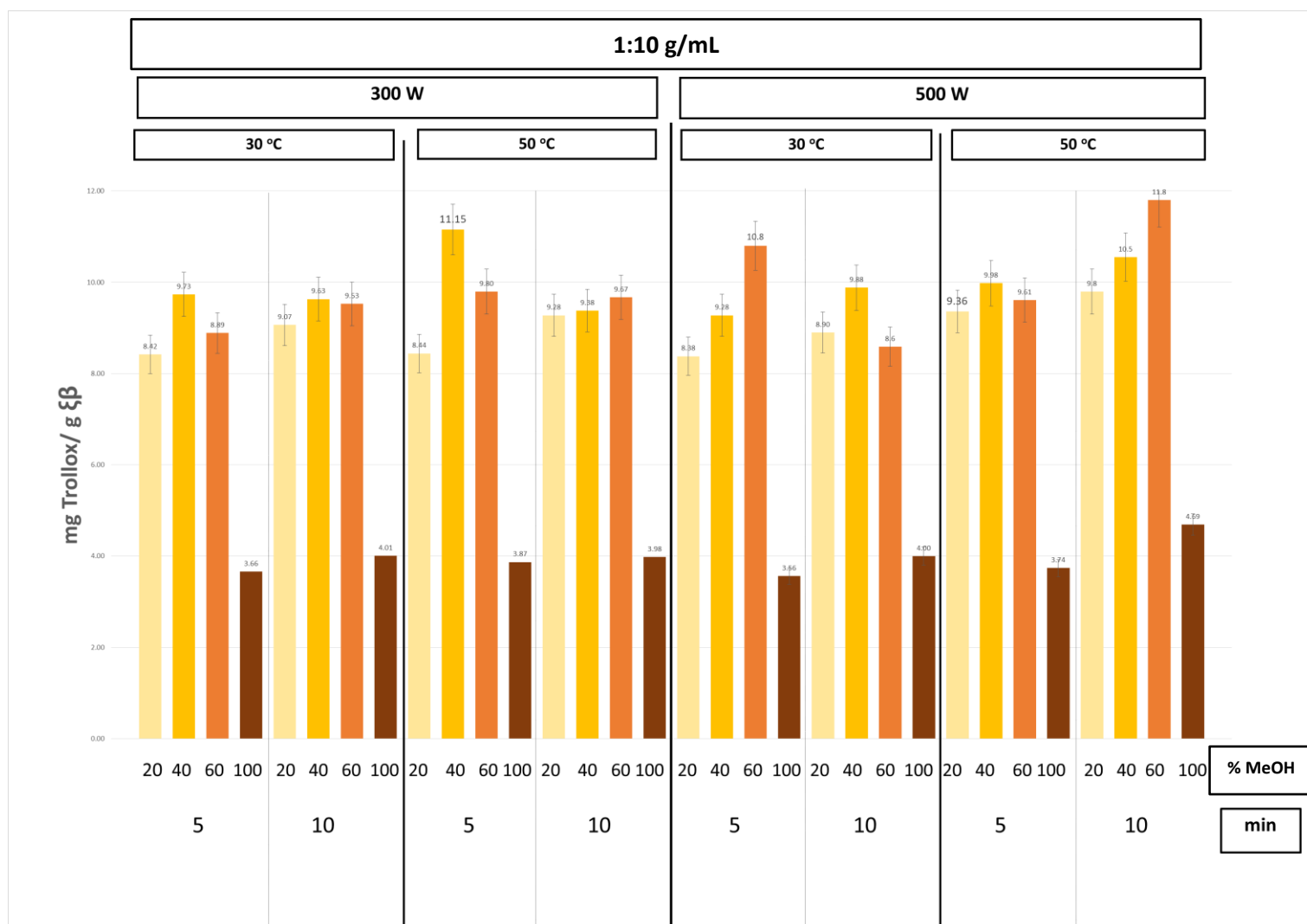
Διάγραμμα 5.7 Αντιοξειδωτική δράση εκχυλισμάτων ελαιοπυρήνα εκφρασμένη σε mg Trolox / g ξβ για χρόνου 5, 10 και 30 min σε ισχύ των μικροκυμάτων 500 W, αναλογία στερεού : υγρού 1:10 g/mL, συναρτήσει της θερμοκρασίας 30 και 50 °C, και της συγκέντρωσης του διαλύτη 20, 40 και 60% MeOH, σε διεργασία MAE.

Εξετάζοντας το Διάγραμμα 5.7 ως προς το χρόνο εκχύλισης παρατηρείται ότι η αντιοξειδωτική δράση των εκχυλισμάτων δεν επηρεάστηκε σημαντικά από το χρόνο εκχύλισης (με στατιστική ανάλυση $P > 0.05$). Ωστόσο παρατηρείται ότι οι χρόνοι 5 και 10 min οδήγησαν κατά κύριο λόγο σε υψηλότερη μετρήσιμη αντιοξειδωτική ικανότητα. Μάλιστα για συνθήκες 50 °C, σε διαλύτη 60% μεθανόλη παρατηρείται σε χρόνο 10 min η υψηλότερη τιμή 11.8 mg Trolox/g ξβ. Η δεύτερη μεγαλύτερη τιμή παρατηρείται στους 30 °C, σε διαλύτη επίσης 60% μεθανόλη σε χρόνο 5 min και είναι 10.8 mg Trolox/g ξβ. Δεδομένου του ότι η εξοικονόμηση χρόνου είναι σημαντική κατά τον σχεδιασμό μιας διεργασίας και κατά τη ρύθμιση των παραμέτρων της, ο χρόνος 5 min επιλέγεται ως βέλτιστος. Μάλιστα, περαιτέρω παραμονή των δειγμάτων στον εκχυλιστήρα (μεγαλύτερη των 30 min) ενδεχομένως να οδηγούσε σε

καταστροφή των θερμοευαίσθητων ουσιών και υποβάθμιση της αντιοξειδωτικής τους ικανότητας.

5.1.2.3 Επίδραση της συγκέντρωσης του διαλύτη

Χρησιμοποιήθηκαν μίγματα μεθανόλης και νερού σε αναλογίες 20%, 40% και 60% μεθανόλη, ενώ επίσης χρησιμοποιήθηκε και καθαρή μεθανόλη (100%) ως διαλύτης. Στο Διάγραμμα 5.8 που ακολουθεί παρουσιάζεται η επίδραση της συγκέντρωσης της μεθανόλης στην αντιοξειδωτική ικανότητα των εκχυλισμάτων του ελαιοπυρήνα συναρτήσει των υπόλοιπων παραγόντων της εκχύλισης.

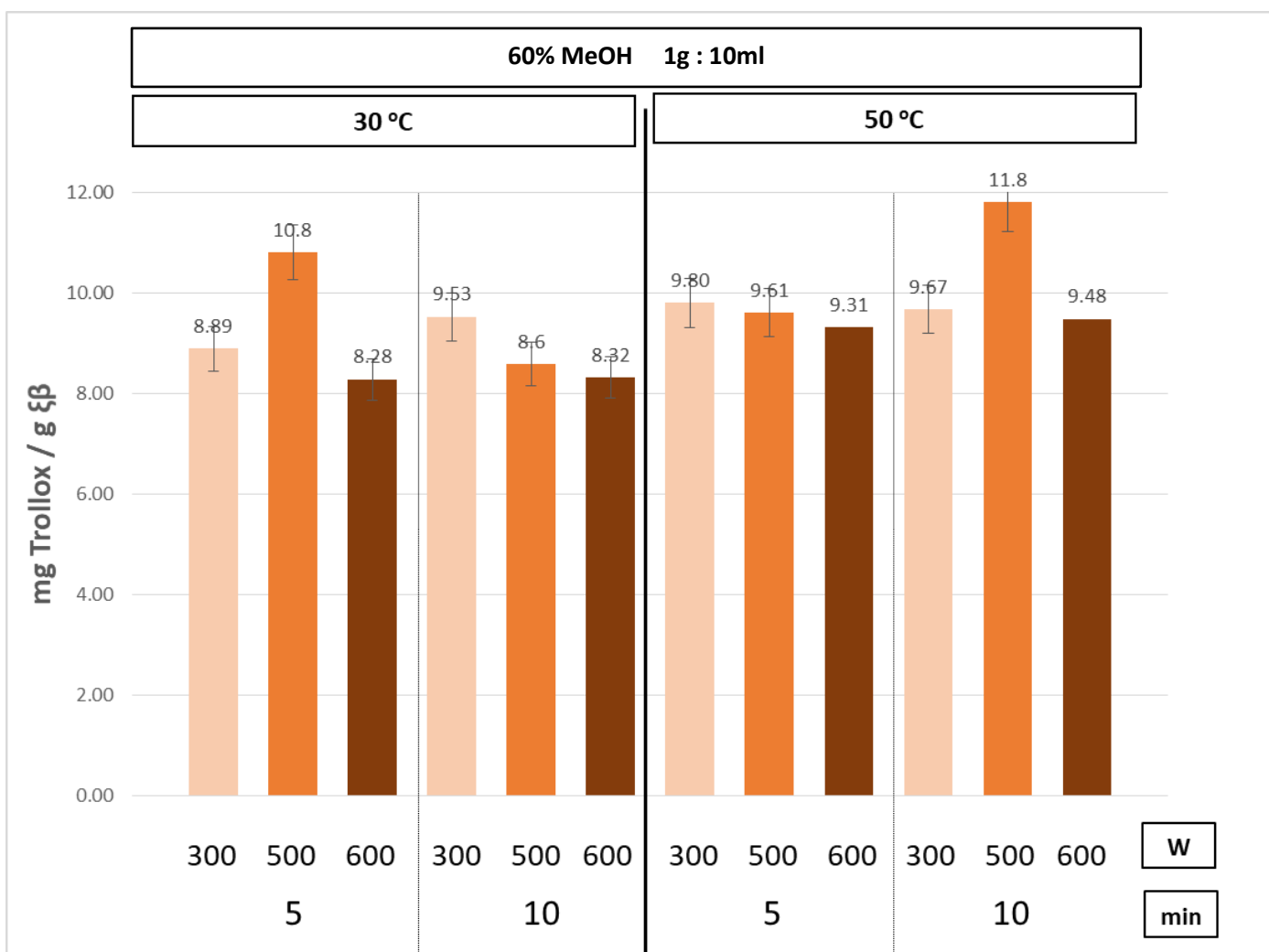


Διάγραμμα 5.8 Αντιοξειδωτική δράση εκχυλισμάτων ελαιοπυρήνα εκφρασμένη σε mg Trolox / g ξβ για συγκεντρώσεις διαλύτη 20,40, 60 και 100% MeOH, αναλογία στερεού : υγρού 1:10 g/mL και συναρτήσε της θερμοκρασίας 30 και 50 °C , του χρόνου 5 και 10 min και της ισχύος των μικροκυμάτων 300 και 500 W, σε διεργασία MAE.

Εξετάζοντας το Διάγραμμα 5.8 ως προς τη συγκέντρωση του διαλύτη σε μεθανόλη παρατηρείται ότι τα εκχυλίσματα με διαλύτη συγκέντρωσης 100% μεθανόλη εμφανίζουν ιδιαίτερα χαμηλή αντιοξειδωτική δράση σε σχέση με τα άλλα μίγματα. Επίσης παρατηρείται ότι οι τιμές συγκέντρωσης 40 και 60% μεθανόλης είναι αυτές που εμφανίζουν τη μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα. Η στατιστική ανάλυση δείχνει ότι η επίδραση της συγκέντρωσης διαλύτη επηρεάζει σημαντικά την εκχύλιση ($P < 0.05$) και επιβεβαιώνει ότι οι συγκεντρώσεις 20, 40 και 60% μεθανόλης, εμφανίζουν στατιστικά πολύ πιο υψηλές τιμές σε σχέση με τα εκχυλίσματα από 100% μεθανόλη. Αναλυτικότερα, στο Διάγραμμα 5.8 διακρίνεται ότι σε συγκέντρωση 60% μεθανόλη παρουσιάστηκε την ανώτατη τιμή 11.8 mg Trolox/g ξβ σε συνθήκες 500 W, 50 °C, 10 min, 1:10 g/mL, ενώ ιδιαίτερα υψηλές είναι και οι τιμές 11.15 και 10.8 mg Trolox/g ξβ με συγκεντρώσεις 40 και 60% μεθανόλη αντίστοιχα, σε συνθήκες 300 W, 50 °C, 5 min, 1:10 g/mL και 500 W, 30 °C, 5 min, 1:10 g/mL αντίστοιχα.

5.1.2.4 Επίδραση της ισχύος των μικροκυμάτων

Οι τιμές της ισχύος μικροκυμάτων που μελετήθηκαν είναι 300, 500 και 600 W. Ακολουθεί το Διάγραμμα 5.9 στο οποίο παρουσιάζεται η επίδραση της ισχύος των μικροκυμάτων στην αντιοξειδωτική ικανότητα που παρουσίασαν τα εκχυλίσματα ελαιοπυρήνα συναρτήσει των υπόλοιπων παραγόντων της εκχύλισης.

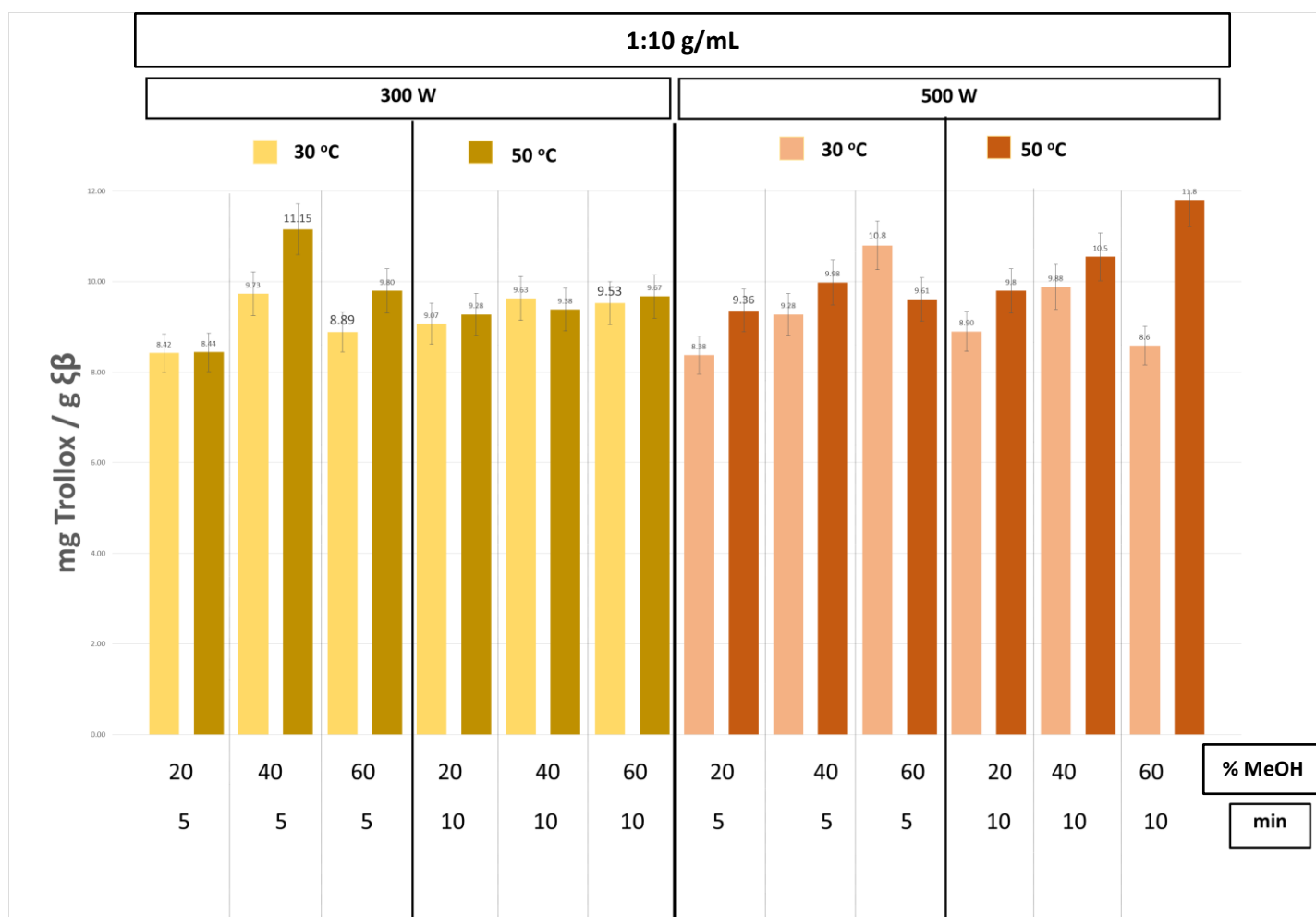


Διάγραμμα 5.9 Αντιοξειδωτική δράση εκχυλισμάτων ελαιοπυρήνα εκφρασμένη σε mg Trollax / g ξβ για ισχύ μικροκυμάτων 300, 500 και 600 W, αναλογία στερεού : υγρού 1:10 g/mL, συγκέντρωση διαλύτη 60% MeOH και συναρτήσεως της θερμοκρασίας 30 και 50°C και του χρόνου 5 και 10 min, σε διεργασία MAE.

Εξετάζοντας το Διάγραμμα 5.9 ως προς την επίδραση της ισχύος των μικροκυμάτων και μετά από στατιστική ανάλυση των τιμών, παρατηρείται ότι τα εκχυλίσματα που επεξεργάστηκαν σε ισχύ 300, 500 και 600 W παρουσιάζουν παρόμοια αντιοξειδωτική ικανότητα χωρίς σημαντική στατιστική διαφορά για όλες τις εξεταζόμενες συνθήκες ($P > 0.05$). Σημειώνεται ότι στα 500 W παρατηρείται η υψηλότερη τιμή 11.8 mg Trollax / g ξβ, σε συνθήκες 50 °C, 10 min, 60% μεθανόλη και 1:10 g/mL. Δεδομένου του ότι η ισχύς των μικροκυμάτων δεν επηρεάζει σημαντικά την μετρήσιμη αντιοξειδωτική ικανότητα των εκχυλισμάτων, η ισχύς των 300 W μπορεί να επιλεγεί για εξοικονόμηση ενέργειας και τον σχεδιασμό μιας πιο περιβαλλοντικά φιλικής διεργασίας εκχύλισης με μικροκύματα.

5.1.2.5 Επίδραση της θερμοκρασίας εκχύλισης

Οι τιμές της θερμοκρασίας που μελετώνται είναι 30 και 50 °C, θερμοκρασίες χαμηλότερες του σημείου ζέσεως της καθαρής μεθανόλης (65 °C σε ατμοσφαιρική πίεση). Στο Διάγραμμα 5.10 που ακολουθεί παρουσιάζεται η επίδραση της θερμοκρασίας στην αντιοξειδωτική ικανότητα των εκχυλισμάτων ελαιοπυρήνα συναρτήσει των υπόλοιπων παραγόντων της εκχύλισης.



Διάγραμμα 5.10 Αντιοξειδωτική ικανότητα εκχυλισμάτων ελαιοπυρήνα εκφρασμένη σε mg Trolox / g ξβ για θερμοκρασίες εκχύλισης 30 και 50 °C, αναλογία στερεού : υγρού 1:10 g/mL, συναρτήσει της ισχύος μικροκυμάτων 300 και 500 W, της συγκέντρωσης διαλύτη 20, 40 και 60% MeOH και του χρόνου 5 και 10 min, σε διεργασία MAE.

Εξετάζοντας το Διάγραμμα 5.10 ως προς την επίδραση της θερμοκρασίας και κατόπιν στατιστικής ανάλυσης διαπιστώνεται ότι η διαφορά στην αντιοξειδωτική ικανότητα στους 30 και 50 °C δεν είναι σημαντική ($P > 0.05$). Οι θερμοκρασίες 30 και 50 °C αποδίδουν παραπλήσιες τιμές mg Trolox/g ξβ, με την ανώτατη τιμή να επιτυγχάνεται στους 50 °C και να είναι 11.8 mg Trolox/g ξβ για συνθήκες 500 W, 10 min, 60% μεθανόλη και 1:10 g/mL, ενώ η δεύτερη μεγαλύτερη τιμή επιτυγχάνεται στους 30 °C και είναι 11.15 mg Trolox/g ξβ για συνθήκες 300 W, 10 min, 40% μεθανόλη και 1:10 g/mL. Οι τιμές θερμοκρασίας που χρησιμοποιήθηκαν για τη μελέτη των εκχυλίσεων

δεν ήταν πολύ υψηλές και έτσι δεν παρατηρήθηκε υποβάθμιση της αντιοξειδωτικής ικανότητας των βιοδραστικών συστατικών των εκχυλισμάτων στην πιο υψηλή θερμοκρασία των 50 °C. Δεδομένου του ότι οι θερμοκρασίες των 30 και 50 °C δεν παρουσιάζουν στατιστική διαφορά μεταξύ τους ($P>0.05$) ως προς την επίδραση τους στην αντιοξειδωτική ικανότητα των φαινολικών εκχυλισμάτων, η θερμοκρασία των 30 °C μπορεί να επιλεγεί ως βέλτιστη, καθώς επιτυγχάνεται εξοικονόμηση ενέργειας κατά τη θέρμανση σε χαμηλότερη θερμοκρασία.

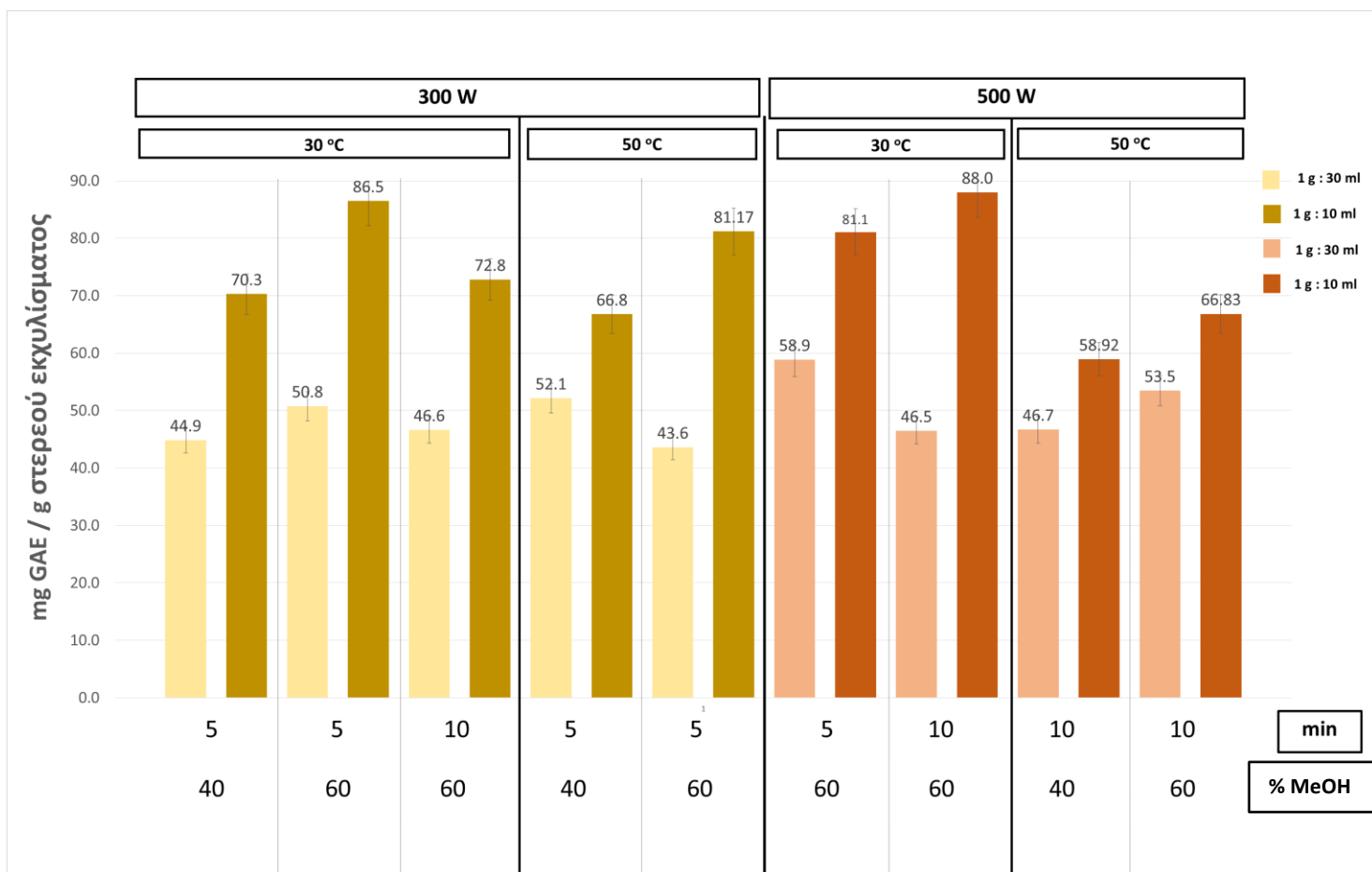
5.1.3 Προσδιορισμός της εκλεκτικότητας της εκχύλισης

Μέρος της μελέτης παραλαβής βιοδραστικών συστατικών από τον ελαιοπυρήνα μέσω εκχύλισης υποβοηθούμενη με μικροκύματα ήταν ο προσδιορισμός της εκλεκτικότητας της εκχύλισης. Ο προσδιορισμός αυτός πραγματοποιήθηκε μέσω του υπολογισμού της συγκέντρωσης των εκχυλισμάτων σε ολικά φαινολικά συστατικά και του υπολογισμού του στερεού υπολείμματος των εκχυλισμάτων αυτών με σταθμική μέθοδο απομάκρυνσης του διαλύτη μέσω ξήρανσης. Σκοπός ήταν η παραλαβή εκχυλισμάτων που παρουσιάζουν υψηλή συγκέντρωση ολικών φαινολών και χαμηλό στερεό υπόλειμμα κατόπιν ξήρανσης, ώστε η εκλεκτικότητα εκφρασμένη σε **mg GAE/g στερεού εκχυλίσματος** να έχει υψηλή τιμή και αυτό να φανερώνει ότι ο διαλύτης δεν έχει παραλάβει από τη στερεή μήτρα και άλλες δευτερεύουσες ουσίες πέρα των φαινολικών.

Εξετάστηκε η επίδραση των παραμέτρων: αναλογία στερεού-υγρού (1:10 και 1:30 g/mL), χρόνος (5, 10, 30 min), συγκέντρωση μεθανόλης στο μίγμα του διαλύτη (20%-40%-60%-100% μεθανόλη), ισχύς μικροκυμάτων (300, 500, 600 W) και θερμοκρασία (30°C, 50°C) εκχύλισης πάνω στην εκλεκτικότητα της εκχύλισης.

5.1.3.1 Επίδραση της αναλογίας στερεού : υγρού

Στο Διάγραμμα 5.11 που ακολουθεί παρουσιάζονται οι αναλογίες 1:10 και 1:30 g/mL συναρτήσει των υπόλοιπων παραμέτρων του χρόνου, της θερμοκρασίας, της ισχύος μικροκυμάτων και της συγκέντρωσης διαλύτη.

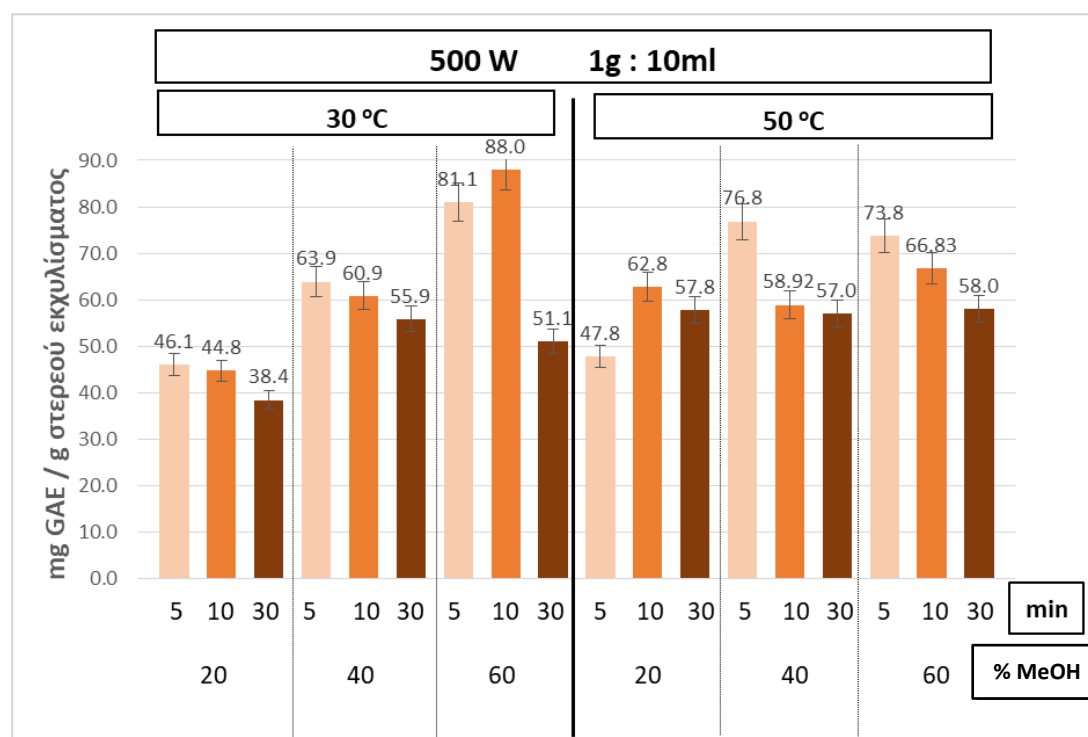


Διάγραμμα 5.11 Εκλεκτικότητα εκχύλισης για εκχυλίσματα ελαιοπυρήνα εκφρασμένη σε mg GAE /g στερεού εκχυλίσματος, για αναλογίες στερεού : υγρού 1:10 και 1:30 g/mL συναρτήσει της ισχύος των μικροκυμάτων 300 και 500 W, της θερμοκρασίας 30 και 50 °C , του χρόνου 5 και 10 min και της συγκέντρωσης του διαλύτη 40 και 60% MeOH, σε διεργασία MAE.

Με βάση τα αποτελέσματα που φαίνονται στο Διάγραμμα 5.11, παρατηρήθηκε ότι για όλους τους συνδυασμούς των επιμέρους παραμέτρων (Watt, °C, min, %Meth) η αναλογία στερεού : υγρού 1:10 παρουσιάζει πάντα μεγαλύτερη τιμή εκλεκτικότητας από την αντίστοιχη τιμή της αναλογίας 1:30. Από τη στατιστική ανάλυση (ANOVA analysis) προκύπτει επίσης ότι η αναλογία στερεού : υγρού έχει σημαντική συνεισφορά στην εκλεκτικότητα των εκχυλίσεων του ελαιοπυρήνα ($P < 0.05$). Η αναλογία 1:10 έχει θετικότερη επίδραση στην εκλεκτικότητα της εκχύλισης των φαινολικών ενώσεων από τον ελαιοπυρήνα, καθώς επίσης είναι θετικό ότι μικροί όγκοι διαλύτη είναι ικανοί να παραλάβουν μεγάλες ποσότητες φαινολικών συστατικών χωρίς την απομάκρυνση μεγάλης ποσότητας ξένων ενώσεων από τη στερεή μήτρα. Οι υψηλότερες τιμές εκλεκτικότητας που σημειώθηκαν είναι 88.0 και 86.5 mg GAE/g στερεού εκχυλίσματος, προέκυψαν και οι δύο από αναλογία 1:10 g/mL και οι άλλες συνθήκες του είναι 30 °C, 500 W, 10 min, 60% MeOH και 30 °C, 300 W, 5 min, 60% MeOH αντίστοιχα.

5.1.3.2 Επίδραση του χρόνου εκχύλισης

Οι χρόνοι εκχύλισης που μελετήθηκαν είναι 5, 10 και 30 min. Ακολουθεί το Διάγραμμα 5.12 στο οποίο παρουσιάζεται η επίδραση του χρόνου εκχύλισης στην εκλεκτικότητα της εκχύλισης, συναρτήσεως των υπόλοιπων παραμέτρων.. Η μελέτη του χρόνου πραγματοποιήθηκε σε αναλογία στερεού : υγρού 1:10 g/mL και ισχύ μικροκυμάτων 500 W.

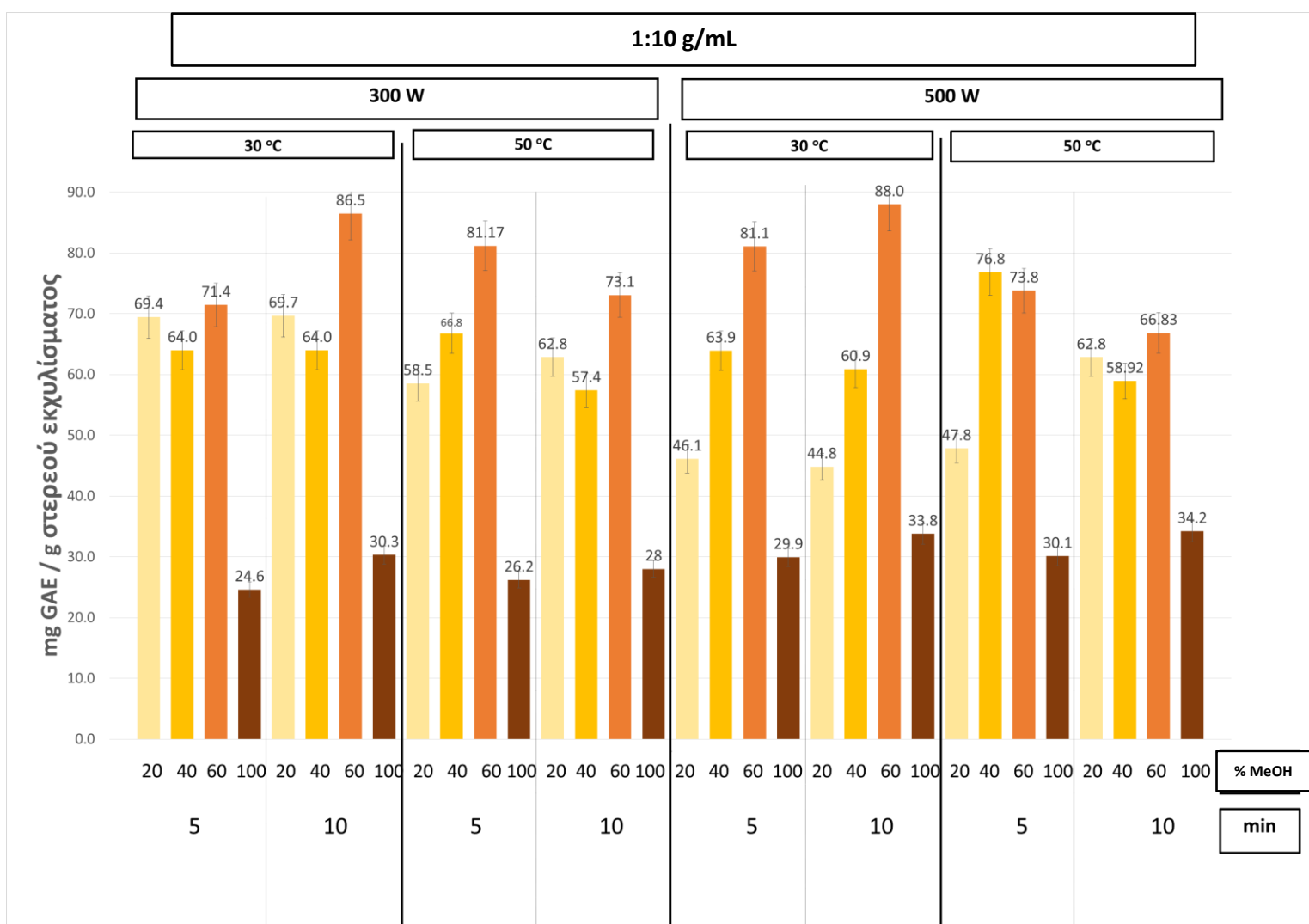


Διάγραμμα 5.12 Εκλεκτικότητα εκχύλισης για εκχυλίσματα ελαιοπυρήνα εκφρασμένη σε mg GAE /g στερεού εκχυλίσματος, για χρόνου 5, 10 και 30 min, συναρτήσεως της ισχύος των μικροκυμάτων 500 W, της θερμοκρασίας 30 και 50 °C, της αναλογία στερεού : υγρού 1:10 g/mL και της συγκέντρωσης του διαλύτη 20, 40 και 60% MeOH, σε διεργασία MAE.

Από το Διάγραμμα 5.12 παρατηρείται ότι η εκλεκτικότητα της εκχύλισης είναι υψηλότερη σε μικρότερους χρόνους (5-10 min) και μειώνεται με την αύξηση του χρόνου (30 min). Ο χρόνος εκχύλισης 5 min μάλιστα οδήγησε κατά μέσο όρο σε υψηλότερη εκλεκτικότητα από τα 10 min, και επιλέγεται ως βέλτιστη συνθήκη. Σημειώνεται ότι οι μέγιστες τιμές εκλεκτικότητας είναι 88.0 και 81.1 mg GAE/g στερεού εκχυλίσματος, σημειώθηκαν σε χρόνους 10 και 5 min αντίστοιχα, σε διαλύτη 60% MeOH, στους 30 °C, στα 500 W και σε αναλογία 1:10 g/mL. Η παράταση του χρόνου εκχύλισης σε μία διεργασία MAE πιθανώς να οδηγεί στη διαλυτοποίηση από τον διαλύτη και άλλων ενώσεων/προσμίξεων, εκτός των φαινολικών ουσιών, που περιέχονται στη στερεή μήτρα, με αποτέλεσμα να μειώνεται η τιμή της εκλεκτικότητας που μετριέται πειραματικά.

5.1.3.3 Επίδραση της συγκέντρωσης του διαλύτη

Χρησιμοποιούνται μίγματα μεθανόλης και νερού σε αναλογίες 20%, 40% και 60% μεθανόλη, ενώ επίσης χρησιμοποιείται και καθαρή μεθανόλη (100%) ως διαλύτης. Στο Διάγραμμα 5.13 που ακολουθεί παρουσιάζεται η επίδραση της συγκέντρωσης της μεθανόλης στην εκλεκτικότητα της εκχύλισης που μετριέται στα εκχυλίσματα ελαιοπυρήνα συναρτήσει των υπόλοιπων παραγόντων της εκχύλισης.



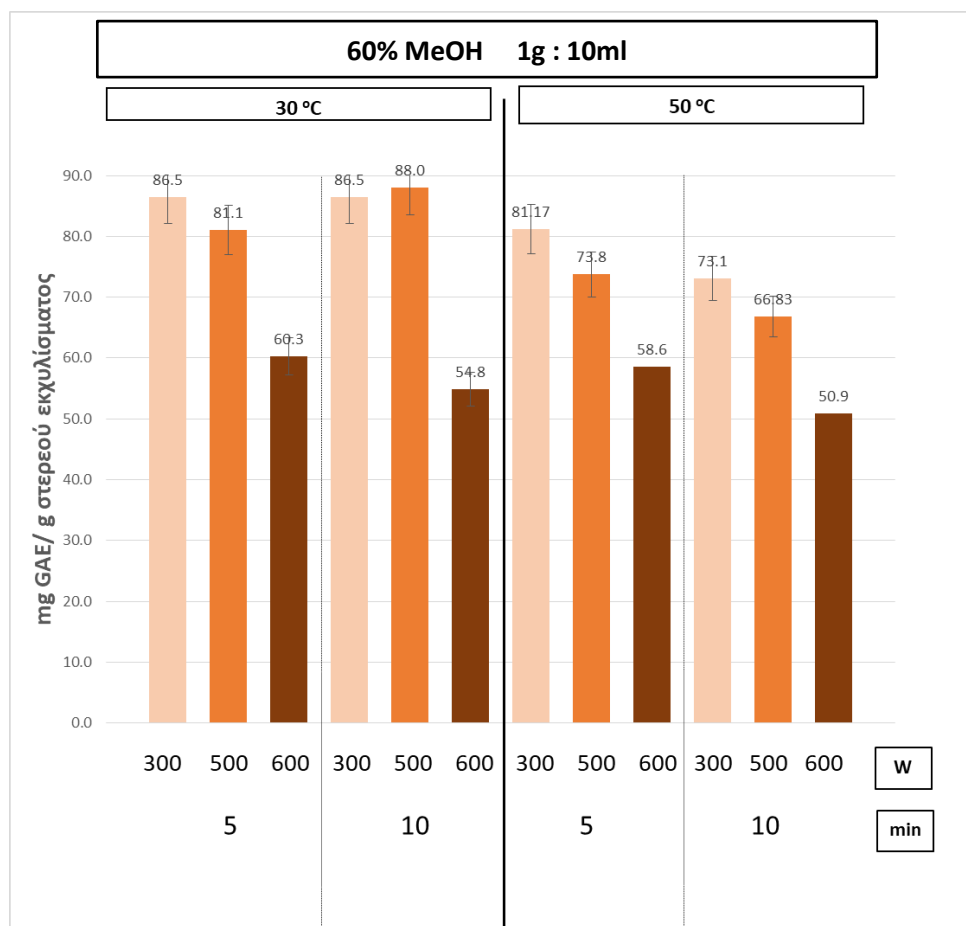
Διάγραμμα 5.13 Εκλεκτικότητα εκχύλισης για εκχυλίσματα ελαιοπυρήνα εκφρασμένη σε mg GAE /g στερεού εκχυλίσματος, για συγκεντρώσεις διαλύτη 20, 40, 60 και 100% MeOH, συναρτήσει της ισχύος των μικροκυμάτων 300 και 500 W, της θερμοκρασίας 30 και 50 °C, της αναλογία στερεού : υγρού 1:10 g/mL και του χρόνου 5 και 10 min, σε διεργασία MAE.

Εξετάζοντας το Διάγραμμα 5.13 ως προς τη συγκέντρωση του διαλύτη σε μεθανόλη παρατηρείται ότι τα εκχυλίσματα με διαλύτη συγκέντρωσης 100% μεθανόλης εμφανίζουν ιδιαίτερα χαμηλή εκλεκτικότητα σε σχέση με τις άλλες συγκεντρώσεις.

Επίσης παρατηρείται ότι η συγκέντρωση 60% μεθανόλης εμφανίζει κατά μέσο όρο υψηλότερη εκλεκτικότητα σε σχέση με τις συγκεντρώσεις 20 και 40% μεθανόλη. Η στατιστική ανάλυση δείχνει ότι η επίδραση της συγκέντρωσης διαλύτη επηρεάζει σημαντικά την εκλεκτικότητα της εκχύλισης ($P < 0.05$) και το τεστ Duncan, μεταξύ των συγκεντρώσεων 20, 40 και 60% μεθανόλη, επιβεβαιώνει ότι οι υψηλότερες τιμές εκλεκτικότητας ανήκουν στη συγκέντρωση 60% μεθανόλη. Προκύπτει ότι η παρουσία των δύο διαλυτών μεθανόλης και νερού σε αναλογία 60:40 είναι η βέλτιστη καθώς επιτυγχάνει τη μέγιστη παραλαβή φαινολικών ουσιών, χωρίς την παραλαβή άλλων ξένων ουσιών από τη στερεή μήτρα.

5.1.3.4 Επίδραση της ισχύος των μικροκυμάτων

Οι τιμές ισχύος μικροκυμάτων που μελετήθηκαν είναι 300, 500 και 600 W. Ακολουθεί το Διάγραμμα 5.14 στο οποίο παρουσιάζεται η επίδραση της ισχύος των μικροκυμάτων στην εκλεκτικότητα της εκχύλισης σε ελαιοπυρήνα συναρτήσεως των υπόλοιπων παραγόντων της εκχύλισης.

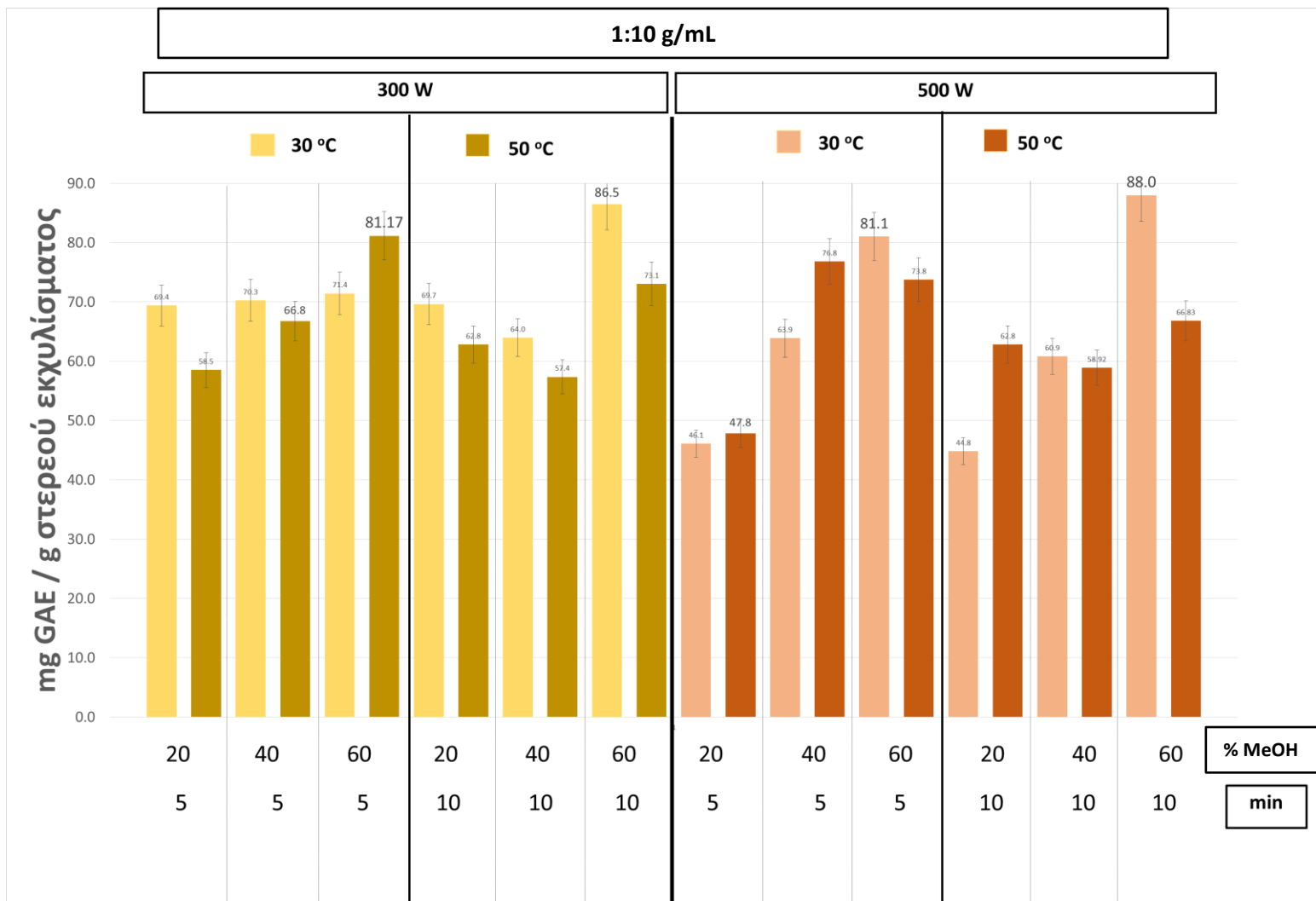


Διάγραμμα 5.14 Εκλεκτικότητα εκχύλισης για εκχυλίσματα ελαιοπυρήνα εκφρασμένη σε mg GAE /g στερεού εκχυλίσματος, για ισχύ μικροκυμάτων 300, 500 και 600 W, συναρτήσεως της συγκέντρωσης διαλύτη 60% MeOH, της θερμοκρασίας 30 και 50 °C, της αναλογίας στερεού : υγρού 1:10 g/mL και του χρόνου 5 και 10 min, σε διεργασία MAE

Από τα δεδομένα του Διαγράμματος 5.14 προκύπτει ότι η εκλεκτικότητα αυξάνεται όσο μειώνεται η εφαρμοζόμενη ισχύς μικροκυμάτων της διεργασίας MAE. Από τη στατιστική ανάλυση προκύπτει ότι η επίδραση της ισχύος μικροκυμάτων στην εκλεκτικότητα είναι στατιστικά σημαντική ($P < 0.05$). Η υψηλότερη τιμή εκλεκτικότητας είναι 88.0 mg GAE/g βξ, αντιστοιχεί σε ισχύ 500 W και έχει υπόλοιπες συνθήκες: 60% MeOH, 30 °C, 10 min, 1:10 g/mL. Ωστόσο, τα 300 W παρουσιάζουν κατά μέσο όρο την υψηλότερη εκλεκτικότητα και επιλέγονται ως η βέλτιστη τιμή ισχύος, καθώς συμβάλουν και στην εξοικονόμηση ενέργειας κατά τη διεργασία εκχύλισης. Εκχύλιση σε υψηλές τιμές ισχύος μικροκυμάτων (600 W και πάνω) οδηγεί σε πιο απότομη θέρμανση, αποδόμηση των ιστών της στερεής φυτικής μήτρας και μετακίνηση προς τον κύριο όγκο του διαλύτη και άλλων ουσιών εκτός των φαινολικών, ενώ παράλληλα μπορεί να επιφέρει την υποβάθμιση των θερμοευαίσθητων φαινολικών συστατικών (Veggi et al, 2013).

5.1.3.5 Επίδραση της θερμοκρασίας εκχύλισης

Οι τιμές της θερμοκρασίας που μελετώνται είναι 30 και 50 °C, θερμοκρασίες χαμηλότερες του σημείου ζέσεως της καθαρής μεθανόλης (65 °C σε ατμοσφαιρική πίεση). Στο Διάγραμμα 5.15 που ακολουθεί παρουσιάζεται η επίδραση της θερμοκρασίας στην εκλεκτικότητα της εκχύλισης σε ελαιοπυρήνα συναρτήσει των υπόλοιπων παραγόντων της εκχύλισης.



Διάγραμμα 5.15 Εκλεκτικότητα εκχύλισης για εκχυλίσματα ελαιοπυρήνα εκφρασμένη σε mg GAE /g στερεού εκχυλίσματος, για θερμοκρασίες εκχύλισης 30 και 50 °C συναρτήσει της συγκέντρωσης διαλύτη 20, 40 και 60% MeOH, της ισχύος μικροκυμάτων 300 και 500 W , της αναλογία στερεού : υγρού 1:10 g/mL και του χρόνου 5 και 10 min, σε διεργασία MAE

Εξετάζοντας το Διάγραμμα 5.15 ως προς την επίδραση της θερμοκρασίας και κατόπιν στατιστικής ανάλυσης διαπιστώνεται ότι η διαφορά της εκλεκτικότητας που παρουσίασαν οι εκχυλίσεις στους 30 και 50 °C δεν είναι στατιστικά σημαντική ($P > 0.05$). Ωστόσο στους 30 °C σημειώθηκαν κατά μέσο όρο υψηλότερες τιμές εκλεκτικότητας συγκριτικά με τις αντίστοιχες στους 50 °C. Αξίζει να σημειωθεί ότι οι υψηλότερες τιμές εκλεκτικότητας είναι 88.0 και 86.5 mg GAE/g στερεού εκχυλίσματος, παρατηρήθηκαν στους 30 °C, και έχουν υπόλοιπες συνθήκες: 500 W, 60% μεθανόλη, 10 min, 1:10 g/mL και : 300 W, 60% μεθανόλη, 10 min, 1:10 g/mL αντίστοιχα. Η υψηλότερη θερμοκρασία εκχύλισης ενδεχομένως βοηθάει περισσότερο και την εκχύλιση άλλων ουσιών, εκτός των φαινολικών, και έτσι η εκλεκτικότητα που υπολογίζεται πειραματικά μειώνεται.

5.1.4 Συζήτηση αποτελεσμάτων και σύγκριση με άλλα πειραματικά και βιβλιογραφικά δεδομένα

Από τη μελέτη των παραμέτρων της εκχύλισης ελαιοπυρήνα υποβοηθούμενη με μικροκύματα για παραλαβή φαινολικών συστατικών προέκυψε ότι μεγαλύτερο φαινολικό περιεχόμενο (mg GAE/g ξβ) παρουσιάζουν οι εξής παράμετροι:

- η αναλογία στερεού υγρού 1:10 g/mL
- ο χρόνος 5 min
- η συγκέντρωση διαλύτη 60%
- η ισχύς μικροκυμάτων 300 W
- η θερμοκρασία 30 °C

Υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα παρουσιάζουν οι παράμετροι:

- η αναλογία στερεού υγρού 1:10 g/mL
- οι χρόνοι 5 και 10 min
- η συγκέντρωση διαλύτη 60%
- η ισχύς μικροκυμάτων 500 W
- η θερμοκρασία 30 °C

Εκλεκτικότητα εκχύλισης παρουσιάζουν οι παράμετροι:

- οι αναλογίες στερεού υγρού 1:10 g/mL
- ο χρόνος 5 min
- η συγκέντρωση διαλύτη 60%
- η ισχύς μικροκυμάτων 300 W
- η θερμοκρασία 30 °C

Σκοπός της μελέτης είναι η παραλαβή εκχυλισμάτων που να συγκεντρώνουν τα βέλτιστα χαρακτηριστικά, δηλαδή υψηλή τιμή ολικού φαινολικού περιεχομένου, υψηλή τιμή αντιοξειδωτικής ικανότητας, υψηλή εκλεκτικότητα και να προκύπτουν από διεργασία εκχύλισης με βέλτιστες παραμέτρους, δηλαδή μικρό χρόνο εκχύλισης, χρήση μικρού όγκου διαλύτη, χαμηλή θερμοκρασία και χαμηλή ισχύ μικροκυμάτων για εξοικονόμηση ενέργειας. Στον Πίνακα 5.1 που ακολουθεί παρουσιάζονται τα εκχυλίσματα που συγκεντρώνουν όσο το δυνατόν περισσότερα από αυτά τα βέλτιστα χαρακτηριστικά.

Πίνακας 5.1 Εκχυλίσματα ελαιοπυρήνα με βέλτιστα χαρακτηριστικά

Αναλογία στερεού:υγρού (g/mL)	Χρόνος εκχύλισης (min)	Συγκέντρωση διαλύτη (% Methanol)	Ισχύς μικροκυμάτων (Watt)	Θερμοκρασία εκχύλισης (°C)	TPC (mg GAE/g ξβ)	Αντιοξειδωτική ικανότητα (mg Trolox/g ξβ)	Εκλεκτικότητα (mg GAE/g στερ εκχ)
1:10	5	60	500	30	11.70	10.80	81.1
1:10	5	40	300	50	11.21	11.15	66.8
1:10	5	40	500	50	11.10	9.98	76.8
1:10	10	60	300	30	10.75	9.53	86.5
1:10	10	60	500	50	10.40	11.80	66.8

Στη συνέχεια, πραγματοποιείται σύγκριση των αποτελεσμάτων από την παραπάνω μελέτη (παραλαβή φαινολικών συστατικών από ελαιοπυρήνα μέσω εκχύλισης υποβοηθούμενη με μικροκύματα) με τα αποτελέσματα παραλαβής φαινολικών συστατικών από την ίδια πρώτη ύλη (ελαιοπυρήνα) μέσω εξαντλητικής εκχύλισης σταθερής κλίνης (fixed bed reaction). Ακολουθεί ο Πίνακας 5.2 στον οποίο παρουσιάζονται οι συνθήκες και τα αποτελέσματα των εξαντλητικών εκχυλίσεων που πραγματοποιήθηκαν με ελαιοπυρήνα ως στερεή πρώτη ύλη.

Πίνακας 5.2 Συνθήκες και αποτελέσματα μετρήσεων για δείγματα εξαντλητικής εκχύλισης σε ελαιοπυρήνα (σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, 25 °C).

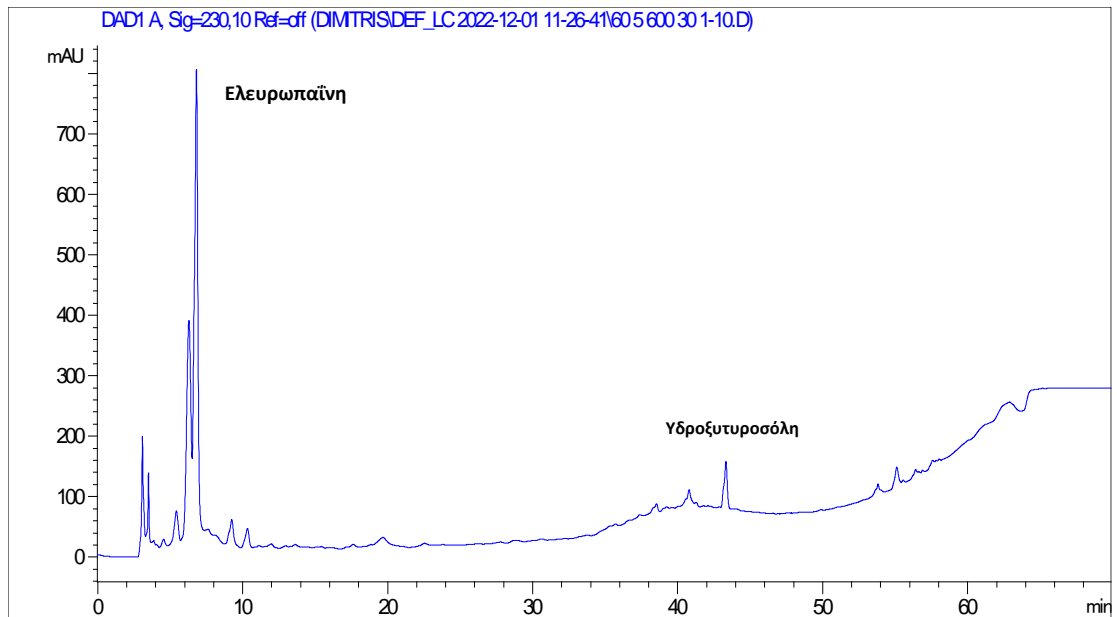
Αναλογία στερεού:υγρού (g/mL)	Χρόνος εκχύλισης (h)	Συγκέντρωση διαλύτη (% Μεθανόλης)	TPC (mg GAE/g ξβ)	Αντιοξειδωτική ικανότητα (mg Trolox/g ξβ)	Εκλεκτικότητα (mg GAE/g στερ εκχ)
1:20	4	0 (100% H ₂ O)	8.07	7.71	71.9
1:10	4	20	13.63	7.00	76.0
1:10	4	40	10.19	8.46	62.7
1:10	4	60	10.41	8.22	61.4
1:20	4	100	4.05	3.99	38.6

Συγκρίνοντας τα στοιχεία του Πίνακα 5.1 που αναφέρεται σε εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα και τα στοιχεία του Πίνακα 5.2 που αναφέρεται σε εξαντλητική εκχύλιση πάνω στο ίδιο παραπροϊόν (ελαιοπυρήνα) παρατηρείται ότι οι δύο μέθοδοι παρουσιάζουν παρόμοιες τιμές ολικού φαινολικού περιεχομένου, αντιοξειδωτικής ικανότητας και εκλεκτικότητας εκχύλισης. Το κύριο πλεονέκτημα της διεργασίας MAE είναι ότι οδηγεί σε παραλαβή εκχυλισμάτων με παρόμοιες τιμές ολικού φαινολικού περιεχομένου, αντιοξειδωτικής ικανότητας και εκλεκτικότητας εκχύλισης σε σχέση με την εξαντλητική εκχύλιση σταθερής κλίνης αλλά σε πολύ πιο σύντομο χρόνο και με κατανάλωση λιγότερης ενέργειας. Ο χρόνος της συμβατικής εκχύλισης που είναι 4 ώρες μειώνεται με την MAE σε 5 min.

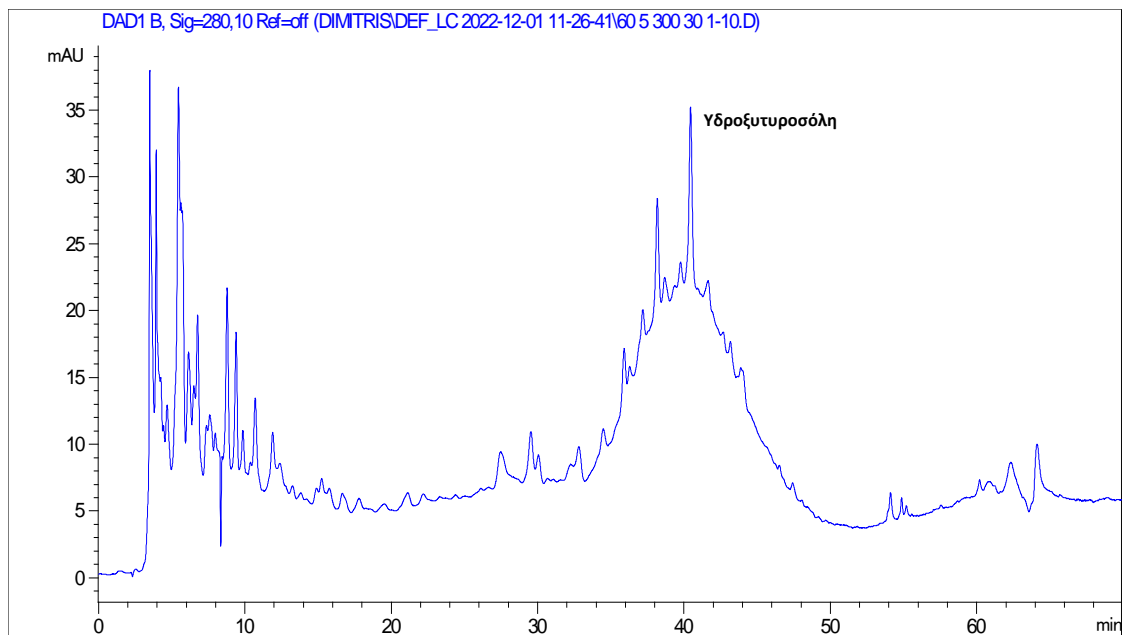
Από βιβλιογραφική αναζήτηση προκύπτει ότι οι ερευνητές Chanioti, Siamandoura και Tzia (2016) με εφαρμογή διεργασίας MAE σε ελαιοπυρήνα στους 60 °C, για 30 min παρέλαβα εκχυλίσματα με ολικό φαινολικό περιεχόμενο 10.61 mg GAE/g ξβ και αντιοξειδωτικής ικανότητας 10.40 mg Trolox/g ξβ. Επίσης, οι ερευνητές Tapia-Quirós et al (2020) με εφαρμογή διεργασίας MAE σε ελαιοπυρήνα με διαλύτη αιθανόλη : νερό 50:50 (v/v) στους 90 °C, για 5 min παρέλαβα εκχυλίσματα με ολικό φαινολικό περιεχόμενο 8.05 mg GAE/g ξβ και αντιοξειδωτικής ικανότητας 8.15 mg Trolox/g ξβ. Παρατηρείται ότι η μελέτη που πραγματοποιήθηκε στην παρούσα διπλωματική εργασία οδηγεί σε παρόμοια αποτελέσματα μειώνοντας ωστόσο το χρόνο εκχύλισης στα 5 min και τη θερμοκρασία στους 30 °C. Γενικότερα για τη διεργασία MAE οι μελετητές Chanioti et al (2016), Chanioti et al (2021), Bonacci et al (2020), Macedo et al (2021), Tapia-Quirós (2020) και Sánchez-Gutiérrez et al (2021) αναφέρουν ότι οι μέγιστες αποδόσεις της μπορούν να επιτευχθούν σε μικρούς χρόνους εκχύλισης (3-10 min), με χαμηλή χρήση διαλύτη (σε αναλογία στερεού-υγρού (1:10 g/mL) και χαμηλή κατανάλωση ενέργειας. Τα προαναφερθέντα χαρακτηριστικά επιβεβαιώθηκαν μέσω των πειραμάτων μελέτης της παρούσας διπλωματικής εργασίας.

5.1.5 Ανάλυση εκχυλισμάτων ελαιοπυρήνα με τη μέθοδο της υγρής χρωματογραφίας (HPLC)

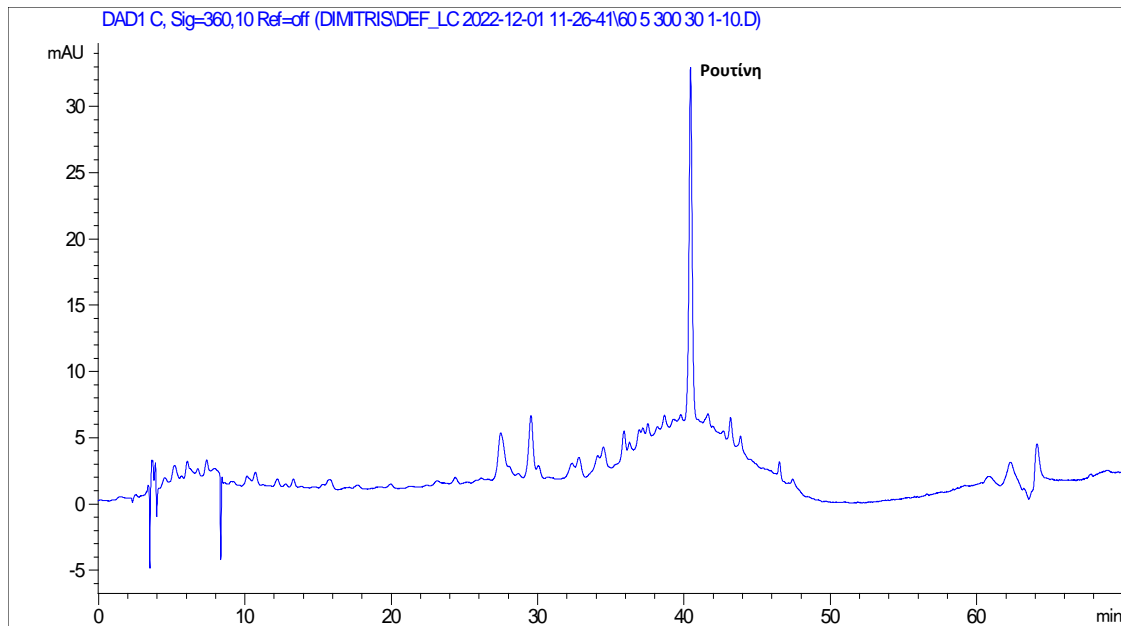
Ο προσδιορισμός των φαινολικών ενώσεων που ανακτήθηκαν από τον ελαιοπυρήνα πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο της υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (high-performance liquid chromatography, HPLC). Η μέθοδος που εφαρμόστηκε ήταν η μέθοδος Flan και η έκλουση των ενώσεων (ανίχνευση DAD) παρακολουθήθηκε στα 230, 280, 320 και 360 nm. Στα Σχήματα 5.1, 5.2, 5.3 και 5.4 που ακολουθούν παρουσιάζονται αντιπροσωπευτικά χρωματογραφήματα των λαμβανόμενων εκχυλισμάτων.



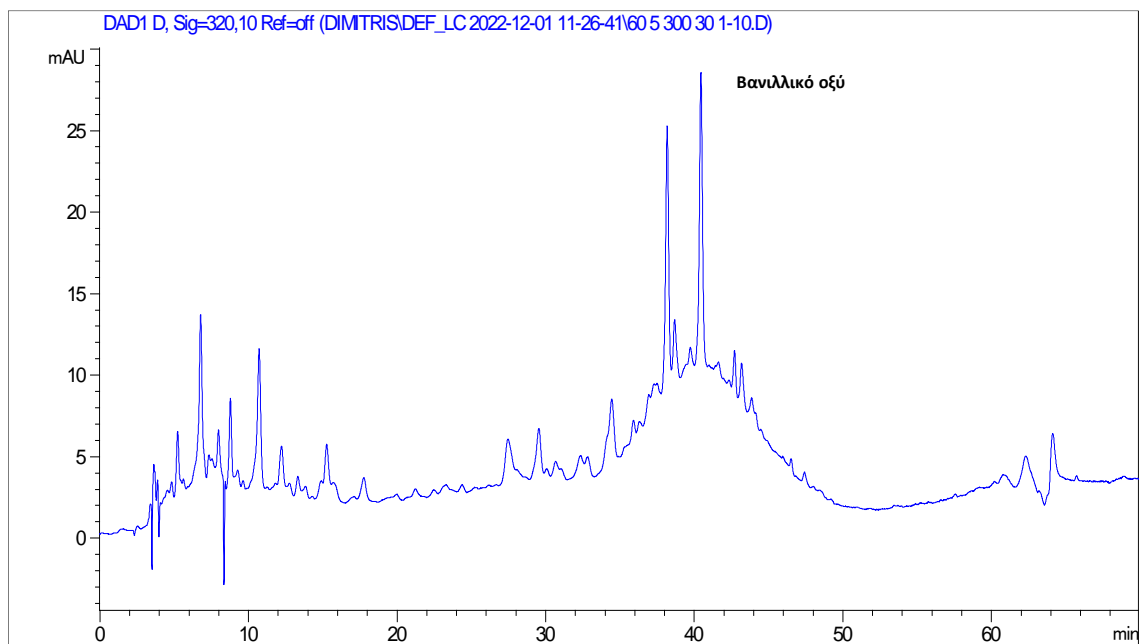
Σχήμα 5.1 Αντιπροσωπευτικό χρωματογράφημα στα 230 nm των λαμβανόμενων εκχυλισμάτων φαινολικών συστατικών ελαιοπυρήνα για διεργασία MAE.



Σχήμα 5.2 Αντιπροσωπευτικό χρωματογράφημα στα 280 nm των λαμβανόμενων εκχυλισμάτων φαινολικών συστατικών ελαιοπυρήνα για διεργασία MAE.



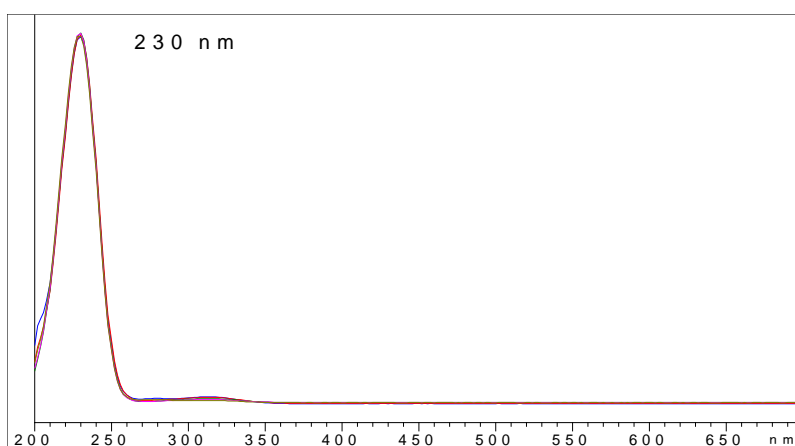
Σχήμα 5.3 Αντιπροσωπευτικό χρωματογράφημα στα 360 nm των λαμβανόμενων εκχυλισμάτων φαινολικών συστατικών ελαιοπυρήνα για διεργασία MAE.



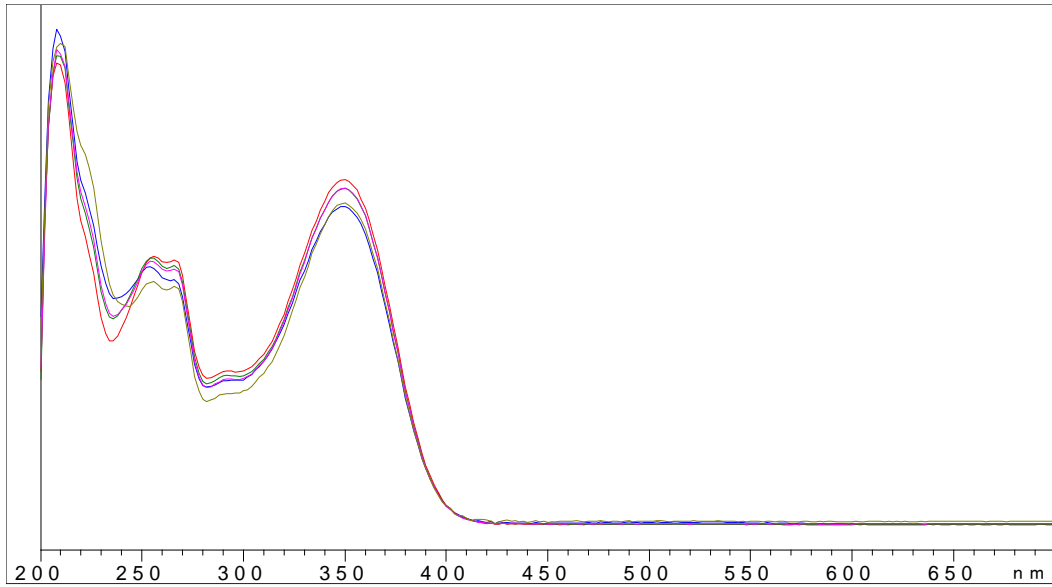
Σχήμα 5.4 Αντιπροσωπευτικό χρωματογράφημα στα 320 nm των λαμβανόμενων εκχυλισμάτων φαινολικών συστατικών ελαιοπυρήνα για διεργασία MAE.

Από το χρωματογράφημα στα 230 nm παρατηρείται η έκλυση της σεκοϊροειδούς, φαινολικής ένωσης, ελευρωπαϊνης, η οποία εκλύεται σε χρόνο 6.85 min και το φάσμα απορρόφησης της παρουσιάζεται στο Σχήμα 5.5. Από τα χρωματογραφήματα στα 230 και 280 nm παρατηρείται η έκλυση της φαινυλικής αλκοόλης, υδροξυτυροσόλης, η οποία εκλύεται σε χρόνο 43.19 min. Από το χρωματογράφημα

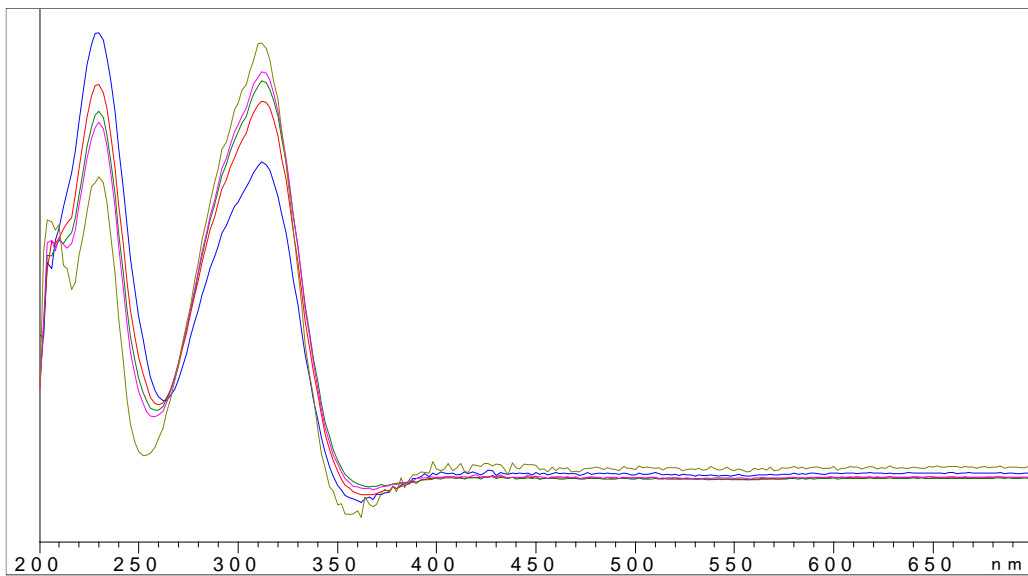
στα 360 nm παρατηρείται η έκλυση της φλαβονόλης, ρουτίνης, η οποία εκλύεται σε χρόνο 41.06 min αντίστοιχα. Στο Σχήμα 5.6 παρουσιάζεται το φάσμα απορρόφησης της ρουτίνης στα 360 nm. Στο χρωματογράφημα των 320 nm παρουσιάζεται μία κορυφή που αντιστοιχεί στο βανιλλικό οξύ, με χρόνο έκλυσης 41 min και στο Σχήμα 5.7 απεικονίζεται το φάσμα αυτής της κορυφής. Από τα παραπάνω αποτελέσματα προκύπτει ότι η εκχύλιση των φαινολικών συστατικών με τη διεργασία MAE ήταν αποτελεσματική, καθώς παραλήφθηκαν σημαντικές φαινολικές ενώσεις που παρουσιάζουν έντονη βιοδραστικότητα. Η ελευρωπαΐνη και η υδροξυτυροσόλη που ταυτοποιήθηκαν παραπάνω εμφανίζουν ιδιαίτερα ισχυρή αντιοξειδωτική δράση, αντιφλεγμονώδεις, καρδιοπροστατευτικές, αντικαρκινικές, και νευροπροστατευτικές ιδιότητες (Paiva-Martins & Kiritsakis, 2017). Επίσης, η ρουτίνη και το βανιλλικό οξύ που ανακτήθηκαν θεωρούνται πως έχουν αντιοξειδωτικές και αντιθρομβωτικές ιδιότητες (μειώνουν τη συγκόλληση των αιμοπεταλίων στο δοκιμαστικό σωλήνα) και ενισχύουν τα αγγεία του αίματος, μειώνουν την οξείδωση της χοληστερίνης, βοηθούν στην απώλεια περιττού βάρους, μειώνουν τη φλεγμονή και την αρτηριακή πίεση, καθώς και τον κίνδυνο για καρκίνο (Paiva-Martins & Kiritsakis, 2017).



Σχήμα 5.6 Φάσμα απορρόφησης ελευρωπαΐνης στα 230 nm, μέθοδος HPLC σε εκχύλισμα ελαιοπυρήνα



Σχήμα 5.7 Φάσμα απορρόφησης ρουτίνης στα 360 nm, μέθοδος HPLC σε εκχύλισμα ελαιοπυρήνα



Σχήμα 5.8 Φάσμα απορρόφησης βανιλικού οξέος στα 320 nm, μέθοδος HPLC σε εκχύλισμα ελαιοπυρήνα

5.2 Μελέτη παραλαβής καροτενοειδών από τσίπουρο τομάτας μέσω εκχύλισης υποβοηθούμενη με μικροκύματα

Η μελέτη εκχύλισης των καροτενοειδών από το τσίπουρο τομάτας περιλαμβάνει τον προσδιορισμό περιεκτικότητας σε ολικά καροτενοειδή των εκχυλισμάτων, της εκλεκτικότητας της εκχύλισης και τον διαχωρισμό/ταυτοποίηση των καροτενοειδών με τη μέθοδο της υγρής χρωματογραφίας (HPLC). Τα εκχυλίσματα που προέκυψαν είχαν πορτοκαλί χρώμα εξαιτίας των καροτενοειδών που περιείχονταν σε αυτά. (Εικόνες 5.3 και 5.4).



Εικόνα 5.3 Δοχείο εκχύλισης με δείγμα στερεού τσίπουρου τομάτας και διαλύτη οξικού αιθυλεστέρα πριν την εκχύλιση MAE (αριστερά) και μετά την εκχύλιση MAE (δεξιά).



Εικόνα 5.4 Γυάλινο βαζάκι με εκχύλισμα τσίπουρου τομάτας σε διαλύτη οξικό αιθυλεστέρα μετά τη διήθηση του με φίλτρο για τον διαχωρισμό από τη στερεά μήτρα.

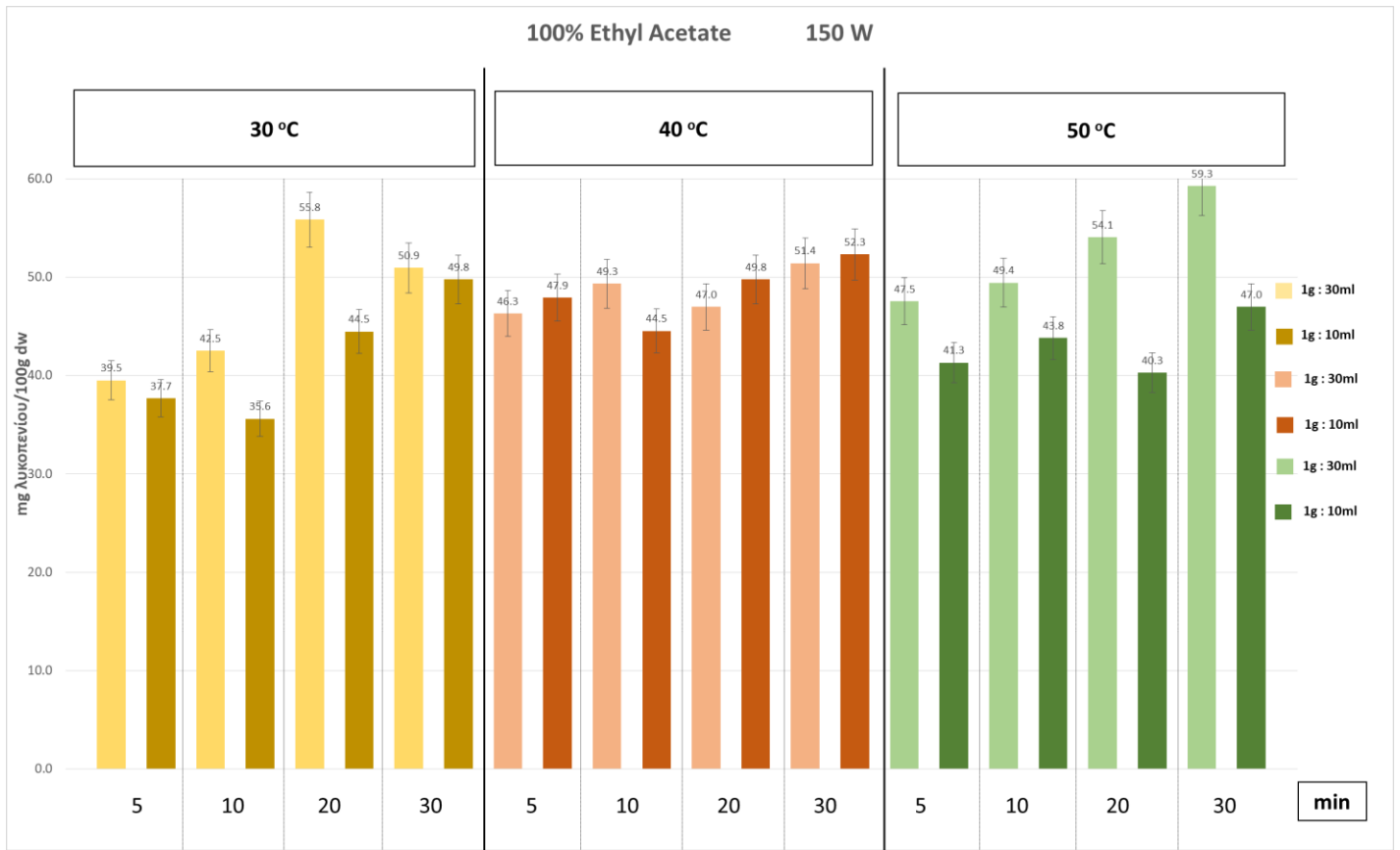
5.2.1 Προσδιορισμός περιεκτικότητας σε ολικά καροτενοειδή των εκχυλισμάτων από τσίπουρο τομάτας

Ο προσδιορισμός της περιεκτικότητας σε ολικά καροτενοειδή των εκχυλισμάτων πραγματοποιήθηκε με φασματοφωτομετρική μέθοδο σε βέλτιστο μήκος κύματος λ_{\max} (μήκος κύματος με μέγιστη απορρόφηση) του λυκοπένιου σε διαλύτη οξικό αιθυλεστέρα, το οποίο έχει τιμή 473 nm. Ο τρόπος έκφρασης της περιεκτικότητας των ολικών καροτενοειδών που επιλέχθηκε ήταν σε mg λυκοπένιου ανά 100 g ξηρής πρώτης ύλης (τσίπουρο τομάτας) πριν την εκχύλιση και γράφεται **mg λυκοπένιου / 100 g ξβ**. Η έκφραση αυτή βοηθάει στην ποσοτικοποίηση των εκχυλίσεων, δηλώνοντας την ποσότητα (σε mg) των ολικών καροτενοειδών εκφρασμένα ως λυκοπένιο που βρίσκονται σε ορισμένη μάζα (100 g) του στερεού παραπροϊόντος τσίπουρου τομάτας και στόχος ήταν η παραλαβή εκχυλισμάτων με όσο το δυνατόν πιο μεγάλη τιμή mg λυκοπένιου/100 g ξβ.

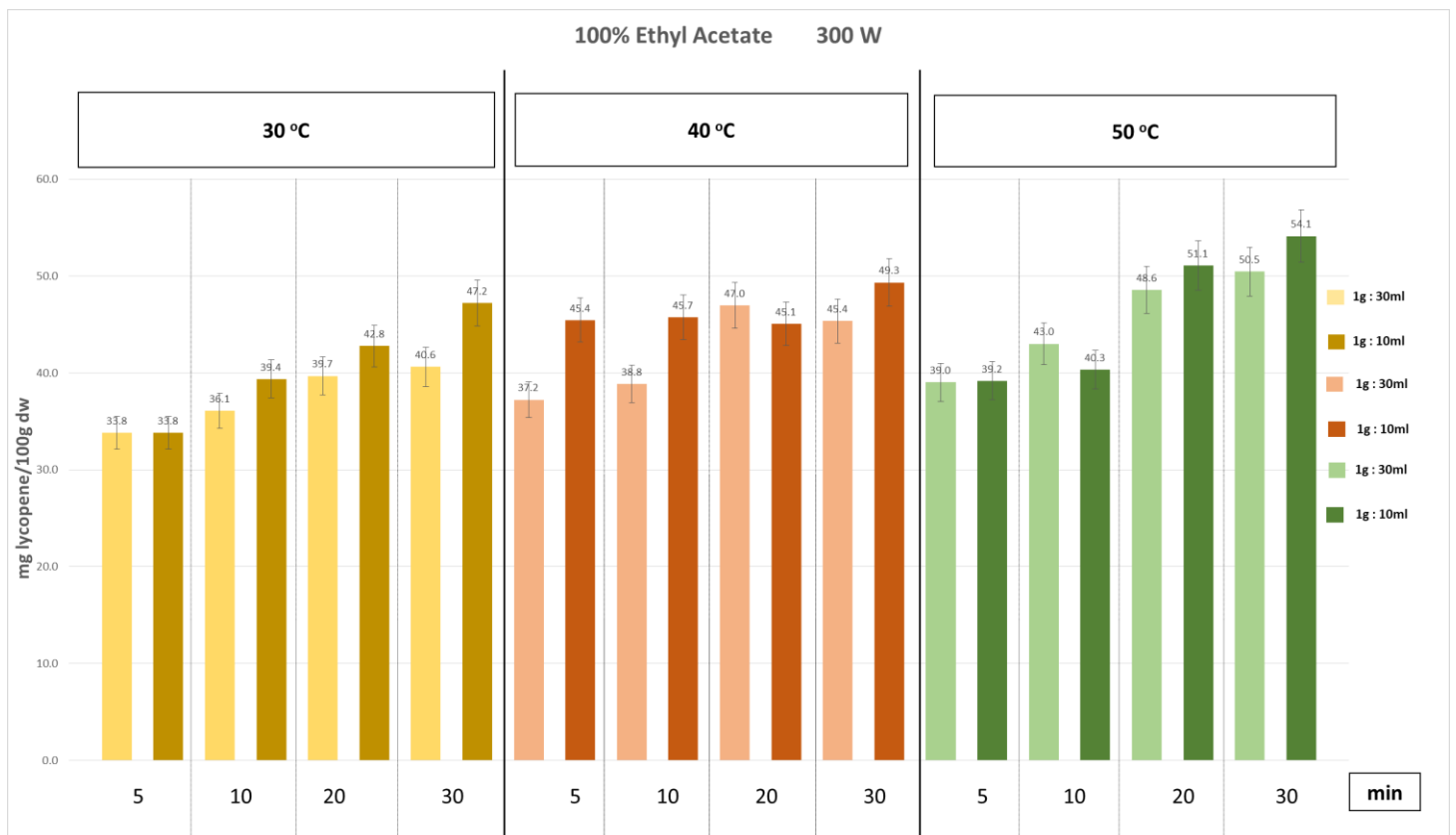
Οι παράμετροι που εξετάστηκαν ήταν: η αναλογία στερεού-υγρού (1:10, 1:30 g/mL), χρόνος (5, 10, 20, 30 min), ισχύς μικροκυμάτων (150, 300, 500 W) και θερμοκρασία εκχύλισης (30°C, 40°C, 50°C) με σκοπό τον εντοπισμό των βέλτιστων συνθηκών για την παραλαβή εκχυλισμάτων ολικών καροτενοειδών από τσίπουρο τομάτας. Ο διαλύτης που χρησιμοποιήθηκε σε όλες τις περιπτώσεις ήταν ο οξικός αιθυλεστέρας (100% ethyl acetate).

5.2.1.1 Επίδραση της αναλογίας στερεού : υγρού

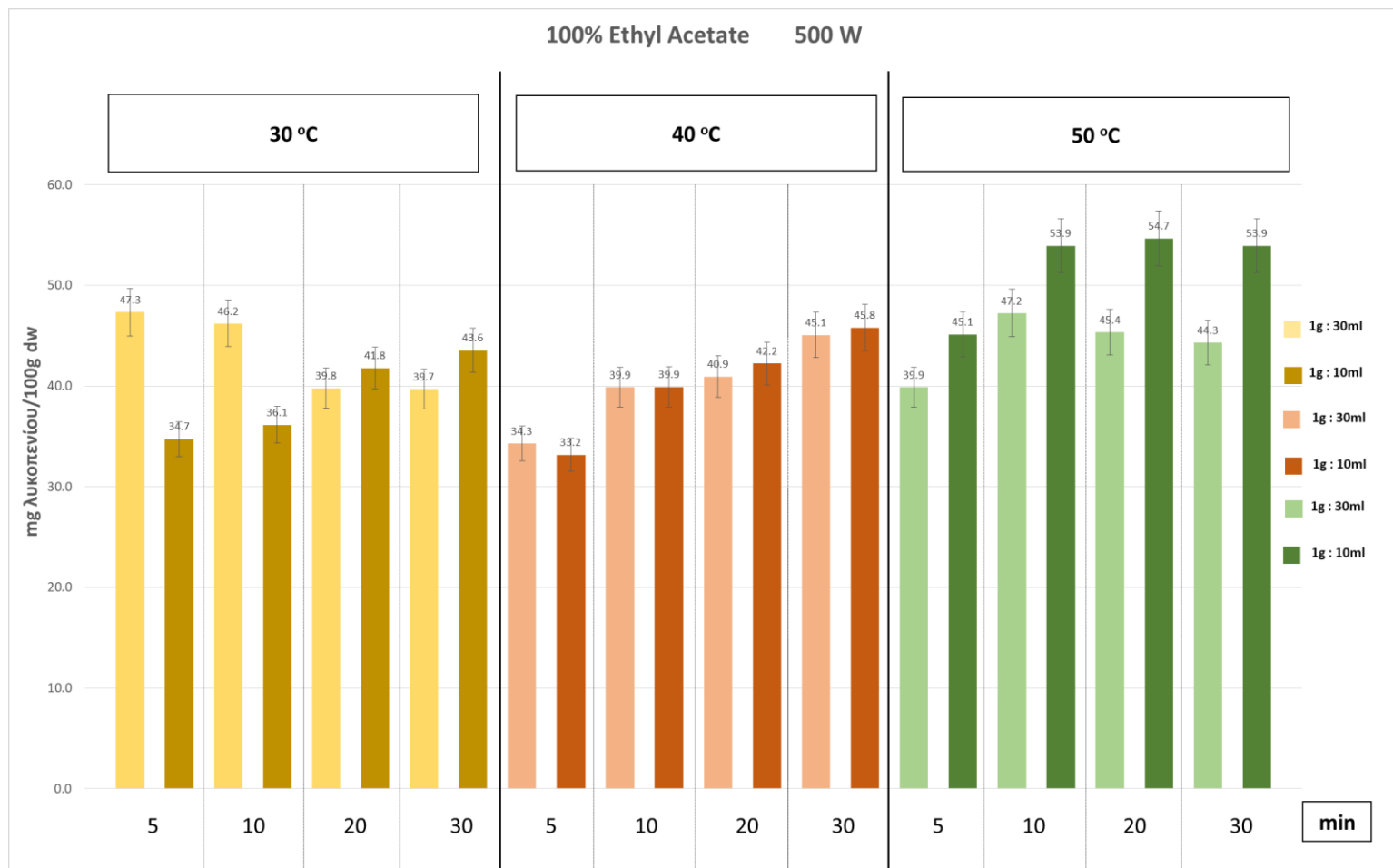
Οι αναλογίες στερεού : υγρού που μελετώνται είναι 1:10 και 1:30 g/mL. Η επίδραση τους στην περιεκτικότητα των εκχυλισμάτων σε ολικά καροτενοειδή συναρτήσει των υπόλοιπων παραμέτρων παρουσιάζονται στα Διαγράμματα 5.16, 5.17 και 5.18 που ακολουθούν.



Διάγραμμα 5.16 Απόδοση σε ολικά καροτενοειδή εκφρασμένη εκφραζόμενη ως λυκοπένιο (mg λυκοπενίου /100g ξβ) για αναλογίες στερεού : υγρού 1:30 και 1:10 g/mL συναρτήσει της ισχύος των μικροκυμάτων 150 W, των θερμοκρασιών 30, 40 και 50 °C και του χρόνου 5,10, 20 και 30 min, με διαλύτη οξικό αιθυλεστέρα σε διεργασία MAE.



Διάγραμμα 5.17 Απόδοση σε ολικά καροτενοειδή εκφρασμένη εκφραζόμενη ως λυκοπένιο (mg λυκοπενίου /100g ξβ) για αναλογίες στερεού : υγρού 1:30 και 1:10 g/mL συναρτήσει της ισχύος των μικροκυμάτων 300 W, των θερμοκρασιών 30, 40 και 50 °C και του χρόνου 5,10, 20 και 30 min, με διαλύτη οξικό αιθυλεστέρα σε διεργασία MAE.

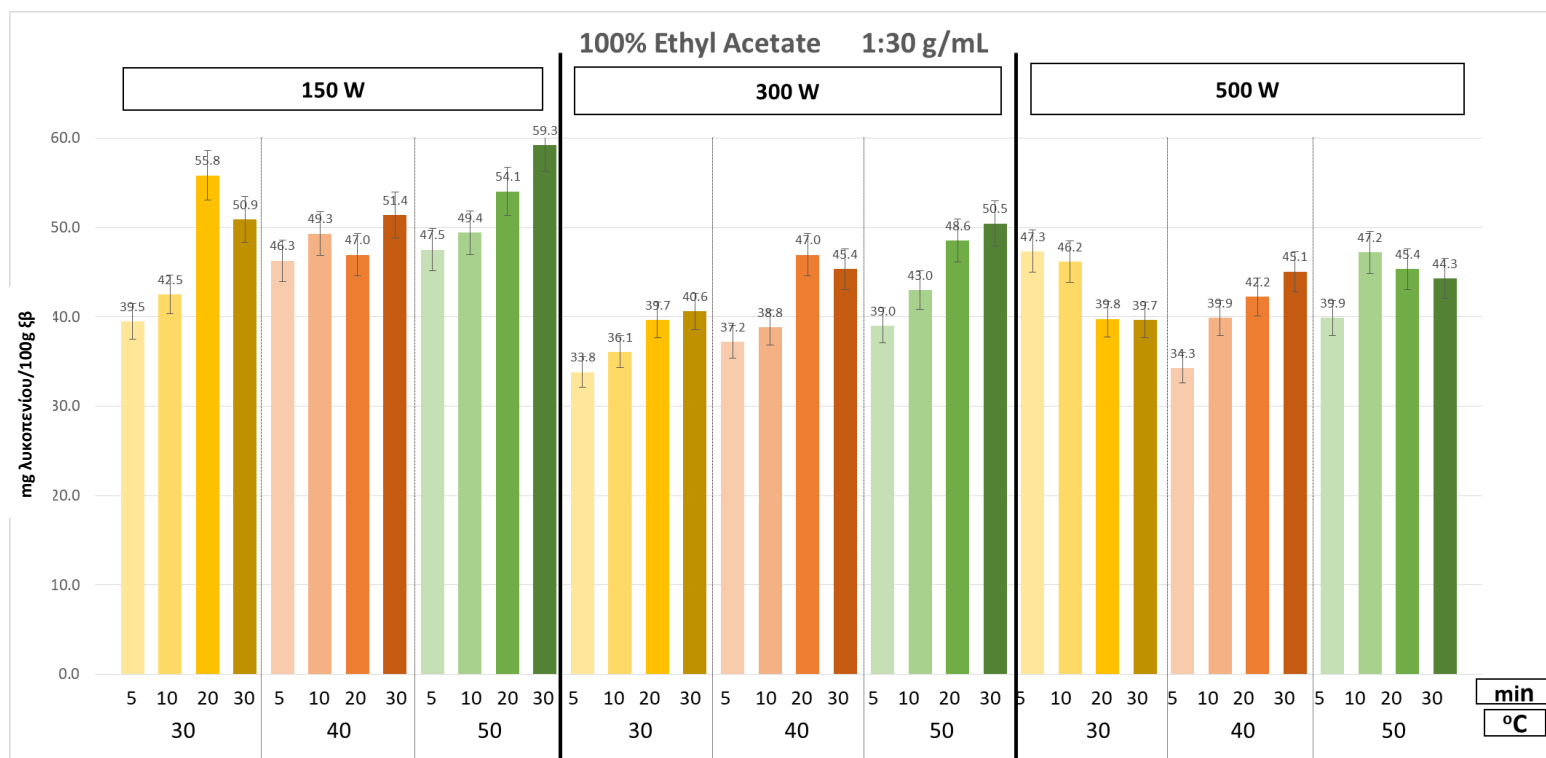


Διάγραμμα 5.18 Απόδοση σε ολικά καροτενοειδή εκφρασμένη εκφραζόμενη ως λυκοπένιο (mg λυκοπενίου /100g ξβ) για αναλογίες στερεού : υγρού 1:30 και 1:10 g/mL συναρτήσει της ισχύος των μικροκυμάτων 500 W, των θερμοκρασιών 30, 40 και 50 °C και του χρόνου 5,10, 20 και 30 min, με διαλύτη οξικό αιθυλεστέρα σε διεργασία MAE.

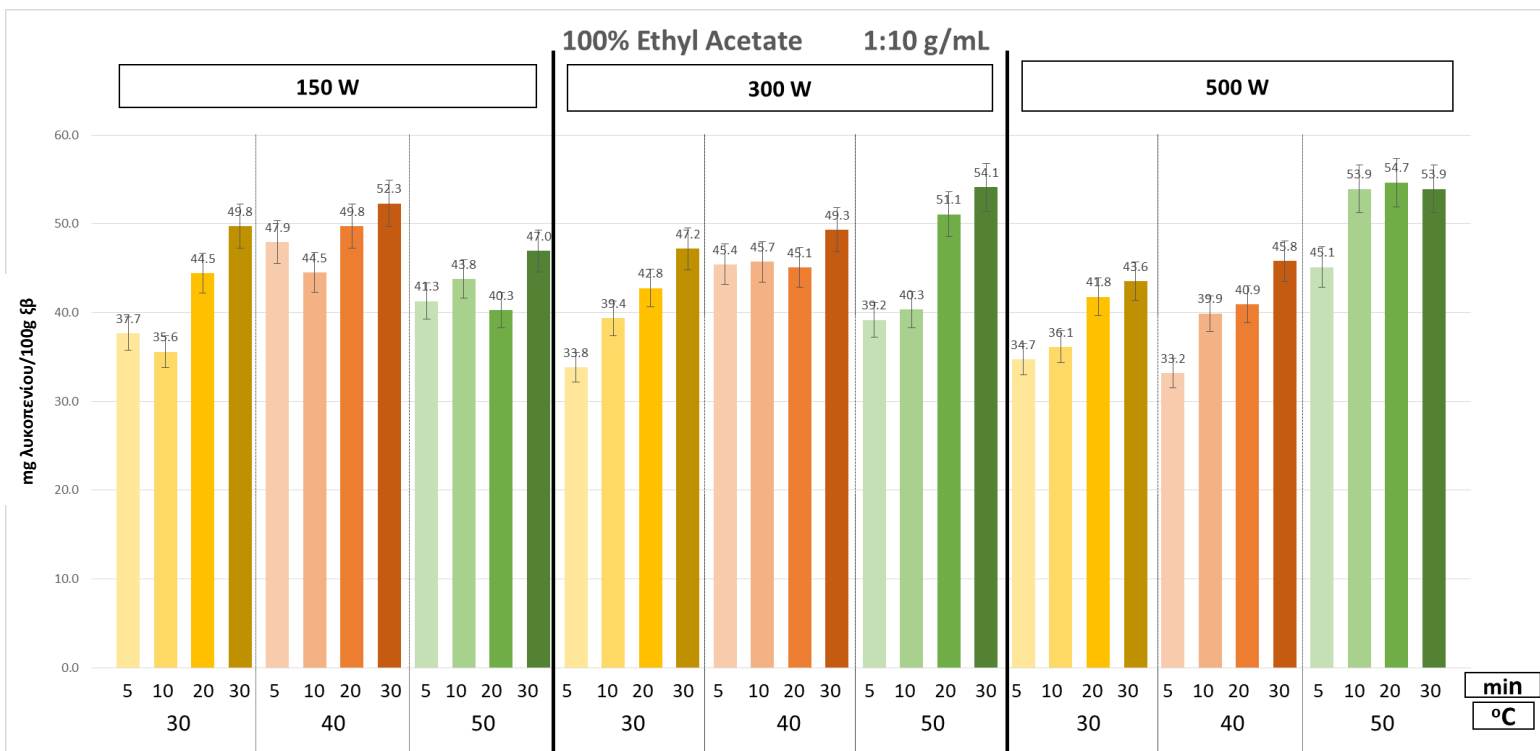
Παρατηρώντας τα Διαγράμματα 5.16, 5.17 και 5.18 ως προς την επίδραση της αναλογίας στερεού : υγρού και μετά από στατιστική ανάλυση προκύπτει ότι οι αναλογίες 1:30 και 1:10 g/mL δεν οδηγούν σε σημαντικές διαφοροποιήσεις των τιμών των ολικών καροτενοειδών που μετρούνται στα εκχυλίσματα ($P>0.05$). Δεδομένου του ότι η χρήση μικρότερου όγκου διαλύτη κατά την εκχύλιση οδηγεί σε μια πιο οικονομικά συμφέρουσα διεργασία, η αναλογία 1:10 g/mL μπορεί να επιλεγεί ως βέλτιστη. Αναλυτικότερα ωστόσο παρατηρείται ότι στα 150 W η αναλογία 1:30 παρουσιάζει κατά μέσο όρο μεγαλύτερη απόδοση σε ολικά καροτενοειδή από την αναλογία 1:10. Σημειώνονται μάλιστα και οι ανώτατες τιμές απόδοσης ολικών καροτενοειδών, οι οποίες είναι 59.3 και 55.8 mg λυκοπενίου/100 g ξβ και παρατηρούνται σε συνθήκες 1:30 g/mL, 150W, 50°C, 30 min και 1:30 g/mL, 150W, 30°C, 20 min αντίστοιχα. Για ισχύ μικροκυμάτων 300 και 500 W, μεγαλύτερη απόδοση σε ολικά καροτενοειδή κατά μέσο όρο παρουσιάζει η αναλογία 1:10 g/mL, με μέγιστες τιμές 54.7 και 54.1 mg λυκοπενίου/100g ξβ σε συνθήκες: 500 W, 50°C, 20 min και 300W, 50°C, 30 min αντίστοιχα.

5.2.1.2 Επίδραση του χρόνου εκχύλισης

Οι χρόνοι εκχύλισης που μελετώνται είναι 5, 10, 20 και 30 min. Η επίδραση τους στην περιεκτικότητα των εκχυλισμάτων σε ολικά καροτενοειδή συναρτίζει των υπόλοιπων παραμέτρων παρουσιάζεται στα Διαγράμματα 5.19 και 5.20.



Διάγραμμα 5.19 Απόδοση σε ολικά καροτενοειδή εκφρασμένη εκφραζόμενη ως λυκοπένιο (mg λυκοπενίου / 100g ξβ) για χρόνους εκχύλισης 5, 10, 20 και 30 min, συναρτίζει της αναλογίας στερεού : υγρού 1:30 g/mL, της ισχύος των μικροκυμάτων 150, 300 και 500 W, και της θερμοκρασίας 30, 40 και 50 °C, με διαλύτη οξικό αιθυλεστέρα σε διεργασία MAE

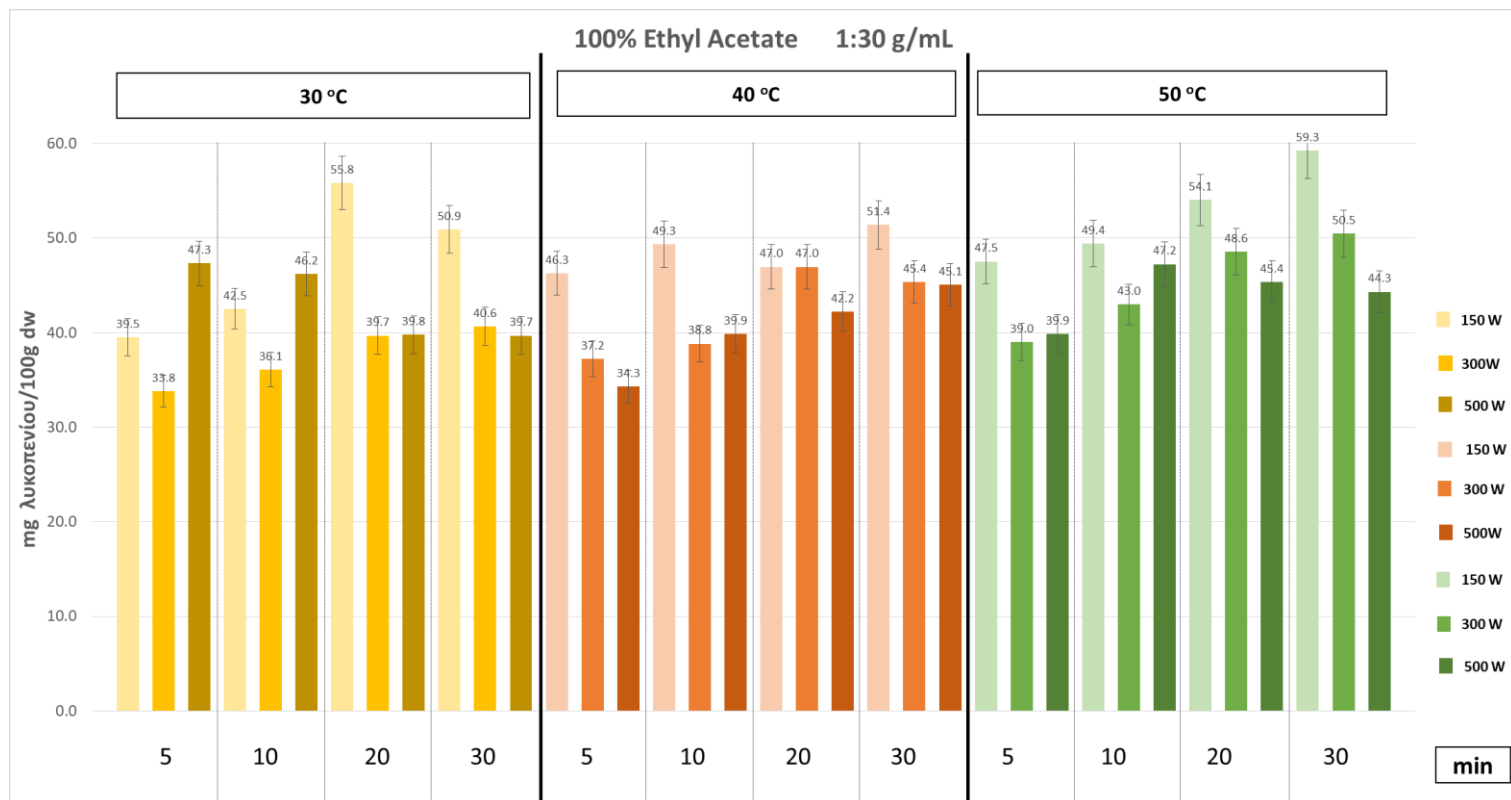


Διάγραμμα 5.20 Απόδοση σε ολικά καροτενοειδή εκφρασμένη εκφραζόμενη ως λυκοπένιο (mg λυκοπενίου / 100g ξβ) για χρόνους εκχύλισης 5, 10, 20 και 30 min, συναρτήσει της αναλογίας στερεού : υγρού 1:10 g/mL, της ισχύος των μικροκυμάτων 150, 300 και 500 W, και της θερμοκρασίας 30, 40 και 50 °C, με διαλύτη οξικό αιθυλεστέρα σε διεργασία MAE

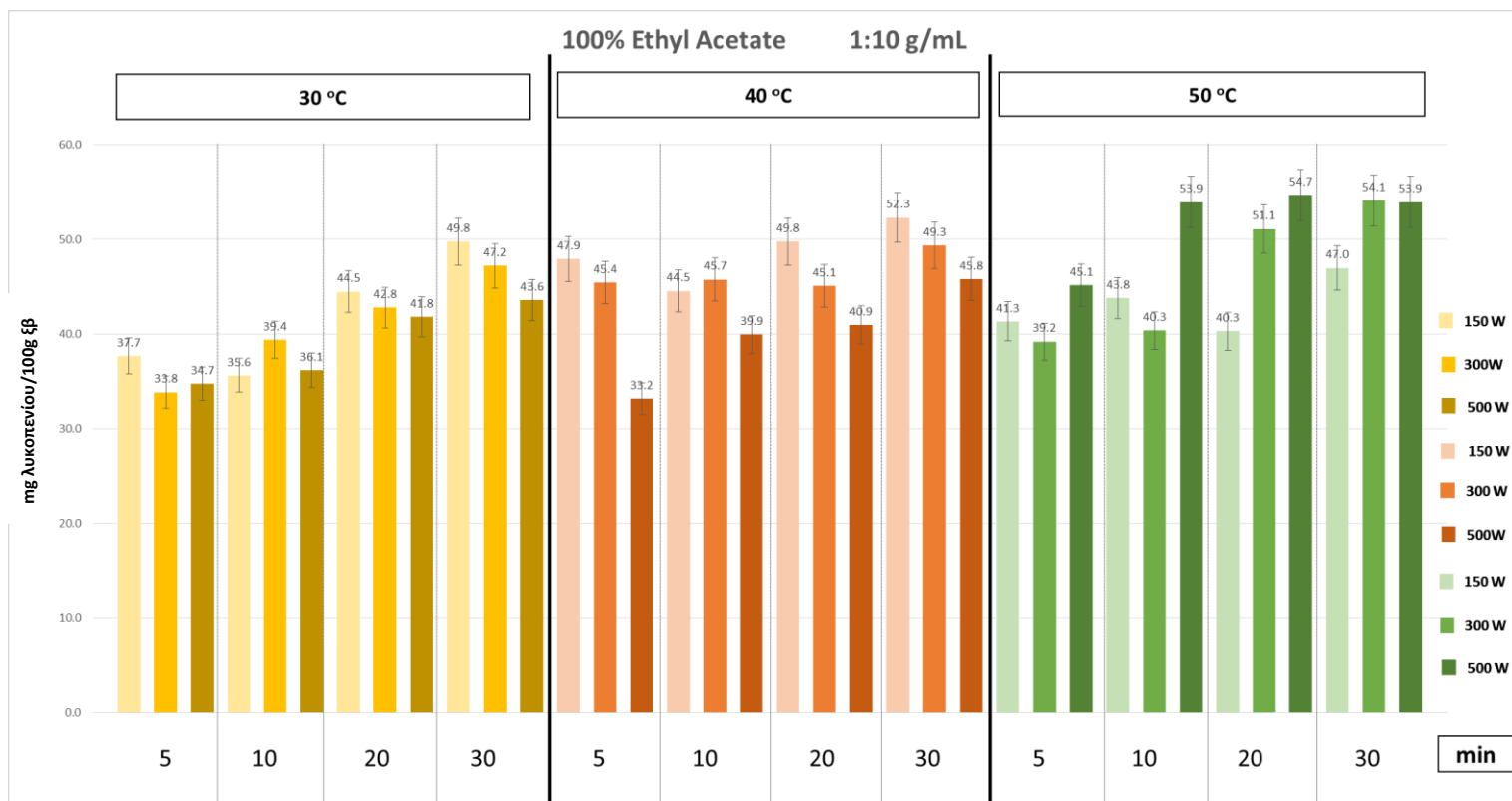
Εξετάζοντας τα Διαγράμματα 5.19 και 5.20 ως προς το χρόνο εκχύλισης μια γενική παρατήρηση που προκύπτει είναι ότι όσο αυξάνεται η τιμή του χρόνου αυξάνεται και η απόδοση σε ολικά καροτενοειδή. Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων φανερώνει ότι η επίδραση του χρόνου είναι σημαντική ($P < 0.05$). Αναλυτικότερα, από το Διάγραμμα 5.19 και 5.20, μετά από εφαρμογή του στατιστικού τεστ Duncan, προκύπτει ότι οι χρόνοι 20 και 30 min εμφανίζουν κατά μέσο όρο τη μεγαλύτερη απόδοση. Οι τιμές των μέσων όρων είναι 46.03 και 48.34 mg λυκοπενίου/100g ξβ για 20 και 30 min αντίστοιχα. Η μεγαλύτερη τιμή απόδοσης παρατηρείται σε χρόνο 30 min και είναι 59.3 mg λυκοπενίου/100g ξβ σε συνθήκες 1:30 g/mL, 150W, 50°C. Δεύτερη υψηλότερη τιμή παρατηρείται σε χρόνο 20 min, είναι 55.8 mg λυκοπενίου/100 g ξβ και έχει συνθήκες 1:30 g/mL, 150W, 30°C, 20 min. Δεδομένου του ότι οι χρόνοι 20 και 30 min δεν παρουσιάζουν ιδιαίτερη στατιστική διαφορά στην ποσοτική απόδοση ολικών καροτενοειδών, η τιμή 20 min μπορεί να επιλεγεί για λόγους εξοικονόμησης χρόνου.

5.2.1.3 Επίδραση της ισχύος των μικροκυμάτων

Οι τιμές της ισχύος μικροκυμάτων που μελετώνται είναι 150, 300 και 500 W. Η επίδραση τους στην περιεκτικότητα των εκχυλισμάτων σε ολικά καροτενοειδή συναρτήσε των υπόλοιπων παραμέτρων παρουσιάζεται στα Διαγράμματα 5.21 και 5.22.



Διάγραμμα 5.21 Απόδοση σε ολικά καροτενοειδή εκφρασμένη εκφραζόμενη ως λυκοπένιο (mg λυκοπενίου / 100g ξβ) για ισχύ μικροκυμάτων 150, 300 και 500 W, συναρτήσε της αναλογίας στερεού : υγρού 1:30 g/mL, του χρόνου 5, 10, 20 και 30 min και της θερμοκρασίας 30, 40 και 50 °C, με διαλύτη οξικό αιθυλεστέρα σε διεργασία MAE.



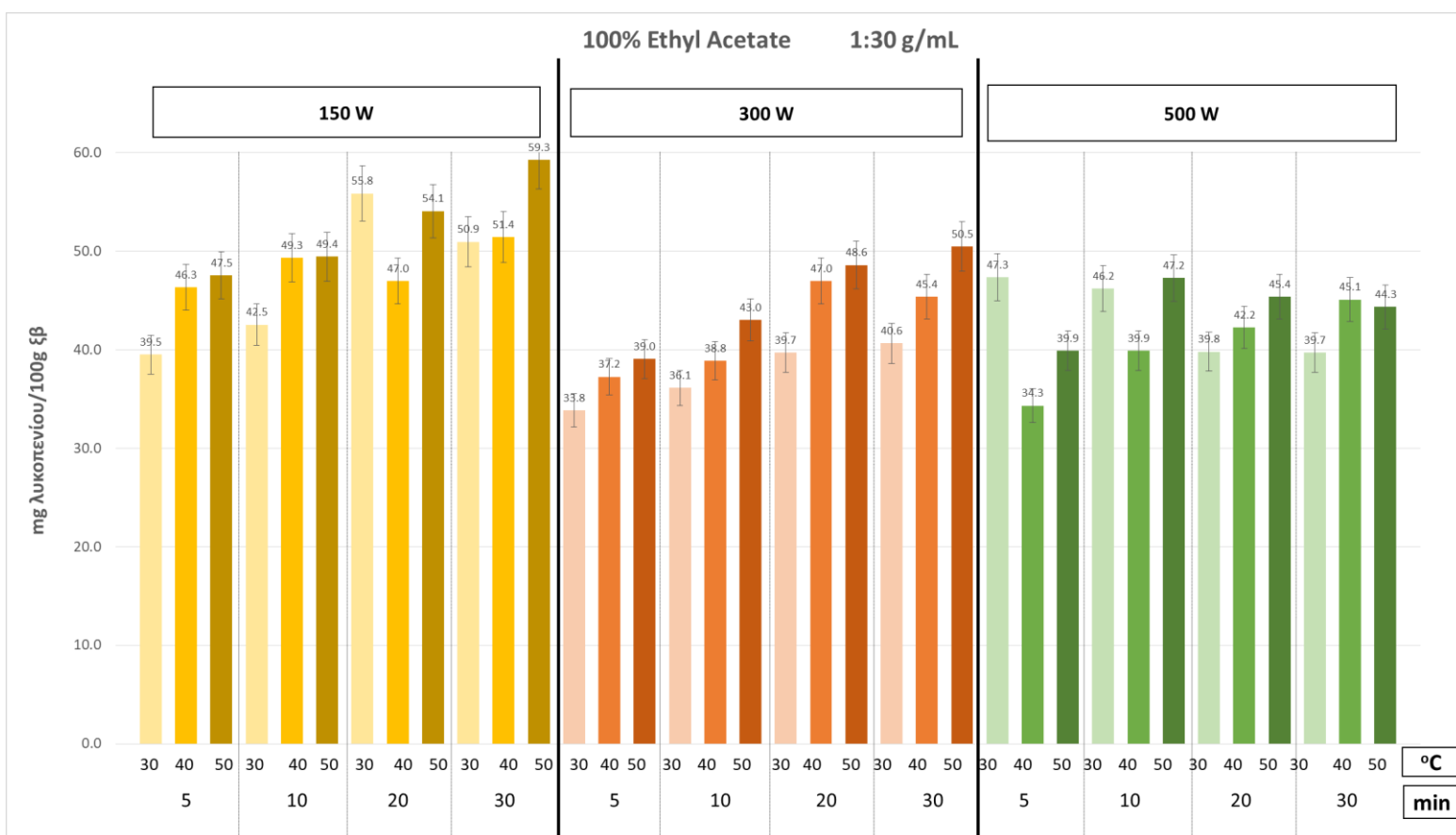
Διάγραμμα 5.22 Απόδοση σε ολικά καροτενοειδή εκφρασμένη εκφραζόμενη ως λυκοπένιο (mg λυκοπενίου / 100g ξβ) για ισχύ μικροκυμάτων 150, 300 και 500 W, συναρτήσει της αναλογίας στερεού : υγρού 1:10 g/mL, του χρόνου 5, 10, 20 και 30 min και της θερμοκρασίας 30, 40 και 50 °C, με διαλύτη οξικό αιθυλεστέρα σε διεργασία MAE.

Από τα Διαγράμματα 5.21 και 5.22 ως προς την ισχύ μικροκυμάτων παρατηρείται ότι τα 150 W παρουσιάζουν κατά μέσο όρο μεγαλύτερες τιμές απόδοσης σε ολικά καροτενοειδή. Κατόπιν στατιστικής ανάλυσης προκύπτει ότι η επίδραση της ισχύος μικροκυμάτων είναι σημαντική ($P < 0.05$), και με τη βοήθεια του τεστ Duncan οι 3 παράμετροι της ισχύος της MAE ομαδοποιούνται σε δυο κατηγορίες. Στην πρώτη ομάδα ανήκουν τα εκχυλίσματα που προέκυψαν από εκχύλιση στα 150 W τα οποία παρουσιάζουν υψηλή απόδοση σε ολικά καροτενοειδή κατά μέσο όρο 47 mg λυκοπενίου/100g ξβ ενώ στην δεύτερη κατηγορία εκείνα στα 300 και 500 W με απόδοση σε ολικά καροτενοειδή 43 mg λυκοπενίου/100g ξβ αντίστοιχα. Σημειώνεται ότι στα 150 W παρατηρούνται οι υψηλότερες τιμές απόδοσης καροτενοειδών, δηλαδή 59.3 και 55.8 mg λυκοπενίου/100 g ξβ για τις εξής συνθήκες: 1:30 g/mL, 50°C, 30 min και 1:30 g/mL, 30°C, 20 min αντίστοιχα. Τα αποτελέσματα της μελέτης της επίδρασης των μικροκυμάτων είναι ιδιαίτερα ικανοποιητικά καθώς με εφαρμογή χαμηλής ισχύς επιτυγχάνονται πιο αποτελεσματικές εκχυλίσεις, γεγονός που καθιστά τη διεργασία MAE οικονομικά και ενεργειακά συμφέρουσα. Η εφαρμογή μεγαλύτερης ισχύς μικροκυμάτων, οδηγεί στη διοχέτευση μεγαλύτερου ποσού ενέργειας μέσω ακτινοβολίας στο δείγμα και πιο απότομη θέρμανση του λόγω της εντονότερης περιστροφής των διπόλων και της μετανάστευσης των ιόντων. Ωστόσο, απότομη άνοδος της θερμοκρασίας ενδεχομένως επιφέρει την υποβάθμιση και την

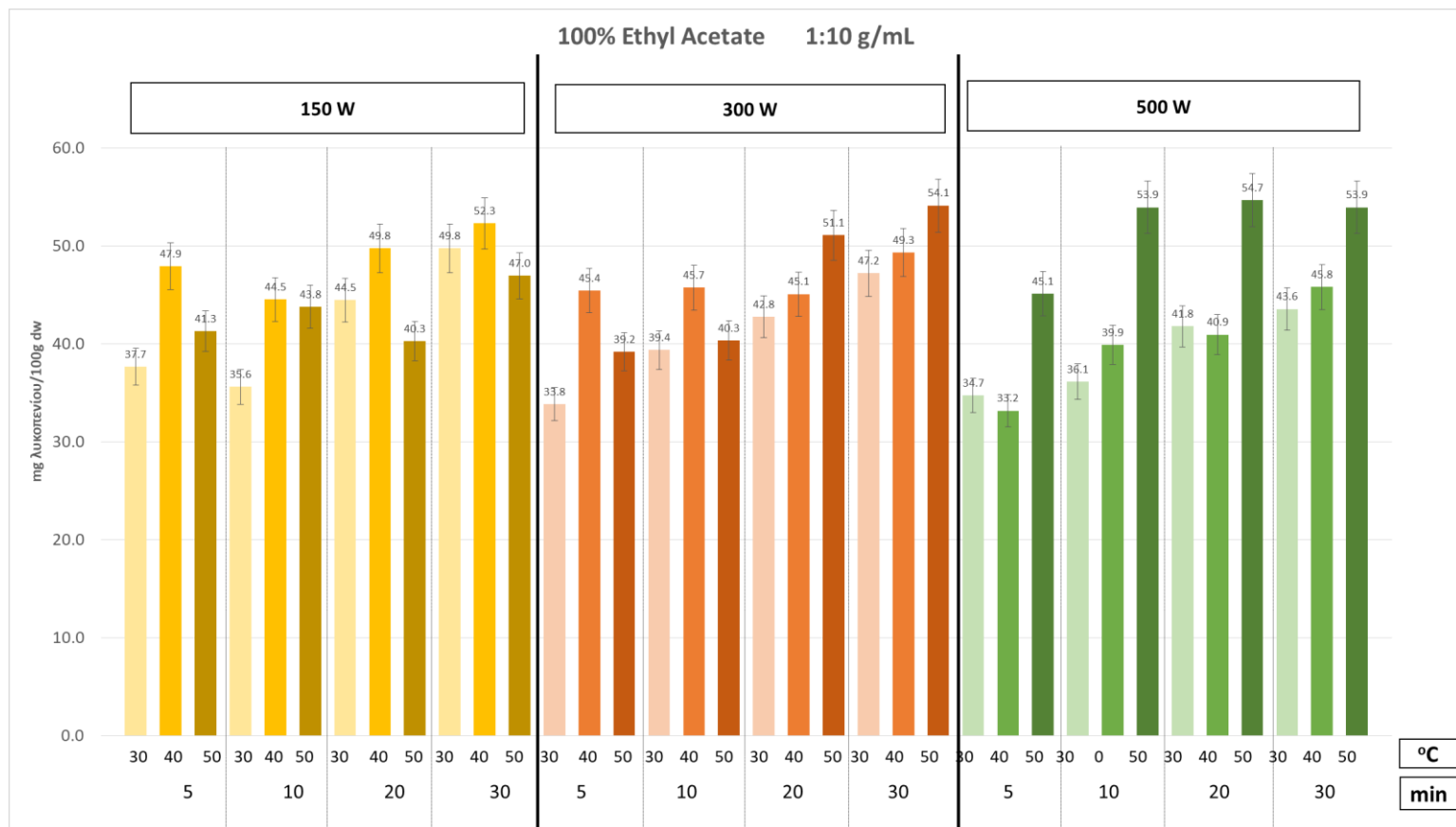
καταστροφή των καρτενοειδών που είναι θερμοευαίσθητες ουσίες (Veggi et al, 2013).

5.2.1.4 Επίδραση της θερμοκρασίας εκχύλισης

Οι τιμές της θερμοκρασίας που μελετώνται είναι 30, 40 και 50 °C. Η επίδραση τους στην περιεκτικότητα των εκχυλισμάτων σε ολικά καρτενοειδή συναρτήσε των υπόλοιπων παραμέτρων παρουσιάζεται στα Διαγράμματα 5.23 και 5.24.



Διάγραμμα 5.23 Απόδοση σε ολικά καρτενοειδή εκφρασμένη εκφραζόμενη ως λυκοπένιο (mg λυκοπενίου / 100g ξβ) για θερμοκρασία εκχύλισης 30, 40 και 50 °C, συναρτήσε της αναλογίας στερεού : υγρού 1:30 g/mL, του χρόνου 5, 10, 20 και 30 min και της ισχύος μικροκυμάτων 150, 300 και 500 W, με διαλύτη οξικό αιθυλεστέρα σε διεργασία ΜΑΕ.



Διάγραμμα 5.24 Απόδοση σε ολικά καροτενοειδή εκφρασμένη εκφραζόμενη ως λυκοπένιο (mg λυκοπενίου / 100g ξβ) για θερμοκρασία εκχύλισης 30, 40 και 50 °C, συναρτήσεως της αναλογίας στερεού : υγρού 1:10 g/mL, του χρόνου 5, 10, 20 και 30 min και της ισχύος μικροκυμάτων 150, 300 και 500 W, με διαλύτη οξικό αιθυλεστέρα σε διεργασία MAE.

Εξετάζοντας τα Διαγράμματα 5.23 και 5.24 ως προς τη θερμοκρασία εκχύλισης παρατηρείται ότι με την αύξηση της θερμοκρασίας αυξήθηκε και η απόδοση σε ολικά καροτενοειδή στα εκχυλίσματα. Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων φανερώνει ότι η επίδραση της θερμοκρασίας είναι σημαντική ($P < 0.05$). Αναλυτικότερα, από το Διάγραμμα 5.13 και 5.24, μετά από εφαρμογή του στατιστικού τεστ Duncan, προκύπτει ότι μεγαλύτερη απόδοση σε ολικά καροτενοειδή εμφανίζει η θερμοκρασία των 50 °C με μ.ο. 47.6 mg λυκοπενίου/100g ξβ, ακολουθεί η θερμοκρασία των 40 °C με μ.ο. 44.3 mg λυκοπενίου/100g ξβ και τέλος η θερμοκρασία των 30 °C με μ.ο. 41.3 mg λυκοπενίου/100g ξβ. Η ανώτατη τιμή απόδοσης παρατηρείται σε θερμοκρασία 50 °C, είναι 59.3 mg λυκοπενίου/100g ξβ και έχει συνθήκες 1:30 g/mL, 150W, 50°C, 30 min.

5.2.2 Προσδιορισμός της εκλεκτικότητας της εκχύλισης

Μέρος της μελέτης παραλαβής καροτενοειδών από το τσίπουρο τομάτας μέσω εκχύλισης υποβοηθούμενη με μικροκύματα ήταν ο προσδιορισμός της εκλεκτικότητας της εκχύλισης. Ο προσδιορισμός αυτός πραγματοποιήθηκε μέσω του υπολογισμού της συγκέντρωσης των εκχυλισμάτων σε καροτενοειδή και του υπολογισμού του στερεού υπολείμματος των εκχυλισμάτων αυτών με σταθμική μέθοδο απομάκρυνσης του διαλύτη μέσω ξήρανσης. Σκοπός ήταν η παραλαβή εκχυλισμάτων που παρουσιάζουν υψηλή συγκέντρωση ολικών καροτενοειδών και χαμηλό στερεό υπόλειμμα κατόπιν ξήρανσης, ώστε η εκλεκτικότητα εκφρασμένη σε **mg λυκοπενίου/g στερεού εκχυλίσματος** να έχει υψηλή τιμή και αυτό να φανερώνει ότι ο διαλύτης δεν έχει παραλάβει από τη στερεή μήτρα και άλλες δευτερεύουσες ουσίες πέρα των καροτενοειδών.

Στον Πίνακα 5.3 που ακολουθεί παρουσιάζονται συγκεντρωμένες οι τιμές εκλεκτικότητας για το σύνολο των εκχυλίσεων που πραγματοποιήθηκαν πάνω στο παραπροϊόν τσίπουρο τομάτας.

Πίνακας 5.3 Εκλεκτικότητα εκχύλισης δειγμάτων τσίπουρου τομάτας

Ισχύς μικροκυμάτων (Watt)	Θερμοκρασία εκχύλισης (°C)	Χρόνος εκχύλισης (min)	1:10 g/mL	1:30 g/mL
			Εκλεκτικότητα (mg λυκοπενίου/g στερ εκχ)	
150	30	5	3.84	1.06
150	30	10	6.05	1.20
150	30	20	3.91	4.70
150	30	30	4.20	1.40
150	40	5	4.17	1.17
150	40	10	3.68	1.00
150	40	20	4.35	1.24
150	40	30	4.40	1.27
150	50	5	6.01	0.95
150	50	10	4.33	1.24
150	50	20	5.69	4.38
150	50	30	6.21	4.88
300	30	5	3.21	0.92
300	30	10	5.19	1.00
300	30	20	6.66	1.21
300	30	30	6.34	1.30
300	40	5	4.65	1.02
300	40	10	4.09	1.15
300	40	20	4.17	1.30
300	40	30	4.09	1.24
300	50	5	5.40	2.55
300	50	10	4.32	2.78

300	50	20	4.29	1.17
300	50	30	4.81	1.60
500	30	5	5.57	1.09
500	30	10	3.00	3.51
500	30	20	3.85	1.64
500	30	30	4.37	1.30
500	40	5	2.73	1.35
500	40	10	3.61	1.23
500	40	20	3.99	1.38
500	40	30	3.24	1.31
500	50	5	3.25	4.07
500	50	10	5.12	2.69
500	50	20	4.91	4.54
500	50	30	4.31	6.17

Εξετάζοντας τα δεδομένα του Πίνακα 5.3 και με βοήθεια στατιστικής ανάλυσης προκύπτει ότι η μόνη παράμετρος που έχει σημαντική επίδραση στην απόδοση στερεού εκχυλίσματος είναι η αναλογία στερεού : υγρού. Η αναλογία 1:10 g/mL παρουσιάζει υψηλότερες τιμές εκλεκτικότητας από την αναλογία 1:30. Ο μ.ο. για 1:10 g/mL είναι 4.5 mg λυκοπενίου/g στερεού εκχυλίσματος ενώ για 1:30 g/mL είναι 1.9 mg λυκοπενίου/g στερεού εκχυλίσματος. Η χρήση μεγαλύτερου όγκου διαλύτη (30 mL) οδηγεί ενδεχομένως στη διάλυση και απομάκρυνση από τη στερεά μήτρα και άλλων ξένων ουσιών εκτός των καροτενοειδών. Επομένως, η αναλογία 1:10 g/mL κρίνεται ως πιο κατάλληλη και συμβάλει ταυτόχρονα στην εξοικονόμηση διαλύτη.

5.2.3 Συζήτηση αποτελεσμάτων και σύγκριση με άλλα πειραματικά και βιβλιογραφικά δεδομένα

Από τη μελέτη των παραμέτρων της εκχύλισης με στερεή μήτρα από τσίπουρο τομάτας υποβοηθούμενη με μικροκύματα για παραλαβή καροτενοειδών προέκυψε ότι μεγαλύτερη απόδοση ολικών καροτενοειδών (mg λυκοπενίου/100g ξβ) παρουσιάζουν οι εξής παράμετροι:

- η αναλογία στερεού υγρού 1:10 g/mL
- ο χρόνος 20 min
- η ισχύς μικροκυμάτων 150 W
- η θερμοκρασία 50 °C

Υψηλότερη εκλεκτικότητα εκχύλισης παρουσιάζουν οι παράμετροι:

- η αναλογία στερεού υγρού 1:10 g/mL
- οι υπόλοιπες παράμετροι δεν επηρεάζουν την εκλεκτικότητα.

Σκοπός της μελέτης είναι η παραλαβή εκχυλισμάτων που να συγκεντρώνουν τα βέλτιστα χαρακτηριστικά, δηλαδή υψηλή τιμή απόδοσης ολικών καροτενοειδών και

υψηλή εκλεκτικότητα και να προκύπτουν από διεργασία εκχύλισης με βέλτιστες παραμέτρους, δηλαδή μικρό χρόνο εκχύλισης, χρήση μικρού όγκου διαλύτη, χαμηλή θερμοκρασία και χαμηλή ισχύ μικροκυμάτων για εξοικονόμηση ενέργειας. Στον Πίνακα 5.4 που ακολουθεί παρουσιάζονται τα εκχυλίσματα που συγκεντρώνουν όσο το δυνατόν περισσότερα από αυτά τα βέλτιστα χαρακτηριστικά.

Πίνακας 5.4 Εκχυλίσματα τσίπουρου τομάτας με βέλτιστα χαρακτηριστικά

Αναλογία στερεού:υγρού (g/mL)	Χρόνος εκχύλισης (min)	Συγκέντρωση διαλύτη (% Ethyl acetate)	Ισχύς μικροκυμάτων (Watt)	Θερμοκρασία εκχύλισης (°C)	Απόδοση σε ολικά καροτενοειδή (mg λυκοπενίου/100g ξβ)	Εκλεκτικότητα (mg λυκοπενίου /g στερεό εκχ)
1:30	30	100	150	50	59.3	4.88
1:30	20	100	150	30	55.8	4.70
1:10	20	100	500	50	54.7	4.91
1:30	20	100	150	50	54.1	4.38
1:10	30	100	300	50	54.1	4.81

Στη συνέχεια, πραγματοποιείται σύγκριση των αποτελεσμάτων από την παραπάνω μελέτη (παραλαβή καροτενοειδών από τσίπουρο τομάτας μέσω εκχύλισης υποβοηθούμενη με μικροκύματα) με τα αποτελέσματα παραλαβής καροτενοειδών από την ίδια πρώτη ύλη (τσίπουρο τομάτας) μέσω εξαντλητικής εκχύλισης σταθερής κλίνης (fixed bed reaction).

Ακολουθεί ο Πίνακας 5.5 στον οποίο παρουσιάζονται οι συνθήκες και τα αποτελέσματα της εξαντλητικής εκχύλισης που πραγματοποιήθηκε με τσίπουρο τομάτας ως στερεή πρώτη ύλη.

Πίνακας 5.5 Συνθήκες και αποτελέσματα μετρήσεων για δείγματα εξαντλητικής εκχύλισης σε τσίπουρο τομάτας (σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, 25 °C).

Όγκος διαλύτη (mL)	Μάζα πρώτης ύλης ελαιοπυρήνα (g)	Χρόνος εκχύλισης (h)	Συγκέντρωση διαλύτη (% Ethyl acetate)	Απόδοση ολικών καροτενοειδών (mg λυκοπενίου/100g ξβ)
1088	25	2	100	58.53

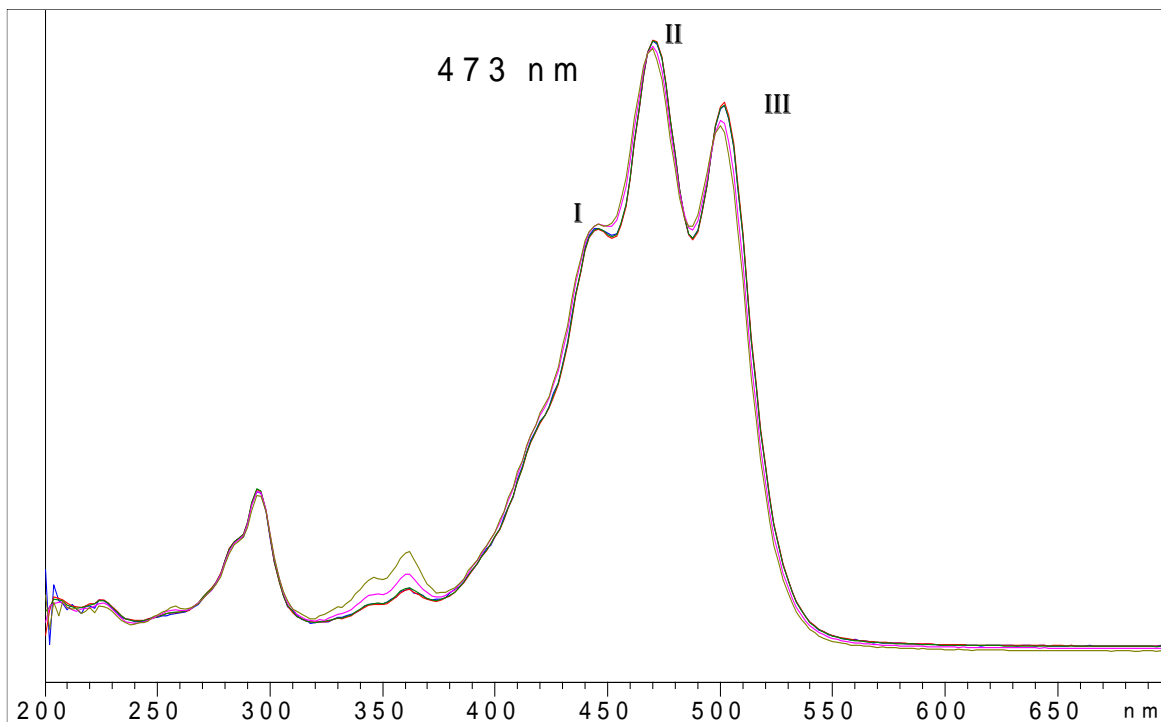
Συγκρίνοντας τα στοιχεία του Πίνακα 5.4 που αναφέρεται σε εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα και τα στοιχεία του Πίνακα 5.5 που αναφέρεται σε εξαντλητική εκχύλιση πάνω στο ίδιο παραπροϊόν (τσίπουρο τομάτας) παρατηρείται ότι οι δύο μέθοδοι παρουσιάζουν παρόμοιες τιμές απόδοσης ολικών καροτενοειδών. Αυτό σημαίνει ότι η διεργασία MAE κατάφερε να ανακτήσει όλη την ποσότητα

καροτενοειδών που περιέχονται σε συγκεκριμένη μάζα τσίπουρου τομάτας. Κύριο πλεονέκτημα της διεργασίας MAE είναι ότι οδηγεί σε παραλαβή εκχυλισμάτων με παρόμοιες τιμές απόδοσης ολικών καροτενοειδών σε σχέση με την εξαντλητική εκχύλιση σταθερής κλίνης αλλά σε πιο σύντομο χρόνο. Ο χρόνος της συμβατικής εκχύλισης είναι 2 ώρες και μειώνεται με την MAE σε 20 min. Επίσης με τη διεργασία MAE απαιτείται χρήση μικρότερου όγκου διαλύτη.

Από βιβλιογραφική ανασκόπηση βρέθηκε ότι οι ερευνητές Ho et. al. (2015) με εφαρμογή διεργασίας MAE σε τσίπουρο τομάτας, με διαλύτη οξικό αιθυλεστέρα, σε αναλογία στερεού : υγρού 1:10 g/mL και ισχύς μικροκυμάτων 400 W παρέλαβαν εκχυλίσματα με απόδοση 13.592 mg all-trans-λυκοπενίου/100g ξβ. Επίσης, οι Stati et. al. (2014) με εφαρμογή διεργασίας εκχύλισης σε τσίπουρο τομάτας με διαλύτη οξικό αιθυλεστέρα στους 70°C, παρέλαβε εκχυλίσματα με απόδοση σε ολικά καροτενοειδή 46.21 mg kg⁻¹. Παρατηρείται ότι η μελέτη που πραγματοποιήθηκε στην παρούσα διπλωματική εργασία οδηγεί σε καλύτερες αποδόσεις ολικών καροτενοειδών, μειώνοντας την ισχύ των μικροκυμάτων στα 150 W, έναντι 400 W, και τη θερμοκρασία στους 50°C, έναντι 70°C. Γενικότερα για τη διεργασία MAE οι Ho et al(2015), Baltacıoglu (2021) και Lasunon (2021), αναφέρουν ότι οι μέγιστες αποδόσεις σε παραλαβή βιοδραστικών συστατικών μπορούν να επιτευχθούν σε μικρούς χρόνους εκχύλισης (5-30 min), με χαμηλή χρήση διαλύτη (σε αναλογία στερεού-υγρού (1:10 g/mL) και χαμηλή κατανάλωση ενέργειας. Τα προαναφερθέντα χαρακτηριστικά έρχονται σε συμφωνία με τα πειράματα της παρούσας διπλωματικής.

5.2.4 Ανάλυση εκχυλισμάτων τσίπουρου τομάτας με τη μέθοδο της υγρής χρωματογραφίας (HPLC)

Ο προσδιορισμός των καροτενοειδών που ανακτήθηκαν από το τσίπουρο τομάτας πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο της υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (high-performance liquid chromatography, HPLC). Η μέθοδος που εφαρμόστηκε ήταν η μέθοδος Flav-Nonpolar-Tocopherol και η έκλυση των ενώσεων (ανίχνευση DAD) παρακολουθήθηκε στα 475 nm. Στο Σχήμα 5.15 που ακολουθεί παρουσιάζεται το χαρακτηριστικό ορατό φάσμα απορρόφησης των καροτενοειδών στα 473 nm, όπως προκύπτει από την ανάλυση υγρής χρωματογραφίας των εκχυλισμάτων τσίπουρου τομάτας σε διεργασία MAE.



Σχήμα 5.15 Φάσμα απορρόφησης υπεριώδους-ορατού (UV-Vis) φωτός των καροτενοειδών από εκχύλισμα τσίπουρου τομάτας σε διεργασία MAE.

Το χαρακτηριστικό ορατό φάσμα απορρόφησης των καροτενοειδών χρωστικών οφείλεται στο σύστημα συζυγίας των διπλών δεσμών της ανθρακικής αλυσίδας. Για κάθε καροτενοειδές η θέση των ταινιών της μέγιστης απορρόφησης του φωτός (λ_{max}) είναι συνάρτηση του αριθμού των συζυγών διπλών δεσμών στο μόριο (Strati, 2014).

Συσχετίζοντας τις κορυφές των μέγιστων απορροφήσεων, οι οποίες αναφέρονται στο Σχήμα 5.15 με λατινικούς αριθμούς (I, II, III) με βιβλιογραφικά δεδομένα (Strati, 2014), προκύπτει ότι η κορυφή I αντιστοιχεί στο καροτενοειδές καψαθίνη, η κορυφή II στο β -καροτένιο και η κορυφή III στο λυκοπένιο.

6. Συμπεράσματα

Τα παραπροϊόντα της βιομηχανίας επεξεργασίας ελιάς και τομάτας, τα σημαντικότερα από τα οποία είναι ο ελαιοπυρήνας και το τσίπουρο τομάτας αντίστοιχα, είναι πλούσια σε βιοδραστικά συστατικά. Στο πλαίσιο της παρούσας διπλωματικής εργασίας μελετήθηκε η παραλαβή βιοδραστικών συστατικών από αυτά τα παραπροϊόντα μέσω της διεργασίας εκχύλισης υποβοηθούμενης με μικροκύματα (Microwave-Assisted-Extraction, MAE). Μελετήθηκε η επίδραση των παραμέτρων του χρόνου εκχύλισης, της αναλογίας στερεού:υγρού, της θερμοκρασίας εκχύλισης, της συγκέντρωσης του διαλύτη και της ισχύος των μικροκυμάτων, στην αποτελεσματικότητα και απόδοση της εκχύλισης των βιοδραστικών συστατικών. Στα πλαίσια των πειραμάτων που πραγματοποιήθηκαν, προσδιορίστηκε το ολικό φαινολικό περιεχόμενο (TPC), η αντιοξειδωτική δράση των βιοδραστικών συστατικών που εκχυλίστηκαν και η εκλεκτικότητα της εκχύλισης για τα εκχυλίσματα ελαιοπυρήνα, ενώ για τα εκχυλίσματα από τσίπουρο τομάτας προσδιορίστηκε η απόδοση ολικών καροτενοειδών και η εκλεκτικότητα της εκχύλισης.

Η μελέτη προσδιορισμού του ολικού φαινολικού περιεχομένου των εκχυλισμάτων ελαιοπυρήνα έδειξε ότι υψηλότερες τιμές TPC (mg GAE / g ξβ) και οι υψηλότερες τιμές εκλεκτικότητας (mg GAE/ g στερεού εκχυλίσματος) καταγράφηκαν για τα δείγματα στα οποία χρησιμοποιήθηκε ως διαλύτης μίγμα 60% (v/v) μεθανόλης-νερού. Ενώ για τα εκχυλίσματα με συγκέντρωση μεθανόλης 40% (v/v) καταγράφηκαν επίσης υψηλές τιμές TPC, οι τιμές εκλεκτικότητας ήταν στατιστικά μικρότερες. Επίσης, η χρήση μικρότερου όγκου διαλύτη κρίθηκε ως πιο αποτελεσματική, καθώς η αναλογία στερεού:υγρού, 1:10 g/mL οδήγησε σε παραλαβή μεγαλύτερης ποσότητας ολικών φαινολών και εκλεκτικότητας απ' ότι η αναλογία 1:30 g/mL. Όσον αφορά την παράμετρο του χρόνου εκχύλισης, η διεργασία MAE αποδείχθηκε ότι μπορεί να οδηγήσει σε παραλαβή εκχυλισμάτων με τη μεγαλύτερη τιμή TPC και υψηλότερες τιμές εκλεκτικότητας σε ιδιαίτερα μικρές τιμές χρόνου, με τα 5 min να παρουσιάζουν καλύτερα αποτελέσματα από τα 10 και 30 min, αντίστοιχα. Η παράμετρος της θερμοκρασίας εκχύλισης, έδωσε παρόμοιες τιμές (μη στατιστικά σημαντικές διαφορές) ολικού φαινολικού περιεχομένου, για θερμοκρασίες 30 και 50 °C. Τέλος, η μελέτη της επίδρασης της ισχύος των εφαρμοζόμενων μικροκυμάτων σε σχέση με τον προσδιορισμό του ολικού φαινολικού περιεχομένου, έδειξε ότι η εφαρμογή MAE στα 300 και 500 W είχε ως αποτέλεσμα την καταγραφή μεγαλύτερων τιμών TPC, χωρίς σημαντικές μεταβολές μεταξύ τους, ενώ η εφαρμογή ισχύος στα 600 W, αντιθέτως οδήγησε σε μικρότερες ($P < 0.05$) τιμές εκχυλιζόμενων φαινολικών ενώσεων. Αντιθέτως, παρατηρήθηκε σημαντική επίδραση της ισχύος των μικροκυμάτων στην εκλεκτικότητα των εκχυλισμάτων, με τα 300 W να δίνουν τις υψηλότερες τιμές.

Στη μελέτη προσδιορισμού της αντιοξειδωτικής ικανότητας των εκχυλισμάτων ελαιοπυρήνα με τη μέθοδο DPPH, τα αποτελέσματα έδειξαν ότι υψηλότερη

αντιοξειδωτική ικανότητα παρουσιάζουν τα δείγματα στα οποία χρησιμοποιήθηκε ως διαλύτης μίγμα μεθανόλης-νερού, με συγκέντρωση μεθανόλης 60% v/v. Ακόμη, χρήση μικρότερου όγκου διαλύτη, σε αναλογία στερεού:υγρού 1:10 g/mL, και μικρός χρόνος εκχύλισης, 5 και 10 min, συμβάλουν στην παραλαβή εκχυλισμάτων με υψηλότερη αντιοξειδωτική ικανότητα. Επιπροσθέτως, δεν παρατηρήθηκε επίδραση της θερμοκρασίας εκχύλισης (30 και 50°C) στην αντιοξειδωτική ικανότητα των εκχυλισμάτων, καθώς οι αντίστοιχες τιμές δεν διέφεραν σημαντικά. Όσον αφορά την εφαρμοζόμενη ισχύ των μικροκυμάτων, τα 500 W οδήγησαν σε εκχυλίσματα με υψηλότερες τιμές αντιοξειδωτικής ικανότητας.

Με βάση τα αποτελέσματα του ολικού φαινολικού περιεχομένου, της αντιοξειδωτικής ικανότητας των εκχυλισμάτων ελαιοπυρήνα συμπεραίνεται ότι οι μέγιστες τιμές TPC και αντιοξειδωτικής ικανότητας παρατηρούνται στις ίδιες συνθήκες χρόνου, θερμοκρασίας, συγκέντρωσης διαλύτη, αναλογίας στερεού:υγρού και ισχύος μικροκυμάτων. Δεδομένων των παραπάνω αποτελεσμάτων και την προσπάθεια για βελτιστοποίηση της διεργασίας MAE, ως βέλτιστες συνθήκες εκχύλισης επιλέχθηκαν τα 300 W στους 30 °C για 5 min με αναλογία 1:10 και συγκέντρωση διαλύτη 60% (v/v) μεθανόλη. Η επιλογή των παραπάνω παραμέτρων της MAE οδήγησε σε παραλαβή εκχυλισμάτων σε χαμηλές θερμοκρασίες με αποτέλεσμα την αποφυγή υποβάθμισης των βιοδραστικών συστατικών με ταυτόχρονη κατανάλωση χαμηλής ενέργειας και μικρότερου όγκου διαλύτη σε σημαντικά μικρότερους χρόνους. Από τη σύγκριση των αποτελεσμάτων των εκχυλίσεων υποβοηθούμενων με μικροκύματα και των αποτελεσμάτων των εξαντλητικών εκχυλίσεων σταθερής κλίνης που πραγματοποιήθηκε στον ελαιοπυρήνα προέκυψε ότι η διεργασία MAE προσφέρει παραπλήσιες τιμές ολικού φαινολικού περιεχομένου και αντιοξειδωτικής ικανότητας με τη διεργασία εξαντλητικής εκχύλισης. Το πλεονέκτημα ωστόσο εντοπίζεται στο ότι η διεργασία MAE προσφέρει αυτές τις τιμές σε πολύ πιο σύντομο χρόνο εκχύλισης, 5 min, έναντι 3 h που διαρκεί η εξαντλητική εκχύλιση.

Στη μελέτη προσδιορισμού της απόδοσης ολικών καροτενοειδών σε εκχυλίσματα τσίπουρου τομάτας, με διαλύτη οξικό αιθυλεστέρα (100% v/v) διαπιστώθηκε ότι οι μέγιστες τιμές απόδοσης προέκυψαν από εκχυλίσεις στις οποίες εφαρμόστηκε χαμηλή ισχύς μικροκυμάτων, 150 W. Η αύξηση της ισχύος μικροκυμάτων σε τιμές 300 και 500 W, οδήγησε σε χαμηλότερη απόδοση ολικών καροτενοειδών. Η παράμετρος της αναλογίας στερεού:υγρού, με εξεταζόμενες τιμές 1:10 και 1:30 g/mL, δεν επηρέασε σημαντικά την απόδοση της εκχύλισης σε ολικά καροτενοειδή. Επίσης, παρατηρήθηκε ότι η αύξηση της θερμοκρασίας, με τιμές 30, 40 και 50°C, είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της απόδοσης με τις μέγιστες τιμές να εντοπίζονται στους 50°C. Ο χρόνος εκχύλισης στον οποίο σημειώθηκε η μέγιστη απόδοση σε ολικά καροτενοειδή ήταν τα 20 min. Οι υψηλότερες τιμές που σημειώθηκαν είναι 59.3 και 55.8 mg λυκοπενίου / 100 g ξβ και παρατηρήθηκαν σε κοινές συνθήκες διαλύτη 100% οξικό αιθυλεστέρα, 1:30 g/ mL, 150 W, 50 °C, 30 min και 100% οξικό αιθυλεστέρα, 1:30 g/ mL, 150 W, 30 °C, 20 min αντίστοιχα. Όσον αφορά την εκλεκτικότητα της εκχύλισης, η μόνη παράμετρος που παρουσίασε σημαντική επίδραση ήταν η

αναλογία στερεού:υγρού. Η χρήση μικρότερου όγκου διαλύτη στην αναλογία 1:10 g/mL έδωσε υψηλότερες τιμές εκλεκτικότητας, έναντι της αναλογίας 1:30 g/mL. Ακόμη, από τη σύγκριση των αποτελεσμάτων της διεργασίας MAE και της εξαντλητικής εκχύλισης σταθερής κλίνης από τσίπουρο τομάτας παρατηρείται επίσης ότι η διεργασία MAE προσφέρει παραπλήσιες τιμές απόδοσης ολικών καροτενοειδών των εκχυλισμάτων με την απόδοση που προσφέρει η εξαντλητική εκχύλιση του ίδιου υλικού. Και στην περίπτωση της εκχύλισης από το παραπροϊόν τομάτας, το πλεονέκτημα της διεργασίας MAE εντοπίζεται στο ότι επιτυγχάνει αυτές τις υψηλές τιμές απόδοσης ολικών καροτενοειδών σε σημαντικά μικρότερο χρόνο εκχύλισης, 20 min, έναντι 2 h που διαρκεί η εξαντλητική εκχύλιση.

Συμπερασματικά, σημειώνεται ότι η διεργασία εκχύλισης υποβοηθούμενης με μικροκύματα (MAE), για την παραλαβή των βιοδραστικών συστατικών, φαινολικών ενώσεων και καροτενοειδών, από τα παραπροϊόντα βιομηχανίας τροφίμων, όπως είναι ο ελαιοπυρήνας και το τσίπουρο τομάτας, αντίστοιχα, είναι ιδιαίτερα αποτελεσματική καθώς οδήγησε σε παραλαβή εκχυλισμάτων με υψηλή περιεκτικότητα στα προαναφερθέντα βιοδραστικά συστατικά. Πρόκειται για μια οικονομικά συμφέρουσα και περιβαλλοντικά φιλική διεργασία, καθώς παρατηρήθηκε σημαντική μείωση του χρόνου εκχύλισης, μείωση του όγκου του διαλύτη που χρησιμοποιείται, διατήρηση των αντιοξειδωτικών ιδιοτήτων των θερμοευαίσθητων ενώσεων που εκχυλίστηκαν, λόγω της εφαρμογής της επιλεγμένης κατά περίπτωση θερμοκρασίας για μικρότερο χρόνο, και εξοικονόμηση ενέργειας μέσω της εφαρμογής ακτινοβολίας μικροκυμάτων χαμηλής ισχύος επίσης για σύντομο χρονικό διάστημα. Τα παραπάνω δεδομένα που προέκυψαν από τις μελέτες που διεξήχθησαν στο πλαίσιο της παρούσας διπλωματικής εργασίας έρχονται σε συμφωνία με βιβλιογραφικά δεδομένα από σχετικές μελέτες άλλων ερευνητών πάνω στο θέμα της παραλαβής βιοδραστικών συστατικών από προϊόντα και παραπροϊόντα τροφίμων μέσω εκχύλισης υποβοηθούμενη με μικροκύματα.

Εκτός από τη χρήση της για την παραλαβή βιοδραστικών συστατικών από φυτικές πρώτες ύλες, η εκχύλιση υποβοηθούμενη με μικροκύματα θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για την επεξεργασία και άλλων παραπροϊόντων τροφίμων. Μάλιστα, αξίζει να αναφερθεί, ότι στα πλαίσια της μελέτης πάνω στη διεργασία MAE, πραγματοποιήθηκαν εκχυλίσεις παραλαβής ελαίου από παραπροϊόντα ψαριού. Ως αφετηρία, με τη χρήση οργανικού διαλύτη (αιθανόλης) επιτεύχθηκε ανάκτηση σημαντικής ποσότητας ιχθυέλαιου από ιστούς ψαριού (κόκκαλα, κεφάλια, πτερύγια ψαριών) και η συνέχιση αυτών των μελετών παρουσιάζει ιδιαίτερο ερευνητικό ενδιαφέρον.

7. Βιβλιογραφία

Aguilera, J. M. (2003). Solid-liquid extraction. In *Extraction optimization in food engineering*, 51-70.

Ahmad-Qasem, M. H., Cánovas, J., Barrajón-Catalán, E., Micol, V., Cárcel, J. A., García-Pérez, J. V. (2013). Kinetic and compositional study of phenolic extraction from olive leaves (var. Serrana) by using power ultrasound. *Innovative food science & emerging technologies*, 17, 120-129.

Andreou V. (2020) Research and application of High Pressure and Pulsed Electric Field technologies for the production of high-quality plant origin products and the valorization of their by-products. Ph.D. Thesis, National Technical University of Athens, School of Chemical Engineering

Aragon, J., & Palancar, M. (2001). *Improve 2000. Present and future of Alpeorajo* (Editorial). Madrid.

Azmir, J., Zaidul, I., Rahman, M., Sharif, K., Mohamed, A., Sahena, F. Omar, A. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering*, 117(4), 426–436.

Bonacci S., Di Gioia M. L., Costanzo P., Maiuolo L., Tallarico S., Nardi M. (2020). Natural Deep Eutectic Solvent as Extraction Media for the Main Phenolic Compounds from Olive Oil Processing Wastes

Boskou, D. (2011). Olive oil. In F. D. Gunstone (Ed.), *Vegetable oils in food technology. Composition, properties and uses*, 243–269.

Bullo, M., & Rosa Salas-Salvado, J. L.-R. (2011). Mediterranean diet and oxidation: nuts and olive oil as important sources of fat and antioxidants. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 11(14), 1797–1810.

Chan, C., Yusoff, R., Ngoh, G., & Kung, F. (2011). Microwave-assisted extractions of active ingredients from plants. *Journal of Chromatography A*, 1218(37), 6213–6225.

Chanioti S. (2019) Innovative extraction techniques of oil and minor bioactive compounds from olive pomace, Ph.D. Thesis, National Technical University of Athens, School of Chemical Engineering.

Chanioti, S., Siamandoura, P., & Tzia, C. (2016). Evaluation of extracts prepared from olive oil by-products using microwave-assisted enzymatic extraction: Effect of encapsulation on the stability of final products. *Waste and Biomass Valorization*, 7(4).

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.

Corrales, M., Toepfl, S., Butz, P., Knorr, D., & Tauscher, B. (2008). Extraction of anthocyanins from grape by-products assisted by ultrasonics, high hydrostatic pressure or pulsed electric fields: A comparison. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 9(1), 85-91.

- Dai, Y., Spronsen, J., & Witkamp, G. (2013). Natural deep eutectic solvents as new potential media for green technology. *Analytica Chimica Acta*, 766, 61–68.
- Davies, J. N., Hobson, G. E., & McGlasson, W. B. (1981). The constituents of tomato fruit—the influence of environment, nutrition, and genotype. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 15(3), 205-280.
- Denny, C. (1997). *Tomato Products*, National Food Processors Association, Washington.
- Dermeche, S., Nadour, M., Larroche, C., Moulti-Mati, F., & Michaud, P. (2013). Olive mill wastes: biochemical characterizations and valorization strategies. *Process Biochemistry*, 48(10), 1532-1552.
- Dermesonlouoglou, E. K., Giannakourou, M. C., & Taoukis, P. S. (2007). Kinetic modeling of the degradation of quality of osmo-dehydrofrozen tomatoes during storage. *Food Chemistry*, 103, 985-993.
- Destandau, E., Michel, T., & Elfakir, C. (2013). Microwave-assisted extraction. *Natural product extraction: principles and applications*, (21), 113.
- Dilis V., Trichopoulou A., Mediterranean Diet and Olive Oil Consumption- Estimations of Daily Intake of Antioxidants from Virgin Olive Oil and Olive, In Boskou D. (Eds), *Olive Oil- Minor Constituents and Health*, 2-6.
- Fellows, P. J. (2000). *Food Processing Technology—Principles and Practice*, 233-240
- Fernández-bolaños, J., Rodríguez, G., Rodríguez, R., Guillén, R., & Jiménez, A. (2006). Potential use of olive by-products. Extraction of interesting organic compounds from olive oil waste. *Grasas Y Aceites*, 57(1), 95–106.
- Göğüş, F., & Maskan, M. (2006). Air drying characteristics of solid waste (pomace) of olive oil processing. *Journal of Food Engineering*, 72(4), 378-382.
- Goodwin, T. W. (1980). *Biochemistry of the carotenoids*, Chapman & Hall, New York.
- Gould, W. A. *Tomato Production, Processing, and Technology*, 3rd ed.; CTI Publishing: Baltimore, MD, 1992; 202-203, 254, 297-344, 359-367, 436.
- Gross, J. (1991). *Pigments in Vegetables*. Van Nordstrand Reinhold, New York, USA.
- Güçlü-Üstündag, O., & Temelli, F. (2005). Solubility behavior of ternary systems of lipids, cosolvents and supercritical. *Journal of Supercritical Fluids*, 36, 1–15.
- Guo, X., Zhao, W., Liao, X., Hu, X., Wu, J., & Wang, X. (2017). Extraction of pectin from the peels of pomelo by high-speed shearing homogenization and its characteristics. *LWT-Food Science and Technology*, 79, 640-646.
- Baltacıoğlu H., Baltacıoğlu C., Okur I., Tanrıvermiş A., Yalçın M. (2021). Optimization of microwave-assisted extraction of phenolic compounds from tomato: Characterization by FTIR and HPLC and comparison with conventional solvent extraction

- Hu, B., Zhou, K., Liu, Y., Liu, A., Zhang, Q., Han, G., & Liu, S. (2018). Optimization of microwave-assisted extraction of oil from tiger nut (*Cyperus esculentus* L.) and its quality evaluation. *Industrial Crops & Products*, 115(February), 290–297.
- Ibrahim, N., & Zaini, M. (2018). Microwave-assisted solvent extraction of castor oil from castor seeds. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 26(12), 2516–2522.
- International Olive Council. (2020). Trade standard applying to olive oils
- Johnson, E. J. (2000). The role of lycopene in health and disease. *Nutrition in Clinical Care*, 3, 35.
- Ho K.K.H.Y., Ferruzzi M.G., Liceaga A. M., San Martín-Gonzalez M. F.(2015). Microwave-assisted extraction of lycopene in tomato peels: Effect of extraction conditions on all-trans and cis-isomer yields
- Kalogeropoulos, N., Chiou, A., Pyriochou, V., Peristeraki, A., & Karathanos, V. T. (2012). Bioactive phytochemicals in industrial tomatoes and their processing byproducts. *LWT-Food Science and Technology*, 49(2), 213-216.
- Knoblich, M., Anderson, B., & Latshaw, D. (2005). Analyses of tomato peel and seed byproducts and their use as a source of carotenoids. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(7), 1166-1170.
- Kumar, C., Benal, M. M., Prasad, B. D., Krupashankara, M. S., & Kulkarni, R. S. (2018). Microwave assisted extraction of oil from pongamia pinnata seeds. *Materials Today: Proceedings*, 5(1), 2960–2964.
- Lasunon, P., Phonkerd, N., Tettawong, P. and Sengkhampan, N. (2021). Effect of microwave-assisted extraction on bioactive compounds from industrial tomato waste and its antioxidant activity.
- Leonelli, C., Veronesi, P., & Gravotto, G. (2013). Microwave-assisted Extraction: An introduction to dielectric heating. In F. Chemat & G. Gravotto (Eds.), *Microwave-assisted Extraction for Bioactive Compounds: Theory and Practice*, 1–10.
- Li, H., Deng, Z., Wu, T., Liu, R., Loewen, S., & Tsao, R. (2012). Microwave-assisted extraction of phenolics with maximal antioxidant activities in tomatoes. *Food Chemistry*, 130(4), 928–936.
- Liadakis G., Katsouli M., Chanioti S., Giannou V., Tzia C. (2022) Identification, quantification, and characterization of tomato processing by-products, *Tomato Processing by-Products: Sustainable Applications*.
- Lin, C. H., & Chen, B. H. (2005). Stability of carotenoids in tomato juice during processing. *European Food Research Technology*, 221, 274-280.
- Lu, H., Jiang, Y., & Chen, F. (2004). Determination of squalene using high-performance liquid chromatography with diode array detection. *Chromatographia*, 59, 367–371.
- Luengo, E., Martínez, J. M., Bordetas, A., Álvarez, I., & Raso, J. (2015). Influence of the treatment medium temperature on lutein extraction assisted by pulsed electric fields from *Chlorella vulgaris*. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 29, 15-22.

Macedo G. A., Adina L. Santana, Lauren M. Crawford, Selina C. Wang, Fernanda F.G. Dias, Juliana M.L.N. de Moura Bell (2021). Integrated microwave- and enzyme-assisted extraction of phenolic compounds from olive pomace

Melendez-Martinez, A. J., Britton, G., Vicario, I. M., & Heredia, F. J. (2005). Color and carotenoid profile of Spanish Valencia late ultrafrozen orange juices. *Food Research International*, 38 (8-9), 931-936.

Murkovic, M., Lechner, S., Pietzka, A., Bratacos, M., & Katzogiannos, E. (2004). Analysis of minor components in olive oil, 61, 155–160.

Mustafa, A., & Turner, C. (2011). Pressurized liquid extraction as a green approach in food. Paiva-Martins, F., & Kiritsakis, A. (2017). Olive fruit and olive oil composition and their functional compounds. Olives and olive oil as functional foods. Bioactivity, chemistry and processing. Wiley, Hoboken, 81-116.

Peralbo-Molina, A., Priego-Capote, F., & Luque de Castro, M. D. (2012). Tentative identification of phenolic compounds in olive pomace extracts using liquid chromatography–tandem mass spectrometry with a quadrupole–quadrupole-time-of-flight mass detector. *Journal of agricultural and food chemistry*, 60(46), 11542-11550.

Porretta S., Sriram K. Vidyarthi, Evans M. E. (2019) *Tomato Chemistry, Industrial Processing and Product Development*, Experimental Station for the Food Preserving Industry, Parma, Italy.

Puri, M., Sharma, D., & Barrow, C. J. (2012). Enzyme-assisted extraction of bioactives from plants. *Trends in biotechnology*, 30(1), 37-44.

Qiu, W., Jiang, H., Wang, H., & Gao, Y. (2006). Effect of high hydrostatic pressure on lycopene stability. *Food Chemistry*, 97 (3), 516–523.

Rahmanian, N., Jafari, S., & Galanakis, C. M. (2014). Recovery and Removal of Phenolic Compounds from Olive Mill Wastewater. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 91, 1-18.

Rastrelli, L., Passi, S., Ippolito, I., Vacca, V., & De Simone, F. (2002). Rate of Degradation of α -Tocopherol, Squalene, Phenolics, and Polyunsaturated Fatty Acids in Olive Oil during Different Storage Conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 5566–5570.

Rodríguez-Gutiérrez, G., Duthie, G. G., Wood, S., Morrice, P., Nicol, F., Reid & De Roos, B. (2012). Alperujo extract, hydroxytyrosol, and 3, 4-dihydroxyphenylglycol are bioavailable and have antioxidant properties in vitamin E-deficient rats—a proteomics and network analysis approach. *Molecular nutrition & food research*, 56(7), 1131-1147.

Roig, A., Cayuela, M. L., & Sánchez-Monedero, M. A. (2006). An overview on olive mill wastes and their valorisation methods. *Waste Management*, 26(9), 960–969. Rossini, G., Toscano, G.,

Duca, D., Corinaldesi, F., Foppa Pedretti, E., & Riva, G. (2013). Analysis of the characteristics of the tomato manufacturing residues finalized to the energy recovery. *Biomass and Bioenergy*, 51, 177–182.

- Sancey, B. (2002). Extraction. In *Encyclopedia of Science & Technology*, 767–769.
- Sánchez Moral, P., & Ruiz Méndez, M. (2006). Production of pomace olive oil. *Grasas Y Aceites*, 57(1), 47–55.
- Sánchez-Gutiérrez M., Isabel Bascón-Villegas, Alejandro Rodríguez, Fernando Pérez-Rodríguez, África Fernández-Prior, Antonio Rosal and Elena Carrasco (2021). Valorisation of *Olea europaea* L. Olive Leaves through the Evaluation of Their Extracts: Antioxidant and Antimicrobial Activity.
- Sharma, S. K., & Le Maguer, M. (1996). Lycopene in tomatoes and tomato pulp fractions. *Italian Journal of Food Science*, 8(2), 107-113.
- Sharoni, Y., Linnewiel-Hermoni, K., Khanin, M., Salman, H., Veprik, A., Danilenko, M., & Levy, J. (2011). Carotenoids and apocarotenoids in cellular signaling related to cancer: A review. *Molecular Nutrition and Food Research*, 56, 259–269.
- Shi, J., & Le Maguer, M. (2000). Lycopene in tomatoes: chemical and physical properties affected by food processing. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 40, 1-42.
- Shi, J., Le Maguer, M., Kakuda, Y., Liptay, A., & Niekamp, F. (1999). Lycopene degradation and isomerization in tomato dehydration. *Food Research International*, 32, 15-21.
- Sihvonen, M., Järvenpää, E., Hietaniemi, V., & Huopalahti, R. (1999). Advances in supercritical carbon dioxide technologies. *Trends in Food Science & Technology*, 10(6-7), 217-222.
- Simić, V., Rajković, K., Stojičević, S., Veličković, D., Nikolić, N., Lazić, M., & Karabegović, I. (2016). Optimization of microwave-assisted extraction of total polyphenolic compounds from chokeberries by response surface methodology and artificial neural network. *Separation and Purification Technology*, 160, 89–97.
- Stahl, W., & Sies, H. (1996). Perspectives in biochemistry and biophysics. Lycopene: A biological important carotenoid for humans? *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 336, 1-9.
- Strati I. F. (2014). A study on the methods of recovery of carotenoids from tomato processing by-products. Ph.D. Thesis, National Technical University of Athens, School of Chemical Engineering.
- Strati, I. F., & Oreopoulou, V. (2014). Recovery of carotenoids from tomato processing by-products—a review. *Food research international*, 65, 311-321.
- Taamalli, A., Arráez-Román, D., Barrajon-Catalán, E., Ruiz-Torres, V., Pérez-Sánchez, A., Herrero, M., ... Fernández-Gutiérrez, A. (2012). Use of advanced techniques for the extraction of phenolic compounds from Tunisian olive leaves: Phenolic composition and cytotoxicity against human breast cancer cells. *Food and Chemical Toxicology*, 50(6), 1817–1825
- Taghvaei, M., Mahdi, S., Assadpoor, E., Nowrouzieh, S., & Alishah, O. (2014). Optimization of microwave-assisted extraction of cottonseed oil and evaluation of its oxidative stability and physicochemical properties. *Food Chemistry*, 160, 90–97.
- Takac, S., & Karakaya, A. (2012). Recovery of Phenolic Antioxidants from Olive Mill Wastewater. *Recent Patents on Chemical Engineering*, 2(3), 230–237

Takeuchi, T., Pereira, C., Braga, M., Marostica, M., Leal, P., & Meireles, A. (2009). Low-Pressure Solvent Extraction (Solid–Liquid Extraction, Microwave Assisted, and Ultrasound Assisted) from Condimentary Plants. In A. Meireles (Ed.), *Extracting Bioactive Compounds for Food Products: Theory and Applications*, 140–171

Tapia-Quirós P., Montenegro-Landívar M. F., Reig M., Xanel Vecino, Alvarino T., Cortina J. L., Saurina J., Granados M. (2020). Olive Mill and Winery Wastes as Viable Sources of Bioactive Compounds: A Study on Polyphenols Recovery.

The World Processing Tomato Council, 2020, <https://www.wptc.to>

Veggi, P., Martinez, J., & Meireles, M. (2013). Fundamentals of Microwave Extraction. In F. Chemat & G. Gravotto (Eds.), *Microwave-assisted Extraction for Bioactive Compounds: Theory and Practice*, 15–52

Vossen, P. (2007). Olive oil: history, production, and characteristics of the world's classic oils. *HortScience*, 42(5), 1093-1100.

Wang, L., Qin, P., & Hu, Y. (2010). Study on the microwave-assisted extraction of polyphenols from tea. *Frontiers of Chemical Engineering in China*, 4, 307–313.

Waterhouse, A. (2002). Determination of Total Phenolics. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, 6, 11.11–11.18.

Yanik, D. (2017). Alternative to traditional olive pomace oil extraction systems: Microwave-assisted solvent extraction of oil from wet olive pomace. *LWT-Food Science and Technology*, 77, 45–51.

Zbakh, H., & El Abbassi, A. (2012). Potential use of olive mill wastewater in the preparation of functional beverages: A review. *Journal of functional foods*, 4(1), 53-65.

Zhong, J., Wang, Y., Yang, R., Liu, X., Yang, Q., & Qin, X. (2018). The application of ultrasound and microwave to increase oil extraction from *Moringa oleifera* seeds. *Industrial Crops & Products*, 120(April), 1–10.